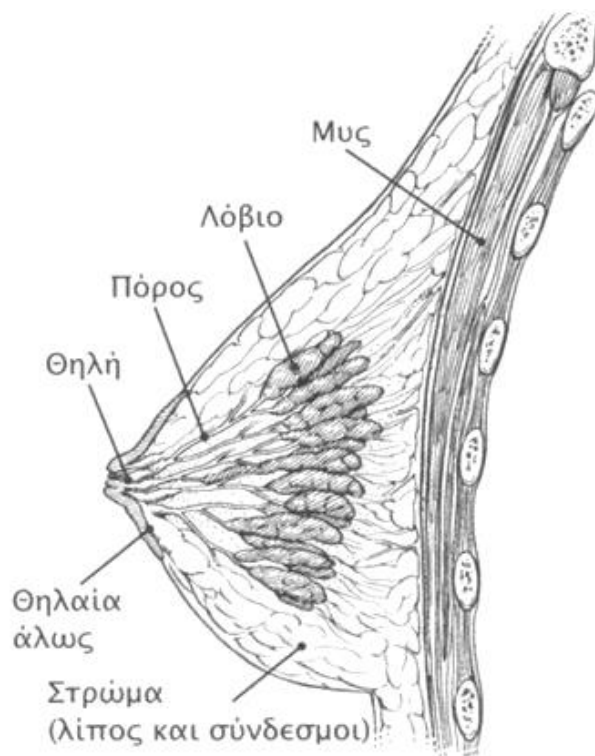




ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ,
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ,
ΤΜΗΜΑ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΚΑΤΕΥΘΥΝΣΗ: ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ

Κωνσταντίνος Φειδάντσης
Βιολόγος, MSc, PhD

Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D ΣΤΟΝ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ



ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ, 2016

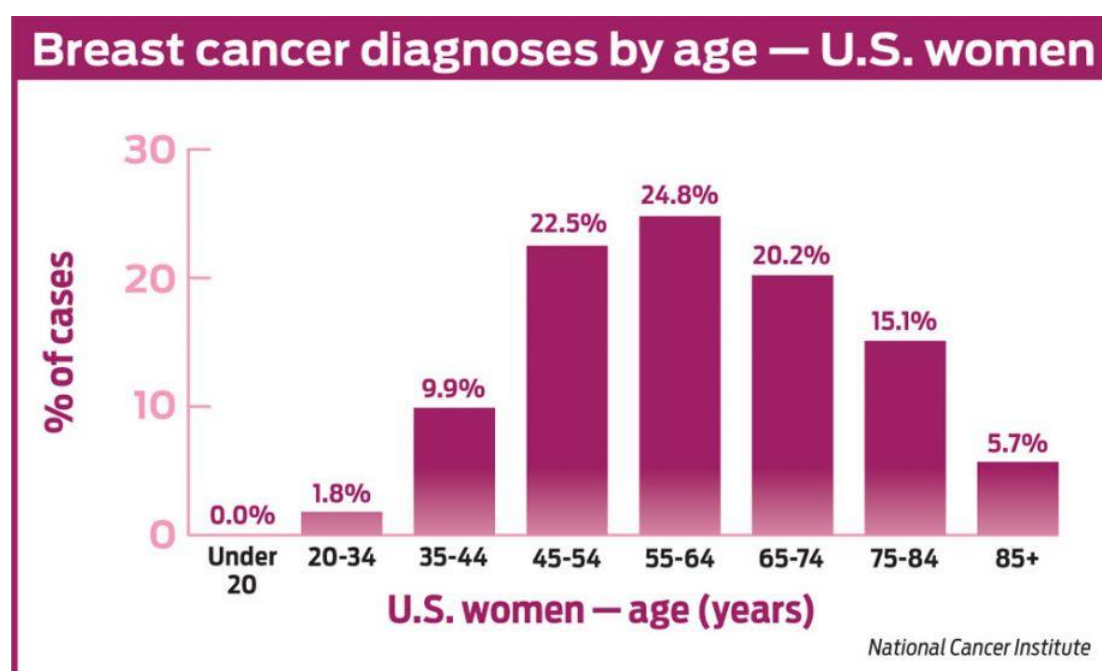
Περιεχόμενα	Σελίδα
1. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	1
2. ΒΙΤΑΜΙΝΗ D	2
2.1 Βιταμίνη D και ρόλος	4
2.2 Βιταμίνη D και Διαιτητική Πρόσληψη	5
3. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΗ D - ΓΕΝΙΚΑ	5
3.1 Έκφραση του VDR στο μαστικό ιστό και σε όγκους του μαστού	6
3.2 Η αντι-πολλαπλασιαστική επίδραση της βιταμίνης D και των παραγώγων της	9
3.3 Επίδραση στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου	10
3.4 Βιταμίνη D και απόπτωση	12
3.5 Ρύθμιση των σηματοδοτικών μονοπατιών αυξητικών παραγόντων	13
3.6 Μετάσταση και διήθηση	15
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ - ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΠΡΟΟΠΤΙΚΗ	15
Βιβλιογραφία	16

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο καρκίνος του μαστού είναι μία από τις κυριότερες αιτίες θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες παγκοσμίως. Δεδομένου του μέγεθος του προβλήματος, σημαντική προσπάθεια έχει εστιαστεί στην διαλεύκανση της αιτιολογίας του καρκίνου του μαστού. Οικολογικές μελέτες έχουν συνδέσει τα υψηλά επίπεδα της έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία με τη χαμηλή συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού και των ποσοστών θνησιμότητας. Αυτές οι παρατηρήσεις, μαζί με πειραματικά στοιχεία προσδίδουν αντικαρκινικές ιδιότητες στη βιταμίνη D, έχοντας οδηγήσει στην υπόθεση ότι τα υψηλά επίπεδα της βιταμίνης D θα μπορούσαν ενδεχομένως να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Η συσχέτιση του καρκίνου με τη βιταμίνη D είχε κυρίως παρατηρητικό χαρακτήρα, αν και σήμερα αρκετές μελέτες συνδέουν θετικά τη βιταμίνη αυτή με την μείωση του ποσοστού εμφάνισης του καρκίνου του μαστού. Περαιτέρω μελέτες έχουν δείξει ότι η βιταμίνη D μπορεί να προστατεύσει κατά τον μετασχηματισμό των μαστικών κυττάρων. Οι τελευταίες επιστημονικές έρευνες αποδεικνύουν έναν ευρύτερο ρόλο από ότι στο παρελθόν για τη βιταμίνη D και τη συμμετοχή της σε λειτουργίες του ενδοκρινικού συστήματος αλλά και στον έλεγχο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού του μαστικού επιθηλίου, τη διαφοροποίηση, την απόπτωση, την αγγειογένεση, την εισβολή και τη μετάσταση. Διαμορφώνει με τους παραπάνω τρόπους τα χαρακτηριστικά του καρκίνου, δηλαδή τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την κυτταρική διαφοροποίηση, την απόπτωση,

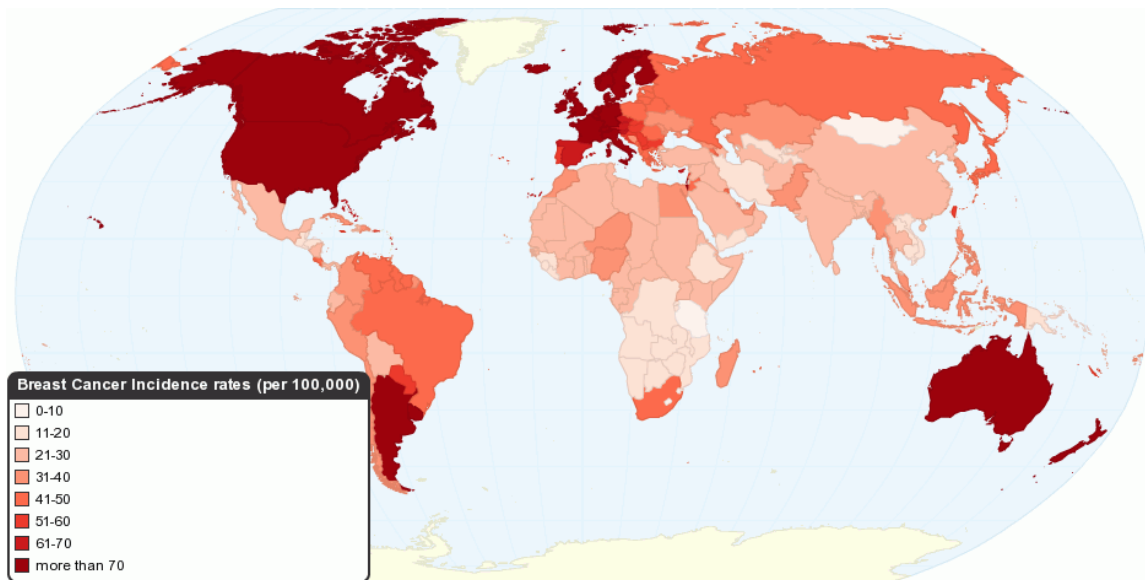
1. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

Ο καρκίνος του μαστού είναι μία από τις κυριότερες αιτίες θανάτου από καρκίνο στις γυναίκες παγκοσμίως (Ferlay et al. 2007) (Εικ.2). Στις Η.Π.Α είναι ο πιο συχνά διαγιγνωσκόμενος καρκίνος μεταξύ των γυναικών. Υπολογίζεται ότι 211.240 νέες περιπτώσεις διηθητικού καρκίνου του μαστού και 58.490 νέες περιπτώσεις in situ καρκίνου του μαστού είχαν προβλεφτεί μεταξύ των γυναικών των ΗΠΑ για το 2005 (American Cancer Society 2005) (Εικ.1). Από την άποψη της θνησιμότητας, ο καρκίνος του μαστού βρίσκεται στη δεύτερη θέση μετά τον καρκίνο του πνεύμονα, μια κύρια αιτία θανάτου από καρκίνο μεταξύ των γυναικών στις Η.Π.Α., με 40.410 θανάτους από καρκίνο του μαστού να προβλέπονται για το 2005 (ACS 2005).



