

BRYSTKREFT:
Hvordan virker antioksidanter
forebyggende, og har frukt og grønt en reell
effekt?



Kristiane Woie

Det medisinske fakultet – Universitetet i Oslo

BRYSTKREFT: Hvordan virker antioksidanter forebyggende, og har frukt og grønt en reell effekt?

Kristiane Woie
Profesjonsstudiet i medisin
Det medisinske fakultet, Universitetet i Oslo

Veileder:
Professor Giske Ursin. Avdeling for ernæringsvitenskap, Institutt for medisinske basalfag.

Våren 2009

Abstract

Title: BREAST CANCER: What is the mechanism behind antioxidants anticarcinogenic effect, and do fruits and vegetables have a protective role?

Author: Kristiane Woie, University of Oslo, Norway

Advisor: Giske Ursin

The effect of fruit and vegetable consumption on breast cancer risk is controversial. This paper summarizes current knowledge on the association between fruit and vegetable intake and breast cancer risk. Vegetables and fruits are rich in antioxidants, and may therefore prevent cancer development by reducing oxidative damage caused by reactive species. In addition, they may also upregulate expression of tumor suppressor genes, downregulate oncogenes, modulate cancer cell proliferation and induce apoptosis. This paper mainly focuses on the effects of dietary intake of antioxidants such as carotenoids and breast cancer risk. The latest four case-control studies recently published on the topic were compared; 1) Mignone et al. (2009) 2) Wang et al. (2009) 3) Huang et al. (2007) and 4) Zhang et al. (2009). Even though they all examined the intake of carotenoids and the risk of breast cancer, their results differ immensely. The first study carried out in the U.S found that high consumption of carotenoids may reduce the risk of premenopausal, but not postmenopausal cancer. The second study, also carried out in the U.S, did not find a protective effect of dietary antioxidants. On the other hand, both studies (3rd and 4th) among Chinese women, found an inverse association between intake of carotenoid rich fruits and vegetables and breast cancer risk. The potential effects of dietary antioxidants on breast cancer risk have been considered in many epidemiological studies during the last 25 years, but results are still inconsistent and inconclusive.

Innholdsfortegnelse

Abstract	1
Innholdsfortegnelse	2
1 Innledning.....	3
2 Avgrensning av oppgaven.....	4
2.1 Metode	4
3 Teori	4
3.1 Hvordan utvikles kreft?	4
3.1.1 Normal cellyklus	5
3.1.2 Cancerprosessen	6
3.2 Frie radikaler og oksidativt stress.....	8
3.3 Hvorfor antas frukt og grønnsaker å ha en beskyttende effekt?	9
3.4 Forskning omkring brystkreft og frukt og grønt.....	11
3.4.1 Studiedesign	11
3.4.2 Totalinntak av frukt & grønnsaker og brystkreft	11
3.4.3 Spesifikke komponenter i frukt & grønnsaker og brystkreft.....	12
4 Diskusjon.....	14
5 Avsluttende betraktninger	19
6 Litteraturliste	20

1 Innledning

Brystkreft er den hyppigste kreftform hos kvinner i Norge, og hyppigheten tiltar med alderen. I 2006 lå den aldersjusterte brystkreft insidensen i Norge på 72,4 per 100 000 kvinner [1].

Etter oppdagelsen av cancerprosessen har forskingsfokus vært på epidemiologiske faktorer i forbindelse med brystkreftutviklingen [2]. Det har i lengre tid blitt ført demografiske deskriptive brystkreftstatistikker (eks. alder, høyde, vekt, kjønn, etnisk tilhørighet, nasjonalitet, bosted). Man ser blant annet store forskjeller i brystkreftratene i Asia sammenlignet med Nord Europa og USA [3]. Studier på immigranter antyder at miljø- og livsstil faktorer muligens har større betydning enn genetiske faktorer [4,5]. Likevel er økende alder og arvelige komponenter, bærere av mutasjoner i BRCA1 og BRCA2 genene, per dags dato de to viktigste risikofaktorene for utvikling av brystkreft. Under 3 % av alle brystkrefttilfeller forårsakes av ovenfor nevnte mutasjoner [6]. (Under normale forhold produserer BRCA 1 og BRCA 2 genene DNA reparasjons- proteiner). Av andre faktorer som har vært undersøkt, har man i hovedtrekk funnet at høyt alkoholinntak, høy konsentrasjon av østrogen (endogene- og eskogene hormoner), overvekt og overgangsalder, tidligere godartet brystkreft, samt strålebehandling som ung er helt klare risikofaktorer [2,7]. Derimot har reproduksjon og amming vist seg å ha en betydelig beskyttende effekt [8-10]. Den samme type korrelasjon er funnet for nedsatt beintetthet, eller osteoporose, da dette trolig er en markør for lavt østrogenopptak [11]. Forskning viser også at fysisk aktivitet har en overbevisende beskyttende effekt [7]. Faktorer som forskerne foreløpig ikke har funnet evidens for med hensyn til assosiert risiko er brystimplantat [12] og inntak av fett gjennom kosthold [13,14]. I dag synes det heller ikke å være entydig evidens for at miljøforurensing/miljøgifter er en risikofaktor for utvikling av brystkreft [2]. Det er heller ikke enighet om fytoøstrogener (mat basert på soyabønner) har beskyttende effekt [2,7,14].

Forskning har forsøkt å avdekke på hvilken måte kosthold kan påvirke sykdomsutviklingen [15-20]. En medvirkende årsak til kreftutvikling er muligens frie radikaler og oksidativt stress [6,21-23]. Frukt og grønnsaker er gode kilder til antioksidanter. Av den grunn ansees disse som to av de viktigste kostholds faktorene i kampen mot kreft, ettersom de kan eliminere frie radikalens ugunstige virkning.

Studier har påvist at frukt og grønnsaker har en beskyttende effekt i forbindelse med en rekke krefttyper, f.eks. coloncancer, rectumcancer [7,15-20]. Hypotesen om hvorvidt et høyt inntak av frukt og grønt også kan redusere risikoen for utviklingen av brystkreft, har derfor lenge stått i fokus.

2 Avgrensning av oppgaven

Denne oppgaven/litteraturstudien vil se nærmere på frukt og grønnsakers eventuelle beskyttende faktor med henblikk på utvikling av brystkreft. Derfor vil jeg først greie ut om prosessen omkring utviklingen av kreft og frie radikaler. Dette for å forstå hvorfor man antar at frukt og grønnsaker har en beskyttende effekt. Deretter vil jeg oppsummere noe forskning omkring brystkreft og kosthold, og da med spesiell fokus på antioksidanter som karotenoider og vitamin A. Til slutt ønsker jeg å drøfte hvorfor forskningen på området har vist slik varierende resultater.

2.1 Metode

Dette er en litteraturstudie. Av den grunn er det benyttet søkermotorer som Pubmed/MedLine/MedLine Ovid, Cochrane og Google, samt den norske legeforsknings tidsskriftdatabase. Søkeordene som ble benyttet var antioxidant(s), breast, cancer, diet, dietary, fruits, vegetables, epidemiology, pooled, studies, meta-analysis. Artikkelsøket ble også avgrenset i forhold til publikasjonsår (2007-2009), fordi det var ønskelig med den mest oppdaterte forskning på området.

Artikler som omhandler en eventuell sammenheng mellom brystkreft og serum antioksidant vitaminer, som er biomarkører for inntak, er ikke inkludert. Forskning omkring kun inntak av vitamintilskudd er også valgt bort.

3 Teori

3.1 Hvordan utvikles kreft?

Kreft defineres som ukontrollert cellevekst [7]. Dette er et resultat av gjentatte mutasjoner som fører til forandringer i hvordan den genetiske informasjonen i DNAet uttrykkes. Med

unntak av hematologisk kreft, resulterer oftest ukontrollert cellevekst i en svulst bestående av tumorceller. Dersom cellene invaderer omkringliggende vev eller metastaserer (sprer seg) til andre deler av kroppen er svulsten såkalt malign (ondartet). En svulst som ikke sprer seg, men vokser avgrenset, kan være benign (godartet). Spredning av tumorceller skjer hovedsakelig via lymfe- og blodsystemet.

