



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**MURILO RENATO MATOS MACHADO**

**Prevalência da deficiência de vitamina D  
em mulheres na pós-menopausa  
no diagnóstico de câncer de mama**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Orientador: Prof. Livre-Docente Jorge Nahas-Neto  
Co-Orientadora: Profa. Livre-Docente Eliana Aguiar Petri Nahas**

**Botucatu  
2018**

**MURILO RENATO MATOS MACHADO**

**Prevalência da deficiência de vitamina D  
em mulheres na pós-menopausa  
no diagnóstico de câncer de mama**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu para obtenção do Título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia.

**Orientador: Prof. Livre-Docente Jorge Nahas-Neto**  
**Co-Orientadora: Profa. Livre-Docente Eliana Aguiar Petri Nahas**

**Botucatu**  
**2018**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Machado, Murilo.

Prevalência da deficiência de vitamina D em mulheres na pós-menopausa no diagnóstico de câncer de mama / Murilo Machado. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Jorge Nahás Neto

Coorientador: Eliana Aguiar Petri Nahás

Capes: 40101150

1. Mamas - Câncer. 2. Câncer de mama. 4. Vitamina D. 4. Menopausa. 5. Pós-menopausa.

Palavras-chave: Câncer de mama; Menopausa; Vitamina D.

## Dedicatória

*Dedico esta obra...*

À minha mãezinha, Gardênia, que com muita dedicação e esforço me conduziu, de maneira brilhante, até aqui. Sempre foi o meu verdadeiro alicerce. Ao meu pai, Renato, que, mesmo distante, sempre me incentivou a estudar para ser um médico respeitado como ele o é.

Ao meu padrasto, Guaracy ("Tio Guaracy), que com sua inteligência, paciência para esclarecer as minhas dúvidas e sua inabalável retidão no caráter pessoal, ajudou meus pais a me fazerem atingir objetivos como este.

À minha esposa, Mariana, que nos últimos 6 anos de minha vida não só me incentivou a iniciar este projeto, como, também, me deu apoio nos momentos de dificuldade, além de ter me dado um filho maravilhoso, Lucas, que só veio tornar essa caminhada ainda mais divertida e prazerosa.

Aos Professores Livres-Docentes Jorge Nahás Neto e Eliana Aguiar Petri Nahás que, nas qualidades de orientador e co-orientadora, me ensinaram a arte da pesquisa, tornando esta obra possível.

## **Agradecimentos**

A Deus que sempre esteve ao meu lado, iluminando meu caminho e meus pensamentos, para que eu conseguisse completar a minha caminhada até aqui.

Aos colegas médicos, Eneida Schmitt e Benedito Filho, pelo incentivo e grande ajuda com a coleta de dados para a realização deste trabalho

A todos os professores do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia que me deram a base e o incentivo necessários para que eu decidisse ir além da graduação.

A todas as pacientes envolvidas no estudo, imprescindíveis para a realização deste, que nos permitiram contribuir um pouco mais para o avanço da ciência médica.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
<b>Lista de Abreviaturas</b>	<b>7</b>
<b>Resumo</b>	<b>9</b>
<b>Abstract</b>	<b>11</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>13</b>
<b>2. Objetivo</b>	<b>25</b>
<b>3. Métodos</b>	<b>26</b>
<b>4. Publicação</b>	
<b>4.1. Artigo Original</b>	
“Deficiência de Vitamina D em mulheres na Pós-Menopausa no Diagnóstico de Câncer de Mama: Prevalência e Fatores de Risco”	<b>32</b>
<b>5. Conclusões</b>	<b>64</b>
<b>6. Referências</b>	<b>65</b>
<b>7. Anexos</b>	
<b>7.1. Anexo I - Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMB.</b>	

## LISTA DE ABREVIATURAS

VD – Vitamina

25(OH)D – 25 hidroxivitamina D

RE – Receptor de Estrogênio

RP – Receptor de Progesterona

HER2 – receptor do fator de crescimento epidérmico humano - 2

Ki67 – Atividade Proliferativa Epitelial

FMB – Faculdade de Medicina de Botucatu

IMC – Índice de Massa Corpórea

TH – Terapia Hormonal

INCA – Instituto Nacional de Câncer

ACS – *American Cancer Society*

CONCORD – *Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study*

1,25(OH)2D – 1,25-diidroxivitamina D

VDBP – Proteína de ligação à Vitamina D

PTH – Paratormônio

VDR – Receptor de Vitamina D

IOF – *International Osteoporosis Foundation*

IGF-1 – Fator de Crescimento Insulina-Like-1

WHI – *Women's Health Initiative*

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

WHO – *World Health Organization*

UNESP – Universidade Estadual Paulista

NCCN – *National Comprehensive Cancer Network*

IQ – Imunohistoquímica

MDM2 – *Mouse double minute 2 homolog*

OR – *Odds Ratio*

EAP – Escritório de Apoio à pesquisa

IC – Intervalo de Confiança

PG – Prostaglandina

## Resumo

**Objetivo:** Avaliar a ocorrência e os fatores de risco para deficiência de vitamina D em mulheres na pós-menopausa no diagnóstico do câncer de mama comparado a mulheres na pós-menopausa sem câncer de mama

**Métodos:** Realizou-se estudo clínico de corte transversal com 209 mulheres com câncer de mama comparadas a 418 mulheres (controle), com idade entre 45-75 anos atendidas em Hospital Universitário. Foram incluídas no grupo principal mulheres com amenorréia > 12 meses e idade  $\geq$  45 anos, com diagnóstico histológico recente de câncer de mama, sem uso de medicações ou condições clínicas que interfiram nos valores de vitamina D (VD). O grupo controle foi constituído por mulheres com amenorréia > 12 meses, idade  $\geq$  45 anos, sem câncer de mama. Os grupos foram pareados por idade e tempo de menopausa na proporção 1 caso para 2 controles, conforme cálculo amostral, com mínimo de 205 pacientes com câncer de mama. Dados clínicos e antropométricos foram coletados por meio de entrevista. Foi realizada dosagem sérica de 25 hidroxivitamina D [25(OH)D], no máximo 7 dias após o diagnóstico do câncer de mama, antes do tratamento proposto, sendo considerados valores suficientes  $\geq$  30ng/mL. Foram coletados dados sobre o câncer de mama (histopatológico, grau, estágio do tumor, linfonodos) e o status hormonal (receptor de progesterona, RP; receptor de estrogênio, RE; receptor do fator de crescimento epidérmico humano-2, HER2) e a atividade proliferativa epitelial (Ki67). Para análise estatística foram empregados: Teste *t-student*, Distribuição Gama (variáveis assimétricas), Teste do Qui-Quadrado e Regressão Logística (*odds ratio*-OR). Este

estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) (nº 1.874.357).

**Resultados:** A média de idade das pacientes com câncer de mama foi de  $60.7 \pm 10.4$  anos, sendo que 29.7% das mulheres apresentavam tumores menores que 2cm, 66.5% estavam no estágio 1 (doença inicial), 43.5% com linfonodos axilares negativos, RE e RP foram positivos em 82.8% e 70.3% respectivamente, HER2 foi negativo em 80.4% e Ki67 estava acima de 14% em 67.5% dos casos. Na comparação entre os grupos quanto às características clínicas, as pacientes com câncer de mama apresentaram maior valor de índice de massa corpórea (IMC), com maior percentual de obesidade quando comparadas às do controle (57.4% vs 40.2%, respectivamente) ( $p < .0001$ ). Por outro lado, maior percentual de mulheres no grupo controle fazia uso de terapia hormonal (TH) quando comparadas ao grupo com câncer de mama (38.0% vs 11.0%, respectivamente) ( $p < .0001$ ). Na distribuição percentual dos valores de 25(OH)D entre mulheres com e sem câncer de mama foi observado que as pacientes com câncer de mama apresentaram maior ocorrência de valores de 25(OH)D insuficientes (20 a 29 ng/mL) e deficientes ( $< 20$  ng/mL) quando comparadas às pacientes do grupo controle (55.6% vs 49.3%,  $p = 0.039$  e 26.2% vs 20.3%,  $p = 0.018$ , respectivamente). Na análise de risco ajustado para idade, tempo de menopausa e IMC, as mulheres com câncer de mama apresentaram 1.5 vezes maior risco para ocorrência de hipovitaminose D (OR=1.52; IC 95% 1.04-2.22,  $p = 0.029$ ) quando comparadas às mulheres sem câncer.

**Conclusão:** Mulheres na pós-menopausa com diagnóstico recente de câncer de mama apresentaram maior risco para hipovitaminose D, associado à maior ocorrência de obesidade quando comparadas a mulheres na mesma faixa etária sem câncer.

## **Abstract**

**Objective:** To evaluate the occurrence and risk factors for vitamin D deficiency in postmenopausal women in the diagnosis of breast cancer compared to postmenopausal women without breast cancer

**Methods:** A cross-sectional clinical study was performed with 209 women with breast cancer compared to 418 women (control), aged 45-75 years attending University Hospital. Women with recent diagnosis of breast cancer, in amenorrhea > 12 months and age  $\geq$  45 years, without medication use or clinical conditions that interfere with vitamin D values were included. The control group consisted of women with amenorrhea > 12 months, age  $\geq$  45 years, without breast cancer. The groups were matched by age and time since menopause in the proportion 1 case for 2 controls, according to sample calculation, with a minimum of 205 patients with breast cancer. Clinical and anthropometric data were collected through an interview. Serum level of 25 hydroxyvitamin D [25(OH)D] was measured in all patients, 20 to 30 days after breast cancer diagnosis, prior to the proposed treatment, and was considered sufficient values  $\geq$  30 ng/mL. Data on breast cancer (histopathology, grade, tumor stage, lymph nodes), hormone status (estrogen receptor, ER, progesterone receptor, PR, human epidermal growth factor receptor-2, HER2) and epithelial proliferative activity (Ki67) were collected. For statistical analysis, the t-student test, the Gamma Distribution (asymmetric variables), the chi-square test, Pearson's correlation and the logistic regression (OR-odds ratio) were used. This study was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medicine of Botucatu (n<sup>o</sup> 1.874.357).

**Results:** The mean age of breast cancer patients was  $60.7 \pm 10.4$  years, with 29.7% of the women presenting tumors smaller than 2cm, 66.5% were in stage 1 (initial disease), 43.5% with negative axillary lymph nodes, RE and PR were positive in 82.8% and 70.3% respectively, HER2 was negative in 80.4% and Ki67 was  $> 14\%$  in 67.5% of the cases. In the comparison between the groups, the breast cancer patients presented higher values of body mass index (BMI), with a higher percentage of obesity when compared to control group (57.4% vs 40.2%, respectively) ( $p < .0001$ ). On the other hand, a higher percentage of women in the control group used hormonal therapy (HT) when compared to control (38.0% vs 11.0%, respectively) ( $p < .0001$ ). In the percentage distribution of 25 (OH) D values between women with and without breast cancer, it was observed that breast cancer patients had a higher occurrence of insufficient 25(OH)D values (20-29 ng/mL) and deficient values ( $<20$  ng/mL) (55.6% vs 49.3%,  $p = 0.039$  and 26.2% vs 20.3%,  $p = 0.018$ , respectively). In the risk analysis adjusted for age, menopausal time and BMI, women with breast cancer had a 1.5-fold higher risk for the occurrence of hypovitaminosis D (OR = 1.52, 95% CI 1.04-2.22,  $p = 0.029$ ) when compared to women without cancer.

**Conclusion:** Postmenopausal women with a recent diagnosis of breast cancer presented a higher risk for hypovitaminosis D, associated with greater occurrence of obesity when compared to women in the same age group without breast cancer.

## **1. Introdução**

### **1.1. Câncer de Mama**

O câncer de mama é o tipo de câncer que mais acomete as mulheres em todo o mundo, tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos. Cerca de 1,67 milhões de casos novos dessa neoplasia foram esperados para o ano de 2016, o que representa 25% de todos os tipos de câncer diagnosticados em mulheres. É a principal causa mundial de morte por câncer em mulheres, com cerca de 520 mil mortes estimadas por ano.<sup>1</sup> O Instituto Nacional de Câncer (INCA) estimou para o biênio 2016-2017, que sejam diagnosticados 57.960 casos novos de câncer de mama no Brasil, com um risco estimado de 56,20 casos a cada 100 mil mulheres. Excetuando-se o câncer de pele não melanoma, o câncer de mama corresponde a 28,1% dos casos de câncer em mulheres.<sup>2</sup>

Os fatores de risco relacionados à vida reprodutiva da mulher (menarca precoce, menopausa tardia, nuliparidade, idade da primeira gestação acima dos 30 anos), antecedentes familiares, uso de anticoncepcionais orais e de TH estão estabelecidos em relação ao desenvolvimento do câncer de mama.<sup>1</sup> Contudo, a idade é o principal fator de risco para o câncer de mama. As taxas de incidência aumentam rapidamente próximo aos 50 anos, e posteriormente, ocorrem de forma mais lenta. Essa mudança no comportamento da taxa é atribuída ao início da menopausa. De fato, cerca de 70% dos casos ocorrem em mulheres acima dos 50 anos.<sup>2</sup>

A prevenção primária dessa neoplasia não é possível devido à variação dos fatores de risco e às características genéticas que estão envolvidas na sua etiologia. Até o momento, a mamografia, para mulheres com idade entre 40 e 69 anos, é

recomendada como método efetivo de rastreamento para detecção precoce constituindo o método ideal para identificação de lesões subclínicas.<sup>1, 3</sup> O prognóstico das pacientes com câncer de mama é diretamente relacionado ao estágio da doença no momento do diagnóstico. A sobrevida em cinco anos de pacientes com estágio I é de 98% e estágio IV de 16%.<sup>1</sup> O diagnóstico precoce do câncer de mama é fundamental para que ocorra uma redução da mortalidade pela doença. No Brasil, o rastreamento mamográfico para mulheres de 50 a 69 anos é a estratégia recomendada para controle do câncer de mama.<sup>2</sup>

Apesar de ser considerado um câncer relativamente de bom prognóstico se diagnosticado e tratado oportunamente, as taxas de mortalidade por câncer de mama continuam elevadas no Brasil, muito provavelmente pelo diagnóstico em estágios avançados.<sup>2</sup> Na população mundial, a sobrevida média após cinco anos da doença é de 61%, sendo que nos países em desenvolvimento é de 57% e nos países desenvolvidos essa sobrevida aumenta para 78%. De acordo com dados de 2016, da *American Cancer Society* (ACS), a taxa de sobrevida em 5, 10 e 15 anos para o câncer de mama são 89%, 83%, e 78%, respectivamente.<sup>1</sup> Entre 2003 a 2012, o rastreamento mamográfico populacional nos Estados Unidos proporcionou uma redução na taxa de mortalidade de câncer de mama de 1,9% por ano em mulheres brancas e de 1,4% ao ano em mulheres negras,<sup>1</sup> sendo que a taxa de mortalidade por câncer de mama em geral diminuiu 36% de 1989-2012, devido a melhorias na detecção precoce e tratamentos mais eficazes para a doença.<sup>4</sup> Em relação ao câncer de mama na América do Sul e Central, o estudo CONCORD-2 (*Cancer survival in five continents: a worldwide population-based study*) encontrou aumento nas taxas de sobrevida câncer-específica entre 1995-1999 e 2005-2009, principalmente no Brasil, de 78% para 87%,

respectivamente.<sup>5</sup> Em relação à sobrevida global em 10 anos no Brasil, apenas dois estudos avaliaram informações coletadas em registros de base populacional, ambos evidenciando sobrevida global de 41,5% entre 1998 e 2000 e de 57,8% entre 1995 e 2003.<sup>6</sup> Estes dados, mesmo escassos, diferem consideravelmente em relação a países desenvolvidos possivelmente em decorrência da ausência de um programa eficaz de rastreamento populacional e por uma cobertura mamográfica inadequada no Brasil.

