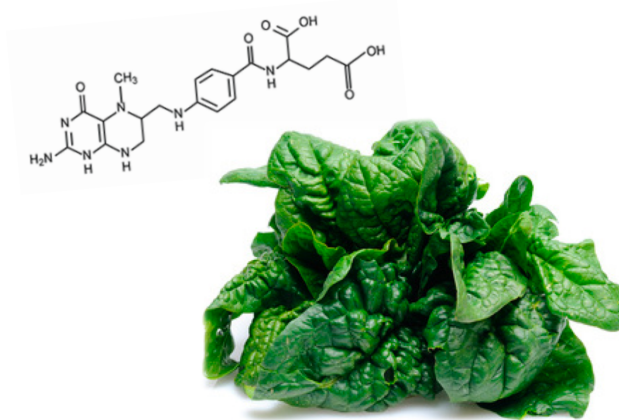


# BACHELOROPPGAVE

“Folat, epigenetikk og risikoen for kreft”

av 101648



29.04.2016

VF200 – Bacheloroppgave  
Bachelor i Ernæring

Antall ord: 9079

April, 2016

Høgskolen Kristiania

“Denne bacheloroppgaven er gjennomført som en del av utdanningen ved Høgskolen Kristiania. Høgskolen Kristiania er ikke ansvarlig for oppgavens metoder, resultater, konklusjoner eller anbefalinger”

## FORORD

Denne oppgaven er skrevet i forbindelse med fullføringen av min bachelorgrad i ernæring ved Høyskolen Kristiania.

Bakgrunnen for bacheloroppgaven er å se nærmere på hvordan kosthold og spesifikke bioaktive stoffer i maten kan påvirke risikoen for kreft. Folat er en av mange stoffer som deltar i prosesser som regulerer gen-ekspressjon og deltar i epigenetiske prosesser. Epigenetikk er et forskningsfelt som fokuserer på mekanismene som kontrollerer prosesser i cellene som kan endre gen-ekspressjon uten å endre selve genomet. Epigenetikk utgjør et interessant og aktuelt tema innen kreftforskning, som kan bidra til å øke både fokus og forståelse for betydningen av ernæring. Hensikten med oppgaven var å undersøke hvilken betydning kosthold og epigenetikk har for kreftutvikling, og hvilken rolle det kan ha innen forebygging og behandling av kreft.

Bak oppgaven ligger det mange timer med litteratursøk, og gjennomgang av forskningsartikler og litteratur. Med et så stort og spennende tema oppsto det mange dilemmaer knyttet til hva som skulle prioriteres å inkludere i oppgaven, og ikke. Mye tid har derfor gått bort til perioder med både skrivesperre og overflødig oppgaveskriving. Hele prosessen med oppgaveskriving og litteraturgjennomgang har i midlertid gjort at jeg sitter igjen med mye nyttig kunnskap, spesielt innen forståelse og anvendelse av forskningslitteratur.

Jeg vil benytte muligheten til å takke min veileder, Martin Strand, for god veiledning, tilgjengelighet og konstruktive tilbakemeldinger. Jeg takker også familie og medstudenter for støtte og oppmuntrende ord underveis i oppgaveskrivingen.

Høyskolen Kristiania

Oslo, april 2016

Ragna Hove Rikheim

# INNHOLDSFORTEGNELSE

<b>FORORD</b> .....	<b>2</b>
<b>SAMMENDRAG</b> .....	<b>4</b>
<b>1. INNLEDNING</b> .....	<b>5</b>
1.1 Bakgrunn.....	5
1.2 Kreft – en genetisk sykdom .....	6
1.3 Genetisk materiale – genomet og epigenomet.....	7
1.4 Epigenetikk og epigenetiske mekanismer .....	9
1.5 Folat, epigenetiske endringer og kreft .....	11
1.6 Problemstilling .....	13
1.7 Begrepsavklaring.....	13
<b>2. METODE</b> .....	<b>15</b>
2.1 Litteraturstudie.....	15
2.2 Begrunnelse for valg av metode .....	15
2.3 Litteratursøk .....	16
2.4 Kildekritikk.....	17
2.5 Metodekritikk .....	18
2.6 Etikk.....	19
<b>3. RESULTATER</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1 Primærstudier</b> .....	<b>19</b>
3.1.1 Studie 1.....	19
3.1.2 Studie 2.....	20
3.1.3 Studie 3.....	22
3.1.4 Studie 4.....	24
3.1.5 Studie 5.....	25
3.1.6 Studie 6.....	27
<b>3.2 Sekundærstudier</b> .....	<b>28</b>
3.2.1 Studie 7.....	28
<b>4. DISKUSJON</b> .....	<b>30</b>
4.1 Oppsummering av resultatene .....	30
4.2 Vurdering av litteraturstudien.....	30
4.3 Vurdering av kildene – styrker og svakheter.....	31
4.4 Vurdering av resultatene .....	32
4.4.1 Folat-status og risikoen for gastrointestinal kreft.....	32
4.4.2 Folat-status, DNA-metylering og epigenetiske endringer assosiert med kreft .....	34
4.4.3 Hvilken praktisk betydning har folat og epigenetiske endringer innen forebygging og behandling av kreft?.....	36
<b>5. KONKLUSJON</b> .....	<b>37</b>
<b>REFERANSELISTE</b> .....	<b>38</b>

## SAMMENDRAG

**Bakgrunn:** Forståelse for mekanismene som kontrollerer prosesser i cellene som påvirker utviklingen av kreft er ikke bare viktig for å øke kunnskap om sykdommen, men også for å utvikle forebyggende og terapeutiske strategier for kreftbehandling. Det en voksende mengde dokumentasjon på bestanddeler i maten som kan påvirke kreftutvikling, og epigenetikk utgjør et felt innen kreftforskning som kan forklare årsakssammenhenger gjennom mekanismer for gen-ekspresjon. B-vitaminet folat har utpekt seg på grunn av sin funksjon i opprettholdelsen av normal gen-ekspresjon, og epigenetisk regulering av prosesser som stabiliserer DNA-et; også kjent som DNA-metylering. Kostholdet er i størst grad assosiert med kolorektal- og pankreaskreft, eller gastrointestinale kreftformer. Spørsmålet er i midlertid hvor relevant et spesifikt næringsstoff som folat er i sammenhengen mellom ernæring og risikoen for kreft.

**Problemstilling:** Hvilken effekt har folat-status på utviklingen av gastrointestinal kreft via epigenetiske mekanismer?

**Metode:** Denne oppgaven er en litteraturstudie, og en ren teoretisk besvarelse. Litteraturstudien som metode har resultert i et utvalg av studier relatert til problemstillingen. Kildekritikk har vært en sentral del i metoden, både under litteratursøket og i tolkingen av resultatene. Besvarelsen på problemstillingen og grunnlaget for å trekke en konklusjon i oppgaven er basert på aktuell forskning i de inkluderte studiene fra litteraturstudiet, og relevant faglitteratur.

**Resultater:** Resultatene i de inkluderte studiene viste ingen klare assosiasjoner mellom folat-status og risikoen for gastrointestinal kreft, men en sterkere assosiasjon mellom folat-status og endret DNA-metylering. Resultatene åpner for flere spørsmål om effekten til folat som bør følges opp i fremtidige studier.

**Konklusjon:** Motstridende og ikke-signifikante resultater gjør at det er for tidlig å trekke noen konklusjon om effekten folat-status har i utviklingen av gastrointestinal kreft via epigenetiske mekanismer.

# 1. INNLEDNING

## 1.1 Bakgrunn

Siden midten av 90-tallet er det gjort stor fremgang i forståelsen av prosessene som fører til kreft, og det er en voksende mengde dokumentasjon på matvarer og bestanddeler i maten som kan påvirke kreftutvikling - ikke bare innledningsvis, men også etter at kreft har oppstått (1,2).

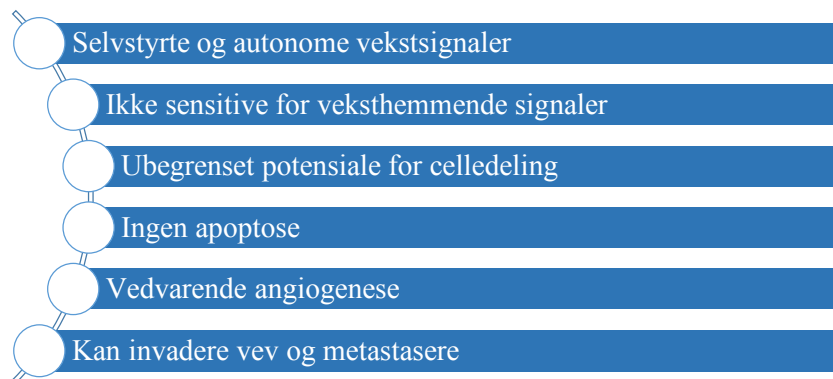
Forståelse for mekanismene som kontrollerer prosesser i cellene som påvirker utviklingen av kreft er ikke bare viktig for å øke kunnskap om sykdommen, men også for å utvikle forebyggende og terapeutiske strategier for kreftbehandling

Anbefalingene om å innta minst fem porsjoner frukt og grønnsaker ("fem om dagen") er en del av de nasjonale kostrådene i Norge, og flere andre land (2,3). Det er en kjent hypotese at et høyt inntak av frukt og grønnsaker kan beskytte mot kreft gjennom sitt innhold av gunstige bioaktive og næringsgivende stoffer. Når det kommer til hvordan mat og ernæring påvirker risikoen for kreft, og hvilke mekanismer som ligger bak, er det likevel fortsatt mange ubesvarte spørsmål.

Innen nyere forskning er det i midlertid oppdaget en link mellom ernæring og kreft knyttet til epigenetikk (2,4). Dette inkluderer regulering av aktive gener, genomisk imprinting, og hvordan faktorer i kostholdet kan modifisere epigenomet. Epigenetikk er et voksende forskningsfelt innen molekylærbiologi som potensielt kan forklare en del av årsakene til kreft gjennom mekanismer for gen-ekspressjon. Sammenhengen mellom ernæring, epigenetikk og risikoen for kreft er et bredt og omfattende tema. Jeg har derfor valgt å fokusere spesifikt på folat på grunn av den potensielle rollen dette vitaminet har i utviklingen av kreft via epigenetisk regulering. Folat har fått økt oppmerksomhet på grunn av sin rolle innen en-karbonmetabolismen, og regulering av prosesser som stabiliserer DNA-et og bidrar til normal gen-ekspressjon (1,2,4–6). Resten av dette innledende kapittelet vil gi et innblikk i bakgrunnen for problemstillingen, og vil omhandle kreft, genetikk, epigenetiske endringer og folat. Hensikten med dette kapittelet er å gi et teoretisk grunnlag for å forstå og tolke dataene som blir presentert videre i oppgaven, og øke forståelsen for sammenhengen mellom ernæring og kreft, og den potensielle linken med epigenetikk.

## 1.2 Kreft – en genetisk sykdom

Kreft er en gruppe på mer enn 100 sykdommer som påvirker mange ulike celletyper og vev (2). I friske celler er celledeling, differensiering og celledød nøye regulert for å sikre normal vekst, utvikling og funksjon. Kreft er en sykdom som er knyttet til arvematerialet vårt, og skyldes en ubalanse i mekanismene som kontrollerer celledeling (2,4). Tapet av kontroll er relatert til endringer av den genetiske informasjonen i cellene, og kan skyldes både genetiske mutasjoner og epigenetiske endringer. Kreftutvikling (onkogenese) forutsetter en rekke cellulære endringer (dysplasi). En mengde akkumulerte feil i genene som kontrollerer bestemte og kritiske prosesser i cellene er nødvendig for at kreft skal oppstå, utvikle seg, og resultere i svulstdannelse (neoplasi). Alle kreftceller har en eller flere av de karakteristiske kjennetegnene oppgitt i figur 1.



Figur 1. Karakteristiske kjennetegn og felles egenskaper hos kreftceller (2).

