

The role of beta-carotene in cancer prevention : epidemiological studies on cervical dysplasia

Citation for published version (APA):

de Vet, H. C. W. (1990). *The role of beta-carotene in cancer prevention : epidemiological studies on cervical dysplasia*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Datawyse. <https://doi.org/10.26481/dis.19900608hv>

Document status and date:

Published: 01/01/1990

DOI:

[10.26481/dis.19900608hv](https://doi.org/10.26481/dis.19900608hv)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Chapter 8

SUMMARY

The central question of this thesis is whether beta-carotene protects against cancer.

Chapter 1 discusses the validity of non-experimental and experimental studies of dietary factors, by way of background information for the studies presented in this dissertation. In addition, the content of the various chapters is briefly described.

Chapter 2 presents a review of the role of vitamin A in cancer prevention. It appears that beta-carotene is more likely to be responsible for the cancer preventive effect than retinol. This observation is consistent with current knowledge about their metabolisms: a high intake of retinol leads mainly to storage in the liver and therefore hardly influences the serum level of retinol, whereas a high intake of beta-carotene is reflected in a high serum level of beta-carotene. With regard to the cancer preventive effect, several mechanisms have been postulated, for the effects of both carotenoids and retinol. Epidemiological studies indicate that a high intake of beta-carotene reduces cancer risk. It is unclear, however, whether the effect is exerted by beta-carotene itself or after conversion into retinol.

In order to gain more insight into the causality of the relation between beta-carotene and cancer, we performed a randomized experiment. We chose to study the effect of a supplemental dose of beta-carotene on the regression and progression rates of cervical dysplasia. About 300 women with cervical dysplasia participated in this experiment. They filled in a postal questionnaire inquiring about all presumed risk factors for cervical dysplasia, including sexual habits, smoking habits and a number of food habits. With respect to the latter, we inquired particularly about the consumption of foods containing beta-carotene, retinol, vitamin C or dietary fibre. We mailed the same questionnaire to a sample of the general population. This enabled us to perform, in addition to the experiment, a case-control study of the role of beta-carotene and other dietary factors in the etiology of cervical dysplasia. The results of this non-experimental study are presented in *chapter 3*. The data of 257 patients and 705 controls could be analyzed. After adjustment for many confounders, we observed, to our surprise, an increased risk of cervical dysplasia for women with a high intake of beta-carotene (OR=2.3; 95% CI: 1.3-4.2). No consistent relation was found with the intake of retinol, while the relations with vitamin C and dietary fibre were weakly negative, but not statistically significant. These findings do not support the hypothesis that beta-carotene protects against cervical dysplasia.

Chapter 4 presents the rationale and implications of the design of the randomized experiment. Attention is paid among other things to the choice of cervical dysplasia, of the outcome parameter, of the duration of the intervention period and of the dose of beta-carotene. The consequences of these choices for the interpretation of the results are discussed.

Chapter 5 presents the results of the randomized experiment. A total of 369 patients were admitted, of which 278 turned out to be suitable for data analysis. The experimental group (N=137) received a supplemental daily dose of 10 mg of beta-carotene in a capsule for three months. The control group (N=141) received placebo capsules. The outcome parameter was based on the change in degree of dysplasia, comparing the histological diagnosis before admission with the histological or cytological diagnosis after the intervention period. To improve the precision of the outcome parameter all histological slides were revised by one pathologist. Moreover, two definitions of regression and progression were used. The number of patients showing progression was too small to allow conclusions. No statistically significant effects on the regression rates were observed. Using the broad definition of regression, the group receiving beta-carotene showed slightly less regression (OR=0.7; 95% CI: 0.3-1.6). Using the strict definition the beta-carotene group showed slightly more regression (OR=1.2; 95% CI: 0.4-3.4). A secondary analysis in which the total intake of beta-carotene (diet and supplements) was studied in relation to the regression rates of cervical dysplasia did not show a protective effect either. Some critical choices in the study design and performance are discussed as possible explanations for the negative result. Alternative explanations are that beta-carotene does not affect this specific part of the cancer process or is not effective on cervical cancer. But it is also possible that beta-carotene is not causally related to cancer at all, and that the associations found in many non-experimental epidemiological studies were due to insufficiently controlled bias.