Kreft kan oppstå i alle typer vev [7]. Man har ulike navn på en kreftsvulst ut i fra hvilken type vev cancerprosessen utgår fra. Disse deles inn i tre hovedtyper 1) karsinomer som utgår fra epiteliale celler, f.eks hud, lunge og tarm 2) adenokarsinomer som utgår fra kjertelvev og til sist 3) sarcomer hvorpå kreften utgår fra ben eller muskel vev.

3.1.1 Normal cellesyklus

For å forstå cancerprosessen er det viktig å ha kjennskap til den normale cellesyklusen. I den normale cellesyklusen er det en fin balanse, som er nøye regulert, mellom celledeling og apoptose (celledød)[7,24]. Denne reguleringen er kontrollert av flere type gener. Særlig to typer av gener er tilknyttet cellesyklusen, og dermed også cancerprosessen; onkogener og tumor supressor-gener. Onkogener og tumor supressor-gener er normalt tilstedet i alle celler. Noe forenklet kan man si at onkogenene har en vekstfremmende virkning (onkogener koder for vekstfaktorer, vekstfaktor reseptorer, proteiner i den intracellulære signaloverføringen og nukleære proteiner). Tumor supressor-genene har en veksthemmende virkning; (P53 og Rb genet er de to mest vanlige tumor supressor genene, P53 er involvert i celle proliferering, DNA reparasjon, apoptose og angiogenesis (nydannelse av blodårer)). Når disse genene uttrykkes normalt, reguleres cellens utvikling mht celledeling og apoptose slik den skal. I det øyeblikket disse genene uttrykkes unormalt, vil det oppstå en ubalanse mellom cellevekst og cellehemming. En økt aktivering av onkogener og inaktivering av tumor supressor gener vil dermed kunne resultere i kreftutvikling. En celles evne til å beskytte seg mot kreftutvikling eventuell evne til å reparere skade er helt avhenging av tilgang på energi og tilstrekkelig med makro- og mikroernæring.

En cellesyklus refererer til stadiene en celle må gå igjennom for å kunne dele seg til to identiske datterceller [7,24]. Syklusen er illustrert i figur 1, hvor G0 er cellen og G1, S-fasen, G2 og M-fasen er prosessen. De fleste celler hos voksne befinner seg i en inaktiv fase, G0, dvs at det ikke pågår en aktiv delingsprosess. For å entre cellesyklusen, har den normale

cellen behov for eksterne signaler (i form av vekstfaktorer/onkogener) som stimulerer til celledeling. I denne fasen er nok plass og ernæring av betydning. I løpet av G1-fasen øker cellen i størrelse og DNA replikasjonen forberedes. I syntese fasen (S-fasen) foregår selve replikasjonen av DNAet. Når DNA syntesen er ferdig, foreligger det et dobbelt anlegg av kromosomer i kjernen (DNAet duplikert) og cellen går inn i G2-fasen. I G2 fortsetter cellen å øke i størrelse og produsere nye proteiner. Til sist kommer mitose fasen (M-fasen) hvor selve celledelingen skjer, og cellen blir til to datterceller.

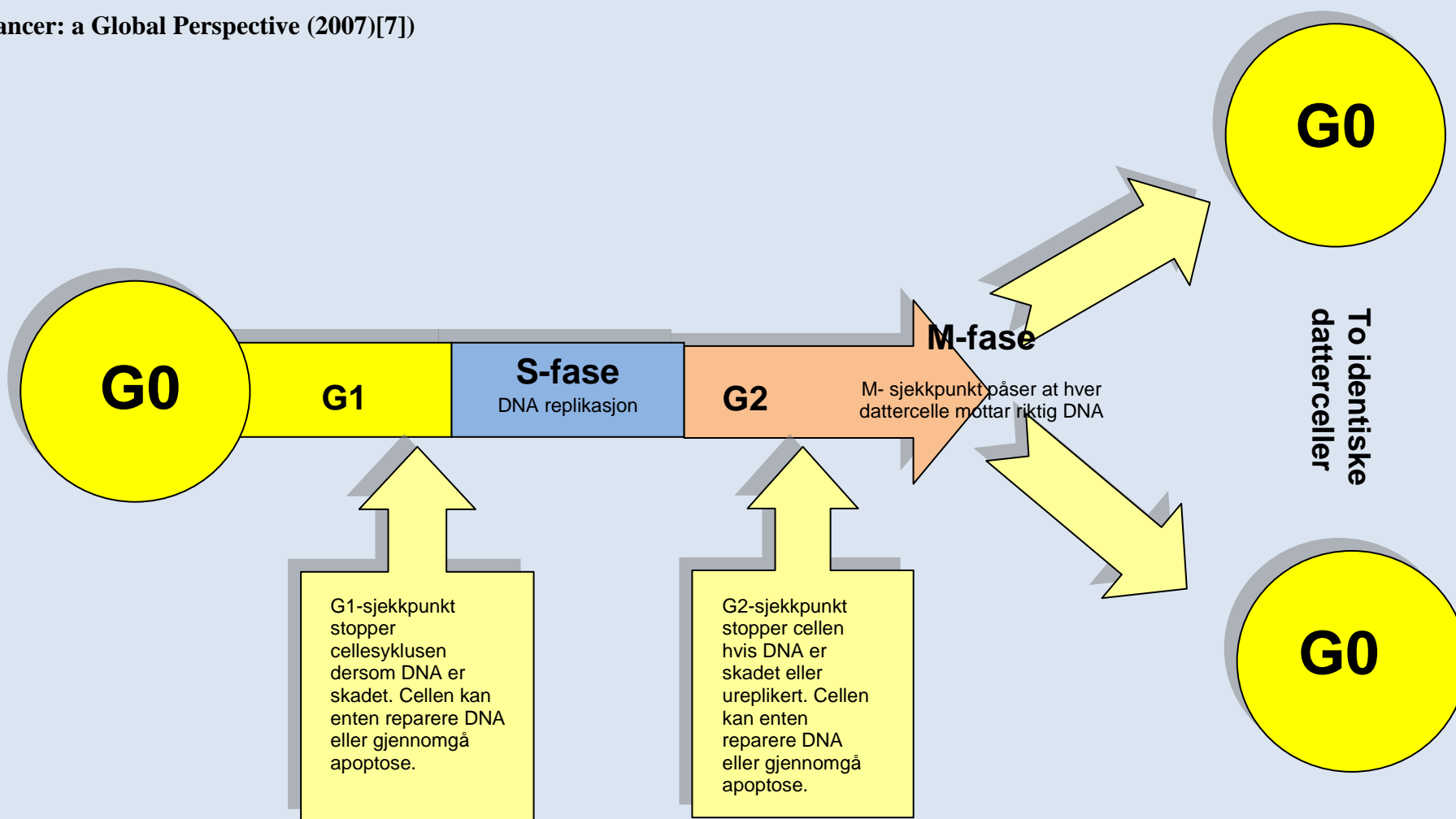
I slutten av både G1-, G2- og M-fasen må cellen gå igjennom enkelte kontrollporter før den går videre til neste trinn [7,24]. G1's kontrollport stanser cellesyklus hvis DNA skade oppdages. Dette for å påse at replikasjonen ikke fortsetter uten at feilen rettes opp. G2's kontrollport stanser også cellesyklusen hvis skade eller ureplikert DNA oppdages, i påvente av reparasjon eller eventuelt framkalt celledød. Sjekkpunktet i M-fasen forsikrer seg om at dattercellene mottar korrekt DNA.

Cellessyklusen kontrolleres av et knippe proteiner [7,24]. Disse proteinene danner et såkalt cyclin-CDK kompleks (der CDK står for cyclin-dependent kinase). Komplekset aktiverer transkripsjonsfaktorer. Transkripsjonsfaktorene er proteiner som igjen er involvert i reguleringen av gen ekspresjonen (transkripsjonen av genmaterialet /DNAet), hvor også cyclin-genene inngår.

