

Polimorfisme sebagai suatu uji genetik: Sebuah tinjauan kritis

A. BAZIAD

*Departemen Obstetri dan Ginekologi
Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia/
RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo
Jakarta*

Tujuan: Menelaah perkembangan penggunaan polimorfisme sebagai suatu uji genetik yang masih menimbulkan banyak silang pendapat.

Rancangan/rumusan data: Kajian pustaka.

Hasil: Gen terdiri dari berbagai variasi yang dapat menggambarkan berbagai jenis penyakit pada manusia dan dengan polimorfisme dapat juga menentukan dosis obat yang tepat bagi seseorang. Pengaruh lingkungan sangatlah besar terhadap gen. Polimorfisme yang ditemukan di suatu negara belum tentu sama dengan polimorfisme di negara yang lain, karena memang pengaruh lingkungan setiap negara berbeda-beda. Oleh karena itu sangat penting setiap negara memiliki sendiri-sendiri variasi gen. Kurang tepat kalau merujuk dengan variasi-variasi gen yang ditemukan di negara-negara maju.

Kesimpulan: Pemeriksaan polimorfisme sangat berguna untuk menentukan apakah seseorang individu menderita penyakit tertentu, sehingga diharapkan dapat dilakukan pengobatan dan pencegahan dini. Dengan polimorfisme juga dapat ditentukan dosis obat yang tepat, mencegah efek samping yang tidak diinginkan. Namun polimorfisme telah menimbulkan kritik di berbagai negara.

[Maj Obstet Ginekol Indones 2007; 31-2: 116-20]

Kata kunci: polimorfisme, uji genetik

Objective: To examine the development of the use of polymorphism as a genetic test which still gave rise to a great deal of controversy.

Design/data identification: Literature study.

Result: Genes consist of many variations which portray various diseases in humans, and with polymorphism we could identify the appropriate doses for an individual. The effects of environment are immense on the genes. Polymorphism discovered in any country might not be identical with polymorphism in other countries, as the effects of environment in each country to have its own variation of genes. It is not appropriate to always refer to various genes discovered in the developed countries.

Conclusion: The examination of polymorphism is extremely useful in determining whether a person suffers a certain disease or not, to the extent that a treatment and early prevention could be performed. With polymorphism, the appropriate doses of medications could also be determined, and the unwanted side effects could be prevented. However, polymorphism has received criticism in various countries.

[Indones J Obstet Gynecol 2007; 31-2: 116-20]

Keywords: polymorphism, genetic test

PENDAHULUAN

Projek pemetaan gen manusia telah selesai dikerjakan, sehingga telah berhasil dipetakan 3 juta pasangan basa yang mengandung 30.000 sampai 40.000 gen. Pada setiap individu, susunan gennya memiliki variasi-variasi, yang disebut dengan istilah polimorfisme. Dengan adanya variasi-variasi gen ini, mulailah timbul ide untuk melakukan uji genetik terhadap beberapa jenis penyakit, seperti penyakit jantung, darah tinggi, aterosklerosis, trombosis, kanker prostat, kanker payudara, endometriosis, gestosis, dan osteoporosis. Bahkan dengan uji genetik, telah dapat pula ditentukan dosis obat buat individu tertentu. Banyak perusahaan-perusahaan yang menawarkan kepada masyarakat untuk melakukan pemeriksaan uji genetik untuk mengetahui apakah seseorang memiliki polimorfisme tertentu dan bila

ada, maka mereka mengatakan kalau orang tersebut suatu ketika kelak akan memiliki risiko terkena penyakit, dan sekaligus menawarkan cara pencegahannya. Bila seseorang tidak memiliki polimorfisme, lalu dikatakan orang tersebut kecil sekali kemungkinan akan terkena penyakit tertentu. Akibat adanya uji genetik ini, timbullah kegelisahan yang luas di kalangan masyarakat.

