

برآورد اثر متقابل ژن-محیط در سرطان پستان با مطالعات مورد-شاهد و فقط مورد

دکتر علی اردلان: استادیار انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر کوروش هلاکویی نایینی: استاد گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه
علوم پزشکی تهران - نویسنده رابط: Holakoin@sina.tums.ac.ir
دکتر محمود محمودی: استاد گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی
تهران
دکتر رضا مجدزاده: دانشیار گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی
تهران
دکتر پویک درخشنده پیکر: استادیار گروه ژنتیک انسانی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
دریافت: ۸۴/۳/۱ پذیرش: ۸۴/۴/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: محدودیتهای روشهای مطالعاتی سنتی مثل مطالعه مورد-شاهد در برآورد اثر متقابل ژن-محیط منجر به ایجاد برخی روشهای غیر سنتی شده است. این مطالعه اثر متقابل سابقه خانوادگی درجه اول سرطان پستان را با فاکتورهای باروری و قاعدگی برآورد کرده و همچنین کارایی آماری و توان دو روش مورد-شاهد و فقط-مورد را در این زمینه مقایسه نموده است.
روش کار: بر اساس مطالعه مورد-شاهد همسان شده ای در سال ۱۳۸۳ در استان مازندران، ۲۵۰ زن مبتلا به سرطان پستان (تایید شده با بیوپسی) و ۲۵۰ شاهد همسان شده از نظر سن (با فاصله ± 3 سال) از همسایگان مصاحبه شدند. سابقه خانوادگی سرطان پستان در خواهر و/یا مادر بعنوان فاکتور نماینده ژنتیکی در نظر گرفته شد و فاکتورهای سن اولین زایمان، تعداد بارداری، سابقه شیر دهی، سن اولین قاعدگی و سابقه قاعدگی نامنظم بعنوان فاکتورهای محیطی لحاظ شدند. با استفاده از نرم افزار STATA ۸.۰ اثرات اصلی و متقابل در مطالعه مورد-شاهد با آنالیز رگرسیون لجستیک شرطی برآورد شدند و مدل رگرسیون لجستیک برای برآورد اثرات متقابل در آنالیز فقط-مورد، پس از بررسی فرض استقلال، استفاده شد. همچنین توان دو مطالعه مورد نظر برای برآورد اثر متقابل توسط نرم افزار QUANTO ۰.۵ محاسبه شد.

نتایج: فاکتور سن در اولین زایمان واجد فرض استقلال نبود ($p=0.02$) و لذا برای آنالیز فقط-مورد لحاظ نشد. هیچیک از اثرات متقابل، ارتباط معنی داری (در سطح اطمینان ۹۵٪) را در آنالیز مطالعه مورد-شاهد نشان ندادند، لیکن در آنالیز فقط-مورد اثرات متقابل منفی معنی دار آماری برای متغیرهای تعداد بارداری و سابقه شیردهی و اثر متقابل مثبت معنی دار برای متغیر سن اولین قاعدگی با سابقه فامیلی نشان داده شدند. تمام برآوردهای دامنه اطمینان ۹۵٪ نسبت شانس در آنالیز فقط-مورد کوچکتر از آنالیز مورد-شاهد بودند. همچنین توان مطالعه فقط-مورد برای برآورد اثر متقابل ژن-محیط بیش از مطالعه مورد-شاهد بود (از ۱۰.۸٪ تا ۲۳.۲٪ برابر).

نتیجه گیری: به شرط صادق بودن فرض استقلال، مطالعه فقط-مورد نسبت به مطالعه مورد-شاهد دارای کارایی آماری و توان بیشتری برای تعیین اثر متقابل ژن-محیط در سرطان پستان است. در بررسی فرض استقلال بر اساس داده های گروه شاهد نیز باید به خطر پایه بیماری و مقدار اثرات متقابل اصلی و همچنین مبنای تئوریک دو فاکتور ژن و محیط در ارتباط با سایر متغیرهای همراه توجه نمود. بررسی یک موتاسیون ژنتیکی که فرد از آن مطلع نیست، مطمئن ترین حالت در یک مطالعه فقط-مورد است، هرچند که نقش یک متغیر همراه سوم همیشه باید مد نظر باشد.

واژگان کلیدی: اثر متقابل ژن-محیط، مطالعه مورد-شاهد، مطالعه فقط-مورد، سرطان پستان، کارایی، توان آماری

مقدمه:

برآورد اثر متقابل ژن-محیط (Gene-Environment interaction) مورد توجه دانشمندان در فیلد اپیدمیولوژی نوین قرار گرفته است (Becher H. et al. ۲۰۰۳). در سرطان پستان نیز مطالعات متعددی به این موضوع پرداخته اند که آیا اثر فاکتورهای محیطی بر ابتلا به این سرطان با توجه به وضعیت استعداد ژنتیکی متفاوت است یا خیر. در این راستا بسیاری مطالعات از خصوصیات فنوتیپیک بعنوان فاکتور نماینده ژنتیکی استفاده کرده اند.

مطالعات مورد-شاهد (Case-control) بطور چشمگیری در بررسی اثر متقابل ژن - محیط بکار گرفته شده اند (Yang Q. et al. ۱۹۹۷, Thompson W.D. ۱۹۹۴). لیکن بدلیل برخی ملاحظات و محدودیتها از قبیل انتخاب گروه شاهد مناسب، زمان و هزینه بررسی فاکتورهای ژنتیکی در گروه شاهد و زیاد بودن حجم نمونه مورد نیاز تعیین اثر متقابل (بخصوص در صورت نادر بودن فاکتور ژنتیکی) (Goldstein A.M. et al. ۱۹۹۷, Hwang S.J. et al. ۱۹۹۴)، یعنی حدود ۴ برابر برای برآورد اثر متقابل با مقدار مشابه (Smith P.G. and Day N.E. ۱۹۸۴)، طراحی های متفاوت با طراحی های سنتی به وجود آمدند. مطالعه فقط-مورد (Case-only) یکی از این طراحی ها برای برآورد اثر متقابل ضربی فاکتورهای ژنتیکی-محیطی است که در آن در گروه بیماران، نمونه های با و بدون استعداد ژنتیکی از نظر فراوانی عامل مواجهه محیطی مقایسه می شوند (Yang Q. et al. ۱۹۹۷).

بنا به دلیل ذکر شده در بالا، در این مطالعه اثر متقابل سابقه خانوادگی درجه اول سرطان پستان با فاکتورهای باروری و قاعدگی برآورد شده اند و همچنین کارآیی آماری و توان دو روش مورد-شاهد و فقط-مورد را در این زمینه مورد مقایسه قرار گرفته اند.

اصطلاح اثر متقابل ژن-محیط در متون، اصطلاح عامی است که کلمه ژن الزاما به معنای یک ژن مستعد کننده و کلمه محیط الزاما به معنای فاکتورهای مستقیما منتسب به محیط این اصطلاح در مطالعه حاضر نیز برای بیان اثر متقابل سابقه خانوادگی سرطان پستان با فاکتورهای باروری و قاعدگی استفاده شده است. گر چه بطور ایده ال بهتر است که بررسی استعداد ژنتیکی بر اساس بررسی DNA ژنوم انجام گیرد، لیکن محدودیت تکنیکی ما را بر آن داشت تا از سابقه خانوادگی بعنوان فاکتور نماینده ژنتیک (Genetic surrogate measure) استفاده کنیم.

