



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO
UNIVERSIDADE DO PORTO

Vitamina D e a sua relação com o cancro da mama e colorretal

Vitamin D and its relation with breast and colorectal cancer

Marlene Teixeira de Sousa

Orientado por: prof. Doutor José Alejandro Ribeiro dos Santos

Coorientado por: Dr.^a Teresa Maria da Silva Themudo

Revisão temática

1.º Ciclo em Ciências da Nutrição

Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

Porto, 2017

Resumo

A Vitamina D, considerada uma pró-hormona, tem sido cada vez mais reconhecida pelos seus efeitos extraesqueléticos. Contudo, sabe-se que a sua deficiência é elevada a nível global. Os casos de cancro têm vindo a aumentar em Portugal, sendo que os cancros da mama e colorretal são dos mais prevalentes e incidentes.

Vários são os estudos epidemiológicos que têm demonstrado que concentrações séricas elevadas de 25(OH)D estão associadas a um menor risco de cancro.

Assim, o objetivo desta revisão temática foi elucidar a relação entre a Vitamina D e o cancro da mama e colorretal, visando perceber os mecanismos associados a esta relação e a sua interação com os tratamentos oncológicos.

No cancro da mama, estudos caso-controlo encontram correlações inversas significativas entre as concentrações de 25(OH)D e a sua incidência, o que não acontece nos estudos prospetivos. O cancro colorretal demonstra a evidência mais forte relativamente à sua associação inversa com os níveis de 25(OH)D, contudo existem estudos que encontram aumento do risco de cancro com maiores concentrações séricas de 25(OH)D ou não encontram qualquer efeito. Ainda não existem ensaios clínicos que comprovem uma relação inversa entre Vitamina D e estes tipos de cancro, e poucos têm demonstrado a eficácia da suplementação.

Concluindo, dada a associação inversa verificada em alguns estudos entre os níveis de Vitamina D e o risco de cancro da mama e colorretal, torna-se fundamental a realização de ensaios clínicos robustos para elucidar o papel da Vitamina D na prevenção e tratamento destes tipos de cancro.

Palavras-Chave: Vitamina D, Cancro da mama, Cancro colorretal, VDR, tratamentos oncológicos

Abstract

Vitamin D, considered a prohormone, has been increasingly recognized for its extraskeletal effects. However, its deficiency is highly prevalent worldwide. The cases of cancer have been increasing in Portugal, and the breast and colorectal are the most prevalent and incidents cancers.

Several epidemiological studies have shown that elevated serum 25(OH)D concentrations are associated with a lower risk of cancer.

Thus, the purpose of this thematic review was to elucidate the relation between Vitamin D and colorectal and breast cancer, in order to understand the mechanisms associated with this relation and its interaction with oncological treatments.

In breast cancer, case-control studies find significant inverse correlations between 25(OH)D concentrations and its incidence, which is not seen in prospective studies. Colorectal cancer demonstrates the strongest evidence for its inverse association with 25(OH)D levels, however there are studies that find an increased risk of cancer with higher serum concentrations of 25(OH)D or do not find any effect. There are yet no clinical trials proving an inverse relationship between vitamin D and these types of cancer, and few have shown the efficacy of supplementation.

In conclusion, given the inverse association found in some studies between vitamin D levels and the risk of colorectal and breast cancer, robust clinical trials are essential to elucidate the role of Vitamin D in the prevention and treatment of these types of cancer.

Keywords: Vitamin D, breast cancer, colorectal cancer, VDR, oncological treatments

Índice

| | |
|---|-----|
| Resumo | ii |
| Abstract | iii |
| Lista de abreviaturas | vi |
| 1. Introdução | 1 |
| 2. Vitamina D | 2 |
| 2.1. Metabolismo | 2 |
| 2.2. Fontes | 4 |
| 2.3. Recomendações de ingestão de Vitamina D | 4 |
| 3. Vitamina D e Cancro da mama | 5 |
| 3.1. Cancro da mama | 5 |
| 3.2. Mecanismos de ação da 1,25(OH) ₂ D no cancro da mama | 6 |
| 3.3. Relação da Vitamina D e cancro da mama - evidência | 7 |
| 4. Vitamina D e Cancro colorretal | 9 |
| 4.1. Cancro colorretal | 9 |
| 4.2. Mecanismos de ação da 1,25(OH) ₂ D no cancro colorretal | 10 |
| 4.3. Relação da Vitamina D e cancro colorretal - evidência | 11 |
| 5. Vitamina D e tratamentos oncológicos no cancro da mama e colorretal ... | 13 |
| 6. Análise Crítica e Conclusão | 14 |
| Referências Bibliográficas | 16 |

Lista de abreviaturas

1,25(OH)₂D – 1,25- Dihidroxitamina D

25(OH)D – 25- Hidroxivitamina D

AI – Adequate Intake

ALC – Ácido litocólico

CCR – Cancro colorretal

COX2 – Ciclo-oxigenase 2

DBP – Proteína de ligação à vitamina D (Vitamin D – Binding Protein)

EPIC – European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition

ER – Recetor de estrogénio

HR – Hazard ratio

IAN-AF – Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física

IARC – International Agency for Research on Cancer

IC – Intervalo de Confiança

IL – Interleucina

IOM – Institute of Medicine

NF-KB – Fator nuclear KB

OR – Odds ratio

PG – Prostaglandinas

PTH – Hormona paratiroide

QT – Quimioterapia

RDA – Recommended Dietary Allowance

RR – Risco relativo

TGFβ₁ – Fator de transformação de crescimento β₁

THS – Terapêutica hormonal de substituição

TNF α – Fator de necrose tumoral α

UI – Unidades Internacionais

UL – Tolerable Upper Intake Level

UVB – Ultravioleta – B

VDR – Recetor da Vitamina D

VDRE – Elementos Específicos de Resposta à Vitamina D

VitD – Vitamina D

1. Introdução

O cancro é uma das doenças do presente e do futuro. Em 2012 verificaram-se 14,1 milhões de novos casos, com 8,2 milhões de mortes em todo o mundo.⁽¹⁾

A incidência de novos casos de tumores malignos tem vindo a aumentar regularmente, sendo que em 2009 e 2010 assistiu-se a um aumento de 4% dos casos registados em Portugal.⁽²⁾

