

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta
tese será disponibilizado
somente a partir de 01/09/2025.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA

MICHELLE SAKO OMODEI

**Suplementação de vitamina D em mulheres com
câncer de mama submetidas a quimioterapia
neoadjuvante: Ensaio clínico randomizado,
duplo-cego, placebo controlado**

TESE DE DOUTORADO

Orientadora: Profa. Titular Eliana Aguiar Petri Nahas

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Carvalho Pessoa

Botucatu

2023

MICHELLE SAKO OMODEI

**Suplementação de vitamina D em mulheres com
câncer de mama submetidas a quimioterapia
neoadjuvante: Ensaio clínico randomizado, duplo-
cego, placebo controlado**

**Tese apresentada à Faculdade de Medicina de
Botucatu, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu
para obtenção do Título de Doutor no
Programa de Pós-Graduação em
Tocoginecologia.**

Orientadora: Profa. Titular Eliana Aguiar Petri Nahas

Coorientador: Prof. Dr. Eduardo Carvalho-Pessoa

Botucatu

2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Omodei, Michelle Sako.

Suplementação de vitamina D em mulheres com câncer de mama submetidas a quimioterapia neoadjuvante : ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo controlado / Michelle Sako Omodei. - Botucatu, 2023

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Eliana Aguiar Petri Nahas
Coorientador: Eduardo Carvalho-Pessoa
Capes: 40101150

1. Mamas - Câncer. 2. Ensaaios clínicos. 3. Terapia Neoadjuvante. 4. Câncer - Tratamento. 5. Vitamina D.

Palavras-chave: Câncer de Mama; Ensaio clínico randomizado; Quimioterapia neoadjuvante; Resposta patológica completa; Vitamina D.

DEDICATÓRIAS

Dedico esta obra primeiramente à minha mãe e maior incentivadora, Eliane Sako, pelo apoio incondicional em todos os momentos e por ser meu exemplo de persistência, foco e dedicação;

Ao meu padrasto, Edson de Jesus Miranda, que pelo seu exemplo de humildade, me trouxe muitas conquistas durante essa trajetória;

Ao meu esposo, Ricardo Batista Capelli, pela inspiração e admiração das nossas semelhanças acadêmicas, por ser fiel aos nossos princípios, pela compreensão, apoio e companheirismo.

À Medicina, meu profundo respeito e amor por esta profissão, que me escolheu para exercer da forma mais ética e íntegra possível.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha orientadora, Professora Titular Eliana Aguiar Petri Nahás, pela impecável orientação técnica e científica em todo o projeto, pela disponibilidade, pela educação e gentileza em todos os momentos, pelo acolhimento e aconselhamento, pela excelência e referência em profissionalismo;

Às queridas pacientes participantes do estudo, sem as quais não seria possível a realização deste trabalho, minha eterna gratidão, respeito e admiração.

AGRADECIMENTOS

À Deus, agradeço pela vida e pelas bênçãos infinitas que recebo todos os dias;

Aos meus familiares, Sako e Omodei, ao meu pai, João Carlos Omodei, e aos meus sogros, Paulo e Wania, por serem compreensivos com minha ausência e orgulhosos com minhas conquistas;

Ao meu co-orientador, Dr. Eduardo Carvalho Pessoa, pela referência, competência e grande educador na área de Mastologia;

Às professoras Dra. Heloisa De Luca Véspoli e a Dra. Carla Pessoa, minhas educadoras na área da Mastologia;

Ao Dr. Daniel Buttros, essencial para o desenvolvimento deste trabalho, meu profundo respeito e gratidão;

Ao meu grande amigo e referência de ser humano e profissional, Dr. Benedito Almeida Filho, pelo brilhantismo em todas as áreas e por ser tão presente, sempre contribuindo com meu aprendizado na área de Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia desde a minha graduação;

Ao programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia, por possibilitar a realização deste trabalho e aos funcionários pela disponibilidade em todas as necessidades.

À Solange Sako Cagliari, secretária da pós-graduação, pela eficiência, auxílio e disponibilidade em todos os serviços prestados, bem como pela educação e gentileza impecáveis durante todo o período;

À Professora Titular Maria Terezinha Serrão Peraçoli, à Dra Vanessa Rocha Ribeiro Vasques e à equipe do laboratório de Imunologia da Reprodução do Departamento de Ciências Químicas e Biológicas - Setor de Imunologia, pela disponibilidade em colaborar na viabilização deste estudo;

À Professora Doutora Débora Cristina Damasceno, à Larissa Lopes da Cruz e à equipe do Laboratório de Pesquisa Experimento de Ginecologia e Obstetrícia (LAPGO), por agregar conhecimento, técnicas e discussões indispensáveis sobre o assunto;

À equipe de enfermagem do setor de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital das Clínicas de Botucatu e da Oncologia do Hospital Estadual Botucatu, em especial à técnica Marlene Cordeiro, pela eficiência, cuidados com as pacientes e auxílio direto e indireto;

Ao Professor Livre-Docente Leandro Gustavo de Oliveira, pela disponibilidade de equipamentos do laboratório responsável;

À aluna vinculada a este estudo, Jackeline Stieglitz Chemicoviaki, pela dedicação e organização;

Ao escritório de Apoio à Pesquisa (EAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP, em especial a José Eduardo Corrente, pela assessoria estatística e análise dos resultados do estudo.

Às bibliotecárias da Biblioteca Central do Campus de Botucatu – UNESP pela elaboração da ficha catalográfica.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, colaboraram para a realização desse trabalho e que principalmente contribuíram para a minha formação.

Esta pesquisa contou com o apoio financeiro:

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP

Auxílio à Pesquisa- Processo nº 2019/01351-8

SUMÁRIO

	Página
Lista de Abreviaturas	10
Resumo	12
Abstract	14
1. Introdução	16
2. Objetivos	36
3. Métodos	37
4. Resultados	
4.1. Artigo Original	
Efeito da suplementação de vitamina D sobre a resposta patológica completa em mulheres com câncer de mama submetidas a quimioterapia neoadjuvante: ensaio clínico randomizado.	45
5. Conclusões	82
6. Referências	83
7. Anexos	96
7.1. Anexo I - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	96
7.2. Anexo II- Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FMB	98
7.3. Anexo III-Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) 2010	100

LISTA DE ABREVIATURAS

1,25(OH)₂D - 1,25-diidroxivitamina D, calcitriol

25(OH)D - 25 hidroxivitamina D, calcidiol

AC - Doxorrubicina associado a ciclofosfamida

ACdd – Doxorrubicina associado a ciclofosfamida dose-densa

ACS – *American Cancer Society*

AJCC – *American Joint Committee on Cancer*

ANOVA – Análise de variância

ASCO - *American Society of Clinical Oncology*

CAAE - Certificado de Apresentação de Apreciação Ética

CAM - Centro de Avaliação em Mastologia

CDK - Quinases ciclina-dependents

CMIA - *Chemiluminescent Microparticle Immunoassay*

CONSORT - *Consolidated Standards of Reporting Trials*

CSS – *Cancer specific survival*

CTNeoBC - *Collaborative Trials in Neoadjuvant Breast Cancer*

DFS – *Disease-Free Survival*

EAP - Escritório de Apoio à Pesquisa

ELISA- *Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay*

EUA – Estados Unidos da América

FISH - *Fluorescence in situ hybridization*

FMB - Faculdade de Medicina de Botucatu

GLOBOCAN - *Global Cancer Statistics*

H - Herceptin

HER2 - Fator de crescimento epidérmico humano 2

HR – *Hazard ratio*

IC - Intervalo de confiança

IMC – Índice de massa corpórea

INCA – Instituto Nacional do Câncer

NCCN - *Clinical Practice Guidelines in Oncology*

OMS- Organização Mundial de Saúde

OS – *Overall survival*

PL – Placebo

PTH – paratormônio

QT – Quimioterapia

RE - Receptor de estrogênio

ReBEC - Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos

RP - Receptor de progesterona

RPC – Resposta Patológica Completa

RR – *Risk ratio*

SAS - *Statistical Analyses System*

T - Taxano

TC - Taxano associado a carboplatina

TNM - tamanho do tumor, status linfonodal, metástase

UI – Unidades

UNESP - Universidade Estadual Paulista

UVB - Ultravioleta B

VD – Vitamina D

VDR – Receptor de Vitamina D

Resumo

Objetivo: avaliar a taxa de resposta patológica completa (RPC) com a suplementação de vitamina D (VD) em mulheres com câncer de mama, submetidas à quimioterapia (QT) neoadjuvante.

