



ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ

ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

**ΑΠΟΤΙΜΗΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ ΚΑΙ
ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ: ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ
ΜΕΛΕΤΗ ΑΣΘΕΝΩΝ-ΜΑΡΤΥΡΩΝ**

ΝΙΚΗ ΜΟΥΡΟΥΤΗ, *MSc*

ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΟΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΟΛΟΓΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2015

Η έγκριση της παρούσας διδακτορικής διατριβής από το Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο
δε δηλώνει αποδοχή των απόψεων της συγγραφέως.

(Ν. 5343/1932, άρθρο 202)

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ:

Παναγιωτάκος Δημοσθένης, Καθηγητής Βιοστατιστικής-Επιδημιολογίας της Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών (*Επιβλέπον μέλος*)

Λινού-Παπαδημητρίου Αθηνά, Καθηγήτρια Επιδημιολογίας και Πρόληψης Χρόνιων και Επαγγελματικών Νοσημάτων, Τμήμα Υγιεινής, Επιδημιολογίας και Ιατρικής Στατιστικής, Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

Κοντογιάννη Μερόπη, Επίκουρη Καθηγήτρια Κλινικής Διατροφής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Αγωγής, Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο Αθηνών

Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή πραγματοποιήθηκε τα έτη 2012-2015 στο Τμήμα Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών. Η εκπόνησή της αποτέλεσε για εμένα μία εξαιρετικά πολύτιμη εμπειρία που με βοήθησε να εμπλουτίσω τις γνώσεις μου και να διευρύνω τους επιστημονικούς μου ορίζοντες στον τομέα της έρευνας και της πρόληψης του καρκίνου.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα της διατριβής μου, Καθηγητή Βιοστατιστικής-Επιδημιολογίας της Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Δημοσθένη Παναγιωτάκο για την ανάθεση του θέματος, την άψογη συνεργασία, την καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές του καθ' όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών. Θα ήθελα επίσης να τον ευχαριστήσω βαθύτατα για την εμπιστοσύνη προς το πρόσωπό μου, το αμείωτο ενδιαφέρον αλλά και τον απεριόριστο χρόνο που αφιέρωσε κατά την εκπόνηση αλλά και τη διόρθωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής. Περισσότερο από όλα θα ήθελα να τον ευχαριστήσω διότι στάθηκε πηγή έμπνευσης και ακαδημαϊκό πρότυπο για μένα, κατά τη διάρκεια των σπουδών μου, αποτελώντας το σημείο αναφοράς μου, ως νέου επιστήμονα. Θα ήθελα να εκφράσω τη βαθιά εκτίμηση μου στην Καθηγήτρια Επιδημιολογίας και Πρόληψης Χρόνιων και Επαγγελματικών Νοσημάτων της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κα. Αθηνά Λινού-Παπαδημητρίου για την πολύτιμη συνεργασία, τη διαρκή υποστήριξη της όλο αυτό το διάστημα αλλά και το χρόνο που αφιέρωσε συμβάλλοντας στην ομαλή διεξαγωγή της διατριβής μου με τα σχόλια και τις συμβουλές της. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την Επίκουρη Καθηγήτρια Κλινικής Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου Αθηνών κα. Μερόπη Κοντογιάννη για την εξαιρετική συνεργασία, την αμέριστη βοήθεια, το συνεχές ενδιαφέρον αλλά και το χρόνο που αφιέρωσε για την ομαλή διεξαγωγή και διόρθωση της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

Τις θερμές ευχαριστίες μου θα ήθελα να απευθύνω σε όλο το ιατρικό και νοσηλευτικό προσωπικό των Παθολογικών-Ογκολογικών κλινικών των νοσοκομείων Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Αλεξάνδρα», Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο-Μαιευτήριο «Έλενα Βενιζέλου», Γενικό Ογκολογικό Νοσοκομείο Κηφισιάς «Άγιοι Ανάργυροι», Γενικό Αντικαρκινικό Ογκολογικό Νοσοκομείο Αθηνών «Άγιος Σάββας» και Ειδικό Αντικαρκινικό Νοσοκομείο Πειραιά «Μεταξά» και ιδιαίτερα

στους διευθυντές των κλινικών κ. Αθανάσιο-Μελέτιο Δημόπουλο, κ. Νικόλαο Μαλάμο, κ. Επαμεινώνδα Σαμαντά, κ. Γεράσιμο Αραβαντινό, και κ. Ευάγγελο Φιλόπουλο. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω ιδιαίτερα την Επίκουρη Καθηγήτρια Επιδημιολογίας και Προληπτικής Ιατρικής της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών κα. Θεοδώρα Ψαλτοπούλου, την Επιστημονική Συνεργάτη του Τομέα Υγιεινής της Διατροφής και Βιοχημείας της Εθνικής Σχολής Δημόσιας Υγείας κα. Ναϊρ-Τόνια Βασιλάκου καθώς και την Τομεάρχη Εργαστηριακού Τομέα του Ειδικού Αντικαρκινικού Νοσοκομείου Πειραιά «Μεταξά» κα. Αικατερίνη Μανούσου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω το φίλο και συνεργάτη κ. Χρήστο Παπαβαγγέλη για την ανεκτίμητη βοήθεια του στη συλλογή των δεδομένων καθώς και το αδιάκοπο ενδιαφέρον του σε όλη τη διάρκεια των διδακτορικών μου σπουδών. Επίσης θα ήθελα να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ για τη συνεργασία και την πολύτιμη βοήθεια που προσέφεραν στη συλλογή των δεδομένων όλους τους συνεργάτες της μελέτης: κα. Πετρίνη Πλυτζανοπούλου, κα. Αρτεμισία Τσάκλα, κα. Μαρία Μήτσου, κα. Ζωή Τσακάλου, κα. Μαρία Σωμαράκη, κ. Αθανάσιο Τεκτονίδη, κα. Αθανασία Λαΐνα, κα. Αγγελική Σιολάβου, κα. Αικατερίνη Κάκκου, κα. Φωτεινή-Μαρία Μπαλλή, κ. Νικόλαο Σούπο, κα. Ηρώ Καράπαπα και κα. Βασιλική Μαρκασιώτη.

Θα ήθελα να εκφράσω ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλες τις συμμετέχουσες της μελέτης, χωρίς τη συναίνεση, την ευγενική συνεισφορά και την υπομονή των οποίων η παρούσα διδακτορική διατριβή δε θα είχε πραγματοποιηθεί. Ευχαριστώ ιδιαίτερα την υποψήφια διδάκτορα και πολύ καλή μου φίλη κα. Εκάβη Γεωργουσοπούλου για την πολύτιμη και συνεχή ηθική υποστήριξη κατά την πραγματοποίηση της διατριβής αυτής. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά για την αμέριστη συμπαράσταση και υπομονή όλο αυτό το διάστημα τον κ. Θεόφιλο Λαγώνη.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να εκφράσω στους γονείς μου για το σεβασμό που έδειξαν στις επιλογές μου και την υποστήριξή τους όλα τα χρόνια των σπουδών μου.

Νίκη Μουρούτη

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Παρότι ο ρόλος συγκεκριμένων ομάδων τροφίμων και θρεπτικών συστατικών αναφορικά με την πρόληψη του καρκίνου του μαστού έχει αξιολογηθεί και κατανοηθεί αρκετά, η επίδραση των διατροφικών προτύπων στην εμφάνιση της νόσου έχει ελάχιστα κατανοηθεί, και για το λόγο αυτό αποτελεί καινοτόμο πεδίο ερευνητικού ενδιαφέροντος. Επομένως, σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να μελετηθεί η σχέση της διατροφής μέσω της αποτίμησης των διατροφικών προτύπων, με την πρώτη εμφάνιση καρκίνου του μαστού. **Μεθοδολογία:** Κατά τα έτη 2010-2012, 500 συμμετέχουσες εντάχθηκαν στη μελέτη: 250 διαδοχικές νεοδιαγνωσθείσες ασθενείς με πρώτη εμφάνιση καρκίνου του μαστού και 250 υγιείς γυναίκες (56 ± 12 ετών). Οι μάρτυρες προέρχονταν από τον γενικό πληθυσμό και ήταν εξομοιωμένες ως προς την ηλικία και τον τόπο διαμονής με τις ασθενείς. Καταγράφηκαν κοινωνικο-δημογραφικά, κλινικά, διατροφικά, ψυχολογικά και άλλα χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής των συμμετεχουσών. Η προσκόλληση στο Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο (εκ-των-προτέρων διατροφικά πρότυπα) αξιολογήθηκε μέσω του MedDietScore (θεωρητικό εύρος: 0-55), ενώ τα εκ-των-υστέρων διατροφικά πρότυπα εξήχθησαν μέσω της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες. Η πολλαπλή λογαριθμιστική παλινδρόμηση χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των σχετικών πιθανοτήτων της παρουσίας καρκίνου του μαστού. **Αποτελέσματα:** Μετά από έλεγχο για ποικίλους συγχυτικούς παράγοντες, για κάθε 1/55 μονάδα αύξησης του MedDietScore, ο σχετικός λόγος (ΣΛ) παρουσίας καρκίνου του μαστού ήταν: 0,92 (95% Διάστημα Εμπιστοσύνης-ΔΕ: 0,86-0,97). Ακόμη, η υιοθέτηση ενός διατροφικού προτύπου που χαρακτηρίζεται από την κατανάλωση μη επεξεργασμένων δημητριακών, φρούτων και λαχανικών καθώς και ενός προτύπου που χαρακτηρίζεται από την κατανάλωση ελαιολάδου και ψαριού συσχετίστηκαν με μειωμένη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού (ΣΛ=0,60; 95%CI 0,45-0,75 και ΣΛ=0,81; 95%CI 0,66-0,99 αντίστοιχα). Παράλληλα, η εβδομαδιαία κατανάλωση αλκοόλ (δηλ. 3-4 φορές/εβδομάδα) συσχετίστηκε με 84% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού (ΣΛ=0,16; 95%CI 0,03-0,80), ενώ η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος 1-2 φορές/εβδομάδα καθώς και καθημερινά συσχετίστηκε με 2,7 και 2,8 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου (ΣΛ=2,65; 95%CI 1,36-5,14 και ΣΛ=2,81; 95%CI 1,13-6,96 αντίστοιχα). Επιπρόσθετα, η κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης για περισσότερες από 7 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με

51% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($\Sigma\Lambda=0,49$; 95%CI 0,29-0,82) ενώ η κατανάλωση γαλακτοκομικών πλήρων σε λίπος σε συχνότητα τουλάχιστον 16 μερίδες/εβδομάδα συσχετίστηκε επίσης με μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($\Sigma\Lambda=0,43$; 95%CI 0,24-0,76). **Συμπεράσματα:** Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής συνέβαλαν στην επέκταση της υπάρχουσας γνώσης αναφορικά με τα ευεργετικά οφέλη από την υιοθέτηση του Μεσογειακού προτύπου διατροφής, αλλά και διατροφικών προτύπων τα οποία χαρακτηρίζονται από την κατανάλωση προϊόντων ολικής άλεσης, φρούτων, λαχανικών ελαιολάδου και ψαριού. Οι προσπάθειες ενθάρρυνσης της προσκόλλησης στα ανωτέρω διατροφικά πρότυπα αξίζει να ενσωματωθούν στις στρατηγικές δημόσιας υγείας για την πρωτογενή πρόληψη του καρκίνου του μαστού, παράλληλα με έμφαση στη μέτρια πρόσληψη αλκοόλ καθώς και τη μειωμένη πρόσληψη επεξεργασμένου κρέατος.

Λέξεις Κλειδιά: καρκίνος του μαστού, διατροφικά πρότυπα, Μεσογειακή διατροφή, διατροφικές συνήθειες

ABSTRACT

Introduction: Although the role of specific food groups and nutrients on breast cancer disease prevention has long been evaluated and understood, the influence of specific dietary patterns has been rarely examined and for this reason it is a novel area of scientific interest. Thus, the aim of the present work was to examine the role of the diet, through the assessment of dietary patterns on first breast cancer disease development. **Methodology:** During 2010-2012, 500 participants were enrolled; 250 consecutive newly diagnosed patients with breast cancer and 250 controls (56±12 yrs). Controls were population-based, age and place of living matched to the patients. Socio- demographic, clinical, dietary, psychological, and other lifestyle characteristics were measured. Adherence to the Mediterranean dietary pattern (a-priori dietary pattern) was assessed using the validated MedDietScore (theoretical range: 0-55), whereas a-posterior dietary patterns were extracted using principal components analysis. Multiple logistic regression was used to estimate the probability of the presence of breast cancer. **Results:** After various adjustments made, it was observed that for each 1/55 unit increase of the MedDietScore, the corresponding odds ratio (OR) for having breast cancer was 0.92 (95% Confidence Interval-CI: 0.86-0.97). Moreover, adoption of a dietary pattern characterized by the consumption of whole grains, fruits and vegetables and a pattern characterized by the consumption of olive oil and fish was associated with lower likelihood of having breast cancer (OR = 0,60; 95% CI 0 , 45 to 0.75 and OR = 0,81; 95% CI 0,66-0,99, respectively). Moreover alcohol consumption on a weekly basis (i.e.. 3-4 times / week) was associated with 84% lower likelihood of having breast cancer (OR = 0,16; 95% CI 0,03-0,80), while consumption of processed meat 1 -2 times / week and daily was associated with a 2.7-fold and 2.8-fold higher likelihood of having breast cancer respectively (OR = 2,65; 95% CI 1,36-5,14 and OR = 2,81; 95% CI from 1.13 to 6.96, respectively). Additionally, the consumption of whole grains for more than 7 times / week was associated with 51% lower likelihood of having breast cancer (OR = 0,49; 95% CI 0,29-0,82) while the consumption of full fat dairy products for at least 16 servings / week was also associated with a lower likelihood of having breast cancer (OR = 0,43; 95% CI 0,24-0,76). **Conclusions:** The present work extended the current knowledge about the protective benefits from the adoption of the Mediterranean diet, as well as the adoption of dietary patterns which are characterized by the consumption of whole

grains, fruits, vegetables, olive oil as well as fish. Efforts to increase adherence to the above mentioned dietary pattern should be incorporated in public health strategies for the primary prevention of breast cancer, along with emphasis on consuming dairy products and reducing processed meat consumption.

Key words: breast cancer, dietary patterns, Mediterranean diet, dietary habits

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ.....	11
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	13
1.1 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ	13
1.2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	16
1.2.1. Παράγοντες κινδύνου	25
Ηλικία.....	27
Ατομικό και Οικογενειακό Ιστορικό	27
Οικογενειακό Ιστορικό Καρκίνου του μαστού.....	27
Γενετική Προδιάθεση.....	28
Ατομικό ιστορικό καρκίνου του μαστού	29
Λοβιακό καρκίνωμα in situ (LCIS).....	29
Καλοήθεις παθήσεις του μαστού	29
Πυκνότητα Μαστού.....	31
Ορμόνες και Παράγοντες σχετιζόμενοι με την αναπαραγωγή	32
Εμμηνος Ρύση (Εμμηναρχή και Εμμηνόπαυση).....	32
Κύηση	32
Θηλασμός	32
Εξωγενείς Ορμόνες	33
Αντισυλληπτικά Χάπια	33
Ορμονοθεραπεία Μετεμμηνοπαυσιακά	33
Παράγοντες σχετιζόμενοι με τον τρόπο ζωής	34
Παχυσαρκία.....	34
Φυσική Δραστηριότητα	35
Κάπνισμα.....	35
Άλλοι παράγοντες κινδύνου	36
Ακτινοβολία	36
Diethylstilbestrol (DES).....	37
1.3 ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	37
1.3.1 Αλκοόλ	38
1.3.2 Φρούτα και Λαχανικά.....	40
1.3.3 Κρέας	41
1.3.4 Σόγια και ισοφλαβόνες	42
1.3.5 Διαιτητικό Λίπος.....	44
1.3.6 Διαιτητικές ίνες.....	46
1.3.7 Διατροφικά Πρότυπα.....	47
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
2. ΣΚΟΠΟΣ	52
3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	53
3.1 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ	53
3.2 ΤΟ ΔΕΙΓΜΑ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	53
3.2.1 Ασθενείς	53
3.2.1.1 Διάγνωση Καρκίνου του Μαστού	53
3.2.1.2 Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη	54
3.2.2 Υγιείς (Μάρτυρες).....	54
3.2.3 Ανάλυση στατιστική ισχύος.....	55
3.3 ΒΙΟΗΘΙΚΗ	55
3.4 ΜΕΤΡΗΣΙΜΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	55

3.4.1 Γυναικολογικό-Ιατρικό ιστορικό.....	55
3.4.2 Κοινωνικο-δημογραφικά χαρακτηριστικά.....	56
3.4.3 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά.....	57
3.4.4 Συμπεριφοριστικά χαρακτηριστικά	57
3.4.4.1 Διατροφικές συνήθειες	57
3.4.4.1.1 Εκ-των-προτέρων ανάλυση διατροφικών προτύπων	59
3.4.4.1.2 Εκ-των-υστέρων ανάλυση διατροφικών προτύπων	61
3.4.4.2 Διατροφικές συμπεριφορές.....	61
3.4.4.3 Φυσική δραστηριότητα.....	61
3.4.4.4 Καπνιστικές συνήθειες	62
3.4.4.5 Τρόπος ζωής.....	62
3.4.5 Ψυχολογική αξιολόγηση.....	62
3.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	63
3.5.1 Περιγραφική στατιστική.....	63
3.5.2 Επαγωγική στατιστική	64
3.5.2.1 Λογαριθμιστική παλινδρόμηση	64
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	65
4.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΚΑΙ ΥΓΙΩΝ.....	65
4.2 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ ΚΑΙ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	69
4.2.1 Ο ρόλος των διατροφικών προτύπων στην παρουσία καρκίνου του μαστού	69
4.2.1.1 Ο ρόλος του Μεσογειακού προτύπου διατροφής (εκ-των-προτέρων διατροφικά πρότυπα) στην παρουσία καρκίνου του μαστού.....	69
4.2.1.2 Ο ρόλος των εκ-των-υστέρων διατροφικών προτύπων στην παρουσία καρκίνου του μαστού.....	81
4.2.2 Ο ρόλος των αλκοολούχων ποτών στην παρουσία καρκίνου του μαστού.....	94
4.2.3 Ο ρόλος του κρέατος στην παρουσία καρκίνου του μαστού	107
4.2.4 Ο ρόλος των προϊόντων ολικής άλεσης στην παρουσία καρκίνου του μαστού	120
4.2.5 Ο ρόλος διαφόρων ομάδων τροφίμων στην παρουσία καρκίνου του μαστού	130
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	133
5.1 ΒΑΣΙΚΟΤΕΡΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ ΚΑΙ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ	133
5.2 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΑ ΠΡΟΤΥΠΑ ΚΑΙ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ.....	133
5.2.1 Το Μεσογειακό πρότυπο διατροφής και παρουσία καρκίνου του μαστού.....	133
5.2.2 Εκ-των-υστέρων διατροφικά πρότυπα και παρουσία καρκίνου του μαστού	136
5.3 ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ ΚΑΙ ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	140
5.3.1 Κατανάλωση αλκοόλ και παρουσία καρκίνου του μαστού	140
5.3.2 Κατανάλωση κρέατος και παρουσία καρκίνου του μαστού	142
5.3.3 Κατανάλωση προϊόντων ολικής άλεσης και παρουσία καρκίνου του μαστού.....	145
5.3.4 Κατανάλωση γαλακτοκομικών και παρουσία καρκίνου του μαστού.....	146
5.4 ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ.....	147
5.5 ΓΕΝΙΚΕΥΣΗ ΤΩΝ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΩΝ: ΟΦΕΛΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΟΥ ΚΑΡΚΙΝΟΥ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ...	148
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	150

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ΣΛ: σχετικός λόγος

ΔΕ: διάστημα εμπιστοσύνης

ΔΜΣ: δείκτης μάζας σώματος

ΣΚ: σχετικός κίνδυνος

ΕΣΚΤ: ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων

CI: Confidence Interval

OR: Odds Ratio

RR: Relative Risk

IARC: International Agency for Research on Cancer

ATM: ataxia telangiectasia gene

PTEN: phosphatase and tensin homolog

LCIS: Lobular carcinoma in situ

ADH: atypical ductal hyperplasia

ALH: atypical lobular hyperplasia

WCRF: World Cancer Research Fund

AICR: American Institute for Cancer Research

SHBG: Sex hormone-binding globulin

DES: Diethylstilbestrol

SFAs: Saturated Fatty Acids

PUFAs: Polyunsaturated Fatty Acids

MUFAs: Monounsaturated Fatty Acids

HR: Hazard Ratio

ACS: American Cancer Society

AJCC: American Joint Committee on Cancer

ER: Estrogen receptor

PR: Progesterone receptor

IPAQ: International Physical Activity Questionnaire

PCA: Principal Components Analysis

EPIC: European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition

NOCs: N-nitroso compounds

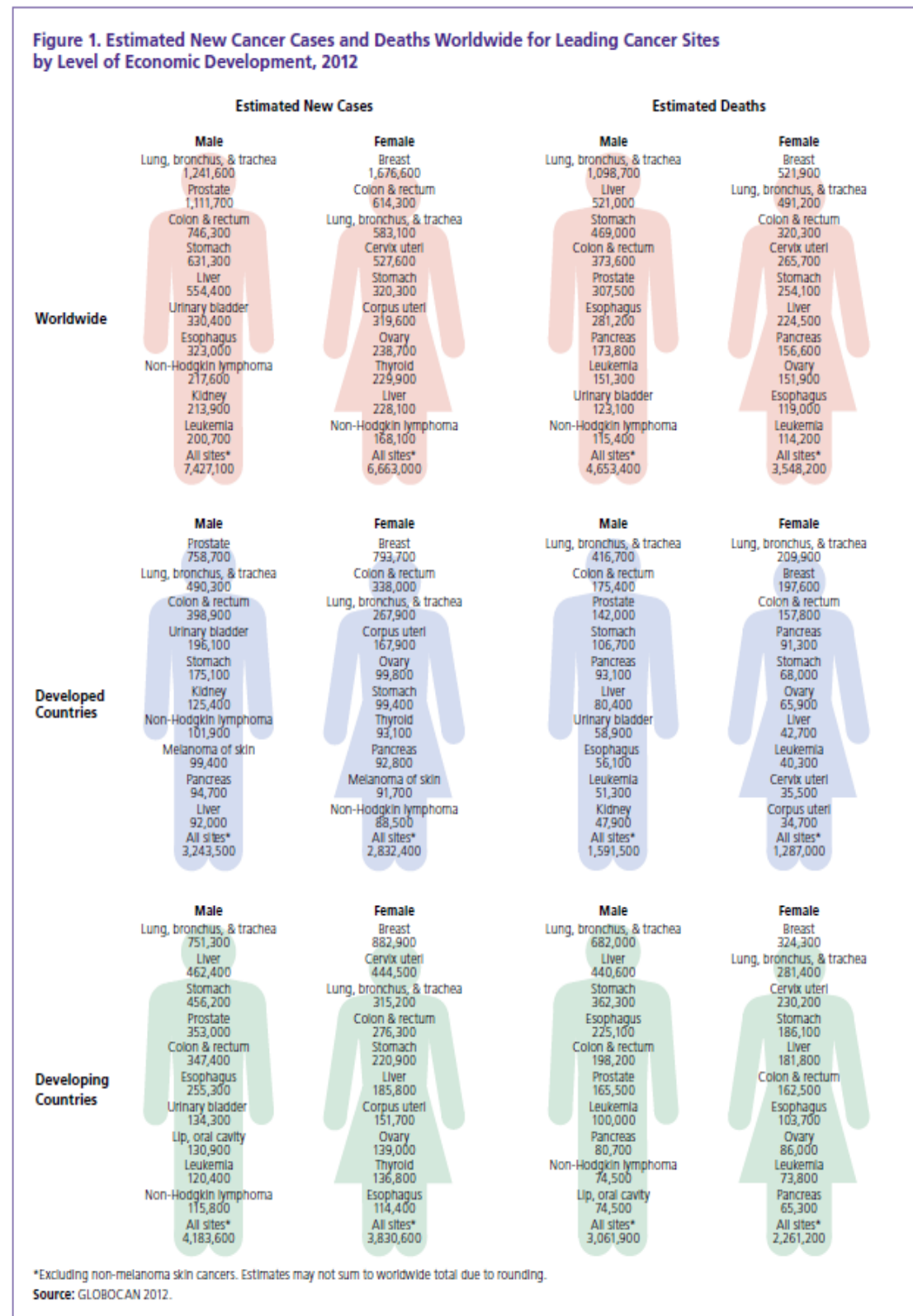
1. Εισαγωγή

1.1 Επιδημιολογία καρκίνου

Ο καρκίνος αποτελεί μία από τις κυριότερες αιτίες νοσηρότητας και θνησιμότητας σε παγκόσμιο επίπεδο, προκαλώντας περισσότερους θανάτους από το AIDS, τη φυματίωση και την ελονοσία συνολικά (WHO Fact Sheet). Όταν μάλιστα οι χώρες κατηγοριοποιηθούν με βάση το εισόδημα, η νόσος αυτή αποτελεί τη 2^η κατά σειρά αιτία θανάτου στις υψηλού οικονομικού εισοδήματος χώρες (προηγούνται τα καρδιαγγειακά νοσήματα) και την 3^η κατά σειρά αιτία θανάτου στις μεσαίου και χαμηλού οικονομικού εισοδήματος χώρες (προηγούνται τα καρδιαγγειακά νοσήματα και οι λοιμώδεις και παρασιτικές ασθένειες). Σύμφωνα με τις εκτιμήσεις του International Agency for Research on Cancer (IARC), το 2012 καταγράφηκαν 14,1 εκατομμύρια νέα περιστατικά καρκίνου παγκοσμίως, εκ των οποίων τα 8 εκατομμύρια προέκυψαν στις οικονομικά αναπτυσσόμενες χώρες που αποτελούν το 82% του παγκόσμιου πληθυσμού. Επιπλέον, επισημαίνεται πως την ίδια χρονιά 8,2 εκατομμύρια άνθρωποι απεβίωσαν εξαιτίας της νόσου (περίπου 22.000 θάνατοι ανά ημέρα), με τα 2,9 εκατομμύρια να καταγράφονται στις οικονομικά ανεπτυγμένες χώρες και τα 5,3 εκατομμύρια στις οικονομικά αναπτυσσόμενες χώρες (**Εικόνα 1.1**) (Ferlay et al., 2013, Ferlay et al., 2014 , Global Cancer Facts and Figures, 2015).

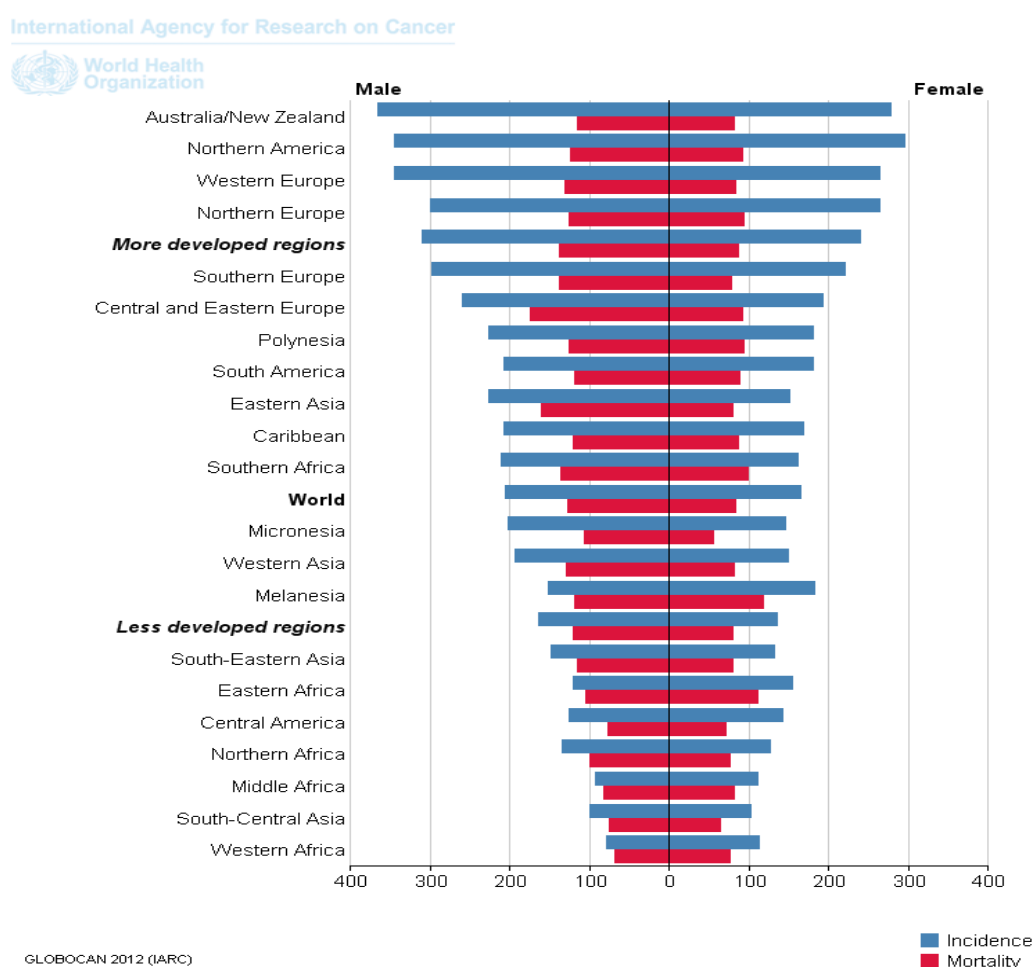
Οι συνολικοί ρυθμοί επίπτωσης προσαρμοσμένοι ως προς την ηλικία (age standardized cancer incidence rates) είναι κατά 25% υψηλότεροι στους άνδρες από ότι στις γυναίκες. Αναλυτικότερα, οι ρυθμοί επίπτωσης για τους άνδρες κυμαίνονται από 79 ανά 100,000 άνδρες στη Δυτική Αφρική έως 365 ανά 100,000 στην Αυστραλία/Νέα Ζηλανδία (**Εικόνα 1.2**). Ωστόσο, η διακύμανση φαίνεται να είναι μικρότερη για τις γυναίκες, με τους ρυθμούς επίπτωσης να κυμαίνονται από 103 ανά 100,000 στη Νότιο-Κεντρική Ασία έως 295 ανά 100,000 στη Βόρεια Αμερική (Ferlay et al., 2013, Ferlay et al., 2014).

Οι πιο συχνά απαντώμενες μορφές καρκίνου ποικίλλουν ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή. Συγκεκριμένα, το 2012, η πιο συχνή μορφή της νόσου μεταξύ των ανδρών στις οικονομικά ανεπτυγμένες χώρες ήταν ο καρκίνος του προστάτη, με εξαίρεση ορισμένες χώρες της Νοτιοανατολικής Ευρώπης (καρκίνος πνεύμονα), τη Σλοβακία (καρκίνος παχέος εντέρου) και την Ιαπωνία (καρκίνος στομάχου) (Global Cancer Facts and Figures, 2015).



Εικόνα 1.1: Εκτιμώμενος αριθμός νέων περιστατικών και θανάτων παγκοσμίως για τις επικρατούσες μορφές καρκίνου ανάλογα με το επίπεδο οικονομικής ανάπτυξης, 2012 (Global Cancer Facts and Figures, 2015)

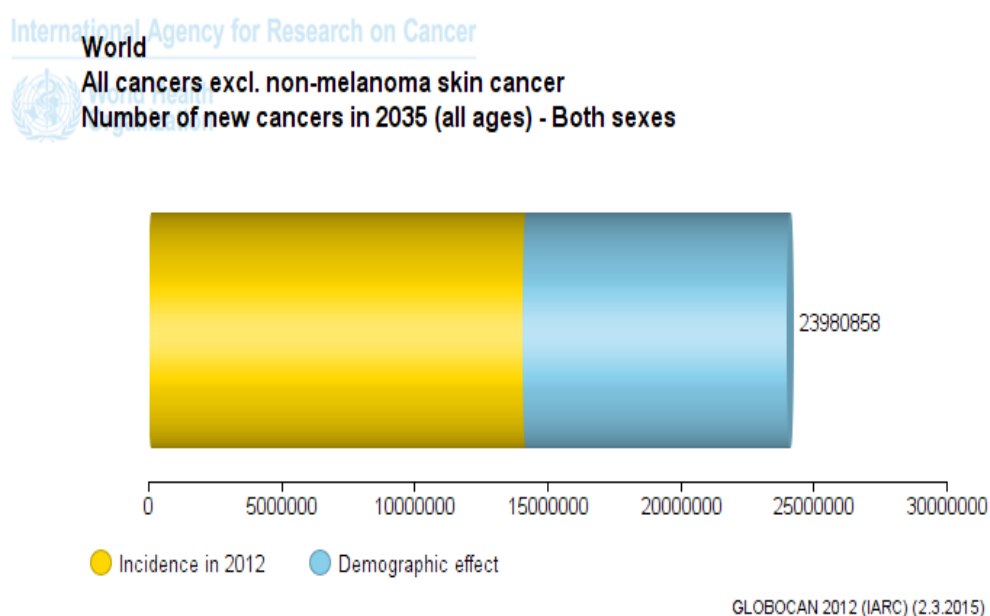
Ο καρκίνος του πνεύμονα μαζί με τον καρκίνο του στομάχου αποτελούν τις πιο συχνά απαντώμενες μορφές της νόσου στην Ασία, ενώ η μεγαλύτερη διακύμανση μεταξύ των ανδρών παρατηρήθηκε στην Αφρική, με τις πιο συχνές μορφές να αποτελούν τον καρκίνο του προστάτη, το ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα, το σάρκωμα Kaposi, τον καρκίνο πνεύμονα, το λέμφωμα non-Hodgkin, τον καρκίνο του παχέος εντέρου, τη λευχαιμία και τον καρκίνο του οισοφάγου ή του στομάχου (Ferlay et al., 2013, Ferlay et al., 2014, Global Cancer Facts and Figures, 2015). Μεταξύ των γυναικών, οι πιο συχνά απαντώμενες μορφές της νόσου ήταν ο καρκίνος του μαστού και ο καρκίνος του τραχήλου της μήτρας, με εξαίρεση την Κίνα και τη Βόρεια Κορέα (καρκίνος πνεύμονα), τη Νότια Κορέα (καρκίνος του θυρεοειδούς), τη Μογγολία και το Λάος (ηπατοκυτταρικό καρκίνωμα).



Εικόνα 1.2: Εκτιμώμενοι ρυθμοί επίπτωσης και θνησιμότητας του καρκίνου σε άνδρες και γυναίκες ανά τον κόσμο (ανά 100,000, προσαρμοσμένοι ως προς την ηλικία), Πηγή: GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer,

<http://globocan.iarc.fr/>

Τα προγνωστικά για τα επόμενα χρόνια επισημαίνουν πως το 2035, ο αριθμός νέων περιστατικών καρκίνου θα ανέρχεται στα 24 εκατομμύρια παγκοσμίως (**Εικόνα 1.3**), ενώ παράλληλα αναμένονται και περίπου 14,6 εκατομμύρια θάνατοι από τη νόσο. Ωστόσο, οι αριθμοί αυτοί μπορούν πιθανότατα να είναι ακόμη μεγαλύτεροι εξαιτίας της υιοθέτησης ενός τρόπου ζωής που φαίνεται να ευνοεί την ανάπτυξη της νόσου και που χαρακτηρίζεται από το κάπνισμα, την κακή ποιότητα στη διατροφή αλλά και την έλλειψη φυσικής δραστηριότητας. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός πως μορφές της νόσου που σχετίζονται με τις παραπάνω συμπεριφορές όπως ο καρκίνος του πνεύμονα, του μαστού αλλά και ο καρκίνος του παχέος εντέρου, γνωρίζουν ήδη ιδιαίτερη ανάπτυξη στις οικονομικά αναπτυσσόμενες χώρες (Global Cancer Facts and Figures, 2015).

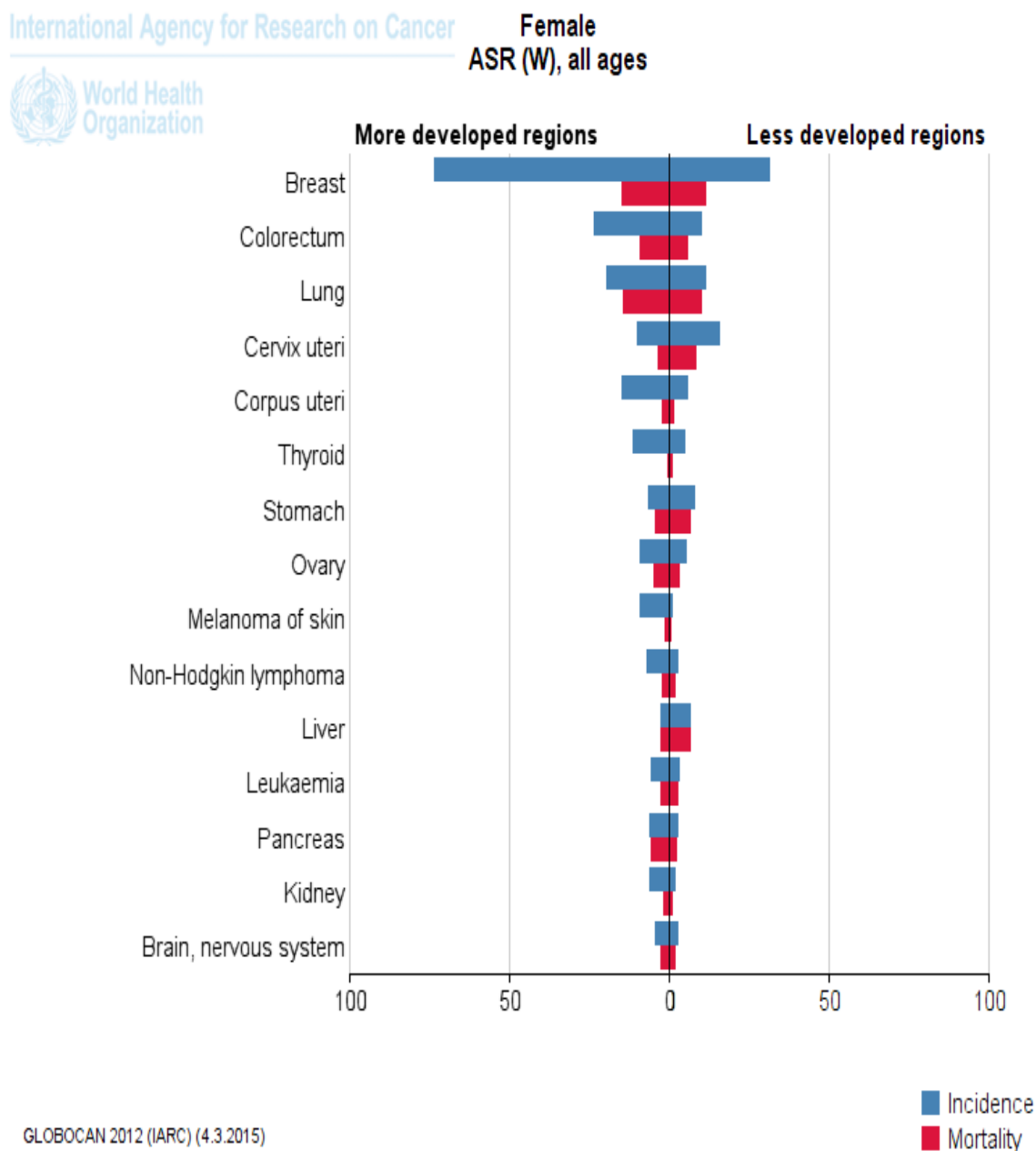


Εικόνα 1.3: Εκτιμώμενος αριθμός νέων περιστατικών καρκίνου (παγκοσμίως) για το 2035 και για τα δύο φύλα, Πηγή: GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer, <http://globocan.iarc.fr/>

1.2 Επιδημιολογία Καρκίνου του Μαστού

Ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τη δεύτερη πιο συχνή μορφή της νόσου παγκοσμίως και την 1^η πιο συχνή διάγνωση μεταξύ των γυναικών. Αν και παλαιότερα θεωρούνταν μία νόσος που χαρακτήριζε τις γυναίκες του Δυτικού κυρίως κόσμου, πλέον αποτελεί

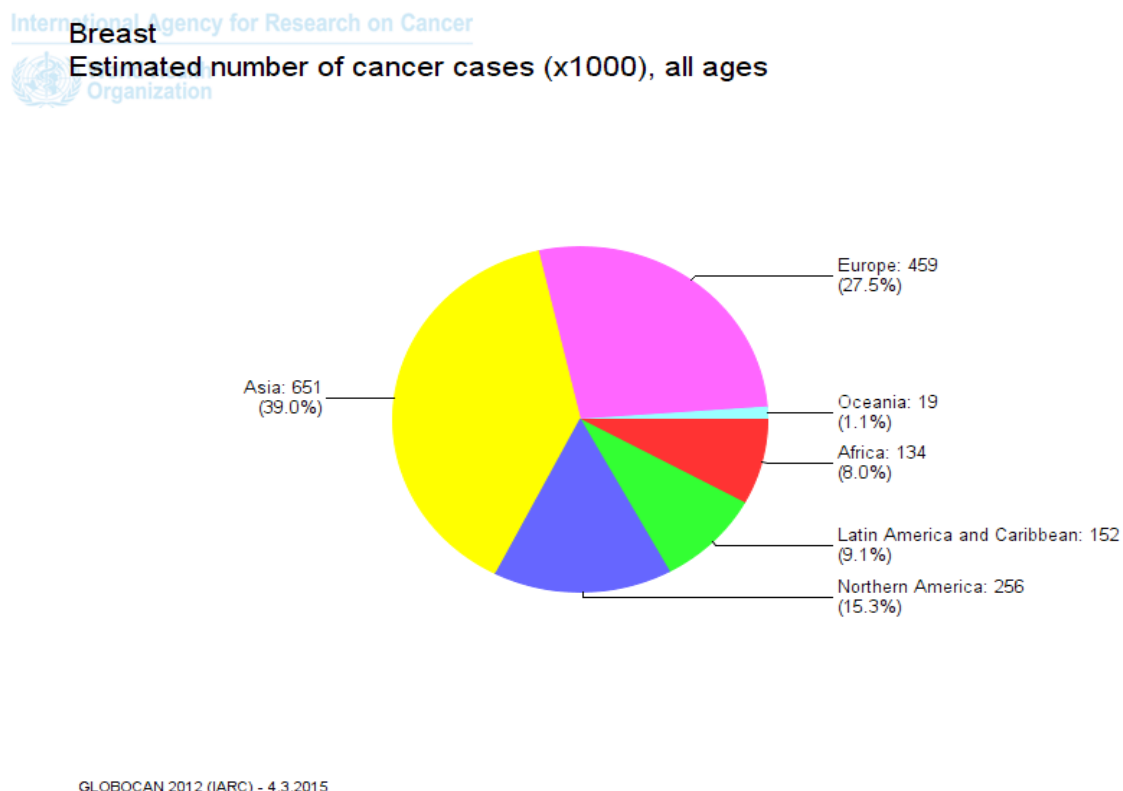
την πιο συχνή διάγνωση μεταξύ των γυναικών τόσο στις οικονομικά ανεπτυγμένες όσο και στις οικονομικά αναπτυσσόμενες περιοχές του κόσμου (**Εικόνα 1.4**), με τις οικονομικά ανεπτυγμένες περιοχές να παρουσιάζουν λίγο μεγαλύτερο αριθμό περιστατικών (883,000 νέα περιστατικά έναντι 794,000 νέα περιστατικά για τις οικονομικά αναπτυσσόμενες περιοχές).



Εικόνα 1.4: Εκτιμώμενοι ρυθμοί επίπτωσης και θνησιμότητας (ανά 100,000 προσαρμοσμένοι ως προς την ηλικία) των 15 πιο συχνά διαγνωσμένων μορφών καρκίνου στις γυναίκες μεταξύ των οικονομικά ανεπτυγμένων και αναπτυσσόμενων περιοχών του κόσμου, Πηγή: GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer, <http://globocan.iarc.fr/>

Ταυτόχρονα ο καρκίνος του μαστού είναι η 5^η αιτία θανάτου από καρκίνο παγκοσμίως (522,000 θάνατοι), και ενώ ήδη αποτελεί την πρώτη αιτία θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες στις οικονομικά αναπτυσσόμενες περιοχές (324,000 θάνατοι, 14,3% του συνόλου) πλέον αποτελεί και τη δεύτερη αιτία θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες στις οικονομικά ανεπτυγμένες περιοχές (198,000 θάνατοι, 15,4% του συνόλου) μετά τον καρκίνο του πνεύμονα (**Εικόνα 1.4**).

Σύμφωνα με το International Agency for Research on Cancer (IARC), το 2012 καταγράφηκαν περίπου 1,7 εκατομμύρια νέα περιστατικά καρκίνου του μαστού (25% όλων των νέων περιστατικών καρκίνου) με κάτι παραπάνω από τα μισά αυτών να παρατηρούνται στις οικονομικά αναπτυσσόμενες χώρες (οι οποίες αντιπροσωπεύουν το 82% του συνολικού πληθυσμού), ενώ 521,900 γυναίκες απεβίωσαν εξαιτίας της νόσου. Στην **Εικόνα 1.5** που ακολουθεί παρουσιάζεται η κατανομή του αριθμού των νέων περιστατικών καρκίνου του μαστού που προέκυψαν το 2012 ανά τον κόσμο, ενώ στην **Εικόνα 1.6** παρουσιάζεται η κατανομή ανά τον κόσμο του αριθμού των θανάτων από τη νόσο για το 2012.

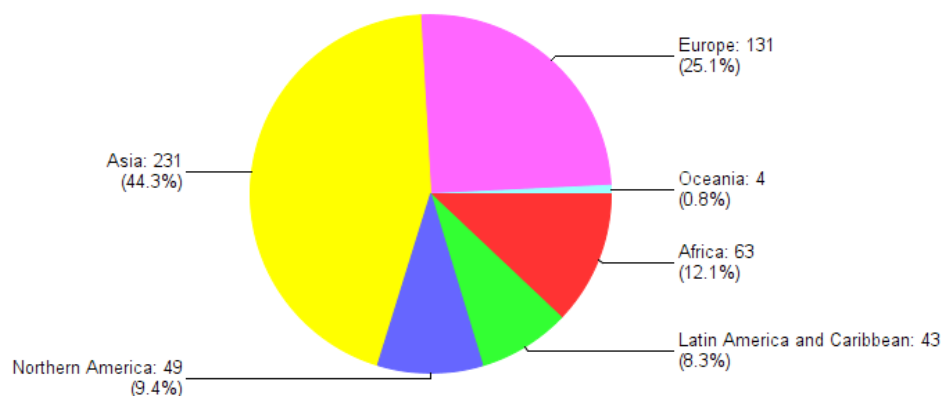


Εικόνα 1.5: Κατανομή του αριθμού των νέων περιστατικών καρκίνου του μαστού ανά τον κόσμο για το 2012 (x 1000, όλες οι ηλικίες), Πηγή: GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer, <http://globocan.iarc.fr/>

Οι Ασιατικές χώρες οι οποίες αντιπροσωπεύουν το 59% του παγκόσμιου πληθυσμού, χαρακτηρίζονται από τα μεγαλύτερα ποσοστά, με το 39% των νέων περιστατικών καρκίνου του μαστού και το 44,3% των θανάτων για το 2012 να καταγράφονται εκεί. Ακολουθεί η Ευρώπη καταλαμβάνοντας το 27,5% των νέων περιστατικών της νόσου και το 25,1% των θανάτων από αυτή, ενώ στη Βόρεια Αμερική (Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής και Καναδάς) αν και αντιπροσωπεύει μόνο το 5% του παγκόσμιου πληθυσμού, καταγράφεται το 15,3% των νέων περιστατικών της νόσου και το 9,4% των θανάτων από αυτή. Αντίθετα, στις Αφρικανικές χώρες (15% του παγκόσμιου πληθυσμού), καταγράφεται μόλις το 8% των νέων περιστατικών καρκίνου του μαστού αλλά και το 12,1% των θανάτων για το 2012, ποσοστό που πιθανότατα οφείλεται αφενός στην κακή πρόγνωση των ασθενών των οποίων η διάγνωση λαμβάνει χώρα σε προχωρημένα στάδια και αφετέρου στη θεραπεία τους η οποία φαίνεται να είναι ελλιπής.

Breast
International Agency for Research on Cancer
Organization

Estimated number of cancer deaths (x1000), all ages



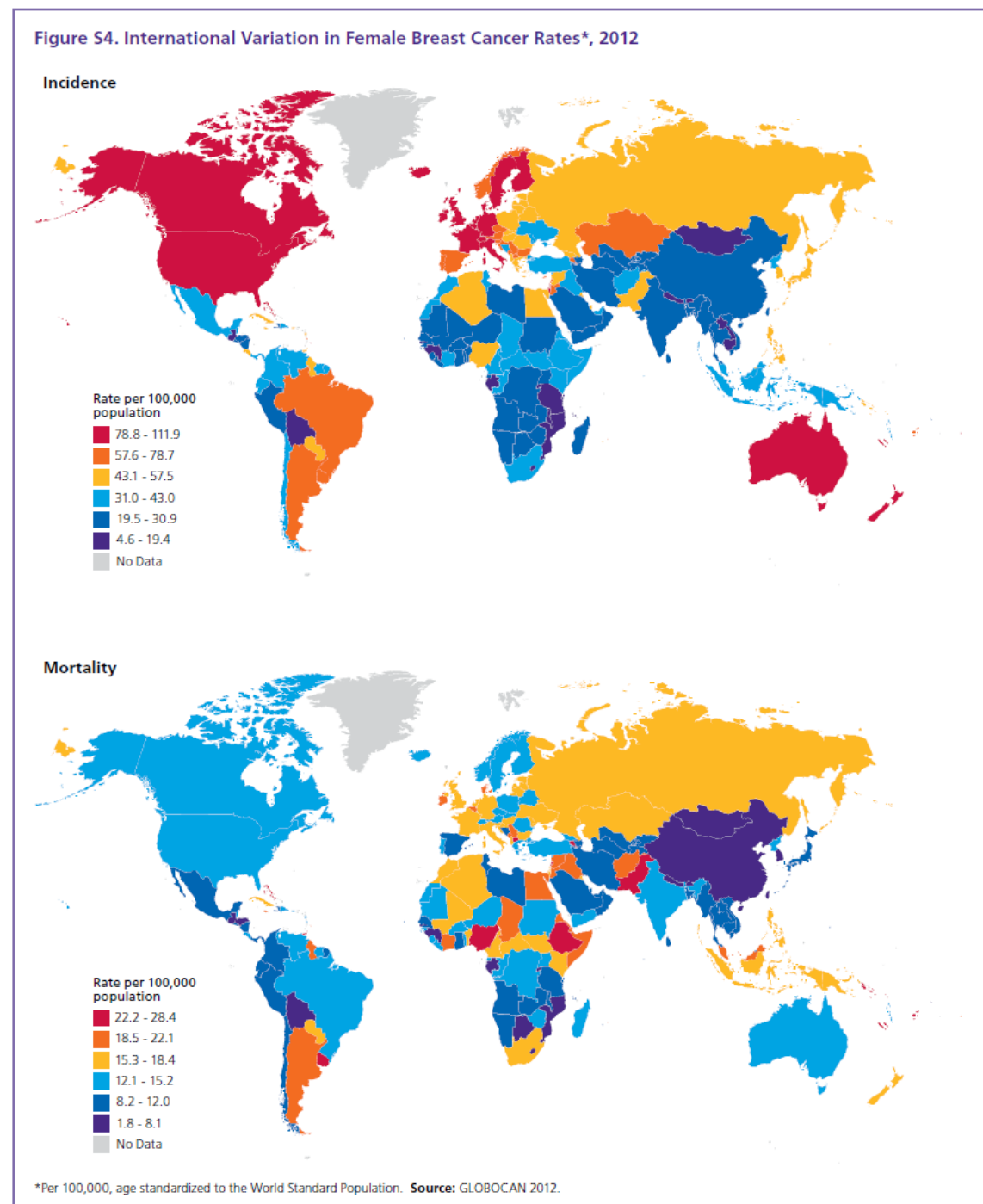
GLOBOCAN 2012 (IARC) - 4.3.2015

Εικόνα 1.6: Κατανομή του αριθμού των θανάτων από καρκίνο του μαστού ανά τον κόσμο για το 2012 (x 1000, όλες οι ηλικίες), Πηγή: GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer, <http://globocan.iarc.fr/>

Οι ρυθμοί επίπτωσης του καρκίνου του μαστού κυμαίνονται από 27 ανά 100,000 γυναίκες στη Μέση Αφρική και την Ανατολική Ασία έως 96 ανά 100,000 στη Δυτική Ευρώπη, με τις υψηλότερες γενικά τιμές να παρατηρούνται στη Βόρεια Αμερική, την Αυστραλία και τη Βόρεια και Δυτική Ευρώπη, ενώ χαμηλότερες τιμές συναντώνται στην υπό-Σαχάρια Αφρική και την Ασία (*Εικόνα 1.7*). Η μεγάλη αυτή διακύμανση ανά τον κόσμο, αντικατοπτρίζει διαφορές μεταξύ των λαών σε παράγοντες σχετικούς με τον τρόπο ζωής (σωματικό βάρος, διατροφή, φυσική δραστηριότητα), παράγοντες σχετικούς με την ύπαρξη ορμονών (πρώιμη εμμηναρχή, λήψη ορμονών μετεμμηνοπαυσιακά, μεγάλη ηλικία κατά την πρώτη κύηση, μικρότερος αριθμός κυήσεων, μειωμένη διάρκεια θηλασμού), καθώς και τη διαθεσιμότητα ή μη έγκαιρων διαγνωστικών προγραμμάτων (Jemal et al., 2011 , Global Cancer Facts and Figures, 2015).

Αντίθετα, οι ρυθμοί θνησιμότητας κυμαίνονται από 6 ανά 100,000 στην Ανατολική Ασία έως 20 ανά 100,000 στη Δυτική Αφρική. Η μικρότερη αυτή διακύμανση, συγκριτικά με εκείνη των ρυθμών επίπτωσης, οφείλεται εν μέρει στα καλύτερα ποσοστά επιβίωσης των γυναικών σε χώρες με υψηλότερους ρυθμούς επίπτωσης (οικονομικά ανεπτυγμένες χώρες) όπου η νόσος διαγιγνώσκεται έγκαιρα, η θεραπεία είναι άμεσα διαθέσιμη σε μεγαλύτερο βαθμό αλλά και περισσότερο αποτελεσματική με την πρόοδο της επιστήμης (Bray et al., 2004, Jemal et al., 2011 , Global Cancer Facts and Figures, 2015).

Στην Ευρώπη, ο καρκίνος του μαστού αποτελεί την πρώτη πιο συχνά απαντώμενη μορφή της νόσου ανεξάρτητα από το φύλο με 458,718 νέα περιστατικά για το 2012 (13,4% των περιστατικών από όλες τις μορφές καρκίνου), και την 3^η αιτία θανάτου από καρκίνο μετά τον καρκίνο του πνεύμονα και του παχέος εντέρου με 131,347 θανάτους για το 2012 (7,5% των θανάτων από όλες τις μορφές καρκίνου). Ωστόσο, στις γυναίκες ο καρκίνος του μαστού, ακολουθώντας τις παγκόσμιες τάσεις, έρχεται πρώτος τόσο ως προς την επίπτωση όσο και ως προς τη θνησιμότητα, όντας υπεύθυνος για το 28,6% των νέων περιστατικών καρκίνου και για το 16,9% των θανάτων από τη νόσο για το 2012 (Ferlay et al., 2013, Ferlay et al., 2014). Όπως επισημάνθηκε και νωρίτερα, στη Δυτική και Βόρεια Ευρώπη εμφανίζονται οι υψηλότερες επιπτώσεις ανά τον κόσμο. Πιο συγκεκριμένα, το Βέλγιο και η Δανία κρατούν τα σκήπτρα με 111,9 και 105 νέα περιστατικά ανά 100,000 γυναίκες αντίστοιχα, ενώ αρκετά υψηλή θέση στους ρυθμούς επίπτωσης κατέχουν η Ιταλία,



Εικόνα 1.7: Γεωγραφική διακύμανση των ρυθμών επίπτωσης και θνησιμότητας του καρκίνου του μαστού (ανά 100,000, προσαρμοσμένοι ως προς την ηλικία), Πηγή:

GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer,

<http://globocan.iarc.fr/>

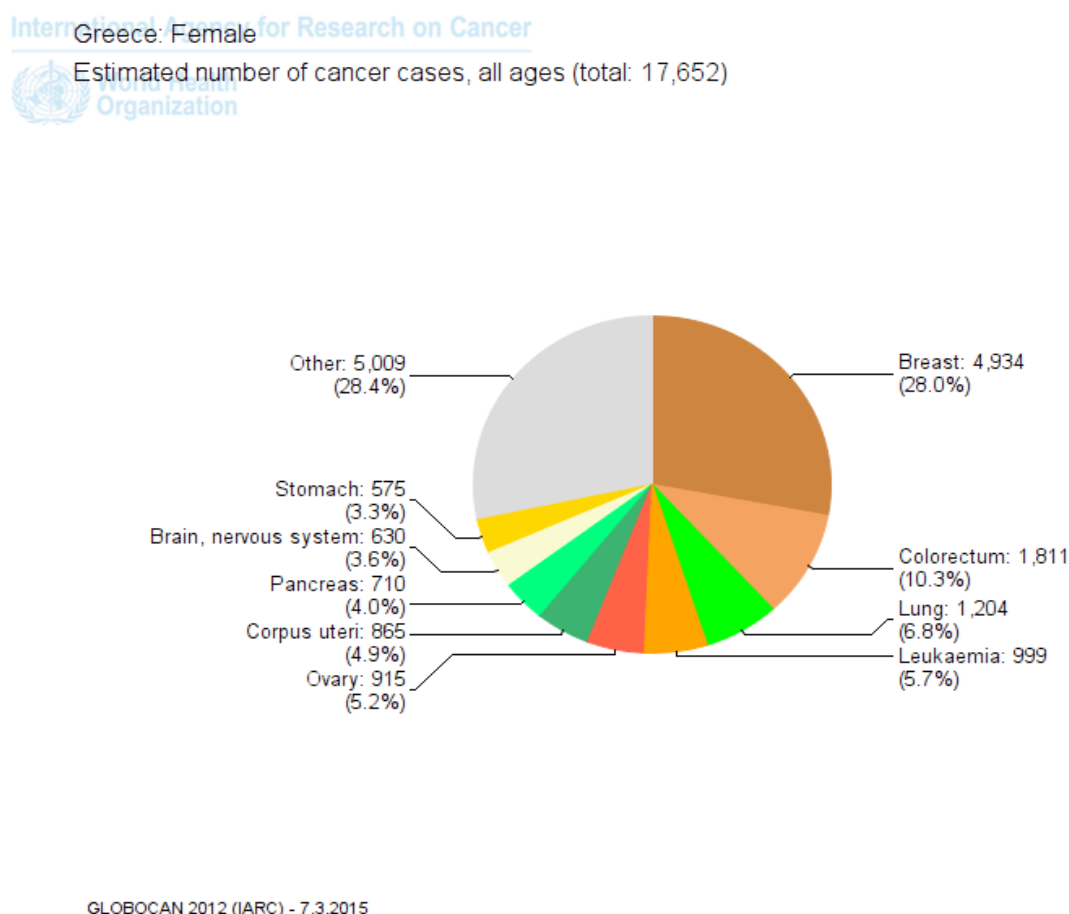
Πίνακας 1.1: Εκτιμώμενοι ρυθμοί επίπτωσης καρκίνου του μαστού στις γυναίκες για όλες τις χώρες της Ευρώπης (ανά 100,000, προσαρμοσμένοι ως προς την ηλικία), Πηγή: GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer, <http://globocan.iarc.fr/>

POPULATION	*Quality	Numbers	Crude Rate	ASR (W)	Cumulative risk
Belgium	A2	10337	188.0	111.9	11.63
Denmark	A2	5224	185.4	105.0	11.53
The Netherlands	A2	13895	165.2	99.0	10.35
Iceland	A1	225	138.1	96.3	10.51
United Kingdom	A1	52399	164.5	95.0	10.15
Ireland	A1	2899	126.8	92.3	9.73
Germany	B2	71623	171.5	91.6	10.00
Italy	B2	50658	162.9	91.3	9.45
France (metropolitan)	B2	48763	149.8	89.7	9.55
Finland	A1	4477	162.9	89.4	9.80
Luxembourg	D2	360	137.0	89.1	9.37
Malta	A1	314	148.7	85.9	8.92
Switzerland	B2	5750	146.4	83.1	9.05
Sweden	A2	6624	139.1	80.4	8.74
Cyprus	A3	604	109.3	78.4	8.30
FYR Macedonia	G3	1152	111.7	76.2	8.21
Norway	A2	2887	116.6	73.1	8.14
Czech Republic	A2	6854	127.5	70.3	7.76
Serbia	B2	5422	109.1	69.0	7.63
Austria	A2	5254	121.9	68.0	7.26
Portugal	C3	6088	110.4	67.6	6.79
Spain	B2	25215	106.6	67.3	6.80
Slovenia	A1	1258	120.8	66.5	7.21
Croatia	A2	2641	116.1	60.9	6.82
Montenegro	G6	261	81.0	59.7	6.23
Bulgaria	A2	3928	102.7	58.5	6.26
Slovakia	A1	2643	93.9	57.5	6.37
Hungary	G1	5094	97.5	54.5	5.91
Albania	G3	1022	63.3	53.9	5.31
Latvia	A1	1145	95.0	52.1	5.76
Poland	C3	17259	87.0	51.9	5.83
Estonia	A1	658	91.2	51.6	5.64
Romania	E1	8981	81.5	50.0	5.44
Lithuania	A1	1479	83.8	48.7	5.37
Belarus	A2	3781	74.1	45.9	5.02
Russian Federation	D2	57502	75.0	45.6	5.06
Greece	G3	4934	85.6	43.9	4.46
Ukraine	A2	16471	67.9	41.3	4.51
Republic of Moldova	G1	1104	59.7	38.7	4.60
Bosnia Herzegovina	D5	1152	59.2	37.4	4.21

η Μάλτα και η Κύπρος αν και ανήκουν στη Νότια Ευρώπη (91,3, 85,9 και 78,4 νέα περιστατικά ανά 100,000 αντίστοιχα) (**Πίνακας 1.1**).

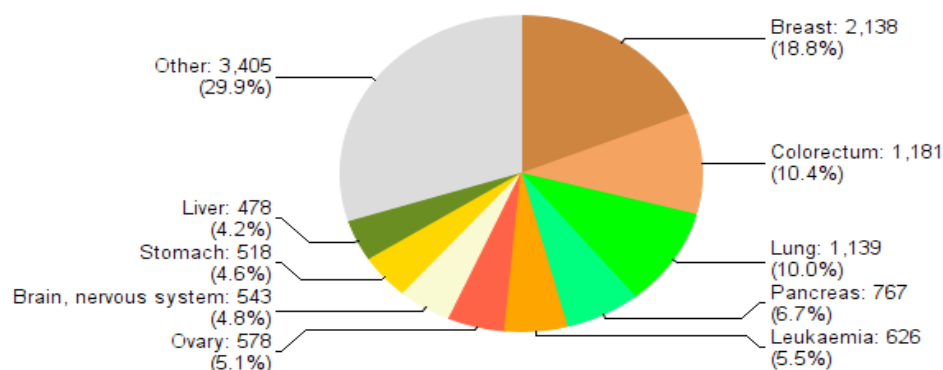
Οι ρυθμοί θνησιμότητας για τον καρκίνο του μαστού στην Ευρώπη κυμαίνονται από 25,5 ανά 100,000 γυναίκες στη FYROM έως 11,8 ανά 100,000 στην Ισπανία, με το Βέλγιο και τη Δανία να παραμένουν και εδώ υψηλά στη λίστα των χωρών (20,3 και 18,8 ανά 100,000 γυναίκες αντίστοιχα) (Ferlay et al., 2013, Ferlay et al., 2014).

Στην Ελλάδα, ο καρκίνος του μαστού αποτελεί τη 2^η πιο συχνά απαντώμενη μορφή της νόσου ανεξάρτητα από το φύλο, μετά τον καρκίνο του πνεύμονα, και την 3^η αιτία θανάτου από τη νόσο μετά τον καρκίνο του πνεύμονα και τους παχέος εντέρου.