A prevalência de deficiência de Vitamina D (VitD) é elevada à escala global. Estima-se que cerca de 1 bilião de pessoas no mundo tenha deficiência ou insuficiência de VitD.⁽³⁾ Em Portugal, os dados são escassos na população em geral mas, de acordo com o recente estudo *Nutrition UP 65*, 69% dos idosos portugueses têm deficiência ou insuficiência de 25(OH)D.⁽⁴⁾ Segundo os dados do IAN-AF a média nacional de consumo de VitD é de 8,2 ug/d. A percentagem de indivíduos que não atingem o valor diário de referência varia de 92% a 97,5% entre as várias faixas etárias.⁽⁵⁾

Ao longo do tempo, a VitD evoluiu para uma hormona que tem numerosos efeitos extraesqueléticos, regulando aproximadamente 2000 genes.⁽³⁾ Esta tem revelado múltiplas funções importantes na homeostasia do desenvolvimento e diferenciação dos sistemas endócrino, metabólico, neurológico, epidérmico e imunológico no feto e no adulto. Para além disso, vários são os estudos que têm demonstrado um papel essencial da VitD na regulação dos mecanismos que controlam a proliferação, diferenciação e crescimento.^(6, 7)

Deste modo, nesta revisão temática pretende-se elucidar a relação entre a VitD e o cancro, particularmente os cancros da mama e colorretal, visto que são dos tipos mais incidentes e prevalentes no mundo, visando perceber os mecanismos associados a esta relação e a sua interação com os tratamentos oncológicos.

2. Vitamina D

A VitD tem sido reconhecida como uma pró-hormona, mais do que uma vitamina, visto que pode ser sintetizada pelo organismo pela ação da luz solar e pelo facto de circular no sangue na sua forma ativa.⁽⁸⁾

2.1. Metabolismo

A síntese endógena de VitD inicia-se nas camadas na pele, nomeadamente na derme e na epiderme, onde está armazenada a substância precursora, o 7-desidrocolesterol. A absorção da radiação UVB nos comprimentos de onda de 280 a 315 nm pelo 7-desidrocolesterol promove a formação da pré-vitamina D3, que posteriormente vai sofrer uma isomerização térmica, levando à formação da molécula de VitD3 (colecalfiferol).⁽⁹⁾ Esta liga-se à DBP (Vitamin D binding protein) que vai permitir a sua translocação para o sangue e transporte até aos órgãos alvo.⁽⁸⁾ Durante a exposição prolongada, a pré-vitamina D3 é fotoisomerizada a lumisterol e taquisterol, ambos biologicamente inativos, pelo que não se atingem níveis tóxicos pela exposição solar.⁽⁹⁾ O ergosterol também pode funcionar como precursor da VitD, uma vez que a abertura do seu anel, como resultado da exposição à radiação UVB leva à produção de VitD2 (ergocalciferol).⁽⁸⁾

A síntese cutânea de VitD3 está dependente de vários determinantes como a quantidade de radiação UVB que atinge a pele, a superfície corporal exposta, a latitude geográfica, a pigmentação da pele, a idade, entre outros.^(9, 10)

As vitaminas D2 e D3 necessitam de um metabolismo adicional, que decorre através de duas hidroxilações sequenciais, para produzirem a forma metabolicamente ativa da VitD, a 1,25-dihidroxitaminaD (1,25(OH)2D), também designada como- 1,25-hidroxicolecalciferol ou calcitriol.⁽⁸⁾ A primeira ocorre no fígado pela CYP2R1 (25-hidroxilase), e produz 25-hidroxitaminaD (25-

hidroxicolecalciferol ou calcidiol), que é a forma circulante predominante desta vitamina.⁽¹¹⁾ A segunda ocorre no rim e é realizada pela CYP27B1 (1- α -hidroxilase), que vai originar 1,25(OH)₂D, a forma mais ativa da vitamina.⁽⁹⁾ A atividade da CYP27B1, a nível renal, está inversamente correlacionada com as concentrações de cálcio, pelo que em condições de normocalcemia, a atividade da CYP27B1 é inibida e a 1,25(OH)₂D é metabolizada pela CYP24A1 (24-hidroxilase) em 24,25-dihidroxitamina D, um metabolito biologicamente inativo que é convertido em ácido calcitróico e excretado.⁽¹²⁾ A hidroxilação renal é estritamente regulada e é estimulada pela PTH circulante ou pelo baixo nível de cálcio e inibida pelo FGF-23 e baixo nível de fósforo.⁽¹³⁾ Para além do rim, a pele, a próstata, a mama, o cólon, entre outros, expressam a CYP27B1 e sintetizam 1,25(OH)₂D a partir de 25(OH)D que pode funcionar de forma autócrina e parácrina.^(12, 14)

A VitD ingerida, dada a sua natureza lipofílica, é incorporada com outros lípidos em micelas e absorvida com os lípidos no intestino por difusão passiva. Aquando da absorção, é incorporada nas quilomicra, entra no sistema linfático e depois no plasma.⁽⁸⁾ Posteriormente, vai ser removida da circulação pelo fígado e pelos tecidos periféricos que expressam a lipase das lipoproteínas, especialmente o adiposo e muscular.⁽¹¹⁾ Já a VitD sintetizada a nível cutâneo, entra no sistema capilar e é transportada pela DBP. A VitD ligada à DBP é libertada para os tecidos periféricos. Uma pequena parte é armazenada no fígado.⁽⁸⁾

A 1,25(OH)₂D pode exercer as suas ações através de efeitos genómicos e não genómicos. Os genómicos ocorrem no interior do núcleo das células em que o VDR, quando ativado pelo calcitriol, dimeriza com o recetor retinoide X (RXR) e, de seguida, o complexo 1,25(OH)₂D-VDR-RXR liga-se a sequências específicas do ADN, na região promotora de genes, denominadas VDREs (Vitamin D response

elements), regulando a transcrição de vários genes nas células alvo.^(6, 9) O VDR está amplamente distribuído pelo corpo, o que sugere os papéis fisiológicos na regulação da homeostasia para além da mineralização do tecido ósseo.⁽⁶⁾

A 1,25(OH)₂D também pode exercer as suas ações por mecanismos não genómicos, em que vai existir a interação com os recetores de membrana celular, como o 1,25 D-MARRSBP. Este ativa a fosfolípase C, que vai hidrolisar o PIP₂ (bifosfato de fosfoinositol) para libertar IP₃ (trifosfato de inositol) e diacilglicerol. Por sua vez, estes mensageiros celulares permitem a libertação de cálcio das reservas endoplasmáticas e medeiam a rápida libertação aguda de cálcio na célula.^(6, 8)