Métodos: Foi conduzido ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado envolvendo 80 mulheres com idade ≥ 45 anos e diagnóstico recente histológico de câncer de mama, elegíveis para QT neoadjuvante. Foram excluídas mulheres com doença renal crônica (creatinina >1.4 mg/dL), doenças hepáticas, síndrome de má absorção, obesidade grau III (IMC ≥ 40 kg/m²), e usuárias de doses farmacológicas de VD. Estimou-se tamanho amostral de no mínimo 36 mulheres com câncer de mama por grupo (intervenção e placebo, n=72). As pacientes foram randomizadas em dois grupos: VD, com suplementação diária de 2000UI de colecalciferol (n=40) e PL, usuárias de placebo (n=40), durante período da QT neoadjuvante (6 meses). A medida de desfecho primário foi a RPC. Os valores séricos de 25-hidroxivitamina D [25(OH)D] foram mensurados em dois momentos, no diagnóstico do câncer de mama e ao final da realização da QT neoadjuvante, empregando imunoensaio [25(OH) Vitamin D ELISA kit - ab213966] pela técnica de ELISA (*Enzyme- Linked Immuno Sorbent Assay*). A partir dos relatórios médicos foram coletados os dados clínicos, anatomopatológicos, imuno-histoquímicos e quimioterápicos. A análise estatística foi *per protocol*, empregando-se os Teste t-Student, Teste do Qui-Quadrado, Distribuição Gama, ANOVA e regressão logística (OR, odds ratio).

Resultados: Das 80 mulheres randomizadas, 75 pacientes completaram a QT neoadjuvante e realizaram a cirurgia. A média de idade das pacientes incluídas foi de 54.7 ± 8.6 anos para o grupo VD e de 56.3 ± 7.1 anos para o grupo PL ($p>0.05$). Os valores médios iniciais de

25(OH)D indicavam hipovitaminose D nos grupos VD e PL (19.6 ± 5.8 ng/mL e 21.0 ± 7.9 ng/mL, respectivamente ($p=0.331$). E no momento final da intervenção foi demonstrado aumento nos valores no grupo suplementado, com diferença significativa entre os grupos VD e PL ($28.0 \pm 8,7$ ng/mL vs 20.2 ± 6.1 ng/mL, respectivamente) ($p=0.032$). As mulheres suplementadas com VD apresentaram maior porcentagem de RPC quando comparada as mulheres do grupo PL (55.3% vs 32.4%, $p=0.046$). Na comparação entre as mulheres que apresentaram RPC no grupo VD ($n=21$) e no placebo ($n=12$) não foram observadas diferenças significativas na distribuição percentual entre os grupos na maioria das variáveis clínicas, anatomopatológicas e imunohistoquímicas e tratamentos quimioterápicos ($p>0.05$). Foi observado no grupo VD menor ocorrência de tumores de alto grau histológico quando comparado grupo PL (52.4% vs 75.0%, respectivamente, $p=0.040$). No grupo VD foi encontrada maior porcentagem de mulheres com valores suficientes de VD [25(OH)D ≥ 30 ng/mL] quando comparadas a mulheres do grupo PL (61.9% vs 25.0%, respectivamente, $p=0.005$). Considerando como desfecho a RPC, quando realizado um modelo de regressão logística, ajustado para variáveis que interferem na RPC (anatomopatológicas, imunohistoquímicas e tratamentos quimioterápicos), mulheres com valores de 25(OH)D ≥ 30 ng/mL apresentaram maior chance de obter RPC em relação às mulheres com deficiência de VD (OR 0.033 IC 95% 0.006-0.173, $p<0.001$).

Conclusões: No presente estudo, mulheres com câncer de mama submetidas a QT neoadjuvante e a suplementação de 2000UI de VD apresentaram maior chance de obter taxa de RPC quando comparada às mulheres do grupo placebo.

Abstract

Objective: to evaluate the pathological complete response (PCR) rate with vitamin D (VD) supplementation in women with breast cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy (CT).

Methods: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial was conducted involving 80 women aged ≥ 45 years with recent histological diagnosis of breast cancer, eligible for neoadjuvant CT. Women with chronic kidney disease (creatinine >1.4 mg/dL), liver diseases, malabsorption syndrome, grade III obesity ($BMI \geq 40$ kg/m²), and users of VD pharmacological doses were excluded. A sample size of at least 36 women with breast cancer per group (intervention and placebo, $n=72$) was estimated. Patients were randomized into two groups: VD, with daily supplementation of 2000UI of cholecalciferol ($n=40$) and PL, users of placebo ($n=40$), during the neoadjuvant CT period (6 months). The primary outcome measure was PCR. Serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] values were measured, in two moments, at diagnosis of breast cancer, and at the end of the neoadjuvant CT, using immunoassay [25(OH) Vitamin D ELISA kit - ab213966] by the ELISA technique (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay). From the medical reports, clinical, anatomopathological, immunohistochemical, and CT data were collected. Statistical analysis was per protocol, using Student's t-test, Chi-square test, Gamma distribution, ANOVA and logistic regression (OR, odds ratio).

Results: Of the 80 women randomized, 75 patients completed neoadjuvant CT and underwent surgery. The mean age of the included patients was 54.7 ± 8.6 years for the VD group and 56.3 ± 7.1 years for the PL group ($p>0.05$). Mean baseline 25(OH)D values indicated hypovitaminosis D in the VD and PL groups, 19.6 ± 5.8 ng/mL and 21.0 ± 7.9 ng/mL, respectively ($p=0.331$). And at the end of the intervention, an increase was

demonstrated in the supplemented group, with a significant difference between the VD and PL groups (28.0 ± 8.7 ng/mL vs 20.2 ± 6.1 ng/mL, respectively) ($p=0.032$). Women supplemented with VD had a higher percentage of PCR when compared to women in the PL group (55.3% vs 32.4%, $p=0.046$). Comparing the women who had PCR in the VD group ($n=21$) and in the PL group ($n=12$), no significant differences were observed in the percentage distribution between the groups in most clinical, anatomopathological, and immunohistochemical variables and CT treatments ($p>0.05$). A lower occurrence of high histological grade tumors was observed in the VD group when compared to the PL group (52.4% vs 75.0%, respectively, $p=0.040$). In the VD group, a higher percentage of women with sufficient VD values [$25(\text{OH})\text{D} \geq 30\text{ng/mL}$] was found when compared to women in the PL group (61.9% vs 25.0%, respectively, $p=0.005$). Considering PCR as an outcome, when a logistic regression model was performed, adjusted for variables that interfere with PCR (anatomopathological, immunohistochemical, and CT treatments), women with values of $25(\text{OH})\text{D} \geq 20\text{ng/mL}$ were more likely to reach PCR than those with women with VD deficiency (OR 0.10, 95% CI 0.02-0.61, $p=0.013$).

Conclusions: In the present study, women with breast cancer undergoing neoadjuvant CT and supplementation with 2000UI of VD were more likely to reach PCR rate when compared to women in the placebo group.

1. INTRODUÇÃO

1.1. Câncer de Mama e Resposta Patológica Completa

O câncer de mama é a neoplasia mais frequente entre as mulheres em todo o mundo, tanto em países em desenvolvimento quanto em países desenvolvidos (Smith et al, 2019). De acordo com as últimas estatísticas mundiais do *Global Cancer Statistics* (GLOBOCAN), divulgadas em 2020, foram estimados 2,3 milhões de novos casos de câncer de mama, o que representou 25% de todos os tipos de câncer diagnosticados em mulheres. Foi a quinta causa de mortalidade por câncer em mulheres, sendo responsável por uma em cada seis mortes por câncer e 685 mil óbitos pela doença, ocupando o primeiro lugar em incidência em 159 países e o primeiro em mortalidade em 110 países (Smith et al, 2019; Sung et al, 2021). Para 2040, a OMS (Organização Mundial de Saúde) prevê quase três milhões de novos casos, alcançando a estimativa de um milhão de óbitos (Smith et al, 2019). No Brasil, o Instituto Nacional de Câncer (INCA) estima 73.610 casos novos de câncer de mama para cada ano do triênio 2023-2025. Esse valor corresponde a um risco estimado aproximado de 70 casos novos a cada 100 mil mulheres. Excetuando-se os tumores de pele não melanoma, o câncer de mama ocupa a primeira posição em todas as regiões brasileiras, correspondendo a 30,1% dos casos de câncer em mulheres (INCA, 2023). 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 (INCA, 2023).