3.1.2 Cancerprosessen

En normal celle som transformeres til en malign kreftcelle må initialt eksponeres for en agens som fører til den første genetiske mutasjonen [7]. Dette kan være en nedarvet mutasjon eller en eksogen- eller endogen faktor. Faktorer som produseres via den oksidative metabolismen. (Oksidativ metabolisme vil si at kroppens celler forbruker oksygen for å forbrenne næringsstoffer som karbohydrater, fett og proteiner under dannelse av energi. Et biprodukt av denne kjemiske reaksjonen vil være frie radikaler. Se avsnitt 3.2.) Denne initiasjonsfasen er likevel ikke i seg selv nok for å starte kreftutviklingen. Den muterte cellen må stimuleres til å gjennomgå klonal ekspansjon for å bli neoplastisk (nydannelse og abnormvekst). Risikoen for utvikling av kreft øker proporsjonalt med antallet muterte celler. Det er også viktig å være klar over at en svulst består av mer enn bare kreftceller. Det finnes en mengde andre celletyper, såkalte stromaceller som kreftcellene kommuniserer med. Disse cellene produserer proteiner (bl.a vekstfaktorer og cytokiner) som igjen er med på å fremme malign

Figur 1: Cellesyklusen (hentet og forenklet etter fig. 2.3 i rapporten *Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective* (2007)[7])



transformasjon og tumorvekst. Kreftcellene produserer på sin side substanser som er med på å kontrollere aktiviteten til svulstens stromaceller.

En kreftecelle har flere kjennetegn [7] som 1) evne til å generere egne vekstsignaler som stimulerer til celledeling, og/eller responderer på lavere konsentrasjoner fra eksterne signaler. Videre 2) responderer den ikke på veksthemmende faktorer. Til forskjell fra en normal celle, som gjennomgår apoptose etter 60-70 replikasjoner, har kreftecellen 3) et ubegrenset replikasjopotensial. Kreftecellen unngår også celledød ved 4) å mutere apoptose-induserendegener. Dessuten 5) induserer og opprettholder kreftecellen angiogenesen, og 6) invaderer omkringliggende vev ved å passere et organs basalmembran, samt har evnen til å metastasere.

3.2 Frie radikaler og oksidativt stress

Frie radikaler (atomer eller molekyler med uparede elektroner i den ytre orbital) og andre reaktive oksygen- og nitrogenforbindelse blir også dannet gjennom den normale oksidative metabolismen. Antioksidanter har evnen til å eliminere og nøytralisere slike skadelige molekyler. Dersom disse ikke settes ut av spill, kan viktige cellestrukturer som lipidmembraner, lipoproteiner, signalmekanismer og RNA eller DNA bli skadet [23]. Oppstår det en ubalanse mellom antioksidantforsvaret og de frie radikalene, vil det resultere i opphopning av oksidative skader; derav navnet oksidativt stress.

Kroppens egne celler kan selv produsere antioksidanter og enzymer med antioksidant funksjoner. De viktigste intracellulære antioksidantene er superoksid dismutase, glutathion peroksidase, glutathion, katalase, vitamin E, vitamin C og β -karoten [25]. Av ekstracellulære forsvarsmekanismer kan nevnes antioksidanter som vitamin A, vitamin C, ceruloplasmin, transferin, albumin, haptoglobin, urinsyre og den ekstracellulære form av enzymet superoksid dismutase. Kroppens eget antioksidantforsvar er likevel ikke tilstrekkelig som beskyttelse mot oksidativt stress. Derfor er mennesket helt avhengig av antioksidanter tilført via kosten. Næringsstoffer som finnes i kosten kan binde seg med frie radikaler, mens andre inngår som del i enzymsystemer. Videre har det vist seg at enkelte antioksidanter igjen har evnen til å regenerere andre antioksidanter.

3.3 Hvorfor antas frukt og grønnsaker å ha en beskyttende effekt?

Frukt og grønnsaker antas å ha en forebyggende/beskyttende effekt ettersom de inneholder rikelig med antioksidanter. I så måte kan frukt og grønt oppheve den ugunstige effekten av frie radikaler. I tillegg til vitamin C, vitamin E, beta-karoten og selen inneholder frukt og grønnsaker en rekke andre potensielle antikarsinogene stoffer f.eks glukosinolater (indoler, isothiocybanater), flavonoider, fenoler, proteasehemmere og fiber, som alle har en antioksidant virkning [20]. I selve cancerprosessen kan nevnte næringsstoffer ha en krefthemmende virkning ved at de inngår i avgjørende punkt i cellesyklusen. Se figur 2.

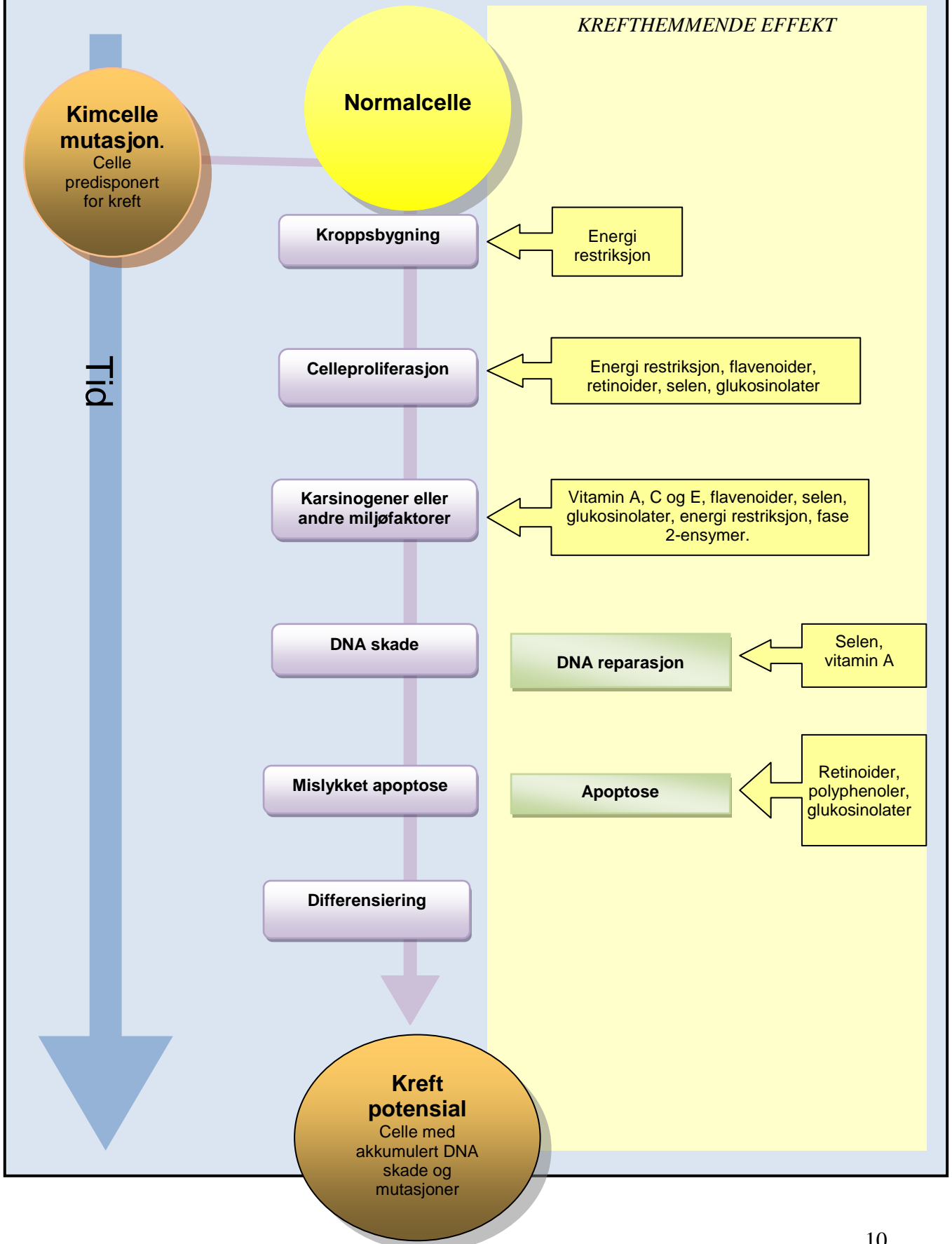
Vitamin A er en viktig bestanddel som er med å kontrollere fremdriften av cellesyklusen [26]. I form av retinol kan vitamin A for eksempel stanse opp cellesyklusen slik at cellen skal ha tid til å reparere en oppstått skade. Celleproliferasjon kan hemmes ved at retinoidene og karotenoidene binder seg til retinoide reseptorer på celleoverflaten [7]. Retinoidene kan også indusere apoptose hos muterte celler slik at proliferering forhindres. I tillegg kan de stimulere unormale celler slik at de igjen inntar sin normale form.

