

**POMORSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY  
W SZCZECINIE**



*lek. Milena Matuszczak*

***Stężenia cynku i miedzi oraz ich stosunek we krwi jako  
markery ryzyka rozwoju nowotworów u nosicielek mutacji  
w genie BRCA1***

*Zinc and copper- blood zinc-to copper-ratio as a marker of cancer risk  
in BRCA1 mutation carriers*

*Rozprawa doktorska w dziedzinie nauk medycznych i nauk o zdrowiu*

*Dyscyplina nauki medyczne*

*Promotor: Prof. dr hab. n. med. Jan Lubiński*

**Szczecin 2024 r.**

*Szczególne podziękowania składam Promotorowi Panu Profesorowi Janowi Lubińskiemu, za autentyczną życzliwość oraz prawdziwą pasję do nauki. Dziękuję za merytoryczne wsparcie, cenne uwagi i sugestie, cierpliwość oraz poświęcony czas.*

*Dziękuję również przyjaciołom oraz rodzinie za nieustanne wsparcie i motywację. W szczególności serdecznie dziękuję moim rodzicom za trud wychowania, miłość i czas, który mi ofiarowali.*

*Podziękowania składam również Profesorom Jackowi Gronwaldowi, Cezaremu Cybulskiemu, Tadeuszowi Dębniakowi oraz Tomaszowi Huzarskiemu za wieloletnią troskę o dobro Pacjentów Poradni Genetycznych oraz umożliwienie przeprowadzenia badań bez których niniejsza praca nie mogłaby powstać.*

# Spis treści

|   |          |
|---|----------|
| <b>1. Wykaz stosowanych skrótów.....</b>  | <b>5</b> |
| <b>2. Nota informacyjna.....</b>  | <b>8</b> |
| 2.1. Źródło finansowania.....   | 8        |
| <b>3. Wstęp .....</b>   | <b>9</b> |
| 3.1. Gen BRCA1 w patogenezie raka piersi i jajnika.....                                 | 9        |
| 3.2. Mutacje założycielskie w populacji Polskiej .....                                  | 10       |
| 3.3. Ryzyko zachorowania na raka piersi i jajnika u nosicielek mutacji genu BRCA1 ..... | 10       |
| 3.4. Ryzyko zachorowania na inne nowotwory .....  | 13       |
| 3.5. Rokowanie.....   | 14       |
| 3.5.1. Przeżycie w raku piersi u kobiet z mutacją BRCA1 .....                           | 14       |
| 3.5.2. Przeżycie w raku jajnika u nosicielek mutacji BRCA1 .....                        | 15       |
| 3.6. Epidemiologia .....  | 16       |
| 3.6.1. Rak piersi.....  | 16       |
| 3.6.2 Rak piersi u nosicielek BRCA1 .....   | 16       |
| 3.6.3. Rak jajnika.....   | 17       |
| 3.6.4. Rak jajnika u nosicielek BRCA1 .....   | 17       |
| 3.7. Badania kontrolne .....  | 18       |
| 3.7.1. USG piersi oraz mammografia.....   | 18       |
| 3.7.2. Rezonans magnetyczny piersi .....  | 18       |
| 3.7.3. USG dopochwowe oraz marker CA125.....  | 18       |
| 3.8. Leczenie .....   | 18       |
| 3.9. Czynniki wpływające na ryzyko nowotworów u nosicielek mutacji BRCA1 .....          | 19       |
| 3.9.1. Chirurgiczne zabiegi profilaktyczne .....  | 19       |
| 3.9.2. Hormonalna terapia zastępcza (HTZ) .....   | 20       |
| 3.9.3. Leczenie niepłodności .....  | 20       |
| 3.9.4. Doustna antykoncepcja hormonalna .....   | 21       |
| 3.9.5 Chemoprewencja Tamoksyfenem .....   | 22       |
| 3.9.6. Wiek pierwszej miesiączki.....   | 22       |
| 3.9.7. Późniejszy wiek menopauzy .....  | 22       |
| 3.9.8. Karmienie piersią .....  | 23       |
| 3.9.9. Liczba ciąż.....   | 23       |
| 3.9.10. Przewlekłe infekcje i zapalenia .....   | 23       |
| 3.9.11. Palenie tytoniu.....  | 23       |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.9.12. Picie kawy i spożywanie alkoholu .....        | 24        |
| 3.9.13. BMI .....                                     | 24        |
| 3.9.14. Dieta oraz stężenia pierwiastków .....        | 24        |
| <b>4. Cel pracy .....</b>                             | <b>26</b> |
| <b>5. Materiały i metody .....</b>                    | <b>27</b> |
| 5.1. Grupa badana.....                                | 27        |
| 5.2. Pomiar stężenia cynku i miedzi.....              | 30        |
| 5.3. Analiza statystyczna.....                        | 30        |
| <b>6. Wyniki .....</b>                                | <b>32</b> |
| 6.1. Publikacja nr 1:.....                            | 32        |
| 6.2. Publikacja nr 2:.....                            | 36        |
| <b>7. Dyskusja .....</b>                              | <b>39</b> |
| 7.1. Publikacja nr 1:.....                            | 39        |
| 7.2. Publikacja nr 2:.....                            | 42        |
| <b>8. Podsumowanie wyników .....</b>                  | <b>46</b> |
| <b>9. Wnioski.....</b>                                | <b>47</b> |
| <b>10. Publikacje będące podstawą rozprawy .....</b>  | <b>48</b> |
| 10.1. Publikacja nr 1:.....                           | 48        |
| 10.2. Publikacja nr 2:.....                           | 64        |
| <b>11. Suplement.....</b>                             | <b>78</b> |
| <b>12. Streszczenie .....</b>                         | <b>83</b> |
| <b>13. Summary .....</b>                              | <b>85</b> |
| <b>14. Piśmiennictwo .....</b>                        | <b>85</b> |
| <b>15. Oświadczenia współautorów publikacji .....</b> | <b>98</b> |

# 1. Wykaz stosowanych skrótów

BER (ang. *base excision repair*) – naprawa przez wycinanie zasady

BMI (ang. *Body Mass Index*) – wskaźnik masy ciała

BPM (ang. *Bilateral Prophylactic Mastectomy*)- obustronna profilaktyczna mastektomia

BRCA1 (ang. *BReast CAncer gene 1*)

BSO (ang. *Bilateral Salpingo-Oophorectomy*)- obustronna salpingoowariektomia/  
adneksektomia

CA125 (ang. *Cancer Antigen 125*) – antygen nowotworowy 125

CI (ang. *Confidence Interval*) – przedział ufności

CIMBA (ang. *Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2*) – Konsorcjum Badaczy  
Modyfikatorów BRCA1/2

CPM (ang. *Contralateral Prophylactic Mastectomy*) – profilaktyczna mastektomia  
kontralateralna

CuZnSOD-1 (ang. *Copper/Zinc Superoxide Dismutase*) – cynkowo-miedziowa dysmutaza  
ponadtlenkowa

DSBs (ang. *Double-Strand Breaks*)- podwójne złamania DNA

EDTA (ang. *EthyleneDiamineTetraacetic Acid*) –kwas etylenodiaminotetraoctowy

EGF (ang. *Epidermal Growth Factor*) – nabłonkowy czynnik wzrostu

EMA (ang. *European Medicines Agency*) – Europejska Agencja Leków

EPIC (ang. *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*) - Europejskie  
prospektywne badanie nad rakiem i odżywianiem

EPT (ang. *Estrogen-Progesteron Therapy*) – terapia estrogenowo-progesteronowa

ET (ang. *Estrogen Therapy*) – terapia estrogenowa

FDA (ang. *Food and Drug Administration*) – Agencja Żywności i Leków

FGF (ang. *Fibroblast Growth Factor*) – czynnik wzrostu fibroblastów

GLOBOCAN (ang. *Global Cancer Incidence, Mortality and Prevalence*) – Globalna Baza  
Danych Zawierającą Statystyki Dotyczące Raka

HER2 (ang. *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*) – receptor ludzkiego naskórkowego czynnika wzrostu 2

HR (ang. *Hazard Ratio*) – współczynnik ryzyka

HRR (ang. *Homologous Recombination Repair*) – homologiczna rekombinacja

HTZ – hormonalna terapia zastępcza

IARC (ang. *International Agency Research on Cancer*) – Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem

ICP-MS (ang. *Inductively Coupled Plasma- Mass Spectrometry*) – spektrometria mas ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej

IF (ang. *Impact Factor*) – współczynnika cytowań czasopisma naukowego

IGF-1 (ang. *Insulin-like Growth Factor 1*) – insulinopodobny czynnik wzrostu

IVF (ang. *In Vitro Fertilization*) – zapłodnienie pozaustrojowe

LOH (ang. *Loss Of Heterozygosity*) - utratę heterozygotyczności

MAPK (ang. *Mitogen-Activated Protein Kinases*) – kinazy aktywowane mitogenami

MMP (ang. *Matrix MetalloProteinase*) – metaloproteinaza macierzy

MNiSW – Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego

MRI (ang. *Magnetic Resonance Imaging*) – obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego

NER (ang. *Nucleotide Excision Repair*) – naprawa przez wycinanie nukleotydu

NHEJ (ang. *Non-Homologous End-Joining*) – (Naprawa poprzez) scalanie niehomologicznych końców DNA

OR (ang. *Odds Ratio*) – iloraz szans

OS (ang. *Overall Survival*) – całkowite przeżycie

$p$  (ang. *p-value*) – prawdopodobieństwo testowe

PARP (ang. *Poly ADP-Ribose Polymerase*) – polimeraza poli-ADP rybozy

pCR (ang. *pathological Complete Response*) – całkowita odpowiedź patologiczna

PI3K (ang. *Phosphoinositide 3-kinase*) – kinaza 3-fosfatydyloinozytolu

QMEQAS (ang. *Quebec Multielement External Quality Assessment Scheme*)

ROS (ang. *Reactive Oxygen Species*) – reaktywne formy tlenu

RR (ang. *Relative Risk*) – względne ryzyko

SIR (ang. *Standardized Incidence Ratio*) - standaryzowany współczynnik zapadalności

SOD (ang. *Superoxide Dismutase*) – dysmutaza ponadtlenkowa

TMAH (ang. *TetraMethyloAmmonium Hydroxide*) – wodorotlenek tetrametyloamonowy

TNBC (ang. *Triple Negative Breast Cancer*) – rak piersi potrójnie ujemny

USG (ang. *Ultrasonography*) – ultrasonografia

VEGF (ang. *Vascular Endothelial Growth Factor*) – czynnik wzrostu śródbłónka naczyniowego

WHO (ang. *World Health Organization*) – Światowa Organizacja Zdrowia

ZF (ang. *Zinc-Finger*) – palce cynkowe

ZFP (ang. *Zinc Finger Protein*) – białko palca cynkowego

## Nota informacyjna

Rozprawa doktorska pod tytułem „Stężenia cynku i miedzi oraz ich stosunek we krwi jako markery ryzyka rozwoju nowotworów u nosicielek mutacji w genie BRCA1” obejmuje cykl dwóch artykułów oryginalnych. Artykuły te zostały opublikowane w międzynarodowych czasopismach naukowych notowanych na liście Journal Citation (Thomson Reuters). Łączny współczynnik cytowań czasopism (IF – ang. *Impact Factor*) dla tego cyklu prac wynosi 12,0 według raportu Journal Citation Reports (Thomson Reuters) na rok 2024 oraz 200 punktów Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Rozprawę doktorską stanowią publikacje:

- Milena Matuszczak, Adam Kiljańczyk, Wojciech Marciniak, Róża Derkacz, Klaudia Stempa, Piotr Baszuk, Marta Bryśkiewicz, Ping Sun, Angela Cheriyan, Cezary Cybulski, Tadeusz Dębniak, Jacek Gronwald, Tomasz Huzarski, Marcin R. Lener, Anna Jakubowska, Marek Szwiec, Małgorzata Stawicka-Niełacna, Dariusz Godlewski, Artur Prusaczyk, Andrzej Jasiewicz, Tomasz Kluz, Joanna Tomiczek-Szwiec, Ewa Kilar-Kobierzycka, Monika Siołek, Rafał Wiśniowski, Renata Posmyk, Joanna Jarkiewicz-Tretyn, Rodney J. Scott, Steven A. Narod, Jan Lubiński

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”, *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

IF: 6,0; Punkty MNiSW: 100

- Milena Matuszczak, Adam Kiljańczyk, Wojciech Marciniak, Róża Derkacz, Klaudia Stempa, Piotr Baszuk, Marta Bryśkiewicz, Cezary Cybulski, Tadeusz Dębniak, Jacek Gronwald, Tomasz Huzarski, Marcin R. Lener, Anna Jakubowska, Marek Szwiec, Małgorzata Stawicka-Niełacna, Dariusz Godlewski, Artur Prusaczyk, Andrzej Jasiewicz, Tomasz Kluz, Joanna Tomiczek-Szwiec, Ewa Kilar-Kobierzycka, Monika Siołek, Rafał Wiśniowski, Renata Posmyk, Joanna Jarkiewicz-Tretyn, Rodney J. Scott, Jan Lubiński

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper-Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(7):1788. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>**

IF: 6,0; Punkty MNiSW: 100

### 2.1. Źródło finansowania

Praca została zrealizowana dzięki wsparciu finansowemu z programu „Regionalna Inicjatywa Doskonałości” Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego na lata 2019-2022, Grant nr 002/RID/2018/19. Dziękujemy *Peter Gilgan Foundation Tour de Bleu i Estée Lauder Companies* za hojne wsparcie tego projektu.



## 3. Wstęp

### 3.1. Gen BRCA1 w patogenezie raka piersi i jajnika

Gen BRCA1 (ang. *BReast CAncer gene 1*) (OMIM: 113705), zlokalizowany na chromosomie 17q21, pełni funkcję genu supresorowego nowotworów [1]. Zawiera 22 eksony kodujące białko o długości 1863 aminokwasów, które posiada charakterystyczne domeny: bogatą w cysteinę domenę RING (złożoną z palca cynkowego, odpowiedzialną za interakcje z białkami BAP1 i BARD1) oraz dwie domeny BRCT na C-końcu (obecne w procesach naprawy DNA, mogące aktywować transkrypcje) [2]. BRCA1 odgrywa kluczową rolę w regulacji cyklu komórkowego, transkrypcji genów, apoptozie oraz naprawie podwójnych pęknięć nici DNA (ang. *Double-Strand Breaks*; DSB) chroniąc przed niestabilnością genomową [3]. Genom ludzki jest nieustannie narażony na różne uszkodzenia, zarówno endogenne, jak deaminacja cytozyny, replikację DNA, mejozę czy reaktywne formy tlenu, jak i egzogenne, takie jak promieniowanie UV oraz substancje chemiczne, które mogą generować groźne DSB [4]. Brak naprawy tych uszkodzeń prowadzi do apoptozy, a nieprawidłowa naprawa – do mutacji i poważnych zmian chromosomowych, które mogą przyczyniać się do procesu karcynogenezy [5].

Komórki wykorzystują dwa mechanizmy naprawy DSB: niehomologiczne łączenie końców (ang. *Non-Homologous End Joining*; NHEJ) oraz rekombinację homologiczną (ang. *Homologous Recombination Repair*; HRR) [6]. NHEJ działa niezależnie od homologicznego szablonu DNA, może być aktywne przez cały cykl komórkowy i jest stosunkowo szybkie, ale mniej precyzyjne, przez co jest bardziej podatne na mutacje (ponieważ często dochodzi do niewielkich insercji lub delecji w miejscu pęknięcia) [7]. Natomiast HRR, jest procesem wysoce precyzyjnym, aktywowanym głównie w fazach S i G2, gdy siostrzana chromatyna jest dostępna jako szablon. HRR jest zależna od białka RAD51, które odgrywa kluczową rolę w inicjacji naprawy — jednoniciowy fragment DNA łączy się z siostrzaną chromatyną, umożliwiając dokładną naprawę DSB [8].

BRCA1 odgrywa istotną rolę w HRR uczestnicząc w resekcji końców DNA oraz rekrutacji białek BRCA2 i PALB2, które wspomagają wiązanie RAD51 do jednoniciowego DNA [9]. Mutacje w BRCA1, zwłaszcza w domenach RING i BRCT, które są krytyczne dla HRR, znacząco upośledzają naprawę DSB i przyczyniają się do niestabilności genomu oraz wzrostu ryzyka rozwoju nowotworów nabłonkowych, takich jak rak piersi i jajnika. [10]. W nowotworach pacjentów z mutacjami w BRCA1 często obserwuje się utratę

heterozygotyczności (ang. *Loss Of Heterozygosity*; LOH) oraz inaktywację dzikiego typu genu [11].

### **3.2. Mutacje założycielskie w populacji Polskiej**

Szacuje się, że w Polsce około 200 tysięcy osób jest nosicielami mutacji w genie BRCA1, z czego ponad 10 tysięcy zostało zidentyfikowanych w klinikach współpracujących z naszym Ośrodkiem (dane własne). Według danych z bazy ClinVar (stan na październik 2024) do tej pory zidentyfikowano 4086 patogennych oraz 211 prawdopodobnie patogennych wariantów w genie BRCA1. Ze względu na dużą homogenność etniczną naszej populacji oraz rzadkość występowania mutacji *de novo* w genie BRCA1, kilka mutacji stanowi zdecydowaną większość wykrytych przypadków.

W Polsce 91% wszystkich mutacji w genie BRCA1 to trzy zmiany: 5382insC (c.5266dupC), 300T>G (c.181T>G) oraz 4153delA (c.4035delA), stanowiące odpowiednio 51%, 20% i 11% wszystkich wykrytych mutacji wśród 66 rodzin z silną agregacją raków piersi i jajnika [12]. W Polsce dodatkowo zidentyfikowano inne często występujące warianty: c.5251C>T (5370C>T), c.676delT, c.5030\_5033del, c.68\_69delAG (185delAG) oraz c.3700\_3704delGTAAA (3819del5) [13].

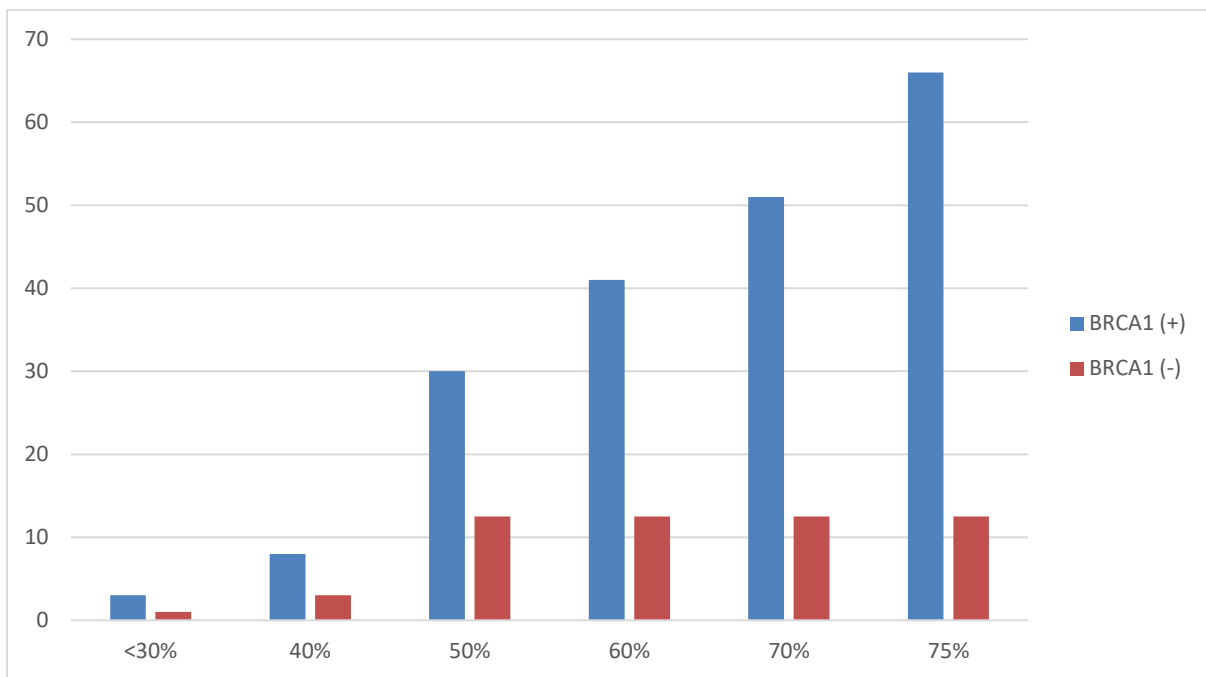
Badanie mutacji charakterystycznych dla populacji typu „*founder*” stanowi tanią i szybką metodę identyfikacji nosicieli. W określonych przypadkach (zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 21 lipca 2022 r. w sprawie świadczeń gwarantowanych z zakresu ambulatoryjnej opieki specjalistycznej) istnieją wskazania do pogłębienia diagnostyki poprzez sekwencjonowanie całego genu.

### **3.3. Ryzyko zachorowania na raka piersi i jajnika u nosicielek mutacji genu BRCA1**

Zmiany patogenne i prawdopodobnie patogenne w genie BRCA1 znacznie zwiększają ryzyko raka piersi – do około 80% oraz ryzyko rozwoju raka jajnika – do około 40% [14, 15]. W przypadku zachorowania na nowotwór złośliwy piersi, skumulowane ryzyko wystąpienia nowotworu w drugiej piersi w ciągu 20 lat wynosi 40% (95% CI, 35%-45%) [16]. Zgodnie z danymi uzyskanymi w naszym Ośrodku, opartymi na analizie przypadków raka piersi i jajnika wśród nosicielek mutacji BRCA1 w polskiej populacji, skumulowane ryzyko zachorowania do 75. roku życia wynosi około 66% dla raka piersi (Tabela 1 i Rycina 1) oraz 44% dla raka jajnika (Tabela 2 i Rycina 2).

**Tabela 1.** Ryzyko raka piersi u nosicielek mutacji BRCA1 w Polsce

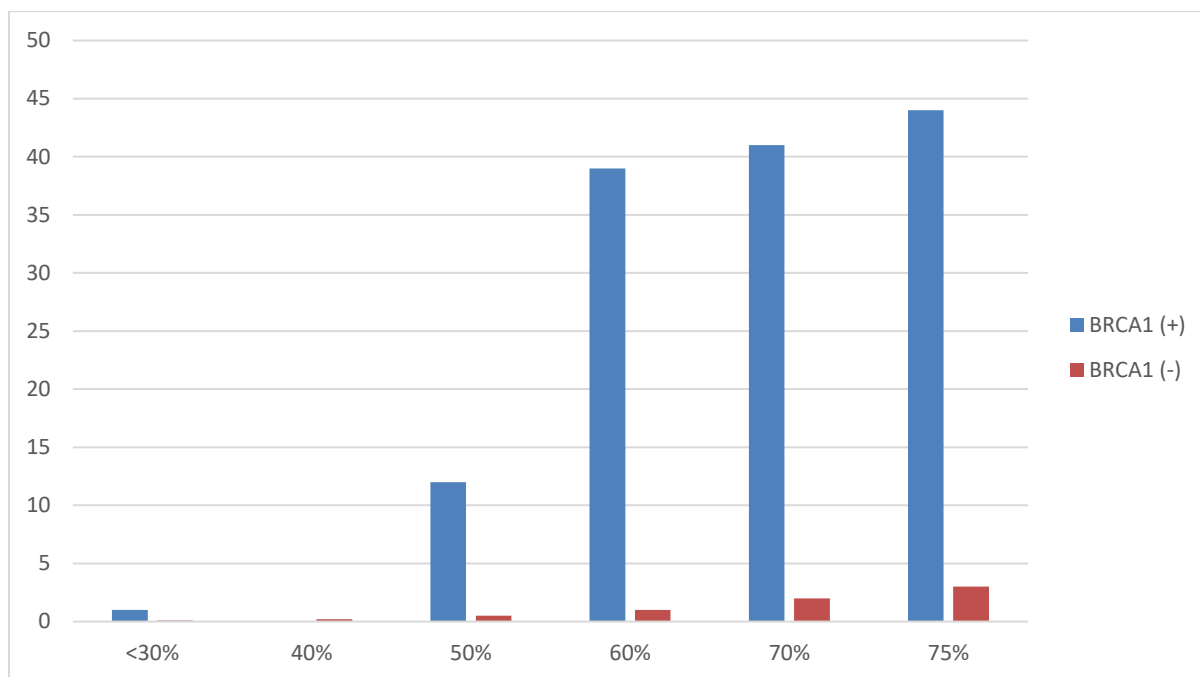
| <b>Skumulowane ryzyko raka piersi</b> |     |     |    |      |      |    |
|---------------------------------------|-----|-----|----|------|------|----|
| Wiek                                  | <30 | 40  | 50 | 60   | 70   | 75 |
| Ryzyko skumulowane (%):               | 1,6 | 6,5 | 30 | 40,5 | 50,5 | 66 |



**Rycina 1.** Skumulowane ryzyko zachorowania na raka piersi w zależności od wieku - porównanie ryzyka populacyjnego z ryzykiem dla nosicielek mutacji BRCA1 w Polsce

**Tabela 2.** Ryzyko raka jajnika u nosicielek mutacji BRCA1 w Polsce

| <b>Skumulowane ryzyko raka jajnika</b> |     |     |    |    |    |    |
|--|-----|-----|----|----|----|----|
| Wiek                                   | <30 | 40  | 50 | 60 | 70 | 75 |
| Ryzyko skumulowane (%):                | 1   | 3,5 | 12 | 30 | 41 | 44 |



**Rycina 2.** Skumulowane ryzyko zachorowania na raka jajnika w zależności od wieku- porównanie ryzyka populacyjnego z ryzykiem dla nosicieli mutacji BRCA1 w Polsce

Badanie [17] obejmujące nosicielki mutacji BRCA1 z 16 krajów (w tym Polski) wykazało, że ryzyko zachorowania na raka piersi po 60. roku życia pozostaje wysokie, co wskazuje na konieczność szczególnego nadzoru oraz potencjalnych działań prewencyjnych. W średnim okresie obserwacji wynoszącym 7,9 roku odnotowano średnią roczną zapadalność na raka piersi na poziomie 1,8%, co przekłada się na skumulowane ryzyko rozwoju inwazyjnego raka piersi wynoszące 20,1% w przedziale wiekowym od 60 do 80 lat.

W innym badaniu opartym na wielośrodkowej kohorcie (również uwzględniającym pacjentki z Polski) [18] oszacowano skumulowane ryzyko rozwoju wszystkich nowotworów dla nosicielek mutacji BRCA1 w wieku od 50 do 75 lat. W tej grupie ryzyko zachorowania na jakikolwiek nowotwór w przedziale wiekowym 50–75 lat wynosiło 49%. Wśród kobiet, które przed ukończeniem 50. roku życia zdecydowały się na profilaktyczną obustronną mastektomię (ang. *Bilateral Prophylactic Mastectomy*; BPM) oraz obustronną salpingo-ooforektomią (ang. *Bilateral Salpingo-Oophorectomy*, BSO), ryzyko rozwoju nowotworu w przedziale wiekowym 50–75 lat zmniejszyło się do zaledwie 9%.

### 3.4. Ryzyko zachorowania na inne nowotwory

W 2022 roku opublikowano badanie [19] dotyczące ryzyka nowotworowego związanego z mutacjami BRCA1. W ramach Konsorcjum Badaczy Modyfikatorów BRCA1/2 (ang. *Consortium of Investigators of Modifiers of BRCA1/2*; CIMBA) przeprowadzono retrospektywną analizę kohortową obejmującą 14 979 osób: 3 184 nosicieli mutacji BRCA1, 2 157 nosicieli mutacji BRCA2 oraz 9 296 osób bez mutacji. Poniżej zestawiono istotne statystycznie wartości względnego ryzyka (ang. *Relative Risk*; RR) dla nosicieli mutacji BRCA1, dotyczące 22 typów pierwotnych nowotworów.

- Rak trzustki: RR = 2,36 (95% CI: 1,51–3,68),
- Rak żołądka: RR = 2,17 (95% CI: 1,25–3,77),
- Rak jelita grubego: RR = 1,48 (95% CI: 1,01–2,16),
- Rak pęcherzyka żółciowego: RR = 3,34 (95% CI: 1,34–8,28).

W innym badaniu, przeprowadzonym we współpracy z naszym Ośrodkiem, zaobserwowano niemal dwukrotnie zwiększone ryzyko zachorowania na raka jelita grubego u kobiet z mutacją genu BRCA1 poniżej 50. roku życia SIR (ang. *Standardized Incidence Ratio*) = 0,6 (95% CI: 0,33–1,00), natomiast nie dotyczyło ono kobiet starszych [20]. W związku z tym w naszym Ośrodku zalecamy kolonoskopię pacjentkom w wieku 40–50 lat.

Chociaż w populacji japońskiej wykazano pięciokrotnie zwiększone ryzyko nowotworu żołądka u nosicieli mutacji BRCA1 [21], w populacji polskiej wcześniejsze badania nie są zgodne z tą korelacją [22]. Obecnie przypuszczamy, że ryzyko to może być około dwukrotnie zwiększone (dane własne).

Badanie [19] potwierdziło także wcześniejsze doniesienia o związku mutacji BRCA1 z rakiem trzustki; standaryzowany stosunek zachorowalności SIR wynosił 2,55 (95% CI: 1,03–5,31, P = 0,04) [23].

W populacji polskiej nie wykazano zależności pomiędzy mutacją BRCA1 a nowotworami urotelialnymi (nerki oraz pęcherza) [24].

Z kolei wyniki badania [25] wskazują, że ryzyko zachorowania na raka skóry innego niż czerniak u kobiet z mutacją BRCA1 jest porównywalne do ryzyka u kobiet bez tej mutacji. Ryzyko czerniaka wydaje się jednak nieznacznie podwyższone (2,5% u nosicielek mutacji w porównaniu do 1,5% w populacji ogólnej). Wyniki te uzasadniają zasadność regularnych badań dermatologicznych u nosicielek mutacji BRCA1 oraz edukacji dotyczącej ochrony przed promieniowaniem UV, stosowania kremów przeciwsłonecznych i rozpoznawania wczesnych objawów czerniaka.

Przeanalizowano także ryzyko raka endometrium, lecz wynik ten ( $RR = 0,97$ ;  $p = 0,95$ ) okazał się nieistotny statystycznie, co przeczyło wcześniejszym doniesieniom [26], sugerującym 2,5-krotnie zwiększone ryzyko zachorowania w porównaniu do populacji ogólnej. Możliwe, że na odmienne wyniki wpływają dodatkowe czynniki, takie jak stosowanie Tamoksyfenu (szczegółowo omówione w dalszej części tej pracy).

### **3.5. Rokowanie**

#### **3.5.1. Przeżycie w raku piersi u kobiet z mutacją BRCA1**

Wśród kobiet z mutacją genu BRCA1, które zachorowały na raka piersi, 10-letnie przeżycie ogólne wynosi 78,3%, a przeżycie specyficzne dla raka piersi osiąga wartość 84,2%. Pacjentki z małymi guzami o wielkości poniżej 2 cm, które nie mają przerzutów do węzłów chłonnych, osiągają bardzo wysokie 10-letnie przeżycie na poziomie 93,3%. Obecność przerzutów do węzłów chłonnych zwiększa ryzyko zgonu prawie 3,5-krotnie (współczynnik ryzyka, ang. *hazard ratio*;  $HR = 3,41$ ; 95% CI: 1,90-6,13;  $p < 0,0001$ ). Wzrost ryzyka zgonu ponad dwukrotnie ( $HR = 2,39$ ; 95% CI: 1,25-4,59;  $p = 0,009$ ) obserwuje się również w przypadku rozwoju raka w drugiej piersi. Przeprowadzenie BSO po zdiagnozowaniu raka piersi znacząco zmniejsza ryzyko zgonu z jakiegokolwiek przyczyny, redukując je ponad trzykrotnie ( $HR = 0,30$ ; 95% CI: 0,12-0,75)[27].

W badaniu przeprowadzonym w naszym Ośrodku, opublikowanym w *Journal of Clinical Oncology*, stwierdzono, że 10-letnie przeżycie całkowite (ang. *Overall Survival*; OS) u kobiet z wczesnym rakiem piersi i mutacją BRCA1 wynosi 80,9% (95% CI: 75,4%-86,4%), co jest porównywalne do 82,2% (95% CI: 80,5%-83,7%) dla pacjentek bez mutacji BRCA1. Obecność przerzutów do węzłów chłonnych była szczególnie niekorzystnym czynnikiem prognostycznym, zwiększającym ryzyko śmierci ( $HR = 4,1$ ; 95% CI: 1,8-8,9)[27].

W przeciwieństwie do powyższych wyników, badanie przeprowadzone w Centrum Onkologii w Gliwicach, opublikowane w 2018 roku, wskazuje na gorsze wyniki OS u nosicieli mutacji BRCA1. Analiza danych z lat 2007-2016 ujawniła, że 10-letnie OS wynosiło 65,9% dla nosicieli mutacji BRCA1 w porównaniu do 81,1% dla pacjentów bez mutacji ( $p = 0,017$ ). Nosicielki mutacji miały istotnie wyższe ryzyko śmiertelności ( $HR = 1,87$ ; 95% CI: 1,08–3,25). Zidentyfikowano również inne czynniki prognostyczne, takie jak rozmiar guza ( $HR = 3,64$ ), przerzuty do węzłów chłonnych ( $HR = 2,45$ ) oraz wyższy stopień morfologicznej złośliwości ( $HR = 2,84$ ), które negatywnie wpływały na przeżycie. Pozytywny status receptorów estrogenowych był związany z lepszym rokowaniem ( $HR = 0,49$ ,  $p = 0,022$ ) [28].

Różnice w wynikach pomiędzy ośrodkami mogą być spowodowane młodszym wiekiem naszej kohorty (średnio 41,9 lat) w porównaniu do badania z Gliwic (średnio 43,5 lat), co jest istotnym czynnikiem prognostycznym [28]. Warto również zauważyć, że nasza kohorta była prawie czterokrotnie bardziej liczebna (60 nosicielek mutacji BRCA1 w porównaniu do 233 pacjentek).

Dodatkowo zauważono, że na OS pacjentek wpływają: terapia oparta na Cisplatynie oraz BSO. Po zakończeniu chemioterapii z zastosowaniem Cisplatyny (75 mg/m<sup>2</sup> co trzy tygodnie przez cztery cykle) oraz po wykonaniu mastektomii, stwierdzono całkowitą odpowiedź patologiczną (ang. *pathological Complete Response*; pCR) u 61% pacjentek [29].

Wśród kobiet, które otrzymały Cisplatynę w porównaniu do pacjentek poddanych innym terapiom, wykazano HR wynoszący 0,42 (95% CI: 0,20–0,87) dla przeżycia specyficznego dla raka piersi, co wskazuje na znaczną poprawę przeżywalności. Dziesięcioletnie OS w grupie kobiet, które przeszły zarówno terapię Cisplatyną, jak i BSO, wynosiło 94,4%, podczas gdy u kobiet bez żadnej z tych interwencji osiągnęło 65,4% ( $p < 0,01$ ) [30].

### **3.5.2. Przeżycie w raku jajnika u nosicielek mutacji BRCA1**

Analiza przeprowadzona na kohorcie 1423 pacjentek z rakiem jajnika w Ontario, które poddały się testom genetycznym, wykazała, że ich 10-letnie przeżycie wynosiło 54,5%, w porównaniu do 35,8% w całej populacji pacjentek z rakiem jajnika [31]. Niższa śmiertelność w grupie kobiet z mutacją BRCA1 może być związana z lepszą odpowiedzią na standardowe leczenie związkami platyn, a także wpływem różnych czynników klinicznych, takich jak typ histologiczny nowotworu, jego zaawansowanie oraz stopień morfologicznej złośliwości, a także potencjalnie wcześniejszej diagnostyki i lepszego dostępu do terapii.

Dla pacjentek z rakiem jajnika 10-letnie przeżycie wynosi około 30%. W przypadku raka „utajonego” (ang. *occult*), wykrytego podczas profilaktycznego BSO, 10-letnie OS wzrasta do 74-80% [32]. W tym samym badaniu wskazano, że rokowanie jest znacznie gorsze u pacjentek z rakiem jajnika zdiagnozowanym podczas screeningów USG, gdzie 10-letnie OS wynosiło zaledwie 31%. Spośród 1196 kobiet poddawanych screeningowi USG, 27 kobiet (2,3%) zmarło z powodu raka jajnika lub nowotworu otrzewnej. Wśród kobiet, które przeszły profilaktyczne BSO, jedynie dwie (0,3%) zmarły z tego powodu.

## 3.6. Epidemiologia

### 3.6.1. Rak piersi

W 2022 roku na świecie zdiagnozowano około 2,3 miliona nowych przypadków raka piersi oraz odnotowano około 650 tysięcy zgonów z jego powodu, co stanowi odpowiednio 11,6% wszystkich nowotworów oraz 5,9% zgonów wynikających z chorób onkologicznych [33]. W Polsce ryzyko zachorowania na ten nowotwór u kobiet wynosi około 12-13% w ciągu całego życia, co oznacza, że średnio jedna na osiem kobiet jest zagrożona rozwojem tej choroby. Rak piersi jest najczęściej występującym nowotworem złośliwym u Polek, stanowiącym około 20% wszystkich przypadków nowotworów złośliwych i 13% zgonów onkologicznych.

Z danych Krajowego Rejestru Nowotworów wynika, że co roku w Polsce odnotowuje się od 18 000 do 19 000 nowych zachorowań na raka piersi oraz około 6 400 zgonów, z czego ponad 90% dotyczy kobiet po czterdziestym roku życia, a najwyższą zapadalność obserwuje się u kobiet w przedziale wiekowym 60-70 lat. W latach 2001-2021 w Polsce zdiagnozowano raka piersi u 349 156 kobiet, a z powodu tej choroby zmarło 120 380 pacjentek [34].

Szacuje się, że mutacja genu BRCA1 odpowiada za 3-4% przypadków raka piersi [35], przy czym w przypadku potrójnie ujemnego raka piersi (ang. *Triple Negative Breast Cancer-TNBC*) występuje ona znacznie częściej, obejmując 10-15% przypadków [36].

### 3.6.2 Rak piersi u nosicielek BRCA1

W 2011 roku opublikowano badania [37], w których oszacowano ryzyko zachorowania na raka piersi do 70. roku życia na 49% dla kobiet z Polski oraz 72% dla kobiet z Ameryki Północnej (Kanada/USA). Obecnie szacujemy, że niestety ryzyko to jest wyższe i wynosi w Polsce około 60% (dane własne).

Zauważalny jest gwałtowny wzrost ryzyka wśród młodszych dorosłych, który stabilizuje się w przedziale wiekowym 31-40 lat [16]. W analizach [16] [38] oszacowano ryzyko dla nosicielek mutacji BRCA1 do 80. roku życia w przedziale 40%-87%.

Obecność krewnych pierwszego stopnia, u których zdiagnozowano raka piersi, nieznacznie zwiększa ryzyko zachorowania do 80. roku życia, wynoszące 63,3% [39]. W porównaniu z populacją ogólną, ryzyko to jest niemal 24-krotnie podwyższone u nosicielek mutacji BRCA1 (RR = 23,9; 95% CI: 18,9-29,8).

U kobiet z mutacją BRCA1 około 75% przypadków raka piersi to nowotwór TNBC, który jest agresywnym typem nowotworu, charakteryzującym się brakiem receptorów



hormonalnych oraz brakiem nadekspresji lub amplifikacji HER2 (ang. *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*). Rodziny z silną agregacją nowotworów mają zwiększone prawdopodobieństwo mutacji BRCA1 (HR dla  $\geq 2$  vs 0 dotkniętych krewnych wynosi 1,99; 95% CI: 1,41-2,82;  $P < 0,001$ ) [16]. Wiek zachorowania krewnej pierwszej stopnia nie wpływa na roczne ryzyko zachorowania na raka piersi u nosicielek mutacji BRCA1 [40].

Nosicielki mutacji BRCA1 mają również zwiększone ryzyko wystąpienia raka drugiej piersi po wcześniejszym zachorowaniu na raka piersi, które wynosi 40% w ciągu 20 lat od pierwszej diagnozy [16]. Wiek, w którym zdiagnozowano pierwszy nowotwór u pacjentek z mutacjami BRCA1/2, jest orientacyjnym czynnikiem ryzyka obustronnego raka piersi. Diagnoza przed 41. rokiem życia wiąże się z ryzykiem na poziomie 23,9%, które zmniejsza się do 12,6% u osób w wieku 41-49 lat [41].

### **3.6.3. Rak jajnika**

Około 300 000 nowych przypadków raka jajnika odnotowano na całym świecie w 2022 roku, co stanowi 1,6% wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe. Z tej liczby około 200 000 osób (około 2/3) umiera, co odpowiada 2,1% wszystkich zgonów spowodowanych nowotworami złośliwymi [34].

W Polsce rocznie diagnozuje się około 3,5 tys. nowych przypadków raka jajnika oraz 2,6 tys. zgonów z tego powodu. Ryzyko zachorowania w populacji wynosi około 1-2% [16]. Wraz z wiekiem znacznie wzrasta ryzyko zachorowania; ponad 80% chorych ma więcej niż 45 lat, a najwyższa częstość występowania przypadków występuje w 6. i 7. dekadzie życia.

W ciągu dwudziestu lat (2001-2021) w Polsce zdiagnozowano 74 750 nowych przypadków raka jajnika oraz 52 944 zgony, co stanowi odpowiednio 4,7% wszystkich zachorowań i 6% zgonów na nowotwory [35]. Co dziesiąta pacjentka z rakiem jajnika jest nosicielką mutacji w genie BRCA1 [36].

### **3.6.4. Rak jajnika u nosicielek BRCA1**

Skumulowane ryzyko zachorowania na raka jajnika do 80. roku życia dla nosicielek mutacji w genie BRCA1 wynosi od 39% do 44%. Przed ukończeniem 40. roku życia ryzyko to jest stosunkowo niskie, jednak z wiekiem wyraźnie wzrasta [16, 42]. W szczególności, skumulowane ryzyko wystąpienia raka jajnika u nosicielek mutacji BRCA1 w wieku 70 lat szacuje się na 36% do 53% [16].

Badania nie wykazały istotnych różnic w ryzyku wystąpienia raka jajnika między nosicielkami mutacji BRCA1 z dodatnim wywiadem rodzinnym a tymi bez takiego wywiadu

(HR, 1,37; 95% CI, 0,89-2,11). U kobiet z mutacją BRCA1 częściej występują gruczolakoraki surowicze niż guzy śluzowe czy graniczne [42–44].

### **3.7. Badania kontrolne**

#### **3.7.1. USG piersi oraz mammografia**

Czułość badań USG piersi oraz mammografii w wykrywaniu wczesnych stadiów raka piersi wynosi jedynie 37,5% [45]. W polskim systemie ochrony zdrowia, u kobiet noszących mutacje genu BRCA1, badania te są przeprowadzane co sześć miesięcy, naprzemiennie.

#### **3.7.2. Rezonans magnetyczny piersi**

Rezonans magnetyczny (ang. *Magnetic Resonance Imaging*; MRI) piersi stanowi najbardziej efektywną metodę wczesnego wykrywania raka, osiągając czułość na poziomie 90% [45]. Z najnowszych badań z 2024 roku wynika, że ryzyko śmierci z powodu raka piersi wśród kobiet objętych programem z użyciem rezonansu magnetycznego wynosi 3,2%, podczas gdy w grupie kontrolnej, nieobjętej nadzorem, to ryzyko wynosi 14,9% [46]. W Polsce kobiety z mutacjami w genach BRCA1, BRCA2 oraz PALB2 mają możliwość corocznego wykonania tego badania na koszt systemu ochrony zdrowia.

#### **3.7.3. USG dopochwowe oraz marker CA125**

Badania prowadzone w naszym Ośrodku wykazały, że czułość USG dopochwowego w wykrywaniu wczesnego raka jajnika nie przekracza 10% (dane własne), a wskaźnik przeżycia pacjentek z rakiem jajnika zdiagnozowanym za pomocą tego badania wynosi 31% [33].