روش کار:

از اردیبهشت تا شهریور ۱۳۸۳، مطالعه مورد-شاهد همسان شده ای در استان مازندران بر روی زنان با و بدون سابقه سرطان پستان انجام شد. معیار ورود، اقامت مادام العمر در استان مازندران و معیار خروج، اقامت بیش از ۵ سال در خارج از استان در نظر گرفته شد. بر اساس سیستم ثبت سرطان ایستگاه بابل (سیستم پیشین ثبت سرطان خزر یا Caspian Cancer Registry، تاسیس شده در سال ۱۳۴۹ با همکاری IARC و انستیتو تحقیقات بهداشتی) ۲۵۰ زن مبتلا به سرطان پستان که بیماری آنها با بیوپسی تایید شده بود (بعنوان گروه مورد) و ۲۵۰ زن بدون سابقه سرطان پستان (بعنوان گروه شاهد) مورد مصاحبه قرار گرفتند. شاهدها از پنجمین همسایه واجد شرایط سمت راست بیماران انتخاب شدند. همسان سازی از نوع فردی بر اساس فاکتور سن با فاصله ± 3 سال انجام شد. برای آنالیز فقط-مورد، نمونه ها همان نمونه های گروه مورد در مطالعه مورد-شاهد بودند.

مصاحبه کنندگان، ماماهاایی بودند که آموزشهای لازم در خصوص نحوه مصاحبه، تکمیل پرسشنامه و شیوه نمونه گیری را دریافت کرده بودند. برای ۱۴ بیمار فوت شده در زمان مصاحبه (۵/۶٪)، فرد پاسخگو یکی از زنان مطلع خانوار بود. پرسشنامه شامل موارد زیر بود: (۱) متغیرهای دموگرافیک سن و سطح تحصیلات، (۲) سابقه خانوادگی تایید شده با بیوپسی سرطان پستان در خواهر و/یا مادر (بلی/خیر)،

۱۹۹۴). بطور کلی، برای یک فاکتور ژنتیکی وابسته دو حالتی (Binary) و یک فاکتور مستقل محیطی (با مقیاس دو حالتی یا پیوسته) برآورد اثر متقابل ژن-محیط در مطالعه فقط-مورد توسط برازش مدل رگرسیون لجستیک بر روی داده های گروه مورد، قابل حصول است: $\text{logit } P(G = 1) = \gamma_0 + \gamma_1 E$ همچنین می توان فرض استقلال فاکتورهای ژنتیکی و محیطی را بوسیله برازش مدل رگرسیون لجستیک بر روی داده های گروه شاهد بررسی کرد $\text{logit } P(G = 1) = \eta_0 + \eta_1 E$ (Control-only analysis): آزمون $\eta_1 = 0$ ، $\Psi = \exp(\eta_1)$ ، متغیر وابسته میتواند هر یک از فاکتورهای ژنتیکی یا محیطی، به شرط دو حالتی بودن، باشد (Becher H. et al. ۲۰۰۳) بنابراین، در مطالعه حاضر، در ابتدا فرض استقلال برای فاکتورهای مطالعه بررسی شدند و در صورت واجد این فرض بودن، با استفاده از روش ذکر شده در بالا اثرات متقابل توسط نرم افزار آماری STATA ۸,۰ برآورد شدند.

▪ **مقایسه کارایی آماری (Statistical efficiency)**
مطالعات مورد-شاهد و فقط-مورد
خطای معیار و دامنه اطمینان ۹۵٪ اثرات متقابل ژن-محیط برای مقایسه کارایی آماری استفاده شد.

▪ **برآورد توان (Power) مطالعات مورد-شاهد و فقط-مورد برای تعیین اثر متقابل ژن-محیط**

برای برآورد توان (Power) مطالعات مورد-شاهد و فقط-مورد برای تعیین اثر متقابل ژن-محیط از نرم افزار QUANTO ۰,۵ (Gauderman W.J. ۲۰۰۲a, ۲۰۰۲b) استفاده شد. این نرم افزار، توان برآورد اثر متقابل ژن-محیط را برای تعداد مشخص واحد نمونه گیری (Sampling unit) تعیین میکند. واحد نمونه گیری در مطالعه مورد-شاهد همسان شده، یک جفت مورد و شاهد و در مطالعه فقط-مورد یک نمونه مورد است.

▪ **ملاحظات اخلاقی:**
به منظور رعایت اصول اخلاقی، موافقت شفاهی نمونه ها برای انجام مصاحبه اخذ شده و نمونه ها میتوانستند در هریک

(۳) فاکتورهای باروری شامل سن اولین زایمان (سال)، تعداد بارداری (عدد) و سابقه شیر دهی (بلی/خیر)، (۴) فاکتورهای قاعدگی شامل سن اولین قاعدگی (سال) و سابقه قاعدگی نامنظم (بلی/خیر) و (۵) سابقه مصرف سیگار، قرصهای ضد بارداری و همچنین مقادیر وزن و قد برای محاسبه حجم توده بدن (Body Mass Index/BMI).

▪ **برآورد اثرات اصلی و اثرات متقابل ژن-محیط در مطالعه مورد-شاهد همسان شده**

اثرات اصلی خام و تعدیل شده (موردها در مقایسه با شاهدها) با آنالیز رگرسیون لجستیک شرطی (Conditional Logistic Regression) توسط نرم افزار آماری STATA ۸,۰ برآورد شدند. سن بعنوان فاکتور همسان سازی در مدلها برای کنترل اپتیوم اثر مخدوش کنندگی آن لحاظ شد. انتخاب متغیرهای مدل چند متغیره بر اساس دانش تئوریک و تناسب آماری بر اساس آنالیز دو متغیره انجام گرفت و متغیر سن نیز بعنوان یک متغیر همراه وارد مدل شد. برای بررسی اثر متقابل ضربی دو طرفه (Two-way multiplicative interaction) ژن-محیط، متغیرهای اثر متقابل از حاصل ضرب سابقه فامیلی با فاکتورهای محیطی بدست آمدند.

▪ **برآورد اثرات متقابل ژن-محیط در مطالعه فقط-مورد**

با فرض استقلال فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در جمعیت (Independence assumption) و نادر بودن بیماری، برآورد اثر متقابل (I) بدون مطالعه گروه شاهد و فقط با مطالعه موردها ممکن است. بطور اختصاصی، $I_{CO} = I * \Psi$ که Ψ نسبت شانس مربوط به فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در گروه شاهد، و I_{CO} نسبت شانس مربوط به فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در گروه مورد میباشد. لذا، چنانچه $\Psi = 1$ باشد، $I_{CO} = I$ خواهد بود و میتوان اثر متقابل ژن-محیط را فقط با بررسی گروه مورد برآورد کرد (Piegorsch W.W. et al.).

از مراحل مصاحبه از ادامه همکاری خودداری کنند. همچنین داده های فردی، محرمانه تلقی شد.