Beberapa ahli mulai tidak sepaham dengan adanya anjuran untuk penggunaan polimorfisme dalam pelayanan kesehatan sehari-hari. Perusahaan-perusahaan yang menawarkan pemeriksaan polimorfisme dengan biaya yang begitu mahal dituding hanya untuk mencari keuntungan saja. Kalaulah hanya untuk sekedar ingin mengetahui ada tidaknya polimorfisme pada penyakit-penyakit tertentu pada populasi tertentu masih dapat diterima. Apalagi setiap populasi di negara-negara tertentu menunjukkan poli-

polimorfisme yang berbeda-beda. Faktor lingkungan dan kebiasaan hidup populasi di suatu negara sangat berpengaruh terhadap perubahan genetik individunya. Apakah ditemukan polimorfisme terhadap penyakit tertentu di negara tertentu, juga ditemukan hal yang sama di negara yang lain? Misalnya, polimorfisme CYP 17 MspA1 sering ditemukan pada pasien dengan endometriosis, namun polimorfisme tersebut tidak ditemukan atau sangat sedikit ditemukan pada wanita Jepang dan Inggris yang menderita endometriosis.¹

Sangat sering terjadi polimorfisme pada manusia (1/1000 nukleotid) dan sama sekali tidak memiliki nilai patologis. Berbagai jenis golongan darah atau warna rambut juga hasil dari polimorfisme, namun perubahan gen tersebut bukan hal yang patologis. Bila suatu ketika kelak, misalnya ada pengaruh zat tertentu terhadap gen golongan darah atau rambut yang dapat menyebabkan mutasi pada gen-gen tersebut, barulah polimorfisme ada artinya. Namun manusia tidak perlu takut, karena tubuh manusia memiliki kemampuan untuk segera memperbaiki polimorfisme yang sudah kena mutasi tersebut dengan polimorfisme yang lain. Jadi, bila ditemukan polimorfisme pada suatu pemeriksaan jangan terlalu cepat menghubungkannya dengan suatu penyakit tertentu, atau juga terhadap risiko penyakit tertentu. Perusahaan-perusahaan yang begitu antusias mempromosikan pemeriksaan polimorfisme berpatokan hanya pada 18 gen yang telah dipilih secara khusus bagi mereka yang benar-benar telah menderita suatu penyakit, seperti misalnya osteoporosis, gestosis, kanker payudara, dan trombosis dan seterusnya. Jadi tidaklah mengherankan kalau akhirnya ditemukan polimorfisme, karena memang mereka telah memiliki penyakit. Tetapi mereka yang menderita penyakit-penyakit tersebut di atas banyak juga yang tidak ditemukan polimorfisme. Lalu mereka dengan mudah mengatakan, bahwa mereka yang memiliki polimorfisme akan memiliki risiko yang besar, sedangkan bagi mereka yang tidak memiliki polimorfisme sangat kecil untuk mendapatkan risiko. Padahal, meskipun mereka saat ini tidak memiliki risiko, namun setiap saat dapat terjadi perubahan pada gen, karena memang tubuh manusia setiap saat dibebani, apakah itu melalui udara atau melalui pencernaan, dengan zat-zat berbahaya. Kepada mereka yang memiliki polimorfisme dianjurkan untuk tidak menggunakan progestogen, obat penghambat enzim aromatase, atau jangan memakan brokoli. Padahal, semua anjuran-anjuran tersebut masih belum ada bukti ilmiahnya yang benar-benar akurat.²

ARTI DARI PEMERIKSAAN POLIMORFISME

Pemeriksaan polimorfisme baru akan memiliki konsekuensi klinis bila tersedia data epidemiologi yang akurat dan konsisten, dan data-data yang diperoleh tersebut tidak meragukan lagi. Diperlukan penelitian prospektif yang dirandomisasi dengan subjek yang besar dan memiliki signifikansi yang tinggi dan juga diteliti pengaruh berbagai jenis faktor risiko, atau lingkungan terhadap berbagai jenis gen.^{3,4,5} Osteoporosis misalnya, faktor risikonya banyak sekali, sehingga perlu dicari faktor risiko mana yang menyebabkan perubahan pada gen, dan bila ditemukan polimorfismenya barulah dapat dianjurkan pencegahan osteoporosis.²