### **3.8. Leczenie**

W terapii nowotworów związanych z mutacją BRCA1 stosuje się m.in. związki platyny takie jak Cisplatyna i Karboplatyna, które indukują pęknięcia dwuniciowego DNA. W komórkach z prawidłowym mechanizmem HRR te uszkodzenia są skutecznie naprawiane. Jednak w komórkach z mutacją BRCA1, z nieprawidłowym mechanizmem HRR, naprawa pęknięć jest niemożliwa, co prowadzi do śmierci komórek nowotworowych [47, 48]. Zastosowanie Cisplatyny w leczeniu raka piersi u pacjentek z mutacją BRCA1 wykazuje wysoką skuteczność, z pCR wynoszącym 59-61% [29]. Badania wykazały, że pacjentki, które osiągnęły pCR po leczeniu, miały dziesięcioletnią przeżywalność na poziomie 97% [49].

Inhibitory polimerazy poli-ADP rybozy (ang. *Poly ADP- Ribose Polymerase*; PARP), takie jak Olaparyb działają w inny sposób, blokując naprawę jednoniciowych pęknięć DNA. Ich działanie prowadzi do powstawania krytycznych dwuniciowych pęknięć, które

w komórkach z deficytem BRCA1 nie mogą być naprawiane. To zjawisko syntetycznej letalności czyni inhibitory PARP szczególnie skutecznymi w leczeniu nowotworów u kobiet z mutacją BRCA1 [50]. Badania kliniczne, takie jak OlympiAD i OlympiA, potwierdzają wyższość inhibitorów PARP nad standardową chemioterapią, co przyczyniło się do ich zatwierdzenia przez Agencję Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*; FDA) i Europejską Agencję Leków (ang. *European Medicines Agency*; EMA) jako skutecznej terapii w rakach piersi i jajnika [51, 52]. Zarówno terapie oparte na związkach platyny, jak i inhibitory PARP oferują ukierunkowane efektywne podejście do leczenia [50, 53].

### **3.9. Czynniki wpływające na ryzyko nowotworów u nosicielek mutacji BRCA1**

#### **3.9.1. Chirurgiczne zabiegi profilaktyczne**

W polskim systemie opieki zdrowotnej zarówno profilaktyczna obustronna BPM jak i BSO są finansowane przez Ministerstwo Zdrowia dla nosicielek genu BRCA1. Mimo to, odsetek pacjentek decydujących się na profilaktyczną mastektomię pozostaje na stosunkowo niskim poziomie, wynoszącym zaledwie 4,5%, co jest znacząco niższe w porównaniu do 49,9% w Stanach Zjednoczonych [54].

Biorąc pod uwagę wysokie ryzyko zachorowania na nowotwór jajnika u osób z mutacją BRCA1, które może wynosić od 49% do 80% do 80. roku życia, zaleca się wykonanie BSO w młodszym wieku. Optymalny czas na przeprowadzenie tego zabiegu to okres 35-40 lat, po zakończeniu planów dotyczących macierzyństwa [55]. Takie profilaktyczne operacje mogą obniżyć ryzyko wystąpienia raka jajnika oraz jajowodów o 80-90% [56–58]. Dwadzieścia lat po wykonaniu BSO ryzyko zachorowania na nowotwór otrzewnej wynosi jedynie 2,7% [59]. Ponadto, BPM u pacjentek z wysokim ryzykiem rozwoju raka piersi zmniejsza prawdopodobieństwo zachorowania do około 1% [60]. Przeprowadzenie zabiegu przed ukończeniem 25. roku życia zwiększa szansę na przeżycie do 80. roku życia o 9%, podczas gdy przeprowadzenie operacji w wieku 50 lat podnosi ten wskaźnik jedynie o 2,8% [61].

Badanie [62] analizujące skuteczność profilaktycznych operacji chirurgicznych u kobiet noszących mutację BRCA1 wykazało, że zarówno BSO, jak i BPM wiążą się z istotnym zmniejszeniem ryzyka zachorowania na raka piersi (RR= 0,552 i 0,114, odpowiednio). Dodatkowo, profilaktyczna mastektomia kontralateralna (ang. *Contralateral Prophylactic Mastectomy*; CPM) znacznie redukuje ryzyko wystąpienia raka piersi w drugiej piersi u nosicielek mutacji BRCA1 (RR = 0,072). Co więcej, BSO jest związana z niższą ogólną śmiertelnością u nosicielek mutacji (HR= 0,349) oraz kobiet z rakiem piersi (HR= 0,432). Wyniki z naszego ośrodka potwierdzają te zależności, wskazując, że BSO przyczynia się do

znaczącego zmniejszenia ryzyka zgonu z jakiegokolwiek przyczyny u pacjentek, które spada o 72% (HR=0,28). U kobiet z mutacją BRCA1 szacunkowa śmiertelność z jakiegokolwiek przyczyny do 75. roku życia wynosi 25% dla tych, które przeszły BSO w wieku 35 lat, w porównaniu do 62% dla kobiet, które nie poddały się temu zabiegowi [63]. Dodatkowo, ogólna śmiertelność była znacząco niższa u pacjentek, które przeszły CPM w porównaniu z tymi, które nie miały tego zabiegu (HR = 0,512).

### 3.9.2. Hormonalna terapia zastępcza (HTZ)

Wieloletnia niechęć do stosowania hormonalnej terapii zastępczej (HTZ) przez kobiety po menopauzie była w dużej mierze związana z wynikami badania WHI z 2002 roku, które sugerowały zwiększone ryzyko raka piersi, udaru mózgu oraz chorób serca w wyniku stosowania estrogenów w połączeniu z progestagenem (ang. *Estrogen-Progestogen Therapy*, EPT). Prewencyjne BSO pozostaje główną strategią w redukcji ryzyka zachorowania na raka jajnika oraz śmiertelności całkowitej w tej grupie, ale może powodować liczne skutki uboczne związane z przedwczesną menopauzą [64]. Istnieją dane sugerujące, że HTZ oparta na estrogenach (ang. *Estrogen Therapy*, ET) ma działanie ochronne, które zmniejsza ryzyko raka piersi. U kobiet po BSO, które stosują ET, prawdopodobieństwo rozwoju raka piersi obniża się o 18% z każdym rokiem terapii. Natomiast w przypadku EPT zaobserwowano nieistotny statystycznie wzrost ryzyka o 14% z każdym rokiem stosowania (HR 1,14; 95% CI 0,90, 1,46).

Powyższe wyniki dotyczą grupy kobiet poniżej 45. roku życia, jednak podobne tendencje, chociaż mniej wyraźne, były również obserwowane w starszej grupie wiekowej. Każdy rok stosowania ET wiązał się z 8% redukcją ryzyka raka piersi (HR 0,92), podczas gdy w przypadku EPT zaobserwowano nieistotny wzrost ryzyka o 8% (HR 1,08). Należy jednak zauważyć, że u kobiet, które zachowały jajniki i jajowody, podaż egzogenna hormonów może zwiększać ryzyko raka piersi [65].

### 3.9.3. Leczenie niepłodności

Leczenie niepłodności, obejmujące stosowanie farmaceutyków wspomagających płodność oraz procedurę in vitro (ang. *In Vitro Fertilisation*; IVF), nie wiąże się z istotnym zwiększeniem ryzyka rozwoju raka jajnika. W badanej grupie kobiet 3% stosowało leki wspomagające płodność a 0,6% przeszło przez procedurę IVF. Wyniki tego badania sugerują, że ani stosowanie leków wspomagających płodność ani procedura IVF nie stanowią czynnika ryzyka dla rozwoju raka jajnika u kobiet z mutacjami genu BRCA1 - iloraz szans (OR (ang. *Odds Ratio*) = 0,66; 95% CI: 0,18–2,33). Z uwagi na wysoką zapadalność na raka jajnika w tej populacji, zaleca się przeprowadzenie profilaktycznego BSO u nosicielek mutacji

BRCA1 w wieku 35 lat. Sugeruje to, że leczenie niepłodności przed wykonaniem zabiegu profilaktycznego jest bezpieczne i nie powinno być traktowane jako przeciwwskazanie do stosowania takich terapii w tej grupie pacjentek [66].

#### **3.9.4. Doustna antykoncepcja hormonalna**

W badaniu typu „*case-control*”, które obejmowało 2492 kobiety z mutacją BRCA1, stwierdzono, że stosowanie doustnych środków antykoncepcyjnych może być związane z podwyższonym ryzykiem wczesnego wystąpienia raka piersi, zwłaszcza jeśli ich przyjmowanie rozpoczęto przed 25. rokiem życia [67]. W szczególności u kobiet, które zaczęły stosować antykoncepcję przed 20. rokiem życia, ryzyko wzrastało o 45% (OR = 1,45; 95% CI: 1,20–1,75; p = 0,0001), natomiast u kobiet, które rozpoczęły stosowanie między 20. a 25. rokiem życia, ryzyko wzrastało o niemal 20% (OR = 1,19; 95% CI: 0,99–1,42; p = 0,06). Dodatkowo, ryzyko wystąpienia wczesnego raka piersi (przed 40. rokiem życia) rosło o 11% z każdym rokiem stosowania pigułek, zaczynającym się przed 20. rokiem życia (OR = 1,11; 95% CI: 1,03–1,20; p = 0,008). U kobiet, u których zdiagnozowano raka piersi po 40. roku życia, nie odnotowano zwiększonego ryzyka (OR = 0,97; 95% CI: 0,79–1,20; p = 0,81). Zaleca się ostrożność przy rekomendowaniu doustnej antykoncepcji kobietom z mutacją BRCA1 przed 25. rokiem życia, z uwzględnieniem faktu, że stosowanie doustnej antykoncepcji hormonalnej po mastektomii może być rozważane ze względu na potencjalne korzyści w zakresie zmniejszenia ryzyka raka jajnika.

Badania wykazały, że nosicielki mutacji BRCA1, które kiedykolwiek stosowały doustne środki antykoncepcyjne, mają zmniejszone ryzyko wystąpienia raka jajnika o 40%. Przyjmowanie doustnych środków antykoncepcyjnych przez pięć lub więcej lat może wiązać się z obniżeniem ryzyka raka jajnika o 50% u nosicielek BRCA1 (OR = 0,50; 95% CI: 0,40–0,63) [68–70]. Wyniki innego badania sugerują, że stosowanie jakiegokolwiek metody antykoncepcji jest związane z istotnym zmniejszeniem ryzyka zachorowania na raka jajnika, głównie dzięki zastosowaniu (ang. *Intrauterine Device*: IUD) oraz doustnych środków antykoncepcyjnych [71]. Chociaż analiza wykazała również ochronny efekt IUD oraz zastrzyków antykoncepcyjnych, wyniki te opierały się na małej liczbie przypadków i wymagają dalszych badań. Użycie wkładek wewnątrzmacicznych IUD, szczególnie hormonalnych, również wiązało się z potencjalnym zmniejszeniem ryzyka, chociaż ten wynik nie osiągnął istotności statystycznej.

### 3.9.5 Chemoprewencja Tamoksyfenem

Stosowanie Tamoksyfenu u kobiet, które wcześniej przeszły raka piersi, zmniejszało ryzyko zachorowania na nowotwór drugiej piersi o 53-62%. Jednak u pacjentek po profilaktycznym BSO nie odnotowano podobnych korzyści z jego stosowania [72, 73]. Wyniki badań przeprowadzonych w naszym Ośrodku wskazują na korzyści płynące z krótkoterminowej terapii Tamoksyfenem w redukcji ryzyka rozwoju raka drugiej piersi. Analiza OR dla wystąpienia raka piersi po zastosowaniu Tamoksyfenu przez różne okresy czasu przyniosła następujące wyniki: w grupie kobiet przyjmujących Tamoksyfen przez maksymalnie 1 rok OR wyniósł 0,37 (95% CI 0,20–0,67;  $p = 0,001$ ), a u kobiet stosujących ten lek od 1 do 4 lat OR osiągnął wartość 0,53 (95% CI 0,32–0,87;  $p = 0,01$ ). W grupie kobiet, które stosowały Tamoksyfen przez 4 lub więcej lat, OR= 0,83 (95% CI 0,44–1,55;  $p = 0,55$ ) [73]. Z najnowszych badań z 2023 roku wynika, że nie stwierdzono związku między stosowaniem Tamoksyfenu a obniżeniem ryzyka pierwotnego raka piersi (brak istotności statystycznej); warto jednak zauważyć, że liczba pacjentek przyjmujących Tamoksyfen w tym badaniu była stosunkowo mała [74]. Należy również pamiętać, że stosowanie Tamoksyfenu zwiększa ryzyko rozwoju raka endometrium (HR = 2,24; 95% CI 1,10–4,55), co wskazuje na konieczność indywidualnego podejścia do terapii [75, 76].

### 3.9.6. Wiek pierwszej miesiączki

U kobiet z mutacją genu BRCA1 wystąpienie menarche w późniejszym wieku jest korzystnie skorelowane z obniżeniem ryzyka raka piersi. Menarche, która występuje po 15. roku życia, redukuje prawdopodobieństwo zachorowania na ten nowotwór o 54% w porównaniu z kobietami, u których miesiączka rozpoczęła się przed ukończeniem 11 lat. Dodatkowo każde opóźnienie menarche po 11. roku życia zmniejsza ryzyko raka piersi o 9% [77]. Na podstawie publikacji oceniających wpływ liczby cykli owulacyjnych na ryzyko raka jajnika można przypuszczać, że opóźnienie pierwszej miesiączki również przyczynia się do obniżenia tego ryzyka. Kobiety z najniższą liczbą cykli owulacyjnych miały o 45% niższe ryzyko zachorowania na raka jajnika w porównaniu do kobiet z najwyższą liczbą cykli (OR = 0,55; 95% CI: 0,41–0,75;  $p = 0,0001$ )

### 3.9.7. Późniejszy wiek menopauzy

Późniejszy wiek menopauzy jest związany z większą liczbą cykli owulacyjnych, co prowadzi do wyższego ryzyka wystąpienia raka jajnika u kobiet z mutacją BRCA1 (OR = 1,18; 95% CI 1,03–1,35;  $p = 0,02$ ) [68].

### **3.9.8. Karmienie piersią**

Karmienie piersią przez co najmniej rok znacząco obniża ryzyko wystąpienia raka piersi, redukując je o 32-45%. W przypadku, gdy okres karmienia wynosi dwa lata lub dłużej, ryzyko to spada aż o 49%, a przy karmieniu trwającym ponad trzy lata, redukcja osiąga 55% [78, 79]. Badania wskazują, że u kobiet z mutacją genu BRCA1, karmienie piersią ma istotny wpływ na zmniejszenie ryzyka rozwoju raka jajnika. Historia karmienia piersią jest związana z 23% redukcją tego ryzyka (OR = 0.77; 95% CI 0.66-0.90; P = 0.001). Co więcej, karmienie piersią przez co najmniej siedem miesięcy obniża ryzyko zachorowania na raka jajnika o 38% [68]. W przypadku karmienia piersią przez ponad dwanaście miesięcy, ryzyko wystąpienia raka jajnika może zostać zmniejszone nawet o 50% [68].

### **3.9.9. Liczba ciąż**

Badania pokazują, że kobiety z mutacją BRCA1, które miały przynajmniej jedną ciążę zakończoną porodem, wykazują o 26-49% niższe ryzyko wystąpienia raka piersi oraz o 59% niższe ryzyko raka jajnika [80–83]. Co więcej, każda kolejna ciąża prowadzi do dalszego obniżenia ryzyka raka piersi o 12-14% [81, 84] oraz raka jajnika o 12-25% [68]. Należy jednak zauważyć, że kobiety, które miały przynajmniej trzy ciążę, które nie zakończyły się porodem, narażone są na wyższe ryzyko wystąpienia raka piersi (HR=2,45; 95% CI=1,19-5,04). W przypadku ciąż zakończonych aborcją ryzyko to wzrasta jeszcze bardziej (przy trzech lub więcej aborcjach; HR=3,31; 95% CI=1,13-9,71) [80]. Wyniki badań sugerują, że wiek w momencie pierwszego porodu nie ma istotnego wpływu na ryzyko wystąpienia raka piersi wśród kobiet z mutacją BRCA1 [30].

### **3.9.10. Przewlekłe infekcje i zapalenia**

Mutacje w szlaku naprawy DNA, które są uzależnione od genów BRCA1, zwiększają ryzyko wystąpienia nowotworów w kontekście przewlekłych infekcji oraz stanów zapalnych. Kontrola przewlekłych infekcji i stanów zapalnych może okazać się pomocnym podejściem w zapobieganiu lub opóźnianiu wystąpienia nowotworów u nosicieli tych mutacji [85].

### **3.9.11. Palenie tytoniu**

W prospektywnym badaniu badającym związek palenia tytoniu z ryzykiem nowotworów u nosicielek mutacji BRCA1 wykazano, że palenie wiąże się z umiarkowanym wzrostem ryzyka zachorowania na nowotwory, w tym raka piersi i jajnika. W porównaniu z osobami, które nigdy nie paliły, kobiety kiedykolwiek palące miały o 17% wyższe ryzyko rozwoju nowotworów (HR = 1,17; 95% CI: 1,01–1,37). Kobiety palące w trakcie prowadzenia badań miały o 31% zwiększone ryzyko zachorowania na raka w porównaniu z osobami nigdy

niepalącymi (HR = 1,31; 95% CI 1,07-1,59; p trend = 0,01). Nosicielki BRCA1, które wypalały największą liczbę paczkołat (4,3–9,8 paczkołat), miały podwyższone ryzyko zachorowania na:

- jakikolwiek nowotwór o 27% (HR = 1,27; 95% CI: 1,04–1,56),
- raka piersi o 33% (HR = 1,33; 95% CI: 1,02–1,75),
- raka jajnika o aż 68% (HR = 1,68; 95% CI: 1,06–2,67).

### **3.9.12. Picie kawy i spożywanie alkoholu**

Nie zaobserwowano istotnych związków między spożyciem alkoholu, kawy a ryzykiem wystąpienia raka piersi i jajnika u nosicielek mutacji BRCA1 [86–89]. Jedynym wyjątkiem jest jedno badanie, które wskazało, że spożywanie co najmniej sześciu filiżanek kawy dziennie jest związane z obniżeniem ryzyka raka piersi u kobiet z mutacją BRCA1 (OR= 0,25; 95% CI: 0,09-0,71; p=0,009) [90, 91].

### **3.9.13. BMI**

Analiza badań przeprowadzonych na międzynarodowej grupie 8091 nosicielek wariantów BRCA1 wykazała, że wyższe wskaźniki masy ciała (ang. *Body Mass Index*; BMI) oraz przyrost masy ciała w dorosłym życiu są związane z większym ryzykiem zachorowania na raka piersi u nosicielek wariantów patogennych tego genu [92]. W badaniu prospektywnym, oceniającym związek między przyrostem masy ciała a ryzykiem raka jajnika u nosicielek mutacji BRCA1, stwierdzono, że znaczny przyrost masy ciała od 18. roku życia zwiększa ryzyko zachorowania na ten nowotwór. Nosicielki BRCA1, które przybrały na wadze więcej niż 20 kg, miały dwukrotnie wyższe ryzyko zachorowania na raka jajnika w porównaniu do kobiet utrzymujących stabilną masę ciała (HR = 2,00; 95% CI: 1,13–3,54; p = 0,02). W przypadku kobiet po menopauzie nie stwierdzono takiego związku [93].

### **3.9.14. Dieta oraz stężenia pierwiastków**

Wpływ diety na ryzyko wystąpienia raka piersi i jajnika u osób z mutacjami w genie BRCA1 pozostaje nadal niejasny. Badania prowadzone wśród nosicielek mutacji BRCA1 sugerują, że zróżnicowana dieta, bogata w owoce i warzywa, może wiązać się z obniżonym ryzykiem rozwoju raka piersi [94]. Z kolei badania przeprowadzone w Korei nie wykazały istotnej zależności pomiędzy spożyciem mięsa, warzyw, owoców oraz produktów sojowych a ryzykiem rozwoju raka piersi [95]. W pracy naszego Ośrodka, bazującej na danych pochodzących z populacji polskiej [96], przeprowadzonej wśród 19,573 kobiet, stwierdzono, że stężenia selenu poniżej 70 µg/L koreluje z ponad dwukrotnym wzrostem ryzyka zachorowania na raka (OR = 2,29; 95% CI: 1,26–4,19; p = 0,007). Ponadto istnieją doniesienia sugerujące, że dieta śródziemnomorska, charakteryzująca się ograniczonym spożyciem białka,



może być związana z mniejszym ryzykiem wystąpienia zespołu metabolicznego oraz potencjalnym zmniejszeniem penetracji genu BRCA1 [97]. Prace naszego Ośrodka wykazały korelacje pomiędzy stężeniami pierwiastków a ryzykiem nowotworowym. Kobiety z mutacją BRCA1 ze stężeniem arsenu we krwi powyżej mediany (0,85 µg/L) miały 2-krotnie zwiększone ryzyko zachorowania na raka piersi [98]. Zmierzyliśmy stężenia jodu we krwi i zaobserwowaliśmy dwukrotne zmniejszenie ryzyka raka piersi, przy wysokich stężeniach jodu (38,0 µg / l) (HR = 0,49; 95% CI: 0,27-0,87; p = 0,01). Jednocześnie wysokie wartości jodu wiązały się z nieistotnym statystycznie wzrostem ryzyka raka jajnika (HR = 1,91; 95%CI: 0,64-5,67; p = 0,25) [99]. Podwyższone stężenia ołowiu (HR = 2,10; 95% CI: 0,73-6,01; p = 0,17) i molibdenu (HR = 5,55; 95%CI: 1,59–19,4; p = 0,007) we krwi wiązały się ze zwiększonym ryzykiem raka jajnika [100, 101]. W świetle powyższych wyników zostaliśmy zachęcani do przebadania dalszych pierwiastków takich jak cynk (ang. Zinc- Zn) i miedź (łac. Cuprum-Cu), związanych z ochroną organizmu przed stresem oksydacyjnym oraz z regulacją procesów metabolicznych istotnych dla rozwoju nowotworów.

## 4. Cel pracy

Cynk wykazuje właściwości antyoksydacyjne, chroniąc komórki przed stresem oksydacyjnym, a jego obecność jest kluczowa w procesach takich jak naprawa DNA, ekspresja genów oraz apoptoza [102]. Miedź natomiast jest niezbędna dla metabolizmu komórkowego, bierze udział w reakcjach antyoksydacyjnych oraz prawidłowym działaniu łańcucha oddechowego w mitochondriach [103, 104]. Istnieją dowody wskazujące na istnienie interakcji i równowagi redoks pomiędzy cynkiem a miedzią, co odzwierciedla się w ich stosunku, utrzymanie tej równowagi może mieć istotne znaczenie w ograniczeniu ryzyka nowotworzenia. Zgodnie z naszą najlepszą wiedzą, nie ma prospektywnych badań analizujących stężenie Zn, Cu oraz ich stosunek Zn/Cu u nosicielek BRCA1 w związku z ryzykiem zachorowania na raka. Wcześniejsze wyniki, w których widoczna była tendencja- zwiększonego ryzyka raków przy miedzi  $>863,33 \mu\text{g/dl}$  i/ lub cynku  $\leq 5797 \mu\text{g/dl}$  oraz dostępne publikacje dotyczące roli Zn/Cu w nowotworzeniu skłoniły nas, aby przeprowadzić prospektywne badanie wśród nosicielek mutacji BRCA1 w celu ustalenia czy stężenia Zn, Cu oraz ich stosunek Zn/Cu może być użytecznym biomarkerem nowotworów w tej populacji.

## 5. Materiały i metody

### Publikacja nr 1:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers” Milena Matuszczak, Adam Kiljańczyk, Wojciech Marciniak, Róża Derkacz, Klaudia Stempa, Piotr Baszuk, Marta Bryśkiewicz, Ping Sun, Angela Cheriyan, Cezary Cybulski, Tadeusz Dębniak, Jacek Gronwald, Tomasz Huzarski, Marcin R. Lener, Anna Jakubowska, Marek Szwiec, Małgorzata Stawicka-Nielacna, Dariusz Godlewski, Artur Prusaczyk, Andrzej Jasiewicz, Tomasz Kluz, Joanna Tomiczek-Szwiec, Ewa Kilar-Kobierzycka, Monika Siołek, Rafał Wiśniowski, Renata Posmyk, Joanna Jarkiewicz-Tretyn, Rodney J. Scott, Steven A. Narod, Jan Lubiński, *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

### Publikacja nr 2:

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers” Milena Matuszczak, Adam Kiljańczyk, Wojciech Marciniak, Róża Derkacz, Klaudia Stempa, Piotr Baszuk, Marta Bryśkiewicz, Cezary Cybulski, Tadeusz Dębniak, Jacek Gronwald, Tomasz Huzarski, Marcin R. Lener, Anna Jakubowska, Marek Szwiec, Małgorzata Stawicka-Nielacna, Dariusz Godlewski, Artur Prusaczyk, Andrzej Jasiewicz, Tomasz Kluz, Joanna Tomiczek-Szwiec, Ewa Kilar-Kobierzycka, Monika Siołek, Rafał Wiśniowski, Renata Posmyk, Joanna Jarkiewicz-Tretyn, Rodney J. Scott, Jan Lubiński, *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>**

### 5.1. Grupa badana

Obie publikacje oparto na identycznym materiale badawczym. Grupę uczestniczek stanowiło 1119 dorosłych kobiet z mutacją genu BRCA1, które w latach 2011–2017 były objęte genetycznym poradnictwem i diagnostyką w Uniwersyteckim Szpitalu Klinicznym w Szczecinie (nr 1 i 2) i innych współpracujących placówkach medycznych.

Do badania zakwalifikowano osoby z patogennymi wariantami BRCA1. Na pierwszej wizycie każda uczestniczka wypełniała kwestionariusz, który zawierał informacje o przebytych zabiegach profilaktycznych BSO, PBM, masie ciała, wzroście, wieku wystąpienia nowotworu, paleniu papierosów, spożywaniu alkoholu, historii cukrzycy oraz stosowaniu antykoncepcji

i HTZ. Dane były uaktualniane co dwa lata za pomocą kolejnych kwestionariuszy. Przy rekrutacji, a następnie co pół roku, pacjentki przechodziły kontrolne badania takie jak MRI, USG piersi, mammografia, USG przezpochwowe oraz badanie poziomu markera CA125 we krwi.

Podczas pierwszej wizyty pobierano od każdej uczestniczki 10 ml krwi obwodowej najczęściej poprzez nakłucie żyły przy użyciu systemu Vacutainer® (produkt nr 368381, Becton Dickinson, Plymouth, DEV, UK) do próbki zawierającej EDTA. Próbkę pobierano między 8:00 a 14:00, po czym były one rozdzielane do fiolek i mrożone w  $-80^{\circ}\text{C}$  do dalszych analiz genetycznych pod kątem mutacji BRCA1, a następnie także do oznaczenia stężenia cynku i miedzi.

Wszystkie włączone do badania pacjentki były wyjściowo zdrowe co oznacza, że nie chorowały na nowotwór, 130 z nich zostało wykluczonych z dalszej analizy z powodu braku kolejnych wizyt (88,38% pacjentek odbyło co najmniej jedną kontrolną wizytę w ciągu dwóch lat). Pacjentki były monitorowane od momentu pobrania próbki krwi przez średnio 7,52 roku, w tym czasie zdiagnozowano 174 nowe przypadki nowotworów (w tym 122 przypadki raka piersi, 29 raka jajnika i 23 inne nowotwory). W związku z brakiem kompletnych danych 32 pacjentki wykluczono z analiz prospektywnych. Profilaktyczne BSO zostało wykonane u 573 kobiet ze średnią wieku wynoszącą 45,2 lat, z czego 204 zabiegi odbyły przed rozpoczęciem naszego badania, a 369 – po. Szczegółowa charakterystyka grupy badawczej znajduje się w tabeli 3.

Badanie było realizowane zgodnie z wytycznymi Deklaracji Helsińskiej i za zgodą Komisji Etycznej Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie (nr KB-0012/73/10 z dnia 21 czerwca 2010 roku). Wszystkie uczestniczki wyraziły świadomą pisemną zgodę na udział w badaniu prowadzonym przez Zakład Genetyki i Patomorfologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie.

**Tabela 3.** Charakterystyka grupy.

| <b>Parametr</b>                           | <b>n=989</b> |
|---|--------------|
| <b>Wiek podczas rozpoczęcia badania</b>   |              |
| <50                                       | 775 (78,36%) |
| ≥50                                       | 214 (21,64%) |
| <b>Palenie</b>                            |              |
| -nigdy                                    | 720 (72,80%) |
| -kiedykolwiek                             | 264 (26,70%) |
| -brakujące dane                           | 5 (0,50%)    |
| <b>Hormonalna terapia zastępcza</b>       |              |
| -nigdy                                    | 720 (72,80%) |
| -kiedykolwiek                             | 263 (26,59%) |
| -brakujące dane                           | 6 (0,61%)    |
| <b>Adnektomia</b>                         |              |
| -nie                                      | 413 (41,76%) |
| -tak                                      | 576 (58,24%) |
| -brakujące dane                           | 0 (0,00%)    |
| <b>Środki antykoncepcyjne</b>             |              |
| -nigdy                                    | 501 (50,66%) |
| -kiedykolwiek                             | 481 (48,64%) |
| -brakujące dane                           | 7 (0,70%)    |
| <b>Cukrzyca</b>                           |              |
| -nie                                      | 880 (88,98%) |
| -tak                                      | 62 (6,27%)   |
| -brakujące dane                           | 47 (4,75%)   |
| <b>Body Mass Index</b>                    |              |
| <18,5                                     | 56 (5,66%)   |
| 18,5-24,9                                 | 553 (55,92%) |
| 25,0-29,9                                 | 237 (23,96%) |
| ≥30,0                                     | 95 (9,61%)   |
| -brakujące dane                           | 48 (4,85%)   |
| <b>Suplementy diety</b>                   |              |
| -nigdy                                    | 500 (50,56%) |
| -kiedykolwiek                             | 489 (49,44%) |
| -brakujące dane                           | 0 (0,00%)    |
| <b>Lokacja nowotworów (n = 174)</b>       |              |
| piersi                                    | 122 (70,11%) |
| jajniki                                   | 29 (16,67%)  |
| pęcherz moczowy                           | 2 (1,15%)    |
| szyjka macicy                             | 3 (1,72%)    |
| jelito grube                              | 2 (1,15%)    |
| nerki                                     | 1 (0,57%)    |
| białaczka                                 | 2 (1,15%)    |
| płuca                                     | 3 (1,72%)    |
| trzustka                                  | 1 (0,57%)    |
| gruczoł ślinowy                           | 1 (0,57%)    |
| mięśak                                    | 1 (0,57%)    |
| umiejscowienie pierwotne nieznanne        | 1 (0,57%)    |
| skóra                                     | 1 (0,57%)    |
| tarczyca                                  | 3 (1,72%)    |
| rak urotelialny                           | 1 (0,57%)    |
| brzuch-umiejscowienie pierwotne nieznanne | 1 (0,57%)    |

## 5.2. Pomiar stężenia cynku i miedzi

Skład chemiczny pierwiastków w próbkach określano za pomocą spektrometrii mas wykorzystującej plazmę wzbudzaną indukcyjnie (ICP-MS) przy użyciu aparatu NexION 350D marki PerkinElmer (Norfolk, VA, USA). Analiza pierwiastków była prowadzona w trybie KED (Kinetic Energy Discrimination), gdzie rod pełnił rolę wzorca wewnętrznego, co umożliwiało kompensację przesunięć instrumentu oraz efektów matrycowych. Próbki krwi rozcieńczano czterdziestokrotnie za pomocą odczynnika przygotowanego jako kontrola (70  $\mu$ l krwi do 2730  $\mu$ l buforu).

Odczynnik ten zawierał wodę o bardzo wysokiej czystości ( $>18$  M $\Omega$ ), TMAH (ang. *tetramethyloammonium hydroxide*) (AlfaAesar, Kandel, Niemcy), detergent Triton X-100 (PerkinElmer, Shelton, CT, USA), EDTA (Merck, Darmstadt, Niemcy) oraz etanol (Merck, Darmstadt, Niemcy). Standardy kalibracyjne przygotowano przez rozcieńczenie roztworów cynku lub miedzi o stężeniu 1000  $\mu$ g/ml (PerkinElmer Pure Plus, Shelton, CT, USA) za pomocą wspomnianego odczynnika kontrolnego. Kalibracja była dostosowana do matrycy, a współczynniki korelacji dla krzywej kalibracyjnej osiągały wartości powyżej 0,999.

Dokładność i precyzja wyników była weryfikowana przy użyciu certyfikowanych materiałów referencyjnych (CRM): ClinChek® Plasmonorm Whole Blood Level 1 (Recipe, Monachium, Niemcy) i Seronorm Whole Blood Level 2 (Sero, Norwegia). Laboratorium bierze także udział w programie zewnętrznej kontroli jakości QMEQAS (ang. *Quebec Multielement External Quality Assessment Scheme*), koordynowanym przez "Institut National de Santé Publique du Québec".

## 5.3. Analiza statystyczna

Każdą z uczestniczek badania przypisano do jednej z trzech (tertyli) w zależności od stężeń cynku lub miedzi we krwi. Następnie obliczono stosunek cynku do miedzi, ustalono punkt odcięcia wynoszący 6.38 i ustalono dwie grupy, powyżej i poniżej tej wartości. Skumulowane ryzyko wystąpienia nowotworu piersi oraz jajnika analizowano od momentu pobrania krwi aż do momentu diagnozy raka piersi lub jajnika, śmierci z innego powodu bądź ostatniej wizyty kontrolnej. Przy obliczaniu ryzyka nowotworu jajnika pominięto kobiety, którym usunięto jajniki przed pobraniem krwi, natomiast pacjentki, które przeszły wycięcie jajników w trakcie trwania obserwacji, uznawano za ocenzurowane w chwili wykonania zabiegu. W analizie ryzyka raka piersi uwzględniono usunięcie jajników jako zmienną czasową. Obserwację pacjentek, aby oszacować dziesięcioletnie skumulowane ryzyko raka jajnika, prowadzono od momentu pobrania krwi do daty profilaktycznego BSO, rozpoznania

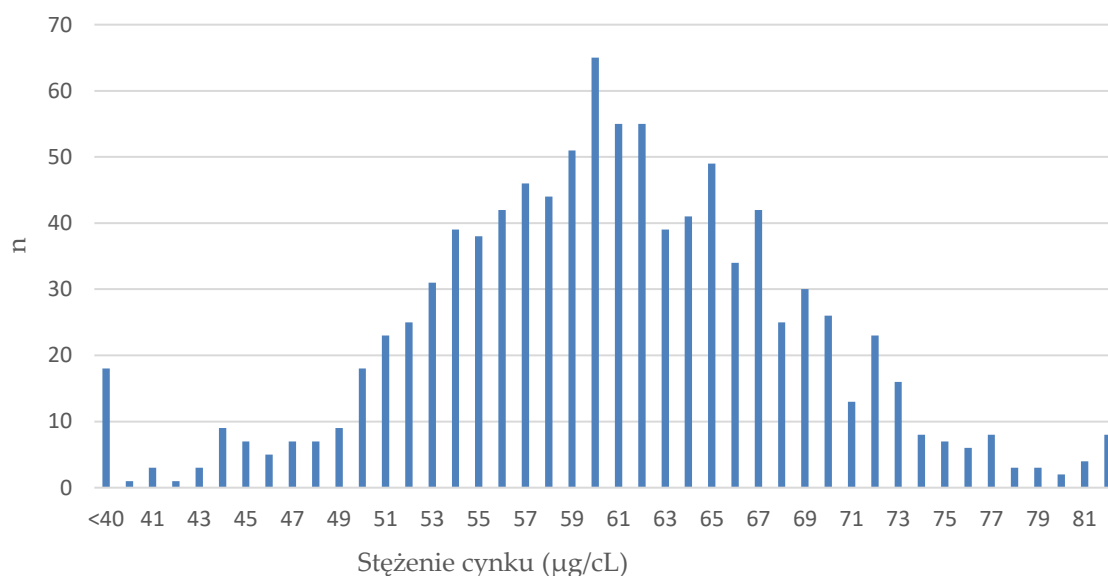
raka jajnika, dziesięciu lat obserwacji, ostatniej wizyty lub śmierci z innego powodu. Aby oszacować wskaźniki ryzyka (HR) dla ryzyka nowotworowego w zależności od tertylu cynku i miedzi, przeprowadzono analizę regresji proporcjonalnych hazardów COXa w wersji jednowariantowej i wielowariantowej. Jako stężenia odniesienia dla cynku i miedzi przyjęto najniższy tertyl. W modelach wielowariantowych uwzględniono następujące zmienne: stężenia cynku i miedzi (tertyl), wiek przy pobraniu krwi ( $<50$  vs.  $\geq 50$ ), stosowanie antykoncepcji doustnej (tak/nie), stosowanie terapii hormonalnej (tak/nie), historia palenia (tak/nie), ooforektomia (tak/nie) i BMI ( $<18,5/18,5-24,9/25,0-29,9/\geq 30,0$ ). Z powodu brakujących danych 84 pacjentki zostały wyłączone z analizy statystycznej. Wszystkie analizy statystyczne przeprowadzono w programie SAS, wersja 9.4

## 6. Wyniki

### 6.1. Publikacja nr 1:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers” Milena Matuszczak, Adam Kiljańczyk, Wojciech Marciniak, Róża Derkacz, Klaudia Stempa, Piotr Baszuk, Marta Bryśkiewicz, Ping Sun, Angela Cheriyan, Cezary Cybulski, Tadeusz Dębniak, Jacek Gronwald, Tomasz Huzarski, Marcin R. Lener, Anna Jakubowska, Marek Szwiec, Małgorzata Stawicka-Nielacna, Dariusz Godlewski, Artur Prusaczyk, Andrzej Jasiewicz, Tomasz Kluz, Joanna Tomiczek-Szwiec, Ewa Kilar-Kobierzycka, Monika Siołek, Rafał Wiśniowski, Renata Posmyk, Joanna Jarkiewicz-Tretyn, Rodney J. Scott, Steven A. Narod, Jan Lubiński, *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

Charakterystykę grupy badanej przedstawiono w tabeli 1. Rozkłady stężeń cynku przedstawiono na rycinie 3.



**Rycina 3:** Rozkład stężeń cynku we krwi wśród nosicieli BRCA1. Widoczne są cechy rozkładu normalnego. Największa liczba pacjentek miała stężenie cynku we krwi zbliżone do średniej wartości (61 µg/cL tj. 6100 µg/L) w całej grupie; n-liczba pacjentek.

Nie stwierdzono statystycznie istotnej korelacji między stężeniem cynku we krwi a ryzykiem raka piersi u nosicielek BRCA1 (Tabela 4). Dla kobiet z stężeniem cynku w najniższym tertylu, HR wynosił 0,88 (95% CI 0,60 do 1,29;  $p = 0,51$ ) w porównaniu do tych z stężeniem cynku w dwóch najwyższych tertylach.

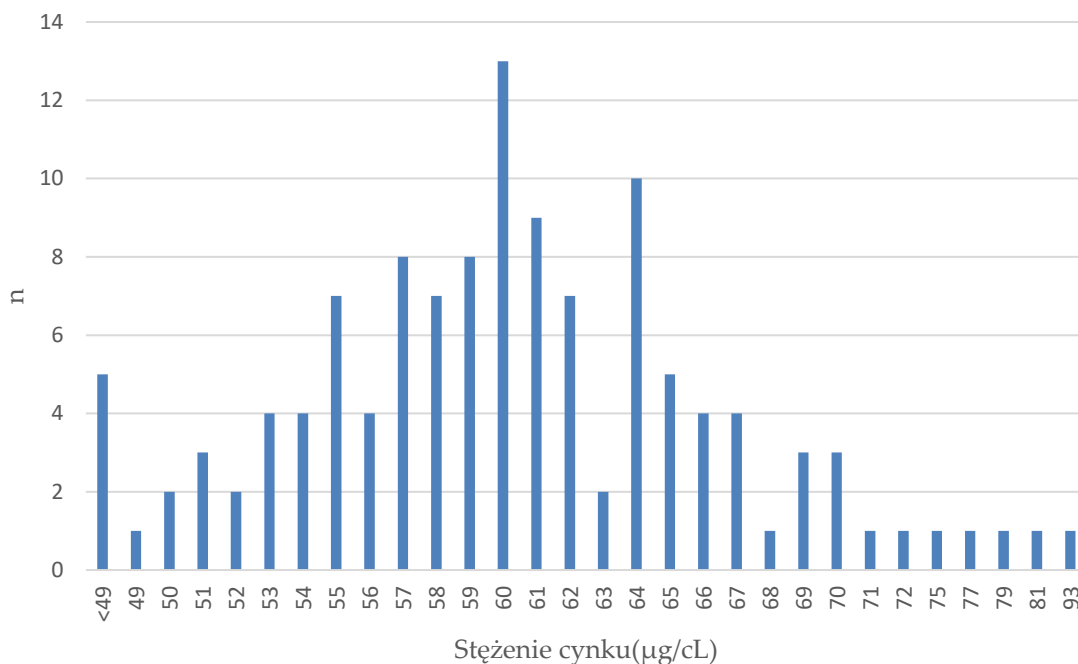


**Tabela 4.** Współczynniki ryzyka dla raka piersi w zależności od tężenia cynku.

| <b>Czynniki</b>                              | <b>Raki piersi/<br/>całość</b> | <b>Jednoczynnikowy<br/>HR (95%CI) P</b> | <b>Wieloczynnikowy*<br/>HR (95%CI) P</b> |
|--|--------------------------------|---|--|
| <b>Stężenie cynku</b>                        |                                |   |  |
| <=5797 µg/L                                  | 38/329                         | 1                                       | 1  |
| 5797-6433 µg/L                               | 51/329                         | 1,38 (0,91-2,10) 0,13                   | 1,39 (0,90-2,12)0,13                     |
| >6433 µg/L                                   | 34/331                         | 0,90 (0,57-1,44) 0,67                   | 0,91 (0,57-1,47)0,70                     |
| Całość                                       | 123/989                        |   |  |
| <b>Data urodzenia</b>                        |                                |   |  |
| <=1965                                       | 38/239                         | 1                                       | 1  |
| 1965-1975                                    | 28/224                         | 0,79 (0,49-1,29) 0,35                   | 0,61 (0,26-1,41) 0,25                    |
| 1975-1985                                    | 43/337                         | 0,85 (0,55-1,31) 0,45                   | 0,66 (0,20-2,16) 0,49                    |
| >1985  | 14/189                         | 0,58 (0,31-1,07) 0,08                   | 0,40 (0,11-1,44) 0,16                    |
| <b>Wiek podczas<br/>pobrania krwi (lata)</b> |                                |   |  |
| <=40   | 62/566                         | 1                                       | 1  |
| 40-50  | 30/216                         | 1,22 (0,79-1,90) 0,36                   | 1,55 (0,65-3,73) 0,32                    |
| >50  | 31/207                         | 1,28 (0,83-1,79) 0,26                   | 1,18 (0,36-3,90) 0,78                    |
| <b>Adnektomia</b>                            |                                |   |  |
| Nie  | 30/413                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 93/576                         | 0,87 (0,61-1,26) 0,46                   | 0,64 (0,39-1,03) 0,07                    |
| <b>Środki<br/>antykonieczne</b>              |                                |   |  |
| Nie  | 59/502                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 64/481                         | 1,10 (0,78-1,57) 0,58                   | 1,22 (0,83-1,78) 0,32                    |
| <b>Hormonalna terapia<br/>zastępcza</b>      |                                |   |  |
| Nie  | 91/720                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 32/263                         | 0,82 (0,55-1,23) 0,34                   | 0,78 (0,50-1,14) 0,32                    |
| <b>Palenie</b>                               |                                |   |  |
| Nie  | 59/553                         | 1                                       | 1  |
| Obecnie                                      | 35/222                         | 1,52 (1,00-2,31) 0,05                   | 1,51 (0,99-2,30) 0,06                    |
| W przeszłości                                | 29/209                         | 1,30 (0,83-2,03) 0,25                   | 1,22 (0,78-1,92) 0,38                    |
| <b>BMI w momencie<br/>pobrania krwi</b>      |                                |   |  |
| <=mediana (23,05)                            | 63/464                         | 1                                       | 1  |
| >mediana (23,05)                             | 57/477                         | 0,84 (0,59-1,21) 0,35                   | 0,77 (0,53-1,14) 0,19                    |
| Brak danych                                  | 3/48                           |   |  |

\* skorygowane o wszystkie zmienne wymienione w lewej kolumnie.