Segundo os dados do Instituto Nacional do Câncer nos Estados Unidos, a taxa geral de mortalidade por câncer de mama tem diminuído desde 1989, quando a taxa de

mortalidade era de 33.2/100.000 e em 2015 de 20.3/100.000, demonstrando redução significativa de 39% (ACS, 2020). O declínio na mortalidade por câncer de mama é atribuído tanto a melhorias no tratamento quanto à detecção precoce. 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 (Tabar et al, 2011; Smith et al, 2019). A mamografia demonstrou ser capaz de promover redução na mortalidade. Importante estudo populacional sueco, avaliando 133 mil mulheres com idade entre 40 e 74 anos, com ou sem rastreamento mamográfico preconizado, observou que após 29 anos de acompanhamento houve redução de 30% no risco de morte por câncer de mama no grupo com rastreamento (Tabar et al, 2011). Os programas de rastreio são amplamente discutidos na literatura principalmente quanto à idade e periodicidade, apesar da mamografia anual a partir dos 40 anos demonstrar ser a estratégia mais eficaz (Moss et al, 2015; Smith et al, 2019; Sung et al, 2021).

Com o diagnóstico precoce do câncer de mama possibilitado pelo programa de rastreamento, são indicados tratamentos que permitem o aumento significativo da sobrevida das pacientes (Pan et al, 2017). Dentre as modalidades de tratamento do câncer de mama, a quimioterapia neoadjuvante ou adjuvante, é realizada com o objetivo de melhorar as condições de ressecção tumoral e os resultados prognósticos, diminuindo o risco de recorrência (Korde et al, 2021). O tratamento neoadjuvante, historicamente, era reservado para reduzir o tamanho e a extensão de tumores localmente avançados. Atualmente, de forma mais ampla, além de aumentar a probabilidade de controle do tumor e o potencial de cura, os ensaios neoadjuvantes permitem uma avaliação rápida da eficácia do medicamento e podem acelerar o desenvolvimento e a aprovação de tratamentos (Cortazar et al, 2014; Korde et al, 2021). Esta abordagem terapêutica permite uma avaliação *in vivo* da sensibilidade tumoral a quimioterapia empregando os dados de

resposta patológica completa. O tratamento sistêmico consiste em regimes quimioterápicos, podendo variar de acordo com a indicação personalizada realizada pelo oncologista, sendo possível incluir: doxorrubicina e ciclofosfamida (com ou sem dose-densa), taxanos (com ou sem dose-densa), terapia anti-HER (p.ex: trastuzumabe) e carboplatina (NCCN, 2023).

A partir de importante grupo de trabalho internacional conhecido como *Collaborative Trials in Neoadjuvant Breast Cancer Ensaios* (CTNeoBC) com investigadores que realizaram ensaios com tratamentos neoadjuvantes com dados de longo prazo disponíveis, foi realizada grande análise para avaliar a associação entre resposta patológica completa (RPC), sobrevida livre de doença e sobrevida global (Cortazar et al, 2014). A partir de dados de 12 estudos internacionais identificados e 11.955 pacientes incluídas, foram comparadas as três definições de RPC mais comumente usadas para estabelecer sua associação com o resultado em longo prazo: ypT0 ypN0 (ausência de câncer invasivo e carcinoma *in situ* na mama e em linfonodos axilares), ypT0/is ypN0 (ausência de câncer invasivo na mama e linfonodos axilares, independentemente de carcinoma ductal *in situ*) e ypT0/is (ausência de câncer invasivo na mama, independentemente de carcinoma ductal *in situ* ou envolvimento nodal). A erradicação do tumor da mama e dos gânglios linfáticos (ypT0 ypN0 ou ypT0/is ypN0) foi associada positivamente à melhora da sobrevida livre de doença e da sobrevida global quando comparada a erradicação do tumor apenas da mama (ypT0/is). A associação entre a RPC e os resultados em longo prazo foi mais forte em pacientes com câncer de mama triplo negativo e naqueles com tumores HER2-positivos e receptores hormonais negativos que receberam trastuzumabe. A presença ou ausência de carcinoma ductal *in situ* não afetou o resultado em longo prazo (Cortazar et al, 2014).

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 D₃). A maior fonte de VD decorre da ativação na pele (derme e epiderme) a partir da exposição aos raios UVB, em que o composto 7-deidrocolesterol que se transforma em vitamina D₃, sendo armazenada e liberada pelas células de gordura (Rosen, 2011). Essa forma, cuja ativação não é metabólica, necessita das funções hepáticas e renais preservadas. A vitamina D₃ é transportada pela corrente sanguínea até o fígado, onde sofre uma hidroxilação no carbono 25, 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, nos túbulos proximais dos rins, sob a ação da enzima 1 α -hidroxilase, transformando-se em 1,25-diidroxivitamina D [1,25(OH)₂D] ou calcitriol, que é responsável pelos efeitos biológicos (Heaney et al, 2011). O calcitriol exerce suas ações biológicas principalmente através do receptor da vitamina D (VDR), um receptor nuclear, embora ações não genômicas também tenham sido descritas (Holick et al 2011; Saponaro F., 2020). VDRs e 1 α -hidroxilase são expressos em muitos tecidos, como células imunes (macrófagos, monócitos), cardiomiócitos, células musculares lisas vasculares e células β no pâncreas e tecidos do trato reprodutivo (Holick et al 2011; Anagnostis P., 2013).

A forma ativa pode ser considerada um hormônio, pois é sintetizado em humanos, e submetido à regulação autócrina e interage com receptor nuclear (Rosen, 2011). 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 (Dawson-Hughes et al, 2005; Holick, 2010). 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) (Holick et al, 2011). Número crescente de estudos sugere que são necessários

valores acima de 30ng/mL para garantir melhor disponibilidade de VD (Dawson-Hughes et al, 2010; Hanley et al, 2010; Holick, 2010). 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 (Holick et al, 2011). A deficiência da VD pode ser confirmada pela aferição dos níveis séricos de 25(OH)D.

Reconhece-se que a deficiência de VD é condição médica frequente em todo mundo (Hilger et al, 2014). Mesmo moradores de regiões próximas a 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 (Lips et al, 2006). Valladares et al, analisando 21.236 mulheres, considerando limite de 30 ng/mL (75 nmol/L), relataram taxas de prevalência para hipovitaminose D de 73,6%, 78,6%, 86,1%, 81,5% e 90,4% na Europa, América do Norte, África, Oriente Médio e Ásia, respectivamente (Valladares et al, 2019).

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 (Unger et al, 2010; Maeda et al, 2013). Recente estudo de corte transversal, realizado no Ambulatório de Climatério e Menopausa de FMB, com 466 mulheres na pós-menopausa, idade entre 45-75 anos, detectou valores suficientes de vitamina D em 148 mulheres (31,8%), insuficientes em 151 (32,62%) e deficientes em 164 (35,4%) (Schmitt et al, 2018). 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 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 (Holick, 2004).