Εικόνα 1.8: Κατανομή του αριθμού των νέων περιστατικών καρκίνου στις γυναίκες για το 2012 στην Ελλάδα (όλες οι ηλικίες), Πηγή: GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer, <http://globocan.iarc.fr/>

Estimated number of cancer deaths, all ages (total: 11,373)



GLOBOCAN 2012 (IARC) - 7.3.2015

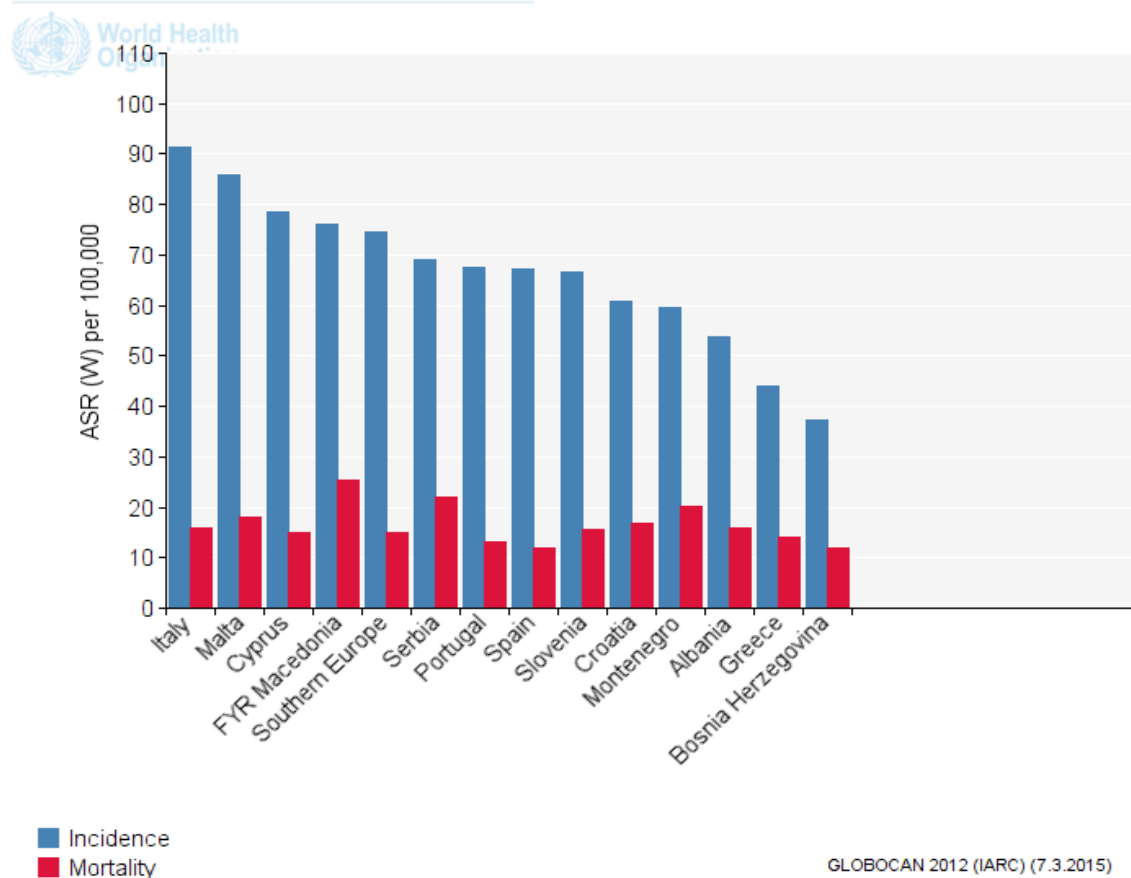
Εικόνα 1.9: Κατανομή του αριθμού των θανάτων από καρκίνο στις γυναίκες για το 2012 στην Ελλάδα (όλες οι ηλικίες), Πηγή: GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer, <http://globocan.iarc.fr/>

Ωστόσο, στις γυναίκες, ακολουθώντας τις παγκόσμιες και Ευρωπαϊκές τάσεις, αποτελεί τόσο την πιο συχνά απαντώμενη μορφή της νόσου με 4,934 νέα περιστατικά για το 2012 (28% των περιστατικών από όλες τις μορφές καρκίνου) (**Εικόνα 1.8**) όσο και την πιο συχνή αιτία θανάτου από τη νόσο με 2,138 θανάτους στις γυναίκες την ίδια χρονιά (18,8% των θανάτων από όλες τις μορφές της νόσου) (**Εικόνα 1.9**).

Η Ελλάδα έχει την 4^η κατά σειρά χαμηλότερη επίπτωση σε ολόκληρη την Ευρώπη με 43,9 νέα περιστατικά ανά 100,000 (**Πίνακας 1.1**) και τη 2^η κατά σειρά χαμηλότερη επίπτωση στη Νότια Ευρώπη, όντας χαμηλότερα από τις άλλες χώρες της Μεσογείου όπως η Ιταλία, η Μάλτα, η Κύπρος, η Πορτογαλία και η Ισπανία (**Εικόνα 1.10**). Επιπλέον, παρουσιάζει τη 12^η κατά σειρά χαμηλότερη θνησιμότητα σε ολόκληρη την Ευρώπη με 14,1 θανάτους ανά 100,000 γυναίκες και την 4^η κατά σειρά χαμηλότερη επίπτωση στη Νότια Ευρώπη όντας αυτή τη φορά υψηλότερα από ορισμένες χώρες της Μεσογείου όπως η Πορτογαλία αλλά και η Ισπανία στην οποία

καταγράφεται ο μικρότερος ρυθμός θνησιμότητας σε όλη την Ευρώπη (11,8 θάνατοι ανά 100,000 γυναίκες).

International Agency for Research on Cancer Breast, all ages



Εικόνα 1.10: Εκτιμώμενοι ρυθμοί επίπτωσης και θνησιμότητας καρκίνου του μαστού στις γυναίκες για τις χώρες της Νότιας Ευρώπης (ανά 100,000, προσαρμοσμένοι ως προς την ηλικία), Πηγή: GLOBOCAN 2012, International Agency for Research on Cancer, <http://globocan.iarc.fr/>

1.2.1. Παράγοντες κινδύνου

Η ραγδαία αυξανόμενη επίπτωση του καρκίνου του μαστού τις τελευταίες δεκαετίες ενισχύει την υπόθεση πως οι παράγοντες που καθορίζουν τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου έχουν αλλάξει. Εν μέρει, η αλλαγή αυτή μπορεί να αποδοθεί στον «παραγκωνισμό» ορισμένων προστατευτικών παραγόντων (π.χ. τεκνοποίηση, νεαρή ηλικία κατά την πρώτη κύηση) από ένα μεγάλο ποσοστό των γυναικών, αλλά και στην επικράτηση παραγόντων που φαίνεται να αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (π.χ. παχυσαρκία, μειωμένη φυσική δραστηριότητα, λήψη ορμονών). Πολλοί

από τους γνωστούς παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού όπως η ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού, η πρώιμη εμμηναρχή και η καθυστερημένη εμμηνόπαυση είναι μη τροποποιήσιμοι γεγονός που σημαίνει πως δε μπορεί να υπάρξει παρέμβαση ώστε να μεταβληθούν. Αντίθετα, παράγοντες όπως η παχυσαρκία, η συνδυασμένη λήψη οιστρογόνων και προγεστερόνης, το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ θεωρούνται τροποποιήσιμοι. Ακολουθεί αναφορά των βασικότερων παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού (**Πίνακας 1.2**) αλλά και ορισμένων παραγόντων που μπορεί να συμβάλλουν στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης της νόσου.

Πίνακας 1.2: Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013)

Table 4. Factors That Increase the Relative Risk for Breast Cancer in Women	
Relative Risk	Factor
>4.0	• Age (65+ vs. <65 years, although risk increases across all ages until age 80) • Biopsy-confirmed atypical hyperplasia • Certain inherited genetic mutations for breast cancer (<i>BRCA1</i> and/or <i>BRCA2</i>) • Lobular carcinoma in situ • Mammographically dense breasts • Personal history of early onset (<40 years) breast cancer • Two or more first-degree relatives with breast cancer diagnosed at an early age
2.1-4.0	• Personal history of breast cancer (40+ years) • High endogenous estrogen or testosterone levels (postmenopausal) • High-dose radiation to chest • One first-degree relative with breast cancer
1.1-2.0	• Alcohol consumption • Ashkenazi (Eastern European) Jewish heritage • Diethylstilbestrol (DES) exposure • Early menarche (<12 years) • Height (tall) • High socioeconomic status • Late age at first full-term pregnancy (>30 years) • Late menopause (>55 years) • Never breastfed a child • No full-term pregnancies • Obesity (postmenopausal)/adult weight gain • Personal history of endometrium, ovary, or colon cancer • Recent and long-term use of menopausal hormone therapy containing estrogen and progestin • Recent oral contraceptive use

Ηλικία

Η ηλικία αποτελεί τον ισχυρότερο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού στις γυναίκες. Η επίπτωση της νόσου αυξάνεται ραγδαία με την ηλικία, με το μεγαλύτερο ρυθμό αύξησης να παρατηρείται στις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά, όπου ο κίνδυνος διπλασιάζεται για κάθε δεκαετία της ζωής έως τα 80 έτη. Η μείωση της επίπτωσης μετά την ηλικία των 80 ετών πιθανότατα αντικατοπτρίζει τα χαμηλά ποσοστά στο check-up των γυναικών γεγονός που οδηγεί και σε ελλιπή διάγνωση της νόσου (WCRF/AICR, Stuckey, 2011 , Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, American Cancer Society 2014).

Ατομικό και Οικογενειακό Ιστορικό

Οικογενειακό Ιστορικό Καρκίνου του μαστού

Γυναίκες με οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού ιδιαίτερα σε συγγενή πρώτου βαθμού (μητέρα, αδερφή, κόρη) παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (WCRF/AICR, Stuckey, 2011 , Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, American Cancer Society 2014). Ο κίνδυνος μάλιστα αυτός είναι υψηλότερος όταν στην οικογένεια υπάρχουν περισσότεροι του ενός συγγενείς πρώτου βαθμού που έχουν εμφανίσει τη νόσο. Πιο συγκεκριμένα, συγκριτικά με γυναίκες χωρίς οικογενειακό ιστορικό, ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου είναι 1,8 φορές υψηλότερος για τις γυναίκες με μία συγγενή πρώτου βαθμού στην οποία έχει τεθεί η διάγνωση, σχεδόν 3 φορές υψηλότερος για γυναίκες με 2 συγγενείς και σχεδόν 4 φορές υψηλότερος για γυναίκες με 3 ή περισσότερες συγγενείς πρώτου βαθμού. Επιπλέον, αξίζει να σημειωθεί πως ο κίνδυνος φαίνεται να είναι ακόμη υψηλότερος στις περιπτώσεις εκείνες όπου η διάγνωση της νόσου σε συγγενή πρώτου βαθμού τέθηκε σε νεαρή ηλικία (διάγνωση σε ηλικία μικρότερη των 40 ετών) (WCRF/AICR, Stuckey, 2011 , Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, American Cancer Society 2014).

Στο σημείο αυτό είναι σημαντικό να επισημάνουμε πως η πλειονότητα των γυναικών με 1 ή περισσότερους συγγενείς πρώτου βαθμού με καρκίνο του μαστού δε θα εμφανίσουν ποτέ τη νόσο, ενώ αρκετές από τις γυναίκες που τελικά νοσούν δε φαίνεται να έχουν οικογενειακό ιστορικό της νόσου. Τέλος, και το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου των ωοθηκών φαίνεται να σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013).

Γενετική Προδιάθεση

Εκτιμάται ότι το 5-10% όλων των περιστατικών καρκίνου του μαστού οφείλονται σε κληρονομούμενες μεταλλάξεις. Μεταξύ αυτών, οι μεταλλάξεις που σχετίζονται με τα γονίδια BRCA1 και BRCA2 φαίνεται να συναντώνται στην πλειοψηφία των κληρονομούμενων περιστατικών καρκίνου του μαστού. Οι μεταλλάξεις αυτές είναι παρούσες σε λιγότερο από το 1% του γενικού πληθυσμού, ωστόσο συναντώνται πιο συχνά σε συγκεκριμένες εθνικότητες όπως αυτή των Ashkenazi Jewish descent (Ανατολική Ευρώπη). Για το λόγο αυτό, ανάλογα με τον πληθυσμό που μελετάται, η διακύμανση του κινδύνου εμφάνισης της νόσου σε γυναίκες με αυτές τις μεταλλάξεις ποικίλει. Πιο συγκεκριμένα, μέχρι την ηλικία των 70 ετών, το 44% έως 78% των γυναικών με μεταλλάξεις στο BRCA1 και το 31% έως το 56% των γυναικών με μεταλλάξεις στο BRCA2 φαίνεται πως θα εμφανίσουν τη νόσο (WCRF/AICR, Stuckey, 2011 , Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, American Cancer Society 2014).

Αρκετά ακόμη γονίδια φαίνεται να σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Συγκεκριμένα, γυναίκες που πάσχουν από το σπάνιο σύνδρομο *Li-Fraumeni* παρουσιάζουν πολύ αυξημένο κίνδυνο πρόωρης εμφάνισης καρκίνου του μαστού αλλά και άλλων καρκίνων (όγκοι εγκεφάλου, σάρκωμα, λευχαιμία, καρκίνος πνεύμονα), γεγονός που οφείλεται σε μεταλλάξεις στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο *p53*. Ωστόσο, ο αριθμός των περιστατικών καρκίνου του μαστού που οφείλονται στο ανωτέρω σύνδρομο είναι μικρός, γεγονός που αποδίδεται στα χαμηλά ποσοστά εμφάνισης του συνδρόμου αυτού (WCRF/AICR, Stuckey, 2011 , American Cancer Society 2014). Επιπρόσθετα, γυναίκες ομοζυγότες ως προς το πολύ σπάνιο *ATM (ataxia telangiectasia gene)* γονίδιο εμφανίζουν περίπου 100 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση διαφόρων μορφών καρκίνου συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού. Ο αριθμός των ετεροζυγωτών είναι ακόμη μεγαλύτερος, περίπου το 1% του πληθυσμού, και οι γυναίκες αυτές παρουσιάζουν περίπου τετραπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Τέλος, περίπου το 50% των γυναικών που πάσχουν από τη νόσο Cowden, εμφανίζουν δηλαδή μετάλλαξη στο ογκοκατασταλτικό γονίδιο *PTEN*, θα εμφανίσουν τη νόσο μέχρι την ηλικία των 50 ετών (WCRF/AICR, Stuckey, 2011 , American Cancer Society 2014).

Ατομικό ιστορικό καρκίνου του μαστού

Γυναίκες με ατομικό ιστορικό καρκίνου του μαστού παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου για δεύτερη φορά. Ο κίνδυνος μάλιστα φαίνεται πως είναι υψηλότερος όταν η πρώτη διάγνωση έχει τεθεί σε νεαρή ηλικία. Πιο συγκεκριμένα, γυναίκες των οποίων η διάγνωση έλαβε χώρα σε ηλικία μικρότερη των 40 ετών εμφανίζουν τον υψηλότερο κίνδυνο, ενώ οι νεαρότερες γενικά γυναίκες εμφανίζουν 3 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο για την εμφάνιση οποιασδήποτε μορφής της νόσου μελλοντικά και 4,5 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο να νοσήσουν ξανά από καρκίνο του μαστού (Stuckey, 2011, Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013). Επιπρόσθετα, η γενετική προδιάθεση, όπως μεταλλάξεις στα γονίδια BRCA1 και BRCA2, πιθανότατα συμβάλλει στην ενίσχυση του κινδύνου για επανεμφάνιση της νόσου (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013), ενώ ατομικό ιστορικό καρκίνου των ωοθηκών και καρκίνου του ενδομητρίου αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Stuckey, 2011).

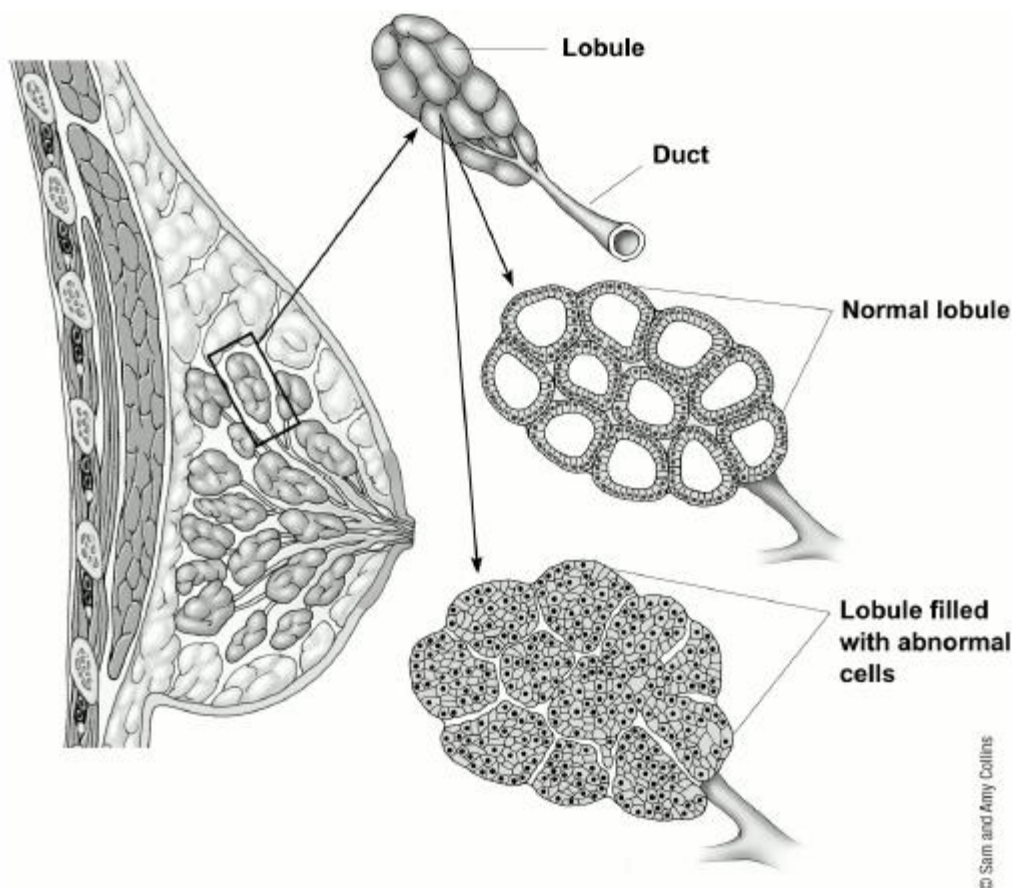
Λοβιακό καρκίνωμα in situ (LCIS)

Το LCIS (Lobular carcinoma in situ) χαρακτηρίζεται από μη φυσιολογικά κύτταρα που σχηματίζονται στους λοβούς του μαστού όπου λαμβάνει χώρα η παραγωγή γάλακτος (**Εικόνα 1.11**). Αν και η συγκεκριμένη κατάσταση σπανίως οδηγεί σε επιθετική μορφή της νόσου, ωστόσο οι γυναίκες με LCIS έχουν 7 με 11 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να εμφανίσουν διηθητικό καρκίνο σε οποιοδήποτε μαστό. Το LCIS δεν είναι συνήθως εμφανές στη μαστογραφία αλλά η διάγνωσή του προκύπτει μετά από κάποια βιοψία που διενεργείται για άλλο λόγο (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013).

Καλοήθεις παθήσεις του μαστού

Ήδη από τη δεκαετία του 1950 οι ερευνητές έχουν καταλήξει στο ότι ορισμένες καλοήθεις παθήσεις του μαστού μπορεί να σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Συνήθως η ιατρική κοινότητα εντάσσει αυτές τις παθήσεις σε 3 κατηγορίες ανάλογα με το πόσο μπορεί να επηρεάζουν τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου: μη παραγωγικές βλάβες (nonproliferative lesions), υπερπλαστικές αλλοιώσεις χωρίς ατυπία (proliferative lesions without atypia) και υπερπλαστικές αλλοιώσεις με ατυπία (proliferative lesions with atypia). Οι μη παραγωγικές βλάβες δε συνδέονται με την υπερβολική ανάπτυξη των ιστών του μαστού, φαίνεται να σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού από ελάχιστα έως καθόλου, ενώ

περιλαμβάνουν τις εξής καταστάσεις: ίνωση, απλές κύστεις, ήπια υπερπλασία, αδένωση (μη σκληρυντική), πορεκτασία, φυλλοειδής όγκος (καλοήθης), μονήρες θήλωμα, λιπώδης νέκρωση, μαστίτιδα, απλό ιναδένωμα και άλλους καλοήθεις όγκους του μαστού (λίπωμα, αμάρτωμα, αιμαγγείωμα, νευροϊνωμα) (American Cancer Society 2014).



Εικόνα 1.11: Λοβιακό καρκίνωμα in situ (LCIS), Πηγή: American Cancer Society, <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003090-pdf.pdf>

Οι υπερπλαστικές αλλοιώσεις χωρίς ατυπία χαρακτηρίζονται από υπερβολική ανάπτυξη των κυττάρων στους πόρους ή τα λοβία του ιστού του μαστού, ενώ φαίνεται πως αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού 1,5-2 φορές συγκριτικά με τις γυναίκες που δεν εμφανίζουν υπερπλαστικές αλλοιώσεις χωρίς ατυπία. Περιλαμβάνουν τη συνήθη πορογενή υπερπλασία, το σύνθετο ιναδένωμα, τη σκληρυντική αδένωση, τα πολυάριθμα θηλώματα (θηλωμάτωση) και την ακτινική ουλή (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013; American Cancer Society

2014). Ολοκληρώνοντας, οι υπερπλαστικές αλλοιώσεις με ατυπία σχετίζονται με τον υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, ο οποίος στις παθήσεις αυτές φαίνεται πως είναι 4-5 φορές μεγαλύτερος από ότι στον μέσο όρο. Οι υπερπλαστικές αλλοιώσεις με ατυπία χαρακτηρίζονται από υπερβολική αύξηση των κυττάρων στους πόρους ή τα λοβία του ιστού του μαστού, ενώ περιλαμβάνουν την άτυπη υπερπλασία των πόρων (atypical ductal hyperplasia – ADH) καθώς και την άτυπη λοβιακή υπερπλασία (atypical lobular hyperplasia – ALH) (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013; American Cancer Society 2014).

Πυκνότητα Μαστού

Η πυκνότητα του μαστού αποτελεί ένα δείκτη της αναλογίας του συνδετικού ιστού σε σχέση με το λιπώδη ιστό που υπάρχει στο μαστό. Έτσι, στην περίπτωση όπου ο συνδετικός ιστός υπερέχει έναντι του λιπώδους ιστού η μαστογραφία μας δίνει την εικόνα αυξημένης πυκνότητας του μαστού, γεγονός που φαίνεται να αποτελεί έναν ισχυρό ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, γυναίκες με πολύ αυξημένη πυκνότητα μαστού παρουσιάζουν 4 με 6 φορές μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου συγκριτικά με γυναίκες με λιγότερο πυκνούς μαστούς (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013; American Cancer Society 2014).

Μία πληθώρα παραγόντων μπορούν να επηρεάσουν την πυκνότητα του μαστού όπως η ηλικία, η κατάσταση εμμηνόπαυσης, η χρήση συγκεκριμένων φαρμάκων (ορμονική θεραπεία κατά την εμμηνόπαυση), η εγκυμοσύνη αλλά και γενετικοί παράγοντες. Πράγματι, η πυκνότητα του μαστού επηρεάζεται από κληρονομούμενους γενετικούς παράγοντες αλλά μειώνεται με την ηλικία και ακόμη περισσότερο με την κύηση και την εμμηνόπαυση. Επιπλέον, ο δείκτης αυτός φαίνεται ότι είναι γενικά χαμηλότερος μεταξύ γυναικών με υψηλότερο σωματικό βάρος λόγω του μεγαλύτερου ποσοστού του λιπώδους ιστού. Ορισμένα φάρμακα επίσης επηρεάζουν την πυκνότητα του μαστού όπως η ταμοξιφαίνη (μειώνει την πυκνότητα) αλλά και η συνδυασμένη ορμονοθεραπεία κατά την εμμηνόπαυση (αυξάνει την πυκνότητα) (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013; American Cancer Society 2014).

Ορμόνες και Παράγοντες σχετιζόμενοι με την αναπαραγωγή

Εμμηνος Ρύση (Εμμηναρχή και Εμμηνόπαυση)

Η πρόωγη εμμηναρχή (έναρξη εμμήνου ρύσεως πριν την ηλικία των 12 ετών) και/ή η καθυστερημένη εμμηνόπαυση (εμμηνόπαυση μετά την ηλικία των 55 ετών) φαίνεται πως αποτελούν παράγοντες που μπορούν να αυξήσουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στη μακροχρόνια έκθεση των γυναικών στις ορμόνες του οργανισμού όπως είναι τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη (WCRF/AICR, Stuckey, 2011 , Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, American Cancer Society 2014, Global Cancer Facts and Figures, 2015).

Κύηση

Η νεαρή ηλικία κατά την πρώτη τελειόμηνη κύηση (ηλικία μικρότερη των 30 ετών) καθώς και ο αυξημένος αριθμός κυήσεων σχετίζονται συνολικά με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Ωστόσο, αξίζει να σημειώσουμε πως η μείωση αυτή του κινδύνου δεν είναι άμεση. Πιο συγκεκριμένα, φαίνεται πως υπάρχει μια παροδική αύξηση του κινδύνου για τα πρώτα 5 με 10 έτη που ακολουθούν μια τελειόμηνη κύηση, ιδιαίτερα στις γυναίκες εκείνες που κυοφορούν για πρώτη φορά μετά την ηλικία των 30 ετών (Stuckey, 2011, WCRF/AICR, 2010 , Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, American Cancer Society 2014, Global Cancer Facts and Figures, 2015).

Θηλασμός

Σύμφωνα με την πιο πρόσφατη αναφορά των World Cancer Research Fund (WCRF) και American Institute for Cancer Research (AICR) τα δεδομένα για το ότι ο θηλασμός προστατεύει έναντι του καρκίνου του μαστού τόσο προεμμηνοπαυσιακά όσο και μετεμμηνοπαυσιακά είναι «πειστικά» (WCRF/AICR, 2010). Πράγματι τα δεδομένα των περισσότερων μελετών συνάδουν στο ότι ο θηλασμός για ένα χρόνο ή περισσότερο μειώνει ελαφρώς τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, ενώ η μεγαλύτερη διάρκεια φαίνεται πως μειώνει ακόμη περισσότερο τον κίνδυνο (Stuckey, 2011 , Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, Global Cancer Facts and Figures, 2015). Ο θηλασμός σχετίζεται με αυξημένη διαφοροποίηση των κυττάρων του μαστού καθώς και με μειωμένη έκθεση της γυναίκας στις ορμόνες του οργανισμού κατά το διάστημα της αμηνόρροιας που συνοδεύει το θηλασμό. Επιπρόσθετα, ένας ακόμη πιθανός μηχανισμός φαίνεται να σχετίζεται με τις δομικές

αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στο μαστό μετά τη γαλουχία και τον απογαλακτισμό (WCRF/AICR, 2010 , Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013).

Εξωγενείς Ορμόνες

Αντισυλληπτικά Δισκία

Οι ορμόνες που φυσιολογικά υπάρχουν στον γυναικείο οργανισμό (οιστρογόνα και προγεστερόνη) έχει φανεί πως μπορεί να σχετίζονται με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Υπό το πρίσμα αυτό, και λαμβάνοντας υπόψη πως τα αντισυλληπτικά χάπια περιέχουν τις ορμόνες αυτές, υποστηρίζεται πως η πρόσφατη χρήση τους πιθανότατα αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού κατά 10% έως 30% στις γυναίκες που τα χρησιμοποιούν συγκριτικά με γυναίκες που δεν ακολουθούν αντίστοιχη αγωγή. Αντίθετα, γυναίκες που έχουν διακόψει τη χρήση των δισκίων για 10 ή και περισσότερα έτη αντιμετωπίζουν τον ίδιο κίνδυνο με γυναίκες που δεν έλαβαν ποτέ αντισυλληπτική αγωγή (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, American Cancer Society 2014, Global Cancer Facts and Figures, 2015).

Ορμονοθεραπεία Μετεμμηνοπαυσιακά

Η ορμονοθεραπεία με οιστρογόνα (συχνά συνδυασμένη με προγεστερόνη) εφαρμόζεται εδώ και χρόνια ως μέθοδος αντιμετώπισης των συμπτωμάτων της εμμηνόπαυσης, αλλά και προκειμένου να προληφθεί η οστεοπόρωση. Στις γυναίκες που υπάρχει ακόμη η μήτρα οι γιατροί επιλέγουν τη χορήγηση οιστρογόνων μαζί με προγεστερόνη (συνδυασμένη ορμονοθεραπεία – combined hormone therapy) ενώ σε εκείνες που έχουν υποβληθεί σε υστερεκτομή χορηγούνται μόνο οιστρογόνα (estrogen therapy) (American Cancer Society 2014).

Η πλειονότητα των μελετών που έχουν διεξαχθεί τα τελευταία έτη καταλήγει στο ότι η πρόσφατη αγωγή με συνδυασμένη ορμονοθεραπεία αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού στις γυναίκες. Ο κίνδυνος αυτός αυξάνεται όσο μεγαλώνει η διάρκεια της θεραπείας, ενώ είναι υψηλότερος για τις γυναίκες που υποβάλλονται σε αγωγή με την έναρξη της εμμηνόπαυσης συγκριτικά με εκείνες των οποίων η αγωγή ξεκινά αργότερα. Ωστόσο, ο κίνδυνος εμφάνισης της νόσου φαίνεται πως μειώνεται μέσα σε 5 έτη από τη διακοπή της ορμονοθεραπείας (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, Global Cancer Facts and Figures, 2015).

Παράγοντες σχετιζόμενοι με τον τρόπο ζωής

Παχυσαρκία

Στην πιο πρόσφατη αναφορά τους το 2010, το World Cancer Research Fund (WCRF) και το International Agency for Research on Cancer (IACR) κατέληξαν πως το υπερβάλλον σωματικό λίπος φαίνεται πως αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού στις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά, και τα δεδομένα για τον ισχυρισμό αυτό είναι «πειστικά» (WCRF/AICR, 2010). Πράγματι, ο κίνδυνος φαίνεται πως είναι 1,5 φορές υψηλότερος για τις υπέρβαρες γυναίκες και 2 φορές υψηλότερος για τις παχύσαρκες γυναίκες συγκριτικά με εκείνες που είναι φυσιολογικού βάρους (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, Global Cancer Facts and Figures, 2015). Το γεγονός αυτό αποδίδεται στο ότι το υπερβάλλον σωματικό λίπος επηρεάζει άμεσα τα επίπεδα των ορμονών που κυκλοφορούν στο γυναικείο σώμα όπως η ινσουλίνη, οι ινσουλινομιμητικοί αυξητικοί παράγοντες, αλλά και τα οιστρογόνα, τα οποία μετεμμηνοπαυσιακά (λόγω της έλλειψης των ωοθηκών) προέρχονται κυρίως από τον λιπώδη ιστό. Η έκκριση των ορμονών αυτών δημιουργεί ένα περιβάλλον που φαίνεται πως ευνοεί την καρκινογένεση και όχι την απόπτωση των κυττάρων, ενισχύοντας παράλληλα τη φλεγμονώδη απόκριση του σώματος, η οποία μπορεί να συμβάλλει στην έναρξη αλλά και την εξέλιξη διαφόρων μορφών καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού (WCRF/AICR, 2010).

Αντίθετα με την περίοδο της εμμηνόπαυσης, το υπερβάλλον σωματικό λίπος πιθανότατα λειτουργεί προστατευτικά έναντι της νόσου για τις γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά. Σε μία πρόσφατη μετα-ανάλυση μεταξύ γυναικών ηλικίας 40-49 ετών, οι ερευνητές παρατήρησαν πως οι υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες παρουσίαζαν αντίστοιχα 14% και 26% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού συγκριτικά με τις γυναίκες φυσιολογικού βάρους (Nelson et al., 2012). Παράλληλα, μία συστηματική ανασκόπηση μελετών στις οποίες συμμετείχαν γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά από 15 διαφορετικές χώρες, ανέδειξε πως μία αύξηση του Δείκτη Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) κατά 5 kg/m² συσχετίστηκε με 7% μείωση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε γυναίκες της Καυκάσιας φυλής και με 5% μείωση σε γυναίκες Αφρικανικής καταγωγής, ενώ αύξηση (5%) παρατηρήθηκε μόνο σε γυναίκες προερχόμενες από Ασιατικές χώρες (Amadou et al., 2013).

Φυσική Δραστηριότητα

Τα τελευταία 20 χρόνια πάνω 80 μελέτες έχουν διεξαχθεί παγκοσμίως προσπαθώντας να αξιολογήσουν την επίδραση της φυσικής δραστηριότητας στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Στην πλειονότητά τους τείνουν στο ότι η φυσική δραστηριότητα πιθανότατα δρα προστατευτικά έναντι της νόσου για τις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά, ενώ τα δεδομένα για τις γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά παραμένουν ελλιπή (WCRF/AICR, 2010 , Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013). Μάλιστα, η πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση 31 προοπτικών μελετών ανέδειξε πως η φυσική δραστηριότητα συσχετίστηκε με 12% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού για τις γυναίκες (Wu et al., 2013).

Τα οφέλη της φυσικής δραστηριότητας έναντι του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού πιθανότατα οφείλονται στην επίδρασή της στο σωματικό βάρος, στα οιστρογόνα, στην ινσουλινοαντίσταση αλλά και σε δείκτες φλεγμονής. Πιο συγκεκριμένα, η φυσική δραστηριότητα μπορεί να επηρεάσει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου είτε μέσω απώλειας βάρους στις υπέρβαρες γυναίκες είτε μέσω διατήρησης στις φυσιολογικού βάρους. Ορισμένες μελέτες μάλιστα υποδεικνύουν πως η φυσική δραστηριότητα μπορεί να επιτύχει και απώλεια σπλαχνικού λίπους εφόσον γίνει με το «σωστό τρόπο» (Friedenreich, 2011, Wu et al., 2013). Επιπλέον, λαμβάνοντας υπόψη την απόλυτα τεκμηριωμένη σχέση των οιστρογόνων με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, φαίνεται πως η φυσική δραστηριότητα συμβάλλει στη μείωση των επιπέδων τους μέσω 3 μηχανισμών: α) μειώνοντας τα επίπεδα του σωματικού λίπους (βασική πηγή οιστρογόνων μετεμμηνοπαυσιακά), β) διαφοροποιώντας τα επίπεδα των αδιποκινών (πολυπεπτιδίων παραγόμενα από τα λιποκύτταρα) που επηρεάζουν την παραγωγή των οιστρογόνων και γ) μειώνοντας τα επίπεδα της ινσουλίνης αίματος και αυξάνοντας επομένως τα επίπεδα της SHBG (circulating sex hormone binding globulin). Παράλληλα, άλλοι πιθανοί μηχανισμοί περιλαμβάνουν τη βελτίωση της ινσουλινοευαισθησίας, τη μείωση των επιπέδων του οξειδωτικού στρες καθώς και των δεικτών φλεγμονής, τη βελτίωση της λειτουργίας του ανοσοποιητικού συστήματος αλλά και την καταστολή μονοπατιών του οργανισμού που προάγουν την καρκινογένεση (Friedenreich, 2011, Wu et al., 2013).

Κάπνισμα

Για πολλά χρόνια, μελέτες που προσπαθούσαν να συσχετίσουν το κάπνισμα με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού οδηγούνταν σε ασαφή συμπεράσματα.

Πλέον όμως, όλο και περισσότερες μελέτες αναδεικνύουν πως το μακροχρόνιο κάπνισμα σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Το 2014, η αναφορά του US Surgeon General σχετικά με το κάπνισμα ανέδειξε πως οι γυναίκες που κάπνιζαν παρουσίαζαν 10% μεγαλύτερο κίνδυνο να νοσήσουν συγκριτικά με τις γυναίκες που δεν είχαν καπνίσει ποτέ. Επιπλέον ο αυξημένος αριθμός των ετών καπνίσματος (20 ή περισσότερα έτη καπνίσματος), ο αυξημένος αριθμός των τσιγάρων ανά ημέρα (20 ή περισσότερα τσιγάρα/ημέρα) αλλά και τα πακετοέτη καπνίσματος (20 ή περισσότερα) φάνηκε να αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Ωστόσο, οι ερευνητές επεσήμαναν πως τα δεδομένα αυτά είναι «ενδεικτικά αλλά όχι επαρκή» έτσι ώστε να καταλήξουμε σε μία αιτιολογική σχέση (US Surgeon General, 2014).

Το παθητικό κάπνισμα φαίνεται πως συνδέεται με υψηλότερα επίπεδα ουσιών που θεωρούνται καρκινογόνες ή τοξικές όπως το βενζόλιο, η φορμαλδεΰδη, οι κατεχίνες και οι N-νιτροζαμίνες. Ως αποτέλεσμα, αρκετές από τις μελέτες που λαμβάνουν χώρα τα τελευταία χρόνια φαίνεται να το συσχετίζουν θετικά με την εμφάνιση της νόσου, με τον κίνδυνο να είναι υψηλότερος για τις γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά σε σύγκριση με εκείνες μετεμμηνοπαυσιακά. Ωστόσο και εδώ τα δεδομένα παραμένουν «ενδεικτικά αλλά όχι επαρκή» προκειμένου να καταλήξουν σε μία αιτιολογική σχέση (US Surgeon General, 2014) .

Άλλοι παράγοντες κινδύνου

Ακτινοβολία

Ο γυναικείος μαστός είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος απέναντι στην ιονίζουσα ακτινοβολία. Για το λόγο αυτό, γυναίκες οι οποίες είτε ως παιδιά είτε ως νεαρές ενήλικες υπεβλήθησαν σε κάποια θεραπεία που περιελάμβανε ακτινοβολία στην περιοχή του στήθους (π.χ. καλοήθεις παθήσεις του μαστού, σκολίωση, κακοήθεια όπως λέμφωμα Hodgkin's) παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Ο κίνδυνος αυτός βέβαια εξαρτάται από την ηλικία της γυναίκας, τη δόση της ακτινοβολίας, αλλά και το χρονικό διάστημα που έχει παρέλθει από την έκθεση σε αυτή, ενώ φαίνεται πως είναι μεγαλύτερος για τις γυναίκες εκείνες που εκτέθηκαν στην ακτινοβολία κατά την εφηβεία (American Cancer Society 2014). Τέλος, αξίζει να σημειωθεί πως ο καρκίνος του μαστού αποτελεί μία από τις πιο συχνές μορφές της

νόσου για γυναίκες οι οποίες ήταν επιζήσαντες από αυτή κατά την παιδική ηλικία. Μάλιστα, ο κίνδυνος είναι υψηλότερος για τις γυναίκες εκείνες που έλαβαν υψηλής δόσης ακτινοβολία μεταξύ 10 και 30 ετών, όπως στην περίπτωση της νόσου Hodgkin's (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, Global Cancer Facts and Figures, 2015).

Diethylstilbestrol (DES)

Το Diethylstilbestrol (DES) αποτελεί μία συνθετική μορφή οιστρογόνων που χορηγήθηκε από το 1940 έως και το 1970 σε γυναίκες που κυοφορούσαν προκειμένου να τις προστατεύσει από αποβολές. Η χορήγηση του τελικά απαγορεύτηκε τη δεκαετία του 70 όταν παρατηρήθηκε πως δε συνέβαλλε στο να αποτραπούν οι αποβολές, ενώ παράλληλα καταγράφηκαν προβλήματα στο αναπαραγωγικό σύστημα παιδιών, των οποίων οι μητέρες είχαν λάβει το φάρμακο αυτό. Η πλειονότητα των μελετών καταλήγει πως οι γυναίκες που ακολούθησαν θεραπεία με το φάρμακο αυτό παρουσίαζαν 30% υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού συγκριτικά με εκείνες που δεν εκτέθηκαν ποτέ σε αυτό. Παράλληλα, έχει παρατηρηθεί πως γυναίκες των οποίων οι μητέρες είχαν ακολουθήσει τέτοιου είδους αγωγή κατά την κύησή τους φαίνεται πως παρουσιάζουν επίσης ελαφρά αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (Breast Cancer Facts and Figures 2013-2014, 2013, American Cancer Society, 2014).

1.3 Διατροφή και καρκίνος του μαστού

Το 1981, οι Doll και Peto ανέφεραν πως περίπου το 30-35% των θανάτων από καρκίνο στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής θα μπορούσε να αποδοθεί στη διατροφή (Doll and Peto, 1981). Με το πέρασμα των χρόνων, η συνεχής μελέτη αναφορικά με τους παράγοντες που μπορεί να συμβάλουν στην εμφάνιση της νόσου συγκλίνει στο ότι μόλις το 5% όλων των περιστατικών καρκίνου θα μπορούσε να αποδοθεί σε γενετικούς παράγοντες, ενώ για το υπόλοιπο 95% πιο σημαντικό ρόλο φαίνεται πως διαδραματίζει το περιβάλλον. Ειδικότερα, ο όρος περιβάλλον περιλαμβάνει παράγοντες που σχετίζονται με τον τρόπο ζωής (δηλ. παχυσαρκία, αλκοόλ, κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα), εξωγενείς παράγοντες (δηλ. περιβαλλοντική μόλυνση, ακτινοβολία, λοιμώξεις κ.λ.π.) και φυσικά τη διατροφή η οποία αντιστοιχεί στο 30-35% περίπου των παραγόντων κινδύνου (Anand et al.,

2008, Baena Ruiz and Salinas Hernandez, 2014). Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί πως ο βαθμός στον οποίο η διατροφή επιδρά στην εμφάνιση αλλά και την ανάπτυξη του καρκίνου, διαφέρει ανάλογα με τη μορφή του.

Αναφορικά με τη διατροφή και τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, τις τελευταίες δεκαετίες, πληθώρα μελετών από όλο τον κόσμο έχουν ερευνήσει τη σχέση μεταξύ συγκεκριμένων τροφίμων και θρεπτικών συστατικών και της εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Lof and Weiderpass, 2009, Michels et al., 2007, Mourouti et al., 2015a, Romieu, 2011, Thomson, 2012, Vera-Ramirez et al., 2012). Μεταξύ αυτών, μόνο η πρόσληψη αλκοόλ έχει χαρακτηριστεί ως μία συνήθεια που φαίνεται να συσχετίζεται συστηματικά με τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Παράλληλα, η αποτίμηση διατροφικών προτύπων, αντί για τη μελέτη μεμονωμένων τροφίμων και θρεπτικών συστατικών αυτών, φαίνεται να κερδίζει όλο και περισσότερο έδαφος αναφορικά με την επίδραση της διατροφής στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Παρακάτω θα αναφερθούν περιληπτικά τα κυριότερα βιβλιογραφικά ευρήματα των τελευταίων ετών αναφορικά με τη σχέση συγκεκριμένων τροφίμων και θρεπτικών συστατικών με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού.

1.3.1 Αλκοόλ

Σύμφωνα με την πιο πρόσφατη αναφορά των World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (Updated Breast Cancer 2010 Report) για τον καρκίνο του μαστού, η κατανάλωση αλκοόλ φαίνεται πως αποτελεί συμπεριφορά η οποία σταθερά συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, ανεξάρτητα από τον τύπο του αλκοόλ αλλά και το επίπεδο εμμηνοπαύσεως (WCRF/AICR, 2010). Τα δεδομένα για τον ισχυρισμό αυτόν φαίνεται πως είναι «πειστικά» και έρχονται να επιβεβαιώσουν την προηγούμενη αναφορά των ανωτέρω οργανισμών (WCRF/AICR, 2007b), συμφωνώντας παράλληλα με τα τελευταία επιδημιολογικά δεδομένα. Πιο συγκεκριμένα, σε μία πρόσφατη ανασκόπηση στην οποία συμπεριλήφθηκαν 113 επιδημιολογικές μελέτες, οι ερευνητές μελέτησαν τα δεδομένα από 44,552 γυναίκες που δε συνήθιζαν να καταναλώνουν αλκοόλ καθώς και 77,539 γυναίκες που κατηγοριοποιήθηκαν ως «ελαφρείς πότες» (light drinkers) (δηλ. συνήθιζαν να καταναλώνουν μέχρι 1 ποτό/ημέρα). Οι ερευνητές παρατήρησαν μία μέτρια αλλά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της χαμηλής κατανάλωσης αλκοόλ και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού, ενώ παράλληλα, η αυξημένη κατανάλωση αλκοόλ

(δηλ. 3 ή και περισσότερα ποτά/ημέρα) συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου κατά 40-50%. Ταυτόχρονα, καταγράφηκε η ύπαρξη συστηματικής δοσοεξαρτώμενης σχέσης μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Seitz et al., 2012). Αντίστοιχα αποτελέσματα αναφορικά με τη χαμηλή κατανάλωση αλκοόλ ανέδειξαν και ο Bagnardi και συνεργάτες του σε μία μετα-ανάλυση 222 μελετών κατά την οποία αναλύθηκαν τα δεδομένα από ~ 92,000 άτομα που χαρακτηρίζονταν από χαμηλή κατανάλωση αλκοόλ (δηλ. μέχρι 1 ποτό/ημέρα) και 60,000 ασθενείς που δε συνήθιζαν να καταναλώνουν αλκοόλ. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων κατέληξαν πως η χαμηλή αυτή κατανάλωση αλκοόλ συσχετίστηκε με 30% μεγαλύτερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Bagnardi et al., 2013b). Η ανωτέρω ερευνητική ομάδα, σε μία ακόμη πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση 572 μελετών στην οποία συμπεριλήφθηκαν 486,538 ασθενείς με 23 διαφορετικές μορφές καρκίνου, κατέληξε πως αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού, οι γυναίκες που καταναλώναν μεγάλες ποσότητες αλκοόλ (heavy drinkers) συγκριτικά με εκείνες που έπιναν περιστασιακά ή καθόλου παρουσίασαν σχεδόν διπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Μάλιστα, όπως καταγράφηκε, η σχέση αυτή ήταν καθαρά δοσοεξαρτώμενη (Bagnardi et al., 2015). Τα παραπάνω επιδημιολογικά ευρήματα σε συνδυασμό με τις εκθέσεις των διεθνών οργανισμών, αιτιολογούν απόλυτα ενώ ταυτόχρονα ενισχύουν κιόλας τις πιο πρόσφατες οδηγίες της American Cancer Society (ACS) αναφορικά με τη διατροφή και τη φυσική δραστηριότητα ως μέσα πρόληψης του καρκίνου, σύμφωνα με τις οποίες προτείνεται ο περιορισμός της πρόσληψης αλκοόλ σε 1 ποτό/ημέρα για τις γυναίκες που συνήθιζουν να καταναλώνουν αλκοόλ (Kushi et al., 2012).

Οι μηχανισμοί μέσω των οποίων το αλκοόλ φαίνεται να συμβάλλει στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού δεν έχουν πλήρως κατανοηθεί. Τα αυξημένα επίπεδα οιστρογόνων στις γυναίκες που καταναλώνουν αλκοόλ πιθανότατα αποτελούν τον πρώτο βασικό μηχανισμό πίσω από αυτή τη σχέση. Πράγματι, η κατανάλωση αλκοόλ έχει τη δυνατότητα να αυξάνει τα επίπεδα των οιστρογόνων με διάφορους τρόπους: α) αυξάνοντας τη δραστηριότητα της αρωματάσης με αποτέλεσμα τη μετατροπή της τεστοστερόνης σε οιστρογόνα, β) αναστέλλοντας τη λειτουργία δύο ενζύμων τα οποία επιτελούν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση των οιστρογόνων, γ) μειώνοντας την έκκριση μελατονίνης, η οποία αναστέλλει την παραγωγή των οιστρογόνων και δ)

αυξάνοντας την οξειδωτική ικανότητα του ήπατος, η οποία έχει ως αποτέλεσμα μειωμένο μεταβολισμό των στεροειδών (Seitz et al., 2012). Παράλληλα, τα παράγωγα του μεταβολισμού του αλκοόλ, όπως η ακεταλδεϋδη και οι ελεύθερες ρίζες, φαίνεται να έχουν τη δυνατότητα καταστροφής του DNA (Coronado et al., 2011, Dumitrescu and Shields, 2005, Seitz et al., 2012), ενώ εν μέρει, η σχέση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού φαίνεται να επηρεάζεται και από την αλληλεπίδραση του αλκοόλ με το φυλλικό οξύ. Το φυλλικό οξύ αποτελεί ένα βασικό μικροθρεπτικό συστατικό απαραίτητο για τη σύνθεση αλλά και την αναδόμηση του DNA, έχοντας παράλληλα την ικανότητα να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες που παράγονται κατά το μεταβολισμό του αλκοόλ. Το αλκοόλ από την άλλη, είναι γνωστός ανταγωνιστής του φυλλικού οξέος, και επομένως η κατανάλωσή του πιθανότατα επηρεάζει αρνητικά τα επίπεδα φυλλικού οξέος στον γυναικείο οργανισμό, διαταράσσοντας έτσι τη διαδικασία σύνθεσης και αναδόμησης του DNA, η οποία σχετίζεται άμεσα με την καρκινογένεση (Coronado et al., 2011, Dumitrescu and Shields, 2005, Zhang et al., 1999). Ολοκληρώνοντας, επιπλέον μηχανισμοί που σχετίζονται με την επιγενετική ή τις συγκεντρώσεις ρετινοειδών δεν είναι ακόμη ξεκάθαροι και για το λόγο αυτό χρήζουν περαιτέρω διερεύνησης (Seitz et al., 2012).

1.3.2 Φρούτα και Λαχανικά

Τα φρούτα και τα λαχανικά είναι ευρέως γνωστό πως περιέχουν πληθώρα συστατικών όπως βιταμίνες με αντιοξειδωτικές ικανότητες (δηλ. βιταμίνη C και βιταμίνη E), φυλλικό οξύ, διαιτητικές ίνες, δυθειολθειόνες, γλυκοσινολάτες, ινδόλες, ισοθειοκυανάτες, αναστολείς πρωτεασών και φυτοχημικά (δηλ. λυκοπένιο, φαινολικές ενώσεις, φλαβονοειδή κ.ά.) (Steinmetz and Potter, 1991, Steinmetz and Potter, 1996). Τα ανωτέρω συστατικά έχει παρατηρηθεί πως μπορεί να παρουσιάζουν αντικαρκινικές ιδιότητες και για το λόγο αυτό, η μελέτη της συσχέτισης μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων, λαχανικών και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού κερδίζει συνεχώς επιπλέον έδαφος στη βιβλιογραφία. Ωστόσο, σύμφωνα με την πιο πρόσφατη έκθεση των World Cancer Research Fund/American Institute for Research on Cancer σχετικά με τον καρκίνο του μαστού (Updated Breast Cancer 2010 Report), τα δεδομένα αναφορικά με τη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών σε σχέση με τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου παραμένουν ελλιπή και για το λόγο αυτό δε μπορούμε να οδηγηθούμε σε ασφαλή συμπεράσματα (WCRF/AICR, 2010).

Τα δεδομένα των επιδημιολογικών μελετών των τελευταίων ετών φαίνεται να επιβεβαιώνουν τον παραπάνω ισχυρισμό. Στην πιο πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση και μετα-ανάλυση προοπτικών μελετών αναφορικά με την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών και τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, οι ερευνητές κατέληξαν πως η κατανάλωση φρούτων και λαχανικών συνδυαστικά, αλλά όχι η κατανάλωση λαχανικών μεμονωμένα συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, με τη σχέση ωστόσο αυτή να καταγράφεται αδύναμη (Aune et al., 2012b). Στον αντίποδα, η πλειονότητα των αναδρομικών μελετών, οι οποίες μάλιστα φαίνεται να υπερέχουν αριθμητικά έναντι των προοπτικών, καταλήγει σε σημαντικές αντίστροφες συσχετίσεις μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων, λαχανικών και της πιθανότητας παρουσίας καρκίνου του μαστού (Mourouti et al., 2015a). Σε ορισμένες μάλιστα από τις μελέτες αυτές, οι συσχετίσεις φαίνεται να είναι ισχυρότερες για τα φρούτα συγκριτικά με τα λαχανικά (Aune et al., 2009a, Lima et al., 2008, Lissowska et al., 2008), γεγονός που θα μπορούσε να ληφθεί υπόψη προκειμένου να συμβάλλει στην κατανόηση του μηχανισμού μεταξύ της κατανάλωσης της συγκεκριμένης ομάδας τροφίμων και του καρκίνου του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, τα φρούτα καταναλώνονται ως επί το πλείστον ωμά, ενώ τα λαχανικά μπορούν να καταναλωθούν είτε ωμά είτε μαγειρεμένα, με αποτελέσματα να ενέχει πάντα ο κίνδυνος ορισμένα από τα θρεπτικά συστατικά που αυτά περιέχουν να καταστρέφονται κατά το μαγείρεμα (π.χ. πεπτικά ένζυμα) ή να αλλάζει η βιοδιαθεσιμότητά τους (Link and Potter, 2004). Παράλληλα, οφείλουμε να λαμβάνουμε υπόψη μας πως κάθε επιδημιολογική μελέτη αναφέρεται σε διαφορετική ομάδα/ομάδες φρούτων ή/και λαχανικών (δηλ. κραμβοειδή λαχανικά, πράσινα φυλλώδη λαχανικά, λαχανικά με κίτρινο-πορτοκαλί χρώμα) κάθε μία από τις οποίες χαρακτηρίζεται από διαφορετικά θρεπτικά συστατικά (π.χ. γλυκοσινολάτες, ινδόλες και ισοθειοκυανάτες στα κραμβοειδή λαχανικά, καροτένιο και φυλλικό οξύ στα φυλλώδη λαχανικά) και σαν συνέπεια οι διαφορές στα αποτελέσματα θα μπορούσαν να αποδοθούν στην ποικιλομορφία αυτή των καταναλισκόμενων φρούτων και λαχανικών, καθώς και στα συστατικά που αυτά περιέχουν.

1.3.3 Κρέας

Το κρέας αποτελεί βασική πηγή νερού και διαιτητικού λίπους, περιέχοντας παράλληλα 20-35% πρωτεΐνες. Επιπρόσθετα, αποδίδει στον ανθρώπινο οργανισμό όλα τα απαραίτητα αμινοξέα (δηλ. βαλίνη, λευκίνη, ισολευκίνη, λυσίνη, θρεονίνη,

μεθειονίνη, φαινυλαλανίνη και τρυπτοφάνη) καθώς και πληθώρα μικροθρεπτικών συστατικών (π.χ. σίδηρο, ψευδάργυρο, σελήνιο, βιταμίνη B6, βιταμίνη B12, βιταμίνη D) (Ferguson, 2010). Είναι εμφανές λοιπόν πως αποτελεί σημαντική πηγή θρεπτικών συστατικών για τον ανθρώπινο οργανισμό. Ωστόσο, τις τελευταίες δεκαετίες η κατανάλωση κρέατος, καθώς και των παραγώγων του έχει συσχετιστεί θετικά με την εμφάνιση χρόνιων νοσημάτων όπως η παχυσαρκία (McNeill, 2014), ο σακχαρώδης διαβήτης (Aune et al., 2009b), τα καρδιαγγειακά νοσήματα (Giordano et al., 2010), αλλά και διάφορες μορφές καρκίνου, όπως ο καρκίνος παγκρέατος και ο καρκίνος του παχέος εντέρου (WCRF/AICR, 2007b). Αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού η πρόσφατη έκθεση των World Cancer Research Fund/American Institute for Research on Cancer (Updated Breast Cancer 2010 Report) επισημαίνει πως τα δεδομένα για την κατανάλωση κρέατος σε σχέση με τον καρκίνο του μαστού είναι περιορισμένα και για το λόγο αυτό δεν υπάρχει η δυνατότητα να οδηγηθούμε σε ασφαλή συμπεράσματα (WCRF/AICR, 2010). Παράλληλα, η πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση που συμπεριέλαβε προοπτικές μελέτες ανέδειξε πως η κατανάλωση κόκκινου και επεξεργασμένου κρέατος δε φάνηκε να συσχετίζεται ανεξάρτητα με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, συνολικά παρατηρήθηκαν θετικές συσχετίσεις οι οποίες ωστόσο ήταν αδύναμες και στην πλειονότητά τους μη στατιστικά σημαντικές (Alexander et al., 2010). Με αφορμή λοιπόν τα προαναφερθέντα αποτελέσματα γίνεται έκδηλη η ανάγκη διεξαγωγής επιπλέον μελετών προκειμένου να διερευνηθεί η σχέση μεταξύ της κατανάλωσης κρέατος και της εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Ωστόσο, ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται να δοθεί στη μελέτη της προαναφερθείσας σχέσης λαμβάνοντας υπόψη παράγοντες όπως οι υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης (που πιθανότατα να διαφοροποιούν τα αποτελέσματα), η επεξεργασία του κρέατος, το μαγείρεμα σε υψηλές θερμοκρασίες, αλλά και τι ορίζεται σε κάθε μελέτη ως κρέας συνολικά ή επεξεργασμένο κρέας ειδικότερα.

1.3.4 Σόγια και ισοφλαβόνες

Τις τελευταίες δεκαετίες, η σόγια, τα προϊόντα αυτής, αλλά και οι περιεχόμενες ισοφλαβόνες φαίνεται πως έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον των ερευνητών και έχουν μελετηθεί εκτενώς λόγω της ικανότητάς τους να μειώνουν τον κίνδυνο για χρόνια νοσήματα (π.χ. στεφανιαία νόσος, οστεοπόρωση), καθώς και για διάφορες μορφές καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου του καρκίνου του μαστού (Messina and Wu, 2009).

Πράγματι, τα επιδημιολογικά δεδομένα τείνουν να επιβεβαιώνουν την ευεργετική επίδραση της κατανάλωσης σόγιας και των ισοφλαβονών απέναντι στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Σε μία πρόσφατη μετα-ανάλυση 14 προοπτικών μελετών, οι ερευνητές παρατήρησαν πως η κατανάλωση ισοφλαβονών συσχετίστηκε αντίστροφα με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού ιδιαίτερα σε Ασιατικούς πληθυσμούς [Σχετικός Κίνδυνος (ΣΚ) =0,89, 95% ΔΕ 0,79-0,99] (Dong and Qin, 2011). Αντίστοιχα, σε ακόμη πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση στην οποία συμπεριλήφθηκαν 28 μελέτες, τόσο προοπτικές όσο και αναδρομικές, οι ερευνητές κατέληξαν πως η πρόσληψη σόγιας συσχετίστηκε και εδώ αντίστροφα με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, ιδιαίτερα για τις γυναίκες οι οποίες προέρχονταν από Ασιατικές χώρες (Zhong and Zhang, 2012). Στο σημείο αυτό αξίζει να επισημάνουμε πως η πλειοψηφία των μελετών που καταλήγουν σε αντίστροφες συσχετίσεις μεταξύ της κατανάλωσης σόγιας/ισοφλαβονών και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού αναφέρονται σε Ασιατικούς πληθυσμούς και όχι σε γυναίκες προερχόμενες από χώρες του Δυτικού κόσμου. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στο ότι τα προϊόντα σόγιας καταναλώνονται σε διαφορετικές ποσότητες μεταξύ των λαών. Πράγματι, στις Ασιατικές χώρες η μέση πρόσληψη ισοφλαβονών κυμαίνεται από 25 έως 50 mg ανά ημέρα, ενώ στους Δυτικούς πληθυσμούς η πρόσληψη είναι κατά μέσο όρο μικρότερη από 1 mg ανά ημέρα (Wu et al., 2008).

Η σόγια και τα προϊόντα αυτής είναι πλούσια σε φυτοιστρογόνα, συστατικά τα οποία μιμούνται τη δράση των οιστρογόνων και διακρίνονται σε κουμεστάνες, λιγνάνες και τις πιο γνωστές ισοφλαβόνες. Τις τελευταίες δεκαετίες αρκετοί πιθανοί μηχανισμοί έχουν μελετηθεί αναφορικά με την αντικαρκινική δράση των ισοφλαβονών. Οι ισοφλαβόνες αρχικά, χάρη στις αντιοξειδωτικές ιδιότητες που έχουν, πιθανότατα συμβάλλουν στη μειωμένη υπεροξειδωση των λιπαρών οξέων, αλλά και στην μειωμένη καταστροφή του DNA, ιδιότητα που μπορεί να αποδοθεί στη χημική τους δομή, η οποία μοιάζει με εκείνη της γυναικείας ορμόνης 17-β οιστραδιόλη (Bilal et al., 2014, Mishra, 2011, Murkies et al., 1998, Omoni and Aluko, 2005). Παράλληλα, μιας και η χημική τους δομή είναι παρόμοια με εκείνη των οιστρογόνων, φαίνεται πως καταφέρνουν να προσδένονται στους υποδοχείς αυτών και να τα ανταγωνίζονται (Adlercreutz, 1998, Bilal et al., 2014, Murkies et al., 1998, Omoni and Aluko, 2005). Στην πραγματικότητα αυξάνουν τα επίπεδα της sex

hormone binding globulin (SHBG) και αναστέλλουν τη λειτουργία ενζύμων που σχετίζονται άμεσα με τη βιοσύνθεση των στεροειδών ορμονών, μειώνοντας με τον τρόπο αυτό τα επίπεδα των οιστρογόνων στο αίμα αλλά και τα επίπεδα των ελεύθερων οιστρογόνων (Adlercreutz, 1998, Magee and Rowland, 2004, Omoni and Aluko, 2005). Επιπρόσθετα, τα φυτοοιστρογόνα γενικά, και ειδικότερα οι ισοφλαβόνες, φαίνεται πως συμμετέχουν στον κυτταρικό κύκλο μέσω αναστολής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού (Adlercreutz, 1998, Magee and Rowland, 2004, Murkies et al., 1998), αναστολής της αγγειογένεσης (Bilal et al., 2014, Magee and Rowland, 2004, Mishra, 2011, Murkies et al., 1998) και ενίσχυσης της απόπτωσης των κυττάρων (Bilal et al., 2014, Magee and Rowland, 2004, Messina and Wu, 2009, Mishra, 2011).

1.3.5 Διαιτητικό Λίπος

Η σχέση μεταξύ της κατανάλωσης διαιτητικού λίπους και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού παραμένει αμφιλεγόμενη τις τελευταίες δεκαετίες. Σύμφωνα με την πιο πρόσφατη έκθεση των WCRF/AICR αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού τα δεδομένα για το ότι η πρόσληψη συνολικού λίπους (total fat) αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου είναι περιορισμένα (limited) και μάλιστα αφορούν μόνο τις γυναίκες που βρίσκονται σε εμμηνόπαυση (WCRF/AICR, 2010). Τα πιο πρόσφατα επιδημιολογικά δεδομένα προερχόμενα από μελέτες ασθενών-μαρτύρων συγκλίνουν στο ότι η αυξημένη πρόσληψη ολικού λίπους (total fat) συσχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού, ενώ αντίθετα το ανωτέρω αποτέλεσμα δε φαίνεται να υποστηρίζεται από την πλειονότητα των προοπτικών μελετών (Khodarahmi and Azadbakht, 2014, Mourouti et al., 2015a). Αναφορικά με τους επιμέρους τύπους του διαιτητικού λίπους τα αποτελέσματα της πιο πρόσφατης ανασκόπησης κατά την οποία μελετήθηκαν τα δεδομένα από 68 μελέτες προοπτικές αλλά και αναδρομικές, ανέδειξαν πως η αυξημένη πρόσληψη κορεσμένων λιπαρών οξέων (Saturated Fatty Acids – SFAs) συσχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού ενώ η αυξημένη πρόσληψη ω-3 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (ω-3 Polyunsaturated Fatty Acids – PUFAs) φαίνεται πως συσχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου. Αντίθετα, τα δεδομένα αναφορικά με την κατανάλωση μονοακόρεστων λιπαρών οξέων (Monounsaturated Fatty Acids – MUFAs) και τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού παραμένουν αντικρουόμενα (Khodarahmi and Azadbakht, 2014).

Αντικρουόμενα φαίνεται να είναι και τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τις κλινικές μελέτες που έχουν λάβει χώρα αναφορικά με την πρόσληψη διαιτητικού λίπους. Πιο συγκεκριμένα, στη Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial στην οποία συμμετείχαν 48,835 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, οι συμμετέχουσες κατηγοριοποιήθηκαν τυχαία είτε στην ομάδα που έλαβε παρέμβαση αναφορικά με τις διατροφικές συνήθειες (40% [n=19,541]) είτε στην ομάδα ελέγχου (60% [n=29,294]). Μετά από παρακολούθηση 8 περίπου ετών, οι ερευνητές κατέγραψαν 9% μικρότερη επίπτωση καρκίνου του μαστού στην ομάδα παρέμβασης (μειωμένη πρόσληψη διαιτητικού λίπους) συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου, χωρίς ωστόσο η διαφορά που παρατηρήθηκε να είναι σημαντική (Hazard Ratio [HR] =0,91; 95%CI= 0,83-1,01; p=0,09) (Prentice et al., 2006). Αντίθετα, σε μία πιο πρόσφατη κλινική μελέτη, η Martin και οι συνεργάτες της συμπεριέλαβαν 4,690 γυναίκες με αυξημένη πυκνότητα μαστού και τις τυχαιοποίησαν σε 2 ομάδες. Την ομάδα παρέμβασης που χαρακτηρίστηκε από σημαντικά μειωμένη πρόσληψη διαιτητικού λίπους και την ομάδα ελέγχου. Στην ομάδα παρέμβασης παρατηρήθηκε μία τάση για αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (adjusted hazard ratio=1,19, 95%CI=0,91-1,55), και ως αποτέλεσμα οι ερευνητές επεσήμαναν πως η σημαντικά μειωμένη πρόσληψη διαιτητικού λίπους δε φάνηκε να μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε γυναίκες με αυξημένη πυκνότητα μαστού (Martin et al., 2011).