نتایج:

در این مطالعه ۲۵۰ نمونه مورد (مبتلا به سرطان پستان) و ۲۵۰ نمونه شاهد (بدون سابقه سرطان پستان) بررسی شدند. جداول ۱-الف و ۱-ب، توزیع سنی، سابقه خانوادگی درجه اول سرطان پستان، فاکتورهای باروری و قاعدگی را در دو گروه مورد و شاهد نشان میدهند. فراوانی سابقه خانوادگی درجه اول سرطان پستان بطور مشخص در گروه مورد بیش از شاهد بود، بیش از ۲/۵ بار.

■ اثرات اصلی فاکتورهای ژنتیکی و محیطی

جدول ۲ برآوردهای خام و تعدیل شده اثرات اصلی فاکتورهای مورد مطالعه را نشان میدهد. برآورد خام نشان داد که سن اولین زایمان، تعداد بارداری، سن اولین قاعدگی و سابقه قاعدگی نامنظم ارتباط معنی دار آماری با ابتلا به سرطان پستان نداشتند ($p > 0.05$). لیکن، ما این متغیرها را برای آنالیزهای مربوط به اثر متقابل، با توجه به اهداف مطالعه، لحاظ کردیم. برآوردهای تعدیل شده، نشان دهنده عامل خطر بودن سابقه خانوادگی درجه اول، سن بالاتر اولین زایمان و سابقه قاعدگی نامنظم و اثر محافظت کننده افزایش تعداد زایمان، سابقه شیر دهی و سن بالاتر اولین قاعدگی بود، هر چند که این ارتباطات از نظر آماری معنی دار نبودند ($p < 0.05$).

■ فرض استقلال فاکتورهای ژنتیکی و محیطی

جدول ۳ نتیجه بررسی فرض استقلال فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در مطالعه حاضر را بر اساس آنالیز فقط-شاهد نشان میدهد. در این جدول ارتباط آماری معنی داری (در سطح اطمینان ۹۵٪) بین فاکتورهای باروری و قاعدگی با سابقه خانوادگی درجه اول، بجز درباره سن اولین زایمان ($p = 0.02$) مشاهده نمی شود. بر این اساس، برآورد اثر متقابل سابقه

خانوادگی درجه اول سرطان پستان با سن اولین زایمان در آنالیز فقط-مورد لحاظ نشد.

■ برآورد اثر متقابل ژن-محیط

جدول ۴ نشان دهنده برآورد اثر متقابل ژن-محیط توسط دو مطالعه مورد-شاهد و فقط-مورد است. در مطالعه مورد-شاهد هیچکدام از اثرات متقابل از نظر آماری معنی دار نبودند ($p > 0.05$). در حالیکه در آنالیز فقط-مورد اثر متقابل منفی معنی داری بین سابقه خانوادگی درجه اول و تعداد بارداری و سابقه شیر دهی و اثر متقابل مثبت معنی داری بین سابقه خانوادگی درجه اول و سن اولین قاعدگی مشاهده شد. هیچیک از روشهای آنالیز اثر متقابل معنی داری را بین سابقه خانوادگی درجه اول و سابقه قاعدگی نامنظم نشان ندادند، هر چند که دامنه اطمینان ۹۵٪ آن در آنالیز فقط-مورد بطور مشخصی کمتر از آنالیز مورد-شاهد بود.

■ کارآیی آماری مطالعه فقط-مورد نسبت به مورد-شاهد

بر اساس جدول ۴، دامنه اطمینان ۹۵٪ تمامی اثرات متقابل برآورد شده با مطالعه فقط-مورد کوچکتر از مطالعه مورد-شاهد می باشد.

■ توان برآورد اثر متقابل ژن-محیط

جدول ۵ مقایسه توان مطالعه مورد-شاهد همسان شده ۱:۱ و مطالعه فقط-مورد را بر اساس پارامترهای مدل مشابه (بر اساس آنالیز مورد-شاهد همسان شده) نشان میدهد. نسبت توان (فقط-مورد/مورد-شاهد) مقادیر مثبت از ۱/۰۸ تا ۲/۲۳ را نشان می دهد.

بحث:

مفهوم اثر متقابل در متون اپیدمیولوژی تا حدودی متفاوت مورد بحث قرار گرفته است و این اصطلاح، برای مفاهیمی مانند اثر متقابل آماری، زیست شناختی و سلامت عمومی مورد استفاده قرار گرفته است (Greenland S. and Rothman ۱۹۹۸، K.J.). در این مطالعه تاکید بر اثر متقابل با مفهوم آماری (Statistical interaction) و اختصاصا تفاوت اثر مشترک مشاهده شده با منتظره (Departure from joint effect) بوده است.

حد نسبت شانس (Odds ratio) یا نسبت میزان (Rate ratio) برای اثر مقابل ضربی منجر شود، ولی در هر حال خطر نسبی (Risk ratio) را برآورد میکند (Schmidt S. ۱۹۹۹).

طراحی مطالعه فقط-مورد با محدودیتهایی مواجه است: اول اینکه برآورد اثرات اصلی فاکتورهای ژنتیکی و محیطی بر پیامد مورد نظر ممکن نیست. دوم اینکه، اثر متقابل ژن-محیط برآورد شده در واقع اختلاف با اثر ضربی را نشان می دهد (Yang Q. et al. ۱۹۹۷). بنابراین اگر مدل زمینه ای از مدل جمعی (Additive) تبعیت کند، شاخص بدست آمده از مطالعه فقط-مورد مناسب نخواهد بود (khoury M.J. and Flanders W.D. ۱۹۹۶).

▪ استقلال فاکتورهای ژنتیکی و محیطی بعنوان فرض اساسی مطالعه فقط-مورد

همانگونه که بیان شد، فرض مهم مطالعه فقط-مورد، استقلال فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در جمعیت است. صادق نبودن این فرض به وقوع تورش در برآورد اثر متقابل منجر می شود و مقدار تورش با میزان همبستگی دو متغیر در جمعیت ارتباط مستقیم دارد. توجیه این نکته با استفاده از فرمولهای ارائه شده در بالا براحتی امکان پذیر است (Albert P.S. et al. ۲۰۰۱). پیشنهاد می کنند که فرض استقلال میتواند با استفاده از آنالیز همبستگی، آزمون χ^2 برای استقلال یا محاسبه نسبت شانس و تست معنی داری مربوطه در داده های گروه شاهد مورد بررسی قرار گیرد. در این خصوص، دو نکته مهم را باید مد نظر قرار داد: اول اینکه آزمون فرض استقلال نیازمند داده های گروه شاهد است و دوم اینکه به چه میزان توزیع فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در داده های گروه شاهد (افراد غیر بیمار) نماینده چنین توزیعی در جمعیت عمومی (شامل افراد بیمار و غیر بیمار) می باشد. (Gatto N.M. et al. ۲۰۰۴) نشان داده اند که به شرط این که خطر پایه بیماری کمتر از ۱٪ و اثرات متقابل و مستقل مورد بررسی کمتر از ۲/۵ باشد، آنالیز فقط-شاهد میتواند تقریب قابل قبولی از ارتباط ژن-محیط در جمعیت را فراهم نماید. این شرایط در مطالعه حاضر صادق بود.