Sporstoffet selen fungerer som en co-faktor for den intracellulære antioksidanten glutathione peroxidase [25]. Selen kan blant annet fremme DNA reparasjon in vitro via p53 aktivering [27].

Glukosinolater blir omdannet til isothiocybanater i leveren [7]. Stoffene finnes i blant annet kålplanter. Disse kan stoppe cellesyklusen, samt indusere fase 2-enzymmer som er involvert i detoksifisering av mutagener [23]. Det har også vist seg at glukosinolater er med på å øke cellenes produksjon av fase 2-enzymmer [23]. Dyreforsøk har også vist at indol-3-carbinol kan hemme brystkreft utviklingen ved å binde seg til arylhydrokarbonreseptorer som så fører til aktivering av P450-enzymmer [20]. I tillegg kan glukosinolater stimulere DNA reparasjonsenzymmer, samt hemme enzymmer som trengs for å aktivere karsinogene stoffer [20].

Apoptose kan induseres av både retinoider, polyfenoler [28] og alfa-tokoferoler (vitamin E) [29]. Det fremgår også av dyreforsøk, utført med henblikk på brystkreft, at α -tokoferoler kan hemme metastasering av etablerte kreftsvulster [30]. Det finnes holdepunkter for at diallyl disulphid, en substans i hvitløk, muligens kan indusere apoptose [31]. Trolig henger dette sammen med en blokkering i G2 og M-fasen som så vil føre til apoptose.

Figur 2: Antioksidanternes krefthemmende virkning (hentet og forenklet utgave av fig. 2.5 i rapporten *Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective* (2007) [7])



Som beskrevet tidligere kan kreftcellene bryte igjennom cellemembranen og invadere omkringliggende vev. For at dette skal kunne være mulig, produserer og skiller kreftcellene ut enzymer som matric metalloprotease (MMPer) [7]. Disse enzymene konsumerer cellemembranen og muliggjør dermed spredning. Forskning har vist at vitamin C kan hemme produksjonen av MMPer [32].

3.4 Forskning omkring brystkreft og frukt og grønt

3.4.1 Studiedesign

Forskningen omkring brystkreft og faktorer som har beskyttende effekt har i utstrakt grad benyttet kohort eller kasus-kontroll design.

Kohort er en type studier som følger en definert gruppe (populasjon) over en gitt tidsperiode (tydelig definert) [33]. I denne perioden registreres faktorene som antas å ha en effekt på respondentene. Deltagerne har ikke fått diagnostisert sykdommen ved oppstart av studien. I så måte gir designet oss muligheten til å undersøke kausaliteten mellom faktorene og sykdommen.

Kasus-kontroll er studier som undersøker individer med sykdom versus kontroller uten sykdom [33]. Gruppene sammenlignes ved å gå retrospektivt, tilbake i tid. På den måten kan man undersøke tidsforløpet og se hvor mange av henholdsvis dem med og uten sykdom som har vært eksponert for en sykdomsfremkallende faktor. Effekten av faktorene (frukt og grønt) og sykdommen (brystkreft) måles i relativ risiko (RR). I kohort studier måles risiko ratio eller rate ratio, i kasus kontroll undersøkelser beregnes odds ratio.

3.4.2 Totalinntak av frukt & grønnsaker og brystkreft

I løpet av de siste 20 årene har det blitt gjennomført en rekke studier i forbindelse med inntak av frukt og grønnsaker. I 2000 ble en meta-analyse, av Grandini og kolleger, publisert [34]. De foretok her en sammenlikning av 26 studier (5 studier med kohort design, 21 med kasus-kontroll design). Meta-analysen antydte at brystkreftrisikoen ble signifikant redusert når høyt vs. lavt inntak av grønnsaker totalt (RR=0.75; 95% CI: 0.66-0.85), vitamin C (RR=0.80; 95% CI: 0.68-0.95) og β -karotener (RR=0.82; 95% CI: 0.76-0.91) ble sammenliknet.

Samleestimatet for konsum av frukt totalt var ikke signifikant, men syntes å indikere en mulig beskyttende effekt (RR=0.94; 95% CI: 0.79-1.11).

Smith-Warner og kollegers samleanalyse fra 2001 undersøkte frukt, fruktjuice, frukt totalt (frukt og fruktjuice), grønnsaker totalt (grønnsaker og grønnsaksjuice) og frukt og grønt totalt (frukt totalt og grønnsaker totalt) [35]. Ingen av disse faktorene var assosiert med invers risiko for brystkreft. Forskerne fant heller ingen evidens for sammenheng mellom menopausestatus og faktorene. Selv da forskerne differensierte høyt og lavt inntak av de ulike gruppene for frukt og grønnsaker (jf kvartiler), viste ikke effektmålene (RR) en redusert risiko. Effektmålene var dessuten ikke signifikante. Samleanalysen undersøkte også åtte botaniske familier, samt 17 spesifikke frukter og grønnsaker, uten å finne signifikant assosiasjon til brystkreft. Menopausestatus var heller ikke av betydning.

I 2007 utga World Cancer Research Fund & American Institute for Cancer Research en oppdatert utgave av rapporten *Food, Nutrition, Physical Activity and the prevention of Cancer: a Global Perspective* [7]. Dette er sannsynligvis den mest omfattende gjennomgang av temaet utført noensinne. Ettersom rapporten ikke fant grunnlag for å verifisere sammenhengen mellom inntak av frukt og grønnsaker og redusert brystkreftrisiko, har kun et begrenset antall nye studier blitt publisert med henblikk på totalinntak av frukt og grønnsaker etter utgivelsen i 2007. På bakgrunn av dette synes forskningen å ha tatt en ny retning. De siste årene er det blitt lagt mer vekt på å undersøke spesifikke kostholdsantioksidanter i forbindelse med brystkreftrisiko.

3.4.3 Spesifikke komponenter i frukt & grønnsaker og brystkreft

Karotenoider er blant annet noen av disse spesifikke antioksidantene som forskningsmiljøet lenge har vist stor interesse. Frem til 2007 har det riktignok blitt utført en del forskning omkring β -karoten og vitamin A og brystkreftrisikoen, uten å finne signifikant effekt. I tillegg til nevnte antioksidanter, har fokus de senere årene vært på mindre undersøkte karotenoider som α -karoten, β -cryptoxanthin, lutein/zeaxanthin, lycopene og retinol. Fire artikler omkring disse antioksidantene med interessante resultater ble publisert i 2007, 2008 og 2009. To av studiene ble gjennomført i Asia blant kinesiske kvinner, mens de resterende to i USA. Alle studiene benyttet seg av kasus-kontroll design.