Ο πιθανότερος μηχανισμός μέσω του οποίου η πρόσληψη διαιτητικού λίπους σχετίζεται με τον καρκίνο του μαστού αφορά στα επίπεδα των οιστρογόνων που φυσιολογικά υπάρχουν στο γυναικείο σώμα. Ειδικότερα, το διαιτητικό λίπος φαίνεται πως αποτελεί έναν σχετικά εδραιωμένο παράγοντα ικανό να αυξάνει τα επίπεδα των οιστρογόνων, τα οποία πιθανότατα με τη σειρά τους αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης συγκεκριμένων μορφών καρκίνου του μαστού (Boyd et al., 2003, Bruning and Bonfrer, 1986, Wu et al., 1999). Η δράση τους αυτή στηρίζεται κυρίως στην οιστραδιόλη, η οποία έχει παρατηρηθεί πως επηρεάζει τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την εμφάνιση της νόσου μέσω μηχανισμών που σχετίζονται ή όχι με τους υποδοχείς της (Davis et al., 1998). Παράλληλα, τα οιστρογόνα συνολικά φαίνεται πως επηρεάζουν την εμφάνιση της νόσου μέσω δομικών ή/και λειτουργικών αλλαγών που έχουν την ικανότητα να προκαλούν στο DNA (Davis et al., 1998).

Συμπερασματικά, αναφορικά με την ανωτέρω σχέση μεταξύ της κατανάλωσης διαιτητικού λίπους και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού αν και αποτελεί πεδίο έρευνας για τουλάχιστον 20 χρόνια, εντούτοις τα αποτελέσματα τόσο από τις προοπτικές μελέτες όσο και από όσες κλινικές μελέτες έχουν λάβει χώρα φαίνεται να οδηγούν σε ασαφή συμπεράσματα. Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στις διαφορετικές ποσότητες πρόσληψης διαιτητικού λίπους μεταξύ των λαών, σε δυσκολίες/λάθη στις μετρήσεις, σε πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες που λαμβάνονται ή όχι υπόψη σε κάθε μελέτη, κάνοντας παράλληλα έκδηλη την ανάγκη διεξαγωγής περισσότερων μελετών προκειμένου να αποσαφηνιστεί η παραπάνω σχέση.

1.3.6 Διαιτητικές ίνες

Οι διαιτητικές ίνες περιέχονται σε αφθονία στα φρούτα, τα λαχανικά αλλά και τα δημητριακά προϊόντα ολικής άλεσης, ομάδες τροφίμων με ιδιαίτερη σημασία για την καθημερινή μας διατροφή. Για το λόγο αυτό, η πιθανή συσχέτιση της κατανάλωσής τους με ορισμένα χρόνια νοσήματα, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού ελκύει όλο και περισσότερους ερευνητές τα τελευταία έτη. Στην πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση προοπτικών μελετών αναφορικά με την κατανάλωση διαιτητικών ινών και τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού οι ερευνητές ανέλυσαν τα δεδομένα από 16 προοπτικές μελέτες καταλήγοντας σε μία αντίστροφη συσχέτιση της κατανάλωσης διαιτητικών ινών με τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (Relative Risk [RR]=0,93; 95%CI=0,89-0,98). Μάλιστα, η ανωτέρω σχέση φάνηκε να είναι πιο ξεκάθαρη στις μελέτες εκείνες που χαρακτηρίζονταν είτε από μεγάλος εύρος στη διαιτητική πρόσληψη (≥ 13 vs. < 13 g/ημέρα) είτε από υψηλότερα επίπεδα πρόσληψης διαιτητικών ινών (≥ 25 vs. < 25 g/ημέρα) (Aune et al., 2012a).

Αρκετοί πιθανοί μηχανισμοί θα μπορούσαν να αιτιολογήσουν την αντίστροφη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης διαιτητικών ινών και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Αρχικά, πληθώρα μελετών έχει αναδείξει την ικανότητα των διαιτητικών ινών να μειώνουν τα επίπεδα των οιστρογόνων που κυκλοφορούν στο γυναικείο σώμα. Ειδικότερα, οι διαιτητικές ίνες φαίνεται πως έχουν την ικανότητα να προσδένονται με τα οιστρογόνα στο παχύ έντερο κατά τη διάρκεια της εντεροηπατικής κυκλοφορίας, ευνοώντας έτσι την απομάκρυνσή τους κατά την αφόδευση (Aune et al., 2012a). Επιπρόσθετα, καθώς οι διαιτητικές ίνες αποτελούν σύνθετους υδατάνθρακες, απαιτείται περισσότερος χρόνος προκειμένου να λάβει

χώρα η πέψη αλλά και η απορρόφησή τους, με αποτέλεσμα να καθυστερεί η διέλευσή τους από το λεπτό έντερο, γεγονός που συνεπάγεται καθυστερημένη απορρόφηση της γλυκόζης, μειωμένα επίπεδα ινσουλίνης και κατά συνέπεια μειωμένα επίπεδα μεταγευματικής υπερινσουλιναιμίας (Aune et al., 2012a, Baena Ruiz and Salinas Hernandez, 2014, Grosso et al., 2013). Παράλληλα, ένας ακόμη μηχανισμός δράσης των διαιτητικών ινών πιθανότατα περιλαμβάνει την ικανότητά τους να μειώνουν το σωματικό βάρος συμβάλλοντας έτσι στην αντιμετώπιση της παχυσαρκίας, η οποία αποτελεί ένα εδραιωμένο παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού (Aune et al., 2012a).

Η διεξαγωγή περισσότερων μελετών αναφορικά με συγκεκριμένες μορφές διαιτητικών ινών (π.χ. διαλυτές, αδιάλυτες, από φρούτα, λαχανικά κλπ) αλλά και με βάση το προφίλ των ασθενών αναφορικά με τους ορμονικούς υποδοχείς τους θα μπορούσε να διευκρινίσει περαιτέρω τους παραπάνω βιολογικούς μηχανισμούς.

1.3.7 Διατροφικά Πρότυπα

Η πιο πρόσφατη έκθεση των WCRF/AICR αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού επισημαίνει πως τα διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με τα διατροφικά πρότυπα και τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού είναι είτε χαμηλής ποιότητας, είτε ασυνεπή ή οι μελέτες είναι λίγες ώστε να μας επιτρέψουν να εξάγουμε ασφαλή συμπεράσματα, τόσο για τις γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά όσο και για τις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά (WCRF/AICR, 2010). Ωστόσο, η αλήθεια είναι πως τα διατροφικά πρότυπα χρήζουν μεγαλύτερης προσοχής καθώς είναι πλέον ευρέως αποδεκτό πως δεν καταναλώνουμε μεμονωμένα τρόφιμα και θρεπτικά συστατικά αυτών, αλλά γεύματα αποτελούμενα από ποικιλία τροφίμων με σύνθετους συνδυασμούς μακροθρεπτικών και μικροθρεπτικών συστατικών. Ως συνέπεια, αρκετοί ερευνητές τα τελευταία έτη εστιάζουν τις προσπάθειες τους στη μελέτη των διατροφικών προτύπων σε σχέση με τον καρκίνο του μαστού. Στην πιο πρόσφατη ανασκόπηση της βιβλιογραφίας, οι ερευνητές ανέλυσαν τα αποτελέσματα 26 μελετών συνολικά (11 προοπτικές και 15 αναδρομικές) οι οποίες είχαν δημοσιευθεί μέχρι και το Δεκέμβριο του 2012 (Albuquerque et al., 2013). Παρατηρήθηκε, πως διατροφικά πρότυπα τα οποία χαρακτηρίζονται από την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, ψαριού και σόγιας καθώς και το πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής συσχετίστηκαν με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Παράλληλα, οι ερευνητές κατέγραψαν πως ένα διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίζεται από την

κατανάλωση αλκοόλ συσχετίστηκε με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου, ενώ επιπλέον, θετική συσχέτιση με τη νόσο παρατηρήθηκε αναφορικά με διατροφικά πρότυπα που χαρακτηρίζονται ως πρότυπα του «Δυτικού κόσμου» ή ανθυγιεινά, χωρίς ωστόσο οι συσχετίσεις να είναι σημαντικές (Albuquerque et al., 2013). Τα ανωτέρω ευρήματα φαίνεται να έρχονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα προηγούμενων ανασκοπήσεων. Πιο συγκεκριμένα, σε μία συστηματική ανασκόπηση αλλά και μετα-ανάλυση 16 μελετών οι οποίες είχαν δημοσιευθεί μεταξύ 2001 και 2009 (Brennan et al., 2010), οι ερευνητές παρατήρησαν πως υγιεινά διατροφικά πρότυπα συσχετίστηκαν αντίστροφα με την εμφάνιση της νόσου, ενώ διατροφικά πρότυπα τα οποία χαρακτηρίζονταν από την κατανάλωση αλκοόλ φάνηκε να αυξάνουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Παράλληλα, τα μη υγιεινά διατροφικά πρότυπα δεν παρατηρήθηκε να συσχετίζονται σημαντικά με την εμφάνιση της νόσου (Brennan et al., 2010). Επιπρόσθετα, όταν η Edefonti και οι συνεργάτες της ανέλυσαν 19 μελέτες δημοσιευμένες μεταξύ 1995 και 2008, όπου τα διατροφικά πρότυπα είχαν προκύψει τόσο με εκ-των-υστέρων όσο και με εκ-των-προτέρων μεθόδους, κατέγραψαν μία πιθανή αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ ενός διατροφικού προτύπου που χαρακτηριζόταν από την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, οσπρίων, προϊόντων ολικής άλεσης, ψαριού, πουλερικών αλλά και προϊόντων με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Edefonti et al., 2009).

Στο σημείο αυτό, ιδιαίτερη έμφαση αξίζει να δοθεί στο πρότυπο της Μεσογειακής Διατροφής, η οποία πρόσφατα ανακηρύχθηκε από την UNESCO ως Άυλο Πολιτιστικό Αγαθό της Ανθρωπότητας (UNESCO, 2010). Το πρότυπο αυτό χαρακτηρίζεται από αυξημένη πρόσληψη μονοακόρεστων λιπαρών οξέων, κυρίως μέσω της κατανάλωσης ελαιολάδου και ελιών, καθημερινή πρόσληψη φρούτων, λαχανικών, δημητριακών ολικής άλεσης, γαλακτοκομικών με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά και ξηρών καρπών, εβδομαδιαία κατανάλωση ψαριού, πουλερικών και οσπρίων, μηνιαία πρόσληψη κόκκινου κρέατος και των προϊόντων του, καθώς και μέτρια καθημερινή πρόσληψη αλκοόλ, συνήθως με τη μορφή κρασιού μαζί με τα γεύματα (Bach-Faig et al., 2011). Η Μεσογειακή διατροφή αποτελεί ένα από τα γνωστότερα διατροφικά πρότυπα για τα καρδιοπροστατευτικά της οφέλη (Sofi et al., 2010, Sofi et al., 2008, Tyrovolas and Panagiotakos, 2010), την ευεργετική της επίδραση απέναντι στη συνολική θνησιμότητα (Sofi et al., 2010, Sofi et al., 2008), το

μεταβολικό σύνδρομο (Kastorini et al., 2011) αλλά και ορισμένες μορφές καρκίνου όπως ο καρκίνος του παχέος εντέρου αλλά και καρκίνοι του ανώτερου γαστρεντερικού συστήματος (Kontou et al., 2011, Sofi et al., 2010, Tyrovolas and Panagiotakos, 2010). Αναφορικά με το καρκίνο του μαστού, φαίνεται πως τα δεδομένα παραμένουν ελλιπή. Στην πιο πρόσφατη συστηματική ανασκόπηση αλλά και μετα-ανάλυση, οι ερευνητές ανέλυσαν τα δεδομένα από 21 προοπτικές και 12 αναδρομικές μελέτες, διαπιστώνοντας την έλλειψη σημαντικής σχέσης ανάμεσα στην υιοθέτηση της Μεσογειακής διατροφής και της εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Schwingshackl and Hoffmann, 2014). Το γεγονός αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στην ετερογένεια των μελετών, σε συγχυτικούς παράγοντες που πιθανότατα να μη λαμβάνονται υπόψη από μελέτη σε μελέτη, καθώς και στο ότι ορισμένες από τις προγενέστερες μελέτες έχουν διεξαχθεί προκειμένου να αξιολογήσουν την επίπτωση του καρκίνου συνολικά και όχι συγκεκριμένα του καρκίνου του μαστού. Υπό αυτές τις συνθήκες, γίνεται έκδηλη η ανάγκη διεξαγωγής περισσότερων μελετών προκειμένου να αποσαφηνιστεί η ύπαρξη ή όχι ευεργετικής επίδρασης του Μεσογειακού διατροφικού προτύπου απέναντι στον καρκίνο του μαστού.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν να μελετηθεί η σχέση των διατροφικών προτύπων, όπως αυτά ανιχνεύτηκαν τόσο με τις εκ-των-υστέρων όσο και με τις εκ-των-προτέρων μεθόδους, με την πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού.

3. Μεθοδολογία

3.1 Σχεδιασμός

Επιδημιολογική μελέτη ασθενών-μαρτύρων, με εξατομικευμένη εξομοίωση κατά ηλικία (εύρος ± 3 έτη) και τόπο διαμονής.

3.2 Το δείγμα της μελέτης

3.2.1 Ασθενείς

Από την 1^η Νοεμβρίου του 2010 έως και τις 31 Ιουλίου του 2012, 250 από τις 304 διαδοχικές νεοδιαγνωσθείσες (η διάγνωση έπρεπε να έχει τεθεί εντός του τελευταίου μήνου) ασθενείς με πρώτη εκδήλωση καρκίνου του μαστού, δέχθηκαν να συμμετάσχουν στη μελέτη (ποσοστό συμμετοχής 82%). Οι ασθενείς επισκέφθηκαν τις Παθολογικές-Ογκολογικές κλινικές 5 Νοσοκομείων της Αττικής (Γενικό Νοσοκομείο Αθηνών «Αλεξάνδρα», Περιφερειακό Γενικό Νοσοκομείο-Μαιευτήριο «Έλενα Βενιζέλου», Γενικό Ογκολογικό Νοσοκομείο Κηφισιάς «Άγιοι Ανάργυροι», Γενικό Αντικαρκινικό Ογκολογικό Νοσοκομείο Αθηνών «Άγιος Σάββας» και Ειδικό Αντικαρκινικό Νοσοκομείο Πειραιά «Μεταξά»).

3.2.1.1 Διάγνωση Καρκίνου του Μαστού

Κατά την επίσκεψη στο νοσοκομείο, έλαβε χώρα φυσική εξέταση από παθολόγο-ογκολόγο προκειμένου να διαπιστωθεί η ύπαρξη λεμφαδένων ή άλλων «ύποπτων» περιοχών στο μαστό, και να καθοριστεί το μέγεθος, η υφή αλλά και η σχέση με το δέρμα και τους θωρακικούς μύες. Στις περιπτώσεις όπου η ύπαρξη συμπτωμάτων και/ή τα αποτελέσματα της φυσικής εξέτασης έθεταν τις βάσεις για τη διάγνωση καρκίνου του μαστού, ακολουθούσε μαστογραφία αλλά και βιοψία της «ύποπτης» περιοχής, σύμφωνα με τις οδηγίες του American Cancer Society (ACS). Ο παθολόγος-ογκολόγος, συνδυάζοντας τα αποτελέσματα της φυσικής εξέτασης με εκείνα της βιοψίας καθώς και του χειρουργείου (όπου αυτό πραγματοποιήθηκε), καθόριζε το στάδιο της νόσου στηριζόμενος στο σύστημα TNM (TNM Classification of Malignant Tumours) όπως αυτό έχει προταθεί από το American Joint Committee on Cancer (AJCC). Το σύστημα TNM κατηγοριοποιεί τη νόσο ως εξής: το γράμμα T ακολουθούμενο από έναν αριθμό από το 1 έως το 4 υποδηλώνει το μέγεθος

του όγκου, το γράμμα N ακολουθούμενο από έναν αριθμό από το 1 έως το 3 υποδηλώνει την εξάπλωση της νόσου σε λεμφαδένες κοντά στο μαστό αλλά και τον αριθμό αυτών, ενώ το γράμμα M ακολουθούμενο από τους αριθμούς 0 ή 1 υποδηλώνει την ύπαρξη μεταστάσεων σε άλλα όργανα. Με την ολοκλήρωση της παραπάνω διαδικασίας καθορίστηκε το στάδιο της νόσου για κάθε ασθενή, το οποίο εκφράζεται με λατινικούς αριθμούς και κυμαίνεται από Στάδιο I (λιγότερο προχωρημένο στάδιο) έως Στάδιο IV (περισσότερο προχωρημένο στάδιο). Το τελευταίο βήμα για την ολοκληρωμένη διάγνωση της νόσου ήταν η διενέργεια μοριακού ελέγχου σε ένα τμήμα της βιοψίας προκειμένου να διαπιστωθεί η ύπαρξη υποδοχέων οιστρογόνων (Estrogen Receptors - ER) και προγεστερόνης (Progesterone Receptors - PR) οι οποίοι φαίνεται πως έχουν προγνωστική αξία, καθορίζοντας παράλληλα την πιθανότητα της ασθενούς να ανταποκριθεί σε ορμονοθεραπεία (Cianfrocca and Goldstein, 2004). Επιπλέον, όλες οι ασθενείς (ούσες νεοδιαγνωσθείσες) εξετάστηκαν για την ύπαρξη του πρωτογονιδίου HER2/neu, του οποίου η υπερέκφραση σχετίζεται με την ανταπόκριση σε ορισμένες κατηγορίες χημειοθεραπευτικών παραγόντων καθώς και στην ορμονική θεραπεία (ACS, Cianfrocca and Goldstein, 2004). Τέλος, ο ρυθμός πολλαπλασιασμού των κυττάρων του όγκου καθορίστηκε με τον προσδιορισμό του αντιγόνου Ki67 (de Azambuja et al., 2007), το οποίο σε συνδυασμό με το ογκοκατασταλτικό γονίδιο p53 (Gasco et al., 2002) φαίνεται πως αποτελούν προγνωστικούς παράγοντες για τη νόσο αλλά και την επιβίωση των ασθενών.

3.2.1.2 Κριτήρια αποκλεισμού από τη μελέτη

Ασθενείς των οποίων η διάγνωση είχε τεθεί σε διάστημα μεγαλύτερο των τελευταίων 6 μηνών δεν εντάχθηκαν στη μελέτη προκειμένου να αποφευχθούν αλλαγές στις διατροφικές τους συνήθειες αλλά και σε άλλες συμπεριφορές.

3.2.2 Υγιείς (Μάρτυρες)

Διακόσιες πενήντα υγιείς γυναίκες (εξομοιωμένες μία-προς-μία με τις ασθενείς), από τις 284 που προσεγγίστηκαν αρχικά (ποσοστό συμμετοχής 88%), επιλέχθηκαν ταυτόχρονα με τις ασθενείς σε εθελοντική βάση ενώ προέρχονταν και από την ίδια περιοχή (δηλ. Λεκανοπέδιο Αττικής [76%] ή άλλες περιοχές) με τις ασθενείς (δηλ. οι υγιείς επιλέχθηκαν από τις ίδιες πόλεις ή κωμοπόλεις στις οποίες οι ασθενείς κατοικούσαν). Οι μάρτυρες ήταν γυναίκες χωρίς κανένα κλινικό σύμπτωμα ή υποψία οποιασδήποτε μορφής καρκίνου στο ιατρικό τους ιστορικό.

3.2.3 Ανάλυση στατιστική ισχύος

Με βάση την εκ-των-προτέρων ανάλυση στατιστικής ισχύος, δείγμα 250 ασθενών με καρκίνο του μαστού και 250 εξομοιωμένων κατά ηλικία και τόπο διαμονής υγιών γυναικών, ήταν επαρκές για την εκτίμηση σχετικού λόγου (ΣΛ) ίσου με 1,10 (95% ΔΕ 1,05-1,15) επιτυγχάνοντας στατιστική ισχύ μεγαλύτερη του 0,80 σε επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας 0,05 (p -value) των αμφίπλευρων ελέγχων υποθέσεων.

3.3 Βιοηθική

Η μελέτη έχει λάβει έγκριση από την Επιτροπή Βιοηθικής του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Αλεξάνδρα» (No. 4/10.3.2010), του Ειδικού Αντικαρκινικού Νοσοκομείου Πειραιά «Μεταξά» (No. 40/8.12.2011) και του Γενικού Αντικαρκινικού Ογκολογικού Νοσοκομείου Αθηνών «Άγιος Σάββας» (No. 448/2.3.2012) και έχει πραγματοποιηθεί σύμφωνα με τις αρχές της Διακήρυξης του Ελσίνκι (1989). Πριν από τη συλλογή οποιαδήποτε πληροφορίας, οι συμμετέχουσες ενημερώθηκαν για τους σκοπούς και τις διαδικασίες της μελέτης και παρείχαν την ενυπόγραφη συγκατάθεσή τους.

3.4 Μετρήσιμα χαρακτηριστικά

3.4.1 Γυναικολογικό-Ιατρικό ιστορικό

Σε όλες τις συμμετέχουσες πραγματοποιήθηκε καταγραφή του οικογενειακού ιστορικού καρκίνου του μαστού και άλλων γυναικολογικών καρκίνων, καθώς και του προσωπικού γυναικολογικού και ιατρικού ιστορικού. Πιο συγκεκριμένα, καταγράφηκε ο αριθμός των συγγενών με καρκίνο του μαστού ή άλλους γυναικολογικούς καρκίνους. Οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν σχετικά με την ηλικία κατά την οποία παρουσιάστηκε για πρώτη φορά έμμηνος ρύση. Καταγράφηκε επίσης ο αριθμός των κύσεων συνολικά (συμπεριλαμβανομένων γεννήσεων, θνησιγένειας, αποβολών, αμβλώσεων, έκτοπων κύσεων αλλά και η πιθανότητα εγκυμοσύνης κατά τη χρονική στιγμή καταγραφής της πληροφορίας), ο αριθμός των τελειόμηνων κύσεων καθώς και η ηλικία των γυναικών κατά την πρώτη τελειόμηνη κύηση, την τελευταία τελειόμηνη κύηση αλλά και την τελευταία κύηση. Παράλληλα καταγράφηκε η ηλικία κατά την οποία έλαβε χώρα θηλασμός αλλά και ο αριθμός των εβδομάδων ή μηνών που ο θηλασμός διήρκεσε. Οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν επιπλέον σχετικά με την ηλικία κατά την οποία ξεκίνησαν τη χρήση αντισυλληπτικών

δισκίων, τον αριθμό των μηνών ή χρόνων που διήρκεσε η αγωγή αυτή αλλά και την ηλικία κατά την οποία διεκόπη η χρήση των δισκίων. Αναφορικά με τις γυναίκες που βρίσκονταν σε εμμηνόπαυση καταγράφηκε η ηλικία κατά την οποία διεκόπη η έμμηνος ρύση καθώς και εάν αυτό συνέβη φυσιολογικά, κατόπιν φαρμακευτικής αγωγής ή χειρουργείου. Ακόμη οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν σχετικά με το εάν έχουν υποβληθεί σε υστερεκτομή και/ή αφαίρεση ωοθηκών (μίας ή και των δύο), και το εάν έχουν λάβει οποιαδήποτε μορφής ορμόνες ή οιστρογόνα μετεμμηνοπαυσιακά, την ηλικία έναρξης και λήξης αυτών, καθώς και τη χρονική διάρκεια της ανωτέρω αγωγής. Καταγράφηκε ακόμη η ηλικία της πρώτης μαστογραφίας αλλά και ο αριθμός τους τα τελευταία 5 έτη πριν τη διάγνωση όπως επίσης και οποιαδήποτε προϋπάρχουσα διάγνωση σχετικά με το μαστό (π.χ καλοήθεια). Τέλος, σε όλες τις συμμετέχουσες πραγματοποιήθηκε καταγραφή του προσωπικού ιστορικού υπέρτασης, υπερχοληστερολαιμίας και σακχαρώδους διαβήτη, καθώς και της αντίστοιχης φαρμακευτικής αγωγής.

3.4.2 Κοινωνικο-δημογραφικά χαρακτηριστικά

Τα κοινωνικο-δημογραφικά χαρακτηριστικά που αποτιμήθηκαν είναι: ηλικία (για τη διαδικασία εξομοίωσης), μορφωτικό επίπεδο με βάση τα έτη σπουδών, είδος απασχόλησης (σύμφωνα με τις ακόλουθες κατηγορίες: χειρωνακτική εργασία, καθιστική εργασία, οικιακά, άνεργη, συνταξιούχος, μερικής απασχόλησης), ο αριθμός των ωρών εργασίας κατά μέσο όρο τα τελευταία 5 έτη πριν τη διάγνωση καθώς και πόσες από αυτές τις ώρες κατά μέσο όρο ήταν το πρωί (6πμ-12πμ), πόσες το μεσημέρι (12πμ-6μμ), πόσες το απόγευμα (6μμ-12μμ) και πόσες το βράδυ (12μμ-6πμ). Η οικογενειακή κατάσταση αξιολογήθηκε ως ελεύθερη, παντρεμένη, διαζευγμένη ή χήρα, ενώ καταγράφηκε ο αριθμός των αδερφών, η σειρά γέννησης αλλά και ο αριθμός των παιδιών. Η οικονομική κατάσταση αξιολογήθηκε έμμεσα με τη χρήση μίας κλίμακας με τιμές 0 έως 10 (η τιμή 0 αντιπροσωπεύει την κακή οικονομική κατάσταση, δηλ. <5,000 ευρώ ετήσιο εισόδημα, και για κάθε 5,000 ευρώ αύξηση το 10 αντιπροσωπεύει τη μεγάλη οικονομική επιφάνεια, δηλ., >55,000 ευρώ ετήσιο εισόδημα). Επιπλέον οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν για τον τόπο διαμονής τους καθώς και για τον αριθμό των ετών που διέμεναν στην περιοχή αυτή πριν τη διάγνωση της νόσου.

3.4.3 Ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά

Μετρήθηκαν το σωματικό βάρος (σε κιλά) και το ύψος (σε μέτρα) σύμφωνα με συγκεκριμένες διαδικασίες (δηλ. το βάρος μετρήθηκε με ζυγαριά, στα πλησιέστερα 100 γραμμάρια, χωρίς παπούτσια και με ελαφριά ενδυμασία, ενώ το ύψος μετρήθηκε στο πλησιέστερο 0,5 εκατοστό, χωρίς παπούτσια, η πλάτη να εφάπτεται στην κάθετη επιφάνεια του αναστημόμετρου και τα μάτια κοιτώντας ευθεία εμπρός). Ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) υπολογίστηκε ως το βάρος (σε κιλά) προς το τετράγωνο του ύψους (σε τετραγωνικά μέτρα) και το υπέρβαρο και η παχυσαρκία ορίστηκαν ως ΔΜΣ 25,0-29,9 kg/m² και >29,9 kg/m², αντίστοιχα. Επιπλέον, οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν σχετικά με το βάρος γέννησης τους (σε κιλά) αλλά και τις μεταβολές του βάρους τους (± 10 kg) τα τελευταία 10 έτη. Τέλος, μετρήθηκαν οι περιφέρειες μέσης και ισχίων, όπου αυτό ήταν εφικτό, με συγκεκριμένες διαδικασίες (δηλ., η περιφέρεια μέσης μετρήθηκε τοποθετώντας τη μεζούρα στο μέσο της απόστασης μεταξύ της τελευταίας πλευράς του θώρακα και της λαγόνιας ακρολοφίας, και η περιφέρεια ισχίων μετρήθηκε τοποθετώντας τη μεζούρα στο σημείο της μεγαλύτερης περιφέρειας των γοφών).

3.4.4 Συμπεριφορικά χαρακτηριστικά

3.4.4.1 Διατροφικές συνήθειες

Οι διατροφικές συνήθειες του τελευταίου έτους αξιολογήθηκαν μέσω ενός έγκυρου ημιποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων 86 ερωτήσεων (ΕΣΚΤ) (Mourouti et al., 2013). Προκειμένου να ελεγχθεί η εγκυρότητα του ανωτέρου ερωτηματολογίου, 100 γυναίκες, 11 νεοδιαγνωσθείσες ασθενείς με καρκίνο του μαστού και 89 υγιείς γυναίκες (56 ± 12) κλήθηκαν να συμπληρώσουν το ερωτηματολόγιο κατά τη διάρκεια του 2011. Παράλληλα, οι συμμετέχουσες συμπλήρωσαν και ένα τριήμερο ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων (3-day food diary), το οποίο αποτέλεσε τη μέθοδο αναφοράς για τον έλεγχο της εγκυρότητας. Η περίοδος καταγραφής περιελάμβανε δύο καθημερινές και μία ημέρα Σαββατοκύριακου και η συμπλήρωση έλαβε χώρα κατά το ίδιο χρονικό διάστημα με τη συμπλήρωση του ΕΣΚΤ. Ο έλεγχος της συμφωνίας πραγματοποιήθηκε με το συντελεστή tau-b του Kendall, καθώς και με τη μέθοδο των Bland-Altman. Με βάση τον έλεγχο του Kendall παρατηρήθηκε καλή συμφωνία για την ομάδα «κατανάλωση καφέ» (tau-b=0,69, $p < 0,001$), μέτρια συμφωνία για τις ομάδες «κατανάλωση τσαγιού» (tau-b=0,42, $p < 0,001$) και «κατανάλωση αλκοόλ» (tau-b=0,43, $p < 0,001$),

ενώ χαμηλή, αλλά στατιστικά σημαντική συμφωνία παρατηρήθηκε για τις ομάδες κατανάλωσης «φρούτα» ($\text{tau-b}=0,39$, $p<0,001$), «γαλακτοκομικά» ($\text{tau-b}=0,35$, $p<0,001$), «ψάρι» ($\text{tau-b}=0,29$, $p=0,002$), «υδατάνθρακες» ($\text{tau-b}=0,14$, $p=0,07$), «ξηροί καρποί» ($\text{tau-b}=0,35$, $p<0,001$), «φαγητό έτοιμο προς κατανάλωση» ($\text{tau-b}=0,20$, $p=0,01$), «αναψυκτικά» ($\text{tau-b}=0,27$, $p=0,04$) και «γλυκά» ($\text{tau-b}=0,15$, $p=0,06$). Με βάση τη μέθοδο των Bland-Altman οι αποκλίσεις μεταξύ του ΕΣΚΤ και του εργαλείου αναφοράς (σε μερίδες/ημέρα) κυμαίνονταν κατά απόλυτη τιμή από 2,1 για την ομάδα που αφορά την «κατανάλωση καφέ» έως 4,1 για την ομάδα «υδατάνθρακες». Ανάλογα αποτελέσματα προέκυψαν και από τον έλεγχο συμφωνίας που πραγματοποιήθηκε σε υποομάδες του δείγματος ανάλογα με το στάδιο παχυσαρκίας, το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας και το βαθμό υιοθέτησης της Μεσογειακής διατροφής (Mourouti et al., 2013).

Όσον αφορά την αξιολόγηση των διατροφικών συνηθειών, οι συμμετέχουσες κλήθηκαν να απαντήσουν πόσο συχνά (ποτέ, <1 φορά/μήνα, 2-3 φορές/μήνα, 1-2 φορές/εβδομάδα, 3-4 φορές/εβδομάδα, 5-6 φορές/εβδομάδα, 1 φορά/ημέρα, 2-3 φορές/ημέρα, 4-6 φορές/ημέρα) κατανάλωναν τα παρακάτω τρόφιμα και ποτά: φρούτα (συνολικά), ένα ποτήρι χυμό τομάτας ή λαχανικών, ένα ποτήρι χυμό γκρέιπφρουτ, πορτοκάλι ή ανάμεικτο χυμό, μήλα, αχλάδια, μπανάνες, αποξηραμένα φρούτα, νεκταρίνια, ροδάκινα και δαμάσκηνα, σταφύλια, πεπόνι, φράουλες, κεράσια, πορτοκάλια ή μανταρίνια, λαχανικά (συνολικά), 1 μερίδα βραστά λαχανικά (όπως σπανάκι, ραπανάκι, χόρτα, λάχανο κλπ.), μπρόκολο, κουνουπίδι, μελιτζάνες, σπανάκι, φασολάκια χλωρά, καρότα, μαρούλι, λάχανο, πιπεριές (κόκκινες, πράσινες, κίτρινες), τομάτες, κρεμμύδια, σκόρδο, καλαμπόκι και καλαμπόκι σε κονσέρβα. Επίσης καταγράφηκε η συχνότητα κατανάλωσης (ποτέ, <1 φορά/μήνα, 2-3 φορές/μήνα, 1-2 φορές/εβδομάδα, 3-4 φορές/εβδομάδα, 5-6 φορές/εβδομάδα, 1 φορά/ημέρα, 2-3 φορές/ημέρα, 4-6 φορές/ημέρα) των ακόλουθων πηγών λίπους: ελαιόλαδο στο μαγείρεμα, ελαιόλαδο προστιθέμενο στο πιάτο, σπορέλαιο στο μαγείρεμα, μαργαρίνη, βούτυρο ή λίπος από μπέικον στο μαγείρεμα ή στο πιάτο. Επιπλέον αξιολογήθηκε η συχνότητα κατανάλωσης των παρακάτω τροφίμων: κόκκινο κρέας, αλλαντικά, πουλερικά, ψάρια, όσπρια, κέτσαπ, μαγιονέζα, 1 φέτα λευκό ψωμί, 1 φέτα ψωμί ολικής άλεσης, 1 μερίδα βρώμη ή άλλα μαγειρεμένα δημητριακά, 1 μερίδα ρύζι ή άλλα μαγειρεμένα σιτηρά (όπως πλιγούρι, σιτάρι, τραχανάς), 1 μερίδα ζυμαρικά (σπαγγέτι, λαζάνια, ραβιόλια, τортаλίνια, γεμιστά

ζυμαρικά και άλλα), πατάτες, 1 ποτήρι γάλα ως ρόφημα (πλήρες, ημίπαχο ή άπαχο), 1 γιαούρτι (πλήρες, ημίπαχο, άπαχο), 1 μερίδα τυρί (με πολλά λιπαρά, με χαμηλά λιπαρά, χωρίς λιπαρά, χωρίς αλάτι ακόμη και σε μπεργκερς ή σάντουιτς) και αυγά (συμπεριλαμβανομένων των αυγών που καταναλώνονται σε σαλάτες, πίτες και σουφλέ). Επιπρόσθετα, οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν σχετικά με το πόσο συχνά κατανάλωναν υποκατάστατα γεύματος (υπερθερμιδικά ή υπερπρωτεϊνούχα), συκώτι, οστρακοειδή, τηγανητά τρόφιμα στο σπίτι (όπως τηγανητές πατάτες), τηγανητά τρόφιμα εκτός σπιτιού, κρέας ή ψάρι στα κάρβουνα, κονσέρβες, τυποποιημένα τρόφιμα (μπισκότα, τσιπς, ποπκορν, κέικ, ντόνατς, τσουρέκια, κρουασάν κλπ.), ξηρούς καρπούς, πίτσα, φυστικοβούτυρο, γλυκά σοκολάτας, άλλου είδους γλυκά (π.χ. παγωτό) και σόγια. Ακόμη, οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν σχετικά με το εάν κατανάλωναν κάποια γλυκαντική ουσία (εκτός ζάχαρης) και στην περίπτωση που αυτό συνέβαινε καταγράφηκε ποια ήταν αυτή. Επιπρόσθετα, αξιολογήθηκε η πρόσληψη νερού (από τη βρύση και εμφιαλωμένου), αλκοόλ, καφέ, τσαγιού και αναψυκτικών με βάση τη συχνότητά τους (ποτέ, <1 φορά/μήνα, 2-3 φορές/μήνα, 1-2 φορές/εβδομάδα, 3-4 φορές/εβδομάδα, 5-6 φορές/εβδομάδα, 1 φορά/ημέρα, 2-3 φορές/ημέρα, 4-6 φορές/ημέρα). Καταγράφηκε ακόμη το είδος του ποτού που οι συμμετέχουσες συνήθιζαν να καταναλώνουν (κόκκινο κρασί, λευκό κρασί, μύρα, ή άλλο αλκοολούχο ποτό), το είδος του καφέ (ελληνικός, ντεκαφεινέ, φίλτρου ή άλλος), το είδος του τσαγιού (πράσινο, μαύρο, του βουνού ή άλλο) αλλά και το είδος του αναψυκτικού (τύπου κόλα, light, χωρίς ζάχαρη). Τέλος, οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν σχετικά με το πόσο συχνά (ποτέ, <1 φορά/μήνα, 2-3 φορές/μήνα, 1-2 φορές/εβδομάδα, 3-4 φορές/εβδομάδα, 5-6 φορές/εβδομάδα, 1 φορά/ημέρα, 2-3 φορές/ημέρα, 4-6 φορές/ημέρα) κατανάλωναν πολυβιταμίνες, ιχνοστοιχεία ή ασβέστιο και λειτουργικά τρόφιμα, ενώ παράλληλα καταγράφηκε πόσο συχνή ήταν η χρήση μυρωδικών κατά το μαγείρεμα (ρίγανη, δενδρολίβανο, θρούμπι κλπ) αλλά και η χρήση φούρνου μικροκυμάτων.

3.4.4.1.1 Εκ-των-προτέρων ανάλυση διατροφικών προτύπων

Η εκ-των-προτέρων ανάλυση διατροφικών προτύπων βασίστηκε στο βαθμό υιοθέτησης της Μεσογειακής διατροφής, ο οποίος αξιολογήθηκε με τη χρήση του MedDietScore, ενός σύνθετου διατροφικού δείκτη αποτελούμενου από 11 συνιστώσες, με μεγάλη κλίμακα βαθμολόγησης η οποία εξασφαλίζει καλύτερη προγνωστική ακρίβεια (Panagiotakos et al., 2006). Ο ανωτέρω δείκτης περιλαμβάνει

τις 11 βασικές ομάδες τροφίμων της Μεσογειακής διατροφής: μη επεξεργασμένα δημητριακά, φρούτα, λαχανικά, πατάτες, όσπρια, ελαιόλαδο, ψάρι, κόκκινο κρέας, πουλερικά, γαλακτοκομικά πλήρη σε λιπαρά και αλκοόλ. Για την κατανάλωση τροφίμων που θεωρούνται μέρος της Μεσογειακής διατροφής (δηλ. μη επεξεργασμένα δημητριακά, φρούτα, λαχανικά, πατάτες, όσπρια, ελαιόλαδο και ψάρι) αποδόθηκαν τα σκορ 0,1,2,3,4 και 5 όταν οι συμμετέχουσες δήλωναν καθόλου πρόσληψη, σπάνια, συχνή, πολύ συχνή, εβδομαδιαία και καθημερινή αντίστοιχα. Για την κατανάλωση τροφίμων τα οποία δε θεωρούνται μέρος του Μεσογειακού προτύπου διατροφής (δηλ., κόκκινο κρέας, πουλερικά και γαλακτοκομικά πλήρη σε λιπαρά) τα σκορ αποδόθηκαν σε αντίστροφη κλίμακα. Ειδικά για την κατανάλωση αλκοόλ, σκορ 5 αποδόθηκε για την πρόσληψη λιγότερο από 3 ποτηριών του κρασιού την εβδομάδα, σκορ 0 για την κατανάλωση 0 ή πάνω από 7 ποτηριών του κρασιού την εβδομάδα, και σκορ 4 έως 1 για την πρόσληψη 3, 4, 5 και 6 ποτηριών του κρασιού την εβδομάδα, αντίστοιχα (**Πίνακας 3.1**). Το θεωρητικό εύρος του MedDietScore είναι 0-55. Υψηλότερες τιμές του διατροφικού αυτού δείκτη υποδηλώνουν μεγαλύτερη προσκόλληση στη Μεσογειακή διατροφή (Panagiotakos et al., 2006).

Πίνακας 3.1: Το Μεσογειακό Διατροφικό Σκορ MedDietScore (Panagiotakos et al., 2007b)

<i>Πόσο συχνά καταναλώνετε τα παρακάτω τρόφιμα;</i>	Συχνότητα κατανάλωσης (μερίδες /εβδομάδα)					
1. Μη επεξεργασμένα δημητριακά (ολικής άλεσης ψωμί, κλπ)	<i>Ποτέ</i>	1-6	7-12	13-18	19-31	>32
	0	1	2	3	4	5
2. Πατάτες	0	1	2	3	4	5
3. Φρούτα	<i>Ποτέ</i>	1-4	5-8	9-15	16-21	>22
	0	1	2	3	4	5
4. Λαχανικά	<i>Ποτέ</i>	1-6	7-12	13-20	21-32	>33
	0	1	2	3	4	5
5. Όσπρια	<i>Ποτέ</i>	<1	1-2	3-4	5-6	>6
	0	1	2	3	4	5
6. Ψάρια	0	1	2	3	4	5
7. Κόκκινο κρέας και παράγωγα	≤ 1	2-3	4-5	6-7	8-10	>10
	5	4	3	2	1	0
8. Πουλερικά και λευκά κρέατα	≤ 3	4-5	5-6	7-8	9-10	>10
	5	4	3	2	1	0
9. Γαλακτοκομικά προϊόντα (τυρί, γιαούρτι, γάλα)	≤ 10	11-15	16-20	21-28	29-30	>30
	5	4	3	2	1	0
10. Χρήση ελαιόλαδου στο μαγείρεμα (φορές /εβδομάδα)	<i>Ποτέ</i>	<i>Σπάνια</i>	<1	1-3	3-5	<i>Καθημερινά</i>
	0	1	2	3	4	5
11. Αλκοολούχα ποτά (ml/ημέρα, 100ml = 1 ποτήρι)	<300	300	400	500	600	>700 ή 0
	5	4	3	2	1	0

3.4.4.1.2 Εκ-των-υστέρων ανάλυση διατροφικών προτύπων

Η εκ-των-υστέρων ανάλυση διατροφικών προτύπων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες (PCA) (Mardia, 1979). Στην ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν 14 τρόφιμα, ομάδες τροφίμων και ποτά/ροφήματα. Η ορθογώνια περιστροφή (με την επιλογή varimax) χρησιμοποιήθηκε για την ανάδειξη των ιδανικών, ερμηνεύσιμων, μη συσχετιζόμενων μεταξύ τους συνιστωσών (ομάδων τροφίμων), γραμμικά ανεξάρτητων, ούτως ώστε να χρησιμοποιηθούν στα μοντέλα πολυμεταβλητής ανάλυσης παλινδρόμησης, αποφεύγοντας πιθανή πολυσυγγραμμικότητα. Διατηρήθηκαν οι κύριες συνιστώσες με ιδιοδιανύσματα (eigenvalues) $>1,0$ (συνάχ χρησιμοποιούμενα ως κατώφλια για την αναγνώριση προτύπων με σημασία). Μετά την περιστροφή οι συνιστώσες ερμηνεύθηκαν με βάση τρόφιμα με φορτία (loadings) $>0,4$.

3.4.4.2 Διατροφικές συμπεριφορές

Αξιολογήθηκαν ορισμένες διατροφικές συμπεριφορές και οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν σχετικά με τον αριθμό των γευμάτων που καταναλώνουν ανά ημέρα (εκτός από τον σκέτο καφέ) και σχετικά με το εάν η κατανάλωση πρωινού είναι καθημερινή. Στην περίπτωση αυτή, καταγράφηκε το τρόφιμο/τρόφιμα που οι συμμετέχουσες συνηθίζουν να καταναλώνουν ως πρωινό (δηλ. καφές, γάλα, χυμός, τσάι, δημητριακά, φρούτο, μαργαρίνη και μαρμελάδα, άλλο). Επιπλέον, οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν σχετικά με το εάν έχουν ακολουθήσει συγκεκριμένη δίαιτα στο παρελθόν, ενώ καταγράφηκε και το είδος αυτής στην περίπτωση που η απάντηση ήταν θετική. Ακόμη, καταγράφηκε το είδος των μαγειρικών σκευών που οι συμμετέχουσες χρησιμοποιούν (δηλ. ανοξείδωτα, αντικολλητικά, εμαγιέ ή άλλα), η περίπτωση κατά την οποία χρησιμοποιούν αντικολλητικό τηγάνι, αλλά και το εάν συνηθίζουν να πλένουν τα φρούτα και τα λαχανικά μόνο με νερό ή με νερό και υγρό σαπούνι ταυτόχρονα.

3.4.4.3 Φυσική δραστηριότητα

Τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας αξιολογήθηκαν με τη χρήση του Διεθνούς Ερωτηματολογίου Φυσικής Δραστηριότητας (IPAQ) (Craig et al., 2003) το οποίο έχει επικυρωθεί και για τον ελληνικό πληθυσμό (Papathanasiou et al., 2009b). Οι συμμετέχουσες κλήθηκαν να αναφέρουν τον αριθμό ημερών και ωρών στις οποίες

ασχολήθηκαν με φυσικές δραστηριότητες διαφορετικής έντασης για τουλάχιστον δέκα λεπτά: έντονη άσκηση, μέτριας έντασης άσκηση, περπάτημα και καθιστικές δραστηριότητες. Σύμφωνα με τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας, οι συμμετέχουσες κατηγοριοποιήθηκαν σε μη ενεργά άτομα (καθιστική ζωή) και φυσικά δραστήρια άτομα (κατ' ελάχιστο ενεργά άτομα και ενεργά άτομα με επίπεδα φυσικής δραστηριότητας ικανά για την προαγωγή της υγείας).

3.4.4.4 Καπνιστικές συνήθειες

Αξιολογήθηκαν οι καπνιστικές συνήθειες και οι συμμετέχουσες κατηγοριοποιήθηκαν σε (α) καπνίστριες, (β) πρώην καπνίστριες και (γ) μη καπνίστριες. Ως καπνίστριες ορίστηκαν οι γυναίκες οι οποίες καπνίζουν τουλάχιστον ένα τσιγάρο την ημέρα, ως πρώην καπνίστριες οι συμμετέχουσες που είχαν διακόψει το κάπνισμα για περισσότερο από ένα έτος, ενώ οι υπόλοιπες συμμετέχουσες ορίστηκαν ως μη καπνίστριες. Επιπλέον, οι νυν και πρώην καπνίστριες ρωτήθηκαν σχετικά με το συνολικό αριθμό ετών που καπνίζουν, τον αριθμό των τσιγάρων που καπνίζουν/κάπνιζαν την ημέρα και τον τύπο του καπνού που προτιμούν/προτιμούσαν (δηλ. άφιλτρα, ελαφριά, βαριά, άλλο). Για την αποτίμηση του παθητικού καπνίσματος οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν σχετικά με το εάν εκτίθενται/εκτίθονταν σε παθητικό κάπνισμα, τον αριθμό των ετών έκθεσης αλλά και τον αριθμό των ωρών ανά ημέρα.

3.4.4.5 Τρόπος ζωής

Αξιολογήθηκαν οι συνήθειες του ύπνου. Οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν πόσες ώρες κοιμούνται το μεσημέρι αλλά και το βράδυ, τόσο τις καθημερινές όσο και το Σαββατοκύριακο. Επίσης ρωτήθηκαν σχετικά με το πόσο συχνά (δηλ. ποτέ, <1 φορά/μήνα, >1 φορά/μήνα, >1 φορά/εβδομάδα, καθημερινά) πηγαίνουν σε κοινωνικές εκδηλώσεις. Ακόμη, αξιολογήθηκε η παρακολούθηση τηλεόρασης και οι συμμετέχουσες ρωτήθηκαν πόσες ώρες την ημέρα παρακολουθούν τηλεόραση τόσο τις καθημερινές όσο και το Σαββατοκύριακο.

3.4.5 Ψυχολογική αξιολόγηση

Για την αξιολόγηση των καταθλιπτικών συμπτωμάτων χρησιμοποιήθηκε η κλίμακα Zung Depression Rate Scale (ZDRS), η οποία έχει μεταφραστεί και επικυρωθεί για τον ελληνικό πληθυσμό (Fountoulakis et al., 2001, Zung, 1965). Το ZDRS είναι μια αυτο-συμπληρούμενη κλίμακα που αποτελείται από 20 ερωτήσεις οι οποίες καλύπτουν συναισθηματικά, ψυχολογικά και σωματικά συμπτώματα για την

αξιολόγηση της κατάθλιψης. Οι συμμετέχουσες κλήθηκαν να προσδιορίσουν τη συχνότητα με την οποία βίωσαν κάθε σύμπτωμα το χρονικό διάστημα από τη στιγμή της διάγνωσης (δηλ. σπάνια, μερικές φορές, αρκετές φορές, τις περισσότερες φορές). Το θεωρητικό εύρος του σκορ κυμαίνεται από 20-80, με υψηλότερα σκορ να υποδηλώνουν σοβαρή κατάθλιψη (Zung, 1965). Σκορ 20-49 θεωρούνται φυσιολογικά, σκορ 50-59 υποδηλώνουν μέτρια κατάθλιψη, σκορ 60-69 μέτρια έως έντονη κατάθλιψη, ενώ σκορ 70-80 σοβαρή κατάθλιψη (Fountoulakis et al., 2001).

Επιπρόσθετα, το Spielberger State-Trait Anxiety Inventory form Y είναι ένα σύντομο ερωτηματολόγιο για την αξιολόγηση του παρόντος, αλλά και του πιο μόνιμου άγχους. Στην παρούσα μελέτη το άγχος αξιολογήθηκε μέσω του μεταφρασμένου και επικυρωμένου ερωτηματολογίου Spielberger State-Trait Anxiety Inventory (STAI form Y-2), το οποίο αξιολογεί πώς ο συμμετέχων αισθάνεται γενικά μέσω 20 ερωτήσεων (Fountoulakis et al., 2006, Spielberger, 1970). Οι 20 ερωτήσεις βαθμολογούνται με μία κλίμακα από 1 έως 4 ανάλογα με τη συχνότητα των συναισθημάτων (δηλ. σχεδόν ποτέ, μερικές φορές, συχνά, σχεδόν πάντοτε). Το θεωρητικό εύρος της κλίμακας είναι από 20 έως 80. Σκορ 20-39 υποδηλώνουν χαμηλό άγχος, σκορ 40-59 μέτριο άγχος και σκορ 60-80 υποδηλώνουν σοβαρό άγχος.

3.5 Στατιστική ανάλυση

3.5.1 Περιγραφική στατιστική

Οι μεταβλητές που ακολουθούν την κανονική κατανομή παρουσιάζονται ως μέση τιμή $\pm$ τυπική απόκλιση, όσες δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή ως διάμεσος και τεταρτημόρια και οι κατηγορικές μεταβλητές ως συχνότητες. Η κανονικότητα των μεταβλητών αξιολογήθηκε γραφικά μέσω των διαγραμμάτων P-P. Οι συσχετίσεις μεταξύ των κατηγορικών μεταβλητών ελέγχθηκαν με τον υπολογισμό του χ^2 τεστ. Οι συσχετίσεις μεταξύ κατηγορικών και συνεχών μεταβλητών που ακολουθούν την κανονική κατανομή πραγματοποιήθηκαν με τον υπολογισμό του t-test του Student. Όσον αφορά τις συνεχείς μεταβλητές οι οποίες δεν ακολουθούν τη κανονική κατανομή, οι έλεγχοι υποθέσεων πραγματοποιήθηκαν με χρήση του μη-παραμετρικού ελέγχου U-test που προτάθηκε από τους Mann και Whitney. Οι συσχετίσεις μεταξύ συνεχών μεταβλητών αξιολογήθηκαν με χρήση των συντελεστών r του Pearson ή rho του Spearman.

3.5.2 Επαγωγική στατιστική

3.5.2.1 Λογαριθμιστική παλινδρόμηση

Η εκτίμηση των σχετικών πιθανοτήτων παρουσίας καρκίνου του μαστού πραγματοποιήθηκε με τον υπολογισμό του σχετικού λόγου (ΣΛ) και του αντίστοιχου 95% διαστήματος εμπιστοσύνης (ΔΕ) μέσω ανάλυσης πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης (Hosmer and Lemeshow 2000). Το κριτήριο Hosmer-Lemeshow υπολογίστηκε για την αξιολόγηση της καλής προσαρμογής των υποδειγμάτων. Σφάλμα εκτίμησης μικρότερο από 0,1 θεωρήθηκε επαρκές για την επίδοση του υπολογιζόμενου σχετικού λόγου. Όλα τα p που παρουσιάζονται βασίζονται σε αμφίπλευρους ελέγχους υποθέσεων. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

4. Αποτελέσματα

4.1 Περιγραφικά χαρακτηριστικά ασθενών και υγιών

Τα κοινωνικο-δημογραφικά, κλινικά και άλλα χαρακτηριστικά του τρόπου ζωής των συμμετεχόντων παρουσιάζονται στους *Πίνακες 4.1, 4.2 και 4.3*. Οι ασθενείς και οι υγιείς ήταν παρόμοιας ηλικίας (όπως προέβλεπε το πρωτόκολλο της μελέτης), ενώ προέρχονταν και από τις ίδιες περιοχές (Λεκανοπέδιο Αττικής [76%]). Διαφορές παρατηρήθηκαν όσον αφορά το μορφωτικό και οικονομικό επίπεδο αλλά και το είδος της εργασίας. Πιο συγκεκριμένα, το μορφωτικό και το οικονομικό επίπεδο ήταν ελάχιστα χαμηλότερο στις ασθενείς σε σύγκριση με τις υγιείς γυναίκες, ενώ παράλληλα οι υγιείς δήλωσαν ότι η εργασία τους ήταν περισσότερο καθιστική σε αντίθεση με τις ασθενείς οι οποίες ασχολούνταν κυρίως με τα οικιακά. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές αναφορικά με την οικογενειακή κατάσταση και τις ώρες εργασίας/ημέρα τα τελευταία 5 έτη ($p>0,05$).

Όσον αφορά τα κλινικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων, οι ασθενείς είχαν τουλάχιστον μία συγγενή με καρκίνο του μαστού και παρόμοια ηλικία έναρξης εμμήνου ρύσεως με τις υγιείς γυναίκες. Ταυτόχρονα παρουσίαζαν υψηλότερο σωματικό βάρος και δείκτη μάζας σώματος συγκριτικά με τις υγιείς, ήταν οριακά πιο πιθανό να είναι παχύσαρκες ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$) ενώ δε φάνηκε να έχουν λάβει χώρα μεταβολές στο σωματικό τους βάρος ($\pm 10 \text{ kg}$) τα τελευταία 10 έτη. Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές αναφορικά με την ηλικία έναρξης της εμμηνόπαυσης, την κατάσταση εμμηνόπαυσης, τη χρήση ορμονών μετεμμηνοπαυσιακά και τον επιπολασμό του σακχαρώδους διαβήτη, της υπέρτασης και της υπερχοληστερολαιμίας ($p>0,05$).

Αναφορικά με τις συνήθειες του τρόπου ζωής, οι ασθενείς κάπνιζαν σε μικρότερο ποσοστό στο παρόν σε σχέση με τις υγιείς γυναίκες, ενώ δεν παρατηρήθηκαν διαφορές όσον αφορά το κάπνισμα στο παρελθόν, τα συνολικά έτη καπνίσματος, τον αριθμό τσιγάρων/ημέρα αλλά και τα έτη έκθεσης σε παθητικό κάπνισμα ($p>0,05$). Ταυτόχρονα, οι ασθενείς ήταν σε μικρότερο βαθμό φυσικά δραστήριες σε σχέση με τις υγιείς ενώ ο βαθμός υιοθέτησης της Μεσογειακής διατροφής ήταν μέτριος τόσο στις ασθενείς (δηλ. 28/55) όσο και στις υγιείς γυναίκες (δηλ. 30/55). Τέλος, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές όσον αφορά τα επίπεδα κατάθλιψης και άγχους των συμμετεχόντων ($p>0,05$).

Πίνακας 4.1. Κοινωνικο-δημογραφικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων

	Ασθενείς	Μάρτυρες	<i>p</i>
N	250	250	
Ηλικία (έτη)	56 ± 12	56 ± 12	0,99
Έτη εκπαίδευσης (έτη)	11 ± 4	12 ± 4	<0,001
Οικογενειακή κατάσταση			0,24
	<i>Έγγαμη</i>	182 (72,8%)	166 (66,7%)
	<i>Άγαμη</i>	20 (8%)	20 (8%)
	<i>Διαζευγμένη</i>	19 (7,6%)	18 (7,2%)
	<i>Χήρα</i>	29 (11,6%)	45 (18,1%)
Είδος εργασίας			0,03
	<i>Χειρονακτική</i>	27 (10,8%)	39 (15,8%)
	<i>Καθιστική</i>	68 (27,2%)	87 (35,2%)
	<i>Οικιακά</i>	93 (37,2%)	62 (25,1%)
	<i>Άνεργη</i>	6 (2,4%)	5 (2%)
	<i>Συνταξιούχος</i>	53 (21,2%)	48 (19,4%)
	<i>Μερικής απασχόλησης</i>	3 (1,2%)	6 (2,4%)
Ωρες εργασίας/ημέρα τα τελευταία 5 έτη (έτη)	7 ± 2	7 ± 2	0,88
Οικονομική κατάσταση (0-10)	5 ± 2	6 ± 2	<0,001
Τόπος Διαμονής			0,04
	<i>Αθήνα</i>	179 (71,9%)	199 (79,9%)
	<i>Περιφέρεια</i>	70 (28,1%)	50 (20,1%)

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση ή συχνότητες (*n*, %).

Τα *p*-values προέρχονται από το t-test του Student ή το χ^2 τεστ.

Πίνακας 4.2. Κλινικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων

	Ασθενείς	Μάρτυρες	<i>p</i>
N	250	250	
Αριθμός συγγενών με καρκίνο μαστού (n, %)			0,003
<i>Καμία συγγενής</i>	177 (71,1%)	211 (84,7%)	
<i>1 συγγενής</i>	62 (24,9%)	32 (12,9%)	
<i>2 συγγενείς</i>	9 (3,6%)	5 (2,0%)	
<i>3 συγγενείς</i>	0 (0%)	1 (0,4%)	
<i>4+ συγγενείς</i>	1 (0,4%)	0 (0%)	
Σακχαρώδης διαβήτης (n, %)	12 (4,8%)	8 (3,2%)	0,36
Υπέρταση (n, %)	33 (13,2%)	34 (13,6%)	0,90
Υπερχοληστερολαιμία (n, %)	18 (7,2%)	17 (6,8%)	0,86
Ηλικία εμμηναρχίας (έτη)	13 ± 1	13 ± 2	0,02
Ηλικία εμμηνόπαυσης (έτη)	49 ± 6	49 ± 5	0,60
Κατάσταση εμμηνόπαυσης (n, %)			0,49
<i>Γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά</i>	84 (33,6%)	91 (36,5%)	
<i>Γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά</i>	166 (66,4%)	158 (63,5%)	
Χρήση ορμονών μετεμμηνοπαυσιακά (n, %)			0,62
<i>Nαι</i>	13 (5,5%)	16 (6,5%)	
Βάρος (kg)	73 ± 15	70 ± 13	0,03
Δείκτης Μάζας Σώματος (kg/m ²)	28 ± 6	26,7 ± 5	0,007
Κατηγορίες σωματικού βάρους (n, %)			0,057
<i>Φυσιολογικό βάρος (18,5 kg/m² < BMI < 24,9 kg/m²)</i>	79 (33,8%)	93 (38%)	
<i>Υπέρβαρο (25 kg/m² < BMI < 29,9 kg/m²)</i>	84 (35,9%)	101 (41,2%)	
<i>Παχυσαρκία (BMI > 30 kg/m²)</i>	71 (30,3%)	51 (20,8%)	
Μεταβολές βάρους (±10 kg) τα τελευταία 10 έτη	95 (39,3%)	129 (52,4%)	0,003

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση ή συχνότητες (n, %).

Τα *p*-values προέρχονται από το t-test του Student ή το χ^2 τεστ.

Πίνακας 4.3. Χαρακτηριστικά τρόπου ζωής των συμμετεχόντων

	Ασθενείς	Μάρτυρες	<i>p</i>
N	250	250	
Καπνιστικές συνήθειες			
<i>Καπνίστριες (τώρα)</i>	48 (19,3%)	76 (30,4%)	0,004
<i>Πρώην καπνίστριες</i>	103 (41,2%)	113 (45,2%)	0,37
Έτη καπνίσματος			
<i>Για τις νυν και πρώην καπνίστριες</i>	12 ± 15	10 ± 13	0,21
Αριθμός τσιγάρων την ημέρα			
<i>Για τις νυν και πρώην καπνίστριες</i>	7 ± 11	6 ± 9	0,06
Παθητικό κάπνισμα (έτη)	8 ± 14	10 ± 15	0,08
MedDietScore (0-55)	27,8 ± 5	29,9 ± 4	<0,001
IPAQ score (MET-minutes/week)	219 (0.00, 985.5)	876 (140.25, 1533.0)	<0,001
ZDRS (εύρος 20-80)	40 ± 9	40 ± 9	0,54
Επίπεδο κατάθλιψης (n, %)			0,64
<i>20-49: φυσιολογικό</i>	178 (85,2%)	157 (87,7%)	
<i>50-59: ήπια κατάθλιψη</i>	26 (12,4%)	17 (9,5%)	
<i>60-69: μέτρια κατάθλιψη</i>	5 (2,4%)	5 (2,8%)	
<i>70-80: σοβαρή κατάθλιψη</i>	0 (0%)	0 (0%)	
STAI Y-2 (εύρος 20-80)	38 ± 12	39 ± 11	0,63
Επίπεδο άγχους (n, %)			0,37
<i>20-39: χαμηλά επίπεδα άγχους</i>	118 (55,4%)	106 (52,7%)	
<i>40-59: μέτρια επίπεδα άγχους</i>	80 (37,6%)	86 (42,8%)	
<i>60-80: σοβαρά επίπεδα άγχους</i>	15 (7,0%)	9 (4,5%)	

Τα δεδομένα παρουσιάζονται ως μέση τιμή ± τυπική απόκλιση ή συχνότητες (n, %).

Τα *p*-values προέρχονται από το t-test του Student ή το χ^2 τεστ.

4.2 Διατροφικές συνήθειες και παρουσία καρκίνου του μαστού

4.2.1 Ο ρόλος των διατροφικών προτύπων στην παρουσία καρκίνου του μαστού

4.2.1.1 Ο ρόλος του Μεσογειακού προτύπου διατροφής (εκ-των-προτέρων διατροφικά πρότυπα) στην παρουσία καρκίνου του μαστού

Όπως παρουσιάστηκε και στον Πίνακα 4.3, ο βαθμός υιοθέτησης της Μεσογειακής διατροφής ήταν μέτριος τόσο στις ασθενείς (δηλ. MedDietScore=28/55) όσο και στις υγιείς γυναίκες (δηλ. MedDietScore=30/55). Αναφορικά με την κύρια ερευνητική υπόθεση, παρατηρήθηκε ισχυρή συσχέτιση ανάμεσα στην υιοθέτηση της Μεσογειακής διατροφής και την παρουσία καρκίνου του μαστού, καθώς οι ασθενείς παρουσίασαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα προσκόλλησης στο διατροφικό αυτό πρότυπο συγκριτικά με τις υγιείς (δηλ., χαμηλότερες τιμές MedDietScore, $p<0,001$). Οι μονοπαραγοντικές αναλύσεις έδειξαν ότι η προσκόλληση στο Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο είχε προστατευτική δράση όσον αφορά την πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε πως 1/55 μονάδα αύξησης του MedDietScore συσχετίστηκε με 9% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p<0,05$). Επιπλέον αναλύσεις ανέδειξαν ότι τα ευεργετικά οφέλη της Μεσογειακής διατροφής αναφορικά με την παρουσία της νόσου παρέμειναν σημαντικά (8% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού για κάθε μονάδα αύξησης του MedDietScore), ακόμα και μετά από έλεγχο για συγχυτικούς παράγοντες όπως το επίπεδο εκπαίδευσης, το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού, ο Δείκτης Μάζας Σώματος, το κάπνισμα, η φυσική δραστηριότητα, η ηλικία εμμηναρχής, η ηλικία εμμηνόπαυσης και η χρήση ορμονών μετεμμηνοπαυσιακά.

Σε συνέχεια των αποτελεσμάτων, η αποδόμηση των συνιστωσών του MedDietScore ανέδειξε τα μη επεξεργασμένα δημητριακά ως τη συνιστώσα εκείνη που πρώτη έχει την ικανότητα ιεραρχικά να εξηγήσει την παρουσία της νόσου, λειτουργώντας προστατευτικά απέναντι σε αυτή, και ακολουθούμενη από τα λαχανικά, τα φρούτα και το αλκοόλ, ενώ το κόκκινο κρέας και τα παράγωγά του αποτέλεσαν την τελευταία κατά σειρά συνιστώσα της οποίας μάλιστα η κατανάλωση φαίνεται πως λειτουργεί επιβαρυντικά απέναντι στη νόσο. Ειδικά όσον αφορά την κατανάλωση αλκοόλ, αν και ιεραρχικά βρέθηκε υψηλά, λόγω του ότι η σχέση του με τη νόσο ήταν παραβολική, οι επιπλέον αναλύσεις ανέδειξαν πως η κατανάλωσή του

σε εβδομαδιαία βάση (δηλ. 3-4 φορές/εβδομάδα) συσχετίστηκε με μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου, ενώ τόσο οι υψηλότερες όσο και οι χαμηλότερες καταναλώσεις δε συσχετίστηκαν σημαντικά με αυτή. Συνολικά, παρατηρήθηκε πως ο δείκτης MedDietScore έχει την ικανότητα να ερμηνεύει την παρουσία καρκίνου του μαστού στις γυναίκες της μελέτης σε ποσοστό 4,9% (Wilk's $\Lambda=0,951$; $p<0,001$).