Sabendo-se que as fontes dietéticas de vitamina D são inadequadas, é interessante que mulheres na pós-menopausa recebam suplementação para garantir a saúde óssea (Holick, 2010). Em 2010, a *International Osteoporosis Foundation* 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 (Dawson-Hughes et al, 2010). Em contraste, *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 (Rosen et al, 2012). 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 (Rosen et al, 2012). 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 (Mason, 2011). Em geral, para cada 100UI de VD suplementada há aumento de 1 ng/mL a nível sérico de 25(OH)D e quanto menor os valores séricos basais, melhor a resposta a suplementação. Quando os valores séricos de 25(OH)D estão muito abaixo do desejado (abaixo de 20 ng/mL), o esquema de ataque é necessário para repor os estoques corporais. O esquema mais utilizado atualmente é de 50.000UI/semana (ou 7.000 UI/dia) de VD por 6 a 8 semanas. Após esse período, a dose de manutenção deve ser instituída e varia de acordo com a faixa etária e com as condições

concomitantes. Para adultos, doses de manutenção variam entre 400 e 2.000 UI, a depender da exposição solar e da coloração da pele. Para idosos, as doses recomendadas variam de 1.000 a 2.000 UI/dia ou 7.000 a 14.000 UI/semana (Holick et al, 2011; Maeda et al, 2014). A suplementação destina-se a elevar valores séricos de 25(OH)D acima de 30ng/mL de modo a aproveitar o máximo os benefícios da VD (Bischoff-Ferrari et al, 2006).

1.3. Câncer de mama e Vitamina D

A vitamina D (VD) é um derivado do colesterol que atua via metabólito 1,25(OH)₂D₃ e pelo receptor de alta afinidade, atuando como regulador direto do epigenoma e transcrição de grande variedade de tecidos humanos e tipos de células, incluindo células tumorais malignas. O efeito proeminente da VD na proliferação, diferenciação e apoptose das células imunes também tem consequências nas células cancerígenas. As células tumorais malignas são controladas diretamente em seu crescimento através dos mesmos genes e vias das células imunes ou indiretamente por células imunes moduladas em seu microambiente (Carlberg et al, 2022). O efeito da VD na glândula mamária é mediado pelas ações do receptor de vitamina D (VDR) (Hossain et al, 2019). O VDR foi identificado pela primeira vez em linhagem de células do câncer de mama em 1979 (Eisman et al, 1979). Sabe-se hoje que a VD possui múltiplas ações antiproliferativas, pró-apoptóticas e pró-diferenciadoras em diferentes células malignas, mediadas por VDR (Hossain et al, 2019).

A relação entre a hipovitaminose D e o câncer de mama tem sido cada vez mais estudados justamente pelos efeitos anticancerígenos em microambientes tumorais. De fato, a VD parece desempenhar papel fundamental na via do ciclo celular, especialmente no câncer de mama, intervindo no ciclo celular por meio de quinases, como ciclinas, quinases dependentes de ciclina e moduladores fisiológicos de CDK (Verliden et al, 1998). Além disso, o VD tem um efeito antiproliferativo e um estresse antioxidativo, atividades

antivasivas e antiangiogênicas. (Al-Azhiri et al, 2017). A VD também pode ter um efeito sinérgico na atividade antitumoral de alguns agentes antineoplásicos, como antraciclinas e taxanos (Hershberger et al, 2001).

A relevante função desempenhada pela VD sobre a massa óssea está bem definida, contudo efeitos extra ósseos da VD sobre o câncer de mama estão sob investigação atual. Vários estudos têm relatado elevada frequência de hipovitaminose D em pacientes com câncer de mama (Neuhouser et al, 2008; Crew et al, 2009; Napoli et al, 2010; Vashi et al, 2010; O'Brien et al, 2017; Machado et al, 2018; Voutsadakis, 2021). Estudo identificou que 74% das pacientes com câncer de mama apresentavam deficiência de VD (<20 ng/mL) e que apesar da prescrição de 400UI de VD/dia, poucas pacientes (<15%) atingiram valores desejáveis de VD (>30 ng/mL) (Crew et al, 2009). Em estudo retrospectivo com avaliação de 500 mulheres recém-diagnosticadas com câncer de mama, 69% eram deficientes para VD (Vashi et al, 2010). Entretanto, alguns estudos que encontraram associação entre valores reduzidos de 25(OH)D com a maior incidência do câncer de mama 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 (Chlebowski, 2011).

Estudo de coorte americana com mais de 50.000 mulheres com idades entre 35 e 74 anos demonstrou associação entre níveis séricos mais baixos de 25(OH)D com maior incidência de câncer de mama na pós-menopausa durante um acompanhamento de cinco anos (O'Brien et al, 2017). Pesquisa realizada no Centro de Mastologia da FMB, avaliando 209 mulheres com câncer de mama comparado a 418 mulheres (controle), com idade entre 45-75 anos, observou 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 as pacientes do grupo controle (55.6% vs 49.3%, $p=0.039$ e 26.2% vs 20.3%, respectivamente). As dosagens de 25(OH)D foram realizadas no momento do diagnóstico do câncer de mama (Machado et al 2018). Metanálise, com um total de 25 estudos, encontrou nível médio de 25(OH)D em pacientes com câncer de mama de 26,8 ng/mL e de 31,4 ng/mL em mulheres sem câncer de mama. Entre pacientes com câncer de mama, 45,3% apresentavam valores abaixo de 20 ng/mL, enquanto esse percentual foi de 33,7% nos controles. Da mesma forma, 67,4% das pacientes com câncer de mama tinham valores basais abaixo de 30 ng/mL, enquanto esse percentual foi de 33,1% em controles. Alta prevalência de hipovitaminose D é observada em pacientes com câncer de mama recém-diagnosticado e pode estar fisiopatologicamente ligada ao desenvolvimento ou progressão do câncer de mama (Voutsadakis et al, 2021).

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 (McCullough et al, 2009; Almquist et al, 2010; Eliassen et al, 2011; Amir et al, 2012; Scarmo et al, 2013), enquanto outros encontraram associação inversa significativa (Bertone-Johnson et al, 2005; Rejnmark et al, 2009; Engel et al, 2010). Em estudo caso-controle com duas coortes prospectivas, *the New York University Women's Health Study and the Northern Sweden Mammary Screening Cohort*, que envolveram 14.274 mulheres saudáveis (34 a 65 anos idade) de uma clínica de mamografia da cidade de Nova York e 28.800 participantes de um programa de rastreamento do câncer de mama na Suécia. Foram incluídos 1585 casos novos de câncer de mama e 2940 controles. Não houve associação entre os valores circulantes de 25(OH)D e risco global do câncer de mama (Scarmo et al, 2013). 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 (Bertone-Johnson et al, 2005), enquanto o estudo de

coorte francês E3N demonstrou efeito mais forte em mulheres abaixo dos 53 anos de idade (Engel et al, 2010). 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 (Engel et al, 2010).

Estudo, avaliando a ingestão de VD e cálcio e o risco de câncer de mama em mulheres japonesas na pré e pós-menopausa, incluiu 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 (Kawase et al, 2010). Por outro lado, mulheres participantes do estudo *Women's Health Initiative* (WHI) foram randomizadas a receber 1000mg de cálcio associado a 400 UI 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 (Chlebowski et al, 2007). 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 forte evidência de que a VD tem efeito quimiopreventivo contra o câncer de mama (Chen et al, 2010).

A concentração de VD poderia ser considerada um fator prognóstico em pacientes com câncer de mama (Kim et al, 2011). Um estudo observou que mulheres com valores deficientes de VD apresentaram maior risco de recorrência e morte quando comparadas as mulheres com valores adequados (Goodwin et al, 2009). Alguns estudos não observaram associação entre a VD com a presença de receptor estrogênio positivo ou negativo no câncer de mama (McCullough et al, 2009; Agborsangaya et al, 2010). Entretanto, em estudo

que investigou o efeito da ingestão de VD e cálcio sobre status do receptor tumoral em 713 casos de câncer de mama, demonstrou que tumor receptor de estrogênio (RE) e receptor de progesterona (RP) positivos e receptor do fator de crescimento epidérmico humano (HER-2) negativo associou-se com a ingestão de VD entre mulheres na pré-menopausa (Kawase et al, 2010). Estudo analisando a associação entre os valores séricos de VD e o prognóstico do câncer de mama, de acordo com subtipos de câncer pela imunohistoquímica em 310 mulheres, observou que em 54,8% os valores de VD foram deficientes (<30ng/mL). A concentração de 25(OH)D foi inversamente associada ao prognóstico de pacientes com câncer RE positivo e HER-2 negativo, mas não com os subtipos HER-2 positivo ou triplo negativo (Kim et al, 2011).

