

# Vitamin D jako významný steroidní hormon u karcinomu prsu

## Vitamin D as an Important Steroid Hormone in Breast Cancer

Obermannová R.<sup>1</sup>, Demlová R.<sup>2,3</sup>, Drábová K.<sup>4</sup>, Melichárková K.<sup>4</sup>, Greplová K.<sup>3</sup>, Mrkvicová M.<sup>3</sup>, Zdražilová Dubská L.<sup>3</sup>, Vyzula R.<sup>1,3</sup>, Valík D.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Klinika komplexní onkologické péče, Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>2</sup>Farmakologický ústav, LF MU, Brno

<sup>3</sup>Regionální centrum aplikované molekulární onkologie, Masarykův onkologický ústav, Brno

<sup>4</sup>Klinika dětské onkologie LF MU a FN Brno

### Souhrn

Vitamin D je vedle estrogenu a progesteronu třetí steroidní hormon, který plní významné biologické funkce při vývoji karcinomu prsu. Snížené plazmatické hladiny jeho hydroxyderivátu 25-OHD jsou robustně asociovány s vyšší incidencí karcinomu prsu a kratším celkovým přežitím. Ačkoliv neexistuje všeobecný konsenzus, většina autorů udává optimální hladinu 25-OHD přibližně 75–150 nmol/l (30 ng/ml) a hladiny nad 375 nmol/l (150 ng/ml) jako potenciálně toxické, spojené se zvýšeným rizikem hyperkalcemie. Dosud však nejsou k dispozici data o optimální hladině vitaminu D ve vztahu k riziku vzniku karcinomu prsu, jeho fenotypovým vlastnostem a celkovému průběhu nádorového onemocnění. Publikované práce uvádějí asociaci mezi vyššími hladinami 25-OHD a nižší agresivitou nádoru. Biologický efekt vitaminu D je ovšem komplexní děj, je závislý na hladině 25-OHD, ale i na aktivaci celé signální dráhy včetně receptoru pro vitamin D (VDR). Polymorfismus v genu *VDR* kódujícím steroidní receptor pro vitamin D může být spojen s vyšší incidencí nádoru prsu a mít negativní prognostický potenciál. Cílem této práce je podat ucelený přehled o současných poznatcích a dosavadních publikovaných datech týkajících se vztahu vitaminu D ke karcinomu prsu.

### Klíčová slova

vitamin D – 25-hydroxyvitamin D – vitamin D receptor – karcinom prsu

### Summary

Vitamin D is the third steroid hormone playing important biological roles in the development of breast cancer. Decreased plasma levels of its 25-hydroxyderivative, 25-OHD, display robust associations with higher incidence of breast cancer and shorter overall survival. Although no consensus exists, most authors agree that optimal plasma levels shall be within 75–150 nmol/l whereas levels higher than 375 nmol/l can be potentially toxic with higher risk of hypercalcemia. To date, no data are available on the optimal levels of vitamin D related to the risk of breast cancer development, its phenotype features and the course of the disease. Published studies mostly describe associations among higher levels of 25-OHD and lower biologically aggressiveness of the tumor. The polymorphism of *VDR* gene coding for the steroid receptor for vitamin D may be associated with higher disease incidence and also be of negative prognostic significance in breast cancer. This review presents an overall summary of the current knowledge and publications on vitamin D and breast cancer.

### Key words

vitamin D – 25-hydroxyvitamin D – vitamin D receptor – breast cancer

Práce byla podpořena Evropským fondem pro regionální rozvoj a státním rozpočtem České republiky (OP VaVpl – RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101) a MZ ČR – RVO (MOÚ, 00209805) a BBMRI\_CZ (LM2010004).

This work was supported by the European Regional Development Fund and the State Budget of the Czech Republic (RECAMO, CZ.1.05/2.1.00/03.0101) and by MH CZ – DRO (MMCI, 00209805) and BBMRI\_CZ (LM2010004).

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zaslané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE "uniform requirements" for biomedical papers.



**MUDr. Radka Obermannová**  
Klinika komplexní onkologické péče  
Masarykův onkologický ústav  
Žlutý kopec 7  
656 53 Brno  
e-mail: obermannova@mou.cz

Obdrženo/Submitted: 29. 1. 2014

Přijato/Accepted: 5. 5. 2014

## Úvod

Karcinom prsu představuje onemocnění s celosvětově vysokou incidencí. V České republice se jedná o nejčastější zhoubný novotvar u žen a v letech 2005–2009 představoval 24,3 % všech nově diagnostikovaných malignit v ženské populaci. Incidence v roce 2010 představuje 66,37 nádorů na 100 000 žen s mortalitou 14,59 nádorů na 100 000 žen [1]. V současnosti neexistují preventivní opatření, která by zásadně ovlivňovala incidenci karcinomu prsu. Ve Spojených státech amerických se podává jako chemoprevence pouze u vysoce rizikových jedinců antiestrogen tamoxifen, případně raloxifen či inhibitory aromatáz [2–4], ale vzhledem k jejich výrazným nežádoucím účinkům nelze tuto strategii uplatnit plošně. Efekt těchto látek je navíc omezen pouze na hormonálně senzitivní onemocnění, tedy onemocnění s expresí estrogenových (ER) a progesteronových (PR) receptorů. Je tudíž zjevné, že by bylo potřeba najít jednoduché chemopreventivní agens fungující u všech typů karcinomu prsu [5].