## **1.2. Vitamina D**

A vitamina D (VD) é uma vitamina lipossolúvel, essencial para manutenção do esqueleto e para absorção de cálcio. Se proveniente da síntese em animais, é denominada de colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>). É adquirida pela dieta através da ingestão de alimentos ricos em óleo de peixe, fígado e ovos. Entretanto, a maior fonte decorre da ativação na pele (derme e epiderme). A partir da exposição aos raios UVB ocorre a ativação na pele (derme e epiderme), do composto 7-deidrocolesterol que se transforma em vitamina D<sub>3</sub>, sendo armazenada e liberada pelas células de gordura.<sup>7</sup> Essa forma, cuja ativação não é metabólica, necessita das funções hepáticas e renais preservadas. É transportada pela corrente sanguínea até o fígado, onde sofre uma hidroxilação no carbono 25, pelo citocromo P450 R21, tornando-se 25 hidroxivitamina D [25(OH)D] ou calcidiol, forma inativa da VD. Para se tornar ativa, a 25(OH)D necessita ainda de uma hidroxilação na posição 1, pelo citocromo P450 27B1, nos túbulos proximais dos rins, sob a ação da enzima 1 $\alpha$ -hidroxilase, transformando-se em 1,25-diidroxivitamina D [1,25(OH)<sub>2</sub>D] ou calcitriol, que é responsável pelos efeitos biológicos.<sup>9-10</sup> A 1,25(OH)<sub>2</sub>D, produzida no rim, é secretada na circulação sanguínea, ligada à proteína de ligação à vitamina D (VDBP) e, em seguida, transportada para

órgãos-alvo, onde induz respostas genômicas e não-genômicas através da interação com o receptor de vitamina D (VDR). Muitas células e tecidos expressam o citocromo P450 27B1 assim como VDR, o que implica que a conversão local de 25(OH)D para 1,25(OH)2D, a forma ativa, possa ocorrer em vários tecidos.<sup>9</sup>

O nome 'vitamina D' é um equívoco histórico. A forma ativa, o calcitriol, pode ser considerada um hormônio, pois é sintetizado em humanos, e submetido a regulação autócrina e interage com receptor nuclear. A VD tem importante e reconhecido papel na mineralização óssea, na concentração de cálcio/fósforo e na regulação da paratireoide.<sup>7</sup> A forma ativa da VD regula a transcrição de número expressivo de genes que codificam proteínas transportadoras de cálcio e proteínas da matriz óssea. A VD também modula a transcrição de células do ciclo protéico que diminuem a proliferação celular e aumentam sua diferenciação (precursores de osteoclastos, enterócitos e queratinócitos). Essa propriedade pode explicar a ação da VD na reabsorção óssea, no transporte intestinal de cálcio e na pele.<sup>7</sup>

Atualmente, a dosagem de 25(OH)D é adequada para se avaliar e monitorizar o status nutricional de VD no organismo humano, pois os valores plasmáticos são os principais indicadores das reservas corporais.<sup>9,10</sup> Em diretriz clínica da *Task Force* Norte-Americana, a insuficiência de VD foi definida como valores entre 21–29 ng/mL (52,5–72,5 nmol/L) e a deficiência de VD como valores inferiores a 20 ng/ml (50 nmol/L).<sup>9</sup> Número crescente de estudos sugere que são necessários valores acima de 30ng/mL para garantir melhor disponibilidade de VD.<sup>10-12</sup> Caracterizam-se como hipovitaminose D concentrações plasmáticas de 25(OH)D abaixo do limiar de 30ng/mL, ou seja, do limiar considerado suficiente para manutenção da secreção normal de paratormônio (PTH) pelas paratireoides.<sup>13</sup> Na insuficiência de VD evidencia-se

elevação do PTH circulante, traduzindo um hiperparatireoidismo secundário, com redução da fração ativa de 1,25(OH)<sub>2</sub>D, que aumenta a reabsorção óssea.<sup>10,14</sup> A suplementação diária de VD é capaz de reverter esse quadro de hiperparatireoidismo e impedir a perda óssea em mulheres com idade superior a 50 anos.<sup>15</sup> A deficiência da VD pode ser confirmada pela aferição dos níveis séricos de 25(OH)D. Por outro lado, as concentrações de 1,25(OH)<sub>2</sub>D estão usualmente dentro dos valores normais de referência ou mesmo aumentada em pacientes deficientes/insuficientes, razão pela qual não são utilizadas como referência na prática clínica diária.<sup>10,14</sup>

Reconhece-se que a deficiência de VD é condição médica frequente em todo mundo.<sup>16</sup> Mesmo moradores de regiões próximas à linha do equador, com alta incidência de sol, apresentam valores inadequados de VD. Estudo epidemiológico em 18 países de latitudes variadas, avaliando a prevalência de concentrações plasmáticas de 25(OH)D em mulheres na pós-menopausa, observou valores baixos em quase todo o planeta, sendo que em média 64% das participantes apresentavam valores inadequados.<sup>17</sup> Imaginava-se que o Brasil, por ser um país tropical e ensolarado, não apresentasse população exposta à deficiência de VD. No entanto, pesquisas brasileiras têm revelado números alarmantes.<sup>18-20</sup> O estado de hipovitaminose D é comumente encontrado em mulheres na pós-menopausa. Entre as prováveis causas descrevem-se: baixa exposição solar e capacidade reduzida de produção de VD; função renal diminuída; menor absorção de VD pelo trato gastrointestinal; e uso de múltiplas drogas que podem interferir na absorção e metabolização da VD. Outros fatores também influenciam a capacidade de produção de VD pela pele: uso de filtro solar, cor da pele, roupa e idade.<sup>21</sup>

Sabendo-se que as fontes dietéticas de VD são inadequadas, é interessante que mulheres na pós-menopausa recebam suplementação para garantir a saúde óssea.<sup>14</sup> Em 2010, a *International Osteoporosis Foundation* (IOF) publicou posicionamento sobre a VD, com base em dados observacionais, recomendando manutenção de valores séricos de 25(OH)D de 30ng/mL para pessoas idosas e afirmando que o consumo de VD de até 2000UI/dia pode ser necessário para atingir valor recomendável em alguns pacientes.<sup>11</sup> Em contraste, o *Institute of Medicine* baseado em evidências a partir de estudos observacionais e randomizados sugere que nível sérico de 20 ng/mL protegeria 97,5% da população contra efeitos adversos na massa óssea, tais como fraturas e quedas.<sup>22</sup> Contudo permanece incerta a dose apropriada de suplementação para atingir os valores desejados, embora se recomende dose de 600UI/dia para mulheres na pós-menopausa e doses superiores a 800UI/dia para aquelas com idade superior a 70 anos.<sup>22</sup> A suplementação diária de 1000UI de VD (dentro de um período mínimo de seis meses) aumenta os valores séricos em torno de 10ng/mL, dose esta sugerida para pacientes com idade inferior a 65 anos. Já com idade superior deveriam receber dose diária de 2000UI.<sup>23</sup> Em geral, para cada 100UI de VD suplementada há aumento de 1 ng/mL a nível sérico de 25(OH)D e quanto menores os valores séricos basais, melhor a resposta à suplementação. A suplementação destina-se a elevar valores séricos de 25(OH)D acima de 30ng/mL de modo a aproveitar ao máximo os benefícios da VD.<sup>24</sup>

A relevante função desempenhada pela VD sobre a massa óssea está bem definida, contudo efeitos extra-ósseos da VD estão sob investigação atual. A forma ativa da VD regula a transcrição de número expressivo de genes que codificam proteínas transportadoras de cálcio e proteínas da matriz óssea e está envolvida em

processos biológicos, incluindo o metabolismo ósseo, a modulação da resposta imune, e a regulação da proliferação e da diferenciação celular.<sup>25</sup> A VD também modula a transcrição de células do ciclo protéico que diminuem a proliferação celular e aumentam sua diferenciação (precursores de osteoclastos, enterócitos e queratinócitos). Essa propriedade pode explicar a ação da VD na reabsorção óssea, no transporte intestinal de cálcio e na pele.<sup>26</sup>

### **1.3. Vitamina D e o Câncer de mama**

A VD parece desempenhar papel no desenvolvimento do câncer, atuando através da ligação ao VDR, que é expresso no tecido mamário.<sup>27</sup> O VDR foi identificado pela primeira vez em linhagem de células do câncer de mama em 1979.<sup>28</sup> A ação do metabólito ativo da VD na mama é mediada pelo seu receptor. A ativação do VDR pela 1,25(OH)2D resulta em heterodimerização com o receptor de retinóide X e ligação a elementos de resposta cognatos de VD em genes alvos que participam na diferenciação celular, crescimento celular, apoptose, inflamação e modulação imune.<sup>29-31</sup> O ligante VD-VDR exibe atividade antiproliferativa em muitos tipos de tumor, assim como os membros da família p53 ativada, através da indução do bloqueio do ciclo celular, da senescência, da diferenciação e de apoptose.<sup>32</sup> Evidências suportam ligação cruzada entre as vias da VD e da sinalização p53. Todos os três membros da família p53 - p53, p63, p73 - participam da ativação do gene VDR,<sup>32-34</sup> enquanto o VDR regula vários genes que também são alvos das proteínas da família p53, incluindo p21, Bax, Bcl-2 e MDM2.<sup>32,35</sup> Alguns estudos têm demonstrado redução na expressão do VDR em células de câncer de mama em comparação a células normais da mama, devido a polimorfismos do gene do VDR.<sup>36-38</sup> No câncer de mama a

expressão do VDR varia de 58% a 80%, com relatos de pacientes portadoras de tumores VDR positivos apresentarem maior sobrevida livre de doença.<sup>27</sup>

Estudos experimentais têm indicado que a VD pode reduzir o risco de câncer por inibir a proliferação celular, induzir a diferenciação e a apoptose, e inibir a angiogênese na mama normal e no câncer.<sup>39-42</sup> A VD parece exercer efeito antiproliferativo em linhagens de câncer de mama, mediado pela regulação da expressão de moléculas que controlam a progressão do ciclo celular.<sup>43,44</sup> As células cancerosas sofrem alterações fisiológicas, que diminuem a sua susceptibilidade à VD. As células malignas têm níveis intracelulares diminuídos de 1 $\alpha$ -hidroxilase (enzima ativadora codificada pelo CYP27B1) em comparação com as células normais, o que diminui a produção intracelular de VD. Além disso, há uma maior degradação da VD nas células tumorais, causando resistência aos efeitos antitumorais da vitamina D.<sup>45</sup>

Estudos experimentais com camundongos *knockout* VDR, observaram elevada taxa de incidência de lesões mamárias pré-neoplásicas induzidas por carcinógenos.<sup>46,47</sup> Estes estudos demonstraram a importância da deficiência de VDR na sensibilização da glândula mamária para transformação em resposta a um agente carcinogênico. Estudos imunohistoquímicos confirmaram que o VDR está expresso em amostras de tecidos normais da mama<sup>48</sup> e também em amostras de câncer de mama.<sup>49,50</sup> Lopes *et al.*<sup>36</sup> estudaram a expressão do VDR por imunohistoquímica em uma coorte de mama normal, lesões mamárias benignas, carcinomas *in situ* e carcinoma invasivo de mama. Os resultados obtidos mostram que o VDR foi expresso nos vários tecidos mamários, porém em quantidades diferentes, sendo mais frequente em lesões benignas (93,5%) com os seus níveis de expressão diminuindo em tumores invasivos (56,2%). Os autores concluem que há desregulação da sinalização da VD e de suas vias metabólicas no

câncer de mama, que poderia favorecer a progressão do tumor. Assim, durante a transformação maligna da mama, células tumorais perderiam a capacidade de sintetizar a forma ativa da VD e de responder aos efeitos da VD mediado pelo VDR.<sup>36</sup>

Em 2014, LaPorta & Welsh<sup>51</sup> caracterizaram as ações moleculares do VDR em modelo de câncer de mama triplo negativo. Linhagem de células tumorais estrogênio independente, estabelecidas a partir de ratos do tipo selvagem e *knockout* VDR foram utilizados para demonstrar que o VDR é necessário para mediar a ação anticancerígena da 1,25(OH)2D, *in vitro* e para identificar novos alvos deste receptor. Semelhantemente a tumores da mama triplos negativos, as linhagens de células empregadas falharam em expressar os receptores de estrogênio, progesterona e HER-2. Os autores demonstraram que a 1,25(OH)2D exerce efeito anti-proliferativo (inibição do crescimento celular) no tumor triplo negativo apenas nas células que expressam VDR.<sup>51</sup> Recente estudo, avaliando a expressão de VDR em tecido tumoral da mama em 1.114 pacientes, observou em 58% dos tumores de mama expressão de VDR de moderada a forte. A expressão de VDR foi inversamente relacionada com características agressivas do tumor, incluindo grande tamanho do tumor, negatividade de receptor hormonal e subtipo triplo negativo.<sup>50</sup>

Estudos não controlados têm relatado elevada frequência de hipovitaminose D em pacientes com câncer de mama.<sup>52-54</sup> Crew *et al.*<sup>53</sup> identificaram que 74% das pacientes com câncer de mama apresentavam deficiência de VD (<20 ng/ml) e que apesar da prescrição de 400UI/dia de VD, poucas pacientes (<15%) atingiram valores desejáveis de VD (>30 ng/mL).<sup>53</sup> Em estudo retrospectivo com avaliação de 500 mulheres recém-diagnosticadas com câncer de mama, 69% eram deficientes para VD.<sup>54</sup> Entretanto, os resultados de estudos epidemiológicos que examinaram a

associação entre valores circulantes de 25(OH)D e o risco de câncer têm sido inconsistentes. Alguns estudos prospectivos não demonstraram associação,<sup>55-61</sup> enquanto outros encontraram associação inversa significativa.<sup>62-65</sup>

Scarmo *et al.*<sup>31</sup> conduziram estudo caso-controle com duas coortes prospectivas, *New York University Women's Health Study*, que envolveu 14.274 mulheres saudáveis (34 a 65 anos idade) de uma clínica de mamografia da cidade de Nova York e *Northern Sweden Mammary Screening Cohort* com 28.800 participantes de um programa de rastreamento do câncer de mama na Suécia. Foram incluídos 1585 casos novos de câncer de mama para 2940 controles. Não houve associação entre os níveis circulantes de 25(OH)D e risco global do câncer de mama.<sup>31</sup> Por outro lado, no *Nurses' Health Study* foi demonstrado efeito protetor mais significativo da VD no risco de câncer de mama em mulheres acima dos 60 anos,<sup>62</sup> enquanto o estudo de coorte francês E3N demonstrou efeito mais forte em mulheres abaixo dos 53 anos de idade.<sup>37</sup> Os investigadores sugeriram que a VD pode atuar inibindo o fator de crescimento *insulino-like* (IGF-1), que tem ação proliferativa e diminui com a idade; assim seria esperado um efeito anti-carcinogênico mais forte da VD em mulheres na pré-menopausa.<sup>37</sup> Entretanto, alguns estudos que encontraram associação entre valores reduzidos de 25(OH)D com a maior incidência do câncer de mama,<sup>66,67</sup> obtiveram as dosagens de VD em algum intervalo após o diagnóstico de câncer de mama, com potenciais alterações pelo tratamento do câncer. Por exemplo, mulheres com menor atividade física têm menores valores de 25(OH)D, e reconhecidamente a atividade física é reduzida após o diagnóstico de câncer de mama.<sup>68</sup>

Kawase *et al* realizaram pesquisa sobre a associação entre ingestão de VD e cálcio e o risco de câncer de mama em mulheres japonesas na pré e pós-menopausa.