Επιπλέον αναλύσεις οι οποίες πραγματοποιήθηκαν με βάση τις κατηγορίες σωματικού βάρους, το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, το κάπνισμα στο παρόν, την κατάσταση εμμηνόπαυσης, την ηλικία εμμηναρχής αλλά και τον τόπο διαμονής ανέδειξαν παρόμοια αποτελέσματα αναφορικά με την υιοθέτηση της Μεσογειακής διατροφής και την παρουσία καρκίνου του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, στις φυσιολογικού βάρους γυναίκες ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$), 1/55 μονάδα αύξησης του MedDietScore συσχετίστηκε με 25% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,001$) αφού λήφθηκαν υπόψη ποικίλοι συγχυτικοί παράγοντες. Παράλληλα, 1/55 μονάδα αύξησης στο διατροφικό σκορ συσχετίστηκε με 9% και 11% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού για τις συμμετέχουσες που κατηγοριοποιήθηκαν ως μη ενεργά (δηλ., $<600 \text{ MET-minutes/week}$) και κατ'ελάχιστο ενεργά άτομα (δηλ., $600-3000 \text{ MET-minutes/week}$) αντίστοιχα. Παρόμοια αποτελέσματα καταγράφηκαν και όταν οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με βάση την κατάσταση εμμηνόπαυσης και την ηλικία εμμηναρχής. Ειδικότερα, 1/55 μονάδα αύξησης του MedDietScore συσχετίστηκε με 8% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού για τις συμμετέχουσες μετεμμηνοπαυσιακά καθώς και όσες ανέφεραν καθυστερημένη εμμηναρχή (δηλ. >12 ετών) αφού λήφθηκαν υπόψη οι ίδιοι συγχυτικοί παράγοντες ($p=0,003$ και $p=0,001$ αντίστοιχα). Επιπρόσθετα, οι μη καπνίστριες παρουσίασαν 12% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($p<0,001$) για κάθε 1/55 μονάδα αύξησης του διατροφικού σκορ, ενώ παράλληλα, για κάθε 1/55 μονάδα αύξησης του διατροφικού δείκτη οι συμμετέχουσες που δήλωσαν ως τόπο διαμονής την περιφέρεια παρουσίασαν 28% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,001$) αφού λήφθηκαν υπόψη οι ίδιοι συγχυτικοί παράγοντες.

Adherence to the Mediterranean diet is associated with lower likelihood of breast cancer: a case-control study

Niki Mourouti¹, Meropi D. Kontogianni¹, Christos Papavagelis¹, Petrini Plytzanopoulou², Tonia Vassilakou², Nikolaos Malamos³, Athena Linos⁴, Demosthenes B. Panagiotakos¹

¹Department of Nutrition and Dietetics, Harokopio University, Athens, Greece ²Department of Nutrition and Biochemistry, National School of Public Health, Athens, Greece

³Pathology-Oncology Department, General Hospital "Elena Venizelos", Athens, Greece

⁴Department of Hygiene, Epidemiology and Medical Statistics, School of Medicine, University of Athens, Athens, Greece

Abstract

Background: Mediterranean diet has long been associated with human health. However, its relationship with breast cancer remains not well understood and appreciated. **Objective:** The aim of this work was to evaluate the association between adherence to the Mediterranean-diet and its inherent constituents, with breast-cancer. **Design:** A case – control study. Two-hundred-and-fifty consecutive, newly diagnosed breast-cancer-female-patients (56±12 years) and 250, one-to-one age-matched with the patients, controls, were studied. A standardized, validated questionnaire assessing various socio-demographic, clinical, lifestyle and dietary characteristics, was applied through face-to-face interviews. Adherence to the Mediterranean diet was evaluated using the 11-components MedDietScore (theoretical range 0-55). Multiple logistic regression was applied to test the research hypothesis, whereas, discriminant-analysis was used to explore the strength of each component in relation to the outcome. **Results:** One unit increase in the MedDietScore (i.e., greater adherence to the Mediterranean-diet) was associated with 9% lower likelihood of having breast cancer (Odds Ratio=0.91; 95%CI 0.86, 0.97). Decomposition of the MedDietScore score revealed that the most important components and with beneficial effect were: non-refined cereals, vegetables, fruits and alcohol, followed by red-meat, but with unfavourable effect. **Conclusions:** A dietary recommendation for healthy eating, close to the Mediterranean dietary pattern, seems promising for breast cancer prevention. **Keywords:** breast cancer; Mediterranean diet; nutrition; dietary pattern

Introduction

The Mediterranean diet (from the Greek word *diaita* = way of life), was inscribed in 2010 on the Representative List of the Intangible Cultural Heritage of Humanity by the United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO) as it constitutes “a set of skills, knowledge, practices and traditions ranging from the landscape to the table, including the crops, harvesting, fishing, conservation, processing, preparation and, particularly, consumption of food”. It is characterized by a nutritional model consisting mainly of olive oil, cereals, fresh or dried fruits and vegetables, a moderate amount of fish, dairy and meat, accompanied by wine or infusions; however, it should be noted that Mediterranean diet varies from country to country in the Mediterranean basin due to the influence of various cultural and environmental factors (UNESCO, 2010). During the last 30 years adherence to the Mediterranean diet has been widely associated with human health. Specifically, several studies have associated adherence to the Mediterranean diet with a 8-9% reduction of overall mortality (Sofi et al., 2010, Sofi et al., 2008) lower likelihood of having metabolic syndrome (Kastorini et al., 2011, Serra-Majem et al., 2006) lower risk of cardiovascular morbidity (Sofi et al., 2010, Sofi et al., 2008, Tyrovolas and Panagiotakos, 2010) and mortality (Serra-Majem et al., 2006, Sofi et al., 2010, Sofi et al., 2008) (almost 9-10% reduction of the risk), as well as reduction in the risk of some types of cancer, specifically colorectal cancer, cancers of the upper aerodigestive tract as well as neoplasms (Kontou et al., 2011, Sofi et al., 2010, Sofi et al., 2008, Tyrovolas and Panagiotakos, 2010).

Cancer is a chronic disease and together with cardiovascular disease is responsible for the vast majority of deaths in the developed world, and, recently in developing countries, as well. Among various types of cancer, breast cancer is the most frequently diagnosed cancer and the leading cause of cancer death in females, worldwide. However, the relationship between the Mediterranean dietary pattern and breast cancer remains not well understood and appreciated, since the up today data lack definitive evidence. In a recent focused analysis of the EPIC (European Prospective Investigation into Cancer) study with respect to breast cancer risk, adherence to the

Mediterranean diet was inversely associated with the risk of breast cancer in the entire sample, as well as among postmenopausal women (**Buckland et al., 2013**). In contrast, in another cohort study conducted between relatively young women, adherence to the Mediterranean dietary pattern was not associated with risk of breast cancer, or with specific breast tumor characteristics (**Couto et al., 2013**). Based on experimental data Escrich et al., reported that the consumption of extra virgin olive oil, a dominant component of the Mediterranean diet, in moderate quantities and throughout lifetime may favorably influence breast cancer risk (**Escrich et al., 2011a**). The conflicting results of previous studies may be due to several reasons; e.g., the lack of a true pathophysiological relationship, the presence of confounding factors that were not taken into account, as well as the fact that previous studies have mainly been conducted to evaluate overall cancer incidence, and not breast cancer specifically.

Thus, the aim of this work was to evaluate the association between adherence to the Mediterranean diet and breast cancer development, in a Mediterranean population and also to explore the strength of the individual components of this dietary pattern in relation to breast cancer.

Subjects and Methods

Study's design and sample

This is a case-control study, with face-to-face interviews with the participants. Between November 1st, 2010 and July 31st, 2012, 250 consecutive, newly (within six months) diagnosed breast cancer female patients (defined by physical examination and biopsy) that visited pathology-oncology clinics of five major General Hospitals in Athens, Greece (i.e., “Alexandra” General Hospital, “Elena Venizelos” Maternity-General Hospital, “Agioi Anargyroi” General Oncological Hospital of Kifissia, “Saint Savvas” Cancer Hospital and “I. Metaxa” Special Cancer Hospital) were contacted to participate in the study. Patients with diagnosis older than six months (in order to avoid changes in their dietary habits or other behaviours), were not included. In the same period, 250 female subjects (controls) without any clinical symptoms, signs or suspicious of any type of cancer in their medical history, were selected on a volunteer basis. Control subjects were age-matched (± 3 years) with the cancer patients, population – based and selected on a feasibility basis from the same catchment area of the patients. To avoid selection bias a random selection of the controls was performed, when it was possible (i.e., in 60% of the controls), e.g., through the employees listings of the companies that were visited by the study's investigators in order to enroll controls or the apartments of the building.

A-posteriori statistical power analysis revealed that the number of enrolled participants ($n=250$ cases and $n=250$ controls) was adequate to achieve statistical power 0.70 at 0.05 significance level, in order to evaluate two sided hypotheses of an odds ratio equal to 0.90 when the main exposure factor, i.e., MedDietScore was increased by half standard deviation (i.e., 2.5) above the mean (PASS 2005, Number Cruncher Statistical Systems, Kaysville Utah, USA).

Bioethics

The study has been approved by the Ethics Committee of “Alexandra” General Hospital (No. 4/10.3.2010), “I. Metaxa” Special Cancer Hospital (No. 40/8.12.2011) and “Saint Savvas” Cancer Hospital (No. 448/2.3.2012) and was carried out in accordance to the Declaration of Helsinki (1989) of the World Medical Association. Prior to the collection of any information, participants were informed about the aims and procedures of the study and provided their signed consent.

Dietary assessment

A validated, semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) was used during the interviews to collect dietary information from the participants (**Mourouti et al., 2013**). In brief, the FFQ included 86 questions regarding the frequency of consumption of all main food groups and beverages usually consumed. Specifically, data on regular consumption of each food group (i.e., never, rarely, 3-4 times/month, 1-2 times/week, 3-4 times/week, daily), were recorded for the last year prior to diagnosis. Adherence to the Mediterranean dietary pattern was assessed using the MedDietScore, an 11-item composite dietary index, with large scale scoring that ensures better predictive accuracy (**Panagiotakos et al., 2006**). In particular, the MedDietScore contains the 11 main food components of the Mediterranean diet: non-refined cereals, fruits, vegetables, potatoes, legumes, olive oil, fish, red meat, poultry, full fat dairy products and alcohol. For the consumption of items presumed to be close to the Mediterranean dietary pattern, scores 0, 1, 2, 3, 4 and 5 were assigned when a participant reported no consumption, rare, frequent, very frequent, weekly and daily, respectively. For the consumption of foods presumed to be away from this pattern the scores were assigned on a reverse scale. Especially for alcohol score 5 was assigned for the consumption of less than 3 wineglasses per day, score 0 for consumption of more than 7 wineglasses per day or no consumption and scores 4 to 1 for consumption of 3-4 to 5, 6 and 7 wineglasses per day. The range of the MedDietScore is between 0 and 55. Higher values of this score indicate greater adherence to the Mediterranean diet. The validation properties of the MedDietScore have been presented elsewhere in the literature (**Panagiotakos et al., 2009b, Panagiotakos et al., 2007b, Panagiotakos et al., 2006**).

Other measurements

Age of the participants was recorded, as well as their place of living (i.e. living in the city of Athens or out of town), educational level and financial status. Weight and height were measured using standardized procedures, and body mass index was calculated as weight in *kg* divided by height in *m* squared. Physical activity was assessed using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) index (Craig et al., 2003) that has been validated for the Greek population (Papathanasiou et al., 2009a). Subjects were asked to recall the number of days and hours or minutes they engaged in physical activity of different intensities for at least ten minutes, vigorous intensity and moderate intensity, walking and time spent sitting. According to their physical activity levels participants were classified as inactive, minimally active or health enhancing physical activity (HEPA) active. Smoking habits (i.e. current and former smoking, total years of smoking and number of cigarettes smoked per day) were also recorded. Family history of breast cancer, gynaecological medical history (i.e., existence or not of menstruation, age of menarche, age of menopause and use of hormone replacement therapy), as well as a detailed medical history regarding the common co-morbidities and their treatment (i.e., hypertension, hypercholesterolemia, diabetes), were recorded during the interview.

The design of the study and the full methods followed have been already described elsewhere (Mourouti et al., 2013).

Statistical analysis

Continuous variables that were normally distributed were presented as mean $\pm$ SD. Normality was evaluated using the P-P plots. Categorical variables were presented as frequencies. Associations between categorical variables were tested by the calculation of chi-squared test. Student's *t*-test for independent samples was used to evaluate mean differences of the normally distributed variables (i.e., body mass index, MedDietScore) between cases and controls, where in case of skewed continuous variables (i.e., IPAQ score), the tested hypothesis was evaluated using the non-parametric U-test suggested by Mann and Whitney. Correlations between continuous variables were evaluated using the Spearman *rho* coefficients. Multiple logistic regression analysis was applied to evaluate the association of the adherence to the Mediterranean diet in relation to the likelihood of having breast cancer. The analysis accounted for the potential confounding effect of the following characteristics: age, years of education (measured in years of school) as a proxy of social status, body mass index (in kg/m^2), smoking ever (yes/no), physical activity (in MET-minutes/week), family history of breast cancer in order to encompass the genetic predisposition and potential lifestyle changes (yes/no), age of menarche, age of menopause and use of hormone replacement therapy (yes/no). Parity was not considered as confounder because it was almost a constant variable in our dataset (0-1 children per women in the vast majority of the cases, and with the logistic models collapsing). The results of the logistic regression were presented as odds ratios (OR) and their 95% corresponding confidence intervals (95%CI). Furthermore, discriminant classification analysis using Fisher's linear discriminant function and the calculation of Wilks' Λ was applied to explore the discriminating ability of the individual components of the Mediterranean diet in classifying participants in cases and controls (Fisher, 1936). Wilks' Λ is a direct measure of the proportion of variance (total inertia) in the combination of dependent variables that is unaccounted for by the outcome; the lower the Wilks' Λ the higher the discriminating ability of the variable. *F* test was used to evaluate significance of Wilks' Λ . All reported *p*-values were based on two-sided tests. Statistical calculations were performed with SPSS 18 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

Characteristics of patients and controls

In **Table 1** the basic characteristics of patients and controls are presented. Cases and controls were of similar age (as this was the protocol of the study), while educational and financial status were lower in cases as compared with the controls ($p < 0.001$). Cases were more likely to be overweight and have at least one relative with breast cancer. There was no significant difference in smoking habits ($p = 0.207$), as well as in menopausal status ($p = 0.49$), while cases reported lower physical activity status (i.e., lower IPAQ score). The level of adherence to the Mediterranean diet was moderate in both cases (i.e., 28/55) and controls (i.e., 30/55). As regards the main research hypothesis, a strong association between adherence to the Mediterranean diet and presence of breast cancer was observed, since cases had significantly lower level of adherence to the Mediterranean diet (i.e. lower MedDietScore, $p < 0.001$) (**Table 1**).

Table 1. Distribution of patients' and controls' characteristics.

	Breast cancer cases	Controls	<i>p</i>
N	250	250	
Age (years) (mean± standard deviation)	56 ± 12	56 ± 12	0.99
Years of education (years) (mean± standard deviation)	11 ± 4	12 ± 4	<0.001
Financial status (0-10) (mean± standard deviation)	5 ± 2	6 ± 2	<0.001
Body mass index (kg/m ²) (mean± standard deviation)	28 ± 6	26.7 ± 5	0.007
Smoking (ever), (n. %)	103 (41.2%)	117 (46.8%)	0.207
Number of relatives with breast cancer, (n. %)			0.003
<i>No relative</i>	177 (71.1%)	211 (84.7%)	
<i>1 relative</i>	62 (24.9%)	32 (12.9%)	
<i>2 relatives</i>	9 (3.6%)	5 (2.0%)	
<i>3 relatives</i>	0 (0%)	1 (0.4%)	
<i>5 relatives</i>	1 (0.4%)	0 (0%)	
Menopausal status (n. %)			0.49
Premenopausal women	84 (33.6%)	91 (36.5%)	
Postmenopausal women	166 (66.4%)	158 (63.5%)	
IPAQ score (MET-minutes/week)	219 (0.00, 985.5)	876 (140.25, 1533.0)	<0.001
MedDietScore (0-55) (mean± standard deviation)	27.8 ± 5	29.9 ± 4	<0.001

The MedDietScore is a measurement of adherence to the Mediterranean diet, with theoretical range 0-55; greater values reporting greater adherence to this pattern.

The reported *p*-values were calculated using the t-test, the chi-square test or the Mann-Whitney U test.

Adherence to the Mediterranean diet and breast cancer

Three multiple logistic regression models were estimated in order to evaluate the association between adherence to the Mediterranean diet and the likelihood of having breast cancer (**Table 2**). The use of these models assisted in better exploring the potential effect of various confounders in the investigated relationship. The first model included only age and MedDietScore, as the index of adherence to the Mediterranean diet. It was observed that one unit increase in the MedDietScore was associated with 9% lower likelihood of having breast cancer ($p < 0.05$). At this point it should be mentioned that one unit increase in the MedDietScore could be explained, in average, by an increase of six portions in non-refined cereals, potatoes and vegetables, an increase of five portions in fruits and an increase of two portions in fish and legumes, in a weekly basis. In the second model, years of education (measured in years of school) as a proxy of social status, body mass index (in kg/m²), smoking ever(yes/no), physical activity (in MET-minutes/week), were also taken into account; whereas, in the third model family history of breast cancer in order to encompass the genetic predisposition and potential lifestyle changes (yes/no), age of menarche, age of menopause and use of hormone replacement therapy (yes/no) because they have been strongly associated with breast cancer incidence, were also accounted for. In the fully adjusted model, one unit increase in the diet score was associated with 8% lower likelihood of having breast cancer ($p = 0.003$).

Furthermore, concerning the fact that alcohol is an established risk factor for breast cancer, the analysis was repeated after excluding the alcohol component from the MedDietScore. It was found that greater adherence to the Mediterranean diet was associated with lower odds of breast cancer; particularly, one unit increase in the diet score was associated with 12% lower likelihood of having breast cancer, after the same in *model 3* (Table 2), adjustments were made (95%CI 0.84, 0.93).

Table 2. Results from multiple logistic regression models that were applied to evaluate the association of the adherence to the Mediterranean diet with the likelihood of having breast cancer in cases ($n=250$) and controls ($n=250$). Results are presented as odds ratios and 95%CI.

	<i>Model 1</i>	<i>Model 2</i>	<i>Model 3</i>
Age (per 1 year)	0.99 (0.98, 1.02)	0.97 (0.95, 1.00)	0.98 (0.94, 1.01)
MedDietScore (per 1/55 units)	0.91 (0.87, 0.94)	0.93 (0.89, 0.97)	0.92 (0.86, 0.97)
Body mass index (per 1 kg/m ²)	-	1.03 (0.99, 1.07)	1.01 (0.96, 1.07)
Smoking ever (yes vs. no)	-	0.80 (0.54, 1.20)	0.72 (0.43, 1.22)
IPAQ (per 1000 MET-minutes/week)	-	0.80 (0.67, 1.00)	0.82 (0.69, 0.98)
Years of education (per 1 year)	-	0.91 (0.86, 0.97)	0.93 (0.86, 0.99)
Family history of breast cancer (yes vs. no)	-		1.62 (1.03, 2.54)
Age of menarche (per 1 year)	-		1.03 (0.87, 1.22)
Age of menopause (per 1 year)	-		0.98 (0.93, 1.03)
Use of hormone replacement therapy (yes vs. no)	-		1.23 (0.51, 2.96)

All odds ratios and their corresponding 95% confidence intervals were calculated by performing multiple logistic regressions.

Decomposition analysis of the Mediterranean diet in relation to breast cancer

In order to further identify which of the components of the Mediterranean diet better discriminates breast cancer patients from the controls, classification analysis, together with multi-adjusted multiple logistic regressions for the same covariates presented in **Table 3**, was applied. According to Wilks' Λ statistic (a measure that explores the strength of the discriminating ability of the components of the MedDietScore in relation to the classification of the participants, i.e., patients or controls) it was revealed that the most important, protective component of the MedDietScore was non-refined cereals (Wilks' $\Lambda=0.955$; $p<0.001$, OR=0.74; 95%CI: 0.61, 0.92), followed by vegetables (Wilks' $\Lambda=0.963$; $p<0.001$, OR=0.72; 95%CI: 0.55, 1.00), fruits (Wilks' $\Lambda=0.965$; $p<0.001$, OR=0.82; 95%CI: 0.68, 0.98), and alcohol (Wilks' $\Lambda=0.987$; $p=0.012$), while red meat and products was the last, non-protective significant component (Wilks' $\Lambda=0.989$; $p=0.023$, OR=1.27; 95%CI: 1.00, 1.61). Non-significant associations were observed for: legumes (Wilks' $\Lambda=0.995$; $p=0.109$, OR=0.97; 95%CI: 0.75, 1.28), poultry and white meat (Wilks' $\Lambda=0.996$; $p=0.147$, OR=1.04; 95%CI: 0.83, 1.25), dairy products (Wilks' $\Lambda=0.997$; $p=0.236$, OR=0.94; 95%CI: 0.74, 1.18), potatoes (Wilks' $\Lambda=1.000$; $p=0.654$, OR=1.23; 95%CI: 0.88, 1.68), use of olive oil in cooking (Wilks' $\Lambda=1.000$; $p=0.912$, OR=0.71; 95%CI: 0.21, 1.84) and fish (Wilks' $\Lambda=1.000$; $p=0.963$, OR=1.21; 95%CI: 0.89, 1.62). Especially for the alcohol component and because the relationship was not linear, categorical analysis was further applied and revealed that alcohol drinking on a weekly basis (i.e., 3-4 times/week) was associated with lower odds of having breast cancer as compared with no drinking (OR=0.15; 95%CI: 0.02, 0.82), while higher or lower consumption had no significant results. Moreover, the Wilks' Λ statistic for the overall MedDietScore was 0.951 ($p<0.001$), suggesting that the explanatory ability of diet on breast cancer variation was 4.9%.

The association of adherence to the Mediterranean diet and likelihood of breast cancer, by obesity, physical activity status, smoking, menopausal status, age of menarche and place of residence

To further evaluate the potential heterogeneity across obesity, physical activity status, smoking, menopausal status, age of menarche and place of residence, a subgroup analysis was performed. Although the interactions of MedDietScore by obesity (p for interaction = 0.09), physical activity (p for interaction = 0.12), smoking (p for interaction = 0.07), menopausal status (p for interaction = 0.08), age of menarche (p for interaction = 0.07) and place of residence (p for interaction = 0.001), were significant, the statistical power of the analyses was reduced to 55%-75% due to data splitting; thus the findings should be generalised with conscious. It was found that the results were similar to the ones presented in the entire sample; particularly, among normal weight women (i.e. BMI < 25 kg/m²) one unit increase in the overall score was associated with 25% lower likelihood of having breast cancer ($p=0.001$), after adjusting for age, educational level, current smoking, IPAQ score, family history of breast cancer, age of menarche, age of menopause and use of hormone replacement therapy; among physically inactive (i.e., <600 MET-minutes/week) and minimally active participants (i.e. 600-3000 MET-minutes/week), one unit increase in the diet score was associated with 9% and 11% lower likelihood of having breast cancer, respectively ($p=0.024$ and $p=0.04$), after the same adjustments were made. Moreover, stratified analysis by menopausal status and age of

menarche revealed similar relationships as regards postmenopausal women and those with late menarche (i.e., >12 years old), whereas among premenopausal and participants with early menarche there was no significant association. More specifically, among postmenopausal women as well as those with late menarche, one unit increase in the diet score was associated with 8% lower likelihood of having breast cancer ($p=0.003$ and $p=0.001$ respectively), after the same adjustments. When the analysis was stratified according to current smoking, women who didn't smoke had 12% lower likelihood of having breast cancer ($p<0.001$) for one unit increase in the diet score, after the same adjustments, whereas in smokers, the effect of the Mediterranean diet became insignificant. At last, stratified analysis by place of residence revealed that among those participants who lived in places other than the Metropolitan area of Athens, one unit increase in the overall score was associated with 28% lower likelihood of having breast cancer ($p=0.001$); however, the association of Mediterranean diet with breast cancer became insignificant when focusing on Athens Metropolitan area inhabitants (**Table 3**). At this point it should be noted that the place of residence was not associated with the level of adherence to the Mediterranean diet ($p=0.615$). In brief, the beneficial association of adherence to the Mediterranean diet against breast cancer development seemed more prominent among normal weight, moderately physically active, non smokers' postmenopausal women, with age of menarche after 12 years old and living in areas other than the Athens metropolis.

Table 3. Results from stratified multiple logistic regression models that were applied to evaluate the association of the adherence to the Mediterranean diet with the likelihood of having breast cancer in various sub-groups. Results are presented as odds ratios and 95%CI.

	Odds ratio	95% confidence interval
Obesity Status		
Normal weight women, $n=172$	0.75	0.63, 0.89
Overweight, obese women, $n=307$	0.94	0.88, 1.00
Physical activity status		
<600 MET-minutes/week, $n=261$	0.91	0.83, 0.99
600-3000 MET-minutes/week, $n=184$	0.89	0.80, 0.99
>3000 MET-minutes/week, $n=49$	0.85	0.69, 1.04
Current smoking		
Yes, $n=124$	1.04	0.90, 1.19
No, $n=376$	0.88	0.82, 0.95
Menopausal status		
Premenopausal women, $n=175$	0.94	0.88, 1.00
Postmenopausal women, $n=324$	0.92	0.86, 0.97
Age of menarche		
<12 years, $n=83$	0.94	0.85, 1.04
>12 years, $n=410$	0.92	0.87, 0.96
Residence		
Metropolitan area of Athens, $n=378$	0.95	0.89, 1.02
Other areas, $n=120$	0.72	0.59, 0.88

Models were also adjusted for age, educational status, Body Mass Index (BMI), current smoking, IPAQ score, family history of breast cancer, age of menarche, age of menopause and use of hormone replacement therapy.

Discussion

Based on the presented findings, adherence to the Mediterranean diet was inversely associated with the likelihood of having breast cancer, especially among normal weight and postmenopausal women, those who had their first regular period in age older than 12 years old, those who were inactive or minimally active, did not smoke and lived in areas other than the Metropolitan area of Athens. The foods of the traditional Mediterranean diet that seems to confer more in this protective relationship were non-refined cereals, vegetables, fruits, and moderate alcohol drinking, whereas red meat and products intake showed opposite results. These findings add to the current scientific literature and may suggest that Mediterranean diet may be a favourable, non-pharmacological mean for cancer prevention; yet further studies are needed to confirm or refute the presented results. The hierarchical analysis underlined the food components of this traditional dietary pattern that more attention should be given; nevertheless, it should be always suggested that the Mediterranean diet must be considered as a total pattern in order to gain the most benefits.

The protective effect of adherence to the Mediterranean diet on breast cancer has been recently reported by some other observational studies. In an analysis of the EPIC cohort, adherence to a Mediterranean diet excluding alcohol was related to a modest reduced risk of breast cancer in postmenopausal women, and this association was stronger in receptor-negative tumors (**Buckland et al., 2013**). A report of the Greek-EPIC study also demonstrated a marginally significant protective association between adherence to a Mediterranean dietary pattern and postmenopausal breast cancer (Hazard Ratio=0.78 for every 2 points; 95%CI: 0.62-0.98) (**Trichopoulou et al., 2010**). Moreover, a cohort study conducted in France, found that a “healthy/Mediterranean” pattern was associated with 15% lower breast cancer risk, especially when tumours were ER+/PR- phenotype (**Cottet et al., 2009**). Another study also revealed that adherence to Mediterranean diet was inversely associated with breast cancer risk in Asian American women (**Wu et al., 2009**). Similarly, a study conducted in a population of Hispanic and non-Hispanic white women found that conformity to a Mediterranean dietary pattern was associated with 24% lower risk of breast cancer (**Murtaugh et al., 2008**). However, Cade et al., (**Cade et al., 2011**) who examined the adherence to a Mediterranean dietary pattern in a British cohort did not found any significant results, except a borderline trend towards decreased risk in premenopausal women. Similarly, adherence to a Mediterranean dietary pattern was not statistically significantly associated with reduced risk of breast cancer overall or with specific breast tumor characteristics in a cohort study conducted in relatively young women (**Couto et al., 2013**). Finally, in a recent study conducted in a Mediterranean country, Cyprus, there was no association with breast cancer risk for either score used indicating adherence to a Mediterranean dietary pattern (**Demetriou et al., 2012**).

The cancer-protective effect of the Mediterranean diet in the present work also seemed to vary according to the individuals’ characteristics, like: obesity, physical activity status, smoking, menopausal status and residence. Obesity is a predisposing factor for breast cancer especially in postmenopausal women, as circulating estrogens are primarily produced in fat tissue. Thus, having more fat tissue increases estrogen levels and the likelihood of having breast cancer (**WCRF/AICR**). When the analysis was stratified by obesity status, the beneficial effect of the Mediterranean diet remained only among the normal weight women, probably because the increased risk of breast cancer associated with obesity may mask the inverse association of the Mediterranean diet with breast cancer development. According to a review of 150 studies by the International Agency for Research on Cancer (IACR), the evidence that tobacco smoking causes breast cancer in women is limited (**Breast Cancer Facts and Figures, 2011**). However, a recent cohort study of nearly 80,000 women demonstrated that current smokers had a 16% higher risk of breast cancer compared to women who never smoked (**Luo et al., 2011**). When the present analysis was stratified by smoking status, the protective effect of the Mediterranean diet was observed only for women who did not smoke. A possible explanation could be that the increased risk of breast cancer associated with tobacco smoking may have masked the beneficial association of Mediterranean diet and breast cancer. Moreover, it is known that early menarche (<12 years old) may increase a woman’s risk of breast cancer by increasing lifetime exposure to reproductive hormones produced by her body (**Breast Cancer Facts and Figures, 2011**). When the present analysis was stratified by age of menarche, the Mediterranean’s diet protective effect remained only for women who had their first regular period in age older than 12 years old, probably due to the fact that the increased risk of breast cancer associated with early menarche may have also masked the inverse association of the Mediterranean diet with breast cancer development. Regarding the observation that adherence to the Mediterranean diet was not so effective concerning breast cancer among women living in Athens area it is hard to suggest any plausible mechanisms, but only make some speculation. It has been suggested that differences in personal behavior (cigarette smoking, alcohol consumption, sexual promiscuity, exposure to ultraviolet light, type of diet and family size) are the principal factors responsible for the difference in the incidence of cancer between urban and rural areas. Other factors include general atmospheric pollution, occupational hazards, and genetic differences in susceptibility (**Doll, 1991**). Probably the above factors have moderated the effect of the Mediterranean diet among women living in Athens area. Moreover, other behavioral characteristics, like life stress and anxiety, may have also moderated the effect of Mediterranean diet among urban women; however, the present analysis did not confirm any of the aforementioned speculations.

The potential mechanisms by which Mediterranean diet may protect human health have long been discussed in the literature; the anti-oxidative, anti-inflammatory role (**Chrysohoou et al., 2004, Esposito et al., 2006, Panagiotakos et al., 2009c**) together with the blood pressure lowering effects (**Nunez-Cordoba et al., 2009**) seems to be the main pathways that greater adherence to the Mediterranean diet may reduce overall mortality and, particularly, cardiometabolic disease risk. As regards cancer, the beneficial effect of the

Mediterranean diet on it may be mediated through several biological mechanisms including oxidative stress and chronic inflammation. The antioxidant capacity of the Mediterranean dietary pattern can be attributed to its richness in dietary antioxidants such as vitamin C, vitamin E, carotenoids, phenols and flavonoids. Moreover, the above pattern seems to have the ability to decrease the inflammation, by lowering C-reactive proteins, interleukin-6, homocysteine, and fibrinogen levels, as well as several other biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction (Verberne et al., 2010). A particular interest has been also given on the effect of extra virgin olive oil and breast cancer risk, where animal and human studies have associated its consumption with lower incidence and mortality rates from some cancers including that of the breast. According to the studies, it can influence the stages of the carcinogenesis process as well as the immune system, the oxidative stress, alter the hormonal status, modify the structure and function of cell membranes and modulate cell signaling transduction pathways and regulation of gene expression. Its probable chemoprotective effect can be attributed to its particular fatty acid composition: it contains a high amount of oleic acid (OA), a suitable of polyunsaturated fatty acids (PUFA), a relatively low n-6 PUFA/n-3 PUFA ratio, as well as minor bioactive compounds such as squalene and phenolic antioxidants (Escrib et al., 2011b). In the present work, olive oil use was not significantly associated with lower likelihood of having breast cancer; this can be attribute to the fact that the vast majority of cases, as well the controls reported olive oil use (i.e., >60%). Concerning alcohol drinking, it is widely recognized as one of the behaviors most consistently associated with increased breast cancer risk, independently of the type of alcoholic drink consumed and of menopausal status (WCRF/AICR). In a very recent systematic review of 113 papers reporting breast cancer risk estimates for light drinkers (i.e., ≤ 12.5 g/day ethanol; ≤ 1 drink/day) a modest, but significant positive association between light drinking and breast cancer was revealed (Seitz et al., 2012). Similarly, in a more recent meta-analysis including 222 papers comprising approximately 92,000 light drinkers and 60,000 non-drinkers with cancer, light drinking was positively associated with the risk of breast cancer (Bagnardi et al., 2013a). In the present study, Mediterranean diet without the alcohol component revealed the same protective relationship with breast cancer. Nevertheless, although moderate alcohol consumption (and especially wine) is a dominant characteristic of the Mediterranean diet, it seems difficult to ascribe its beneficial effect on this component, since it is an established risk factor for breast cancer.

Limitations

The major limitation of this study was the recall bias, as in all cases-controls studies. However, an effort was given to minimize this limitation by choosing newly diagnosed consecutive patients and collecting all necessary subjects in a small period of time. Regarding the selection of the controls, the “healthy” volunteer effect may exist. However, as mentioned in the Methods section, an effort was given to avoid selection bias by performing, when possible, random selection of the volunteers, as well as avoiding any “specific” sampling rule in the allocation of the participants. Moreover, people who collected the data were commonly and well trained before the beginning of the study, limiting the intra-investigators bias. The effect size measures used in case-control studies (i.e., the odds ratios) tend to overestimate the actual effect of the cause on effect usually observed in prospective studies; and thus, the findings should be interpreted with caution. The results from the discriminant analysis cannot be easily generalized to the referent population, as well as to other populations due to methodological sampling issues of this study.

Conclusions

Accumulating evidence suggest that the promotion of a healthier lifestyle, including dietary recommendations, could be as one of the first priorities for the prevention of breast cancer, as it constitutes an in-expensive, easily adoptable, non-pharmacological mean. This work underlined the importance of adherence to the Mediterranean diet on breast cancer prevention. The Mediterranean diet is a healthy dietary pattern that, has and, can be adopted by populations other than the Mediterraneans, and has shown considerable benefits on human health. The highlight of some inherent characteristics that showed more prominent results as regards breast cancer should make us not to forget that the diet as a whole pattern is what it finally matters. Nevertheless, and despite the important findings from numerous studies, there is no doubt that the Mediterranean diet is being progressively lost, especially in the younger generations. Therefore, an effort should be made by public health authorities in order to preserve this pattern for the future generations.

Acknowledgements

The authors would like to thank all the participants of the study, without their contribution this project would never been done; also, would like to thank the Directors of the clinics of the involved hospitals: Gerasimos Aravantinos, Epaminondas Samantas, Evangelos Filopoulos, and the field investigators of the study: Aikaterini Manousou, Vassiliki Markasioti, Aikaterini Kakou, Fotini-Maria Mpalli, Nikolaos Soupos, Zoe Tsakalou, Maria Mitsou, Artemisia Tsakla, Iro Karapapa, Maria Somaraki, Athanasios Tektonidis, Athanasia Laina and Aggeliki Siolavou.

Acknowledgment: The study was partially funded by the Graduate Program of the Department of Nutrition and Dietetics, Harokopio University in Athens, Greece.

References

1. UNESCO. Representative List of the Intangible Cultural Heritage of Humanity (www.unesco.org/culture/ich/index.php?lg=en&pg=00011&RL=00394). 2010.
2. Sofi F, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2010;92:1189-96.
3. Sofi F, Cesari F, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. *BMJ* 2008;337:a1344.
4. Kastorini CM, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB. The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol* 2011;57:1299-313.
5. Serra-Majem L, Roman B, Estruch R. Scientific evidence of interventions using the Mediterranean diet: a systematic review. *Nutr Rev* 2006;64:S27-47.
6. Tyrovolas S, Panagiotakos DB. The role of Mediterranean type of diet on the development of cancer and cardiovascular disease, in the elderly: a systematic review. *Maturitas* 2010;65:122-30.
7. Kontou N, Psaltopoulou T, Panagiotakos D, Dimopoulos MA, Linos A. The mediterranean diet in cancer prevention: a review. *J Med Food* 2011;14:1065-78.
8. Buckland G, Travier N, Cottet V, Gonzalez CA, Lujan-Barroso L, et al. Adherence to the mediterranean diet and risk of breast cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition cohort study. *Int J Cancer* 2013;132:2918-27.
9. Couto E, Sandin S, Lof M, Ursin G, Adami HO, Weiderpass E. Mediterranean dietary pattern and risk of breast cancer. *PLoS One* 2013;8:e55374.
10. Escrich E, Moral R, Solanas M. Olive oil, an essential component of the Mediterranean diet, and breast cancer. *Public Health Nutr* 2011;14:2323-32.
11. Mourouti N, Papavagelis C, Psaltopoulou T, Aravantinos G, Samantas E, et al. Aims, design and methods of a case-control study for the assessment of the role of dietary habits, eating behaviors and environmental factors, on the development of breast cancer. *Maturitas* 2013;74:31-6.
12. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006;16:559-68.
13. Panagiotakos D, Kalogeropoulos N, Pitsavos C, Roussinou G, Palliou K, et al. Validation of the MedDietScore via the determination of plasma fatty acids. *Int J Food Sci Nutr* 2009;60 Suppl 5:168-80.
14. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Arvaniti F, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. *Prev Med* 2007;44:335-40.
15. Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, Bauman AE, Booth ML, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1381-95.
16. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, Spyropoulos P, Georgakopoulos D, et al. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 2009;50:283-94.
17. Fisher RA. The Use of Multiple Measurements in Taxonomic Problems. *Annals of Eugenics* 1936;7:179-188.
18. Trichopoulou A, Bamia C, Lagiou P, Trichopoulos D. Conformity to traditional Mediterranean diet and breast cancer risk in the Greek EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) cohort. *Am J Clin Nutr* 2010;92:620-5.
19. Cottet V, Touvier M, Fournier A, Touillaud MS, Lafay L, et al. Postmenopausal breast cancer risk and dietary patterns in the E3N-EPIC prospective cohort study. *Am J Epidemiol* 2009;170:1257-67.
20. Wu AH, Yu MC, Tseng CC, Stanczyk FZ, Pike MC. Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1145-54.

21. Murtaugh MA, Sweeney C, Giuliano AR, Herrick JS, Hines L, et al. Diet patterns and breast cancer risk in Hispanic and non-Hispanic white women: the Four-Corners Breast Cancer Study. *Am J Clin Nutr* 2008;87:978-84.
22. Cade JE, Taylor EF, Burley VJ, Greenwood DC. Does the Mediterranean dietary pattern or the Healthy Diet Index influence the risk of breast cancer in a large British cohort of women? *Eur J Clin Nutr* 2011;65:920-8.
23. Demetriou CA, Hadjisavvas A, Loizidou MA, Loucaides G, Neophytou I, et al. The mediterranean dietary pattern and breast cancer risk in Greek-Cypriot women: a case-control study. *BMC Cancer* 2012;12:113.
24. WCRF/AICR. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC: AICR; 2007.
25. American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2011-2012. Atlanta: American Cancer Society, Inc.
26. Luo J, Margolis KL, Wactawski-Wende J, Horn K, Messina C, et al. Association of active and passive smoking with risk of breast cancer among postmenopausal women: a prospective cohort study. *BMJ* 2011;342:d1016.
27. Doll R. Urban and rural factors in the aetiology of cancer. *Int J Cancer* 1991;47:803-10.
28. Chrysoshoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:152-8.
29. Esposito K, Ciotola M, Giugliano D. Mediterranean diet, endothelial function and vascular inflammatory markers. *Public Health Nutr* 2006;9:1073-6.
30. Panagiotakos DB, Dimakopoulou K, Katsouyanni K, Bellander T, Grau M, et al. Mediterranean diet and inflammatory response in myocardial infarction survivors. *Int J Epidemiol* 2009;38:856-66.
31. Nunez-Cordoba JM, Valencia-Serrano F, Toledo E, Alonso A, Martinez-Gonzalez MA. The Mediterranean diet and incidence of hypertension: the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) Study. *Am J Epidemiol* 2009;169:339-46.
32. Verberne L, Bach-Faig A, Buckland G, Serra-Majem L. Association between the Mediterranean diet and cancer risk: a review of observational studies. *Nutr Cancer* 2010;62:860-70.
33. Escrich E, Solanas M, Moral R, Escrich R. Modulatory effects and molecular mechanisms of olive oil and other dietary lipids in breast cancer. *Curr Pharm Des* 2011;17:813-30.
34. Seitz HK, Pelucchi C, Bagnardi V, La Vecchia C. Epidemiology and pathophysiology of alcohol and breast cancer: Update 2012. *Alcohol Alcohol* 2012;47:204-12.
35. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, Tramacere I, Islami F, et al. Light alcohol drinking and cancer: a meta-analysis. *Ann Oncol* 2013;24:301-8.

4.2.1.2 Ο ρόλος των εκ-των-υστέρων διατροφικών προτύπων στην παρουσία καρκίνου του μαστού

Για την αποτίμηση των εκ-των-υστέρων διατροφικών προτύπων στην παρούσα διατριβή, χρησιμοποιήθηκε η Ανάλυση σε Κύριες Συνιστώσες. Τρεις κύριες συνιστώσες αναδείχθηκαν από την παρούσα ανάλυση, ερμηνεύοντας το 43% της συνολικής μεταβλητότητας της διατροφικής πληροφορίας. Οι κυριότερες μεταβλητές τροφίμων και ποτών για κάθε συνιστώσα ήταν οι ακόλουθες: *Συνιστώσα 1*: πατάτες, κόκκινο κρέας και παράγωγα, πουλερικά και λευκό κρέας, γαλακτοκομικά προϊόντα, χρήση μαργαρίνης/βουτύρου στο μαγείρεμα ή το τραπέζι, αλλαντικά, τηγανητά τρόφιμα, ψημένο κρέας και ψάρι, *Συνιστώσα 2*: μη επεξεργασμένα δημητριακά, φρούτα και λαχανικά και *Συνιστώσα 3*: ελαιόλαδο και ψάρι. Το διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίζεται από τη *Συνιστώσα 1* (πατάτες, κόκκινο κρέας και παράγωγα, πουλερικά και λευκό κρέας, γαλακτοκομικά προϊόντα, χρήση μαργαρίνης/βουτύρου στο μαγείρεμα ή το τραπέζι, αλλαντικά, τηγανητά τρόφιμα, ψημένο κρέας και ψάρι) συσχετίστηκε αντίστροφα με το MedDietScore ($r = -0,148, p=0,001$), υποδηλώνοντας πως οι συμμετέχουσες που «ακολουθούσαν» αυτό το «μη υγιεινό» πρότυπο απείχαν από την υιοθέτηση της Μεσογειακής διατροφής. Αντίθετα, τα διατροφικά πρότυπα που χαρακτηρίζονται από τη *Συνιστώσα 2* (μη επεξεργασμένα δημητριακά, φρούτα και λαχανικά) και τη *Συνιστώσα 3* (ελαιόλαδο και ψάρι) συσχετίστηκαν θετικά με τον διατροφικό δείκτη ($r = 0,701, p<0,05$; $r = 0,583, p<0,05$ αντίστοιχα) γεγονός που υποδηλώνει πως οι συμμετέχουσες που «ακολουθούσαν» το «υγιεινό» πρότυπο που χαρακτηρίζεται από την κατανάλωση μη επεξεργασμένων δημητριακών, φρούτων και λαχανικών, καθώς και αυτό που χαρακτηρίζεται από την κατανάλωση ελαιολάδου και ψαριού χαρακτηρίζονταν παράλληλα και από την υιοθέτηση της Μεσογειακής διατροφής.

Τα αποτελέσματα της πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης ανέδειξαν την προστατευτική επίδραση του διατροφικού προτύπου που χαρακτηρίζεται από τη *Συνιστώσα 2* (μη επεξεργασμένα δημητριακά, φρούτα και λαχανικά) καθώς και αυτού που χαρακτηρίζεται από τη *Συνιστώσα 3* (ελαιόλαδο και ψάρι) στην παρουσία καρκίνου του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, τα ανωτέρω διατροφικά πρότυπα συσχετίστηκαν με 44% και 21% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού αντίστοιχα ($p<0,05$), ενώ το διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίζεται από τη *Συνιστώσα 1* (πατάτες, κόκκινο κρέας και παράγωγα, πουλερικά και λευκό κρέας, γαλακτοκομικά προϊόντα, χρήση μαργαρίνης/βουτύρου στο μαγείρεμα ή το τραπέζι,

αλλαντικά, τηγανητά τρόφιμα, ψημένο κρέας και ψάρι) δε συσχετίστηκε σημαντικά με τη νόσο ($p>0,05$). Επιπλέον αναλύσεις ανέδειξαν ότι τα ευεργετικά τους οφέλη αναφορικά με την παρουσία της νόσου παρέμειναν σημαντικά (39% και 18% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού για τα διατροφικά πρότυπα που χαρακτηρίζονται από τις *Συνιστώσες 2 και 3* αντίστοιχα), ακόμα και μετά από έλεγχο για συγχυτικούς παράγοντες όπως το επίπεδο εκπαίδευσης, το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού, ο δείκτης μάζας σώματος, το κάπνισμα, η φυσική δραστηριότητα και το επίπεδο εμμηνόπαυσης. Όταν έλαβε χώρα έλεγχος και για τον τόπο διαμονής των συμμετεχόντων, η ευεργετική επίδραση των διατροφικών προτύπων που χαρακτηρίζονται από τη *Συνιστώσα 2* (μη επεξεργασμένα δημητριακά, φρούτα και λαχανικά) και τη *Συνιστώσα 3* (ελαιόλαδο και ψάρι) απέναντι στη νόσο παρέμεινε αναλλοίωτη (40% και 19% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού αντίστοιχα). Ωστόσο, το διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίζεται από τη *Συνιστώσα 1* (πατάτες, κόκκινο κρέας και παράγωγα, πουλερικά και λευκό κρέας, γαλακτοκομικά προϊόντα, χρήση μαργαρίνης/βουτύρου στο μαγείρεμα ή το τραπέζι, αλλαντικά, τηγανητά τρόφιμα, ψημένο κρέας και ψάρι) εξακολούθησε να μη συσχετίζεται σημαντικά με τη νόσο ($p>0,05$).

Επιπλέον αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν με βάση τις κατηγορίες σωματικού βάρους, το επίπεδο εμμηνόπαυσης αλλά και τον τόπο διαμονής ανέδειξαν παρόμοια αποτελέσματα αναφορικά με την επίδραση των ανωτέρω διατροφικών προτύπων στην παρουσία καρκίνου του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, το διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίζεται από τη *Συνιστώσα 2* (μη επεξεργασμένα δημητριακά, φρούτα και λαχανικά) φάνηκε να επιδρά προστατευτικά απέναντι στη νόσο καθώς συσχετίστηκε με 38% και 53% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού στις φυσιολογικού βάρους (δηλ. $BMI<25 \text{ kg/m}^2$) και υπέρβαρες συμμετέχουσες (δηλ. $25 \text{ kg/m}^2 < BMI < 29,9 \text{ kg/m}^2$) αντίστοιχα, αφού λήφθηκαν υπόψη πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες ($p<0,05$). Όταν οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με βάση το επίπεδο εμμηνόπαυσης, το ανωτέρω «υγιεινό» διατροφικό πρότυπο συσχετίστηκε με 44% και 39% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου για τις γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά και μετεμμηνοπαυσιακά αντίστοιχα, αφού λήφθηκαν υπόψη οι ίδιοι συγχυτικοί παράγοντες ($p<0,05$). Ιδιαίτερα για τις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά, παρατηρήθηκε παράλληλα, πως το διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίζεται από τη *Συνιστώσα 1* (πατάτες, κόκκινο κρέας και

παράγωγα, πουλερικά και λευκό κρέας, γαλακτοκομικά προϊόντα, χρήση μαργαρίνης/βουτύρου στο μαγείρεμα ή το τραπέζι, αλλαντικά, τηγανητά τρόφιμα, ψημένο κρέας και ψάρι) συσχετίστηκε με 36% μεγαλύτερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού αφού λήφθηκαν υπόψη οι ίδιοι συγχυτικοί παράγοντες ($p>0,05$). Ολοκληρώνοντας, οι αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν με βάση τον τόπο διαμονής ανέδειξαν πως το «υγιεινό» διατροφικό πρότυπο (που χαρακτηρίζεται από τη Συνιστώσα 2) επιδρά προστατευτικά απέναντι στη νόσο τόσο για τις συμμετέχουσες που διαμένουν στην Αθήνα όσο και για εκείνες στην περιφέρεια (29% και 74% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου αντίστοιχα, αφού λήφθηκαν υπόψη οι ίδιοι συγχυτικοί παράγοντες).

Dietary patterns and breast cancer: a case-control study in women

Niki Mourouti¹, MSc; Christos Papavagelis¹, MSc; Petrini Plytzanopoulou², MSc; Meropi Kontogianni¹, PhD; Tonia Vassilakou², PhD; Nikolaos Malamos³, MD, PhD; Athena Linos⁴, MD, PhD; Demosthenes Panagiotakos¹, PhD

¹Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

²Department of Nutrition and Biochemistry, National School of Public Health, Athens, Greece

³Pathology-Oncology Department, General Hospital "Elena Venizelos", Athens, Greece

⁴Department of Hygiene, Epidemiology and Medical Statistics, School of Medicine, University of Athens, Athens, Greece

Abstract

Purpose: since dietary habits have been associated with breast cancer, the tested research hypothesis was the associations between food patterns, as derived through multivariate methods, and breast cancer. **Methods:** a case – control study. Two-hundred-and-fifty consecutive, newly diagnosed breast cancer female patients (56±12 years) and 250, one-to-one age-matched, healthy controls were studied. A standardized, validated questionnaire assessing various socio-demographic, clinical, lifestyle and dietary characteristics, was applied through face-to-face interviews. Factor analysis, with principal components method, was applied to extract dietary patterns from 86 foods or food groups consumption reported by the controls. **Results:** three components were derived explaining 43% of the total variation in consumption. Component 1 was characterized by the consumption of potatoes, red meat and its products, poultry and white meat, dairy products, use of margarine/butter in cooking or at the table, consumption of sausages, fried food as well as grilled meat or fish; component 2, characterized by the consumption of whole grains, fruits and vegetables and component 3, characterized by olive oil and fish consumption. After adjusting for various confounders, components 2 and 3 were favorably associated with the absence of having breast cancer (odds ratio = 0.60, 95% CI 0.47 – 0.75 and odds ratio = 0.81, 95% CI 0.66 – 0.99, respectively), while component 1 was not significantly associated with the disease. **Conclusions:** adherence to healthy dietary patterns (including whole grains, fruits and vegetables, olive oil and fish), seems to be favorable in not having breast cancer, among middle-aged women.

Keywords: breast cancer, dietary patterns, factor analysis

Introduction

Breast cancer is the most frequently diagnosed cancer and the leading cause of cancer death in females, worldwide, accounting for 23% (i.e. 1.38 million) of the total new cancer cases and 14% (458,400) of the total cancer deaths in 2008. About half the breast cancer cases and 60% of the deaths are estimated to occur in economically developing countries (Jemal et al., 2011).

With respect to diet and breast cancer risk, during the last decades, studies from all over the world have evaluated the relationship between specific foods and some of their compounds as well as dietary habits with the development of breast cancer (Michels et al., 2007, Thomson, 2012). Among them, alcohol drinking is widely recognized as one of the behaviours most consistently associated with breast cancer risk (WCRF/AICR, 2007a). Moreover, the evidence for the World Cancer Research Fund and the American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR) report, is suggestive of an increase in breast cancer risk among postmenopausal women consuming higher fat diets as compared with those consuming lower fat diets (WCRF/AICR, 2007a). Furthermore, soyfood consumption seems to be inversely associated with the risk of breast cancer among the Asian women (Zhong and Zhang, 2012), while increased consumption of total dairy food but not milk may be also associated with a reduced risk of the disease (Dong et al., 2011). In contrast, studies that have evaluated the role of red meat and/or processed meat and breast cancer risk provide inconsistent results, while the relationship between greater fruit and vegetable consumption and reduced risk for breast cancer has not been consistently demonstrated (Thomson, 2012, WCRF/AICR, 2007a).

However, it should be noted that the majority of previous studies followed the approach of assessing single nutrients or food items, instead of assessing dietary patterns. Nevertheless, it is accepted that people do not eat isolated nutrients, but they consume meals consisting of a variety of foods with complex combinations of micro and macro nutrients. Moreover, food-specific analyses in relation to the characteristics of people or incidence of a disease, share many methodological limitations (i.e., high collinearity of the food variables, inability to test for the synergistic effects of foods etc). Thus, during the last years, several investigators in the field of nutritional epidemiology have suggested using a holistic dietary approach when exploring its impact on disease prevention, giving much attention in pattern analysis (**Jacques and Tucker, 2001, Trichopoulos and Lagiou, 2001**). Two basic methodologies have been proposed for assessing dietary patterns in nutrition epidemiology studies. The first one is based on *a-priori* defined “healthy” dietary patterns (i.e., Mediterranean diet, step I AHA diet, other recommendations illustrated in food-pyramids, etc). To measure the level of adherence to these patterns special indexes have been proposed that capture into a single score the magnitude of adherence to the specific pattern (**Alberti et al., 2009, Mitrou et al., 2007, Panagiotakos et al., 2006, Trichopoulos and Lagiou, 2001, Trichopoulou et al., 2005**). The second methodological procedure is based on multivariate statistical methods (**Kim, 1978**), like principal components analysis (PCA), cluster or factor analysis. All these methodologies, may consider as *a-posterior* techniques, and an alternative of the use of diet scores. They have emerged as methods to empirically derive dietary (or food) patterns and possibly explain nutrient-disease relations (**Kim, 1978, Newby and Tucker, 2004**). Among them, factor analysis is the method most commonly used since it evaluates the correlations between all food consumption variables and reveals similarities in the habits of people. Afterward, the application of the classical statistical methods, like multiple regression analysis, may reveal whether a food or dietary pattern (component) is associated with a specific disease like the breast cancer.

Therefore, following the holistic dietary assessment approach, in the present work the tested research hypothesis was the evaluation of the odds of adherence to certain dietary patterns, as derived through factor analysis using the PCA method, among breast cancer patients and their age-matched controls (**Mourouti et al., 2013**).

Subjects and Methods

Study's design and sample

This is a case-control study, with face-to-face interviews with the participants. Between November 1st, 2010 and July 31st, 2012, 250 consecutive, newly (within six months) diagnosed breast cancer female patients (defined by physical examination and biopsy) that visited pathology-oncology clinics of five major General Hospitals in Athens, Greece (i.e., “Alexandra” General Hospital, “Elena Venizelos” Maternity-General Hospital, “Agioi Anargyroi” General Oncological Hospital of Kifissia, “Saint Savvas” Cancer Hospital and “I. Metaxa” Special Cancer Hospital) were contacted to participate in the study. Patients with diagnosis older than six months (in order to avoid changes in their dietary habits or other behaviours), were not included. In the same period, 250 female subjects (controls) without any clinical symptoms, signs or suspicious of any type of cancer in their medical history, were selected on a volunteer basis. Control subjects were age-matched (± 3 years) with the cancer patients, population – based and selected from the same catchment area (i.e., Athens metropolitan area, i.e., 76% or other areas) of the patients (i.e., controls were selected from the same city or town patients were living or working; there were no substantial differences between living and working areas of the participants). The participation rate of the patients was 82% and of the controls was 88%. To reduce selection bias a random selection of the controls was performed, when it was possible (i.e., in 60% of the controls), e.g., through the employees listings of the companies that were visited by the study's investigators in order to enroll controls or the apartments of the building. The rest 40% of the controls were selected on a feasibility basis, and were colleagues, friends, or relatives of the study's field investigators that fulfilled the aforementioned criteria.

The number of the enrolled subjects ($n=500$) was decided through power analysis, in order to evaluate (two sided) odds ratio equal to 1.10 (95%CI 1.05, 1.15), achieving statistical power greater than 0.80 at 0.05 probability level (p -value).

The design of the study and the analytical methods followed have been already described elsewhere (**Mourouti et al., 2013**).

Bioethics

The study has been approved by the Ethics Committee of “Alexandra” General Hospital (No. 4/10.3.2010), “I. Metaxa” Special Cancer Hospital (No. 40/8.12.2011) and “Saint Savvas” Cancer Hospital (No. 448/2.3.2012) and was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki (1989) of the World Medical Association. Prior to the collection of any information, participants were informed about the aims and procedures of the study and provided their signed consent.

Dietary assessment

A validated, semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) was used during the interviews to collect dietary information from the participants (**Mourouti et al., 2013**). In brief, the FFQ included 86 questions regarding the frequency of consumption of all main food groups and beverages usually consumed. Specifically, data on regular consumption of each food group (i.e., never, rarely, 3-4 times/month, 1-2 times/week, 3-4 times/week, daily), were recorded for the last year prior to diagnosis. In this work the interest was focused on food groups, like the consumption of whole grains (i.e., whole grain bread, whole grain cereals, oatmeal, whole wheat pasta, brown or wild rice), potatoes, fruits (apples, pears, bananas, peaches, plums, grapes, melon, strawberries, cherries, oranges or mandarins), greens (spinach, lettuce, fresh beans etc.), vegetables (broccoli, cauliflower, cabbage, peppers, tomatoes etc.), fish, red meat (including beef, lamb, veal and pork) and its products (like sausages), poultry and white meat (including chicken, game and turkey), dairy products (low i.e. 0%, 2% or total fat) including milk, yoghurt and cheese, alcoholic beverages, the use of olive oil in cooking, the use of margarine or butter in cooking or at the table, as well as the consumption of fried food and grilled meat or fish. Adherence to the Mediterranean dietary pattern was assessed using the MedDietScore, an 11-item composite dietary index, with large scale scoring that ensures better predictive accuracy (**Panagiotakos et al., 2006**). The range of the MedDietScore is between 0 and 55. Higher values of this score indicate greater adherence to the Mediterranean diet. The validation properties of the MedDietScore have been presented elsewhere in the literature (**Panagiotakos et al., 2009c, Panagiotakos et al., 2007b, Panagiotakos et al., 2006**).

Other measurements

Age of the participants was recorded, as well as their place of living (i.e. living in the Metropolitan area of Athens or in other areas) educational level and financial status (theoretical range 0-10, 0 represents the level of poverty, i.e., <5000 euro annual income from any source, and by 5000 euro increase, 10 represents the highest financial status, i.e., >55000 annual income). Weight and height were measured using standardized procedures, and body mass index was calculated as weight in *kg* divided by height in *m* squared. Physical activity was assessed using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) index (**Craig et al., 2003**) that has been validated for the Greek population (**Papathanasiou et al., 2009b**). Subjects were asked to recall the number of days and hours or minutes they were engaged in physical activity of different intensities for at least ten minutes, vigorous intensity and moderate intensity, walking and time spent sitting. According to their physical activity levels participants were classified as inactive, minimally active or health enhancing physical activity (HEPA) active. Smoking habits (i.e. current and former smoking, total years of smoking and number of cigarettes smoked per day) were also recorded. Family history of breast cancer, gynaecological medical history (i.e., existence or not of menstruation, age of menarche, age of menopause and use of hormone replacement therapy), as well as a detailed medical history regarding the common co-morbidities and their treatment (i.e., hypertension, hypercholesterolemia, diabetes), were recorded during the interview.

Statistical analysis

Continuous variables that were normally distributed were presented as mean $\pm$ SD. Normality was evaluated using the P-P plots. Categorical variables were presented as frequencies. Associations between categorical variables were tested by the calculation of chi-squared test. Student's t-test for independent samples was used to evaluate mean differences of the normally distributed variables (i.e., body mass index, MedDietScore) between cases and controls, where in case of skewed continuous variables (i.e., IPAQ score), the tested hypothesis was evaluated using the non-parametric U-test suggested by Mann and Whitney.

To obtain food patterns, factor analysis with the principal components method (PCA) was applied to the dietary habits of the controls, in order to reflect the dietary exposure of the reference population of the case; factor loadings were then applied to the patients, as well (**Mardia, 1979**). The PCA (a commonly used method) explores individuals' eating habits (usually assessed through food-frequency questionnaires) and combine them together into non-correlated components based on the level of inter-correlation of their nutritional choices. At this point it should be noted that the purpose of PCA was to derive a number of independent linear combinations (the components) of a set of foods or food groups that retain as much of the information of original dietary habits. In the present work, from the entire database of the 86 food variables, 14 foods, food groups and beverages (i.e., whole grains, potatoes, fruits, vegetables, fish, red meat and its products, poultry and white meat, dairy products, alcoholic beverages, olive oil, margarine/butter, sausages, fried food, grilled meat or fish) were finally used in the analysis, mainly due to their macronutrient composition and the fact that they have been previously associated with breast cancer. The food variables used had continuous distributions representing times per week the food item, group or beverage, were consumed. The correlation matrix of the food variables used showed that there were several correlation coefficients with absolute value >0.4 ; moreover, the *phi* coefficient (another measure of the inter-relationship of variables) was 0.78, i.e., close to 1 which implies high interrelationships between food-variables, and the Kaiser – Meier – Oklin criterion was 0.81 (also close to 1 which suggests very good inter-correlation). Therefore, the factor analysis would be effective for assessing meaningful food patterns. Normality of food variables was tested using the P-P plots; in the case of not-normally distributed variables the log-transformation was used to achieve normality of the distribution. The orthogonal rotation (*rotate with varimax* option) was used to derive optimal non-correlated components (i.e., food-patterns). The correlation matrix was used for the extraction of the components. The information was rotated in order to increase the representation of each food or food group to a component (**Mardia, 1979**). To decide the number of components to retain, the scree plot of the eigenvalues that derived from the correlation matrix of the standardized variables was first examined

(eigenvalue is a value that indicates the proportion of the variance in consumption explained by each component). According to this criterion the first three components should be retained. Moreover, according to the criterion proposed by Kaiser, i.e., the number of components that should be retained is equal to the number of eigenvalues that are greater than one, since these components explain more information than the individual food variables; it was also concluded that the first three components should be extracted here. Based on the principle that the component scores (loadings) are interpreted similarly to correlation coefficients (**Mardia, 1979**), thus, higher absolute values indicate that the food-variable contributes most to the construction of the component, the food-components (patterns) were named according to scores of the foods that were > 0.4 .

Furthermore, conditional (by age) logistic regression analysis was applied to evaluate the odds of each dietary pattern, among breast cancer patients and controls (*models' 1*). The analysis also accounted for the potential confounding effect of the following characteristics: years of education (measured in years of school) as a proxy of social status, body mass index (in kg/m^2), smoking ever (yes/no), physical activity (in MET-minutes/week), family history of breast cancer in order to encompass the genetic predisposition and potential lifestyle changes (yes/no), menopausal status (pre. vs. postmenopausal) because it has been strongly associated with breast cancer incidence (*models' 2*) and place of living (Metropolitan area of Athens vs. other areas), a factor that may have influenced their lifestyle behaviors (including dietary), as well as their health status per se (*models' 3*). Sub-group analysis by obesity, menopausal status and place of living, was applied, since multi-adjusting cannot entirely exclude residual confounding. The sub-group analysis accounted for the same potential confounders mentioned above. The results are presented as odds ratios (OR) and their corresponding 95% confidence intervals (95%CI). All reported p-values were based on two-sided tests. Statistical calculations were carried out using SPSS 18 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

Characteristics of patients and controls

In **Table 1** the basic characteristics of patients and controls are presented. Cases and controls were of similar age (according to the protocol of the study), while educational and financial status were lower in cases as compared to the controls ($p < 0.001$). Cases were more likely to be overweight and have at least one relative with breast cancer. There was no significant difference in smoking habits ($p = 0.21$), as well as in menopausal status ($p = 0.49$), while cases reported lower physical activity status (i.e., lower IPAQ score). Finally, regarding the overall quality of the diet, the level of adherence to the Mediterranean diet was moderate in both cases (i.e., 28/55) and controls (i.e., 30/55) (**Table 1**).