Rozkład stężeń cynku u nosicielek mutacji BRCA1 z rakiem piersi przedstawiono na rycinie 4.



**Rycina 4.** Stężenia cynku we krwi u pacjentek z rakiem piersi. Widoczne są cechy zbliżone do rozkładu normalnego. Największa liczba pacjentek wykazuje stężenie cynku we krwi zbliżone do wartości średniej (61 µg/cL tj. 6100 µg/L) w całej grupie. n - liczba pacjentek.

Wyjściowo zdrowe kobiety z stężeniem cynku we krwi poniżej 5797 µg/l miały zwiększone ryzyko zachorowania na raka jajnika w porównaniu z kobietami z stężeniem cynku we krwi wyższym niż 5797 (tertyl 1 w porównaniu z tertylami 2/3; skorygowany HR = 1,95; 95%CI: 0,92-4,14), wynik ten nie był istotny statystycznie (p = 0,08). Wśród kobiet w najniższym tertylu (stężenia cynku) 10-letnie skumulowane ryzyko raka jajnika wynosiło 6,1%. Wśród kobiet z dwóch najwyższych tertyli (stężenia cynku) 10-letnie skumulowane ryzyko raka jajnika wynosiło 4,7% (Tabela 5).

**Tabela 5.** Współczynniki ryzyka dla raka jajnik w zależności od stężenia cynku.

| <b>Czynniki</b>                              | <b>Raki jajnika/<br/>całość</b> | <b>Jednoczynnikowy<br/>HR (95%CI) P</b> | <b>Wieloczynnikowy*<br/>HR (95%CI) P</b> |
|--|---------------------------------|---|--|
| <b>Stężenie cynku</b>                        |                                 |   |  |
| <=5797 µg/L                                  | 13/259                          | 1                                       | 1  |
| 5797-6433 µg/L                               | 6/261                           | 0,45 (0,17-1,19) 0,11                   | 0,40 (0,15-1,07) 0,07                    |
| >6433 µg/L                                   | 10/262                          | 0,76 (0,33-1,74) 0,52                   | 0,63(0,27-1,47) 0,28                     |
| Całość                                       | 29/782                          |   |  |
| <b>Data urodzenia</b>                        |                                 |   |  |
| <=1965                                       | 10/101                          | 1                                       | 1  |
| 1965-1975                                    | 9/164                           | 0,49 (0,20-1,22) 0,13                   | 0,94 (0,07-12,1) 0,96                    |
| 1975-1985                                    | 9/328                           | 0,25 (0,10-0,64) 0,003                  | 0,28 (0,02-4,82) 0,38                    |
| >1985  | 1/189                           | 0,06 (0,01-0,50) 0,006                  | 0,05 (0,00-1,59) 0,09                    |
| <b>Wiek podczas<br/>pobrania krwi (lata)</b> |                                 |   |  |
| <=40   |                                 | 1                                       | 1  |
| 40-50  | 14/556                          | 1,53 (0,55-4,23) 0,42                   | 0,46 (0,12-1,72) 0,25                    |
| >50  | 5/129                           | 4,49 (1,99-10,1)                        | 1,10 (0,07-18,0) 0,95                    |
|  | 10/97                           | 0,0003                                  |  |
| <b>Środki<br/>antykonieczne</b>              |                                 |   |  |
| Nie  | 18/374                          | 1                                       | 1  |
| Tak  | 11/402                          | 0,54 (0,25-1,14) 0,10                   | 0,79 (0,35-1,83) 0,59                    |
| <b>Hormonalna terapia<br/>zastępcza</b>      |                                 |   |  |
| Nie  | 26/662                          | 1                                       | 1  |
| Tak  | 3/154                           | 0,40 (0,12-1,32) 0,13                   | 0,33 (0,10-1,10) 0,07                    |
| <b>Palenie</b>                               |                                 |   |  |
| Nie  | 12/447                          | 1                                       | 1  |
| Obecnie                                      | 7/176                           | 1,46 (0,58-3,71) 0,42                   | 1,40 (0,55-3,60) 0,48                    |
| W przeszłości                                | 10/154                          | 2,53 (1,09-5,85) 0,03                   | 2,23 (0,93-5,32) 0,07                    |
| <b>BMI w momencie<br/>pobrania krwi</b>      |                                 |   |  |
| <=mediana (23)                               | 11/396                          | 1                                       | 1  |
| >mediana (23)                                | 16/339                          | 1,70 (0,79-3,65) 0,18                   | 1,06 (0,45-2,49) 0,90                    |
| Brak danych                                  | 2/47                            |   |  |

\* skorygowane o wszystkie zmienne wymienione w lewej kolumnie.

Wśród wszystkich 989 kobiet, 174 zachorowały na raka w okresie obserwacji. Ogółem, kobiety ze stężeniem cynku w dolnym tertyle miały umiarkowanie zwiększone ryzyko zachorowania na raka w porównaniu z kobietami z dwóch górnych tertyle (HR = 1,10; 95% CI 0,80 do 1,52). Jeśli wykluczmy raka piersi lub jajnika, kobiety z stężeniem cynku w dolnym tertyle miały podobne ryzyko zachorowania na raka w porównaniu z tymi w dwóch górnych tertylach (HR = 1,00; 95% CI 0,70 do 1,42).

## 6.2. Publikacja nr 2:

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers” Milena Matuszczak, Adam Kiljańczyk, Wojciech Marciniak, Róża Derkacz, Klaudia Stempa, Piotr Baszuk, Marta Bryśkiewicz, Cezary Cybulski, Tadeusz Dębniak, Jacek Gronwald, Tomasz Huzarski, Marcin R. Lener, Anna Jakubowska, Marek Szwiec, Małgorzata Stawicka-Nielacna, Dariusz Godlewski, Artur Prusaczyk, Andrzej Jasiewicz, Tomasz Kluz, Joanna Tomiczek-Szwiec, Ewa Kilar- Kobierzycka, Monika Siołek, Rafał Wiśniowski, Renata Posmyk, Joanna Jarkiewicz-Tretyn, Rodney J. Scott, Jan Lubiński, Antioxidants. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>**

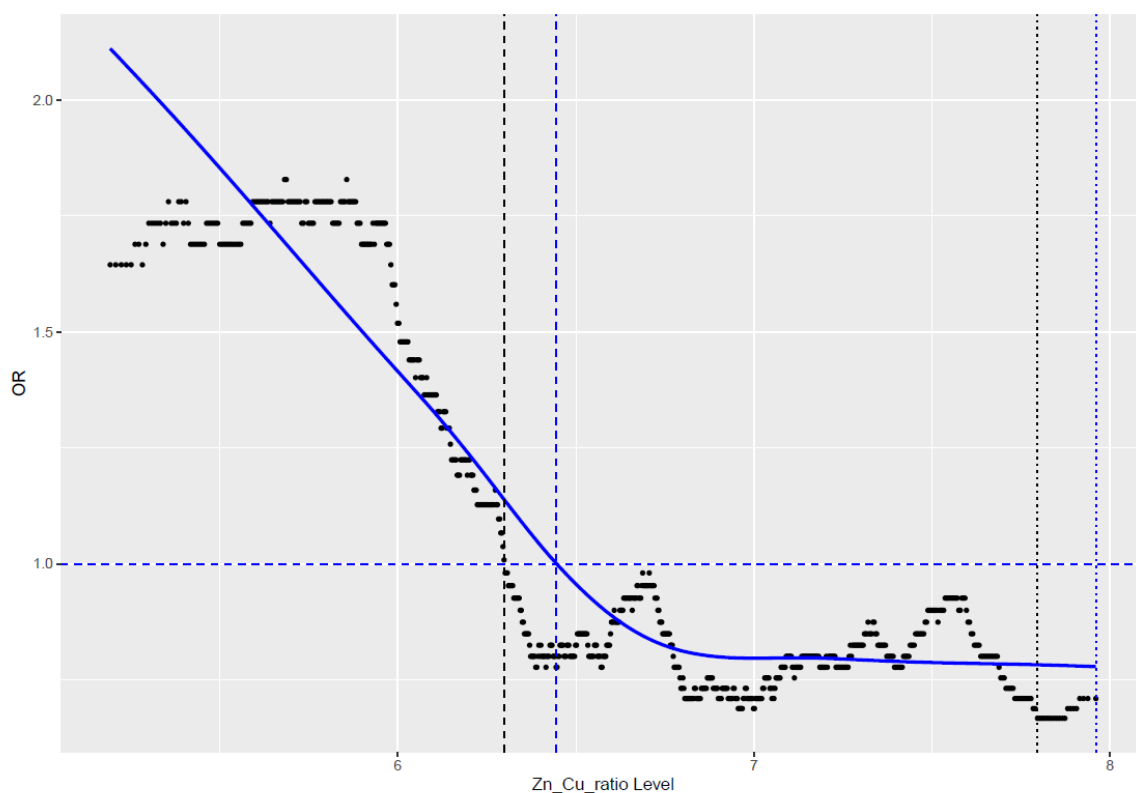
Analizie poddaliśmy tą samą grupę pacjentek co w poprzedniej publikacji. Charakterystyka grupy badanej została przedstawiona w tabeli 1

W badanej grupie porównaliśmy wyniki cynku, miedzi i stosunku cynku do miedzi przy użyciu obliczonego punktu odcięcia (rysunek S1 Materiały uzupełniające).

Związki między stężeniem cynku we krwi a ryzykiem raka u nosicieli mutacji BRCA1, które opisaliśmy we wcześniejszej publikacji [105], nie wykazały statystycznie istotnego zmniejszenia ryzyka żadnego z nowotworów; zaobserwowaliśmy tendencje, choć nieistotne statystycznie, dla raka jajnika i piersi.

Podobnie, wyniki analizy stężenia miedzi we krwi wykazały tendencję do zmniejszania ryzyka raka wraz ze spadkiem wartości miedzi (<863,33). Uzyskane wyniki nie były jednak istotne statystycznie (tabele S1-S3 w materiałach uzupełniających).

Zaobserwowaliśmy, że wartość ich stosunku poniżej pewnej wartości jest szkodliwa (rycina 5). Nasze obserwacje wykazały, że w badanej kohorcie kobiet ten ustalony punkt odcięcia wynosił 6,38. Wartości poniżej tego punktu odcięcia były niekorzystne i wiązały się ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na raka.



**Rycina 5.** - korelacja ryzyka raka z wartością stosunku cynku do miedzi.

Podział grupy, stosując punkt odcięcia = 6,38, wykazał prawie 1,5-krotne statystycznie istotne zmniejszenie ryzyka wystąpienia jakiegokolwiek nowotworu (HR = 1,48; CI = 1,07-2,04;  $p = 0,018$ ) (Tabela 6).

**Tabela 6.** Częstość występowania nowotworów o różnej lokalizacji narządowej u wyjściowo zdrowych nosicielek mutacji BRCA1 w zależności od wartości stosunku cynku do miedzi.

| <b>Czynniki</b>                              | <b>Raki/<br/>całość</b> | <b>Jednoczynnikowy<br/>HR (95%CI) P</b> | <b>Wieloczynnikowy*<br/>HR (95%CI) P</b> |
|--|-------------------------|---|--|
| <b>Stosunek Zn/Cu</b>                        |                         |   |  |
| 0-6,37                                       | 78/296                  | 1,53 (1,11-2,11) 0,009                  | 1,48 (1,07-2,05) 0,017                   |
| 6,38-16,03                                   | 73/467                  | 1                                       | 1  |
| <b>Data urodzenia</b>                        |                         |   |  |
| <=1965                                       | 52/181                  | 1                                       | 1  |
| 1965-1975                                    | 40/188                  | 0,79 (0,52-1,19) 0,3                    | 0,88 (0,44-1,78) 0,7                     |
| 1975-1985                                    | 52/265                  | 0,76 (0,52-1,11) 0,2                    | 0,80 (0,33-1,95) 0,6                     |
| >1985  | 7/129                   | 0,27 (0,12-0,59) 0,001                  | 0,27 (0,09-0,85) 0,025                   |
| <b>Wiek podczas<br/>pobrania krwi (lata)</b> |                         |   |  |
| <=40   | 77/471                  | 1                                       | 1  |
| 40-50  | 34/157                  | 1,25 (0,84-1,88) 0,3                    | 1,00 (0,54-1,88) >0,9                    |
| >50  | 40/135                  | 1,57 (1,07-2,30) 0,022                  | 1,20 (0,49-2,95) 0,7                     |
| <b>Środki<br/>antykonieczne</b>              |                         |   |  |
| Nie  | 76/378                  | 1                                       | 1  |
| Tak  | 75/385                  | 0,97 (0,70-1,33) 0,8                    | 1,08 (0,76-1,53) 0,7                     |
| <b>Hormonalna terapia<br/>zastępcza</b>      |                         |   |  |
| Nie  | 112/547                 | 1                                       | 1  |
| Tak  | 39/216                  | 0,78 (0,54-1,12) 0,2                    | 0,68 (0,46-1,00) 0,050                   |
| <b>Palenie</b>                               |                         |   |  |
| Nie  | 73/444                  | 1                                       | 1  |
| Obecnie                                      | 39/168                  | 1,39 (0,94-2,05) 0,1                    | 1,34 (0,91-1,99) 0,14                    |
| W przeszłości                                | 39/151                  | 1,48 (1,00-2,18) 0,050                  | 1,41 (0,95-2,08) 0,087                   |
| <b>BMI w momencie<br/>pobrania krwi</b>      |                         |   |  |
| <18,5  | 84/455                  | 1                                       | 1  |
| 18,5-25,0                                    | 10/44                   | 1,18 (0,61-2,26) 0,6                    | 1,30 (0,67-2,52) 0,4                     |
| 25,0-30,0                                    | 40/75                   | 1,12 (0,77-1,64) 0,5                    | 0,96 (0,65-1,43) 0,8                     |
| ≥30  | 17/75                   | 1,29 (0,77-2,18) 0,3                    | 1,04 (0,60-1,78) 0,9                     |

\* skorygowane o wszystkie zmienne wymienione w lewej kolumnie.

Tendencja ta, choć nieistotna statystycznie, występowała również w przypadku raka piersi i wiązała się z ponad 1,3-krotnym wzrostem ryzyka zachorowania na raka piersi w grupie kobiet, u których wartość stosunku Zn/Cu była niższa niż 6,38 (HR = 1,31; CI = 0,90-1,93; p = 0,2) (Tabela S4 w Materiałach Uzupełniających).

Najbardziej wyraźne, ponad 1,75-krotne, zwiększenie ryzyka raka zaobserwowano w przypadku raka jajnika, ale wynik ten nie był istotny statystycznie (HR = 1,78; CI = 0,77-4,11; p = 0,2) (Tabela S5 w Materiałach Uzupełniających).

## 7. Dyskusja

### 7.1. Publikacja nr 1:

Gen supresorowy nowotworów BRCA1 i kodowane przez niego białka są niezbędne do zachowania integralności genomu, odgrywając kluczową rolę w naprawie pęknięć podwójnej nici DNA poprzez rekombinację homologiczną [106]. Podstawowy model rozwoju raka związany z mutacjami BRCA1 opiera się na hipotezie „dwóch trafień”, w której jeden allel zostaje utracony, a drugi ulega mutacji utraty funkcji [107]. Mechanizm ten stanowi podstawę patogenezy molekularnej nowotworów związanych z BRCA1, z kluczowymi czynnikami obejmującymi niestabilność genomową i stres oksydacyjny [108]. Niestabilność genomowa wynika z braków w naprawie DNA spowodowanych mutacjami BRCA1, w szczególności wpływających na homologiczną rekombinację, co prowadzi do akumulacji uszkodzeń DNA i zwiększonego ryzyka mutacji onkogennych [109]. Dodatkowo, utrata funkcji BRCA1 wiąże się z aberracjami chromosomalnymi, takimi jak pęknięcia, fuzje i translokacje, co dodatkowo destabilizuje genom [106]. Komórki z mutacjami BRCA1 często wykazują LOH, gdzie normalny allel BRCA1 zostaje utracony, co powoduje całkowitą utratę funkcji BRCA1 w tych komórkach [110]. Stres oksydacyjny stanowi zagrożenie dla stabilności genomu, a BRCA1 odgrywa kluczową rolę w regulacji stresu oksydacyjnego jako mechanizmu obronnego u osób bez wariantów patogennych. Nosiciele mutacji są bardziej podatni na działanie ROS i wynikające z tego oksydacyjne uszkodzenia DNA, przyczyniając się do rozwoju raka [111]. BRCA1 pośrednio wpływa na regulację stresu oksydacyjnego poprzez białko p53, które reaguje na stres oksydacyjny indukowany przez ROS. BRCA1 aktywuje i stabilizuje p53 [112], ułatwiając zależną od p53 transkrypcję genów zaangażowanych w naprawę DNA. Mutacje w BRCA1 zakłócają te interakcje, zmniejszając zdolność komórki do skutecznego radzenia sobie ze stresem oksydacyjnym. Ponadto BRCA1 jest niezbędny dla punktów kontrolnych cyklu komórkowego, szczególnie w odpowiedzi na uszkodzenia DNA [3]. Działając jako ligaza ubikwityny E3, BRCA1 poliubikwitynuje białka cyklu komórkowego G2/M, oznaczając je do degradacji i zapobiegając ich akumulacji [113]. Mutacje w BRCA1 pozwalają komórkom z uszkodzeniami DNA kontynuować podziały, zwiększając tym samym ryzyko rozwoju raka.

Nasze wyniki wykazały umiarkowany, chociaż statystycznie nieistotny, związek między niskim stężeniem cynku we krwi a zwiększonym ryzykiem raka jajnika u nosicielek BRCA1. Wyjściowo zdrowe kobiety z stężeniem cynku we krwi  $> 5797 \mu\text{g/L}$  wykazywały dwukrotne zmniejszenie ryzyka raka jajnika w porównaniu do kobiet z stężeniem cynku we krwi  $\leq 5797$  (HR = 0,51 95% CI: 0,24-1,09; p=0,08). Nie stwierdzono związku między

stężeniem cynku a zachorowaniami na raka piersi lub inne nowotwory.

Cynk ma kluczowe znaczenie dla utrzymania integralności DNA i funkcji układu odpornościowego, a także posiada właściwości przeciwutleniające, które pomagają zmniejszyć stres oksydacyjny [114]. Jego rola w hamowaniu proliferacji komórek i indukowaniu apoptozy w komórkach nowotworowych czyni go cennym składnikiem strategii zapobiegania nowotworom. Cynk jest niezbędnym kofaktorem dla wielu białek zaangażowanych w naprawę DNA, a jego optymalne stężenie zmniejsza ryzyko dalszej akumulacji uszkodzeń DNA. Wpływa na aktywność enzymów i czynników transkrypcyjnych regulujących cykl komórkowy oraz funkcję białek takich jak p53, które pomagają regulować cykl komórkowy i zapobiegać niekontrolowanemu wzrostowi komórek nowotworowych. Stabilizuje również elementy chromatyny i białka naprawy DNA, co jest kluczem do utrzymania stabilności genomu. Dodatkowo, jest on niezbędny do funkcjonowania białek pro-apoptotycznych, które pomagają eliminować uszkodzone komórki mogące prowadzić do powstawania nowotworów. Cynk bierze udział w wielu reakcjach niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania ludzkiego organizmu (Tabela 7). Istnieją publikacje, które ukazują, że suplementacja cynkiem może mieć działanie chemoprewencyjne (przy uzupełnianiu niedoborów). Może to być spowodowane zmniejszonym stanem zapalnym i stresem oksydacyjnym u pacjentek, którzy mają optymalne stężenia tego pierwiastka [115–117].

**Tabela 7.** Wpływ cynku na kancerogenezę.

|   |  |
|---|--|
| <b>Niezbędny element</b>  | Zn ma kluczowe znaczenie dla ponad 900 czynników transkrypcyjnych (tj. domen wiążących DNA palców cynkowych (ang. <i>zinc finger</i> ; ZF), 300 enzymów (tj. CuZnSOD; białek naprawczych DNA) [118].   |
| <b>Funkcje enzymatyczne, wpływ na DNA, ekspresję genów, syntezę kwasów nukleinowych i stabilność genomu</b> | Zn odgrywa kluczową rolę w aktywności wielu enzymów, w tym tych zaangażowanych w naprawę DNA i kontrolę wzrostu komórek. Reguluje ekspresję genów poprzez czynniki transkrypcyjne ZF (geny naprawy DNA) [119]. Niedobór wiąże się z generowaniem jednoniciowych pęknięć w DNA i wpływa na zdolność naprawy [120]. Zarówno systemy naprawy przez wycinanie zasad (ang. <i>base excision repair</i> ; BER), jak i naprawy przez wycinanie nukleotydu (ang. <i>nucleotide excision repair</i> ; NER) zawierają białka palców cynkowych (ang. <i>zinc finger protein</i> ; ZFP) i inne białka związane z tym pierwiastkiem [121]. Ponadto wpływa na DNA, będąc częścią struktury chromatyny, replikacji, transkrypcji [121, 122] i działa przeciwko uszkodzeniom DNA spowodowanym utlenianiem [120]. |
| <b>Apoptoza</b>   | Kaspazy są aktywowane przez Zn; są one zaangażowane w proces apoptozy.<br>Zn wpływa na szereg szlaków sygnałowych (zaangażowanych w apoptozę), tj. p53 i białka szoku cieplnego.<br>Zn moduluje stosunek między białkami z rodziny Bcl-2 i poprzez nie reguluje apoptozę.  |
| <b>Detoksyfikacja</b>   | Metalotioneiny, białka wiążące różne jony metali (np. kadm, ołów, miedź), pomagają regulować ich stężenia w komórkach, tworząc stabilne kompleksy, które pomagają w eliminacji tych metali z organizmu, chroniąc w ten sposób przed szkodliwymi skutkami [123]. Dodatkowo neutralizują ROS, przyczyniając się do ochrony komórek przed stresem oksydacyjnym i zapobiegają uszkodzeniom [124].  |
| <b>Odpowiedź immunologiczna</b>   | Brak tego pierwiastka może upośledzać odpowiedź immunologiczną, potencjalnie przyczyniając się do rozwoju raka. Odgrywa on rolę w aktywności cytotolitycznej limfocytów T [125].   |



|   |   |
|---|---|
| <b>Działanie przeciwutleniające</b>       | Jako część enzymu CuZnSOD działa jako kluczowy obrońca przed atakami ROS ( <i>ang. reactive oxygen species</i> ). Służy jako antagonistą redoks-aktywnych metali przejściowych, takich jak żelazo i miedź, zapobiegając utlenianiu grup sulfhydrylowych w białkach [126–129]. |
| <b>Regulacja szlaków sygnalizacyjnych</b> | Zn <sup>2+</sup> reguluje szlaki sygnałowe w obu kierunkach, między innymi poprzez p38 oraz regulację acetylacji histonów i ZFP. Komórki z niedoborem Zn nie są w stanie utrzymać prawidłowej ekspresji p53 [130, 131].   |

Zalecana dzienna dawka cynku wynosi 11 miligramów (mg) dla mężczyzn i 8 mg dziennie dla kobiet. Sugerowane stężenia we krwi u nosicieli mutacji BRCA1 mieszczą się w zakresie 6000-6700 µg/L (dane własne- numer patentu P.439319).

Cynk może być wchłaniany kilkoma drogami, w tym poprzez dyfuzję bierną i absorpcję w przewodzie pokarmowym, regulowaną przez transportery [132]. Biodostępność cynku w przewodzie pokarmowym wzrasta w obecności kwasu cytrynowego i spada w obecności żelaza, wapnia, fosforu, błonnika i fitynianów [133]. Osoby z dietą bogatą w warzywa mogą wykazywać niższe wchłanianie cynku. Na przykład rośliny strączkowe zawierają stosunkowo dużą ilość cynku (Tabela 8), ale obecność fitynianów, które hamują wchłanianie cynku, powoduje, że do organizmu dostarczana jest mniejsza ilość tego pierwiastka niż w przypadku dostarczenia tej samej ilości z pokarmów pochodzenia zwierzęcego [134].

**Tabela 8.** Średnia zawartość cynku i referencyjna wartość dzienna (%) w wybranych produktach spożywczych o korzystnej bioabsorpcji.

| Żywność                                | Zawartość cynku na 100g | Referencyjna dawka dzienna |
|--|-------------------------|----------------------------|
| <b>Skorupiaki (ostrygi)</b>            | 39.3 mg                 | 300-413%                   |
| <b>1. Krab królewski z Alaski</b>      | 1. 7.62 mg              | 1. 69-95%                  |
| <b>2. Krewetki, małże</b>              | 2. 1.6 mg               | 2. 15-20%                  |
| <b>1. Orzechy (np. migdały)</b>        | 1. 5.78 mg              | 36-63%                     |
| <b>2.: Słonecznik</b>                  | 2. 5.29mg               |                            |
| <b>3. Konopie</b>                      | 3. 4.34 mg              |                            |
| <b>1. Mięso czerwone (wołowina)</b>    | 1. 4.79 mg              | 1. 38-55%                  |
| <b>2. Podroby</b>                      | 2. 1.7 mg               | 2. 13-15%                  |
| <b>3. Drób (pierś z kurczaka)</b>      | 3. 0.68 mg              | 3. 5%                      |
| <b>1. Ser</b>                          | 1. 3.74 mg<br>2.,3. 1mg | 1. 30-40%                  |
| <b>2. Jajka</b>                        |                         | 2.3. 5-13%                 |
| <b>3. Mleko (1 szklanka)</b>           |                         |                            |
| <b>Ryby (1. losoś 2. flądra/ sola)</b> | 1. 0.5 mg 2. 0.32 mg    | 3-4%                       |

Opublikowano 18 badań prospektywnych dotyczących korelacji między ryzykiem zachorowania na raka a cynkiem [102–104, 135–149]. Istnieje wiele publikacji, które wykazują korelację między cynkiem a ryzykiem zachorowania na raka [150–159]. Są to jednak prace retrospektywne i z tego powodu nie były dalej analizowane w naszej publikacji.

Cynk wchodzi w interakcje z ludzkim organizmem poprzez różne mechanizmy, które są kluczowe dla jego prawidłowego funkcjonowania. Świadczy o tym na przykład fakt, że aktywność metaloproteazy pośredniczy na każdym etapie od powstawania guza jajnika do pojawienia się przerzutów [160].

Wyniki tego badania mają kilka potencjalnych implikacji klinicznych. Jeśli zostaną potwierdzone, ocena stężenia cynku i innych mikroelementów we krwi nosicielek BRCA1 może być wykorzystana jako potencjalny marker i czynnik ryzyka rozwoju raka. Informacje te są potencjalnie istotne dla nosicielek mutacji BRCA1, które rozważają profilaktyczne BSO. Co istotne, nasze badanie wykazało, że około 33% kobiet wykazywało niskie wartości cynku i byłoby kandydatkami do suplementacji i/lub modyfikacji diety. W przyszłości badania krwi i porady dietetyczne i/lub stosowanie suplementów mogą być wykorzystane do optymalizacji stężenia cynku wśród nosicielek mutacji BRCA1.

Podsumowując, nasze badanie nie dowiodło ostatecznie, że stężenie cynku we krwi jest związane z ryzykiem wystąpienia nowotworów u nosicielek BRCA1. Zaobserwowano jednak sugestywny związek między niskim stężeniem cynku a wyższym ryzykiem raka jajnika. Ważne jest przeprowadzenie dalszych badań i obserwacji na większej liczbie nosicielek w dłuższej perspektywie czasowej.

## **7.2. Publikacja nr 2:**

Niezbędne pierwiastki odgrywają kluczową rolę w utrzymaniu prawidłowych funkcji organizmu, w tym mechanizmów ochronnych przed rakiem. Cynk i miedź zostały uznane za pierwiastki mające wpływ na występowanie nowotworów. Zrozumienie tego wpływu jest szczególnie ważne dla osób z grup wysokiego ryzyka nowotworów, takich jak nosicielki mutacji BRCA1, które są narażone na znacznie zwiększone ryzyko zachorowania na raka piersi (do 70%) i jajnika (do 40%). W związku z tym kluczowe jest uzyskanie wglądu w czynniki modyfikowalne wpływające na pozostałe (odpowiednio 30% i 60%) ryzyka, dla tych nowotworów złośliwych.

Cynk ma kluczowe znaczenie dla utrzymania integralności DNA i funkcji układu odpornościowego, a także posiada właściwości przeciwutleniające, które pomagają zmniejszyć stres oksydacyjny [114]. Jego rola w hamowaniu proliferacji komórek i indukowaniu apoptozy w komórkach nowotworowych czyni go cennym składnikiem strategii zapobiegania nowotworom. Cynk jest niezbędnym kofaktorem dla wielu białek zaangażowanych w naprawę DNA, a jego optymalne stężenie zmniejsza ryzyko dalszej akumulacji uszkodzeń DNA. Wpływa na aktywność enzymów i czynników transkrypcyjnych regulujących cykl komórkowy

oraz funkcję białek takich jak p53, które pomagają regulować cykl komórkowy i zapobiegać niekontrolowanemu wzrostowi komórek nowotworowych. Stabilizuje również elementy chromatyny i białka naprawy DNA, co jest kluczem do utrzymania stabilności genomu. Dodatkowo, jest on niezbędny do funkcjonowania białek pro-apoptotycznych, które pomagają eliminować uszkodzone komórki mogące prowadzić do powstawania nowotworów. Istnieją publikacje, które ukazują, że suplementacja cynkiem może mieć działanie chemoprewencyjne (przy uzupełnianiu niedoborów). Może to być spowodowane zmniejszonym stanem zapalnym i stresem oksydacyjnym u pacjentek, którzy mają optymalne stężenia tego pierwiastka [115–117].

Biorąc pod uwagę stwierdzoną przez nasz Ośrodek tendencję [105] (opisaną w publikacji nr 1) oraz opisane powyżej właściwości cynku, przeprowadziliśmy dalsze analizy, uwzględniając dodatkowe czynniki.

Wyniki naszego Ośrodka wykazały również, że istnieje tendencja (nieistotna statystycznie) potencjalnej korzyści z utrzymywania niskiego (<863,33) stężenia miedzi u nosicielek mutacji BRCA1. Miedź jest niezbędnym pierwiastkiem, ale jak miecz obosieczny, wykazuje zarówno korzystny (antyoksydacyjny), jak i szkodliwy (prooksydacyjny) wpływ na procesy komórkowe. W optymalnym stężeniu wykazuje właściwości przeciwutleniające, służy jako kofaktor dla dysmutazy ponadtlenkowej 1 (ang. *Superoxide Dismutase 1*; SOD1), enzymu, który katalizuje konwersję rodników ponadtlenkowych w tlen i nadtlenek wodoru, zmniejszając w ten sposób stres oksydacyjny w komórkach [161]. Dodatkowo jest niezbędna do syntezy ceruloplazminy, białka, które nie tylko usuwa wolne rodniki, ale także ułatwia transport miedzi w krwiobiegu [162]. Uczestniczy także w szlakach antyoksydacyjnych, które chronią lipidy przed peroksydacją, szkodliwym procesem, w którym wolne rodniki atakują cząsteczki lipidów w błonach komórkowych [163]. Dzieje się to głównie za sprawą wszechobecnych i wielofunkcyjnych metaloenzymów, które ułatwiają redukcję tlenu cząsteczkowego [164, 165].

Miedź hamuje angiogenezę poprzez redukcję czynników angiogennych, takich jak czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (ang. *Vascular Endothelial Growth Factor*; VEGF) i czynnik wzrostu fibroblastów (ang. *Fibroblast Growth Factor*; FGF [166]). Moduluje również układ odpornościowy [167], zwiększając jego zdolność do rozpoznawania i niszczenia komórek nowotworowych. Ponadto może wpływać na modyfikacje epigenetyczne, potencjalnie przywracając ekspresję genów supresorowych nowotworów i wyciszając onkogeny. Miedź hamuje szlaki onkogenne, takie jak PI3K (ang. *Phosphoinositide 3-Kinases*)

/Akt i kinazy aktywowane mitogenami (ang. *Mitogen-Activated Protein Kinases* MAPK), które są kluczowe dla proliferacji komórek nowotworowych.

Brak równowagi w stężeniach miedzi i cynku (podwyższony cynk i/lub obniżona miedź) utrudnia działanie przeciwutleniające różnych enzymów [168]. Długotrwały stres oksydacyjny może zwiększać prawdopodobieństwo rozwoju raka piersi i wpływać na początkowe fazy rozwoju nowotworu [169, 170].

Interakcje między cynkiem i miedzią w organizmie człowieka są skomplikowane, zaczynając od jelita cienkiego, gdzie spożycie i status każdego pierwiastka może wpływać na wchłanianie drugiego [171]. Są one kluczowymi składnikami miedziowo-cynkowej SOD (CuZnSOD), istotnej dla utrzymania stabilności i integralności DNA w celu złagodzenia rozwoju raka.

Uważa się, że stosunek cynku do miedzi (stosunek Zn/Cu) służy jako bardziej precyzyjny wskaźnik prognostyczny w porównaniu z indywidualnymi stężeniami Zn i Cu [172]. Niedawna kompleksowa analiza wykazała, że podwyższony stosunek Cu/Zn koreluje ze zwiększonym ryzykiem zachorowania na raka piersi [173].

W literaturze często podkreśla się korzystny potencjał utrzymania optymalnego stosunku Zn/Cu. Jednak prospektywne badania skupiające się na tym stosunku w ryzyku zachorowania na raka są ograniczone. Dotychczas opublikowano dwa prospektywne badania Stepień i wsp., dotyczące stosunku Zn/Cu na kohorcie *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition* (EPIC). Wykazały one istotne powiązania z rakiem jelita grubego [136] i wątrobowokomórkowego [138].

Dane literaturowe skłoniły nas do zbadania stosunku Zn/Cu w naszej kohorcie. Ustalając punkt odcięcia na poziomie 6,38 dla stosunku Zn/Cu, stwierdziliśmy, że wskaźniki poniżej tej wartości znacznie zwiększały ryzyko zachorowania na raka, podczas gdy wartości równe lub większe niż 6,38 reprezentowały optymalny zakres przy niższym ryzyku.

Biorąc pod uwagę nasze pacjentki w kohorcie BRCA1, badania nad skutecznością aktywnych interwencji mających na celu poprawę stosunku Zn/Cu są silnie uzasadnione. W tym celu przy niskich stężeniach cynku zastosowanie modyfikacji diety i/ lub suplementacji jest wskazane.

Dieta w bardzo niewielkim stopniu pozwala zmodyfikować stężenie miedzi we krwi. Uzasadnione wydaje się unikanie czynników podwyższających miedź takich jak środki hormonalne. Obiecujące wydaje się w przyszłości wykorzystanie metod stosowanych obecnie

(z dobrymi rezultatami) w próbach klinicznych opartych na leczeniu pacjentów z chorobą Wilsona. Zastosowanie Trientyny jest obecnie drogą terapią jednak wraz z wprowadzeniem substancji generycznych, leczenie to być może stanie się bardziej dostępne i możliwe do przebadania właściwości tej substancji na szerszą skalę.

## 8. Podsumowanie wyników

1. W tertylu o najniższym stężeniu cynku było związane z umiarkowanie wyższym ryzykiem raka jajnika (nieistotnym statystycznie) w porównaniu do kobiet z stężeniem cynku w dwóch górnych tertylach (HR = 1,65; 95% CI 0,80 do 3,44; p = 0,18).

2. Wyniki analizy stężenia miedzi we krwi wykazały tendencję do zmniejszania ryzyka zachorowania na raka wraz ze spadkiem wartości miedzi (<863,33). Uzyskane wyniki nie były jednak istotne statystycznie (HR=1.43; 95CI: 0.95=2.14, p= 0.084)

3. Nosicielki mutacji BRCA1 ze stosunkiem Zn/Cu powyżej 6,38 uzyskały znacznie niższe ryzyko zachorowania na raka niż kobiety ze stosunkiem poniżej tego punktu odcięcia. Wartości powyżej 6,38, wiązały się z prawie 1,5-krotnym zmniejszeniem ryzyka wystąpienia jakiegokolwiek nowotworu (HR = 1,48; CI = 1,07-2,04; p = 0,018).

4. Również w przypadku raka piersi zaobserwowano ponad 1,3-krotnym wzrost ryzyka zachorowania na raka piersi w grupie kobiet, u których wartość stosunku Zn/Cu była niższa niż 6,38 (HR = 1. 31; CI = 0,90-1,93; p = 0,2, tendencja ta nie była istotna statystycznie). Ponad 1,75-krotne zmniejszenie ryzyka zaobserwowano w przypadku raka jajnika, jednak wynik ten nie był istotny statystycznie (HR = 1,78; CI = 0,77-4,11; p = 0,2).

## 9. Wnioski

1. Czynniki modyfikowalne wpływające na ryzyko zachorowania na nowotwór mają większy wpływ na raki, w których pojawieniu udział mutacji genetycznej jest mniejszy. U nosicielek mutacji BRCA1 około 70% ryzyko raka piersi wiąże się z niewielkim  $\approx 30\%$  współdziałaniem modyfikatorów ryzyka. W przypadku nowotworu jajnika (40% ryzyko u nosicielek) pozostałe 60% oddziaływań warunkujących pojawienie się nowotworów zależy od modyfikatorów. Wyniki naszego badania ukazują mocniejszy wpływ stężenia każdego z analizowanych pierwiastków oraz ich stosunku na raka jajnika niż piersi.

2. Przypuszczalnie prawidłowy stosunek cynku do miedzi pozwala na antyoksydacyjne działanie tych dwóch pierwiastków, które są m.in. kluczowymi elementami szlaków komórkowych i kofaktorami enzymów. Potencjalnie modyfikacja diety i/ lub suplementacja może pomóc w ten sposób zredukować występowanie nowotworów również w innych grupach wysokiego ryzyka. Pomimo wysokiego ryzyka jakie mają osoby z silną agregacją nowotworów w rodzinie i/ lub mutacją w jednym z genów wysokiego ryzyka nowotworów, prawdopodobnie optymalizacja stężeń pierwiastków może pomóc zmniejszyć to ryzyko.

3. Uzasadnione wydaje się pogłębienie badań dotyczących modyfikatorów wystąpienia nowotworów w grupach wysokiego ryzyka. Prace dotyczące stężeń innych pierwiastków we krwi, mogłyby posłużyć do identyfikacji dodatkowych markerów wskazujących na zwiększone lub zmniejszone ryzyko wystąpienia nowotworów, a także do opracowania modyfikacji diety i/ lub suplementacji o potencjalnym działaniu profilaktycznym.

4. Nieprawidłowe wartości pierwiastków i/lub ich wzajemnych korelacji mogłyby okazać się pomocne w podjęciu decyzji o zabiegach profilaktycznych (takich jak BSO) wśród kobiet z genetycznie zwiększonym ryzykiem nowotworowym.

5. Dalsze badania mogą pomóc doprecyzować optymalne zakresy stężeń pierwiastków dla poszczególnych grup ryzyka a także ukazać najskuteczniejsze metody ich osiągnięcia. Ważne jest, aby badania były kontynuowane na większych, międzynarodowych kohortach i z wydłużonym okresem obserwacji.

## **10. Publikacje będące podstawą rozprawy**

### **10.1. Publikacja nr 1:**

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers” Milena Matuszczak, Adam Kiljańczyk, Wojciech Marciniak, Róża Derkacz, Klaudia Stempa, Piotr Baszuk, Marta Bryśkiewicz, Ping Sun, Angela Cheriyan, Cezary Cybulski, Tadeusz Dębniak, Jacek Gronwald, Tomasz Huzarski, Marcin R. Lener, Anna Jakubowska, Marek Szwiec, Małgorzata Stawicka-Niełacna, Dariusz Godlewski, Artur Prusaczyk, Andrzej Jasiewicz, Tomasz Kluz, Joanna Tomiczek-Szwiec, Ewa Kilar-Kobierzycka, Monika Siołek, Rafał Wiśniowski, Renata Posmyk, Joanna Jarkiewicz-Tretyn, Rodney J. Scott, Steven A. Narod, Jan Lubiński, *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**





## Article

# Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers

Milena Matuszczak <sup>1</sup>, Adam Kiljańczyk <sup>1</sup>, Wojciech Marciniak <sup>2</sup>, Róża Derkacz <sup>2</sup>, Klaudia Stempa <sup>1</sup>, Piotr Baszuk <sup>1</sup>, Marta Bryskiewicz <sup>1</sup>, Ping Sun <sup>3</sup>, Angela Cheriyan <sup>3</sup>, Cezary Cybulski <sup>1,2</sup>, Tadeusz Dębniak <sup>1</sup>, Jacek Gronwald <sup>1,2</sup>, Tomasz Huzarski <sup>1,2,4</sup>, Marcin R. Lener <sup>1</sup>, Anna Jakubowska <sup>1</sup>, Marek Szwiec <sup>5</sup>, Małgorzata Stawicka-Nielacna <sup>4</sup>, Dariusz Godlewski <sup>6</sup>, Artur Prusaczyk <sup>7</sup>, Andrzej Jasiewicz <sup>8</sup>, Tomasz Kluz <sup>9</sup>, Joanna Tomiczek-Szwiec <sup>10</sup>, Ewa Kilar-Kobierzycka <sup>11</sup>, Monika Siołek <sup>12</sup>, Rafał Wiśniowski <sup>13</sup>, Renata Posmyk <sup>14</sup>, Joanna Jarkiewicz-Tretyn <sup>15</sup>, Rodney J. Scott <sup>16</sup>, Steven A. Narod <sup>3</sup> and Jan Lubiński <sup>1,2,\*</sup>

- <sup>1</sup> Department of Genetics and Pathology, International Hereditary Cancer Center, Pomeranian Medical University, ul. Unii Lubelskiej 1, 71-252 Szczecin, Poland; milena.matuszczak@pum.edu.pl (M.M.); adam.kiljanczyk@pum.edu.pl (A.K.); klaudia.stempa@pum.edu.pl (K.S.); marta.bryskiewicz@pum.edu.pl (M.B.); cezary.cybulski@pum.edu.pl (C.C.); tadeusz.debniak@pum.edu.pl (T.D.); jacek.gronwald@pum.edu.pl (J.G.); tomasz.huzarski@pum.edu.pl (T.H.)
- <sup>2</sup> Read-Gene, Grzeczynica, ul. Alabastrowa 8, 72-003 Dobra, Poland; wojciech.marciniak@read-gene.com (W.M.); roza.derkacz@read-gene.com (R.D.)
- <sup>3</sup> Women's College Research Institute, Women's College Hospital, University of Toronto, Toronto, ON M5G 1N8, Canada; ping.sun@wchospital.ca (P.S.); angela.cheriyam@wchospital.ca (A.C.)
- <sup>4</sup> Department of Clinical Genetics and Pathology, University of Zielona Góra, ul. Zyty 28, 65-046 Zielona Góra, Poland
- <sup>5</sup> Department of Surgery and Oncology, University of Zielona Góra, Zyty 28, 65-046 Zielona Góra, Poland
- <sup>6</sup> OPEN, Kazimierza Wielkiego 24 St., 61-863 Poznań, Poland; godlewski.open@wp.pl
- <sup>7</sup> Medical and Diagnostic Center, 08-110 Siedlce, Poland
- <sup>8</sup> Genetic Counseling Center, Subcarpatian Oncological Hospital, 18 Bielawskiego St., 36-200 Brzozów, Poland; ajasiewicz@yahoo.com
- <sup>9</sup> Department of Gynecology, Gynecology Oncology and Obstetrics, Institute of Medical Sciences, Medical College, Rzeszów University, Rejtana 16c, 35-959 Rzeszów, Poland
- <sup>10</sup> Department of Histology, Department of Biology and Genetics, Faculty of Medicine, University of Opole, 45-040 Opole, Poland; tomiczek.onk@gmail.com
- <sup>11</sup> Department of Oncology, District Specialist Hospital, Leśna 27-29 St., 58-100 Świdnica, Poland; ewakilar@post.pl
- <sup>12</sup> Holycross Cancer Center, Artwińskiego 3 St., 25-734 Kielce, Poland; monika.siolek@wp.pl
- <sup>13</sup> Regional Oncology Hospital, Wyzwolenia 18 St., 43-300 Bielsko Biala, Poland; wiraf@poczta.onet.pl
- <sup>14</sup> Department of Clinical Genetics, Medical University of Białystok, 15-089 Białystok, Poland; rposmyk@gmail.com
- <sup>15</sup> Non-Public Health Care Centre, Cancer Genetics Laboratory, 87-100 Toruń, Poland
- <sup>16</sup> Medical Genetics, Hunter Medical Research Institute, Priority Research Centre for Cancer Research, Innovation and Translation, School of Biomedical Sciences and Pharmacy, Faculty of Health and Medicine, University of Newcastle, Pathology North, John Hunter Hospital, King and Auckland Streets, Newcastle, NSW 2300, Australia; rodney.scott@newcastle.edu.au
- \* Correspondence: jan.lubinski@pum.edu.pl



Citation: Matuszczak, M.; Kiljańczyk, A.; Marciniak, W.; Derkacz, R.; Stempa, K.; Baszuk, P.; Bryskiewicz, M.; Sun, P.; Cheriyan, A.; Cybulski, C.; et al. Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers. *Antioxidants* 2024, 13, 609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Academic Editor: Peter Storz

Received: 23 March 2024

Revised: 8 May 2024

Accepted: 14 May 2024

Published: 16 May 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** BRCA1 mutations predispose women to breast and ovarian cancer. The anticancer effect of zinc is typically linked to its antioxidant abilities and protecting cells against oxidative stress. Zinc regulates key processes in cancer development, including DNA repair, gene expression, and apoptosis. We took a blood sample from 989 female BRCA1 mutation carriers who were initially unaffected by cancer and followed them for a mean of 7.5 years thereafter. There were 172 incident cases of cancer, including 121 cases of breast cancer, 29 cases of ovarian cancers, and 22 cancers at other sites. A zinc level in the lowest tertile was associated with a modestly higher risk of ovarian cancer compared to women with zinc levels in the upper two tertiles (HR = 1.65; 95% CI 0.80 to 3.44;  $p = 0.18$ ), but this was not significant. Among those women with zinc levels in the lowest tertile, the 10-year cumulative risk of ovarian cancer was 6.1%. Among those in the top two tertiles of zinc

level, the ten-year cumulative risk of ovarian cancer was 4.7%. There was no significant association between zinc level and breast cancer risk. Our preliminary study does not support an association between serum zinc level and cancer risk in BRCA1 mutation carriers.