Secara umum dapat dikatakan bahwa skrining untuk mengidentifikasi polimorfisme tertentu hanya dibenarkan bila bertujuan untuk menjawab pertanyaan-pertanyaan yang sangat penting saja, yang dapat dipertanggungjawabkan untung ruginya.⁶ Sebagai contoh, enzim glutathion transferase sangat penting bagi manusia untuk menghancurkan zat-zat yang memiliki sifat karsinogenik, namun enzim ini tidak ditemukan pada separuh populasi. Seharusnya, populasi yang tidak memiliki enzim ini akan mudah terkena kanker (kandung kemih).² Ternyata dari berbagai penelitian yang dilakukan hanya sedikit sekali populasi dengan kekurangan enzim glutathion transferase yang menderita kanker. Pada 50.000 manusia ditemukan kekurangan enzim glutathion transferase, dan seharusnya semua mereka akan menderita kanker kandung kemih, namun kenyataannya hanya 3 orang saja dari mereka yang ditemukan polimorfisme untuk kanker kandung kemih, sedangkan sisanya tidak ditemukan, namun mereka telah hidup dalam ketakutan, karena mereka berpikir satu saat kelak mereka akan terkena kanker kandung kemih.⁶ Contoh yang lain lagi adalah, wanita heterozigot yang menderita Faktor -V memiliki risiko terkena trombosis adalah 7 kali dan bila diberikan kontrasepsi hormonal risikonya meningkat menjadi 29 kali. Namun dari 1000 wanita dengan kelainan Faktor -V yang menggunakan kontrasepsi hormonal, hanya 3 wanita per tahun yang menderita trombosis. Jadi timbulah pertanyaan, konsekuensi klinis apa yang dapat diambil dari uji genetik semacam itu? Mungkin lebih tepat kalau pemeriksaan polimorfisme jangan dianjurkan untuk semua orang. Cukup pada kelompok orang yang berdasarkan anamnesis, atau dari riwayat keluarga, ataupun berdasarkan data-data penelitian epidemiologik kemungkinan besar akan terkena penyakit tertentu saja, barulah dianjurkan skrining genetik. Misalnya, seseorang dicurigai kemungkin-

an besar memiliki risiko besar terkena trombosis, maka barulah diperiksa ada atau tidak polimorfisme. Perlu diketahui, bahwa andaikata tidak ditemukan polimorfisme, bukan berarti orang tersebut telah aman dari terkena trombosis. Masalahnya, salah satu risiko trombosis yang sangat penting adalah Anticardiolipin-Antibodi (ACA), dan ACA ini bukan merupakan kelainan genetik, melainkan didapat semasa hidup seseorang. Contoh lain lagi, di mana skrining genetik menimbulkan kebingungan/keraguan yang sangat besar adalah peranan hormon estrogen terhadap kanker payudara. Hingga kini hampir semua ahli sepakat, bahwa pemberian estrogen meningkatkan risiko kanker payudara. Namun dari penelitian WHO justru ditemukan hal yang berbeda.^{7,8} Perempuan menopause yang diberikan estrogen+progestogen jangka panjang terjadi peningkatan risiko relatif kanker payudara, namun mereka yang diberikan estrogen saja risiko relatif kanker payudara sangat kecil. Pada skrining genetik hingga kini belum ditemukan polimorfisme untuk progestogen, sedangkan untuk estrogen telah banyak ditemukan polimorfismenya, sehingga dianjurkanlah semua perempuan untuk memeriksa polimorfisme estrogen (enzimnya). Padahal kita semua tahu bahwa risiko terkena kanker payudara pada penggunaan HRT baru akan meningkat setelah digunakan > 5 tahun, dan itupun kejadian kanker payudaranya hanya 2/1000 dalam jangka waktu pengamatan 20 tahun.⁹ Begitu perempuan tidak menggunakan HRT lagi, maka risiko kanker payudara juga akan makin rendah. Melihat begitu rendahnya risiko kanker payudara pada perempuan yang menggunakan HRT, maka timbulah pertanyaan, apakah bila kemudian ditemukan polimorfisme lalu kita menyarankan agar tidak usah lagi menggunakan HRT? Bila kita melihat hasil penelitian WHO dan juga melihat berkurangnya risiko kanker payudara setelah berhenti menggunakan HRT, maka dapat disimpulkan bahwa timbulnya kanker payudara paling mungkin disebabkan oleh adanya efek proliferasi dari estrogen dan progestogen terhadap sel-sel payudara, bukan karena karsinogenik efek dari estrogen.¹⁰ Oleh karena itu tentu dengan sendirinya pula pemeriksaan polimorfisme dari enzim Citokrom-P 450 menjadi tidak begitu penting artinya.