Den ene amerikanske studien [36], publisert i 2009 av Mignone og kolleger, ønsket å avdekke en årsakssammenheng mellom enkelte frukter, grønnsaker, karotenoider, og vitamin A og risikoen for brystkreft. Studiet bestod av 5 707 kvinner med diagnostisert brystkreft versus 6 389 kvinner i kontrollgruppen. Forsøkspersonene var i alderen 20 til 69 år, og kom fra tre ulike stater i USA; Massachusetts, New Hampshire og Wisconsin. Kvinnene, i begge grupper, ble igjen inndelt i to undergrupper etter menopausestatus. Studien fant ingen sammenheng mellom totalinntak av frukt og grønnsaker og brystkreftrisiko i noen av gruppene. Heller ikke karotenoidrike grønnsaker var assosiert med brystkreftrisiko hos kvinner etter menopausen. Hos menstruerende kvinner derimot fant Mignone og kolleger at høyt inntak av karotenoidrike grønnsaker ga en 17 prosent redusert brystkreftsrisko. Et høyt inntak av β -karoten (p trend= 0.009), α -karoten (p trend=0.07), lutein/zeaxanthin (p trend= 0.02), og vitamin A (p trend= 0.01) ble assosiert med en invers brystkreftrisiko. Lycopene hadde ingen effekt. Forskerne fant i tillegg en signifikant reduksjon i brystkreftrisikoen ved høyt versus lavt inntak av karotenoidrik kost blant menstruerende røykere. Denne effekten ble ikke observert blant ikke røykere.

Det andre amerikanske studiet [37], også fra 2009, utført av Wang og kolleger, benyttet samme gruppeinndeling som førstnevnte studie. I tillegg differensierte de mellom spansk ættede og hvite ikke-spansk ættede kvinner for eventuelt å kunne avdekke mulige genetiske variasjoner. Respondentene i studiet var mellom 25-79 år, fra Arizona, Colorado, New Mexico og Utah. Studiet bestod av 1 498 ikke-spanskættede kvinner med diagnosen brystkreft versus 1 559 kvinner i kontrollgruppen. Den andre gruppen bestod av spansk-ættede kvinner; 763 kvinner med diagnosen brystkreft sammenlignet med 877 personer i kontrollgruppen. Forskerne undersøkte hvorvidt det var en årsakssammenheng mellom inntak av kostholds antioksidanter som α - og β -karoten, β -cryptoxhantin, lutein/zeaxanthin, lycopene, retinol, vitamin C, og α , δ , β eller γ -tocopheroler og brystkreftrisiko. Resultatene fra studiet var ikke signifikante. De ble ikke funnet noen reduksjon i brystkreftrisikoen ved inntak av ovenfor nevnte kostholdsantioksidanter i noen av gruppene, heller ikke menopausestatus eller alle kvinner sett under ett var av betydning. Også i dette studiet ble det undersøkt hvorvidt det er en interaksjon mellom inntak av kostholdsantioksidanter og røyking. Ingen effekt ble funnet i denne sammenheng.

Det første kinesiske studiet [38] undersøkte kvinner i Zhejiang provinsen. Huang og kolleger ønsket å kartlegge hvorvidt inntak av lycopene, α -kartoen, β -karoten, β -cryptoxanthin, og lutein/zeaxanthin var assosiert med en invers brystkreftrisiko. Studiet bestod av 122 kvinner med påvist brystkreft og 632 personer i kontrollgruppen. Forsøkspersonene var alle mellom 24-87 år. Studiet differensierte ikke mellom pre- og postmenopause. Etter endt studie konkluderte forskerne med at et høyt inntak av lycopene (p trend <0.001), β -karoten (p trend= 0.008), β -cryptoxanthin (p trend= 0.08), og totale karotenoider (p trend=0.001) var assosiert med en redusert brystkreftrisiko. Et høyt inntak av α -karoten og lutein/zeaxanthin hadde derimot ingen effekt.

Det andre kinesiske studiet [39], publisert i 2009 av Zhang og kolleger, ble foretatt i Guangdong provinsen. Kvinner mellom 25 og 70 år ble inkludert i studiet. Forskergruppen ønsket å avdekke hvorvidt det var en assosiasjon mellom inntak av frukt og grønnsaker og brystkreftrisiko. 438 kvinner med diagnosen brystkreft ble ”matchet” mot tilsvarende antall friske kvinner i kontrollgruppen. Kvinnene ble igjen differensiert etter menopausestatus. I dette studiet ble det funnet en sterk invers assosiasjon mellom total inntak av frukt og grønnsaker. Dersom laveste kvartil ble sammenlignet med høyeste kvartil fant man en risiko reduksjon på 72 prosent for grønnsaker og 47 prosent for frukt. Denne effekten ble observert hos både menstruerende kvinner og kvinner i overgangsalder. Videre ble det også rapportert en signifikant invers effekt mellom høyt inntak av mikroernæring som fiber, vitamin A, vitamin E, vitamin C, og karotenene og brystkreftrisiko. Retinol hadde derimot ingen effekt.

4 Diskusjon

Forskningen på inntak av frukt og grønnsaker og brystkreftrisiko har gitt svært varierende resultater, og hypotesen om at et høyt inntak av frukt og grønnsaker reduserer brystkreftrisikoen kan fremdeles ikke fastslås med sikkerhet. Når det gjelder spesifikke komponenter i frukt og grønnsaker, er sannsynligheten større med henblikk på å finne en mulig effekt, men det er fremdeles for tidlig å trekke noen konklusjon.

Det er verdt å merke seg at resultatene fra forskningen synes å variere ut i fra hvilken studiedesign som benyttes. De fleste kohort studiene [14,35,40,41] som er utført finner ingen eller kun en svak assosiasjon mellom et kosthold rikt på antioksidanter og brystkreftrisiko,

mens flere kasus-kontroll studier [38,39,42-47] tenderer til å finne en omvendt/negativ assosiasjon. Det observeres også store variasjoner innenfor studier med kasus-kontroll design. Noen av kasus-kontroll studiene finner at et generelt økt totalinntak av grønnsaker [39, 42-46] eller økt totalinntak av frukt [39,42,44-47], har beskyttende effekt i forbindelse med brystkreftutvikling. En rekke andre studier finner ikke en slik sammenheng [48-54]. Likevel er det enkelte av studiene som rapporterer at spesifikke grønnsaker [39,44,51,53,54-58] eller frukter [39,52,54] har vist seg å ha effekt. Disse variasjonene kan muligens tilskrives studiedesignen eller metoden til de enkelte studiene. Svakheten ved kasus-kontroll studier er utvilsomt utvelgelse av egnede respondenter/ forsøkspersoner. Videre kan gjenkalling av det faktiske inntaket av frukt og grønnsaker være uriktig. Dette vil føre til mindre pålitelige resultater. Kohort studier vil på sin side kunne føre til forandringer i spisevanene over tid, som igjen vil føre til dårlig klassifisering av dietten. Dette vil igjen resultere i en svekkelse av en mulig sammenheng mellom frukt og grønt inntak og kreftrisiko.

Resultantene fra de gjennomgåtte studiene viser store variasjoner til tross for lik studiedesign. Det er vanskelig å sammenligne resultatene ettersom det er betydelige forskjeller i det beregnede inntaket av spesifikke karotenoider. Det daglige β -karoteninntaket varierte eksempelvis med tre ganger fra den ene undersøkelsen i Zhejiang provinsen, Kina [38] til undersøkelsen utført i Massachusetts, New Hampshire and Wisconsin, USA [36]. Dessuten oppgir ikke undersøkelsen utført av Zhang og kolleger [39] de spesifikke karotenoidene, kun totalinntaket. Videre kan det også bemerkes at denne undersøkelsen heller ikke har oppgitt mengdene/intervallene på de ulike kvartilene.