▪ مطالعه فقط-مورد برای تعیین اثر متقابل زن-محیط

مطالعه فقط-مورد بعنوان ابزاری برای غربالگری سریع اثر متقابل ژن-محیط مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Yang Q. et al. ۱۹۹۷). این مطالعه اصول مشابه اپیدمیولوژیک را برای انتخاب گروه مورد در مطالعه مورد-شاهد دنبال می کند؛ بطوری که انتخاب موارد بروز مبتنی بر جمعیت حالت ایده آل میباشد. این مطالعه بر اساس فرض مهم استقلال فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در جمعیت استوار است (Yang Q. et al. ۱۹۹۷) و در این مطالعه می توان تفاوت اثر متقابل ضربی مشاهده شده و منتظره ژن-محیط را اندازه گیری نمود (Khoury M.J. and Flanders W.D. ۱۹۹۶). برای توضیح مطلب، جدول ۶ که یک جدول ۲×۴ پیشنهاد شده توسط (Botto L.D. and Khoury M.J. ۲۰۰۱) بعنوان مبنای آنالیز اثر متقابل ژن-محیط، با فرض عدم وجود تورش و مخدوش کنندگی و مطالعه بر موارد بروز است، در نظر بگیرید:

در این جدول، اثر متقابل ضربی برابر است با: A
 $OR / B * C = (ag / ce) / (bh / df)$ فقط-مورد
 برابر است با: ag / ce و OR فقط-شاهد برابر
 است با: bh / df . بنابراین،

OR فقط-شاهد / OR فقط-مورد = اثر متقابل ضربی
 حال چنانچه، OR فقط-شاهد برابر ۱ باشد (که به مفهوم استقلال فاکتورهای ژنتیکی و محیطی در جمعیت است).

OR فقط-مورد = اثر متقابل ضربی
 چنانچه بیماری نادر باشد (حدود ۱٪) یا بیماری تا حدودی شایع باشد ولی ژن مورد بررسی خطر بیماری را بطور متوسط افزایش دهد، اثر متقابل برآورد شده در مطالعه فقط-مورد از نظر مقدار عددی، مشابه مطالعه مورد-شاهد خواهد بود. برای بیماریهای شایعتر، مطالعه فقط-مورد می تواند به تخمین کمتر از

ممکن است استعداد ژنتیکی، پاسخ پستان به هورمونهای درونزا را تحت تاثیر قرار دهد. با عنایت به نتایج مورد اختلاف نظر، بخصوص محدودیت نیاز به حجم نمونه بالاتر در مطالعات مورد-شاهد و کوهورت قبلی (Andrieu N. et al. ۲۰۰۰) پیشنهاد می کنند که مطالعات بیشتری برای روشن کردن رابطه فاکتورهای باروری و قاعدگی با سابقه خانوادگی سرطان پستان مورد نیاز است.

▪ سابقه خانوادگی سرطان پستان بعنوان یک شاخص نماینده ژنتیک

در متون مربوطه، زمینه ژنتیکی سرطان پستان با دو شاخص کلی مورد بحث قرار گرفته است: سابقه خانوادگی در بستگان و ژنهای مستعد کننده (عمدتاً BRCA^۱ و BRCA^۲). ارتباط سابقه خانوادگی سرطان پستان با افزایش خطر ابتلا به این سرطان بخوبی مورد توجه قرار گرفته و مستند شده است. این امر به دلیل خصوصیات جالب این متغیر است و در واقع از بین متغیرهایی که ارتباطی را با سرطان پستان نشان داده اند، بیشترین افزایش خطر پس از کنترل اثر سن مربوط به سابقه خانوادگی مثبت بوده است (Clause E.B. et al. ۱۹۹۸). مطالعه مورد-شاهدی در ایران نسبت شانس ۲/۹۵ (۱،۱۵-۷،۵۹) CI: ۹۵٪ را برای سابقه خانوادگی مثبت در مادریا خواهر گزارش کرده است (Ebrahimi M. et al. ۲۰۰۲). همچنین مطالعات متعددی افزایش خطر ۲ تا ۳ برابر را در حضور سابقه خانوادگی مثبت یافته اند (Colditz G.A. et al. ۱۹۹۳, Eby N. et al. ۱۹۹۷, Pharoah P. et al. ۱۹۹۷, Sellar T.A. et al. ۱۹۹۲, Colditz G.A. et al. ۱۹۹۳, Andrieu N. et al. ۲۰۰۰, Brinton L. et al. ۱۹۸۲, Becher H. et al. ۱۹۸۰, Adami H.O. et al. ۲۰۰۳). گرچه حساسیت و ویژگی این عامل جای بحث دارد (زیرا میتواند نشاندهنده استعداد ژنتیکی یا تجمع عوامل محیطی و یا هر دو باشد). ولی به هر حال بدلیل قابلیت اندازه گیری ارزان و سریع توسط مطالعات اپیدمیولوژیک بسیاری بعنوان یک شاخص نماینده ژنتیکی استفاده شده است (Andrieu N. et al. ۲۰۰۰).

شناخت منابع ارتباط ژن-محیط میتواند بررسی فرض استقلال کمک کننده باشد. یکی از این منابع، احتمال تغییر سطح عامل مواجهه به دلیل تغییر رفتار فرد ارادی متعاقب اطلاع از زمینه ژنتیکی یا تغییر رفتار غیر ارادی به دلیل عوارض بیماری ژنتیکی بیماری است. منبع دیگر می تواند ارتباط دو متغیر ژنتیکی و محیطی با یک عامل سوم باشد. درخصوص مطالعه حاضر، علیرغم صادق بودن فرض استقلال برای تمام فاکتورهای محیطی بجز سن اولین زایمان و همچنین مناسب بودن آنالیز فقط-شاهد بر اساس شرایط بیان شده توسط (Gatto N.M. et al. ۲۰۰۴)، ارتباط سابقه فامیلی با متغیرهایی مثل تعداد بارداری متصور است؛ مثل: ارتباط این دو متغیر با سطح اقتصادی-اجتماعی فرد. این نکته در صورت بررسی BRCA^۱ بعنوان فاکتور ژنتیکی نیز قابل بحث بود. بررسی سابقه خانوادگی بعنوان فاکتور نماینده ژنتیک، به دلیل اینکه تنها منعکس کننده اثر ژن نیست و دربردارنده اثر سایر عوامل محیطی نیز می تواند باشد، جای تامل بیشتری را در مطالعه فقط-مورد نسبت به حالتی که یک موتاسیون ژنتیکی اندازه گیری میشود، دارد. بطور خلاصه، بررسی یک موتاسیون ژنتیکی که فرد از آن مطلع نیست، مطمئن ترین حالت در یک مطالعه فقط-مورد است؛ هرچند که نقش یک متغیر همراه سوم همیشه باید مد نظر باشد.