ENZIM CYTOKROM-P 450 (CYP)

Enzim CYP sering dilihat sebagai *marker* untuk penyakit kanker. Padahal enzim ini sangat penting artinya untuk tubuh manusia. Sepanjang hidup

manusia, tubuh manusia secara terus menerus dibebani dengan zat-zat beracun, yang diperoleh melalui paru-paru dan pencernaan. Zat-zat beracun ini harus segera dikeluarkan oleh tubuh agar zat-zat tersebut tidak menimbulkan penyakit. Agar mudah dikeluarkan maka zat-zat tersebut harus terlebih dahulu diubah ke dalam zat-zat yang mudah larut dalam air. Di sinilah berperan enzim CYP. Zat-zat berbahaya tersebut akan dikongjugasi dengan sulfat dan glukoronid, dan dalam bentuk kongjugasi seperti ini, barulah tubuh dapat dengan mudah mengeluarkan zat-zat berbahaya tersebut. Enzim CYP tidak hanya memetabolisasi zat-zat berbahaya yang masuk ke dalam tubuh saja, namun juga zat-zat yang terdapat dalam tubuh sendiri seperti steroid. Obat-obatan seperti nifedipin dan etinil estradiol juga ikut dimetabolisasi oleh enzim CYP.

Menjadi pertanyaan berikutnya adalah apakah penting sekali melakukan pemeriksaan polimorfisme terhadap enzim CYP? Masalahnya, enzim ini sebagian besar baru akan dibentuk di hepar maupun di luar hepar setelah mendapat rangsangan dari zat-zat tertentu, misalnya obat-obatan, steroid atau zat-zat aromatik baik sintetik maupun alami lainnya. Zat-zat tersebut dapat memperkuat atau memperlemah aktivitas enzim CYP. Karena tubuh tidak pernah berhenti dimasuki oleh berbagai jenis zat-zat berbahaya dan obat-obatan, yang dapat meningkatkan aktivitas maupun menurunkan aktivitas enzim CYP, maka timbul pertanyaan di mana terletak kepentingan klinis pemeriksaan polimorfisme enzim CYP? Tubuh manusia telah memiliki sistem pertahanan tubuh yang baik untuk mencegah terjadinya mutasi pada DNA. Beberapa jenis enzim seperti Glutathion-S-transferase (GSTM-1, GSTT-1, GSTP-1), N-Asetiltransferase (NAT-1 dan NAT-2), glukoniltransferase dan sulfotransferase, memiliki fungsi mengkongjugasi zat-zat berbahaya dan kemudian dengan sangat mudah dikeluarkan oleh tubuh. Selain itu, tubuh manusia juga memiliki kemampuan untuk menginaktifkan radikal bebas (vitamin A, C, E). Sistem enzim reparasi yang dimiliki oleh DNA tidak pernah berhenti bekerja untuk mencegah terjadinya mutasi titik (*point mutation*) pada DNA. Kalaupun juga sampai timbulnya kanker pada manusia, maka pasti bukan disebabkan oleh satu faktor saja, melainkan disebabkan oleh banyak faktor, dan mekanisme terjadinya kanker juga masih belum diketahui secara pasti. Karena kanker umumnya paling banyak dijumpai pada usia > 40 tahun, maka timbulnya kanker kelihatannya tidak berhubungan dengan dosis suatu zat/obat, melainkan berhubungan dengan lama zat, atau obat tersebut mempengaruhi DNA. Meskipun kadar estrogen sangat tinggi dalam