**Keywords:** BRCA 1; cancerogenesis; breast cancer; ovarian cancer; cancer risk; prospective study

## 1. Introduction

In 2023, it was predicted that there would be 297,790 new cases of breast cancer in women and 19,710 ovarian cancers [1]. About 3% of breast cancers (about 7500–8500 women per year) and 10% of ovarian cancers (about 2000 women per year) are cases with BRCA1 mutations.

Approximately 13% of women in the general population will develop breast cancer during their lifetime [2]. However, in women who have inherited a deleterious BRCA1 variant, the mutation in the BRCA1 gene, the lifetime risks are 70% and 40%, respectively [2,3]. In addition to prophylactic surgery, modifiers of risks include age; hormone treatment; reproductive history; and diet, including micronutrients. Because of their extremely high risk of developing breast and ovarian cancer, we aim to find possible ways to reduce this risk.

Zinc is classified as an essential trace element and plays a crucial role in numerous cancer-suppressive mechanisms, including DNA replication, damage repair, oxidative stress response, cell cycle progression, and apoptosis [4].

Zinc functions as a cofactor for over 900 transcription factors and 300 enzymes, influencing DNA regulation, gene expression, nucleic acid synthesis, and genome stability [5]. As part of the CuZnSOD enzyme and the metallothionein protein, zinc acts as a key defender against ROS attacks [6–9]. Zinc deficiency is linked to the generation of single-strand breaks of DNA and affects repair ability, impacting processes such as repair, chromatin structure, replication, transcription, and counteracting oxidative DNA damage [10–12]. Moreover, zinc deficiency compromises immune responses, potentially contributing to cancer development [13,14].

There have been 18 published prospective studies on the correlation between zinc and cancer risk [5,15–31]. Additionally, numerous retrospective publications demonstrate a correlation between zinc and cancer risk [32–41]. To date, the role of zinc in tumorigenesis in women with BRCA1 mutations has not been studied, and for this reason, this was the purpose of our work.

## 2. Materials and Methods

The study subjects included 989 adult women, who received genetic counselling and testing between 2011 and 2017 at the Clinical Hospitals of Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland, or at an affiliated hospital or outpatient clinic. At the first study visit, a fasting blood sample was collected from each study participant to be used for genetic testing for BRCA1 mutations. For analysis, 10 mL of peripheral blood was collected into a vacutainer tube containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) from all study participants. All blood samples were collected between 8 a.m. and 2 p.m. and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis. Participants were included in the study if a deleterious BRCA1 variant was detected.

Typically, these patients are offered the opportunity to participate in other clinical research studies. Medical charts were reviewed for date of diagnosis, age at enrollment ( $<50/\geq 50$ ), preventive salpingo-oophorectomy (yes/no), smoking status (ever/never), oral contraceptive use (ever/never), diabetes (yes/no), dietary supplements (ever/never), hormonal therapy (ever/never), and BMI (low/normal/fat/obesity).

The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration and with the consent of the Ethics Committee of Pomeranian Medical University in Szczecin under the number KB-0012/73/10 of 21 June 2010. All participants provided written informed consent.

### 2.1. Measurement of Blood Zinc Level

Collected blood samples were thawed from  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  to room temperature on the day of analysis. Each sample was thoroughly mixed using a shaker or vortex to make the material as homogeneous as possible. This process was repeated immediately prior to taking blood volumes for dilutions due to the phenomenon of blood stratification. Using the simplest possible technique, the blood samples were diluted at a ratio of 1:30 (50  $\mu\text{L}$  blood: 1450  $\mu\text{L}$  buffer).

In order to achieve the specificity of the measurement, tetramethylammonium hydroxide (TMAH) solution was used for dilutions. The alkaline pH ensures good solubility of blood components, thus not causing precipitation of any of the fractions.

In addition, in order to better disperse the dissolved blood components, a non-ionic surfactant in the form of Triton X-100 was added. The use of this compound not only facilitates the dissolution of proteins, among others but also contributes to the faster flushing of the sample from the spectrometer introduction system. An internal standard in the form of rhodium (105Rh) was used to correct the matrix effect and camera drift. To achieve the stability of metal ions dissolved in solution, EDTA was used. In addition, due to the content of carbon-containing compounds, butanol was used.

The inductively coupled plasma excitation mass spectrometry (ICP-MS) technique was used to determine the content of Pb. An ELAN DRC-e mass spectrometer (PerkinElmer, Norfolk, VA, USA) and a NexION 350D mass spectrometer (PerkinElmer) were applied. Oxygen was used as a reaction gas. The ICP-MS allows for detection limits of  $<0.1\text{ }\mu\text{g/L}$ .

The following reference materials were used to validate the measurements: ClinCheck (Recipe, Munich, Germany), NIST 955c (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA), and BCR 634/BCR635 (European Commission, Community Bureau of Reference, Brussels, Belgium). These are reference standards commonly used in spectrometry to confirm the precision, sensitivity, and specificity of the measurement.

### 2.2. Statistical Analysis

All study participants were assigned to one of three categories (tertiles) depending on their blood zinc level. The cumulative risks of breast and ovarian cancer were calculated from the age at blood draw to the age of diagnosis of breast or ovarian cancer, death from another cause, or last follow-up. For estimating the risk of ovarian cancer, women with oophorectomy prior to blood draw were excluded, and subjects with oophorectomy in the follow-up period were censored at the time of oophorectomy. To estimate the ten-year cumulative risk of ovarian cancer, patients were followed from blood draw to date of preventive oophorectomy, ovarian cancer, ten years of follow-up, last follow-up, or death from another cause. For the analysis of breast cancer risk, oophorectomy was included as a time-dependent variable. In order to estimate the hazard ratios (HRs) for cancer risk, univariable and multivariable Cox proportional hazards regression analyses were performed. In multivariable models, the following variables were taken into analysis: zinc level (tertile), year of birth, age at blood draw ( $<40$  years,  $40\text{--}49.9$  years  $\geq 50$  years), oral contraceptive use (yes/no), hormone replacement therapy use (yes/no), smoking history (current, former never), and BMI ( $<23.0$  versus  $>23.0$ ). All statistical analyses were performed using SAS, version 9.4.

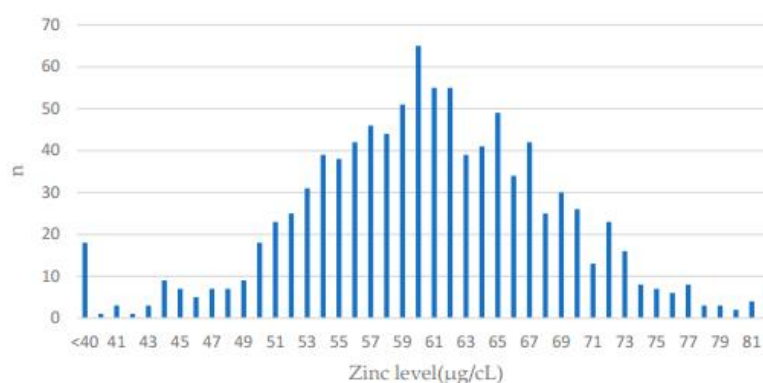
## 3. Results

The study group consisted of 989 women diagnosed with a *BRCA1* mutation. The patients were followed up for an average of 6.75 years, during which time 174 new cancers were reported (121 cases of breast cancer, 29 cases of ovarian cancer, and 22 cancers at other sites). The characteristics of the study group are presented in Table 1.

**Table 1.** Group characteristics.

|   | N = 989      |
|---|--------------|
| Age at enrollment                               |              |
| <50 years                                       | 775 (78.36%) |
| ≥50 years                                       | 214 (21.64%) |
| Smoking   |              |
| never   | 720 (72.80%) |
| ever  | 264 (26.69%) |
| missing data                                    | 5 (0.51%)    |
| Hormonal therapy                                |              |
| never   | 720 (72.80%) |
| ever  | 263 (26.59%) |
| missing data                                    | 6 (0.61%)    |
| Oophorectomy                                    |              |
| no  | 413 (41.76%) |
| yes   | 576 (58.24%) |
| missing data                                    | 0 (0.00%)    |
| Oral Contraceptive use                          |              |
| never   | 501 (50.66%) |
| ever  | 481 (48.64%) |
| missing data                                    | 7 (0.70%)    |
| Diabetes  |              |
| no  | 880 (88.98%) |
| yes   | 62 (6.27%)   |
| missing data                                    | 47 (4.75%)   |
| Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )            |              |
| <18.5   | 56 (5.66%)   |
| 18.5–24.9                                       | 553 (55.92%) |
| 25.0–29.9                                       | 237 (23.96%) |
| ≥30.0   | 95 (9.61%)   |
| missing data                                    | 48 (4.85%)   |
| Dietary supplements usage                       |              |
| never   | 500 (50.56%) |
| ever  | 489 (49.44%) |
| New cancer site (n = 174) (by the first cancer) |              |
| breast  | 122 (70.11%) |
| ovarian   | 29 (16.67%)  |
| bladder   | 2 (1.15%)    |
| cervix  | 3 (1.72%)    |
| colon   | 2 (1.15%)    |
| kidney  | 1 (0.57%)    |
| leukemia  | 2 (1.15%)    |
| lung  | 3 (1.72%)    |
| pancreas  | 1 (0.57%)    |
| salivary gland                                  | 1 (0.57%)    |
| sarcoma   | 1 (0.57%)    |
| site unknown                                    | 1 (0.57%)    |
| skin  | 1 (0.57%)    |
| thyroid   | 3 (1.72%)    |
| urothelial                                      | 1 (0.57%)    |
| abdomen–CSU                                     | 1 (0.57%)    |

The distribution of zinc levels in the cohort is presented in Figure 1.



**Figure 1.** The distribution of values of zinc levels in blood among BRCA1 carriers. Features of normal distribution can be seen. The largest number of patients had blood levels close to the mean value (61 µg/cL) in the entire group; n—number of patients.

3.1. Breast Cancer

There was no statistically significant correlation between blood zinc levels and breast cancer risk in BRCA1 carriers (Table 2). For women with zinc levels in the lowest tertile, the hazard ratio was 0.88 (95% CI 0.60 to 1.29;  $p = 0.51$ ) compared to those with zinc levels in the top two tertiles.

**Table 2.** The hazard ratio for breast cancer according to zinc level (tertiles).

| Variables                  | Breast Cases/<br>Total | Univariate<br>HR (95% CI) P | Multivariate *<br>HR (95% CI) P |
|----------------------------|------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Zinc µg/L                  |                        |                             |                                 |
| ≤5797                      | 38/329                 | 1                           | 1                               |
| 5797–6433                  | 51/329                 | 1.38 (0.91–2.10) 0.13       | 1.39 (0.90–2.12) 0.13           |
| >6433                      | 34/331                 | 0.90 (0.57–1.44) 0.67       | 0.91 (0.57–1.47) 0.70           |
| Total                      | 123/989                |                             |                                 |
| Zinc                       |                        |                             |                                 |
| <5797                      | 38/329                 | 1                           | 1                               |
| >5797                      | 85/660                 | 1.14 (0.78–1.67) 0.51       | 1.15 (0.78–1.70) 0.48           |
| Year of birth              |                        |                             |                                 |
| ≤1965                      | 38/239                 | 1                           | 1                               |
| January 1965–1975          | 28/224                 | 0.79 (0.49–1.29) 0.35       | 0.61 (0.26–1.41) 0.25           |
| January 1975–1985          | 43/337                 | 0.85 (0.55–1.31) 0.45       | 0.66 (0.20–2.16) 0.49           |
| 1985                       | 14/189                 | 0.58 (0.31–1.07) 0.08       | 0.40 (0.11–1.44) 0.16           |
| Age at blood draw (years). |                        |                             |                                 |
| ≤40                        | 62/566                 | 1                           | 1                               |
| 40.01–50                   | 30/216                 | 1.22 (0.79–1.90) 0.36       | 1.55 (0.65–3.73) 0.32           |
| >50                        | 31/207                 | 1.28 (0.83–1.79) 0.26       | 1.18 (0.36–3.90) 0.78           |
| Oophorectomy               |                        |                             |                                 |
| No                         | 30/413                 | 1                           | 1                               |
| Yes (time-dependent)       | 93/576                 | 0.87 (0.61–1.26) 0.46       | 0.64 (0.39–1.03) 0.07           |
| Oral contraceptive use     |                        |                             |                                 |
| No                         | 59/502                 | 1                           | 1                               |
| Yes                        | 64/481                 | 1.10 (0.78–1.57) 0.58       | 1.22 (0.83–1.78) 0.32           |
| HRT                        |                        |                             |                                 |
| No                         | 91/720                 | 1                           | 1                               |
| Yes                        | 32/263                 | 0.82 (0.55–1.23) 0.34       | 0.78 (0.50–1.18) 0.32           |

Table 2. Cont.

| Variables          | Breast Cases/<br>Total | Univariate<br>HR (95% CI) P | Multivariate *<br>HR (95% CI) P |
|--------------------|------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Smoking            |                        |                             |                                 |
| No                 | 59/553                 | 1                           | 1                               |
| Current            | 35/222                 | 1.52 (1.00–2.31) 0.05       | 1.51 (0.99–2.30) 0.06           |
| Former             | 29/209                 | 1.30 (0.83–2.03) 0.25       | 1.22 (0.78–1.92) 0.38           |
| BMI at blood taken |                        |                             |                                 |
| ≤median (23.05)    | 63/464                 | 1                           | 1                               |
| >median (23.05)    | 57/477                 | 0.84 (0.59–1.21) 0.35       | 0.77 (0.53–1.14) 0.19           |
| Missing            | 3/48                   |                             |                                 |

\* Adjusted by all the variables listed in the left column.

The distribution of zinc levels in breast cancer cases is presented in Figure 2.

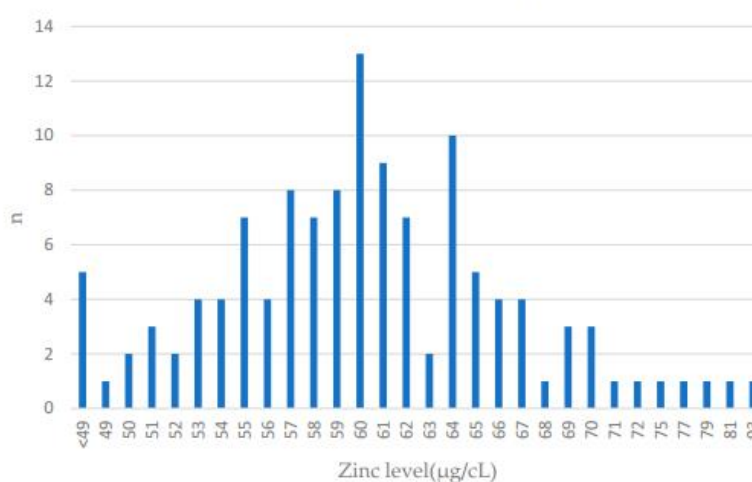


Figure 2. Zinc levels in blood among breast cancer cases. Features close to normal distribution can be seen. The largest number of patients had blood levels close to the mean value (61 µg/cL) in the entire group; n—number of patients.

### 3.2. Ovarian Cancer

Initially, unaffected women with a blood zinc level below 5797 µg/L had an increased risk of ovarian cancer, compared to women with a blood zinc level greater than 5797 (tertile 1 versus tertiles 2/3; adjusted HR = 1.95 95% CI 0.92 to 4.14), but this was not significant ( $p = 0.08$ ). Among those women with zinc levels in the lowest tertile, the 10-year cumulative risk of ovarian cancer was 6.1%. Among those with zinc levels in the top two tertiles, the 10-year cumulative risk of ovarian cancer was 4.7% (Table 3).

Table 3. Hazard ratios (HRs) for ovarian cancer by zinc level (tertiles).

| Variables | Ovarian Cases/<br>Total | Univariate<br>HR (95% CI) P | Multivariate *<br>HR (95% CI) P |
|-----------|-------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Zinc µg/L |                         |                             |                                 |
| ≤5797     | 13/259                  | 1                           | 1                               |
| 5797–6432 | 6/261                   | 0.45 (0.17–1.19) 0.11       | 0.40 (0.15–1.07) 0.07           |
| >6433     | 10/262                  | 0.76 (0.33–1.74) 0.52       | 0.63 (0.27–1.47) 0.28           |
| Total     | 29/782                  |                             |                                 |

Table 3. Cont.

| Variables              | Ovarian Cases/<br>Total | Univariate<br>HR (95% CI) P | Multivariate *<br>HR (95% CI) P |
|------------------------|-------------------------|-----------------------------|---------------------------------|
| Zn ≤ 5797              | 13/259                  | 1                           | 1                               |
| Zn > 5797              | 16/523                  | 0.61 (0.29–1.26) 0.18       | 0.51 (0.24–1.09) 0.08           |
| Year of birth          |                         |                             |                                 |
| ≤1965                  | 10/101                  | 1                           | 1                               |
| January 1965–1975      | 9/164                   | 0.49 (0.20–1.22) 0.13       | 0.94 (0.07–12.1) 0.96           |
| January 1975–1985      | 9/328                   | 0.25 (0.10–0.64) 0.003      | 0.28 (0.02–4.82) 0.38           |
| >1985                  | 1/189                   | 0.06 (0.01–0.50) 0.006      | 0.05 (0.00–1.59) 0.09           |
| Age at blood (years)   |                         |                             |                                 |
| ≤40                    | 14/556                  | 1                           | 1                               |
| 40.01–50               | 5/129                   | 1.53 (0.55–4.23) 0.42       | 0.46 (0.12–1.72) 0.25           |
| >50                    | 10/97                   | 4.49 (1.99–10.1) 0.0003     | 1.10 (0.07–18.0) 0.95           |
| Oral contraceptive use |                         |                             |                                 |
| No                     | 18/374                  | 1                           | 1                               |
| Yes                    | 11/402                  | 0.54 (0.25–1.14) 0.10       | 0.79 (0.35–1.83) 0.59           |
| HRT                    |                         |                             |                                 |
| No                     | 26/662                  | 1                           | 1                               |
| Yes                    | 3/154                   | 0.40 (0.12–1.32) 0.13       | 0.33 (0.10–1.10) 0.07           |
| Smoking                |                         |                             |                                 |
| Never                  | 12/447                  | 1                           | 1                               |
| Current                | 7/176                   | 1.46 (0.58–3.71) 0.42       | 1.40 (0.55–3.60) 0.48           |
| Former                 | 10/154                  | 2.53 (1.09–5.85) 0.03       | 2.23 (0.93–5.32) 0.07           |
| BMI at blood draw      |                         |                             |                                 |
| ≤23                    | 11/396                  | 1                           | 1                               |
| >23                    | 16/339                  | 1.70 (0.79–3.65) 0.18       | 1.06 (0.45–2.49) 0.90           |
| Missing                | 2/47                    |                             |                                 |

\* Adjusted by all the variables listed in the left column.

The distribution of zinc levels in ovarian cases is presented in Figure 3.

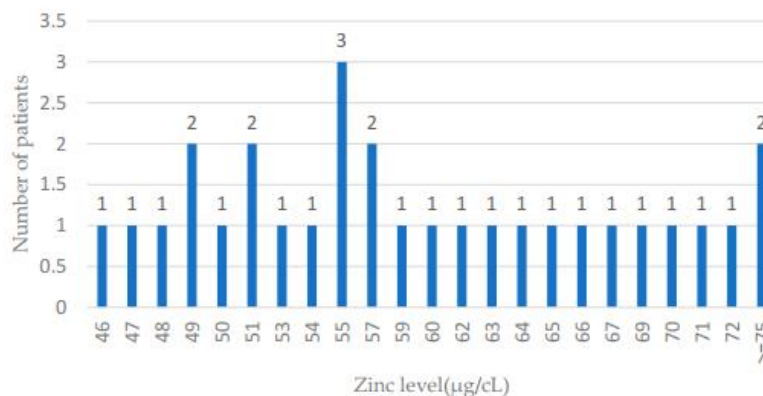


Figure 3. Zinc levels in blood among ovarian cancer cases. Features of the normal distribution cannot be seen (probably due to the low number of ovarian cases); n—number of patients.

### 3.3. All Cancers

Among all the 989 women, 174 developed cancers in the follow-up period. Overall, those women with zinc levels in the bottom tertile had a modestly increased risk of any cancer, compared to those in the top two tertiles (HR = 1.10; 95% CI 0.80 to 1.52). If we

exclude breast or ovarian cancer, women with zinc levels in the bottom tertile had a similar risk of cancer, compared to those in the top two tertiles (HR = 1.00; 95% CI 0.70 to 1.42). There were too few cancers at other sites to provide site-specific hazard ratios for these.

#### 4. Discussion

Our results demonstrated a modest and non-significant association between a low blood zinc level and an increased risk of ovarian cancer in unaffected *BRCA1* carriers. Initially, unaffected women with blood zinc levels > 5797 µg/L exhibited a twofold reduction in the risk of ovarian cancer compared to women with blood zinc levels ≤ 5797 (HR = 0.51 95% CI: 0.24–1.09), although this did not reach statistical significance ( $p = 0.08$ ). There was no association between zinc levels and breast cancer or other cancers.

Zinc serves as a critical cofactor for enzymatic activities such as dehydrogenases, peptidases, and zinc finger domains. Zinc is involved in a number of reactions necessary for the proper functioning of the human body (Table 4).

**Table 4.** The effect of zinc on carcinogenesis.

| Essential Component   | Zinc Is Crucial for More than 900 Transcription Factors (i.e., ZF DNA-Binding Domains), 300 Enzymes (i.e., CuZnSOD; DNA Repair Proteins) [42]  |
|---|--|
| Enzymatic functions, impact on DNA, gene expression, nucleic acid synthesis, and genome stability | Zinc plays a key role in the activity of many enzymes, including those involved in DNA repair and control of cell growth. Zinc regulates gene expression via ZF transcription factors (DNA repair genes) [43]. Zinc deficiency is associated with the generation of single-strand breaks on DNA and affects repair ability [10]. Both BER and NER systems contain ZFP and other zinc-related proteins [11]. Moreover, affects DNA by being a part of the repair process, chromatin structure, replication, and transcription [11,12] and acts against oxidation DNA damage [10]. |
| Apoptosis   | Caspases are activated by Zn; they are involved in the process of apoptosis.<br>Zn affects a number of signaling pathways (involved in apoptosis), i.e., p53 and heat shock pathways.<br>Zn modulates the ratio between Bcl-2 family proteins and by them regulates apoptosis.   |
| Detoxification  | Metallothionein, a protein binding diverse metal ions (e.g., Cd, Pb, Zn, and Cu), helps regulate metal ion levels in cells, forming stable complexes that aid in eliminating these metals from the body, thus protecting against harmful effects [44]. Additionally, it neutralizes ROS by contributing to cell protection from oxidative stress and preventing damage [45].   |
| Immune response   | The lack of this element may compromise immune responses, potentially contributing to cancer development. It plays a role in the cytolytic activity of T lymphocytes [13].   |
| Antioxidant function  | As part of the CuZnSOD enzyme, it acts as a key defender against ROS attacks. It serves as an antagonist to redox-active transition metals, such as Fe and Cu, preventing the oxidation of sulfhydryl groups in proteins. This protective role extends to sulfhydryl-containing proteins like tubulin and ZFP, as well as alanyl tRNA synthetase, guarding against thiol oxidation and disulfide formation and providing protection against free radicals [6–9].   |
| Regulation of signaling pathways  | Zn <sup>2+</sup> regulates signaling pathways in both directions through among others p38 and regulation of histone acetylation and ZFP. Zinc-deficient cells are unable to maintain normal p53 expression [46,47].  |
| Regulation of inflammation  | Zn <sup>2+</sup> inhibits inflammation through suppression of Nf-kB [14].  |

BER—base excision repair; Cd—cadmium; CuZnSOD—copper–zinc superoxide dismutase; NER—nucleotide excision repair; Pb—lead, ROS—reactive oxygen species, Fe—iron, ZF—zinc finger ZFP—zinc finger protein; Zn—zinc.

The recommended daily value of zinc is 11 mg for men and 8 mg per day for women. Thus far, there has been no suggested blood zinc level; however, the recommended concentration of zinc in serum or plasma typically ranges from 800 to 1200 mcg/L.

Zinc can be absorbed through several pathways, including passive diffusion and absorption in the digestive tract, regulated by transporters [48]. The bioavailability of zinc in the digestive tract increases in the presence of citric acid and decreases in the presence of iron, calcium, phosphorus, fiber, and phytate [49]. Individuals with a vegetable-rich diet may exhibit lower zinc absorption rates. For example, legumes contain a relatively high



amount of zinc (Table 5), but the presence of phytate, which inhibits the absorption of zinc, results in less of this element being supplied to the body than in the case of providing the same amount from animal foods [50].

**Table 5.** The average content of zinc and DV in selected foods with favorable bioabsorption.

| Food   | Zinc Content Per 100 g           | Daily Value               |
|--|----------------------------------|---------------------------|
| Shellfish (Oysters)                                      | 39.3 mg                          | 300–413%                  |
| 1. Alaska King Crab 2. Shrimp, mussels                   | 1. 7.62 mg 2. 1.6 mg             | 1. 69–95% 2. 15–20%       |
| 1. Nuts (i.e., almonds). Seeds 2. Sunflower 3. Hemp      | 1. 5.78 mg 2. 5.29 mg 3. 4.34 mg | 36–63%                    |
| 1. Red meat (beef) 2. Offals 3. Poultry (chicken breast) | 1. 4.79 mg 2. 1.7 mg 3. 0.68 mg  | 1. 38–55% 2. 13–15% 3. 5% |
| 1. Cheese 2. Eggs 3. Milk (1 cup)                        | 1. 3.74 mg 2. and 3. 1 mg        | 1. 30–40% 2. and 3. 5–13% |
| Fish (1. Salmon 2. Flounder/sole)                        | 1. 0.5 mg 2. 0.32 mg             | 3–4%                      |

There have been 18 published prospective studies on the correlation between cancer risk and zinc [5,15–31]. There are numerous publications that demonstrate a correlation between zinc and cancer risk [32–41]. However, these are retrospective papers, and for this reason, they were not analyzed further in our publication.

We found 18 prospective studies about zinc and cancer risk (Table 6). Of these, there were eight papers on colorectal, five on prostate, two on breast, two on pancreatic, one on hepatocellular, one on lung, and one on kidney cancer. Among them, 13 showed a positive correlation between low zinc levels in the blood and cancer risk, but the remaining 7 did not show a statistically significant result. In most studies, the exposure data were based on questionnaire information about intake. The exception is one prospective study [15], in which zinc levels were measured in serum and urine.

**Table 6.** Prospective studies on cancer risk.

| Neo. | Cohort                                 | Follow-Up (Years) | Results  | Other Relevant Findings   | Ref. |
|------|--|-------------------|--|---|------|
| Lu   | Cases (n = 440)<br>Control (n = 1320)  | 4                 | Elevated plasma zinc levels were linked to a decreased risk of lung cancer OR = 0.89 (95% CI: 0.79–0.99)   | Better results were achieved in men [OR = 0.86; 95% CI = 0.74; 0.99]. Zinc levels in individuals who developed cancer had lower plasma zinc levels compared to the healthy cohort (1183.13 vs. 1275.48 $p = 0.019$ ). | [22] |
| Br   | Cases (n = 1186)<br>Control (n = 1186) | 19                | No significant associations were detected between zinc levels, whether measured in serum or obtained from dietary sources prior to diagnosis, and the risk of breast cancer. The adjusted odds ratio (OR) for breast cancer in serum zinc quartile 4 (Q4) compared to quartile 1 (Q1) was 1.09 (95% CI: 0.85–1.41), while for zinc intake, the OR for Q4 versus Q1 was 0.97 (95% CI: 0.77–1.23). | Furthermore, no distinct associations were observed between zinc and any characteristics of breast cancer. The kappa value of 0.025 ( $p = 0.022$ ) indicated poor agreement between serum zinc and zinc intake.      | [19] |
| Br   | Cases (n = 496)<br>Control (n = 496)   | 2                 | High levels of Zn were associated with a reduced risk of breast cancer OR = 0.56 (95% CI: 0.33–0.95; $p = 0.031$ ) for women with zinc levels in the highest tertile in both plasma and urine compared with the lowest. The risk remained consistent regardless of the ER/PR/HER2 status.  |   | [15] |

Table 6. Cont.

| Neo. | Cohort   | Follow-Up (Years) | Results   | Other Relevant Findings   | Ref. |
|------|--|-------------------|---|---|------|
| HCC  | Cases (n = 106)<br>Control (n = 106)   | 6.5               | In the case of hepatocellular carcinoma (HCC), there was a strong inverse relationship observed between the highest and lowest tertiles for zinc levels (OR = 0.36; 95% CI: 0.13–0.98, $p = 0.0123$ ).  | The calculated Cu/Zn ratio demonstrated a positive correlation with HCC (OR = 4.63; 95% CI: 1.41–15.27, $p = 0.0135$ ). Furthermore, each 20 µg/dl increase in circulating zinc was associated with a 45% reduction in HCC risk (OR = 0.55; 95% CI: 0.39–0.78) in model 1 and a 47% reduction (OR = 0.53; 95% CI: 0.33–0.84) in model 2.  | [17] |
| CRC  | Cases:<br>W (n = 498)<br>M (n = 789)<br>Control:<br>W (n = 44,878)<br>M (n = 38,932) | 5                 | The quartile of men with the highest zinc intake had (HR = 0.77; 95% CI: 0.57–0.85) reduced risk of CRC among men.  | However, in multivariate-adjusted models, zinc intake was not significantly associated with CRC risk among men; the coefficients for the highest quartile versus the lowest quartile of zinc intake were HR = 0.77 95% CI: 0.58–1.03 for colorectal cancer, HR = 0.76 95% CI: 0.54–1.07 for colon cancer and HR = 0.80 95% CI: 0.49–1.32 for rectal cancer. In women, there was no significant association between zinc intake and CRC risk in any of the models. | [23] |
| CRC  | Cases:<br>W (n = 192)<br>M (n = 344)<br>Controls<br>W (n = 72,593)<br>M (n = 59,636) | W 15.2<br>M 9.3   | No statistically significant correlation between dietary intake of zinc and the risk of colon cancer.   | The results showed a trend toward lower zinc values (mg/day) in cancer cases compared to controls, but these results were not statistically significant ( $10.4 \pm 1.0$ vs. $10.5 \pm 1.1$ for women and $12.2 \pm 1.3$ vs. $12.3 \pm 1.4$ for men).   | [18] |
| CRC  | Cases (n = 966)<br>Controls (n = 966)  | 9.11              | An inverse association with cancer risk was observed for higher levels of zinc (OR = 0.65; 95% CI: 0.43–0.97; $p = 0.07$ ).   | Copper was also statistically significant, and consequently, the copper–zinc ratio was positively associated with CRC (OR = 1.70; 95% CI: 1.20–2.40; $p = 0.0005$ ).  | [5]  |
| CRC  | Controls (n = 34,708)<br>Cases—proximal (n = 438)<br>Cases—distal (n = 303)          | 15                | High dietary zinc intake may decrease the risk of colon cancer (proximal and distal).<br>Multivariable RR = 0.38 (CI: 0.17–0.74; $p = 0.01$ ) compared referent quartile vs. the highest intake for proximal colon cancer.<br>Zinc intake was also associated with a decreased risk of distal colon cancer (RR = 0.55; CI: 0.30–1.02; $p = 0.03$ ).   | The inverse association with zinc intake was stronger among women who consumed alcohol than among those who did not.  | [24] |
| CRC  | Cases<br>W (n = 1079)<br>M (n = 1035)<br>Cohort<br>W (n = 121,700)<br>M (n = 51,529) | 22                | In comparing the highest quartile (Q4) with the lowest quartile (Q1) of dietary zinc intake, the multivariable relative risks (RRs) were 0.86 (95% CI: 0.73–1.02) for colorectal cancer, 0.92 (95% CI: 0.76–1.11) for colon cancer, and 0.68 (95% CI: 0.47–0.99) for rectal cancer. The notable inverse association observed between dietary zinc intake and the risk of rectal cancer was predominantly influenced by data from women, although the difference in the sex-specific results did not reach statistical significance. |   | [25] |

Table 6. Cont.

| Neo. | Cohort   | Follow-Up (Years)   | Results  | Other Relevant Findings  | Ref. |
|------|--|---|--|--|------|
| CRC  | Cases (n = 990)<br>Cohort<br>(n = 54,208)                                | 13  | There were no significant results for high and low zinc intake among smokers and CRC (HR = 1.38; 95% CI: 1.14–1.68; $p = 0.28$ ). There were also no results for non-smokers, and the effect was even less significant (HR = 1.10; 95% CI: 0.9–1.35).  | A statistically significant association was observed between a low overall intake of vitamin E, selenium, manganese, and zinc, as well as the never use of only selenium and zinc supplements, and a more than 14% increased risk of CRC compared to those with a high intake.   | [26] |
| Pr   | Cases<br>(n = 6980)<br>Controls<br>(n = 47,240)                          | 28.3  | Men who used zinc supplements for 15 years or more had an elevated risk of fatal prostate cancer (HR: 1.91, 95% CI: 1.28–2.85, $p < 0.001$ ) and aggressive prostate cancer (HR: 1.55, 95% CI: 1.03–2.33, $p = 0.004$ ).                               | Moreover, in comparison to individuals who never used zinc supplements, men who consumed more than 75 mg/day of supplemental zinc exhibited an increased risk for lethal prostate cancer (HR: 1.76, 95% CI: 1.16–2.66, $p = 0.001$ ) and aggressive prostate cancer (HR: 1.80, 95% CI: 1.19–2.73, $p = 0.006$ ).                       | [27] |
| Pr   | Cases (n = 1706)<br>Controls<br>(n = 2404)                               | 5 Gr.:<br>1. $\leq 1$<br>2. 1–4<br>3. 5–9<br>4. 10–14<br>5. $\geq 15$ | Using zinc supplements for ten years or longer was associated with a more than twofold increase in the risk of advanced prostate cancer (RR = 2.3, 95% CI: 1.1–5.0) compared with no zinc use.   | The authors concluded that zinc has an adverse effect of zinc on prostate cancer carcinogenesis (OR = 1.9; 95% CI: 1.0–3.6; $p = 0.6–0.8$ ). In these analyses, the (OR = 2.1, 95% CI: 1.1–4.1) for using zinc for $\geq 10$ remained significantly elevated.  | [28] |
| Pr   | Cases<br>(n = 2901, of them<br>advanced 434)<br>Controls<br>(n = 46,974) | 14  | The use of zinc supplements for a duration of 10 years or more in men was associated with a relative risk of 2.37 (95% CI = 1.42–3.95; $p < 0.001$ ).  | The results showed that excessive high-dose supplementation >100 mg/day increased the risk of advanced breast cancer RR = 2.29 (95% CI = 1.42–3.95; $p < 0.001$ ). This study demonstrated that prolonged intake of excessive amounts of zinc supplements may lead to elevated carcinogenic processes.                                 | [29] |
| Pr   | Cases<br>(n = 832, of them<br>advanced 123)<br>Controls<br>(n = 34,410)  | 3.5   | An average 10-year intake of zinc supplementation > 15 mg/day, when compared to non-supplementation, did not show a statistically significant association with an overall reduced risk of prostate cancer (HR = 0.82; 95% CI: 0.58–1.14; $p = 0.44$ ). | Adequate zinc supplementation (>15 mg/day for 10 years) was linked to a decreased risk of advanced prostate cancer (either locally invasive or with distant metastasis, n = 123) compared to no supplementation (HR = 0.34; 95% CI = 0.13–1.09; $p = 0.04$ ). Dietary zinc, however, did not show an association with prostate cancer. | [30] |

Table 6. Cont.

| Neo. | Cohort                                   | Follow-Up (Years) | Results  | Other Relevant Findings  | Ref. |
|------|--|-------------------|--|--|------|
| Pr   | Cases (n = 392)<br>Controls (n = 783)    | 5                 | There was no indication supporting a reverse correlation between serum zinc levels and the risk of prostate cancer. The average serum zinc concentrations showed no significant difference between cases (94.9 µg/dL) and controls (93.9 µg/dL) ( $p = 0.42$ ). Moreover, no association was observed between serum zinc levels and prostate cancer, either in the overall analysis or when considering tumor stage/grade. | However, the authors noted a hint in the results specific to ethnicity suggesting a potential rise in risk. In ethnicity-specific analyses, positive associations were identified in Japanese Americans (odds ratio for the highest vs. the lowest tertile = 2.59, 95% CI: 1.09–6.17) and Latinos (odds ratio = 2.74, 95% CI: 1.05–7.10), while no association was observed in African Americans and whites. | [16] |
| Ren  | Cases (n = 229)<br>Controls (n = 63,028) | 20.1              | Dietary zinc was found to be positively correlated with kidney cancer risk; the highest quartile relative to the lowest (Q1 vs. Q4 HR = 1.74; 95% CI: 1.02–2.97; $p = 0.033$ ).  |  | [31] |
| Pan  | Cases (n = 49)<br>Controls (n = 3970)    | 10                | There were inverse non-significant correlations in this case between the lowest quartile and the sum of the three higher for zinc (HR = 0.91, 95% CI 0.44 to 1.91, $p = 0.81$ ).   |  | [20] |
| Pan  | Cases (n = 184)<br>Controls (n = 77,446) | 7.1               | No association was observed between zinc use and the incidence of pancreatic cancer (Q1 vs. Q3 HR = 0.94; 95% CI: 0.52–1.71; $p = 0.98$ ).   |  | [21] |

Br—breast cancer; CRC—colorectal cancer; Gr—groups; HCC—hepatocellular cancer; M—men; Neo—malignant neoplasm; Lu—lung; Pan—pancreas; Pr—prostate; Ref.—reference; Ren—kidney; W—women.

In another study [15], in addition to the association with zinc and copper levels, the strongest correlation was shown between the highest quartile Cu/Zn ratio in serum and urine (OR, 2.37; 95% CI, 1.32–4.25). Even for serum alone, the ratio was better than for each micronutrient separately (OR—1.75; 95% CI: 1.21–2.54). Elevated copper and low zinc levels are the most common trace metal imbalances encountered in the human body [51].

Zinc interacts with the human body through a variety of mechanisms, which are crucial for its proper functioning. This is, for example, evidenced by the fact that metalloprotease activity mediates every stage from (ovarian) tumor formation to metastatic implantation [52].

The results of this study have several potential clinical implications. If confirmed, the evaluation of zinc levels and the levels of other microelements in the blood of BRCA1 carriers may be used as a marker of the presence of early cancers and as a risk factor for later cancer development. This information is potentially relevant for BRCA1 mutation carriers who are considering preventive oophorectomies. Notably, our study revealed that around 33% of women demonstrated low zinc values and would be candidates for supplementation. In the future, blood testing and dietary advice and/or supplement use might be used to optimize zinc levels among BRCA1 carriers.

In summary, our study did not prove that blood zinc levels are associated with the risk of cancers among BRCA1 carriers. However, there was a suggestive association between low zinc levels and a higher risk of ovarian cancers. It is important to perform further investigations and observations on a larger number of carriers and with longer follow-ups.

## 5. Conclusions

In summary, our preliminary study does not confirm an association between serum zinc levels and cancer risk in BRCA1 mutation carriers. We hypothesize that zinc levels may predict lower risks of ovarian cancer, but the correlation was not statistically significant. Further studies are needed. Additionally, there is a need to generate results with women with other genetic mutations.

**Author Contributions:** Conceptualization, M.M., A.K., R.D., S.A.N. and J.L.; Methodology, W.M.; Software, W.M., P.B. and A.C.; Validation, R.D. and S.A.N.; Formal analysis, W.M., R.D., P.B. and M.B.; Investigation, M.M.; Resources, K.S., C.C., T.D., J.G., T.H., M.S. (Marek Szwiec), M.S.-N., D.G., A.P., A.J. (Andrzej Jasiewicz), T.K., J.T.-S., E.K.-K., M.S. (Monika Siolek), R.W., R.P. and J.J.-T.; Data curation, W.M., R.D., K.S. and P.S.; Writing—original draft, M.M. and A.K.; Writing—review & editing, M.M., A.K., S.A.N. and J.L.; Visualization, J.L.; Supervision, R.J.S., S.A.N. and J.L.; Funding acquisition, M.R.L., A.J. (Anna Jakubowska) and J.L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This work was supported by the program of Minister of Science and Higher Education “Regional Initiative of Excellence” in years 2019–2022, Grant No. 002/RID/2018/19.

**Institutional Review Board Statement:** This research adhered to the principles of the Declaration of Helsinki and received approval from the Ethics Committee of the Pomeranian Medical University in Szczecin (Poland) under the reference number KB-0012/73/10 (26 June 2010).

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all study participants.

**Data Availability Statement:** Data supporting the results presented are available from the authors upon request from any interested researchers.