2.2. Fontes

A VitD pode ser obtida da luz solar (80%-95%), alimentação e suplementação.^(3, 15) Na alimentação pode ser obtida sob a forma de VitD₃ (colecalfiferol) ou VitD₂ (ergocalciferol). A VitD₃ é obtida através de alimentos de origem animal como os peixes gordos (salmão, sardinha, atum, arenque), óleos de fígado de peixes, gema de ovo, fígado, manteiga e nata. A VitD₂ está presente em fungos e cogumelos irradiados com UVB.^(3, 8) Os alimentos fortificados também constituem uma boa fonte.⁽⁸⁾ A suplementação com VitD₂ e D₃ está também disponível, sendo que as quantidades de VitD variam de 400 a 100000UI.^(3, 16)

2.3. Recomendações de ingestão de Vitamina D

Segundo o *Institute of Medicine* (IOM), a ingestão adequada (AI) de VitD para os lactentes dos 0-12 meses é de 400UI (10µg). A partir daí está estabelecida a ingestão diária recomendada (RDA) de 600UI (15µg) para a população do 1 aos 70 anos. A partir dos 70 anos está estabelecida a RDA de 800UI (20µg).⁽¹¹⁾ Relativamente ao UL, estabeleceram-se valores de 4000UI (100 µg) para toda a

população, exceto para crianças com idades inferiores a 9 anos, para os quais definiu valores inferiores.⁽¹¹⁾

Já a *Endocrine Society* definiu níveis de 400 a 1000UI até 1 ano de vida, 600 a 1000UI até aos 18 anos e 1500-2000UI para adultos a partir dos 19 anos. A UL também é diferente, sendo de 10000UI para estes últimos, 4000UI dos 1 aos 18 anos e 2000UI para lactentes até 1 ano.⁽¹³⁾

A 25(OH)D é o melhor biomarcador do estado de VitD, mas ainda há muita controvérsia no que toca à concentração sérica associada a níveis ótimos.⁽⁹⁾ O IOM estabeleceu as suas diretrizes com base na saúde óssea e definiu como risco de deficiência concentrações de 25(OH)D <30 nmol/l (12 µg/l), inadequação entre 30 e 50nmol/l (12-20 µg/l) e suficiência com concentrações iguais ou superiores a 50nmol/l (20 µg/l). Por outro lado, as diretrizes da *Endocrine Society*, baseadas não só na saúde óssea, concluem que 50 nmol/l é o ponto de corte para a deficiência de VitD e a suficiência define-se a partir de 75 nmol/l (30 µg/l).^(11, 17) A intoxicação não acontece até doses de 25(OH)D de 374 nmol/l.⁽³⁾

3. Vitamina D e Cancro da mama

3.1. Cancro da mama

Segundo o IARC (International Agency for Research on Cancer), em 2012 o cancro da mama foi o mais prevalente e o segundo mais incidente no mundo, contando mais de 1,5 milhões de casos nesse ano.⁽¹⁾

Em Portugal, a taxa de incidência de tumores malignos da mama em 2010 foi de 118,5 por cada 100000 habitantes no sexo feminino. A mortalidade por cancro da mama manteve-se estável de 2010 a 2014, verificando-se uma taxa de mortalidade de 17,9% em 2014, apesar do aumento significativo de incidência.⁽²⁾

A nível molecular, o cancro da mama é dividido em 4 subtipos clinicamente relevantes, com respostas distintas aos tratamentos.⁽¹⁸⁾

3.2. Mecanismos de ação da 1,25(OH)₂D no cancro da mama

Estudos têm demonstrado o papel da 1,25(OH)₂D na inibição do processo de transformação do cancro da mama *in vitro*.⁽¹⁹⁾ A 1,25(OH)₂D tem efeitos antiproliferativos e pró-apoptóticos resultantes da sua ligação ao VDR. Este complexo pode promover a transcrição de genes envolvidos no processo de crescimento e morte celular.^(20, 21)

Em células ER+ (Estrogen Receptor+), a 1,25(OH)₂D induz a paragem do ciclo celular na fase G₀/G₁ pelo aumento da expressão de p21, diminuindo a atividade da cínase dependente da ciclina, causando desfosforilação da proteína do retinoblastoma.⁽²²⁾ Para além disso, o calcitriol e os seus análogos podem induzir alterações morfológicas e bioquímicas relacionadas com a regulação da expressão de genes da família bcl-2, resultando na diminuição da expressão relativa de proteínas anti-apoptóticas (bcl-2 e bcl-XL) para pró-apoptóticas (bax, bak).⁽²²⁾

Swami e colaboradores demonstraram que a 1,25(OH)₂D₃ inibe o crescimento das células MCF-7 de cancro da mama pela sub-regulação do ER, o que diminui o efeito estimulante de crescimento do 17β-estradiol.⁽²³⁾ Há também a diminuição da expressão da aromatase, pela supressão da sua transcrição e sub-regulação do ERα.⁽²⁴⁾ Em células ER-, o calcitriol estimula a expressão de E-caderina, diminui a atividade das metaloproteinases da matriz e do ativador do plasminogénio tipo urocinase (uPA), e aumenta a expressão do inibidor do PA1 (PAI1) e inibidor do MMP1, que constituem mecanismos de supressão do calcitriol na invasão, metastização e angiogénese tumoral.⁽²²⁾

A 1,25(OH)2D3 também tem demonstrado efeitos anti-inflamatórios nas células ER+ e ER-, pela sub-regulação da expressão da COX-2 e aumento da expressão de 15-PGDH, o que reduz a síntese e a atividade biológica da PGs nas células do cancro da mama.⁽²²⁾

Os análogos da 1,25(OH)2D3 têm efeitos antiproliferativos e de sub-regulação do ER mais potentes do que a 1,25(OH)2D3.⁽²³⁾ Inibem o crescimento das células do cancro da mama regulando a expressão de oncogenes e modulando as ações de vários fatores de crescimento (EGF, TGF B, IGF-1).⁽²²⁾