Εικόνα 1: ποσοστά εμφάνισης καρκίνου του μαστού σε γυναίκες των Η.Π.Α. σε συνάρτηση με την ηλικία (National Cancer Institute)

Δεδομένου του μέγεθος του προβλήματος, σημαντική προσπάθεια έχει εστιαστεί στην διαλεύκανση της αιτιολογίας του καρκίνου του μαστού. Πράγματι, πολλοί παράγοντες έχουν σχέση με τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης του καρκίνου του μαστού, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων παραγόντων εμμηνόρροιας (ηλικία εμμηναρχής και ηλικία εμμηνόπαυσης), αναπαραγωγικούς παράγοντες (τεκνοποίηση και γαλουχία) και ανθρωπομετρικούς παράγοντες [δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) και αύξηση του σωματικού βάρους] όσο και από εξωγενή χρήση οιστρογόνων και ενδογενή επίπεδα ορμονών, το οικογενειακό ιστορικό καρκίνου του μαστού και των καλοηθών παθήσεων του μαστού (Benign Breast Disease - BBD), η ιονίζουσα ακτινοβολία, και η κατανάλωση αλκοόλ (Colditz 2005, Macmahon 2006). Ωστόσο, επειδή οι παράγοντες αυτοί δεν αρκούν για να ερμηνεύσουν πλήρως την επιδημιολογία του καρκίνου του μαστού, είναι απαραίτητος προσδιορισμός πρόσθετων αιτιολογικών παραγόντων.

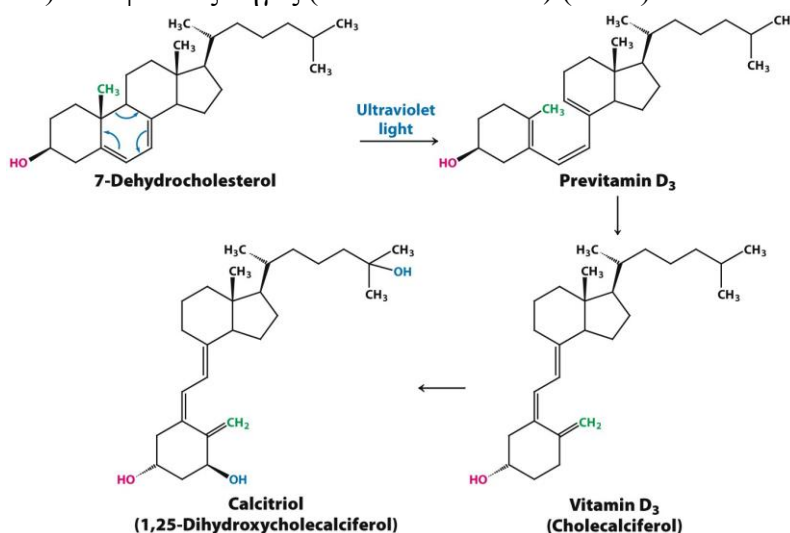


Εικόνα 2: παγκόσμιος χάρτης της εμφάνισης καρκίνου του μαστού (World Health Organization)

Οικολογικές μελέτες έχουν συνδέσει τα υψηλά επίπεδα της έκθεσης στην ηλιακή ακτινοβολία με τη χαμηλή συχνότητα εμφάνισης καρκίνου του μαστού και των ποσοστών θνησιμότητας (Blot et al. 1977, Garland et al. 1990, Gorham et al. 1990, Studzinski and Moore 1995). Αυτές οι παρατηρήσεις, μαζί με πειραματικά στοιχεία προσδίδουν αντικαρκινικές ιδιότητες στη βιταμίνη D, έχοντας οδηγήσει στην υπόθεση ότι τα υψηλά επίπεδα της βιταμίνης D θα μπορούσαν ενδεχομένως να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Colston et al. 1989, Mantell et al. 2000, Saez et al. 1993, Welsh 2004).

2. ΒΙΤΑΜΙΝΗ D

Οι άνθρωποι καταναλώνουν βιταμίνη D από τις τροφές, όπως τα ψάρια, τα αυγά, και τα εμπλουτισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα (Εικ.4), καθώς και από τη βιταμίνη D που περιέχουν οι πολυβιταμίνες και τα συμπληρώματα (Gionannucci 2005). Οι δύο φυσικά απαντώμενες μορφές της βιταμίνης D είναι η χοληκαλσιφερόλη (Βιταμίνη D3) που προέρχεται από ζωικές πηγές και η εργοκαλσιφερόλη (βιταμίνη D2) από φυτικές πηγές (Welsh et al. 2003) (Εικ.3).



Εικόνα 3: μεταβολισμός και μορφές της βιταμίνης D (www.physiology.org)

Πρόσφατες μελέτες σε ανθρώπους αποδεικνύουν ότι η βιταμίνη D3 είναι πιο αποτελεσματική από τη βιταμίνη D2 στην αύξηση στον ορό του πλάσματος της 25-υδροξυβιταμίνης D [25(OH)D], η οποία είναι ο πρόδρομος της βιολογικά δραστικής μορφής της βιταμίνης D, που είναι η 1,25-διυδροξυβιταμίνη D [1,25(OH)D] (Trang et al. 1998). Στις Ηνωμένες Πολιτείες, η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη βιταμίνης D είναι 200, 400, και 600 IU για ενήλικες <50, 50 έως 70, και >70 ετών, αντίστοιχα (Giovannucci 2005). Μια πρόσθετη πηγή της βιταμίνης D είναι η έκθεση στο φως του ήλιου, η οποία μπορεί να μετατρέψει την 7-δεϋδροχολήστερόλη, η οποία είναι ένας πρόδρομος της χοληστερόλης, σε βιταμίνη D3 στο δέρμα (Holick 2004).

Source	Approx Vitamin D Content
Salmon	
Fresh, wild (3.5 oz)	600-1000 IU
Fresh, farmed (3.5 oz)	100-250 IU
Canned (3.5 oz)	300-600 IU
Sardines, Canned (3.5 oz)	300 IU
Mackerel, canned (3.5 oz)	250 IU
Tuna, canned (3.6 oz)	230 IU
Exposure to Sunlight	3000 IU
Fortified milk (8oz)	100 IU
Fortified orange juice (8 oz)	100 IU
Infant formulas (8 oz)	100 IU
Prescription vitamin d	50,000 IU

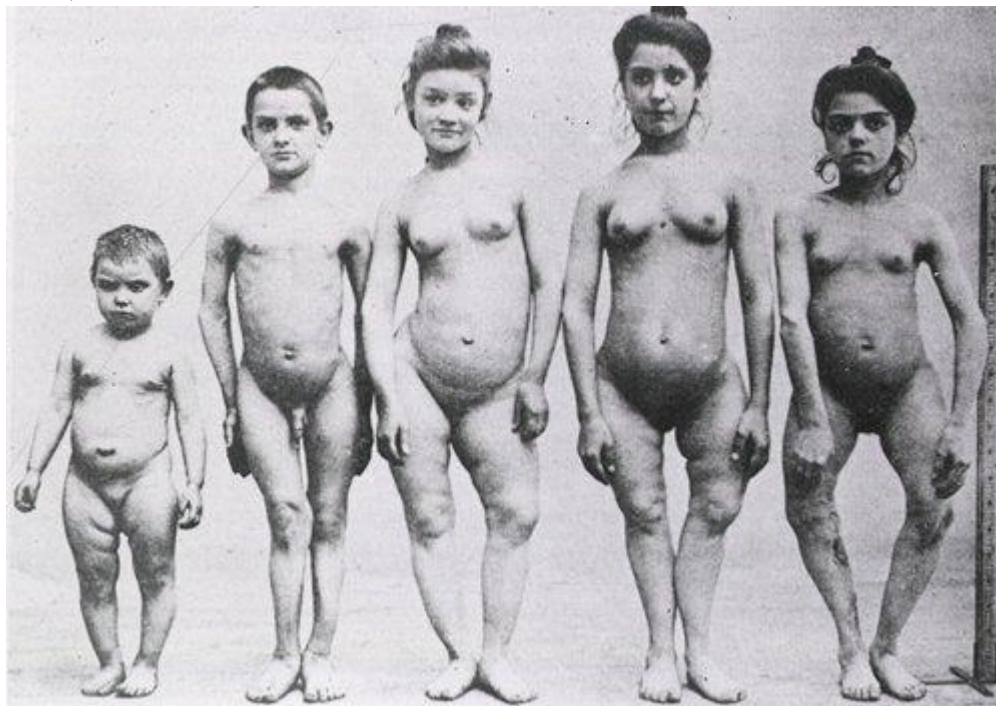
Εικόνα 4: τρόφιμα πλούσια σε βιταμίνη D (World Health Organization)

Η προ-ορμόνη της βιταμίνης D, υπό τη μορφή της βιταμίνης D2 ή D3, πρώτα μεταβολίζεται σε 25(OH)D στο ήπαρ και στη συνέχεια μεταβολίζεται περαιτέρω σε 1,25(OH)₂D₃ με τη βοήθεια του ενζύμου α-1-υδροξυλάσης στους νεφρούς και σε άλλους ιστούς-στόχους (Colston and Hansen 2002). Τόσο η 25(OH)D όσο και η 1,25(OH)₂D₃ μπορούν να αποδομηθούν μέσω της κατάλυσης από το ένζυμο 24-υδροξυλάση της βιταμίνης D σε διάφορους ιστούς, συμπεριλαμβανομένου του μαστού (Nishimura et al. 1994). Ως εκ τούτου, η κατάσταση της βιταμίνης D στην κυκλοφορία εξαρτάται από τις πηγές εξωγενούς πρόσληψης της βιταμίνης D (από διαιτητικές και συμπληρωματική πρόσληψη), την ενδογενή παραγωγή της (μέσω της σύνθεσης στο δέρμα), και της δραστηριότητας των ενζύμων που συμμετέχουν στο μεταβολισμό της βιταμίνης D. Στο ανθρώπινο πλάσμα, η συγκέντρωση της 25(OH)D (> 20 ng/mL) είναι περίπου 1.000 φορές υψηλότερη από εκείνη της 1,25(OH)₂D₃ (20-60 pg/mL). Η συγκέντρωση της 25(OH)D στο πλάσμα του αίματος ποικίλλει ανάλογα με τη διαιτητική πρόσληψη και την έκθεση στο ηλιακό φως και θεωρείται ότι είναι ο καλύτερος δείκτης της κατάστασης της βιταμίνης D (Giovannucci 2005). Αντίθετα, η συγκέντρωση της κυκλοφορούσας στο πλάσμα του αίματος 1,25(OH)₂D₃ διατηρείται σε ένα σχετικά στενό φάσμα, γεγονός που οφείλεται στην αυστηρή ρύθμιση από τη νεφρική α-1-υδροξυλάση. Διάφορα επιθηλιακά κύτταρα, όπως

εκείνα του προστάτη, του μαστού και του παχέος εντέρου, εκφράζουν την α-1-υδροξυλάση της βιταμίνης D (Zehnder et al. 2001). Ωστόσο, η κυκλοφορούσα στο πλάσμα του αίματος $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ που παράγεται από αυτούς τους εξωνεφρικούς ιστούς δεν ανιχνεύεται σε ανεφρικές συνθήκες (Welsh et al. 2003).