Videre vet man at ulike kulturer har ulike dietter, og inntaket av frukt og grønnsaker varierer meget med henblikk på mengde og utvalg. Zhang og kolleger [39] påpeker at den kinesiske befolkningen i gjennomsnitt inntar et betydelig høyere inntak både av frukt og grønnsaker enn vestlige land generelt. Deres undersøkte populasjon hadde dessuten et spesielt høyt totalinntak, og stor variasjon i utvalget av frukter og grønnsaker. Har vestlige land et mer ensidig inntak av frukter og grønnsaker? Dette fremgår ikke av de gjennomgåtte amerikanske studiene. Nettopp fordi det eksisterer ulike dietter i ulike land og kulturer, vil studiedesignen i forhold til for eksempel spørreskjemaet være ulike. I studien til Zhang og kolleger ble det blant annet benyttet bilder for å kartlegge variasjonen av frukt og grønnsaker blant deltakerne. Kostanamnesen vil dessuten være retrospektiv. Forsøkspersonene kan huske feil og man vil få

en under eventuelt overrapportering. Videre kan det være en fare for unøyaktig rapportering dersom respondentene går lei av prosjektet. Noen pasienter vil kanskje legge om kostholdet etter sykdom som igjen vil kunne påvirke forskningsresultatet. I enkelte av studiene ekskluderes annen type mat/næring som kan ha betydning for absorpsjonen, for eksempel fett, kostholdsfiber. Måten maten tilbredes på vil også kunne påvirke karotenoiders biotilgjengelighet, og vil derfor være av betydning [59,60]. Denne informasjonen er kun innhentet hos Huang og kolleger [38], og kan dermed anses som en feilkilde i de andre studiene. Karotenoidinnholdet i matprodukter kan også variere. Næringsinnholdet påvirkes av hvilken høstningsmetode som er benyttet, årstid og ulike geografiske landområder; og da med spesiell henblikk på faktorer som jordsmonn, solforhold, vanntilførsel [61]. Det er heller ikke oppgitt om enkelte av forsøkspersonene har benyttet seg av kosttilskudd som inneholder karotenoider eller vitamin A. Dette har muligens hatt en innvirkning på resultatet.

Den gjennomsnittlige BMIen (body mass index) hos deltakerne i de ulike studiene varierer. Dette kan være interessant tatt i betraktning de ulike forskningsresultatene. Begge de kinesiske studiene [38,39] oppgir en gjennomsnitt BMI på rundt 22,5 hos både pasienter og kontrollgruppene. Ingen av disse studiene skiller mellom kvinnene og BMI med henblikk på menopausestatus. Studien til Wang og kolleger [37], som ble foretatt blant hvite amerikanere og de av spansk herkomst, oppgir en betydelig høyere BMI. I den ikke-spanske hvite populasjonen hadde omkring 29 prosent av respondentene en BMI mellom 25 og 30. Mens cirka 24 prosent hadde en BMI over 30. I den etnisk spanske gruppen hadde omkring 35 prosent og 33,5 prosent av pasient- og kontrollgruppen henholdsvis en BMI mellom 25 og 30, og over 30. I den andre amerikanske studien [36] hadde rundt 45 prosent av respondentene i den premenopausale gruppen en BMI under 24. Omkring 29 prosent av forsøkspersonene hadde en BMI mellom 24-27, og 26 prosent i denne gruppen hadde en BMI over 27. I den postmenopausale gruppen hadde 32 prosent av både pasient- og kontrollgruppen en BMI under 24. 34 prosent hadde en BMI mellom 24-27, og til slutt ble det oppgitt at 34 prosent hadde en BMI over 27. På bakgrunn av dette vil ikke de gjennomgåtte studiene være sammenlignbare selv om de ulike studiene har tatt høyde for BMI som en mulig konfunder i sine egne undersøkelser.

Det totale energiinntaket per dag blant forsøkspersonene er ikke målt eller oppgitt i alle studiene. Det gjennomsnittlige energiinntaket hos de kinesiske kvinnene lå på under 1500

kcal per dag, og med et standardavvik på +/- 430 kcal. Dette gjaldt både pasienter og kontrollgruppen i begge de gjennomgåtte studiene [38,39]. Blant de spanske kvinnene i studien til Wang og kolleger [37] lå både pasienter og kontrollgruppen på rundt 2500 kcal per dag, og med et standardavvik på +/- 1200 kcal. Det totale energiinntaket i studien til Mignone og kolleger [36] fremgår ikke av artikkelen. Disse forskjellene er en observasjon som er verdt å merke seg. Det har blitt utført eksperimenter på dyr i forbindelse med kalorifattig kosthold. Dette har vist seg å være et meget effektivt forebyggende tiltak i kampen mot kreft [62].

Forsøksresultatene konkluderte med at et lavt kaloriinntak fører til reduksjon i celledeling. ”Direkte vil dette føre til hemmet cellevekst og indirekte til redusert risiko for kreftutvikling grunnet reduksjon i det totale antall celledelinger. Dette kan forklares ved at et lavt kaloriinntak fører til reduserte nivåer av sirkulerende IGF-1 (en vekstfaktor) og insulin. Insulin kan i seg selv fungere som en vekstfaktor for mange celler inkludert brystkreftceller. IGF-1 stimulerer cellyklusen til å gå fra G1 til S-fasen, mens høye nivåer av insulin stimulerer til IGF-1 produksjon. Videre har det også vist seg at lavkaloridiett kan ha effekt på cellyklusens kontrollproteiner, cykliner og CDKer, som det blir dannet mindre av. Dette vil igjen hemme fremdriften i cellyklusen. Energifattig kosthold ser også ut til å skape et fordelaktig miljø for apoptose, samt reduserer blodåre tettheten. Dette går frem av undersøkte patologiske mammavev (fritt oversatt fra [7], box 2.5 energy restriction)”. Hvorvidt disse funnene, med henblikk på et kalorifattig kosthold, er relevante for mennesker er ennå usikkert og mer forskning på området gjenstår. Et lavt kaloriinntak kan bestå av forskjellige typer dietter, hvorav noen kan inneholde mye frukt og grønnsaker som hos den kinesiske populasjonen. Man kan da spekulere i, hvis dette viser seg å være gjeldende for mennesker, om det er det lave kaloriinntaket (som så fører til lavere BMI, og dermed mindre insulinproduksjon) eller om det kan være frukten og grønnsakene i seg selv som har den mest gunstige effekten? Eller har disse to forholdene en synergi effekt?

Det er lite sannsynlig at ett enkelt stoff alene kan forklare den gunstige effekten av frukt og grønnsaker. Til tross for iherdig forskning har man ennå ikke klart å avklare dette. Trolig er det en interaksjon mellom ulike stoffer via komplementære mekanismer. Forbindelser som styrker antioksidantforsvaret er gode kandidater. Nylig er det blitt avdekket hvor mye antioksidanter de ulike matproduktene inneholder [63]. I de senere år har det også blitt avdekket hvor mye karotenoider som finnes i ulike frukter og grønnsaker, og dermed er forskning på mikrostoffene blitt mulig. Likevel finnes det ingen kostanbefalinger. Dette på

grunn av den trolig varierende individuelle biotilgjengeligheten. På bakgrunn av dette vil ikke de gjennomgåtte studiene være sammenlignbare. For det første finnes det som nevnt naturlig individuelle variasjoner hos de ulike forsøkspersonene. Videre finnes det trolig store ulikheter i kostholdsmønsteret til de ulike deltakerne innefor et og samme studie. De ulike karotenoidene kan for eksempel komme fra forskjellige gruppe frukter og grønnsaker. Ulike frukter og grønnsaker kan på sin side inneholde diverse andre kjente og ukjente mikrostoffor som igjen vil kunne utøve en effekt.

”Reaktive oksygen grupper kan indusere apoptose. På en annen side vil de frie radikalenes potensielle skadelige effekt bli eliminert av antioksidanter som så vil føre til en forsinket eventuelt inhibere apoptosen, og derved favorisere overlevelsen av pre-maligne celler (fritt oversatt fra [7], s. 45)”. Dette kan kanskje være en medvirkende årsak til at forskning omkring frukt og grønnsaker har vist slik sprikende resultater?

Den amerikanske studien [37] utført av Mignone og kolleger i 2009 fant kun en beskyttende effekt av karotenoider hos premenopause kvinner. Forskerne selv antyder at dette kan ha med økt celle ”turnover” i brystepitelet under menstruasjonssyklus (grunnet økte nivåer av østrogen), som igjen fremmer kreftutvikling. Karotenoidene kan trolig virke beskyttende på denne negative østrogeneffekten. Den samme studien fant i tillegg en signifikant reduksjon i brystkreftrisikoen ved høyt versus lavt inntak av karotenoidrikkost blant menstruerende røykere. Et interessant funn ettersom enkelte kliniske forsøk postulerer at lungekreft utvikles raskere dersom man gir betakaroten til røykere [20]. Kan karotenoider ha så forskjellig virkning på ulike vev hos røykere?