A 1,25(OH)2D administrada em doses farmacológicas rotineiramente induz hipercalcemia. Visto que os seus análogos são mais potentes e menos calcemiantes, tem sido sugerido que estes podem exibir uma eficácia melhorada com efeitos secundários reduzidos como agentes anticancerígenos.⁽²³⁾

3.3. Relação da Vitamina D e cancro da mama - evidência

Vários são os estudos que indicam que uma elevada exposição UVB e elevadas concentrações de 25(OH)D estão associadas a redução do risco de cancro da mama.⁽²⁴⁾ Um estudo realizado em mulheres recém-diagnosticadas com cancro da mama verificou que 93% tinham níveis de 25(OH)D abaixo de 80 nmol/l e foi nessas onde existiu pior prognóstico.⁽²⁵⁾ Um outro estudo com um período de seguimento de 9 anos mostrou um aumento da sobrevivência para níveis mais elevados de 25(OH)D (HR= 0,37 (IC95%: 0.21–0.67)) para concentrações superiores a 81nmol/l comparadas com concentrações < 46nmol/l.⁽¹⁴⁾

Yao Song e colaboradores demonstraram que, por cada aumento de 25 nmol/l da concentração de 25(OH)D, houve uma redução estimada de possibilidade de cancro da mama em um terço (OR = 0,67, IC95%: 0,59-0,75). Entre as mulheres

em pré-menopausa, as concentrações de 25(OH)D foram significativamente menores em mulheres com tumores com pior prognóstico.⁽²⁶⁾

Num outro estudo, os doentes que tinham níveis de VitD ≤ 25 nmol/l tinham 2,54 vezes mais probabilidade de apresentar cancro triplo negativo, comparando com os que tinham níveis >25 nmol/l.⁽²⁷⁾ Foi verificado numa coorte retrospectiva que 70,5% tinham níveis de VitD antes do início da hormonoterapia e depois da QT (quimioterapia) inferiores a 50nmol/l e 22,5% entre 50 e 75 nmol/l.⁽²⁸⁾

Por outro lado, um estudo prospetivo nos Estados Unidos não verificou nenhuma associação entre a exposição à radiação solar UV ambiente, o tempo passado ao ar livre e os fatores de sensibilidade à exposição solar e o risco de cancro da mama. Estes resultados estão em concordância com 17 coortes prospetivas que não mostram associação entre os níveis de 25(OH)D e o risco de cancro da mama.⁽²⁹⁾

Um estudo caso-controlo incluído na coorte prospetiva *European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition* (EPIC) também não observou associações significativas entre os níveis de 25(OH)D e o risco de cancro de mama.⁽³⁰⁾

Apesar dos ensaios clínicos serem a melhor forma de entender a relação entre a VitD e o cancro da mama, poucos têm demonstrado que a suplementação reduz o risco de cancro.⁽²⁴⁾ Um estudo randomizado, duplo cego, controlado por placebo em mulheres em pós-menopausa mostrou que a suplementação com 1000mg de cálcio combinado com 400UI de VitD3 não teve efeito na incidência de cancro da mama.⁽³¹⁾ Peppone e colaboradores também concluíram que a suplementação com 1000UI por dia não aumentou os níveis de 25(OH)D comparado com os que não receberam suplementação, no entanto, doses semanais ≥ 50000 UI foram seguras e bem toleradas nos doentes com cancro da mama e aumentaram os níveis de 25(OH)D.⁽³²⁾

O ensaio clínico *Women's Health Initiative*, no qual mulheres receberam 1g/d de cálcio e 400 UI/d de VitD3, mostrou uma redução significativa do risco de cancro da mama de 14-20%, mas estes resultados apenas se verificaram nas que não estavam a fazer suplementação de cálcio e VitD no momento da aleatorização.⁽³³⁾

Estudos sugerem que a suplementação com baixas doses de VitD não é suficiente para atingir níveis sanguíneos adequados e recomendam que os doentes tratados com inibidores da aromatase recebam doses diárias de VitD de 1000-5000UI.⁽³⁴⁾

Um estudo com mulheres em pós-menopausa com cancro da mama ER+ a receber letrozole por mais de 2 meses demonstrou que a sintomatologia músculo-esquelética foi superior nas que tinham níveis de VitD inferiores a 75 nmol/l comparando com as que tinham níveis ≥ 75 nmol/l (9,14 vs 8,10, $p < 0,001$) e melhorou com a suplementação (2000UI VitD+1000mg Ca/dia por 12 semanas com VitD sérica de 25 a 75nmol/l ou 4000UI D3 + 1000 mg Ca/dia por 6 semanas se VitD<25nmol/l).⁽³⁵⁾ A suplementação com VitD também se mostrou eficaz em reverter a disgeusia e a toxicidade mucocutânea provocadas pela QT.⁽³⁶⁾

Um estudo prospetivo demonstrou que a suplementação com VitD pode reduzir o risco de cancro de mama em utilizadoras de terapêutica hormonal de substituição (THS) com IMC>25 Kg/m². Pelo contrário, verificou-se um risco aumentado associado à suplementação com VitD em mulheres em pós-menopausa não expostas a THS e que não tenham excesso de peso ou obesidade.⁽³⁷⁾

4. Vitamina D e Cancro colorretal

4.1. Cancro colorretal

Segundo o IARC, em 2012 o cancro colorretal (CCR) foi o terceiro mais prevalente e incidente em todo o mundo, contando com mais de 1,3 milhões de novos casos

nesse ano.⁽¹⁾ Em Portugal, a taxa de incidência de tumores malignos do cólon em 2010 foi de 47,6 por cada 100000 habitantes. A mortalidade por cancro do cólon tem sofrido variações muito pequenas, sendo que diminuiu ligeiramente em 2014, verificando-se uma taxa de mortalidade de 25,8%.⁽²⁾

4.2. Mecanismos de ação da 1,25(OH)2D no cancro colorretal

A 1,25(OH)2D pode exercer os seus efeitos nas células do CCR através da inibição da proliferação, indução da diferenciação e da apoptose.^(15, 38) Interfere na indução da paragem do ciclo celular (pela sobreexpressão da p21 e p27), na modulação da expressão de genes relacionados com a proliferação como o c-myc, c-fos e c-jun, na síntese de fatores de crescimento e citocinas e/ou na modulação das suas vias de sinalização e parece restaurar a sensibilidade ao TGF- β , pela indução da expressão do recetor TGF- β 1.^(39, 40)