Vitamin D je steroidní hormon hrající významnou roli v metabolismu kalcia, fosfátů a mineralizaci kostí. Pod pojmem vitamin D rozumíme dva ve vodě nerozpustné sekosteroidy – ergokalciferol (vitamin  $D_2$ ) a cholekalciferol (vitamin  $D_3$ ). Tyto dvě formy se vzájemně liší strukturou postranního řetězce, fyziologické účinky obou látek na lidský organizmus se ale významněji neliší, přičemž hladinu vitaminu v séru více ovlivňuje cholekalciferol. Vitamin D je získáván dvěma cestami: majoritní – přeměnou ze 7-dehydrocholesterolu v kůži vlivem slunečního záření, a minoritní – příjmem potravou. Na aktivní formu je přeměněn dvojitou hydroxylací, v játrech na 25-hydroxycholecalciferol (25-OHD), následně v ledvinách cestou enzymu 1-alfa hydroxylázy na aktivní formu 1,25-dihydroxycholecalciferol ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  = vitamin  $D_3$ ). Vitamin D se poté váže na vitamin D receptor (VDR), který je fyziologicky přítomný v mnoha tkáních včetně mléčné žlázy [6]. Jeho exprese byla také prokázána u všech forem karcinomu prsu, jak hormonálně senzitivních (estrogen a progesteron citlivých), tak hormonálně

neaktivních. Kromě přímého efektu inhibice buněčného cyklu a indukce apoptózy ovlivňuje vitamin D i produkci estrogenů [7–9]. Nedostatek vitaminu D je považován za jeden z rizikových faktorů vzniku a rozvoje nádorových onemocnění včetně karcinomu prsu [10]. První zmínky o vztahu vitaminu D a karcinomu prsu se datují do 90. let 20. století, kdy byly publikovány výsledky ekologických studií. Vyšší incidence nádorového onemocnění souvisela se zeměpisnou šířkou, tedy s nižší expozicí slunečnímu svitu [11–17]. Některé velké kohortové studie udávají inverzní vztah mezi perorálním příjmem vitaminu D a rizikem karcinomu prsu [18–21]. V roce 2013 byla publikována metaanalýza a systematický přehledový článek hodnotící význam suplementace vitaminem D v redukci rizika karcinomu prsu [22]. Souvislost mezi suplementací vitaminem D a kalcie a redukcí rizika karcinomu prsu nebyla prokázána. Limitací této práce byl soubor pouze postmenopauzálních žen, podávání nízkých preventivních dávek cholekalciferolu a kalcia a hodnocené dvě studie, které jediné splnily kritéria analýzy.

Inverzní vztah mezi hladinou 25-OHD, prekurzorem aktivního vitaminu D, byl potvrzen jen u případových studií. Výsledky doposud provedených prospektivních studií nejsou konzistentní. Metaanalýza čtyř prospektivních studií z roku 2010 nenalezla signifikantní inverzní vztah mezi hladinou 25-OHD a rizikem vzniku karcinomu prsu [23], zatímco následná metaanalýza, která zahrnovala další dvě prospektivní studie, inverzní stav potvrdila [24,25]. Cílem tohoto sdělení je podat ucelený přehled aktuálních dat týkajících se vztahu metabolismu vitaminu D a rozvoje karcinomu prsu.

## Biologický efekt vitaminu D

Vitamin D hraje kromě zásadní role v homeostáze vápníku významnou úlohu v řadě biochemických procesů. Signalizaci spouští většinou prostřednictvím receptoru vitaminu D, který náleží do rodiny steroidních nukleárních receptorů. Vazbou vitaminu D na VDR je indukována buněčná diferenciací, inhibována proliferace a regulována apoptóza u normálních i nádorových buněk včetně

karcinomu prsu, dále je potlačena angiogeneze a iniciovány imunomodulační účinky cestou ovlivnění monocytů a lymfocytů. Aktivní látka,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , působí antikarcinogenně cestou regulace VDR-dependentní transkripce až 200 genů včetně *CDKN1A*, *CDKN1B*, *c-fos* a *c-myc* [26]. Některé studie prokázaly, že  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  inhibuje syntézu i biologický účinek estrogenů [7–9]. Aktivní forma  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  pravděpodobně suprimuje tvorbu estrogenů cestou inhibice genu kódujícího aromatázu, enzymu, který je odpovědný za konverzi androgenu na estrogenu.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  také potlačuje expresi estrogenového receptoru, jaderného receptoru, který zprostředkovává biologický efekt estrogenu [9]. Oba mechanismy tak přispívají k inhibici signalizace prostřednictvím estrogenů. Vztah perorálního příjmu vitaminu D a exprese ER a PR hodnotila řada studií s nekonzistentními výsledky [19,20,21,27]. Analoga vitaminu D inhibují růst nádorů prsu (benigních i maligních) a na estrogenu nezávislým mechanismem redukuje proliferativní efekt insulin-like growth factor 1 (IGF-1), jenž je významný mitogen [28]. Na zviřším modelu byl prokázán potencující vliv vitaminu D na účinek tamoxifenu v rámci terapie karcinomu prsu [29].

Tzv. „negenomový“ efekt vitaminu D (efekt zprostředkovaný membránovými receptory) je rychlý a nezávislý na transkripci, ačkoliv transkripci zkříženě ovlivňuje prostřednictvím jiných signálních drah. Zatím neexistuje jednoznačný názor na to, jak je negenomový efekt zprostředkován. Pravděpodobně je závislý na „neklasickém“ membránovém receptoru (memVDR) a 1-alfa, 25-OHD membrane-associated rapid-response steroid binding protein (1-alfa,25-(OH) $_2$ D-MARRS). Nejznámější pozitivní negenomový efekt vitaminu D je rychlá absorpce vápníku ze střeva a zvýšení intracelulární hladiny vápníku vznikající vazbou na membránový receptor, následnou aktivací proteinkinázy C (PKC) a rychlým otevřením vápníkových kanálů [30]. Bijlsma et al objevili v roce 2011 další významný negenomový efekt vitaminu D – inhibici sonic-hedgehog (SHH) signální dráhy, která je v případě vlastní dysregulace

významným stimulatorem karcinogeneze [31]. Tang et al [32] v roce 2011 potvrdili v *in vitro* i *in vivo* studiích, že vitamin D inhibuje proliferaci v buňkách bazocelulárního karcinomu prostřednictvím VDR nezávislého mechanismu. Cestou Wnt dráhy způsobuje downregulaci SHH dráhy v buňkách bazocelulárního karcinomu.