I de gjennomgåtte studiene brukes frukt og grønnsaker, jf. karotenoider, som eksogen faktor, man burde kanskje målt deres endogene virkning? Kanskje det ville være hensiktsmessig med færre forsøkspersoner (en homogengruppe) i fremtidige studier? Da kunne man heller undersøke antioksidanters absorpsjon og tilgjengeligheten i kroppens celler. En slik studie ville være meget omfattende, men vil kunne gi svar på frukt og grønnsaker som endogen faktor. Eller er det slik at en mulig beskyttende effekt fra frukt og grønnsaker faktisk bør tilskrives mindre kjente antioksidanter som forekommer i kosten, og som ennå ikke har stått i forskernes fokus?

5 Avsluttende betraktninger

Både forskning og teori på frukt og grønnsaker er per dags dato ikke uttømmende i forhold til inntak og opptak av mikroernæring. Et stort internasjonalt panel bestående av en rekke forskere, engasjert av World Cancer Research Fund International/ American Institute for Cancer Research, gjennomgikk i 2007 en rekke studier vedrørende frukt og grønnsaker og dens forebyggende effekt i forbindelse med utvikling av brystkreft. Deres kvalitative vurdering finner ikke entydige resultater, og jeg slutter meg til disse betraktningene. Når det gjelder spesifikke frukter og grønnsaker og deres krefthemmende virkning er det ennå for tidlig å trekke noen konklusjon. Flere studier fokuserer nå på spesifikke komponenter i frukt og grønnsaker. Studiene har som formål å kartlegge både mekanismene bak en eventuell virkning og diverse interaksjoner. Per dags dato er arv og miljø den interaksjonen som ser ut til å ha størst betydning, og i fremtiden vil man trolig basere seg på et kosthold som er tilpasset det enkelte individ i bekjempelsen av kreft.

6 Litteraturliste

- [1] Krefregisteret. Internett: <http://www.krefregisteret.no/>
- [2] Winchester DJ, Wichester DP, Hudis CA & Norton L. (2006). *Breast Cancer* (2nd ed.). Hamilton, Canada: BC Decker.
- [3] Bray F, McCarron P, Parkin DM. (2004). The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. *Breast Cancer Res.* 6:229-239
- [4] Lacey JV Jr, Devesa SS, Brinton LA. (2002). Recent trends in breast cancer incidence and mortality. *Environ Mol Mutagen.* 39:82-8
- [5] Deapen D, Liu L, Perkins C, Bernstein L, Ross RK. (2002). Rapidly rising breast cancer incidence rates among Asian-American women. *Int J Cancer.* 99:747-50.
- [6] Ambrose, CB. (2000). Oxidants and Antioxidants in Breast Cancer. *Antioxidants and Redox Signaling.* 2 (4):903-17.
- [7] World Cancer Research Fund & American Institute for Cancer Research (2007). *Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective.* Washington DC: AICR.
- [8] Kelsy JL, Gammon MD, John EM. (1993). Reproductive and hormonal risk factors. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev.* 15(1): 36-47.
- [9] Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. (2002) Breast Cancer and breast feeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet.* 360:187-95.
- [10] Tryggvadottir L, Tulinius H, Eyfjord JE, Sigurvinnson T. (2001). Breastfeeding and reduced risk of breast cancer in an Icelandic cohort study. *Am J Epidermol.* 154:37-42.
- [11] Zmuda JM, Cauley JA, Ljung BM, Bauer DC, Cummings SR, Kuller LH. (2001). Bone mass and breast cancer risk in older women: differences by stage at diagnosis. *J Natl Cancer Inst.* 93:930-6.
- [12] Deapen D. (2007). Breast implants and breast cancer: A review of incidence, detection, mortality, and survival. *Plast Reconstr Surg.* 120 (Suppl. 1): 70S-80S.
- [13] Smith-Warner SA, Spiegelman D, Adami HO, Beeson WL, van den Brandt PA, Folsom AR, Fraser GE, Freudenheim JL, Goldbohm RA, Graham S, Kushi LH, Miller AB et al. (2001). Types of dietary fat and breast cancer: a pooled analysis of cohort studies. *Int J Cancer.* 92:767-74.

- [14] Michels, K.B., Mohllajee. A.P. Roset-Bahmanyar E, Beehler GP, Moysich KB. (2007). Diet and Breast Cancer, A Review of the Prospective Observational Studies. *Cancer*. 109(12 Suppl):2712-49.
- [15] American Cancer Society. (2006). *Advisory committee on Diet, Nutrition and cancer prevention. Guidelines on diet, nutrition and cancer prevention: reducing the risk of of cancer with healthy food choices and physical activity*. *Cancer J. Clin.* 46
- [16] World Health Organisation (WHO). (2003). *Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic diseases: Report of a WHO study group-Technical report series 797*- World Health Organisation, Geneva, Switzerland.
- [17] Liu Rand H. (2003). Health benefits of fruits and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am J Clin Nutr.* 78:517S-520S.
- [18] Vainio H, Weiderpass E. (2006). Fruit and Vegetables in Cancer Prevention. *Nutrition and Cancer*. 54(1): 111-142.
- [19] Steinmetz KA, Potter JD. (1991). Vegetables, fruit, and cancer. I. Epidemiology. *Cancer Causes Control*. 2:325-57.
- [20] Blomhoff R. (1998). Frukt og grønnsakers rolle i forebygging av kreft. *Tidsskr Nor Lægeforen*. Nr 22,118
- [21] Lindsay DG, Astley SB. (2002). European research on the functional effects of dietary antioxidants – EUROFEDA. *Molecular Aspects of Medicine* 23:1-38
- [22] Halliwell B. (1996). Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr.* 16:33-50.
- [23] Blomhoff R. (2004). Antioksidanter og oksidativtstress. *Tidsskr Nor Lægeforen*. 124:1643-5
- [24] Alberts B, Bray D, et al. (1994). *Molecular biology of the The Cell*, 3rd ed , New York and London, Garland Publishing, Inc.
- [25] Bjørneboe GE. & Drevon CA. (Eds.) (1999). *Mat og medisn*, 4.utgave, Kristiansand, Norge: Høyskoleforlaget.
- [26] Bohnsack BL, Hirschi KK. (2004). Nutrient regulation of cell cycle progression. *Annu Rev Nutr.* 24:433-53.
- [27] Seo YR, Sweeney C, Smith ML. (2002). Selenomethionine induction of DNA repair response in human fibroblasts. *Oncogene*. 21:3663-9.
- [28] Sun S, Hail N, Lotan R. (2004). Apoptosis as a novel target for cancer chemoprevention. *J Natl Cancer Inst.* 96:662-72.