A ativação do VDR pela 1,25(OH)2D induz a expressão de E-caderina e outras proteínas de adesão. A 1,25(OH)2D suprime os genes alvo Wnt nas células do CCR, que regulam a expressão génica, a adesão celular e o desenvolvimento de tecidos.⁽⁴⁰⁾ Nos colonócitos, a 1,25(OH)2D sub-regula a expressão da CYP27B1 e induz a CYP24A1.⁽⁴¹⁾

A VitD promove a apoptose pela sobreexpressão das proteínas pro-apoptóticas e sub-regulação das antiapoptóticas.⁽⁴⁰⁾ Também inibe a angiogénese.⁽³⁹⁾

O efeito anti-inflamatório exercido pela VitD resulta no atraso e prevenção do desenvolvimento e progressão de CCR. O calcitriol, através da regulação da expressão génica, leva à inibição da síntese e ação biológica das PG, pela inibição da COX2, e da produção de citocinas pró-inflamatórias.⁽³⁹⁾ Estudos sugerem que as vias COX2, NF-kB e as citocinas TNF α , IL1 β , IL6, IL8, IL17 e TGF β 1 estão envolvidas na progressão do CCR e que estas são reguladas pela VitD.⁽⁴²⁾

Os efeitos imunomoduladores da VitD são mediados pela interação com o VDR.⁽⁴³⁾ Tem sido demonstrado que o VDR é um recetor para o ácido litocólico (ALC). Este último está presente em maior quantidade aquando da ingestão de dietas ricas em gordura, pois é um ácido biliar secundário. A ativação do VDR pelo ALC ou pela VitD sobrerregula a transcrição de genes que estão envolvidos na desintoxicação do ALC no fígado e intestino (CYP3A, SULT2A1). Assim, o VDR, funcionando como um sensor para os ácidos biliares intestinais pode proteger as células do cólon dos efeitos prejudiciais do ALC e prevenir o desenvolvimento de CCR.^(39, 40)

4.3. Relação da Vitamina D e cancro colorretal - evidência

A primeira relação entre a VitD e o risco de CCR surgiu em 1980.⁽³⁹⁾ O CCR é o que demonstra evidência mais forte relativamente à relação da elevada exposição à radiação UVB e elevadas concentrações de 25(OH)D com a redução da sua incidência e aumento da sobrevivência.⁽²⁴⁾ Estudos epidemiológicos sugerem que a exposição crónica (não intermitente) à luz solar está associada a uma redução do risco de CCR e da mama.⁽⁴⁴⁾ A taxa de incidência de CCR é superior em latitudes superiores.^(15, 39) A VitD parece ter um papel na progressão e mortalidade por CCR, independentemente de qualquer efeito na incidência.^(45, 46)

Um caso-controlo incluído na coorte EPIC demonstrou que concentrações pré-diagnóstico de 25(OH)D inferiores a 50nmol/l foram associadas a um aumento do risco de cancro do cólon.⁽⁴⁷⁾

Várias são as revisões sistemáticas e meta-análises de estudos nesta área. Verificou-se que o risco relativo (RR) para o CCR foi de 0,62 (IC95%: 0,56-0,70) ao comparar doentes com maiores níveis de 25(OH)D com os de níveis mais baixos. Encontrou-se uma curva em U para a associação dos níveis de 25(OH)D e o risco

de CCR. O RR foi menor nos 137nmol/l (RR=0,65), aumentou para níveis acima de 200nmol/l, embora aqui o RR tenha sido menor do que para 30 nmol/l.⁽⁴⁸⁾

Foi observada uma redução do risco de CCR de 33% comparando o quartil mais elevado de 25(OH)D com o mais baixo e uma redução linear nos OR por cada aumento de 25 nmol/l na concentração de 25(OH)D.⁽⁴⁹⁾ Houve também uma redução de 40% do risco num outro estudo.⁽⁵⁰⁾ Também se demonstrou que os doentes num maior quintil de concentrações de 25(OH)D apresentaram uma redução de 37% da mortalidade por CCR: HR combinado 0.63 (IC 95%: 0.5–0.8).⁽⁵¹⁾ Num outro estudo, doentes com níveis elevados de 25(OH)D tiveram diminuição da mortalidade por CCR em 35% e 43% por cancro da mama.⁽⁵²⁾

Notou-se uma redução de 50% na incidência de cancro da mama para 78nmol/l comparando com 24nmol/l, e na de CCR para 60 nmol/l comparando com 15 nmol/l.⁽⁵³⁾ Em mulheres, parece existir uma associação inversa entre os níveis de 25(OH)D e o risco subsequente de CCR.⁽⁵⁴⁾

Uma meta-análise de ensaios clínicos demonstrou que a suplementação com VitD ao longo de 2-7 anos não teve efeito na incidência de cancro, mas diminuiu cerca de 12% a mortalidade (400–833UI/dia, RR=0.88, IC95%:0.78-0.98).⁽⁵⁵⁾ A suplementação com 100000 UI de VitD a cada 4 meses durante 5 anos não mostrou efeito no cancro do cólon (HR=1.02, IC 95% 0.60-1.74).^(46, 50) No *Women's Health Initiative* também não se verificou uma redução significativa do risco de CCR.^(33, 56) No entanto, a suplementação com 2g de cálcio e/ou 800UI VitD3 por dia demonstrou aumento da apoptose no epitélio colorretal humano normal.⁽⁵⁷⁾

A evidência sugere que baixas doses de VitD não protegem contra o CCR, contudo doses superiores podem reduzir a sua incidência.⁽³⁹⁾

A associação entre os marcadores inflamatórios e o risco de CCR é inconsistente.⁽⁵⁸⁾ Estudos verificam uma associação entre níveis elevados de proteína-C reativa pós-cirúrgica e uma diminuição nos níveis de 25(OH)D.⁽⁵⁹⁾ Num estudo, após ajuste para os marcadores inflamatórios, não houve alteração significativa na associação.⁽⁶⁰⁾ No entanto, é possível que os marcadores medidos não reflitam os fatores inflamatórios que contribuem para o CCR.^(61, 62)

5. Vitamina D e tratamentos oncológicos no cancro da mama e colorretal

Kim e colaboradores, num estudo em doentes com cancro da mama em pré-menopausa, verificaram que a QT diminuiu os níveis séricos de 25(OH)D e a hormonoterapia aumentou. O grupo com ambos os tratamentos teve uma redução nos níveis de 25(OH)D mais pequena do que o grupo que fez apenas QT.⁽³⁶⁾