### Jaká je optimální plazmatická hladina 25-OHD ve vztahu ke karcinomu prsu?

Hydroxylovaný metabolit 25-OHD představuje zásobní frakci vitamínu D a je vhodným cílem k monitorování zejména pro svoje stabilní hladiny v plazmě a dlouhý eliminační poločas. Plazmatická hladina 25-OHD je výsledkem hydroxylace neaktivní formy vitamínu D získaného endogenně (konverzí v kůži vlivem slunečního svitu) a exogenně (perorálním příjmem). Hydroxylace probíhá v játrech prostřednictvím enzymu 25-hydroxylázy kódovaným genem *CYP27A1*. Následná hydroxylace v ledvinách prostřednictvím enzymu 1-alfa-hydroxylázy, kódovaným genem *CYP27B1*, vede k vzniku aktivní formy vitamínu D. Řada tkání včetně tkáně mléčné žlázy i karcinomu prsu je schopna přímé konverze cirkulujícího 25-OHD na aktivní formu 1,25-OHD prostřednictvím 1-alfa-hydroxylázy [29]. Prakticky to znamená, že jsou tkáně samy schopny autokrinní nebo parakrinní sekrecí enzymu 1-alfa-hydroxylázy konvertovat dostupný prekurzor 25-OHD na aktivní metabolit, a tím modifikovat biologickou dostupnost vitamínu D. Analogicky existuje tkáňová overexprese 24-hydroxylázy, kódované *CYP24A1*, klíčového enzymu v katabolismu aktivních forem vitamínu D, jehož vlivem dochází k degradaci aktivního vitamínu D. Z toho vyplývá, že hladina 25-OHD nemusí nutně odrážet lokální biologické a patofyziologické efekty. Přesto ale zůstává nejjednodušším prostředkem sledování stavu vitamínu D v těle. Snaha definovat optimální plazmatickou hladinu 25-OHD obecně v souvislosti s incidencí chronických chorob (kardiovaskulárních, neurologických, endokrinních, ale i nádorových onemocnění), v našem případě s prevencí rizika vzniku karcinomu prsu, byla předmě-

**Tab. 1 Kritéria hladiny 25-OHD u zdravých dle NHANES 2011 (National Health and Nutrition Examination Survey).**

Výsledky	Sérová hladina 25-OHD	
	nmol/l	ng/ml
deficit	< 30	< 12
neadekvátní hladiny	30–50	12–20
optimální	≥ 50	≥ 20
rizikové	> 125	> 50
toxická	≥ 375	≥ 150

#### Legenda – sérové hladiny 25-OHD u zdravých

nmol/L	ng/mL	
< 30	< 12	asociovány s vitamin D deficiencí, vedoucí ke křivici u dětí, osteomalácií u dospělých
30–50	12–20	neadekvátní pro metabolismus skeletu a celkové zdraví u zdravých osob
≥ 50	≥ 20	adekvátní
> 125	> 50	potenciálně toxické, vedoucí k nežádoucím účinkům, obzvláště při hladinách > 150 nmol/L (> 60 ng/mL)

tem řady publikovaných studií. Z dosažených dat vyplývá, že vyšší hladina je obecně asociována s lepším celkovým zdravím [26] a nižší incidencí chronických chorob.

Hodnota hladiny metabolitu v krvi v závislosti na farmakologické suplementaci vitamínem D je těžko předvídatelná. Závisí na individuální variabilitě, dietě, absorpci, metabolismu, BMI, expozici slunci atd. Ačkoliv neexistuje všeobecný konsenzus, většina autorů udává optimální hladinu 25-OHD přibližně 50–125 nmol/l (20–50 ng/ml) a hladiny nad 375 nmol/l (150 ng/ml) jako potenciálně toxické, spojené se zvýšeným rizikem hyperkalcemie (tab. 1). Dle Goodwin et al [33] jsou pravděpodobně výhodnější hladiny okolo 75 nmol/l (30 ng/ml), ideálně pak 90–100 nmol/l (36–40 ng/ml).

#### Plazmatické hladiny 25-OHD v nemoci a předchorobí

Crew et al [34] ve své retrospektivní případové studii porovnali hladiny 25-OHD u pacientek s karcinomem prsu a zdravé populace. Do analýzy bylo zahrženo 1 508 pacientek, u nichž byl v letech 1996–1997 diagnostikován *in situ*

karcinom nebo invazivní karcinom, a 1 556 kontrolních subjektů. Průměrná plazmatická koncentrace 25-OHD byla naměřena 27,1 nmol/l (13,0 ng/ml) u pacientek s karcinomem prsu a 29,7 nmol/l (15,1 ng/ml) u zdravých žen ( $p < 0,0001$ ). Plazmatická hladina 25-OHD byla inverzně asociována s rizikem karcinomu prsu (OR 0,56; 95% CI 0,41–0,78). Ve srovnání s deficitem vitamínu D, (hladinou 25-OHD < 50 nmol/l (20 ng/ml)), byly hladiny > 100 nmol/l (40 ng/ml) spojeny s poklesem rizika vzniku karcinomu prsu. Redukce rizika byla větší u postmenopauzálních žen (OR 0,46; 95% CI 0,09–0,83) a efekt nebyl závislý na expresi estrogenových a progesteronových receptorů. Hladina 25-OHD<sub>3</sub> ≥ 100 nmol/l (40 ng/ml) měla v uvedené studii preventivní vliv na vznik karcinomu prsu. Goodwin et al [33] sledovali mortalitu pacientek s karcinomem prsu v závislosti na hladině vitamínu D. Pacientky (bez suplementace) s hladinou vitamínu D < 50 nmol/l (20 ng/ml) v době diagnózy měly 94% pravděpodobnost metastatického onemocnění a 73% pravděpodobnost úmrtí v průběhu 10 let sledování. Pouze 24 % pacientek mělo adekvátní hladinu vitamínu D