▪ برآورد اثر متقابل ژن-محیط در سرطان پستان
ایده زمینه ای امکان تفاوت اثر فاکتورهای باروری و قاعدگی بر سرطان پستان با توجه به استعداد ژنتیکی ابتلا به سرطان پستان، اینست که اثر سابقه خانوادگی سرطان پستان، که میتواند نشان دهنده موتاسیون ژنتیکی و/یا تجمع فاکتورهای محیطی در خانواده باشد ممکن است توسط هورمونهای درونزا که با سابقه فاکتورهای باروری و قاعدگی اندازه گیری میشوند مورد تاثیر قرار گیرد، و یا از سوی دیگر،

فقط-مورد بود ($p = 0/02$): که بیان کننده اثر محافظت کننده قویتر تعداد بیشتر بارداری در زنان بدون سابقه خانوادگی سرطان پستان است.

▪ سابقه شیردهی و استعداد ژنتیکی

مطالعات معدودی تفاوت اثر شیردهی را با توجه به سابقه خانوادگی سرطان پستان بررسی کرده اند. در مطالعه ای توسط (Becher H. et al. ۲۰۰۳)، که سابقه خانوادگی مثبت سرطان پستان یا تخمدان را بعنوان شاخص نماینده ژنتیکی لحاظ کرده بودند، اثر متقابلی را برای شیردهی نیافتند؛ در حالیکه، با استفاده از همان داده ها، (Claude J. et al. ۲۰۰۰) که تنها سابقه خانوادگی مثبت سرطان پستان را در نظر گرفته بودند، ارتباط مدت شیردهی با خطر سرطان پستان با توجه به سابقه خانوادگی اندکی متفاوت مشاهده کردند. اثر محافظت کننده قوی شیر دهی در حضور سابقه خانوادگی توسط دو مطالعه مورد-شاهد گزارش شده؛ در حالی که چنین اثری درباره مدت شیردهی مشاهده نشد (Brinton L.A. ۱۹۹۸, Egan K.M. et al. ۱۹۹۵). اثر متقابل این عامل در مطالعه حاضر، در آنالیز مورد-شاهد، غیرمعنی دار و مثبت بود ($p = 0/82$)، ولی در آنالیز فقط-مورد منفی و معنی دار مشاهده شد ($p = 0/003$)؛ که به معنی اثر محافظت کننده قویتر سابقه شیر دهی در زنان واجد سابقه خانوادگی سرطان پستان نسبت به زنان بدون سابقه خانوادگی میباشد.

▪ سن اولین قاعدگی و استعداد ژنتیکی

برخی مطالعات افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان را با سن بالاتر اولین قاعدگی در زنان واجد سابقه خانوادگی و کاهش خطر ابتلا را در زنان بدون سابقه خانوادگی مشاهده کرده اند (Parazzini F. et al. ۱۹۹۲, Bain C. et al. ۱۹۹۲, Malone K.E. and Daling R. ۱۹۸۰). همچنین (Brinton L.A. et al. ۱۹۸۰, Colditz G.A. ۱۹۹۶, Sellers T.A. et al. ۱۹۹۶) مشاهده کردند که اثر محافظت کننده سن بالاتر اولین قاعدگی، در زنان دارای سابقه خانوادگی مثبت سرطان پستان، کاهش می یابد. این در حالی است که (Brinton L. et al. ۱۹۸۲, Negri E. et al. ۱۹۸۸, Sellers T.A. et al. ۱۹۹۳, Colditz G.A. et al. ۱۹۹۶ and Andrieu N. et al. ۱۹۹۳

▪ سن اولین زایمان و استعداد ژنتیکی

مطالعه (Negri E. et al. ۱۹۹۸, Colditz G.A. et al. ۱۹۹۳) شواهدی را مبنی بر تفاوت خطر سرطان پستان برای سن اولین زایمان با توجه به سابقه خانوادگی این سرطان نیافتند؛ در حالی که برخی از مطالعات افزایش خطر ابتلا را در زنان با سابقه خانوادگی مثبت با افزایش سن اولین زایمان نشان داده اند (Andrieu N. et al. ۱۹۹۸, Andrieu N. et al. ۲۰۰۰, Colditz G.A. et al. ۱۹۹۶, Dupont W.D. and Page D.L. ۱۹۹۲, Parazzini F. et al. ۱۹۸۷). از سوی دیگر (Colditz G.A. et al. ۱۹۹۶, Byrne C. et al. ۱۹۹۱) مشاهده کردند که خطر ابتلا به سرطان پستان با افزایش سن اولین زایمان در زنان بدون سابقه خانوادگی افزایش میابد. آنالیز مورد-شاهد مطالعه حاضر اثر متقابل منفی غیر معنی داری را برای سن اولین زایمان با سابقه خانوادگی نشان داد. به دلیل صادق نبودن فرض استقلال، این متغیر در آنالیز فقط-مورد لحاظ نشد.

▪ تعداد بارداری و استعداد ژنتیکی

(Sellers T.A. et al. ۱۹۹۳, Bain C. et al. ۱۹۹۲ and Seller T.A. et al. ۱۹۸۰). تفاوت اثری را برای تعداد بارداری با توجه به سابقه خانوادگی نیافتند. همچنین در مطالعات (Negri E. et al. ۱۹۹۲, Parazzini F. et al. ۱۹۹۸) اثر محافظت کننده تعدد زایمان نسبت به عدم زایمان در زنان با سابقه خانوادگی مشاهده نگردید. در حالی که در مطالعات (Becher H. et al. ۲۰۰۳, Andrieu N. et al. ۱۹۹۸) اثر متقابل مثبت سابقه خانوادگی با تعداد بارداری یافت شد. از سوی دیگر، (Colditz G.A. et al. ۱۹۹۳, Egan K.M. et al. ۱۹۹۸) اثر متقابل منفی را مشاهده کردند. مطالعه حاضر نشان دهنده اثر متقابل مثبت غیر معنی دار تعداد بارداری با سابقه خانوادگی در آنالیز مورد-شاهد ($p = 0/26$) و اثر متقابل منفی معنی دار در آنالیز

مطالعه فقط-مورد نسبت به مورد-شاهد برای تمام فاکتورها کوچکتر بود.

▪ توان آماری مطالعه فقط-مورد نسبت به مطالعه مورد-شاهد

در مطالعه حاضر، توان دو مطالعه مورد نظر را با استفاده از پارامترهای مشابه (بدست آمده از مطالعه مورد-شاهد) مقایسه کردیم. نتایج بدست آمده نشان دهنده توان بالاتر مطالعه فقط-مورد نسبت به مورد-شاهد بود، بطوریکه نسبت توان (فقط-مورد به مورد-شاهد) واجد مقادیر مثبت از ۱/۰۸ تا ۲/۲۳ بود. در این خصوص (Yang Q. et al. ۱۹۹۷) نیز چنین بیان می کند که مطالعه فقط-مورد حجم نمونه کمتری را نسبت به مطالعه مورد-شاهد برای تعیین مقدار مشابه اثر متقابل ژن-محیط نیاز دارد.