Um outro estudo demonstrou que no início da QT neoadjuvante 79,5% tinham insuficiência de VitD (<75nmol/l), aumentando para 97,4% no final do tratamento.⁽³⁴⁾

No estudo NEOZOTAC, no grupo que recebeu apenas QT, a percentagem de indivíduos com níveis de VitD<50 nmol/L passou de 38,3% no início do tratamento para 55,9% no final. No grupo que recebeu também ácido zoledrónico, mais 500mg cálcio e 400 UI de VitD não houve diminuição significativa nos níveis de VitD.⁽²⁰⁾

Nas células cancerígenas existe uma maior degradação de VitD, causando resistência aos seus efeitos antitumorais.⁽²⁵⁾

A diminuição dos níveis séricos de 25(OH)D durante a QT pode estar relacionada com efeitos adversos gastrointestinais, como mucosite, náuseas e diarreia que podem influenciar a ingestão e absorção de VitD, o facto de os doentes em QT terem uma exposição solar mais baixa, a possibilidade das formas ativas de VitD serem convertidas em metabolitos inativos pela sobre-regulação do CYP3A4 (como

um mecanismo de defesa contra a QT), o uso de corticoterapia e, como a QT causa amenorreia, a privação de estrogénio pode afetar de forma independente o osso por aumento da osteocalcina, a PTH e o metabolismo da VitD.^(20, 36)

No CCR verificou-se diminuição dos níveis de VitD em resposta à cirurgia, por constituir um estímulo inflamatório agudo.⁽⁴²⁾

Num ensaio clínico, a suplementação com 2000UI de VitD3 mostrou-se eficaz no aumento dos níveis de VitD ao fim de 6 meses, no entanto o aumento foi atenuado pela QT.⁽⁵⁹⁾

Foi encontrada uma elevada prevalência de insuficiência de vitamina D (>80%) em doentes com CCR metastático submetidos a QT de primeira linha, particularmente em doentes do sexo feminino e de cor negra.⁽⁶³⁾

Estudos *in vivo* e *in vitro* têm indicado que a 1,25(OH)2D pode atuar sinergicamente com os agentes quimioterápicos para combater as células cancerígenas e, os seus efeitos benéficos são observados quando é administrada antes ou durante os tratamentos, tendo um efeito promissor como uma opção de tratamento mais económica e menos tóxica. Para além disso, a 1,25(OH)2D pode atuar após o tratamento, na prevenção da recorrência da doença e prolongamento do tempo de recidiva, assim como na melhoria da inflamação.^(24, 60)

6. Análise Crítica e Conclusão

O estudo da relação da VitD e do cancro torna-se desafiante, dada a complexidade de ambos.

No cancro da mama, os estudos caso-controlo encontram correlações inversas significativas entre as concentrações de 25(OH)D e a sua incidência. Já os prospetivos, com tempos de seguimento superiores a 3 anos raramente o fazem.

O CCR demonstra a evidência mais forte relativamente à sua associação inversa com os níveis de 25(OH)D, contudo existem estudos que encontram aumento do risco de CCR com maiores concentrações séricas de 25(OH)D ou não encontram qualquer efeito e os ensaios clínicos controlados randomizados não confirmam a eficácia da VitD no CCR.

Apesar de existirem muitos estudos de associação entre a VitD e cancro da mama e colorretal é necessário fazer uma análise prudente dos mesmos, visto que podem estar confundidos com fatores como IMC, atividade física, hábitos alimentares, história familiar, suplementação, estágio da doença, entre outros. As diferentes formas utilizadas para estimar os níveis de VitD, o tipo e a duração do estudo pode introduzir heterogeneidade entre os estudos. Também deve ser considerada a possibilidade de existência de causalidade reversa, uma vez que o estágio da doença pode influenciar os níveis de VitD, pelo que são necessários estudos experimentais para elucidar se as associações são causais. Os ensaios clínicos não têm confirmado uma relação inversa entre VitD e cancro, e poucos têm demonstrado a eficácia da suplementação no risco de o desenvolver.

Concluindo, dada a existência de vários estudos que indicam uma associação inversa entre os níveis de VitD e o risco de cancro da mama e colorretal, torna-se fundamental a realização de ensaios clínicos robustos, com um tamanho amostral adequado, um longo período de seguimento e com controlo de confundidores para verificar se a VitD constitui uma chave na prevenção e tratamento de cancro da mama e colorretal, assim como os níveis séricos desejáveis para usufruir de benefício e qual a eficácia e doses de suplementação.

Referências Bibliográficas

1. International Agency for Research on Cancer. Estimated number of incident cases, both sexes, worldwide (top 10 cancer sites) in 2012. 2017. Disponível em: http://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?mode=cancer&mode_population=continents&population=900&sex=0&ancer=29&type=0&statistic=0&prevalence=0&color_palette=default.
2. Direção Geral da Saúde. PORTUGAL Doenças Oncológicas em Números – 2015 Lisboa; 2016.
3. Wacker M, Holick MF. Vitamin D - effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients*. 2013; 5(1):111-48.
4. Alejandro Santos, Teresa F Amaral, Rita S Guerra, Ana S Sousa, Luisa Álvares, Pedro Moreira, et al. Vitamin D status and associated factors among Portuguese older adults: results from the Nutrition UP 65 crosssectional study. *BMJ Open* 2017; Jun 22;7(6):e016123. doi: 10.1136/bmjopen-2017-016123.
5. Carla Lopes, Duarte Torres, Andreia Oliveira, Milton Severo, Violeta Alarcão, Sofia Guiomar, et al. Inquérito Alimentar Nacional e de Atividade Física. Porto; 2017. Disponível em: <https://ian-af.up.pt/resultados>.
6. Moukayed M, Grant WB. Molecular link between vitamin D and cancer prevention. *Nutrients*. 2013; 5(10):3993-4021.
7. Jeong Y, Swami S, Krishnan AV, Williams JD, Martin S, Horst RL, et al. Inhibition of Mouse Breast Tumor-Initiating Cells by Calcitriol and Dietary Vitamin D. *Mol Cancer Ther*. 2015; 14(8):1951-61.
8. Mahan LK, S. Escott-Stump. Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy. 11 ed. Philadelphia, PA, USA: Elsevier; 2004.
9. Battault S, Whiting SJ, Peltier SL, Sadrin S, Gerber G, Maixent JM. Vitamin D metabolism, functions and needs: from science to health claims. *Eur J Nutr*. 2013; 52(2):429-41.
10. Bendik I, Friedel A, Roos FF, Weber P, Eggersdorfer M. Vitamin D: a critical and essential micronutrient for human health. *Front Physiol*. 2014; 5:248.
11. Institute of Medicine (US) Committee. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington; 2011.
12. Welsh J. Vitamin D metabolism in mammary gland and breast cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2011; 347(1–2):55-60.
13. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011; 96(7):1911-30.
14. Tretli S, Schwartz GG, Torjesen PA, Robsahm TE. Serum levels of 25-hydroxyvitamin D and survival in Norwegian patients with cancer of breast, colon, lung, and lymphoma: a population-based study. *Cancer Causes Control*. 2012; 23(2):363-70.
15. Cuomo RE, Mohr SB, Gorham ED, Garland CF. What is the relationship between ultraviolet B and global incidence rates of colorectal cancer? *Dermatoendocrinol*. 2013; 5(1):181-5.
16. M. Vidailheta, E. Malletb, A. Bocquetc, J.-L. Bressond, A. Briende, J.-P. Chouraouif, et al. Vitamin D: Still a topical matter in children and adolescents. A position paper by the Committee on Nutrition of the French Society of Paediatrics. *Archives de Pédiatrie* 2012; 19:316-28.