(> 72 nmol/l) v době diagnózy. Podle sdružené analýzy prováděné v USA a Velké Británii měly pacientky s hladinou > 125 nmol/l (50 ng/ml) o 50 % nižší riziko vzniku nádoru prsu než pacientky s deficiencí 25-OHD. Denní příjem 1 000 IU vedl k zvýšení hladin 25-OHD o 25 nmol/l (10 ng/ml), optimální denní dávka by mohla být 3 000–4 000 IU, tedy vyšší než dávka doporučovaná Institute of Medicine (IOM). Aplikace denní dávky vitamínu D 4 000 IU po dobu pěti měsíců vedla bez nežádoucích účinků k dosažení požadovaných hladin u 88 % sledovaných osob [35]. V přehledovém článku o klinických datech u zdravých osob byla dokonce uvedena bezpečná denní dávka vitamínu D  $\geq$  10 000 IU [36].

Podávané vysoké dávky vitamínu D nemusí být vždy toxické. V jednoramenné studii byla postmenopauzálním pacientkám léčených inhibitory aromatáz podávána dávka vitamínu D 50 000 IU týdně [37], ve studii fáze II byla pacientkám s metastatickým karcinomem prsu podávána dávka vitamínu D 10 000 IU denně po dobu čtyř měsíců [38]. V rámci ani jedné z nich nebyly zaznamenány projevy toxicity jako hyperkalcemie, hyperkalciurie nebo nefrolithiáza. Přesto zůstává nejasné, zda bude mít substituce vyššími dávkami vitamínu D protektivní vliv na redukci rizika vzniku karcinomu prsu u vysoce rizikových premenopauzálních pacientek. Dodnes nebyla publikována prospektivní studie, která by hodnotila význam substituce v průběhu léčby onkologického onemocnění, a většina doposud publikovaných prací vycházela pouze z prediagnostických hladin vitamínu D.

### Stadium onemocnění, grade, hormonální léčba a hladina 25-OHD

Vitamin D by mohl být užitečnou a levnou součástí léčby pacientek s karcinomem prsu. Neuhouser et al [28] provedli analýzu hladin vitamínu D u populace pacientek s historií karcinomu prsu. U 75,6 % z nich konstatovali insuficienci až deficit 25-OHD a průměrná hladina byla stanovena na  $24,8 \pm 10,4$  ng/ml. Nižší hladiny byly nalezeny u afrického a hispánského etnika. Studie hodnotila věk, BMI, etnikum, geografii, sezónní

vliv, fyzickou aktivitu, terapii karcinomu prsu a podání tamoxifenu. Po eliminaci všech demografických variabilit a rozdílů vyplývajících ze životního stylu zůstalo stadium onemocnění signifikantním prediktorem nižších hladin 25-OHD. Ženy s lokalizovaným či lokálně pokročilým onemocněním vykazovaly nižší hladinu 25-OHD než ty s karcinomem *in situ*.

Autoři dále studovali efekt tamoxifenu v souvislosti s hladinou 25-OHD. Historicky pouze jedna práce na zvířecím modelu prokázala vztah vitamínu D a tamoxifenu [29]. Kombinace byla 10–100krát efektivnější než monoterapie analogem vitamínu D. Přidáním vitamínu D došlo k navýšení efektu tamoxifenu (současně k redukci dávky a tím poklesu nežádoucích účinků tamoxifenu). V Neuhouserově práci byly u pacientek léčených tamoxifenem naměřeny vyšší hladiny 25-OHD, tamoxifen byl tedy signifikantní prediktor hladiny 25-OHD. Vztah k hormonálním receptorům bohužel nelze hodnotit, neboť nebyly vyšetřeny u jedné třetiny zařazených pacientek.

V kanadské studii Goodwina et al [33] naměřili deficitní či insuficientní vstupní hladinu 25-OHD u 76 % pacientek s karcinomem prsu. Prokázali inverzní vztah mezi hladinou 25-OHD a BMI, markery inzulinové rezistence (inzulin, C-peptid), přičemž hladiny 25-OHD byly signifikantně nižší u pacientek s high-grade tumory. Dále prokázali statisticky významnou souvislost mezi deficitní hladinou vitamínu D a dobou do progresu (disease-free survival – DFS) a kratším celkovým přežitím (overall survival – OS) (10letý DFS 69 vs 83 % (deficitní vs dostatečné hladiny), 10letý OS 74 vs 85 %). Výsledek nebyl ovlivněn věkem, velikostí tumoru, gradem, stavem estrogenových a progesteronových receptorů adjuvantní chemoterapií, hormonoterapií ani ročním obdobím.

Stejně tak autoři německé studie z roku 2007 [39] uvádějí signifikantní inverzní vztah mezi hladinou 25-OHD a rizikem vzniku karcinomu prsu u postmenopauzálních žen, přičemž hormonální substituční léčbu a počet těhotenství shledali jako modifikátory shora uvedeného vztahu. Ženy, které podstoupily hormonální substituční léčbu, a ženy

s vyšším počtem těhotenství měly vyšší hladiny 25-OHD a nižší riziko vzniku karcinomu prsu, což pravděpodobně vysvětluje nižší expozice estrogenům.