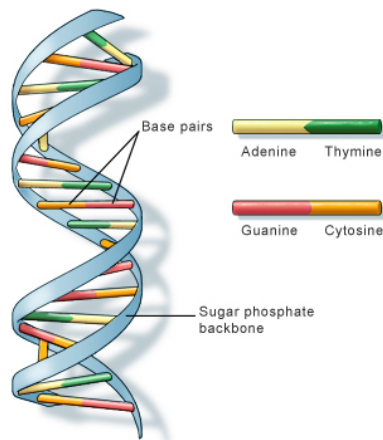
Til tross for at kreft er en arvelig sykdom er det bare 5-10% av krefttilfellene som kan relateres til arvede gener (2). De fleste krefttilfellene skyldes skader eller endringer i DNA-et som oppstår i cellene i løpet av livet. Ernæring og livsstil er en av mange miljøfaktorer som er avgjørende for hvor utsatt DNA-et for skadelige endringer. Cellenes kapasitet til å motvirke kreft på en effektiv måte er nært knyttet til ernæring, og avhenger i stor grad av det ekstracellulære miljøet rundt cellen. Dette miljøet er et resultat av tilgjengeligheten på energi og nødvendige makro- og mikronæringsstoffer.

Sammenhengen mellom ernæring og kreft er likevel kompleks, og det er komplisert å utføre gode studier på ernæring siden det påvirkes av en rekke variabler (2–4). I et vanlig kosthold kan dette innebære mer enn 25 000 bioaktive stoffer med ulike egenskaper. Mens noen stoffer har

kreftforebyggende egenskaper kan andre gi økt kreftisiko. Variasjonen i sammensetning og mengde mat er ofte stor, og det skjer i tillegg interaksjoner mellom ulike stoffer i maten i et sammensatt kosthold. I tillegg er kostholdet påvirket av andre livsstilsfaktorer som fysisk aktivitet, og miljøfaktorer. Dette gjør det ofte vanskelig å gjøre både gode vurderinger av kostholdet, og å studere årsakssammenhenger.

### 1.3 Genetisk materiale – genomet og epigenomet

Genomet omfatter hele den genetiske informasjonen som finnes i en celle og utgjør genotypen til et individ (2,7). Det genetiske materialet vårt består av dobbel-trådede, spiralformede DNA-molekyler som inneholder fire organiske nitrogenbaser; cytosin (C), guanin (G), adenin (A) og tymin (T). Et nukleotid består av en base kombinert med et fosfat- og et sukker-molekyl. Tre nukleotider utgjør et kodon og koder for en bestemt aminosyre. Rekkefølgen på nukleotidene utgjør den genetiske koden som blir avlest ved at DNA-et transkriberes til RNA, og RNA-et oversettes videre til å syntetisere proteiner.



U.S. National Library of Medicine

Figur 2. DNA-struktur og nitrogenbaseparene; adenine, tymin, guanin og cytosin.

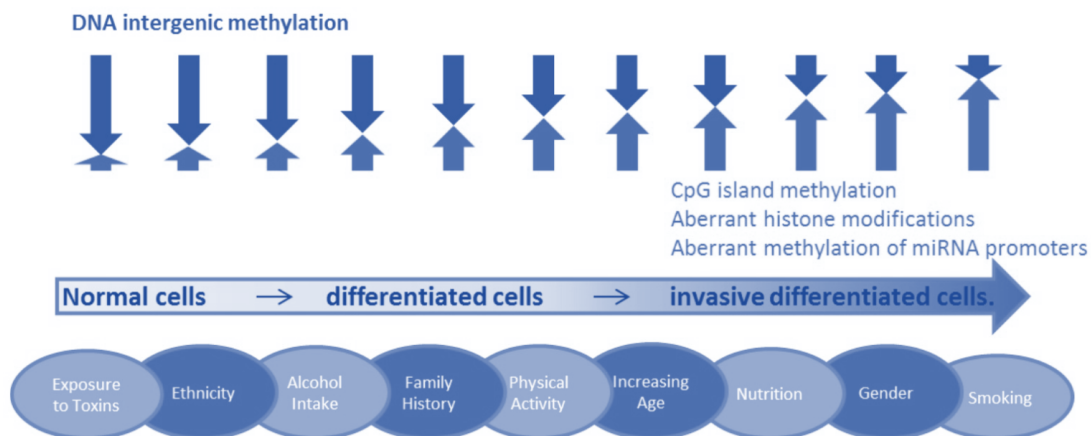
Genetisk variasjon er det vi kjenner som polymorfismer (7). Dette er forekomsten av ulike nitrogenbaser på bestemte steder i genomet, og de ulike variantene som forekommer av et arvet gen kalles alleler. Den vitenskapelige kartleggingen av genomet er kommet langt, men det gjenstår fortsatt arbeid i å få oversikt over hvilke gener som er polymorfe, og hva denne genetiske variasjonen betyr for genets funksjon og eventuell disposisjon for kreft. Forskning på genomet viser at enkelte polymorfismer kan assosieres med dysfunksjon og sykdom, og polymorfismer som er skadelige for helsen kalles ofte for mutasjoner.

Nesten 1/3 av genene assosiert med kreft er knyttet til gener som koder for enzymer involvert i metabolisme (7). Metyltetrahydrofolatreduktase (MTHFR) er eksempelvis et sentralt enzym i

omsetningen av folat, og genetiske polymorfismer i genet som produserer dette enzymet kan i alleler for fenotypene CC og TT være forbundet med noen typer kreft (4,7).

De normale metabolske prosessene i cellene er kontrollert av proteiner, og hvert enkelt protein er et produkt av et bestemt gen fra cellenes DNA (2). Selv om alle kroppens celler inneholder de samme genene vil celler i ulike organer ha ulik struktur og funksjon fordi det er prosesser som regulerer og bestemmer hvilke gener som skal uttrykkes. Gen-ekspressjon er prosessen der informasjonen i et gen blir slått av eller på, og regulerer produksjonen av assosierte proteiner.

Gen-ekspressjonen regulerer ikke bare seg selv, men endres også av epigenetiske faktorer (2). Utviklingen av kreft er avhengig av samspillet mellom genomet, epigenomet, og miljøfaktorer (4). Epigenomet består av alle de kjemiske forbindelsene som har evnen til å koble seg til genomet og endre gen-ekspressjonen uten å endre nukleotidsekvensene. Dette er kjent som epigenetiske endringer, og inkluderer DNA-metylering der metyl-grupper kobles til bindings seter i DNA-et. Hvert gen har en promoter-region hvor transkripsjonen av genet kontrolleres via komplekse mekanismer, og reguleres av transkripsjonsfaktorer og andre ligander (eksempelvis metyl-grupper) som binder seg til spesifikke sekvenser i DNA-et. Ernæring og tilgjengeligheten av næringsgivende- og bioaktive stoffer i maten påvirker disse cellulære prosessene. I motsetning til genomet er epigenomet dynamisk og kan modifiseres.



Figur 3. Epigenetiske modifikasjoner som påvirker kreftisiko og progresjon, med modifiserbare (lyse blå) og ikke-modifiserbare (mørke blå) faktorer som påvirker epigenomet (4).



## 1.4 Epigenetikk og epigenetiske mekanismer

Epigenetikk er et forskningsfeltet som studerer epigenomet og hvordan ernæring påvirker gen-ekspressjon (2). Epigenetikk er relatert til DNA-modifikasjoner og arvelige endringer i gen-ekspressjon i en eller flere alleler (4,6). Epigenetiske modifikasjoner er spesielt interessant innen kreftforskning fordi endringer av genomet er involvert i både celledeling, differensiering og overlevelse (6). Videre er epigenetiske modifikasjoner ofte involvert i regulering av gen-ekspressjon, og er viktig for utvikling og vekst i tumorer.

Epigenetiske modifikasjoner som gir endret transkripsjon kan resultere i ugunstig ekspressjon eller aktivering av transkripsjonsfaktorer assosiert med kreft (6). Endringer i gen-ekspressjon varierer mellom ulike vev, men også med tid og livsløp (2). Under vekst og utvikling er spesifikke gener aktivert og inaktivert med presis timing (6,7). Selv om epigenomet er mest sensitivt for endringer i den perioden når den epigenomiske profilen utformes i fosterlivet, er det også bevis for at ernæring senere i livet kan medføre epigenetiske endringer som har betydning for helse og risikoen for kreft i voksen alder (4). Mange epigenetiske endringer oppstår i løpet av livet, og noen er potensielt reversible, selv om de er relativt stabile når de først har oppstått.

Intervensjonsstudier som har vurdert effekten av ernæring ved å se på epigenetiske modifikasjoner har bekreftet dette i studier på både dyr og mennesker, gjennom vurderinger av metylering-status i tumor suppressor gener (TSG), aktuelle blodmarkører, og/eller selv-rapportert matinntak, og assosiasjonen med sykdomsrisiko. Nesten halvparten av alle tumor suppressor gener kan inaktiveres gjennom epigenetiske mekanismer (6).

Flere studier har pekt på bestanddeler i kostholdet som har kreftforebyggende egenskaper, og at bioaktive stoffer kan endre prosesser i både normale celler og kreftceller gjennom epigenetiske mekanismer (2,4,6). Normale celler og kreftceller skiller seg fra hverandre i hvordan de responderer på kostholdet. De enkelte virkestoffene i maten kan også modifisere flere ulike steg i prosessene som bidrar til kreftutvikling, og effekten i forhold til mengde, timing og varighet på eksponeringen er ikke lik i alle typer celler og vev. Dette gjør responsen på kostholdet komplisert.

De vanligste epigenetiske modifikasjonene som er forbundet med kreftutvikling er relatert til endringer i DNA-metylering, modifikasjoner av histoner, og ikke-kodende RNA (4,6). Fokuset i denne oppgaven vil kun være på DNA-metylering på grunn av folat sin funksjon som metyl-donor i en-karbonmetabolismen. Dette er også den mest studerte epigenetiske mekanismen som bidrar til å stabilisere genomet og regulere gen-ekspressjon (4).

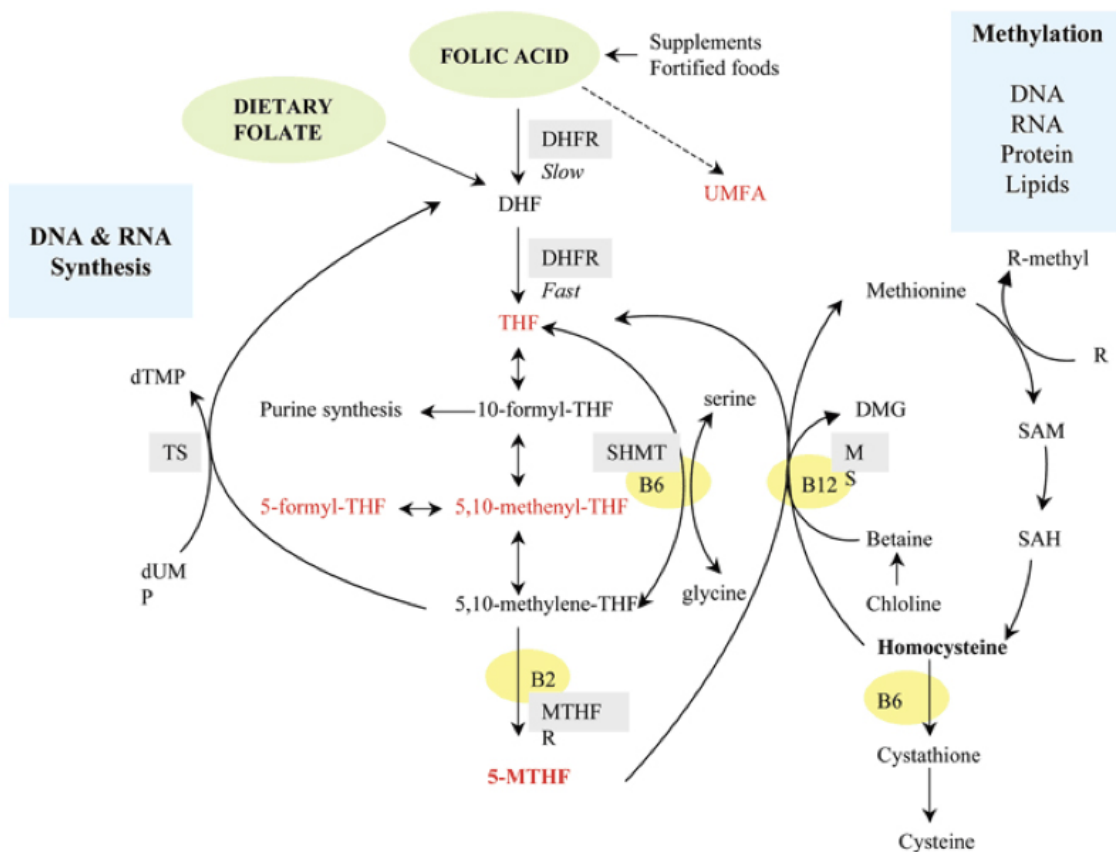
Mekanismen for DNA-metylering går ut på at en enkel metyl-gruppe ( $\text{CH}_3$ ) tilføres den femte pyrimidin-ringen i cytosin i nitrogenbaseparet cytosin-guanin (CG)(2,4,6). Metylert cytosin i CpG-seter i DNA-et fører normalt til inaktivering av gener, og promoter-regioner har ofte en høyere forekomst av CpG-seter (CpG-øyer), sammenliknet med andre regioner inne i DNA-et (4). Når promoter-regioner er umetylerte holdes kromatinet åpent og genet blir tilgjengelig for transkripsjon. Hypermetylering i promoter-gener resulterer derfor normalt i inaktivering av genet. Dette kan blant annet resultere i inaktivering av TSG, og er en av de mest kjente somatiske endringene ved kreft.