Dietary patterns

As described above, based on the applied factor analysis, three first components that explained the 43% of the total variation in consumption were studied here. The loadings for the three food components (patterns) that represent the correlation of each food item with the corresponding component, are presented in **Table 2** (in bold are the coefficients with absolute loadings > 0.4 ; which means that are better correlated with the component). Since the higher absolute values indicate that the food variable contributes more to the characterization of the component (**Mardia, 1979**), it could be suggested that the extracted components are: (a) an “unhealthy” food pattern (component 1), which loaded heavily on potatoes, red meat and its products, poultry and white meat, dairy products, use of margarine/butter in cooking or at the table, consumption of sausages, fried food as well as grilled meat or fish, (b) a “healthy/prudent” pattern that is mainly characterized by the consumption of whole grains, fruits and vegetables and (c) a pattern that represents the consumption of olive oil and fish. Component 1 was the most dominant food pattern and explained 21.5% of the total variance. Each of the remaining 2 components explained from 8.2% (component 3) to 13.6% (component 2) of variance in consumption. Regarding the other 11 components that explained the rest of the variation in food and beverages consumption, none of them was characterized by a specific pattern in consumption. Moreover, component 1 was inversely correlated with MedDietScore ($r = -0.148$, $p = 0.001$), suggesting that women following the “unhealthy” pattern were not adherent to the Mediterranean diet, while component 2 and component 3 were positively correlated with the MedDietScore ($r = 0.701$, $p < 0.05$ and $r = 0.583$, $p < 0.05$ respectively) suggesting that women following the “healthy” pattern as well as the pattern characterized by the consumption of olive oil and fish, were also adherent to the Mediterranean diet.

Table 1. Distribution of patients' and controls' characteristics.

	Breast cancer cases	Controls	<i>p</i>
N	250	250	
Age (years) (mean± standard deviation)	56 ± 12	56 ± 12	0.99
Years of education (years) (mean± standard deviation)	11 ± 4	12 ± 4	<0.001
Financial status (0-10) (mean± standard deviation)	5 ± 2	6 ± 2	<0.001
Body mass index (kg/m ²) (mean± standard deviation)	28 ± 6	26.7 ± 5	0.007
Smoking (ever), (n. %)	103 (41.2%)	117 (46.8%)	0.207
Number of relatives with breast cancer, (n. %)			0.003
<i>No relative</i>	177 (71.1%)	211 (84.7%)	
<i>1 relative</i>	62 (24.9%)	32 (12.9%)	
<i>2 relatives</i>	9 (3.6%)	5 (2.0%)	
<i>3 relatives</i>	0 (0%)	1 (0.4%)	
<i>5 relatives</i>	1 (0.4%)	0 (0%)	
Menopausal status (n. %)			0.49
Premenopausal women	84 (33.6%)	91 (36.5%)	
Postmenopausal women	166 (66.4%)	158 (63.5%)	
IPAQ score (MET-minutes/week)	219 (0.00, 985.5)	876 (140.25, 1533.0)	<0.001
MedDietScore (0-55) (mean± standard deviation)	27.8 ± 5	29.9 ± 4	<0.001

The MedDietScore is a measurement of adherence to the Mediterranean diet, with theoretical range 0-55; greater values reporting greater adherence to this pattern. The reported *p*-values were calculated using the t-test, the chi-square test or the Mann-Whitney U test.

Dietary patterns and breast cancer

Three nested, conditional logistic regression models were estimated in order to evaluate the association between each of the extracted dietary patterns and breast cancer (**Table 3**). The use of these models assisted in better exploring the potential effect of various confounders in the investigated relationship. Based on the first unadjusted models' 1, it was observed that the odds of the food pattern that was mainly characterized by the consumption of whole grains, fruits and vegetables (component 2) was favourable in controls than in the cases (OR=0.56, 95%CI 0.46, 0.69), while the food pattern that represented the consumption of olive oil and fish (component 3) was also favourable in controls (OR=0.79, 95% 0.65, 0.95). No significant association was observed as regards the "unhealthy" food pattern (component 1) (OR=1.14, 95%CI 0.95, 1.38) (*p*>0.05). In the second set of models, years of education (measured in years of school) as a proxy of social status, body mass index (in kg/m²), smoking ever (yes/no), physical activity (in MET-minutes/week), family history of breast cancer in order to encompass the genetic predisposition and potential lifestyle changes (yes/no) and menopausal status (pre. vs. postmenopausal) were accounted for. The "healthy/prudent" pattern (component 2) had still lower odds in breast cancer patients as compared to controls (OR=0.61, 95%CI 0.48, 0.76), while the food pattern that represented the consumption of olive oil and fish (component 3) was also favourable in controls (OR=0.82, 95%CI 0.67, 0.99). The "unhealthy" food pattern (component 1) was again not significantly associated with the outcome (OR=1.16, 95%CI 0.94, 1.42). In the third nested model, place of living, was additionally included. The beneficial effect of both the "healthy/prudent" as well as the food pattern that represented the consumption of olive oil and fish remained unaltered (OR=0.60, 95%CI 0.47, 0.75 and OR=0.81, 95%CI 0.66, 0.99), of their place of living, while the "unhealthy" food pattern was again not significantly associated with the outcome (OR=1.15, 95%CI 0.93, 1.41).

Profile analysis of the associations of dietary patterns and odds of breast cancer

Table 2. Score coefficients[†] (loadings) derived from factor (principal components) analysis regarding foods or food groups consumed by the study participants.

	Factor 1	Factor 2	Factor 3
Whole grains	-.201	.643	-.026
Potatoes	.452	.090	-.566
Fruits	.167	.745	-.166
Vegetables	-.041	.724	-.150
Fish	.130	.316	.655
Red meat and products	.737	.114	-.027
Poultry and white meat	.687	.053	-.094
Dairy products	.617	-.153	-.148
Alcoholic drinks	.162	.179	.023
Olive oil in cooking	-.244	.014	.455
Margarine or butter in cooking/table	.700	.037	-.023
Sausages	.406	.045	-.382
Fried food	.499	-.315	-.152
Grilled meat or fish	.584	.058	-.059
Explained variation, %	21.5%	13.6%	8.2%

[†] Score coefficients are similar to the correlation coefficients. Higher absolute values indicate that the food variable is correlated with the respective component.

Description of the components:

Component 1: Potatoes, red meat and products, poultry and white meat, dairy products, margarine or butter in cooking or at the table, sausages, fried food and grilled meat or fish

Component 2: Whole grains, fruits, vegetables

Component 3: Olive oil, fish

However, multi-adjusting cannot entirely exclude residual confounding. Thus, sub-group analysis by obesity, menopausal status and place of living, was applied. The results were similar to the ones presented above; particularly, among normal weight women (i.e., BMI < 25 kg/m²) the “healthy/prudent” pattern was favourably associated with absence of breast cancer (OR=0.62, 95%CI 0.43, 0.90); similarly among overweight women (i.e., 25 kg/m²<BMI<29.9 kg/m²) (OR=0.47, 95%CI 0.31, 0.72), after adjusting for age, educational level, smoking ever, IPAQ score, family history of breast cancer, menopausal status and place of living. However, among obese women (i.e., BMI > 30 kg/m²) there was no significant association with the outcome (OR=0.70, 95%CI 0.44, 1.11). Moreover, stratified analysis by menopausal status revealed similar relationships, since among pre-menopausal and post-menopausal women, the “healthy/prudent” food pattern was favourably associated with absence of the disease (OR=0.56, 95%CI 0.39, 0.81 and OR=0.61, 95%CI 0.44, 0.83, respectively), after the same adjustments were made. At this point it should be noted that concerning only postmenopausal women, the “unhealthy” food

pattern was associated with breast cancer (OR=1.36, 95%CI 1.02, 1.81), after the same adjustments were made. Stratified analysis by place of living revealed that the “healthy/prudent” pattern was favorably associated with the absence of the disease in both Athens Metropolitan area inhabitants (OR=0.71, 95%CI 0.55, 0.91), as well as among those participants who lived in other cities or towns outside the Metropolitan area of Athens (OR=0.26, 95%CI 0.12, 0.55).

Table 3. Results from conditional logistic regression models that were applied to evaluate the association between food-components (dietary patterns) and the odds of having breast cancer in cases (n=250) and controls (n=250).

Exposure factor (per 1 unit increase on components' scores) [†]	Model 1	Model 2	Model 3
Component 1: Potatoes, red meat and products, poultry and white meat, dairy products, margarine or butter in cooking or at the table, sausages, fried food and grilled meat or fish	1.14 (0.95, 1.38)	1.16 (0.94, 1.42)	1.15 (0.93, 1.41)
Component 2: Whole grains, fruits, vegetables	0.56 (0.46, 0.69)	0.61 (0.48, 0.76)	0.60 (0.47, 0.75)
Component 3: Olive oil, fish	0.79 (0.65, 0.95)	0.82 (0.67, 0.99)	0.81 (0.66, 0.99)

All odds ratios and their corresponding 95% confidence intervals were calculated by performing conditional logistic regressions.

Model 1 was not adjusted; Model 2 was adjusted for the same variables included in model 1 plus years of education, family history of breast cancer, BMI, IPAQ score, smoking ever and menopausal status; Model 3 was adjusted for the same variables included in model 2 plus place of living.

[†] Since the 1 unit increase in components' scores is not meaningful (i.e., 1 unit increase does not mean 1 serving increase) the reader could only evaluate the direction of the effect size (i.e., odds ratio > 1 = “un-protective” or < 1 = “protective”).

Discussion

In this work, the relationship between a-posterior extracted dietary patterns adherence from the dietary reports of healthy women and breast cancer, was studied. The analysis revealed that the patterns which were mainly characterized by the consumption of whole grains, fruits and vegetables, as well as the consumption of olive oil and fish, were favourably associated with absence of breast cancer, while the pattern that was mainly characterized by the consumption of potatoes, red meat and its products, poultry and white meat, dairy products, use of margarine or butter in cooking or at the table, consumption of sausages, fried food as well as grilled meat or fish, was not significantly associated with the disease. The first two patterns were also positively correlated with an a-priori defined dietary pattern, the Mediterranean diet, suggesting that the a-posteriori dietary pattern approach is in accordance with the a-priori approach (i.e., adherence to a pre-defined dietary prototype). However, using a-posteriori techniques to identify participants' eating behaviors has several advantages, since this method is inherently capable of overcoming methodological issues, such as the high levels of inter-correlation and the synergistic effect of foods, and it takes into account the complex way of how people eat as well as the possible combinations and interactions among foods and nutrients.

The past years, dietary pattern analysis has emerged as a complementary approach of examining the relationship between diet and the risk of various chronic diseases (Hu, 2002). Instead of looking at individual nutrients or foods, pattern analysis examines the effects of the overall diet and represents a broader picture of food and nutrient consumption. Furthermore, pattern analysis seems to capture problems that can be attributed to the limitations that traditional analyses have both in concept and design. For example, people's diet choices include a variety of foods and other nutritional habits that may act synergistically or interactively on the risk of developing a disease. Moreover, the high level of inter-correlation between food variables makes the estimation of the effect size of single foods or nutrients in regression models problematic. On the other hand, pattern analysis reveals similarities and captures the extremes in food consumption. Moreover, as it has been suggested by Newby and Tucker, dietary patterns derived through multivariate statistical methods are a sound dietary assessment method and seem to be more predictive of disease risk than individual foods or nutrients (Newby and Tucker, 2004). As mentioned above, a-posteriori analyses generate dietary patterns on empirically obtained information and, thus they do not necessarily create “healthy” patterns, while a-priori approaches, using diet indexes, quantitatively measure quality of dietary habits. However, the latter are limited on current knowledge about the relationships between diet and health.

Some other investigators have also evaluated dietary patterns in relation to breast cancer using similar multivariate techniques and describing similar food patterns like the “healthy/prudent” which tends to have high loadings of foods such as fruits, vegetables, poultry, fish, low-fat dairy and whole grains (Brennan et al., 2010). For example, in a recent case-control study conducted among 2,884 cases and 5,509 controls, Buck et al., (Buck et

al., 2011) using principal component analysis identified two major dietary patterns using dietary data collected through a 176-item food frequency questionnaire. The first pattern that was labeled the “healthy” one was characterized by high vegetable and vegetable oil consumption, while the second was labeled as the “unhealthy” and was characterized by high meat and deep-frying fat consumption. However, overall no associations between these patterns and breast cancer risk were observed. Furthermore, Zhang et al., (**Zhang et al., 2011**) used a validated food frequency questionnaire to assess dietary intake in 438 cases with histologically confirmed primary breast cancer and 438 controls. After using principal component analysis, two dietary patterns were identified: vegetable-fruit-soy-milk-poultry-fish and refined grain-meat-pickle pattern. When the analysis was adjusted for confounders, a 74% decreased risk was observed among women in the highest quartile of the vegetable-fruit-soy-milk-poultry-fish dietary pattern relative to the lowest quartile (Odds Ratio = 0.26, 95% CI = 0.17–0.42). Moreover, when Hirose et al., (**Hirose et al., 2007**) conducted a case-control study using data from the hospital-based epidemiological research program at Aichi Cancer Center (HERPACC), principal component analysis was used to derive food patterns based on 31 food variables. From the four major dietary patterns that were extracted, the first one was labeled as “prudent” and was characterized by the consumption of vegetables and fruit, soybean curd, fish, milk and lower consumption of fatty and salty foods. After adjusting for potential confounders, an inverse association was evident for the above pattern. More recently, in the California Teachers Study Cohort, data from 91,779 women were analyzed and five predominant dietary patterns were identified using principal component analysis. The first one that was labeled as the “plant-based” and was characterized by high consumption of fruits and vegetables, was associated with a reduction in breast cancer risk (Relative Risk: 0.85; 95% CI: 0.76, 0.95 for the highest compared with the lowest consumption quintile; p -trend = 0.003) (**Link et al., 2013**). Similarly, Baglietto et al., (**Baglietto et al., 2011**) after using data from the Melbourne Collaborative Cohort Study which included 20,967 women, they applied principal component analysis to 124 foods and identified four dietary factors. Between them, only that characterized by high consumption of fruit and salads was associated with a reduced risk, with stronger associations observed for tumors not expressing oestrogen (ER) and progesterone receptors (PR).

Regarding the derived food patterns that were extracted, it was observed that the patterns that were mainly characterized by the consumption of fruits and vegetables as well as olive oil, were associated with lower likelihood of breast cancer. Fruits and vegetables contain a wide range of constituents which may have cancer-preventing effects including antioxidant vitamins like vitamin C and vitamin E, folate, dietary fiber, dithiolthiones, glucosinolates, indoles, isothiocyanates, protease inhibitors and phytochemicals (lycopene, phenolic compounds, flavonoids) (**Steinmetz and Potter, 1991, Steinmetz and Potter, 1996**). Moreover, they contain a large amount of dietary fiber, for which mechanistic data support the plausibility of a protective effect on breast carcinogenesis, especially for vegetable fiber, due to their combination of soluble and insoluble fibers in equal proportions (**Deschasaux et al., 2013**). Concerning olive oil, animal and human studies have associated its consumption with lower incidence and mortality rates from some cancers including that of the breast. According to the studies, it can influence the stages of the carcinogenesis process as well as the immune system, the oxidative stress, alter the hormonal status, modify the structure and function of cell membranes and modulate cell signaling transduction pathways and regulation of gene expression. Its probable chemoprotective effect can be attributed to its particular fatty acid composition: it contains a high amount of oleic acid (OA), a suitable amount of polyunsaturated fatty acids (PUFA), a relatively low n-6 PUFA/n-3 PUFA ratio, as well as minor bioactive compounds such as squalene and phenolic antioxidants (**Escrich et al., 2011b**).

Limitations

The major limitation of this study was, as in all cases-controls studies, the recall bias. However, an effort was given to minimize this limitation by choosing newly diagnosed consecutive patients and collecting all subjects in a small period of time. Regarding the selection of the controls, the “healthy” volunteer effect may exist. Moreover, selection bias may also exist, but, as mentioned in the Methods’ section, an effort was given to reduce it by performing, when possible, random selection of the controls, enrolling controls based on their willingness to participate and not on any of the exposure factors’ distribution that would substantially altered the results (only age-matching was performed), using the same catchment area as the patients, and avoiding any “specific” sampling rule in the allocation of the participants. All these procedures were applied to ensure that the control group reflected the distribution of the exposure characteristics of the referent population of the cases. Moreover, people who collected the data were commonly and well trained before the beginning of the study, limiting the intra-investigators bias. The effect size measures used in case-control studies (i.e., the odds ratios) tend to overestimate the actual effect of the cause on effect usually observed in prospective studies; and thus, the findings should be interpreted with caution.

Conclusions

Dietary pattern analysis revealed behaviors in participants’ consumption that could not be assessed with any other method. It was found that a dietary behavior that was mainly characterized by the consumption of whole grains, fruits and vegetables, as well as a dietary behavior characterized by the consumption of olive oil and fish, favorably (i.e., protectively) “affected” the odds of having breast cancer. Beyond the important nutritional message these findings carry on, they deserve further attention from a methodological point-of-view, because the a-

posteriori dietary pattern assessment approach that was followed here reflects the “true” habits of the participants and not the level of adherence to an a-priori defined dietary model.

Acknowledgements

The authors would like to thank all the participants of the study, without their contribution this project would never been done; also, would like to thank the Directors of the clinics of the involved hospitals: Gerasimos Aravantinos, Epaminondas Samantas, Evangelos Filopoulos, and the field investigators of the study: Aikaterini Manousou, Vassiliki Markasioti, Aikaterini Kakou, Fotini-Maria Mpalli, Nikolaos Soupos, Zoe Tsakalou, Maria Mitsou, Artemisia Tsakla, Iro Karapapa, Maria Somaraki, Athanasios Tektonidis, Athanasia Laina and Aggeliki Siolavou.

Conflict of interest: On behalf of all authors, the corresponding author states that there is no conflict of interest

References

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D (2011) Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 61:69-90.
2. Michels KB, Mohllajee AP, Roset-Bahmanyar E, Beehler GP, Moysich KB (2007) Diet and breast cancer: a review of the prospective observational studies. *Cancer* 109:2712-2749.
3. Thomson CA (2012) Diet and breast cancer: understanding risks and benefits. *Nutr Clin Pract* 27:636-650.
4. WCRF/AICR. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC: AICR., 2007.
5. Zhong X, Zhang C (2012) Soy food intake and breast cancer risk: a meta-analysis. *Wei Sheng Yan Jiu* 41:670-676.
6. Dong JY, Zhang L, He K, Qin LQ (2011) Dairy consumption and risk of breast cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Breast Cancer Res Treat* 127:23-31.
7. Jacques PF, Tucker KL (2001) Are dietary patterns useful for understanding the role of diet in chronic disease? *Am J Clin Nutr* 73:1-2.
8. Trichopoulos D, Lagiou P (2001) Dietary patterns and mortality. *Br J Nutr* 85:133-134.
9. Alberti A, Fruttini D, Fidanza F (2009) The Mediterranean Adequacy Index: further confirming results of validity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 19:61-66.
10. Mitrou PN, Kipnis V, Thiebaut AC, et al (2007) Mediterranean dietary pattern and prediction of all-cause mortality in a US population: results from the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch Intern Med* 167:2461-2468.
11. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C (2006) Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 16:559-568.
12. Trichopoulou A, Bamia C, Trichopoulos D (2005) Mediterranean diet and survival among patients with coronary heart disease in Greece. *Arch Intern Med* 165:929-935.
13. Kim. J-O, Mueller C (1978) Factor analysis: statistical methods and practical issues. Newbury Park, CA: Sage Publications, Inc.
14. Newby PK, Tucker KL (2004) Empirically derived eating patterns using factor or cluster analysis: a review. *Nutr Rev* 62:177-203.
15. Mourouti N, Papavagelis C, Psaltopoulou T, et al (2013) Aims, design and methods of a case-control study for the assessment of the role of dietary habits, eating behaviors and environmental factors, on the development of breast cancer. *Maturitas* 74:31-36.
16. Panagiotakos DB, Dimakopoulou K, Katsouyanni K, Bellander T, Grau M, et al (2009) Mediterranean diet and inflammatory response in myocardial infarction survivors. *Int J Epidemiol* 38:856-866.
17. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Arvaniti F, Stefanadis C (2007) Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. *Prev Med* 44:335-340.

18. Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, et al (2003) International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 35:1381-1395.
19. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, et al (2009) Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 50:283-294.
20. Mardia. KV, Kent JT, Bibby JM (1979) *Multivariate analysis*. 1st ed. New York, NY: Academic Press.
21. Hu FB (2002) Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. *Curr Opin Lipidol* 13:3-9.
22. Brennan SF, Cantwell MM, Cardwell CR, Velentzis LS, Woodside JV (2010) Dietary patterns and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 91:1294-1302.
23. Buck K, Vrieling A, Flesch-Janys D, Chang-Claude J (2011) Dietary patterns and the risk of postmenopausal breast cancer in a German case-control study. *Cancer Causes Control* 22:273-282.
24. Zhang CX, Ho SC, Fu JH, Cheng SZ, Chen YM, Lin FY (2011) Dietary patterns and breast cancer risk among Chinese women. *Cancer Causes Control* 22:115-124.
25. Hirose K, Matsuo K, Iwata H, Tajima K (2007) Dietary patterns and the risk of breast cancer in Japanese women. *Cancer Sci* 98:1431-1438.
26. Link LB, Canchola AJ, Bernstein L, et al (2013) Dietary patterns and breast cancer risk in the California Teachers Study cohort. *Am J Clin Nutr* 98:1524-1532.
27. Baglietto L, Krishnan K, Severi G, et al (2011) Dietary patterns and risk of breast cancer. *Br J Cancer* 104:524-531.
28. Steinmetz KA, Potter JD (1991) Vegetables, fruit, and cancer. II. Mechanisms. *Cancer Causes Control* 2:427-442.
29. Steinmetz KA, Potter JD (1996) Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *J Am Diet Assoc* 96:1027-1039.
30. Deschasaux M, Zelek L, Pouchieu C, et al (2013) Prospective Association between Dietary Fiber Intake and Breast Cancer Risk. *PLoS One* 8:e79718.
31. Escrich E, Solanas M, Moral R, Escrich R (2011) Modulatory effects and molecular mechanisms of olive oil and other dietary lipids in breast cancer. *Curr Pharm Des* 17:813-830.

4.2.2 Ο ρόλος των αλκοολούχων ποτών στην παρουσία καρκίνου του μαστού.

Αναφορικά με την κύρια ερευνητική υπόθεση, παρατηρήθηκε ισχυρή σχέση μεταξύ της συχνότητας κατανάλωσης αλκοόλ και της παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p > 0,001$). Συγκεκριμένα, ενώ οι μάρτυρες κατανάλωναν αλκοόλ 1-2 φορές/εβδομάδα, οι ασθενείς παρατηρήθηκε πως κατανάλωναν αλκοόλ σπάνια. Παράλληλα, αναφορικά με την ποσότητα του αλκοόλ, καταγράφηκαν υψηλότερες ποσότητες κατανάλωσης οποιουδήποτε αλκοολούχου ποτού από τις ασθενείς συγκριτικά με τις υγιείς γυναίκες ($6,2 \pm 10,7$ g vs. $4,6 \pm 6,8$ g, $p = 0,21$), ενώ όσον αφορά τον τύπο αυτού, τόσο οι ασθενείς όσο και οι υγιείς φάνηκε να προτιμούν την κατανάλωση κόκκινου ή λευκού κρασιού έναντι της μπύρας ή άλλων αλκοολούχων ποτών ($p = 0,001$). Το προφίλ των συμμετεχόντων που κατανάλωναν αλκοόλ (ταυτόχρονα ασθενείς και υγιείς) χαρακτηρίστηκε από υψηλότερο μορφωτικό επίπεδο, χαμηλότερο δείκτη μάζας σώματος, μεγαλύτερο βαθμό υιοθέτησης της Μεσογειακής διατροφής και μεγαλύτερη ενασχόληση με τη φυσική δραστηριότητα, αλλά και από το κάπνισμα περισσότερων τσιγάρων ανά ημέρα και για περισσότερα έτη. Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί πως η σχέση μεταξύ της συχνότητας κατανάλωσης αλκοόλ και της πιθανότητας παρουσίας της νόσου φάνηκε να είναι παραβολική (U-shaped).

Η μονοπαραγοντική ανάλυση ανέδειξε την ύπαρξη μη γραμμικής συσχέτισης μεταξύ της συχνότητας κατανάλωσης αλκοόλ και της παρουσίας καρκίνου του μαστού, και για το λόγο αυτό για τις αναλύσεις χρησιμοποιήθηκαν συχνότητες κατανάλωσης αλκοόλ και όχι μία συνεχής μεταβλητή. Τα αποτελέσματα από την πολλαπλή λογαριθμιστική παλινδρόμηση έδειξαν ότι η κατανάλωση αλκοόλ 3-4 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με 90% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p < 0,05$). Μετα από έλεγχο για επιπλέον συγχυτικούς παράγοντες (επίπεδο εκπαίδευσης, δείκτης μάζας σώματος, κάπνισμα στο παρόν, φυσική δραστηριότητα, οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού, ηλικία εμμηναρχής, ηλικία εμμηνόπαυσης και λήψη ορμονών μετεμμηνοπαυσιακά), η κατανάλωση αλκοόλ 3-4 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με 86% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p = 0,016$). Όταν έλαβε χώρα έλεγχος και για τις συνολικές διατροφικές συνήθειες των συμμετεχόντων με την προσθήκη του MedDietScore το οποίο αντικατοπτρίζει τον βαθμό υιοθέτησης ενός υγιεινού διατροφικού προτύπου, αυτού της Μεσογειακής διατροφής, η κατανάλωση αλκοόλ 3-4 φορές/εβδομάδα

εξακολούθησε να ασκεί προστατευτική δράση απέναντι στη νόσο (84% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού, $p=0,027$). Αναφορικά με τον τύπο του αλκοόλ, η κατανάλωση κρασιού συσχετίστηκε με 40% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου, χωρίς να παρατηρούνται σημαντικές διαφορές ανάμεσα στο κόκκινο και το λευκό κρασί.

Παρόμοια αποτελέσματα αναφορικά με την κατανάλωση αλκοόλ και την πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού αναδείχθηκαν και όταν οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με βάση τις κατηγορίες σωματικού βάρους. Ειδικότερα, για τις μη παχύσαρκες γυναίκες ($BMI < 30 \text{ kg/m}^2$) παρατηρήθηκε πως η κατανάλωση οποιουδήποτε τύπου αλκοολούχου ποτού 3-4 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με 80% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,02$) αφού λήφθηκαν υπόψη πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες. Μάλιστα, η παραβολική σχέση που παρατηρήθηκε σε ολόκληρο το δείγμα φάνηκε να διατηρείται και στις υποομάδες αυτού. Όταν τώρα οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με βάση το βαθμό υιοθέτησης της Μεσογειακής διατροφής ($>$ ή $<$ της μέσης τιμής, δηλ., 29) η κατανάλωση αλκοόλ συσχετίστηκε με 90% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου για τις γυναίκες εκείνες που βρίσκονταν «μακριά» από το ανωτέρω διατροφικό πρότυπο και με 83% μικρότερη πιθανότητα για εκείνες που φάνηκε να υιοθετούν τη Μεσογειακή διατροφή, αφού λήφθηκαν υπόψη συγχυτικοί παράγοντες ($p < 0,05$).

The J-shaped association between alcohol consumption and breast cancer: a case-control study

Niki Mourouti¹, Meropi D. Kontogianni¹, Christos Papavagelis¹, Theodora Psaltopoulou², Petrini Plytzanopoulou³, Tonia Vassilakou³, Nikolaos Malamos⁴, Athena Linos², Demosthenes B. Panagiotakos¹

¹Department of Nutrition and Dietetics, Harokopio University, Athens, Greece; ²Department of Hygiene, Epidemiology and Medical Statistics, School of Medicine, University of Athens, Athens, Greece; ³Department of Nutrition and Biochemistry, National School of Public Health, Athens, Greece; ⁴Pathology-Oncology Department, Maternity General Hospital "Elena Venizelos", Athens, Greece

Abstract

Background. Alcohol is considered to be a co-carcinogen as well as a tumor promoter, with several studies showing a linear dose-dependent association. However, moderate alcohol consumption has been found to be protective as far as cardiovascular diseases are concerned. **Objective.** The aim of this study was to evaluate the association of alcohol intake with breast cancer. **Design.** It is a case – control study. **Patients.** Two hundred and fifty consecutive newly (within six months) diagnosed breast cancer patients with first developed breast cancer (56±12 years) and 250 age-matched controls were studied. **Main outcome measures.** A special questionnaire assessing various socio-demographic, clinical, lifestyle and dietary characteristics, was applied through face-to-face interviews. Moreover, frequency of alcohol intake (i.e., never, rarely, 3-4 times/month, 1-2 times/week, 3-4 times/week, daily) and type (i.e., red or white wine, beer, whisky, other beverages) of alcoholic beverages consumed were also recorded. Adherence to the Mediterranean diet was evaluated using the MedDietScore (theoretical range 0-55). **Results.** Alcohol drinking on a weekly basis (i.e., 3-4 times/week) was associated with lower likelihood of having breast cancer (OR=0.16; 95%CI 0.03, 0.80), while higher consumption showed opposing results. Moreover, it was revealed that wine drinking was associated with lower odds of breast cancer (OR=0.60; 95%CI 0.35, 1.00) with no significant differences between red or white wine. **Limitations.** The major limitation of this study was the potential recall bias. **Conclusions.** Moderate alcohol intake, and especially wine consumption, seems to be associated with breast cancer prevention.

Keywords: diet; alcohol; breast cancer; nutrition

Introduction

Alcohol drinking is one of the most frequent habits, especially, in westernized world, and has long been associated with human health, especially with various cardiometabolic disorders (Rimm et al., 1996). Specifically, during the past years several studies have related moderate alcohol drinking with lower risks of metabolic syndrome, diabetes, peripheral arterial disease, coronary heart disease and other cardiovascular disease (Alkerwi et al., 2009, Athyros et al., 2007, Ronksley et al., 2011), lower likelihood of having hypertension (Panagiotakos et al., 2007a) and even a reduction in the prevalence of acute coronary syndrome (Lindschou Hansen et al., 2011, Pitsavos et al., 2005). Cancer is another chronic disease that together with cardiovascular disease are responsible for the vast majority of deaths in the developed world, and, recently in developing countries, as well (Jemal et al., 2011). Among various types of cancer, breast cancer is the most frequently diagnosed cancer and the leading cause of cancer death in females, worldwide (Jemal et al., 2011). However, the role of dietary habits has not been extensively investigated regarding breast cancer development. Alcohol drinking is one of the habits that has more thoroughly been studied, and seems to be widely recognized as one of the behaviors most consistently associated with increased breast cancer risk, independently of the type of alcoholic drink consumed and of menopausal status (WCRF/AICR). However, a series of meta-analyses provide more evidence for inconsistent correlations between different types of cancer and alcohol consumption (Bagnardi et al., 2011, Fedirko et al., 2011, Seitz et al., 2012, Tramacere et al., 2012, Tramacere et al., 2010). In a very recent systematic review of 113 papers reporting breast cancer risk estimates for light drinkers (i.e. ≤12.5 g/day ethanol; ≤1 drink/day) a modest, but significant positive association between light drinking and breast cancer was revealed (Seitz et al., 2012). Similarly, in a more recent meta-analysis including 222 papers comprising approximately 92,000 light drinkers and 60,000 non-drinkers with cancer, light drinking was positively associated with the risk of breast cancer (Bagnardi et al., 2013b). On the other hand, low-to-moderate alcohol intake was not associated with increased risk of breast cancer in pre- or postmenopausal Chinese women, in a case-control study conducted in China lately (Zhang and Holman, 2011). Thus, the shape (i.e., linear or non-linear) and the strength of the dose-response relationship

between alcohol intake and breast cancer remain unclear. The simultaneous evaluation of overall dietary habits seems essential since it may have played a role in order to account for the potential residual confounding effect of the adherence to a healthy dietary pattern, like the Mediterranean diet. The latter has been a major field of debates regarding the independent or not, role of specific nutrients, foods, or behaviors in the likelihood of developing a disease. Thus, the aim of this work was, to evaluate the type of association (i.e., linear or non-linear) between alcohol intake and the presence of breast cancer, after taking into account the overall diet in a Mediterranean population, as well as to assess any potential different effects according to the type of alcohol consumed.

Materials and Methods

Study's design and sample

This is a case-control study, with face-to-face interviews with the participants. Between November 1, 2010 and July 31, 2012, 250 consecutive, newly (within six months) diagnosed breast cancer patients (defined by physical examination and biopsy) that visited pathology-oncology clinics of five major General Hospitals in Athens, Greece (i.e., “Alexandra” General Hospital, “Elena Venizelos” Maternity-General Hospital, “Agioli Anargyroi” General Oncological Hospital of Kifissia, “Saint Savvas” Cancer Hospital and “I. Metaxa” Special Cancer Hospital) were contacted to participate in the study. Patients with diagnosis older than six months (in order to avoid changes in their dietary habits or other behaviours), were not included. For the same period, 250 subjects (controls) without any clinical symptoms, signs or suspicion of any type of cancer in their medical history, were selected on a volunteer basis. The control subjects were allocated on a population basis of their work or home places and were age-matched (± 3 years) with the cancer patients.

The number of the enrolled subjects ($n=500$) was decided through power analysis, in order to evaluate (two sided) odds ratio equal to 1.10 (95%CI 1.05, 1.15), achieving statistical power greater than 0.80 at 0.05 probability level (p -value).

The design of the study and the analytical methods followed have been already described elsewhere (**Mourouti et al., 2013**).

Bioethics

The study has been approved by the Ethics Committee of “Alexandra” General Hospital (No. 4/10.3.2010), “I. Metaxa” Special Cancer Hospital (No. 40/8.12.2011) and “Saint Savvas” Cancer Hospital (No. 448/2.3.2012) and was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki (1989) of the World Medical Association. Prior to the collection of any information, participants were informed about the aims and procedures of the study and provided their signed consent.

Dietary assessment

A validated, semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) was used during the interviews to collect dietary information from the participants (**Mourouti et al., 2013**). In brief, the FFQ included 86 questions regarding the frequency of consumption of all main food groups and beverages usually consumed. Specifically for alcohol drinking, data on regular consumption of alcohol (i.e., never, rarely, 3-4 times/month, 1-2 times/week, 3-4 times/week, daily), as well as the usual type of alcohol consumed (red or white wine, beer, whisky, or any other kind, i.e., typical Greek beverages, like ouzo, raki, tsipouro), were recorded, for the last year prior to diagnosis. Moreover, in order to assess overall dietary habits, the MedDietScore (**Panagiotakos et al., 2006**) was calculated. MedDietScore is an 11-item composite dietary index with large scale scoring (theoretical range 0-55), which evaluates the level of adherence to the Mediterranean diet. Higher values of this score indicate greater adherence to the Mediterranean diet. Its validation properties have been presented elsewhere in the literature (**Panagiotakos et al., 2009a, Panagiotakos et al., 2007b, Panagiotakos et al., 2006**). The evaluation of overall dietary habits was considered essential in the present analysis, in order to account for the potential confounding effect of a healthy dietary pattern in the evaluation of the main research hypothesis (i.e., the association between alcohol drinking and breast cancer).

Other measurements

Age of the participants was recorded, as well as their place of living (i.e. living in the city of Athens or out of town), educational level and financial status. Weight and height were measured and body mass index (BMI) was calculated. Physical activity was assessed using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) index (**Craig et al., 2003**) that has been validated for the Greek population, too (**Papathanasiou et al., 2009b**). Subjects were asked to recall the number of days and hours or minutes they were engaged in physical activity of different intensities for at least ten minutes, vigorous intensity and moderate intensity, walking and time spent sitting. According to their physical activity levels, participants were classified as inactive, minimally active or health enhancing physical activity (HEPA) active. Smoking habits (i.e. current and former smoking, total years of

smoking and number of cigarettes smoked per day) were also recorded. A previously translated and validated version of the Zung Depression Rating Scale (ZDRS) was used for the assessment of depressive symptoms (Fountoulakis et al., 2001, Zung, 1965), while anxiety was assessed with a previously translated and validated version of the Spielberger Trait Anxiety Inventory (STAI from Y-2), which is a 20-item self-reported questionnaire evaluating how the respondent feels generally (Fountoulakis et al., 2006, Spielberger, 1970). Family history of breast cancer, gynaecological medical history (i.e., age of menarche, age of menopause and use of hormone replacement therapy), as well as a detailed medical history, were also recorded during the interview.

Statistical analysis

Continuous variables that were normally distributed are presented as mean $\pm$ SD. Normality was evaluated using the P-P plots. Skewed variables are presented as medians and quartiles and categorical variables as frequencies. Associations between categorical variables were tested by the calculation of chi-squared test. Student's t-test for independent samples was used to evaluate mean differences between normally distributed variables (i.e., body mass index, MedDietScore), where in case of skewed continuous variables (i.e., IPAQ score), the tested hypothesis was evaluated using the non-parametric U-test suggested by Mann and Whitney. Correlations between continuous variables were evaluated using the Spearman *rho* coefficients. Multiple logistic regression analysis was applied to evaluate the association of alcohol intake (frequency of intake and type of alcohol) in relation to the likelihood of having breast cancer. The results are presented as odds ratios and their 95% corresponding confidence intervals. Curve fit analysis by the calculation of R-squared and F-test of the models assessing the probabilities of having breast cancer and the frequency or quantity of alcohol drinking, was applied to evaluate the nature of the relationship (i.e., linear, parabolic, cubic, logarithmic or exponential). All reported p-values were based on two-sided tests. Statistical calculations were performed with SPSS 18 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

Characteristics of patients and controls

In **Table 1** the basic characteristics of patients and controls are presented. Cases and controls were of similar age (according to the protocol of the study), while educational and financial status were lower in cases ($p < 0.001$). Cases were more likely to be overweight and have at least one relative with breast cancer. There was no significant difference in smoking habits ($p = 0.207$), while cases reported lower adherence to the Mediterranean diet (i.e., lower MedDietScore) and lower physical activity status (i.e., lower IPAQ score).

Regarding the main research hypothesis, a strong association between frequency of alcohol drinking and the presence of breast cancer was observed ($p < 0.001$). In particular, controls mainly consumed alcohol 1-2 times /week, while patients mostly consumed alcohol rarely (**Table 1**). Unadjusted logistic regression analysis revealed that compared to no drinking, monthly (i.e., 3-4 times/month), or weekly (at least 1 time per week), but not daily alcohol drinking, were associated with lower odds of having breast cancer (odds ratio = 0.38, $p = 0.007$, odds ratio = 0.55, $p = 0.017$ and odds ratio = 0.85, $p = 0.69$, respectively). Furthermore, curve fit analysis showed that a parabolic or a cubic spline than a linear or an exponential better describes the relationship between frequency of alcohol drinking and the likelihood of having breast cancer (higher R-sq values). As regards to the quantity of alcohol consumed, patients reported consuming higher quantities of any type of alcoholic beverages as compared with controls (6.2 ± 10.7 g vs. 4.6 ± 6.8 g, $p = 0.21$). As far as the type of alcohol usually consumed is concerned, both patients and controls seemed to prefer consuming red or white wine as compared with beer and other spirits ($p = 0.001$).

[Table 1]

Table 1. Distribution of patients' and controls' characteristics.

	Breast cancer cases	Controls	<i>p</i>
N	250	250	
Age (years) (mean± standard deviation)	56 ± 12	56 ± 12	0.99
Years of education (years) (mean± standard deviation)	11 ± 4	12 ± 4	<0.001
Financial status (0-10) (mean± standard deviation)	5 ± 2	6 ± 2	<0.001
Body mass index (kg/m ²) (mean± standard deviation)	28 ± 6	26.7 ± 5	0.007
MedDietScore (0-55) (mean± standard deviation)	27.8 ± 5	29.9 ± 4	<0.001
Smoking (ever), (n. %)	103 (41.2%)	117 (46.8%)	0.207
Number of relatives with breast cancer, (n. %)			0.003
<i>No relative</i>	177 (71.1%)	211 (84.7%)	
<i>1 relative</i>	62 (24.9%)	32 (12.9%)	
<i>2 relatives</i>	9 (3.6%)	5 (2.0%)	
<i>3 relatives</i>	0 (0%)	1 (0.4%)	
<i>5 relatives</i>	1 (0.4%)	0 (0%)	
IPAQ score (MET-minutes/week)	219 (0.00, 985.5)	876 (140.25, 1533.0)	<0.001
Alcohol drinking (n. %)			<0.001
<i>Never</i>	102 (41.3%)	72 (29.0%)	
<i>Rarely</i>	62 (25.1%)	53 (21.4%)	
<i>3-4 times/month</i>	16 (6.5%)	29 (11.7%)	
<i>1-2 times/week</i>	47 (19.0%)	60 (24.2%)	
<i>3-4 times/week</i>	3 (1.2%)	20 (8.1%)	
<i>Daily</i>	17 (6.9%)	14 (5.6%)	
Type of alcohol (n. %)			0.001
<i>No drinking</i>	102 (53.1%)	72 (34.4%)	
<i>Wine (red or white)</i>	69 (35.9%)	116 (55.5%)	
<i>Beer</i>	12 (6.3%)	14 (6.7%)	
<i>Other spirits</i>	9 (4.7%)	7 (3.3%)	

The MedDietScore is a measurement of adherence to the Mediterranean diet, with theoretical range 0-55; greater values reporting greater adherence to this pattern.

The reported *p*-values were calculated using the t-test, the chi-square test or the Mann-Whitney U test.

Profile of the participants according to alcohol drinking

Alcohol drinking was inversely correlated with BMI ($\rho=-0.108$, $p=0.018$), and positively correlated with total years of smoking ($\rho=0.258$, $p<0.001$), as well as with cigarettes smoked per day ($\rho=0.255$, $p<0.001$) among

participants that were alcohol drinkers. Moreover, alcohol drinking was also positively correlated with IPAQ score of the participants ($\rho=0.158$, $p<0.001$), suggesting greater physically active lifestyle among drinkers, as well as with higher educational level measured in years of school ($\rho=0.254$, $p<0.001$), and with higher MedDietScore ($\rho=0.318$, $p<0.001$), suggesting greater adherence to the Mediterranean diet. Alcohol drinking was not associated with financial status ($\rho=0.064$, $p=0.210$), ZDRS score that evaluated depressive symptomatology ($\rho=0.001$, $p=0.993$), STAI score that evaluated anxiety ($\rho=0.05$, $p=0.308$), early menarche ($p=0.118$), late menopause ($p=0.660$), family history of breast cancer ($p=0.436$), as well as with place of living ($p=0.085$). In brief, the profile of alcohol drinkers (both patients and controls) could be characterized by higher educational level, lower body mass, higher adherence to the Mediterranean diet, as well as engagement in more physical activities, but also smoking of more cigarettes per day and for more years.

Multi-adjusted associations of alcohol drinking and likelihood of breast cancer

The aforementioned univariate association between alcohol drinking and the likelihood of having breast cancer may be prone to bias and residual confounding due to the design of the study. Thus, adjustments were made for age, body mass, family history, socio-demographic indices and overall dietary habits. Three additive models were estimated in order to evaluate the association between the frequency of alcohol drinking and the likelihood of having breast cancer (**Table 2**). It was decided to use categories of the frequency of alcohol drinking and not a continuous variable, since from the univariate analysis mentioned above a non-linear relationship was evident. The first model included as potential confounders only age and frequency of alcohol intake (never, rarely, 3-4 times/month, 1-2 times/week, 3-4 times/week, daily). In particular, alcohol drinking on almost a weekly or daily basis (i.e., 3-4 times / week) seemed to be inversely associated with the likelihood of having breast cancer ($p<0.05$). In the second model, years of education (in years of school) as a proxy of social status, body mass index (in kg/m^2), current smoking (yes/no), physical activity (in MET-minutes/week), family history of breast cancer (yes/no), age of menarche, age of menopause, and use of hormone replacement therapy (yes/no) were also entered. Drinking of any type of alcoholic beverages 3-4 times per week was associated with 86% lower likelihood of having breast cancer ($p=0.016$). However, in the two previous models, overall dietary habits of the participants were not taken into account. Healthy or unhealthy dietary habits may confound the aforementioned results, thus, in the third model the MedDietScore (that evaluates adherence to a healthy dietary pattern, the Mediterranean), was included. It was revealed that drinking of any type of alcohol beverages 3-4 times per week was associated with 84% lower likelihood of having breast cancer ($p=0.027$), irrespective of the level of adherence to the Mediterranean diet. Although frequency of alcohol drinking and MedDietScore were positively correlated ($\rho=0.318$, $p<0.001$), no collinearity was observed in the previous model.

[Table 2]

Based on curve fit analysis using linear or non-linear link functions, a parabolic (U-shaped) relationship was revealed as regards frequency of alcohol drinking and likelihood of having breast cancer (**Figure 1**).

[Figure 1]

Alcohol drinking, breast cancer, obesity, and overall dietary habits

Further, stratified analysis by obesity revealed similar relationships regarding non-obese women ($\text{BMI}<30 \text{ kg/m}^2$) whereas, among obese ($\text{BMI}>30 \text{ kg/m}^2$) there was no significant association. Particularly, among non-obese women, alcohol drinking of any type of beverages for 3-4 times/week was associated with 80% lower likelihood of having breast cancer ($p=0.02$), after adjusting for age, educational level, current smoking, family history of breast cancer, IPAQ score and MedDietScore. The parabolic relationship observed in the overall sample was confirmed in the sub-samples, too (**Figure 2**). No significant association between alcohol drinking and the likelihood of breast cancer among obese women was found.

Finally, although the association of alcohol with breast cancer was independent of the MedDietScore, the analysis was further stratified by MedDietScore level ($>$ or $<$ the median value, i.e., 29); drinking of any type of alcoholic beverages 3-4 times/week was associated with 90% ($\text{OR}=0.10$, 95%CI 0.01, 0.93) lower likelihood of having breast cancer among those who kept away from the traditional Mediterranean dietary pattern, and with 83% ($\text{OR}=0.17$, 95%CI 0.03, 0.98) lower likelihood of having breast cancer among those close to the Mediterranean dietary pattern. No significant associations between alcohol drinking and likelihood of breast cancer were observed when the analysis was stratified by early menarche or late menopause status ($p's>0.06$).

Type of alcohol and likelihood of breast cancer

Afterwards, the different types of alcohol usually consumed were evaluated against the likelihood of having breast cancer. From the above evidence it occurred that wine drinking was inversely associated with the likelihood of having breast cancer ($\text{OR}=0.60$, 95%CI 0.36, 1.00); with no significant differences between white or red wine. No other type of alcoholic beverages (i.e., beer, spirits, etc) had any significant association with the outcome.

Table 2. Results from multiple logistic regression models applied to evaluate the association of frequency of alcohol drinking with the likelihood of having breast cancer in n=250 cases and n=250 controls. Results are presented as odds ratios and 95%CI.

	<i>Model 1</i>	<i>Model 2</i>	<i>Model 3</i>
Age (per 1 year)	0.99 (0.98, 1.01)	0.96 (0.93, 0.99)	0.96 (0.93, 1.00)
Alcohol drinking			
<i>Never</i>	1.00	1.00	1.00
<i>Rarely</i>	0.81 (0.50-1.30)	1.04 (0.55, 1.97)	1.17 (0.61, 2.25)
<i>3-4times/month</i>	0.37 (0.19, 0.74)	0.39 (0.15, 1.02)	0.61 (0.22, 1.69)
<i>1-2 times/week</i>	0.51 (0.31, 0.86)	0.77 (0.36, 1.65)	0.96 (0.44, 2.09)
<i>3-4 times/week</i>	0.10 (0.03, 0.36)	0.14 (0.03, 0.69)	0.16 (0.03, 0.80)
<i>Daily</i>	0.84 (0.39, 1.81)	1.43 (0.48, 4.25)	1.73 (0.56, 5.34)
Years of education (per 1 year)	-	0.93 (0.86, 0.99)	0.93 (0.87, 1.003)
Body mass index (per 1 kg/m ²)	-	1.02 (0.96, 1.07)	1.008 (0.95, 1.06)
Current smoking (yes vs. no)	-	0.39 (0.20, 0.76)	0.36 (0.19, 0.71)
IPAQ (per 1000 MET-minutes/week)	-	0.83 (0.68, 0.99)	0.83 (0.68, 1.01)
Family history of breast cancer (yes vs. no)	-	1.94 (1.06, 3.54)	1.96 (1.07, 3.60)
Age of menarche (per 1 year)	-	1.04 (0.87, 1.24)	1.05 (0.88, 1.25)
Age of menopause (per 1 year)	-	0.97 (0.93, 1.02)	0.97 (0.92, 1.02)
Use of hormone replacement therapy (yes vs. no)	-	1.29 (0.51, 3.24)	1.29 (0.51, 3.27)
MedDietScore (per 1/55 units)	-	-	0.92 (0.87, 0.98)

All odds ratios and their corresponding 95% confidence intervals were calculated by performing multiple logistic regressions.

Discussion

Based on the presented findings, alcohol drinking on a weekly basis (i.e., 3-4 times / week) seemed to be inversely associated with the likelihood of having breast cancer, especially among non-obese women, and irrespective of overall dietary habits. Concerning the type of alcohol consumed by the participants, wine (red or white) had a protective effect, while no other type of alcohol seemed to have any association with breast cancer. Despite the potential limitations of the retrospective design of the study, these findings are of significant importance for public health since they underlined the non-linear dose-response relationship between alcohol drinking and the likelihood of breast cancer among women. Moreover, they highlighted the role of wine (red or white) on the potential protection against breast cancer development.

The protective effect of low-to-moderate alcohol drinking on breast cancer development has been also recently reported by very few observational studies. One study in Chinese women reported that low-to-moderate alcohol intake (<5 g per day) was not associated with increased risk of breast cancer (**Zhang and Holman, 2011**). Another case-control study in a population of Asian American women who were low alcohol consumers (median intake among drinkers was 0.48 g per day for cases and 0.40 g for controls) also revealed that breast cancer risk was not significantly associated with alcohol drinking (**Brown et al., 2010**). However, a study conducted in a Mediterranean population, with long history of moderate alcohol drinking and health, i.e., France, found that women who had an average consumption of <1.5 drinks/day had a significantly lower risk of breast cancer (**Bessaoud and Daures, 2008**). The later finding is in accordance with the results observed in our study, where alcohol intake of 3-4 drinks per week was inversely associated with breast cancer likelihood. Thus, the results regarding alcohol drinking and the likelihood of breast cancer remain conflicting.

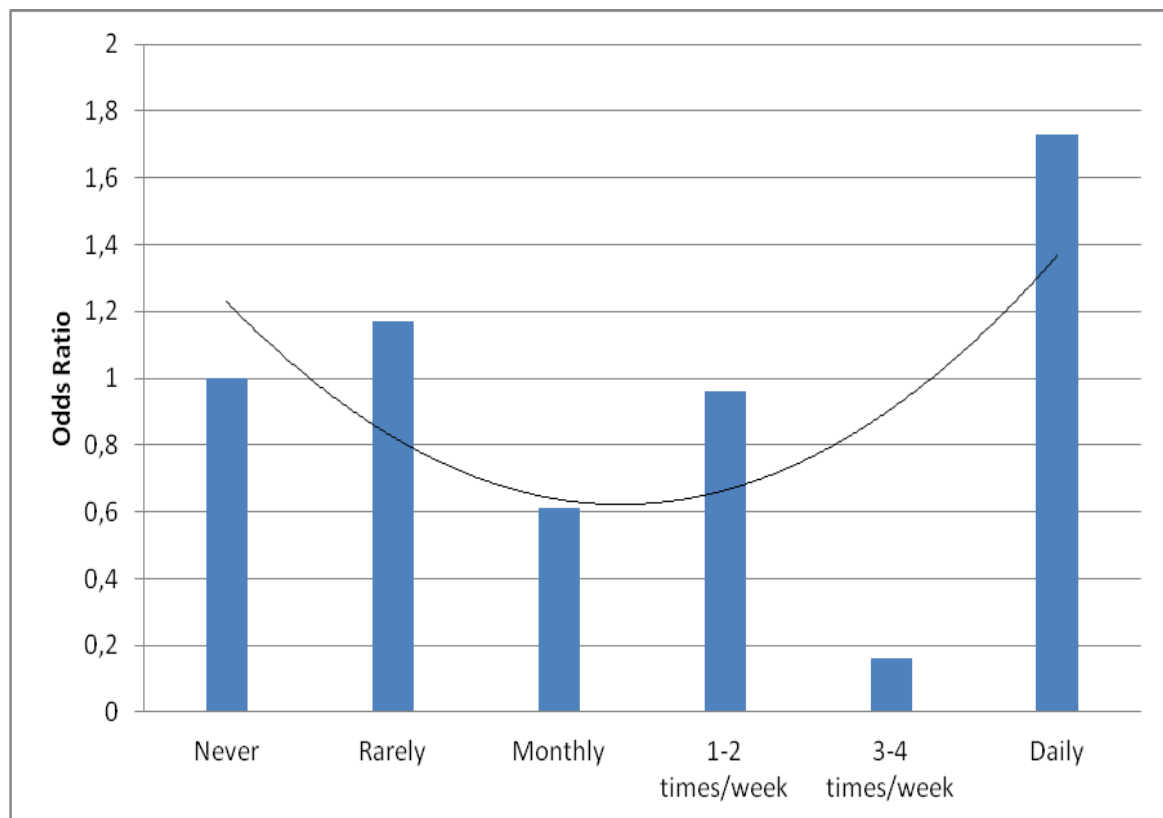


Figure 1. Odds Ratios (adjusted for age, educational level, BMI, current smoking, physical activity status, family history of breast cancer, MedDietScore, age of menarche, age of menopause and use of hormone replacement therapy) for the association of alcohol drinking and the likelihood of having breast cancer in the total sample ($n=500$).

The inverse association between moderate alcohol intake and breast cancer that was revealed here could be, partly, attributed to the wine consumption. As it was reported in the analysis of the data, only wine drinking was significantly associated with breast cancer, whereas the other alcoholic beverages did not. Wine may inhibit carcinogenesis through its antioxidant, anti-inflammatory, antimutagen, antimetastatic, anti-angiogenic, antidifferentiation, antiproliferative, and proapoptotic properties. It has been suggested to modulate signal transduction, immune response, transcription factors, growth factors, cytokines, caspases, interleukins, prostaglandin synthesis and cell cycle-regulating proteins (Arranz et al., 2012). Moreover, it is known that wine, particularly red wine, contains high levels of antioxidants, such as polyphenols (D'Archivio et al., 2007). In this framework, part of the aforementioned effects may be attributed to polyphenols. Red wine polyphenols are a complex mixture of flavonoids (such as anthocyanins and flavan-3-ols) and nonflavonoids (such as resveratrol, cinnamates and gallic acid) (Arranz et al., 2012). A large percentage of the literature on the cancer-preventing effects of wine, and especially red wine, are focused on one compound in particular: resveratrol. Besides cardioprotective effects, resveratrol exhibits anticancer properties, as suggested by its ability to suppress proliferation of a wide variety of tumor cells including breast cancer (Aggarwal et al., 2004). Its growth-inhibitory effects are mediated through suppression of the activation of several transcription factors, inhibition of protein kinases and casein kinases and down-regulation of products of genes. Resveratrol also has been shown to potentiate the apoptotic effects of cytokines, chemotherapeutic agents and γ -radiation (Aggarwal et al., 2004). Moreover, besides resveratrol, the intake of specific subclasses of flavonoids such as flavonols and flavones, has been associated with a decreased risk of breast cancer, especially among post-menopausal women (Hui et al., 2013).

However, till now the body of evidence and the World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR) second expert report characterize alcohol drinking as an established risk factor for breast cancer (WCRF/AICR). In the light of the above evidence, the recent American Cancer Society guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention, suggest limitation of alcohol consumption to no more than 1 drink per day for women who already drink alcohol beverages (Kushi et al., 2012). In a very recent systematic review and meta-analysis, it was reported a modest, but significant positive association between light drinking and breast cancer (Seitz et al., 2012). Moreover, in the same meta-analysis it was consistently indicated a

40-50% elevated risk of breast cancer in women consuming three or more alcoholic drinks/day, and suggested a positive dose-response relation between alcohol drinking and breast cancer. Alcohol drinkers in our study could be characterized as low-drinkers, since the majority of both cases and controls consumed alcohol on a weekly basis and the quantity consumed was <12 g per day, and this may, in part, explain the observed J-shaped relationship.

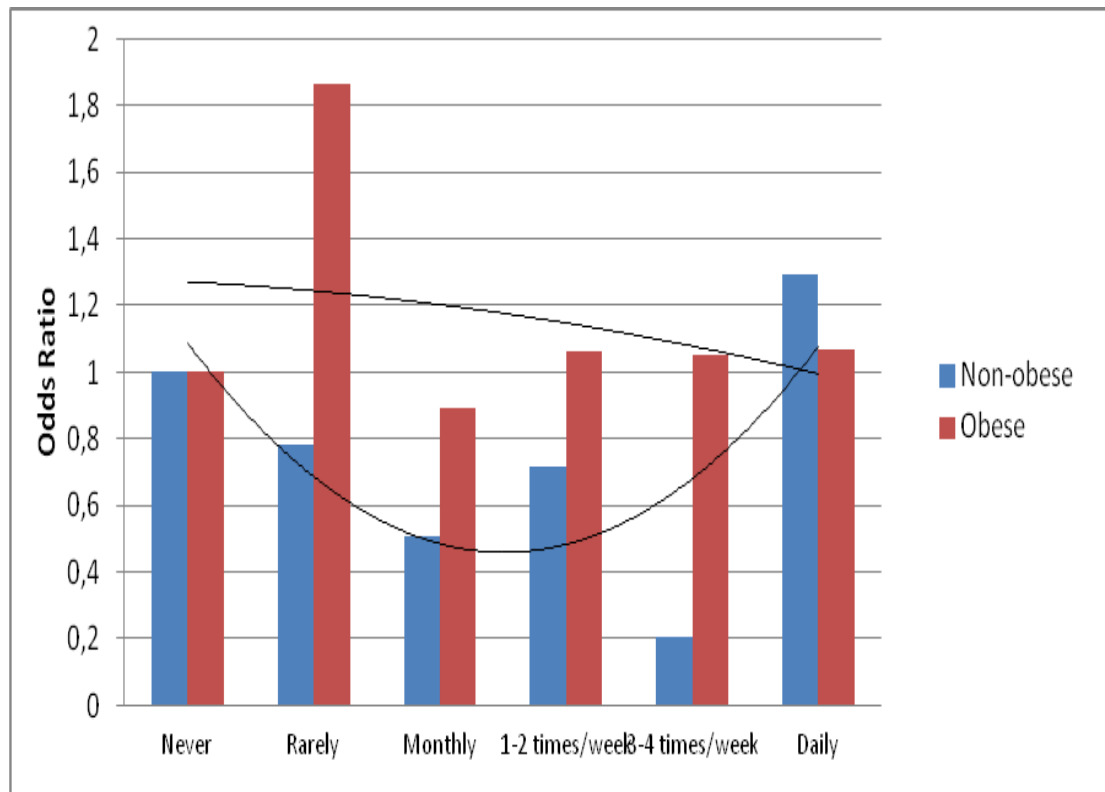


Figure 2. Odds Ratios (adjusted for age, educational level, current smoking, physical activity status, family history of breast cancer, and MedDietScore) for the association of alcohol drinking and the likelihood of having breast cancer in the total sample, according to obesity status ($n = 122$, 25.5% of the total sample were obese ($\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$))

The mechanisms by which alcohol stimulates breast carcinogenesis are still not understood. Increased estrogen levels in women consuming alcohol appear to be the first mechanism underlying the association. In fact, during alcohol consumption, increased estrogen concentrations may be observed by many ways including: increased aromatase activity which leads to conversion of testosterone to estrogens, inhibition of the activity of two enzymes important in estrogen degradation, decreased melatonin secretion which inhibits estrogen production and increase in the hepatic redox state resulting in the decrease of steroid metabolism. As a result, estrogens may exert their carcinogenic effect on breast tissue either via the estrogen receptors (ER) or directly (Seitz et al., 2012). Moreover, products of alcohol metabolism, like acetaldehyde and free radicals, have been implicated to their role in alcohol-associated carcinogenesis, as they seem to cause DNA damages (Coronado et al., 2011, Dumitrescu and Shields, 2005).

The profile of alcohol drinkers in the present work was women having higher educational level, lower body mass, higher adherence to the Mediterranean diet, being more physically active and more frequent smokers. Increased body mass and more specifically increased body fatness has been consistently associated with increased risk of breast cancer especially in postmenopausal women (WCRF/AICR). In this work, alcohol drinking was associated with lower body mass index. Although the association between alcohol drinking and the likelihood of breast cancer was independent of body mass, the fact that the later association was evident only among non-obese women ($\text{BMI} < 30 \text{ kg/m}^2$) may be explained by the stronger relationship of body fatness and related hormones with breast cancer risk. Indeed, in postmenopausal women, circulating oestrogen is primarily produced in fat tissue. Thus, having more fat tissue increases oestrogen levels and the likelihood of having breast cancer. Furthermore, body fatness directly affects levels of circulating hormones, such as insulin and insulin-like growth factors, creating an environment that encourages carcinogenesis and discourages apoptosis. It also stimulates the body's inflammatory response, which may contribute to the initiation and progression of several cancers (WCRF/AICR). Moreover, overall dietary habits may mask a relationship between a specific food or beverage and human health. Moderate alcohol drinking is a dominant characteristic of the traditional Mediterranean diet. Thus, it may be speculated that it is not moderate drinking that may be responsible for the reduction of the likelihood of having breast cancer, but the adherence to an overall healthy dietary pattern. Although overall dietary habits, and not

isolated foods, beverages or nutrients, may play a significant role on human health, in this study it was revealed that moderate alcohol drinking was significantly, and inversely associated with breast cancer irrespective of the level of adherence to a healthy dietary pattern, like the Mediterranean.

Limitations

The major limitation of this study was the recall bias, as in all cases-controls studies. However an effort was given to minimize this limitation by choosing newly diagnosed consecutive patients and collecting all necessary subjects in a small period time. Moreover, people who collected the data were trained limiting the bias among the investigators. The effect size measures used in case-control studies (i.e., odds ratios) tend to overestimate the actual effect of the cause on effect usually observed in prospective studies; and thus, the findings should be interpreted with caution. Additionally, and despite the fact that the FFQ used has been found valid, it should be mentioned that high alcohol intake is being considered as a “stigma” by some people, and this may have influenced the reported information, especially by the breast cancer cases (i.e., under-reporting); this could bias the findings either towards or away from the null.

Conclusions

The presented findings clearly suggest a dose-response relationship between alcohol drinking and the likelihood of breast cancer, and particularly of moderate alcohol drinking. Our results support the hypothesis that a threshold effect indeed exists since risk of breast cancer decreased under a certain threshold, above which it increased. Thus, knowing also the benefits of moderate alcohol consumption on cardiovascular diseases, probably it is not applicable to advise all moderate alcohol drinkers, and especially those who drink wine, to reduce their alcohol intake.

Acknowledgements

The authors would like to thank all the participants of the study, without their contribution this project would never been done; also, would like to thank the Directors of the clinics of the involved hospitals: Gerasimos Aravantinos, Epaminondas Samantas, Evangelos Filopoulos, and the field investigators of the study: Aikaterini Manousou, Vassiliki Markasioti, Aikaterini Kakou, Fotini-Maria Mpalli, Nikolaos Soupos, Zoe Tsakalou, Maria Mitsou, Artemisia Tsakla, Iro Karapapa, Maria Somaraki, Athanasios Tekttonidis, Athanasia Laina and Aggeliki Siolavou.

Funding: None

References

1. Rimm EB, Klatsky A, Grobbee D, Stampfer MJ. Review of moderate alcohol consumption and reduced risk of coronary heart disease: is the effect due to beer, wine, or spirits. *BMJ* 1996;312:731-6.
2. Alkerwi A, Boutsen M, Vaillant M, et al. Alcohol consumption and the prevalence of metabolic syndrome: a meta-analysis of observational studies. *Atherosclerosis* 2009;204:624-35.
3. Athyros VG, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, et al. Association of drinking pattern and alcohol beverage type with the prevalence of metabolic syndrome, diabetes, coronary heart disease, stroke, and peripheral arterial disease in a Mediterranean cohort. *Angiology* 2007;58:689-97.
4. Ronksley PE, Brien SE, Turner BJ, Mukamal KJ, Ghali WA. Association of alcohol consumption with selected cardiovascular disease outcomes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2011;342:d671.
5. Panagiotakos DB, Kourlaba G, Zeimbekis A, Toutouzas P, Polychronopoulos E. The J-shape association of alcohol consumption on blood pressure levels, in elderly people from Mediterranean Islands (MEDIS epidemiological study). *J Hum Hypertens* 2007;21:585-7.
6. Lindschou Hansen J, Tolstrup JS, Jensen MK, et al. Alcohol intake and risk of acute coronary syndrome and mortality in men and women with and without hypertension. *Eur J Epidemiol* 2011;26:439-47.
7. Pitsavos C, Makrilakis K, Panagiotakos DB, et al. The J-shape effect of alcohol intake on the risk of developing acute coronary syndromes in diabetic subjects: the CARDIO2000 II Study. *Diabet Med* 2005;22:243-8.
8. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011;61:69-90.