**Conflicts of Interest:** Authors W.M., R.D., C.C., J.G., T.H. and J.L. were employed by the company Read-Gene. The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## References

1. Siegel, R.L.; Miller, K.D.; Wagle, N.S.; Jemal, A. Cancer Statistics, 2023. *CA Cancer J. Clin.* **2023**, *73*, 17–48. [\[CrossRef\]](#)
2. Kuchenbaecker, K.B.; Hopper, J.L.; Barnes, D.R.; Phillips, K.-A.; Mooij, T.M.; Roos-Blom, M.-J.; Jervis, S.; van Leeuwen, F.E.; Milne, R.L.; Andrieu, N.; et al. Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JAMA* **2017**, *317*, 2402. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
3. Li, S.; Silvestri, V.; Leslie, G.; Rebbeck, T.R.; Neuhausen, S.L.; Hopper, J.L.; Nielsen, H.R.; Lee, A.; Yang, X.; McGuffog, L.; et al. Cancer Risks Associated with BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants. *J. Clin. Oncol.* **2022**, *40*, 1529–1541. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Dhawan, D.K.; Chadha, V.D. Zinc: A Promising Agent in Dietary Chemoprevention of Cancer. *Indian J. Med. Res.* **2010**, *132*, 676–682. [\[PubMed\]](#)
5. Stepien, M.; Jenab, M.; Freisling, H.; Becker, N.-P.; Czuban, M.; Tjønneland, A.; Olsen, A.; Overvad, K.; Boutron-Ruault, M.-C.; Mancini, F.R.; et al. Pre-Diagnostic Copper and Zinc Biomarkers and Colorectal Cancer Risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Cohort. *Carcinogenesis* **2017**, *38*, 699–707. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
6. Bray, T.M.; Bettger, W.J. The Physiological Role of Zinc as an Antioxidant. *Free Radic. Biol. Med.* **1990**, *8*, 281–291. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
7. Prasad, A.S. Zinc Deficiency. *BMJ* **2003**, *326*, 409–410. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
8. Prasad, A.S.; Kucuk, O. Zinc in Cancer Prevention. *Cancer Metastasis Rev.* **2002**, *21*, 291–295. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
9. Powell, S.R. The Antioxidant Properties of Zinc. *J. Nutr.* **2000**, *130*, 1447S–1454S. [\[CrossRef\]](#)
10. Falchuk, K.H. The Molecular Basis for the Role of Zinc in Developmental Biology. *Mol. Cell. Biochem.* **1998**, *188*, 41–48. [\[CrossRef\]](#)
11. Ho, E.; Courtemanche, C.; Ames, B.N. Zinc Deficiency Induces Oxidative DNA Damage and Increases P53 Expression in Human Lung Fibroblasts. *J. Nutr.* **2003**, *133*, 2543–2548. [\[CrossRef\]](#)
12. Erkekoglu, P.; Giray, B.; Rachidi, W.; Hininger-Favier, I.; Roussel, A.; Favier, A.; Hincal, F. Effects of Di(2-ethylhexyl)Phthalate on Testicular Oxidant/Antioxidant Status in Selenium-deficient and Selenium-supplemented Rats. *Environ. Toxicol.* **2014**, *29*, 98–107. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Soghoian, D.Z.; Streeck, H. Cytolytic CD4+ T Cells in Viral Immunity. *Expert Rev. Vaccines* **2010**, *9*, 1453–1463. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Jarosz, M.; Olbert, M.; Wyszogrodzka, G.; Młyniec, K.; Librowski, T. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Zinc. Zinc-Dependent NF-KB Signaling. *Inflammopharmacology* **2017**, *25*, 11–24. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

15. Pala, V.; Agnoli, C.; Cavalleri, A.; Rinaldi, S.; Orlandi, R.; Segrado, F.; Venturelli, E.; Vinceti, M.; Krogh, V.; Sieri, S. Prediagnostic Levels of Copper and Zinc and Breast Cancer Risk in the ORDET Cohort. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2022**, *31*, 1209–1215. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Park, S.; Wilkens, L.R.; Morris, J.S.; Henderson, B.E.; Kolonel, L.N. Serum Zinc and Prostate Cancer Risk in a Nested Case–Control Study: The Multiethnic Cohort. *Prostate* **2013**, *73*, 261–266. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Stepien, M.; Hughes, D.J.; Hybsier, S.; Bamia, C.; Tjønneland, A.; Overvad, K.; Affret, A.; His, M.; Boutron-Ruault, M.-C.; Katzke, V.; et al. Circulating Copper and Zinc Levels and Risk of Hepatobiliary Cancers in Europeans. *Br. J. Cancer* **2017**, *116*, 688–696. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
18. Ma, X.; Yang, Y.; Li, H.; Zheng, W.; Gao, J.; Zhang, W.; Yang, G.; Shu, X.; Xiang, Y. Dietary Trace Element Intake and Liver Cancer Risk: Results from Two Population-based Cohorts in China. *Int. J. Cancer* **2017**, *140*, 1050–1059. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Bengtsson, Y.; Sandsveden, M.; Borgquist, S.; Manjer, J. Serum Zinc and Dietary Intake of Zinc in Relation to Risk of Different Breast Cancer Subgroups and Serum Levels as a Marker of Intake: A Prospective Nested Case–Control Study. *Breast Cancer Res. Treat.* **2021**, *189*, 571–583. [\[CrossRef\]](#)
20. Banim, P.J.R.; Luben, R.; McTaggart, A.; Welch, A.; Wareham, N.; Khaw, K.-T.; Hart, A.R. Dietary Antioxidants and the Aetiology of Pancreatic Cancer: A Cohort Study Using Data from Food Diaries and Biomarkers. *Gut* **2013**, *62*, 1489–1496. [\[CrossRef\]](#)
21. Han, X.; Li, J.; Brasky, T.M.; Xun, P.; Stevens, J.; White, E.; Gammon, M.D.; He, K. Antioxidant Intake and Pancreatic Cancer Risk. *Cancer* **2013**, *119*, 1314–1320. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Bai, Y.; Wang, G.; Fu, W.; Lu, Y.; Wei, W.; Chen, W.; Wu, X.; Meng, H.; Feng, Y.; Liu, Y.; et al. Circulating Essential Metals and Lung Cancer: Risk Assessment and Potential Molecular Effects. *Environ. Int.* **2019**, *127*, 685–693. [\[CrossRef\]](#)
23. Hara, A.; Sasazuki, S.; Inoue, M.; Iwasaki, M.; Shimazu, T.; Sawada, N.; Yamaji, T.; Takachi, R.; Tsugane, S. Zinc and Heme Iron Intakes and Risk of Colorectal Cancer: A Population-Based Prospective Cohort Study in Japan. *Am. J. Clin. Nutr.* **2012**, *96*, 864–873. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Lee, D.-H.; Anderson, K.E.; Harnack, L.J.; Folsom, A.R.; Jacobs, D.R. Heme Iron, Zinc, Alcohol Consumption, and Colon Cancer: Iowa Women’s Health Study. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **2004**, *96*, 403–407. [\[CrossRef\]](#)
25. Zhang, X.; Giovannucci, E.L.; Smith-Warner, S.A.; Wu, K.; Fuchs, C.S.; Pollak, M.; Willett, W.C.; Ma, J. A Prospective Study of Intakes of Zinc and Heme Iron and Colorectal Cancer Risk in Men and Women. *Cancer Causes Control* **2011**, *22*, 1627–1637. [\[CrossRef\]](#)
26. Hansen, R.D.; Albiéri, V.; Tjønneland, A.; Overvad, K.; Andersen, K.K.; Raaschou-Nielsen, O. Effects of Smoking and Antioxidant Micronutrients on Risk of Colorectal Cancer. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2013**, *11*, 406–415.e3. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
27. Zhang, Y.; Song, M.; Mucci, L.A.; Giovannucci, E.L. Zinc Supplement Use and Risk of Aggressive Prostate Cancer: A 30-Year Follow-up Study. *Eur. J. Epidemiol.* **2022**, *37*, 1251–1260. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
28. Zhang, Y.; Coogan, P.; Palmer, J.R.; Strom, B.L.; Rosenberg, L. Vitamin and Mineral Use and Risk of Prostate Cancer: The Case–Control Surveillance Study. *Cancer Causes Control* **2009**, *20*, 691–698. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
29. Leitzmann, M.F.; Stampfer, M.J.; Wu, K.; Colditz, G.A.; Willett, W.C.; Giovannucci, E.L. Zinc Supplement Use and Risk of Prostate Cancer. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **2003**, *95*, 1004–1007. [\[CrossRef\]](#)
30. Gonzalez, A.; Peters, U.; Lampe, J.W.; White, E. Zinc Intake from Supplements and Diet and Prostate Cancer. *Nutr. Cancer* **2009**, *61*, 206–215. [\[CrossRef\]](#)
31. Wang, Y.; Jafar, T.H.; Jin, A.; Yuan, J.-M.; Koh, W.-P. Dietary Intakes of Trace Elements and the Risk of Kidney Cancer: The Singapore Chinese Health Study. *Nutr. Cancer* **2021**, *73*, 239–245. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Tu, K.; Liu, K.; Wang, Y.; Jiang, Y.; Zhang, C. Association of Dietary Intake of Zinc and Selenium with Breast Cancer Risk: A Case–Control Study in Chinese Women. *Nutrients* **2023**, *15*, 3253. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Li, L.; Gai, X. The Association between Dietary Zinc Intake and Risk of Pancreatic Cancer: A Meta-Analysis. *Biosci. Rep.* **2017**, *37*, BSR20170155. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
34. Białkowska, K.; Marciniak, W.; Muszyńska, M.; Baszuk, P.; Gupta, S.; Jaworska-Bieniek, K.; Sukiennicki, G.; Durda, K.; Gromowski, T.; Prajzandanc, K.; et al. Association of Zinc Level and Polymorphism in MMP-7 Gene with Prostate Cancer in Polish Population. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0201065. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Charoengam, N.; Ponvilawan, B.; Ungprasert, P. Higher Zinc Intake Is Associated with Decreased Risk of Lung Cancer. *J. Evid. Based Med.* **2021**, *14*, 185–187. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
36. Mahabir, S.; Spitz, M.R.; Barrera, S.L.; Beaver, S.H.; Etzel, C.; Forman, M.R. Dietary Zinc, Copper and Selenium, and Risk of Lung Cancer. *Int. J. Cancer* **2007**, *120*, 1108–1115. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Chen, F.; Wang, J.; Chen, J.; Yan, L.; Hu, Z.; Wu, J.; Bao, X.; Lin, L.; Wang, R.; Cai, L.; et al. Serum Copper and Zinc Levels and the Risk of Oral Cancer: A New Insight Based on Large-scale Case–Control Study. *Oral Dis.* **2019**, *25*, 80–86. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
38. Cunzhi, H.; Jiexian, J.; Xianwen, Z.; Jingang, G.; Shumin, Z.; Lili, D. Serum and Tissue Levels of Six Trace Elements and Copper/Zinc Ratio in Patients with Cervical Cancer and Uterine Myoma. *Biol. Trace Elem. Res.* **2003**, *94*, 113–122. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
39. Gallus, S.; Foschi, R.; Negri, E.; Talamini, R.; Franceschi, S.; Montella, M.; Ramazzotti, V.; Tavani, A.; Dal Maso, L.; La Vecchia, C. Dietary Zinc and Prostate Cancer Risk: A Case–Control Study from Italy. *Eur. Urol.* **2007**, *52*, 1052–1057. [\[CrossRef\]](#)
40. Zhou, W.; Park, S.; Liu, G.; Miller, D.P.; Wang, L.L.; Pothier, L.; Wain, J.C.; Lynch, T.J.; Giovannucci, E.; Christiani, D.C. Dietary Iron, Zinc, and Calcium and the Risk of Lung Cancer. *Epidemiology* **2005**, *16*, 772–779. [\[CrossRef\]](#)

41. Wang, Y.; Sun, Z.; Li, A.; Zhang, Y. Association between Serum Zinc Levels and Lung Cancer: A Meta-Analysis of Observational Studies. *World J. Surg. Oncol.* **2019**, *17*, 78. [[CrossRef](#)]
42. Prasad, A.S. Zinc Deficiency in Humans: A Neglected Problem. *J. Am. Coll. Nutr.* **1998**, *17*, 542–543. [[CrossRef](#)]
43. Ho, E. Zinc Deficiency, DNA Damage and Cancer Risk. *J. Nutr. Biochem.* **2004**, *15*, 572–578. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Yu, H.; Zhen, J.; Leng, J.; Cai, L.; Ji, H.; Keller, B.B. Zinc as a Countermeasure for Cadmium Toxicity. *Acta Pharmacol. Sin.* **2021**, *42*, 340–346. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Maret, W. The Function of Zinc Metallothionein: A Link between Cellular Zinc and Redox State. *J. Nutr.* **2000**, *130*, 1455S–1458S. [[CrossRef](#)]
46. Ho, E.; Ames, B.N. Low Intracellular Zinc Induces Oxidative DNA Damage, Disrupts P53, NFκB, and AP1 DNA Binding, and Affects DNA Repair in a Rat Glioma Cell Line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2002**, *99*, 16770–16775. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Hollstein, M.; Sidransky, D.; Vogelstein, B.; Harris, C.C. P53 Mutations in Human Cancers. *Science* **1991**, *253*, 49–53. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Roney, N.; Osier, M.; Paikoff, S.J.; Smith, C.V.; Williams, M.; De Rosa, C.T. ATSDR Evaluation of the Health Effects of Zinc and Relevance to Public Health. *Toxicol. Ind. Health* **2006**, *22*, 423–493. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Cousins, R.J. Absorption, Transport, and Hepatic Metabolism of Copper and Zinc: Special Reference to Metallothionein and Ceruloplasmin. *Physiol. Rev.* **1985**, *65*, 238–309. [[CrossRef](#)]
50. Petroski, W.; Minich, D.M. Is There Such a Thing as “Anti-Nutrients”? A Narrative Review of Perceived Problematic Plant Compounds. *Nutrients* **2020**, *12*, 2929. [[CrossRef](#)]
51. Khan-Mayberry, N. (Ed.) *Heavy Metal Toxicity*; The International Open Access Journal of Clinical Toxicology: Houston, TX, USA, 2011.
52. Carey, P.; Low, E.; Harper, E.; Stack, M.S. Metalloproteinases in Ovarian Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2021**, *22*, 3403. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## **10.2. Publikacja nr 2:**

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers” Milena Matuszczak, Adam Kiljańczyk, Wojciech Marciniak, Róża Derkacz, Klaudia Stempa, Piotr Baszuk, Marta Bryśkiewicz, Cezary Cybulski, Tadeusz Dębniak, Jacek Gronwald, Tomasz Huzarski, Marcin R. Lener, Anna Jakubowska, Marek Szwiec, Małgorzata Stawicka-Nielacna, Dariusz Godlewski, Artur Prusaczyk, Andrzej Jasiewicz, Tomasz Kluz, Joanna Tomiczek-Szwiec, Ewa Kilar- Kobierzycka, Monika Siołek, Rafał Wiśniowski, Renata Posmyk, Joanna Jarkiewicz-Tretyn, Rodney J. Scott, Jan Lubiński, Antioxidants. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>**





## Article

# Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers

Milena Matuszczak <sup>1</sup>, Adam Kiljańczyk <sup>1</sup>, Wojciech Marciniak <sup>2</sup>, Róża Derkacz <sup>2</sup>, Klaudia Stempa <sup>1</sup>, Piotr Baszuk <sup>1,2</sup>, Marta Bryskiewicz <sup>1,2</sup>, Cezary Cybulski <sup>1,2</sup>, Tadeusz Dębniak <sup>1,2</sup>, Jacek Gronwald <sup>1,2</sup>, Tomasz Huzarski <sup>1,2,3</sup>, Marcin Lener <sup>1</sup>, Anna Jakubowska <sup>1,4</sup>, Marek Szwiec <sup>5</sup>, Małgorzata Stawicka-Nielacna <sup>3</sup>, Dariusz Godlewski <sup>6</sup>, Artur Prusaczyk <sup>7</sup>, Andrzej Jasiewicz <sup>8</sup>, Tomasz Kluz <sup>9</sup>, Joanna Tomiczek-Szwiec <sup>10</sup>, Ewa Kilar-Kobierzycka <sup>11</sup>, Monika Siolek <sup>12</sup>, Rafał Wiśniowski <sup>13</sup>, Renata Posmyk <sup>14</sup>, Joanna Jarkiewicz-Tretyn <sup>15</sup>, Rodney Scott <sup>16</sup> and Jan Lubiński <sup>1,2,\*</sup>

- <sup>1</sup> Department of Genetics and Pathology, International Hereditary Cancer Center, Pomeranian Medical University, ul. Unii Lubelskiej 1, 71-252 Szczecin, Poland; milena.matuszczak@pum.edu.pl (M.M.); adam.kiljanczyk@pum.edu.pl (A.K.); klaudia.stempa@pum.edu.pl (K.S.); piotr.baszuk@pum.edu.pl (P.B.); marta.bryskiewicz@pum.edu.pl (M.B.); cezary.cybulski@pum.edu.pl (C.C.); tadeusz.dębniak@pum.edu.pl (T.D.); jacek.gronwald@pum.edu.pl (J.G.); tomasz.huzarski@pum.edu.pl (T.H.); marcin.lener@pum.edu.pl (M.L.); anna.jakubowska@pum.edu.pl (A.J.)
  - <sup>2</sup> Read-Gene, Grzeczpnica, ul. Alabastrowa 8, 72-003 Dobra, Poland; wojciech.marciniak@read-gene.com (W.M.); roza.derkacz@read-gene.com (R.D.)
  - <sup>3</sup> Department of Clinical Genetics and Pathology, University of Zielona Góra, ul. Zyty 28, 65-046 Zielona Góra, Poland; gosiastawicka33@gmail.com
  - <sup>4</sup> Independent Laboratory of Molecular Biology and Genetic Diagnostics, Pomeranian Medical University in Szczecin, 70-204 Szczecin, Poland
  - <sup>5</sup> Department of Surgery and Oncology, University of Zielona Góra, Zyty 28, 65-046 Zielona Góra, Poland; szwiec72@gmail.com
  - <sup>6</sup> OPEN, Kazimierza Wielkiego 24 Str., 61-863 Poznań, Poland; godlewski.open@wp.pl
  - <sup>7</sup> Medical and Diagnostic Center, 08-110 Siedlce, Poland; artur.prusaczyk@centrum.med.pl
  - <sup>8</sup> Genetic Counseling Center, Subcarpathian Oncological Hospital, 18 Bielawskiego St, 36-200 Brzozów, Poland; ajasiewicz@yahoo.com
  - <sup>9</sup> Department of Gynecology, Gynecology Oncology and Obstetrics, Institute of Medical Sciences, Medical College, Rzeszow University, Rejtana 16c, 35-959 Rzeszow, Poland; jtkluz@interia.pl
  - <sup>10</sup> Department of Histology, Department of Biology and Genetics, Faculty of Medicine, University of Opole, 45-040 Opole, Poland; tomiczek.onk@gmail.com
  - <sup>11</sup> Department of Oncology, District Specialist Hospital, Leśna 27-29 St, 58-100 Świdnica, Poland; ewakilar@post.pl
  - <sup>12</sup> Holycross Cancer Center, Artwińskiego 3 St, 25-734 Kielce, Poland; monika.siolek@wp.pl
  - <sup>13</sup> Regional Oncology Hospital, Wyzwolenia 18 St, 43-300 Bielsko Biala, Poland; wiraf@poczta.onet.pl
  - <sup>14</sup> Department of Clinical Genetics, Medical University in Białystok, 15-089 Białystok, Poland; rposmyk@gmail.com
  - <sup>15</sup> Non-Public Health Care Centre, Cancer Genetics Laboratory, 87-100 Toruń, Poland; jarkiewicztretyn@poczta.onet.pl
  - <sup>16</sup> Medical Genetics, Hunter Medical Research Institute, Priority Research Centre for Cancer Research, Innovation and Translation, School of Biomedical Sciences and Pharmacy, Faculty of Health and Medicine, University of Newcastle; Pathology North, John Hunter Hospital, King and Auckland Streets, Newcastle, NSW 2300, Australia; rodney.scott@newcastle.edu.au
- \* Correspondence: jan.lubinski@pum.edu.pl



Citation: Matuszczak, M.; Kiljańczyk, A.; Marciniak, W.; Derkacz, R.; Stempa, K.; Baszuk, P.; Bryskiewicz, M.; Cybulski, C.; Dębniak, T.; Gronwald, J.; et al. Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers. *Antioxidants* 2024, 13, 841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Academic Editor: Hugo Pequeno Monteiro

Received: 5 June 2024  
Revised: 1 July 2024  
Accepted: 12 July 2024  
Published: 14 July 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

**Abstract:** Pathogenic mutations in BRCA1 (BRest CAncer gene 1) confer high risks of both breast (up to 70%) and ovarian (up to 40%) cancers. Zinc (Zn) and copper (Cu) are essential for various physiological functions, including antioxidant reactions. Their balance, reflected in the Zn/Cu ratio, plays a crucial role in maintaining redox homeostasis, which is vital for cancer prevention. This study examines the antioxidant properties of Zn and Cu, specifically focusing on the blood Zn/Cu ratio as a potential marker for cancer risk among BRCA1 mutation carriers. The study cohort consisted of 989 initially unaffected women, followed up for 7.5 years. Blood samples were analyzed using inductively coupled plasma mass spectrometry. Although individual Zn and Cu

levels did not significantly correlate with overall cancer risk, those women with a Zn/Cu ratio above 6.38 experienced a significantly lower cancer risk than women with a ratio below this cut-off point. This suggests that the Zn/Cu ratio may be a valuable biomarker for cancer prevention in this high-risk group. Given the increased cancer risk in BRCA1 mutation carriers, optimizing Zn and Cu levels through dietary and active interventions could provide a preventive strategy.

**Keywords:** zinc; copper; blood levels; BRCA1; BRCA1 mutation; germline mutation; cancer risk; breast cancer; ovarian cancer; prospective cohort; modifiers

## 1. Introduction

The BRCA1 gene plays a critical role in various physiological processes, including the cell cycle and gene transcription [1] regulation, apoptosis [2], repair of double-strand DNA breaks (DSBs), maintaining genomic stability, and protecting, repairing, and restarting stalled and damaged replication forks (independently of DSB repair) [3]. Additionally, BRCA1 protects stressed replication forks from degradation by stabilizing RAD51 nucleofilaments [4].

Tumors in patients with BRCA1 mutations typically exhibit a loss of heterozygosity (LOH) or other inactivating somatic alterations of the wild-type copy [5]. Mutations in the BRCA1 gene often affect one of the two essential domains, RING or BRCT, necessary for homologous recombination (HR), causing HR deficiency. This disrupts the repair of DSBs, leading to genomic instability, which drives oncogenesis and cancer proliferation. BRCA1-mutated tumors rely on alternative repair mechanisms due to impaired HR [6].

Women with BRCA1 mutations have an increased lifetime risk of various cancers, including breast cancer (up to 70%) and ovarian cancer (up to 40%) [7]. Additionally, there is an increased risk of developing a second primary breast cancer within 10 and 20 years by 20–30% and 40–50%, respectively [7]. The risk for esophageal, pancreatic, and stomach cancers is also approximately three times higher compared to the general population (RR = 2.9, RR = 3.34, and RR = 3.69, respectively) [8–10]. An increased risk of colorectal cancer before age 50 has also been observed [11].

Further understanding of the underlying mechanisms of cancer development among BRCA1 carriers may provide valuable insights into modifiable determinants and prevention strategies.

Besides the influence of inherited mutations on the incidence of cancer, women with a pathogenic BRCA1 mutation have various non-genetic modifiable factors. These factors include age, family history, breastfeeding [12], prophylactic procedures (salpingo-oophorectomy, mastectomy [13], and tubal ligation [12,14]), hormone (such as contraceptives) [12,15] or replacement therapy, tamoxifen [16], late age at menarche [17] and menopause [18], fertility treatment [19], exposure to radiation, chronic infections and inflammations [20], and lifestyle habits (like alcohol, coffee consumption [21], smoking, physical activity, dietary energy intake [22], BMI [23], and dietary components (variety of vegetables and fruits [24], including elements [25–27])).

Among the elements, we can distinguish zinc and copper. Zinc's anticancer properties are generally attributed to its antioxidant capabilities and its role in shielding cells from oxidative stress. It plays a crucial role in regulating essential processes involved in cancer progression, such as DNA repair, gene expression, and programmed cell death [27]. Copper remains vital for cellular metabolism, participating in various physiological functions, including antioxidant reactions and mitochondrial respiratory chain activity. In the discussion of this paper, we further describe the antioxidant properties of zinc and copper and the potentially harmful effects of deficiency and excess, which may be involved in tumorigenesis. The zinc-to-copper ratio is associated with oxidative stress, inflammation, and hormones [28,29]. In addition, the ratio of zinc to copper correlates with the modulation of immune defense, growth stimuli, and a response to stress. The Zn/Cu ratio is also

presumed to be associated with the body's repair attempts in old age [29]. The levels of Zn and Cu are tightly controlled by compensatory mechanisms designed to maintain their stability within specific ranges of nutritional intake. Studies published to date indicate that a form of redox balance exists between zinc and copper, which is reflected in the ratio of these elements.

The study of zinc and copper ratios in the blood has been ongoing for over 50 years [30]. Previous research has evaluated blood/serum levels of zinc and copper in a prospective manner concerning cancer risk [31,32] and survival [33,34]. Prospective studies on cancer risk using zinc and copper status and their ratio in the blood are sparse in current literature. In the literature, we identified three prospective studies that measured blood levels of zinc and copper and their ratio to evaluate cancer risk. All of these studies [31,32,35] were case-control studies conducted within a large prospective multicenter cohort (EPIC), with one specifically investigating breast cancer risk [35]. To the best of our knowledge, there are no prospective studies examining the BRCA1 Zn/Cu ratio and its association with cancer risk. This gap in research has encouraged us to conduct a prospective study on BRCA1 mutation carriers to determine if the Zn/Cu ratio can be a useful preventive biomarker in this population.

## 2. Materials and Methods

The study subjects were 989 initially unaffected adult women who received genetic counseling and testing between 2011 and 2017 at the Clinical Hospitals of the Pomeranian Medical University in Szczecin, Poland, or at associated hospitals or outpatient clinics. Patients were seen at these facilities for the period specified and were enrolled in the study. At the first study visit, a fasting blood sample was collected from each study participant to be used for genetic testing for BRCA1 mutations. For analysis, 10 mL of peripheral blood was collected into a vacutainer tube containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) from all study participants. All blood samples were collected between 8 a.m. and 2 p.m. and stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis.

Participants were included in this study if a deleterious BRCA1 variant was detected. Medical charts were reviewed for date of diagnosis, age at enrollment ( $<50/\geq 50$ ), ovary removal (yes/no), smoking status (ever/never), contraceptive use (ever/never), diabetes (yes/no), dietary supplements (ever/never), hormonal therapy (ever/never), and BMI ( $<18.5/18.5\text{--}24.9/25.0\text{--}29.9/\geq 30.0$ ).

This study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration and with the consent of the Ethics Committee of the Pomeranian Medical University in Szczecin under the number KB-0012/73/10 on 21 June 2010. All participants provided written informed consent.

### 2.1. Measurement of Blood Zinc and Copper Level

The blood samples were obtained from fasting individuals through venipuncture using the Vacutainer<sup>®</sup> System (BD #368381, Plymouth, UK). Blood was carefully divided into new cryovials and then frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until analysis.

The elemental composition of the samples was determined using the inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) technique with the NexION 350D instrument (PerkinElmer, Norfolk, VA, USA). The KED (Kinetic Energy Discrimination) mode was employed for element determination, and rhodium was used as an internal standard to compensate for instrument drift and matrix effects. Detailed information regarding the specific parameters of the NexION 350D instrument used in the measurements can be provided upon request. During analysis, the blood samples were diluted 40-fold with a blank reagent (70  $\mu\text{L}$  of blood: 2730  $\mu\text{L}$  of buffer).

The blank reagent used consisted of high-purity water ( $>18\text{ M}\Omega$ ), TMAH (AlfaAesar, Kandel, Germany), Triton X-100 (PerkinElmer, Shelton, CT, USA), EDTA (Merck, Darmstadt, Germany), and ethyl alcohol (Merck, Darmstadt, Germany).

Calibration curve standards were prepared by diluting the stock solution of 1000 µg/mL zinc and copper Standard (PerkinElmer Pure Plus, Shelton, CT, USA) with the blank reagent. The calibration method used was matrix-matched, and the correlation coefficients for the calibration curve were always greater than 0.999.

The accuracy and precision of the measurements were evaluated using certified reference materials (CRM): ClinChek® Plasmonorm Whole Blood Level 1 (Recipe, Munich, Germany) and Seronorm Whole Blood Level 2 (Sero, Norway). Technical details, plasma operating settings, and mass spectrometer acquisition parameters can be provided upon request. The testing laboratory participates in an independent external quality assessment scheme, QMEQAS (Quebec Multielement External Quality Assessment Scheme), organized by the Institut National de Santé Publique du Québec.

## 2.2. Statistical Analysis

All study participants were assigned to one of three categories (tertiles) depending on their zinc and copper levels. Patients were followed from the date of blood draw until the development of cancer or the date of the last follow-up. To estimate the hazard ratios (HRs) for cancer risk according to the zinc and copper tertile, univariable and multivariable Cox proportional hazards regression analysis was performed. The reference levels for zinc and copper were taken as the lowest tertile. In the multivariable models, the following variables were taken into account: zinc and copper level (tertile), age at blood draw (<50 vs. ≥50), oral contraceptive use (yes/no), hormone replacement therapy use (yes/no), smoking history (yes/no), oophorectomy (yes/no), and BMI (<18.5/18.5–24.9/25.0–29.9/≥30.0). Due to missing data, 84 patients were excluded from the statistical analysis.

All statistical analyses were performed using the R statistical environment (R: A Language and Environment for Statistical Computing, Vienna, Austria 2023).

## 3. Results

The study group consisted of 989 women with a *BRCA1* mutation. Among our cohort, there were 559 women with c.5266dupC, n = 250 with c.181T/G, n = 50 with c.4035delA, n = 18 with c.3700\_3704delGTAAA, n = 14 with c.1687C > T, n = 12 with c.5251C > T, n = 9 with c.66\_67delAG (c.68\_69delAG), and n = 9 with c.676delT; 68 women had other rarer mutations. The women were unaffected at the time of inclusion in the study. The mean age of enrollment (blood draw) was 44.0 years. The patients were followed up for an average of 7.52 years, during which time 173 new cancers occurred in various organs (121 cases of breast cancers, 29 cases of ovarian cancers, and 23 cancers at other sites). The characteristics of the study group are shown in Table 1.

A total of 573 of the women had a risk-reducing oophorectomy at a mean age of 45.2 years. A total of 204 of the women had the oophorectomy prior to the blood draw and 369 women had the oophorectomy during the follow-up period.

In the study group, we compared the results of zinc, copper, and the zinc-to-copper ratio using the calculated cut-off point (Figure S1 Supplementary Materials).

The associations between blood zinc levels and cancer risk in *BRCA1* mutation carriers, which we described in an earlier publication [27], did not show a statistically significant reduction in the risk of any of the cancers; we observed tendencies, although not statistically significant, for ovarian and breast cancers.

Similarly, outcomes of the analysis of copper levels in the blood showed a tendency to reduce the risk of cancer with decreasing copper values (<863.33). However, the obtained results were not statistically significant (Tables S1–S3 in Supplementary Materials).

We observed that the value of their ratio after crossing a certain value became harmful (Figure 1). Our observation showed that in the studied cohort of women, this established cut-off point was 6.38. Values below this cut-off point were unfavorable and were associated with an increased risk of cancer.

**Table 1.** Group characteristics.

| <b>N = 989</b>   |              |
|--|--------------|
| <b>Age at enrollment</b>                               |              |
| <50 years  | 775 (78.36%) |
| ≥50 years  | 214 (21.64%) |
| <b>Smoking</b>   |              |
| never  | 720 (72.80%) |
| ever   | 264 (26.69%) |
| missing data   | 5 (0.51%)    |
| <b>Hormonal therapy</b>                                |              |
| never  | 720 (72.80%) |
| ever   | 263 (26.59%) |
| missing data   | 6 (0.61%)    |
| <b>Oophorectomy</b>                                    |              |
| no   | 413 (41.76%) |
| yes  | 576 (58.24%) |
| missing data   | 0 (0.00%)    |
| <b>Oral Contraceptive use</b>                          |              |
| never  | 501 (50.66%) |
| ever   | 481 (48.64%) |
| missing data   | 7 (0.70%)    |
| <b>Diabetes</b>  |              |
| no   | 880 (88.98%) |
| yes  | 62 (6.27%)   |
| missing data   | 47 (4.75%)   |
| <b>Body Mass Index (kg/m<sup>2</sup>)</b>              |              |
| <18.5  | 56 (5.66%)   |
| 18.5–24.9  | 553 (55.92%) |
| 25.0–29.9  | 237 (23.96%) |
| ≥30.0  | 95 (9.61%)   |
| missing data   | 48 (4.85%)   |
| <b>Dietary supplements usage</b>                       |              |
| never  | 500 (50.56%) |
| ever   | 489 (49.44%) |
| <b>New cancer site (n = 174) (by the first cancer)</b> |              |
| breast   | 122 (70.11%) |
| ovarian  | 29 (16.67%)  |
| bladder  | 2 (1.15%)    |
| cervix   | 3 (1.72%)    |
| colon  | 2 (1.15%)    |
| kidney   | 1 (0.57%)    |
| leukemia   | 2 (1.15%)    |
| lung   | 3 (1.72%)    |
| pancreas   | 1 (0.57%)    |
| salivary gland   | 1 (0.57%)    |
| sarcoma  | 1 (0.57%)    |
| site unknown   | 1 (0.57%)    |
| skin   | 1 (0.57%)    |
| thyroid  | 3 (1.72%)    |
| urothelial   | 1 (0.57%)    |
| abdomen-CSU  | 1 (0.57%)    |

When we divided the group by using a cut-off point = 6.38, we achieved an almost 1.5-fold statistically significant reduction in the risk of any cancer (HR = 1.48; CI = 1.07–2.04;  $p = 0.018$ ) (Table 2).

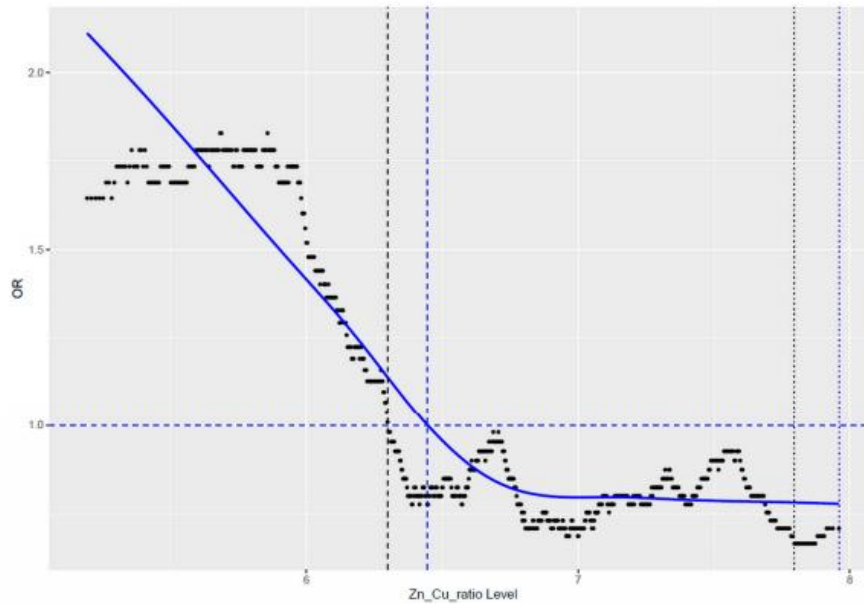


Figure 1. Correlation of cancer risk with the ratio value of zinc-to-copper.

Table 2. Incidence of cancers with different organ localization in initially unaffected BRCA1 mutation carriers according to zinc-to-copper ratio values.

| Characteristic                      | New Cancer Frequency          |                         |                         | New Cancer Univariable COX Regression |                     |         | New Cancer Multivariable COX Regression |                     |         |
|-------------------------------------|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------------------|---------------------|---------|---|---------------------|---------|
|                                     | Overall, N = 914 <sup>1</sup> | 0, N = 763 <sup>1</sup> | 1, N = 151 <sup>1</sup> | HR <sup>2</sup>                       | 95% CI <sup>2</sup> | p-Value | HR <sup>2</sup>                         | 95% CI <sup>2</sup> | p-Value |
| <b>Zn/Cu ratio</b>                  |                               |                         |                         |                                       |                     |         |   |                     |         |
| II (reference): 6.38–16.03 (7.47)   | 540 (59%)                     | 467 (61%)               | 73 (48%)                | —                                     | —                   | —       | —                                       | —                   | —       |
| I: 0.00–6.37 (5.26)                 | 374 (41%)                     | 296 (39%)               | 78 (52%)                | 1.53                                  | 1.11, 2.11          | 0.009   | 1.48                                    | 1.07, 2.05          | 0.017   |
| <b>Year of birth</b>                |                               |                         |                         |                                       |                     |         |   |                     |         |
| ≤1965                               | 233 (25%)                     | 181 (24%)               | 52 (34%)                | —                                     | —                   | —       | —                                       | —                   | —       |
| >1985                               | 136 (15%)                     | 129 (17%)               | 7 (4.6%)                | 0.27                                  | 0.12, 0.59          | 0.001   | 0.27                                    | 0.09, 0.85          | 0.025   |
| 1965–1975                           | 228 (25%)                     | 188 (25%)               | 40 (26%)                | 0.79                                  | 0.52, 1.19          | 0.3     | 0.88                                    | 0.44, 1.78          | 0.7     |
| 1975–1985                           | 317 (35%)                     | 265 (35%)               | 52 (34%)                | 0.76                                  | 0.52, 1.11          | 0.2     | 0.80                                    | 0.33, 1.95          | 0.6     |
| <b>Age of blood draw</b>            |                               |                         |                         |                                       |                     |         |   |                     |         |
| ≤40                                 | 548 (60%)                     | 471 (62%)               | 77 (51%)                | —                                     | —                   | —       | —                                       | —                   | —       |
| >50                                 | 175 (19%)                     | 135 (18%)               | 40 (26%)                | 1.57                                  | 1.07, 2.30          | 0.022   | 1.20                                    | 0.49, 2.95          | 0.7     |
| 40–50                               | 191 (21%)                     | 157 (21%)               | 34 (23%)                | 1.25                                  | 0.84, 1.88          | 0.3     | 1.00                                    | 0.54, 1.88          | >0.9    |
| <b>Oral contraception</b>           |                               |                         |                         |                                       |                     |         |   |                     |         |
| no                                  | 454 (50%)                     | 378 (50%)               | 76 (50%)                | —                                     | —                   | —       | —                                       | —                   | —       |
| yes                                 | 460 (50%)                     | 385 (50%)               | 75 (50%)                | 0.97                                  | 0.70, 1.33          | 0.8     | 1.08                                    | 0.76, 1.53          | 0.7     |
| <b>Hormonal replacement therapy</b> |                               |                         |                         |                                       |                     |         |   |                     |         |
| no                                  | 659 (72%)                     | 547 (72%)               | 112 (74%)               | —                                     | —                   | —       | —                                       | —                   | —       |
| yes                                 | 255 (28%)                     | 216 (28%)               | 39 (26%)                | 0.78                                  | 0.54, 1.12          | 0.2     | 0.68                                    | 0.46, 1.00          | 0.050   |
| <b>Smoker</b>                       |                               |                         |                         |                                       |                     |         |   |                     |         |
| Never                               | 517 (57%)                     | 444 (58%)               | 73 (48%)                | —                                     | —                   | —       | —                                       | —                   | —       |
| Current                             | 207 (23%)                     | 168 (22%)               | 39 (26%)                | 1.39                                  | 0.94, 2.05          | 0.10    | 1.34                                    | 0.91, 1.99          | 0.14    |
| Former                              | 190 (21%)                     | 151 (20%)               | 39 (26%)                | 1.48                                  | 1.00, 2.18          | 0.050   | 1.41                                    | 0.95, 2.08          | 0.087   |
| <b>BMI</b>                          |                               |                         |                         |                                       |                     |         |   |                     |         |
| <18.5                               | 539 (59%)                     | 455 (60%)               | 84 (56%)                | —                                     | —                   | —       | —                                       | —                   | —       |
| 18.5–25.0 (reference)               | 54 (5.9%)                     | 44 (5.8%)               | 10 (6.6%)               | 1.18                                  | 0.61, 2.26          | 0.6     | 1.30                                    | 0.67, 2.52          | 0.4     |
| ≥30.0                               | 92 (10%)                      | 75 (9.8%)               | 17 (11%)                | 1.29                                  | 0.77, 2.18          | 0.3     | 1.04                                    | 0.60, 1.78          | 0.9     |
| 25.0–30.0                           | 229 (25%)                     | 189 (25%)               | 40 (26%)                | 1.12                                  | 0.77, 1.64          | 0.5     | 0.96                                    | 0.65, 1.43          | 0.8     |
| <b>Adnexectomy</b>                  |                               |                         |                         |                                       |                     |         |   |                     |         |
| no                                  | 423 (46%)                     | 331 (43%)               | 92 (61%)                | —                                     | —                   | —       | —                                       | —                   | —       |
| yes                                 | 491 (54%)                     | 432 (57%)               | 59 (39%)                | —                                     | —                   | —       | —                                       | —                   | —       |

<sup>1</sup> n (%). <sup>2</sup> HR = Hazard Ratio, CI = Confidence Interval.

The tendency, although not statistically significant, was also present for breast cancer and was associated with a more than 1.3-fold increased risk of breast cancer in the group of women who had a Zn/Cu ratio value of less than 6.38 (HR = 1.31; CI = 0.90–1.93;  $p = 0.2$ ) (Table S4 in Supplementary Material).

The most pronounced, more than 1.75-fold, reduction of cancer risk was observed in ovarian cancer, but this result was not statistically significant (HR = 1.78; CI = 0.77–4.11;  $p = 0.2$ ) (Table S5 in Supplementary Material).

#### 4. Discussion

Essential elements play a crucial role in maintaining the body's normal functions, including anti-cancer protective mechanisms. Zinc and copper have been recognized as influential in the occurrence of cancer. Understanding these influences is particularly important for individuals with a heightened risk of cancer, such as BRCA1 mutation carriers, who face a significantly increased lifetime risk of breast (up to 70%) and ovarian (up to 40%) cancer. Thus, gaining insights into the factors influencing the remaining 30% and 60% risks, respectively, for these malignancies is crucial.

Our earlier research, despite not demonstrating statistically significant reductions in cancer risk associated with blood zinc levels in BRCA1 mutation carriers, indicated trends [27]. Given zinc's recognized antioxidant effects and these observed trends, we conducted further analyses, incorporating additional factors.

Zinc is crucial for maintaining DNA integrity and immune system function, as well as possessing antioxidant properties that help reduce oxidative stress [36]. Its role in inhibiting cell proliferation and inducing apoptosis in cancer cells makes it a valuable component of cancer prevention strategies. Zinc is an essential cofactor for many proteins involved in DNA repair, and its optimal level reduces the risk of further DNA damage accumulation. Zinc affects the activity of enzymes and transcription factors regulating the cell cycle and the function of proteins such as p53, which helps regulate the cell cycle and prevent uncontrolled growth of cancer cells. It also stabilizes chromatin elements and DNA repair proteins, which is key to maintaining genomic stability. Zinc protects cells from damage caused by reactive oxygen species (ROS), reducing oxidative stress and decreasing the risk of cancer development. Additionally, it is essential for the function of pro-apoptotic proteins, which helps eliminate damaged cells that could lead to cancer formation. Studies show that zinc supplementation has chemopreventive effects in the case of cancers. This might be due to reduced inflammation and oxidative stress in patients who supplement zinc [37–39].

The results obtained in our study showed that there is a tendency (not statistically significant) of a potential benefit of maintaining low (<863.33) copper levels in BRCA1 mutation carriers. Copper is an essential element, but like a double-edged sword, both elevated and decreased copper levels can pose risks, potentially exacerbating cancer development. Copper showcases both advantageous (antioxidant) and harmful (pro-oxidant) effects on cellular processes.

Copper exhibits several antioxidant properties critical for maintaining cellular health. Firstly, copper serves as an essential cofactor for superoxide dismutase (SOD), an enzyme that catalyzes the conversion of superoxide radicals into oxygen and hydrogen peroxide, thereby reducing oxidative stress in cells [40]. Additionally, copper is necessary for the synthesis of ceruloplasmin, a protein that not only scavenges free radicals but also facilitates the transport of copper in the bloodstream [41].