kehamilan, namun kejadian kanker payudara tetap rendah. Akan tetapi bila kehamilan terus terjadi sampai memasuki usia > 40 tahun, maka kejadian kanker payudara meningkat. Pemberian HRT, dosis rendah maupun dosis tinggi, baru akan meningkatkan risiko kanker payudara, bila digunakan > 5 tahun. Jadi, di mana manfaat pemeriksaan polimorfisme bagi perempuan yang menggunakan HRT? Estrogen sendiri tidak bersifat karsinogenik. Namun bila bersamaan dengan estrogen tubuh manusia juga mendapatkan zat-zat berbahaya dari luar, dan zat-zat ini memicu pembentukan enzim-enzim tertentu, maka enzim tersebut akan merubah estrogen menjadi katekolestrogen. Katekolestrogen memiliki efek karsinogenik atau genotoksik terhadap DNA. Salah satu enzim yang berperan pada pembentukan katekolestrogen adalah cathecol-o-methyltransferase (COMT), sehingga dikatakan kalaulah seorang individu memiliki polimorfisme dari enzim ini, maka individu tersebut memiliki risiko besar terkena kanker payudara. Bagi mereka yang memiliki polimorfisme ini dianjurkan untuk menggunakan estrogen dosis rendah, lebih aman menggunakan Tibolon dan bila menggunakan progestogen untuk HRT dianjurkan penggunaan progestogen turunan testosterone (noretisteron). Saran-saran ini semua sangat bertentangan dengan teori yang ada. Misalnya, saran untuk menggunakan estrogen dosis rendah. Seperti dijelaskan di atas, dosis tidak ada kaitannya dengan insiden kanker payudara, namun erat kaitannya dengan lama penggunaan estrogen. Saran untuk menggunakan Tibolon juga perlu hati-hati ditanggapi, karena salah satu hasil metabolisme Tibolon adalah etinil estradiol, yang merupakan estrogen kuat, yang sangat kuat menimbulkan proliferasi pada sel-sel epitel payudara dan endometrium. Kadar etinil estradiol pada penggunaan Tibolon hampir sama dengan kadar etinil estradiol pada penggunaan kontrasepsi hormonal.¹¹ Saran untuk menggunakan progestogen turunan testosterone dalam HRT lebih tidak tepat lagi. Progestogen jenis ini maupun progestogen turunan alami (MPA) telah terbukti meningkatkan densitas payudara, dan peningkatan densitas payudara meningkatkan risiko terkena kanker payudara.^{12,13} Beberapa penelitian yang pernah dilakukan tidak menemukan hubungan COMT-polimorfisme dengan kanker payudara.^{4,14} Oleh karena itu, bagi manusia yang terbaik adalah mencegah masuknya zat-zat berbahaya, baik melalui udara maupun melalui pencernaan. Andaikata pencegahan ini benar-benar dapat dilakukan (meskipun saat sekarang hampir tidak mungkin), maka tidak akan ditemukan polimorfisme gen untuk kanker payudara. Di beberapa negara industri maju