Forekomsten av CpG-seter langs DNA-et er mer spredt utenfor CpG-øyene, og utgjør totalt bare 1% av genomet (4). Likevel er de involvert i ca. 35% av alle kreftrelaterte mutasjoner. Hos friske individer er CpG-setene normalt metylerte. Hypometylering av cytosin i disse setene kan resultere i strukturelle endringer i kromatinet som gjør DNA-et sårbart for uhensiktsmessig transkribering og skader. Dette kan føre til tap av kontroll over DNA-transkripsjon, eller demetylering av promoter-regioner i onkogener og andre gener som opprinnelig skal være inaktive.

Både global hypometylering i genomet og hypermetylering i spesifikke promoter-gener er derfor blitt forbundet med onkogenese og økt risiko for kreft (4,6). Ernæring er aktuelt i denne sammenhengen med tanke på bioaktive stoffer i maten, slik som folat, som deltar i prosessene som metylerer DNA.

## 1.5 Folat, epigenetiske endringer og kreft

Folat er et essensielt B-vitamin som eksisterer i 150 ulike former (5,7). Folat refererer generelt til folsyre og derivater av folsyre. Den reduserte formen, tetrahydrofolat (THF) er den bioaktive formen som binder en-karbonenheter (CH<sub>3</sub>) i metabolske prosesser. Figur 4 viser en oversikt over folat-metabolismen. Syntetisk folat (folsyre) fra kosttilskudd eller folatberiket mat konverteres til 5-metyltetrahydrofolat (5-metyl-THF) i kroppen. 5-metyl-THF er den vanligste formen av folat i naturlige kilder i kosten. Gode kostkilder til folat er grønne bladgrønnsaker, som spinat, grønnkål og brokkoli, lever, bønner, kikerter, ølgjær, eller folatberikete kornprodukter og kosttilskudd.



Figur 4. Folat-metabolismen (UMFA: u-metabolisert folsyre; THF: tetrahydrofolat; 5-MTHF: 5-metyl-THF-folat; MTHF (MTHFR): metyltetrahydrofolatreduktase) (7,10).

Folat-mangel kan resultere i megaloblastisk anemi, og med utgangspunkt i dette er de generelle anbefalingene for folat 300 µg/dag (8,9). Fertile kvinner anbefales et høyere inntak på 400 µg/dag fordi de utgjør en risikogruppe med et økt folat-behov under graviditet, og for å redusere risikoen for nevrallrørsdefekter hos fostre. Noen land (som USA og Canada) har politisk innført folatberiking av matvarer, hovedsakelig for å øke folat-status blant fertile kvinner. Folat-statusen i disse populasjonene er generelt høyere, og det er stilt spørsmål ved om folsyre og folatberiking dermed kan innebære negative helseeffekter. Det er allerede vist at et høyt inntak av folsyre (enten som kosttilskudd eller fra beriket mat) kan maskere hematologisk anemi forårsaket av B12-mangel. Derfor er det foreslått en øvre grense for inntak av folsyre på 1000 µg/dag for voksne. Det er i midlertid ingen bevis for negative helseeffekter ved et høyt folat-inntak fra mat.

Folat er involvert i en rekke metabolske prosesser, inkludert syntese, reparering og metylering av DNA (2,5–7). Unormal DNA-metylering som fører til ugunstig gen-ekspressjon, og er blitt demonstrert i utviklingen av flere typer kreft; prostata, bryst, eggstokk, livmorhals, hjjerne, lunge, og gastrointestinalt (pankreas, mage- og tarmkanalen)(2,3,6,7,11).

Folat-mangel kan resultere i redusert DNA-stabilitet gjennom flere mekanismer (2,4). Folat (5,10-metylen-THF) donerer metyl-grupper til uracil, en av de fire basene i RNA, og konverterer den til tymin i DNA. Ved folat-mangel kan konverteringen av uracil til tymin reduseres. Når uracil blir inkorporert i DNA-et isteden for tymin blir DNA-et mer sårbart for skader og mutasjoner (4,11). I tillegg til mangel på forløpere til DNA, kan folat-mangel påvirke gen-ekspressjon ved å regulere det cellulære nivået av S-adenosylmetionin (SAM). Enzymet metylentetrahydrofolat reductase (MTHFR) utgjør et kritisk ledd i folat-metabolsimen ved at det katalyserer den irreversible konvensjonen av 5,10-metylen-THF til 5-metyl-THF. Folat (5-metyl-THF) fungerer som metyl-donor i re-metylering av homocystein til metionin, som deretter konverteres til SAM. SAM er kroppens primære metyl-donor og metylerer spesifikke cytosiner i DNA-et. Produksjonen av SAM er også avhengig av vitamin B12 som kofaktor i reaksjonen som overfører metyl fra 5-metyl-THF til homocystein. Uten vitamin B12 får ikke kroppen nyttiggjort seg av metyl-gruppen til folat. Da blir folat fanget i form av 5-metyl-THF (folat-fellen), og folat-metabolismen reduseres. Vitamin B12-mangel kan derfor medføre en funksjonell folat-mangel og redusert SAM-syntese. Det er i tillegg funnet en sammenheng mellom polymorfismer av

MTHFR-genet og endringer av cytosin til tymin i nukleotid 677. Dette er assosiert med redusert enzymaktivitet, lave nivåer av SAM, og DNA-hypometylering.

Folat har blitt betydelig studert for sin rolle innen vekst og utvikling, og etterhvert også for sin rolle i kreftutvikling (2,5). Folat sin funksjon er funnet spesielt viktig i hurtigvoksende celler og vev, som røde blodceller, tarmslimhinnen, og under fosterutvikling (2,5–7). Det er logisk at endret folat-status først påvirker disse cellene, inkludert kreftceller, som kjennetegnes av hurtig celledeling.

## 1.6 Problemstilling

Med utgangspunkt i teorien som er presentert i innledningen er problemstillingen jeg ønsker å besvare i denne bacheloroppgaven; Hvilken effekt har folat-status på utviklingen av gastrointestinal kreft via epigenetiske mekanismer? Et underspørsmål til dette er; Hvilken rolle har ernæring i kreftutvikling gjennom modulering av epigenomet, og hvilket potensial kan epigenetikk ha for forebygging og behandling av kreft.

I tillegg til å fokusere kun på folat som spesifikt næringsstoff, og biologisk link mellom ernæring og kreft, har jeg valgt å avgrense oppgaven til å omhandle kun krefttyper forbundet med fordøyelseskanalen; gastrointestinal (GI) kreft. Dette inkluderer tarmkanalen og pankreas. Begrunnelsen for denne avgrensningen er primært at dette er kreftformene som er forbundet med en sannsynlig eller mulig årsakssammenheng med kostholdet i rapporten til World Cancer Research Fund (WCRF), og for å redusere omfanget på oppgaven (2).

## 1.7 Begrepsavklaring

Adenom: godartet kjertelsvulst i tarmkanalen.

CI: konfidensintervall eller ”confidence interval”.

CRC: kolorektal kreft eller ”colorectal cancer”

DNA: deoksyribonukleinsyre, arvestoffet i cellekjernen.

DNA-metylering: epigenetisk mekanisme der metyl-grupper kobles til bindingssteder i DNA-et. Bidrar normalt til å stabilisere genomet og regulere gen-ekspressjon.

Dysplasi: vekstforstyrrelse, celle-vevsforandringer i forstadier av kreft.

Epigenetikk: studerer epigenomet og hvordan ernæring påvirker gen-ekspressjon.

Epigenom: alle kjemiske forbindelser som har evnen til å koble seg til genomet, og endre gen-ekspressjon uten endringer av nukleotidsekvensene i DNA-et.

Genom: omfatter all den genetiske informasjonen i cellene til et individ.

Gen-ekspressjon: prosessen der informasjonen i et gen blir slått av eller på.

GI: gastrointestinal

Kasuskontroll studie: observasjonell studie som sammenlikner individer med en tilstand/sykdom (kasus-gruppe) med en tilsvarende gruppe individer som ikke har tilstanden/sykdommen (kontroll-gruppe).

Kohortstudie: longitudinell og observasjonell studie av sykdomsforekomst i en gruppe individer (kohort-gruppe) som deler bestemte karakteristika.

Meta-analyse: Statistisk metode som kombinerer resultatene fra to eller flere studier.

Mutasjon: skadelige genetiske endringer som medfører dysfunksjon og sykdom.

Neoplasi: vekstforstyrrelse, nyvekst av celler som vokser autonomt og resultere i framvekst av tumorer.

Onkogenese: tumorutvikling, omdannelsen av friske celler til kreftceller.

Polymorfismer: naturlig, genetisk variasjon.

RCT: randomisert kontrollert intervensjonsstudie eller "randomized controlled trial".

SAM: S-adenosylmetionin

Systematisk oversiktsartikkel: systematisk framgangsmåte for å finne, vurdere og oppsummere forskningsresultater innen et emne. Kan inkludere meta-analyser når de inkluderte studiene har sammenlignbart data-materiale.

TSG: tumor suppressor gen

WCRF: World Cancer Research Fund

## 2. METODE

Metoden kan defineres som en fremgangsmåte for å frembringe kunnskap eller etterprøve påstander som framstilles med krav om å være sanne, gyldige eller holdbare (12). Metoden er et middel som brukes til å undersøke, løse problemer og komme frem til ny kunnskap.

Begrunnelsen for å velge en bestemt vitenskapelig metode er at den gir den informasjonen som er nødvendig for å belyse et aktuelt forskningsspørsmål.

Vitenskap og metode er to begreper som henger nøye sammen (12). Vitenskapelige metoder deles gjerne i kvantitative og kvalitative metoder. Informasjonen som samles inn omtales gjerne som data, og prosessen som datainnsamling. Kvantitative metoder tar utgangspunkt i målbar informasjon. Dette gjør det mulig å samle inn, regne og analysere, og fremstille dataene ved hjelp av tall. Kvalitative metoder tar derimot utgangspunkt i informasjon som ikke nødvendigvis lar seg måle i tall, men er basert på tanker, meninger og ikke-kvantitative data.

### 2.1 Litteraturstudie

Denne oppgaven er en litteraturstudie, og er en ren teoretisk og kvantitativ oppgave (12,13). Litteraturstudie som metode går ut på en systematisk datainnsamling fra eksisterende skriftlige kilder for å undersøke og besvare et forskningsspørsmål.