Chapter 6 presents the results of a study of the interobserver variation in the interpretation of biopsy specimens of cervical tissue. Four experienced pathologists examined the same set of 106 histological slides and assigned them to one of five diagnostic categories: no dysplasia, mild dysplasia, moderate dysplasia, severe dysplasia, and carcinoma in situ. We calculated kappa values to take chance agreement into account. Unweighted group kappa was 0.28 and weighted group kappa was 0.56. There was considerable disagreement among the pathologists. Explanations for the interobserver variation may be sought in the equivocal criteria for grading cervical dysplasia, and the arbitrary division of a continuous process into distinct categories.

In *chapter 7* the contribution of epidemiological studies to the evidence of a causal relation between beta-carotene and cancer is discussed. After presenting the evidence from laboratory experiments, the value of epidemiological studies of dietary factors is discussed. Non-experimental studies are hampered by various sources of bias, of which confounding by associated dietary factors is probably the most important. These

associated factors seriously affect the usefulness of Hill's criteria to assess causality in non-experimental epidemiological studies.

Experimental study designs can eliminate these biases. Therefore, experiments are much more powerful in establishing a causal relation.

At the end of the chapter, the author's personal view is given. Her belief in a causal relation between beta-carotene and cancer has been decreased by the results of the studies, presented in this thesis. With respect to the future, it is her opinion that additional non-experimental studies do not have the potential to shed more light on the causality of the relation. Only experimental studies will give further evidence whether it has been right or wrong to believe that beta-carotene protects against cancer.

SAMENVATTING

Dit proefschrift gaat over de rol van beta-caroteen bij de preventie van kanker. Beta-caroteen is een voedingsstof die in groenten en, in mindere mate, ook in fruit voorkomt. De belangrijkste bronnen van beta-caroteen zijn worteltjes, boerenkool, spinazie en andere donkergroene bladgroenten. Beta-caroteen is een voorloper van vitamine A. Het is namelijk zo dat een deel van beta-caroteen in het lichaam omgezet wordt in retinol. Retinol is de wetenschappelijke naam voor vitamine A.

Retinol zit in dierlijke producten zoals lever, vlees, eieren en zuivelproducten. In groenten en fruit komen carotenoïden voor. 'Carotenoïden' is een verzamelnaam voor een aantal verwante stoffen, waarvan beta-caroteen de belangrijkste is. Zoals gezegd wordt een deel van de carotenoïden in het lichaam (met name in de darmen en de lever) omgezet in retinol. Een ander deel van de carotenoïden dat in het lichaam wordt opgenomen wordt niet omgezet in retinol, maar blijft in het lichaam aanwezig in de vorm van carotenoïden.

Om te beginnen is het tot dusver uitgevoerde onderzoek naar de rol van vitamine A bij het ontstaan van kanker bestudeerd en samengevat. Uit dit onderzoek komen aanwijzingen dat vitamine A beschermt tegen de ontwikkeling van kanker.

De belangrijkste vraag bij de bestudering van deze onderzoeken was of retinol dan wel beta-caroteen verantwoordelijk is voor het vaak waargenomen preventieve effect op de ontwikkeling van kanker. Uit een flink aantal onderzoeken bij mensen bleek dat personen die veel groenten en fruit (beta-caroteerijk) aten, minder kans hebben om kanker te krijgen dan personen die weinig groenten en fruit aten. Personen die veel dierlijke producten (retinolrijk) aten, bleken een even grote kans op kanker te hebben als personen die weinig van deze producten aten. Dit komt overeen met het lot van retinol en beta-caroteen in het menselijk lichaam. Retinol wordt grotendeels opgeslagen in de lever. Daarom wordt de hoeveelheid retinol die de andere weefsels bereikt, niet groter als er meer retinol in de voeding zit. Het deel van beta-caroteen dat niet wordt omgezet in retinol, is wel goed in staat om alle weefsels te bereiken. Daarnaast zijn er vele dierproeven en andere laboratoriumexperimenten gedaan om er achter te komen op welke manier beta-caroteen en retinol zouden kunnen beschermen tegen kanker. Voor beide stoffen bleken op grond van deze experimenten verschillende mechanismen voorstelbaar te zijn. Voor een effect van retinol (of daarvan afgeleide stoffen) zijn meer mogelijke mechanismen bekend dan voor een effect van beta-caroteen.