bisa saja ditemukan berbagai jenis polimorfisme untuk kanker payudara, karena memang populasi di negara-negara tersebut memakan makanan yang banyak tercemar dengan bahan-bahan kimia tertentu (pestisida), dan boleh dikatakan barangkali tidak ada bahan makanan yang tidak terkena/kontak dengan bahan-bahan kimia, seperti amin heterosi-klik, yang dapat menyebabkan perubahan pada DNA.^{15,16,17} Perusahaan-perusahaan yang menjual teknik-teknik pemeriksaan polimorfisme umumnya memperoleh data berdasarkan penelitian epidemiologi dari populasi yang hidup di negara-negara maju, dan dengan mudah sekali menganjurkan juga untuk dipergunakan di negara-negara berkembang. Padahal kita tahu semua bahwa pola hidup manusia berbeda antara satu negara dengan negara lain. Sudah waktunya masing-masing negara mencari jenis polimorfisme mana yang mungkin terbentuk untuk masing-masing penyakit yang dianggap paling penting. Contoh yang paling sederhana adalah perbedaan polimorfisme untuk endometriosis antara perempuan China dan Jepang. Seperti diketahui bahwa p53 codon polimorfisme paling banyak ditemukan pada penderita endometriosis. Chang et al menemukan perbedaan yang signifikan prevalensi dari p53 codon polimorfisme pada perempuan China yang menderita endometriosis dibandingkan dengan kelompok normal, sedangkan penelitian di Jepang tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antara perempuan Jepang yang menderita endometriosis dengan kelompok kontrol.^{1,18} Perlu diketahui bahwa p53 codon polimorfisme pada ekson 4 tidak hanya berhubungan dengan endometriosis, namun juga penampilannya berhubungan erat dengan kanker paru, oesofagus dan serviks.¹ Artinya, penemuan polimorfisme endometriosis perlu ditindaklanjuti dengan usaha mencari jenis-jenis kanker yang lain. Tentu hal ini akan menambah ketakutan pada kaum perempuan.

AROMATASE (CYP-19)

Aromatase merupakan enzim yang merubah androstendion menjadi estron dan testosterone menjadi estradiol, sehingga tubuh manusia memiliki kadar serum estradiol yang tinggi. Akibatnya, tentu akan meningkatkan risiko kanker payudara pada perempuan. Telah ditemukan 3 polimorfisme untuk enzim ini. Pada satu penelitian yang dilakukan tidak ditemukan hubungan antara aktivitas aromatase dalam jaringan kanker payudara dengan stadium ataupun prognosis kanker.¹⁹ Jaringan kanker payudara memiliki kemampuan sendiri untuk mensintesis estro-

gen. Jaringan payudara dengan yang banyak mengandung sel-sel kanker dijumpai aktivitas aromatase yang tinggi, sedangkan yang mengandung sel-sel kanker sedikit, aktivitas aromatase rendah. Di sini terbukti bahwa sel-sel kanker memiliki cara sendiri untuk menghasilkan estrogen, bukan karena adanya polimorfisme aromatase. Mengajukan pemberian aromatase inhibitor (obat yang menghambat kerja enzim aromatase) pada mereka yang tidak menderita kanker menjadi pertanyaan besar.

Enzim aromatase hanya mengubah androgen endogen menjadi estrogen. Enzim ini tidak memiliki arti apapun terhadap pemberian estrogen eksogen (HRT) ataupun terhadap androgen eksogen. Androgen yang diberikan dari luar justru menghambat aktivitas enzim aromatase.

KESIMPULAN

Akhir-akhir ini banyak perusahaan-perusahaan yang mempromosikan skrining genetik untuk tujuan pemeriksaan polimorfisme bagi individu tertentu dengan penyakit tertentu, seperti penyakit jantung, trombosis, osteoporosis, kanker payudara, komplikasi kehamilan (gestosis) dan seterusnya. Bahkan dengan pemeriksaan polimorfisme memungkinkan menentukan dosis obat yang sesuai bagi setiap orang. Seolah-olah dengan mengetahui polimorfisme seseorang, sudah dapat dilakukan pencegahan terhadap penyakit tertentu pula. Cara pencegahan yang dianjurkan ternyata masih sulit dibuktikan secara alamiah. Sayangnya, uji genetik ini yang memerlukan biaya mahal telah menimbulkan banyak kritik dari para ahli genetik. Setiap populasi suatu negara memiliki polimorfisme yang berbeda-beda pula terhadap berbagai jenis penyakit, sehingga setiap negara harus memiliki pemeriksaan polimorfisme terhadap populasinya sendiri.