### 2.2 Begrunnelse for valg av metode

Metodevalget for bacheloroppgaven tok utgangspunkt i hva som var praktisk gjennomførbart; både med hensyn til etiske spørsmål, personlige ressurser, og hva som var realistisk med tanke på økonomi og tidsbruk. Forskningsspørsmål besvares best ved hjelp av kumulativ forskning og valget av metode gjenspeiler dette (12). Problemstillingen stiller spørsmål om hvilken effekt folat-status har på epigenetiske endringer assosiert med kreft i GI. I denne sammenhengen er etiologi viktig når man ønsker å identifisere årsakssammenhenger, og kausalitet oppnås best ved en samlet vurdering av dokumentasjon fra flere typer studier og forskningslitteratur (3). En litteraturstudie fremsto derfor som den mest ideelle metoden for å belyse tema og besvare problemstillingen.

## 2.3 Litteratursøk

Datainnsamlingen i litteraturstudien besto av systematiske litteratursøk for å identifisere relevante studier og forskningsartikler. Hensikten med litteratursøket var å få en vitenskapelig oversikt og innsikt i emnet, og samle inn en tilstrekkelig mengde oppdatert forskning for å kunne besvare problemstillingen på en god og helhetlig måte.

Søkene ble gjort i ulike internasjonale databaser med tilgang på medisinsk forskning, hovedsakelig i PubMed og Google Scholar. Artikler som ikke var tilgjengelige i fulltekstformat ble søkt opp i skolebibliotekets database, Bibsys Oria. Benyttede søkeord var; ”nutrition”, ”epigenetics”, ”cancer”, ”cancer risk”, ”cancer prevention”, ”folate” og ”folic acid”. Alle søkene ble foretatt på engelsk, siden de fleste helsefaglige databasene er engelskspråklige. Søkekriteriene som ble benyttet i PubMed var ”clinical trial”, ”humans”, ”english”, og ”published in the last 5 years”. Enkelte artikler ble også funnet ved gjennomgang av referanselister. Resultatene fra litteratursøket ga en del treff relatert til epigenetikk og kreftforskning. Det var noe mer begrenset i forhold til folat, som ofte er omtalt i sammenheng med andre næringsstoffer og en-karbonmetabolitter. Seleksjonskriteriene for inkluderte studier er oppgitt i tabell 1. Oppgaven har fokus på oppdatert forskning, som bygger på den nåværende statusen innen forskningsfeltet. Artikler publisert før 2006 ble derfor ekskludert. Alle inkluderte artikler er blitt fagfellevurdert før publisering.

Litteratursøket ble supplert med relevant pensumlitteratur. Det er i tillegg tatt utgangspunkt i en rapport av World Cancer Research Fund (WCRF), som i seg selv representerer en omfattende systematisk kunnskapsoppsummering av aktuell kreftforskning.

Søkeverktøyet iFinger ble benyttet til å oversette, finne synonymer, forklare fremmedord, eller bestemme begreper når dette var uklart. iFinger gir tilgang på en mengde forskjellige ordbøker, inkludert norske, engelske og medisinske ordbøker.



Tabell 1. Seleksjonskriterier: De viktigste inklusjonskriteriene og eksklusjonskriteriene for studiene fra litteratursøket.

Inklusjonskriterier	Eksklusjonskriterier
Kreft(pasienter)	Andre kroniske livsstilssykdommer
Folat (høyt eller lavt inntak) fra mat eller folat-tilskudd	Andre bioaktive stoffer, kosttilskudd eller medikamenter
DNA-metylering som epigenetisk mekanisme	Andre epigenetiske mekanismer
Effekt på folat-status Effekt på DNA-metylering Effekt på kreftrisiko (forekomst, dødelighet)	Andre utfall
Kvinner og menn	Kun kvinner eller menn
Fagfellevurdert	Ikke fagfellevurdert
Publisert etter 2006	Publisert før 2006
Randomiserte kontrollerte intervensjonsstudier (RCT), kasus-kontrollstudier, kohortstudier, systematiske oversiktsartikler (med/uten meta-analyser)	

## 2.4 Kildekritikk

Kildekritikk inkluderer metoder for å fastslå troverdigheten til en kilde (12). Dette innebærer en kritisk vurdering av kildene som benyttes. Kildekritikk har to sider i oppgaveskrivingen. Den første er litteratursøket og hvordan kildene er funnet og samlet inn for å belyse problemstillingen. Den andre siden er hvordan kildene er blitt anvendt i oppgaven.

En litteraturstudie kan inkludere både primære og sekundære kilder (13). Primærkilden er den opprinnelige utgaven av en tekst, mens sekundærkilder er tekster som bygger på primærkilder, som lærebøker og populærvitenskapelige artikler. I denne oppgaven er de primære kildene prioritert, siden de er forbundet med høyest troverdighet. Sekundærkilder i form av systematiske oversiktsartikler, rapporter og faglige retningslinjer, vil likevel utgjøre en betydelig del. Sekundærkilder er også brukt dersom primærkilden ikke var tilgjengelig.

## 2.5 Metodekritikk

Metodologien for systematisk litteraturgjennomgang som vanligvis benyttes innen medisinsk forskning, bygger på en felles metode, som blant annet er beskrevet av "The Cochrane Collaboration" (3). Denne metoden går ut på at man benytter et hierarkisk system for utvelgelse av dokumentasjon. Eksempelvis vil randomiserte kontrollerte intervensjonsstudier (RCT) vektlegges mer enn observasjonsstudier, fordi RCT påvirkes mindre av feilkilder. Når man tester kosttilskudd eller medikamenter har man mulighet til å benytte placebobehandling ved å gi tabletter uten effekt til kontrollgruppen. Når man derimot ønsker å studere effekten til hele matvarer blir det vanskelig å benytte placebo og lage gode kontroller i forsøket. RCT er en nyttig metode når spørsmålet er om en intervensjon har en signifikant effekt. RCT er i midlertid ikke den metoden som kan besvare spørsmål knyttet til effekten matvarer har for helsen på lengre sikt og risikoen for kroniske sykdommer. Da kan longitudinelle observasjonsstudier være best egnet.

Det er viktig å være bevisst på begrensningene til metoden man velger å bruke (12). Dette går ut på å vurdere fordelene og ulempene til metoden. Innen medisinsk forskning ønsker en ofte å vite noe om både årsaker, effekter og prognoser. Da er det optimalt med et bredt datasett med generaliserbare data, og ofte trenger et enkelt spørsmål flere metodiske tilnærminger for å kunne besvares på en helhetlig måte.

Fordelen med en litteraturstudie er at en kan ta utgangspunkt i en rekke ulike studier og metoder innen et forskningsfelt. Mine forutsetninger for å gjennomføre en litteraturstudie er i midlertid kun basert på egen kunnskap, veiledningstimer, og de vitenskapelige emnene i bachelorutdanningen innen ernæring ved Høgskolen Kristiania.

## 2.6 Etikk

Litteraturstudien skal være innenfor de etiske rammene og følge de gitte retningslinjene for oppgaveskriving. Utover dette er det ingen etiske dilemmaer forbundet med oppgaven.

Litteratursøket er dokumentert, og mulig å etterprøve for å vurdere om resultatene i litteraturstudien er valide.

# 3. RESULTATER

## 3.1 Primærstudier

### 3.1.1 Studie 1

Forskningsartikkelen ”Plasma Folate, Related Genetic Variants, and Colorectal Cancer Risk in EPIC” av Eussen et al. er en nestet kasus-kontrollstudie gjennomført innunder kohortstudien, European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)(14). Artikkelen ble publisert av American Association for Cancer Research (AACR) i 2010. Hensikten med studien var å undersøke assosiasjonen mellom plasma folat, relevante folat-relaterte polymorfismer, og risikoen for kolorektal kreft (CRC) blant deltakerne i EPIC-studien.

EPIC-studien rekrutterte sine deltakere fra 23 sentre i ti europeiske land, og hadde et totalt utvalg på 521 000 individer. Mellom 1992 og 1998 ble landsspesifikke kostholdsundersøkelser, standardiserte spørreundersøkelser om bakgrunn og livsstil, og antropometriske data samlet inn. Blodprøver ble samlet inn fra 80% av deltakerne. Oppfølgingsperioden startet ved rekruttering og endte ved diagnostisert CRC, eller når EPIC-studien ble avsluttet (1999-2004).

Oppfølgingsstudien til Eussen et al. inkluderte deltakere fra EPIC-kohorten med påvist CRC. Av totalt 1 367 deltakere i kasus-gruppen hadde 93% histologisk bekreftet CRC, 6% var diagnostisert gjennom klinisk observasjon, cytologi, eller autopsi, og 1% manglet data. Kontrollgruppen ble matchet med kasus-gruppen etter studiesenter, alder (+/- 2,5 år) og kjønn. Kasus-

kontrollstudien hadde et frafall på 1,57% i løpet av oppfølgingsperioden, og studien ble avsluttet i 2007.

Mann-Whitney U-tester ble benyttet for å vurdere forskjeller mellom kasus- og kontroll-gruppen. For kategoriske data ble det benyttet  $X^2$ -tester. Risikorasjoner (RR) med 95% konfidensintervaller (CI) ble estimert med betinget logistisk regresjon. Det ble justert for røyking, utdanning, fysisk aktivitet, og inntak av alkohol og fiber. Assosiasjon mellom polymorfismer og CRC-risiko ble studert ved hjelp av regresjonsanalyser, effekt-modifikasjonsanalyser, og trend-tester. Alle statistiske tester var tosidige med signifikansnivå (P-verdi) på 0,05.

Gjennomsnittlig oppfølgingstid fra innsamling av blodprøver til diagnostisert CRC var 3,6 år. Folat-nivået var noe lavere i kasus-gruppen sammenliknet med kontroll-gruppen ( $P=0,08$ ). Generelle analyser fant ingen assosiasjon mellom plasma folat og CRC (kontrollert for alder, kjønn, alkoholinntak, tidsrom mellom blodprøver og kreftdiagnose). RR for femte kvintil for folat-status, sammenliknet med første kvintil var 0,94 (CI 95% 0,74-1,20,  $P$ -trend=0,44). Polymorfismene MTHFR 677CT, MTHFR 1298AC, MTR2 756AG, MTRR 66AG og MTHFD 11958GA var ikke assosiert med risikoen for CRC. En statistisk ikke-signifikant økning i risikoen (RR 1,39, CI 95% 0,87-2,21) for CRC ble funnet hos individer med MTHFR 677TT genotype, blant de med lavest folat-status. Hos individer med MTHFR 677TT genotype og høyest folat-nivå ble det funnet en ikke-signifikant redusert risiko (RR 0,74, CI 95% 0,39-1,37).

Studien fant ingen signifikant assosiasjon mellom folat-status, MTHFR polymorfismer og risikoen for CRC.

### 3.1.2 Studie 2

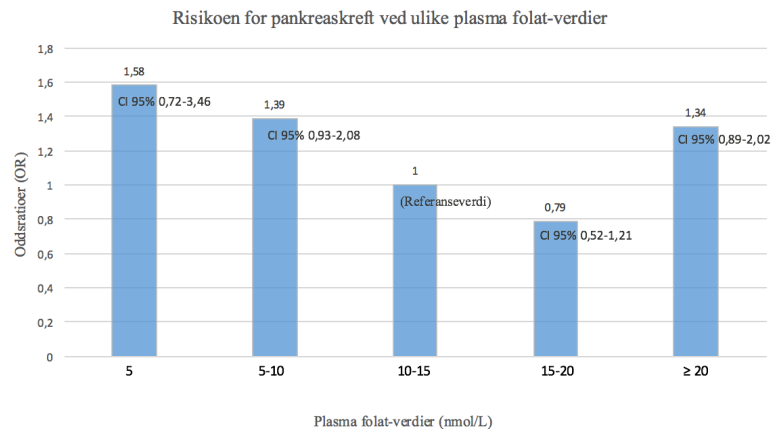
Artikkelen "A U-shaped relationship between plasma folate and pancreatic cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition" av Chuang et. al. ble publisert i European Journal of Cancer i 2011 (15). Dette er også en nestet kasus-kontrollstudie på deltakere hentet fra EPIC-studien (se studie 1).