17. Couchman L, Moniz CF. Analytical considerations for the biochemical assessment of vitamin D status. *Ther Adv Musculoskelet Dis.* 2017; 9(4):97-104.
18. Senkus E, Kyriakides S, Ohno S, Penault-Llorca F, Poortmans P, Rutgers E, et al. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2015; 26 Suppl 5:v8-30.
19. Bandera Merchan B, Morcillo S, Martin-Nuñez G, Tinahones FJ, Macías-González M. The role of vitamin D and VDR in carcinogenesis: Through epidemiology and basic sciences. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 2017; 167:203-18.
20. Charehbili A, Hamdy NAT, Smit VTHBM, Kessels L, van Bochove A, van Laarhoven HW, et al. Vitamin D (25-OH D3) status and pathological response to neoadjuvant chemotherapy in stage II/III breast cancer: Data from the NEOZOTAC trial (BOOG 10-01). *The Breast.* 2016; 25:69-74.
21. Saracligil B, Ozturk B, Unlu A, Abusoglu S, Tekin G. The effect of vitamin D on MCF-7 breast cancer cell metabolism [Article]. *Bratislava Medical Journal.* 2017; 118(2):101-06.
22. Krishnan AV, Swami S, Feldman D. Vitamin D and breast cancer: inhibition of estrogen synthesis and signaling. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010; 121(1-2):343-8.
23. Swami S, Krishnan AV, Feldman D. $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D₃ Down-Regulates Estrogen Receptor Abundance and Suppresses Estrogen Actions in MCF-7 Human Breast Cancer Cells. *Clinical Cancer Research.* 2000; 6(8):3371-79.
24. Moukayed M, Grant WB. The roles of UVB and vitamin D in reducing risk of cancer incidence and mortality: A review of the epidemiology, clinical trials, and mechanisms. *Rev Endocr Metab Disord.* 2017
25. Thanasitthichai S, Chaiwerawattana A, Prasitthipayong A. Association of Vitamin D Level with Clinicopathological Features in Breast Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention.* 2015; 16(12):4881-83.
26. Yao S, Sucheston LE, Millen AE, Johnson CS, Trump DL, Nesline MK, et al. Pretreatment serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and breast cancer prognostic characteristics: a case-control and a case-series study. *PLoS One.* 2011; 6(2):e17251.
27. Abulkhair O, Saadeddin A, Makram O, Gasmelseed A, Pasha T, Shehata H, et al. Vitamin D levels and breast cancer characteristics: Findings in patients from Saudi Arabia. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 2016; 164:106-09.
28. Acevedo F, Pérez V, Pérez-Sepúlveda A, Florenzano P, Artigas R, Medina L, et al. High prevalence of vitamin D deficiency in women with breast cancer: The first Chilean study. *The Breast.* 2016; 29:39-43.
29. Zamoiski RD, Freedman DM, Linet MS, Kitahara CM, Liu W, Cahoon EK. Prospective study of ultraviolet radiation exposure and risk of breast cancer in the United States. *Environ Res.* 2016; 151:419-27.
30. Kuhn T, Kaaks R, Becker S, Eomois PP, Clavel-Chapelon F, Kvaskoff M, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and the risk of breast cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition: a nested case-control study. *Int J Cancer.* 2013; 133(7):1689-700.
31. Chlebowski RT, Johnson KC, Kooperberg C, Pettinger M, Wactawski-Wende J, Rohan T, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2008; 100(22):1581-91.