Estudo realizado no Centro de Avaliação em Mastologia da FMB analisou a associação entre a deficiência de VD e o perfil imuno-histoquímico do câncer de mama em 192 mulheres na pós-menopausa. O valor médio de 25(OH)D foi de 25,8 ng/mL (12,0 a 59,2 ng/mL). Valores suficientes de VD foram detectados em 65 pacientes (33,8%) e deficientes em 127 (66,2%). Todos os casos de tumores triplos negativo foram detectados em mulheres com deficiência de VD. A análise multivariada, ajustada para idade, tempo de menopausa e índice de massa corpórea, mostrou que pacientes com deficiência de VD apresentaram maior risco para tumores RE negativo (OR 4.18, CI 95% 1.17-15.87) e Ki-67 positivo (OR 2.78, CI 95% 1.34-66.65), e com comprometimento linfonodal axilar (OR 2.26, CI 95% 1.10-5-16). Concluindo que mulheres na pós-menopausa com câncer de mama com deficiência de VD apresentam maior risco para tumores com perfil imuno-histoquímico de pior prognóstico (Almeida-Filho et al, 2017). Em 2022, os mesmos autores, estudaram a associação entre os valores séricos de VD no momento do diagnóstico e a sobrevida em mulheres na pós-menopausa tratadas do câncer de mama. Foi observado que a deficiência de VD no momento do diagnóstico associou-se a menor sobrevida global, sobrevida livre

de doença e sobrevida específica do câncer em comparação às pacientes com valores suficientes de VD, independentemente dos fatores prognósticos do câncer de mama (idade, estágio e tamanho do tumor, status linfonodal, receptores hormonais e subtipos moleculares do câncer de mama) (Almeida-Filho et al, 2022).

Meta-análise realizada a partir de cinco estudos que avaliaram a relação entre a VD e a mortalidade pelo de câncer de mama, demonstrou que valores plasmáticos elevados de 25(OH)D estiveram associados com menores taxas de mortalidade após o diagnóstico. 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. 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 (Mohr et al, 2014). Contudo, outras revisões concluíram que as evidências atuais são insuficientes para recomendar a suplementação de VD na prevenção do câncer de mama, e que mais pesquisas clínicas são necessárias (IARC, 2008; IOM, 2010; Chung et al, 2011). 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 (Ross et al, 2011).

Em estudo de revisão, que incluiu um total de 30 estudos prospectivos com 6092 pacientes com câncer de mama, avaliou a associação entre os níveis séricos de VD e o risco de câncer de mama ou mortalidade. Os resultados sugerem que valores circulantes mais elevados de 25(OH)D foram fracamente associados com menor risco de câncer de mama, mas fortemente associados com melhor sobrevida entre pacientes com câncer de mama (Kim et al, 2014). O potencial efeito benéfico no prognóstico do câncer de mama com a VD foi confirmado em metanálise que demonstrou que níveis circulantes de 25(OH)D elevados, medidos no diagnóstico, associaram-se com redução de 25% na mortalidade por câncer de mama (HR 0,75; IC 95% 0,56 a 0,95) (Vaughan-Shaw et al, 2017).

1.4. Câncer de Mama e Suplementação da Vitamina D

Estudo pré-clínico demonstrou a presença da enzima 1 α -hidroxilase (CYP27B1) em células epiteliais mamárias normais e malignas. Esta enzima é responsável pela conversão do pró-hormônio circulante 25(OH)D3 na forma ativa 1,25(OH)2D (Kemmis et al, 2006). Esta observação indicaria a possibilidade de que a suplementação de VD possa ser usada no tratamento do câncer de mama. Pois, aumentar os valores sanguíneos de 25(OH)D através da suplementação de VD fornece níveis aumentados do substrato em tecidos alvo como a mama, para a produção local de calcitriol, que poderia então exercer ações autócrinas/parácrinas para inibir o crescimento do câncer de mama (Krishnan e tal, 2012). A VD altera os genes implicados no crescimento celular, afetando a proliferação, a apoptose, a diferenciação, a angiogênese, a invasão e a metástase (Feldman et al, 2014), exercendo efeitos anticancerígenos através de vários mecanismos: efeitos antiproliferativos, indução de apoptose, inibição de invasão e metástase, e inibição da angiogênese (Pandolfi et al, 2017). Em 2013, Poole et al. avaliaram o uso de suplementos pós-diagnóstico e o risco de morte ou recorrência no estudo *After Breast Cancer Pooling*, em quatro coortes com 12.019 mulheres tratadas de câncer de mama dos Estados Unidos e da China. O uso de suplementos (vitaminas A, B, C, D, E e multivitaminas) pós-tratamento foi avaliado de um a cinco anos após o diagnóstico. O uso de suplementos antioxidantes (multivitaminas, vitamina C ou E) não foi associado à recorrência, mas foi associado a um risco 16% menor de morte (IC 95%: 0,72–0,99). A suplementação de vitamina D, independentemente da dose ou dos níveis sanguíneos basais de 25 (OH)D, associou-se à redução do risco de recorrência entre os tumores RE positivos, mas não os tumores RE negativos (Poole et al, 2013). Huss et al. estudaram a expressão de VDR em 718 tumores de mama invasivos e a variação entre a expressão de VDR e os fatores prognósticos estabelecidos para o câncer de mama, bem como as associações entre a expressão de VDR

e a mortalidade por câncer de mama. Em comparação com o tecido mamário normal, as lesões de câncer de mama expressaram mais VDR. Nesse estudo a alta expressão de VDR em tumores de mama invasivos está associada a fatores prognósticos favoráveis e a baixo risco de morte por câncer de mama. Portanto, alta expressão de VDR é um fator prognóstico positivo (Huss et al, 2019).

Crew et al. avaliaram a prevalência de deficiência de VD em mulheres na pré-menopausa no início da quimioterapia adjuvante para câncer de mama. Foram incluídas 103 mulheres norte-americanas na pré-menopausa (mediana 43 anos) com estágios I a III de câncer de mama que receberam quimioterapia adjuvante e participaram de um estudo de intervenção de 1 ano com ácido zoledrônico associado a vitamina D3 (colecalfiferol) 400 UI e carbonato de cálcio 1.000 mg por dia. No início do estudo, 74% das mulheres eram deficientes em VD (mediana 17 ng/mL). Após um ano de suplementação apenas 15% das mulheres atingiram níveis séricos suficientes de 25(OH)D. Os autores concluem que a deficiência de VD é altamente prevalente em mulheres com câncer de mama. A dose de VD suplementada foi baixa para aumentar a 25(OH)D sérica acima de 30 ng/mL. A dosagem ideal para melhorar a sobrevivência ainda não foi determinada (Crew et al, 2009). Zeichner et al., em estudo retrospectivo, avaliaram todas as pacientes que receberam quimioterapia com trastuzumabe entre 2006 e 2012 na Universidade de Miami, EUA. Foram identificados dois grupos de pacientes para comparação, aquelas que receberam suplementação de VD (60% dose <10.000 unidades/semana) durante a quimioterapia neoadjuvante (n = 134, em média 54 anos) e aquelas que não receberam (n = 112, em média 49 anos). O uso de VD associou-se com maior intervalo livre de doença (HR 0.36; IC 95%, 0.15-0.88), enquanto maior tamanho tumoral associou-se com menor intervalo livre de doença (HR 3.52; IC 95% 1.06-11.66). A suplementação de VD em pacientes com câncer de mama HER2 não metastático está associada à melhora da sobrevida livre de doença. Os autores concluem

que esse estudo foi o primeiro a relatar melhora significativa na sobrevida livre de doença para pacientes que receberam suplementação de VD concomitantemente com quimioterapia com trastuzumabe para o câncer de mama HER2 não metastático (Zeichner et al., 2015).