Foram incluídos 1.803 casos e 3606 controles pareados pela idade e status menopausal. Na análise estratificada, uma associação inversa significativa foi observada somente entre mulheres na pré-menopausa.<sup>69</sup> Por outro lado, mulheres participantes do estudo *Women's Health Initiative* (WHI) foram randomizadas a receber 1000mg de cálcio associados a 400UI de VD ao dia ou placebo, durante sete anos, sendo que valores de 25(OH)D foram avaliados em estudo caso-controle com 1.067 casos e 1.067 controles. Nenhum efeito da suplementação sobre o risco de câncer de mama foi observado.<sup>70</sup> Uma metanálise examinou os efeitos da suplementação de VD sobre o risco de câncer de mama, sendo incluídos 11 estudos. Foi observada relação inversa significativa entre a ingestão de VD e o risco de câncer de mama, com risco relativo (RR) de 0,91 (IC 95% = 0,85-0,97). Estes resultados indicam evidência de que a VD poderia ter efeito quimiopreventivo contra o câncer de mama.<sup>71</sup> Com base nessas descobertas, alguns autores têm sugerido o monitoramento de rotina dos valores de 25(OH)D e a suplementação para os casos de hipovitaminose D.<sup>53,72</sup> Contudo, as evidências são insuficientes para recomendar a suplementação de VD na prevenção do câncer de mama, e que mais pesquisas clínicas são necessárias.<sup>73-</sup>  
<sup>75</sup> O relatório do *Institute of Medicine* norte americano concluiu que as provas são inconsistentes e inconclusivas quanto à causalidade, e insuficientes e limitadas, não conclusivas.<sup>76</sup>

A concentração de VD poderia ser considerada um fator prognóstico em pacientes com câncer de mama.<sup>77,78</sup> Um estudo observou que mulheres com valores deficientes de VD apresentaram maior risco de recorrência e morte quando comparadas às mulheres com valores adequados.<sup>79</sup> Estudo de revisão sistemática avaliou o papel da VD sobre o prognóstico em pacientes com câncer. Entre janeiro de

2009 e setembro de 2013, seis estudos investigaram as associações dos níveis de 25(OH)D com a sobrevida global em pacientes com câncer de mama.<sup>80</sup> As concentrações de 25(OH)D circulantes elevadas foram associadas com significativa melhora na sobrevida em dois estudos,<sup>65,81</sup> com tendência a melhor sobrevida em outros dois<sup>79,82</sup> e nenhuma associação nos últimos dois.<sup>83,84</sup> Esta revisão destaca a necessidade de mais estudos avaliando o papel da VD no prognóstico entre pacientes com câncer.<sup>80</sup> Outra meta-análise foi realizada a partir de cinco estudos que avaliaram a relação entre a VD e a mortalidade pelo câncer de mama. Valores plasmáticos elevados de 25(OH)D estiveram associados com menores taxas de mortalidade após o diagnóstico de câncer de mama. Pacientes no quartil mais alto de 25(OH)D tiveram aproximadamente metade da taxa de mortalidade por câncer de mama quando comparadas àquelas no menor quartil. Os autores sugerem que valores de 25(OH)D deveriam ser restaurados ao seu valor normal (30-80 ng/mL) em todas as pacientes com câncer de mama. Entretanto mais estudos clínicos devem ser iniciados para confirmar esta associação.<sup>85</sup>

#### **1.4. Justificativa e Hipótese**

A concentração de VD poderia ser considerada fator prognóstico em pacientes com câncer de mama. Entretanto, os estudos são inconclusivos e insuficientes quanto à causalidade entre a hipovitaminose D e câncer de mama e que mais pesquisas clínicas são necessárias. Nossa hipótese é que mulheres na pós-menopausa com câncer de mama apresentam maior ocorrência de hipovitaminose D quando comparadas a mulheres sem câncer de mama. E que a suplementação da vitamina D seria importante no seguimento de mulheres tratadas de câncer de mama.

## **2. Objetivo**

Avaliar a prevalência e os fatores de risco para deficiência de vitamina D em mulheres na pós-menopausa no diagnóstico do câncer de mama comparadas a mulheres na pós-menopausa sem câncer de mama

### 3. Métodos

#### *Desenho do estudo e Seleção da Amostra*

Trata-se de estudo clínico de corte transversal. O grupo populacional foi constituído de pacientes atendidas no Centro de Avaliação em Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), entre 2015 e 2016. O cálculo do tamanho amostral foi realizado pelo escritório de Apoio à Pesquisa (EAP) da FMB e foi embasado no estudo de Neuhouser *et al.*<sup>52</sup> que encontraram deficiência de VD em 75,6% de mulheres com câncer de mama e no estudo de Lips *et al.*<sup>17</sup> que observaram deficiência de VD em 64% de mulheres na pós-menopausa. Considerando essa diferença de frequência, com 5% de margem de erro, 95% de confiabilidade e poder do teste de 80%, foi estimada a necessidade de avaliar, no mínimo, 205 pacientes com câncer de mama. Foram incluídas mulheres com diagnóstico recente de câncer de mama, com data da última menstruação há pelo menos 12 meses e idade  $\geq 45$  anos. O grupo controle foi constituído de mulheres com data da última menstruação há pelo menos 12 meses e idade  $\geq 45$  anos, sem câncer de mama, pareadas pela idade e tempo de menopausa, na proporção de um caso para dois controles (1:2), a partir de um banco de dados. De ambos os grupos foram excluídas mulheres: usuárias de doses farmacológicas de VD; presença de hiperparatireoidismo; insuficiência renal ou creatinina  $> 1,2\text{mg/dl}$ ; hepatopatias; etilistas e/ou drogaditas. Assim, foram incluídas no estudo 209 mulheres tratadas de câncer de mama e 418 mulheres na pós-menopausa (controle). Todas as voluntárias participantes do estudo foram informadas sobre os objetivos da pesquisa, procedimentos e confidencialidade dos dados, sem quaisquer prejuízos para as

mesmas. Foram solicitadas a assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo I), de acordo com exigência da resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FMB-UNESP em 30 de novembro de 2014 (Anexo II).

### *Coleta de dados clínicos*

Inicialmente, no momento do diagnóstico do câncer de mama, foram coletados, por meio de entrevista, os seguintes dados clínicos: idade, idade da menopausa, tempo de menopausa, paridade, tabagismo atual, uso prévio de terapia hormonal e histórico de doenças crônicas. Foram definidas como tabagistas as pacientes com o hábito de fumar diariamente, não importando o número de cigarros fumados. Foram obtidos os seguintes dados para avaliação antropométrica: peso, altura e índice de massa corpórea ( $IMC = \text{peso} / \text{altura}^2$ ). Para mensuração do peso, foi utilizada balança antropométrica eletrônica microdigital tipo plataforma (Filizola®, Brasil), com capacidade de 150 kg com precisão 0,1 Kg e 0,5 cm (peso e estatura), com a paciente descalça e com o mínimo de roupa. Para medir a estatura, a paciente permaneceu com os braços ao longo do corpo ereto, mantendo os olhos fixos em plano horizontal paralelo ao chão, medida por haste vertical com graduação de 0,5 cm, acoplada à balança. Foram empregados os critérios da *World Health Organization* (WHO) de 2002 para classificação das pacientes, conforme o IMC: menor que 18,5 kg/m<sup>2</sup> como baixo peso, de 18,5 a 24,9 kg/m<sup>2</sup> normal, de 25 a 29,9 kg/m<sup>2</sup> sobrepeso, de 30 a 34,9 kg/m<sup>2</sup> obesidade grau I, de 35 a 39,9 kg/m<sup>2</sup> obesidade grau II e maior ou igual a 40 kg/m<sup>2</sup> obesidade grau III.<sup>86</sup>

### *Análise da vitamina D*

A avaliação sérica de 25(OH)D foi realizada imediatamente após o diagnóstico do câncer de mama antes do tratamento proposto, no máximo 7 dias pós-diagnóstico. Para a dosagem sérica de 25(OH)D foi empregado o método da quimiluminescência automatizada por micropartículas (*Chemiluminescent Microparticle Immunoassay*, CMIA) com *Architect 25-OH Vitamin D assay Kit*, pelo analisador Architect® i2000 (Abbott®, Santa Clara, California, USA). A sensibilidade analítica é de 1,9 ng/mL e o coeficiente de variação intra e inter-ensaio é < 10%, segundo descrição do Kit. O intervalo de referência é de 0.0-160.0 ng/mL, segundo o método. Foram considerados suficientes valores de 25(OH)D  $\geq$  30 ng/mL, insuficiência de 21 a 29 ng/mL e deficiência < 20 ng/mL.<sup>10</sup> Todos os exames foram processados pelo Laboratório de Análises Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu

### *Anatomopatológico e Imunohistoquímica*

A partir dos relatórios dos prontuários das pacientes, foram obtidos: o diagnóstico histopatológico do câncer de mama, grau, estágio do tumor, status de receptor hormonal (receptor de estrogênio, RE; receptor de progesterona, RP; receptor do fator de crescimento epidérmico humano-2, HER2) e a atividade proliferativa epitelial (Ki67). O envolvimento linfonodal foi avaliado após a cirurgia ou pela avaliação do linfonodo sentinela. Os tumores foram classificados de acordo com a classificação da *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*, dividindo o estadiamento do câncer de mama em três categorias: 1- câncer de mama invasivo localizado (estágio I, II e T3 N1 M0, considerado câncer de mama localmente avançado

operável); 2- câncer de mama invasivo localmente avançado inoperável (estágio III, Exceto T3 N1 M0); 3-doença metastática (estágio IV).<sup>87</sup> O diâmetro do tumor foi obtido a partir dos laudos histopatológicos e, graduados histologicamente em grau I (bem diferenciado), II (moderadamente diferenciado) e III (indiferenciado), de acordo com o método proposto por Elston & Ellis<sup>88</sup>, que utiliza como critérios os aspectos arquiteturais, o grau de diferenciação nuclear e o índice mitótico.

A definição do perfil imuno-histoquímico dos tumores foi realizada a partir dos resultados de laudos emitidos pelo Serviço de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu, baseando-se na avaliação dos RE e RP, de HER2 e índice de proliferação celular Ki67. Os cânceres de mama foram categorizados em quatro subtipos moleculares com base em perfis de imuno-histoquímica em: 1-Luminal A: RE positivo, RP positivo com expressão >20%, HER-2 negativo; 2- Luminal B: RE positivo, RP positivo com expressão < 20% ou negativo, HER-2 positivo; 3- Não-luminal HER-2:RE e RP negativos e HER-2 positivo; 4- Triplo-negativo: RE, RP e HER-2 negativos.<sup>89</sup> O perfil de RE, RP, HER e Ki67 foram determinados pela técnica de imunohistoquímica (IQ) utilizando blocos de tecido, segundo recomendação dos Kits empregados (DakoCytomation®, Glostrup, Denmark).

#### *Análise Estatística*

Os resultados observados foram anotados em protocolos específicos e armazenados em banco de dados desenvolvido em planilha do software Microsoft Excel for Windows devidamente adaptado para análise estatística. A partir dos dados foram construídas tabelas das variáveis clínicas e dos parâmetros avaliados segundo

grupo de mulheres na pós-menopausa com câncer de mama e sem câncer de mama (controle). Para análise dos dados foram calculados média e desvio-padrão, para variáveis quantitativas, e frequência e porcentagem, para variáveis qualitativas. Para comparação entre os grupos em relação às características quantitativas foram empregados o Teste *t-student* e a distribuição Gama (variáveis assimétricas). Na associação entre a frequência das características categóricas foi empregado o Teste do Qui-quadrado. Foi calculada estimativa de risco pelo odds ratio (OR), considerando-se intervalo de confiança (IC) de 95%, por regressão logística binária, para examinar a associação entre os valores séricos de VD (variável dependente ou resposta) e o câncer de mama (variável independente ou explanatória), sendo ajustada para idade, tempo de menopausa e IMC (variáveis confundidoras). Em todos os testes foi adotado o nível de significância de 5% ou o p-valor correspondente. As análises foram realizadas utilizando-se o programa *Statistical Analyses System (SAS)*, versão 9.2, pelo Escritório de Apoio à Pesquisa (EAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu que deu o atendimento metodológico e conduziu os procedimentos estatísticos.

## **4. Publicação**

### **4.1. Artigo Original**

#### **Deficiência de Vitamina D em mulheres na Pós-Menopausa no Diagnóstico de Câncer de Mama: Prevalência e Fatores de Risco**

*Prevalence and Predictors of Low Pretreatment Serum Concentration of Vitamin D  
at breast cancer diagnosis in postmenopausal women*

*Machado MRM, Almeida-Filho B, Schincariol CYN, Vespoli HML,  
Nahas-Neto J, Nahas EAP*

## Resumo

**Objetivo:** Avaliar a ocorrência e os fatores de risco para deficiência de vitamina D em mulheres na pós-menopausa no diagnóstico do câncer de mama comparado a mulheres na pós-menopausa sem câncer de mama

**Métodos:** Realizou-se estudo clínico de corte transversal com 209 mulheres com câncer de mama comparadas a 418 mulheres (controle), com idade entre 45-75 anos. Foram incluídas mulheres com amenorréia > 12 meses e idade  $\geq$  45 anos, com diagnóstico histológico recente de câncer de mama, sem uso de medicações ou condições clínicas que interfiram nos valores de vitamina D. O grupo controle foi constituído por mulheres com amenorréia > 12 meses, idade  $\geq$  45 anos e sem câncer de mama. Os grupos foram pareados por idade e tempo de menopausa na proporção 1 caso para 2 controles. Dados clínicos e antropométricos foram coletados por meio de entrevista. Foi solicitada dosagem sérica de 25 hidroxivitamina D [25(OH)D], até 7 dias após o diagnóstico do câncer de mama, antes do tratamento proposto, sendo considerados valores suficientes  $\geq$  30ng/mL. Para análise estatística foram empregados: Teste *t-student*, Distribuição Gama (variáveis assimétricas), Teste do Qui-Quadrado e Regressão Logística (*odds ratio* - OR).