9. WCRF/AICR. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC: AICR; 2007.
10. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, et al. Alcohol consumption and lung cancer risk in never smokers: a meta-analysis. *Ann Oncol* 2011;22:2631-9.
11. Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, et al. Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Ann Oncol* 2011;22:1958-72.
12. Pelucchi C, Galeone C, Tramacere I, et al. Alcohol drinking and bladder cancer risk: a meta-analysis. *Ann Oncol* 2012;23:1586-93.
13. Tramacere I, Negri E, Pelucchi C, et al. A meta-analysis on alcohol drinking and gastric cancer risk. *Ann Oncol* 2012;23:28-36.
14. Tramacere I, Scotti L, Jenab M, et al. Alcohol drinking and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of the dose-risk relation. *Int J Cancer* 2010;126:1474-86.
15. Seitz HK, Pelucchi C, Bagnardi V, La Vecchia C. Epidemiology and pathophysiology of alcohol and breast cancer: Update 2012. *Alcohol* 2012;47:204-12.
16. Bagnardi V, Rota M, Botteri E, et al. Light alcohol drinking and cancer: a meta-analysis. *Ann Oncol* 2013;24:301-8.
17. Zhang M, Holman CD. Low-to-moderate alcohol intake and breast cancer risk in Chinese women. *Br J Cancer* 2011;105:1089-95.
18. Mourouti N, Papavagelis C, Psaltopoulou T, et al. Aims, design and methods of a case-control study for the assessment of the role of dietary habits, eating behaviors and environmental factors, on the development of breast cancer. *Maturitas* 2013;74:31-6.
19. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006;16:559-68.
20. Panagiotakos D, Kalogeropoulos N, Pitsavos C, et al. Validation of the MedDietScore via the determination of plasma fatty acids. *Int J Food Sci Nutr* 2009;60 Suppl 5:168-80.
21. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Arvaniti F, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. *Prev Med* 2007;44:335-40.
22. Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1381-95.
23. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, et al. Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 2009;50:283-94.
24. Fountoulakis KN, Iacovides A, Samolis S, et al. Reliability, validity and psychometric properties of the Greek translation of the Zung Depression Rating Scale. *BMC Psychiatry* 2001;1:6.
25. Zung WW. A Self-Rating Depression Scale. *Arch Gen Psychiatry* 1965;12:63-70.
26. Fountoulakis KN, Papadopoulou M, Kleanthous S, et al. Reliability and psychometric properties of the Greek translation of the State-Trait Anxiety Inventory form Y: preliminary data. *Ann Gen Psychiatry* 2006;5:2.
27. Spielberger. CDGRLLE:Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (Self-Evaluation Questionnaire). Palo Alto, CA. Consulting Psychologists press 1970.
28. Brown LM, Gridley G, Wu AH, et al. Low level alcohol intake, cigarette smoking and risk of breast cancer in Asian-American women. *Breast Cancer Res Treat* 2010;120:203-10.
29. Bessaoud F, Daures JP. Patterns of alcohol (especially wine) consumption and breast cancer risk: a case-control study among a population in Southern France. *Ann Epidemiol* 2008;18:467-75.
30. Arranz S, Chiva-Blanch G, Valderas-Martinez P, Medina-Remon A, Lamuela-Raventos RM, Estruch R. Wine, beer, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease and cancer. *Nutrients* 2012;4:759-81.

31. D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita* 2007;43:348-61.
32. Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, Seeram NP, Shishodia S, Takada Y. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res* 2004;24:2783-840.
33. Hui C, Qi X, Qianrong Z, Xiaoli P, Jundong Z, Mantian M. Flavonoids, flavonoid subclasses and breast cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies. *PLoS One* 2013;8:e54318.
34. Kushi LH, Doyle C, McCullough M, et al. American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA Cancer J Clin* 2012;62:30-67.
35. Coronado GD, Beasley J, Livaudais J. Alcohol consumption and the risk of breast cancer. *Salud Publica Mex* 2011;53:440-7.
36. Dumitrescu RG, Shields PG. The etiology of alcohol-induced breast cancer. *Alcohol* 2005;35:213-25.

4.2.3 Ο ρόλος του κρέατος στην παρουσία καρκίνου του μαστού

Η διερεύνηση της σχέσης μεταξύ της κατανάλωσης κρέατος (κόκκινου, λευκού, επεξεργασμένου και ψημένου στα κάρβουνα) και της παρουσίας καρκίνου του μαστού ανέδειξε πως μόνο η κατανάλωση ψημένου κρέατος συσχετίστηκε σημαντικά με τη νόσο. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε πως οι ασθενείς ήταν πιθανό να καταναλώνουν πιο συχνά ψημένο κρέας συγκριτικά με τις υγιείς ($p=0,007$), χωρίς ωστόσο να καταγράφεται δοσοεξαρτώμενη σχέση.

Τα αποτελέσματα της πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης ανέδειξαν πως η κατανάλωση κόκκινου κρέατος 8-10 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με 2,7 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,05$). Επιπρόσθετα, η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος ακόμη και για 1-2 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με 2,2 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($p=0,006$), ενώ η ημερήσια κατανάλωσή του αύξησε την πιθανότητα σε 2,5 φορές ($p=0,025$). Επιπλέον αναλύσεις ανέδειξαν πως η επιβαρυντική επίδραση της κατανάλωσης κόκκινου και επεξεργασμένου κρέατος παρέμεινε σημαντική απέναντι στη νόσο ακόμη και μετά από έλεγχο για συγχυτικούς παράγοντες όπως το επίπεδο εκπαίδευσης, ο Δείκτης Μάζας Σώματος, το κάπνισμα, η φυσική δραστηριότητα, το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού, το επίπεδο εμμηνόπαυσης και η χρήση ορμονών μετεμμηνοπαυσιακά. Πιο συγκεκριμένα, η ημερήσια κατανάλωση κόκκινου κρέατος συσχετίστηκε με διπλάσια πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,037$), ενώ και η ημερήσια κατανάλωση λευκού κρέατος συσχετίστηκε οριακά με σχεδόν διπλάσια πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($p=0,054$). Επιπρόσθετα, η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος 1-2 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με σχεδόν τριπλάσια πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,002$), ενώ η καθημερινή κατανάλωση συσχετίστηκε με πάνω από τριπλάσια πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($p=0,007$). Όταν έλαβε χώρα έλεγχος και για το MedDietScore, η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος 1-2 φορές/εβδομάδα καθώς και καθημερινά συσχετίστηκε με 2,7 και 2,8 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,004$ και $p=0,026$ αντίστοιχα).

Οι επιπλέον αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν με βάση τις κατηγορίες σωματικού βάρους, το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, την κατάσταση εμμηνόπαυσης αλλά και τον τόπο διαμονής ανέδειξαν παρόμοια αποτελέσματα με αυτά που παρατηρήθηκαν σε ολόκληρο το δείγμα. Ειδικότερα, για τις υπέρβαρες

γυναίκες (δηλ. $25 \text{ kg/m}^2 < \text{BMI} < 29,9 \text{ kg/m}^2$) παρατηρήθηκε πως η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος ακόμη και για 1-2 φορές/εβδομάδα καθώς και για 3-4 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με πάνω από τριπλάσια ($p=0,03$) και πάνω από τετραπλάσια ($p=0,035$) πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού αντίστοιχα, αφού λήφθηκαν υπόψη πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες. Όσον αφορά τις παχύσαρκες γυναίκες ($\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$) η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος για 2-3 φορές/μήνα συσχετίστηκε με 4,4 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($p=0,049$), ενώ η κατανάλωση για 1-2 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με σχεδόν εξαπλάσια πιθανότητα ($p=0,022$) αφού λήφθηκαν υπόψη οι ίδιοι συγχυτικοί παράγοντες. Όταν οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με βάση το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος για 1-2 φορές/εβδομάδα καθώς και καθημερινά συσχετίστηκε με πάνω από τριπλάσια ($p=0,013$) και σχεδόν πενταπλάσια ($p=0,028$) πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού αντίστοιχα για τις συμμετέχουσες που κατηγοριοποιήθηκαν ως μη ενεργά άτομα (δηλ., $< 600 \text{ MET-minutes/week}$). Παρομοίως, για εκείνες που κατηγοριοποιήθηκαν ως κατ' ελάχιστο ενεργά άτομα (δηλ., $600-3000 \text{ MET-minutes/week}$), η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος 3-4 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με τετραπλάσιο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου ($p=0,04$) αφού λήφθηκαν υπόψη οι ίδιοι συγχυτικοί παράγοντες. Η στρωματοποιημένη ανάλυση με βάση το επίπεδο εμμηνόπαυσης φάνηκε να συσχετίζει σημαντικά την κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος με τη νόσο μόνο για τις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά. Ειδικότερα, η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος για 1-2 φορές/εβδομάδα καθώς και καθημερινά συσχετίστηκε με τετραπλάσια ($p=0,001$) και σχεδόν εξαπλάσια ($p=0,005$) πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού αφού πραγματοποιήθηκαν έλεγχοι για τους ίδιους πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες. Ολοκληρώνοντας, τα αποτελέσματα της πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης με βάση τον τόπο διαμονής ανέδειξαν, όσον αφορά τις συμμετέχουσες που κατοικούν στην Αθήνα, πως η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος 3-4 φορές/εβδομάδα καθώς και καθημερινά συσχετίστηκε με σχεδόν τριπλάσια ($p=0,04$) και πάνω από τριπλάσια ($p=0,02$) πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού αντίστοιχα, ενώ αναφορικά με τις συμμετέχουσες που κατοικούσαν στην περιφέρεια, η καθημερινή κατανάλωση συσχετίστηκε με 17 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($p=0,03$) αφού λήφθηκαν υπόψη οι ίδιοι συγχυτικοί παράγοντες.

Meat consumption and breast cancer: a case-control study in women

Niki Mourouti¹, MSc; Meropi D. Kontogianni¹, PhD; Christos Papavagelis¹, MSc; Petrini Plytzanopoulou², MSc; Tonia Vassilakou², PhD; Theodora Psaltopoulou³, MD, PhD; Nikolaos Malamos⁴, MD, PhD; Athena Linos³, MD, PhD; Demosthenes B. Panagiotakos¹, PhD

¹Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

²Department of Nutrition and Biochemistry, National School of Public Health, Athens, Greece

³Department of Hygiene, Epidemiology and Medical Statistics, School of Medicine, University of Athens, Athens, Greece

⁴Pathology-Oncology Department, General Hospital "Elena Venizelos", Athens, Greece

Abstract

Background: the relationship between meat intake and breast cancer has been inconsistent. **Objective:** the aim of this work was to evaluate the association between meat intake and breast cancer, in women. **Design:** a case – control study with 250 consecutive, newly diagnosed breast-cancer-female-patients (56±12 years) and 250, one-to-one age-matched controls. A standardized, validated questionnaire assessing various socio-demographic, clinical, lifestyle and dietary characteristics was applied through face-to-face interviews. Data on consumption of red, white, processed and grilled meat were also recorded. Overall dietary habits were assessed through the level of adherence to the Mediterranean diet using the MedDietScore (theoretical range 0-55). **Results:** Processed meat intake, even for 1-2 times/week, was associated with a 2.7-fold (OR=2.65, 95%CI 1.36, 5.14) ($p=0.004$) higher likelihood of having breast cancer, while daily intake increased the likelihood by a 2.8-fold (OR=2.81, 95%CI 1.13, 6.96) ($p=0.026$), after various adjustments made. Red, white and grilled meat intake was not significantly associated with the outcome when the same adjustments were made. **Conclusions:** this study suggested that only daily processed-meat intake was consistently associated with increased odds of breast-cancer.

Keywords: breast cancer; meat consumption; processed meat

1. Introduction

Meat consumption has long been associated with human health, due to its nutritional composition. It contains 20-35% protein, providing all essential amino acids, as well as relatively high levels of B vitamins (particularly B6 and B12) and vitamin D (Biesalski, 2005, Williamson, 2005). It also provides readily absorbable zinc, selenium and iron, a mineral necessary for growth, development, normal cellular functioning and synthesis of some hormone and connective tissue. Meat total iron (TFe) concentration depends on the type as well as the cut of meat, while usually heme iron (HeFe) comprises the vast majority of TFe (Valenzuela et al., 2009, Valenzuela et al., 2011). Along with these important nutrients, meat is a primary source of fat which facilitates the absorption of fat-soluble vitamins including the A, D, E and K. Between 30 and 40% of the fat is composed of monounsaturated fatty acids (MUFAs), with the principal MUFA being oleic acid. It also contains predominantly linoleic ($n-6$) and α -linolenic acid ($n-3$) from polyunsaturated fatty acids (PUFAs), as well as long-chain $n-3$ PUFAs eicosapentaenoic acid (EPA), docosapentaenoic acid (DPA) and docosahexaenoic acid (DHA). The main saturated fatty acids (SFAs) present in red meat are palmitic acid and stearic acid, while meat from ruminant animals is also a source of conjugated linoleic acid (CLA) (Biesalski, 2005, Williamson, 2005). Meat fatty acid composition can be changed via the diet (e.g. the feeding regime of the animal), affecting meat quality and producing different flavors in cooked meat due to the different oxidative changes occurring during storage and cooking (Calabro et al., 2014, Cutrignelli, 2008, Wood and Enser, 1997). Finally, L-Carnitine which plays an important role in fatty acid metabolism is also provided by meat, having the opportunity not to be modified during domestic cooking (Rigault et al., 2008). Since meat is a good source of many valuable nutrients and especially high quality protein, its consumption could reveal its beneficial effects on cardiovascular health (Giordano et al., 2010, McNeill, 2014) and overweight (McNeill, 2014). Nevertheless, during the past decades, several studies have associated red and processed meat intake with increased all-cause mortality (Larsson and Orsini, 2014), increased risk of type 2

diabetes (Aune et al., 2009c) and stroke (Chen et al., 2013), with higher odds of having acute coronary events (Kontogianni et al., 2008) as well as increase in the risk of some types of cancer, specifically pancreatic (Larsson and Wolk, 2012) and colorectal cancer (WCRF/AICR, 2007a).

Cancer is a chronic disease and among its various types breast cancer is the most frequently diagnosed cancer and the leading cause of cancer death in females, worldwide (Jemal et al., 2011). However, the relationship between meat consumption and breast cancer remains not well understood and appreciated, since the current data lack definitive evidence. In a recent large cohort study investigating diet and cancer in women in the United Kingdom (UK Women's Cohort Study), increased consumption of total and non-processed meat was associated with significant increased risk of premenopausal breast cancer incidence and positive associations between postmenopausal breast cancer and total, processed and red meat consumption were found, as well (Taylor et al., 2007). In contrast, in a recent meta-analysis of red and processed meat consumption and breast cancer where the researchers were able to meta-analyze data on over 25000 cases of breast cancer, overall observed weak positive summary associations, with the majority being non-statistically significant (Alexander et al., 2010). The above conflicting results regarding the effect of meat consumption on breast cancer risk may be owing to differences in definitions of total meat, red and processed meats, in the derivation of the meat content of meat dishes, the homogeneity of diet within individual population groups as well as the lack of investigations of potential effect modifiers such as analyses by hormone receptor status.

Thus, the aim of this work was to evaluate the association between meat intake (red, white, processed and grilled meat) and breast cancer development, after various adjustments made.

2. Material and Methods

2.1 Study's design and sample

This is a case-control study, with face-to-face interviews with the participants. Between November 1st, 2010 and July 31st, 2012, 250 consecutive, newly (within six months) diagnosed breast cancer female patients (defined by physical examination and biopsy) that visited pathology-oncology clinics of five major General Hospitals in Athens, Greece (i.e., "Alexandra" General Hospital, "Elena Venizelos" Maternity-General Hospital, "Agioi Anargyroi" General Oncological Hospital of Kifissia, "Saint Savvas" Cancer Hospital and "I. Metaxa" Special Cancer Hospital) were contacted to participate in the study. Patients with diagnosis older than six months (in order to avoid changes in their dietary habits or other behaviours), were not included. In the same period, 250 female subjects (controls) without any clinical symptoms, signs or suspicion of any type of cancer in their medical history, were selected on a volunteer basis. Control subjects were age-matched (± 3 years) with the cancer patients, population – based and selected from the same catchment area (i.e., Athens metropolitan area, i.e., 76% or other areas) of the patients (i.e., controls were selected from the same city or town patients were living or working; there were no substantial differences between living and working areas of the participants). The participation rate of the patients was 82% and of the controls was 88%. To reduce selection bias a random selection of the controls was performed, when it was possible (i.e., in 60% of the controls), e.g., through the employees listings of the companies that were visited by the study's investigators or the apartments of the building. The rest 40% of the controls were selected on a feasibility basis, and were colleagues, friends, or relatives of the study's field investigators that fulfilled the aforementioned criteria.

The number of the enrolled subjects ($n=500$) was decided through power analysis, in order to evaluate (two sided) odds ratio equal to 1.10 (95% CI 1.05, 1.15), achieving statistical power greater than 0.80 at 0.05 probability level (p -value).

The design of the study and the full methods followed have been already described elsewhere (Mourouti et al., 2013).

2.2 Bioethics

The study has been approved by the Ethics Committee of "Alexandra" General Hospital (No. 4/10.3.2010), "I. Metaxa" Special Cancer Hospital (No. 40/8.12.2011) and "Saint Savvas" Cancer Hospital (No. 448/2.3.2012) and was carried out in accordance to the Declaration of Helsinki (1989) of the World Medical Association. Prior to the collection of any information, participants were informed about the aims and procedures of the study and provided their signed consent.

2.3 Dietary assessment

A validated, semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) was used during the interviews to collect dietary information from the participants (Mourouti et al., 2013). In brief, the FFQ included 86 questions regarding the frequency of consumption of all main food groups and beverages usually consumed. In this work the interest was focused on specific food groups, like the consumption of red meat (including beef, lamb, veal and pork), white

meat (including chicken, game and turkey), processed meat (including cured and smoked meats; ham, bacon, sausages and salami) as well as grilled meat. Thus, specifically for meat consumption, data on regular consumption of red meat (i.e., ≤ 1 time/week, 2-3 times/week, 4-5 times/week, 6-7 times/week, 8-10 times/week, >10 times/week), white meat (i.e., ≤ 3 times/week, 4-5 times/week, 5-6 times/week, 7-8 times/week, 9-10 times/week, >10 times/week) and of processed and grilled meat (i.e., never, <1 time/month, 2-3 times/month, 1-2 times/week, 3-4 times/week, daily), were recorded for the last year prior to diagnosis. To account for overall dietary habits, adherence to the Mediterranean dietary pattern was assessed using the MedDietScore, an 11-item composite dietary index, with large scale scoring that ensures better predictive accuracy (Panagiotakos et al., 2006). It contains the 11 main food components of the Mediterranean diet: nonrefined cereals, fruits, vegetables, potatoes, legumes, olive oil, fish, red meat, poultry, full fat dairy products and alcohol, and its theoretical range is between 0 and 55. Higher values of this score indicate greater adherence to the Mediterranean diet. The validation properties of the MedDietScore have been presented elsewhere in the literature (Panagiotakos et al., 2009a, Panagiotakos et al., 2007b, Panagiotakos et al., 2006). The evaluation of overall dietary habits was considered essential in the present analysis, in order to account for the potential confounding effect of a healthy dietary pattern in the evaluation of the main research hypothesis (i.e., the association between meat consumption and breast cancer).

2.4 Other measurements

Age of the participants was recorded, as well as their place of living (i.e. living in the city of Athens or out of town), educational level and financial status. Weight and height were measured using standardized procedures, and body mass index was calculated as weight in *kg* divided by height in *m* squared. Physical activity was assessed using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) index (Craig et al., 2003) that has been validated for the Greek population (Papathanasiou et al., 2009b). Subjects were asked to recall the number of days and hours or minutes they engaged in physical activity of different intensities for at least ten minutes, vigorous intensity and moderate intensity, walking and time spent sitting. According to their physical activity levels participants were classified as inactive, minimally active or health enhancing physical activity (HEPA) active. Smoking habits (i.e. current and former smoking, total years of smoking and number of cigarettes smoked per day) were also recorded. Family history of breast cancer, gynaecological medical history (i.e., existence or not of menstruation, age of menarche, age of menopause and use of hormone replacement therapy), as well as a detailed medical history regarding the common co-morbidities and their treatment (i.e., hypertension, hypercholesterolemia, diabetes), were recorded during the interview.

2.5 Statistical analysis

Continuous variables that were normally distributed were presented as mean $\pm$ SD. Normality was evaluated using the P-P plots. Categorical variables were presented as frequencies. Associations between categorical variables were tested by the calculation of chi-squared test. Student's t-test for independent samples was used to evaluate mean differences of the normally distributed variables (i.e., body mass index, MedDietScore) between cases and controls, where in case of skewed continuous variables (i.e., IPAQ score), the tested hypothesis was evaluated using the non-parametric U-test suggested by Mann and Whitney. Correlations between continuous variables were evaluated using the Spearman *rho* coefficients. Multiple logistic regression analysis was applied to evaluate the association between the frequency of meat consumption (red, white, processed and grilled meat) and the likelihood of having breast cancer. The analysis accounted for the potential confounding effect of the following characteristics: age, years of education (measured in years of school) as a proxy of social status, body mass index (in kg/m^2), smoking ever (yes/no), physical activity (in MET-minutes/week), family history of breast cancer in order to encompass the genetic predisposition and potential lifestyle changes (yes/no), menopausal status (pre- and postmenopausal), use of hormone replacement therapy (yes/no) and MedDietScore (that evaluates adherence to a healthy dietary pattern, the Mediterranean). The above potential confounders were taken into account due to the fact that they have been strongly associated with the disease. Probably there are additional confounding factors that were not considered either because they have not been strongly associated with the disease until now, or there was no attempt to adjust for them due to lack of data. The results of the logistic regression were presented as odds ratios (OR) and their 95% corresponding confidence intervals (95%CI). Potential non-linear relationship between meat consumption and the likelihood of the disease was tested using intake variables as "dummy" variables with the ≤ 1 time/week category as the reference group. All reported p-values were based on two-sided tests. Statistical calculations were performed with SPSS 18 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Results

3.1 Characteristics of patients and controls

In **Table 1** the study's sample characteristics of patients and controls are presented. Cases and controls were of similar age (as this was the protocol of the study), while educational and financial status was lower in cases as compared with the controls ($p<0.001$). Cases reported lower physical activity status (i.e., lower IPAQ score), were more likely to be overweight and have at least one relative with breast cancer. However, there was no significant difference in smoking habits ($p=0.207$), as well as in menopausal status ($p=0.49$). The level of adherence to the Mediterranean diet was moderate in both cases (i.e., 28/55) and controls (i.e., 30/55).

As regards to the main research hypothesis, based on unadjusted analyses that may hide confounding, no significant association was observed between the frequency of consumption of red, white and processed meat and presence of breast cancer ($p>0.05$), while only grilled meat intake was associated with the disease. In particular, cases were more likely to consume more frequently grilled meat as compared with controls ($p=0.007$); but dose-response relationships were not identified (**Table 2**).

Table 1. Distribution of study's sample characteristics.

	Breast cancer cases	Controls	<i>p</i>
N	250	250	
Age (years) (mean± standard deviation)	56 ± 12	56 ± 12	0.99
Years of education (years) (mean± standard deviation)	11 ± 4	12 ± 4	<0.001
Financial status (0-10) (mean± standard deviation)	5 ± 2	6 ± 2	<0.001
Body mass index (kg/m ²) (mean± standard deviation)	28 ± 6	26.7 ± 5	0.007
Smoking (ever), (n. %)	103 (41.2%)	117 (46.8%)	0.207
Number of relatives with breast cancer, (n. %)			0.003
<i>No relative</i>	177 (71.1%)	211 (84.7%)	
<i>1 relative</i>	62 (24.9%)	32 (12.9%)	
<i>2 relatives</i>	9 (3.6%)	5 (2.0%)	
<i>3 relatives</i>	0 (0%)	1 (0.4%)	
<i>5 relatives</i>	1 (0.4%)	0 (0%)	
Menopausal status (n. %)			0.49
Premenopausal women	84 (33.6%)	91 (36.5%)	
Postmenopausal women	166 (66.4%)	158 (63.5%)	
IPAQ score (MET-minutes/week)	219 (0.00, 985.5)	876 (140.25, 1533.0)	<0.001
MedDietScore (0-55) (mean± standard deviation)	27.8 ± 5	29.9 ± 4	<0.001

The MedDietScore is a measurement of adherence to the Mediterranean diet, with theoretical range 0-55; greater values reporting greater adherence to this pattern.

The reported *p*-values were calculated using the t-test, the chi-square test or the Mann-Whitney U test.

3.2 Meat consumption and breast cancer

Three nested multiple logistic regression models were estimated in order to evaluate the association between the frequency of meat consumption (red, white, processed and grilled meat) and the likelihood of having breast cancer (**Table 3**). The use of these models assisted in better exploring the potential effect of various confounders in the investigated relationship. The first model included only age and frequency of red, white, processed and grilled meat intake. It was observed that red meat intake of 8-10 times/week was positively associated with the likelihood of having breast cancer (Odds Ratio=2.69, 95%CI 0.98, 7.33, $p=0.05$). Moreover, processed meat intake even for 1-2 times/week, was associated with a 2.2-fold (OR=2.24, 95%CI 1.26, 3.98) ($p=0.006$) higher likelihood of having breast cancer, while daily intake increased the likelihood by a 2.5-fold (OR=2.48, 95%CI 1.12, 5.49) ($p=0.025$). No significant association was observed between white and grilled meat intake and the likelihood of having breast cancer ($p>0.05$). In the second model, years of education (measured in years of school) as a proxy of social status, body mass index (in kg/m²), smoking ever (yes/no), physical activity (in MET-minutes/week), family history of breast cancer in order to encompass the genetic predisposition (yes/no), menopausal status (pre- and postmenopausal) and use of hormone replacement therapy (yes/no) were also accounted for, because they have been strongly associated with breast cancer incidence. Only daily red meat intake was associated with a 2.1-fold (OR=2.08, 95%CI 1.05, 4.13) ($p=0.037$) higher likelihood of having breast cancer; similarly, daily white meat intake was marginally associated with a 2.2-fold (OR=2.18, 95%CI 0.98, 4.88) ($p=0.054$) higher likelihood of

having breast cancer. Moreover, even a limited frequency of processed meat consumption of 1-2 times/week was associated with a 2.9-fold (OR=2.85, 95%CI 1.47, 5.51) ($p=0.002$) higher likelihood of having breast cancer, while daily intake increased the likelihood by a 3.4-fold (OR=3.40, 95%CI 1.39, 8.27) ($p=0.007$). However, grilled meat intake was not associated with the disease (data not shown). In the third model, the MedDietScore (that evaluates adherence to a healthy dietary pattern, the Mediterranean) was included. It was revealed that processed meat intake even for 1-2 times/week was associated with a 2.7-fold (OR=2.65, 95%CI 1.36, 5.14) ($p=0.004$) higher likelihood of having breast cancer, while daily intake increased the likelihood by a 2.8-fold (OR=2.81, 95%CI 1.13, 6.96) ($p=0.026$). However, concerning red and white meat intake, the above factor seemed to mask the detrimental association with breast cancer observed in previous analyses (OR=1.52, 95%CI 0.74, 3.16 and OR=1.59, 95%CI 0.68, 3.70 respectively). The later observation could be explained by the fact that foods and nutrients are never eaten in isolation and their effects are likely to interact within a diet. Finally, no significant association was observed between grilled meat intake and the likelihood of having breast cancer ($p>0.05$).

3.3 The association of meat consumption and likelihood of breast cancer, by obesity, physical activity status, menopausal status and place of residence

To further evaluate the potential heterogeneity across obesity, physical activity status, menopausal status and place of residence, i.e., to test for their moderating effect, a subgroup analysis was performed.

It was found that the results were similar to the ones presented in the entire sample; particularly, among overweight women (i.e. $25 \text{ kg/m}^2 < \text{BMI} < 29.9 \text{ kg/m}^2$) processed meat intake even for 1-2 times/week as well as 3-4 times/week was associated with a 3.2-fold (OR=3.15, 95%CI 1.12, 8.88) ($p=0.03$) and a 4.3-fold (OR=4.33, 95%CI 1.11, 16.96) ($p=0.035$) higher likelihood of having breast cancer respectively, while daily intake increased the likelihood by a 6.3-fold (OR=6.30, 95%CI 1.43, 27.85) ($p=0.015$), after adjusting for age, educational level, smoking ever, IPAQ score, family history of breast cancer, menopausal status and use of hormone replacement therapy; among obese women (i.e., $\text{BMI} > 30 \text{ kg/m}^2$) processed meat intake even for 2-3 times/month was associated with a 4.4-fold (OR=4.39, 95%CI 1.01, 19.13) ($p=0.049$) higher likelihood of having breast cancer while intake of 1-2 times/week increased the likelihood by 5.8-fold (OR=5.79, 95%CI 1.30, 25.89) ($p=0.022$), after the same adjustments were made.

Moreover, stratified analysis by IPAQ status revealed that among physically inactive women (i.e., <600 MET-minutes/week) processed meat intake even for 1-2 times/week was associated with a 3.3-fold (OR=3.31, 95%CI 1.20-8.53) ($p=0.013$) higher likelihood of having breast while daily intake increased the risk by a 4.7-fold (OR=4.74, 95%CI 1.18, 19.01) ($p=0.028$); similarly, among minimally active participants (i.e., 600-3000 MET-minutes/week) processed meat intake of 3-4 times/week was associated with a 4.0-fold (OR=3.96, 95%CI 1.07, 14.68) ($p=0.04$) higher likelihood of having breast cancer after the same adjustments were made.

Stratified analysis by menopausal status revealed similar relationships as regards red, white and processed meat intake for postmenopausal women whereas among premenopausal women there was no significant association. More specifically, only daily red meat intake was associated with a 3.3-fold (OR=3.33, 95%CI 1.32, 8.37) ($p=0.011$) higher likelihood of having breast cancer while daily white meat intake was associated with a 4.5-fold (OR=4.50, 95%CI 1.41, 14.35) ($p=0.011$) higher likelihood of having breast cancer, after the same adjustments. Furthermore, processed meat intake even for 1-2 times/week was associated with a 3.9-fold (OR=3.89, 95%CI 1.73, 8.78) ($p=0.001$) higher likelihood of having breast cancer, while daily intake increased the risk by a 5.6-fold (OR=5.64, 95%CI 1.67, 19.05) ($p=0.005$), after the same adjustments.

Stratified analysis by place of residence revealed that among Athens Metropolitan area inhabitants, processed meat intake even for 3-4 times/week was associated with a 2.7-fold (95%CI 1.04, 6.99) ($p=0.04$) higher likelihood of having breast cancer, while daily intake increased the risk by a 3.2-fold (95%CI 1.18, 8.73) ($p=0.02$); similarly, among those participants who lived in places other than the Metropolitan area of Athens, processed meat intake on a daily basis was associated with a 17.1-fold (95%CI 1.39, 211.05) ($p=0.03$) higher likelihood of having breast cancer. In brief, the detrimental association of meat consumption (especially processed meat) against breast cancer development seemed more prominent among overweight and obese women, physically inactive and minimally active, postmenopausal women, and in women living in Athens Metropolitan area as well as those living in places other than the Athens Metropolis.

Table 2. Distribution of frequencies of meat (red, white, processed and grilled) consumption between breast cancer cases and controls.

	Breast cancer cases	Controls	<i>p</i>
N	250	250	
Red Meat Consumption (n. %)			0.16
≤ 1 time/week	84 (33.7%)	95 (38.2%)	
2-3 times/week	92 (36.9%)	101 (40.6%)	
4-5 times/week	26 (10.4%)	25 (10 %)	
6-7 times/week	33 (13.3%)	22 (8.8%)	
8-10 times/week	14 (5.6%)	6 (2.4%)	
White Meat Consumption (n. %)			0.41
≤ 3 times/week	164 (65.9%)	175 (70.3%)	
4-5 times/week	31 (12.4%)	34 (13.7%)	
5-6 times/week	26 (10.4%)	17 (6.8%)	
7-8 times/week	22 (8.8%)	15 (6%)	
9-10 times/week	6 (2.4%)	8 (3.2%)	
Processed Meat Consumption (n. %)			0.10
<i>never</i>	46 (18.5%)	70 (28.1%)	
< 1 time/month	77 (31%)	71 (28.5%)	
2-3 times/month	25 (10.1%)	28 (11.2%)	
1-2 times/week	57 (23%)	42 (16.9%)	
3-4 times/week	22 (8.9%)	24 (9.6%)	
<i>daily</i>	21 (8.5%)	14 (5.6%)	
Grilled Meat Consumption (n. %)			0.007
<i>never</i>	74 (29.7%)	54 (21.6%)	
< 1 time/month	59 (23.7%)	87 (34.8%)	
2-3 times/month	51 (20.5%)	57 (22.8%)	
1-2 times/week	49 (19.7%)	43 (17.2%)	
3-4 times/week	14 (5.6%)	4 (1.6%)	
<i>daily</i>	2 (0.8%)	5 (2%)	

The reported *p*-values were calculated using the chi-square test.

Table 3. Results from multiple logistic regression models that were applied to evaluate the association of meat consumption (red, white and processed) with the likelihood of having breast cancer in cases (n=250) and controls (n=250). Results are presented as odds ratios and 95%CI.

	<i>Model 1^a</i>	<i>Model 2^b</i>	<i>Model 3^c</i>
Red Meat Consumption			
<i>≤ 1 time/week</i>	1.00	1.00	1.00
<i>2-3 times/week</i>	1.04 (0.69, 1.56)	0.94 (0.60, 1.49)	0.89 (0.56, 1.41)
<i>4-5 times/week</i>	1.21 (0.64, 2.27)	1.23 (0.61, 2.49)	1.04 (0.51, 2.14)
<i>6-7 times/week</i>	1.72 (0.93, 3.20)	2.08 (1.05, 4.13)*	1.52 (0.74, 3.16)
<i>8-10 times/week</i>	2.69 (0.98, 7.33)*	1.42 (0.48, 4.21)	0.99 (0.31, 3.12)
White Meat Consumption			
<i>≤ 3 times/week</i>	1.00	1.00	1.00
<i>4-5 times/week</i>	0.98 (0.58, 1.68)	1.03 (0.57, 1.86)	0.93 (0.51, 1.71)
<i>5-6 times/week</i>	1.67 (0.86, 3.23)	1.66 (0.79, 3.49)	1.28 (0.59, 2.76)
<i>7-8 times/week</i>	1.59 (0.79, 3.18)	2.18 (0.98, 4.88)*	1.59 (0.68, 3.70)
<i>9-10 times/week</i>	0.81 (0.28, 2.40)	0.76 (0.23, 2.49)	0.54 (0.16, 1.89)
Processed Meat Consumption			
<i>never</i>	1.00	1.00	1.00
<i>< 1 time/month</i>	1.71 (1.04, 2.82)	2.16 (1.21, 3.86)	2.18 (1.22, 3.90)
<i>2-3 times/month</i>	1.46 (0.74, 2.86)	1.60 (0.74, 3.48)	1.52 (0.70, 3.33)
<i>1-2 times/week</i>	2.24 (1.26, 3.98)*	2.85 (1.47, 5.51)*	2.65 (1.36, 5.14)*
<i>3-4 times/week</i>	1.55 (0.75, 3.20)	2.44 (1.05, 5.68)*	2.33 (1.00, 5.45)*
<i>6+ times/week (daily)</i>	2.48 (1.12, 5.49)*	3.40 (1.39, 8.27)*	2.81 (1.13, 6.96)*

^a Age-adjusted model^b Adjusted for age, years of education, body mass index, smoking ever, physical activity, family history of breast cancer, menopausal status and use of hormone replacement therapy.^c Adjusted for age, years of education, body mass index, smoking ever, physical activity, family history of breast cancer, menopausal status, use of hormone replacement therapy and MedDietScore.**p*-value < 0.05

All odds ratios and their corresponding 95% confidence intervals were calculated by performing multiple logistic regressions.

4. Discussion

Based on the presented findings, only daily processed meat intake was consistently associated with increased risk of breast cancer, especially among overweight, obese and postmenopausal women, and those who were inactive or minimally active; whereas, consumption of red, white or grilled meat intake did not affect the outcome. These findings add to the current scientific literature and may support towards a general recommendation for reduction in processed meat consumption, as a mean for breast cancer prevention, too. Yet, further studies are needed to confirm or refute the presented results, so as to describe the exact mechanisms between meat intake and the

development of breast cancer, even defined by estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) status, while also taking into account factors such as meat processing and cooking methods.

The detrimental effect of meat consumption, especially processed, on breast cancer has been recently reported by some other observational studies. In an analysis of the UK Women's Cohort Study (UKWCS) including 35 372 women, positive associations between postmenopausal breast cancer and total, processed and red meat consumption were found. Specifically for processed meat intake, it was positively associated with postmenopausal breast cancer when treated as a categorical variable, however, fitting processed meat in the model as a continuous predictor, resulted in a much stronger relationship, giving a relative risk per 50 g/day of 1.64 (95%CI 1.09, 2.27, $P_{\text{trend}}=0.003$) (Taylor et al., 2007). Moreover, in the Nurses' Health Study II, except from red meat, the individual red meat items (i.e., beef or lamb as a main dish, pork as a main dish, beef, pork or lamb as a sandwich or mixed dish, hamburger, bacon, hot dogs and other processed meats like sausage, salami or bologna) were also examined in relation to overall breast cancer risk and by receptor status. It was revealed that almost all of the individual red meat items (i.e., beef or lamb as a main dish, pork as a main dish, hamburger, hot dogs and other processed meats like sausage, salami or bologna) had statistically significant positive trends of increasing ER+/PR+ breast cancer risk (Cho et al., 2006). Furthermore, in a nested case-control study conducted among Danish postmenopausal women included in the "Diet Cancer and Health" cohort study, a high intake of processed meat was associated with significantly higher breast cancer incidence rates (Incidence Rate Ratio=1.23, 95%CI: 1.04-1.45, per 25 gr increment in intake) (Egeberg et al., 2008). The Nashville Breast Health Study (Fu et al., 2011) also revealed that red meat intake from all cooking methods was positively associated with breast cancer risk ($P_{\text{trend}} < 0.001$). Similarly, a study conducted in Uruguay found a significant increase in the odds of breast cancer (OR= 1.97, 95%CI: 1.04-3.75) with high intake of red meat, while similar findings were found for total meat. Furthermore, high intake of processed meat was also associated with increased risk of the disease (OR=1.53, 95% CI: 1.01-2.30) (Aune et al., 2009b). However, Alexander et al., (Alexander et al., 2010) who conducted a meta-analysis of red and processed meat consumption and breast cancer on over 25000 cases, observed that red and processed meat intake did not appear to be independently associated with increasing the risk of breast cancer. Similarly, in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study, no consistent association was found between breast cancer risk and the consumption of meat (i.e., red meat, poultry as well as processed meat) (Pala et al., 2009). Finally, in the NIH-AARP Diet and Health Study cohort, intake of red as well as processed meat showed no association in breast (premenopausal and postmenopausal) cancer risk (Cross et al., 2007).

Several potential mechanisms could explain the association between meat intake (and especially processed) and increased breast cancer risk. The first hypothesis includes the promotion of carcinogenesis by high fat intake, since meat and in particular processed meat can be a rich source of saturated fat. Fat intake in general has been hypothesized to raise estrogen and androgen levels in plasma, through the promotion of intestinal reabsorption of estrogens by enhancement of deconjugating enzyme activity (Ferguson, 2010, Forman, 2007). Moreover, it seems to increase the risk of overweight and obesity, a risk factor for several different cancer sites, including breast cancer (WCRF/AICR, 2007a). Secondly, red meat (from which processed meat is made) contains heme iron, a major source of stored body iron. In humans, elevated body iron storage has been shown to increase the risk of several cancers including breast cancer (Ferguson, 2010, Kallianpur et al., 2008, Liehr and Jones, 2001). Finally, heterocyclic amines (HA) and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) are produced during high-temperature cooking of meat like grilling, frying and barbecuing for extended times. Moreover, N-nitroso compounds (NOCs), which are alkylating agents that can react with DNA, are produced by the reaction of nitrite and nitrogen oxides by secondary amines and N-alkylamides. Concerning humans, NOCs are present in certain processed meats, including bacon, and can be formed endogenously after consumption of red and processed meat. Many NOCs, including nitrosamines and nitrosamides, are carcinogenic in laboratory animals, since they seem to increase mammary tumors, and have been hypothesized to increase also breast cancer risk (Felton et al., 2002, Ferguson, 2010, Snyderwine, 2002, Snyderwine et al., 2002).

The detrimental effect of meat consumption, especially processed, in the present work also seemed to vary according to the individuals' characteristics, like: obesity, physical activity status, menopausal status and residence. Obesity is a predisposing factor for breast cancer especially in postmenopausal women, as circulating estrogens are primarily produced in fat tissue. Thus, having more fat tissue increases estrogen levels and the likelihood of having breast cancer (WCRF/AICR, 2007a). When the analysis was stratified by obesity status, the detrimental effect particularly for processed meat intake remained only among overweight and obese women, probably because the increased risk of breast cancer associated with obesity may reinforce the positive association processed meat consumption with breast cancer development. Moreover, when the present analysis was stratified by menopausal status, the detrimental effect of processed meat intake was observed only for postmenopausal women. Differences in outcome trends for pre- and postmenopausal women may be owing to the fact that oestrogen metabolism pathways differ according to menopausal status. If meat intake influences breast cancer by affecting oestrogen metabolism, as it was mentioned above, the effect may be relatively more important among women with lower levels of circulating oestrogens. Another issue that should be taken into account is that higher meat consumption was associated with lower adherence to the Mediterranean diet; a fact, that is already known due to the inherent characteristics of this traditional dietary pattern, and should be acknowledged when attributing higher breast cancer risk in high meat consumers. In order to adjust for the later, level of adherence to the Mediterranean diet was taken into consideration in the multi-adjusted analyses.

Limitations

The major limitation of this study was the recall bias, as in all cases-controls studies. However, an effort was given to minimize this limitation by choosing newly diagnosed consecutive patients and collecting all necessary subjects in a small period of time. Regarding the selection of the controls, the “healthy” volunteer effect may exist. Moreover, selection bias may also exist, but, as mentioned in the Methods’ section, an effort was given to reduce it by performing, when possible, random selection of the controls, enrolling controls based on their willingness to participate and not on any of the exposure factors’ distribution that would substantially alter the results (only age-matching was performed), using the same catchment area as the patients, and avoiding any “specific” sampling rule in the allocation of the participants. All these procedures were applied to ensure that the control group reflected the distribution of the exposure characteristics of the referent population of the cases. Furthermore, an effort was given to account for the most common confounders concerning the association studied; nevertheless, residual confounding may always be a limitation in this work. Moreover, people who collected the data were commonly and well trained before the beginning of the study, limiting the intra-investigators bias. Additionally, the choice of the investigators as well as the face-to-face interviews with the participants helped so as to limit, when possible, the difficulties that usually occur from the use of Food Frequency Questionnaires; measurement errors concerning the fact that many details of dietary intake are not measured and the quantification of intake is not as accurate as with other dietary assessment methods, the difficulty of the respondents to evaluate the serving size of foods consumed as well as their “limited” sometimes ability to recall their dietary intake during the last year. The effect size measures used in case-control studies (i.e., the odds ratios) tend to overestimate the actual effect of the cause on effect usually observed in prospective studies; and thus, the findings should be interpreted with caution.

Conclusions

The present study provides evidence for a positive association of breast cancer with processed meat intake. The aforementioned result deserves special attention nowadays, especially in Westernized populations, where meat, and particularly processed meat, is present on a daily basis in people’s diet.

Acknowledgements

The authors would like to thank all the participants of the study, without their contribution this project would never have been done; also, would like to thank the Directors of the clinics of the involved hospitals: Gerasimos Aravantinos, Epaminondas Samantas, Evangelos Filopoulos, and the field investigators of the study: Aikaterini Manousou, Vassiliki Markasioti, Aikaterini Kakou, Fotini-Maria Mpalli, Nikolaos Soupos, Zoe Tsakalou, Maria Mitsou, Artemisia Tsakla, Iro Karapapa, Maria Somaraki, Athanasios Tektonidis, Athanasia Laina and Aggeliki Siolavou.

Conflict of interest: None to declare

Funding: None

Authors' contribution

Niki Mourouti wrote the paper, took part in the acquisition, analysis and interpretation of data, and performed the statistical analysis. Meropi Kontogianni, Tonia Vassilakou and Theodora Psaltopoulou critically reviewed the paper. Christos Papavagelis helped in design of the study and data acquisition. Petrini Plytzanopoulou helped in data acquisition. Nikolaos Malamos and Athena Linos helped in the design of the study and critically reviewed the paper. Demosthenes B. Panagiotakos had the study concept and design, had the supervision of the study and statistical analysis and decided the submission of the article for publication.

All authors have approved this version to be published.

References

- Alexander, D. D., Morimoto, L. M., Mink, P. J. & Cushing, C. A. (2010) A review and meta-analysis of red and processed meat consumption and breast cancer. *Nutr Res Rev*, 23, 349-65.
- Aune, D., De Stefani, E., Ronco, A., Boffetta, P., Deneo-Pellegrini, H., Acosta, G. & Mendilaharsu, M. (2009a) Meat consumption and cancer risk: a case-control study in Uruguay. *Asian Pac J Cancer Prev*, 10, 429-36.
- Aune, D., Ursin, G. & Veierod, M. B. (2009b) Meat consumption and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Diabetologia*, 52, 2277-87.
- Biesalski, H. K. (2005) Meat as a component of a healthy diet - are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? *Meat Sci*, 70, 509-24.

- Calabro, S., Cutrignelli, M. I., Gonzalez, O. J., Chiofalo, B., Grossi, M., Tudisco, R., Panetta, C. & Infascelli, F. (2014) Meat quality of buffalo young bulls fed faba bean as protein source. *Meat Sci*, 96, 591-6.
- Chen, G. C., Lv, D. B., Pang, Z. & Liu, Q. F. (2013) Red and processed meat consumption and risk of stroke: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Clin Nutr*, 67, 91-5.
- Cho, E., Chen, W. Y., Hunter, D. J., Stampfer, M. J., Colditz, G. A., Hankinson, S. E. & Willett, W. C. (2006) Red meat intake and risk of breast cancer among premenopausal women. *Arch Intern Med*, 166, 2253-9.
- Craig, C. L., Marshall, A. L., Sjostrom, M., Bauman, A. E., Booth, M. L., Ainsworth, B. E., Pratt, M., Ekelund, U., Yngve, A., Sallis, J. F. & Oja, P. (2003) International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc*, 35, 1381-95.
- Cross, A. J., Leitzmann, M. F., Gail, M. H., Hollenbeck, A. R., Schatzkin, A. & Sinha, R. (2007) A prospective study of red and processed meat intake in relation to cancer risk. *PLoS Med*, 4, e325.
- Cutrignelli, M. I., Calabro, S., Bovera, F., Tudisco, R., D'urso, S., Marchiello, M., Piccolo, V., Infascelli, F., (2008) Effects of protein source and energy value of diet on the performance of young Marchigiana bulls: 2. meat quality. *Ital. J. Anim. Sci*, 7, 271-285.
- Egeberg, R., Olsen, A., Autrup, H., Christensen, J., Stripp, C., Tetens, I., Overvad, K. & Tjonneland, A. (2008) Meat consumption, N-acetyl transferase 1 and 2 polymorphism and risk of breast cancer in Danish postmenopausal women. *Eur J Cancer Prev*, 17, 39-47.
- Felton, J. S., Knize, M. G., Salmon, C. P., Malfatti, M. A. & Kulp, K. S. (2002) Human exposure to heterocyclic amine food mutagens/carcinogens: relevance to breast cancer. *Environ Mol Mutagen*, 39, 112-8.
- Ferguson, L. R. (2010) Meat and cancer. *Meat Sci*, 84, 308-13.
- Forman, M. R. (2007) Changes in dietary fat and fiber and serum hormone concentrations: nutritional strategies for breast cancer prevention over the life course. *J Nutr*, 137, 170S-174S.
- Fu, Z., Deming, S. L., Fair, A. M., Shrubsole, M. J., Wujsik, D. M., Shu, X. O., Kelley, M. & Zheng, W. (2011) Well-done meat intake and meat-derived mutagen exposures in relation to breast cancer risk: the Nashville Breast Health Study. *Breast Cancer Res Treat*, 129, 919-28.
- Giordano, G., Guarini, P., Ferrari, P., Biondi-Zoccai, G., Schiavone, B. & Giordano, A. (2010) Beneficial impact on cardiovascular risk profile of water buffalo meat consumption. *Eur J Clin Nutr*, 64, 1000-6.
- Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E. & Forman, D. (2011) Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 61, 69-90.
- Kallianpur, A. R., Lee, S. A., Gao, Y. T., Lu, W., Zheng, Y., Ruan, Z. X., Dai, Q., Gu, K., Shu, X. O. & Zheng, W. (2008) Dietary animal-derived iron and fat intake and breast cancer risk in the Shanghai Breast Cancer Study. *Breast Cancer Res Treat*, 107, 123-32.
- Kontogianni, M. D., Panagiotakos, D. B., Pitsavos, C., Chrysoshoou, C. & Stefanadis, C. (2008) Relationship between meat intake and the development of acute coronary syndromes: the CARDIO2000 case-control study. *Eur J Clin Nutr*, 62, 171-7.
- Larsson, S. C. & Orsini, N. (2014) Red meat and processed meat consumption and all-cause mortality: a meta-analysis. *Am J Epidemiol*, 179, 282-9.
- Larsson, S. C. & Wolk, A. (2012) Red and processed meat consumption and risk of pancreatic cancer: meta-analysis of prospective studies. *Br J Cancer*, 106, 603-7.
- Liehr, J. G. & Jones, J. S. (2001) Role of iron in estrogen-induced cancer. *Curr Med Chem*, 8, 839-49.
- McNeill, S. H. (2014) Inclusion of red meat in healthful dietary patterns. *Meat Sci*, 98, 452-60.
- Mourouti, N., Papavagelis, C., Psaltopoulou, T., Aravantinos, G., Samantas, E., Filopoulos, E., Manousou, A., Plytzanopoulou, P., Vassilakou, T., Malamos, N. & Panagiotakos, D. B. (2013) Aims, design and methods of a case-control study for the assessment of the role of dietary habits, eating behaviors and environmental factors, on the development of breast cancer. *Maturitas*, 74, 31-6.
- Pala, V., Krogh, V., Berrino, F., Sieri, S., Grioni, S., Tjonneland, A., Olsen, A., Jakobsen, M. U., Overvad, K., Clavel-Chapelon, F., Boutron-Ruault, M. C., Romieu, I., Linseisen, J., Rohrmann, S., Boeing, H., Steffen, A., Trichopoulou, A., Benetou, V., Naska, A., Vineis, P., Tumino, R., Panico, S., Masala, G.,

- Agnoli, C., Engeset, D., Skeie, G., Lund, E., Ardanaz, E., Navarro, C., Sanchez, M. J., Amiano, P., Svatetz, C. A., Rodriguez, L., Wirfalt, E., Manjer, J., Lenner, P., Hallmans, G., Peeters, P. H., Van Gils, C. H., Bueno-de-Mesquita, H. B., Van Duijnhoven, F. J., Key, T. J., Spencer, E., Bingham, S., Khaw, K. T., Ferrari, P., Byrnes, G., Rinaldi, S., Norat, T., Michaud, D. S. & Riboli, E. (2009) Meat, eggs, dairy products, and risk of breast cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort. *Am J Clin Nutr*, 90, 602-12.
- Panagiotakos, D., Kalogeropoulou, N., Pitsavos, C., Roussinou, G., Palliou, K., Chrysoshoou, C. & Stefanadis, C. (2009) Validation of the MedDietScore via the determination of plasma fatty acids. *Int J Food Sci Nutr*, 60 Suppl 5, 168-80.
- Panagiotakos, D. B., Pitsavos, C., Arvaniti, F. & Stefanadis, C. (2007) Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. *Prev Med*, 44, 335-40.
- Panagiotakos, D. B., Pitsavos, C. & Stefanadis, C. (2006) Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 16, 559-68.
- Papathanasiou, G., Georgoudis, G., Papandreou, M., Spyropoulos, P., Georgakopoulos, D., Kalfakakou, V. & Evangelou, A. (2009) Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol*, 50, 283-94.
- Rigault, C., Mazue, F., Bernard, A., Demarquoy, J. & Le Borgne, F. (2008) Changes in l-carnitine content of fish and meat during domestic cooking. *Meat Sci*, 78, 331-5.
- Snyderwine, E. G. (2002) Mammary gland carcinogenesis by food-derived heterocyclic amines: metabolism and additional factors influencing carcinogenesis by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Environ Mol Mutagen*, 39, 165-70.
- Snyderwine, E. G., Venugopal, M. & Yu, M. (2002) Mammary gland carcinogenesis by food-derived heterocyclic amines and studies on the mechanisms of carcinogenesis of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Mutat Res*, 506-507, 145-52.
- Taylor, E. F., Burley, V. J., Greenwood, D. C. & Cade, J. E. (2007) Meat consumption and risk of breast cancer in the UK Women's Cohort Study. *Br J Cancer*, 96, 1139-46.
- Valenzuela, C., De Romana, D. L., Olivares, M., Morales, M. S. & Pizarro, F. (2009) Total iron and heme iron content and their distribution in beef meat and viscera. *Biol Trace Elem Res*, 132, 103-11.
- Valenzuela, C., De Romana, D. L., Schmiede, C., Morales, M. S., Olivares, M. & Pizarro, F. (2011) Total iron, heme iron, zinc, and copper content in rabbit meat and viscera. *Biol Trace Elem Res*, 143, 1489-96.
- WCRF/AICR (2007) Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC: AICR,.
- Williamson, C. S., Foster, R.K., Stanner, S.A., Buttriss, J.L., (2005) Red meat in the diet. British Nutrition Foundation. *Nutrition Bulletin*, 30, 323-335.
- Wood, J. D. & Enser, M. (1997) Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *Br J Nutr*, 78 Suppl 1, S49-60.

4.2.4 Ο ρόλος των δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης στην παρουσία καρκίνου του μαστού

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή η κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης συσχετίστηκε ισχυρά με την παρουσία καρκίνου του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, οι ασθενείς ήταν πιο πιθανό να καταναλώνουν δημητριακά προϊόντα ολικής άλεσης σε μικρότερη συχνότητα από τις υγιείς γυναίκες ($p<0,001$).

Οι μονοπαραγοντικές αναλύσεις ανέδειξαν πως η κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης είχε προστατευτική δράση αναφορικά με την πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού. Ειδικότερα, η κατανάλωση της συγκεκριμένης ομάδας τροφίμων περισσότερες από 7 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με 65% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p<0,001$) ενώ η κατανάλωση 1-6 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με 44% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($p=0,01$). Μετά από έλεγχο για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες (δείκτης μάζας σώματος, κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού και επίπεδο εμμηνόπαυσης) η προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης παρέμεινε αναλλοίωτη. Πιο συγκεκριμένα, η κατανάλωση της ανωτέρω ομάδας τροφίμων περισσότερες από 7 φορές/εβδομάδα καθώς και 1-6 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με 64% και 42% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου αντίστοιχα ($p<0,001$ και $p=0,03$ αντίστοιχα). Όταν έλαβε χώρα επιπλέον έλεγχος με βάση και το MedDietScore, η κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης για περισσότερες από 7 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε εκ νέου με 51% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,007$). Η ευεργετική αυτή επίδραση της κατανάλωσης δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης παρέμεινε αναλλοίωτη ακόμη και όταν πραγματοποιήθηκε έλεγχος αρχικά για την πρόσληψη αλκοόλ και στη συνέχεια για την πρόσληψη φρούτων, λαχανικών και κρέατος (65% και 55% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου αντίστοιχα).

Παρόμοια αποτελέσματα με εκείνα που παρατηρήθηκαν σε ολόκληρο το δείγμα καταγράφηκαν και όταν οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με βάση τις κατηγορίες σωματικού βάρους, το κάπνισμα, το επίπεδο εμμηνόπαυσης αλλά και τη χρήση ορμονών μετεμμηνοπαυσιακά. Ειδικότερα, η κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης για περισσότερες από 7 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με 64% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού για τις γυναίκες φυσιολογικού βάρους (δηλ. $18.5 \text{ kg/m}^2 < \text{BMI} < 24.9 \text{ kg/m}^2$) ($p=0,033$), ενώ

αναφορικά με τις καπνίστριες η ανωτέρω κατανάλωση συσχετίστηκε με 88% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($p=0,001$) αφού λήφθηκαν υπόψη πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες. Παράλληλα, αναφορικά με τις γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά, η κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης για περισσότερες από 7 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε με 78% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,001$), ενώ και στις γυναίκες που δε χρησιμοποίησαν ορμόνες μετεμμηνοπαυσιακά, η ανωτέρω συχνότητα κατανάλωσης συσχετίστηκε αντίστροφα με την παρουσία της νόσου (46% μικρότερη πιθανότητα, $p=0,026$) αφού λήφθηκαν υπόψη πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες.

Whole grain consumption and breast cancer: a case-control study in women

Running Title: Whole grain consumption and breast cancer

Niki Mourouti¹, MSc; Meropi D. Kontogianni¹, PhD; Christos Papavagelis¹, MSc; Theodora Psaltopoulou², PhD; Melpo G. Kapetanstrataki¹, MSc; Petrini Plytzanopoulou³, MSc; Tonia Vassilakou³, PhD; Nikolaos Malamos⁴, PhD; Athena Linos², PhD; Demosthenes B. Panagiotakos¹, PhD

¹Department of Nutrition and Dietetics, School of Health Science and Education, Harokopio University, Athens, Greece

²Department of Hygiene, Epidemiology and Medical Statistics, School of Medicine, University of Athens, Athens, Greece

³Department of Nutrition and Biochemistry, National School of Public Health, Athens, Greece

⁴Pathology-Oncology Department, General Hospital "Elena Venizelos", Athens, Greece

Abstract

Objective: Whole grain consumption has long been associated with human health. However, its relationship with breast cancer remains not well understood and appreciated. The aim of this work was to evaluate the association between whole grain consumption and breast cancer, in women. **Methods:** A case – control study was designed. Two-hundred-and-fifty consecutive, newly diagnosed breast cancer female patients (56±12 years) and 250, one-to-one age-matched with the patients, controls, were enrolled. A standardized, validated questionnaire assessing various socio-demographic, clinical, lifestyle and dietary characteristics, was applied through face-to-face interviews. Moreover, data on regular consumption of whole grains (i.e., never/rarely, 1-6 times/week, >7 times/week) were recorded. Overall dietary habits were assessed through the level of adherence to the Mediterranean diet using the MedDietScore (theoretical range 0-55). **Results:** Whole grain consumption of more than 7 times/week was associated with a 0.49-fold (OR=0.49, 95%CI 0.29, 0.82) lower likelihood of having breast cancer, after adjustments made. **Conclusions:** This study suggested that whole grain consumption more than 7 times/week was consistently associated with reduced risk of breast cancer.

Keywords: breast cancer; whole grain consumption; dietary fiber consumption

Introduction

Cancer of the breast is the most common cancer in women and the leading cause of cancer death in females, worldwide, being fatal in under half of all cases and accounting for 23% (i.e., 1.38 million) of the total new cancer cases and 14% (458,400) of the total cancer deaths in 2008. About half the breast cancer cases and 60% of the deaths are estimated to occur in economically developing countries (Jemal et al., 2011).

With respect to diet and breast cancer risk, during the last decades, studies from all over the world have evaluated the relationship between specific foods and some of their compounds as well as dietary habits with the development of breast cancer (Michels et al., 2007, Thomson, 2012). Among them, alcohol drinking is widely recognized as one of the behaviours most consistently associated with breast cancer risk, (WCRF/AICR, 2007a) while the evidence for dietary fat consumption, although limited, is suggestive of an increase in breast cancer risk among postmenopausal women consuming higher fat diets as compared with those consuming lower fat diets (WCRF/AICR, 2007a). Furthermore, soyfood consumption seems to be inversely associated with the risk of breast cancer among the Asian women (Zhong and Zhang, 2012). In contrast, data concerning other exposures (both for pre and postmenopausal breast cancer) are either of too low quality, too inconsistent, or the number of studies too few to allow conclusions to be reached (WCRF/AICR, 2007a).

Whole grains are defined as intact, ground, cracked, or flaked fruit of grains in which all components of the kernel, i.e., the bran, germ and endosperm, are present in the same relative proportions as in the intact grain. The germ and bran contain numerous nutrients which are removed during the refining process. Examples of whole grains include whole wheat, dark bread, oats, brown rice, rye, barley, bulgur, buckwheat and quinoa. Health aspects of whole grains have long been known. In the 4th century BC Hippocrates recognized the health benefits of whole grain bread, while in the early 1800s to mid 1900s scientists recommended whole grains to prevent constipation. During the last 30 years, several prospective epidemiological studies have demonstrated that higher consumption of whole grains is associated with lower Body Mass Index (BMI) and body weight gain (Giacco et

al., 2011). Furthermore, greater whole grain consumption has been associated with a 21% lower risk of CVD events [(Mellen et al., 2008, Ye et al., 2012), as well as a 26% lower risk of Type 2 diabetes (T2D) (Ye et al., 2012). Finally, a high consumption of whole grains has been associated with a reduced risk of some types of cancer, specifically colorectal cancer (Aune et al., 2011, Schatzkin et al., 2007), cancers of the upper aerodigestive tract as well as other digestive tract cancers, gastric, pancreatic and hormone-related cancers (Chatenoud et al., 1998, Jacobs et al., 1998). However, the relationship between whole grain consumption and breast cancer remains not well understood and appreciated, since the up today data lack definitive evidence. In a very recent analysis of a cohort of Danish postmenopausal women (Danish Diet, Cancer and Health cohort study), consumption of whole grain products was not associated with risk of breast cancer (Egeberg et al., 2009). The lack of sufficient data regarding the effect of whole grain consumption on breast cancer risk may be due to several reasons; e.g., the different methods used to assess dietary intake, the quantity of whole grains consumed in each study as well as the presence of confounding factors that were not taken into account in previous works.

Thus, the aim of this work was to evaluate the association between whole grain consumption and breast cancer development, after various adjustments made

Materials and Methods

Study's design and sample

This is a case-control study, with face-to-face interviews. Between November 1st, 2010 and July 31st, 2012, 250 consecutive, newly (within six months) diagnosed breast cancer female patients (defined by physical examination and biopsy) that visited pathology-oncology clinics of five major General Hospitals in Athens, Greece (i.e., “Alexandra” General Hospital, “Elena Venizelos” Maternity-General Hospital, “Agioli Anargyroi” General Oncological Hospital of Kifissia, “Saint Savvas” Cancer Hospital and “I. Metaxa” Special Cancer Hospital) were contacted to participate in the study. Patients with diagnosis older than six months (in order to avoid changes in their dietary habits or other behaviours), were not included. In the same period, 250 female subjects (controls) without any clinical symptoms, signs or suspicion of any type of cancer in their medical history, were selected on a volunteer basis. Control subjects were age-matched (± 3 years) with the cancer patients, population – based and selected from the same catchment area (i.e., Athens metropolitan area, i.e., 76% or other areas) of the patients (i.e., controls were selected from the same city or town patients were living or working; there were no substantial differences between living and working areas of the participants). The participation rate of the patients was 82% and of the controls was 88%. To reduce selection bias a random selection of the controls was performed, when it was possible (i.e., in 60% of the controls), e.g., through the employees listings of the companies that were visited by the study's investigators in order to enroll controls or the apartments of the building. The rest 40% of the controls were selected on a feasibility basis, and were colleagues, friends, or relatives of the study's field investigators that fulfilled the aforementioned criteria.

The number of the enrolled subjects ($n=500$) was decided through power analysis, in order to evaluate (two sided) odds ratio equal to 1.10 (95% CI 1.05, 1.15), achieving statistical power greater than 0.80 at 0.05 probability level (p -value).

The design of the study and the full methods followed have been already described elsewhere (Mourouti et al., 2013).

Bioethics

The study has been approved by the Ethics Committee of “Alexandra” General Hospital (No. 4/10.3.2010), “I. Metaxa” Special Cancer Hospital (No. 40/8.12.2011) and “Saint Savvas” Cancer Hospital (No. 448/2.3.2012) and was carried out in accordance to the Declaration of Helsinki (1989) of the World Medical Association. Prior to the collection of any information, participants were informed about the aims and procedures of the study and provided their signed consent.