A VD altera os genes implicados no crescimento celular, através da regulação positiva da E-caderina, estimulando assim a diferenciação celular e a apoptose (Augustin et al, 2017). A relação dose-resposta dos níveis séricos de 25(OH)D para benefício sobre o câncer de mama parece inversa e linear até 60 ng/ml (Augustin et al, 2017). Em análise de resultados de estudos populacionais, Garland et al. demonstraram que a ingestão de 2.000 UI/dia de VD3 levaria a redução de 25% na incidência de câncer de mama na América do Norte (Garland et al, 2009). Para ingestão diária, dose de 2.000 UI/dia de VD é o limite superior proposto pela *National Academy of Sciences* (NAS, 1997) e para o *Institute of Medicine* (Ross et al, 2011) é de 4.000UI/dia. Aproximadamente 220.149 novos casos de câncer de mama seriam evitados anualmente no mundo elevando as concentrações séricas de 25(OH)D para aproximadamente 40 a 60 ng/mL, que é, em geral, associada à ingestão oral de 2.000 UI de vitamina D3 por dia (Garland et al, 2009). Em 2014 foi realizada uma meta-análise com ensaios clínicos randomizados controlados com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de VD sobre a incidência total de câncer em geral e a mortalidade. Foram incluídos na análise quatro ensaios clínicos com 4333 casos combinados. A suplementação de VD com 2 a 7 anos de duração apresentou pequeno efeito na incidência total de câncer (dose de 400–1100 UI por dia), mas com redução significativa na mortalidade total por câncer (dose de 400-833 UI por dia) (Keum & Giovannucci, 2014).

Madden et al. identificaram 5417 mulheres entre 50 e 80 anos com histórico de câncer de mama invasivo no banco de dados do *National Cancer Registry Ireland*. A partir de dados de farmácias sobre a prescrição nacional foi encontrado que 2581 mulheres (49%)

iniciaram o uso de VD após o diagnóstico de câncer de mama e a grande maioria (98%) destas, em associação ao cálcio, e 2% suplementação isolada de VD. Foi observada redução de 20% na mortalidade específica por câncer de mama entre as usuárias de VD comparada a não usuárias (HR 0.80; IC95% 0.64–0.99) e a redução foi maior de 49% (HR 0.51; IC95% 0.34-0.74), se a suplementação VD foi iniciada logo após o diagnóstico do câncer de mama (até seis meses). Esses resultados indicam que o uso de VD pós-diagnóstico associou-se à redução na mortalidade específica por câncer de mama, sendo influenciado também pelo tempo de início da suplementação. A VD, portanto, tem potencial como agente não tóxico e barato para melhorar a sobrevivência em pacientes com câncer de mama, apoiando a necessidade de mais estudos clínicos randomizados antes que a suplementação de VD possa ser considerada terapia adjuvante de rotina (Madden et al, 2018).

1.5. Vitamina D e a Resposta Patológica Completa

A associação entre o valor sérico de 25(OH)D com a taxa de resposta patológica completa (RPC) do tumor, importante fator prognóstico no câncer de mama, após a quimioterapia neoadjuvante foi avaliada em alguns estudos observacionais. Enquanto alguns não observaram associação entre valores de VD e a taxa da RPC após quimioterapia neoadjuvante (Clark et al, 2014; Charehbili et al, 2016; Kim et al, 2018; Tokunaga et al, 2022), outros estudos demonstraram que em mulheres com câncer de mama recebendo quimioterapia neoadjuvante, o valor sérico de 25(OH)D esteve positivamente correlacionado com a porcentagem de RPC, especialmente em tumores HER2 e no triplo-negativo (Chiba et al, 2018; Viala et al, 2018). Essa correlação positiva poderia ser parcialmente explicada pelo potencial efeito anticancerígeno da VD (Chartron et al, 2021). Além disso, a VD parece influenciar a resposta aos agentes quimioterápicos. Resultados *in vitro* mostraram que a VD potencializa as atividades antitumorais de antraciclinas e

taxanos, dois compostos citotóxicos amplamente utilizados em quimioterapia neoadjuvante (Chaudhry et al, 2001; Hershberger et al, 2001).

Charehbili et al., em 2016, investigaram o valor preditivo dos níveis de VD sobre a RPC após quimioterapia neoadjuvante em pacientes com câncer de mama participantes do estudo NEOZOTAC fase III. Além disso, foi estudado o efeito da quimioterapia nos níveis de VD. Foram randomizadas 250 pacientes com câncer de mama inicial para quimioterapia neoadjuvante em grupo com ou sem ácido zoledrônico. As pacientes alocadas para o braço do estudo com ácido zoledrônico também receberam uma dose fixa de 400 UI de VD e 500 mg de cálcio por dia. A VD sérica foi medida no início e antes do último ciclo de quimioterapia. Os valores medianos de VD basal e pós-quimioterapia foram respectivamente 58,0 nmol/L (23,5ng/mL) e 51,0 nmol/L (20,5 ng/mL), com diminuição na média dos valores de VD ao final da quimioterapia. Entre as pacientes que receberam ácido zoledrônico, VD 400 UI e cálcio, não foi observada diminuição significativa nos níveis de VD. Por outro lado, as pacientes que realizaram apenas a quimioterapia, os níveis séricos de VD diminuíram em média para 16 nmol/L. Não houve associação significativa entre os níveis basais ou os finais de VD e a RPC. Os autores concluem que níveis séricos de VD durante a quimioterapia neoadjuvante devem ser monitorados e, em caso de diminuição, a correção pode ser benéfica para a saúde esquelética e possivelmente para o desfecho do câncer de mama (Charehbili et al., em 2016). Recente estudo realizado por Tokunaga et al. incluiu 250 pacientes com câncer de mama, estágio clínico I–III, submetidas a quimioterapia neoadjuvante seguida de cirurgia, com dosagens séricas de VD obtidas antes do tratamento sistêmico. O nível sérico de 25(OH)D não foi associado à RPC. Baixos níveis de VD foram significativamente associados a menor tempo para ocorrência de recidiva. Dessa forma, neste estudo, níveis baixos de VD foram significativamente associados a pior prognóstico

em mulheres japonesas com câncer de mama operável tratadas com quimioterapia neoadjuvante (Tokunaga et al, 2022).

Vários mecanismos diferentes podem ser responsáveis pelas reduções nos níveis de VD no câncer de mama, induzidas pela quimioterapia. Em nível molecular pode ser que as formas ativas de VD possam ser convertidas em metabólitos inativos pela regulação positiva da enzima CYP3A4 no fígado, um membro da superfamília de metabolizadores de drogas do citocromo P450, que pode ser regulada positivamente como um mecanismo de defesa contra a quimioterapia (Miyoshi et.al, 2002, Charehbili et. al, 2016). Outra possível explicação seria a orientação feita aos pacientes com câncer de mama para evitar a luz solar durante o tratamento, para a prevenção da foto sensibilidade induzida pela quimioterapia (Akay et.al, 2010). Além desses fatos, devemos considerar que pacientes com câncer de mama costumam apresentar efeitos colaterais gastrointestinais, como mucosite, colite, náusea e diarreia, que podem influenciar a ingestão e absorção nutricional de VD (Ho MY et. al, 2014; Naito Y, 2020).

Por outro lado, Chiba et al., avaliando 144 mulheres diagnosticadas com câncer de mama em estágio clínico I a III, com níveis de VD medidos no diagnóstico ou durante a quimioterapia neoadjuvante e submetidas a cirurgia, concluíram que valores reduzidos de VD foram associados à não obtenção da RPC. Nos resultados da análise multivariada, após o ajuste para os efeitos de coorte, estágio clínico e status do receptor, a deficiência de VD aumentou as chances de não atingir RPC em 2,68 vezes (IC de 95%, 1,12-6,41, $p=0,03$) (Chiba et al., 2018). Viala et al., em estudo retrospectivo, avaliaram em 327 mulheres, o impacto do valor da VD na RPC e na sobrevida após quimioterapia neoadjuvante para câncer de mama. As pacientes tiveram nível sérico de 25(OH)D medido antes ou durante a quimioterapia neoadjuvante. A deficiência de VD foi definida como < 20 ng/mL. A RPC foi obtida em 32,7% ($n = 107$) das pacientes incluídas e a deficiência de VD foi associada à

chance de não obtenção de RPC em 73,5%. Foi observada reposta patológica completa em 33,6% das mulheres com deficiência de VD (<20ng/mL) e em 66,4% naquelas com valores adequados de VD ($\geq$ 20ng/mL), com diferença significativa entre os grupos. A deficiência de VD associou-se à incapacidade de atingir RPC em pacientes com câncer de mama submetidas a quimioterapia neoadjuvante (Viala et al., 2018).