2.1 Βιταμίνη D και ρόλος

Η κλασσική λειτουργία της βιταμίνης D είναι να διατηρεί την ομοιόσταση του ασβεστίου και του φωσφόρου. Αυτή που έχει κατανοηθεί καλύτερα είναι η κυτταρική της δράση στην εντερική απορρόφηση του ασβεστίου. Τα οστά και οι νεφροί αποτελούν τα κλασσικά όργανα στόχους της βιταμίνης D. Στα οστά η δραστηριότητα των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών διατηρεί την ομοιόσταση ανάμεσα στην απομεταλλοποίηση, την απαλευθέρωση δηλαδή του ασβεστίου και του φωσφόρου και τη μεταλλοποίηση. Η βιταμίνη D είναι υπεύθυνη για την απομεταλλοποίηση. Η δράση της βιταμίνης D στα νεφρά δεν έχει μέχρι σήμερα κατανοηθεί πλήρως. Χρησιμεύει για την ομοιόσταση του ασβεστίου, ενισχύοντας την επαναρρόφηση του ασβεστίου και την απέκκριση του φωσφόρου στα άπω νεφρικά σωληνάκια. Από τις ανεπάρκειες της βιταμίνης D καλύτερα γνωστή είναι η ραχίτιδα στα παιδιά η οποία προκαλεί παραμορφώσεις των οστών, ιδιαίτερα του στέρνου, του κρανίου και της σπονδυλικής στήλης (Εικ.5). Το ισοδύναμο στους ενήλικες είναι η οστεομαλάκυνση. Έχει παρατηρηθεί ότι η ανεπάρκεια της βιταμίνης D και οι οστικές παθήσεις συνοδεύονται συχνά από αδυναμία των σκελετικών ή του καρδιακού μυός, οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η βιταμίνη D δρα στα μυϊκά κύτταρα (Feldman 1997).



Εικόνα 5: διατροφική πρόσληψη της βιταμίνης D και του ασβεστίου
(www.physiology.org)

2.2 Βιταμίνη D και Διαιτητική Πρόσληψη

Η Επιτροπή DRI (Dietary Reference Intake) προσδιορίζει την επαρκή πρόσληψη (AI – Adequate Intake) 5 µg (200 IU) / ημέρα για παιδιά ηλικίας μεγαλύτερα των 6 μηνών αλλά και για ενήλικες ηλικίας ως 50 ετών και για έγκυες και θηλάζουσες γυναίκες. Για τους ενήλικες ηλικίας 51-70 ετών, η επαρκής πρόσληψη ορίζεται στα 10 µg (400 IU) / ημέρα. Η αντίστοιχη πρόσληψη για ενήλικες μεγαλύτερους των 70 ετών είναι 15 µg (600 IU) / ημέρα (η επαρκής πρόσληψη - AI χρησιμοποιείται αντί της πιο οικείας συνιστώμενης διαιτητικής πρόσληψης, που προέρχεται από την εκτιμώμενη μέση απαίτηση, λόγω της αβεβαιότητας στην έκθεση στον ήλιο και τα ενδεχόμενα λάθη σε τιμές σύνθεσης τροφίμων). Συνολικά, οι διαθέσιμες μελέτες παρείχαν πληροφορίες για προσλήψεις που κυμαίνονται από 2,5 έως 50 µg (100 έως 2000 IU) / ημέρα σε βρέφη και τα παιδιά καθώς και από 2,5 έως 250 µg (100 έως 10.000 IU) / ημέρα σε ενήλικες (Εικ.6).

Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D						
Life Stage Group	Calcium			Vitamin D		
	Estimated Average Requirement (mg/day)	Recommended Dietary Allowance (mg/day)	Upper Level Intake (mg/day)	Estimated Average Requirement (IU/day)	Recommended Dietary Allowance (IU/day)	Upper Level Intake (IU/day)
Infants 0 to 6 months	*	*	1,000	**	**	1,000
Infants 6 to 12 months	*	*	1,500	**	**	1,500
1-3 years old	500	700	2,500	400	600	2,500
4-8 years old	800	1,000	2,500	400	600	3,000
9-13 years old	1,100	1,300	3,000	400	600	4,000
14-18 years old	1,100	1,300	3,000	400	600	4,000
19-30 years old	800	1,000	2,500	400	600	4,000
31-50 years old	800	1,000	2,500	400	600	4,000
51-70 year old males	800	1,000	2,000	400	600	4,000
51-70 year old females	1,000	1,200	2,000	400	600	4,000
>70 years old	1,000	1,200	2,000	400	800	4,000
14-18 years old, pregnant/lactating	1,100	1,300	3,000	400	600	4,000
19-50 years old, pregnant/lactating	800	1,000	2,500	400	600	4,000

*For infants, Adequate Intake is 200 mg/day for 0 to 6 months of age and 260 mg/day for 6 to 12 months of age.
**For infants, Adequate Intake is 400 IU/day for 0 to 6 months of age and 400 IU/day for 6 to 12 months of age.

INSTITUTE OF MEDICINE OF THE NATIONAL ACADEMIES Advising the nation • Improving health

Εικόνα 6: διαιτητική πρόσληψη της βιταμίνης D και του ασβεστίου (World Health Organization)

3. ΚΑΡΚΙΝΟΣ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΒΙΤΑΜΙΝΗ D - ΓΕΝΙΚΑ

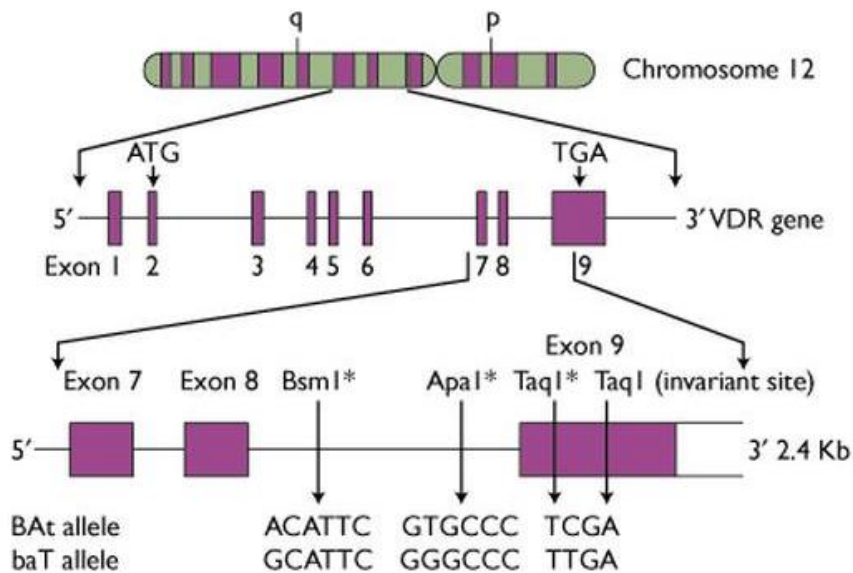
Σήμερα, ο καρκίνος του μαστού δεν θεωρείται πλέον να είναι μια ενιαία ασθένεια, αλλά μάλλον αποτελείται από διακριτούς υποτύπους εμφανίζοντας διαφορετικές κλινικές εκβάσεις (Perou et al. 2000). Για την ανάπτυξη ενός

καρκινικού όγκου κατά τη διάρκεια ζωής του άτομο, χρειάζεται ένα συνδυασμός χαμηλής διεισδυτικότητας γενετικών παραγόντων και ποικίλων περιβαλλοντικών πτυχών. Τελικά, ο καρκίνος προκύπτει από την μεταβολές στον έλεγχο της ισορροπίας του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, της κυτταρικής διαφοροποίησης και του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (Hanahan and Weinberg 2000). Οι διαδικασίες αυτές φαίνεται να ρυθμίζεται από ενδογενείς και εξωγενείς παράγοντες, όπως πολλά κυτταρικά σήματα, και μεταξύ άλλων, ορμονικές και διαιτολογικές πτυχές (Thorne et al. 2008, Huang et al. 2008). Η συσχέτιση του καρκίνου με τη βιταμίνη D είχε κυρίως παρατηρητικό χαρακτήρα, αν και σήμερα αρκετές μελέτες συνδέουν θετικά τη βιταμίνη αυτή με την μείωση του ποσοστού εμφάνισης του καρκίνου του μαστού.

Η βιταμίνη D είναι μια λιποδιαλυτή ουσία που ανήκει στην οικογένεια των στεροειδών ορμονών. Ο φυσιολογικός της ρόλο συνδέεται με τη ρύθμιση του ασβεστίου και τη μεταφορά του φωσφόρου στο μεταβολισμό των οστών. Εκτός από αυτόν τον ενδοκρινικό ρόλο, πολλές επιστημονικές μελέτες έχουν διευρύνει το φάσμα των λειτουργιών της βιταμίνης D. Αρκετοί συγγραφείς έχουν καταδείξει την ικανότητα της βιταμίνης D να εκτελεί αυτοκρινείς και παρακρινείς λειτουργίες σε διάφορες μορφές καρκίνου (συμπεριλαμβανομένου και του καρκίνου του μαστού). Συγκεκριμένα, έχει αποδειχθεί η ικανότητα της να διαμορφώνει τα χαρακτηριστικά του καρκίνου, δηλαδή τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό και την κυτταρική διαφοροποίηση (Deeb et al. 2007), την απόπτωση (Dusso et al. 2005), την αγγειογένεση (Mantell et al. 2000), την εισβολή και τη μετάσταση (Hansen et al. 1994).