### Plazmatická hladina 25-OHD a fenotyp karcinomu prsu

Plazmatická hladina vitamínu D je nyní studována v souvislosti s fenotypovými vlastnostmi karcinomu prsu: luminal A, luminal B, HER2+ ER–, triple-negativní (basal-like). Již na buněčných kulturách odvozených od karcinomu prsu byla *in vitro* prokázána fenotypová souvislost s hladinou vitamínu D. Nízké hladiny vitamínu D jsou asociovány s progresí více agresivního fenotypu (triple-negativního) [40]. Rainville et al sledovali hladinu 25-OHD v souvislosti s fenotypem karcinomu prsu (luminal A, luminal B, HER2+ ER–, triple-negativní) [41]. U triple-negativního fenotypu detekovali nejnižší hladiny 25-OHD a také nejvyšší procento pacientek s deficitem. Pro zajímavost uvádíme hladiny 25-OHD – zdraví dobrovolníci  $90 \pm 40$  nmol/l, pacientky s karcinomem prsu  $76 \pm 50$  nmol/l, luminal A  $79 \pm 50$  nmol/l, luminal B  $75 \pm 30$  nmol/l, HER2+ ER–  $93 \pm 30$  nmol/l, triple-negativní  $50 \pm 20$  nmol/l. Ve skupině pacientek s karcinomem prsu byla naměřena signifikantně nižší hladina 25-OHD ( $p < 0,015$ ), ale nebyl nalezen signifikantní rozdíl v rámci stadia onemocnění. Hladina 25-OHD u triple-negativního karcinomu prsu byla také statisticky významně nižší oproti skupině zdravých dobrovolníků. Hladina vitamínu D má pravděpodobně významný vliv na nádorový růst, fenotypové vlastnosti a biologické chování karcinomu prsu. Tuto hypotézu podporují i data zjištěná u populace Afroameričanek, tzn. vyšší mortalitu v souvislosti s karcinomem prsu, nižší hladinou 25-OHD a vysokou incidencí agresivního triple-negativního nebo basal-like fenotypu (39 %) [41,42].

Laporta et al na zvířecím modelu (potkan) triple-negativního karcinomu prsu testovali význam VDR pro 1,25-(OH)D zprostředkovanou protinádorovou antiproliferativní aktivitu [43]. Model potvrdil hypotézu, že 1,25-(OH)2D cestou VDR koordinovaně suprimuje proteiny, jež jsou zásadní k přežití triple-negativ-

ních, basal-like, nádorových buněk karcinomu prsu.

### VDR genový polymorfismus a karcinom prsu

Vitamin D receptor (VDR) je nukleární steroidní receptor, který po navázání ligandu 1,25-OHD ovlivňuje genovou expresi. VDR je exprimován téměř ve všech tkáních a orgánech lidského těla a signalizace prostřednictvím VDR vede k transkripci řady genů (až 3 % lidského genomu), jež kontrolují buněčný cyklus, ovlivňují apoptózu a metastatický potenciál. Je přítomný v normální mléčné žláze, kde funguje jako protipól estrogeny řízené proliferace a podporuje diferenciaci. Dosavadní publikovaná data ukazují, že vitamin D i polymorfismus VDR pravděpodobně ovlivňují riziko vzniku karcinomu prsu [44]. Řada klinických studií je věnována polymorfismu VDR a dosud bylo popsáno více než 470 variant VDR. VDR polymorfismus je spojen s vyšší incidencí nádorového onemocnění a má negativní prognostický vliv, ačkoliv výsledky studií jsou často rozporuplné. Köstner et al [45] analyzovali relevanci genového polymorfismu VDR v rámci studia maligních onemocnění. Byla prokázána signifikantní souvislost mezi polymorfizmy VDR (označované jako FokI, BsmI, TaqI, ApaI, poly (A)) a vznikem karcinomu prsu. Riziko vzniku karcinomu prsu bylo asociováno s polymorfizmy BsmI, FokI, zatímco prognóza onemocnění souvisela spíše s genovými variantami BsmI a TaqI. V rámci uvedené práce byla provedena metaanalýza 21 studií hodnotících polymorfizmy FokI, BsmI, ApaI a TaqI. FokI polymorfismus byl spojen se signifikantně zvýšeným rizikem karcinomu prsu. V subanalýze byla signifikantní asociace evidentní v případě FokI polymorfismu v evropské populaci, naopak u BsmI, ApaI and TaqI nebyla souvislost se vznikem karcinomu prsu signifikantní. FokI polymorfismus by tak mohl být citlivým biomarkerem rizika vzniku karcinomu prsu, zvláště pak v evropské populaci [45,46].

Ke stejnému závěru pak dospěli i Sinotte et al [47], studující asociaci polymorfismu VDR, konkrétně FokI a BsmI, v rámci dvou nezávislých studií na stejné

Tab. 2. Souvislost mezi VDR polymorfizmem a rizikem vzniku karcinomu prsu.

	Köstner et al [45]	Sinotte et al (1) [47] n = 243	Sinotte et al (2) [47] n = 616	Sinotte et al (1,2) [47] n = 859
FokI ff vs FF	OR = 1,15 95% CI 1,03–1,28	OR = 1,22 95% CI 0,76–1,95	OR = 1,44 95% CI 1,05–1,99	OR = 1,33 95% CI 1,03–1,73
FokI ff vs Ff	OR = 1,14 95% CI 1,03–1,26			
evropská populace FokI ff vs FF	OR = 1,16 95% CI 1,04–1,30			
evropská populace FokI ff vs Ff	OR = 1,15 95% CI 1,04–1,28			
FokI a pozitivní rodinná anamnéza		FF OR = 1,0 Ff OR = 0,56 95% CI 0,24–1,32 p = 0,18 ff OR = 0,41 95% CI 0,15–1,16 p = 0,14	FF OR = 1,0 Ff OR = 0,79 95% CI 0,44–1,40 p = 0,41 ff OR = 0,78 95% CI 0,37–1,69 p = 0,54	FF OR = 1,0 Ff OR = 0,73 95% CI 0,46–1,17 p = 0,19 ff OR = 0,66, 95% CI 0,36–1,19 p = 0,17
FokI a negativní rodinná anamnéza		FF OR = 1,0 Ff OR = 1,01 95% CI 0,67–1,51 p = 0,98 ff OR = 1,51 95% CI 0,89–2,58 p = 0,13	FF OR = 1,0 Ff OR = 1,44 95% CI 1,10–1,88 p = 0,007 ff OR = 1,65–2,35 95% CI 1,16–2,35 p = 0,005	FF OR = 1,00, Ff OR = 1,27 95% CI 1,02–1,58 p = 0,003 ff OR = 1,57 95% CI 1,18–2,10 p = 0,002
OR – odds ratio				