**Resultados:** A média de idade das pacientes com câncer de mama foi de  $60.7 \pm 10.4$  anos e sem câncer de  $60.2 \pm 9.10$  anos ( $p=0.506$ ). As pacientes com câncer de mama apresentaram maior valor médio de índice de massa corpórea (IMC), com maior percentual de obesidade quando comparado ao controle (57.4% vs 40.2%, respectivamente) ( $p<.0001$ ). Na distribuição percentual dos valores de 25(OH)D entre mulheres com e sem câncer de mama foi observado que as pacientes com câncer de

mama apresentaram maior ocorrência de valores de 25(OH)D insuficientes (20-29 ng/mL) e deficientes (<20 ng/mL) quando comparadas às pacientes do grupo controle (55.6% vs 49.3%,  $p=0.039$  e 26.2% vs 20.3%,  $p=0.018$ , respectivamente). Na análise de risco ajustado para idade, tempo de menopausa e IMC, as mulheres com câncer de mama apresentaram 1.5 vezes maior risco para ocorrência de hipovitaminose D (OR=1.52; IC 95% 1.04-2.22,  $p=0.029$ ) quando comparadas às mulheres sem câncer.

**Conclusão:** Mulheres na pós-menopausa com diagnóstico recente de câncer de mama apresentaram maior risco para hipovitaminose D, associado à maior ocorrência de obesidade quando comparadas a mulheres na mesma faixa etária sem câncer.

**Palavras-Chaves:** Câncer de mama; Menopausa; Vitamina D; Obesidade.

## **Abstract**

**Objective:** To evaluate the occurrence and risk factors for vitamin D deficiency in postmenopausal women in the diagnosis of breast cancer compared to postmenopausal women without breast cancer

**Methods:** In this cross-sectional study, 209 women with breast cancer were compared with 418 women (control), aged 45-75 years attending University Hospital. Women with recent diagnosis of breast cancer, in amenorrhea > 12 months and age  $\geq$  45 years, without medication use or clinical conditions that interfere with vitamin D values were included. The control group consisted of women with amenorrhea > 12 months, age  $\geq$ 45 years, without breast cancer. The groups were matched by age and time since menopause in the proportion 1 case for 2 controls. Clinical and anthropometric data were collected through an interview. Serum level of 25 hydroxyvitamin D [25(OH)D] was measured in all patients, 20 to 30 days after breast cancer diagnosis, prior to the proposed treatment, and was considered sufficient values  $\geq$  30 ng/mL. For statistical analysis, the t-student test, the Gamma Distribution (asymmetric variables), the chi-square test, and the logistic regression (OR-odds ratio) were used.

**Results:** The mean age of breast cancer patients was  $60.7 \pm 10.4$  years and no cancer was  $60.2 \pm 9.10$  years ( $p = 0.506$ ). The breast cancer patients presented higher values of body mass index (BMI), with a higher percentage of obesity when compared to control group (57.4% vs 40.2%, respectively) ( $p < .0001$ ). In the percentage distribution of 25 (OH) D values between women with and without breast cancer, it was observed that breast cancer patients had a higher occurrence of insufficient 25(OH)D values (20-

29 ng/mL) and deficient values (<20 ng/mL) (55.6% vs 49.3%,  $p = 0.039$  and 26.2% vs 20.3%,  $p = 0.018$ , respectively). In the risk analysis adjusted for age, menopausal time and BMI, women with breast cancer had a 1.5-fold higher risk for the occurrence of hypovitaminosis D (OR = 1.52, 95% CI 1.04-2.22,  $p = 0.029$ ) when compared to women without cancer.

**Conclusion:** Postmenopausal women with a recent diagnosis of breast cancer presented a higher risk for hypovitaminosis D, associated with greater occurrence of obesity when compared to women in the same age group without breast cancer.

**Keywords:** Breast cancer; Menopause; D vitamin; Obesity.

## INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o tipo de câncer que mais acomete as mulheres em todo o mundo, tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos. Cerca de 1.67 milhões de casos novos dessa neoplasia foram esperados para o ano de 2016, o que representa 25% de todos os tipos de câncer diagnosticados em mulheres. É a principal causa mundial de morte por câncer em mulheres, com cerca de 520 mil mortes estimadas por ano.<sup>1</sup> Os fatores de risco relacionados à vida reprodutiva da mulher (menarca precoce, menopausa tardia, nuliparidade, idade da primeira gestação acima dos 30 anos), antecedentes familiares, obesidade e uso de terapia hormonal estão estabelecidos em relação ao desenvolvimento do câncer de mama.<sup>1,2</sup>

A concentração de vitamina D (VD) poderia ser considerada fator prognóstico em pacientes com câncer de mama.<sup>3</sup> A VD é uma vitamina lipossolúvel, essencial para manutenção do esqueleto e para absorção de cálcio. A maior fonte decorre da ativação na pele (derme e epiderme). A partir da exposição aos raios UVB, o composto 7-deidrocolesterol se transforma em VD<sub>3</sub>, sendo transportada até o fígado, onde sofre hidroxilação no carbono 25, tornando-se 25 hidroxivitamina D [25(OH)D]. Para se tornar ativa, a 25(OH)D necessita de hidroxilação na posição 1, nos túbulos proximais dos rins, sob a ação da enzima 1 $\alpha$ -hidroxilase, transformando-se em 1,25-diidroxivitamina D [1,25(OH)<sub>2</sub>D], responsável pelos efeitos biológicos<sup>4</sup>. A VD parece desempenhar papel no desenvolvimento do câncer, atuando através da ligação ao receptor de VD (VDR), que é expresso no tecido mamário.<sup>5,6</sup>

A ação do metabólito ativo da VD [1,25(OH)2D], na mama, é mediada pelo VDR, que controla a expressão de genes que regulam a proliferação celular, a diferenciação e a apoptose.<sup>7</sup> A VD pode reduzir o risco de câncer por inibir a proliferação celular, induzir a diferenciação e a apoptose, e inibir a angiogênese na mama normal e no câncer.<sup>8</sup> Vários estudos não controlados têm relatado elevada frequência de hipovitaminose D em pacientes com câncer de mama.<sup>9-14</sup> Uma meta-análise foi realizada a partir de cinco estudos avaliando a relação entre a VD e a mortalidade pelo de câncer de mama. Valores plasmáticos elevados de 25(OH)D estiveram associados com menores taxas de mortalidade após o diagnóstico de câncer de mama. Pacientes no quartil mais alto de 25(OH)D tiveram aproximadamente metade da taxa de mortalidade por câncer de mama quando comparadas aquelas no menor quartil, sugerindo que valores de 25(OH)D deveriam ser restaurados ao seu valor normal (30-80 ng/ml) em todas as pacientes com câncer de mama.<sup>15</sup> Entretanto, o relatório do *Institute of Medicine* Norte Americano concluiu que as provas são inconclusivas e insuficientes quanto à causalidade entre a hipovitaminose D e câncer de mama e que mais pesquisas clínicas são necessárias.<sup>4</sup>

Baseado nesses dados, o objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência e os fatores de risco para deficiência de vitamina D em mulheres na pós-menopausa no diagnóstico do câncer de mama comparado às mulheres na pós-menopausa sem câncer de mama

## **MÉTODOS**

### *Desenho do estudo e Seleção da Amostra*

Trata-se de estudo clínico de corte transversal. O grupo populacional foi constituído de pacientes atendidas no Centro de Avaliação em Mastologia da Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB) – UNESP, entre 2015 e 2016. O cálculo do tamanho amostral foi embasado no estudo de Neuhaus *et al.*<sup>9</sup> que encontraram deficiência de VD em 75,6% de mulheres com câncer de mama e no estudo de Lips *et al.*<sup>16</sup> que observaram deficiência de VD em 64% de mulheres na pós-menopausa. Considerando essa diferença de frequência, com 5% de margem de erro, 95% de confiabilidade e poder do teste de 80%, foi estimada a necessidade de avaliar, no mínimo, 205 pacientes com câncer de mama. Foram incluídas mulheres com diagnóstico recente de câncer de mama, com data da última menstruação há pelo menos 12 meses e idade  $\geq 45$  anos. O grupo controle foi constituído de mulheres com data última menstruação há pelo menos 12 meses e idade  $\geq 45$  anos, sem câncer de mama, pareadas pela idade e tempo de menopausa, na proporção de um caso para dois controles (1:2), a partir de um banco de dados. De ambos os grupos foram excluídas mulheres: usuárias de doses farmacológicas de VD; presença de hiperparatireoidismo; insuficiência renal ou creatinina  $>1,2$ mg/dl; hepatopatias; etilistas e/ou drogaditas. Assim, foram incluídas no estudo 209 mulheres tratadas de câncer de mama e 418 mulheres na pós-menopausa (controle). Todas as voluntárias participantes do estudo foram solicitadas a assinar um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP.

#### *Coleta de Dados clínicos*

Inicialmente, no momento do diagnóstico do câncer de mama, foram coletados por meio de entrevista os seguintes dados clínicos: idade, idade da menopausa, tempo de menopausa, paridade, tabagismo atual, uso prévio de terapia hormonal e histórico de doenças crônicas. Foram definidas como tabagistas as pacientes com o hábito de fumar diariamente, não importando o número de cigarros fumados. Foram obtidos os seguintes dados para avaliação antropométrica: peso, altura e índice de massa corpórea ( $IMC = \text{peso} / \text{altura}^2$ ). Foram empregados os critérios da *World Health Organization* (WHO) de 2002 para classificação das pacientes, conforme o IMC: menor que  $18,5 \text{ kg/m}^2$  como baixo peso, de  $18,5$  a  $24,9 \text{ kg/m}^2$  normal, de  $25$  a  $29,9 \text{ kg/m}^2$  sobrepeso, de  $30$  a  $34,9 \text{ kg/m}^2$  obesidade grau I, de  $35$  a  $39,9 \text{ kg/m}^2$  obesidade grau II e maior ou igual a  $40 \text{ kg/m}^2$  obesidade grau III.<sup>17</sup>

#### *Análise da vitamina D*

A avaliação sérica de 25(OH)D foi realizada imediatamente após o diagnóstico do câncer de mama antes do tratamento proposto, no máximo 7 dias pós-diagnóstico. Para a dosagem sérica de 25(OH)D foi empregado o método da quimiluminescência automatizada por micropartículas (*Chemiluminescent Microparticle Immunoassay*, CMIA) com *Architect 25-OH Vitamin D assay Kit*, pelo analisador Architect® i2000 (Abbott®, Santa Clara, California, USA). A sensibilidade analítica é de  $1,9 \text{ ng/mL}$  e o coeficiente de variação intra e inter-ensaio é  $< 10\%$ , segundo descrição do Kit. O intervalo de referência é de  $0.0$ - $160.0 \text{ ng/mL}$ , segundo o método. Foram considerados suficientes valores de 25(OH)D  $\geq 30 \text{ ng/mL}$ , insuficiência de  $21$  a  $29 \text{ ng/mL}$  e deficiência  $< 20 \text{ ng/mL}$ .<sup>18</sup>

### *Anatomopatológico e Imunohistoquímica*

A partir dos relatórios dos prontuários das pacientes, foram obtidos: o diagnóstico histopatológico do câncer de mama, grau, estágio do tumor, status de receptor hormonal (receptor de estrogênio, RE; receptor de progesterona, RP; receptor do fator de crescimento epidérmico humano-2, HER2) e a atividade proliferativa epitelial (Ki67). O envolvimento linfonodal foi avaliado após a cirurgia ou pela avaliação do linfonodo sentinela. Os tumores foram classificados de acordo com a classificação da *National Comprehensive Cancer Network (NCCN)*, dividindo o estadiamento do câncer de mama em três categorias: 1- câncer de mama invasivo localizado (estágio I, II e T3 N1 M0, considerado câncer de mama localmente avançado operável); 2- câncer de mama invasivo localmente avançado inoperável (estágio III, Exceto T3 N1 M0); 3- doença metastática (estágio IV).<sup>19</sup> O diâmetro do tumor foi obtido a partir dos laudos histopatológicos e, graduados histologicamente em grau I (bem diferenciado), II (moderadamente diferenciado) e III (indiferenciado), de acordo com o método proposto por Elston & Ellis,<sup>20</sup> que utiliza como critérios os aspectos arquiteturais, o grau de diferenciação nuclear e o índice mitótico. A definição do perfil imuno-histoquímico dos tumores foi realizada a partir dos resultados dos laudos, baseando-se na avaliação dos RE e RP, de HER2 e índice de proliferação celular Ki67. Os cânceres de mama foram categorizados em quatro subtipos moleculares com base em perfis de imuno-histoquímica em: 1-Luminal A: RE positivo, RP positivo com expressão >20%, HER-2 negativo; 2- Luminal B: RE positivo, RP positivo com expressão < 20% ou negativo, HER-2 positivo; 3- Não-luminal HER-2: RE e RP negativos e HER-2 positivo; 4- Triplo-negativo: RE, RP e HER-2 negativos.<sup>21</sup> O perfil de RE, RP, HER e Ki67 foram determinados pela técnica de imunohistoquímica (IQ) utilizando blocos de

tecido, segundo recomendação dos Kits empregados (DakoCytomation®, Glostrup, Denmark).

### *Análise Estatística*

A partir dos dados foram construídas tabelas das variáveis clínicas e dos parâmetros avaliados segundo grupo de mulheres na pós-menopausa com câncer de mama (n=209) e sem câncer de mama (n=418, controle). Para análise dos dados foram calculados média e desvio-padrão, para variáveis quantitativas, e frequência e porcentagem, para variáveis qualitativas. Para comparação entre os grupos em relação às características quantitativas foram empregados o Teste *t-student* e a distribuição Gama (variáveis assimétricas). Na associação entre a frequência das características categóricas foi empregado o Teste do Qui-quadrado. Foi calculada estimativa de risco pelo odds ratio (OR), considerando-se intervalo de confiança (IC) de 95%, por regressão logística binária, para examinar a associação entre os valores séricos de 25(OH)D (variável dependente) e o câncer de mama (variável independente), sendo ajustada para idade, tempo de menopausa e IMC (variáveis confundidoras). Em todos os testes foi adotado o nível de significância de 5% ou o p-valor correspondente. As análises foram realizadas utilizando-se o programa *Statistical Analyses System (SAS)*, versão 9.2.

## **RESULTADOS**

As características clínicas e antropométricas das mulheres na pós-menopausa com diagnóstico recente de câncer de mama (n=209) e sem a doença (controle, n=418), foram submetidas à comparação estatística, e estão representadas nas Tabelas 1 e 2.