Furthermore, copper participates in antioxidant pathways that protect lipids from peroxidation, a harmful process where free radicals attack lipid molecules in cell membranes [42]. Another crucial function of copper is its role in maintaining the balance between oxidized and reduced forms of molecules within cells, which is essential for proper cellular function and protection against oxidative damage [43]. Copper is a component of ubiquitous and multifunctional metalloenzymes that facilitate the reduction of molecular oxygen, a process vital for various physiological functions, as indicated in

references [44,45]. These antioxidant properties underscore copper's significance in protecting cells from oxidative damage. The accumulation of copper in cancer cells manifests in two distinct biological traits. On one hand, it can stimulate tumor development by promoting cell proliferation, metastasis, and angiogenesis. On the other hand, it can also induce programmed cell death in tumor cells, thereby impeding tumor progression. In recent years, the terms "cuproplasia" and "cuproptosis" have emerged, explaining to some extent the complex mechanisms of copper involvement in tumorigenesis [39]. Cuproptosis involves mitochondrial copper directly attaching to proteins, leading to post-translational modifications such as lipoylation. This process, through a complex interaction associated with proteotoxic stress, leads to cell death. There is no research evidence to suggest that these processes do not occur in BRCA1 mutation carriers.

Copper plays a crucial role in the anticancer and preventive mechanisms by inhibiting angiogenesis, which is the formation of new blood vessels that tumors rely on for growth [46]. This inhibition is achieved by reducing angiogenic factors like VEGF and FGF. Additionally, copper promotes apoptosis in cancer cells by disrupting copper-dependent enzymes, leading to cell death. By targeting metalloproteins and inhibiting copper-dependent enzymes like LOX [47] and SOD1, copper hinders processes like extracellular matrix remodeling [48]. It also modulates the immune system [49], enhancing its ability to recognize and destroy cancer cells. In addition, copper can impact epigenetic modifications, potentially restoring the expression of tumor suppressor genes and silencing oncogenes. It interferes with the tumor microenvironment by inhibiting Matrix metalloproteinases (MMPs), which are involved in extracellular matrix degradation. Copper inhibits oncogenic pathways like PI3K/Akt and MAPK, which are crucial for cancer cell proliferation.

An imbalance in copper and zinc levels (elevated zinc and/or reduced copper) hinders the antioxidant function of various enzymes [50]. Prolonged oxidative stress could heighten the likelihood of developing breast cancer and impact the initial phases of cancer development and advancement [51,52].

The copper-to-zinc ratio (Cu/Zn ratio) is believed to serve as a more precise predictive indicator compared to individual copper or zinc levels [53]. An imbalance between copper and zinc levels can lead to the overproduction of ROS, which in turn promotes tumorigenesis [54]. Given the sensitivity of mitochondrial DNA to ROS, there may exist a theoretical link between copper and zinc levels and mutations in mitochondrial DNA in cancer cells [55]. A recent comprehensive analysis determined that an elevated Cu/Zn ratio correlates with a heightened risk of breast cancer [56].

The interactions between zinc and copper within the human body are intricate, beginning in the small intestine, where the intake and status of each element can influence the absorption of the other [57]. They are crucial components of copper–zinc SOD (CuZnSOD), pivotal for maintaining DNA stability and integrity to mitigate cancer development.

The literature often highlights the beneficial potential of maintaining an optimal Zn/Cu ratio. However, prospective studies focusing on this ratio in cancer risk are limited. Studies by Stepien et al., based on the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort, revealed significant associations between the Zn/Cu ratio and colorectal cancer [32] and hepatocellular carcinoma risk [31].

The literature's rationale prompted us to investigate the Zn/Cu ratio in our cohort. We observed interdependence between zinc and copper levels, with low Zn often coinciding with Cu deficiency and vice versa. By establishing a cut-off point of 6.38 for the Zn/Cu ratio, we found that ratios below this significantly increased cancer risk, while values equal to or greater than 6.38 represented an optimal range with relatively lower risks.

There is a lack of information in the literature on how catalysts (including SOD1) differ in BRCA1 mutation carriers compared to the general population. However, since the observed correlations between cancer risk and Zn/Cu ratio are similar between the general population and our cohort, we can assume that these mechanisms described above can also be valuable in BRCA1 carriers.



The tumor suppressor gene BRCA1 and its encoded proteins are vital for preserving the integrity of the genome, playing a crucial role in repairing DNA double-strand breaks through homologous recombination [58]. The primary model for cancer development linked to BRCA1 mutations is based on the “two-hit” hypothesis, where one allele is lost, and the other undergoes a loss-of-function mutation [59]. This mechanism forms the basis of the molecular pathogenesis of BRCA1-related cancers, with key factors including genomic instability and oxidative stress [60]. Genomic instability arises from deficiencies in DNA repair caused by BRCA1 mutations, particularly affecting homologous recombination, leading to the accumulation of DNA damage and an increased risk of oncogenic mutations [61]. Additionally, the loss of BRCA1 function is associated with chromosomal aberrations like breaks, fusions, and translocations, further destabilizing the genome [58]. Cells with BRCA1 mutations often exhibit LOH, where the normal BRCA1 allele is lost, resulting in the complete loss of BRCA1 function in these cells [62]. Oxidative stress poses a threat to genomic stability, with BRCA1 playing a crucial role in regulating oxidative stress as a defense mechanism in individuals without pathogenic variants. Mutation carriers are more vulnerable to the effects of ROS and the resulting oxidative DNA damage, contributing to the development of cancer [63]. BRCA1 indirectly influences oxidative stress regulation through the p53 protein, which responds to ROS-induced oxidative stress. BRCA1 activates and stabilizes p53 [64], facilitating the p53-dependent transcription of genes involved in DNA repair. Mutations in BRCA1 disrupt these interactions, reducing the cell’s ability to effectively manage oxidative stress. Furthermore, BRCA1 is essential for cell cycle checkpoints, particularly in response to DNA damage [65]. Acting as an E3 ubiquitin ligase, BRCA1 polyubiquitinates G2/M cell cycle proteins, marking them for degradation and preventing their accumulation [66]. Mutations in BRCA1 allow cells with DNA damage to continue dividing, thereby increasing the risk of cancer development.

Considering these findings, addressing zinc deficiency through dietary changes or supplementation may be advantageous. It is advisable to avoid factors known to elevate copper levels, such as hormone replacement therapy and contraception [67].

Given our patients in the BRCA1 cohort, studies on the efficiency of active interventions aimed at improving the Zn/Cu ratio are strongly justified. While there are promising trials in the literature actively targeting copper reduction, such interventions specifically tailored to women with BRCA1 mutations are currently lacking.

Our study has several limitations that need to be acknowledged. Firstly, the number of BRCA1 mutation carriers included in the study was relatively small, which could limit the generalizability of the findings. Additionally, the patients were selected from cancer genetics outpatient clinics, introducing a potential selection bias as most women were referred due to a positive family history of cancer. This selection criterion may not represent the broader population of BRCA1 mutation carriers. Furthermore, the observation period could have been longer to capture more extended outcomes and trends. Another limitation is the homogeneity of the studied population, which was primarily of a Polish genetic background. This genetic uniformity may not reflect the diversity seen in broader, more varied populations. Therefore, validation studies on additional groups and in various populations are necessary to confirm the findings and ensure their applicability across different genetic backgrounds and demographic settings.

Hence, there is considerable promise in expanded efforts targeting BRCA1, necessitating broader cohort inclusion, active intervention implementation, and clinical trials focusing on prevention by optimizing the Zn/Cu ratio. Furthermore, it is crucial to recognize that this relationship can serve both as a marker and a potential target for intervention.

## 5. Conclusions

There is a need to consider optimization of the levels of both elements, Zn and Cu. It seems to be important in women at genetic risk (BRCA1 carriers) for cancers. The Zn/Cu ratio may be a significant biomarker of cancer risk in this cohort.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/antiox13070841/s1>, Figure S1: Zinc and copper distribution in studied cohort; Table S1: Incidence of cancers with different organ localization in initially unaffected BRCA1 mutation carriers according to blood copper levels; Table S2: Incidence of breast cancers in initially unaffected BRCA1 mutation carriers according to blood zinc levels; Table S3: Incidence of ovarian cancers in initially unaffected BRCA1 mutation carriers according to copper ratio values; Table S4: Incidence of breast cancers in initially unaffected BRCA1 mutation carriers according to zinc to copper ratio values; Table S5: Incidence of ovarian cancers in initially unaffected BRCA1 mutation carriers according to zinc to copper ratio values.

**Author Contributions:** Conceptualization, M.M., A.K., R.S. and J.L.; Methodology, P.B. and J.L.; Software, R.D. and P.B.; Validation, J.L.; Formal analysis, P.B.; Investigation, M.M., A.K. and W.M., P.B. and R.S.; Resources, M.M., K.S., C.C., T.D., J.G., T.H., M.L., A.J. (Anna Jakubowska), M.S., M.S.-N., D.G., A.P., A.J. (Andrzej Jasiewicz), T.K., J.T.-S., E.K.-K., M.S., R.W., R.P., J.J.-T., R.S. and J.L.; Data curation, W.M., R.D., K.S., P.B., M.B., A.J. (Anna Jakubowska) and D.G.; Writing—original draft, M.M. and A.K.; Writing—review & editing, M.M., A.K. and J.L.; Visualization, R.S.; Supervision, R.S. and J.L.; Project administration, M.M. and J.L.; Funding acquisition, M.M., C.C., T.D., J.G., T.H., M.L., M.S., M.S.-N., A.P., A.J. (Andrzej Jasiewicz), T.K., J.T.-S., E.K.-K., M.S., R.W., R.P., J.J.-T. and J.L. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** Program of Minister of Science and Higher Education “Regional Initiative of Excellence” in years 2019–2022 (grant No. 002/RID/2018/19).

**Institutional Review Board Statement:** The study was conducted in accordance with the Helsinki Declaration and with the consent of the Ethics Committee of Pomeranian Medical University in Szczecin under the number KB-0012/73/10 of 21 June 2010.

**Informed Consent Statement:** Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

**Data Availability Statement:** The original contributions presented in the study are included in the article/Supplementary Material, further inquiries can be directed to the corresponding author/s.

**Conflicts of Interest:** Authors W.M., R.D., C.C., J.G., T.H. and J.L. were employed by the company Road-Gene. The remaining authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

## References

1. Gudmundsdottir, K.; Ashworth, A. The Roles of BRCA1 and BRCA2 and Associated Proteins in the Maintenance of Genomic Stability. *Oncogene* **2006**, *25*, 5864–5874. [CrossRef] [PubMed]
2. Yoshida, K.; Miki, Y. Role of BRCA1 and BRCA2 as Regulators of DNA Repair, Transcription, and Cell Cycle in Response to DNA Damage. *Cancer Sci.* **2004**, *95*, 866–871. [CrossRef] [PubMed]
3. Long, D.T.; Joukov, V.; Budzowska, M.; Walter, J.C. BRCA1 Promotes Unloading of the CMG Helicase from a Stalled DNA Replication Fork. *Mol. Cell* **2014**, *56*, 174–185. [CrossRef] [PubMed]
4. Schlacher, K.; Wu, H.; Jasin, M. A Distinct Replication Fork Protection Pathway Connects Fanconi Anemia Tumor Suppressors to RAD51-BRCA1/2. *Cancer Cell* **2012**, *22*, 106–116. [CrossRef] [PubMed]
5. King, T.A.; Li, W.; Brogi, E.; Yee, C.J.; Gemignani, M.L.; Olvera, N.; Levine, D.A.; Norton, L.; Robson, M.E.; Offit, K.; et al. Heterogenic Loss of the Wild-Type BRCA Allele in Human Breast Tumorigenesis. *Ann. Surg. Oncol.* **2007**, *14*, 2510–2518. [CrossRef] [PubMed]
6. Groelly, F.J.; Fawkes, M.; Dagg, R.A.; Blackford, A.N.; Tarsounas, M. Targeting DNA Damage Response Pathways in Cancer. *Nat. Rev. Cancer* **2023**, *23*, 78–94. [CrossRef] [PubMed]
7. Kuchenbaecker, K.B.; Hopper, J.L.; Barnes, D.R.; Phillips, K.-A.; Mooij, T.M.; Roos-Blom, M.-J.; Jervis, S.; van Leeuwen, F.E.; Milne, R.L.; Andrieu, N.; et al. Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JAMA* **2017**, *317*, 2402. [CrossRef]
8. Iqbal, J.; Ragone, A.; Lubinski, J.; Lynch, H.T.; Moller, P.; Ghadirian, P.; Foulkes, W.D.; Armel, S.; Eisen, A.; Neuhausen, S.L.; et al. The Incidence of Pancreatic Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Br. J. Cancer* **2012**, *107*, 2005–2009. [CrossRef] [PubMed]
9. Li, S.; Silvestri, V.; Leslie, G.; Rebbeck, T.R.; Neuhausen, S.L.; Hopper, J.L.; Nielsen, H.R.; Lee, A.; Yang, X.; McGuffog, L.; et al. Cancer Risks Associated With BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants. *J. Clin. Oncol.* **2022**, *40*, 1529–1541. [CrossRef]
10. Moran, A.; O’Hara, C.; Khan, S.; Shack, L.; Woodward, E.; Maher, E.R.; Lalloo, F.; Evans, D.G.R. Risk of Cancer Other than Breast or Ovarian in Individuals with BRCA1 and BRCA2 Mutations. *Fam. Cancer* **2012**, *11*, 235–242. [CrossRef]

11. Phelan, C.M.; Iqbal, J.; Lynch, H.T.; Lubinski, J.; Gronwald, J.; Moller, P.; Ghadirian, P.; Foulkes, W.D.; Armel, S.; Eisen, A.; et al. Incidence of Colorectal Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers: Results from a Follow-up Study. *Br. J. Cancer* **2014**, *110*, 530–534. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Friebel, T.M.; Domchek, S.M.; Rebbeck, T.R. Modifiers of Cancer Risk in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* **2014**, *106*, dju091. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Li, X.; You, R.; Wang, X.; Liu, C.; Xu, Z.; Zhou, J.; Yu, B.; Xu, T.; Cai, H.; Zou, Q. Effectiveness of Prophylactic Surgeries in BRCA1 or BRCA2 Mutation Carriers: A Meta-Analysis and Systematic Review. *Clin. Cancer Res.* **2016**, *22*, 3971–3981. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Finch, A.; Metcalfe, K.; Lui, J.; Springate, C.; Demsky, R.; Armel, S.; Rosen, B.; Murphy, J.; Elit, L.; Sun, P.; et al. Breast and Ovarian Cancer Risk Perception after Prophylactic Salpingo-oophorectomy Due to an Inherited Mutation in the BRCA1 or BRCA2 Gene. *Clin. Genet.* **2009**, *75*, 220–224. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
15. Milne, R.L.; Knight, J.A.; John, E.M.; Dite, G.S.; Balbuena, R.; Ziogas, A.; Andrulis, I.L.; West, D.W.; Li, F.P.; Southey, M.C.; et al. Oral Contraceptive Use and Risk of Early-Onset Breast Cancer in Carriers and Noncarriers of BRCA1 and BRCA2 Mutations. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2005**, *14*, 350–356. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
16. Phillips, K.-A.; Milne, R.L.; Rookus, M.A.; Daly, M.B.; Antoniou, A.C.; Peock, S.; Frost, D.; Easton, D.F.; Ellis, S.; Friedlander, M.L.; et al. Tamoxifen and Risk of Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *J. Clin. Oncol.* **2013**, *31*, 3091–3099. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Pan, H.; He, Z.; Ling, L.; Ding, Q.; Chen, L.; Zha, X.; Zhou, W.; Liu, X.; Wang, S. Reproductive Factors and Breast Cancer Risk among BRCA1 or BRCA2 Mutation Carriers: Results from Ten Studies. *Cancer Epidemiol.* **2014**, *38*, 1–8. [\[CrossRef\]](#)
18. Chang-Claude, J.; Andrieu, N.; Rookus, M.; Brohet, R.; Antoniou, A.C.; Peock, S.; Davidson, R.; Izatt, L.; Cole, T.; Noguès, C.; et al. Age at Menarche and Menopause and Breast Cancer Risk in the International BRCA1/2 Carrier Cohort Study. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2007**, *16*, 740–746. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Huber, D.; Seitz, S.; Kast, K.; Emons, G.; Ortmann, O. Use of Fertility Treatments in BRCA1/2 Mutation Carriers and Risk for Ovarian and Breast Cancer: A Systematic Review. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2020**, *302*, 715–720. [\[CrossRef\]](#)
20. Friedenson, B. Inflammation Targets Specific Organs for Cancer in Carriers of BRCA1/2 Pathway Mutations. *Nat. Preced.* **2010**. [\[CrossRef\]](#)
21. Nkondjock, A.; Ghadirian, P.; Kotsopoulos, J.; Lubinski, J.; Lynch, H.; Kim-Sing, C.; Horsman, D.; Rosen, B.; Isaacs, C.; Weber, B.; et al. Coffee Consumption and Breast Cancer Risk among BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Int. J. Cancer* **2006**, *118*, 103–107. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
22. Nkondjock, A.; Robidoux, A.; Paredes, Y.; Narod, S.A.; Ghadirian, P. Diet, Lifestyle and BRCA-Related Breast Cancer Risk among French-Canadians. *Breast Cancer Res. Treat.* **2006**, *98*, 285–294. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Kast, K.; John, E.M.; Hopper, J.L.; Andrieu, N.; Noguès, C.; Mouret-Fourme, E.; Lasset, C.; Fricker, J.-P.; Berthet, P.; Mari, V.; et al. Associations of Height, Body Mass Index, and Weight Gain with Breast Cancer Risk in Carriers of a Pathogenic Variant in BRCA1 or BRCA2: The BRCA1 and BRCA2 Cohort Consortium. *Breast Cancer Res.* **2023**, *25*, 72. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Ghadirian, P.; Narod, S.; Fafard, E.; Costa, M.; Robidoux, A.; Nkondjock, A. Breast Cancer Risk in Relation to the Joint Effect of BRCA Mutations and Diet Diversity. *Breast Cancer Res. Treat.* **2009**, *117*, 417–422. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Kiljańczyk, A.; Matuszczak, M.; Marciniak, W.; Derkacz, R.; Stempa, K.; Baszuk, P.; Bryskiewicz, M.; Lubiński, K.; Cybulski, C.; Dębniak, T.; et al. Blood Lead Level as Marker of Increased Risk of Ovarian Cancer in BRCA1 Carriers. *Nutrients* **2024**, *16*, 1370. [\[CrossRef\]](#)
26. Kiljańczyk, A.; Matuszczak, M.; Marciniak, W.; Derkacz, R.; Stempa, K.; Baszuk, P.; Bryskiewicz, M.; Cybulski, C.; Dębniak, T.; Gronwald, J.; et al. Blood Iodine as a Potential Marker of the Risk of Cancer in BRCA1 Carriers. *Nutrients* **2024**, *16*, 1788. [\[CrossRef\]](#)
27. Matuszczak, M.; Kiljańczyk, A.; Marciniak, W.; Derkacz, R.; Stempa, K.; Baszuk, P.; Bryskiewicz, M.; Sun, P.; Cheriyan, A.; Cybulski, C.; et al. Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers. *Antioxidants* **2024**, *13*, 609. [\[CrossRef\]](#)
28. Escobedo-Monge, M.F.; Barrado, E.; Parodi-Román, J.; Escobedo-Monge, M.A.; Torres-Hinojal, M.C.; Marugán-Miguelsanz, J.M. Copper/Zinc Ratio in Childhood and Adolescence: A Review. *Metabolites* **2023**, *13*, 82. [\[CrossRef\]](#)
29. Malavolta, M.; Piacenza, F.; Basso, A.; Giacconi, R.; Costarelli, L.; Mocchegiani, E. Serum Copper to Zinc Ratio: Relationship with Aging and Health Status. *Mech. Ageing Dev.* **2015**, *151*, 93–100. [\[CrossRef\]](#)
30. Klevay, L. Coronary Heart Disease: The Zinc/Copper Hypothesis. *Am. J. Clin. Nutr.* **1975**, *28*, 764–774. [\[CrossRef\]](#)
31. Stepien, M.; Hughes, D.J.; Hybsier, S.; Bamia, C.; Tjønneland, A.; Overvad, K.; Affret, A.; His, M.; Boutron-Ruault, M.-C.; Katzke, V.; et al. Circulating Copper and Zinc Levels and Risk of Hepatobiliary Cancers in Europeans. *Br. J. Cancer* **2017**, *116*, 688–696. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
32. Stepien, M.; Jenab, M.; Freisling, H.; Becker, N.-P.; Czuban, M.; Tjønneland, A.; Olsen, A.; Overvad, K.; Boutron-Ruault, M.-C.; Mancini, F.R.; et al. Pre-Diagnostic Copper and Zinc Biomarkers and Colorectal Cancer Risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Cohort. *Carcinogenesis* **2017**, *38*, 699–707. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
33. Bengtsson, Y.; Demircan, K.; Vallon-Christersson, J.; Malmberg, M.; Saal, L.H.; Rydén, L.; Borg, Å.; Schomburg, L.; Sandsveden, M.; Manjer, J. Serum Copper, Zinc and Copper/Zinc Ratio in Relation to Survival after Breast Cancer Diagnosis: A Prospective Multicenter Cohort Study. *Redox Biol.* **2023**, *63*, 102728. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

34. Lubiński, J.; Lener, M.R.; Marciniak, W.; Pietrzak, S.; Derkacz, R.; Cybulski, C.; Gronwald, J.; Dębniak, T.; Jakubowska, A.; Huzarski, T.; et al. Serum Essential Elements and Survival after Cancer Diagnosis. *Nutrients* **2023**, *15*, 2611. [\[CrossRef\]](#)
35. Pala, V.; Agnoli, C.; Cavalleri, A.; Rinaldi, S.; Orlandi, R.; Segrado, F.; Venturelli, E.; Vinceti, M.; Krogh, V.; Sieri, S. Prediagnostic Levels of Copper and Zinc and Breast Cancer Risk in the ORDET Cohort. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* **2022**, *31*, 1209–1215. [\[CrossRef\]](#)
36. Prasad, A.S.; Beck, F.W.J.; Snell, D.C.; Kucuk, O. Zinc in Cancer Prevention. *Nutr. Cancer* **2009**, *61*, 879–887. [\[CrossRef\]](#)
37. Prasad, A.S.; Bao, B.; Beck, F.W.J.; Kucuk, O.; Sarkar, F.H. Antioxidant Effect of Zinc in Humans. *Free Radic. Biol. Med.* **2004**, *37*, 1182–1190. [\[CrossRef\]](#)
38. Patel, D.; Evanchuk, J.; Wang, R.; Dunbar, C.L.; Munhoz, J.; Field, C.J. Regulation of Immune Function in Healthy Adults: One-Stop Guide on the Role of Dietary Fatty Acids, Gut Microbiota-Derived Short Chain Fatty Acids, and Select Micronutrients in Combination with Physical Activity. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2023**, *48*, 554–568. [\[CrossRef\]](#)
39. Faghfour, A.H.; Baradaran, B.; Khabbazi, A.; Khaje Bishak, Y.; Zarezadeh, M.; Tavakoli-Rouzbehani, O.M.; Faghfuri, E.; Payahoo, L.; Alipour, M.; Alipour, B. Profiling Inflammatory Cytokines Following Zinc Supplementation: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials. *Br. J. Nutr.* **2021**, *126*, 1441–1450. [\[CrossRef\]](#)
40. Harris, E.D. Copper as a Cofactor and Regulator of Copper, Zinc Superoxide Dismutase. *J. Nutr.* **1992**, *122*, 636–640. [\[CrossRef\]](#)
41. Hellman, N.E.; Kono, S.; Mancini, G.M.; Hoogeboom, A.J.; de Jong, G.J.; Gitlin, J.D. Mechanisms of Copper Incorporation into Human Ceruloplasmin. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 46632–46638. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
42. Ayala, A.; Muñoz, M.F.; Argüelles, S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2014**, *2014*, 360438. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
43. Le Gal, K.; Schmidt, E.E.; Sayin, V.I. Cellular Redox Homeostasis. *Antioxidants* **2021**, *10*, 1377. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
44. Pap, J.S.; Szywriel, L.; Rowińska-Zyrek, M.; Nikitin, K.; Fritsky, I.O.; Kozłowski, H. An Efficient Copper(III) Catalyst in the Four Electron Reduction of Molecular Oxygen by L-Ascorbic Acid. *J. Mol. Catal. A Chem.* **2011**, *334*, 77–82. [\[CrossRef\]](#)
45. Iakovidis, I.; Delimaris, I.; Piperakis, S.M. Copper and Its Complexes in Medicine: A Biochemical Approach. *Mol. Biol. Int.* **2011**, *2011*, 594529. [\[CrossRef\]](#)
46. Urso, E.; Maffia, M. Behind the Link between Copper and Angiogenesis: Established Mechanisms and an Overview on the Role of Vascular Copper Transport Systems. *J. Vasc. Res.* **2015**, *52*, 172–196. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
47. Kothapalli, C.R.; Ramamurthi, A. Lysyl Oxidase Enhances Elastin Synthesis and Matrix Formation by Vascular Smooth Muscle Cells. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* **2009**, *3*, 655–661. [\[CrossRef\]](#)
48. Cox, T.R.; Erler, J.T. Remodeling and Homeostasis of the Extracellular Matrix: Implications for Fibrotic Diseases and Cancer. *Dis. Model Mech.* **2011**, *4*, 165–178. [\[CrossRef\]](#)
49. Cheng, F.; Peng, G.; Lu, Y.; Wang, K.; Ju, Q.; Ju, Y.; Ouyang, M. Relationship between Copper and Immunity: The Potential Role of Copper in Tumor Immunity. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, 1019153. [\[CrossRef\]](#)
50. Osredkar, J. Copper and Zinc, Biological Role and Significance of Copper/Zinc Imbalance. *J. Clin. Toxicol.* **2011**, *S3*, 1–18. [\[CrossRef\]](#)
51. Gurer-Orhan, H.; Ince, E.; Konyar, D.; Saso, L.; Suzen, S. The Role of Oxidative Stress Modulators in Breast Cancer. *Curr. Med. Chem.* **2018**, *25*, 4084–4101. [\[CrossRef\]](#)
52. Lee, J.D.; Cai, Q.; Shu, X.O.; Nechuta, S.J. The Role of Biomarkers of Oxidative Stress in Breast Cancer Risk and Prognosis: A Systematic Review of the Epidemiologic Literature. *J. Womens Health* **2017**, *26*, 467–482. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
53. Mezzetti, A.; Pierdomenico, S.D.; Costantini, F.; Romano, F.; De Cesare, D.; Cucurullo, F.; Imbastaro, T.; Riario-Sforza, G.; Di Giacomo, F.; Zuliani, G.; et al. Copper/Zinc Ratio and Systemic Oxidant Load: Effect of Aging and Aging-Related Degenerative Diseases. *Free Radic. Biol. Med.* **1998**, *25*, 676–681. [\[CrossRef\]](#)
54. Snezhkina, A.V.; Kudryavtseva, A.V.; Kardymon, O.L.; Savvateeva, M.V.; Melnikova, N.V.; Krasnov, G.S.; Dmitriev, A.A. ROS Generation and Antioxidant Defense Systems in Normal and Malignant Cells. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2019**, *2019*, 6175804. [\[CrossRef\]](#)
55. Ishikawa, K.; Takenaga, K.; Akimoto, M.; Koshikawa, N.; Yamaguchi, A.; Imanishi, H.; Nakada, K.; Honma, Y.; Hayashi, J.-I. ROS-Generating Mitochondrial DNA Mutations Can Regulate Tumor Cell Metastasis. *Science (1979)* **2008**, *320*, 661–664. [\[CrossRef\]](#)
56. Feng, Y.; Zeng, J.-W.; Ma, Q.; Zhang, S.; Tang, J.; Feng, J.-F. Serum Copper and Zinc Levels in Breast Cancer: A Meta-Analysis. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2020**, *62*, 126629. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
57. Fischer, P.W.; Giroux, A.; L'Abbé, M.R. The Effect of Dietary Zinc on Intestinal Copper Absorption. *Am. J. Clin. Nutr.* **1981**, *34*, 1670–1675. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
58. Roy, R.; Chun, J.; Powell, S.N. BRCA1 and BRCA2: Different Roles in a Common Pathway of Genome Protection. *Nat. Rev. Cancer* **2012**, *12*, 68–78. [\[CrossRef\]](#)
59. Meric-Bernstam, F. Heterogenic Loss of BRCA in Breast Cancer: The “Two-Hit” Hypothesis Takes a Hit. *Ann. Surg. Oncol.* **2007**, *14*, 2428–2429. [\[CrossRef\]](#)
60. Yi, Y.; Kang, H.; Bae, I. BRCA1 and Oxidative Stress. *Cancers* **2014**, *6*, 771–795. [\[CrossRef\]](#)
61. Ingvarsson, S. Genomic Instability and Breast Cancer Progression. *Cancer Genom. Proteom.* **2006**, *3*, 137–146.
62. Maxwell, K.N.; Wubbenhorst, B.; Wenz, B.M.; De Sloover, D.; Pluta, J.; Emery, L.; Barrett, A.; Kraya, A.A.; Anastopoulos, I.N.; Yu, S.; et al. BRCA Locus-Specific Loss of Heterozygosity in Germline BRCA1 and BRCA2 Carriers. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 319. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

63. Martin, S.K.; McVey, M. BRCA1 Protects against Its Own Fragility. *Mol. Cell* **2022**, *82*, 3757–3759. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Hartman, A.-R.; Ford, J.M. BRCA1 and P53: Compensatory Roles in DNA Repair. *J. Mol. Med.* **2003**, *81*, 700–707. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Deng, C.-X. BRCA1: Cell Cycle Checkpoint, Genetic Instability, DNA Damage Response and Cancer Evolution. *Nucleic Acids Res.* **2006**, *34*, 1416–1426. [[CrossRef](#)]
66. Wang, M.; Li, W.; Tomimatsu, N.; Yu, C.H.; Ji, J.-H.; Alejo, S.; Witus, S.R.; Alimbetov, D.; Fitzgerald, O.; Wu, B.; et al. Crucial Roles of the BRCA1-BARD1 E3 Ubiquitin Ligase Activity in Homology-Directed DNA Repair. *Mol. Cell* **2023**, *83*, 3679–3691.e8. [[CrossRef](#)]
67. DiSilvestro, R.A. Influence of Hormones on Copper Metalloprotein Levels. In *Trace Elements in Man and Animals 6*; Springer: Boston, MA, USA, 1988; pp. 103–107. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## 11. Suplement

**Tabela S1.** Częstość występowania nowotworów o różnej lokalizacji narządowej u wyjściowo zdrowych nosicielek mutacji BRCA1 w zależności od stężenia miedzi we krwi.

| <b>Czynniki</b>                              | <b>raki/<br/>całość</b> | <b>Jednoczynnikowy<br/>HR (95%CI) P</b> | <b>Wieloczynnikowy*<br/>HR (95%CI) P</b> |
|--|-------------------------|---|--|
| <b>Stężenie miedzi</b>                       |                         |   |  |
| T1 508,25-863,33                             | 45/258                  | 1                                       | 1  |
| T2 863,93-971,39                             | 53/249                  | 1,25 (0,84-1,86) 0,3                    | 1,43 (0,95-2,14) 0,084                   |
| T3 972,82-1914,47                            | 56/257                  | 1,21 (0,82-1,79) 0,3                    | 1,18 (0,79-1,78) 0,4                     |
| <b>Wiek podczas<br/>pobrania krwi (lata)</b> |                         |   |  |
| <50  | 106/619                 | 1                                       | 1  |
| ≥50  | 49/145                  | 1,69 (1,20-2,37) 0,002                  | 2,64 (1,76-3,97)<br><0,001               |
| <b>Środki<br/>antykonieczne</b>              |                         |   |  |
| Nie  | 78/379                  | 1                                       | 1  |
| Tak  | 77/385                  | 0,96 (0,70-1,32) 0,8                    | 1,10 (0,79-1,54) 0,6                     |
| <b>Hormonalna terapia<br/>zastępcza</b>      |                         |   |  |
| Nie  | 115/548                 | 1                                       | 1  |
| Tak  | 40/216                  | 0,78 (0,54-1,11) 0,2                    | 1,19 (0,79-1,54) 0,6                     |
| <b>Palenie</b>                               |                         |   |  |
| Nie  | 112/563                 | 1                                       | 1  |
| Tak  | 43/201                  | 1,12 (0,79-1,60) 0,5                    | 1,16 (0,81-1,66) 0,4                     |
| <b>Adnektomia</b>                            |                         |   |  |
| Nie  | 92/332                  | 1                                       | 1  |
| Tak  | 63/432                  | 2,08 (1,51-2,87) <0,001                 | 3,25 (2,19-4,81)<br><0,001               |
| <b>Suplementy</b>                            |                         |   |  |
| Nie  | 74/395                  | 1                                       | 1  |
| Tak  | 81/369                  | 1,13 (0,83-1,55) 0,4                    | 1,21 (0,88-1,67) 0,2                     |
| <b>Cukrzyca</b>                              |                         |   |  |
| Nie  | 143/714                 | 1                                       | 1  |
| Tak  | 12/50                   | 1,16 (0,64-2,09) 0,6                    | 1,02 (0,55-1,90) >0,9                    |
| <b>BMI w momencie<br/>pobrania krwi</b>      |                         |   |  |
| <18,5  | 10/44                   | 1,16 (0,60-2,24) 0,7                    | 1,19 (0,61-2,30) 0,6                     |
| 18,5-25,0                                    | 85/455                  | 1                                       | 1  |
| 25,0-30,0                                    | 42/190                  | 1,15 (0,80-1,67) 0,4                    | 1,12 (0,76-1,65) 0,6                     |
| ≥30  | 18/75                   | 1,35 (0,81-2,25) 0,2                    | 1,04 (0,67-2,04) 0,6                     |

**Tabela S2.** Częstość występowania raka piersi u nosicielek mutacji BRCA1 w zależności od stężenia miedzi we krwi.

| <b>Czynniki</b>                              | <b>Raki piersi/<br/>całość</b> | <b>Jednoczynnikowy<br/>HR (95%CI) P</b> | <b>Wieloczynnikowy*<br/>HR (95%CI) P</b> |
|--|--------------------------------|---|--|
| <b>Stężenie miedzi</b>                       |                                |   |  |
| T1 508,25-863,33                             | 34/254                         | 1                                       | 1  |
| T2 863,93-971,39                             | 37/250                         | 1,11 (0,70-1,77) 0,7                    | 1,32 (0,82-2,12) 0,3                     |
| T3 972,82-1914,47                            | 36/260                         | 1,01 (0,63-1,61) >0,9                   | 1,09 (0,67-1,77) 0,7                     |
| <b>Wiek podczas<br/>pobrania krwi (lata)</b> |                                |   |  |
| <50  | 79/619                         | 1                                       | 1  |
| ≥50  | 28/145                         | 1,32 (0,86-2,04) 0,2                    | 2,17 (1,30-3,62) 0,003                   |
| <b>Środki<br/>antykonieczne</b>              |                                |   |  |
| Nie  | 49/379                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 58/385                         | 1,14 (0,78-1,67) 0,5                    | 1,22 (0,79-1,54) 0,6                     |
| <b>Hormonalna terapia<br/>zastępcza</b>      |                                |   |  |
| Nie  | 78/548                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 29/216                         | 0,82 (0,53-1,26) 0,4                    | 1,23 (0,75-2,03) 0,4                     |
| <b>Palenie</b>                               |                                |   |  |
| Nie  | 73/563                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 34/201                         | 1,37 (0,91-2,05) 0,13                   | 1,39 (0,92-2,11) 0,11                    |
| <b>Adnektomia</b>                            |                                |   |  |
| Nie  | 61/332                         | 1,94 (1,32-2,85) <0,001                 | 2,68 (1,65-4,34)                         |
| Tak  | 46/432                         | 1                                       | <0,001                                   |
| <b>Suplementy</b>                            |                                |   |  |
| Nie  | 53/395                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 54/369                         | 1,07 (0,73-1,56) 0,7                    | 1,14 (0,78-1,68) 0,5                     |
| <b>Cukrzyca</b>                              |                                |   |  |
| Nie  | 99/714                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 8/50                           | 1,11 (0,54-2,29) 0,8                    | 1,14 (0,54-2,43) 0,7                     |
| <b>BMI w momencie<br/>pobrania krwi</b>      |                                |   |  |
| <18,5  | 10/44                          | 1,55 (0,80-3,03) 0,2                    | 1,55 (0,79-3,06) 0,2                     |
| 18,5-25,0                                    | 62/455                         | 1                                       | 1  |
| 25,0-30,0                                    | 26/190                         | 1,00 (0,63-1,58) >0,9                   | 1,02 (0,63-1,64) >0,9                    |
| ≥30  | 9/75                           | 0,95 (0,47-1,91) 0,9                    | 0,88 (0,41-1,87) 0,7                     |

**Tabela S3.** Częstość występowania raka jajnika u wyjściowo zdrowych nosicielek mutacji BRCA1 w zależności od wartości stężenia miedzi.

| <b>Czynniki</b>                                  | <b>Raki jajnika/<br/>całość</b> | <b>Jednoczynnikowy<br/>HR (95%CI) P</b> | <b>Wieloczynnikowy*<br/>HR (95%CI) P</b> |
|--|---------------------------------|---|--|
| <b>Stężenie miedzi</b>                           |                                 |   |  |
| T1 508,25-863,33                                 | 5/256                           | 1                                       | 1  |
| T2 863,93-971,39                                 | 11/250                          | 2,25 (0,78-6,47) 0,13                   | 2,86 (0,96-8,52) 0,059                   |
| T3 972,82-1914,47                                | 11/258                          | 2,11 (0,73-6,07) 0,2                    | 1,46 (0,47-4,52) 0,5                     |
| <b>Wiek podczas<br/>pobrania krwi<br/>(lata)</b> |                                 |   |  |
| <50  | 16/619                          | 1                                       | 1  |
| ≥50  | 11/145                          | 2,61 (1,21-5,64) 0,015                  | 7,00 (2,59-18,9)<br><0,001               |
| <b>Środki<br/>antykonieczne</b>                  |                                 |   |  |
| Nie  | 16/379                          | 1                                       | 1  |
| Tak  | 11/385                          | 0,67 (0,31-1,45) 0,3                    | 0,89 (0,39-2,04) 0,8                     |
| <b>Hormonalna<br/>terapia zastępcza</b>          |                                 |   |  |
| Nie  | 23/548                          | 1                                       | 1  |
| Tak  | 4/216                           | 0,40 (0,14-1,16) 0,092                  | 0,75 (0,22-2,57) 0,6                     |
| <b>Palenie</b>                                   |                                 |   |  |
| Nie  | 21/563                          | 1                                       | 1  |
| Tak  | 6/201                           | 0,84 (0,34-2,08) 0,7                    | 0,97 (0,38-2,48) >0,9                    |
| <b>Adnektomia</b>                                |                                 |   |  |
| Nie  | 23/332                          | 8,26 (2,85-24,0) <0,001                 | 25,6 (7,73-85,0)                         |
| Tak  | 4/432                           | 1                                       | <0,001<br>1                              |
| <b>Suplementy</b>                                |                                 |   |  |
| Nie  | 8/395                           | 1                                       | 1  |
| Tak  | 19/369                          | 2,45 (1,07-5,60) 0,033                  | 3,78 (1,55-9,21) 0,003                   |
| <b>Cukrzyca</b>                                  |                                 |   |  |
| Nie  | 24/714                          | 1                                       | 1  |
| Tak  | 3/50                            | 1,73 (0,52-5,73) 0,4                    | 0,82 (0,21-3,18) 0,8                     |
| <b>BMI w momencie<br/>pobrania krwi</b>          |                                 |   |  |
| <18,5  | 0/44                            | 0,00 (0,00-0,00) >0,9                   | 0,00 (0,00-0,00) >0,9                    |
| 18,5-25,0  | 13/455                          | 1                                       | 1  |
| 25,0-30,0  | 9/190                           | 1,64 (0,70-3,83) 0,3                    | 1,67 (0,66-4,23) 0,3                     |
| ≥30  | 5/75                            | 2,40 (0,86-6,74) 0,10                   | 1,78 (0,53-5,97) 0,4                     |



**Tabela S4.** Częstość występowania raka piersi u wyjściowo zdrowych nosicielek mutacji BRCA1 w zależności od wartości stosunku cynku do miedzi.

| <b>Czynniki</b>                                  | <b>Raki piersi/<br/>całość</b> | <b>Jednoczynnikowy<br/>HR (95%CI) P</b> | <b>Wieloczynnikowy*<br/>HR (95%CI) P</b> |
|--|--------------------------------|---|--|
| <b>Stosunek Zn/Cu</b>                            |                                |   |  |
| I 0,00-6,37                                      | 52/296                         | 1,38 (0,95-2,02) 0,094                  | 1,31 (0,90-1,93) 0,2                     |
| II 6,38-16,03                                    | 55/467                         | 1                                       | 1  |
| <b>Data urodzenia</b>                            |                                |   |  |
| <=1965   | 34/181                         | 1                                       | 1  |
| 1965-1975  | 27/188                         | 0,82 (0,49-1,36) 0,4                    | 0,77 (0,36-1,65) 0,5                     |
| 1975-1985  | 41/265                         | 0,90 (0,57-1,42) 0,7                    | 0,93 (0,33-2,65) 0,9                     |
| >1985  | 5/129                          | 0,29 (0,11-0,75) 0,010                  | 0,30 (0,08-1,15) 0,079                   |
| <b>Wiek podczas<br/>pobrania krwi<br/>(lata)</b> |                                |   |  |
| <=40   | 56/471                         | 1                                       | 1  |
| 40-50  | 28/157                         | 1,43 (0,91-2,25) 0,12                   | 1,47 (0,67-3,21) >0,3                    |
| >50  | 23/135                         | 1,26 (0,77-2,05) 0,4                    | 1,21 (0,42-3,52) 0,7                     |
| <b>Środki<br/>antykonieczne</b>                  |                                |   |  |
| Nie  | 49/378                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 58/385                         | 1,14 (0,78-1,67) 0,5                    | 1,24 (0,82-1,88) 0,3                     |
| <b>Hormonalna<br/>terapia zastępcza</b>          |                                |   |  |
| Nie  | 178/547                        | 1                                       | 1  |
| Tak  | 29/216                         | 0,82 (0,53-1,26) 0,4                    | 0,70 (0,44-1,10) 0,12                    |
| <b>Palenie</b>                                   |                                |   |  |
| Nigdy  | 50/444                         | 1                                       | 1  |
| Obecnie  | 32/168                         | 1,66 (1,06-2,59) 0,025                  | 1,53 (0,97-2,40) 0,065                   |
| W przeszłości                                    | 25/151                         | 1,41 (0,87-2,27) 0,2                    | 1,32 (0,81-2,15) 0,3                     |
| <b>BMI w momencie<br/>pobrania krwi</b>          |                                |   |  |
| ≤mediana (23,05)                                 | 56/385                         | 1                                       | 1  |
| >mediana (23,05)                                 | 51/378                         | 0,91 (0,62-1,33) 0,6                    | 0,82 (0,54-1,23) 0,3                     |

**Tabela S5.** Częstość występowania raka jajnika u wyjściowo zdrowych mutacji BRCA1 w zależności od wartości stosunku cynku do miedzi.

| <b>Czynniki</b>                                  | <b>Raki piersi/<br/>całość</b> | <b>Jednoczynnikowy<br/>HR (95%CI) P</b> | <b>Wieloczynnikowy*<br/>HR (95%CI) P</b> |
|--|--------------------------------|---|--|
| <b>Stosunek Zn/Cu</b>                            |                                |   |  |
| I 0,00-6,37                                      | 13/296                         | 1,94 (0,85-4,43) 0,12                   | 1,78 (0,77-4,11) 0,2                     |
| II 6,38-16,03                                    | 10/467                         | 1                                       | 1  |
| <b>Data urodzenia</b>                            |                                |   |  |
| <=1965   | 8/181                          | 1                                       | 1  |
| 1965-1975  | 9/188                          | 1,12 (0,43-2,90) 0,8                    | 0,82 (0,09-7,89) 0,9                     |
| 1975-1985  | 6/265                          | 0,55 (0,19-1,59) 0,3                    | 0,22 (0,02-2,73) 0,2                     |
| >1985  | 0/129                          | 0,00 (0,00-0,00) >0,9                   | 0,00 (0,00-0,00) >0,9                    |
| <b>Wiek podczas<br/>pobrania krwi<br/>(lata)</b> |                                |   |  |
| <=40   | 13/471                         | 1                                       | 1  |
| 40-50  | 3/157                          | 0,69 (0,20-2,41) 0,6                    | 0,20 (0,04-0,98) 0,046                   |
| >50  | 7/135                          | 1,68 (0,67-4,22) 0,3                    | 0,40 (0,03-4,87) 0,5                     |
| <b>Środki<br/>antykonieczne</b>                  |                                |   |  |
| Nie  | 14/378                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 9/385                          | 0,63 (0,27-1,46) 0,3                    | 0,75 (0,30-1,86) 0,5                     |
| <b>Hormonalna<br/>terapia zastępcza</b>          |                                |   |  |
| Nie  | 20/547                         | 1                                       | 1  |
| Tak  | 3/216                          | 0,35 (0,10-1,16) 0,087                  | 0,28 (0,08-0,96) 0,044                   |
| <b>Palenie</b>                                   |                                |   |  |
| Nigdy  | 10/444                         | 1                                       | 1  |
| Obecnie  | 4/168                          | 1,07 (0,33-3,40) >0,9                   | 1,09 (0,34-3,52) 0,9                     |
| W przeszłości                                    | 9/151                          | 2,51 (1,02-6,18) 0,045                  | 2,54 (1,03-6,28) 0,044                   |
| <b>BMI w momencie<br/>pobrania krwi</b>          |                                |   |  |
| ≤mediana (23,05)                                 | 9/385                          | 1                                       | 1  |
| >mediana (23,05)                                 | 14/378                         | 1,55 (0,67-3,59) 0,3                    | 1,13 (0,46-2,76) 0,8                     |

## 12. Streszczenie

Gen BRCA1, będący genem supresorowym nowotworów na chromosomie 17q21, odgrywa kluczową rolę w mechanizmach obronnych przed rakiem piersi i jajnika. Nosicielki mutacji BRCA1 są narażone na wysokie ryzyko zachorowania, sięgające 70% dla raka piersi i około 40% dla raka jajnika. Szacuje się, że w Polsce aż 200 tysięcy osób posiada mutację BRCA1, z czego ponad 10 tysięcy zostało zidentyfikowanych w poradniach genetycznych na terenie kraju. Rozpoczęte w 1995 roku badania nad mutacjami BRCA1 przyczyniły się do pogłębienia wiedzy o zapobieganiu nowotworom w tej grupie. Profilaktyczne zabiegi chirurgiczne, takie jak BMP i BSO pozostają kluczowym zaleceniem wśród nosicielek mutacji BRCA1, znacząco obniżając ryzyko nowotworowe. Ponadto, wiele innych czynników, takich jak wiek, historia reprodukcyjna, stosowanie terapii hormonalnych czy doustnej antykoncepcji, może wpływać na ryzyko wystąpienia nowotworów w tej grupie pacjentek.