32. Peppone LJ, Huston AJ, Reid ME, Rosier RN, Zakharia Y, Trump DL, et al. The effect of various vitamin D supplementation regimens in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2011; 127(1):171-7.
33. Bolland MJ, Grey A, Gamble GD, Reid IR. Calcium and vitamin D supplements and health outcomes: a reanalysis of the Women's Health Initiative (WHI) limited-access data set. *Am J Clin Nutr.* 2011; 94(4):1144-9.
34. Jacot W, Pouderoux S, Thezenas S, Chapelle A, Bleuse J-P, Romieu G, et al. Increased prevalence of vitamin D insufficiency in patients with breast cancer after neoadjuvant chemotherapy [journal article]. *Breast Cancer Research and Treatment.* 2012; 134(2):709-17.
35. Arul Vijaya Vani S, Ananthanarayanan PH, Kadambari D, Harichandrakumar KT, Niranjan R, Nandeesh H. Effects of vitamin D and calcium supplementation on side effects profile in patients of breast cancer treated with letrozole. *Clinica Chimica Acta.* 2016; 459:53-56.
36. Kim HJ, Koh BS, Yu JH, Lee JW, Son BH, Kim SB, et al. Changes in serum hydroxyvitamin D levels of breast cancer patients during tamoxifen treatment or chemotherapy in premenopausal breast cancer patients. *European Journal of Cancer.* 2014; 50(8):1403-11.
37. Cadeau C, Fournier A, Mesrine S, Clavel-Chapelon F, Fagherazzi G, Boutron-Ruault MC. Postmenopausal breast cancer risk and interactions between body mass index, menopausal hormone therapy use, and vitamin D supplementation: Evidence from the E3N cohort. *Int J Cancer.* 2016; 139(10):2193-200.
38. Bostick RM. Effects of supplemental vitamin D and calcium on normal colon tissue and circulating biomarkers of risk for colorectal neoplasms. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 2015; 148:86-95.
39. Guraya SY. Chemopreventive role of vitamin D in colorectal carcinoma. *Journal of Microscopy and Ultrastructure.* 2014; 2(1):1-6.
40. Jiménez-Lara AM. Colorectal cancer: Potential therapeutic benefits of Vitamin D. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2007; 39(4):672-77.
41. Cross HS, Nittke T, Kallay E. Colonic vitamin D metabolism: Implications for the pathogenesis of inflammatory bowel disease and colorectal cancer. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2011; 347(1-2):70-79.
42. Van Harten-Gerritsen AS, Balvers MGJ, Witkamp RF, Kampman E, Van Duijnhoven FJB. Vitamin D, inflammation, and colorectal cancer progression: A review of mechanistic studies and future directions for epidemiological studies [Review]. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention.* 2015; 24(12):1820-28.
43. Pandolfi F, Franza L, Mandolini C, Conti P. Immune Modulation by Vitamin D: Special Emphasis on Its Role in Prevention and Treatment of Cancer. *Clin Ther.* 2017; 39(5):884-93.
44. van der Rhee H, Coebergh JW, de Vries E. Is prevention of cancer by sun exposure more than just the effect of vitamin D? A systematic review of epidemiological studies. *European Journal of Cancer.* 2013; 49(6):1422-36.
45. Giovannucci E. Epidemiology of vitamin D and colorectal cancer: Casual or causal link? *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 2010; 121(1-2):349-54.
46. Jacobs ET, Kohler LN, Kunihiro AG, Jurutka PW. Vitamin D and colorectal, breast, and prostate cancers: A review of the epidemiological evidence [Review]. *Journal of Cancer.* 2016; 7(3):232-40.

47. Mazda Jenab, H Bas Bueno-de-Mesquita, Pietro Ferrari, Franzel J B van Duijnhoven, Teresa Norat, Tobias Pischon, et al. Association between pre-diagnostic circulating vitamin D concentration and risk of colorectal cancer in European populations: a nested case-control study. *BMJ (Online)*.
48. Ekmekcioglu C, Haluza D, Kundi M. 25-hydroxyvitamin D status and risk for colorectal cancer and type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies [Review]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2017; 14(2)
49. Garland CF, Gorham ED. Dose-response of serum 25-hydroxyvitamin D in association with risk of colorectal cancer: A meta-analysis. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2017; 168:1-8.
50. Weinstein SJ, Purdue MP, Smith-Warner SA, Mondul AM, Black A, Ahn J, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D, vitamin D binding protein and risk of colorectal cancer in the prostate, lung, colorectal and ovarian cancer screening trial [Article]. *International Journal of Cancer*. 2015; 136(6):E654-E64.
51. Mohr SB, Gorham ED, Kim J, Hofflich H, Cuomo RE, Garland CF. Could vitamin D sufficiency improve the survival of colorectal cancer patients? *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2015; 148:239-44.
52. Maalmi H, Ordóñez-Mena JM, Schöttker B, Brenner H. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and survival in colorectal and breast cancer patients: Systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies. *European Journal of Cancer*. 2014; 50(8):1510-21.
53. Grant WB. Relation between prediagnostic serum 25-hydroxyvitamin D level and incidence of breast, colorectal, and other cancers. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2010; 101(2):130-36.
54. Chandler PD, Buring JE, Manson JE, Giovannucci EL, Moorthy MV, Zhang S, et al. Circulating vitamin D levels and risk of colorectal cancer in women [Article]. *Cancer Prevention Research*. 2015; 8(8):675-82.
55. Keum N, Giovannucci E. Vitamin D supplements and cancer incidence and mortality: A meta-analysis [Article]. *British Journal of Cancer*. 2014; 111(5):976-80.
56. Jean Wactawski-Wende PD, Jane Morley Kotchen MD, Garnet L. Anderson PD, Annlouise R. Assaf PD, Robert L. Brunner PD, Mary Jo O'Sullivan MD, et al. Calcium plus Vitamin D Supplementation and the Risk of Colorectal Cancer. *The New England Journal of Medicine*. 2006
57. Fedirko V, Bostick RM, Flanders WD, Long Q, Shaukat A, Rutherford RE, et al. Effects of vitamin D and calcium supplementation on markers of apoptosis in normal colon mucosa: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2009; 2(3):213-23.
58. Bishehsari F, Mahdavinia M, Vacca M, Malekzadeh R, Mariani-Costantini R. Epidemiological transition of colorectal cancer in developing countries: Environmental factors, molecular pathways, and opportunities for prevention [Article]. *World Journal of Gastroenterology*. 2014; 20(20):6055-72.
59. M.G. Fakih, C. Andrews, J. MCMahon, J.R. Muindi. A Prospective Clinical Trial of Cholecalciferol 2000 IU/day in Colorectal Cancer Patients: Evidence of a Chemotherapy-response Interaction *Anticancer Research*. 2012; 32:1333-38
60. Ng K. Vitamin D for Prevention and Treatment of Colorectal Cancer: What is the Evidence? [Article in Press]. *Current Colorectal Cancer Reports*. 2014
61. Song M, Wu K, Chan AT, Fuchs CS, Giovannucci EL. Plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of colorectal cancer after adjusting for inflammatory

markers [Article]. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 2014; 23(10):2175-80.

62. Dou R, Ng K, Giovannucci EL, Manson JE, Qian ZR, Ogino S. Vitamin D and colorectal cancer: Molecular, epidemiological and clinical evidence [Article]. *British Journal of Nutrition*. 2016; 115(9):1643-60.

63. Ng K, Sargent DJ, Goldberg RM, Meyerhardt JA, Green EM, Pitot HC, et al. Vitamin D status in patients with stage IV colorectal cancer: findings from Intergroup trial N9741. *J Clin Oncol*. 2011; 29(12):1599-606.