Na Tabela 1 verificou-se que os grupos foram homogêneos para as seguintes variáveis: idade, menarca, tempo de menopausa, valores médios de 25(OH)D e ocorrência de hipertensão arterial, diabetes, tabagismo e atividade física ( $p>0.05$ ). Observou-se diferença estatisticamente significativa quanto aos valores médios do IMC e uso de TH. As pacientes com câncer de mama apresentaram maior valor de IMC, quanto comparadas ao controle, compatíveis com obesidade ( $\geq 30\text{kg/m}^2$ ) ( $p<.001$ ). Em relação ao uso de TH, maior percentual de mulheres no grupo controle fazia uso de TH quando comparadas ao controle (38.0% vs 11.0%, respectivamente) ( $p<.0001$ ). Na comparação das características clínicas categorizadas foi observada maior frequência de mulheres com peso adequado no grupo controle quando comparado ao grupo câncer de mama (24.6% vs 12.0%, respectivamente), que apresentou maior percentual de mulheres obesas quando comparado ao controle (57.4% vs 40.2%, respectivamente) ( $p<.0001$ ) (Tabela 2).

A comparação na distribuição percentual das pacientes em relação ao nível sérico de 25(OH)D está demonstrada na Figura 1. Foi observada que as pacientes com câncer de mama apresentaram maior ocorrência de valores de 25(OH)D insuficientes e deficientes quando comparadas às pacientes do grupo controle (55.6% vs 49.3%,  $p=0.039$  e 26.2% vs 20.3%,  $p=0.018$ , respectivamente) (Figura 1). Na análise de risco ajustado para a idade, tempo de menopausa e IMC, as mulheres com câncer de mama apresentaram 1.5 vezes maior risco para ocorrência de hipovitaminose D (OR=1.52; IC 95% 1.04-2.22,  $p=0.029$ ) quando comparadas às mulheres sem câncer (dados não demonstrados).

Na avaliação das características anatomopatológicas do câncer de mama, encontrou-se que 29.7% das mulheres apresentavam tumores menores que 2 cm,

95.7% tumores do tipo ductal, 66.5% estavam no estágio 1 (doença inicial), 43.5% com linfonodos axilares negativos, RE e RP eram positivos em 82.8% e 70.3% respectivamente, HER2 foi negativo 80.4% e Ki67 estava acima de 14% em 67.5% dos casos. Na distribuição dos subtipos moleculares do câncer de mama, 34.4% dos tumores eram luminal A, 37.8% luminal B, 15.4% não-luminal HER2 e 12.4% triplo negativo (Tabela 4).

**Tabela 1.** Comparação das características clínicas e laboratoriais entre as 209 mulheres na pós-menopausa com câncer de mama e nas 418 mulheres na pós-menopausa sem câncer (controle).

Parâmetros	CA de mama	Controle	Valore de <i>p</i> *
	(n=209)	(n=418)	
Idade (anos)	60.7 (10.4)	60.2 (9.10)	0.506 <sup>a</sup>
Idade da menarca (anos)	12.8 (1.2)	13.1 (1.6)	0.530 <sup>a</sup>
Idade da menopausa (anos)	48.3 (3.7)	48.0 (4.7)	0.429 <sup>a</sup>
Tempo de menopausa (anos)	12.4 (10.1)	12.2 (9.0)	0.752 <sup>b</sup>
Paridade (nº filhos)	2.8 (2.0)	2.7 (1.9)	0.813 <sup>b</sup>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	30.7 (5.1)	28.8 (5.0)	<.0001 <sup>a</sup>
25(OH)D (ng/mL)	24.6 (6.3)	26.7 (8.8)	0.059 <sup>a</sup>
Hipertensão, n (%)	107 (51.2)	221 (52.8)	0.692 <sup>c</sup>
Diabetes, n (%)	41 (19.6)	68 (16.3)	0.297 <sup>c</sup>
Tabagismo, n (%)	34 (16.3)	74 (17.7)	0.654 <sup>c</sup>
Atividade Física, n (%)	40 (19.1)	100 (23.9)	0.175 <sup>c</sup>
Uso de TH, n (%)	23 (11.0)	159 (38.0)	<.0001 <sup>c</sup>

Valores médios (desvio padrão) ou número (%)

IMC, índice de massa corporal; 25(OH)D, 25 hidroxivitamina D; TH, terapia hormonal.

\*Diferença significativa se  $p < 0,05$  (<sup>a</sup>Teste *t-Student*, <sup>b</sup>Teste de Distribuição Gama ou <sup>c</sup>Teste do Qui-Quadrado).

**Tabela 2.** Associação das características clínicas categorizadas entre as 209 mulheres na pós-menopausa com câncer de mama e nas 418 mulheres na pós-menopausa sem câncer (controle).

<b>Características</b>	<b>CA Mama (n=209)</b>	<b>Controle (n=418)</b>	<b>Valor de p*</b>
Faixa Etária (anos)			0.477
< 50	27 (12.9)	44 (10.5)	
50-59	74 (34.6)	166 (39.7)	
≥ 60	108 (51.7)	208 (47.8)	
Idade da menopausa (anos)			0.060
≤ 40	9 (4.3)	35 (8.4)	
>40	200 (95.7)	383 (91.6)	
Tempo de menopausa (anos)			0.067
≤ 5	69 (33.0)	107 (25.6)	
6-10	43 (20.6)	115 (27.5)	
> 10	97 (46.4)	196 (46.9)	
Número de filhos			0.059
0	24 (11.5)	48 (11.5)	
≤ 2	90 (43.1)	141 (33.7)	
>2	95 (45.4)	229 (54.8)	
IMC (kg/m <sup>2</sup> )			<b>&lt;.0001</b>
≤ 24,9	25 (12.0)	103 (24.6)	
25 - 29,9	64 (30.6)	147 (35.2)	
≥ 30	120 (57.4)	168 (40.2)	

Valores expressos em número (%). IMC, índice de massa corporal.

\*Diferença significativa p<0,05 (Teste do Qui-Quadrado).

**Tabela 3.** Características clínicas e anatomopatológicas das 209 mulheres com câncer de mama.

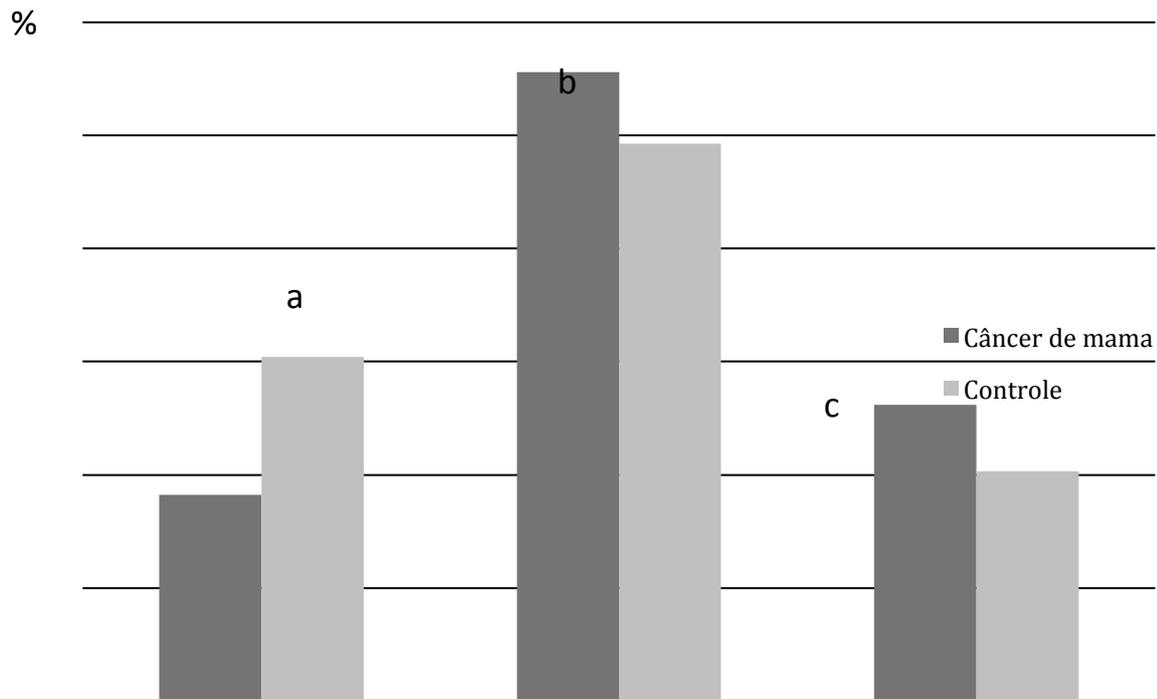
<b>Variables</b>	<b>Número (%)</b>
Tamanho do tumor	
≤ 2	62 (29.7)
2-5	124 (59.3)
≥ 5	23 (11.0)
Histologia	
Ductal	200 (95.7)
Lobular	9 (4.3)
Grau	
Baixo	18 (8.6)
Intermediário	106 (50.7)
Alto	85 (40.7)
Estádio do Tumor	
1	139 (66.5)
2	46 (22.0)
3	24 (11.5)
Linfonodos	
Negativo	91 (43.5)
Positivo	118 (56.5)
RE	
Positivo	173 (82.8)
Negativo	36 (17.2)
RP	
Positivo	147 (70.3)
Negativo	62 (29.7)
HER2	
Positivo	41 (19.6)
Negativo	168 (80.4)

Ki-67	
< 14%	68 (32.5)
≥ 14%	141 (67.5)
Subtipos Moleculares, n (%)	
Luminal A	72 (34.4)
Luminal B	79 (37.8)
non-luminal HER2	32 (15.4)
Triple negative	26 (12.4)

Valores expressos em número (%).

Estádio do Tumor: 1, doença inicial; 2, doença localmente avançada; 3, doença metastática

RE, receptor de estrogênio; RP, receptor de progesterona; HER2, receptor do fator de crescimento epidérmico humano-2; Ki67, atividade proliferativa epitelial.



**Figura 1-** Comparação na ocorrência de valores de 25(OH)D suficientes ( $\geq 30\text{ng/mL}$ ), insuficientes (21 a  $29\text{ng/mL}$ ) e deficientes ( $< 20\text{ng/mL}$ ) entre mulheres na pós-menopausa com câncer de mama e sem câncer (controle).

Valores são expressos em % de mulheres. 25(OH)D, 25 hidroxivitamina D

\*Diferença significativa: a ( $p<.0001$ ), b ( $p=0.039$ ) e c ( $p=0.018$ ) (Teste do Qui-quadrado)

## DISCUSSÃO

No presente estudo, mulheres na pós-menopausa com diagnóstico recente de câncer de mama apresentaram maior risco para ocorrência de hipovitaminose D quando comparadas às mulheres sem câncer, após ajustes para idade, tempo de menopausa e massa corpórea. Valores insuficientes ou deficientes de 25(OH)D foram detectados em 81.8% das mulheres com câncer de mama e em 69.6% das mulheres sem câncer de mama. Estes resultados estão em concordância com estudos prévios que demonstraram elevada ocorrência de hipovitaminose D em pacientes com câncer de mama.<sup>9-14</sup> Crew *et al.*<sup>10</sup> identificaram que 74% das pacientes com câncer de mama apresentavam deficiência de VD (<20 ng/ml).<sup>10</sup> Vashi *et al.*,<sup>12</sup> em estudo retrospectivo com avaliação de 500 mulheres recém-diagnosticadas com câncer de mama, observaram que 69% eram deficientes para VD.<sup>12</sup> Em recente estudo, níveis séricos de 25(OH)D foram inferiores a 20 ng/ml em mais de 90% dos pacientes.<sup>14</sup>

Um grande estudo de coorte prospectivo relatou uma associação linear entre a diminuição dos níveis de 25(OH)D e a mortalidade geral por câncer de mama em mulheres na pós-menopausa, independentemente de outros fatores, incluindo IMC e atividade física.<sup>22</sup> Os mecanismos subjacentes ao efeito da VD no câncer de mama ainda não são claros. Embora a forma ativa da VD, a 1,25(OH)<sub>2</sub>D, e seus derivados possam exercer efeitos antitumorais através da regulação negativa da sinalização do fator de crescimento e seus efeitos na proliferação, diferenciação, apoptose e angiogênese,<sup>23</sup> estudo tem mostrado que a transformação maligna do tecido mamário está associada a diminuição da capacidade das células tumorais em sintetizar a 1,25(OH)<sub>2</sub>D, pela redução da sinalização mediada pelo VDR e aumento da capacidade

dessas células de degradar a VD.<sup>7</sup> Alguns estudos demonstraram uma redução na expressão do VDR em células de câncer de mama em comparação com células de mama normais, por polimorfismos do gene VDR.<sup>7,24,25</sup> Recente metanálise concluiu que os polimorfismos do gene VDR [Bsm1, Apa1, Fok1 e Poly (A)] podem ser suscetíveis ao desenvolvimento de câncer de mama.<sup>6</sup> Baixos valores séricos de VD podem contribuir na progressão do câncer de mama como resultado da transcrição de genes alterados, apoiando a hipótese de que a deficiência de VD tem papel na patogênese e na progressão do câncer de mama.<sup>26</sup>

A deficiência de VD e o aumento na prevalência da obesidade são considerados importantes questões de saúde pública.<sup>27,28</sup> No presente estudo foi observado que mulheres com câncer de mama apresentavam maior valor médio de IMC, compatível com obesidade, quando comparadas às mulheres sem câncer de mama. Estudos epidemiológicos demonstraram que indivíduos obesos têm menores concentrações séricas de 25(OH)D, com associação inversa entre a concentração de VD e IMC.<sup>29-31</sup> Uma revisão sistemática e meta-análise de dados transversais avaliando a relação entre os níveis séricos de VD e o IMC, em adultos de ambos os sexos, demonstrou que existe fraca correlação inversa, porém significativa, entre os valores de 25(OH)D e massa corporal na população adulta.<sup>32</sup> Os mecanismos envolvidos não estão completamente descritos.<sup>33</sup> Diferentes explicações foram sugeridas para a insuficiência de VD associada à obesidade incluindo: 1) Diluição volumétrica, significa que os valores séricos de VD diminuem como o tamanho corporal<sup>34</sup>; 2) Diferenças no estilo de vida entre pessoas obesas e magras (as pessoas obesas podem ser sensíveis sobre a forma do corpo, participar de menos atividades ao ar livre, encobrir e usar mais roupas do que indivíduos magros, que minimiza sua exposição ao sol)<sup>35</sup>; 3) Diferenças na

capacidade de ativar a VD entre indivíduos magros e obesos [o nível de expressão das enzimas ativadoras de VD (25-hidroxilase CYP2J2 e 1 $\alpha$ -hidroxilase CYP27B1) foram menores no tecido adiposo visceral em obesos em comparação aos magros]<sup>36</sup>; 4) Sequestro de VD dentro do tecido adiposo, indicando que a VD sintetizada está fortemente ligada aos depósitos de gordura, não sendo liberada na circulação para manter concentrações séricas de 25(OH)D.<sup>37,38</sup> Contudo, os mecanismos que controlam a deposição e a liberação de VD a partir do tecido adiposo ainda são desconhecidos.<sup>39</sup>