▪ محدودیت مطالعه:

از آنجایی که اصطلاح اثر متقابل ژن-محیط در متون، اصطلاح عامی است که کلمه ژن الزاما به معنای یک ژن مستعد کننده و کلمه محیط الزاما به معنای فاکتورهای نیستند که مستقیما به محیط منتسب می باشند. این اصطلاح در مطالعه حاضر نیز برای بیان اثر متقابل سابقه خانوادگی سرطان پستان با فاکتورهای باروری و قاعدگی استفاده شده است. گرچه بطور آرمانی بهتر است که بررسی استعداد ژنتیکی بر اساس بررسی DNA ژنوم انجام گیرد، لیکن محدودیت تکنیکی ما را بر آن داشت تا از سابقه خانوادگی بعنوان فاکتور نماینده ژنتیک (Genetic surrogate measure) استفاده کنیم.

نتیجه گیری:

مطالعه فقط-مورد واجد کارایی آماری و توان بالاتری نسبت به مطالعه مورد-شاهد برای تعیین اثر متقابل ژن-محیط به شرط صادق بودن فرض استقلال میباشد. در بررسی فرض استقلال بر اساس داده های گروه شاهد، باید به خطر پایه بیماری و مقدار اثرات متقابل و اصلی و همچنین مبنای تئوریک دو فاکتور ژن و محیط در ارتباط با سایر متغیرهای همراه توجه نمود. هر چند مطالعه فقط-مورد نمی تواند اثرات اصلی فاکتورهای ژنتیکی و محیطی را برآورد نماید ولی

اثر متقابلی را مشاهده نکردند. در مطالعه حاضر، اثر متقابل مثبت معنی داری در هر دو روش آنالیز مشاهده شد ($p=0/07$) در آنالیز مورد-شاهد و ($p=0/007$) در آنالیز فقط-مورد که نشاندهنده افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان با افزایش سن اولین قاعدگی در زنان دارای سابقه خانوادگی نسبت به زنان بدون سابقه خانوادگی است.

سابقه قاعدگی نامنظم و استعداد ژنتیکی

بنا به مطالعه (Garland M. et al. ۱۹۹۸)

چرخه های طولانی و نامنظم قاعدگی میتوانند خطر ابتلا به سرطان پستان را کاهش دهند. (Kelsay J.L. et al. ۱۹۹۳) نیز بیان می کنند که چرخه های کوتاهتر به افزایش خطر سرطان پستان منجر می شوند. در مطالعه حاضر اثر متقابل مشاهده شده در دو روش آنالیز، مثبت ولی غیر معنی دار بود. هر چند که دامنه اطمینان برآورد شده در آنالیز مطالعه فقط-مورد، بطور واضحی کمتر از آنالیز مطالعه مورد-شاهد بوده است.

▪ کارایی آماری مطالعه فقط-مورد نسبت به مطالعه مورد-شاهد

بر اساس جدول ۶، واریانس اثر متقابل حاصله از یک مطالعه مورد-شاهد برابر خواهد بود با: $1/a + 1/b + 1/c + 1/d + 1/e + 1/f + 1/g + 1/h$ ، در حالیکه این واریانس در مطالعه فقط-مورد برابر خواهد بود با: $1/a + 1/b + 1/g + 1/h$. بنابراین، علاوه بر طراحی آسانتر و کارایی هزینه بالاتر، مطالعه فقط-مورد کارایی آماری بالاتری را نیز بدست می دهد. در واقع، این روش نه تنها نیازی به صرف هزینه و وقت برای انتخاب گروه شاهد وجود ندارد، بلکه واجد دقت (Precision) بالاتری به دلیل حذف تغییرات نمونه های شاهد می باشد (Piegorsch W.E. et al. ۱۹۹۷, Yang Q. et al. ۱۹۹۷). در مطالعه حاضر، خطای معیار و دامنه اطمینان نسبت شانس اثرات متقابل ژن-محیط در

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله نویسندگان از زحمات آقای یوسف یحیی پور و همکاران ایشان در ایستگاه تحقیقات بهداشتی بابل سپاسگزاری میکنند. این تحقیق در قالب پایان نامه تخصصی اپیدمیولوژی در گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی و با حمایت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است.

می تواند بعنوان ابزاری برای غربال سریع اثر متقابل ژن-محیط در سرطان پستان بکار آید. بررسی یک موتاسیون ژنتیکی که فرد از آن مطلع نیست، مطمئن ترین حالت در یک مطالعه فقط-مورد است، هرچند که نقش یک متغیر همراه سوم همیشه باید مد نظر باشد.

جدول ۱- ب. توزیع فاکتور نماینده ژنتیکی و فاکتورهای محیطی کیفی در گروههای مورد و شاهد

جدول ۱- الف. میانگین و انحراف معیار سن و فاکتورهای محیطی کمی در گروههای مورد و شاهد

مورد (n=250)		شاهد (n=250)			
انحراف معیار ± میانگین	انحراف معیار ± میانگین	(%) تعداد	(%) تعداد		
۴۸/۷ (۱۱/۳)	۴۷/۴ (۱۱/۹)	بلی	بلی	سن	سابقه خانوادگی
۲۱/۴ (۴/۶)	۲۰/۸ (۴/۴)	خیر	خیر	سن اولین زایمان	درجه اول
۳/۷ (۲/۶)	۴/۰ (۲/۴)	بلی	بلی	تعداد بارداری	سابقه شیردهی
۱۳/۱ (۱/۲)	۱۳/۳ (۱/۲)	خیر	خیر	سن اولین قاعدگی	سابقه قاعدگی
		بلی	بلی		سابقه قاعدگی نامنظم
		خیر	خیر		

جدول ۲- نسبت شانس خام و تعدیل شده ، خطای معیار و حدود اطمینان ۹۵ درصد مربوطه فاکتور نماینده ژنتیکی و فاکتورهای محیطی در مطالعه مورد-شاهد همسان شده

تعدیل شده*			خام			
P value	SE	OR (۹۵%CI)	P value	SE	OR (۹۵%CI)	
۰/۵۱	۰/۷۸	۱/۴۳(۰/۴۸ - ۴/۲۱)	۰/۰۲	۱/۲۳	۲/۷۹ (۱/۱۷ - ۶/۶۶)	سابقه خانوادگی درجه اول
۰/۳۸	۰/۰۲	۱/۰۲ (۰/۹۶ - ۱/۰۸)	۰/۱۶	۰/۰۲	۱/۰۳(۰/۹۸ - ۱/۰۸)	سن اولین زایمان
۰/۲۸	۰/۰۵	۰/۹۳(۰/۸۳ - ۱/۰۵)	۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۹۲ (۰/۸۵ - ۱/۰۰)	تعداد بارداری
۰/۵۵	۰/۴۶	۰/۶۴(۰/۱۵ - ۲/۷۵)	۰/۰۰۳	۰/۱۲	۰/۳۶(۰/۱۸ - ۰/۷۱)	سابقه شیر دهی
۰/۱۰	۰/۰۷	۰/۸۸(۰/۷۵ - ۱/۰۲)	۰/۴۶	۰/۰۶	۰/۹۵ (۰/۸۴ - ۱/۰۸)	سن اولین قاعدگی
۰/۲۱	۰/۳۶	۱/۳۷(۰/۸۲ - ۲/۲۶)	۰/۱۶	۰/۲۴	۱/۳۴(۰/۸۸ - ۲/۰۳)	سابقه قاعدگی نامنظم