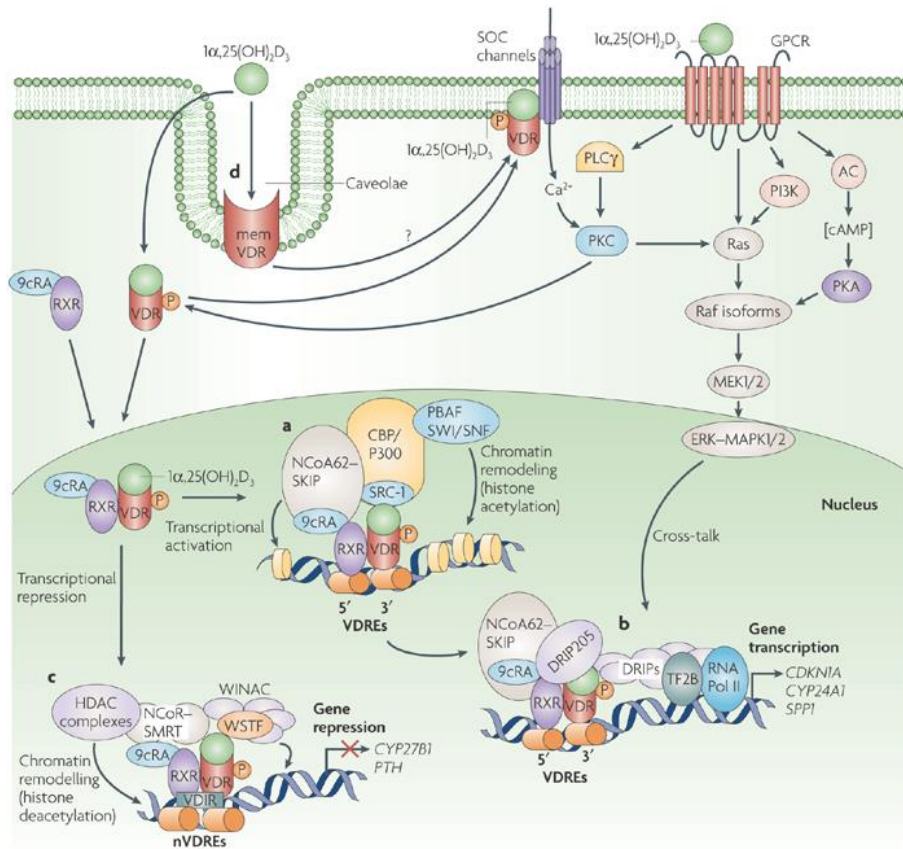
3.1 Έκφραση του VDR στο μαστικό ιστό και σε όγκους του μαστού

Η βιταμίνη D ασκεί περισσότερες από τις βιολογικές δραστηριότητες συνδεδεμένη με έναν ειδικό υποδοχέα υψηλής συγγένειας, τον υποδοχέα της βιταμίνης D (Vitamin D Receptor - VDR), που εντοπίστηκε για πρώτη φορά σε μια καρκινική κυτταρική σειρά μαστού το 1979 (Eisman et al. 1979). Οι VDR είναι παρόντες στο φυσιολογικό μαστό και σε πολλούς άλλους επιθηλιακούς ιστούς (Berger et al. 1988). Ο VDR ανήκει στην υπεροικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων για στεροειδείς ορμόνες και ρυθμίζει την γονιδιακή έκφραση δρώντας ως ενεργοποιούμενος από προσδέτες (στη συγκεκριμένη περίπτωση η βιταμίνη D) παράγοντας μεταγραφής (Evans 1998) (Εικ.7).



Εικόνα 7: γονιδιακή θέση του VDR (www.physiology.org)

Μελέτες σε πειραματόζωα απέδειξαν ότι ο VDR ρυθμίζεται δυναμικά κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης και του θηλασμού, αλλά λίγα είναι γνωστά για τις συγκεκριμένες λειτουργίες του. Ο VDR εκφράζεται σε χαμηλά επίπεδα σε μαστικό αδένες παρθένων επίμυων και αυξάνεται ως απόκριση στη διαφοροποίηση επάγοντας τις ορμόνες κορτιζόλη, προλακτίνη και ινσουλίνη (Mezzetti et al. 1987). Αρκετές μελέτες έδειξαν ότι knockout ποντίκια για το γονίδιο VDR εμφανίζουν υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης καρκινογόνων προνεοπλαστικών βλαβών του μαστού σε σύγκριση με φυσιολογικά ποντίκια (Zinser et al. 2003, 2005). Σε θηλυκά VDR-knockout ποντίκια, οι παρατηρούμενες ανωμαλίες του μαστικού αδένος θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε αυξημένη ευαισθησία σε χημικές καρκινογόνες ουσίες (Narvaez et al. 2001). Υψηλότερα επίπεδα του VDR σε μαστικό αδένες έχουν παρατηρηθεί κατά τη διάρκεια του θηλασμού, και είναι μέγιστα 3 ημέρες μετά τον τοκετό, όταν η συγκέντρωση του ασβεστίου στο γάλα είναι υψηλότερη (Colston et al. 1988). Η προσθήκη $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ σε μοσχέυματα μαστικό αδένος είχε σαν αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση του VDR και αυξημένη πρόσληψη ασβεστίου (Mezzetti et al. 1988). Κυκλοφορούσες συγκεντρώσεις της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ αυξάνονται κατά τη διάρκεια της κύησης και της γαλουχίας και πρόσφατες μελέτες έχουν αποδείξει την παρουσία του ενζύμου α -1-υδροξυλάσης σε φυσιολογικό ιστό μαστού (Friedrich et al. 2000). Οι συγκεκριμένες μελέτες δείχνουν ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ μπορεί να παίζει έναν ρόλο στην διαφοροποίηση και παραγωγή γάλακτος από τον μαστικό αδένος.



Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση του σηματοδοτικού μονοπατιού VDR και μορίων στόχων του (www.physiology.org)

Περαιτέρω μελέτες έχουν δείξει ότι η βιταμίνη D μπορεί να προστατεύσει κατά τον μετασχηματισμό των μαστικών κυττάρων. Οι μελέτες σε ζώα έχουν αποδείξει ότι η διαιτητικά προσλαμβανόμενη βιταμίνη D μπορεί να καταργήσει την ογκογόνο επίδραση μιας διαίτας υψηλού λίπους στο μαστικό ιστό (Jacobson et al. 1989) και θεραπεία με ένα ανάλογο της βιταμίνης D μπορεί να αποτρέψει την ανάπτυξη των μαστικών όγκων που επάγονται από καρκινογόνα (Anzano et al. 1994). Επιπλέον, η θεραπεία με $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ δεν επέτρεψε την ανάπτυξη προνεοπλαστικών βλαβών σε μοσχεύματα μαστικού αδένου κάτω από την επίδραση του καρκινογόνου 7,12-διμεθυλοβενζ(α) - ανθρακένιο (Mehta et al. 1997). Στο σύνολό τους, αυτά ευρήματα υποδεικνύουν ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ και τα ανάλογά της μπορούν να καταστείλουν την ογκογένεση σε φυσιολογικά επιθηλιακά κύτταρα μαστού και ότι η διακοπή των ρυθμιζόμενων VDR μονοπατιών μπορεί να προδιαθέτει για μετασχηματισμό. Πολλές έρευνες έχουν δείξει μια συσχέτιση μεταξύ πολυμορφισμών στο γονίδιο που κωδικοποιεί τον VDR και του κινδύνου εμφάνισης καρκίνου του μαστού (Curran et al. 1999) (Εικ.8).

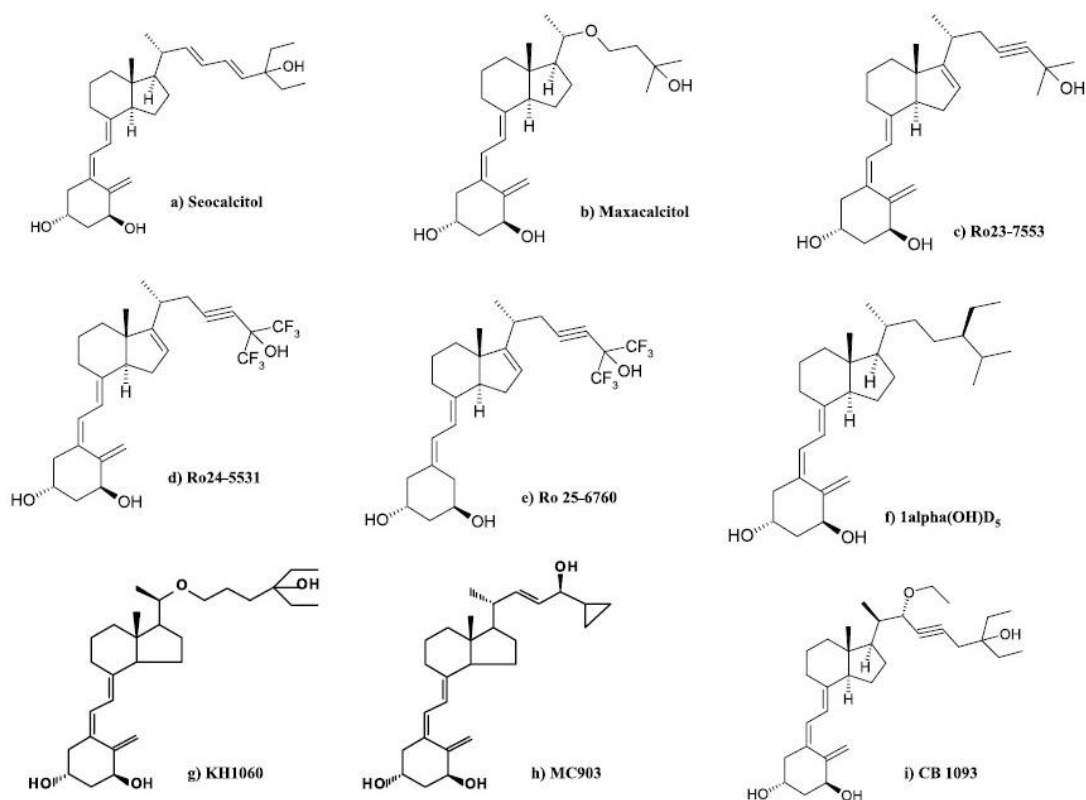
Οι έρευνες αυτές υπογραμμίζουν τη σημασία της ανεπάρκειας του VDR στην ευαισθητοποίηση του μαστικού αδένου για μετασχηματισμό σε απάντηση σε έναν καρκινογόνο παράγοντα. Ανοσοϊστοχημικές μελέτες έχουν επιβεβαιώσει ότι ο VDR εκφράζεται σε δείγματα από κανονικούς ιστούς του μαστού (Berger 1998) καθώς επίσης και σε δείγματα βιοψίας προερχόμενα από καρκίνο του μαστού (Freaker 1984).