A deficiência de VD tem sido associada ao câncer de mama e à obesidade.<sup>40</sup> Contudo, a causalidade dessa associação e os mecanismos de ação da forma ativa da VD, a 1,25(OH)2D, em células cancerosas e adipócitos permanecem mal compreendidos.<sup>41</sup> A regulação de apoptose em adipócitos e células de câncer de mama pela 1,25(OH)2D poderia ser uma ligação entre obesidade e câncer de mama.<sup>40</sup> O hormônio 1,25(OH)2D desencadeia a apoptose em células de câncer de mama e adipócitos por meio da indução do sinal apoptótico de cálcio (Ca<sup>2+</sup>), que ocorre com o aumento sustentado da concentração de Ca<sup>2+</sup> intracelular. Este sinal atua como um iniciador apoptótico que recruta diretamente efetores apoptóticos dependentes de Ca<sup>2+</sup>, a calpaína e a caspase 12, em células de câncer de mama e adipócitos.<sup>42</sup> Estudos experimentais demonstraram que a 1,25(OH)2D induz a apoptose em células de câncer de mama e adipócitos, sendo essa apoptose dependente da sinalização de Ca<sup>2+</sup>.<sup>42-44</sup> As células epiteliais mamárias normais são resistentes a apoptose mediado por Ca<sup>2+</sup> induzida por 1,25(OH)2D, porque os mecanismos que regulam Ca<sup>2+</sup> nessas células não sustentam o aumento intracelular de Ca<sup>2+</sup> em nível de indução da apoptose. A indução de apoptose com 1,25(OH)2D no tecido adiposo, particularmente no tecido

adiposo mamário ao redor do tumor, pode contribuir para os efeitos anticancerígenos da VD.<sup>40</sup>

Estudos pré-clínicos sugeriram que a suplementação com VD poderia desempenhar um papel na redução do crescimento do câncer de mama aumentado pela obesidade através de múltiplos mecanismos inter-relacionados.<sup>45-47</sup> As ações da VD para inibir o crescimento do câncer de mama incluem a supressão da expressão da aromatase (Cyp19) no tecido adiposo da mama,<sup>48,49</sup> a inibição da expressão de receptores estrogênicos,<sup>50</sup> e a supressão da expressão de ciclooxigenase-2 (COX-2), levando à redução na síntese de mediadores pró-inflamatórios como a prostaglandina (PG) E2 que são estimulantes da transcrição de aromatase no câncer de mama.<sup>51</sup> Estudos experimentais também demonstraram que a VD regula a expressão do receptor estrogênico em células de câncer de mama e em tumores de ratas magras e obesas.<sup>47,50</sup> Uma vez que os estrogênios são os principais indutores do crescimento do câncer de mama receptor estrogênico positivo, essas múltiplas ações de VD fornecem uma justificativa para o papel da VD na redução do risco do câncer de mama.

Para avaliar se a obesidade exerce efeitos adversos no crescimento do câncer de mama e se a suplementação de VD poderia reduzir esses efeitos desfavoráveis, Swami et al. utilizaram um modelo de obesidade induzida por dieta em camundongas ooforectomizadas. As células tumorais de câncer de mama foram implantadas na gordura mamária dos camundongos. A dieta acelerou a iniciação e progressão dos tumores mamários. Os tratamentos com calcitriol ou VD na dieta reduziram os efeitos adversos da obesidade causando um atraso no surgimento do tumor e inibindo o crescimento tumoral (Swami et al. 2016). Os resultados desse estudo indicam que uma dieta hipercalórica promove a iniciação e o crescimento do câncer de mama e que a

suplementação de VD poderia reduzir os efeitos adversos da obesidade no desenvolvimento e progressão do tumor. Os autores demonstraram que a VD atenua os efeitos adversos da obesidade por múltiplos mecanismos, tanto sistemicamente quanto diretamente nas células tumorais e no tecido adiposo circundante, levando a melhora na resistência à insulina e à supressão da síntese de estrogênio local, por inibição na produção de prostaglandinas e alterando o perfil de expressão de adipocinas.<sup>47</sup>

Em concordância com nossa pesquisa, recente estudo transversal, avaliando 220 mulheres na pré e pós-menopausa, com diagnóstico recente de câncer de mama, observou uma associação entre a deficiência de VD e obesidade.<sup>52</sup> Estudo caso-controle analisou fatores nutricionais e os níveis séricos de 25(OH)D em 100 mulheres com câncer de mama e 100 mulheres sem câncer de mama. Os autores observaram associação significativa entre baixos valores de 25(OH)D (<20 ng/mL), observado em 90% das mulheres, com o risco de câncer de mama. Mulheres com maior relação cintura-quadril > 0,85 apresentaram cinco vezes mais risco de câncer de mama. A obesidade como consequência dos fatores de risco nutricionais determinada pelo aumento da relação cintura-quadril foi significativamente associada ao risco de câncer de mama.<sup>14</sup> Morton & Thompson, em revisão de literatura, procuraram determinar se existe uma relação entre VD, massa corporal e mortalidade por câncer de mama. Utilizando associações independentes de relatos prévios de hipovitaminose D e alto IMC com o aumento na mortalidade por câncer de mama, os autores estimaram que baixos níveis séricos VD são responsáveis por cerca de 16% de aumento na mortalidade por câncer de mama em pacientes com sobrepeso e obesidade. Embora seja uma proporção relativamente pequena do efeito da obesidade, a suplementação

de VD pode representar uma maneira de reduzir as disparidades associadas à obesidade na mortalidade por câncer de mama.<sup>53</sup> Assim, a suplementação de VD poderia ser uma medida complementar especialmente útil em mulheres obesas com câncer de mama, mas há necessidade de estudos controlados randomizados para testar esta hipótese.

Ponto forte do nosso estudo foi a avaliação sérica de 25(OH)D realizada imediatamente após o diagnóstico de câncer de mama, antes do tratamento proposto. No entanto, alguns estudos que encontraram associação entre valores reduzidos de 25(OH)D com a maior incidência de câncer de mama realizaram as dosagens de VD em algum intervalo após o diagnóstico de câncer de mama,<sup>10,22,54</sup> com potenciais alterações nos valores de VD após o tratamento do câncer. Por exemplo, mulheres com menor atividade física têm valores menores de 25(OH)D e reconhece-se que a atividade física é reduzida após o diagnóstico de câncer de mama.<sup>55</sup> Uma meta-análise, que correlacionou valores séricos de 25(OH)D com risco de câncer de mama, confirmou uma correlação inversa em estudos de casos-controles para amostragem de 25(OH)D imediatamente após o diagnóstico de câncer de mama, mas não em estudos prospectivos quando 25(OH)D foram dosadas anos após o diagnóstico.<sup>56</sup>

A presente pesquisa tem algumas limitações. Primeiro, embora os resultados fossem ajustados para alguns potenciais confundidores, por se tratar de um estudo transversal, não é possível provar uma relação causal entre o nível sérico de VD e o câncer de mama. Segundo, não pudemos considerar o fatores quantidade de exposição à luz solar, o que poderia afetar os níveis séricos de 25(OH)D, devido à disponibilidade limitada de informações. Além disso, as medições de VD foram realizadas apenas uma vez para cada participante.

## CONCLUSÃO

Mulheres na pós-menopausa com diagnóstico recente de câncer de mama apresentaram maior risco para hipovitaminose D, associado à maior ocorrência de obesidade quando comparadas a mulheres na mesma faixa etária sem câncer.

## REFERÊNCIAS

- 1 – American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2015-2016. Atlanta: American Cancer Society, Inc. 2015.
- 2 – Barnard ME, Boeke CE, Tamini RM. Established breast cancer risk factors and risk of intrinsic tumor subtypes. *Biochim Biophys Acta* 2015;1856:73–85.
- 3 – Kim HJ, Lee YM, Ko BS, Lee JW, Yu JH, Son BH, et al. Vitamin D Deficiency is Correlated with Poor Outcomes in Patients with Luminal-type Breast Cancer. *Ann Surg Oncol* 2011; 18:1830–1836.
- 4 – Rosen CJ. Clinical practice. Vitamin D insufficiency. *N Engl J Med* 2011;364(3):248-54.
- 5 – Mishra DK, Wu Y, Sarkissyan M, Sarkissyan S, Chen Z, Shang X, et al. Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Prognosis of Breast Cancer among African-American and Hispanic Women. *PLoS ONE* 2013;8(3): e57967
- 6 – Iqbal MUM, Khan TA. Association between Vitamin D receptor (Cdx2, Fok1, Bsm1, Apa1, Bgl1, Taq1, and Poly (A)) gene polymorphism and breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Tumor Biol* 2017;39:1010428317731280

- 7 – Lopes N, Sousa B, Martins D, Gomes M, Vieira D. Alterations in Vitamin D signaling and metabolic pathways in breast cancer progression: a study of VDR, CYP27B1 and CYP24A1 expression in benign and malignant breast lesions. *BMC Cancer* 2012; 10:483.
- 8 – Welsh J. Vitamin D and breast cancer: insights from animal models. *Am J Clin Nutr* 2004, 80:1721S-1724S.
- 9 – Neuhouser ML, Sorensen B, Hollis BW, Ambis A, Ulrich CM, McTiernan A, Bernstein L, Wayne S, Gilliland F, Baumgartner K, Baumgartner R, Ballard-Barbash R: Vitamin D insufficiency in a multiethnic cohort of breast cancer survivors. *Am J Clin Nutr* 2008, 88:133-139.
- 10 – Crew KD, Shane E, Cremers S, McMahon DJ, Irani D, Hershman DL. High prevalence of vitamin D deficiency despite supplementation in premenopausal women with breast cancer undergoing adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2009, 27:2151-2156.
- 11 – Napoli N, Vattikuti S, Ma C, Rastelli A, Rayani A, Donepudi R, Asadfar M, Yarramaneni J, Ellis M, Armamento-Villareal R: High prevalence of low vitamin D and musculoskeletal complaints in women with breast cancer. *Breast J* 2010, 16:609-616.
- 12 – Vashi PG, Trukova K, Lammersfeld CA, Braun DP, Gupta D: Impact of oral vitamin D supplementation on serum 25-hydroxyvitamin D levels in oncology. *Nutr J* 2010, 9:60-69.
- 13 – Aguirre M, Manzano N, Salas Y, Angel M, Díaz-Couselo FA, Zylberman M. Vitamin D deficiency in patients admitted to the general ward with breast, lung and colorectal cancer in Buenos Aires, Argentina. *Arch Osteoporos* 2016;11:4.

- 14 – Sofi NY, Jain M, Kapil U, Seenu V, Kamal VK, Pandey RM. Nutritional risk factors and status of serum 25(OH)D levels in patients with breast cancer: A case control study in India. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2018;175:55-59.
- 15 – Mohr SB, Gorham ED, Kim J, Hofflich H, Garland CF. Meta-analysis of Vitamin D Sufficiency for Improving Survival of Patients with Breast Cancer. *Anticancer Res* 2014; 34: 1163-1166.
- 16 – Lips P, Hosking D, Lippuner K, Norquist JM, Wehren L, Maalouf G, et al. The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation. *J Inter Med* 2006;260(3):245-54.
- 17 – NCEP - Expert Panel on Detection E, Treatment of High Blood Cholesterol in A. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285(19):2486-97.
- 18 – Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporosis Inter* 2005;16(7):713-6.
- 19 – Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, Blair SL, Burstein HJ, Cyr A, Elias AD, Farrar WB, Forero A, Giordano SH, Goetz M, Goldstein LJ, Hudis CA, Isakoff SJ, Marcom PK, Mayer IA, McCormick B, Moran M, Patel SA, Pierce LJ, Reed EC, Salerno KE, Schwartzberg LS, Smith KL, Smith ML, Soliman H, Somlo G, Telli M, Ward JH, Shead DA, Kumar R. Invasive Breast Cancer Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2016 Mar;14(3):324-54.
- 20 – Elston EW, Ellis IO. Method for grading breast cancer. *J Clin Pathol* 1993;46:189-90.

- 21 – Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ, et al. Strategies for subtypes– dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol*. 2011;22(8):1736–47.
- 22 – Vrieling A, Hein R, Abbas S, Schneeweiss A, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and postmenopausal breast cancer survival: a prospective patient cohort study. *Breast Cancer Res* 2011; 13:R74.
- 23 – Ingraham BA, Bragdon B, Nohe A. Molecular basis of the potential of vitamin D to prevent cancer. *Curr Med Res Opin* 2008; 24:139–149.
- 24 – Engel LS, Orlow I, Sima CS, et al. Vitamin D receptor gene haplotypes and polymorphisms and risk of breast cancer: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers* 2012; 21:1856–1867.
- 25 – Abd-El salam EA, Ismaeil NA and Abd-El salam HS. Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk among postmenopausal Egyptian women. *Tumour Biol* 2015; 36(8): 6425–6431.
- 26 – Holick MF. Vitamin D: its role in cancer prevention and treatment. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 49-59.
- 27 – Wang YC, McPherson K, Marsh T, Gortmaker SL, Brown M. Health and economic burden of the projected obesity trends in the USA and the UK. *Lancet* 2011; 378:815–825.
- 28 – Ding C, Gao D, Wilding J, Trayhurn P, Bing C. Vitamin D signalling in adipose tissue. *Br J Nutr* 2012;108(11):1915-23

- 29 – McGill AT, Stewart JM, Lithander FE, Strik CM, Poppitt SD. Relationships of low serum vitamin D3 with anthropometry and markers of the metabolic syndrome and diabetes in overweight and obesity. *Nutr J* 2008;7:4.
- 30 – Taheri E, Saedisomeolia A, Djalali M, Qorbani M, MadaniCivi M. The relationship between serum 25-hydroxy vitamin D concentration and obesity in type 2 diabetic patients and healthy subjects. *J Diabetes Metab Dis* 2012;11(1):16.
- 31 – Stokić E, Kupusinac A, Tomic-Naglic D, Smiljenic D, Kovacev-Zavisc B, Srdic-Galic B, Soskic S, Isenovic ER. Vitamin D and Dysfunctional Adipose Tissue in Obesity. *Angiology* 2015; 66: 613-618
- 32 – Saneei P, Salehi-Abargouei A, Esmailzadeh A. Serum 25- hydroxy vitamin D levels in relation to body mass index: a systematic review and meta-analysis. *Obes Rev* 2013;14: 393–404.
- 33 – Cimini FA, Barchetta I, Carotti S, Bertocchini L, Baroni MG, Vespasiani-Gentilucci U, Cavallo M, Morini S. Relationship between adipose tissue dysfunction, vitamin D deficiency and the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol* 2017; 23(19): 3407-3417
- 34 – Drincic AT, Armas LA, Van Diest EE, Heaney RP. Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. *Obesity* 2012;20:1444–1448.
- 35 – Abbas MA. Physiological functions of Vitamin D in adipose tissue. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2017; 165:369–381.
- 36 – Wamberg L, Christiansen T, Paulsen SK, Fisker S, Rask P, Rejnmark L, Richelsen B, Pedersen SB. Expression of vitamin D-metabolizing enzymes in human adipose tissue- the effect of obesity and diet-induced weight loss. *Int. J. Obes* 2013;37:651–657.