Badania wskazują, że stężenia mikroelementów, takich jak arsen i selen, jod, molibden, ołów mogą również modulować ryzyko nowotworów u nosicielek BRCA1. Obecna praca badała wpływ cynku i miedzi jako markerów ryzyka nowotworów złośliwych u nosicielek mutacji BRCA1 w tym raka piersi i jajnika. Przeprowadzono badanie prospektywne na grupie 1119 nosicielek BRCA1, które wyraziły zgodę na udział w badaniach w Zakładzie Genetyki i Patomorfologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie. Uczestniczki wypełniły ankiety obejmujące dane dotyczące wcześniejszych operacji, masy ciała, nawyków zdrowotnych i stylu życia. Monitorowano ich stan zdrowia co pół roku.

Wszystkie uczestniczki w momencie włączenia do badania były wyjściowo zdrowe - co oznacza w tej sytuacji brak historii choroby nowotworowej. Podczas 7,5-letniej obserwacji pojawiły się 174 nowe przypadki nowotworów złośliwych, w tym 122 raki piersi i 29 raków jajnika. Stężenia cynku i miedzi we krwi mierzono metodą spektrometrii mas ICP-MS. Uczestniczki podzielono na grupy według stężeń tych mikroelementów i zastosowano analizę regresji COXa, aby ocenić wpływ stężeń cynku i miedzi na ryzyko nowotworowe.

Wyniki pokazały, że wysokie stężenia miedzi we krwi korelowały ze zwiększonym ryzykiem raka jajnika, natomiast nie zauważono takiej zależności dla raka piersi. Badanie wykazało także, że istnieje potencjalna korzyść (nieistotna statystycznie) z utrzymywania niskiego (<863,33) stężenia miedzi u nosicielek mutacji BRCA1.

Z kolei niskie stężenia cynku zdawały się być wskaźnikiem zwiększonego ryzyka raka jajnika. Wyjściowo zdrowe kobiety z stężeniem cynku we krwi > 5797 µg/L wykazywały dwukrotne (nieistotne statystycznie) zmniejszenie ryzyka raka jajnika w porównaniu do kobiet

z stężeniem cynku we krwi  $\leq 5797$  (HR = 0,51, 95% CI: 0,24-1,09). Nie stwierdzono związku między stężeniem cynku a rakiem piersi lub innymi nowotworami.

Co istotne, nasze badanie wykazało, że około 33% kobiet wykazywało niskie wartości cynku i byłoby kandydatkami do bogatocynkowej diety i/lub suplementacji.

Stosunek cynku do miedzi (Zn/Cu) służy jako bardziej precyzyjny wskaźnik prognostyczny w porównaniu z indywidualnymi stężeniami miedzi lub cynku. Brak równowagi między stężeniami cynku i miedzi może sprzyjać powstawaniu nowotworów.

Ustalając punkt odcięcia na poziomie 6,38 dla stosunku Zn/Cu, stwierdziliśmy, że wskaźniki poniżej tej wartości znacznie zwiększały ryzyko zachorowania na raka, podczas gdy wartości równe lub większe niż 6,38 reprezentowały optymalny zakres przy stosunkowo niskim ryzyku nowotworowym. Uzyskaliśmy prawie 1,5-krotne, statystycznie istotne obniżenie ryzyka wystąpienia jakiegokolwiek nowotworu (HR = 1,48; CI = 1,07–2,04; p = 0,018) u kobiet, u których stosunek cynku do miedzi (Zn/Cu) był równy lub większy niż 6,38. Podobna tendencja, choć statystycznie nieistotna, wystąpiła w przypadku raka piersi, gdzie odnotowaliśmy ponad 1,3-krotne zwiększenie ryzyka u kobiet z wartościami poniżej punktu odcięcia (HR = 1,31; CI = 0,90–1,93; p = 0,2). Najbardziej wyraźne, ponad 1,75-krotne zwiększenie ryzyka zaobserwowano w przypadku raka jajnika, jednak wynik ten również nie osiągnął istotności statystycznej (HR = 1,78; CI = 0,77–4,11; p = 0,2).

Na podstawie niniejszej rozprawy wyciągnięto następujące wnioski:

1. Stosunek cynku do miedzi (Zn/Cu) stanowi marker ryzyka nowotworowego. Zoptymalizowanie tego stosunku, poprzez regulację stężeń tych pierwiastków, może potencjalnie obniżyć ryzyko wystąpienia nowotworów.
2. Konieczne jest pogłębianie badań nad rolą pierwiastków jako markerów nowotworowych, co pozwoli na ich skuteczniejsze wykorzystanie w ocenie ryzyka. Badania na większych kohortach mogą pomóc w określeniu optymalnych zakresów stężeń cynku i miedzi dla różnych grup ryzyka nowotworowego.
5. Optymalne stężenia cynku i miedzi mogą być osiągnięte poprzez modyfikacje diety i/ lub suplementację.
6. Nieprawidłowe wartości cynku i miedzi mogą być wskaźnikiem do podjęcia bardziej zdecydowanych działań profilaktycznych, takich jak profilaktyczna BSO u kobiet z grup podwyższonego ryzyka.

## 13. Summary

The BRCA1 gene, a tumor suppressor located on chromosome 17q21, plays a crucial role in defense mechanisms against breast and ovarian cancers. Carriers of BRCA1 mutations face a high risk of cancer, with up to a 70% chance of developing breast cancer and approximately 40% ovarian cancer. It is estimated that in Poland, around 200,000 individuals carry the BRCA1 mutation, with over 10,000 identified through genetic counseling centers across the country. Research on BRCA1 mutations, initiated in 1995, has significantly advanced our understanding of cancer prevention within this high-risk group. Prophylactic surgical procedures, such as BPM (bilateral prophylactic mastectomy) and BSO (bilateral salpingo-oophorectomy), remain key recommendations for BRCA1 mutation carriers, as they substantially reduce cancer risk. Additionally, various factors, including age, reproductive history, hormonal therapies, and oral contraceptive use, may influence cancer risk in this patient population.

Studies suggest that the levels of trace elements such as arsenic, selenium, iodine, molybdenum, and lead might also modulate cancer risk among BRCA1 carriers. The present study investigated the influence of zinc and copper as markers of cancer risk in BRCA1 carriers. This prospective study included 1,119 BRCA1 carriers who provided consent for participation at the Department of Genetics and Pathomorphology at the Pomeranian Medical University in Szczecin. Participants completed surveys covering data on past surgeries, body weight, health habits, and lifestyle. Their health status was monitored semiannually.

At the study's outset, all participants were initially unaffected, meaning they had no prior history of cancer. During a 7.5-year observation period, 174 new cases of malignancies were recorded, including 122 breast cancers and 29 ovarian cancers. Blood levels of zinc and copper were measured using ICP-MS mass spectrometry. Participants were grouped based on these trace element levels, and Cox regression analysis was employed to assess the impact of zinc and copper levels on cancer risk.

The findings showed that high copper levels in the blood correlated with an increased risk of ovarian cancer, whereas no such association was observed for breast cancer. Additionally, the study identified a potential (though statistically non-significant) benefit of maintaining lower copper levels (<863.33 µg/L) among BRCA1 mutation carriers. In contrast, low zinc levels appeared to be an indicator of increased ovarian cancer risk. Cancer-free women with blood zinc levels above 5,797 µg/L demonstrated a two-fold (non-significant) reduction in ovarian cancer risk compared to women with zinc levels at or below this threshold (HR = 0.51, 95% CI: 0.24–1.09). No association was found between zinc levels and the risk of breast cancer or other malignancies.

Notably, the study revealed that approximately 33% of women exhibited low zinc levels, marking them as candidates for zinc-rich diets and/or supplementation. The zinc-to-copper (Zn/Cu) ratio served as a more precise prognostic indicator than individual copper or zinc levels. An imbalance between zinc and copper levels may promote tumorigenesis. Setting a cutoff of 6.38 for the Zn/Cu ratio, we found that levels below this threshold significantly increased cancer risk, while values equal to or above 6.38 represented an optimal range associated with relatively low cancer risk. Women with a Zn/Cu ratio of 6.38 or above showed an almost 1.5-fold, statistically significant reduction in overall cancer risk (HR = 1.48; CI = 1.07–2.04; p = 0.018). A similar trend, though not statistically significant, was observed for breast cancer, with a 1.3-fold increased risk among women below the cutoff (HR = 1.31; CI = 0.90–1.93; p = 0.2). The most pronounced risk increase—over 1.75-fold—was noted for ovarian cancer; however, this finding also lacked statistical significance (HR = 1.78; CI = 0.77–4.11; p = 0.2).

On the basis of our study and literature data the following conclusions were made:

1. The zinc-to-copper (Zn/Cu) ratio is a marker of cancer risk. Optimizing this ratio through regulation of these elements levels may potentially reduce cancer incidence.
2. Further research on trace elements as cancer markers is essential to enhance their effectiveness in risk assessment. Larger cohort studies may help define optimal zinc and copper levels ranges for various cancer risk groups.
3. Optimal zinc and copper levels may be achieved through dietary modifications and/or supplementation.
4. Abnormal zinc and copper values may serve as an indication for more intensive preventive measures, such as prophylactic BSO, in high-risk women.

## 14. Piśmiennictwo

- [1] BRCA1 DNA repair associated <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/genes/672/> (accessed Nov 3, 2024).
- [2] Gorodetska, I.; Kozeretska, I.; Dubrovska, A. BRCA Genes: The Role in Genome Stability, Cancer Stemness and Therapy Resistance. *J Cancer*, **2019**, *10* (9), 2109–2127. <https://doi.org/10.7150/jca.30410>.
- [3] Deng, C.-X. BRCA1: Cell Cycle Checkpoint, Genetic Instability, DNA Damage Response and Cancer Evolution. *Nucleic Acids Res*, **2006**, *34* (5), 1416–1426. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl010>.
- [4] Chatterjee, N.; Walker, G. C. Mechanisms of DNA Damage, Repair, and Mutagenesis. *Environ Mol Mutagen*, **2017**, *58* (5), 235–263. <https://doi.org/10.1002/em.22087>.
- [5] O'Donovan, P. J.; Livingston, D. M. BRCA1 and BRCA2: Breast/Ovarian Cancer Susceptibility Gene Products and Participants in DNA Double-Strand Break Repair. *Carcinogenesis*, **2010**, *31* (6), 961–967. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgq069>.
- [6] Her, J.; Bunting, S. F. How Cells Ensure Correct Repair of DNA Double-Strand Breaks. *Journal of Biological Chemistry*, **2018**, *293* (27), 10502–10511. <https://doi.org/10.1074/jbc.TM118.000371>.
- [7] Stinson, B. M.; Loparo, J. J. Repair of DNA Double-Strand Breaks by the Nonhomologous End Joining Pathway. *Annu Rev Biochem*, **2021**, *90* (1), 137–164. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-080320-110356>.
- [8] Kostyrko, K.; Bosshard, S.; Urban, Z.; Mermoud, N. A Role for Homologous Recombination Proteins in Cell Cycle Regulation. *Cell Cycle*, **2015**, *14* (17), 2853–2861. <https://doi.org/10.1080/15384101.2015.1049784>.
- [9] Wassing, I. E.; Esashi, F. RAD51: Beyond the Break. *Semin Cell Dev Biol*, **2021**, *113*, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2020.08.010>.
- [10] Santana dos Santos, E.; Spurdle, A. B.; Carraro, D. M.; Briaux, A.; Southey, M.; Torrezan, G.; Petitalot, A.; Leman, R.; Lafitte, P.; Meseure, D.; et al. Value of the Loss of Heterozygosity to BRCA1 Variant Classification. *NPJ Breast Cancer*, **2022**, *8* (1), 9. <https://doi.org/10.1038/s41523-021-00361-2>.
- [11] Oubaddou, Y.; Ben Ali, F.; Oubaqui, F. E.; Qmichou, Z.; Bakri, Y.; Ameziane El Hassani, R. The Tumor Suppressor BRCA1/2, Cancer Susceptibility and Genome Instability in Gynecological and Mammary Cancers. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, **2023**, *24* (9), 3139–3153. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2023.24.9.3139>.
- [12] Górski, B.; Byrski, T.; Huzarski, T.; Jakubowska, A.; Menkiszak, J.; Gronwald, J.; Płużańska, A.; Bębenek, M.; Fischer-Maliszewska, Ł.; Grzybowska, E.; et al. Founder Mutations in the BRCA1 Gene in Polish Families with Breast-Ovarian Cancer. *The American Journal of Human Genetics*, **2000**, *66* (6), 1963–1968. <https://doi.org/10.1086/302922>.
- [13] Górski, B.; Jakubowska, A.; Huzarski, T.; Byrski, T.; Gronwald, J.; Grzybowska, E.; Mackiewicz, A.; Stawicka, M.; Bębenek, M.; Sorokin, D.; et al. A High Proportion of Founder BRCA1 Mutations in Polish Breast Cancer Families. *Int J Cancer*, **2004**, *110* (5), 683–686. <https://doi.org/10.1002/ijc.20162>.
- [14] Warner, E.; Zhu, S.; Plewes, D. B.; Hill, K.; Ramsay, E. A.; Causer, P. A.; Seely, J.; Jong, R. A.; Lenkov, P.; Elser, C.; et al. Breast Cancer Mortality among Women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation in a Magnetic Resonance Imaging Plus Mammography Screening Program. *Cancers (Basel)*, **2020**, *12* (11), 3479. <https://doi.org/10.3390/cancers12113479>.
- [15] Ho, W.-K.; Hassan, N. T.; Yoon, S.-Y.; Yang, X.; Lim, J. M. C.; Binte Ishak, N. D.; Ho, P. J.; Wijaya, E. A.; Ng, P. P.-S.; Luccarini, C.; et al. Age-Specific Breast and Ovarian Cancer Risks Associated with Germline BRCA1 or BRCA2 Pathogenic Variants – an Asian Study of 572 Families. *Lancet Reg Health West Pac*, **2024**, *44*, 101017. <https://doi.org/10.1016/j.lanwpc.2024.101017>.
- [16] Kuchenbaecker, K. B.; Hopper, J. L.; Barnes, D. R.; Phillips, K.-A.; Mooij, T. M.; Roos-Blom, M.-J.; Jervis, S.; van Leeuwen, F. E.; Milne, R. L.; Andrieu, N.; et al. Risks of Breast, Ovarian, and Contralateral Breast Cancer for BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JAMA*, **2017**, *317* (23), 2402. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.7112>.

- [17] Stjepanovic, N.; Lubinski, J.; Moller, P.; Randall Armel, S.; Foulkes, W. D.; Tung, N.; Neuhausen, S. L.; Kotsopoulos, J.; Sun, P.; Sun, S.; et al. Breast Cancer Risk after Age 60 among BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Breast Cancer Res Treat*, **2021**, *187* (2), 515–523. <https://doi.org/10.1007/s10549-020-06072-9>.
- [18] Metcalfe, K. A.; Gronwald, J.; Tung, N. M.; McCuaig, J. M.; Eisen, A.; Elser, C.; Foulkes, W. D.; Neuhausen, S. L.; Senter, L.; Moller, P.; et al. The Risks of Cancer in Older Women with BRCA Pathogenic Variants: How Far Have We Come? *Cancer*, **2023**, *129* (6), 901–907. <https://doi.org/10.1002/cncr.34615>.
- [19] Li, S.; Silvestri, V.; Leslie, G.; Rebbeck, T. R.; Neuhausen, S. L.; Hopper, J. L.; Nielsen, H. R.; Lee, A.; Yang, X.; McGuffog, L.; et al. Cancer Risks Associated With BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants. *Journal of Clinical Oncology*, **2022**, *40* (14), 1529–1541. <https://doi.org/10.1200/JCO.21.02112>.
- [20] Phelan, C. M.; Iqbal, J.; Lynch, H. T.; Lubinski, J.; Gronwald, J.; Moller, P.; Ghadirian, P.; Foulkes, W. D.; Armel, S.; Eisen, A.; et al. Incidence of Colorectal Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers: Results from a Follow-up Study. *Br J Cancer*, **2014**, *110* (2), 530–534. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.741>.
- [21] Momozawa, Y.; Sasai, R.; Usui, Y.; Shiraishi, K.; Iwasaki, Y.; Taniyama, Y.; Parsons, M. T.; Mizukami, K.; Sekine, Y.; Hirata, M.; et al. Expansion of Cancer Risk Profile for BRCA1 and BRCA2 Pathogenic Variants. *JAMA Oncol*, **2022**, *8* (6), 871. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2022.0476>.
- [22] Ławniczak, M.; Jakubowska, A.; Białek, A.; Lubiński, J.; Jaworska–Bieniek, K.; Kaczmarek, K.; Starzyńska, T. BRCA1 Founder Mutations Do Not Contribute to Increased Risk of Gastric Cancer in the Polish Population. *Hered Cancer Clin Pract*, **2016**, *14* (1), 3. <https://doi.org/10.1186/s13053-015-0043-0>.
- [23] Iqbal, J.; Ragone, A.; Lubinski, J.; Lynch, H. T.; Moller, P.; Ghadirian, P.; Foulkes, W. D.; Armel, S.; Eisen, A.; Neuhausen, S. L.; et al. The Incidence of Pancreatic Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Br J Cancer*, **2012**, *107* (12), 2005–2009. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.483>.
- [24] Złowocka-Perłowska, E.; Tołoczko-Grabarek, A.; Narod, S. A.; Lubiński, J. Germline BRCA1 and BRCA2 Mutations and the Risk of Bladder or Kidney Cancer in Poland. *Hered Cancer Clin Pract*, **2022**, *20* (1), 13. <https://doi.org/10.1186/s13053-022-00220-6>.
- [25] Narod, S. A.; Metcalfe, K.; Finch, A.; Chan, A.-W.; Armel, S. R.; Aeilts, A.; Eisen, A.; Karlan, B.; Bordeleau, L.; Tung, N.; et al. The Risk of Skin Cancer in Women Who Carry BRCA1 or BRCA2 Mutations. *Hered Cancer Clin Pract*, **2024**, *22* (1), 7. <https://doi.org/10.1186/s13053-024-00277-5>.
- [26] Zakerinasab, F.; Behfar, Q.; Parsaee, R.; Zadeh, R. H.; Foroughi, E.; Amirbeik, A.; Ahmadi, G. BRCA 1/2 Mutations and Risk of Uterine Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *BMC Genom Data*, **2024**, *25* (1), 13. <https://doi.org/10.1186/s12863-024-01189-y>.
- [27] Huzarski, T.; Byrski, T.; Gronwald, J.; Górski, B.; Domagała, P.; Cybulski, C.; Oszurek, O.; Szwiec, M.; Gugała, K.; Stawicka, M.; et al. Ten-Year Survival in Patients With BRCA1 -Negative and BRCA1 -Positive Breast Cancer. *Journal of Clinical Oncology*, **2013**, *31* (26), 3191–3196. <https://doi.org/10.1200/JCO.2012.45.3571>.
- [28] Huszno, J.; Kołosza, Z.; Grzybowska, E. BRCA1 Mutation in Breast Cancer Patients: Analysis of Prognostic Factors and Survival. *Oncol Lett*, **2018**. <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9770>.
- [29] Byrski, T.; Huzarski, T.; Dent, R.; Marczyk, E.; Jasiowka, M.; Gronwald, J.; Jakubowicz, J.; Cybulski, C.; Wisniowski, R.; Godlewski, D.; et al. Pathologic Complete Response to Neoadjuvant Cisplatin in BRCA1-Positive Breast Cancer Patients. *Breast Cancer Res Treat*, **2014**, *147* (2), 401–405. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3100-x>.
- [30] Kotsopoulos, J.; Gronwald, J.; Lynch, H. T.; Eisen, A.; Neuhausen, S. L.; Tung, N.; Ainsworth, P.; Weitzel, J. N.; Pal, T.; Foulkes, W. D.; et al. Age at First Full-Term Birth and Breast Cancer Risk in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Breast Cancer Res Treat*, **2018**, *171* (2), 421–426. <https://doi.org/10.1007/s10549-018-4822-y>.
- [31] Narod, S.; Moody, J.; Rosen, B.; Fan, I.; Risch, A.; Sun, P.; McLaughlin, J. Estimating Survival Rates after Ovarian Cancer among Women Tested for BRCA1 and BRCA2 Mutations. *Clin Genet*, **2013**, *83* (3), 232–237. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2012.01906.x>.



- [32] Kotsopoulos, J.; Karlan, B.; Gronwald, J.; Hall, E.; Moller, P.; Tung, N.; Zakalik, D.; Foulkes, W. D.; Rosen, B.; Neuhausen, S. L.; et al. Long-Term Outcomes Following a Diagnosis of Ovarian Cancer at the Time of Preventive Oophorectomy among BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *International Journal of Gynecologic Cancer*, **2020**, *30* (6), 825–830. <https://doi.org/10.1136/ijgc-2019-001141>.
- [33] Gronwald, J.; Lubinski, J.; Huzarski, T.; Cybulski, C.; Menkiszak, J.; Siolek, M.; Stawicka, M.; Sun, P.; Kim, S. J.; Kotsopoulos, J.; et al. A Comparison of Ovarian Cancer Mortality in Women with BRCA1 Mutations Undergoing Annual Ultrasound Screening or Preventive Oophorectomy. *Gynecol Oncol*, **2019**, *155* (2), 270–274. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2019.08.034>.
- [34] Bray, F.; Laversanne, M.; Sung, H.; Ferlay, J.; Siegel, R. L.; Soerjomataram, I.; Jemal, A. Global Cancer Statistics 2022: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*, **2024**, *74* (3), 229–263. <https://doi.org/10.3322/caac.21834>.
- [35] KRN. Krajowy Rejestr Nowotworów <http://onkologia.org.pl/raporty/> (accessed Jun 14, 2023).
- [36] Gronwald, J.; Cybulski, C.; Huzarski, T.; Jakubowska, A.; Debniak, T.; Lener, M.; Narod, S. A.; Lubinski, J. Genetic Testing for Hereditary Breast Cancer in Poland: 1998–2022. *Hered Cancer Clin Pract*, **2023**, *21* (1), 9. <https://doi.org/10.1186/s13053-023-00252-6>.
- [37] Lubinski, J.; Huzarski, T.; Byrski, T.; Lynch, H. T.; Cybulski, C.; Ghadirian, P.; Stawicka, M.; Foulkes, W. D.; Kilar, E.; Kim-Sing, C.; et al. The Risk of Breast Cancer in Women with a BRCA1 Mutation from North America and Poland. *Int J Cancer*, **2012**, *131* (1), 229–234. <https://doi.org/10.1002/ijc.26369>.
- [38] Engel, C.; Fischer, C.; Zachariae, S.; Bucksch, K.; Rhiem, K.; Giesecke, J.; Herold, N.; Wappenschmidt, B.; Hübbel, V.; Maringa, M.; et al. Breast Cancer Risk in BRCA1/2 Mutation Carriers and Noncarriers under Prospective Intensified Surveillance. *Int J Cancer*, **2020**, *146* (4), 999–1009. <https://doi.org/10.1002/ijc.32396>.
- [39] Metcalfe, K. A.; Lubinski, J.; Gronwald, J.; Huzarski, T.; McCuaig, J.; Lynch, H. T.; Karlan, B.; Foulkes, W. D.; Singer, C. F.; Neuhausen, S. L.; et al. The Risk of Breast Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers without a First-degree Relative with Breast Cancer. *Clin Genet*, **2018**, *93* (5), 1063–1068. <https://doi.org/10.1111/cge.13191>.
- [40] Semple, J.; Metcalfe, K. A.; Lubinski, J.; Huzarski, T.; Gronwald, J.; Armel, S.; Lynch, H. T.; Karlan, B.; Foulkes, W.; Singer, C. F.; et al. Does the Age of Breast Cancer Diagnosis in First-Degree Relatives Impact on the Risk of Breast Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers? *Breast Cancer Res Treat*, **2015**, *154* (1), 163–169. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3596-8>.
- [41] Jonasson, J. G.; Stefansson, O. A.; Johannsson, O. T.; Sigurdsson, H.; Agnarsson, B. A.; Olafsdottir, G. H.; Alexiusdottir, K. K.; Stefansdottir, H.; Munoz Mitev, R.; Olafsdottir, K.; et al. Oestrogen Receptor Status, Treatment and Breast Cancer Prognosis in Icelandic BRCA2 Mutation Carriers. *Br J Cancer*, **2016**, *115* (7), 776–783. <https://doi.org/10.1038/bjc.2016.249>.
- [42] Petrucelli, N.; Daly, M. B.; Pal, T. *BRCA1- and BRCA2-Associated Hereditary Breast and Ovarian Cancer*; 1993.
- [43] Liu, J.; Cristea, M. C.; Frankel, P.; Neuhausen, S. L.; Steele, L.; Engelstaedter, V.; Matulonis, U.; Sand, S.; Tung, N.; Garber, J. E.; et al. Clinical Characteristics and Outcomes of BRCA-Associated Ovarian Cancer: Genotype and Survival. *Cancer Genet*, **2012**, *205* (1–2), 34–41. <https://doi.org/10.1016/j.cancergen.2012.01.008>.
- [44] McLaughlin, J. R.; Rosen, B.; Moody, J.; Pal, T.; Fan, I.; Shaw, P. A.; Risch, H. A.; Sellers, T. A.; Sun, P.; Narod, S. A. Long-Term Ovarian Cancer Survival Associated With Mutation in BRCA1 or BRCA2. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **2013**, *105* (2), 141–148. <https://doi.org/10.1093/jnci/djs494>.
- [45] Riedl, C. C.; Luft, N.; Bernhart, C.; Weber, M.; Bernathova, M.; Tea, M.-K. M.; Rudas, M.; Singer, C. F.; Helbich, T. H. Triple-Modality Screening Trial for Familial Breast Cancer Underlines the Importance of Magnetic Resonance Imaging and Questions the Role of Mammography and Ultrasound Regardless of Patient Mutation Status, Age, and Breast Density. *Journal of Clinical Oncology*, **2015**, *33* (10), 1128–1135. <https://doi.org/10.1200/JCO.2014.56.8626>.
- [46] Lubinski, J.; Kotsopoulos, J.; Moller, P.; Pal, T.; Eisen, A.; Peck, L.; Karlan, B. Y.; Aeilts, A.; Eng, C.; Bordeleau, L.; et al. MRI Surveillance and Breast Cancer Mortality in Women With

- BRCA1 and BRCA2 Sequence Variations. *JAMA Oncol*, **2024**, *10* (4), 493. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2023.6944>.
- [47] Wiedemeyer, W. R.; Beach, J. A.; Karlan, B. Y. Reversing Platinum Resistance in High-Grade Serous Ovarian Carcinoma: Targeting BRCA and the Homologous Recombination System. *Front Oncol*, **2014**, *4*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2014.00034>.
- [48] Farmer, H.; McCabe, N.; Lord, C. J.; Tutt, A. N. J.; Johnson, D. A.; Richardson, T. B.; Santarosa, M.; Dillon, K. J.; Hickson, I.; Knights, C.; et al. Targeting the DNA Repair Defect in BRCA Mutant Cells as a Therapeutic Strategy. *Nature*, **2005**, *434* (7035), 917–921. <https://doi.org/10.1038/nature03445>.
- [49] Narod, S. A.; Huzarski, T.; Gronwald, J.; Byrski, T.; Marczyk, E.; Cybulski, C.; Szwiec, M.; Wisniowski, R.; Birkenfeld, B.; Kilar, E.; et al. Predictors of Survival for Breast Cancer Patients with a BRCA1 Mutation. *Breast Cancer Res Treat*, **2018**, *168* (2), 513–521. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4605-x>.
- [50] Fong, P. C.; Yap, T. A.; Boss, D. S.; Carden, C. P.; Mergui-Roelvink, M.; Gourley, C.; De Greve, J.; Lubinski, J.; Shanley, S.; Messiou, C.; et al. Poly(ADP)-Ribose Polymerase Inhibition: Frequent Durable Responses in BRCA Carrier Ovarian Cancer Correlating With Platinum-Free Interval. *Journal of Clinical Oncology*, **2010**, *28* (15), 2512–2519. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.26.9589>.
- [51] Robson, M.; Im, S.-A.; Senkus, E.; Xu, B.; Domchek, S. M.; Masuda, N.; Delaloge, S.; Li, W.; Tung, N.; Armstrong, A.; et al. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. *New England Journal of Medicine*, **2017**, *377* (6), 523–533. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706450>.
- [52] Geyer, C. E.; Garber, J. E.; Gelber, R. D.; Yothers, G.; Taboada, M.; Ross, L.; Rastogi, P.; Cui, K.; Arahmani, A.; Aktan, G.; et al. Overall Survival in the OlympiA Phase III Trial of Adjuvant Olaparib in Patients with Germline Pathogenic Variants in BRCA1/2 and High-Risk, Early Breast Cancer. *Annals of Oncology*, **2022**, *33* (12), 1250–1268. <https://doi.org/10.1016/j.annonc.2022.09.159>.
- [53] Patel, A. G.; Sarkaria, J. N.; Kaufmann, S. H. Nonhomologous End Joining Drives Poly(ADP-Ribose) Polymerase (PARP) Inhibitor Lethality in Homologous Recombination-Deficient Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2011**, *108* (8), 3406–3411. <https://doi.org/10.1073/pnas.1013715108>.
- [54] Metcalfe, K.; Eisen, A.; Senter, L.; Armel, S.; Bordeleau, L.; Meschino, W. S.; Pal, T.; Lynch, H. T.; Tung, N. M.; Kwong, A.; et al. International Trends in the Uptake of Cancer Risk Reduction Strategies in Women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. *Br J Cancer*, **2019**, *121* (1), 15–21. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0446-1>.
- [55] Kotsopoulos, J.; Gronwald, J.; Karlan, B.; Rosen, B.; Huzarski, T.; Moller, P.; Lynch, H. T.; Singer, C. F.; Senter, L.; Neuhausen, S. L.; et al. Age-Specific Ovarian Cancer Risks among Women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. *Gynecol Oncol*, **2018**, *150* (1), 85–91. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2018.05.011>.
- [56] Domchek, S. M. Association of Risk-Reducing Surgery in BRCA1 or BRCA2 Mutation Carriers With Cancer Risk and Mortality. *JAMA*, **2010**, *304* (9), 967. <https://doi.org/10.1001/jama.2010.1237>.
- [57] Finch, A. Salpingo-Oophorectomy and the Risk of Ovarian, Fallopian Tube, and Peritoneal Cancers in Women With a BRCA1 or BRCA2 Mutation. *JAMA*, **2006**, *296* (2), 185. <https://doi.org/10.1001/jama.296.2.185>.
- [58] Eisen, A.; Lubinski, J.; Klijn, J.; Moller, P.; Lynch, H. T.; Offit, K.; Weber, B.; Rebbeck, T.; Neuhausen, S. L.; Ghadirian, P.; et al. Breast Cancer Risk Following Bilateral Oophorectomy in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers: An International Case-Control Study. *Journal of Clinical Oncology*, **2005**, *23* (30), 7491–7496. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.00.7138>.
- [59] Narod, S. A.; Gronwald, J.; Karlan, B.; Moller, P.; Huzarski, T.; Tung, N.; Aeilts, A.; Eisen, A.; Armel, S. R.; Singer, C. F.; et al. Incidence of Peritoneal Cancer after Oophorectomy among BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **2024**. <https://doi.org/10.1093/jnci/djae151>.
- [60] Ziegler, L. D.; Kroll, S. S. Primary Breast Cancer After Prophylactic Mastectomy. *Am J Clin Oncol*, **1991**, *14* (5), 451. <https://doi.org/10.1097/00000421-199110000-00018>.

- [61] Giannakeas, V.; Narod, S. A. The Expected Benefit of Preventive Mastectomy on Breast Cancer Incidence and Mortality in BRCA Mutation Carriers, by Age at Mastectomy. *Breast Cancer Res Treat*, **2018**, *167* (1), 263–267. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4476-1>.
- [62] Li, X.; You, R.; Wang, X.; Liu, C.; Xu, Z.; Zhou, J.; Yu, B.; Xu, T.; Cai, H.; Zou, Q. Effectiveness of Prophylactic Surgeries in BRCA1 or BRCA2 Mutation Carriers: A Meta-Analysis and Systematic Review. *Clinical Cancer Research*, **2016**, *22* (15), 3971–3981. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-15-1465>.
- [63] Kotsopoulos, J.; Gronwald, J.; Huzarski, T.; Møller, P.; Pal, T.; McCuaig, J. M.; Singer, C. F.; Karlan, B. Y.; Aeilts, A.; Eng, C.; et al. Bilateral Oophorectomy and All-Cause Mortality in Women With BRCA1 and BRCA2 Sequence Variations. *JAMA Oncol*, **2024**, *10* (4), 484. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2023.6937>.
- [64] Kotsopoulos, J.; Narod, S. A. Menopausal Hormone Therapy for BRCA Mutation Carriers: A Case for Precision Medicine. *Maturitas*, **2024**, *183*, 107886. <https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2023.107886>.
- [65] Kotsopoulos, J.; Gronwald, J.; Karlan, B. Y.; Huzarski, T.; Tung, N.; Moller, P.; Armel, S.; Lynch, H. T.; Senter, L.; Eisen, A.; et al. Hormone Replacement Therapy After Oophorectomy and Breast Cancer Risk Among BRCA1 Mutation Carriers. *JAMA Oncol*, **2018**, *4* (8), 1059. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.0211>.
- [66] Gronwald, J.; Glass, K.; Rosen, B.; Karlan, B.; Tung, N.; Neuhausen, S. L.; Moller, P.; Ainsworth, P.; Sun, P.; Narod, S. A.; et al. Treatment of Infertility Does Not Increase the Risk of Ovarian Cancer among Women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. *Fertil Steril*, **2016**, *105* (3), 781–785. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.11.034>.
- [67] Kotsopoulos, J.; Lubinski, J.; Moller, P.; Lynch, H. T.; Singer, C. F.; Eng, C.; Neuhausen, S. L.; Karlan, B.; Kim-Sing, C.; Huzarski, T.; et al. Timing of Oral Contraceptive Use and the Risk of Breast Cancer in BRCA1 Mutation Carriers. *Breast Cancer Res Treat*, **2014**, *143* (3), 579–586. <https://doi.org/10.1007/s10549-013-2823-4>.
- [68] Kotsopoulos, J.; Lubinski, J.; Gronwald, J.; Cybulski, C.; Demsky, R.; Neuhausen, S. L.; Kim-Sing, C.; Tung, N.; Friedman, S.; Senter, L.; et al. Factors Influencing Ovulation and the Risk of Ovarian Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Int J Cancer*, **2015**, *137* (5), 1136–1146. <https://doi.org/10.1002/ijc.29386>.
- [69] Kotsopoulos, J.; Gronwald, J.; McCuaig, J. M.; Karlan, B. Y.; Eisen, A.; Tung, N.; Bordeleau, L.; Senter, L.; Eng, C.; Couch, F.; et al. Breastfeeding and the Risk of Epithelial Ovarian Cancer among Women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. *Gynecol Oncol*, **2020**, *159* (3), 820–826. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2020.09.037>.
- [70] Milne, R. L.; Knight, J. A.; John, E. M.; Dite, G. S.; Balbuena, R.; Ziogas, A.; Andrulis, I. L.; West, D. W.; Li, F. P.; Southey, M. C.; et al. Oral Contraceptive Use and Risk of Early-Onset Breast Cancer in Carriers and Noncarriers of *BRCA1* and *BRCA2* Mutations. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **2005**, *14* (2), 350–356. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-04-0376>.
- [71] Xia, Y. Y.; Gronwald, J.; Karlan, B.; Lubinski, J.; McCuaig, J. M.; Brooks, J.; Moller, P.; Eisen, A.; Sun, S.; Senter, L.; et al. Contraceptive Use and the Risk of Ovarian Cancer among Women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. *Gynecol Oncol*, **2022**, *164* (3), 514–521. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2022.01.014>.
- [72] Xu, L.; Zhao, Y.; Chen, Z.; Wang, Y.; Chen, L.; Wang, S. Tamoxifen and Risk of Contralateral Breast Cancer among Women with Inherited Mutations in BRCA1 and BRCA2: A Meta-Analysis. *Breast Cancer*, **2015**, *22* (4), 327–334. <https://doi.org/10.1007/s12282-015-0619-6>.
- [73] Gronwald, J.; Robidoux, A.; Kim-Sing, C.; Tung, N.; Lynch, H. T.; Foulkes, W. D.; Manoukian, S.; Ainsworth, P.; Neuhausen, S. L.; Demsky, R.; et al. Duration of Tamoxifen Use and the Risk of Contralateral Breast Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Breast Cancer Res Treat*, **2014**, *146* (2), 421–427. <https://doi.org/10.1007/s10549-014-3026-3>.
- [74] Kotsopoulos, J.; Gronwald, J.; Huzarski, T.; Aeilts, A.; Randall Armel, S.; Karlan, B.; Singer, C. F.; Eisen, A.; Tung, N.; Olopade, O.; et al. Tamoxifen and the Risk of Breast Cancer in Women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation. *Breast Cancer Res Treat*, **2023**, *201* (2), 257–264. <https://doi.org/10.1007/s10549-023-06991-3>.
- [75] Kotsopoulos, J.; Lubinski, J.; Huzarski, T.; Bychkovsky, B. L.; Moller, P.; Kim, R. H.; Tung, N.; Eisen, A.; Foulkes, W.; Singer, C. F.; et al. Incidence of Endometrial Cancer in BRCA

- Mutation Carriers. *Gynecol Oncol*, **2024**, *189*, 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2024.07.687>.
- [76] Segev, Y.; Rosen, B.; Lubinski, J.; Gronwald, J.; Lynch, H. T.; Moller, P.; Kim-Sing, C.; Ghadirian, P.; Karlan, B.; Eng, C.; et al. Risk Factors for Endometrial Cancer among Women with a BRCA1 or BRCA2 Mutation: A Case Control Study. *Fam Cancer*, **2015**, *14* (3), 383–391. <https://doi.org/10.1007/s10689-015-9798-8>.
- [77] Kotsopoulos, J.; Lubinski, J.; Lynch, H. T.; Neuhausen, S. L.; Ghadirian, P.; Isaacs, C.; Weber, B.; Kim-Sing, C.; Foulkes, W. D.; Gershoni-Baruch, R.; et al. Age at Menarche and the Risk of Breast Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Cancer Causes & Control*, **2005**, *16* (6), 667–674. <https://doi.org/10.1007/s10552-005-1724-1>.
- [78] Kotsopoulos, J.; Lubinski, J.; Salmena, L.; Lynch, H. T.; Kim-Sing, C.; Foulkes, W. D.; Ghadirian, P.; Neuhausen, S. L.; Demsky, R.; Tung, N.; et al. Breastfeeding and the Risk of Breast Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Breast Cancer Research*, **2012**, *14* (2), R42. <https://doi.org/10.1186/bcr3138>.
- [79] Jernstrom, H.; Lubinski, J.; Lynch, H. T.; Ghadirian, P.; Neuhausen, S.; Isaacs, C.; Weber, B. L.; Horsman, D.; Rosen, B.; Foulkes, W. D.; et al. Breast-Feeding and the Risk of Breast Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, **2004**, *96* (14), 1094–1098. <https://doi.org/10.1093/jnci/djh211>.
- [80] Lecarpentier, J.; Noguès, C.; Mouret-Fourme, E.; Gauthier-Villars, M.; Lasset, C.; Fricker, J.-P.; Caron, O.; Stoppa-Lyonnet, D.; Berthet, P.; Faivre, L.; et al. Variation in Breast Cancer Risk Associated with Factors Related to Pregnancies According to Truncating Mutation Location, in the French National BRCA1 and BRCA2 Mutations Carrier Cohort (GENEPSO). *Breast Cancer Research*, **2012**, *14* (4), R99. <https://doi.org/10.1186/bcr3218>.
- [81] Milne, R. L.; Osorio, A.; Ramón y Cajal, T.; Baiget, M.; Lasa, A.; Diaz-Rubio, E.; de la Hoya, M.; Caldés, T.; Teulé, A.; Lázaro, C.; et al. Parity and the Risk of Breast and Ovarian Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Breast Cancer Res Treat*, **2010**, *119* (1), 221–232. <https://doi.org/10.1007/s10549-009-0394-1>.
- [82] Antoniou, A. C.; Shenton, A.; Maher, E. R.; Watson, E.; Woodward, E.; Lalloo, F.; Easton, D. F.; Evans, D. G. Parity and Breast Cancer Risk among BRCA1 and BRCA2 mutation Carriers. *Breast Cancer Research*, **2006**, *8* (6), R72. <https://doi.org/10.1186/bcr1630>.
- [83] Cullinane, C. A.; Lubinski, J.; Neuhausen, S. L.; Ghadirian, P.; Lynch, H. T.; Isaacs, C.; Weber, B.; Moller, P.; Offit, K.; Kim-Sing, C.; et al. Effect of Pregnancy as a Risk Factor for Breast Cancer in BRCA1/ BRCA2 Mutation Carriers. *Int J Cancer*, **2005**, *117* (6), 988–991. <https://doi.org/10.1002/ijc.21273>.
- [84] Andrieu, N.; Goldgar, D. E.; Easton, D. F.; Rookus, M.; Brohet, R.; Antoniou, A. C.; Peock, S.; Evans, G.; Eccles, D.; Douglas, F.; et al. Pregnancies, Breast-Feeding, and Breast Cancer Risk in the International BRCA1/2 Carrier Cohort Study (IBCCS). *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, **2006**, *98* (8), 535–544. <https://doi.org/10.1093/jnci/djj132>.
- [85] Friedenson, B. Inflammation Targets Specific Organs for Cancer in Carriers of BRCA1/2 Pathway Mutations. *Nature Precedings*, **2010**. <https://doi.org/10.1038/npre.2010.4225.1>.
- [86] Cybulski, C.; Lubinski, J.; Huzarski, T.; Lynch, H. T.; Randall, S. A.; Neuhausen, S. L.; Senter, L.; Friedman, S.; Ainsworth, P.; Singer, C.; et al. Prospective Evaluation of Alcohol Consumption and the Risk of Breast Cancer in BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Breast Cancer Res Treat*, **2015**, *151* (2), 435–441. <https://doi.org/10.1007/s10549-015-3393-4>.
- [87] McGuire, V.; John, E. M.; Felberg, A.; Haile, R. W.; Boyd, N. F.; Thomas, D. C.; Jenkins, M. A.; Milne, R. L.; Daly, M. B.; Ward, J.; et al. No Increased Risk of Breast Cancer Associated with Alcohol Consumption among Carriers of BRCA1 and BRCA2 Mutations Ages 50 Years. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **2006**, *15* (8), 1565–1567. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-0323>.
- [88] Kotsopoulos, J.; Ghadirian, P.; El-Sohemy, A.; Lynch, H. T.; Snyder, C.; Daly, M.; Domchek, S.; Randall, S.; Karlan, B.; Zhang, P.; et al. The CYP1A2 Genotype Modifies the Association Between Coffee Consumption and Breast Cancer Risk Among BRCA1 Mutation Carriers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **2007**, *16* (5), 912–916. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-06-1074>.
- [89] Nkondjock, A.; Ghadirian, P.; Kotsopoulos, J.; Lubinski, J.; Lynch, H.; Kim-Sing, C.; Horsman, D.; Rosen, B.; Isaacs, C.; Weber, B.; et al. Coffee Consumption and Breast Cancer Risk among

- BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Int J Cancer*, **2006**, *118* (1), 103–107. <https://doi.org/10.1002/ijc.21296>.
- [90] Barbara Kermode-Scott. Coffee Is Associated with Lower Risk of Breast Cancer in Women with BRCA Mutations. *Br Med J*, **2006**.
- [91] Nkondjock, A.; Ghadirian, P.; Kotsopoulos, J.; Lubinski, J.; Lynch, H.; Kim-Sing, C.; Horsman, D.; Rosen, B.; Isaacs, C.; Weber, B.; et al. Coffee Consumption and Breast Cancer Risk among BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Int J Cancer*, **2006**, *118* (1), 103–107. <https://doi.org/10.1002/ijc.21296>.
- [92] Kast, K.; John, E. M.; Hopper, J. L.; Andrieu, N.; Noguès, C.; Mouret-Fourme, E.; Lasset, C.; Fricker, J.-P.; Berthet, P.; Mari, V.; et al. Associations of Height, Body Mass Index, and Weight Gain with Breast Cancer Risk in Carriers of a Pathogenic Variant in BRCA1 or BRCA2: The BRCA1 and BRCA2 Cohort Consortium. *Breast Cancer Research*, **2023**, *25* (1), 72. <https://doi.org/10.1186/s13058-023-01673-w>.
- [93] Qian, F.; Rookus, M. A.; Leslie, G.; Risch, H. A.; Greene, M. H.; Aalfs, C. M.; Adank, M. A.; Adlard, J.; Agnarsson, B. A.; Ahmed, M.; et al. Mendelian Randomisation Study of Height and Body Mass Index as Modifiers of Ovarian Cancer Risk in 22,588 BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers. *Br J Cancer*, **2019**, *121* (2), 180–192. <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0492-8>.
- [94] Ghadirian, P.; Narod, S.; Fafard, E.; Costa, M.; Robidoux, A.; Nkondjock, A. Breast Cancer Risk in Relation to the Joint Effect of BRCA Mutations and Diet Diversity. *Breast Cancer Res Treat*, **2009**, *117* (2), 417–422. <https://doi.org/10.1007/s10549-008-0292-y>.
- [95] Ko, K.-P.; Kim, S.-W.; Ma, S. H.; Park, B.; Ahn, Y.; Lee, J. W.; Lee, M. H.; Kang, E.; Kim, L. S.; Jung, Y.; et al. Dietary Intake and Breast Cancer among Carriers and Noncarriers of BRCA Mutations in the Korean Hereditary Breast Cancer Study. *Am J Clin Nutr*, **2013**, *98* (6), 1493–1501. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.057760>.
- [96] Narod, S. A.; Huzarski, T.; Jakubowska, A.; Gronwald, J.; Cybulski, C.; Oszurek, O.; Dębniak, T.; Jaworska-Bieniek, K.; Lener, M.; Białkowska, K.; et al. Serum Selenium Level and Cancer Risk: A Nested Case-Control Study. *Hered Cancer Clin Pract*, **2019**, *17* (1), 33. <https://doi.org/10.1186/s13053-019-0131-7>.
- [97] Bruno, E.; Oliverio, A.; Paradiso, A. V.; Daniele, A.; Tommasi, S.; Tufaro, A.; Terribile, D. A.; Magno, S.; Filippone, A.; Venturelli, E.; et al. A Mediterranean Dietary Intervention in Female Carriers of BRCA Mutations: Results from an Italian Prospective Randomized Controlled Trial. *Cancers (Basel)*, **2020**, *12* (12), 3732. <https://doi.org/10.3390/cancers12123732>.
- [98] Marciniak, W.; Matoušek, T.; Domček, S.; Paradiso, A.; Patrino, M.; Irmejs, A.; Roderte, I.; Derkacz, R.; Baszuk, P.; Kuświk, M.; et al. Blood Arsenic Levels as a Marker of Breast Cancer Risk among BRCA1 Carriers. *Cancers (Basel)*, **2021**, *13* (13), 3345. <https://doi.org/10.3390/cancers13133345>.
- [99] Kiljańczyk, A.; Matuszczak, M.; Marciniak, W.; Derkacz, R.; Stempa, K.; Baszuk, P.; Bryśkiewicz, M.; Cybulski, C.; Dębniak, T.; Gronwald, J.; et al. Blood Iodine as a Potential Marker of the Risk of Cancer in BRCA1 Carriers. *Nutrients*, **2024**, *16* (11), 1788. <https://doi.org/10.3390/nu16111788>.
- [100] Kiljańczyk, A.; Matuszczak, M.; Marciniak, W.; Derkacz, R.; Stempa, K.; Baszuk, P.; Bryśkiewicz, M.; Lubiński, K.; Cybulski, C.; Dębniak, T.; et al. Blood Lead Level as Marker of Increased Risk of Ovarian Cancer in BRCA1 Carriers. *Nutrients*, **2024**, *16* (9), 1370. <https://doi.org/10.3390/nu16091370>.
- [101] Matuszczak, M.; Kiljańczyk, A.; Marciniak, W.; Derkacz, R.; Stempa, K.; Baszuk, P.; Bryśkiewicz, M.; Cybulski, C.; Dębniak, T.; Jacek, G.; et al. Blood Molybdenum Level as a Marker of Cancer Risk on BRCA1 Carriers. *Hered Cancer Clin Pract*, **2024**, *22* (1), 19. <https://doi.org/10.1186/s13053-024-00291-7>.
- [102] Zhang, Y.; Song, M.; Mucci, L. A.; Giovannucci, E. L. Zinc Supplement Use and Risk of Aggressive Prostate Cancer: A 30-Year Follow-up Study. *Eur J Epidemiol*, **2022**, *37* (12), 1251–1260. <https://doi.org/10.1007/s10654-022-00922-0>.
- [103] Zhang, Y.; Coogan, P.; Palmer, J. R.; Strom, B. L.; Rosenberg, L. Vitamin and Mineral Use and Risk of Prostate Cancer: The Case–Control Surveillance Study. *Cancer Causes & Control*, **2009**, *20* (5), 691–698. <https://doi.org/10.1007/s10552-008-9282-y>.

- [104] Leitzmann, M. F.; Stampfer, M. J.; Wu, K.; Colditz, G. A.; Willett, W. C.; Giovannucci, E. L. Zinc Supplement Use and Risk of Prostate Cancer. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, **2003**, *95* (13), 1004–1007. <https://doi.org/10.1093/jnci/95.13.1004>.
- [105] Matuszczak, M.; Kiljańczyk, A.; Marciniak, W.; Derkacz, R.; Stempa, K.; Baszuk, P.; Bryskiewicz, M.; Sun, P.; Cheriyan, A.; Cybulski, C.; et al. Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers. *Antioxidants*, **2024**, *13* (5), 609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>.
- [106] Roy, R.; Chun, J.; Powell, S. N. BRCA1 and BRCA2: Different Roles in a Common Pathway of Genome Protection. *Nat Rev Cancer*, **2012**, *12* (1), 68–78. <https://doi.org/10.1038/nrc3181>.
- [107] Meric-Bernstam, F. Heterogenic Loss of BRCA in Breast Cancer: The “Two-Hit” Hypothesis Takes a Hit. *Ann Surg Oncol*, **2007**, *14* (9), 2428–2429. <https://doi.org/10.1245/s10434-007-9379-7>.
- [108] Yi, Y.; Kang, H.; Bae, I. BRCA1 and Oxidative Stress. *Cancers (Basel)*, **2014**, *6* (2), 771–795. <https://doi.org/10.3390/cancers6020771>.
- [109] Ingvarsson, S. Genomic Instability and Breast Cancer Progression. *Cancer Genomics Proteomics*, **2006**, *3* (3–4), 137–146.
- [110] Maxwell, K. N.; Wubbenhorst, B.; Wenz, B. M.; De Sloover, D.; Pluta, J.; Emery, L.; Barrett, A.; Kraya, A. A.; Anastopoulos, I. N.; Yu, S.; et al. BRCA Locus-Specific Loss of Heterozygosity in Germline BRCA1 and BRCA2 Carriers. *Nat Commun*, **2017**, *8* (1), 319. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00388-9>.
- [111] Martin, S. K.; McVey, M. BRCA1 Protects against Its Own Fragility. *Mol Cell*, **2022**, *82* (20), 3757–3759. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.09.023>.
- [112] Hartman, A.-R.; Ford, J. M. BRCA1 and P53: Compensatory Roles in DNA Repair. *J Mol Med*, **2003**, *81* (11), 700–707. <https://doi.org/10.1007/s00109-003-0477-0>.
- [113] Wang, M.; Li, W.; Tomimatsu, N.; Yu, C. H.; Ji, J.-H.; Alejo, S.; Witus, S. R.; Alimbetov, D.; Fitzgerald, O.; Wu, B.; et al. Crucial Roles of the BRCA1-BARD1 E3 Ubiquitin Ligase Activity in Homology-Directed DNA Repair. *Mol Cell*, **2023**, *83* (20), 3679–3691.e8. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2023.09.015>.
- [114] Prasad, A. S.; Beck, F. W. J.; Snell, D. C.; Kucuk, O. Zinc in Cancer Prevention. *Nutr Cancer*, **2009**, *61* (6), 879–887. <https://doi.org/10.1080/01635580903285122>.
- [115] Prasad, A. S.; Bao, B.; Beck, F. W. J.; Kucuk, O.; Sarkar, F. H. Antioxidant Effect of Zinc in Humans. *Free Radic Biol Med*, **2004**, *37* (8), 1182–1190. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2004.07.007>.
- [116] Patel, D.; Evanchuk, J.; Wang, R.; Dunbar, C. L.; Munhoz, J.; Field, C. J. Regulation of Immune Function in Healthy Adults: One-Stop Guide on the Role of Dietary Fatty Acids, Gut Microbiota-Derived Short Chain Fatty Acids, and Select Micronutrients in Combination with Physical Activity. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, **2023**, *48* (8), 554–568. <https://doi.org/10.1139/apnm-2022-0456>.
- [117] Faghfour, A. H.; Baradaran, B.; Khabbazi, A.; Khaje Bishak, Y.; Zarezadeh, M.; Tavakoli-Rouzbehani, O. M.; Faghfuri, E.; Payahoo, L.; Alipour, M.; Alipour, B. Profiling Inflammatory Cytokines Following Zinc Supplementation: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials. *British Journal of Nutrition*, **2021**, *126* (10), 1441–1450. <https://doi.org/10.1017/S0007114521000192>.
- [118] Prasad, A. S. Zinc Deficiency in Humans: A Neglected Problem. *J Am Coll Nutr*, **1998**, *17* (6), 542–543. <https://doi.org/10.1080/07315724.1998.10718800>.
- [119] Ho, E. Zinc Deficiency, DNA Damage and Cancer Risk. *J Nutr Biochem*, **2004**, *15* (10), 572–578. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2004.07.005>.
- [120] Falchuk, K. H. The Molecular Basis for the Role of Zinc in Developmental Biology. *Mol Cell Biochem*, **1998**, *188* (1/2), 41–48. <https://doi.org/10.1023/A:1006808119862>.
- [121] Ho, E.; Courtemanche, C.; Ames, B. N. Zinc Deficiency Induces Oxidative DNA Damage and Increases P53 Expression in Human Lung Fibroblasts. *J Nutr*, **2003**, *133* (8), 2543–2548. <https://doi.org/10.1093/jn/133.8.2543>.
- [122] Erkekoglu, P.; Giray, B.; Rachidi, W.; Hininger-Favier, I.; Roussel, A.; Favier, A.; Hincal, F. Effects of Di(2-ethylhexyl)Phthalate on Testicular Oxidant/Antioxidant Status in Selenium-deficient and Selenium-supplemented Rats. *Environ Toxicol*, **2014**, *29* (1), 98–107. <https://doi.org/10.1002/tox.20776>.

- [123] Yu, H.; Zhen, J.; Leng, J.; Cai, L.; Ji, H.; Keller, B. B. Zinc as a Countermeasure for Cadmium Toxicity. *Acta Pharmacol Sin*, **2021**, *42* (3), 340–346. <https://doi.org/10.1038/s41401-020-0396-4>.
- [124] Maret, W. The Function of Zinc Metallothionein: A Link between Cellular Zinc and Redox State. *J Nutr*, **2000**, *130* (5), 1455S-1458S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1455S>.
- [125] Soghoian, D. Z.; Streeck, H. Cytolytic CD4+ T Cells in Viral Immunity. *Expert Rev Vaccines*, **2010**, *9* (12), 1453–1463. <https://doi.org/10.1586/erv.10.132>.
- [126] Bray, T. M.; Bettger, W. J. The Physiological Role of Zinc as an Antioxidant. *Free Radic Biol Med*, **1990**, *8* (3), 281–291. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(90\)90076-U](https://doi.org/10.1016/0891-5849(90)90076-U).
- [127] Prasad, A. S. Zinc Deficiency. *BMJ*, **2003**, *326* (7386), 409–410. <https://doi.org/10.1136/bmj.326.7386.409>.
- [128] Prasad, A. S.; Kucuk, O. Zinc in Cancer Prevention. *Cancer and Metastasis Reviews*, **2002**, *21* (3/4), 291–295. <https://doi.org/10.1023/A:1021215111729>.
- [129] Powell, S. R. The Antioxidant Properties of Zinc. *J Nutr*, **2000**, *130* (5), 1447S-1454S. <https://doi.org/10.1093/jn/130.5.1447S>.
- [130] Ho, E.; Ames, B. N. Low Intracellular Zinc Induces Oxidative DNA Damage, Disrupts P53, NFκB, and AP1 DNA Binding, and Affects DNA Repair in a Rat Glioma Cell Line. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2002**, *99* (26), 16770–16775. <https://doi.org/10.1073/pnas.222679399>.
- [131] Hollstein, M.; Sidransky, D.; Vogelstein, B.; Harris, C. C. P53 Mutations in Human Cancers. *Science (1979)*, **1991**, *253* (5015), 49–53. <https://doi.org/10.1126/science.1905840>.
- [132] Roney, N.; Osier, M.; Paikoff, S. J.; Smith, C. V.; Williams, M.; De Rosa, C. T. ATSDR Evaluation of the Health Effects of Zinc and Relevance to Public Health. *Toxicol Ind Health*, **2006**, *22* (10), 423–493. <https://doi.org/10.1177/0748233706074173>.
- [133] Cousins, R. J. Absorption, Transport, and Hepatic Metabolism of Copper and Zinc: Special Reference to Metallothionein and Ceruloplasmin. *Physiol Rev*, **1985**, *65* (2), 238–309. <https://doi.org/10.1152/physrev.1985.65.2.238>.
- [134] Petroski, W.; Minich, D. M. Is There Such a Thing as “Anti-Nutrients”? A Narrative Review of Perceived Problematic Plant Compounds. *Nutrients*, **2020**, *12* (10), 2929. <https://doi.org/10.3390/nu12102929>.
- [135] Pala, V.; Agnoli, C.; Cavalleri, A.; Rinaldi, S.; Orlandi, R.; Segrado, F.; Venturelli, E.; Vinceti, M.; Krogh, V.; Sieri, S. Prediagnostic Levels of Copper and Zinc and Breast Cancer Risk in the ORDET Cohort. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **2022**, *31* (6), 1209–1215. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-21-1252>.
- [136] Stepien, M.; Jenab, M.; Freisling, H.; Becker, N.-P.; Czuban, M.; Tjønneland, A.; Olsen, A.; Overvad, K.; Boutron-Ruault, M.-C.; Mancini, F. R.; et al. Pre-Diagnostic Copper and Zinc Biomarkers and Colorectal Cancer Risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Cohort. *Carcinogenesis*, **2017**, *38* (7), 699–707. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgx051>.
- [137] Park, S.; Wilkens, L. R.; Morris, J. S.; Henderson, B. E.; Kolonel, L. N. Serum Zinc and Prostate Cancer Risk in a Nested Case–Control Study: The Multiethnic Cohort. *Prostate*, **2013**, *73* (3), 261–266. <https://doi.org/10.1002/pros.22565>.
- [138] Stepien, M.; Hughes, D. J.; Hybsier, S.; Bamia, C.; Tjønneland, A.; Overvad, K.; Affret, A.; His, M.; Boutron-Ruault, M.-C.; Katzke, V.; et al. Circulating Copper and Zinc Levels and Risk of Hepatobiliary Cancers in Europeans. *Br J Cancer*, **2017**, *116* (5), 688–696. <https://doi.org/10.1038/bjc.2017.1>.
- [139] Ma, X.; Yang, Y.; Li, H.; Zheng, W.; Gao, J.; Zhang, W.; Yang, G.; Shu, X.; Xiang, Y. Dietary Trace Element Intake and Liver Cancer Risk: Results from Two Population-based Cohorts in China. *Int J Cancer*, **2017**, *140* (5), 1050–1059. <https://doi.org/10.1002/ijc.30522>.
- [140] Bengtsson, Y.; Sandsveden, M.; Borgquist, S.; Manjer, J. Serum Zinc and Dietary Intake of Zinc in Relation to Risk of Different Breast Cancer Subgroups and Serum Levels as a Marker of Intake: A Prospective Nested Case–Control Study. *Breast Cancer Res Treat*, **2021**, *189* (2), 571–583. <https://doi.org/10.1007/s10549-021-06318-0>.
- [141] Banim, P. J. R.; Luben, R.; McTaggart, A.; Welch, A.; Wareham, N.; Khaw, K.-T.; Hart, A. R. Dietary Antioxidants and the Aetiology of Pancreatic Cancer: A Cohort Study Using Data from

- Food Diaries and Biomarkers. *Gut*, **2013**, *62* (10), 1489–1496. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-301908>.
- [142] Han, X.; Li, J.; Brasky, T. M.; Xun, P.; Stevens, J.; White, E.; Gammon, M. D.; He, K. Antioxidant Intake and Pancreatic Cancer Risk. *Cancer*, **2013**, *119* (7), 1314–1320. <https://doi.org/10.1002/cncr.27936>.
- [143] Bai, Y.; Wang, G.; Fu, W.; Lu, Y.; Wei, W.; Chen, W.; Wu, X.; Meng, H.; Feng, Y.; Liu, Y.; et al. Circulating Essential Metals and Lung Cancer: Risk Assessment and Potential Molecular Effects. *Environ Int*, **2019**, *127*, 685–693. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.04.021>.
- [144] Hara, A.; Sasazuki, S.; Inoue, M.; Iwasaki, M.; Shimazu, T.; Sawada, N.; Yamaji, T.; Takachi, R.; Tsugane, S. Zinc and Heme Iron Intakes and Risk of Colorectal Cancer: A Population-Based Prospective Cohort Study in Japan. *Am J Clin Nutr*, **2012**, *96* (4), 864–873. <https://doi.org/10.3945/ajcn.112.041202>.
- [145] Lee, D.-H.; Anderson, K. E.; Harnack, L. J.; Folsom, A. R.; Jacobs, D. R. Heme Iron, Zinc, Alcohol Consumption, and Colon Cancer: Iowa Women’s Health Study. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, **2004**, *96* (5), 403–407. <https://doi.org/10.1093/jnci/djh047>.
- [146] Zhang, X.; Giovannucci, E. L.; Smith-Warner, S. A.; Wu, K.; Fuchs, C. S.; Pollak, M.; Willett, W. C.; Ma, J. A Prospective Study of Intakes of Zinc and Heme Iron and Colorectal Cancer Risk in Men and Women. *Cancer Causes & Control*, **2011**, *22* (12), 1627–1637. <https://doi.org/10.1007/s10552-011-9839-z>.
- [147] Hansen, R. D.; Albieri, V.; Tjønneland, A.; Overvad, K.; Andersen, K. K.; Raaschou-Nielsen, O. Effects of Smoking and Antioxidant Micronutrients on Risk of Colorectal Cancer. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, **2013**, *11* (4), 406–415.e3. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2012.10.039>.
- [148] Gonzalez, A.; Peters, U.; Lampe, J. W.; White, E. Zinc Intake From Supplements and Diet and Prostate Cancer. *Nutr Cancer*, **2009**, *61* (2), 206–215. <https://doi.org/10.1080/01635580802419749>.
- [149] Wang, Y.; Jafar, T. H.; Jin, A.; Yuan, J.-M.; Koh, W.-P. Dietary Intakes of Trace Elements and the Risk of Kidney Cancer: The Singapore Chinese Health Study. *Nutr Cancer*, **2021**, *73* (2), 239–245. <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1743870>.
- [150] Tu, K.; Liu, K.; Wang, Y.; Jiang, Y.; Zhang, C. Association of Dietary Intake of Zinc and Selenium with Breast Cancer Risk: A Case-Control Study in Chinese Women. *Nutrients*, **2023**, *15* (14), 3253. <https://doi.org/10.3390/nu15143253>.
- [151] Li, L.; Gai, X. The Association between Dietary Zinc Intake and Risk of Pancreatic Cancer: A Meta-Analysis. *Biosci Rep*, **2017**, *37* (3). <https://doi.org/10.1042/BSR20170155>.
- [152] Białkowska, K.; Marciniak, W.; Muszyńska, M.; Baszuk, P.; Gupta, S.; Jaworska-Bieniek, K.; Sukiennicki, G.; Durda, K.; Gromowski, T.; Prajzendanc, K.; et al. Association of Zinc Level and Polymorphism in MMP-7 Gene with Prostate Cancer in Polish Population. *PLoS One*, **2018**, *13* (7), e0201065. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201065>.
- [153] Charoenngam, N.; Ponvilawan, B.; Ungprasert, P. Higher Zinc Intake Is Associated with Decreased Risk of Lung Cancer. *J Evid Based Med*, **2021**, *14* (3), 185–187. <https://doi.org/10.1111/jebm.12448>.
- [154] Mahabir, S.; Spitz, M. R.; Barrera, S. L.; Beaver, S. H.; Etzel, C.; Forman, M. R. Dietary Zinc, Copper and Selenium, and Risk of Lung Cancer. *Int J Cancer*, **2007**, *120* (5), 1108–1115. <https://doi.org/10.1002/ijc.22451>.
- [155] Chen, F.; Wang, J.; Chen, J.; Yan, L.; Hu, Z.; Wu, J.; Bao, X.; Lin, L.; Wang, R.; Cai, L.; et al. Serum Copper and Zinc Levels and the Risk of Oral Cancer: A New Insight Based on Large-scale Case–Control Study. *Oral Dis*, **2019**, *25* (1), 80–86. <https://doi.org/10.1111/odi.12957>.
- [156] Cunzhi, H.; Jiexian, J.; Xianwen, Z.; Jingang, G.; Shumin, Z.; Lili, D. Serum and Tissue Levels of Six Trace Elements and Copper/Zinc Ratio in Patients with Cervical Cancer and Uterine Myoma. *Biol Trace Elem Res*, **2003**, *94* (2), 113–122. <https://doi.org/10.1385/BTER:94:2:113>.
- [157] Gallus, S.; Foschi, R.; Negri, E.; Talamini, R.; Franceschi, S.; Montella, M.; Ramazzotti, V.; Tavani, A.; Dal Maso, L.; La Vecchia, C. Dietary Zinc and Prostate Cancer Risk: A Case-Control Study from Italy. *Eur Urol*, **2007**, *52* (4), 1052–1057. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2007.01.094>.



- [158] Zhou, W.; Park, S.; Liu, G.; Miller, D. P.; Wang, L. I.; Pothier, L.; Wain, J. C.; Lynch, T. J.; Giovannucci, E.; Christiani, D. C. Dietary Iron, Zinc, and Calcium and the Risk of Lung Cancer. *Epidemiology*, **2005**, *16* (6), 772–779. <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000181311.11585.59>.
- [159] Wang, Y.; Sun, Z.; Li, A.; Zhang, Y. Association between Serum Zinc Levels and Lung Cancer: A Meta-Analysis of Observational Studies. *World J Surg Oncol*, **2019**, *17* (1), 78. <https://doi.org/10.1186/s12957-019-1617-5>.
- [160] Carey, P.; Low, E.; Harper, E.; Stack, M. S. Metalloproteinases in Ovarian Cancer. *Int J Mol Sci*, **2021**, *22* (7), 3403. <https://doi.org/10.3390/ijms22073403>.
- [161] Harris, E. D. Copper as a Cofactor and Regulator of Copper,Zinc Superoxide Dismutase ., *J Nutr*, **1992**, *122*, 636–640. [https://doi.org/10.1093/jn/122.suppl\\_3.636](https://doi.org/10.1093/jn/122.suppl_3.636).
- [162] Hellman, N. E.; Kono, S.; Mancini, G. M.; Hoogeboom, A. J.; de Jong, G. J.; Gitlin, J. D. Mechanisms of Copper Incorporation into Human Ceruloplasmin. *Journal of Biological Chemistry*, **2002**, *277* (48), 46632–46638. <https://doi.org/10.1074/jbc.M206246200>.
- [163] Ayala, A.; Muñoz, M. F.; Argüelles, S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid Med Cell Longev*, **2014**, *2014*, 1–31. <https://doi.org/10.1155/2014/360438>.
- [164] Pap, J. S.; Szywriel, Ł.; Rowińska-Żyrek, M.; Nikitin, K.; Fritsky, I. O.; Kozłowski, H. An Efficient Copper(III) Catalyst in the Four Electron Reduction of Molecular Oxygen by L-Ascorbic Acid. *J Mol Catal A Chem*, **2011**, *334* (1–2), 77–82. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2010.10.026>.
- [165] Iakovidis, I.; Delimaris, I.; Piperakis, S. M. Copper and Its Complexes in Medicine: A Biochemical Approach. *Mol Biol Int*, **2011**, *2011*, 1–13. <https://doi.org/10.4061/2011/594529>.
- [166] Urso, E.; Maffia, M. Behind the Link between Copper and Angiogenesis: Established Mechanisms and an Overview on the Role of Vascular Copper Transport Systems. *J Vasc Res*, **2015**, *52* (3), 172–196. <https://doi.org/10.1159/000438485>.
- [167] Cheng, F.; Peng, G.; Lu, Y.; Wang, K.; Ju, Q.; Ju, Y.; Ouyang, M. Relationship between Copper and Immunity: The Potential Role of Copper in Tumor Immunity. *Front Oncol*, **2022**, *12*. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.1019153>.
- [168] Osredkar, J. Copper and Zinc, Biological Role and Significance of Copper/Zinc Imbalance. *J Clin Toxicol*, **2011**, *s3* (01). <https://doi.org/10.4172/2161-0495.S3-001>.
- [169] Gurer-Orhan, H.; Ince, E.; Konyar, D.; Saso, L.; Suzen, S. The Role of Oxidative Stress Modulators in Breast Cancer. *Curr Med Chem*, **2018**, *25* (33), 4084–4101. <https://doi.org/10.2174/0929867324666170711114336>.
- [170] Lee, J. D.; Cai, Q.; Shu, X. O.; Nechuta, S. J. The Role of Biomarkers of Oxidative Stress in Breast Cancer Risk and Prognosis: A Systematic Review of the Epidemiologic Literature. *J Womens Health*, **2017**, *26* (5), 467–482. <https://doi.org/10.1089/jwh.2016.5973>.
- [171] Fischer, P. W.; Giroux, A.; L'Abbé, M. R. The Effect of Dietary Zinc on Intestinal Copper Absorption. *Am J Clin Nutr*, **1981**, *34* (9), 1670–1675. <https://doi.org/10.1093/ajcn/34.9.1670>.
- [172] Mezzetti, A.; Pierdomenico, S. D.; Costantini, F.; Romano, F.; De Cesare, D.; Cuccurullo, F.; Imbustaro, T.; Riario-Sforza, G.; Di Giacomo, F.; Zuliani, G.; et al. Copper/Zinc Ratio and Systemic Oxidant Load: Effect of Aging and Aging-Related Degenerative Diseases. *Free Radic Biol Med*, **1998**, *25* (6), 676–681. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00109-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00109-9).
- [173] Feng, Y.; Zeng, J.-W.; Ma, Q.; Zhang, S.; Tang, J.; Feng, J.-F. Serum Copper and Zinc Levels in Breast Cancer: A Meta-Analysis. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **2020**, *62*, 126629. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2020.126629>.

## 15. Oświadczenia współautorów publikacji

Lek. Milena Matuszczak

Indywidualna Praktyka Lekarska Milena Matuszczak

Ul. Ks. Jana Dzierżonia 28

71-792 Szczecin

### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

Mój wkład pracy polegał na zaplanowaniu badania, opracowaniu bazy danych pacjentów włączonych do badania, analizie wyników, przygotowaniu manuskryptu i wyniósł 25,5%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>**

Mój wkład pracy polegał na zaplanowaniu badania, opracowaniu bazy danych pacjentów włączonych do badania, analizie wyników, przygotowaniu manuskryptu i wyniósł 27%.



Lek. Milena Matuszczak

Lek. Adam Kiljańczyk  
Uniwersytecki Szpital Kliniczny nr 1 im. prof. Tadeusza Sokołowskiego  
Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

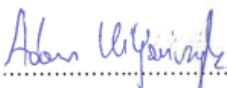
Mój wkład pracy polegał na opracowaniu bazy danych pacjentów włączonych do badania, analizie wyników i wyniósł 6%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>**

Mój wkład pracy polegał na opracowaniu bazy danych pacjentów włączonych do badania, analizie wyników i wyniósł 6%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Lek. Adam Kiljańczyk

Prof. dr hab. n. med. Jan Lubiński  
Zakład Genetyki i Patomorfologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na zaplanowaniu badania, nadzorze merytorycznym nad projektem, zarządzaniu danymi, korekcie manuskryptu, rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 28%.

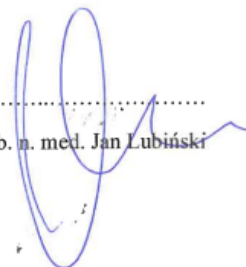
**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na zaplanowaniu badania, nadzorze merytorycznym nad projektem, zarządzaniu danymi, korekcie manuskryptu, rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 29%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.

.....  
Prof. dr hab. n. med. Jan Lubiński



Dr n. med. Wojciech Marciniak  
Read-Gene  
Grzeczna, Ul. Alabastrowa 8  
72-003 Dobra

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>


Mój wkład pracy polegał na opracowaniu bazy danych pacjentów włączonych do badania, pomiarze próbek i wyniósł 5%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na opracowaniu bazy danych pacjentów włączonych do badania, analizie wyników, pomiarze próbek i wyniósł 6%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr n. med. Wojciech Marciniak

Dr n. med. Róża Derkacz  
Read-Gene  
Grzeczna, Ul. Alabastrowa 8  
72-003 Dobra

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na opracowaniu bazy danych pacjentów włączonych do badania, pomiarze próbek i wyniósł 2%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na opracowaniu bazy danych pacjentów włączonych do badania, pomiarze próbek i wyniósł 2%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr n. med. Róża Derkacz

Dr n. med. Klaudia Stempa  
Zakład Genetyki i Patomorfologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

Mój wkład pracy polegał na opracowaniu bazy danych pacjentów włączonych do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>**

Mój wkład pracy polegał na opracowaniu bazy danych pacjentów włączonych do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr n. med. Klaudia Stempa

Dr n. med. Piotr Baszuk  
Zakład Genetyki i Patomorfologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na przeprowadzeniu analizy statystycznej wyników, i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na przeprowadzeniu analizy statystycznej wyników, i wyniósł 1,5%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr n. med. Piotr Baszuk



Dr n. med. Marta Bryśkiewicz  
Zakład Genetyki i Patomorfologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

Mój wkład pracy polegał na przeprowadzeniu analizy statystycznej wyników i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>**

Mój wkład pracy polegał na przeprowadzeniu analizy statystycznej wyników i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr n. med. Marta Bryśkiewicz

Ping Sun  
Women's College Research Institute  
Women's College Hospital, University of Toronto  
Toronto, ON M5G 1N8, Canada

DECLARATION

(OŚWIADCZENIE)

I acknowledge my contribution to the preparation of the following scientific publications:

(Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych.)

**"Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers." *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

My contribution to the work was the statistical analysis of the results, and amounted to 1%.

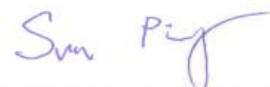
(Mój wkład pracy polegał na przeprowadzeniu analizy statystycznej wyników i wyniósł 1%.)

Simultaneously, I agree to submit the above-mentioned work by dr. Milena Matuszczak as a doctoral thesis in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned works indicates the individual contribution of dr. Milena Matuszczak in the conception, development and interpretation of the results.

(Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowych.)

(Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.)



Ping Sun

Angela Cheriyan  
Women's College Research Institute  
Women's College Hospital, University of Toronto  
Toronto, ON M5G 1N8, Canada

#### DECLARATION

(OŚWIADCZENIE)

I acknowledge my contribution to the preparation of the following scientific publications:

(Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych.)

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

My contribution to the work consisted of the preparation of the manuscript, and amounted to 0,5%.

(Mój wkład pracy polegał na nadzorze merytorycznym nad projektem, korekcie manuskryptu i wyniósł 0,5%.)

Simultaneously, I agree to submit the above-mentioned work by dr. Milena Matuszczak as a doctoral thesis in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned works indicates the individual contribution of dr. Milena Matuszczak in the conception, development and interpretation of the results.

(Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Mileny Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopiśmie naukowych.)

(Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.)

*Angelac*

.....  
Angela Cheriyan

Prof. dr hab. n. med. Cezary Cybulski  
Zakład Genetyki i Patomorfologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 3%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 3%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.

Prof. dr hab. n. med. Cezary Cybulski

Prof. dr hab. n. med. Tadeusz Dębniak  
Zakład Genetyki i Patomorfologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>


Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.

  
.....  
Prof. dr hab. n. med. Tadeusz Dębniak

Prof. dr hab. n. med. Jacek Gronwald  
Zakład Genetyki i Patomorfologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 3%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 3%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Prof. dr hab. n. med. Jacek Gronwald

Dr hab. n. med. Tomasz Huzarski prof. UZ  
Zakład Genetyki i Patomorfologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 3%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 3%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr hab. n. med. Tomasz Huzarski prof. UZ

Prof. dr hab. n. med. Marcin Lener  
Zakład Genetyki i Patomorfologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na analizie molekularnej DNA pacjentów i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na analizie molekularnej DNA pacjentów i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Prof. dr hab. n. med. Marcin Lener



Prof. dr hab. n. med. Anna Jakubowska  
Zakład Genetyki I Patomorfologii  
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie  
Ul. Unii Lubelskiej 1  
71-252 Szczecin

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na analizie molekularnej DNA pacjentów i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na analizie molekularnej DNA pacjentów i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.

.....*A. Jakubowska*.....

Prof. dr hab. n. med. Anna Jakubowska

Dr n. med. Marek Szwiec  
Katedra Chirurgii i Onkologii  
Uniwersytet Zielonogórski  
Ul. Zyty 28  
65-046 Zielona Góra

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr n. med. Marek Szwiec

Dr n. med. Małgorzata Stawicka-Nielacna  
Katedra Genetyki Klinicznej i Patomorfologii  
Uniwersytet Zielonogórski  
Ul. Zyty 28  
65-046 Zielona Góra

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.

*M. Pawlicha Met au*

Dr n. med. Małgorzata Stawicka-Nielacna

Dr n. med. Dariusz Godlewski  
Ośrodek Profilaktyki i Epidemiologii Nowotworów  
Ul. Kazimierza Wielkiego 24/26  
61-863 Poznań

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.

  
.....  
Dr n. med. Dariusz Godlewski

Lek. Artur Prusaczyk  
Centrum Medyczo-Diagnostyczne Sp. z o. o.  
Ul. Nikłowa 9  
08-110 Siedlce

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

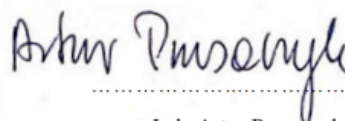
Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>**

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



.....  
Lek. Artur Prusaczyk

Dr n. med. Andrzej Jasiewicz  
Poradnia Genetyki Onkologicznej  
Szpital Specjalistyczny w Brzozowie  
Podkarpacki Ośrodek Onkologiczny  
Ul. Bielawskiego 18  
36-200 Brzozów

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

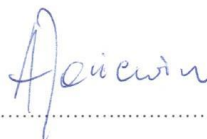
Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania, i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania, i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr n. med. Andrzej Jasiewicz

Prof. dr hab. n. med. Tomasz Kluz  
Katedra Ginekologii i Położnictwa  
Instytut Nauk Medycznych / Kolegium Nauk Medycznych  
Uniwersytet Rzeszowski  
Ul. Rejtana 16c  
35-959 Rzeszów

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



.....  
Prof. dr hab. n. med. Tomasz Kluz

Dr n. med. Joanna Tomiczek-Szwiec  
Zakład Biologii i Genetyki Collegium Medicum  
Uniwersytet Opolski  
Ul. Oleska 48  
45-052 Opole

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.

*Joanna Tomiczek-Szwiec*

Dr n. med. Joanna Tomiczek-Szwiec



Dr n. med. Ewa Kilar-Kobierzycka  
Oddział Onkologii Klinicznej  
Regionalny Szpital Specjalistyczny „Latawiec”  
Ul. Leśna 27-29  
58-100 Świdnica

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

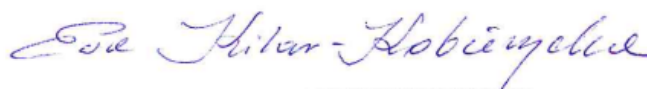
Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



.....  
Dr n. med. Ewa Kilar-Kobierzycka

Dr n. med. Monika Siołek  
Świętokrzyskie Centrum Onkologii  
Ul. Stefana Artwińskiego 3  
25-734 Kielce

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr n. med. Monika Siołek

Dr n. med. Rafał Wiśniowski  
Beskidzkie Centrum Onkologii  
Szpital Miejski im. Jana Pawła II w Bielsku-Białej  
Ul. Wyzwolenia 18  
43-300 Bielsko-Biała

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr n. med. Rafał Wiśniowski

Dr n. med. Renata Posmyk  
Zakład Genetyki Klinicznej  
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku  
Ul. Waszyngtona 13  
15-269 Białystok

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Dr n. med. Renata Posmyk

Mgr Joanna Jarkiewicz-Tretyn  
NZOZ Pracownia Genetyki Nowotworów  
Ul. Marii Skłodowskiej-Curie 73  
87-000 Toruń

#### OŚWIADCZENIE

Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(5):609.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13050609>

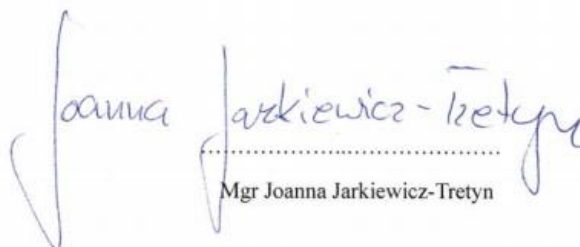
Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.”** *Antioxidants*. 2024; 13(7):841.  
<https://doi.org/10.3390/antiox13070841>

Mój wkład pracy polegał na rekrutacji pacjentów do badania i wyniósł 1%.

Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Milenę Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.

Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.



Mgr Joanna Jarkiewicz-Tretyn

Prof. Rodney J. Scott  
Medical Genetics, Hunter Medical Research Institute,  
Priority Research Centre for Cancer Research,  
Innovation and Translation, School of Biomedical Sciences and Pharmacy,  
Faculty of Health and Medicine, University of Newcastle,  
Pathology North, John Hunter Hospital,  
Lookout Road,  
Newcastle, NSW 2305, Australia

DECLARATION  
(OŚWIADCZENIE)

I acknowledge my contribution to the preparation of the following scientific publications:  
(Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych:)

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

My contribution to the work consisted of factual supervision of the project, proofreading of the manuscript, and amounted to 2%.

(Mój wkład pracy polegał na nadzorze merytorycznym nad projektem, korekcie manuskryptu i wyniósł 2%.)

**“Antioxidant Properties of Zinc and Copper—Blood Zinc-to Copper-Ratio as a Marker of Cancer Risk BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(7):841. <https://doi.org/10.3390/antiox13070841>**

My contribution to the work consisted of factual supervision of the project, proofreading of the manuscript, and amounted to 2%.

(Mój wkład pracy polegał na nadzorze merytorycznym nad projektem, korekcie manuskryptu i wyniósł 2%.)

Simultaneously, I agree to submit the above-mentioned work by dr. Milena Matuszczak as a doctoral thesis in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned works indicates the individual contribution of dr. Milena Matuszczak in the conception, development and interpretation of the results.

(Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Mileny Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.)

(Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.)

Prof. Rodney J. Scott



Prof. Steven A. Narod  
Women's College Research Institute  
Women's College Hospital, University of Toronto  
Toronto, ON M5G 1N8, Canada

#### DECLARATION

(OŚWIADCZENIE)

I acknowledge my contribution to the preparation of the following scientific publications:

(Potwierdzam mój wkład pracy w przygotowanie następujących publikacji naukowych.)

**“Zinc and Its Antioxidant Properties: The Potential Use of Blood Zinc Levels as a Marker of Cancer Risk in BRCA1 Mutation Carriers.” *Antioxidants*. 2024; 13(5):609. <https://doi.org/10.3390/antiox13050609>**

My contribution to the work consisted of factual supervision of the project, proofreading of the manuscript, and amounted to 3%.

(Mój wkład pracy polegał na nadzorze merytorycznym nad projektem, korekcie manuskryptu i wyniósł 3%.)

Simultaneously, I agree to submit the above-mentioned work by dr. Milena Matuszczak as a doctoral thesis in the form of a thematically coherent collection of scientific articles published in scientific journals.

I declare that the independent and separable part of the above-mentioned works indicates the individual contribution of dr. Milena Matuszczak in the conception, development and interpretation of the results.

(Jednocześnie wyrażam zgodę na przedłożenie w/w prac przez lek. Mileny Matuszczak jako rozprawy doktorskiej w formie spójnego tematycznie zbioru artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach naukowych.)

(Oświadczam, iż samodzielna i możliwa do wyodrębnienia część w/w prac wskazuje na indywidualny wkład lek. Mileny Matuszczak przy opracowywaniu koncepcji, opracowywaniu i interpretacji wyników.)



Prof. Steven A. Narod