Hensikten med studien var å undersøke assosiasjonen mellom totalt plasma folat (og andre metabolitter) og risikoen for pankreaskreft. Deltakerne ble rekruttert i alderen 25-70 år (1992-

2000), og ble fulgt fram til de fikk kreft, døde, emigrerte, eller til avsluttet oppfølging. Deltakerne i kasus- og kontroll-gruppen ble matchet etter geografisk område, kjønn, alder (+/-1 år), dato og tidspunkt for blodprøver, og fastende status. Alle deltakerne ble fulgt opp i gjennomsnittlig 9,6 år (1992-2006).

I en tidsperiode på 15 år ble 638 tilfeller av pankreaskreft identifisert. Derav 170 tilfeller ble ekskludert på grunn av manglende blodprøver, godartete svulster, forstadie-karsinomer, nevroendokrine tumorer, sekundære tumorer, og metastaserende tumorer som det var usikkert om var primære. Ukvalifiserte blodprøver ble også ekskludert. Dermed inkluderte studien 463 personer i kasus-gruppen, og 464 i kontroll-gruppen. Kjønnfordelingen blant deltakerne var jevn, men nesten halvparten var fra Nord-europeiske land (44%). Det var også en tendens til høyere forekomst av røyking, alkoholbruk og overvekt blant mennene enn blant kvinnene. Blodprøvene målte 25 markører som var direkte eller indirekte involvert i en-karbon metabolisme. For målinger av folat ble det brukt mikrobiologiske metoder. Alle tester og analyser av blodprøver ble randomisert og blindet. Betinget logistisk regresjon ble bruk til å kalkulere oddsratioer (OR) med CI 95%. Konfunderende faktorer som det ble justert for var kjønn, geografi (Nord-, Sentral-, eller Sør-Europa), utdannelse, røyking, plasma kotinin, alkoholbruk, kroppsmasseindeks (BMI), fysisk aktivitet, selv-rapportert diabetes-status, i tillegg til potensielle effekter av sub-kliniske sykdommer. Når det var nødvendig brøt de også opp de matchete deltakerne og bruke ubetingete logistiske regresjons-modeller, justert både matchede- og andre konfunderende variabler. P-verdier for heterogenitet på tvers av kjønn og oppfølgings-år ble beregnet med  $\chi^2$ -tester for kategoriske data, og Wilcoxon Rank Sum-tester for kontinuerlige data. Alle statistiske tester var tosidige med signifikansnivå (P-verdi) på 0,05.

Studien fant en u-formet assosiasjon mellom plasma folat og risiko for pankreaskreft. Analysene fokuserte på assosiasjonen mellom de viktigste en-karbon metabolittene, inkludert folat. OR for de ulike plasma folat-verdiene er presentert i figur 5.



Figur 5. Risikoen for pankreaskreft basert på oddsratioer (OR) med 95% konfidensintervaller (CI) ved ulike plasma folat-verdier (nmol/L)(15).

Når fjerde og første kvintil ble sammenliknet ble det observert en omvendt assosiasjon (OR 0,46, 95% CI=0,28-0,77) og tendens til et u-format dose-responsforhold mellom folat og pankreaskreft. Ingen klar assosiasjon ble observert når femte og første kvintil ble sammenliknet (OR 0,81, 95% CI=0,49-1,35). Både folat-mangel (<6,8 nmol/L) og høy folat-status ( $\geq 20$  nmol/L) ble assosiert med en høyere risiko for pankreaskreft, men dette var ikke statistisk signifikant.

Studien fant ingen klar assosiasjon mellom en-karbon metabolitter og pankreaskreft. Resultatene antydte kun en svak, omvendt u-format assosiasjon med folat.

### 3.1.3 Studie 3

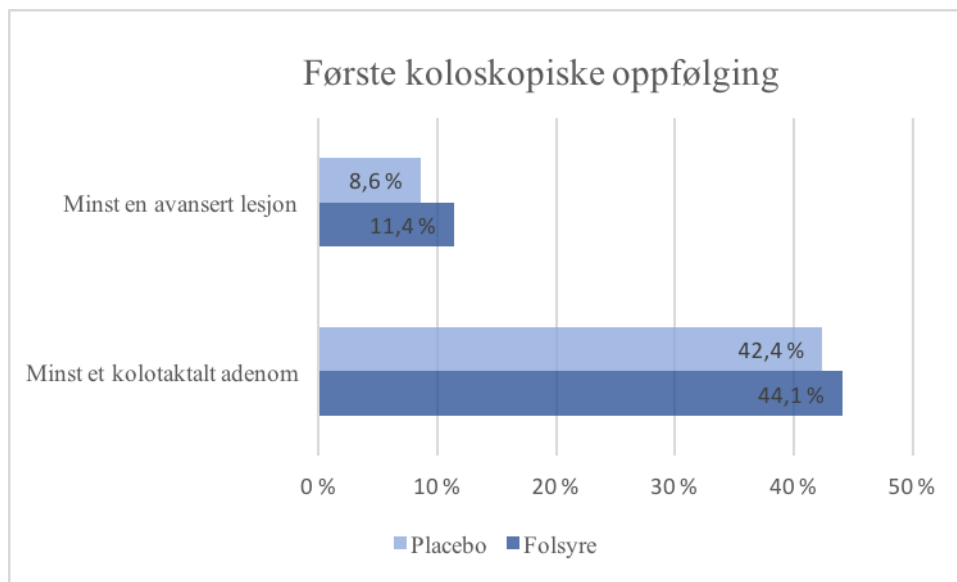
Forskningsartikkelen "Folic Acid for the Prevention of Colorectal Adenomas – A Randomized Clinical Trial" av Cole BF et al. ble publisert av Journal of American Medical Association (JAMA) i 2007 (16). Dette var en dobbel-blindet, placebo-kontrollert, randomisert klinisk studie (RCT) med et "to-faktor, fase-tre" studiedesign. Studien var gjennomført ved ni kliniske sentre i USA i 1994-2004.

Deltakerne besto av 1021 kvinner og menn med nylig historie med kolorektale adomer, og uten tidligere invasive karsinomer i tarmen. Deltakerne ble randomisert til å motta 1 mg/dag folsyre

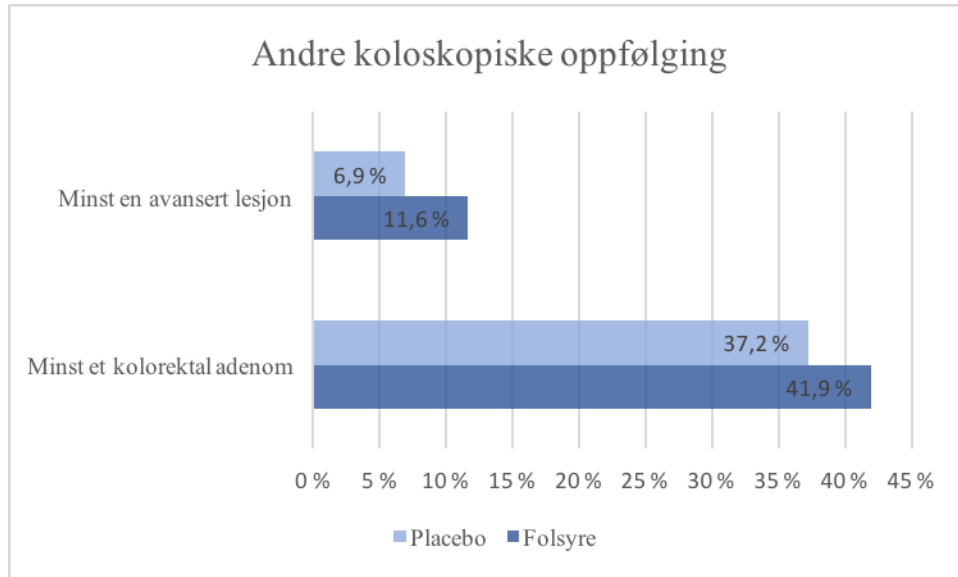
(n=516) eller placebo (n=505). I tillegg ble de randomisert til å motta 81 eller 325 mg/dag med aspirin eller placebo.

Oppfølgingen av deltakerne besto av to koloskopiske overvåkningssykluser. Det første intervallet var på 3 år. Da gjennomgikk 987 deltakere (96,7%) koloskopisk oppfølging. Videre deltok 607 deltakere (59,5%) på andre oppfølging, tre eller fem år etter første oppfølging.

Det primære utfallet som ble målt i studien var tilfeller av minst et kolorektalt adenom. Det sekundære utfallet var tilfeller av avanserte lesjoner med en bestemt grad av dysplasi eller et antall adenomer. Forekomsten av adenomer og avanserte lesjoner i intervensjonsgruppen og placebo-gruppen i første og andre oppfølging er presentert i figur 6 og 7.



Figur 6. Prosentvis antall tilfeller med adenomer i intervensjonsgruppen (n=121) og placebo-gruppen (n=206)(Ujustert RR: 1,04, CI 95% 0,90-1,20, P=0,58); og avanserte lesjoner i intervensjonsgruppen (n=57) og placebo-gruppen (n=42)(ujustert RR: 1,32, CI 95% 0,09-1,92, P=0,15) i første oppfølging (n=987)(16).



Figur 7. Prosentvis antall tilfeller med adenomer i intervensjonsgruppen ( $n=127$ ) og placebo-gruppen ( $n=113$ ) (Ujustert RR: 1,13, CI 95% 0,93-1,37,  $P=0,23$ ); og avanserte lesjoner i intervensjonsgruppen ( $n=35$ ) og placebo-gruppen ( $n=21$ ) (ujustert RR: 1,67, CI 95% 1,00-2,80,  $P=0,05$ ) i andre oppfølging ( $n=607$ ) (16).

Resultatene i studien viste at folsyre-tilskudd var assosiert med en høyere risiko for å ha tre eller flere adenomer, men ikke CRC. Det var ingen signifikant effekt modifisering av alder, kjønn, røyking, alkoholbruk, BMI, baseline plasma folat, eller aspirin. Studien konkluderer med at folsyre-tilskudd på 1 mg/dag ikke reduserer risikoen for CRC.

### 3.1.4 Studie 4

Forskningsartikkelen "Association between Folate Levels and CpG Island Hypermethylation in Normal Colorectal Mucosa" av Wallace et al. ble publisert av American Association for Cancer Research i 2010 (17). Denne studien ser på assosiasjonen mellom serum folat-nivåer og kosthold- og livsstilsfaktorer med metylering i CpG-øyer i normale tarmslimhinner.

Studien hentet deltakere fra en større randomisert, dobbel-blindet, placebo-kontrollert studie som testet om folsyre (og aspirin) hadde en kjemopreventiv effekt på adenomer i tykktarm (16). Deltakerne i studien til Wallace et al. ble hentet fra utvalget på 1021 deltakere i den overordnede studien (17). Rekrutteringen foregikk mellom 1994 og 1998 fra ni kliniske sentre i Nord-Amerika. Alle deltakerne hadde tidligere historie med minst et kolorektalt adenom, men uten



gjenværende polypper i tarmen etter en komplett eksaminering med koloskopi. Totalt 1000 biopsier fra tykktarm og rektum ble samlet fra de 389 rekrutterte deltakerne.

Den opprinnelige studien hadde et faktorialt studiedesign og sammenliknet doser på 1 mg/dag folsyre med placebo. Studien var opprinnelig designet for å studere aspirin, men ble utvidet til å inkludere folsyre etter kort tid. Første oppfølging med koloskopi ble gjort ca. tre år etter rekruttering. Polypper ble klassifisert som neoplastiske eller ikke-neoplastiske av patologer fra den overordnede studien. Avanserte lesjoner eller adenomer bestående av minst 25% villier, en høy grad av dysplasi, eller estimert størrelse på  $\geq 1$  cm, ble definert som invasive karsinomer.