Samengevat kan uit het tot dusver verrichte onderzoek geconcludeerd worden dat het aannemelijker is dat het vaak geconstateerde beschermend effect veroorzaakt wordt door veel beta-caroteen in de voeding dan door veel retinol in de voeding. Het is nog onduidelijk of het uiteindelijke effect op de weefsels waarin kanker ontstaat,

uitgevoerd wordt door beta-caroteen of dat het daarvoor toch eerst omgezet moet worden in retinol. Deze omzetting zou dan moeten gebeuren nadat beta-caroteen de lever gepasseerd is.

De centrale vraag in dit proefschrift is of beta-caroteen werkelijk beschermt tegen kanker, met andere woorden of er sprake is van een oorzaak-gevolg relatie. Omdat het nu eenmaal niet mogelijk is om alles tegelijkertijd te onderzoeken, hebben we ons beperkt tot dysplasie van de baarmoederhals. Dysplasie betekent dat er sprake is van een verstoring van de weefselopbouw door een afwijking in de groei en de ontwikkeling van een weefsel. Dysplasie van de baarmoederhals wordt beschouwd als een voorstadium van baarmoederhalskanker. Dat voorstadium zal bij een aantal vrouwen op den duur overgaan in echte kanker, maar er bestaat ook een kans dat het weefsel na verloop van tijd weer normaal wordt. In een uitstrijkje, waarbij losse cellen van het weefsel van de baarmoederhals geschraapt worden, kan men zien of er sprake is van dysplasie. Nog beter is dat te beoordelen op grond van een heel klein stukje weefsel dat uit de baarmoederhals gehaald wordt (weefselpreparaat). Afhankelijk van de ernst van de verstoring van de weefselopbouw maakt men onderscheid tussen lichte, matige en ernstige dysplasie. Wanneer de afwijking nog ernstiger is spreekt men van "carcinoma in situ", en tenslotte van kanker.

We hebben een tweetal onderzoeken uitgevoerd om na te gaan of beta-caroteen invloed heeft op dysplasie van de baarmoederhals: een experimenteel en een niet-experimenteel onderzoek.

Het essentiële kenmerk van een experiment is dat de onderzoeker zelf actief ingrijpt in de onderzoekspopulatie, en daarna het effect daarvan bestudeert. In het experiment hebben we de helft van de vrouwen met dysplasie van de baarmoederhals extra beta-caroteen gegeven waarna we vaststelden of het stadium van dysplasie ernstiger werd, gelijk bleef of minder ernstig werd. Als het ernstiger werd, noemden we dat progressie van het dysplasiestadium, terwijl de term regressie werd gebruikt als het stadium minder ernstig werd.

In een niet-experimenteel onderzoek observeert de onderzoeker alleen maar wat er gebeurt in de onderzoekspopulatie, zonder er zelf iets aan te veranderen. In ons geval zijn we in het niet-experimentele onderzoek nagegaan, of vrouwen met dysplasie van de baarmoederhals andere voedingsgewoonten hadden dan vrouwen zonder deze aandoening. Een dergelijk onderzoek wordt een patiënt-controle-onderzoek genoemd. De resultaten van het patiënt-controle-onderzoek en het experiment zullen hier nu beschreven worden.

In het patiënt-controle-onderzoek waren de patiënten de vrouwen met dysplasie van de baarmoederhals die ook aan het experiment deelnamen. De controlegroep bestond uit een steekproef van vrouwen uit de algemene bevolking. Alle vrouwen vulden eenzelfde vragenlijst in die informeerde naar de consumptie van een aantal voedingsmiddelen, met name producten die rijk zijn aan beta-caroteen, retinol, vitamine C en voe-

dingsvezel. Daarnaast werd gevraagd naar een aantal vermoedelijke risicofactoren van dysplasie van de baarmoederhals, waaronder rookgewoonten en bepaalde sexuele gewoonten. De reden dat we niet alleen naar voedingsgewoonten hebben gevraagd, maar ook informatie hebben verzameld over andere risicofactoren was dat we bij het vaststellen van de invloed van beta-caroteen met die andere risicofactoren rekening wilden houden. De gegevens van 257 patiënten konden worden vergeleken met die van 705 controlepersonen. Tot onze verrassing bleek dat de vrouwen met dysplasie van de baarmoederhals meer beta-caroteen met hun voeding binnenkregen dan de vrouwen in de controlegroep. Hieruit kan geconcludeerd worden, dat de vrouwen die veel beta-caroteen in hun voeding hadden meer kans hadden om dysplasie van de baarmoederhals te krijgen, dan vrouwen van wie de voeding weinig beta-caroteen bevatte. Rekening houdend met andere riskante gewoonten bleek deze kans ruim twee keer zo groot te zijn. We vonden geen verband met de hoeveelheid retinol in de voeding. De vrouwen van wie de voeding veel vitamine C of veel voedingsvezel bevatte hadden een iets kleinere kans om dysplasie van de baarmoederhals te krijgen dan vrouwen van wie de voeding weinig van deze voedingsstoffen bevatte. Deze resultaten suggereren dat de voedingsstof in groenten en fruit die verantwoordelijk is voor het beschermend effect tegen kanker, vermoedelijk niet beta-caroteen zal zijn.