Επειδή ο VDR εκφράζεται στον μαστικό αδένα και η βιταμίνη D έχει αποδειχθεί ότι εμφανίζει αντικαρκινικές ιδιότητες, αυτή η ορμόνη έχει αναδειχθεί ως μια πολλά υποσχόμενη στοχευμένη θεραπεία. Αλλά προκειμένου να διατηρηθεί η ομοιόσταση του οργανισμού η ποσότητα της κυκλοφορούσας βιταμίνης D πρέπει να ρυθμίζεται αυστηρά. Αυτή είναι μια εξαιρετικά πολύπλοκη διαδικασία, στην οποία τα κύρια συστατικά είναι τα ένζυμα α -1-υδροξυλάση / CYP27B1 (που κωδικοποιείται από το γονίδιο *CYP27B1*) και 24-υδροξυλάση / CYP24A1 (που κωδικοποιείται από το γονίδιο *CYP24A1*). Η CYP27B1 είναι υπεύθυνη για τη σύνθεση της βιολογικά δραστικής μορφής της βιταμίνης D, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, ενώ η CYP24A1 μεσολαβεί στον καταβολισμό της βιταμίνης D (Haussler et al. 1998). Αρκετές μελέτες έχουν εστιάσει στη σύγκριση των επιπέδων αυτών των ενζύμων σε φυσιολογικό και καρκινικό ιστό. Έχει παρατηρηθεί και τα δύο γονίδια *CYP27B1* και *CYP24A1*, υπερεκφράζονται σε όγκους του μαστού, σε σύγκριση με φυσιολογικό ιστό. Ωστόσο, απορυθμισμένη έκφραση του γονιδίου *CYP24A1* φαίνεται να καταργεί τα αποτελέσματα του γονιδίου *CYP27B1*, με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της βιταμίνης D σε λιγότερο ενεργούς μεταβολίτες (Townsend et al. 2005). Αντίθετα, μια πρόσφατη εργασία έχει επιδείξει ότι το mRNA CYP27B1 σε όγκους μαστού είναι μειωμένο σε σύγκριση με κανονικό ιστό μαστού (McCarthy et al. 2007). Παρά τις διαπιστώσεις αυτές, δεν υπάρχουν αναφορές σχετικά με την έκφραση του VDR, CYP27B1 και CYP24A1 στο μαστικό αδένα.

3.2 Η αντι-πολλαπλασιαστική επίδραση της βιταμίνης D και των παραγώγων της

Η αντι-πολλαπλασιαστική επίδραση της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ σε κυτταροκαλλιέργειες ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων αποδείχθηκε για πρώτη φορά το 1981 (Colston et al. 1981). Τα συγκεκριμένα πειράματα έδειξαν ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ σε νανομοριακές συγκεντρώσεις αναστέλλουν την ανάπτυξη ανθρώπινων αμελανωτικών κυττάρων μελανώματος σε κυτταροκαλλιέργεια. Ταυτόχρονα αποδείχθηκε ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ μπορεί να προωθήσει τη διαφοροποίηση των κυττάρων ποντικού μυελοειδούς λευχαιμίας σε κυτταροκαλλιέργεια (Abe et al. 1981). Κατά τη διάρκεια των δύο τελευταίων δεκαετιών πολλές έρευνες έχουν επιβεβαιώσει ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση μιας ευρείας ποικιλίας τύπων καρκινικών κυττάρων *in vitro*, συμπεριλαμβανομένων καρκινικών κυττάρων του μαστού (Feldman et al. 1997). Τέτοια ευρήματα ώθησαν μεγάλο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη συνθετικών αναλόγων με μειωμένη ασβεσταιμική δραστηριότητα και τα οποία μπορεί να έχουν θεραπευτικό ρόλο σε κακοήθεια. Μια ευρεία ποικιλία αναλόγων έχουν αναπτυχθεί, πολλά από τα οποία παρουσιάζουν τροποποίηση στην πλευρική αλυσίδα C-17 του μορίου (Binderup et al. 1997, Mørk Hansen et al. 2001). Οι πιο ελπιδοφόρες από τις ενώσεις αυτές εμφανίζουν ένα βελτιωμένο προφίλ δραστηριότητας, με ενισχυμένα ρυθμιστικά κυτταρικά αποτελέσματα σε σχέση με την φυσική ορμόνη, αλλά με ασθενέστερες επιδράσεις επί του μεταβολισμού του ασβεστίου. Έτσι, αυτά τα νέα ανάλογα παρέχουν τόσο μία νέα κατηγορία παραγόντων με δυνατότητες για την αγωγή και πρόληψη ορισμένων καρκίνων, καθώς

και πρόσθετα πειραματικά εργαλεία για τη διαλεύκανση των μηχανισμών που διέπουν τις αντικαρκινικές επιδράσεις της 1,25(OH)₂D₃ (Εικ.9).

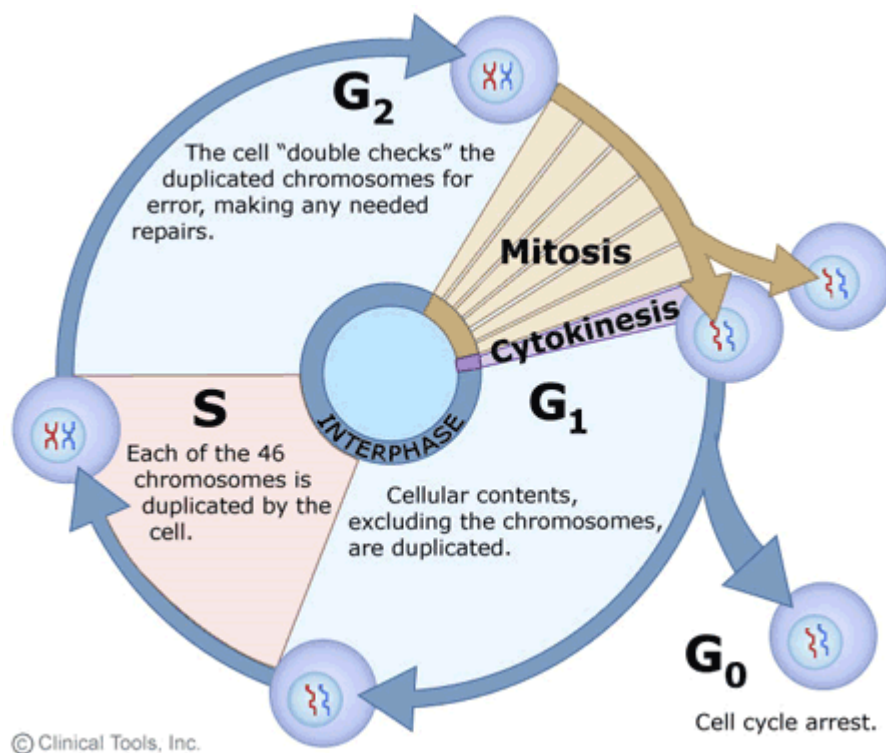


Εικόνα 9: Στεροειδή δομή των παραγώγων της βιταμίνης D (Mørk Hansen et al. 2001)

3.3 Επίδραση στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου

Ένας αριθμός ερευνών έχουν δείξει ότι η 1,25(OH)₂D₃ και τα ανάλογα της μπορούν να προκαλέσουν αναστολή της ανάπτυξης των κυττάρων του καρκίνου του μαστού με τη ρύθμιση της προόδου του κυτταρικού κύκλου. Επίδραση στη καρκινική σειρά μαστικών κυττάρων MCF-7 με θετικούς υποδοχείς οιστρογόνων με 1,25(OH)₂D₃ διεγείρει τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στις φάσεις G₀/G₁ (Simboli-Campbell et al. 1997, Wu et al. 1997) (Εικ.10). Οι επιδράσεις αυτές συνοδεύονται από αλλαγές στην έκφραση σημαντικών ρυθμιστών του κυτταρικού κύκλου, όπως αυξήσεις στους αναστολείς των εξαρτώμενων από την κινάση της κυκλίνης (CDK) και την αποφωσφορυλίωση της πρωτεΐνης του ρετινοβλαστώματος (Mørk Hansen et al. 2001). Μια μελέτη στην ίδια κυτταρική σειρά MCF-7 που έλαβαν θεραπεία με το ανάλογο EB1089 της βιταμίνης D έδειξε μια συσχέτιση μεταξύ αυξημένων επιπέδων πρωτεΐνης p21WAF-1/CIP1, της αναστολή της CDK2 η οποία σχετίζεται με τη δραστηριότητα της κινάσης της ιστόνης H1 και τη διακοπή του κυτταρικού κύκλου στη φάση G₁ (Wu et al. 1997). Οι επιδράσεις των ενώσεων της βιταμίνης D στις ενεργοποιούμενες από οιστρογόνα οδούς απόκρισης αξιολογήθηκε από ένα μεγάλο αριθμό ερευνητικών κέντρων. Ως εκ τούτου, πολλές μελέτες εξετάζουν τις επιδράσεις των ενώσεων της βιταμίνης D στη καρκινική σειρά μαστικών κυττάρων MCF-7 με θετικό υποδοχέα οιστρογόνων (ER). Ωστόσο, η

1,25(OH)₂D₃ και τα ανάλογα της ασκούν επίσης ανασταλτικά αποτελέσματα επί ορισμένων κυτταρικών σειρών οι οποίες είναι ανεξάρτητες των οιστρογόνων (Abe et al. 1991, Colston et al. 1998, Xie et al. 1999). Η ευαισθησία στην 1,25(OH)₂D₃ έχει γενικά αναφερθεί ως υψηλότερη σε κύτταρα καρκίνου του μαστού τα οποία εκφράζουν τον υποδοχέα οιστρογόνου σε σύγκριση με εκείνα που δεν τον εκφράζουν (Narvaez et al. 2001).