Studien målte DNA-metyleringen av østrogen reseptor alfa ( $ER\alpha$ ) og "secreted frizzled related protein-1" (SFRP1) ved å bruke bisulfit pyrosekvensering. De brukte generaliserte estimerende liknings-regresjons analyser for å eksaminere assosiasjonen mellom metylering og utvalgte variabler. For både  $ER\alpha$  og SFRP1 var prosentvis metylering signifikant høyere i rektum i forhold til proksimalt i tarmen ( $P=0,001$ ). For hvert tiende alders-år ble det observert en økning i metylering på 1,7% for  $ER\alpha$  og 2,9% for SFRP1 ( $P<0,0001$ ). Et høyere nivå av RBC folat ble assosiert med høyere nivåer av metylering for både  $ER\alpha$  ( $P=0,03$ ) og SFRP1 ( $P=0,01$ ).

Studien antyder at metylering av CpG-øyer i normale tarmslimhinner er relatert til RBC folat-nivå, i tillegg til alder, etnisitet, og lokalisering i tarmen. Med bakgrunn i hypotesen om at metylering i normale tarmslimhinner kan pre-disponere for neoplasi og tykktarmskreft, konkluderer studien med at de framstilte dataene er viktige å ta hensyn til i forhold til i vurderingen av hvor trygt tilskudd med folat er blant friske voksne.

### 3.1.5 Studie 5

Forskningsartikkelen "Systemic folate status, rectal mucosal folate concentration and dietary intake in patients at different risk of bowel cancer (The FAB2 Study)" av Williams et al. ble publisert i European Journal of Nutrition i 2013 (18). FAB2-studien var en britisk kasus-kontrollstudie på virkningene av folat (og interaksjon med riboflavin) på biomarkører for økt CRC-risiko. Studien undersøkte sammenhengen mellom kosthold, folat-status og folat-konsentrasjoner i tarmslimhinner blant individer med ulik risiko for å utvikle tarmkreft.

Totalt 228 deltakere ble rekruttert fra ulike gastroenterologiske klinikker i alderen  $\geq 40$  år. Deltakerne ble inndelt i tre sub-grupper; pasienter med diagnostisert, ubehandlet CRC (n=43), pasienter med adenome polypper (n=90), og pasienter med normal tarm (n=95).

Eksklusjonskriterier var brukere av multivitamin-tilskudd (siste tre måneder) eller legemidler med kjente interaksjoner med folat, gravide eller ammende, alkoholikere, arvelig ikke-polypøs CRC, familiær adenomatøs polypose, eller inflammatorisk tarmsykdom.

Biopsier av normale tarmslimhinner og blodprøver ble samlet inn for å måle konsentrasjonen av den biologiske aktive formen av folat, 5-Metyl-THF, og systemiske markører for folat-status; plasma homocystein, erytrocytt-glutation-reduktase, plasma vitamin B12, og genotypen MTHFR C677T. For å evaluere kostholdet ble det brukt et validert matvarefrekvensskjema, som var en modifisert versjon fra EPIC-studien. Av 228 deltakere fullførte 205 matvarefrekvensskjemaet.

Resultatene viste ingen ulikheter mellom de tre pasient-gruppene i variabler knyttet til kosthold og konsentrasjoner av plasma 5-metyl-THF, eller RBC folat. Pasientgruppen med polypper og kreft var signifikant eldre, og kreftpasientene hadde en høyere andel menn, sammenliknet med den normale gruppen. Det var heller ingen signifikant forskjell i BMI, MTHFR-genotype, eller røykevaner mellom gruppene. Det var en høyere 5-metyl-THF-konsentrasjon i normale slimhinner hos polypp-pasientene ( $P=0,055$ ). 5-metyl-THF-nivået i tarmslimhinnene var signifikant assosiert med plasma folat, RBC folat, og folat-inntak fra mat.

Studien viser at folat-status blant pasienter ved gastroenterologiske klinikker er adekvat, og uten signifikante forskjeller i kosthold eller folat-status relatert til diagnose. Det ble funnet en signifikant forskjell i 5-metyl-THF-konsentrasjonen i tarmslimhinner mellom gruppene. 5-metyl-THF var forhøyet med nesten 30% hos pasienter med adenome polypper, sammenlignet med pasienter med normal tarm ( $P=0,055$ ). Dette kunne i midlertid ikke relateres til høyere folat-inntak eller systemisk folat-status, og oppnådde ingen signifikans. Studien konkluderer med at det er nødvendig mer flere studier som kan understøtte disse observasjonene for å avgjøre om resultatene utgjør noen biologisk betydning.

### 3.1.6 Studie 6

Forskningsartikkelen ”Folate Intake and Pancreatic Cancer Incidence: A Prospective Study of Swedish Women and Men” av Larsson et al. er en svensk prospektiv kohortstudie publisert i Journal of the National Cancer Institute i 2006 (11). Hensikten med studien var å undersøke assosiasjonen mellom folat-inntak og risikoen for pankreaskreft blant svenske kvinner og menn.

Deltakerne var hentet fra et større utvalg i en svensk mammografi-kohort og en mannlig, kreftfri kohort som hadde fullført et omfattende matvarefrekvensskjema og spørreundersøkelse i 1997. Av disse deltakere ble de med feil eller manglende personnummer, usannsynlig høyt eller lavt energiinntak, eller tidligere diagnostisert kreft (med unntak for ikke-melanom hudkreft) ekskludert. Studien inkluderte 81 922 deltakere; 36 616 kvinner og 45 306 menn rekruttert i alderen 45-83 år. Deltakerne ble fulgt fra januar 1998 og fram til diagnostisert pankreaskreft, død, migrasjon, eller desember 2004.

Av statistiske analyser ble det benyttet Cox proporsjonale risiko-modeller for å estimere rate ratioer (RR) med 95% CI, samt regresjonsanalyser og ulike multivariable tester. I multivariable analyser ble det kontrollert for alder, kjønn, og andre potensielle konfunderende faktorer, som røyking, alkoholinntak, inntak av frukt og grønnsaker, utdanning, totalt energiinntak, BMI, fysisk aktivitet, og historie med diabetes. Alle statistiske tester var tosidige med signifikansnivå (P-verdi) på 0,05.

Resultatene presenterer begge kjønn kombinert, siden separate modeller for kvinner og menn viste liknende assosiasjoner. Resultatene viste at de med høyt folat-inntak fra mat hadde en høyere sannsynlighet for høyere utdanning, historie med diabetes, være brukere av multivitaminer og folat-tilskudd, og lavere sannsynlighet for å røyke. Det var også en tendens til høyere fysisk aktivitet og inntak av frukt, grønnsaker og karbohydrater, sammenliknet med gruppen med lavest folat-inntak. Et høyt inntak av folat fra mat var assosiert med lavere alder blant kvinner, og lavere alkoholinntak blant menn.

Studien hadde en gjennomsnittlig oppfølgingstid på 6,8 år, og resulterte i totalt 135 diagnostiserte tilfeller med pankreaskreft, derav 61 kvinner og 74 menn. Folat fra mat og totalt folat-inntak var statistisk signifikant omvendt assosiert med risikoen for pankreaskreft. Multivariabel RR for

pankreaskreft hos deltakerne med høyest folat-inntak ( $\geq 350$   $\mu\text{g}/\text{dag}$ ) sammenliknet med de med lavest inntak ( $< 200$   $\mu\text{g}/\text{dag}$ ) var 0,25 (CI 95% 0,11-0,59, P-trend=0,002) for folat fra kosten, og 0,33 (CI 95%, 0,15-0,72, P-trend=0,01) for totalt folat-inntak. Disse resultatene endret seg ikke ved å ekskludere kreft-tilfeller som oppsto i de to første årene for å kontrollere for bias relatert til kostholdsendringer som potensielt kunne påvirke resultatene i studien.

Totalt folat-inntak var omvendt assosiert med risiko for pankreaskreft, men assosiasjonen var sterkest for folat kun fra kosten. Folsyre-tilskudd ( $\geq 300$   $\mu\text{g}/\text{dag}$ ) var ikke assosiert med pankreaskreft, sammenliknet med de som ikke tok tilskudd (RR 1,02, CI 95% 0,56-1,88). Den kjønn- og aldersstandardiserte insidensraten for pankreaskreft per 100 000 person-år var 41 for de med lavest folat-inntak fra mat, og 18 for de med høyest inntak.

Resultatene fra studien antyder at et økt inntak av folat fra mat, men ikke fra folsyre-tilskudd, kan være assosiert med en redusert risiko for pankreaskreft. Studien foreslår at et økt inntak av mat naturlig rik på folat kan være gunstig, men anbefaler ikke økt bruk av folat i form av folsyretilskudd for å forebygge pankreaskreft.

## 3.2 Sekundærstudier

### 3.2.1 Studie 7

Forskningsartikkelen "Cancer risk with folic acid supplements: a systematic review and meta-analysis" av Wien et al. ble publisert i BMJ Open i 2012 (5). Studien er en systematisk oversiktsartikkel og meta-analyse av kontrollerte studier på folsyre-tilskudd blant rapporterte tilfeller av kreft og/eller dødsfall av kreft. Hensikten med studien var å undersøke om det er en økt kreftrisiko assosiert med folsyre-tilskudd. Studier på folsyreberiket mat var ikke inkludert. Benyttede datakilder var Cochrane Library, Medline, Embase og Centre of Reviews and Dissemination, kliniske registre og hånd-oppførte journaler.

Studien inkluderte systematiske oversikter, RCT-studier, og kontrollerte observasjonelle kasus-kontroll- og kohortstudier. Totalt 19 studier ble inkludert, derav 12 RCT-studier, seks kohortstudier og en kasus-kontrollstudie.

De inkluderte studiene vurderte insidens og/eller dødelighet av kreft i alle typer populasjoner som

tok folsyre-tilskudd ( $\geq 400 \mu\text{g}/\text{dag}$ ), uansett årsak. Folsyre-tilskudd tatt sammen med andre B-vitaminer ble inkludert, bortsett fra tilskudd ved kreftbehandling med høye doser cytostatika.

Ingen heterogenitet ble funnet på tvers av studiene. Meta-analysen av 10 RCT-studier som rapporterte generell kreftrisiko ( $n=38\,233$ ) ga en risk ratio (RR) for intervensjonsgruppen på 1,07 (CI 95 % 1,00-1,14) sammenliknet med kontrollgruppen. Dette tilsvarte 3 515 kreftilfeller blant 38 233 deltakere. Generell kreftrisiko var ikke rapportert i 7 av observasjonsstudiene.

Ingen signifikant forskjell i kreftilfeller ble observert mellom intervensjons- og kontroll- eller placebogruppen for CRC eller pankreaskreft. Total kreftdødelighet ble rapportert i 6 RCT-studier. En meta-analyse av disse viste en RR på 1,09 (CI 95% 0,90-1,30), og ingen signifikant forskjell i dødelighet. Ingen av de observerende studiene oppga risiko for dødelighet.

Sensitivitetsanalyser identifiserte fire sub-grupper der folsyre økte kreftrisiko og dødelighet. Disse inkluderte studier med folsyre-tilskudd i doser på 400-1000  $\mu\text{g}/\text{dag}$  (RR 1,21, CI 95% 1,06-1,38), studier med over 30% røykere (RR 1,19, CI 95% 1,02-1,38) studier med over 70% menn (RR 1,08, CI 95% 1,00-1,16), og studier med  $\geq 5$  år oppfølging (RR 1,09 (CI 95% 1,00-1,18). Røyking, kjønn, og lengde på oppfølging ble ikke undersøkt videre som potensielle årsaker til økt risiko, fordi studien fokuserte kun på folsyre-tilskudd som risikofaktor.

En meta-analyse av 10 RCT-studier viste en svak signifikant økt forekomst av generell kreft i intervensjonsgruppen med folsyre, sammenliknet med kontrollgruppen. En Meta-analyse av 6 RCT-studier viste ingen økt forekomst av kreft i GI (kun prostata) etter intervensjoner med folsyre.