Dietary assessment

A validated, semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) was used during the interviews to collect dietary information from the participants (Mourouti et al., 2013). In brief, the FFQ included 86 questions regarding the frequency of consumption of all main food groups and beverages usually consumed. In this work the interest was focused on a specific food group, namely the consumption of whole grain foods (including whole grain bread, whole grain cereals, oatmeal, whole wheat pasta, brown or wild rice). Whole grain definition was based on that developed by the HEALTHGRAIN Consortium and presented in the 2010 Final HEALTHGRAIN Conference in Lund (<http://lund2010.healthgrain.org>), which is similar to the prior definition of the American Association of Cereal Chemists in 1999, but is more in line with current industrial production practices. Data on regular consumption of whole grains (i.e., never/rarely, 1-6 times/week, >7 times/week), were recorded for the last year prior to diagnosis. To account for overall dietary habits, adherence to the Mediterranean dietary pattern was

assessed using the MedDietScore, an 11-item composite dietary index, with large scale scoring that ensures better predictive accuracy (**Panagiotakos et al., 2006**). It contains the 11 main food components of the Mediterranean diet: nonrefined cereals, fruits, vegetables, potatoes, legumes, olive oil, fish, red meat, poultry, full fat dairy products and alcohol, and it's theoretical range is between 0 and 55. Higher values of this score indicate greater adherence to the Mediterranean diet. The validation properties of the MedDietScore have been presented elsewhere in the literature (**Panagiotakos et al., 2009a, Panagiotakos et al., 2007b, Panagiotakos et al., 2006**). The evaluation of overall dietary habits was considered essential for the present analysis, in order to account for the potential confounding effect of adherence to a healthy dietary pattern, in the evaluation of the main research hypothesis (i.e., the association between whole grain consumption and breast cancer).

Other measurements

Age of the participants was recorded, as well as their educational level and financial status. Weight and height were measured using standardized procedures, and body mass index was calculated as weight in *kg* divided by height in *m* squared. Physical activity was assessed using the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) index (**Craig et al., 2003**) that has been validated for the Greek population (**Papathanasiou et al., 2009b**). Subjects were asked to recall the number of days and hours or minutes they engaged in physical activity of different intensities for at least ten minutes, vigorous intensity and moderate intensity, walking and time spent sitting. According to their physical activity levels participants were classified as inactive, minimally active or health enhancing physical activity (HEPA) active. Smoking habits (i.e. current and former smoking, total years of smoking and number of cigarettes smoked per day) were also recorded. Family history of breast cancer, gynaecological medical history (i.e., existence or not of menstruation, age of menarche, age of menopause and use of hormone replacement therapy), as well as a detailed medical history regarding the common co-morbidities and their treatment (i.e., hypertension, hypercholesterolemia, diabetes), were recorded during the interview.

Statistical analysis

Continuous variables that were normally distributed were presented as mean $\pm$ SD. Normality was evaluated using the P-P plots. Categorical variables were presented as frequencies. Associations between categorical variables were tested by the calculation of chi-squared test. Student's t-test for independent samples was used to evaluate mean differences of the normally distributed variables (i.e., body mass index, MedDietScore) between cases and controls, where in case of skewed continuous variables (i.e., IPAQ score), the tested hypothesis was evaluated using the non-parametric U-test suggested by Mann and Whitney. Correlations between continuous variables were evaluated using the Spearman *rho* coefficients. Multiple logistic regression analysis was applied to evaluate the association between the frequency of whole grain consumption and the likelihood of having breast cancer. The analysis accounted for the potential confounding effect of the following characteristics: age, body mass index (in kg/m^2), smoking ever (yes/no), physical activity (in MET-minutes/week), family history of breast cancer in order to encompass the genetic predisposition and potential lifestyle changes (yes/no), menopausal status (pre- and postmenopausal) and MedDietScore (that evaluates adherence to a healthy dietary pattern, the Mediterranean). The results of the logistic regression were presented as odds ratios (OR) and their 95% corresponding confidence intervals (95%CI). Potential non-linear relationship between whole grain consumption and the likelihood of the disease was tested using consumption variables as "dummy" variables with the never/rarely category as the reference group. All reported p-values were based on two-sided tests. Statistical calculations were performed with SPSS 18 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

Characteristics of patients and controls

In **Table 1** the basic characteristics of patients and controls are presented. Cases and controls were of similar age (as this was the protocol of the study), while educational and financial status were lower in cases as compared with the controls ($p < 0.001$). Cases were more likely to be overweight and have at least one relative with breast cancer. There was no significant difference in smoking habits ($p = 0.207$), as well as in menopausal status ($p = 0.49$), while cases reported lower physical activity status (i.e., lower IPAQ score). The level of adherence to the Mediterranean diet was moderate in both cases (i.e., 28/55) and controls (i.e., 30/55).

As regards the main research hypothesis, a strong association between whole grain consumption and presence of breast cancer was observed. In particular, cases were more likely to consume less frequently whole grains as compared to controls ($p < 0.001$).

Table 1. Distribution of patients' and controls' characteristics.

	Breast cancer cases	Controls	<i>p</i>
N	250	250	
Age (years) (mean± standard deviation)	56 ± 12	56 ± 12	0.99
Years of education (years) (mean± standard deviation)	11 ± 4	12 ± 4	<0.001
Financial status (0-10) (mean± standard deviation)	5 ± 2	6 ± 2	<0.001
Body mass index (kg/m ²) (mean± standard deviation)	28 ± 6	26.7 ± 5	0.007
MedDietScore (0-55) (mean± standard deviation)	27.8 ± 5	29.9 ± 4	<0.001
Smoking (ever), (n. %)	103 (41.2%)	117 (46.8%)	0.207
Number of relatives with breast cancer, (n. %)			0.003
<i>No relative</i>	177 (71.1%)	211 (84.7%)	
<i>1 relative</i>	62 (24.9%)	32 (12.9%)	
<i>2 relatives</i>	9 (3.6%)	5 (2.0%)	
<i>3 relatives</i>	0 (0%)	1 (0.4%)	
<i>5 relatives</i>	1 (0.4%)	0 (0%)	
Menopausal status (n. %)			0.49
Premenopausal women	84 (33.6%)	91 (36.5%)	
Postmenopausal women	166 (66.4%)	158 (63.5%)	
IPAQ score (MET-minutes/week)	219 (0.00, 985.5)	876 (140.25, 1533.0)	<0.001
Whole grain consumption (n. %)			<0.001
<i>Never/Rarely</i>	114 (45.6%)	68 (27.3%)	
<i>1-6 times/week</i>	75 (30%)	79 (31.7%)	
<i>>7 times/week</i>	61(24.4%)	102 (41%)	

The MedDietScore is a measurement of adherence to the Mediterranean diet, with theoretical range 0-55; greater values reporting greater adherence to this pattern. The reported *p*-values were calculated using the t-test, the chi-square test or the Mann-Whitney U test.

Whole grain consumption and breast cancer

Three nested multiple logistic regression models were estimated in order to evaluate the association between the frequency of whole grain consumption and the likelihood of having breast cancer (**Table 2**). The use of these models assisted in better exploring the potential effect of various confounders in the investigated relationship. The first model included only age and frequency of whole grain consumption. It was observed that whole grain consumption of more than 7 times/week was associated with a 0.4-fold lower likelihood of having breast cancer (Odds Ratio=0.35, 95%CI 0.23, 0.55, *p*<0.001) while whole grain consumption of even 1-6 times/week was associated with a 0.6-fold (OR=0.56, 95%CI 0.36, 0.87) (*p*=0.01) lower likelihood of having breast cancer. In the second model, body mass index (in kg/m²), smoking ever (yes/no), physical activity (in MET-minutes/week), family history of breast cancer in order to encompass the genetic predisposition (yes/no) and menopausal status (pre- and postmenopausal) were also accounted for, because they have been strongly associated with breast cancer incidence. Whole grain consumption of more than 7 times/week was associated with a 0.4-fold (OR=0.36, 95%CI 0.23, 0.57) (*p*<0.001) lower likelihood of having breast cancer, while whole grain consumption of even 1-6 times/week was associated with a 0.6-fold (OR=0.58, 95%CI 0.36, 0.94) (*p*=0.03) lower likelihood. In the third

model, the MedDietScore (that evaluates adherence to a healthy dietary pattern, the Mediterranean), was entered in order to account for residual confounding. It was revealed that whole grain consumption of more than 7 times/week was still associated with a 0.49-fold (OR=0.49, 95%CI 0.29, 0.82) ($p=0.007$) lower likelihood of having breast cancer. However, concerning whole grain consumption of 1-6 times/week, overall dietary habits seemed to mask the beneficial association of whole grains with the disease (OR=0.68, 95%CI 0.41, 1.09) ($p=0.11$). Further analyses revealed that after adjusting for alcohol intake, whole grain consumption of more than 7 times/week was still associated with reduced risk of breast cancer (OR=0.35, 95%CI 0.22, 0.57), ($p<0.001$); similarly, the aforementioned inverse association existed even after adjusting for fruits, vegetables and meat consumption (OR=0.45, 95%CI 0.27, 0.75), ($p=0.002$).

Table 2. Results from multiple logistic regression models that were applied to evaluate the association of whole grain consumption with the likelihood of having breast cancer in cases (n=250) and controls (n=250). Results are presented as odds ratios and 95%CI.

	Model 1	Model 2	Model 3
Age (per 1 year)	0.99 (0.98, 1.01)	0.98 (0.96, 1.01)	0.98 (0.96, 1.01)
Whole grain consumption			
<i>Never/Rarely</i>	1.00	1.00	1.00
<i>1-6 times/week</i>	0.56 (0.36, 0.87)	0.58 (0.36, 0.94)	0.68 (0.41, 1.09)
<i>> 7 times/week</i>	0.35 (0.23, 0.55)	0.36 (0.23, 0.57)	0.49 (0.29, 0.82)
Body mass index (per 1 kg/m ²)	-	1.03 (0.99, 1.08)	1.03 (0.99, 1.07)
IPAQ (per 1000 MET-minutes/week)	-	0.80 (0.70, 0.93)	0.82 (0.71, 0.95)
Smoking ever (yes vs. no)	-	0.83 (0.56, 1.24)	0.82 (0.55, 1.22)
Menopausal status (pre- vs. postmenopausal)	-	1.22 (0.68, 2.20)	1.19 (0.66, 2.15)
Family history of breast cancer (yes vs. no)	-	1.71 (1.18, 2.49)	1.74 (1.20, 2.51)
MedDietScore (per 1/55 units)	-	-	0.94 (0.90, 0.99)

All odds ratios and their corresponding 95% confidence intervals were calculated by performing multiple logistic regressions.

The association of whole grain consumption and likelihood of breast cancer, by obesity, current smoking, menopausal status and use of hormone replacement therapy

To further evaluate the potential heterogeneity across obesity, current smoking, menopausal status and use of hormone replacement therapy, i.e., to test for their moderating effect, a subgroup analysis was performed. It was found that the results were similar to the ones presented in the entire sample; particularly, among normal weight women (i.e. 18.5 kg/m² < BMI < 24.9 kg/m²) whole grain consumption of more than 7 times/week was associated with a 0.36-fold (OR=0.36, 95%CI 0.14, 0.92) ($p=0.033$) lower likelihood of having breast cancer, whereas among overweight and obese women there was no significant association, after adjusting for age, BMI, IPAQ score, smoking ever, menopausal status, family history of breast cancer and MedDietScore.

Moreover, stratified analysis by current smoking revealed that among smokers, whole grain consumption of more than 7 times/week was associated with a 0.12-fold (OR=0.12, 95%CI 0.03, 0.41) ($p=0.001$) lower likelihood of having breast cancer, while whole grain consumption of even 1-6 times/week was associated with a 0.33-fold (OR=0.33, 95%CI 0.11, 0.98) ($p=0.046$) lower likelihood of having breast cancer after the same adjustments were made. Stratified analysis by menopausal status revealed similar relationships as regards whole grain consumption for premenopausal women whereas among postmenopausal women there was no significant association. More specifically, whole grain consumption of more than 7 times/week was associated with a 0.22-fold (OR=0.22, 95%CI 0.09, 0.54) ($p=0.001$) lower likelihood of having breast cancer, after the same adjustments. Finally, analysis by use of hormone replacement therapy (HRT) revealed that among those women who did not use hormone replacement therapy, whole grain consumption of more than 7 times/week was associated with a 0.54-fold (OR=0.54, 95%CI 0.31, 0.93) ($p=0.026$) lower likelihood of having breast cancer, after the same adjustments.

Discussion

Based on the presented findings, whole grain consumption of more than 7 times/week was consistently associated with reduced risk of breast cancer, especially among normal weight and premenopausal women, those who were

current smokers and did not use hormone replacement therapy. These findings contribute to the body of evidence regarding the role of whole grains in the prevention of breast cancer. Nevertheless, further attention is needed, since relatively few epidemiological studies on whole grains and breast cancer have been published; yet further studies (both epidemiological and randomized clinical trials) are needed to confirm or refute the presented results (i.e., whole grain consumption of more than 7 times/week is inversely associated with lower likelihood of having breast cancer), considering also the importance of both estrogen receptor (ER) and progesterone receptor (PR) status of the tumor and breast cancer histology.

Few case-control studies have evaluated the association between eating of whole grains and risk of breast cancer. Chatenoud *et al.*, (**Chatenoud et al., 1998**) in a large case-control study of 3,412 cases and 4,770 controls, found an odds ratio (OR) of 0.9 for Italian pre- and postmenopausal women eating whole grain foods more than 3 days/week compared with those with no or rare consumption. Similarly, in a smaller case-control study (310 cases and 353 controls) conducted between German women, consumption of whole grain products was inversely associated with breast cancer risk (**Adzersen et al., 2003**). However, Nicodemus *et al.*, (**Nicodemus et al., 2001**) who assessed the relation between whole grain consumption and risk of incident postmenopausal breast cancer in the Iowa Women's Health Study, did not report any protective role of whole grains towards development of breast cancer. Furthermore, in the most recent study conducted between 25,278 postmenopausal women participating in the Danish Diet, Cancer and Health cohort study, a higher consumption of whole grain products was not associated with a lower risk of breast cancer or specific breast cancer subtypes defined by hormone receptor status or histology (**Egeberg et al., 2009**).

Several potential mechanisms for the protectiveness of whole grains against breast cancer have been discussed in the literature; firstly, whole grains are concentrated sources of dietary fiber which have the opportunity to increase the quantity of faecal bulk and decrease their transit time. As a result, decreased transit time allow less opportunity for faecal mutagens to interact with the intestinal epithelium. Moreover, dietary fibers seem to bind or dilute bile acids which are thought to promote cell proliferation, thus allowing an increased opportunity for mutations to occur (**Slavin, 2004**). At this point it should also be noted that dietary fiber intake seems to be inversely related to breast cancer risk. In a recent meta-analysis of sixteen prospective studies, Aune *et al.*, concluded that there was an inverse association between dietary fiber intake and breast cancer risk. Specifically, the summary RR for the highest versus the lowest intake was 0.93 (95%CI 0.89-0.98, $I^2=0\%$) for dietary fiber, while the summary RR per 10g/day of dietary fiber was 0.95 (95%CI 0.91-0.98, $I^2=0\%$, $P_{heterogeneity}=0.82$). (**Aune et al., 2012a**) Secondly, whole grains are rich in antioxidants, including trace minerals and phenolic compounds, which have been proposed to be important in cancer prevention. Furthermore, vitamin E found in them, is believed to be a cancer inhibitor, while several antinutrients they contain (e.g., protease inhibitors, phytic acid, phenolics and saponins) may also act as cancer inhibitors by preventing the formation of carcinogens and by blocking the interaction of carcinogens with cells (**Slavin, 2004, Slavin, 2000**). Additionally, whole grains are significant sources of phytoestrogens which seem to be strong candidates for a role as natural cancer-protective compounds, via their antioxidant capacity, their ability to inhibit cell proliferation and angiogenesis and to induce cell apoptosis (**Slavin, 2000**). Finally, taking into account that in several epidemiological studies higher serum insulin levels have been associated with breast cancer, and due to the fact that whole grains have the opportunity to reduce insulin levels, an indirect way by which the reduction in cancer risk occurs cannot be ruled out (**Slavin, 2004**).

The protective effect of whole grain consumption in the present work also seemed to vary according to the individuals' characteristics, like: obesity, smoking, menopausal status and use of hormone replacement therapy. Obesity is a predisposing factor for breast cancer especially in postmenopausal women, as circulating estrogens are primarily produced in fat tissue. Thus, having more fat tissue increases estrogen levels and the likelihood of having breast cancer (**WCRF/AICR, 2007a**). When the analysis was stratified by obesity status, the protective effect of whole grains intake remained only among normal weight women, probably because the increased risk of breast cancer associated with obesity may mask the inverse association of whole grain consumption with breast cancer development. Moreover, when the present analysis was stratified by use of hormone replacement therapy (HRT), the protective effect of whole grain consumption was observed only for women who did not use hormone replacement therapy. Differences in outcome may be owing to the fact that use of HRT increases the risk of developing breast cancer (**WCRF/AICR, 2007a**). As a result, the above factor may have masked the effect of whole grain consumption in women using hormone replacement therapy.

Limitations

The major limitation of this study was the recall bias, as in all cases-controls studies. However, an effort was given to minimize this limitation by choosing newly diagnosed consecutive patients and collecting all necessary subjects in a small period of time. Regarding the selection of the controls, the "healthy" volunteer effect may exist. However, as mentioned in the Methods section, an effort was given to avoid selection bias by performing, when possible, random selection of the volunteers, as well as avoiding any "specific" sampling rule in the allocation of the participants. Furthermore, an effort was given to account for the most common confounders concerning the association studied; nevertheless, residual confounding may always be a limitation in this work. Adjustments for energy intake were not possible in this work due to limitations in the dietary tool used. Moreover, people who collected the data were commonly and well trained before the beginning of the study, limiting the inter-

investigators bias. The effect size measures used in case-control studies (i.e., the odds ratios) tend to overestimate the actual effect of the cause on effect usually observed in prospective studies; and thus, the findings should be interpreted with caution.

Conclusion

The present study states a hypothesis for an inverse association between whole grain consumption and the likelihood of breast cancer. The later deserves further attention nowadays, since it could add important information in the strategies for the prevention of breast cancer, highlighting also the need for more prospective studies to be conducted in order to confirm the aforementioned association.

Acknowledgements

The authors would like to thank all the participants of the study, without their contribution this project would never been done; also, would like to thank the Directors of the clinics of the involved hospitals: Gerasimos Aravantinos, Epaminondas Samantas, Evangelos Filopoulos, and the field investigators of the study: Aikaterini Manousou, Vassiliki Markasioti, Aikaterini Kakou, Fotini-Maria Mpalli, Nikolaos Soupos, Zoe Tsakalou, Maria Mitsou, Artemisia Tsakla, Iro Karapapa, Maria Somaraki, Athanasios Tektonidis, Athanasia Laina and Aggeliki Siolavou.

References

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D: Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 61:69-90, 2011
2. Michels KB, Mohllajee AP, Roset-Bahmanyar E, Beehler GP, Moysich KB: Diet and breast cancer: a review of the prospective observational studies. *Cancer* 109:2712-49, 2007
3. Thomson CA: Diet and breast cancer: understanding risks and benefits. *Nutr Clin Pract* 27:636-50, 2012
4. WCRF/AICR. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC: AICR., 2007.
5. Zhong X, Zhang C: Soy food intake and breast cancer risk: a meta-analysis. *Wei Sheng Yan Jiu* 41:670-6, 2012
6. Giacco R, Della Pepa G, Luongo D, Riccardi G: Whole grain intake in relation to body weight: from epidemiological evidence to clinical trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 21:901-8, 2011
7. Mellen PB, Walsh TF, Herrington DM: Whole grain intake and cardiovascular disease: a meta-analysis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 18:283-90, 2008
8. Ye EQ, Chacko SA, Chou EL, Kugizaki M, Liu S: Greater whole-grain intake is associated with lower risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and weight gain. *J Nutr* 142:1304-13, 2012
9. Aune D, Chan DS, Lau R, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Norat T: Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *BMJ* 343:d6617, 2011
10. Schatzkin A, Mouw T, Park Y, Subar AF, Kipnis V, Hollenbeck A, Leitzmann MF, Thompson FE: Dietary fiber and whole-grain consumption in relation to colorectal cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Am J Clin Nutr* 85:1353-60, 2007
11. Chatenoud L, Tavani A, La Vecchia C, Jacobs DR, Jr., Negri E, Levi F, Franceschi S: Whole grain food intake and cancer risk. *Int J Cancer* 77:24-8, 1998
12. Jacobs DR, Jr., Marquart L, Slavin J, Kushi LH: Whole-grain intake and cancer: an expanded review and meta-analysis. *Nutr Cancer* 30:85-96, 1998
13. Egeberg R, Olsen A, Loft S, Christensen J, Johnsen NF, Overvad K, Tjønneland A: Intake of whole grain products and risk of breast cancer by hormone receptor status and histology among postmenopausal women. *Int J Cancer* 124:745-50, 2009
14. Mourouti N, Papavagelis C, Psaltopoulou T, Aravantinos G, Samantas E, Filopoulos E, Manousosou A, Plytzanopoulou P, Vassilakou T, Malamos N, Panagiotakos DB: Aims, design and methods of a case-

- control study for the assessment of the role of dietary habits, eating behaviors and environmental factors, on the development of breast cancer. *Maturitas* 74:31-6, 2013
15. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C: Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 16:559-68, 2006
 16. Panagiotakos D, Kalogeropoulos N, Pitsavos C, Roussinou G, Palliou K, Chrysoshoou C, Stefanadis C: Validation of the MedDietScore via the determination of plasma fatty acids. *Int J Food Sci Nutr* 60 Suppl 5:168-80, 2009
 17. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Arvaniti F, Stefanadis C: Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. *Prev Med* 44:335-40, 2007
 18. Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth be, Pratt M, Ekelund U, Yngve a, Sallis JF, Oja P: International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 35:1381-95, 2003
 19. Papathanasiou G, Georgoudis G, Papandreou M, Spyropoulos P, Georgakopoulos D, Kalfakakou V, Evangelou A: Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol* 50:283-94, 2009
 20. Adzersen KH, Jess P, Freivogel KW, Gerhard I, Bastert G: Raw and cooked vegetables, fruits, selected micronutrients, and breast cancer risk: a case-control study in Germany. *Nutr Cancer* 46:131-7, 2003
 21. Nicodemus KK, Jacobs DR, Jr., Folsom AR: Whole and refined grain intake and risk of incident postmenopausal breast cancer (United States). *Cancer Causes Control* 12:917-25, 2001
 22. Slavin J: Whole grains and human health. *Nutr Res Rev* 17:99-110, 2004
 23. Aune D, Chan DS, Greenwood DC, Vieira AR, Rosenblatt DA, Vieira R, Norat T: Dietary fiber and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Ann Oncol* 23:1394-402, 2012
 24. Slavin JL: Mechanisms for the impact of whole grain foods on cancer risk. *J Am Coll Nutr* 19:300S-307S, 2000

4.2.5 Ο ρόλος άλλων ομάδων τροφίμων στην παρουσία καρκίνου του μαστού

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήθηκε η συσχέτιση και των υπόλοιπων βασικών ομάδων τροφίμων με την πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού. Αρχικά, η κατανάλωση φρούτων συσχετίστηκε ισχυρά με την πιθανότητα παρουσίας της νόσου. Πιο συγκεκριμένα, οι μάρτυρες ήταν πιθανό να καταναλώνουν 9-15 μερίδες φρούτων/εβδομάδα ενώ οι ασθενείς 5-8 μερίδες/εβδομάδα ($p<0,001$). Τα αποτελέσματα της πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης ανέδειξαν ωστόσο την ύπαρξη μη σημαντικής συσχέτισης μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων και της παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p>0,05$) αφού λήφθηκαν υπόψη συγχυτικοί παράγοντες όπως το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού, ο δείκτης μάζας σώματος, η φυσική δραστηριότητα, το κάπνισμα και το επίπεδο εμμηνόπαυσης. Όταν μάλιστα πραγματοποιήθηκε έλεγχος και για το MedDietScore, η έλλειψη σημαντικής συσχέτισης μεταξύ της κατανάλωσης φρούτων και της πιθανότητας παρουσίας καρκίνου του μαστού εξακολούθησε να υπάρχει ($p>0,05$).

Επιπρόσθετα, οι μάρτυρες παρατηρήθηκε πως καταναλώναν λαχανικά σε μεγαλύτερη συχνότητα από τις ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Πιο συγκεκριμένα οι υγιείς ήταν πιο πιθανό να καταναλώνουν 13-20 μερίδες/εβδομάδα ενώ οι ασθενείς 7-12 μερίδες/εβδομάδα ($p=0,001$). Τα αποτελέσματα της πολλαπλής λογαριθμιστικής παλινδρόμησης επεσήμαναν την έλλειψη σημαντικής συσχέτισης μεταξύ της κατανάλωσης λαχανικών και της παρουσίας καρκίνου του μαστού αφού λήφθηκαν υπόψη πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες (οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού, δείκτης μάζας σώματος, φυσική δραστηριότητα, κάπνισμα, επίπεδο εμμηνόπαυσης) ($p>0,05$). Ανάλογα αποτελέσματα ανέδειξε και ο έλεγχος για επιπλέον συγχυτικούς παράγοντες (MedDietScore) ($p>0,05$).

Αναφορικά με την κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων (γαλακτοκομικά πλήρη σε λίπος) παρατηρήθηκε ισχυρή σχέση μεταξύ της συχνότητας κατανάλωσης αυτών και της παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,02$). Συγκεκριμένα, ενώ οι μάρτυρες καταναλώναν 11-15 μερίδες γαλακτοκομικών ανά εβδομάδα, οι ασθενείς παρατηρήθηκε πως καταναλώναν 10 ή και λιγότερες μερίδες γαλακτοκομικών ανά εβδομάδα. Οι μονοπαραγοντικές αναλύσεις ανέδειξαν την προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης γαλακτοκομικών στην παρουσία καρκίνου του μαστού. Πιο συγκεκριμένα, η κατανάλωση τουλάχιστον 11 μερίδων γαλακτοκομικών ανά

εβδομάδα συσχετίστηκε με 49% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,002$). Μετά από έλεγχο για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες (δείκτης μάζας σώματος, κάπνισμα, φυσική δραστηριότητα, οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού και επίπεδο εμμηνόπαυσης) η προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης γαλακτοκομικών απέναντι στη νόσο παρέμεινε αναλλοίωτη. Ειδικότερα, η κατανάλωση 11-15 μερίδων γαλακτοκομικών ανά εβδομάδα συσχετίστηκε με 53% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ($p=0,001$) ενώ η κατανάλωση 16-20 μερίδων γαλακτοκομικών ανά εβδομάδα συσχετίστηκε με 49% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($p=0,02$). Η προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης γαλακτοκομικών εξακολούθησε να είναι εμφανής ακόμη και μετά από έλεγχο για το MedDietScore. Πιο συγκεκριμένα, η κατανάλωση 11-15 μερίδων καθώς και 16-20 μερίδων ανά εβδομάδα συσχετίστηκε με 55% και 57% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού αντίστοιχα ($p=0,001$ και $p=0,004$ αντίστοιχα).

Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές συσχετίσεις αναφορικά με την κατανάλωση οσπρίων ($p=0,28$) και ψαριού ($p=0,33$) και την παρουσία καρκίνου του μαστού. Επιπρόσθετα, η κατανάλωση ελαιολάδου στο μαγείρεμα δε συσχετίστηκε σημαντικά με τη νόσο, γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί στο ότι στην πλειοψηφία τους τόσο οι μάρτυρες όσο και οι ασθενείς προτιμούσαν την κατανάλωση ελαιολάδου στο μαγείρεμα σχεδόν καθημερινά (96,8% και 96,4% αντίστοιχα, $p=0,83$).

Ολοκληρώνοντας, στο πλαίσιο της παρούσας διδακτορικής διατριβής μελετήθηκε και η συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης σόγιας και των προϊόντων αυτής και της παρουσίας καρκίνου του μαστού. Παρατηρήθηκε πως οι υγιείς γυναίκες ήταν περισσότερο πιθανό να καταναλώνουν σόγια πιο συχνά σε σύγκριση με τις ασθενείς (32,8% vs. 19,8%, $p=0,001$). Ειδικότερα, το 28,8% των υγιών συγκριτικά με το 18,2% των ασθενών δήλωσε πως καταναλώνει σόγια και προϊόντα αυτής τουλάχιστον 1 φορά το μήνα ($p=0,04$). Αναφορικά με το προφίλ των γυναικών που καταναλώναν σόγια και προϊόντα αυτής (τόσο ασθενείς όσο και υγιείς), αξίζει να επισημάνουμε πως πρόκειται για γυναίκες μικρότερης ηλικίας ($p<0,001$), με υψηλότερο επίπεδο εκπαίδευσης ($p<0,001$), χαμηλότερο δείκτη μάζας σώματος (BMI) ($p=0,04$) οι οποίες βρίσκονταν κυρίως στην εμμηνόπαυση ($p<0,001$). Οι μονοπαραγοντικές αναλύσεις ανέδειξαν την προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης σόγιας και των προϊόντων αυτής απέναντι στην παρουσία καρκίνου του

μαστού (51% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου, $p=0,001$). Μετά από έλεγχο για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες (οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού, δείκτης μάζας σώματος, φυσική δραστηριότητα και κάπνισμα) η προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης σόγιας και των προϊόντων αυτής εξακολούθησε να είναι εμφανής (55% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου, $p<0,001$). Όταν ωστόσο πραγματοποιήθηκε έλεγχος αναφορικά με την ηλικία εμμηναρχής, την ηλικία εμμηνόπαυσης αλλά και τη χρήση ορμονών μετεμμηνοπαυσιακά, η προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης σόγιας και των προϊόντων αυτής που παρατηρήθηκε στις προηγούμενες αναλύσεις φάνηκε να χάνεται ($p=0,11$). Το αποτέλεσμα αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στη μακροχρόνια έκθεση των γυναικών απέναντι στα οιστρογόνα του οργανισμού τους, γεγονός το οποίο πιθανότατα υποσκιάζει την ικανότητα των φυτοοιστρογόνων που περιέχονται στη σόγια να ανταγωνίζονται την επίδραση των ανωτέρω ορμονών και να συμβάλλουν έτσι στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης της νόσου. Τέλος, όταν πραγματοποιήθηκε επιπλέον έλεγχος και για το MedDietScore (το οποίο αξιολογεί την προσκόλληση στο πρότυπο της Μεσογειακής διατροφής) η προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης σόγιας και των προϊόντων αυτής που παρατηρήθηκε στις προηγούμενες αναλύσεις εξακολούθησε να υποσκιάζεται ($p=0,20$). Το αποτέλεσμα αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στο ότι τα τρόφιμα και τα θρεπτικά συστατικά αυτών δεν καταναλώνονται μεμονωμένα αλλά συνδυαστικά, και έτσι τείνουν να αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.

5. Συζήτηση

5.1 Βασικότερα ευρήματα και περιορισμοί

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να μελετηθεί η σχέση της διατροφής, μέσω της αποτίμησης διατροφικών προτύπων με την πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού. Υγιεινά διατροφικά πρότυπα που χαρακτηρίζονται από την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης, ελαιολάδου αλλά και ψαριού αλλά και υγιεινές διατροφικές συνήθειες όπως η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ και η κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης προστατεύουν από την παρουσία καρκίνου του μαστού, ενώ ανθυγιεινές επιλογές όπως η κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος φαίνεται να ασκούν επιβαρυντική δράση. Ένα από τα σημαντικότερα ευρήματα της παρούσας διατριβής ήταν η ανάδειξη του Μεσογειακού προτύπου διατροφής ως μέσου πρωτογενούς πρόληψης του καρκίνου του μαστού, καθώς πρόκειται για μία από τις λίγες εργασίες στην Ελλάδα που ανέδειξε την ευεργετική δράση του προτύπου αυτού απέναντι στην παρουσία καρκίνου του μαστού. Παρ' όλους τους πιθανούς περιορισμούς, λόγω της αναδρομικής φύσης της μελέτης, τα αποτελέσματα ήταν σταθμισμένα για ποικίλους συγχυτικούς παράγοντες, αναδεικνύοντας ένα σημαντικό, μη φαρμακολογικό μήνυμα για τη δημόσια υγεία, όσον αφορά την πρωτογενή πρόληψη του καρκίνου του μαστού.

5.2 Διατροφικά πρότυπα και παρουσία καρκίνου του μαστού

5.2.1 Το Μεσογειακό πρότυπο διατροφής και παρουσία καρκίνου του μαστού

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής υποστηρίζουν την ευεργετική δράση του Μεσογειακού διατροφικού προτύπου αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού, ιδιαίτερα για τις γυναίκες φυσιολογικού βάρους, όσες βρίσκονται σε εμμηνόπαυση, τις γυναίκες που είχαν για πρώτη φορά έμμηνο ρύση σε ηλικία μεγαλύτερη των 12 ετών, είναι μη ενεργές ή κατ'ελάχιστο ενεργές, δεν καπνίζουν και κατοικούν στην επαρχία. Μάλιστα, τα τρόφιμα εκείνα που φαίνεται να συμβάλλουν περισσότερο σε αυτή την προστατευτική δράση είναι τα μη επεξεργασμένα δημητριακά, τα λαχανικά, τα φρούτα καθώς και η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, ενώ το κόκκινο κρέας και τα προϊόντα του φανέρωσαν αντίθετη δράση. Η παρούσα διατριβή αποτελεί μία από τις λίγες μελέτες, και ίσως τη μοναδική στη χώρα μας, που έχουν εξετάσει τη σχέση

μεταξύ της προσκόλλησης στη Μεσογειακή διατροφή και της παρουσίας καρκίνου του μαστού.

Η προστατευτική επίδραση της υιοθέτησης της Μεσογειακής διατροφής απέναντι στον καρκίνο του μαστού έχει επισημανθεί την τελευταία 5ετία από ορισμένες ακόμη μελέτες παρατήρησης. Ειδικότερα, οι ερευνητές της αναδρομικής μελέτης EpiGEICAM που διεξήχθη σε Ισπανικό πληθυσμό, αναλύοντας τα δεδομένα από 1017 ασθενείς με καρκίνο του μαστού και 1017 υγιείς γυναίκες εξομοιωμένες ως προς την ηλικία, ανέδειξαν πως η προσκόλληση στη Μεσογειακή διατροφή συσχετίστηκε με 44% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου, με την ευεργετική αυτή επίδραση να είναι ισχυρότερη στις ασθενείς με τριπλά αρνητικούς όγκους (triple-negative tumors) (Castello et al., 2014). Επιπρόσθετα, σε μία ανάλυση της προοπτικής μελέτης EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition), η προσκόλληση στο Μεσογειακό πρότυπο διατροφής, εξαιρώντας την κατανάλωση αλκοόλ, συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού στις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά, με τη σχέση να παρατηρείται ισχυρότερη σε γυναίκες με αρνητικούς υποδοχείς ορμονών (Buckland et al., 2013). Αντίστοιχα ήταν και τα αποτελέσματα που προέκυψαν από το ελληνικό «τμήμα» της μελέτης EPIC. Πιο συγκεκριμένα, οι ερευνητές παρατήρησαν μία οριακή προστατευτική επίδραση της υιοθέτησης της Μεσογειακής διατροφής απέναντι στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, ιδιαίτερα για τις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά (hazard ratio=0,78 για κάθε 2 μονάδες αύξησης του σκορ, 95% ΔΕ 0,62-0,98) (Trichopoulou et al., 2010). Ακόμη, σε μία προοπτική μελέτη που διεξήχθη στη Γαλλία μεταξύ 65,374 μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, παρατηρήθηκε πως η υιοθέτηση ενός «υγιεινού/Μεσογειακού» διατροφικού προτύπου (αποτελούμενο κυρίως από λαχανικά, φρούτα, ψάρι, ελαιόλαδο και ηλιέλαιο) συσχετίστηκε με 15% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, ιδιαίτερα στις περιπτώσεις που στις ασθενείς επικρατούσε ο φαινότυπος ER+/PR- (Cottet et al., 2009). Επιπλέον, σε μία αναδρομική μελέτη η οποία πραγματοποιήθηκε ανάμεσα σε Ασιάτισσες οι οποίες ωστόσο κατοικούσαν στην Αμερική, οι ερευνητές επεσήμαναν πως η προσκόλληση στη Μεσογειακή διατροφή συσχετίστηκε με 35% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου (Wu et al., 2009). Παρομοίως, όταν η Murtaugh και οι συνεργάτες της μελέτησαν τη σχέση διαφόρων διατροφικών προτύπων με την πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού ανάμεσα σε Ισπανόφωνες και μη Ισπανόφωνες λευκές

γυναίκες, παρατήρησαν πως η προσκόλληση στο Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο συσχετίστηκε με 24% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου για όλες τις γυναίκες και με 42% μικρότερη πιθανότητα ειδικά για τις Ισπανόφωνες γυναίκες που βρίσκονταν σε εμμηνόπαυση (Murtaugh et al., 2008).

Η ευεργετική επίδραση της προσκόλλησης στη Μεσογειακή διατροφή αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού θα μπορούσε αρχικά να αιτιολογείται από βιολογικούς μηχανισμούς σχετικούς με το οξειδωτικό στρες και τη χρόνια φλεγμονή. Η αντιοξειδωτική ικανότητα του Μεσογειακού διατροφικού προτύπου θα μπορούσε να αποδοθεί στην κατανάλωση φρούτων και λαχανικών, τα οποία αποτελούν βασικά συστατικά του ανωτέρω προτύπου, και τα οποία είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά συστατικά όπως καροτενοειδή, βιταμίνη C, βιταμίνη E, σελήνιο, διαιτητικές ίνες, δυθειολθειόνες, γλυκοσινολάτες, πολυφαινόλες, αναστολείς πρωτεασών, φυτικές στερόλες και λυκοπένιο (Grosso et al., 2013). Παράλληλα, το διατροφικό αυτό πρότυπο έχει παρατηρηθεί πως έχει την ικανότητα να βελτιώνει τη φλεγμονή, μειώνοντας τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης, της ιντερλευκίνης-6, της ομοκυστεΐνης και του ινωδογόνου καθώς και άλλων δεικτών οι οποίοι σχετίζονται με τη φλεγμονή και την ενδοθηλιακή λειτουργία (Verberne et al., 2010). Η κατανάλωση προϊόντων ολικής άλεσης αποτελεί επιπλέον ένα βασικό συστατικό της Μεσογειακής διατροφής και έχει συσχετιστεί με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης διαφόρων μορφών καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού. Η ευεργετική δράση της κατανάλωσης προϊόντων ολικής άλεσης θα μπορούσε να αποδοθεί στην υψηλή περιεκτικότητά τους σε διαιτητικές ίνες, οι οποίες φαίνεται πως έχουν την ικανότητα να ενισχύουν τον κορεσμό, το ιξώδες του γαστρεντερικού αλλά και την παραγωγή λιπαρών οξέων βραχείας αλύσου, βελτιώνοντας με αυτό τον τρόπο τη ζύμωση των διαφόρων μεταβολιτών (Grosso et al., 2013). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον έχει επιπλέον δοθεί και στην κατανάλωση ελαιολάδου, καθώς πληθώρα μελετών έχει συσχετίσει την κατανάλωση του με μικρότερη επίπτωση και χαμηλότερους ρυθμούς θνησιμότητας από ορισμένες μορφές καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού. Σύμφωνα με τις υπάρχουσες μελέτες, το ελαιόλαδο μπορεί να επηρεάσει τη διαδικασία της καρκινογένεσης καθώς και το ανοσοποιητικό σύστημα, το οξειδωτικό στρες, να προκαλέσει αλλαγές στο ορμονικό προφίλ των γυναικών, να τροποποιήσει τη δομή αλλά και τη λειτουργία των κυτταρικών μεμβρανών, ρυθμίζοντας παράλληλα τα μονοπάτια κυτταρικής σηματοδότησης και τη γονιδιακή

έκφραση. Η πιθανή προστατευτική του επίδραση απέναντι στη νόσο μπορεί να αποδοθεί στην ιδιαίτερη σύσταση του σε λιπαρά οξέα, καθώς είναι υψηλής περιεκτικότητας σε ελαϊκό οξύ, περιλαμβάνει επαρκή ποσότητα πολυακόρεστων λιπαρών οξέων (PUFAs), σχετικά χαμηλό λόγο ω-3/ω-6 πολυακόρεστων λιπαρών οξέων αλλά και διάφορες βιοδραστικές ενώσεις όπως σκουαλένιο και φαινολικά αντιοξειδωτικά (Escrich et al., 2011a). Ολοκληρώνοντας, η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ (και δη η κατανάλωση κρασιού) αποτελεί ένα επίσης βασικό χαρακτηριστικό του Μεσογειακού διατροφικού προτύπου. Το κρασί, και ιδιαίτερα το κόκκινο κρασί, είναι πλούσιο σε φυτοχημικά με ένα μεγάλο εύρος από ευεργετικές ιδιότητες απέναντι στην υγεία. Στην πλειονηφία τους, οι ευεργετικές επιδράσεις της κατανάλωσης κόκκινου κρασιού οφείλονται στην περιεκτικότητά του σε ρεσβερατρόλη, μια φυτοαλεξίνη η οποία πιθανότατα λειτουργεί ως αντιοξειδωτικός αλλά και χημειοπροστατευτικός παράγοντας χάρη στην ικανότητά της να αναστέλλει τη διαδικασία εμφάνισης και προόδου μιας κακοήθειας (Grosso et al., 2013). Αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού ωστόσο, και λαμβάνοντας υπόψη πως η κατανάλωση αλκοόλ αποτελεί έναν ξεκάθαρα επιβαρυντικό παράγοντα όπως προαναφέρθηκε, γίνεται αντιληπτό πως η ευεργετική επίδραση της προσκόλλησης στη Μεσογειακή διατροφή απέναντι στη νόσο, δύσκολα θα μπορούσε να αποδοθεί στην κατανάλωση αλκοόλ.

Συμπερασματικά, τα παραπάνω ευρήματα ενισχύουν ακόμη περισσότερο την ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία, αναδεικνύοντας επιπλέον ένα μη φαρμακολογικό μήνυμα όσον αφορά την πρόληψη του καρκίνου του μαστού. Ωστόσο, είναι έκδηλη η ανάγκη διεξαγωγής περισσότερων μελετών προκειμένου να επιβεβαιωθούν περισσότερα ή όχι τα εν λόγω αποτελέσματα. Επιπρόσθετα, αν και η ιεραρχική ανάλυση επεσήμανε τις ομάδες εκείνες τροφίμων της Μεσογειακής διατροφής στις οποίες καλό θα ήταν να δοθεί έμφαση, δε θα πρέπει να παραβλέπουμε το γεγονός πως το παραδοσιακό αυτό πρότυπο καλό θα ήταν να λαμβάνεται υπόψη ως ένα σύνολο προκειμένου να επιτυγχάνεται το μέγιστο κέρδος από την υιοθέτησή του.

5.2.2 Εκ-των-υστέρων διατροφικά πρότυπα και παρουσία καρκίνου του μαστού

Τα ευρήματα της παρούσας διατριβής ανέδειξαν ότι υγιεινά διατροφικά πρότυπα τα οποία χαρακτηρίζονται από την κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης, φρούτων, λαχανικών καθώς και την κατανάλωση ελαιολάδου αλλά και ψαριού είχαν

προστατευτική επίδραση όσον αφορά την παρουσία καρκίνου του μαστού. Παράλληλα, τα ανωτέρω διατροφικά πρότυπα συσχετίστηκαν θετικά με ένα εκ-των-προτέρων καθορισμένο διατροφικό πρότυπο, αυτό της Μεσογειακής διατροφής, αναδεικνύοντας πως η εκ-των-υστέρων αποτίμηση διατροφικών προτύπων βρίσκεται σε συμφωνία με την εκ-των-προτέρων αποτίμηση (δηλ. την προσκόλληση σε ένα προκαθορισμένο πρότυπο).

Τις τελευταίες δεκαετίες η αποτίμηση των διατροφικών προτύπων αποτελεί για τους ερευνητές μία επιπλέον χρήσιμη προσέγγιση αναφορικά με την αναζήτηση συσχετίσεων μεταξύ της διατροφής και του κινδύνου εμφάνισης χρόνιων νοσημάτων (Hu, 2002). Η ανάλυση διατροφικών προτύπων παρέχει μία ευρύτερη εικόνα των τροφίμων και των θρεπτικών συστατικών που καταναλώνονται από το άτομο έχοντας παράλληλα αρκετά πλεονεκτήματα σε αντίθεση με τις εκ-των-προτέρων τεχνικές, οι οποίες ενέχουν προβλήματα και περιορισμούς αναφορικά με το σχεδιασμό και την εφαρμογή τους. Επί παραδείγματι, οι επιλογές του κάθε ατόμου περιλαμβάνουν ποικιλία τροφίμων αλλά και διατροφικών συνηθειών οι οποίες είναι πολύ πιθανό να δρουν είτε συνεργιστικά είτε διαδραστικά αναφορικά με τον κίνδυνο εμφάνισης μίας νόσου. Επιπρόσθετα, λαμβάνοντας υπόψη πως οι διατροφικές μεταβλητές συσχετίζονται μεταξύ τους σε υψηλό επίπεδο, η προσπάθεια μας να αξιολογήσουμε το βαθμό στον οποίο κάθε τρόφιμο ή θρεπτικό συστατικό έχει συμβάλλει στη διαμόρφωση του αποτελέσματος καθίσταται προβληματική. Η ανάλυση ωστόσο των διατροφικών προτύπων έχει την ικανότητα να εντοπίζει τόσο τις ομοιότητες μεταξύ των διαφόρων τροφίμων και θρεπτικών συστατικών όσο και τις ακραίες συμπεριφορές στην κατανάλωση αυτών, επιλύοντας με τον τρόπο αυτό τα ανωτέρω προβλήματα. Ακόμη, όπως άλλωστε υποστηρίζεται από πολλούς ερευνητές, τα διατροφικά πρότυπα που προκύπτουν με τη χρήση πολυμεταβλητών στατιστικών μεθόδων, αποτελούν μία εξαιρετική μέθοδο διατροφικής αξιολόγησης, έχοντας παράλληλα καλύτερη προβλεπτική ικανότητα απέναντι σε μία νόσο συγκριτικά με τα μεμονωμένα τρόφιμα ή θρεπτικά συστατικά (Newby and Tucker, 2004).

Αρκετοί ακόμη ερευνητές έχουν αξιολογήσει τη σχέση διατροφικών προτύπων με τον καρκίνο του μαστού, χρησιμοποιώντας αντίστοιχες τεχνικές και αναδεικνύοντας παρόμοια «υγιεινά» (healthy/prudent) πρότυπα τα οποία χαρακτηρίζονται κυρίως από την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, πουλερικών, ψαριού, γαλακτοκομικών με χαμηλά λιπαρά και δημητριακών προϊόντων ολικής

άλεσης (Brennan et al., 2010). Για παράδειγμα, σε μία πρόσφατη αναδρομική μελέτη η οποία διεξήχθη στην Ισπανία μεταξύ 1017 ασθενών με καρκίνο του μαστού και 1017 μαρτύρων εξομοιωμένων ως προς την ηλικία, οι ερευνητές με τη χρήση της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες οδηγήθηκαν σε 3 διατροφικά πρότυπα: το «Δυτικού τύπου» (Western), το υγιεινό (Prudent) και το Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο (Mediterranean). Εξ αυτών, το Μεσογειακό διατροφικό πρότυπο το οποίο χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, οσπρίων, ψαριού, βραστής πατάτας και ελαιολάδου συσχετίστηκε αντίστροφα με την παρουσία καρκίνου του μαστού, ενώ το υγιεινό διατροφικό πρότυπο (φρούτα, λαχανικά, δημητριακά προϊόντα ολικής άλεσης, χυμοί και γαλακτοκομικά με χαμηλά λιπαρά) δε φάνηκε να συσχετίζεται με τη νόσο (Castello et al., 2014). Αντίστοιχα, σε μία ακόμη αναδρομική μελέτη η οποία διεξήχθη στην Αργεντινή, οι ερευνητές στηριζόμενοι στην ανάλυση σε κύριες συνιστώσες οδηγήθηκαν στην ανίχνευση 4 διατροφικών προτύπων. Το «παραδοσιακό» πρότυπο που χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση κρέατος με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά, αρτοσκευάσματα, έλαια προερχόμενα από λαχανικά και μαγιονέζα, το «αγροτικό» πρότυπο που χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος, και το «αμυλούχο» πρότυπο που χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση επεξεργασμένων δημητριακών συσχετίστηκαν θετικά με την παρουσία της νόσου. Αντίθετα, το «υγιεινό» διατροφικό πρότυπο που χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών συσχετίστηκε με 44% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου (Tumas et al., 2014). Επιπρόσθετα, η Buck και οι συνεργάτες της (Buck et al., 2011) αναλύοντας τα δεδομένα ενός ερωτηματολογίου 176 ερωτήσεων για 2,884 ασθενείς με καρκίνο του μαστού και 5,509 υγιείς γυναίκες, κατέληξαν σε ένα υγιεινό πρότυπο που χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση λαχανικών αλλά και ελαίων προερχόμενα από λαχανικά, το οποίο ωστόσο δε συσχετίστηκε σημαντικά με τη νόσο. Σε μία ακόμη αναδρομική μελέτη που διεξήχθη μεταξύ γυναικών στην Κίνα, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν ένα έγκυρο ΕΣΚΤ προκειμένου να αξιολογήσουν τη διατροφική πρόσληψη σε 438 γυναίκες με πρώτη διάγνωση καρκίνου του μαστού και 438 μάρτυρες, και στηριζόμενοι στην ανάλυση σε κύριες συνιστώσες ανέδειξαν 2 διατροφικά πρότυπα. Το πρώτο εξ αυτών περιελάμβανε λαχανικά, φρούτα, σόγια, γάλα, πουλερικά και ψάρι ενώ το δεύτερο επεξεργασμένα δημητριακά, κρέας και πίκλες. Αφού έλαβε χώρα έλεγχος για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες η υιοθέτηση του πρώτου διατροφικού προτύπου συσχετίστηκε με 74% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού (Zhang

et al., 2011). Παρομοίως, σε μία μελέτη ασθενών μαρτύρων που έλαβε χώρα μεταξύ γυναικών στην Ιαπωνία, η ανάλυση σε κύριες συνιστώσες προτιμήθηκε προκειμένου να αναδειχθούν διατροφικά πρότυπα μέσα από 31 διατροφικές μεταβλητές. Εν τέλει, από τα τέσσερα βασικά διατροφικά πρότυπα που προέκυψαν, το ένα εξ αυτών αποτιμήθηκε ως υγιεινό καθώς χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση λαχανικών, φρούτων, σόγιας, ψαριού και γάλακτος αλλά και από μειωμένη κατανάλωση τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα λιπαρών οξέων και αλατιού. Μετά από έλεγχο για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες καταγράφηκε αντίστροφη συσχέτιση μεταξύ του εν λόγω διατροφικού προτύπου και της πιθανότητας παρουσίας καρκίνου του μαστού (Hirose et al., 2007). Στην προοπτική μελέτη California Teachers Study αναλύθηκαν δεδομένα από 91,779 γυναίκες και προέκυψαν 5 διατροφικά πρότυπα μέσω της ανάλυσης σε κύριες συνιστώσες. Το πρώτο εξ αυτών που ονομάστηκε “plant-based” χαρακτηρίστηκε από την κατανάλωση φρούτων και λαχανικών και συσχετίστηκε με 15% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Link et al., 2013). Ομοίως, η Baglietto και οι συνεργάτες της (Baglietto et al., 2011), αξιοποιώντας τα δεδομένα της προοπτικής μελέτης Melbourne Collaborative Cohort Study στην οποία συμμετείχαν 20,967 γυναίκες, αφού εφήρμοσαν την ανάλυση σε κύριες συνιστώσες ανέδειξαν τέσσερα διατροφικά πρότυπα. Μεταξύ αυτών, μόνο εκείνο που χαρακτηρίστηκε από την αυξημένη κατανάλωση φρούτων και σαλάτας συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού, με τις συσχετίσεις να είναι ισχυρότερες στις γυναίκες με αρνητικούς υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης.

Αναφορικά με τα διατροφικά πρότυπα που προέκυψαν, παρατηρήθηκε πως εκείνα που χαρακτηρίζονταν κυρίως από την κατανάλωση φρούτων, λαχανικών, δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης και ελαιολάδου συσχετίστηκαν με μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού. Τα φρούτα και τα λαχανικά, όπως έχει προαναφερθεί στην παρούσα διατριβή, περιλαμβάνουν μία μεγάλη ποικιλία συστατικών τα οποία πιθανότατα παρουσιάζουν προστατευτικές ιδιότητες έναντι της νόσου, όπως βιταμίνη C, βιταμίνη E, φυλλικό οξύ, θυροξίνη, γλυκοσινολάτες, ινδόλες, ισοθιοκυανάτες, αναστολείς πρωτεασών και φυτοχημικά (δηλ., λυκοπένιο, φλαβονοειδή, φαινολικά συστατικά) (Steinmetz and Potter, 1991, Steinmetz and Potter, 1996). Παράλληλα, τα φρούτα και τα λαχανικά καθώς και τα δημητριακά προϊόντα ολικής περιέχουν αρκετά υψηλές ποσότητες διαιτητικών ινών, τόσο

διαλυτές όσο και αδιάλυτες σε παρόμοιες αναλογίες, γεγονός που θα μπορούσε να αιτιολογήσει την καταγεγραμμένη ευεργετική τους επίδραση στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού (Deschasaux et al., 2013). Ολοκληρώνοντας, όσον αφορά το ελαιόλαδο, η περιεκτικότητά του σε συγκεκριμένα λιπαρά οξέα όπως ελαϊκό οξύ, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα αλλά και άλλα βιοδραστικά συστατικά, φαίνεται πως μπορεί να αιτιολογήσει την ικανότητά του να εμπλέκεται, όπως έχει παρατηρηθεί σε αρκετές μελέτες, με ευεργετικές επιδράσεις στη διαδικασία της καρκινογένεσης (Escrich et al., 2011a).

Εν κατακλείδι, τα ανωτέρω αποτελέσματα ενισχύουν την ανάγκη της ολιστικής προσέγγισης της διατροφής αναφορικά με την αντιμετώπιση χρόνιων νοσημάτων και δη του καρκίνου, λαμβάνοντας υπόψη τα σημαντικά πλεονεκτήματα των εκ-των-υστέρων μεθόδων εξαγωγής διατροφικών προτύπων.

5.3 Διατροφικές συνήθειες και παρουσία καρκίνου του μαστού

5.3.1 Κατανάλωση αλκοόλ και παρουσία καρκίνου του μαστού

Τα ευρήματα της παρούσας διατριβής ανέδειξαν την ευεργετική επίδραση της εβδομαδιαίας κατανάλωσης αλκοόλ (δηλ. 3-4 φορές/εβδομάδα) αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού, ειδικότερα για τις μη παχύσαρκες γυναίκες ($BMI < 30 \text{ kg/m}^2$) και ανεξάρτητα από τις συνολικές διατροφικές τους συνήθειες. Όσον αφορά το είδος του αλκοόλ, μόνο το κρασί (κόκκινο ή λευκό) φάνηκε να επιδρά ευεργετικά απέναντι στη νόσο.

Η προστατευτική επίδραση της χαμηλής έως μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ απέναντι στον καρκίνο του μαστού έχει καταγραφεί τα τελευταία έτη και από λίγες ακόμη μελέτες παρατήρησης. Ειδικότερα, σε μία αναδρομική μελέτη που διεξήχθη στην Κίνα, οι ερευνητές ανέλυσαν τα δεδομένα από 1009 ασθενείς με καρκίνο του μαστού και 1009 υγιείς γυναίκες εξομοιωμένες ως προς τη ηλικία. Ως αποτέλεσμα, παρατηρήθηκε πως η χαμηλή έως μέτρια κατανάλωση αλκοόλ ($< 5 \text{ g/ημέρα}$) συσχετίστηκε αντίστροφα με την πιθανότητα παρουσίας της νόσου τόσο για τις γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά όσο και για τις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά, χωρίς ωστόσο η ανωτέρω σχέση να είναι σημαντική (Zhang and Holman, 2011). Επιπρόσθετα, σε μία ακόμη αναδρομική μελέτη η οποία πραγματοποιήθηκε ανάμεσα σε Ασιάτισσες μετανάστριες στην Αμερική που χαρακτηρίζονταν από την κατανάλωση χαμηλών ποσοτήτων αλκοόλ (η μέση πρόσληψη ήταν $0,48 \text{ g/ημέρα}$ για

τις ασθενείς και 0,40 g/ημέρα για τις υγιείς), οι ερευνητές κατέγραψαν πως η παρουσία καρκίνου του μαστού συσχετίστηκε αντίστροφα με την κατανάλωση αλκοόλ, χωρίς ωστόσο η σχέση και πάλι να αποδεικνύεται ισχυρή (Brown et al., 2010). Ωστόσο, σε μία αναδρομική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε ένα Μεσογειακό πληθυσμό που χαρακτηρίζεται από μακρά ιστορία αναφορά με τη συσχέτιση της μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ με την υγεία, δηλ., στη Γαλλία, οι ερευνητές ανέλυσαν τα δεδομένα από 437 ασθενείς με πρώτη διάγνωση καρκίνου του μαστού και 922 υγιείς γυναίκες εξομοιωμένες ως προς την ηλικία και τον τόπο διαμονής. Στα αποτελέσματα τους κατέγραψαν πως οι γυναίκες εκείνες που κατανάλωναν λιγότερο από 1,5 ποτά/ημέρα κατά μέσο όρο, είχαν 42% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού. Μάλιστα, η προστατευτική αυτή επίδραση της κατανάλωσης αλκοόλ φάνηκε να οφείλεται κυρίως στην κατανάλωση κρασιού (Bessaoud and Daures, 2008).

Η αντίστροφη σχέση μεταξύ της μέτριας κατανάλωσης αλκοόλ και της παρουσίας καρκίνου του μαστού που παρατηρήθηκε στην παρούσα διατριβή θα μπορούσε εν μέρει να αποδοθεί στην κατανάλωση κρασιού, καθώς όπως καταγράφηκε κατά την ανάλυση των δεδομένων, μόνο η κατανάλωση κρασιού συσχετίστηκε σημαντικά με τη νόσο. Το κρασί φαίνεται πως παρουσιάζει αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες, έχοντας παράλληλα την ικανότητα να αναστέλλει την εμφάνιση μεταστάσεων, την αγγειογένεση, τη διαφοροποίηση και τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων, ευνοώντας από την άλλη και την απόπτωση αυτών. Επιπρόσθετα, το κρασί φαίνεται να έχει την ικανότητα να διαμορφώνει τη μεταφορά διαφόρων σημάτων στον οργανισμό καθώς και την απόκριση του ανοσοποιητικού συστήματος, επηρεάζοντας παράλληλα το πώς λειτουργούν οι μεταγραφικοί και αυξητικοί παράγοντες, οι κυτοκίνες, οι κασπάσες, οι ιντερλευκίνες καθώς και οι πρωτεΐνες που συμμετέχουν στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου (Arranz et al., 2012). Ακόμη, όπως είναι ευρέως γνωστό, το κρασί και ιδιαίτερα το κόκκινο, είναι πλούσιο σε αντιοξειδωτικές ουσίες όπως οι πολυφαινόλες, οι οποίες αποτελούν ένα σύνθετο μίγμα από φλαβονοειδή (ανθοκυανίνες) και μη-φλαβονοειδή (ρεσβερατρόλη και γαλλικό οξύ) (Arranz et al., 2012, D'Archivio et al., 2007). Μία μεγάλη μερίδα της βιβλιογραφίας αναφορικά με την προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης κρασιού και δη κόκκινου αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού, εστιάζει σε ένα συγκεκριμένο μη-φλαβονοειδές τη ρεσβερατρόλη. Η ουσία αυτή,

εκτός από τις καρδιοπροστατευτικές της ιδιότητες, έχει παρατηρηθεί πως έχει την ιδιότητα να δρα προστατευτικά και ενάντια στον καρκίνο μέσω της ικανότητας της να καταστέλλει την εμφάνιση αλλά και τον πολλαπλασιασμό των καρκινικών κυττάρων. Η δραστηριότητα αυτή επιτυγχάνεται μέσω καταστολής της ενεργοποίησης ορισμένων μεταγραφικών παραγόντων, πρωτεϊνικών και καζεϊνικών κινασών, καθώς και μέσω λειτουργιών που σχετίζονται με αντιφλεγμονώδη αλλά και ανοσορυθμιστική δράση της (Aggarwal et al., 2004, Grosso et al., 2013). Εκτός ωστόσο από τη ρεσβερατρόλη, και άλλες κατηγορίες φλαβονοειδών, όπως οι φλαβόνες και οι φλαβονόλες, έχουν συσχετιστεί από ορισμένες μελέτες με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού ιδιαίτερα για τις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά (Hui et al., 2013).

Ολοκληρώνοντας, τα ανωτέρω αποτελέσματα φαίνεται πως μπορούν να περάσουν ένα σημαντικό μήνυμα για τη δημόσια υγεία, υπογραμμίζοντας την μη γραμμική και δοσοεξαρτώμενη σχέση μεταξύ της κατανάλωσης αλκοόλ και της πιθανότητας εμφάνισης καρκίνου του μαστού, και επισημαίνοντας παράλληλα την πιθανή ευεργετική συμβολή του κρασιού στην προαναφερθείσα σχέση.

5.3.2 Κατανάλωση κρέατος και παρουσία καρκίνου του μαστού

Τα αποτελέσματα της ανωτέρω διδακτορικής διατριβής ανέδειξαν πως μόνο η ημερήσια κατανάλωση επεξεργασμένου κρέατος συσχετίστηκε συστηματικά με αυξημένη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού, ειδικότερα για τις υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες, εκείνες που βρίσκονται σε εμμηνόπαυση και είναι μη ενεργές ή κατ'ελάχιστο ενεργές.

Η επιβαρυντική δράση της κατανάλωσης κρέατος, και ιδιαίτερα επεξεργασμένου κρέατος, αναφορικά με την παρουσία καρκίνου του μαστού έχει επισημανθεί και από αρκετές ακόμη μελέτες παρατήρησης τα τελευταία έτη. Ειδικότερα, σε μία πρόσφατη αναδρομική μελέτη που πραγματοποιήθηκε στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής (The Nashville Breast Health Study), οι ερευνητές αναλύοντας τα δεδομένα από 2,386 ασθενείς με καρκίνο του μαστού καθώς και 1,703 μάρτυρες παρατήρησαν πως η κατανάλωση οποιασδήποτε μορφής κόκκινου κρέατος συσχετίστηκε με αυξημένη πιθανότητα καρκίνου του μαστού για τις συμμετέχουσες ($p < 0,001$) (Fu et al., 2011). Αντίστοιχα, σε μια ακόμη αναδρομική μελέτη στην οποία συμμετείχαν γυναίκες από 11 κέντρα στην Ουρουγουάη, η κατανάλωση κόκκινου

κρέατος συσχετίστηκε με αυξημένη πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($OR=1,97$, $95\%CI= 1,04, 3,75$), ενώ παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα αναφορικά με το κρέας συνολικά. Ακόμη, η αυξημένη πρόσληψη επεξεργασμένου κρέατος συσχετίστηκε με αυξημένη πιθανότητα παρουσίας της νόσου ($OR=1,53$, $95\%CI=1,01, 2,30$) (Aune et al., 2009b). Επιπρόσθετα, όταν η Egeberg και οι συνεργάτες της μελέτησαν τα δεδομένα από 24,697 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες οι οποίες συμμετείχαν στην προοπτική μελέτη “Diet, Cancer and Health”, κατέγραψαν πως η αυξημένη πρόσληψη επεξεργασμένου κρέατος συσχετίστηκε με σημαντικά υψηλότερους ρυθμούς επίπτωσης καρκίνου του μαστού (incidence rate ratio=1,23, $95\% CI 1,04, 1,45$ για κάθε 25 g αύξηση στην πρόσληψη κρέατος) (Egeberg et al., 2008). Ακόμη, σε μία ανάλυση της προοπτικής μελέτης UK Women’s Cohort Study (UKWCS) στην οποία συμπεριλήφθηκαν 35,372 γυναίκες, παρατηρήθηκαν θετικές συσχετίσεις μεταξύ της κατανάλωσης συνολικού, κόκκινου αλλά και επεξεργασμένου κρέατος και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού στις γυναίκες μετεμμηνοπαυσιακά. Ειδικότερα, το επεξεργασμένο κρέας φάνηκε να συσχετίζεται θετικά με τον κίνδυνο εμφάνισης της νόσου όταν λήφθηκε υπόψη ως κατηγορική μεταβλητή, ενώ η συσχέτιση καταγράφηκε ακόμη πιο ισχυρή όταν η μεταβλητή εντάχθηκε στα μοντέλα ως συνεχής (Relative Risk=1,64, $95\%CI 1,09, 2,27$, $p=0,003$ για κάθε 50 g/ημέρα) (Taylor et al., 2007). Τέλος, στη μελέτη Nurses’ Health Study II, εκτός από το κόκκινο κρέας, όλα τα επιμέρους παράγωγά του (βοδινό, αρνί ή χοιρινό ως κύριο γεύμα, βοδινό, αρνί ή χοιρινό ως μέρος ενός σάντουιτς, χάμπουργκερ, μπέικον, hot-dog και άλλες μορφές επεξεργασμένου κρέατος όπως λουκάνικο, σαλάμι και bologna) συσχετίστηκαν με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού συνολικά αλλά και με βάση τους υποδοχείς ορμονών. Τα αποτελέσματα ανέδειξαν πως σχεδόν όλα τα επιμέρους παράγωγα του κόκκινου κρέατος (βοδινό, αρνί ή χοιρινό ως κύριο γεύμα, χάμπουργκερ, hot-dog και άλλες μορφές επεξεργασμένου κρέατος όπως λουκάνικο, σαλάμι και bologna) συσχετίστηκαν σημαντικά με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού για τις γυναίκες με θετικούς υποδοχείς οιστρογόνων και προγεστερόνης (Cho et al., 2006).