populaci pacientek, navíc hodnotili souvislost s rodinnou anamnézou. V obou studiích i v kombinovaném rameni byla pozorována signifikantní interakce mezi FokI a negativní rodinnou anamnézou (tab. 2). BsmI Bb + bb (heterozygot + recesivní homozygot) varianty byly asociovány s nesignifikantním zvýšením rizika napříč studovanými skupinami bez ohledu na rodinnou anamnézu. Z výsledků vyplývá, že vitamin D jako biologický regulátor pravděpodobně ovlivňuje riziko vzniku karcinomu prsu. Variabilita výsledků u polymorfismu FokI v rámci více publikovaných dat je pravděpodobně dána proporcionálním zastoupením pacientek s rozdílnou rodinnou anamnézou [45]. Wang et al [48] potvrdili v kavkazské populaci roli TaqI polymorfismu v riziku vzniku karcinomu prsu. Tato hypotéza nebyla potvrzena

u asijské populace. Stejní autoři publikovali negativní výsledky v rámci metaanalýzy v případě polymorfismu ApaI.

### Je současná doporučená dávka vitamínu D dostatečná k prevenci rizika karcinomu prsu?

Současná doporučení v České republice se týkají suplementace optimální v metabolismu kalcia a terapii osteoporózy. Doporučená dávka v této indikaci je 800 IU/den, jde tedy o řádově nižší dávku, než je dávka uvedená. Crew et al [34] srovnávali hladinu 25-OHD u skupiny premenopauzálních pacientek léčených adjuvantní chemoterapií za současné suplementace kalcie (1 000 mg/den) a vitamínem D<sub>3</sub> (400 IU/den). Před zahájením terapie pouze 6 % pacientek vykazovalo dostatečnou hladinu 25-OHD  $\geq$  75 nmol/l (30 ng/ml) a po

roce suplementace vzrostl tento podíl na 11 %. 74 % patientek mělo hladiny 25-OHD v pásmu deficience, tento podíl klesl po roce terapie na 60 %. Ve skupině s neadekvátní hladinou < 30 nmol/l (12 ng/ml) se podíl po roční terapii snížil z původních 11 % na 7 %. Na základě dosažených výsledků konstatovali skutečnost, že současná suplementace vitamínem D optimální pro kostní metabolismus není dostatečná k redukci rizika recidivy karcinomu prsu.

Metaanalýza 18 randomizovaných klinických studií, jejichž cílem bylo zhodnocení incidence fraktur s dávkou k substituci od 300–2 000 IU zahrnující 57 000 účastníků, prokázala redukci mortality o 7 % ve skupině léčených vitamínem D [49]. Jiná data – analýzy dvou randomizovaných placebem kontrolovaných studií – tuto skutečnost nepotvrdila. Problém uvedených dat je, že ve srovnávacím rameni byla dovolena substituce kalcie i vitamínem D [50,51].

### Aktuální studie

Současně probíhající studie jsou zaměřeny na preventivní podávání derivátů vitamínu D s cílem zhodnocení rizika nejen nádorových, ale i jiných chronických chorob. Bohužel žádná z plánovaných studií neanalyzuje vstupní hladinu 25-OHD ani neplánuje substituci dle monitorování hladiny 25-OHD. Navíc je u všech účastníků povolena substituce běžná k prevenci osteoporózy, což metodologicky ztěžuje interpretaci výsledků. Z plánovaných studií uvádíme americkou studii VITAL (n = 20 000) se zaměřením na kardiovaskulární a nádorové choroby s dávkou vitamínu D 2 000 IU/den. Výsledky budou k dispozici v roce 2017. Finská studie FIND (n = 18 000) s dávkou 1 600 IU/den pro muže a 3 200 IU/den pro ženy zahájena v roce 2013 a cílená na stejné spektrum pacientů včetně diagnózy cukrovky přinese výsledky v roce 2020. Britská studie VIDAL (n = 20 000) je zaměřena na hodnocení vztahu vitamínu D a dlouhodobosti při substituci dávkou 2 000 IU/den. Její výsledky můžeme očekávat v roce 2017. Studie fáze II (NCT01097278) hodnotí význam suplementace vysokými dávkami vitamínu D u premenopauzálních patientek s high-risk karcinomem

prsu a její výsledky jsou předpokládány v roce 2015.

Z aktivních studií u diagnózy karcinomu prsu jmenujme studii fáze III VITACAL, která srovnává konvenční dávkovou suplementaci s vysokými dávkami vitamínu D<sub>3</sub> (aplikovanými dle vstupních hladin 25-OHD) v průběhu neoadjuvantní a adjuvantní chemoterapie u patientek s karcinomem prsu (NCT01480869). Studie fáze II ICARUS sleduje klinický efekt a odpověď v biomarkerech u patientek s karcinomem prsu, u nichž probíhá suplementace vitamínem D 40 000 IU/den v průběhu časového intervalu mezi stanovením diagnózy a operací (NCT01948128).