Ozmen et al., em estudo não randomizado, investigou o efeito da suplementação VD na RPC em pacientes com câncer de mama recebendo quimioterapia neoadjuvante. Foram incluídos 117 pacientes, com valores séricos de VD avaliados antes e após a quimioterapia, sendo que 64 (55%) receberam suplementação oral de 50.000 UI de Vitamina D3 (colecalfiferol) uma vez por semana durante a quimioterapia neoadjuvante. A taxa de RPC em todos os pacientes que receberam quimioterapia neoadjuvante foi de 20,5%, e a adição de VD ao tratamento sistêmico aumentou significativamente a taxa de RPC (28% vs. 11%, $p = 0.025$) (Ozmen et al, 2021).

Dessa forma, com base em dados anteriores que mostraram que baixos níveis de VD estão associados a não RPC e em contrapartida outros estudos concluíram que não houve associação significativa entre os níveis de VD e a RPC, reforça a premissa do monitoramento os níveis de VD em pacientes com câncer de mama recebendo quimioterapia. Mais estudos são necessários para avaliar se os níveis de VD estão ou não correlacionados com a RPC em pacientes com câncer de mama em vigência de quimioterapia neoadjuvante.

1.6. Justificativa e Hipótese

A VD parece desempenhar papel no desenvolvimento do câncer de mama, atuando através da ligação ao receptor nuclear de VD (VDR), e alterando os genes implicados no crescimento celular, afetando a proliferação, a apoptose, a diferenciação, a angiogênese, a

invasão e a metástase. Exercendo assim, efeitos anticancerígenos e antiangiogênicos através de vários mecanismos: efeitos antiproliferativos, indução de apoptose, inibição de invasão e metástase, e inibição da angiogênese, dando peso à evidência científica que associa a deficiência de VD à incidência, prognóstico e mortalidade pelo câncer de mama. A deficiência de VD é frequente em pacientes com câncer de mama, portanto aumentar os valores séricos de 25(OH)D através da suplementação de VD forneceria níveis aumentados do substrato em tecidos alvo como a mama, para a produção local de calcitriol, que poderia então exercer ações autócrinas/parácrinas para inibir o crescimento do câncer de mama.

A associação entre o valor sérico de 25(OH)D com a taxa de RPC do tumor, importante fator prognóstico no câncer de mama, após a quimioterapia neoadjuvante foi avaliada em estudos observacionais. Enquanto alguns não observaram associação entre valores de VD e a taxa da RPC após a quimioterapia neoadjuvante, outros estudos demonstraram que em mulheres com câncer de mama recebendo quimioterapia neoadjuvante, o valor sérico de 25(OH)D esteve positivamente correlacionado com a porcentagem de RPC. E apenas em um estudo não randomizado, a suplementação de VD resultou em melhor RPC. Portanto, a suplementação de VD teria potencial como agente não tóxico e barato para melhorar a RPC em pacientes com câncer de mama submetidas à quimioterapia neoadjuvante, apoiando assim a necessidade de mais estudos clínicos randomizados para que suplementação de VD possa ser considerada terapia adjuvante no câncer de mama. A hipótese desse estudo é que mulheres com câncer de mama submetidas à suplementação de VD durante a realização da quimioterapia neoadjuvante têm maior porcentagem de RPC quando comparadas a não usuárias de VD.

5. CONCLUSÕES

No presente estudo, mulheres com câncer de mama submetidas a quimioterapia neoadjuvante e a suplementação de 2000UI de vitamina D apresentaram maior taxa de resposta patológica completa quando comparada às mulheres do grupo placebo. Mulheres com valores de 25(OH)D > 20ng/mL tiveram maior chance de obter taxa de resposta patológica completa em relação as mulheres com deficiência de vitamina D. E quanto maior o valor de 25(OH)D, maior a porcentagem de mulheres com resposta patológica completa, demonstrando uma associação positiva entre vitamina D e a resposta patológica completa. Tumores HER2 positivo associaram-se a maior taxa de resposta patológica completa.

Esses resultados sugerem que o tratamento da deficiência de vitamina D em mulheres com câncer de mama submetidas a quimioterapia neoadjuvante poderia impactar positivamente sobre a resposta patológica completa. E apoiam as evidências que níveis séricos de VD devem ser avaliados durante a quimioterapia neoadjuvante e a suplementação pode ser benéfica para o desfecho da resposta patológica completa em mulheres com câncer de mama. Novos estudos são necessários para validar esses resultados, pois a confirmação desse achado tem importante relevância clínica direta com possíveis implicações terapêuticas.

6. REFERÊNCIAS

- ACS- American Cancer Society. Breast cancer facts & figures 2019-2020. Atlanta:American Cancer Society, Inc.; 2019. Disponível em:<https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-factsandstatistics/breast-cancer-facts-and-figures/breast-cancer-facts-and-figures-2019-2020.pdf>.
- Agborsangaya CB, Surcel HM, Toriola AT, Pukkala E, Parkkila S, Tuohimaa P, Lukanova A, Lehtinen M. Serum 25-hydroxyvitamin D at pregnancy and risk of breast cancer in a prospective study. *Eur J Cancer* 2010; 46:467-470.
- AJCC- S. Edge, D. R. Byrd, C. C. Compton, A. G. Fritz, F. L. Greene, and A. Trotti, *AJCC Cancer Staging Manual*, Springer International Publishing: American Joint Commission on Cancer, New York, NY, USA, 8th edition, 2017.
- Akala EO, Fisusi FA. Drug Combinations in Breast Cancer Therapy - Pharmaceutical Nanotechnology, 2019; 7, 3-23.
- Akay BN, Unlu E, Buyukcelik A, Akyol A. Photosensitive rash in association with porphyrin biosynthesis possibly induced by docetaxel and trastuzumab therapy in a patient with metastatic breast carcinoma. *Jpn J Clin Oncol* 2010; 40:989e91.
- Al-Azhri J, Zhang Y, Bshara W, et al. Tumor expression of vitamin D receptor and breast Cancer histopathological characteristics and prognosis. *Clin Cancer Res.* 2017;23:97– 103.
- Almeida-Filho BS, De Luca Vespoli H, Pessoa EC, Machado M, Nahas-Neto J, Nahas EAP. Vitamin D deficiency is associated with poor breast cancer prognostic features in postmenopausal women. *J Steroid Biochem Mol Bio* 2017;174:284-289.

- Almeida-Filho BS, Omodei MS, Buttros D, Carvalho-Pessoa E, Carvalho-Pessoa CP, Vespoli H, Nahas EAP. Negative Impact of Vitamin D Deficiency at Diagnosis on Breast Cancer Survival: A Prospective Cohort Study. *Br Journal* 2022;ID 4625233
- 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.
- 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.
- Anagnostis P, Karras S, Goulis DG. Vitamin D in human reproduction: a narrative review. *Int. J. Clin. Pract.*, 2013; 67 (3) 225–235.
- Augustin LS, Libra M, Crispo A, Grimaldi M, De Laurentiis M, Rinaldo M, et al. Low glycemic index diet, exercise and vitamin D to reduce breast cancer recurrence (D EDiCa): design of a clinical trial. *BMC Cancer*. 2017;17(1):69.
- 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.
- BI-RADS - ACR BI-RADS® Atlas: breast imaging and reporting data system. 5th edition. 2013. Available from: <https://www.acr.org/Clinical-Resources/Reporting-and-Data-Systems/Bi-Rads>
- 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.

- Bolland MJ, Grey A, Gamble GD, Reid IR. Calcium and vitamin D supplements and health outcomes: a reanalysis of the Women's Health Initiative (WHI) limited-access data set. *Am J Clin Nutr* 2011; 94(4):1144–1149
- Carlberg C, Velleuer E. Vitamin D and the risk for cancer: A molecular analysis. *Biochemical Pharmacology* 196, 2022; 114735
- Chartron E, Firmin N, Touraine C, et al. A Phase II Multicenter Trial on High-Dose Vitamin D Supplementation for the Correction of Vitamin D Insufficiency in Patients with Breast Cancer Receiving Adjuvant Chemotherapy. *Nutrients*. 2021;13(12):4429.
- Charehbili A, Hamdy NA, Smit VT, et al. Dutch Breast Cancer Research Group (BOOG). Vitamin D (25-OH D3) status and pathological response to neoadjuvant chemotherapy in stage II/III breast cancer: Data from the NEOZOTAC trial (BOOG 10-01). *Breast*. 2016;25:69-74.
- Chaudhry M, Sundaram S, Gennings C, Carter H, Gewirtz DA. The vitamin D3 analog, ILX- 23-7553, enhances the response to adriamycin and irradiation in MCF-7 breast tumor cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2001, 47, 429–436.
- 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
- Chiba A, Raman R, Thomas A, et al. Serum Vitamin D Levels Affect Pathologic Complete Response in Patients Undergoing Neoadjuvant Systemic Therapy for Operable Breast Cancer. *Clin Breast Cancer*. 2018;18(2):144-149.
- 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.
- Chlebowski RT. Vitamin D and breast cancer: interpreting current Evidence. *Breast Cancer Res* 2011;13:217.