OR :Odds Ratio (نسبت شانس): CI :Confidence Interval (حدود اطمینان);

SE :Standard Error (خطای معیار)

*تعدیل شده برای سن، BMI، تحصیلات، سابقه خانوادگی درجه اول و فاکتورهای باروری و قاعدگی

جدول ۳- ارزیابی فرض استقلال فاکتورهای ژنتیکی-محیطی بر اساس آنالیز فقط-شاهد

P value	OR (۹۵%CI)	
۰/۰۲	۱/۱۴(۱/۰۱ - ۱/۲۹)	سن اولین زایمان
۰/۲۳	۰/۸۰(۰/۵۶ - ۱/۱۵)	تعداد بارداری
۰/۵۷	۰/۵۳ (۰/۰۶ - ۴/۶۹)	سابقه شیر دهی
۰/۱۰	۰/۶۷ (۰/۴۱ - ۱/۰۸)	سن اولین قاعدگی
۰/۰۷	۰/۶۴ (۰/۰۷ - ۵/۴۶)	سابقه قاعدگی نامنظم

OR :Odds Ratio (نسبت شانس): CI :Confidence Interval (حدود اطمینان)

جدول ۴- برآورد اثر متقابل ژن-محیط در سرطان پستان با دو مطالعه مورد-شاهد و فقط-مورد

P value	SE	OR (۹۵%CI)	نوع مطالعه	
۰/۱۴	۰/۰۹	۰/۸۵(۰/۶۹ - ۱/۰۵)	C-C	سن اولین زایمان
NA	NA	NA	C-O	
۰/۲۶	۰/۶۱	۱/۵۵ (۰/۷۱ - ۳/۳۸)	C-C	تعداد بارداری
۰/۰۲	۰/۰۹	۰/۷۷(۰/۶۱ - ۰/۹۷)	C-O	
۰/۸۲	۲/۶۳	۱/۴۷(۰/۰۴ - ۴۹/۲۱)	C-C	سابقه شیر دهی
۰/۰۰۳	۰/۱۱	۰/۲۲(۰/۰۸ - ۰/۶۱)	C-O	
۰/۰۷	۴/۵۳	۵/۰۴(۰/۸۶ - ۲۹/۴۰)	C-C	سن اولین قاعدگی
۰/۰۰۷	۰/۲۱	۱/۴۸(۱/۱۱-۱/۹۷)	C-O	
۰/۱۴	۸/۲۰	۶/۴۲(۰/۵۲ - ۷۸/۴۹)	C-C	سابقه قاعدگی نامنظم
۰/۲۶	۰/۸۶	۱/۷۳(۰/۶۵ - ۴/۶۲)	C-O	

C-C: Case-control (مورد-شاهد); C-O: Case-only (فقط-مورد)

OR: Odds Ratio (نسبت شانس); CI: Confidence Interval (حدود اطمینان);

SE: Standard Error (خطای معیار)

NA: Not Applicable (بدلیل صادق نبودن فرض استقلال)

جدول ۵- توان برآورد اثر متقابل ژن-محیط در مطالعات مورد-شاهد و فقط-مورد برای حجم نمونه ۲۵۰ (جفت/نمونه) و فراوانی الل ۰/۰۱۳ با مدل توارث غالب

نسبت توان (C-O/C-C)	مورد-شاهد فقط-مورد توان	مورد-شاهد توان	پارامترهای مدل	
-	NA	۰/۲۸۱۳	SD = ۴/۴ E = ۱/۰۲ G = ۱/۴۳ G*E = ۰/۸۵	سن اولین زایمان
۲/۱۹	۰/۴۸۴۵	۰/۲۲۰۶	SD = ۱/۴ E = ۰/۹۳ G = ۱/۴۳ G*E = ۱/۵۵ P = ۰/۹۱۶	تعداد بارداری
۱/۲۴	۰/۰۶۸۷	۰/۰۵۵۳	E = ۰/۶۴ G = ۱/۴۳ G*E = ۱/۴۷	سابقه شیر دهی
۱/۰۸	۰/۹۹۹۹	۰/۹۲۲۶	SD = ۱/۲ E = ۰/۸۸ G = ۱/۴۳ G*E = ۴/۰۴ P = ۰/۲۰	سن اولین قاعدگی
۲/۲۳	۰/۹۷۴۸	۰/۴۳۶۸	E = ۱/۳۷ G = ۱/۴۳ G*E = ۶/۴۲	سابقه قاعدگی نامنظم

Case-control C-C (مورد-شاهد); C-O Case-only (فقط-مورد)

SD: انحراف معیار فاکتور محیطی؛ E: اثر اصلی فاکتور محیطی؛ G: اثر اصلی فاکتور ژنتیکی؛ G × E: اثر متقابل ژن-محیط

Not applicable: NA: بدلیل صادق نبودن فرض استقلال

جدول ۶. جدول ۲×۴ برای تعیین اثر متقابل ژن-محیط

G*	E*	Cases	Controls	OR	
+	+	a	b	ah / bg	A
+	-	c	d	ch / dg	B
-	+	e	f	eh / fg	C
-	-	g	h	۱	D

* G: genotype, E: environmental factor, OR: Odds ratio

References:

- Adami H.O., Hansen J., Jung B. and Rimsten A. (۱۹۸۰). Familiality in breast cancer: a case-control study in a Swedish population. *Br J Cancer*. ۴۲:۷۱-۷۷.
- Albert P.S., Ratnasinghe D., Tangrea J. and Wacholder S. (۲۰۰۱). Limitation of the case-only design for identifying gene-environment interaction. *Am J Epidemiol*. ۱۵۴(۸): ۶۸۷-۹۳.
- Andrieu N., Prevost T., Rohan T.E., Luporsi E., Lê M.G., Gerber M., Zaridze D.G., Lifanova Y., Renaud R., Lee H.P. and Duffy S.W. (۲۰۰۰) Variation in the interaction between familial and reproductive factors on the risk of breast cancer according to age, menopausal status, and degree of familiality. *International Journal of Epidemiology*. ۲۹:۲۱۴-۲۲۳.
- Andrieu N., Smith T. and Duffy S. (۱۹۹۸) The effects of interaction between familial and reproductive factors on breast cancer risk—a combined analysis of seven case-control studies. *Br J Cancer* ۷۷:۱۵۲۵-۳۶.
- Andrieu N., Clavel F. and Auquier A. (۱۹۹۳) Variations in the risk of breast cancer associated with a family history of breast cancer according to age at onset and reproductive factors. *J Clin Epidemiol* . ۴۶:۹۷۳-۸۰.
- Bain C., Speizer F.E., Rosner B., Belanger C. and Hennekens C.H. (۱۹۸۰) Family history of breast cancer as a risk indicator for the disease. *Am J Epidemiol*. ۱۱۱:۳۰۱-۰۸.
- Becher H., Schmidt S. and Chang-Claude J. (۲۰۰۳) Reproductive factors and familial predisposition for breast cancer by age ۵۰ years. A case-control-family study for assessing main effects and possible gene-environment interaction. *Int J Epidemiol*. ۳۲: ۳۸-۴۸.
- Botto L.D. and Khoury M.J. (۲۰۰۱) Commentary: Facing the challenge of gene-environment interaction: The two-by-four table and beyond. *Am J Epidemiol*. ۱۵۳: ۱۰۱۶-۲۰.
- Brinton L.A., Potischman N.A. and Swanson C.Y. (۱۹۹۵) Breastfeeding and breast cancer risk. *Cancer Cause Control*. ۶: ۱۹۹-۲۰۸.
- Brinton L., Hoover R. and Fraumeni J. (۱۹۸۲) Interaction of familial and hormonal risk factors for breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. ۶۹:۸۱۷-۲۲.
- Byrne C., Brinton L.A., Halle R.W. and Schairer C. (۱۹۹۱) Heterogeneity of the effect of family history on breast cancer risk. *Epidemiology*. ۲:۲۷۶-۸۴.
- Chang-Claude J., E by N., Kiechle M., bastert G. and Becher H. (۲۰۰۰) Breast feeding and breast cancer risk by age ۵۰ among women in germany. *Cancer cause Control*. ۱۱: ۶۸۷-۹۵.
- Claus E.B., Schildkraut J., Iversen E.S., Berry D. and Parmigiani G. (۱۹۹۸) Effect of BRCA₁ and BRCA₂ on the Association Between Breast Cancer Risk and Family History. *Journal of the National Cancer Institute*. ۹۰ (۲۳): ۱۸۲۴-۳۵.
- Colditz G.A., Rosner B.A. and Speizer F.E. (۱۹۹۶) Risk factors for breast cancer according to family history of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. ۸۸: ۳۶۵-۷۱.
- Colditz G.A., Willett W.C. and Hunter D.J. (۱۹۹۳) Family history, age, and risk of breast cancer. *JAMA* . ۲۷۰:۳۳۸-۴۳.
- Dupont W.D. and Page D.L. (۱۹۸۷) Breast cancer risk associated with proliferative disease, age at first birth, and a family history of breast cancer. *Am J Epidemiol*. ۱۲۵:۷۶۹-۷۹.
- Ebrahimi M., Vahdaninia M. and Montazeri A. (۲۰۰۲) Risk factors for

- breast cancer in Iran: a case-control study. *Breast Cancer Res.* ۴.
- Egan K.M., Stampfer M.J. and Rosner B.A. (۱۹۹۸) Risk factors for breast cancer in women with a breast cancer family history. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* ۱۷: ۳۵۹-۶۴.
- Garland M., Hunter D.J. and Colditz G.A. (۱۹۹۸) Menstrual cycle characteristics and history of ovulatory infertility in relation to breast cancer in a large cohort of women. *Am J Epidemiol.* ۱۴۷:۶۳۵-۶۴۳.
- Gatto N.M., Campbell U.B., Rundle A.G. and Ahsan H. (۲۰۰۴) Further development of the case-only design for assessing gene-environment interaction: evaluation of and adjustment for bias. *Int J Epidemiol.* ۳۳: ۱۰۱۴-۱۰۲۴.
- Gauderman W.J. (۲۰۰۲a). Sample size requirements for matched case-control studies of gene-environment interaction. *Stat Med.* ۲۱:۳۵-۵۰, ۲۰۰۲.
- Gauderman W.J. (۲۰۰۲b) Sample size requirements for association studies of gene-gene interaction. *Am J Epidemiol.* ۱۵۵:۴۷۸-۸۴, ۲۰۰۲.
- Goldstein A.M., Falk R.T., Korczak J.F. and Lubin J.H. (۱۹۹۷) Detecting gene-environment interactions using a case-control design. *Genet Epidemiol.* ۱۴:۱۰۸۵-۸۹.
- Greenland S. and Rothman K.J. (۱۹۹۸) Concepts of interaction. In Modern epidemiology. ۲nd ed. Lippincott-Raven. ۳۲۹-۳۴۲.
- Hwang S.J., Beaty T.H., Liang K.Y., Coresh J. and Khoury M.J. (۱۹۹۴) Minimum sample size estimation to detect gene-environment interaction in case-control designs. *Am J Epidemiol.* ۱۴۰:۱۰۲۹-۳۷.
- Kelsay J.L., Gammon M.D. and John E.M. (۱۹۹۳) Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev.* ۱۵:۲۳۳-۲۴۳.
- Khoury M.J. and Flanders W.D. (۱۹۹۶) Nontraditional epidemiologic approaches in the analysis of gene-environment interaction: case-control studies with no controls. *Am J Epidemiol.* ۱۴۴:۲۰۷-۱۳.
- Malone K.E. and Daling J.R. (۱۹۹۲) Family history as a modifier of breast cancer risk factors. *Am J Epidemiol.* ۱۳۶:۹۶۴.
- Negri E., La Vecchia C. and Bruzzi P. (۱۹۹۸) Risk factors for breast cancer: pooled results from three Italian case-control studies. *Am J Epidemiol.* ۱۲۸:۱۲۰۷-۱۵.
- Parazzini F., La Vecchia C., Negri E., Franceschi S. and Bocciolone L. (۱۹۹۲) Menstrual and reproductive factors and breast cancer in women with family history of the disease. *Int J Cancer.* ۵۱:۶۷۷-۸۱.
- Piegorsch W.W., Weinberg C.R. and Taylor J.A. (۱۹۹۴) Non-hierarchical logistic models and case-only designs for assessing susceptibility in population-based case-control studies. *Stat Med.* ۱۶:۱۵۳-۶۲.
- Pharoah P., Day N., Easton D., Duffy S. and Ponder B. (۱۹۹۷) Family history and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer.* ۷۱:۸۰۰-۹.
- QUANTO version ۰.۵ (۲۰۰۴). Available: <http://hydra.usc.edu/gxe>
- Schmidt S. and Schaid D.J. (۱۹۹۹) Potential misinterpretation of the case-only study to assess gene-environment interaction. *Am J Epidemiol.* ۱۵۰:۸۷۸-۸۵.
- Sellers T.A., Potter J.D. and Severson R.K. (۱۹۹۳) Difficulty becoming pregnant and family history as interactive risk factors for postmenopausal breast cancer: the Iowa Women's Health Study. *Cancer Cause Control.* ۴:۲۱-۲۸.

Sellers T.A., Kushi L.H. and Potter J.D. (۱۹۹۲) Effect of family history, body-fat distribution, and reproductive factors on the risk of postmenopausal breast cancer. *N Engl J Med.* ۳۲۶:۱۳۲۳-۲۹.

Smith P.G. and Day N.E. (۱۹۸۴) The design of case-control studies: the influence of confounding and interaction effects. *Int J Epidemiol.* ۱۳:۳۵۶-۶۵.

Thompson W.D. (۱۹۹۴) Statistical analysis of case-control studies. *Epidemiol Rev.* ۱۶: ۳۳-۵۰.

Yang Q., Khoury M.J. and Flanders W.D. (۱۹۹۷) Sample size requirements in case-only designs to detect gene-environment interaction. *Am J Epidemiol.* ۱۴۶(۹): ۷۱۳-۲۰.