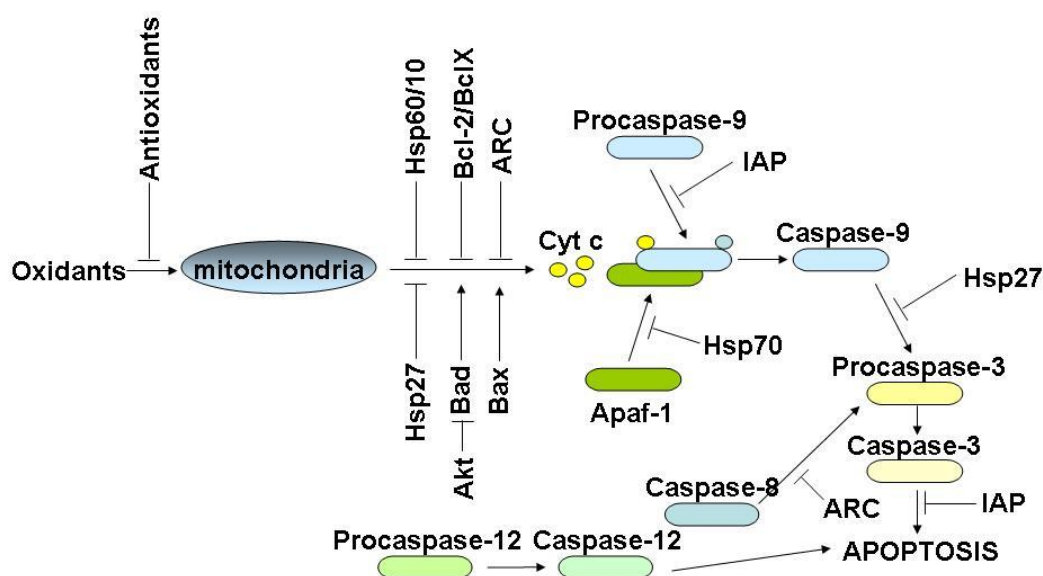
Εικόνα 10: Σχηματική απεικόνιση του κυτταρικού κύκλου (www.physiology.org)

Το ανάλογο EB1089 (seocalcitol) έχει δείχθει ότι ρυθμίζει αρνητικά την έκφραση του υποδοχέα οιστρογόνων στα κύτταρα MCF-7 και περιορίζει την απόκριση τόσο στις μιτογόνες επιδράσεις της 17β-οιστραδιόλης και την επαγωγή από το συγκεκριμένο στεροειδές της πρωτεΐνης υποδοχέα της προγεστερόνης (Colston et al. 1995, James et al. 1994). Παρομοίως, η 1,25(OH)₂D₃ έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει αρνητικά τα επίπεδα του ER και καταστέλλει τη δράση των οιστρογόνων στην κυτταρική σειρά MCF-7 (Swami et al. 2000).

Συμπερασματικά, έχει προταθεί ότι οι ενώσεις της βιταμίνης D μπορεί να δρουν σε πολλά σημεία στην οδό απόκρισης των οιστρογόνων, επιδρώντας τόσο στην αφθονία του ER όσο και την ικανότητα αυτού του υποδοχέα να δρα ως μεταγραφικός παράγοντας. Πρόσφατη ανάλυση της αλληλουχίας του γονιδίου ERα έδειξε ένα πιθανό στοιχείο για τον υποδοχέα της βιταμίνης D (VDRE) εντός του υποκίνητη, γεγονός που υποδηλώνει μια άμεση ρυθμιστική επίδραση της 1,25(OH)₂D₃ στη μεταγραφή του γονιδίου ER (Stoica et al. 1999).

3.4 Βιταμίνη D και απόπτωση

Η φυσιολογική ανάπτυξη των κυττάρων απαιτεί δύο είδη σημάτων, σήματα πολλαπλασιασμού και επιβίωσης. Τα καρκινικά κύτταρα αποκτούν το πλεονέκτημα της ανάπτυξης με ανώμαλο και ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό αλλά ταυτόχρονα με ελαττώματα στη ρύθμιση του προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου (Απόπτωση) (Εικ.11). Η αποτυχία των καρκινικών κυττάρων να υποβληθούν σε απόπτωση είναι ένας καθοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη πολλών τύπων όγκου. Εκτός από τα ανασταλτικά αποτελέσματα στην κυτταρική ανάπτυξη, η 1,25(OH)₂D₃ και ορισμένα από τα ανάλογά της έχουν αποδειχθεί ότι επάγουν τα μορφολογικά και βιοχημικά χαρακτηριστικά της απόπτωσης σε καρκινικά κύτταρα του μαστού (James et al. 1995, 1996, Welsh 1994).

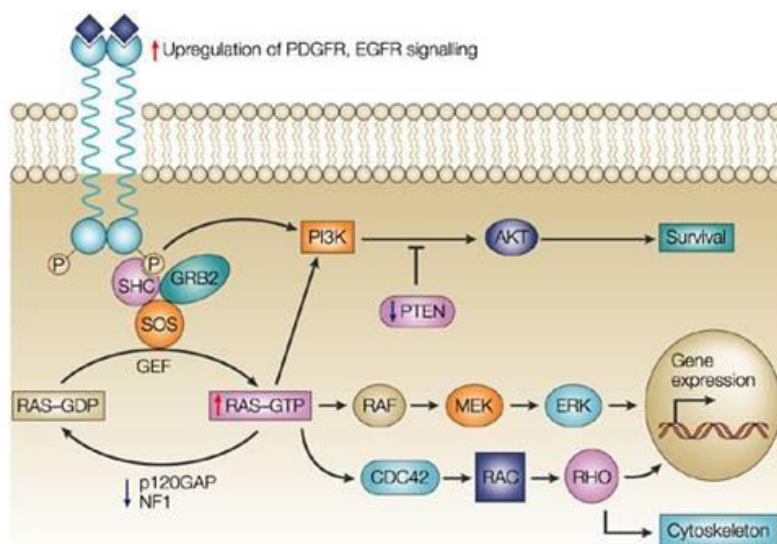


Εικόνα 11: Σχηματική απεικόνιση του κυτταρικού μονοπατιού της απόπτωσης (www.physiology.org)

Πολλές μελέτες δείχνουν ότι η διαμεσολαβούμενη από τη βιταμίνη D απόπτωση καθορίζεται από τη σχετική έκφραση ή την υποκυτταρική κατανομή των προ- και αντι-αποπτωτικών μελών της οικογένειας bcl-2. Η απελευθέρωση του κυτοχρώματος C με την ταυτόχρονη μείωση του δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης συμβαίνει ως απόκριση της διαμεσολαβούμενης από τη βιταμίνη D απόπτωσης, αλλά η σχέση μεταξύ αυτής της απόκρισης και των αλλαγών στην οικογένεια πρωτεϊνών bcl-2 είναι ελάχιστα κατανοητή (Narvaez & Welsh 2001). Ενώ η απελευθέρωση του κυτοχρώματος από τα μιτοχόνδρια στο κυτταρόπλασμα συνδέεται με την ενεργοποίηση της κασπάσης σε μεγάλο αριθμό συστημάτων, πρόσφατες in vitro μελέτες έχουν δείξει ότι σε MCF-7 κύτταρα, η διαμεσολαβούμενη από τη βιταμίνη D απόπτωση δεν εξαρτάται από την ενεργοποίηση οποιασδήποτε γνωστής κασπάσης (Mathiasen et al. 1999, Narvaez & Welsh 2001).

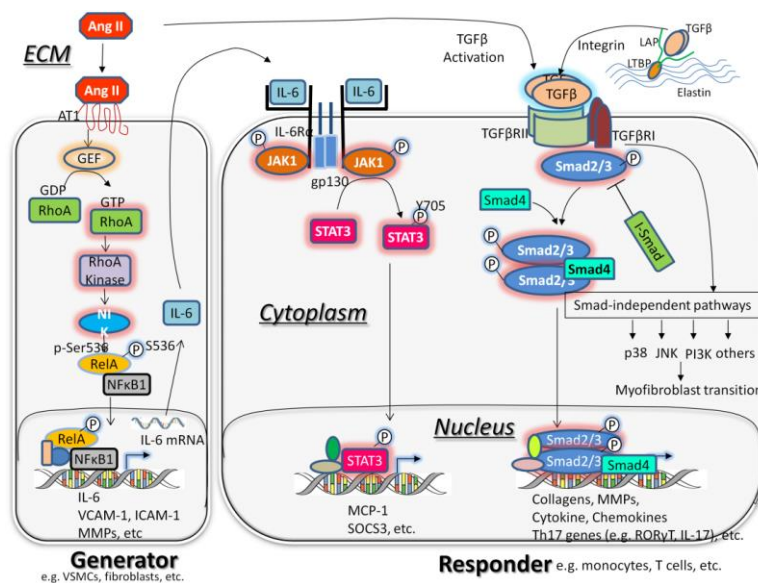
3.5 Ρύθμιση των σηματοδοτικών μονοπατιών αυξητικών παραγόντων

Ένας επιπλέον μηχανισμός με τον οποίο η βιταμίνης D και τα παράγωγα της μπορούν να επηρεάσουν την ανάπτυξη του καρκίνου του μαστού και τη βιωσιμότητα των κυττάρων είναι μέσω της διαφοροποίησης των σηματοδοτικών μονοπατιών αυξητικών παραγόντων. Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι τα καρκινικά κύτταρα του μαστού ανταποκρίνονται σε μια ποικιλία από παρακρινών / αυτοκρινών αυξητικών παραγόντων. Το ανάλογο της βιταμίνης D, EB1089 μπορεί να αντιστρέψει την διεγερτική για την ανάπτυξη επίδραση του επιδερμικού αυξητικού παράγοντα - EGF (Saez et al. 1994) ενώ η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ έχει αποδειχθεί ότι συμμετέχει στη ρύθμιση των επιπέδων του υποδοχέα EGF (Desprez et al. 1991). Επιπλέον, έχει πρόσφατα αναφερθεί ότι το γονίδιο που κωδικοποιεί την αμφιρεγουλίνη, έναν παράγοντα δέσμησης του EGF, ρυθμίζεται μεταγραφικώς από τη $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Akutsu et al. 2001) (Εικ.12).