### Závěr

Ačkoliv počet publikací věnovaných karcinomu prsu a vitamínu D vzrostl v průběhu posledního desetiletí přibližně 7krát, neexistuje konsenzus, který by vedl k doporučení dávky do běžné klinické praxe ve směru k prevenci či i doplňkové terapii maligních chorob. Z uvedených prací jednoznačně vyplývá souvislost mezi dlouhodobými nedostatečnými hladinami vitamínu D a rizikem karcinomu prsu, stejně tak kratší doba progresu i celkového přežití patientek s již manifestovaným karcinomem prsu. Vitamin D se jeví vedle estrogenu a progesteronu třetím významným steroidním hormonem, který má vliv na rozvoj a průběh karcinomu prsu. Vzhledem k interindividuální variabilitě dané pravděpodobně i genovým polymorfismem VDR, metabolismem, etnickým rozdílem i geografickým okolnostem je v rámci suplementace stále striktně doporučováno řídit se hladinou 25-OHD. Z hlediska chronobiologie vitamínu D je vhodné období ke stanovení hladiny vitamínu D konec zimních měsíců (březen), kdy jsou hladiny 25-OHD nejnižší; naopak v září je v naší zeměpisné šířce průměrná plazmatická hladina nejvyšší. Ve světle současných poznatků je optimální hladina 75–150 nmol/l (30–60 ng/ml). K jejímu dosažení je ideální týdenní dávka 20 000–30 000 IU. Na našem pilotním souboru pacientů s karcinomem prsu a kolorektálním karcinomem léčených první linií paliativní chemoterapie vedla aplikace těchto

dávek k bezpečnému vzestupu na cílovou hladinu 90–115 nmol/l při monitorování hladin 1krát za dva měsíce. S ohledem na nízkou expozici slunečnímu svitu v naší zeměpisné šířce je vhodné hladiny monitorovat v průběhu zimních a časných jarních měsíců. Další krok při sledování prognózy pacientů léčených pro diseminované nádorové onemocnění se současnou suplementací vitamínem D dle hladin 25-OHD je stanovení souvislosti s genovým polymorfismem typu FokI, BsmI, dále souvislosti s expresí ER a PR, HER2. Dosavadní data neprokázala vztah závislosti efektu vitamínu D na expresi ER a PR, což umožňuje jeho neselektivní použití u všech skupin karcinomu prsu. Z preklinických i klinických dat se jeví nadějně substituce vitamínem D u prognosticky nejméně příznivého fenotypu triple-negativního karcinomu prsu.

### Literatura

1. Svod.cz [internetová stránka]. Dušek L, Mužík J, Kubásek M et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita, Česká republika; c2005, [citováno 5. února 2014]. Dostupný z: <http://www.svod.cz>
2. Fisher B, Costantino JP, Wickerham DL et al. Tamoxifen for prevention of breast cancer: report of the national surgical adjuvant breast and bowel project P-1 study. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90(18): 1371–1388.
3. Vogel VG, Costantino JP, Wickerham DL et al. Effects of tamoxifen vs raloxifene on the risk of developing invasive breast cancer and other disease outcomes: The NSABP study of tamoxifen and raloxifene (STAR) P-2 trial. *JAMA* 2006; 295(23): 2727–2741.
4. Goss PE, Ingle JN, Alés-Martínez JE et al. Exemestane for breast-cancer prevention in postmenopausal women. *N Engl J Med* 2011; 364(25): 2381–2391. doi: 10.1056/NEJMoa1103507.
5. Crew KD. Vitamin D: are we ready to supplement for breast cancer prevention and treatment? *ISRN Oncol* 2013; 2013: 483687. doi: 10.1155/2013/483687.
6. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357(3): 266–281.
7. Krishnan AV, Swami S, Peng L et al. Tissue selective regulation of aromatase expression by calcitriol: implications for breast cancer therapy. *Endocrinology* 2010; 151(1): 32–42.
8. James SY, Mackay AG, Binderup L et al. Effects of a new synthetic vitamin D analogue, EB1089, on the oestrogen-responsive growth of human breast cancer cells. *J Endocrinol* 1994; 141(3): 555–563.
9. Stoica A, Saceda M, Fakhro A et al. Regulation of estrogen receptor-alpha gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D in MCF-7 cells. *J Cell Biochem* 1999; 75(4): 640–651.
10. Garland FC, Garland CF, Gorham ED et al. Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev Med* 1990; 19(6): 614–622.
11. Apperley FL. The relation of solar radiation to cancer mortality in North America. *Cancer Res* 1941; 1: 191–195.
12. Studzinski GP, Moore DC. Sunlight – can it prevent as well as cause cancer? *Cancer Res* 1995; 55(18): 4014–4022.