Resultatene gir ingen argumenter for økt kreftrisiko blant fertile kvinner som anbefales å ta folsyre-tilskudd for å redusere risikoen for nevralrørsdefekter hos fostre. Studien foreslår at gjennomføring av prospektive studier på kreft i populasjoner med folatberiket mat kan bidra til å gi indikasjon på om beriking i likhet med tilskudd kan medføre en potensiell moderat økt risiko for prostatakreft.

## 4. DISKUSJON

### 4.1 Oppsummering av resultatene

For å oppsummere funnene i litteraturstudien var det ingen klare assosiasjon mellom folat-status og risikoen for gastrointestinal kreft, men en sterkere assosiasjon mellom folat-status (hovedsakelig RBC folat) og endret DNA-metylering.

Funnene i kasus-kontrollstudiene var ingen assosiasjon mellom folat-status, MTHFR-polymorfismer og CRC, en ikke-signifikant økt risiko for tarmkreft ved høye folat-nivåer i tarmslimhinne, plasma, RBC, og ved høyt folat-inntak, eller en svak u-formet assosiasjon mellom plasma folat og risikoen for pankreaskreft (14,15,18). Kohortstudien fant en omvendt assosiasjon mellom folat fra mat og totalt folat-inntak og risikoen for pankreaskreft, men ingen redusert risiko for folat-tilskudd (11). RCT-studiene fant ingen sammenheng, eller en økt risiko for adenomer (men ikke CRC) ved høy-dose folat-intervensjoner, samt en sammenheng mellom RBC folat og endret metylering i CpG-øyer i normale tarmslimhinner (16,17). Den systematiske oversiktsartikkelen og meta-analysen antydte også at høye doser med folat-tilskudd kan øke risikoen for både kreft og dødelighet (5).

### 4.2 Vurdering av litteraturstudien

Som allerede nevnt i metode-kapittelet trenger et enkelt spørsmål ofte flere metodiske tilnærminger for å besvares på en helhetlig måte. For å belyse årsakssammenhengen mellom folat-status, epigenetiske endringer og kreftrisiko, var hensikten med litteratursøket å inkludere både RCT-studier, for å se på effekten av folat-intervensjoner, og kasus-kontrollstudier og kohortstudier, for å studere risiko og sykdomsutvikling. Antall inkluderte studier er for lite til å trekke en sterk konklusjon, men de fremstår som representative innen forskningsfeltet. Utvalget av studier var også noe påvirket av hva som var praktisk med tanke på tilgang på artikler. Til tross for et lite utvalg studier, styrkes litteraturstudien av den systematiske oversiktsartikkelen og meta-analysen. Den representerer et større antall studier som sammenliknes og settes i sammenheng. Den metodiske bredden skal derfor være god i forhold til antall studier. Et kritisk

punkt var problemstillingen i seg selv, som var i overkant omfattende med hensyn til begrensningene i antall ord og inkluderte studier i bacheloroppgaven.

Basert på den teoretiske bakgrunnen for problemstillingen var resultatene i litteraturstudien som forventet både motstridende og ikke-konkluderende. Dette var på mange måter skuffende, men det interessante var spørsmålene som oppsto ved å se på resultatene i studiene. Har folat en to-sidig rolle, og kan endret DNA-metylering både fremme og hemme kreftutvikling? Kan folat-tilskudd og folatberiking utgjøre en økt risiko blant enkelte individer, men også på populasjonsnivå og dermed utgjøre et samfunnsproblem som bør tas tak i?

### 4.3 Vurdering av kildene – styrker og svakheter

Et fellestrekk for alle studiene var at utvalgene ikke var representative for den generelle befolkningen. Deltakerne var hovedsakelig rekruttert fra gastroenterologiske klinikker, og/eller etter utredning eller diagnostiserte patologiske endringer, adenomer eller kreft i GI.

Studiepopulasjonene var dermed delvis selekterte og basert på risikogrupper for kreft.

Flere av studiene hadde også et utvalg med høy alder, eksempelvis studiene til Williams et al. og Larsson et al. der alle deltakerne var over 40 eller 45 år. Kreftrisiko øker med alder, og er derfor viktig å ta hensyn til ved tolking av resultatene (2,7,19). Med utvalg som ikke er representative svekkes også generaliserbarheten av resultatene i studiene.

Alle studiene hadde hver sine styrker og svakheter i studie-design, som allerede er nevnt i metode-kapittelet. Når det kommer til oppfølgingstid, er det felles for flere av studiene at oppståtte krefttilfeller i kort tid etter oppstart ble ekskludert, siden det er liten biologisk sjans for at disse tilfellene var relatert til intervensjonene i de aktuelle studiene. RCT-studiene hadde kortest oppfølgingstid, men ingen av studiene hadde en oppfølging på mer enn 10 år. Dette kan ha medført til en underestimert antall krefttilfeller og for kort oppfølging til å avdekke alle relaterte krefttilfeller. Dette kan bekreftes i analyser av studier der det er funnet en knapp økning i kreftrisiko med folat-tilskudd i studiene med lengst oppfølgingstid, sammenliknet med studier med kortere oppfølging (5). I observasjonelle studier er det i midlertid ikke funnet noen forskjell i risiko relatert til oppfølgingstid.

Ingen av studiene har en tydelig svak utvalgsstørrelse, og utvalgsstørrelsen i studiene innunder EPIC-studien var spesielt stor. Når det gjelder kontroll-gruppene i de ulike studiene er det liten garanti for hvor kritisk utvalget var. Kjønnfordelingen var jevn på tvers av studiene, men det var observert skjevheter i risiko mellom kjønnene (15). Bruken av multivitamin-tilskudd var høyere blant kvinner, mens det var høyere forekomst av overvekt, røyking og høyt alkoholinntak blant menn. Røyking og alkohol-inntak er eksempel på viktige konfunderende faktorer, som ble kontrollert for i samtlige studier. I tillegg kontrollerte de fleste studiene for kjønn, BMI, diabetes, fysisk aktivitet, utdanning, inntak av andre B-vitaminer, fiberinntak, totalt energiinntak, samt inntak av frukt og grønnsaker.

Det er generelt vanskelig å kontrollere for hvor tilfeldige funnene i de ulike studiene er. Endringer av livsstil og risikofaktorer over tid kan ha også endre assosiasjonen mellom folat-status og risikoen for GI-kreft.

## 4.4 Vurdering av resultatene

### 4.4.1 Folat-status og risikoen for gastrointestinal kreft

Årsaken til at det ikke ble funnet noen klar assosiasjon mellom folat-status og risikoen for kreft i GI kan skyldes at det er involvert så mange påvirkende faktorer. Alle variablene relatert til folat-status gjør det vanskelig å gjøre nøyaktige vurderinger av både inntak, omsetning og biologisk effekt.

Målingene av folat-status er ikke standardiserte, og gjør vurderingen av folat-status komplisert (7,9). Ulike målemetoder gjør det vanskelig å sammenligne resultater på tvers av studier. Folat kan måles i både urin, serum, plasma, og RBC gjennom flere forskjellige teknikker. Målinger av folat i både serum og RBC er effektivt, men RBC folat regnes som den mest reliable indikatoren på folat-status. Serum folat er sensitiv ved alle kortvarige intervensjoner, men RBC folat responderer hovedsakelig på intervensjoner med folsyre og folatberiking. RBC folat reflekterer langtidsinntak, vevslagre, og påvirkes mindre av biologisk variasjon.

I tillegg til ulike målemetoder, er kildene og inntaket av folat ulikt på tvers av studiene. Risikoen forbundet med folat fra naturlige kilder i kosten er ikke tilsvarende risikoen for syntetisk folsyre



fra kosttilskudd, eller beriket mat (8,9). Denne kilde-spesifikke forskjellen kan først og fremst skyldes doseringer og ulikheter i biotilgjengelighet. Absorpsjonen av folat er grovt estimert til 50%, avhengig av kostholdets sammensetning. Det er få studier på absorpsjonsgraden til folat i sammensatte måltider, men folsyre fra kosttilskudd eller beriket mat har en høyere biotilgjengelighet enn folat fra naturlige kilder. Folsyre kan derfor lettere medføre et inntak som overskrider anbefalingene. RCT-studiene til Cole BF et al. og Wallace et. al. hadde en folsyre-intervensjon på 1000 µg/dag, og Wien et al. inkluderte studier med et inntak på 400-4000 µg/dag (5,16,17). Disse høy-dosene med folat er ikke nødvendigvis representative for inntaket generelt i populasjoner. Studier i populasjoner med høyere folat-status som et resultat av folat-berikete matvarer er også en potensiell årsak til ulike resultater og effekt av intervensjoner med folat. Det er allerede vist at effekten av folat-intervensjoner er tydeligst blant individer som ikke tar multivitamin-tilskudd. Dette var et felles eksklusjonskriterie i samtlige studier fra litteraturstudien, bortsett fra kasus-kontrollstudien til Chuang et al., der informasjonen om kosttilskudd var begrenset (15). Folat-inntak er enklest å bedømme i friske populasjoner, der faktorer som sykdom, medisinbruk, og høyt alkoholinntak ikke forstyrrer resultatene (2). Det er med andre ord grunn til å være kritisk til resultatene i studiene med deltakere hentet fra gastrointestinale klinikker, slik som i studien til Cole BF et al. og Wallace et al.

Den store, svenske prospektive studien til Larsson et. al. fant en redusert risiko for pankreaskreft hos individer med et høyt inntak av folat fra mat, men ikke fra kosttilskudd (5,18). Dette stemmer overens med konklusjonene i flere andre studier og store systematiske forskningsrapporter (2,8). Et høyt inntak av folat fra naturlige kilder er foreløpig ikke assosiert med økt risiko for kreft, mens det er begrensede bevis for at et høyt folat-inntak (>300 µg/dag) kan redusere risikoen for kreft i GI. Flere studier antyder at folat-tilskudd kun er gunstig ved folat-mangel, og at et økt inntak utover dette ikke gir noen økt positiv effekt (5).

I tillegg til kilde og dosering er det spekulert på om folat kan ha en forebyggende effekt hos friske individer, men innebære en økt risiko hos individer med utviklet kreft (5). Denne hypotetiske to-sidige effekten til folat kan være en forklaring på resultatene i den nestede kasus-kontrollstudien til Chuang et al., som fant en svak u-formet assosiasjon mellom folat-status og risikoen for CRC (15). Sammenhengen mellom timing før eller etter oppstått kreft og folat-status er primært basert på teorier med utgangspunkt i at det er plausibelt at folat kan virke fremmede

på celledeling i kreftceller, samtidig som det virker forebyggende i friske celler ved å stabilisere DNA-et og sikre normal celledeling. Det er foreslått at effekten til folat er avhengig av vev- og celletype, og at hurtigvoksende celler er mest sensitive ovenfor folat-status (5). Tarmkreft kan være aktuelt i denne sammenhengen, siden tarmceller har en høy celledeling, i likhet med kreftceller (2). Folat-konsentrasjoner kan også måles i vev, og i studien til Williams et al. foreslår de at måling av folat-konsentrasjoner i tarmvev kan være mer relevant enn systematiske målinger og være et nyttig parameter i fremtidige studier (18). Mer fokus på folat-konsentrasjon i aktuelle vev kan være hensiktsmessig for å øke forståelsen av rollen til folat i patogenesen til CRC.

På populasjonsnivå er MTHFR 677TT-genotypen foreslått som den mest avgjørende faktoren for folat-status og individuelle forskjeller i en-karbonmetabolismen (9). I kasus-kontrollstudien til Eussen et al. fant de en økt risiko for CRC ved lav folat-status blant individer med MTHFR 677TT-genotype (14). Eussen et al. fant likevel ingen signifikant årsakssammenheng, men påpeker behovet for studier med større utvalgsstørrelse for å vurdere interaksjonene mellom genomet og kosthold.