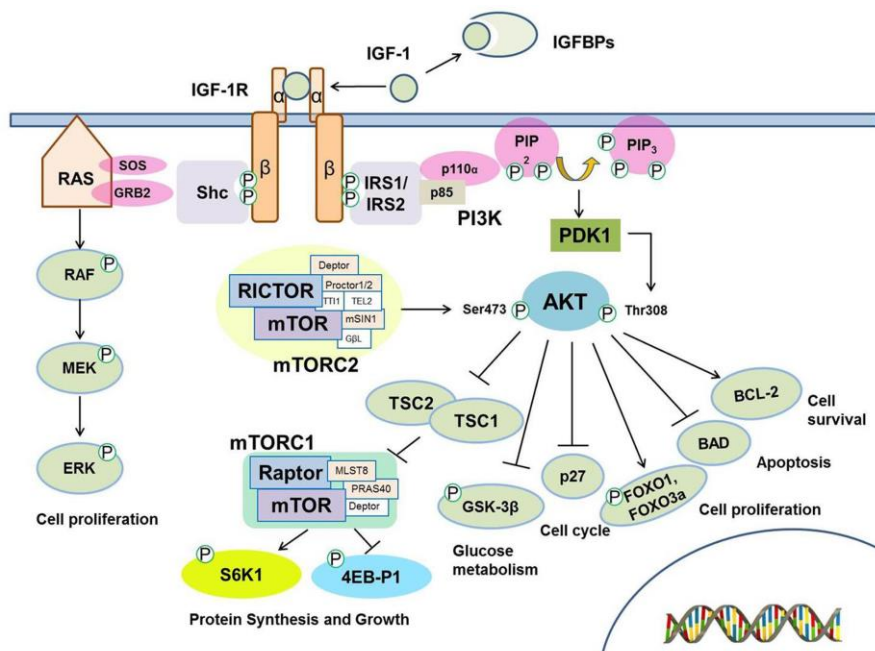
Εικόνα 12: Σχηματική απεικόνιση του κυτταρικού μονοπατιού EGF (www.physiology.org)

Στα περισσότερα επιθηλιακά κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των καρκινικών κυττάρων του μαστού, ο μεταγραφικός παράγοντας TGFβ (Tumor Growth Factor) έχει αποδειχθεί ότι ρυθμίζει αρνητικά την ανάπτυξη, με αποτέλεσμα η αυξημένη δραστηριότητα του TGFβ να συνδέεται με την ελάττωση της αύξησης των καρκινικών κυττάρων του μαστού. Ιδιαίτερα ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ έχει δείχθει ότι αυξάνει την έκφραση του TGFβ1 και της λανθάνουσας μορφής του σε καλλιέργειες καρκινικών κυττάρων του μαστού (Koli and Keski-Oja 1994) (Εικ.13).



Εικόνα 13: Σχηματική απεικόνιση του κυτταρικού μονοπατιού TGF (www.physiology.org)

Αξιοσημείωτο είναι επίσης το γεγονός ότι πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι ενώσεις της βιταμίνης D είναι σε θέση να εμποδίσουν τις μιτογόνες επιδράσεις του μεταγραφικού παράγοντα IGF-I (Insulin Growth Factor). Αυτό το φαινόμενο συνοδεύεται από μία μείωση στον πολλαπλασιασμό και αύξηση της των απόπτωση (Pirianov & Colston 2001, Xie et al. 1997, 1999) (Εικ.14).



Εικόνα 14: Σχηματική απεικόνιση του κυτταρικού μονοπατιού IGF (www.physiology.org)

3.6 Μετάσταση και διήθηση

Η μεταστατική εξάπλωση αποτελεί το μείζον κλινικό πρόβλημα στους ασθενείς με καρκίνο του μαστού. Η διήθηση και τη μετάσταση περιλαμβάνουν σύνθετες διαδικασίες με τις οποίες τα καρκινικά κύτταρα αποκολλώνται, υποβαθμίζουν την εξωκυττάρια μήτρα και διαδίδονται για να σχηματίσουν δευτερογενείς αποθέσεις σε απομακρυσμένες περιοχές. Η εξαιρετικά μεταστατική (ER-αρνητική) ανθρώπινη καρκινική σειρά μαστικών κυττάρων MDA-MB-231, έχει προηγουμένως χρησιμοποιηθεί για την αξιολόγηση αυτών των πτυχών της κυτταρικής βιολογίας του καρκίνου. Χρησιμοποιώντας στη συγκεκριμένη κυτταρική σειρά μια καθιερωμένη δοκιμασία διήθησης καρκινικών κυττάρων, οι Mørk Hansen και οι συνεργάτες του (1994) απέδειξαν ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ και δύο από τα ανάλογά της ήταν ικανά να αναστείλουν αυτή την πτυχή της δραστηριότητας των καρκινικών κυττάρων. Επιπλέον, η αντι-αγγειογενετική δραστηριότητα της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ μπορεί να συνεισφέρει στην αντι-διηθητική και αντι-μεταστατική δράση της. Στην δοκιμασία χοριοαλλαντοϊκής μεμβράνης εμβρύου κοτόπουλου, συγκεντρώσεις της $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ σε πικογραμμάρια, φαίνεται ότι αναστέλλουν την αγγειογένεση (Oikawa et al. 1990). Οι μελέτες αυτές πλέον υποστηρίζονται από πολλές in vivo μελέτες (Majewski et al. 1993, 1996, Iseki et al. 1999).

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ - ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΗ ΠΡΟΟΠΤΙΚΗ

Οι τελευταίες επιστημονικές έρευνες αποδεικνύουν έναν ευρύτερο ρόλο από ότι στο παρελθόν για τη βιταμίνη D και τη συμμετοχή της σε λειτουργίες του ενδοκρινικού συστήματος αλλά και στον έλεγχο του κυτταρικού πολλαπλασιασμού του μαστικού επιθηλίου, τη διαφοροποίηση και την απόπτωση. Η ανακάλυψη ότι ο VDR είναι ανιχνεύσιμος σε καρκινικά κύτταρα και ότι η $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ και τα ανάλογα της εμφανίζουν την ικανότητα να επηρεάζουν μια σειρά από διαδικασίες που είναι γνωστό ότι εμπλέκονται στην ογκογένεση καθιερώνει αυτές τις ενώσεων ως πιθανούς παράγοντες στη θεραπεία και πρόληψη του καρκίνου. Περαιτέρω χαρακτηρισμός των γονιδίων που σχετίζονται με την απόπτωση που άμεσα ή έμμεσα ρυθμίζονται από τη βιταμίνη D και τα παράγωγα της μπορεί να παρέχουν τη βάση για το σχεδιασμό νέων ενώσεων που μπορούν να στοχεύουν στα συγκεκριμένα μονοπάτια σε κύτταρα καρκίνου του μαστού. Μια μεγαλύτερη κατανόηση του πώς η βιταμίνη D εμπλέκεται με το αποπτωτικό μονοπάτι και σε άλλα πιο καθιερωμένα και κατανοητά μονοπάτια που οδηγούν στον κυτταρικό θάνατο, είναι πιθανό να παρέχει κλινικά χρήσιμες πληροφορίες. Μελέτες που εξετάζουν αυτό το ερώτημα ενδέχεται να προτείνουν νέους τρόπους για τη βελτιστοποίηση της αποπτωτικής απόκρισης των καρκινικών κυττάρων του μαστού με συνδυασμό στη χρήση συμβατικών κυτταροτοξικών παραγόντων με τη βιταμίνη D ή τα παράγωγα της.

Βιβλιογραφία

Abe E, Miyaura C, Sakagami H, Takeda M, Konno K, Yamazaki T, Yoshiki S, Suda T. (1981). Differentiation of mouse myeloid leukaemia cells induced by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. PNAS. 78: 4990–4995.

Akutsu N, Bastien Y, Lin R, Mader S, White JH. (2001). Amphiregulin is a vitamin D₃ target gene in squamous cell and breast carcinoma. Biochemical and Biophysical Research Communications. 281: 1051–1056.

Anzano MA, Smith JM, Uskokovic MR, Peer CW, Mullen LT, Letterio JJ, Welsh MC, Shrader MW, Logsdon DL, Driver CL, Brown CC, Roberts AB & Sporn MB. (1994). 1 α -Dihydroxy-16-ene-23-yne-26,27-hexafluorocholecalciferol (Ro24-5531), a new deltanoid (vitamin D analogue) for prevention of breast cancer in the rat. Cancer Research. 54: 1653–1656.

Berger U, Wilson P, McClelland RA, Colston K, Haussler MR, Pike JW, Coombes RC. (1988). Immunocytochemical detection of 1,25-dihydroxyvitamin D receptors in normal human tissues. J Clin Endocrinol Metab. 67(3):607-613.

Binderup L, Binderup E, Godtfredsen WO. (1997) Development of new vitamin D analogs. In *Vitamin D*, pp 1027–1043. Eds D Feldman, FH Glorieux & JW Pike. New York: Academic Press.

Blot WJ, Fraumeni JF, Jr., Stone BJ. (1977). Geographic patterns of breast cancer in the United States. J Natl Cancer Inst. 59: 1407 – 1411.

Cancer facts and figures 2005. American Cancer Society; 2005. p. 9.

Colditz GA. (2005). Epidemiology and prevention of breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 14: 768 – 772.

Colston KW, Hansen CM. (2002). Mechanisms implicated in the growth regulatory effects of vitamin D in breast cancer. Endocr Relat Cancer. 9: 45 – 59.

Colston KW, Colston MJ, Feldman D. (1981). 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and malignant melanoma: the presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. Endocrinology. 108: 1083–1086.

Colston KW, Berger U, Coombes RC. (1989). Possible role for vitamin D in controlling breast cancer cell proliferation. Lancet. 1: 188 – 191.

Colston K, Berger U, Wilson P, Hadcocks L, Naeem I, Earl H & Coombes R. (1988). Mammary gland 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor content during pregnancy and lactation. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 60: 15–22.

Curran JE, Vaughn T, Lea RA, Weinstein SR, Morrison NA, Griffiths LR. (1999). Association of a vitamin D receptor polymorphism with sporadic breast cancer development. *International Journal of Cancer*. 83: 723–726.

Deeb KK, Trump DL, Johnson CS. (2007). Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer*. 7(9): 684-700.

Desprez P-Y, Poujol D, Falette N, Lefebvre M-F, Saez. (1991). 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ increases epidermal growth factor receptor gene expression in BT-20 breast carcinoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 176: 1–6.

Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. (2005). Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*. 289(1):F8-28.

Eisman JA, Martin TJ, MacIntyre I, Moseley JM. (1979). 1,25-dihydroxyvitamin-D₃ receptor in breast cancer cells. *Lancet*. 2(8156-8157):1335-1336.

Evans RM. (1988). The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science*. 240(4854):889-895.