13. Gorham ED, Garland FC, Garland CF. Sunlight and breast cancer incidence in the USSR. *Int J Epidemiol* 1990; 19(4): 820–824.
14. Blot WJ, Fraumeni JF Jr, Stone BJ. Geographic patterns of breast cancer in the United States. *J Natl Cancer Inst* 1977; 59(5): 1407–1411.
15. Chen W, Clements M, Rahman B et al. Relationship between cancer mortality/incidence and ambient ultraviolet B irradiance in China. *Cancer Causes Control* 2010; 21(10): 1701–1709. doi: 10.1007/s10552-010-9599-1.
16. Ross C, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB (eds). Dietary reference intakes for calcium and vitamin D [monograph on the Internet]. Washington: National Academies Press (US); 2011 [cited 2014 February]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/>.
17. Eitenmiller RR, Ye L, Landen WO Jr (eds). Vitamin analysis for the health and food sciences. 2nd ed. Boca Raton, FL, USA: CRC Press 2008.
18. Shin MH, Holmes MD, Hankinson SE et al. Intake of dairy products, calcium and vitamin D and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002; 94(17): 1301–1311.
19. Lin J, Manson JE, Lee IM et al. Intakes of calcium and vitamin D and breast cancer risk in women. *Arch Intern Med* 2007; 167(10): 1050–1059.
20. McCullough ML, Rodriguez C, Diver WR et al. Dairy, calcium and vitamin d intake and postmenopausal breast cancer risk in the cancer prevention study II nutrition cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14(12): 2898–2904.
21. Robien K, Cutler GJ, Lazovich D. Vitamin D intake and breast cancer risk in postmenopausal women: the Iowa women's health study. *Cancer Causes Control* 2007; 18(7): 775–782.
22. Sperati F, Vici P, Maugeri-Saccà M et al. Vitamin D supplementation and breast cancer prevention: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *PLoS One* 2013; 8(7): e69269. doi: 10.1371/journal.pone.0069269.
23. Mohr SB, Gorham E, Alcaraz JE et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and prevention of breast cancer: pooled analysis. *Anticancer Res* 2011; 31(9): 2939–2948.
24. Fedirko V, Torres-Mejía G, Ortega-Olvera C et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer: results of a large population-based case-control study in Mexican women. *Cancer Causes Control* 2012; 23(7): 1149–1162. doi: 10.1007/s10552-012-9984-z.
25. Yin L, Grandi N, Raum E et al. Meta-analysis: serum vitamin D and breast cancer risk. *Eur J Cancer* 2010; 46(12): 2196–2205. doi: 10.1016/j.ejca.2010.03.037.
26. Drábová K, Bienertová-Vašková J, Lokaj P et al. Vitamin D – jeho fyziologie, patofyziologie a význam v etiopatogenezi nádorových onemocnění. *Čas Lék Čes* 2013; 152(1): 20–30.
27. Blackmore KM, Lesosky M, Barnett H et al. Vitamin D from dietary intake and sunlight exposure and the risk of hormone-receptor-defined breast cancer. *Am J Epidemiol* 2008; 168(8): 915–924. doi: 10.1093/aje/kwn198.
28. Neuhauser ML, Sorensen B, Hollis BW et al. Vitamin insufficiency in a multiethnic cohort of breast cancer survivors. *Am J Clin Nutr* 2008; 88(1): 133–139.
29. Anzano MA, Smith JM, Uskokovic MR et al. 1- $\alpha$ ,25-dihydroxy-16-ene-23-yne-26,27-hexafluorocholecalciferol, a new delanoid (vitamin D analog) for prevention of breast cancer in the rat. *Cancer Res* 1994; 54(7): 1653–1656.
30. Deeb K, Trump DL, Johnson CS. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nature Rev Cancer* 2007; 7(9): 684–700.
31. Bijlsma MF, Spek CA, Zivkovic D et al. Repression of smoothened by patched-dependent (pro)-vitaminD3 secretion. *PLoS Biol* 2006; 4(8): e232.
32. Tang JY, Xiao TZ, Oda Y et al. Vitamin D3 inhibits hedgehog signaling and proliferation in murine Basal cell carcinomas. *Cancer Prev Res (Phila)* 2011; 4(5): 744–751.
33. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI et al. Vitamin D deficiency is common at breast cancer diagnosis and is associated with significantly higher risk of distant recurrence and death in a prospective cohort study of T1-3, N0-1, M0 breast cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26 (Suppl): 9.
34. Crew KD, Gammon MD, Steck SE et al. Association between plasma 25-hydroxyvitamin D and breast cancer risk. *Cancer Prev Res (Phila)* 2009; 2(6): 598–604. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-08-0138.
35. Vieth R, Chan PC, MacFarlane GD. Efficacy and safety of vitamin D3 intake exceeding the lowest observed adverse effect level. *Am J Clin Nutr* 2001; 73(2): 288–294.
36. Hathcock JN, Shao A, Vieth R et al. Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2007; 85(1): 6–18.
37. Khan QJ, Reddy PS, Kimler BF et al. Effect of vitamin D supplementation on serum 25-hydroxy vitamin D levels, joint pain, and fatigue in women starting adjuvant letrozole treatment for breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 119(11): 111–118. doi: 10.1007/s10549-009-0495-x.
38. Amir E, Simmons CE, Freedman OC et al. A phase 2 trial exploring the effects of high-dose (10,000 IU/day) vitamin D3 in breast cancer patients with bone metastases. *Cancer* 2010; 116(2): 284–291. doi: 10.1002/cncr.24749.
39. Abbas S, Linseisen J, Slinger T et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of post-menopausal breast cancer—results of a large case-control study. *Carcinogenesis* 2008; 29(1): 93–99.
40. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10(16): 5367–5374.
41. Rainville CH, Khan Y, Tisman G. Triple negative breast cancer patients presenting with low serum vitamin D levels: a case series. *Cases J* 2009; 2: 8390. doi: 10.4076/1757-1626-2-8390.
42. Carey LA, Perou CM, Livasy CA et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina breast cancer study. *JAMA* 2006; 295(1): 2492–2502.
43. Laporta E, Welsh J. Modeling vitamin D actions in triple negative/basal-like breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol*. In press 2013. doi: 10.1016/j.jsbmb.2013.10.022.
44. Welsh J, Wietzke JA, Zinser GM et al. Vitamin D-3 receptor as target for breast cancer prevention. *J Nutr* 2003; 133 (Suppl 7): 2425S–2433S.
45. Köstner K, Denzer N, Müller CS et al. The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. *Anticancer Res* 2009; 29(9): 3511–3536.
46. McKay JD, McCullough ML, Ziegler RG et al. Vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk: results from the National cancer institute breast and prostate cancer cohort consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(1): 297–305. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-08-0539.
47. Sinotte M, Rousseau F, Ayotte P et al. Vitamin D receptor polymorphisms (FokI, BsmI) and breast cancer risk: association replication in two case-control studies within French Canadian population. *Endocr Relat Cancer* 2008; 15(4): 975–983. doi: 10.1677/ERC-08-0056.
48. Wang H, Wang W, Yang D et al. TaqI polymorphism of VDR gene contributes to breast cancer risk. *Tumour Biol* 2014; 35(1): 93–102. doi: 10.1007/s13277-013-1011-9.
49. Autier P, Gandini S. Vitamin D supplementation and total mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch Intern Med* 2007; 167(16): 1730–1737.
50. Chlebowski RT, Johnson KC, Kooperberg C et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(22): 1581–1591. doi: 10.1093/jnci/djn360.
51. Wactawski-Wende J, Morley Kotchen J, Anderson GL et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer. *N Eng J Med* 2006; 354(7): 684–696.