Voor het experimentele onderzoek werden in totaal 369 patiënten aangemeld vanuit 23 ziekenhuizen. Deze patiënten hadden zelf toegestemd om aan het onderzoek mee te doen. Uiteindelijk konden de gegevens van 278 patiënten gebruikt worden voor het vaststellen van het effect van beta-caroteen. Deze vrouwen waren door loting over twee groepen verdeeld: een experimentele groep van 137 vrouwen en een controlegroep van 141 vrouwen. De experimentele groep kreeg dagelijks, gedurende drie maanden, een extra dosis van 10 mg beta-caroteen in de vorm van capsules. De controlegroep ontving placebo-capsules die er hetzelfde uitzagen als de beta-caroteen capsules, maar waarin geen beta-caroteen zat. Voordat de vrouwen aan het onderzoek konden meedoen, was op grond van een weefselpreparaat vastgesteld dat ze inderdaad dysplasie hadden en werd vastgelegd in welk stadium de dysplasie verkeerde. Na drie maanden werd onderzocht of de ernst van dysplasie was toegenomen of afgenomen. Daartoe werd een uitstrijkje gemaakt en vaak ook opnieuw een weefselpreparaat. Om de betrouwbaarheid van de beoordelingen te verhogen werden alle weefselpreparaten achteraf door één patholoog beoordeeld. Bovendien gebruikten we twee definities van regressie en progressie. Er was een ruime definitie waarbij iedere verandering van het dysplasiestadium regressie of progressie genoemd werd, en een strenge definitie waarbij alleen de grotere veranderingen in ernst van dysplasie als regressie of progressie werden aangemerkt. Het aantal vrouwen bij wie het dysplasiestadium ernstiger was geworden, bleek te klein te zijn om conclusies op te baseren. De vrouwen die capsules met beta-caroteen gekregen hadden, vertoonden niet duidelijk vaker regressie van het dysplasiestadium dan de vrouwen die de placebo-capsules ontvangen hadden. Wanneer de ruime definitie gebruikt werd, vertoonde de groep vrouwen die beta-caroteen capsules ontvangen had zelfs iets minder vaak regressie van het dysplasiestadium.

Wanneer de strenge definitie gebruikt werd, vertoonde de beta-caroteen groep iets vaker regressie. Deze kleine verschillen zijn waarschijnlijk aan het toeval toe te schrijven.

Daarna werd de regressie van het dysplasiestadium vergeleken tussen de vrouwen die veel en die weinig beta-caroteen hadden gebruikt gedurende de drie maanden. Daartoe werd de hoeveelheid beta-caroteen die in hun voeding zat, opgeteld bij de hoeveelheid die ze met de capsules binnenkregen. Ook dan werd er geen duidelijk verschil in regressie van het dysplasiestadium gevonden tussen de twee onderzoeksgroepen. Bij de opzet van dit experiment moest om praktische redenen een aantal keuzes gemaakt worden, zoals de lengte van de periode dat de capsules geslikt werden, de dosis beta-caroteen en de keuze voor de verandering in dysplasiestadium als maat voor het effect. Sommige van deze keuzes kunnen mogelijk verklaren waarom we geen duidelijke verschillen gevonden hebben. Andere mogelijke verklaringen zijn dat beta-caroteen geen effect heeft op een voorstadium van kanker, of juist niet werkt tegen baarmoederhalskanker terwijl het wel beschermt tegen andere vormen van kanker. Maar een verklaring die zeker niet uitgesloten mag worden is, dat beta-caroteen niet de voedingsfactor in groenten en fruit is die beschermt tegen kanker!