RUJUKAN

- Omori S, Yoshida S, Kennedy S, Negoro K, Hamana S, Barlow DH et al. Polymorphism at Codon 72 of the p53 Gene is Not Associated With Endometriosis in a Japanese Population. *J Soc Gynecol Investing* 2004; 11: 232-6
- Birkhauser M, Brandle W, Breckwold M, Keller PJ, Kiesel L, Kuhl H. Stellungnahme des Zurcher Gesprachskreises zum Gentest. *Frauenarzt* 2002; 43: 692-702
- Probst-Hensch NM. Niedrichpenetranz-Gene und Brustkrebs. *J Menopause* 2002; 9: 22-6
- Dunning AM. A systematic review of genetic polymorphism and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 843-54
- Birkhauser M, Braendle W, Breckwoldt PJ, Keller PJ, Kiesel L, Kuhl H. Die derzeitige Datenlage rechtfertigt ein Screening mit dem Gentest nicht. *Frauenarzt* 2002; 43: 1464-5
- Brockmoller J. Glutathione S-transferase M1 and its variants A and B as host factors of bladder cancer susceptibility: a case-control study. *Cancer Res* 1994; 54: 4103-11
- Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risk and Benefits of Estrogens plus Progestins in Healthy Postmenopausal Women. *J Am Med Assoc* 2002; 288: 321-33
- Studd J. Second Thoughts on The Women's Health Initiative. The Effects of Age on The Safety of HRT. *Climacteric* 2004; 4: 412-4
- Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Breast Cancer and Hormone Replacement Therapy: Collaborative Reanalysis of Data from 51 Epidemiological Studies of 52.705 Women with Breast Cancer and 108.411 Women Without Breast Cancer. *Lancet* 1997; 350: 1047-59
- Kuhl H. Sind Estrogene Karzinogene? *J Menopause* 2002; 9: 19-28
- Kuhl H. Wirkt Tibolon wie ein kontinuierlich eingenommener niedrig dosierter Ovulationshemmer? *Frauenarzt* 2002; 43: 1460-3
- Soderqvist G, Conner P, Christow A, Kersemakers W, Mol- Arts M. Effects of tibolone VS estradiol/NETA on proliferation in the mammary glands of healthy women in vivo, a double-blind randomized placebo-controlled study. *Book of Abstract The 10th World Congress of Menopause*, Berlin 2002
- Svane G. Mammographic Density and HRT. In: The effect of HRT on Mammographic Density. Evidence from the Clinic. *Symposium The 10th World Congress of Menopause*, Berlin 2002
- Bergman-Jungerstrom et al. Catechol-o-methyltransferase (COMT) gene polymorphism and breast cancer risk in young women. *Br J Cancer* 2001; 85: 859-62
- Sugimura T, Sato S. Mutagen-carcinogens in foods. *Cancer Res* 1983; 43 (suppl): 2415-21
- Ames BN. Dietary carcinogens and anti carcinogens. *Science* 1983; 221: 1256-64
- Swirsky Gold L, Stern BR, Slone TH. Pesticide residues in food: investigations of disparities in cancer risk estimates. *Cancer Letters* 1997; 117: 195-207
- Chang CC, Hsieh YY, Tsai FJ, Tsai CH, Tsai HD, Lin CC. The proline form of p53 codon 72 polymorphism is associated with endometriosis. *Fertil Steril* 2002; 77: 43-5
- Miller WR. Aromatase activity in breast tissue. *J Steroid Biochem Molec Biol* 1991; 39: 783-90