Αρκετοί μηχανισμοί θα μπορούσαν να αιτιολογήσουν την επιβαρυντική δράση της κατανάλωσης κρέατος, και ιδιαίτερα επεξεργασμένου κρέατος, στον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Αρχικά, ο πρώτος μηχανισμός αναφέρεται στην προώθηση της καρκινογένεσης μέσω της αυξημένης πρόσληψης λίπους, μιας

και το κόκκινο κρέας και πολύ περισσότερο το επεξεργασμένο είναι πλούσια πηγή κορεσμένων λιπαρών οξέων. Η πρόσληψη λίπους όπως έχει φανεί στη βιβλιογραφία αυξάνει τα επίπεδα οιστρογόνων και ανδρογόνων στο πλάσμα, μέσω επαναρρόφησής τους από το λεπτό έντερο, τα οποία με τη σειρά τους ενοχοποιούνται για την αύξηση του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Ferguson, 2010, Forman, 2007), ενώ παράλληλα ενισχύει την επικράτηση της παχυσαρκίας η οποία αποτελεί σημαντικό παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση διαφόρων μορφών καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού (WCRF/AICR, 2010). Δευτερευόντως, το κόκκινο κρέας (από το οποίο παράγεται και το επεξεργασμένο κρέας), είναι πλούσιο σε αιμικό σίδηρο ο οποίος αποτελεί βασική πηγή για το σίδηρο που αποθηκεύεται στον ανθρώπινο οργανισμό. Τα αυξημένα επίπεδα σιδήρου στον ανθρώπινο οργανισμό έχουν συσχετιστεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης διαφόρων μορφών καρκίνου, συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού (Ferguson, 2010, Kallianpur et al., 2008, Liehr and Jones, 2001). Τέλος, ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται να δοθεί στις ετεροκυκλικές αμίνες αλλά και τους πολυκυκλικούς αρωματικούς υδρογονάνθρακες που παράγονται κατά το μαγείρεμα του κρέατος σε υψηλές θερμοκρασίες καθώς και σε νιτρώδεις ενώσεις (N-nitroso compounds - NOCs) τα οποία συναντώνται σε ορισμένες μορφές επεξεργασμένου κρέατος όπως το μπέικον ενώ ταυτόχρονα παράγονται και ενδογενώς μετά την κατανάλωση κόκκινου και επεξεργασμένου κρέατος. Τα παραπάνω συστατικά έχει παρατηρηθεί πως έχουν καρκινογόνο δράση σε μελέτες που έχουν λάβει χώρα σε πειραματόζωα, ενώ παράλληλα έχουν ενοχοποιηθεί και για την εμφάνιση καρκίνου του μαστού (Felton et al., 2002, Ferguson, 2010, Snyderwine, 2002, Snyderwine et al., 2002).

Τα ανωτέρω ευρήματα ενισχύουν την ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία, οδηγώντας προς μία σύσταση για μειωμένη πρόσληψη επεξεργασμένου κρέατος, ως ένα επιπλέον μέσο στην προσπάθεια πρόληψης του καρκίνου του μαστού, Ωστόσο, απαιτείται η διεξαγωγή περισσότερων μελετών οι οποίες είτε θα επιβεβαιώσουν είτε θα διαψεύσουν τα παραπάνω ευρήματα, και με σκοπό παράλληλα την ανίχνευση των ακριβών μηχανισμών που συνδέουν την κατανάλωση κρέατος με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού.

5.3.3 Κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης και παρουσία καρκίνου του μαστού

Η παρούσα διδακτορική διατριβή κατέληξε πως η κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης για περισσότερες από 7 φορές/εβδομάδα συσχετίστηκε συστηματικά με μειωμένη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού, ειδικότερα για τις προεμμηνοπαυσιακές και φυσιολογικού βάρους γυναίκες, όσες είναι καπνίστριες και δεν έχουν ακολουθήσει αγωγή ορμονικής υποκατάστασης.

Πολύ λίγες αναδρομικές μελέτες έχουν αναδείξει την ευεργετική επίδραση της κατανάλωσης δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης στην πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού. Ειδικότερα, σε μια μεγάλη αναδρομική μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Ιταλία με 3,412 ασθενείς με καρκίνο του μαστού και 4,770 υγιείς γυναίκες, οι ερευνητές κατέγραψαν πως η κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης περισσότερο από 3 ημέρες/εβδομάδα συγκριτικά με μηδενική ή σπάνια κατανάλωση συσχετίστηκε με 10% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας της νόσου τόσο για τις γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά όσο και για εκείνες μετεμμηνοπαυσιακά (Chatenoud et al., 1998). Παρομοίως, σε μια μικρότερη μελέτη ασθενών-μαρτύρων η οποία διεξήχθη στη Γερμανία και περιελάμβανε 310 ασθενείς με καρκίνο του μαστού και 353 υγιείς γυναίκες, η κατανάλωση δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης συσχετίστηκε με 43% μικρότερη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού (Adzersen et al., 2003).

Διάφοροι πιθανοί μηχανισμοί αναφορικά με την προστατευτική δράση της κατανάλωσης δημητριακών προϊόντων ολικής άλεσης απέναντι στον καρκίνο του μαστού έχουν προταθεί με το πέρασμα των ετών. Αρχικά, τα προϊόντα αυτά είναι πλούσια σε διαιτητικές ίνες οι οποίες έχουν τη δυνατότητα να αυξάνουν τον όγκο των κοπράνων και να μειώνουν το χρόνο διέλευσης τους από το γαστρεντερικό σωλήνα. Ως αποτέλεσμα, ο μειωμένος αυτός χρόνος διέλευσης επιτρέπει στις μεταλλαξιογόνες ουσίες που περιέχονται στα κόπρανα να αλληλεπιδράσουν για μικρότερο χρονικό διάστημα με το εντερικό επιθήλιο. Επιπλέον, οι διαιτητικές ίνες φαίνεται πως έχουν την ικανότητα να δεσμεύουν τα χολικά οξέα, τα οποία πιστεύεται ότι προάγουν τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων (Slavin, 2004). Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί πως η πρόσληψη διαιτητικών ινών φαίνεται να σχετίζεται αντίστροφα με τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Πράγματι, σε μια πρόσφατη μετα-ανάλυση 16 προοπτικών μελετών, οι ερευνητές παρατήρησαν πως η αυξημένη πρόσληψη

διαιτητικών ινών συσχετίστηκε με 7% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Aune et al., 2012a). Επιπρόσθετα, τα δημητριακά προϊόντα ολικής άλεσης φαίνεται πως είναι πλούσια σε αντιοξειδωτικά, συμπεριλαμβανομένων ιχνοστοιχείων και φαινολικών ενώσεων, συστατικά για τα οποία έχει παρατηρηθεί πως μπορεί να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη του καρκίνου. Παράλληλα, η βιταμίνη E αλλά και συστατικά όπως το φυτικό οξύ και οι σαπωνίνες πιθανότατα λειτουργούν ως αναστολείς της καρκινογένεσης, αποτρέποντας το σχηματισμό καρκινογόνων ουσιών και εμποδίζοντας την αλληλεπίδρασή τους με τα κύτταρα του οργανισμού (Slavin, 2004, Slavin, 2000). Τέλος, τα δημητριακά προϊόντα ολικής άλεσης αποτελούν εξαιρετικά καλές πηγές φυτοοιστρογόνων, τα οποία φαίνεται πως εκδηλώνουν την ευεργετική τους επίδραση απέναντι στη νόσο μέσω της αντιοξειδωτικής δράσης τους, αλλά και της ικανότητάς τους να αναστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την αγγειογένεση, ενισχύοντας παράλληλα την απόπτωση των κυττάρων (Slavin, 2000).

Αν και τα παραπάνω ευρήματα συμβάλλουν στην εδραίωση στη βιβλιογραφία της προστατευτικής δράσης που φαίνεται να έχουν τα δημητριακά προϊόντα ολικής άλεσης απέναντι στον καρκίνο του μαστού, ο πολύ μικρός αριθμός των μελετών που έχουν δημοσιευθεί μέχρι στιγμής, χρήζει απαραίτητη τη διεξαγωγή περισσότερων επιδημιολογικών μελετών με σκοπό τη διερεύνηση της ανωτέρω σχέσης.

5.3.4 Κατανάλωση γαλακτοκομικών και παρουσία καρκίνου του μαστού

Η παρούσα διδακτορική διατριβή κατέληξε πως η κατανάλωση τουλάχιστον 16 μερίδων/εβδομάδα γαλακτοκομικών προϊόντων με πλήρη λιπαρά συσχετίστηκε συστηματικά με μειωμένη πιθανότητα παρουσίας καρκίνου του μαστού.

Η κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων έχει υποτεθεί πως διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διαδικασία εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Για το λόγο αυτό, πληθώρα μελετών τα τελευταία 20 έτη έχει οδηγήσει σε αντικρουόμενα συμπεράσματα, αναδεικνύοντας τόσο θετικές όσο και αντίστροφες συσχετίσεις αναφορικά με την κατανάλωση γαλακτοκομικών και τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Στην πιο πρόσφατη μετα-ανάλυση 18 προοπτικών μελετών οι ερευνητές ανέλυσαν τα δεδομένα από 24,187 ασθενείς και 1,063,471 υγιείς γυναίκες. Τα αποτελέσματά της ανέδειξαν πως η αυξημένη κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων συνολικά συσχετίστηκε με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του

μαστού, ενώ η κατανάλωση γάλακτος μεμονωμένα δε φάνηκε να συσχετίζεται με τη νόσο. Όταν τώρα πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις και σε υποομάδες του δείγματος, η αρχικά παρατηρούμενη αντίστροφη συσχέτιση φάνηκε να είναι ισχυρότερη για τα γαλακτοκομικά με χαμηλά λιπαρά συγκριτικά με εκείνα που ήταν πλούσια σε λιπαρά, όπως επίσης και για τις γυναίκες προεμμηνοπαυσιακά συγκριτικά με εκείνες που βρίσκονταν σε εμμηνόπαυση (Dong et al., 2011).

Η προστατευτική επίδραση της κατανάλωσης γαλακτοκομικών προϊόντων απέναντι στον καρκίνο του μαστού φαίνεται πως μπορεί να αποδοθεί σε συστατικά αυτών όπως η βιταμίνη D αλλά και το ασβέστιο. Σε πρόσφατη μετα-ανάλυση οι ερευνητές παρατήρησαν πως η πρόσληψη βιταμίνης D συσχετίστηκε με 9% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού ενώ η πρόσληψη ασβεστίου συσχετίστηκε με 19% μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου (Chen et al., 2010). Αναφορικά με το μηχανισμό δράσης των ανωτέρω συστατικών, η βιταμίνη D έχει παρατηρηθεί πως καθώς προσδένεται στον αντίστοιχο υποδοχέα της (vitamin D receptor – VDR) έχει στη συνέχεια τη δυνατότητα να προσδένεται και αλληλουχίες του DNA, συμβάλλοντας έτσι στην αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και της αγγειογένεσης και ενισχύοντας παράλληλα την απόπτωση των κυττάρων. Αντίστοιχα, ο ρόλος του ασβεστίου στη διαδικασία της καρκινογένεσης σχετίζεται με τη συμμετοχή του στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της κυτταρικής διαφοροποίησης αλλά και της απόπτωσης. Ειδικότερα, τα αυξημένα επίπεδα ασβεστίου αναστέλλουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, ευνοώντας από την άλλη την κυτταρική διαφοροποίηση (Cui and Rohan, 2006).

5.4 Περιορισμοί

Στην παρούσα διατριβή υπάρχουν περιορισμοί λόγω του αναδρομικού σχεδιασμού της μελέτης, όπως το σφάλμα ανάκλησης, το σφάλμα επιλογής καθώς και η απουσία αιτιολογικών συσχετίσεων. Για τον περιορισμό του σφάλματος ανάκλησης, στη μελέτη εντάχθηκαν νεοδιαγνωσθείσες (διάγνωση εντός των τελευταίων 6 μηνών) διαδοχικές ασθενείς και παράλληλα συγκεντρώθηκαν ακριβή και λεπτομερή δεδομένα μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα μέσω προσωπικών συνεντεύξεων, διασφαλίζοντας την καταγραφή των πιο πρόσφατων διατροφικών συνηθειών, κλινικών χαρακτηριστικών και χαρακτηριστικών του τρόπου ζωής των ασθενών. Για τον περιορισμό του σφάλματος επιλογής, στη μελέτη εντάχθηκαν μόνο ασθενείς με πρώτη εκδήλωση καρκίνου του μαστού, ενώ αναφορικά με τη συλλογή των

μαρτύρων, έγινε προσπάθεια ώστε η συλλογή τους να είναι τυχαία όπου αυτό ήταν εφικτό (δηλ., 60% των μαρτύρων) αποφεύγοντας οποιοδήποτε κανόνα δειγματοληψίας αναφορικά με την προσέγγιση των υγιών γυναικών. Το υπόλοιπο 40% των μαρτύρων συλλέχθηκε βάση διαθεσιμότητας και στηρίχθηκε σε συναδέλφους, φίλους ή συγγενείς των ερευνητών πεδίου που πληρούσαν ωστόσο τα κριτήρια της μελέτης. Επιπρόσθετα, οι ερευνητές πεδίου εκπαιδεύτηκαν προσεκτικά και όλοι με τον ίδιο τρόπο, περιορίζοντας έτσι το ενδοερευνητικό σφάλμα. Η διατροφική αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε μέσω ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων. Είναι σημαντικό να ληφθεί υπόψη ότι το εργαλείο αυτό ενέχει την παρουσία σφάλματος μέτρησης (ειδικά όσον αφορά την ενεργειακή πρόσληψη και την πρόσληψη θρεπτικών συστατικών) σε σχέση με το ημερολόγιο καταγραφής τροφίμων, η ποσοτικοποίηση δεν είναι τόσο ακριβής σε σύγκριση με άλλες μεθόδους διατροφικής πρόσληψης, υπάρχει πάντα η δυσκολία αξιολόγησης του μεγέθους της μερίδας καθώς και η «περιορισμένη» πολλές φορές ικανότητα των συμμετεχόντων να ανακαλέσουν τη διαιτητική τους πρόσληψη κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους. Επιπλέον, υπερ-/υποεκτίμηση στην καταγραφή ενδεχομένως να υπάρχει, ιδιαίτερα όσον αφορά τις διατροφικές συνήθειες. Τέλος, πραγματοποιήθηκε μια προσπάθεια να ληφθούν υπόψη οι πιο συχνοί συγχυτικοί παράγοντες αναφορικά με τις συσχετίσεις που μελετήθηκαν, ωστόσο η ύπαρξη επιπλέον συγχυτικών παραγόντων που πιθανά δε λήφθηκαν υπόψη μπορεί πάντα να αποτελεί περιορισμό στη συγκεκριμένη διατριβή.

5.5 Γενίκευση των συμπερασμάτων: οφέλη για την πρόληψη του καρκίνου του μαστού

Λαμβάνοντας υπόψη τις προβλέψεις για αύξηση του αριθμού των ασθενών με καρκίνο του μαστού τα επόμενα έτη, απαιτείται η λήψη προληπτικών μέτρων από τις υγειονομικές αρχές με ιδιαίτερη έμφαση στην αλλαγή των διατροφικών συνηθειών. Η ανάδειξη υγιεινών διατροφικών προτύπων αλλά και αυτού της Μεσογειακής διατροφής καθιστά αναγκαία την προσπάθεια υιοθέτησης τους από το γενικό πληθυσμό με στόχο την πρωτογενή πρόληψη της νόσου.

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ACS (American Cancer Society). Early detection, diagnosis, and staging topics. Available from: <http://www.cancer.org/Cancer/BreastCancer/DetailedGuide/breast-cancer-diagnosis> [accessed 01.02.15].
- ACS (American Cancer Society). Treating breast cancer topics. Available from: <http://www.cancer.org/Cancer/BreastCancer/DetailedGuide/breast-cancertreating-surgery> [accessed 01.02.15].
- AJCC (American Joint Committee on Cancer). What is cancer staging? Available from: <http://www.cancer.org/Cancer/BreastCancer/DetailedGuide/breast-cancer-treating-surgery> [accessed 01.02.15].
- American Cancer Society. (2014) Breast Cancer. <http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003090-pdf.pdf>, access date: March 1 2015.
- American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2013-2014. Atlanta: American Cancer Society, Inc.2013.
- American Cancer Society. Global Cancer Facts & Figures 3rd Edition. (2015) Atlanta: American Cancer Society.
- Hosmer DW, Lemeshow S. (2000) Applied Logistic Regression. 2nd ed, New York: Van Nostrand Reinhold Co. 1-373
- U.S. Department of Health and Human Services. The Health Consequences of Smoking: 50 Years of Progress. A Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2014. Printed with corrections, January 2014.
- WHO. Fact Sheet No 297/February 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs297/en/>, access date: February 15 2015.
- ADLERCREUTZ, H., MAZUR W. (1998) Overview of naturally occurring endocrineactive substances in the human diet. In: Dunaif GE, Olin SS, Scimeca JA, Thomas JA, eds. Human diet and endocrine modulation: estrogenic and androgenic effects. Washington, DC: ILSI Press/ILSI North America, 1998:135–45.
- ADZERSEN, K. H., JESS, P., FREIVOGEL, K. W., GERHARD, I. & BASTERT, G. (2003) Raw and cooked vegetables, fruits, selected micronutrients, and breast cancer risk: a case-control study in Germany. *Nutr Cancer*, 46, 131-7.
- AGGARWAL, B. B., BHARDWAJ, A., AGGARWAL, R. S., SEERAM, N. P., SHISHODIA, S. & TAKADA, Y. (2004) Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res*, 24, 2783-840.
- ALBERTI, A., FRUTTINI, D. & FIDANZA, F. (2009) The Mediterranean Adequacy Index: further confirming results of validity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 19, 61-6.
- ALBUQUERQUE, R. C., BALTAR, V. T. & MARCHIONI, D. M. (2013) Breast cancer and dietary patterns: a systematic review. *Nutr Rev*, 72, 1-17.
- ALEXANDER, D. D., MORIMOTO, L. M., MINK, P. J. & CUSHING, C. A. (2010) A review and meta-analysis of red and processed meat consumption and breast cancer. *Nutr Res Rev*, 23, 349-65.
- ALKERWI, A., BOUTSEN, M., VAILLANT, M., BARRE, J., LAIR, M. L., ALBERT, A., GUILLAUME, M. & DRAMAIX, M. (2009) Alcohol consumption and the prevalence of metabolic syndrome: a meta-analysis of observational studies. *Atherosclerosis*, 204, 624-35.

- AMADOU, A., FERRARI, P., MUWONGE, R., MOSKAL, A., BIESSY, C., ROMIEU, I. & HAINAUT, P. (2013) Overweight, obesity and risk of premenopausal breast cancer according to ethnicity: a systematic review and dose-response meta-analysis. *Obes Rev*, 14, 665-78.
- ANAND, P., KUNNUMAKKARA, A. B., SUNDARAM, C., HARIKUMAR, K. B., THARAKAN, S. T., LAI, O. S., SUNG, B. & AGGARWAL, B. B. (2008) Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharm Res*, 25, 2097-116.
- ARRANZ, S., CHIVA-BLANCH, G., VALDERAS-MARTINEZ, P., MEDINA-REMON, A., LAMUELA-RAVENTOS, R. M. & ESTRUCH, R. (2012) Wine, beer, alcohol and polyphenols on cardiovascular disease and cancer. *Nutrients*, 4, 759-81.
- ATHYROS, V. G., LIBEROPOULOS, E. N., MIKHAILIDIS, D. P., PAPAGEORGIOU, A. A., GANOTAKIS, E. S., TZIOMALOS, K., KAKAFIKA, A. I., KARAGIANNIS, A., LAMBROPOULOS, S. & ELISAF, M. (2007) Association of drinking pattern and alcohol beverage type with the prevalence of metabolic syndrome, diabetes, coronary heart disease, stroke, and peripheral arterial disease in a Mediterranean cohort. *Angiology*, 58, 689-97.
- AUNE, D., CHAN, D. S., GREENWOOD, D. C., VIEIRA, A. R., ROSENBLATT, D. A., VIEIRA, R. & NORAT, T. (2012a) Dietary fiber and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Ann Oncol*, 23, 1394-402.
- AUNE, D., CHAN, D. S., LAU, R., VIEIRA, R., GREENWOOD, D. C., KAMPMAN, E. & NORAT, T. (2011) Dietary fibre, whole grains, and risk of colorectal cancer: systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *BMJ*, 343, d6617.
- AUNE, D., CHAN, D. S., VIEIRA, A. R., ROSENBLATT, D. A., VIEIRA, R., GREENWOOD, D. C. & NORAT, T. (2012b) Fruits, vegetables and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Breast Cancer Res Treat*, 134, 479-93.
- AUNE, D., DE STEFANI, E., RONCO, A., BOFFETTA, P., DENEOPELLEGRINI, H., ACOSTA, G. & MENDILAHARSU, M. (2009a) Fruits, vegetables and the risk of cancer: a multisite case-control study in Uruguay. *Asian Pac J Cancer Prev*, 10, 419-28.
- AUNE, D., DE STEFANI, E., RONCO, A., BOFFETTA, P., DENEOPELLEGRINI, H., ACOSTA, G. & MENDILAHARSU, M. (2009b) Meat consumption and cancer risk: a case-control study in Uruguay. *Asian Pac J Cancer Prev*, 10, 429-36.
- AUNE, D., URSIN, G. & VEIEROD, M. B. (2009c) Meat consumption and the risk of type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Diabetologia*, 52, 2277-87.
- BACH-FAIG, A., BERRY, E. M., LAIRON, D., REGUANT, J., TRICHOPOULOU, A., DERNINI, S., MEDINA, F. X., BATTINO, M., BELAHSEN, R., MIRANDA, G. & SERRA-MAJEM, L. (2011) Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutr*, 14, 2274-84.
- BAENA RUIZ, R. & SALINAS HERNANDEZ, P. (2014) Diet and cancer: risk factors and epidemiological evidence. *Maturitas*, 77, 202-8.
- BAGLIETTO, L., KRISHNAN, K., SEVERI, G., HODGE, A., BRINKMAN, M., ENGLISH, D. R., MCLEAN, C., HOPPER, J. L. & GILES, G. G. (2011) Dietary patterns and risk of breast cancer. *Br J Cancer*, 104, 524-31.
- BAGNARDI, V., ROTA, M., BOTTERI, E., SCOTTI, L., JENAB, M., BELLOCCO, R., TRAMACERE, I., PELUCCHI, C., NEGRI, E., LA VECCHIA, C., CORRAO, G. & BOFFETTA, P. (2011) Alcohol consumption and lung cancer risk in never smokers: a meta-analysis. *Ann Oncol*, 22, 2631-9.
- BAGNARDI, V., ROTA, M., BOTTERI, E., TRAMACERE, I., ISLAMI, F. & ET AL. (2013a) Light alcohol drinking and cancer: a meta-analysis. *Ann Oncol*, 24, 301-8.
- BAGNARDI, V., ROTA, M., BOTTERI, E., TRAMACERE, I., ISLAMI, F., FEDIRKO, V., SCOTTI, L., JENAB, M., TURATI, F., PASQUALI, E., PELUCCHI, C., BELLOCCO, R., NEGRI, E.,

- CORRAO, G., REHM, J., BOFFETTA, P. & LA VECCHIA, C. (2013b) Light alcohol drinking and cancer: a meta-analysis. *Ann Oncol*, 24, 301-8.
- BAGNARDI, V., ROTA, M., BOTTERI, E., TRAMACERE, I., ISLAMI, F., FEDIRKO, V., SCOTTI, L., JENAB, M., TURATI, F., PASQUALI, E., PELUCCHI, C., GALEONE, C., BELLOCCO, R., NEGRI, E., CORRAO, G., BOFFETTA, P. & LA VECCHIA, C. (2015) Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose-response meta-analysis. *Br J Cancer*, 112, 580-93.
- BESSAOU, F. & DAURES, J. P. (2008) Patterns of alcohol (especially wine) consumption and breast cancer risk: a case-control study among a population in Southern France. *Ann Epidemiol*, 18, 467-75.
- BIESALSKI, H. K. (2005) Meat as a component of a healthy diet - are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet? *Meat Sci*, 70, 509-24.
- BILAL, I., CHOWDHURY, A., DAVIDSON, J. & WHITEHEAD, S. (2014) Phytoestrogens and prevention of breast cancer: The contentious debate. *World J Clin Oncol*, 5, 705-12.
- BOYD, N. F., STONE, J., VOGT, K. N., CONNELLY, B. S., MARTIN, L. J. & MINKIN, S. (2003) Dietary fat and breast cancer risk revisited: a meta-analysis of the published literature. *Br J Cancer*, 89, 1672-85.
- BRAY, F., MCCARRON, P. & PARKIN, D. M. (2004) The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. *Breast Cancer Res*, 6, 229-39.
- BRENNAN, S. F., CANTWELL, M. M., CARDWELL, C. R., VELENTZIS, L. S. & WOODSIDE, J. V. (2010) Dietary patterns and breast cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*, 91, 1294-302.
- BROWN, L. M., GRIDLEY, G., WU, A. H., FALK, R. T., HAUPTMANN, M., KOLONEL, L. N., WEST, D. W., NOMURA, A. M., PIKE, M. C., HOOVER, R. N. & ZIEGLER, R. G. (2010) Low level alcohol intake, cigarette smoking and risk of breast cancer in Asian-American women. *Breast Cancer Res Treat*, 120, 203-10.
- BRUNING, P. F. & BONFRER, J. M. (1986) Free fatty acid concentrations correlated with the available fraction of estradiol in human plasma. *Cancer Res*, 46, 2606-9.
- BUCK, K., VRIELING, A., FLESCH-JANYS, D. & CHANG-CLAUDE, J. (2011) Dietary patterns and the risk of postmenopausal breast cancer in a German case-control study. *Cancer Causes Control*, 22, 273-82.
- BUCKLAND, G., TRAVIER, N., COTTET, V., GONZALEZ, C. A., LUJAN-BARROSO, L. & ET AL. (2013) Adherence to the mediterranean diet and risk of breast cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition cohort study. *Int J Cancer*, 132, 2918-27.
- CADE, J. E., TAYLOR, E. F., BURLEY, V. J. & GREENWOOD, D. C. (2011) Does the Mediterranean dietary pattern or the Healthy Diet Index influence the risk of breast cancer in a large British cohort of women? *Eur J Clin Nutr*, 65, 920-8.
- CALABRO, S., CUTRIGNELLI, M. I., GONZALEZ, O. J., CHIOFALO, B., GROSSI, M., TUDISCO, R., PANETTA, C. & INFASCELLI, F. (2014) Meat quality of buffalo young bulls fed faba bean as protein source. *Meat Sci*, 96, 591-6.
- CASTELLO, A., POLLAN, M., BUIJSSE, B., RUIZ, A., CASAS, A. M., BAENA-CANADA, J. M., LOPE, V., ANTOLIN, S., RAMOS, M., MUNOZ, M., LLUCH, A., DE JUAN-FERRE, A., JARA, C., JIMENO, M. A., ROSADO, P., DIAZ, E., GUILLEM, V., CARRASCO, E., PEREZ-GOMEZ, B., VIOQUE, J., BOEING, H. & MARTIN, M. (2014) Spanish Mediterranean diet and other dietary patterns and breast cancer risk: case-control EpiGEICAM study. *Br J Cancer*, 111, 1454-62.
- CHATENOUD, L., TAVANI, A., LA VECCHIA, C., JACOBS, D. R., JR., NEGRI, E., LEVI, F. & FRANCESCHI, S. (1998) Whole grain food intake and cancer risk. *Int J Cancer*, 77, 24-8.

- CHEN, G. C., LV, D. B., PANG, Z. & LIU, Q. F. (2013) Red and processed meat consumption and risk of stroke: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Clin Nutr*, 67, 91-5.
- CHEN, P., HU, P., XIE, D., QIN, Y., WANG, F. & WANG, H. (2010) Meta-analysis of vitamin D, calcium and the prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*, 121, 469-77.
- CHO, E., CHEN, W. Y., HUNTER, D. J., STAMPFER, M. J., COLDITZ, G. A., HANKINSON, S. E. & WILLET, W. C. (2006) Red meat intake and risk of breast cancer among premenopausal women. *Arch Intern Med*, 166, 2253-9.
- CHRYSOHOOU, C., PANAGIOTAKOS, D. B., PITSAVOS, C., DAS, U. N. & STEFANADIS, C. (2004) Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA Study. *J Am Coll Cardiol*, 44, 152-8.
- CIANFROCCA, M. & GOLDSTEIN, L. J. (2004) Prognostic and predictive factors in early-stage breast cancer. *Oncologist*, 9, 606-16.
- CORONADO, G. D., BEASLEY, J. & LIVAUDAIS, J. (2011) Alcohol consumption and the risk of breast cancer. *Salud Publica Mex*, 53, 440-7.
- COTTET, V., TOUVIER, M., FOURNIER, A., TOUILLAUD, M. S., LAFAY, L. & ET AL. (2009) Postmenopausal breast cancer risk and dietary patterns in the E3N-EPIC prospective cohort study. *Am J Epidemiol*, 170, 1257-67.
- COUTO, E., SANDIN, S., LOF, M., URSIN, G., ADAMI, H. O. & WEIDERPASS, E. (2013) Mediterranean dietary pattern and risk of breast cancer. *PLoS One*, 8, e55374.
- CRAIG, C. L., MARSHALL, A. L., SJOSTROM, M., BAUMAN, A. E., BOOTH, M. L., AINSWORTH, B. E., PRATT, M., EKELUND, U., YNGVE, A., SALLIS, J. F. & OJA, P. (2003) International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc*, 35, 1381-95.
- CROSS, A. J., LEITZMANN, M. F., GAIL, M. H., HOLLENBECK, A. R., SCHATZKIN, A. & SINHA, R. (2007) A prospective study of red and processed meat intake in relation to cancer risk. *PLoS Med*, 4, e325.
- CUI, Y. & ROHAN, T. E. (2006) Vitamin D, calcium, and breast cancer risk: a review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 15, 1427-37.
- CUTRIGNELLI, M. I., CALABRO, S., BOVERA, F., TUDISCO, R., D'URSO, S., MARCHIELLO, M., PICCOLO, V., INFASCELLI, F., (2008) Effects of protein source and energy value of diet on the performance of young Marchigiana bulls: 2. meat quality. *Ital. J. Anim. Sci*, 7, 271-285.
- D'ARCHIVIO, M., FILES, C., DI BENEDETTO, R., GARGIULO, R., GIOVANNINI, C. & MASELLA, R. (2007) Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Ann Ist Super Sanita*, 43, 348-61.
- DAVIS, D. L., AXELROD, D., BAILEY, L., GAYNOR, M. & SASCO, A. J. (1998) Rethinking breast cancer risk and the environment: the case for the precautionary principle. *Environ Health Perspect*, 106, 523-9.
- DE AZAMBUJA, E., CARDOSO, F., DE CASTRO, G., JR., COLOZZA, M., MANO, M. S., DURBECQ, V., SOTIRIOU, C., LARSIMONT, D., PICCART-GEHBART, M. J. & PAESMANS, M. (2007) Ki-67 as prognostic marker in early breast cancer: a meta-analysis of published studies involving 12,155 patients. *Br J Cancer*, 96, 1504-13.
- DEMETRIOU, C. A., HADJISAVVAS, A., LOIZIDOU, M. A., LOUCAIDES, G., NEOPHYTOU, I. & ET AL. (2012) The mediterranean dietary pattern and breast cancer risk in Greek-Cypriot women: a case-control study. *BMC Cancer*, 12, 113.
- DESCHASAU, M., ZELEG, L., POUCHIEU, C., HIS, M., HERCBERG, S., GALAN, P., LATINO-MARTEL, P. & TOUVIER, M. (2013) Prospective Association between Dietary Fiber Intake and Breast Cancer Risk. *PLoS One*, 8, e79718.
- DOLL, R. (1991) Urban and rural factors in the aetiology of cancer. *Int J Cancer*, 47, 803-10.
- DOLL, R. & PETO, R. (1981) The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. *J Natl Cancer Inst*, 66, 1191-308.

- DONG, J. Y. & QIN, L. Q. (2011) Soy isoflavones consumption and risk of breast cancer incidence or recurrence: a meta-analysis of prospective studies. *Breast Cancer Res Treat*, 125, 315-23.
- DONG, J. Y., ZHANG, L., HE, K. & QIN, L. Q. (2011) Dairy consumption and risk of breast cancer: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Breast Cancer Res Treat*, 127, 23-31.
- DUMITRESCU, R. G. & SHIELDS, P. G. (2005) The etiology of alcohol-induced breast cancer. *Alcohol*, 35, 213-25.
- EDEFONTI, V., RANDI, G., LA VECCHIA, C., FERRARONI, M. & DECARLI, A. (2009) Dietary patterns and breast cancer: a review with focus on methodological issues. *Nutr Rev*, 67, 297-314.
- EGEBERG, R., OLSEN, A., AUTRUP, H., CHRISTENSEN, J., STRIPP, C., TETENS, I., OVERVAD, K. & TJONNELAND, A. (2008) Meat consumption, N-acetyl transferase 1 and 2 polymorphism and risk of breast cancer in Danish postmenopausal women. *Eur J Cancer Prev*, 17, 39-47.
- EGEBERG, R., OLSEN, A., LOFT, S., CHRISTENSEN, J., JOHNSEN, N. F., OVERVAD, K. & TJONNELAND, A. (2009) Intake of whole grain products and risk of breast cancer by hormone receptor status and histology among postmenopausal women. *Int J Cancer*, 124, 745-50.
- ESCRICH, E., MORAL, R. & SOLANAS, M. (2011a) Olive oil, an essential component of the Mediterranean diet, and breast cancer. *Public Health Nutr*, 14, 2323-32.
- ESCRICH, E., SOLANAS, M., MORAL, R. & ESCRICH, R. (2011b) Modulatory effects and molecular mechanisms of olive oil and other dietary lipids in breast cancer. *Curr Pharm Des*, 17, 813-30.
- ESPOSITO, K., CIOTOLA, M. & GIUGLIANO, D. (2006) Mediterranean diet, endothelial function and vascular inflammatory markers. *Public Health Nutr*, 9, 1073-6.
- FEDIRKO, V., TRAMACERE, I., BAGNARDI, V., ROTA, M., SCOTTI, L., ISLAMI, F., NEGRI, E., STRAIF, K., ROMIEU, I., LA VECCHIA, C., BOFFETTA, P. & JENAB, M. (2011) Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose-response meta-analysis of published studies. *Ann Oncol*, 22, 1958-72.
- FELTON, J. S., KNIZE, M. G., SALMON, C. P., MALFATTI, M. A. & KULP, K. S. (2002) Human exposure to heterocyclic amine food mutagens/carcinogens: relevance to breast cancer. *Environ Mol Mutagen*, 39, 112-8.
- FERGUSON, L. R. (2010) Meat and cancer. *Meat Sci*, 84, 308-13.
- FERLAY, J., SOERJOMATARAM, I., ERVIK, M., DIKSHIT, R., ESER, S., MATHERS, C., REBELO, M., PARKIN, D. M., FORMAN, D. & BRAY, F. (2013) GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- FERLAY, J., SOERJOMATARAM, I., ERVIK, M., DIKSHIT, R., ESER, S., MATHERS, C., REBELO, M., PARKIN, D. M., FORMAN, D. & BRAY, F. (2014) Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012.
- FISHER, R. A. (1936) The Use of Multiple Measurements in Taxonomic Problems. *Annals of Eugenics*, 7, 179-188.
- FORMAN, M. R. (2007) Changes in dietary fat and fiber and serum hormone concentrations: nutritional strategies for breast cancer prevention over the life course. *J Nutr*, 137, 170S-174S.
- FOUNTOULAKIS, K. N., LACOVIDES, A., SAMOLIS, S., KLEANTHOUS, S., KAPRINIS, S. G., ST KAPRINIS, G. & BECH, P. (2001) Reliability, validity and psychometric properties of the Greek translation of the Zung Depression Rating Scale. *BMC Psychiatry*, 1, 6.
- FOUNTOULAKIS, K. N., PAPADOPOULOU, M., KLEANTHOUS, S., PAPADOPOULOU, A., BIZELI, V., NIMATOUDIS, I., IACOVIDES, A. & KAPRINIS, G. S. (2006) Reliability and

- psychometric properties of the Greek translation of the State-Trait Anxiety Inventory form Y: preliminary data. *Ann Gen Psychiatry*, 5, 2.
- FRIEDENREICH, C. M. (2011) Physical activity and breast cancer: review of the epidemiologic evidence and biologic mechanisms. *Recent Results Cancer Res*, 188, 125-39.
- FU, Z., DEMING, S. L., FAIR, A. M., SHRUBSOLE, M. J., WUJCIK, D. M., SHU, X. O., KELLEY, M. & ZHENG, W. (2011) Well-done meat intake and meat-derived mutagen exposures in relation to breast cancer risk: the Nashville Breast Health Study. *Breast Cancer Res Treat*, 129, 919-28.
- GASCO, M., SHAMI, S. & CROOK, T. (2002) The p53 pathway in breast cancer. *Breast Cancer Res*, 4, 70-6.
- GIACCO, R., DELLA PEPA, G., LUONGO, D. & RICCARDI, G. (2011) Whole grain intake in relation to body weight: from epidemiological evidence to clinical trials. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 21, 901-8.
- GIORDANO, G., GUARINI, P., FERRARI, P., BIONDI-ZOCCAI, G., SCHIAVONE, B. & GIORDANO, A. (2010) Beneficial impact on cardiovascular risk profile of water buffalo meat consumption. *Eur J Clin Nutr*, 64, 1000-6.
- GROSSO, G., BUSCEMI, S., GALVANO, F., MISTRETTA, A., MARVENTANO, S., LA VELA, V., DRAGO, F., GANGI, S., BASILE, F. & BIONDI, A. (2013) Mediterranean diet and cancer: epidemiological evidence and mechanism of selected aspects. *BMC Surg*, 13 Suppl 2, S14.
- HIROSE, K., MATSUO, K., IWATA, H. & TAJIMA, K. (2007) Dietary patterns and the risk of breast cancer in Japanese women. *Cancer Sci*, 98, 1431-8.
- HU, F. B. (2002) Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. *Curr Opin Lipidol*, 13, 3-9.
- HUI, C., QI, X., QIANYONG, Z., XIAOLI, P., JUNDONG, Z. & MANTIAN, M. (2013) Flavonoids, flavonoid subclasses and breast cancer risk: a meta-analysis of epidemiologic studies. *PLoS One*, 8, e54318.
- JACOBS, D. R., JR., MARQUART, L., SLAVIN, J. & KUSHI, L. H. (1998) Whole-grain intake and cancer: an expanded review and meta-analysis. *Nutr Cancer*, 30, 85-96.
- JACQUES, P. F. & TUCKER, K. L. (2001) Are dietary patterns useful for understanding the role of diet in chronic disease? *Am J Clin Nutr*, 73, 1-2.
- JEMAL, A., BRAY, F., CENTER, M. M., FERLAY, J., WARD, E. & FORMAN, D. (2011) Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 61, 69-90.
- KALLIANPUR, A. R., LEE, S. A., GAO, Y. T., LU, W., ZHENG, Y., RUAN, Z. X., DAI, Q., GU, K., SHU, X. O. & ZHENG, W. (2008) Dietary animal-derived iron and fat intake and breast cancer risk in the Shanghai Breast Cancer Study. *Breast Cancer Res Treat*, 107, 123-32.
- KASTORINI, C. M., MILIONIS, H. J., ESPOSITO, K., GIUGLIANO, D., GOUDEVENOS, J. A. & PANAGIOTAKOS, D. B. (2011) The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol*, 57, 1299-313.
- KHODARAHMI, M. & AZADBAKHT, L. (2014) The association between different kinds of fat intake and breast cancer risk in women. *Int J Prev Med*, 5, 6-15.
- KIM (1978) J-O, Mueller C. Factor analysis: statistical methods and practical issues. Newbury Park, CA: Sage Publications, Inc;.
- KONTOGIANNI, M. D., PANAGIOTAKOS, D. B., PITSAVOS, C., CHRYSOHOOU, C. & STEFANADIS, C. (2008) Relationship between meat intake and the development of acute coronary syndromes: the CARDIO2000 case-control study. *Eur J Clin Nutr*, 62, 171-7.

- KONTOU, N., PSALTOPOULOU, T., PANAGIOTAKOS, D., DIMOPOULOS, M. A. & LINOS, A. (2011) The mediterranean diet in cancer prevention: a review. *J Med Food*, 14, 1065-78.
- KUSHI, L. H., DOYLE, C., MCCULLOUGH, M., ROCK, C. L., DEMARK-WAHNEFRIED, W., BANDERA, E. V., GAPSTUR, S., PATEL, A. V., ANDREWS, K. & GANSLER, T. (2012) American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity. *CA Cancer J Clin*, 62, 30-67.
- LARSSON, S. C. & ORSINI, N. (2014) Red meat and processed meat consumption and all-cause mortality: a meta-analysis. *Am J Epidemiol*, 179, 282-9.
- LARSSON, S. C. & WOLK, A. (2012) Red and processed meat consumption and risk of pancreatic cancer: meta-analysis of prospective studies. *Br J Cancer*, 106, 603-7.
- LEW, J. Q., FREEDMAN, N. D., LEITZMANN, M. F., BRINTON, L. A., HOOVER, R. N., HOLLENBECK, A. R., SCHATZKIN, A. & PARK, Y. (2009) Alcohol and risk of breast cancer by histologic type and hormone receptor status in postmenopausal women: the NIH-AARP Diet and Health Study. *Am J Epidemiol*, 170, 308-17.
- LIEHR, J. G. & JONES, J. S. (2001) Role of iron in estrogen-induced cancer. *Curr Med Chem*, 8, 839-49.
- LIMA, F. E., LATORRE MDO, R., COSTA, M. J. & FISBERG, R. M. (2008) Diet and cancer in Northeast Brazil: evaluation of eating habits and food group consumption in relation to breast cancer. *Cad Saude Publica*, 24, 820-8.
- LINDSCHOU HANSEN, J., TOLSTRUP, J. S., JENSEN, M. K., GRONBAEK, M., TJONNELAND, A., SCHMIDT, E. B. & OVERVAD, K. (2011) Alcohol intake and risk of acute coronary syndrome and mortality in men and women with and without hypertension. *Eur J Epidemiol*, 26, 439-47.
- LINK, L. B., CANCHOLA, A. J., BERNSTEIN, L., CLARKE, C. A., STRAM, D. O., URSIN, G. & HORN-ROSS, P. L. (2013) Dietary patterns and breast cancer risk in the California Teachers Study cohort. *Am J Clin Nutr*, 98, 1524-32.
- LINK, L. B. & POTTER, J. D. (2004) Raw versus cooked vegetables and cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 13, 1422-35.
- LISSOWSKA, J., GAUDET, M. M., BRINTON, L. A., PEPLONSKA, B., SHERMAN, M., SZESZENIA-DABROWSKA, N., ZATONSKI, W. & GARCIA-CLOSAS, M. (2008) Intake of fruits, and vegetables in relation to breast cancer risk by hormone receptor status. *Breast Cancer Res Treat*, 107, 113-7.
- LOF, M. & WEIDERPASS, E. (2009) Impact of diet on breast cancer risk. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 21, 80-5.
- LUO, J., MARGOLIS, K. L., WACTAWSKI-WENDE, J., HORN, K., MESSINA, C. & ET AL. (2011) Association of active and passive smoking with risk of breast cancer among postmenopausal women: a prospective cohort study. *BMJ*, 342, d1016.
- MAGEE, P. J. & ROWLAND, I. R. (2004) Phyto-oestrogens, their mechanism of action: current evidence for a role in breast and prostate cancer. *Br J Nutr*, 91, 513-31.
- MARDIA (1979) KV, Kent JT, Bibby JM. Multivariate analysis. 1st ed. New York, NY: Academic Press;.
- MARTIN, L. J., LI, Q., MELNICHOUK, O., GREENBERG, C., MINKIN, S., HISLOP, G. & BOYD, N. F. (2011) A randomized trial of dietary intervention for breast cancer prevention. *Cancer Res*, 71, 123-33.
- MCNEILL, S. H. (2014) Inclusion of red meat in healthful dietary patterns. *Meat Sci*, 98, 452-60.
- MELLEN, P. B., WALSH, T. F. & HERRINGTON, D. M. (2008) Whole grain intake and cardiovascular disease: a meta-analysis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 18, 283-90.

- MESSINA, M. & WU, A. H. (2009) Perspectives on the soy-breast cancer relation. *Am J Clin Nutr*, 89, 1673S-1679S.
- MICHELS, K. B., MOHLLAJEE, A. P., ROSET-BAHMANYAR, E., BEEHLER, G. P. & MOYSICH, K. B. (2007) Diet and breast cancer: a review of the prospective observational studies. *Cancer*, 109, 2712-49.
- MISHRA, V. M., DEVANSHI (2011) Natural Phytoestrogens in Health and Diseases. *JACM*, 12, 205-11.
- MITROU, P. N., KIPNIS, V., THIEBAUT, A. C., REEDY, J., SUBAR, A. F., WIRFALT, E., FLOOD, A., MOUW, T., HOLLENBECK, A. R., LEITZMANN, M. F. & SCHATZKIN, A. (2007) Mediterranean dietary pattern and prediction of all-cause mortality in a US population: results from the NIH-AARP Diet and Health Study. *Arch Intern Med*, 167, 2461-8.
- MOUROUTI, N., KONTOGIANNI, M. D., PAPAVALAGELIS, C. & PANAGIOTAKOS, D. B. (2015a) Diet and breast cancer: a systematic review. *Int J Food Sci Nutr*, 66, 1-42.
- MOUROUTI, N., KONTOGIANNI, M. D., PAPAVALAGELIS, C., PLYTZANOPOULOU, P., VASSILAKOU, T., MALAMOS, N., LINOS, A. & PANAGIOTAKOS, D. B. (2014a) Adherence to the Mediterranean diet is associated with lower likelihood of breast cancer: a case-control study. *Nutr Cancer*, 66, 810-7.
- MOUROUTI, N., KONTOGIANNI, M. D., PAPAVALAGELIS, C., PLYTZANOPOULOU, P., VASSILAKOU, T., PSALTOPOULOU, T., MALAMOS, N., LINOS, A. & PANAGIOTAKOS, D. B. (2015b) Meat consumption and breast cancer: a case-control study in women. *Meat Sci*, 100, 195-201.
- MOUROUTI, N., KONTOGIANNI, M. D., PAPAVALAGELIS, C., PSALTOPOULOU, T., KAPETANSTRATAKI, M. G., PLYTZANOPOULOU, P., VASSILAKOU, T., MALAMOS, N., LINOS, A. & PANAGIOTAKOS, D. B. (2015c) Whole Grain Consumption and Breast Cancer: A Case-Control Study in Women. *J Am Coll Nutr*, 1-7.
- MOUROUTI, N., KONTOGIANNI, M. D., PAPAVALAGELIS, C., PSALTOPOULOU, T., PLYTZANOPOULOU, P., VASSILAKOU, T., MALAMOS, N., LINOS, A. & PANAGIOTAKOS, D. (2014b) The J-shaped association between alcohol consumption and breast cancer: A case-control study. *Current Nutrition and Food Science* 10, 120-127.
- MOUROUTI, N., PAPAVALAGELIS, C., PLYTZANOPOULOU, P., KONTOGIANNI, M., VASSILAKOU, T., MALAMOS, N., LINOS, A. & PANAGIOTAKOS, D. (2015d) Dietary patterns and breast cancer: a case-control study in women. *Eur J Nutr*, 54, 609-17.
- MOUROUTI, N., PAPAVALAGELIS, C., PSALTOPOULOU, T., ARAVANTINOS, G., SAMANTAS, E., FILOPOULOS, E., MANOUSOU, A., PLYTZANOPOULOU, P., VASSILAKOU, T., MALAMOS, N. & PANAGIOTAKOS, D. B. (2013) Aims, design and methods of a case-control study for the assessment of the role of dietary habits, eating behaviors and environmental factors, on the development of breast cancer. *Maturitas*, 74, 31-6.
- MURKIES, A. L., WILCOX, G. & DAVIS, S. R. (1998) Clinical review 92: Phytoestrogens. *J Clin Endocrinol Metab*, 83, 297-303.
- MURTAUGH, M. A., SWEENEY, C., GIULIANO, A. R., HERRICK, J. S., HINES, L. & ET AL. (2008) Diet patterns and breast cancer risk in Hispanic and non-Hispanic white women: the Four-Corners Breast Cancer Study. *Am J Clin Nutr*, 87, 978-84.
- NELSON, H. D., ZAKHER, B., CANTOR, A., FU, R., GRIFFIN, J., O'MEARA, E. S., BUIST, D. S., KERLIKOWSKA, K., VAN RAVESTEYN, N. T., TRENTHAM-DIETZ, A., MANDELBLATT, J. S. & MIGLIORETTI, D. L. (2012) Risk factors for breast cancer for women aged 40 to 49 years: a systematic review and meta-analysis. *Ann Intern Med*, 156, 635-48.
- NEWBY, P. K. & TUCKER, K. L. (2004) Empirically derived eating patterns using factor or cluster analysis: a review. *Nutr Rev*, 62, 177-203.

- NICODEMUS, K. K., JACOBS, D. R., JR. & FOLSOM, A. R. (2001) Whole and refined grain intake and risk of incident postmenopausal breast cancer (United States). *Cancer Causes Control*, 12, 917-25.
- NUNEZ-CORDOBA, J. M., VALENCIA-SERRANO, F., TOLEDO, E., ALONSO, A. & MARTINEZ-GONZALEZ, M. A. (2009) The Mediterranean diet and incidence of hypertension: the Seguimiento Universidad de Navarra (SUN) Study. *Am J Epidemiol*, 169, 339-46.
- OMONI, A. O. & ALUKO, R. E. (2005) Soybean foods and their benefits: potential mechanisms of action. *Nutr Rev*, 63, 272-83.
- PALA, V., KROGH, V., BERRINO, F., SIERI, S., GRIONI, S., TJONNELAND, A., OLSEN, A., JAKOBSEN, M. U., OVERVAD, K., CLAVEL-CHAPELON, F., BOUTRON-ROUAULT, M. C., ROMIEU, I., LINSEISEN, J., ROHRMANN, S., BOEING, H., STEFFEN, A., TRICHOPOULOU, A., BENETOU, V., NASKA, A., VINEIS, P., TUMINO, R., PANICO, S., MASALA, G., AGNOLI, C., ENGESET, D., SKEIE, G., LUND, E., ARDANAZ, E., NAVARRO, C., SANCHEZ, M. J., AMIANO, P., SVATETZ, C. A., RODRIGUEZ, L., WIRFALT, E., MANJER, J., LENNER, P., HALLMANS, G., PEETERS, P. H., VAN GILS, C. H., BUENO-DE-MESQUITA, H. B., VAN DUJNHOFEN, F. J., KEY, T. J., SPENCER, E., BINGHAM, S., KHAW, K. T., FERRARI, P., BYRNES, G., RINALDI, S., NORAT, T., MICHAUD, D. S. & RIBOLI, E. (2009) Meat, eggs, dairy products, and risk of breast cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort. *Am J Clin Nutr*, 90, 602-12.
- PANAGIOTAKOS, D., KALOGEROPOULOS, N., PITSAVOS, C., ROUSSINO, G., PALLIOU, K., CHRYSOHOOU, C. & STEFANADIS, C. (2009a) Validation of the MedDietScore via the determination of plasma fatty acids. *Int J Food Sci Nutr*, 60 Suppl 5, 168-80.
- PANAGIOTAKOS, D., KALOGEROPOULOS, N., PITSAVOS, C., ROUSSINO, G., PALLIOU, K. & ET AL. (2009b) Validation of the MedDietScore via the determination of plasma fatty acids. *Int J Food Sci Nutr*, 60 Suppl 5, 168-80.
- PANAGIOTAKOS, D. B., DIMAKOPOULOU, K., KATSOUYANNI, K., BELLANDER, T., GRAU, M. & ET AL. (2009c) Mediterranean diet and inflammatory response in myocardial infarction survivors. *Int J Epidemiol*, 38, 856-66.
- PANAGIOTAKOS, D. B., KOURLABA, G., ZEIMBEKIS, A., TOUTOUZAS, P. & POLYCHRONOPOULOS, E. (2007a) The J-shape association of alcohol consumption on blood pressure levels, in elderly people from Mediterranean Islands (MEDIS epidemiological study). *J Hum Hypertens*, 21, 585-7.
- PANAGIOTAKOS, D. B., PITSAVOS, C., ARVANITI, F. & STEFANADIS, C. (2007b) Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. *Prev Med*, 44, 335-40.
- PANAGIOTAKOS, D. B., PITSAVOS, C. & STEFANADIS, C. (2006) Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 16, 559-68.
- PAPATHANASIOU, G., GEORGOUDIS, G., PAPANDREOU, M., SPYROPOULOS, P., GEORGAKOPOULOS, D. & ET AL. (2009a) Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol*, 50, 283-94.
- PAPATHANASIOU, G., GEORGOUDIS, G., PAPANDREOU, M., SPYROPOULOS, P., GEORGAKOPOULOS, D., KALFAKAKOU, V. & EVANGELOU, A. (2009b) Reliability measures of the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ) in Greek young adults. *Hellenic J Cardiol*, 50, 283-94.
- PITSAVOS, C., MAKRILAKIS, K., PANAGIOTAKOS, D. B., CHRYSOHOOU, C., IOANNIDIS, I., DIMOSTHENOPOULOS, C., STEFANADIS, C. & KATSILAMBROS, N. (2005) The J-shape

- effect of alcohol intake on the risk of developing acute coronary syndromes in diabetic subjects: the CARDIO2000 II Study. *Diabet Med*, 22, 243-8.
- PRENTICE, R. L., CAAN, B., CHLEBOWSKI, R. T., PATTERSON, R., KULLER, L. H., OCKENE, J. K., MARGOLIS, K. L., LIMACHER, M. C., MANSON, J. E., PARKER, L. M., PASKETT, E., PHILLIPS, L., ROBBINS, J., ROSSOUW, J. E., SARTO, G. E., SHIKANY, J. M., STEFANICK, M. L., THOMSON, C. A., VAN HORN, L., VITOLINS, M. Z., WACTAWSKI-WENDE, J., WALLACE, R. B., WASSERTHEIL-SMOLLER, S., WHITLOCK, E., YANO, K., ADAMS-CAMPBELL, L., ANDERSON, G. L., ASSAF, A. R., BERESFORD, S. A., BLACK, H. R., BRUNNER, R. L., BRZYSKI, R. G., FORD, L., GASS, M., HAYS, J., HEBER, D., HEISS, G., HENDRIX, S. L., HSIA, J., HUBBELL, F. A., JACKSON, R. D., JOHNSON, K. C., KOTCHEN, J. M., LACROIX, A. Z., LANE, D. S., LANGER, R. D., LASSER, N. L. & HENDERSON, M. M. (2006) Low-fat dietary pattern and risk of invasive breast cancer: the Women's Health Initiative Randomized Controlled Dietary Modification Trial. *JAMA*, 295, 629-42.
- RIGAULT, C., MAZUE, F., BERNARD, A., DEMARQUOY, J. & LE BORGNE, F. (2008) Changes in l-carnitine content of fish and meat during domestic cooking. *Meat Sci*, 78, 331-5.
- RIMM, E. B., KLATSKY, A., GROBBEE, D. & STAMPFER, M. J. (1996) Review of moderate alcohol consumption and reduced risk of coronary heart disease: is the effect due to beer, wine, or spirits. *BMJ*, 312, 731-6.
- ROMIEU, I. (2011) Diet and breast cancer. *Salud Publica Mex*, 53, 430-9.
- RONKSLEY, P. E., BRIEN, S. E., TURNER, B. J., MUKAMAL, K. J. & GHALI, W. A. (2011) Association of alcohol consumption with selected cardiovascular disease outcomes: a systematic review and meta-analysis. *BMJ*, 342, d671.
- SCHATZKIN, A., MOUW, T., PARK, Y., SUBAR, A. F., KIPNIS, V., HOLLENBECK, A., LEITZMANN, M. F. & THOMPSON, F. E. (2007) Dietary fiber and whole-grain consumption in relation to colorectal cancer in the NIH-AARP Diet and Health Study. *Am J Clin Nutr*, 85, 1353-60.
- SCHWINGSHACKL, L. & HOFFMANN, G. (2014) Adherence to Mediterranean diet and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Int J Cancer*, 135, 1884-97.
- SEITZ, H. K., PELUCCHI, C., BAGNARDI, V. & LA VECCHIA, C. (2012) Epidemiology and pathophysiology of alcohol and breast cancer: Update 2012. *Alcohol Alcohol*, 47, 204-12.
- SERRA-MAJEM, L., ROMAN, B. & ESTRUCH, R. (2006) Scientific evidence of interventions using the Mediterranean diet: a systematic review. *Nutr Rev*, 64, S27-47.
- SLAVIN, J. (2004) Whole grains and human health. *Nutr Res Rev*, 17, 99-110.
- SLAVIN, J. L. (2000) Mechanisms for the impact of whole grain foods on cancer risk. *J Am Coll Nutr*, 19, 300S-307S.
- SNYDERWINE, E. G. (2002) Mammary gland carcinogenesis by food-derived heterocyclic amines: metabolism and additional factors influencing carcinogenesis by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Environ Mol Mutagen*, 39, 165-70.
- SNYDERWINE, E. G., VENUGOPAL, M. & YU, M. (2002) Mammary gland carcinogenesis by food-derived heterocyclic amines and studies on the mechanisms of carcinogenesis of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP). *Mutat Res*, 506-507, 145-52.
- SOFI, F., ABBATE, R., GENSINI, G. F. & CASINI, A. (2010) Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*, 92, 1189-96.
- SOFI, F., CESARI, F., ABBATE, R., GENSINI, G. F. & CASINI, A. (2008) Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. *BMJ*, 337, a1344.

- SPIELBERGER (1970) CDGRLLRE:Manual for the State-Trait Anxiety Inventory (Self-Evaluation Questionnaire). Palo Alto, CA. *Consulting Psychologists press*.
- STEINMETZ, K. A. & POTTER, J. D. (1991) Vegetables, fruit, and cancer. II. Mechanisms. *Cancer Causes Control*, 2, 427-42.
- STEINMETZ, K. A. & POTTER, J. D. (1996) Vegetables, fruit, and cancer prevention: a review. *J Am Diet Assoc*, 96, 1027-39.
- STUCKEY, A. (2011) Breast cancer: epidemiology and risk factors. *Clin Obstet Gynecol*, 54, 96-102.
- TAYLOR, E. F., BURLEY, V. J., GREENWOOD, D. C. & CADE, J. E. (2007) Meat consumption and risk of breast cancer in the UK Women's Cohort Study. *Br J Cancer*, 96, 1139-46.
- THOMSON, C. A. (2012) Diet and breast cancer: understanding risks and benefits. *Nutr Clin Pract*, 27, 636-50.
- TRAMACERE, I., NEGRI, E., PELUCCHI, C., BAGNARDI, V., ROTA, M., SCOTTI, L., ISLAMI, F., CORRAO, G., LA VECCHIA, C. & BOFFETTA, P. (2012) A meta-analysis on alcohol drinking and gastric cancer risk. *Ann Oncol*, 23, 28-36.
- TRAMACERE, I., SCOTTI, L., JENAB, M., BAGNARDI, V., BELLOCCO, R., ROTA, M., CORRAO, G., BRAVI, F., BOFFETTA, P. & LA VECCHIA, C. (2010) Alcohol drinking and pancreatic cancer risk: a meta-analysis of the dose-risk relation. *Int J Cancer*, 126, 1474-86.
- TRICHOPOULOS, D. & LAGIOU, P. (2001) Dietary patterns and mortality. *Br J Nutr*, 85, 133-4.
- TRICHOPOULOU, A., BAMIA, C., LAGIOU, P. & TRICHOPOULOS, D. (2010) Conformity to traditional Mediterranean diet and breast cancer risk in the Greek EPIC (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) cohort. *Am J Clin Nutr*, 92, 620-5.
- TRICHOPOULOU, A., BAMIA, C. & TRICHOPOULOS, D. (2005) Mediterranean diet and survival among patients with coronary heart disease in Greece. *Arch Intern Med*, 165, 929-35.
- TUMAS, N., NICLIS, C., ABALLAY, L. R., OSELLA, A. R. & DIAZ MDEL, P. (2014) Traditional dietary pattern of South America is linked to breast cancer: an ongoing case-control study in Argentina. *Eur J Nutr*, 53, 557-66.
- TYROVOLAS, S. & PANAGIOTAKOS, D. B. (2010) The role of Mediterranean type of diet on the development of cancer and cardiovascular disease, in the elderly: a systematic review. *Maturitas*, 65, 122-30.
- UNESCO (2010) Representative List of the Intangible Cultural Heritage of Humanity (www.unesco.org/culture/ich/index.php?lg=en&pg=00011&RL=00394).
- VALENZUELA, C., DE ROMANA, D. L., OLIVARES, M., MORALES, M. S. & PIZARRO, F. (2009) Total iron and heme iron content and their distribution in beef meat and viscera. *Biol Trace Elem Res*, 132, 103-11.
- VALENZUELA, C., DE ROMANA, D. L., SCHMIEDE, C., MORALES, M. S., OLIVARES, M. & PIZARRO, F. (2011) Total iron, heme iron, zinc, and copper content in rabbit meat and viscera. *Biol Trace Elem Res*, 143, 1489-96.
- VERA-RAMIREZ, L., RAMIREZ-TORTOSA, M. C., SANCHEZ-ROVIRA, P., RAMIREZ-TORTOSA, C. L., GRANADOS-PRINCIPAL, S., LORENTE, J. A. & QUILES, J. L. (2012) Impact of diet on breast cancer risk: a review of experimental and observational studies. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 53, 49-75.
- VERBERNE, L., BACH-FAIG, A., BUCKLAND, G. & SERRA-MAJEM, L. (2010) Association between the Mediterranean diet and cancer risk: a review of observational studies. *Nutr Cancer*, 62, 860-70.
- WCRF/AICR Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC: AICR; 2007.
- WCRF/AICR (2007a) Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC: AICR,.

- WCRF/AICR (2007b) Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. Washington, DC: AICR.
- WCRF/AICR (2010) Continuous Update Project Report. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Breast Cancer.
- WILLIAMSON, C. S., FOSTER, R.K., STANNER, S.A., BUTRISS, J.L., (2005) Red meat in the diet. British Nutrition Foundation. *Nutrition Bulletin*, 30, 323-335.
- WOOD, J. D. & ENSER, M. (1997) Factors influencing fatty acids in meat and the role of antioxidants in improving meat quality. *Br J Nutr*, 78 Suppl 1, S49-60.
- WU, A. H., KOH, W. P., WANG, R., LEE, H. P. & YU, M. C. (2008) Soy intake and breast cancer risk in Singapore Chinese Health Study. *Br J Cancer*, 99, 196-200.
- WU, A. H., PIKE, M. C. & STRAM, D. O. (1999) Meta-analysis: dietary fat intake, serum estrogen levels, and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*, 91, 529-34.
- WU, A. H., YU, M. C., TSENG, C. C., STANCZYK, F. Z. & PIKE, M. C. (2009) Dietary patterns and breast cancer risk in Asian American women. *Am J Clin Nutr*, 89, 1145-54.
- WU, Y., ZHANG, D. & KANG, S. (2013) Physical activity and risk of breast cancer: a meta-analysis of prospective studies. *Breast Cancer Res Treat*, 137, 869-82.
- YE, E. Q., CHACKO, S. A., CHOU, E. L., KUGIZAKI, M. & LIU, S. (2012) Greater whole-grain intake is associated with lower risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease, and weight gain. *J Nutr*, 142, 1304-13.
- ZHANG, C. X., HO, S. C., FU, J. H., CHENG, S. Z., CHEN, Y. M. & LIN, F. Y. (2011) Dietary patterns and breast cancer risk among Chinese women. *Cancer Causes Control*, 22, 115-24.
- ZHANG, M. & HOLMAN, C. D. (2011) Low-to-moderate alcohol intake and breast cancer risk in Chinese women. *Br J Cancer*, 105, 1089-95.
- ZHANG, S., HUNTER, D. J., HANKINSON, S. E., GIOVANNUCCI, E. L., ROSNER, B. A., COLDITZ, G. A., SPEIZER, F. E. & WILLETT, W. C. (1999) A prospective study of folate intake and the risk of breast cancer. *JAMA*, 281, 1632-7.
- ZHONG, X. & ZHANG, C. (2012) [Soy food intake and breast cancer risk: a meta-analysis]. *Wei Sheng Yan Jiu*, 41, 670-6.
- ZUNG, W. W. (1965) A Self-Rating Depression Scale. *Arch Gen Psychiatry*, 12, 63-70.