Feldman D, Glorieux FH, Pike JW (Eds) (1997). *Vitamin D*. San Diego: Academic Press.

Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. (2007): Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol*. 18(3):581-592.

Freake HC, Abeyasekera G, Iwasaki J, Marcocci C, MacIntyre I, McClelland RA, Skilton RA, Easton DF, Coombes RC. (1984). Measurement of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptors in breast cancer and their relationship to biochemical and clinical indices. *Cancer Res*. 44(4):1677-1681.

Friedrich M, Reichrath J, Chen TC, Tanpricha V, Gherson I, Tilgen W, Schmidt W & Holick MF. (2000). Expression of 25-hydroxyvitamin D₃-1 α -hydroxylase in breast tissue. In *Vitamin D Endocrine System: Structural, Biological, Genetic and Clinical Aspects*, pp 189–192. Eds AW Norman, R Bouillon & M Thomasset. Riverside: University of California.

Garland FC, Garland CF, Gorham ED, Young JF. (1990). Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation. *Prev Med.* 19: 614 – 622.

Gorham ED, Garland FC, Garland CF. (1990). Sunlight and breast cancer incidence in the USSR. *Int J Epidemiol.* 19:820 – 824.

Giovannucci E. (2005). The epidemiology of vitamin D and cancer incidence and mortality: a review (United States). *Cancer Causes Control.* 16: 83 – 95.

Hanahan D, Weinberg RA. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell.* 100(1):57-70.

Hansen CM, Frandsen TL, Brunner N, Binderup L. (1994). 1 alpha,25-Dihydroxyvitamin D₃ inhibits the invasive potential of human breast cancer cells in vitro. *Clin Exp Metastasis.* 12(3): 195-202.

Haussler MR, Whitfield GK, Haussler CA, Hsieh JC, Thompson PD, Selznick SH, Dominguez CE, Jurutka PW. (1998). The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res.* 13(3):325-349.

Holick MF. (2004). Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 80: 1678 – 1688S.

Huang W, Ma K, Zhang J, Qatanani M, Cuvillier J, Liu J, Dong B, Huang X, Moore DD. (2006). Nuclear receptor-dependent bile acid signaling is required for normal liver regeneration. *Science.* 312(5771): 233-236.

Jacobson E, James K, Newmark H, Carroll K. (1989). Effects of dietary fat, calcium, and vitamin D on growth and mammary tumorigenesis induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene in female Sprague-Dawley rats. *Cancer Research.* 49: 6300– 6303.

James SY, Mackay AG, Binderup L, Colston KW. (1994). Effects of a new synthetic vitamin D analogue, EB1089, on the oestrogen-responsive growth of human breast cancer cells. *Journal of Endocrinology.* 141: 555–546.

James SY, Mackay AG, Colston KW. (1995). Vitamin D derivatives in combination with 9-*cis* retinoic acid promote active cell death in breast cancer cells. *Journal of Molecular Endocrinology.* 14: 391–394.

James SY, Mackay AG, Colston KW. (1996). Effects on 1,25 dihydroxyvitamin D₃ and its analogues on induction of apoptosis in breast cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 58: 395–401.

Koli K, Keski-Oja J. (1994) 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ has been shown to enhance the expression of transforming growth factor B1 and its latent form binding protein in breast carcinoma cells. *Cancer Research*. 55: 1540–1547.

McCarthy K, Laban C, Bustin SA, Ogunkolade W, Khalaf S, Carpenter R, Jenkins PJ. (2009). Expression of 25-hydroxyvitamin D-1-alpha-hydroxylase, and vitamin D receptor mRNA in normal and malignant breast tissue. *Anticancer Res*. 29(1):155-157.

Macmahon B. (2006). Epidemiology and the causes of breast cancer. *Int J Cancer*. 118: 2373 – 2378.

Mantell DJ, Owens PE, Bundred NJ, Mawer EB, Canfield AE. (2000). 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circ Res*. 87(3):214-220.

Mathiasen IS, Lademann U & Jaattela M. (1999). Apoptosis induced by vitamin D compounds in breast cancer cells is inhibited by Bcl-2 but does not involve known caspases or p53. *Cancer Research*. 59: 4848–4856.

Mehta R, Moriarty R, Mehta R, Penmasta R, Lazzaro G, Constantinou A, Guo L. (1997). Prevention of preneoplastic mammary lesion development by a novel vitamin D analogue, hydroxyvitamin D₅. *Journal of the National Cancer Institute*. 89: 212–218.

Mezzetti G, Barbiroli B, Oka T. (1987). 1,25-Dihydroxycholecalciferol receptor regulation in hormonally induced differentiation of mouse mammary gland in culture. *Endocrinology*. 120: 2488–2493.

Mezzetti G, Monti M, Casolo L, Piccinini G, Moruzzi M. (1988). 1,25-Dihydroxycholecalciferol-dependent calcium uptake by mouse mammary gland in culture. *Endocrinology*. 122: 389–394.

Mørk Hansen C, Frandsen TL, Brunner N, Binderup. (1994). 1 α ,25-ihydroxyvitamin D₃ inhibits the invasive potential of human breast cancer cells *in vitro*. *Clinical and Experimental Metastasis*. 12: 195–202.

Mørk Hansen C, Binderup L, Hamberg K, Carlberg C. (2001). Vitamin D and cancer: effects of 1,25(OH)₂D₃ and its analogues on growth control and tumorigenesis. *Frontiers in Bioscience*. 6: 820–848.

Narvaez CJ, Welsh J. (2001). Role of mitochondria and caspases in vitamin D mediated apoptosis of MCF-7 breast cancer cells. *Journal of Biological Chemistry* 276 9101–9107.

Narvaez CJ, Zinser G, Welsh JE. (2001). Functions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in mammary gland: from normal development to breast cancer. *Steroids*. 66: 301–308.

Nishimura A, Shinki T, Jin CH, et al. (1994). Regulation of messenger ribonucleic acid expression of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃-24-hydroxylase in rat osteoblasts. *Endocrinology*. 134:1794–1799.

Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, Pollack JR, Ross DT, Johnsen H, Akslen LA, et al (2000). Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 406(6797): 747-752.

Pirianov G, Colston KW. (2001). Interactions of vitamin D analogue CB1093, TNF α and ceramide on breast cancer cell apoptosis. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 172: 69–78.

Saez S, Falette N, Guillot C, Meggouh F, Lefebvre MF, Crepin M, William L. (1993). McGuire Memorial Symposium. 1,25(OH)₂D₃ modulation of mammary tumor cell growth in vitro and in vivo. *Breast Cancer Res Treat*. 27: 69 – 81.

Saez S, Meggouh F, Lefebvre M-F, Descotes F, Pampile R, Adam L, Crepin M. (1994). Potential direct and indirect influence of 1,25(OH)₂D₃ on the growth of human colonic and breast carcinoma. In *Vitamin D, a Pluripotent Steroid Hormone: Structural Studies, Molecular Endocrinology and Clinical Applications*, pp 469–476. Eds AW Norman, R Bouillon & M Thomasset. Berlin: De Gruyter.

Simboli-Campbell M, Narvaez CJ, VanWeelden K, Tenniswood M, Welsh JE. (1997). Comparative effects of 1 α ,25(OH)₂D₃ and EB1089 on cell cycle kinetics and apoptosis in MCF-7 cells. *Breast Cancer Research Treatment*. 42: 31–41.

Stoica A, Saceda M, Fakhro A, Solomon HB, Fenster BD, Martin MB. (1999). Regulation of estrogen receptor- α gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D in MCF-7 cells. *Journal of Cellular Biochemistry*. 75: 640–651.

Studzinski GP, Moore DC. (1995). Sunlight—can it prevent as well as cause cancer? *Cancer Res*. 55: 4014 – 4022.

Swami S, Krishnan AV, Feldman D. (2000). $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D₃ down-regulates estrogen receptor abundance and suppresses estrogen action in MCF-7 human breast cancer cells. *Clinical Cancer Research*. 6: 3371–3379.

Thorne J, Campbell MJ. (2008). The vitamin D receptor in cancer. *Proc Nutr Soc*. 67(2): 115-127.

Townsend K, Banwell CM, Guy M, Colston KW, Mansi JL, Stewart PM, Campbell MJ, Hewison M. (2005). Autocrine metabolism of vitamin D in normal and malignant breast tissue. *Clin Cancer Res*. 11(9):3579-3586.

Trang HM, Cole DE, Rubin LA, Pierratos A, Siu S, Vieth R. (1998). Evidence that vitamin D₃ increases serum 25-hydroxyvitamin D more efficiently than does vitamin D₂. *Am J Clin Nutr*. 68: 854 – 858.

Welsh JE. (1994). Induction of apoptosis in breast cancer cells in response to vitamin D and antiestrogens. *Biochemistry and Cell Biology*. 72: 537–545.

Welsh J. (2004). Vitamin D and breast cancer: insights from animal models. *Am J Clin Nutr*. 80: 1721 – 1724S.

Welsh J, Wietzke JA, Zinser GM, Byrne B, Smith K, Narvaez CJ. (2003). Vitamin D-3 receptor as a target for breast cancer prevention. *J Nutr*. 133: 2425 – 2433S.

Wu G, Fan RS, Li W, Ko T, Brattain MG. (1997). Modulation of cell cycle by vitamin D₃ and its analogue EB1089 in human breast cancer cells. *Oncogene*. 15: 1555–1563.

Xie S, James SY, Colston KW. (1997). Vitamin D derivatives inhibit the mitogenic effects of IGF-I on MCF-7 human breast cancer cells. *Journal of Endocrinology*. 154: 495–504.

Xie SP, Pirianov G, Colston KW. (1999). Vitamin D analogues suppress IGF-I signalling and promote apoptosis in breast cancer cells. *European Journal of Cancer*. 35: 1717–1723.

Zehnder D, Bland R, Williams MC, et al. (2001). Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin D(3)-1 α -hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab*. 86: 888 – 894.

Zinser GM, McEleney K, Welsh J (2003). Characterization of mammary tumor cell lines from wild type and vitamin D₃ receptor knockout mice. *Mol Cell Endocrinol*. 200(1-2): 67-80.

Zinser GM, Suckow M, Welsh J (2005). Vitamin D receptor (VDR) ablation alters carcinogen-induced tumorigenesis in mammary gland, epidermis and lymphoid tissues. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 97(1-2):153-164.