- [29] Gunawardena K, Murray DK, Meikle AW. (2000). Vitamin E and other antioxidants inhibit human prostate cancer cells through apoptosis. *Prostate*. 44:287-95.
- [30] Hahn T, Szabo L, Gold M, Ramanathapuram L, Hurley LH, Akporiaye ET. (2006). Dietary administration of the proapoptotic vitamin E analogue (alpha)-tocopheryloxyacetic acid inhibits metastatic murine breast cancer. *Cancer Res*. 66:9374-8.
- [31] Knowles LM, Milner JA. (2001). Possible mechanism by which allyl sulfides suppress neoplastic cell proliferation. *J Nutr*. 131:10615-65.
- [32] Roomi MW, Ivanov V, Kalinovsky T, Niedzwiecki A, Rath M. (2006). Inhibition of matrix metalloproteinase-2 secretion and invasion by human ovarian cancer cell line SK-OV-3 with lysine, proline, arginine, ascorbic acid and green tea extract. *J Obstet Gynaecol Res*. 32:148-54.
- [33] Breien Benestad H, Laake P (Eds.) (2004). *Forskningsmetode i medisin og biofag* (1.utg.). Oslo, Norge: Gyldendal.
- [34] Grandini, S., Merzenich, H., Robertson, C. & Boyle, P. (2000). Meta-analysis of Studies on Breast Cancer Risk and Diet: the Role of Fruit and Vegetable Consumption and the Intake of Associated Micronutrients. *Eur J Cancer*, 36:636-646.
- [35] Smith-Warner SA, Spiegelman D, Yaun SS, Adami HO, Beeson WL, van den Brandt PA, Folsom AR, Fraser GE, Freudenheim JL, Goldbohm RA, Graham S, Miller AB, et al.(2001). Intake of fruits and vegetables and risk of breast cancer: A pooled analysis of cohort studies. *JAMA*. 285:769-776.
- [36] Mignone LI, Giovannucci E, Newcomb PA, Titus-Ernstoff L, Trentham-Dietz A, Hampton JM, Willett WC, Egan KM. (2009). Dietary carotenoids and the risk of invasive breast cancer. *Int. J. Cancer*. 124: 2929-2937
- [37] Wang C, Baumgartner RN, Yang D, Slattery ML, Murtaugh MA, Byers T, Hines LM, Giuliano AR, Baumgartner KB. (2009). No evidence of association between breast cancer risk and dietary carotenoids, retinols, vitamin C and tocopherols in Southwestern Hispanic and non-Hispanic White women. *Breast Cancer Res Treat*. 114:137-145.
- [38] Huang JP, Zhang M, Holman D'Arcy J, Xie X. (2007). Dietary carotenoids and risk of breast cancer in Chinese women. *Asia Pac J Clin Nutr*. 16:(Suppl 1):437-442.

- [39] Zhang CX, Ho SC, Chen YM, Fu JH, Cheng SZ, Lin FY. (2009). Greater vegetable and fruit intake is associated with lower risk of breast cancer among Chinese women. *Int. J. Cancer*. 125:181-188.
- [40] Van Gils CH, Peeters PHM, Bas Bueno-de-Mesquita H, Boshuizen HC, Lahmann PH, Clavel-Chapelon F, Kesse E, Sieri S, Palli D, Tumino R, et al. (2005). Consumption of vegetables and fruits and risk of breast cancer. *JAMA*. 293:183-193.
- [41] Zhang S, Hunter DJ, Formann MR, Rosner BA, Speizer FE, Colditz GA, Manson JE, Hankison SE, Willett WC. (1999). Dietary carotenoids and vitamins A, C, and E and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 91:547-556.
- [42] Freudenheim JL, Marshall JR, Vena JE, Laughlin R, Brasure JR, Swanson MK, Nemoto T, Graham S. (1996). Premenopausal breast cancer risk and intake of vegetables, fruits, and the related nutrients. *J Natl Cancer Inst*. 88:340-8.
- [43] Andzersen KH, Jess P, Freivogel KW, Gerhard I, Bastert G. (2003). Raw and cooked vegetables, fruits, and selected micronutrients, and breast cancer risk: a case-control study in Germany. *Nutr Cancer*. 46:131-7.
- [44] Gaudet MM, Britton JA, Kabat GC, Steck-Scott S, Eng SM, Teitelbaum SL, Terry MB, Neugut AL, Gammon MD. (2004). Fruits, vegetables, and micronutrients in relation to breast cancer modified by menopause and hormone receptor status. *Cancer epidemiol Biomarkers Prev*. 13:1485-94.
- [45] Ronco A, De Stefani E, Boffetta P, Deneo-Pellegrini H, Mendilaharsu M, Leborgne F. (1999) Vegetables, fruits, and related nutrients and risk of breast cancer: a case-control study in Uruguay. *Nutr Cancer*. 35:111-9.
- [46] Shannon J, Ray R, Wu C, Nelson Z, Gao DL, Li W, Hu W, Lamp J, Horner N, Satia J, Patterson R, Fitzgibbons D, et al. (2005). Food and botanical groupings and risk of breast cancer: a case-control study in Shanghai China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 14:81-90.
- [47] Lissowska J, Gaudet MM, Brinton LA, Peplonska B, Sherman M, Szeszenia-Dabrowska N, Zatonski W, Garcia-Closas M. (2008). Intake of fruits, and vegetables in relation to breast cancer risk by hormone receptor status. *Breast Cancer Res Treat*. 07:113-7.
- [48] Witte JS, Ursin G, Siemiatycki J, Thompson WD, Paganini-Hill A, Haile RW. (1997). Diet and premenopausal bilateral breast cancer: a case-control study. *Breast Cancer Res Treat*. 07:113-7.

- [49] Thorand B, Kohlmeier L, Simonsen N, Croghan C, Thamm M. (1998). Intake of fruits, vegetables, folic acid and related nutrients and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Public Health Nutr.* 1:147–56.
- [50] Potischman N, Swanson CA, Coates RJ, Gammon MD, Brogan DR, Curtin J, Brinton LA. (1999). Intake of food groups and associated micronutrients in relation to risk of early-stage breast cancer. *Int J Cancer.* 82:315–21.
- [51] Terry P, Wolk A, Persson I, Magnusson C. (2001). Brassica vegetables and breast cancer risk. *JAMA.* 285:2975–7.
- [52] Malin AS, Qi D, Shu XO, Gao YT, Friedmann JM, Jin F, Zheng W. (2003). Intake of fruits, vegetables and selected micronutrients in relation to the risk of breast cancer. *Int J Cancer.* 105:413–8.
- [53] Mattisson I, Wirfalt E, Johansson U, Gullberg B, Olsson H, Berglund G. (2004). Intakes of plant foods, fibre and fat and risk of breast cancer—a prospective study in the Malmo Diet and Cancer cohort. *Br J Cancer.* 90:122–7.
- [54] Do MH, Lee SS, Jung PJ, Lee MH. (2007). Intake of fruits, vegetables, and soy foods in relation to breast cancer risk in Korean women: a case–control study. *Nutr Cancer.* 57:20–7.
- [55] Ambrosone CB, McCann SE, Freudenheim JL, Marshall JR, Zhang Y, Shields PG. (2004). Breast cancer risk in premenopausal women is inversely associated with consumption of broccoli, a source of isothiocyanates, but is not modified by GST genotype. *J Nutr.* 134:1134–8.
- [56] Hirose K, Takezaki T, Hamajima N, Miura S, Tajima K. (2003) Dietary factors protective against breast cancer in Japanese premenopausal and postmenopausal women. *Int J Cancer.* 107:276–82.
- [57] Hong SA, Kim K, Nam SJ, Kong G, Kim MK. (2008). A case–control study on the dietary intake of mushrooms and breast cancer risk among Korean women. *Int J Cancer.* 122:919–23.
- [58] Zhang Min, Huang J, Xing X, D’Arcy J, Holman C. (2009). Dietary intakes of mushrooms and green tea combine to reduce the risk of breast cancer in Chinese women. *Int. J Cancer.* 124:1404-1408.
- [59] Edwards AJ, Nguyen CH, You CS, Swanson JE, Emenhiser C, Parker RS. (2002). α - and β -carotene from a commercial puree are more bioavailable to humans than from

- boiled-mashed carrots, as determined using an extrinsic stable isotope reference method. *J Nutr.* 132:159–67.
- [60] Parker RS, Swanson JE, You CS, EdwardsAJ, HuangT. (1999). Bioavailability of carotenoids in human subjects. *Proc Nutr Soc.* 58:155–62
- [61] U.S. Department of Agriculture. (1993). *Composition of foods—raw, processed, and prepared, 1963–1992: Agricultural Handbook.* No. 8 Series. Washington, DC: Department of Agriculture.
- [62] Hursting SD, Lavigne JA, Berrigan D, Perkins SN, Barrett JC. (2003). Calorie restriction, aging, and cancer prevention: mechanisms of action and applicability to humans. *Annu Rev Med.* 54: 131-52.
- [63] Halvorsen BL, Holte K, Myhrstad MC et al. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *J Nutr.* 132: 461-71.