- 37 – Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000;72(3):690-3
- 38 – Earthman CP, Beckman LM, Masodkar K, Sibley SD. The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. *Int J Obes (Lond)* 2012; 36:387–396.
- 39 – Malmberg P, Karlsson T, Svensson H, Lonn M, Carlsson NG, Sandberg A, Jennische E, Osmanovic A, Holmäng A. A new approach to measuring vitamin D in human adipose tissue using time-of-flight secondary ion mass spectrometry: a pilot study. *J Photochem Photobiol B* 2014;138:295–301,
- 40 – Sergeev IN. Regulation of apoptosis in adipocytes and breast cancer cells by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: a link between obesity and breast cancer. *Horm Mol Biol Clin Invest* 2013; 14(3): 99–106
- 41 – Song Q, Sergeev IN. Calcium and vitamin D in obesity. *Nutr Res Rev* 2012; 25:130–41.
- 42 – Sergeev IN. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> induces Ca<sup>2+</sup>-mediated apoptosis in adipocytes via activation of calpain and caspase-12. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;384:18–21.
- 43 – Welsh J. Targets of vitamin D receptor signaling in the mammary gland. *J Bone Miner Res* 2007;22(Suppl 2):V86–V90.
- 44 – Sergeev IN. Vitamin D regulates apoptosis in adipocytes via Ca<sup>2+</sup> signaling. *FASEB J* 2012;26:386.2.
- 45 – Rossdeutscher L, Li J, Luco AL, Fadhil I, Ochiatti B, Camirand A, Huang DC, Reinhardt TA, Muller W, Kremer R. Chemoprevention activity of 25-hydroxyvitamin D

in the MMTV-PyMT mouse model of breast cancer. *Cancer Prev Res (Phila)*. 2015; 8:120–128.

46 – So JY, Suh N. Targeting cancer stem cells in solid tumors by vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2015; 148:79–85.

47 – Swami S, Krishnan AV, Williams J, Aggarwal A, Albertelli MA, Horst RL, Feldman BJ, Feldman D. Vitamin D mitigates the adverse effects of obesity on breast cancer in mice. *Endocr Relat Cancer* 2016; 23(4): 251–264.

48 – Krishnan AV, Swami S, Peng L, Wang J, Moreno J, Feldman D. Tissue-selective regulation of aromatase expression by calcitriol: implications for breast cancer therapy. *Endocrinol* 2010; 151:32–42.

49 – Swami S, Krishnan AV, Wang JY, Jensen K, Peng L, Albertelli MA, Feldman D. Inhibitory Effects of Calcitriol on the Growth of MCF-7 Breast Cancer Xenografts in Nude Mice: Selective Modulation of Aromatase Expression in vivo. *Horm Cancer* 2011; 2:190–202.

50 – Swami S, Krishnan AV, Peng L, Lundqvist J, Feldman D. Transrepression of the estrogen receptor promoter by calcitriol in human breast cancer cells via two negative vitamin D response elements. *Endocr Relat Cancer* 2013; 20:565–577.

51 – Simpson ER, Brown KA. Obesity and breast cancer: role of inflammation and aromatase. *J Mol Endocrinol* 2013; 51:T51–59.

52 – Buono G, Giuliano M, De Angelis C, Lauria R, Forestieri V, Pensabene M, Bruzzese D, De Placido S, Arpino G. Pretreatment Serum Concentration of Vitamin D and Breast Cancer Characteristics: A Prospective Observational Mediterranean Study. *Clinical Breast Cancer* 2017; 17(7):559-563.

53 – Morton ML, Thompson CL. Decreasing 25-hydroxy-vitamin D levels account for portion of the effect of increasing body mass index on breast cancer mortality. *Mol Nutr Food Res* 2013;57(2): 260–266.

54 – Abbas S, Linseisen J, Slinger T, Kropp S, Mutschelknauss EJ, Flesch-Janys D, Chang-Claude J: Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of post-menopausal breast cancer: results of a large case–control study. *Carcinogenesis* 2008; 29:93-99.

55 – Chlebowski RT. Vitamin D and breast cancer: interpreting current Evidence. *Breast Cancer Res* 2011;13:217.

56 – Yin L, Grandi N, Raum E, Haug U, Arndt V, Brenner H. Meta-analysis: serum vitamin D and breast cancer risk. *Eur J Cancer* 2010;46(12):2196-205.

## **5. Conclusão**

No presente estudo, mulheres na pós-menopausa com diagnóstico recente de câncer de mama apresentaram maior risco para hipovitaminose D, associado à maior ocorrência de obesidade quando comparadas a mulheres na mesma faixa etária sem câncer.

## 6. Referências

- 1-American Cancer Society. Breast Cancer Facts & Figures 2015-2016. Atlanta: American Cancer Society, Inc. 2015.
- 2-Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José A lencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro: INCA, 2015
- 3-Smith RA, Saslow D, Sawyer KA, Burke W, Costanza ME, Evans WP 3<sup>rd</sup>, et al. American Cancer Society guidelines for breast cancer screening: update 2003. CA Cancer J Clin 2003;53(3):141-69.
- 4-Miller K, Ben-Aharon I, Haines L. Seasons of survival: redefining the paradigm for cancer survivorship for 2012. J Oncol Navig Surviv 2012;2(5):12–5.
- 5- Allemani C, Weir HK, Carreira H, Harewood R, Spika D, Wang XS, Bannon F, Ahn JV, Johnson CJ, Bonaventure A, Marcos-Gragera R, Stiller C, Azevedo e Silva G, Chen WQ, Ogunbiyi OJ, Rachet B, Soeberg MJ, You H, Matsuda T, Bielska-Lasota M, Storm H, Tucker TC, Coleman MP; CONCORDWorking Group. Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). Lancet 2015;385(9972):977-1010.
- 6- Nunes RD. Estudo de sobrevida das mulheres com câncer de mama na cidade de Goiânia, entre 1995 e 2003. Goiânia: Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Goiás; 2011.
- 7- Rosen CJ. Clinical practice. Vitamin D insufficiency. The New England journal of medicine. 2011;364(3):248-54.

- 8- DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004;80(6 Suppl):1689S-96S.
- 9- Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266–81.
- 10- Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, et al. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005;16:713–716.
- 11- Dawson-Hughes B, Mithal A, Bonjour JP, Boonen S, Burckhardt P, Fuleihan GE, et al. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults. *Osteoporosis international* 2010;21(7):1151-4.
- 12- Hanley DA, Cranney A, Jones G, Whiting SJ, Leslie WD, Cole DE, et al. Vitamin D in adult health and disease: a review and guideline statement from Osteoporosis Canada. *CMAJ : Canadian Medical Association journal* 2010;182(12):E610-8.
- 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. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(7):1911-30.
- 14-Holick MF. The D-lemma: to screen or not to screen for 25-hydroxyvitamin D concentrations. *Clinical chemistry*. 2010;56(5):729-31.
- 15-Tang BM, Eslick GD, Nowson C, Smith C, Bensoussan A. Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. *Lancet* 2007;370(9588):657-66.
- 16-Hilger J, Friedel A, Herr R, Rausch T, Roos F, Wahl DA, et al. A systematic review of vitamin D status in populations worldwide. *The British journal of nutrition*. 2014;111(1):23-45.

- 17- Lips P, Hosking D, Lippuner K, Norquist JM, Wehren L, Maalouf G, et al. The prevalence of vitamin D inadequacy amongst women with osteoporosis: an international epidemiological investigation. *Journal of internal medicine*. 2006;260(3):245-54.
- 18-Russo LA, Gregorio LH, Lacativa PG, Marinheiro LP. [Concentration of 25-hydroxyvitamin D in postmenopausal women with low bone mineral density]. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2009;53(9):1079-87.
- 19- Unger MD, Cuppari L, Titan SM, Magalhaes MC, Sasaki AL, dos Reis LM, et al. Vitamin D status in a sunny country: where has the sun gone? *Clinical nutrition*. 2010;29(6):784-8.
- 20- Maeda SS, Saraiva GL, Kunii IS, Hayashi LF, Cendoroglo MS, Ramos LR, et al. Factors affecting vitamin D status in different populations in the city of Sao Paulo, Brazil: the Sao Paulo vitamin D Evaluation Study (SPADES). *BMC Endocrine Disorders*. 2013;13(1):14.
- 21-Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American journal of clinical nutrition*. 2004;80(6 Suppl):1678S-88S.
- 22- Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, et al. IOM committee members respond to Endocrine Society vitamin D guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(4):1146-52.
- 23- Mason RS. Vitamin D: a hormone for all seasons. *Climacteric* 2011;14(2):197-203.
- 24- Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, et. al. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006;84:18–28.

- 25- Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004;338(2):143-56.
- 26- Takahashi N, Udagawa N, Suda T. Vitamin D endocrine system and osteoclasts. *BoneKEy reports* 2014;3:495.
- 27- Mishra DK, Wu Y, Sarkissyan M, Sarkissyan S, Chen Z, Shang X, et al. Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms and Prognosis of Breast Cancer among African-American and Hispanic Women. *PLoS ONE* 2013;8(3): e57967
- 28- Eisman JA, Martin TJ, MacIntyre I, Moseley JM: 1,25-dihydroxyvitamin-Dreceptor in breast cancer cells. *Lancet* 1979;2(8156-8157):1335-1336.
- 29- Welsh J, Wietzke JA, Zinser GM, Byrne B, Smith K, Narvaez CJ: Vitamin D-3 receptor as a target for breast cancer prevention. *J Nutr* 2003;133:2425S-2433S.
- 30- Colston KW. Vitamin D and breast cancer risk. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22(4):587–99.
- 31- Scarmo S, Afanasyeva Y, Lenner P, Koenig KL, Horst RL, Clendenen TV, et al. Circulating levels of 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study. *Breast Cancer Res* 2013; 15(1):R15.
- 32- Feldman D, Krishnan AV, Swami S, Giovannucci E, Feldman BJ. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer* 2014; 14(5):342–57
- 33- Maruyama R, Aoki F, Toyota M, Sasaki Y, Akashi H, Mita H, et al. Comparative genome analysis identifies the vitamin D receptor gene as a direct target of p53-mediated transcriptional activation. *Cancer Res* 2006; 66(9):4574–83.
- 34- Kommagani R, Payal V, Kadakia MP. Differential regulation of vitamin D receptor (VDR) by the p53 Family: p73-dependent induction of VDR upon DNA damage. *J Biol Chem* 2007; 282(41):29847–54.

- 35- Chen H, Reed G, Guardia J, Lakhan S, Couture O, Hays E, et al. Vitamin D directly regulates Mdm2 gene expression in osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 430(1):370–4.
- 36- Lopes N, Sousa B, Martins D, Gomes M, Vieira D. Alterations in Vitamin D signaling and metabolic pathways in breast cancer progression: a study of VDR, CYP27B1 and CYP24A1 expression in benign and malignant breast lesions. *BMC Cancer* 2012; 10:483.
- 37- Engel LS, Orlow I, Sima CS, Satagopan JM, Mujumdar UJ, et al. Vitamin D receptor gene haplotypes and polymorphisms and risk of breast cancer: A nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21(10):1856–67.
- 38- Abd-El salam EA, Ismaeil **NA**, Abd-El salam HS. Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk among postmenopausal Egyptian women. *Tumor Biol* 2015;36:6425–31.
- 39- Mantell DJ, Owens PE, Bundred NJ, Mawer EB, Canfield AE. 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circ Res* 2000; 87: 214–20
- 40- Welsh J. Vitamin D and breast cancer: insights from animal models. *Am J Clin Nutr* 2004, 80:1721S-1724S.
- 41- Fleet JC, DeSmet M, Johnson R, Li Y. Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanisms. *Biochem J* 2012;441(1):61–76.
- 42- Wang J, Slominski A, Tuckey RC, Janjetovic Z, Kulkarni A, Chen J, Postlethwaite AE, Miller D, Li W. 20-hydroxyvitamin D inhibits proliferation of cancer cells with high efficacy while being non-toxic. *Anticancer Res* 2012;32(3):739-46.
- 43- Ali MM, Vaidya V. Vitamin D and cancer. *J Cancer Res Ther* 2007;3(4):225-30.

- 44- Costa JL, Eijk PP, van de Wiel MA, Berge D, Schmitt F, Narvaez CJ, Welsh J, Ylstra B. Anti-proliferative action of vitamin D in MCF7 is still active after siRNA-VDR knock-down. *BMC Genomics* 2009;10:499.
- 45- Thanasitthichai S, Chaiwerawattana A, Prasitthipayong A. Association of Vitamin D Level with Clinicopathological Features in Breast Cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015;16 (12), 4881-4883
- 46- Zinser GM, McEleney K, Welsh J. Characterization of mammary tumor cell lines from wild type and vitamin D3 receptor knockout mice. *Mol Cell Endocrinol* 2003;200(1-2):67-80.
- 47- Zinser GM, Welsh JE. Accelerated mammary gland development during pregnancy and delayed post-lactational involution in vitamin D3 receptor null mice. *Mol Endocrinol* 2004;18:2208–2223.
- 48- Berger U, Wilson P, McClelland RA, Colston K, Haussler MR, Pike JW, Coombes RC: Immunocytochemical detection of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in normal human tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67(3):607-613.
- 49- Freake HC, Abeyasekera G, Iwasaki J, Marcocci C, MacIntyre I, McClelland RA, Skilton RA, Easton DF, Coombes RC: Measurement of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptors in breast cancer and their relationship to biochemical and clinical indices. *Cancer Res* 1984;44(4):1677-1681.
- 50- Al-Azhri J, Zhang Y, Bshara W, Zirpoli G, McCann SE, Khoury T, Morrison CD, Edge SB, Ambrosone CB, Yao S. Tumor Expression of Vitamin D Receptor and Breast Cancer Histopathological Characteristics and Prognosis. *Clin Cancer Res* 2017;23(1):97-103.

- 51- LaPorta E, Welsh J. Modeling vitamin D actions in triple negative/basal-like breast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2014;144:65–73.
- 52- Neuhouser ML, Sorensen B, Hollis BW, Ambs A, Ulrich CM, McTiernan A, Bernstein L, Wayne S, Gilliland F, Baumgartner K, Baumgartner R, Ballard-Barbash R. Vitamin D insufficiency in a multiethnic cohort of breast cancer survivors. *Am J Clin Nutr* 2008;88:133-139.
- 53- Crew KD, Shane E, Cremers S, McMahon DJ, Irani D, Hershman DL. High prevalence of vitamin D deficiency despite supplementation in premenopausal women with breast cancer undergoing adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2009, 27:2151-2156.
- 54- Napoli N, Vattikuti S, Ma C, Rastelli A, Rayani A, Donepudi R, Asadfard M, Yarramaneni J, Ellis M, Armamento-Villareal R: High prevalence of low vitamin D and musculoskeletal complaints in women with breast cancer. *Breast J* 2010;16:609-616.
- 55- McCullough ML, Stevens VL, Patel R, Jacobs EJ, Bain EB, Horst RL, Gapstur SM, Thun MJ, Calle EE: Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and postmenopausal breast cancer risk: a nested case control study in the Cancer Prevention Study-II Nutrition Cohort. *Breast Cancer Res* 2009, 11:R64.
- 56- Almquist M, Bondeson AG, Bondeson L, Malm J, Manjer J: Serum levels of vitamin D, PTH and calcium and breast cancer risk-a prospective nested case-control study. *Int J Cancer* 2010, 127:2159-2168.
- 57- Eliassen AH, Spiegelman D, Hollis BW, Horst RL, Willett WC, Hankinson SE: Plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study II. *Breast Cancer Res* 2011;13:R50.