Tijdens het experiment is naar voren gekomen dat de pathologen die de weefselpreparaten moesten beoordelen, het niet altijd met elkaar eens waren. We hebben in een apart onderzoek bekeken hoeveel de beoordelingen van vier ervaren pathologen verschilden als ze dezelfde 106 weefselpreparaten bekeken. Zij kregen de opdracht om deze preparaten in te delen in vijf categorieën: geen dysplasie, lichte dysplasie, matige dysplasie, ernstige dysplasie, en carcinoma in situ. Er bleken aanzienlijke verschillen in de beoordelingen voor te komen. Deze verschillen tussen de pathologen kunnen wellicht verklaard worden door de onduidelijke criteria die gebruikt worden voor de indeling in ernst van dysplasie. Bovendien wordt van hen verwacht dat zij een continu proces zonder natuurlijke grenzen toch in klassen indelen.

Wat hebben de eerdere en de zelf uitgevoerde onderzoeken nu bijgedragen aan de beantwoording van de vraag of beta-caroteen werkelijk beschermt tegen kanker? De laboratoriumexperimenten hebben aangetoond dat het heel goed mogelijk is dat beta-caroteen beschermt tegen kanker. Maar dit betekent niet automatisch dat beta-caroteen bij mensen ook daadwerkelijk een rol speelt bij de preventie van kanker. Daarvoor is onderzoek nodig bij groepen mensen. Uit het eerdere niet-experimentele onderzoek kwamen aanwijzingen dat personen die veel groenten en fruit eten, minder kans lopen om baarmoederhalskanker te krijgen dan personen die weinig groenten en fruit eten. Als in plaats van naar groenten en fruit naar de individuele voedingsstoffen wordt gekeken die in deze produkten zitten, vindt men ook meestal dat personen die veel beta-caroteen, vitamine C en voedingsvezel binnenkrijgen een kleinere kans hebben om kanker te ontwikkelen. Maar welke component is nu verantwoordelijk voor het beschermend effect tegen kanker?

Het probleem in het niet-experimentele onderzoek is dat de invloed van andere risicofactoren niet kan worden uitgesloten. Personen die veel groenten en fruit eten, hebben misschien nog wel meer gezonde gewoonten die hen behoeden voor het krijgen van kanker. Slechts tot op zekere hoogte is het mogelijk om bij de verwerking van de gegevens rekening te houden met de invloed van andere risicofactoren. Het blijft daardoor moeilijk om uit te maken welke factor in groenten en fruit nu verantwoordelijk is voor het beschermend effect, en zelfs óf het wel een component in groenten en fruit is, en niet een daarmee samenhangende factor, die beschermt tegen kanker. In experimenteel onderzoek wordt een deel van deze problemen vermeden doordat het toeval bepaalt wie tot de experimentele en wie tot de controlegroep behoort. Alle andere gewoonten en factoren die het risico op kanker beïnvloeden zijn daardoor in principe gelijk verdeeld over de experimentele groep en de controlegroep. Door vervolgens de experimentele groep de factor die men wil onderzoeken extra te geven en de controlegroep niet, is het mogelijk om puur het effect van deze ene factor op zich te bepalen.

Maar ook het experiment heeft nadelen. Lang niet alle vraagstellingen zijn in een experiment te onderzoeken. Bijvoorbeeld als het effect van een mogelijk schadelijke stof in de voeding onderzocht wordt, is het onmenselijk om de helft van de mensen in het onderzoek moedwillig deze stof toe te dienen. Vaak zijn experimenten ook niet uitvoerbaar omdat ze te lang zouden duren of omdat er te veel mensen nodig zouden zijn om een effect te kunnen vaststellen. Daarom moeten er dikwijls beperkende keuzes gemaakt worden om ze wel uitvoerbaar te maken, zoals in ons geval bijvoorbeeld de keuze voor een voorstadium van baarmoederhalskanker en de keuze om het effect reeds na drie maanden te bekijken.

Toen we met onze onderzoekingen begonnen, waren er redelijk wat aanwijzingen dat beta-caroteen zou beschermen tegen kanker. Deze waren vooral afkomstig uit laboratoriumexperimenten en uit niet-experimenteel onderzoek bij mensen. Uit ons eigen onderzoek bleek helemaal niet dat beta-caroteen beschermt tegen de ontwikkeling van kanker. Daarom ben ik op grond van onze eigen resultaten minder gaan geloven in de preventieve werking van beta-caroteen. Bovendien denk ik dat in de toekomst alleen experimenteel onderzoek meer zekerheid kan verschaffen over de vraag of we terecht of onterecht geloofd hebben dat beta-caroteen beschermt tegen kanker.