Mer forskning er nødvendig for å forstå sammenhengen mellom folat-status og GI-kreft. Flere studier bør undersøke om effekten til folat er relatert til folat-kilde, dosering, timing, vev- og celletype, genotype, og om utgangspunktet i folat-status er høyt eller lavt. De inkonsistente og ikke-signifikante funnene på tvers av tidligere studier kan skyldes ulike målemetoder og studiedesign, i tillegg til ulikheter i studiepopulasjonene. Flere studier bør prioritere å finne ut om det er en økt risiko assosiert med folat-tilskudd, og om risikoen er tilsvarende for folatberiket mat. Det bør gjennomføres studier rettet mot fertile kvinner og målgruppen for anbefalingene om folat-tilskudd (>400 µg/dag), og i populasjoner med folatberiking.

#### 4.4.2 Folat-status, DNA-metylering og epigenetiske endringer assosiert med kreft

Selv om linkene mellom folat-status og GI kreftrisiko ikke var tydelig, kan det se ut som at sammenhengen mellom folat-status og DNA-metylering er tydeligere. RCT-studien til Wallace et

al. konkluderte med at metylering i spesifikke gener (forbundet med vekst og celledifferensiering) kan være relatert til RBC folat-status (17).

Som allerede nevnt er MTHFR-genotypen avgjørende for folat-metabolisme, og potensielt gunstige eller skadelige epigenetiske endringer. Endret DNA-metylering oppstår tidlig og hyppig i kreftutvikling, og behovet for folat (og metyl-grupper) er også høyere hos kreftceller for at de skal kunne dele seg hurtig. Hypotesen er at epigenetiske endringer kan utgjøre en biologisk link mellom folat-status og kreftrisiko, og at DNA-metylering i spesifikke promoter-regioner kan understøtte den potensielle rollen folat har i kreftutvikling. Wallace et. al. fant i midlertid ingen signifikant assosiasjon mellom DNA-metylering og spesifikke gener (17). Dette kan skyldes metodiske svakheter og et selektert utvalg, men også at de ikke så på de mest relevante genene for å undersøke epigenetiske endringer (selv om ER $\alpha$  og SFRP1 trolig er viktige markører for CRC). Målingen av DNA-metylering kan også være avhengig av lokalisasjon i tarmen, da Wallace et al. fant en prosentvis høyere metylering i rektum sammenliknet med proksimalt i tarmen (17,19).

Mekanismene knyttet til folat og DNA-metylering er kompliserte, og studien til Wallace et al. er et eksempel på en godt designet, kreftforebyggende studie som ikke gav de resultatene som var forventet (eller håpet på) når de fant en høyere risiko etter intervensjonen med folat-tilskudd (17). Kasus-kontrollstudien til Eussen et al. fant heller ingen sammenheng mellom folat-status, MTHFR-genotyper, og CRC i EPIC-kohorten (14). Det gjenstår derimot å undersøke nivået av metylering og sammenhengen med folat-status blant mindre selekterte individer uten patologisk historie med adenomer eller kreft i GI.

Foreløpig er det teoretisk plausibelt at folat-mangel kan føre til unormal DNA-metylering (7). Samtidig er det viktig å være bevisst på alle faktorene som påvirker folat-metabolismen og være kritisk til resultatene i studier som ikke tar hensyn til disse. Spesielt med tanke på alkoholinntak og vitamin B12. Vurderingen av vitamin B12 er essensiell i vurderingen av folat-status, siden vitamin B12-mangel kan resultere i funksjonell folat-mangel til tross for god folat-status. Alkoholinntak er kontrollert for i samtlige studier inkludert i litteraturstudien, og de fleste involverer blodprøver som måler vitamin B12-status, andre en-karbonmetabolitter og markører. Fokuset på B12 i data-analysene er i midlertid variert, og det er ikke tydelig om det var

kontrollert spesifikt for sammenhengen mellom vitamin B12-status og folat i vurderingen av effekten til folat, utover en separat vurdering av vitaminenes assosiasjon med DNA-metylering og/eller kreftrisiko.

#### 4.4.3 Hvilken praktisk betydning har folat og epigenetiske endringer innen forebygging og behandling av kreft?

Forekomsten av kreft øker, og økningen er spesielt høy i middel-inntektsland (7). Det blir derfor viktig å fortsette å gjennomføre studier, og øke forståelsen av rollen ernæring har på epigenetiske endringer, og effekten dette har på utviklingen av kreft. Ved å øke forståelsen om mekanismene for DNA-metylering og folat sin biologiske effekt, kan det bli enklere å både identifisere ulike epigenetiske risikogrupper og bidra til å standardisere metodiske tilnærminger i studier med folat. Det er allerede funnet at endret DNA-metylering er en av de første somatiske endringene hos kreftceller, og det er naturlig å inkludere folat som en påvirkende faktor i kreftutvikling i GI. Folat utgjør i midlertid ikke det eneste vitaminet som er avgjørende for metyleringen av DNA. Spørsmålet er hvor avgjørende folat-status er, hvilke interaksjoner som er avgjørende, og hvilken risiko som er forbundet med lav, normal og høy folat-status.

Med tanke på den genetiske variasjonen mellom individer er det ikke overaskende at det er en grad av variasjon i respons på ernæringsterapi (2,7). Hensikten med å fokusere på epigenetikk er nettopp å kartlegge genetiske- og epigenetiske faktorer som responderer på kostholdet, og på denne måten åpne muligheten for kunnskapsbasert og målrettede kostholdsintervensjoner. Med utgangspunkt i epigenomet kan det utvikles strategier for forebygging og målrettede intervensjoner rettet mot spesifikke underliggende mekanismer. Longitudinelle studier med livslangt perspektiv er aktuelle, og kan potensielt definere epigenetiske profiler forbundet med ulike risikoer for kreft. Den praktiske anvendelsen av denne forskningen vil være nye verktøy til bruk innen ernæringspraksis, kreftbehandling og forebygging.

Studiene på sammenhengen mellom folat-status, DNA-metylering og risikoen for kreft har ikke gitt så lovende resultater som tidligere foreslått; bare fordi et vitamin deltar i prosesser som kan redusere risikoen for kreft betyr det ikke at et økt inntak reduserer risikoen. Samtidig er det viktig å ta hensyn til de metodiske svakhetene i studiene i litteraturstudien. Vurdering av folat-status,

omsetning og effekt er komplisert, i likhet med mekanismene for DNA-metylering. Flere standardiserte metoder kan styrke fremtidige studier og eventuelle funn, og forhåpentligvis gi svar på om den biologiske linken mellom folat-status, DNA-metylering og kreft i GI er av praktisk eller biologisk betydning.

## 5. KONKLUSJON

Basert på studiene inkludert i denne litteraturstudien og den teoretiske bakgrunnen relater til problemstillingen er det tydelig at rollen til folat i utviklingen av kreft i GI er kompleks. Samtidig som at lav folat-status kan svekke og/eller endre DNA-metylering og prosesser for celledeling, kan en høy folat-status potensielt fremme disse prosessene. Nyere epigenetisk forskning har kastet nytt lys på en potensiell biologisk link mellom folat og kreft i GI i håp om å identifisere mekanismer for DNA-metylering, og potensielt åpne for nye metoder innen kreftforebygging. Motstridende og ikke-signifikante funn på tvers av studier har foreløpig resultert i mange ubesvarte spørsmål. Kombinasjonen av flere studier med fokus på å forstå alle aspektene for kreftutvikling i GI forbundet med folat sin effekt på DNA-metylering og endring av epigenomet er derfor nødvendig. I mellomtiden er det for tidlig å trekke noen konklusjon om effekten folat-status utgjør i utviklingen av gastrointestinal kreft via epigenetiske mekanismer.

## REFERANSELISTE

1. Duthie SJ. Folate and cancer: how DNA damage, repair and methylation impact on colon carcinogenesis. *J Inherit Metab Dis.* februar 2011;34(1):101–9.
2. American Institute for Cancer Research WCRF. Food, Nutrition, Physical Activity, and the prevention of Cancer: a Global Perspective [Internett]. Hentet fra: [http://www.aicr.org/assets/docs/pdf/reports/Second\\_Expert\\_Report.pdf](http://www.aicr.org/assets/docs/pdf/reports/Second_Expert_Report.pdf)
3. Helsedirektoratet N råd for ernæring. Kostråd for å fremme folkehelsen og forebygge kroniske sykdommer. Metodologi og vitenskapelig kunnskapsgrunnlag [Internett]. Helsedirektoratet; 01.07. Hentet fra: <https://helsedirektoratet.no/Lists/Publikasjoner/Attachments/400/Kostrad-for-a-fremme-folkehelsen-og-forebygge-kroniske-sykdommer-metodologi-og-vitenskapelig-kunnskapsgrunnlag-IS-1881.pdf>
4. Bishop KS, Ferguson LR. The Interaction between Epigenetics, Nutrition and the Development of Cancer. *Nutrients.* 30. januar 2015;7(2):922–47.
5. Wien TN, Pike E, Wisløff T, Staff A, Smeland S, Klemp M. Cancer risk with folic acid supplements: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open.* 1. januar 2012;2(1):e000653.
6. Hardy TM, Tollefsbol TO. Epigenetic diet: impact on the epigenome and cancer. *Epigenomics.* 1. august 2011;3(4):503–18.
7. Mahan K, Escott-Stump S, Raymond J. Krause's Food and the Nutrition Care Process. I: 13. utg. Elsevier Saunders;
8. Nordic Council of Ministers. Nordic nutrition recommendations: NNR 2012. Norden 2013. [Internett]. Hentet fra: <http://norden.diva-portal.org/smash/get/diva2:704251/FULLTEXT01.pdf>
9. WHO. Guideline: Optimal serum and red blood cell folate concentrations in women of reproductive age for prevention of neural tube defects. Geneva: World Health Organization; 2015. [Internett]. Hentet fra: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/161988/1/9789241549042\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/161988/1/9789241549042_eng.pdf?ua=1)
10. Raykov ZZ, Ivanov VA, Raikova ET, Galabov AS. Folic Acid Role in Mutagenesis, Carcinogenesis, Prevention and Treatment of Cancer. *Biotechnol Biotechnol Equip.* januar 2004;18(3):125–35.
11. Larsson SC, Håkansson N, Giovannucci E, Wolk A. Folate Intake and Pancreatic Cancer Incidence: A Prospective Study of Swedish Women and Men. *J Natl Cancer Inst.* 15. mars 2006;98(6):407–13.

12. Forlag GN. Metode og oppgaveskriving [Internett]. [sisert 11. april 2016]. Hentet fra: <http://www.gyldendal.no/Faglitteratur/Helse-og-sosialfag/Tverrfaglige-emner/Metode-og-oppgaveskriving>
13. Søk og skriv [Internett]. [hentet 2016-01-20]. Tilgjengelig fra: <http://biblioteket.c-k.no/skrive-og-henvise/>.
14. Eussen SJPM, Vollset SE, Iglund J, Meyer K, Fredriksen Å, Ueland PM, mfl. Plasma Folate, Related Genetic Variants, and Colorectal Cancer Risk in EPIC. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1. mai 2010;19(5):1328–40.
15. Chuang S-C, Stolzenberg-Solomon R, Ueland PM, Vollset SE, Midttun Ø, Olsen A, mfl. A U-shaped relationship between plasma folate and pancreatic cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990.* august 2011;47(12):1808–16.
16. Cole BF, Baron JA, Sandler RS, et al. Folic acid for the prevention of colorectal adenomas: A randomized clinical trial. *JAMA.* 6. juni 2007;297(21):2351–9.
17. Wallace K, Grau MV, Levine AJ, Shen L, Hamdan R, Chen X, mfl. Association between Folate Levels and CpG Island Hypermethylation in Normal Colorectal Mucosa. *Cancer Prev Res (Phila Pa).* 1. desember 2010;3(12):1552–64.
18. Williams E, Welfare M, Spiers A, Hill M, Bal W, Gibney E, mfl. Systemic folate status, rectal mucosal folate concentration and dietary intake in patients at differential risk of bowel cancer (The FAB2 Study). *Eur J Nutr.* oktober 2013;52(7):1801–10.
19. Engeland M van, Herman JG. Viewing the Epigenetics of Colorectal Cancer through the Window of Folic Acid Effects. *Cancer Prev Res (Phila Pa).* 1. desember 2010;3(12):1509–12.