- 58- Amir E, Cecchini RS, Ganz PA, Costantino JP, Beddows S, Hood N, Goodwin PJ: 25-Hydroxy vitamin-D, obesity, and associated variables as predictors of breast cancer risk and tamoxifen benefit in NSABP-P1. *Breast Cancer Res Treat* 2012;133:1077-1088.
- 59- Kim Y, Je Y. Vitamin D intake, blood 25(OH)D levels, and breast cancer risk or mortality: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2014; 110(11):2772–84.
- 60- Visvanathan K, Mondul A, Zeleniuch-Jacquotte A, Mukhtar TK, Smith-Warner SA, Ziegler RG. Circulating vitamin D concentrations and breast cancer risk: A pooled analysis of 17 cohorts. *Cancer Research* 2015; 75(9 Supplement):P3-07-1.
- 61- 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
- 62- Bertone-Johnson ER, Chen WY, Holick MF, Hollis BW, Colditz GA, Willett WC, Hankinson SE: Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14:1991-1997.
- 63- Parker JS, Mullins M, Cheang MC, Leung S, Voduc D, Vickery T, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol.* 2009;27(8):1160-7.
- 64- Vrieling A, Hein R, Abbas S, et al. Serum 25- hydroxyvitamin D and postmenopausal breast cancer survival: a prospective patient cohort study. *Breast Cancer Res* 2011;13:R74.
- 65- Tretli S, Schwartz GG, Torjesen PA, Røsbjerg 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;23:363–70.

- 66- Lowe LC, Guy M, Mansi JL, Peckitt C, Bliss J, Wilson RG, Colston KW: Plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations, vitamin D receptor genotype and breast cancer risk in a UK Caucasian population. *Eur J Cancer* 2005;41:1164-1196.
- 67- Abbas S, Linseisen J, Slinger T, Kropp S, Mutschelknauss EJ, Flesch-Janys D, Chang-Claude J: Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of post-menopausal breast cancer: results of a large case-control study. *Carcinogenesis* 2008, 29:93-99.
- 68- Chlebowski RT. Vitamin D and breast cancer: interpreting current Evidence. *Breast Cancer Research* 2011;13:217.
- 69- Kawase T, Matsuo M, Suzuki T, Hirose K, Hosono S, Watanabe M, et al. Association between vitamin D and calcium intake and breast cancer risk according to menopausal status and receptor status in Japan. *Cancer Sci* 2010; 101: 1234-1240
- 70- Chlebowski RT, Johnson KC, Kooperberg C, Pettinger M, Wactawski-Wende J, Rohan T, et al.; for the Women's Health Initiative Investigators. Calcium Plus Vitamin D Supplementation and the Risk of Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst* 2007;100: 1581-1591.
- 71- Chen P, Hu P, Xie D, Oin Y, Wang F, Wang H. Meta-analysis of vitamin D, calcium and the prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010;121(2):469-77
- 72- Palmieri C, MacGregor T, Girgis S, Vigushin D. Serum 25-hydroxyvitamin D levels in early and advanced breast cancer. *J Clin Pathol* 2006, 59:1334-1336.
- 73- IARC- International Agency for Research on Cancer: Vitamin D and cancer. In IARC Working Group Reports. Volume 5. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2008:143-148.

74- IOM- Institute of Medicine; Food and Nutrition Board: In Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Edited by: Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Del Valle HB. Washington, DC: Institute of Medicine; Food and Nutrition Board; 2010.

75- Chung M, Lee J, Terasawa T, Lau J, Trikalinos TA: Vitamin D with or without calcium supplementation for prevention of cancer and fractures: an updated meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2011, 155:827-838.

76- Ross CA, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab* 2011, 96:53-58.

77- Kim HJ, Lee YM, Ko BS, Lee JW, Yu JH, Son BH, et al. Vitamin D Deficiency is Correlated with Poor Outcomes in Patients with Luminal-type Breast Cancer. *Ann Surg Oncol* 2011;18:1830–1836.

78- Yao S, Kwan ML, Ergas IJ, Roh JM, Cheng TD, Hong C, McCann SE, Tang L, Davis W, Liu S, Quesenberry CP, Lee MM, Ambrosone CB, Kushi LH. Association of serum level of Vitamin D at diagnosis with breast cancer survival. A case-cohort analysis in the Pathways Study. *JAMA Oncol* 2017; 3(3):351-357.

79- Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Koo J, Hood N. Prognostic Effects of 25-Hydroxyvitamin D Levels in Early Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2009;27(23):3757–63.

80- Toriola AT, Nguyen N, Scheitler-Ring K, Colditz GA. Circulating 25-hydroxyvitamin D Levels and Prognosis among Cancer Patients: A Systematic Review. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; 23(6): 917–33.

81- Hatse S, Lambrechts D, Verstuyf A, Smeets A, Brouwers B, Vandorpe T, Brouckaert O, Peuteman G, Laenen A, Verlinden L, Kriebitzsch C, Dieudonné AS, Paridaens R, Neven P, Christiaens MR, Bouillon R, Wildiers H. Vitamin D status at breast cancer

diagnosis: correlation with tumor characteristics, disease outcome, and genetic determinants of vitamin D insufficiency. *Carcinogenesis* 2012;33(7):1319–26.

82- Vrieling A, Hein R, Abbas S, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and postmenopausal breast cancer survival: a prospective patient cohort study. *Breast Cancer Res* 2011;13:R74.

83- Jacobs ET, Thomson CA, Flatt SW, Al-Delaimy WK, Hibler EA, Jones LA, et al. Vitamin D and breast cancer recurrence in the Women's Healthy Eating and Living (WHEL) Study. *Am J Clin Nutr* 2011;93:108-17

84- Villasenor A, Ballard-Barbash R, Ambros A, Bernstein L, Baumgartner K, Baumgartner R, et al. Associations of serum 25-hydroxyvitamin D with overall and breast cancer-specific mortality in a multiethnic cohort of breast cancer survivors. *Cancer Causes Control* 2013; 24:759–67.

85- Mohr SB, Gorham ED, Kim J, Hofflich H, Garland CF. Meta-analysis of Vitamin D Sufficiency for Improving Survival of Patients with Breast Cancer. *Anticancer Res* 2014; 34: 1163-1166.

86- NCEP - Expert Panel on Detection E, Treatment of High Blood Cholesterol in A. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285(19):2486-97.

87- Gradishar WJ, Anderson BO, Balassanian R, Blair SL, Burstein HJ, Cyr A, Elias AD, Farrar WB, Forero A, Giordano SH, Goetz M, Goldstein LJ, Hudis CA, Isakoff SJ, Marcom PK, Mayer IA, McCormick B, Moran M, Patel SA, Pierce LJ, Reed EC, Salerno KE, Schwartzberg LS, Smith KL, Smith ML, Soliman H, Somlo G, Telli M, Ward JH, Shad DA,

Kumar R. Invasive Breast Cancer Version 1.2016, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. J Natl Compr Canc Netw. 2016 Mar;14(3):324-54.

88- Elston EW, Ellis IO. Method for grading breast cancer. J Clin Pathol 1993;46:189-90.

Wells CA, Heryet A, Brochier J, Gatter KC, Mason DY. The immunocytochemical detection of axillary micrometastases in breast cancer. Br J Cancer. 1984;50:193-7.

89- Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn HJ, et al. Strategies for subtypes— dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. Ann Oncol. 2011;22(8):1736-47.

90- Wells CA, Heryet A, Brochier J, Gatter KC, Mason DY. The immunocytochemical detection of axillary micrometastases in breast cancer. Br J Cancer. 1984;50:193-7.

91- Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, Fitzgibbons PL, Francis G, Goldstein NS, Hayes M, Hicks DG, Lester S, Love R, Mangu PB, McShane L, Miller K, Osborne CK, Paik S, Perlmutter J, Rhodes A, Sasano H, Schwartz JN, Sweep FC, Taube S, Torlakovic EE, Valenstein P, Viale G, Visscher D, Wheeler T, Williams RB, Wittliff JL, Wolff AC. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. Arch Pathol Lab Med 2010 Jun;134(6):907-22.

92- Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer. Ann Oncol. 2013;24(9):2206-23.

93- Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, Allred DC, Bartlett JM, Bilous M, Fitzgibbons P, Hanna W, Jenkins RB, Mangu PB, Paik S, Perez EA, Press MF, Spears PA, Vance GH, Viale G, Hayes DF; American Society of Clinical Oncology.; College of American Pathologists. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. Arch Pathol Lab Med 2014;138(2):241-56.

94- Dowsett M, Bartlett J, Ellis IO, Salter J, Hills M, Mallon E, Watters AD, Cooke T, Paish C, Wencyk PM, Pinder SE. Correlation between immunohistochemistry (HercepTest) and fluorescence in situ hybridization (FISH) for HER-2 in 426 breast carcinomas from 37 centres. J Pathol 2003;199:418–23.

## 7. Anexo

### 7.2. Anexo I – Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMB.



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Prevalência da deficiência de vitamina D em mulheres na pós-menopausa no diagnóstico de câncer de mama

**Pesquisador:** MURILO RENATO MATOS MACHADO

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 61132516.8.0000.5411

**Instituição Proponente:** Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.874.357

##### Apresentação do Projeto:

O projeto é uma pesquisa clínica sem qualquer intervenção com caráter retrospectivo e transversal, realizado em uma coorte de 490 mulheres que foram ou que estão sendo atendidas no ambulatório do HC da FMB.

Os pesquisadores expõem a problemática do câncer de mama, como sendo o de maior prevalência, especialmente entre mulheres no período pós menopausa, expõem ainda a necessidade do diagnóstico precoce para redução da mortalidade.

Com a relação à vitamina D, os autores relatam a função bem estabelecida na reabsorção óssea, e relatam ainda que há efeitos extra-ósseos, como da resposta do sistema imune e na regulação da proliferação e diferenciação celular.

Receptores de vitamina D, que também são expressos em tecido mamário, podem agir no controle da expressão de genes que regulam a proliferação e diferenciação celular. A redução de risco de câncer tem sido atribuída a um efeito antiproliferativo da vitamina D, e também à ação sobre angiogênese e à apoptose. Contudo os estudos epidemiológicos, prospectivos ou caso-controle apresentam dados controversos quanto à concentração de 25(OH)vitamina D e diagnóstico de câncer de mama. De acordo com IOM os

**Endereço:** Chácara Butignolli, s/n

**Bairro:** Rubião Junior

**UF:** SP

**Município:** BOTUCATU

**CEP:** 18.618-970

**Telefone:** (14)3880-1608

**E-mail:** capellup@fmb.unesp.br

dados são inconclusivos e limitados quanto à causalidade da deficiência de vitamina D e câncer de mama. O projeto apresentado justifica-se diante dos potenciais efeitos da vitamina D e importância de reconhecer fatores prognósticos para esta enfermidade.

**Objetivo da Pesquisa:**

Avaliar a prevalência da deficiência de Vitamina D, por meio da concentração 25(OH) sérica em mulheres na pós-menopausa no diagnóstico de câncer de mama

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Os pesquisadores descrevem que os riscos de desconforto na entrevista ou devido à obtenção de sangue para dosagem de vitamina D 25(OH) já foram descritos nas pesquisas anteriores. Os benefícios diretos são relacionados ao reconhecimento de deficiência da vitamina e assim auxiliar na conduta do clínica e possível melhora da qualidade de vida da paciente. A possível correlação entre déficit da vitamina e câncer de mama poderá propor a concentração da 25(OH) como fator de prognóstico de câncer de mama, um importante benefício indireto.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa a ser realizada como dissertação de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia da FMB. Estudo retrospectivo, que utilizará banco de dados de prontuários de pacientes que já participaram de estudos anteriores devidamente aprovados por este CEP (894.368, de 30/11/2014 e 895.001, de 30/11/2014). Serão utilizados os dados clínicos (idade, idade da menopausa, doenças crônicas, terapia hormonal, histórico de câncer de mama), dados antropométricos e de atividade física; e dados bioquímicos de vitamina D 25(OH) e os dados histopatológicos como grau e estágio do tumor, status dos receptores hormonais, a atividade proliferativa epitelial (ki67) e expressão da p-53. Todos os dados histopatológicos, dosagem da 25(OH) e informações clínicas foram coletados anteriormente e constam do banco de dados. Os sujeitos da pesquisa são pacientes, acima de 45 anos em fase pós menopausa com (grupo estudo)ou sem (grupo controle) diagnósticos de câncer de mama. O TCLE, de acordo com os autores do projeto, será aplicado àquelas pacientes que ainda realizam o acompanhamento ambulatorial.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Os documentos obrigatórios são apresentados adequadamente: Folha de Rosto, Anuência da

Continuação do Parecer: 1.874.357

Instituição/EAP; Projeto, e o cronograma apresentado é compatível. TCLE é apresentado na forma de convite, em linguagem clara indicando os objetivos, os benefícios e as informações necessárias obtidas para este estudo, bem como a confidencialidade e participação voluntária.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há pendências

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Projeto de Pesquisa APROVADO, deliberado em reunião EXTRAORDINÁRIA do CEP de 19 de Dezembro de 2.016, sem necessidade de envio à CONEP.

O CEP, no entanto, solicita aos pesquisadores que após a execução do projeto em questão, seja enviado para análise o respectivo "Relatório Final de Atividades", o qual deverá ser enviado via Plataforma Brasil na forma de "NOTIFICAÇÃO".

OBS: LEMBRAMOS QUE A PRESENTE PESQUISA SOMENTE PODERÁ SER INICIADA APÓS DIA 19/12/2016 – DATA DA APROVAÇÃO DO CEP.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_789405.pdf	06/12/2016 16:08:49		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEnovo.docx	06/12/2016 16:07:30	MURILO RENATO MATOS MACHADO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Vitamina_D_Cancer_mama.docx	18/10/2016 16:08:44	MURILO RENATO MATOS MACHADO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	2569_Murilo.pdf	18/10/2016 16:06:36	MURILO RENATO MATOS MACHADO	Aceito
Folha de Rosto	Plataforma_Brasil.pdf	18/10/2016 16:05:48	MURILO RENATO MATOS MACHADO	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	06/09/2016 16:32:41	MURILO RENATO MATOS MACHADO	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Endereço:** Chácara Butignolli, s/n  
**Bairro:** Rubião Junior **CEP:** 18.618-970  
**UF:** SP **Município:** BOTUCATU  
**Telefone:** (14)3880-1608 **E-mail:** capellup@fmb.unesp.br