- 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.
- Clark AS, Chen J, Kapoor S, et al. I-SPY1 Investigators. Pretreatment vitamin D level and response to neoadjuvant chemotherapy in women with breast cancer on the I-SPY trial (CALGB 150007/150015/ACRIN6657). *Cancer Med* 2014; 3(3):693–701.
- Coleman RE, Winter MC, Cameron D, Bell R, Dodwell D, Keane MM, Gil M, Ritchie D, Passos-Colho JL, Wheatley D, Burkinshaw R, Marshall SJ, Thorpe H on behalf of the AZURE (BIG01/04) Investigators. The effects of adding zoledronic acid to neoadjuvant chemotherapy on tumour response: exploratory evidence for direct anti-tumour activity in breast cancer. *Br J Cancer* 2010; 102:1099 – 1105
- Cortazar P, Zhang L, Untch M, Mehta K, Costantino JP, Wolmark N, Bonnefoi H, Cameron D, Gianni L, Valagussa P, Swain SM, Prowell T, Loibl S, Wickerham DL, Bogaerts J, Baselga J, Perou C, Blumenthal G, Blohmer J, Mamounas EP, Bergh J, Semiglazov V, Justice R, Eidtmann H, Paik S, Piccart M, Sridhara R, Fasching PA, Slaets L, Tang S, Gerber B, Geyer Jr CE, Pazdur R, Ditsch N, Rastogi P, Eiermann W, Minckwitz Gv. Pathological complete response and long-term clinical benefit in breast cancer: the CTNeoBC pooled analysis. *Lancet* 2014;384(9938):164-72.
- 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.
- 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.

- 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.
- 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 Inter* 2010;21(7):1151-4.
- 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.
- Eisman JA, Martin TJ, MacIntyre I, Moseley JM. 1,25 – dihydroxyvitamin - D receptor in breast cancer cells. *Lancet* 1979; 2 (8156-8157):1335-1336.
- 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. *BreastCancer Res* 2011;13:R50.
- Elston EW, Ellis IO. Method for grading breast cancer. *J Clin Pathol* 1993;46:189-90.
- Engel P, Fagherazzi G, Boutten A, Dupre T, Mesrine S, Boutron-Ruault MC, Clavel- Chapelon F. Serum 25(OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study from the French E3N cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:2341- 2350.
- 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
- Garland CF, Gorham ED, Mohr SB, Garland FC. Vitamin D for cancer prevention: global perspective. *Ann Epidemiol*. 2009;19(7):468–83.
- 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;22:1736–47.
- Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Koo J, Hood N. Prognostic Effects of 25-HydroxyvitaminD Levels in Early Breast Cancer. *J Clin Oncol* 2009;27(23):3757–63.
- Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, Allred DC, Hagerty KL, Badve S, et al. 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;134:907-22.
- 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* 2010;182(12):E610-8.
- Hershberger PA, Yu WD, Modzelewski RA et al. Calcitriol (1,25-dihydroxycholecalciferol) enhances paclitaxel antitumor activity in vitro and in vivo and accelerates paclitaxel-induced apoptosis. *Clin. Cancer Res*. 2001, 7,1043–1051.
- Hilger J, Friedel A, Herr R, Rausch T, Roos F, Wahl DA, et al. A systematic review of vitaminD status in populations worldwide. *Br J Nutr* 2014;111(1):23-45.
- Ho MY, Mackey JR. Presentation and management of docetaxel- related adverse effects in patients with breast cancer. *Cancer Management and Research*, 2014;6 253–259
- Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004;80(6 Suppl):1678S- 88S.
- Holick MF. The D-lemma: to screen or not to screen for 25-hydroxyvitamin D concentrations. *Clin Chem* 2010;56(5):729-31.
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al.; Endocrine Society. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911- 30.

- Hossain S; Beydoun MA; Beydoun HA; Chen X; Zonderman AB; Wood RJ. Vitamin D and breast cancer: A systematic review and meta- analysis of observational studies. Clin Nutr ESPEN. 2019; 30: 170–184.
- Huss L, Butt ST, Borgquist S, Elebro K, Sandsveden M, Rosendahl A, Manjer J. Vitamin D receptor expression in invasive breast tumors and breast cancer survival. Breast Cancer Res. 2019;21(1):84.
- 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.
- IARC- International Agency for Research on Cancer. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide [Internet]. Lyon: IARC; 2012 [citado 14 Fev 2018]. Disponível em: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx.
- INCA- Instituto Nacional do Câncer. Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil [Internet]. Estimativa 2023: Instituto Nacional do Câncer (INCA). 2022 [cited 2023 Jan 31]. Available from: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/estado-capital/brasil>
- 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.
- 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
- Kemmis CM, Salvador SM, Smith KM, Welsh J. Human mammary epithelial cells express CYP27B1 and are growth inhibited by 25-hydroxyvitamin D-3, the major circulating form of vitamin D-3. J Nutr 2006;136(4):887–92.

- Kim H, Greenberg JS, Javitt MC. Breast calcifications due to Mönckeberg medial calcific sclerosis. *Radiographics*. 1999;19(5):1401-3.13.
- 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.
- 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):2772–2784
- Kim JS, Haule CC, Kim JH, et al. Association between Changes in Serum 25-HydroxyvitaminD Levels and Survival in Patients with Breast Cancer Receiving Neoadjuvant Chemotherapy. *J Breast Cancer*. 2018;21(2):134-141.
- Korde LA, MD; Somerfield MR, PhD; Carey LA, MD; Crews JR, MD; Denduluri N, MD; Hwang ES, MD; Khan SA, MD; Loibl S, MD, PhD; Morris EA, MD; Perez A, MD; Regan MM, ScD; Spears PA, BS; Sudheendra PK, MD; Symmans WF, MD; Yung RL, MD; Harvey BE, BS; Hershman DL, MD. Neoadjuvant Chemotherapy, Endocrine Therapy, and Targeted Therapy for Breast Cancer. *ASCO Guideline - J Clin Oncol*, 2021; 39:1485-1505.
- Krishnan AV, Swami S, Feldman D. The potential therapeutic benefits of vitamin D in the treatment of estrogen receptor positive breast cancer. *Steroids* 2012; 77: 1107-12.
- 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 Intern Med* 2006;260(3):245-54.
- Machado M, Almeida-Filho BS, Vespoli HL, Schmitt EB, Nahas-Neto J, Nahas EAP. Low Pretreatment Serum Concentration of Vitamin D at Breast Cancer Diagnosis in Postmenopausal Women. *Menopause* 2018 *in press*.
- Madden JM, Murphy L, Zgaga L, Bennett K. De novo vitamin D supplement use post- diagnosis is associated with breast cancer survival. *Breast Cancer Res Treat*. 2018 Jul 23.

- 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.
- Maeda SS, Borba V, Brasílio M, Camargo R, Weber Silva D, Borges J, Bandeira F, Lazaretti-Castro M. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2014;58(5):411-33.
- 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.
- 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.
- Moss SM, Wale C, Smith R, Evans A, Cuckle H, Duffy SW. Effect of mammographic screening from age 40 years on breast cancer mortality in the UK Age trial at 17 years' follow-up: A randomised controlled trial. *Lancet Oncol*. 2015;16(9).
- Miyoshi Y, Ando A, Takamura Y, Taguchi T, Tamaki Y, Noguchi S. Prediction of response to docetaxel by CYP3A4 mRNA expression in breast cancer tissues. *Int J Cancer* 2002; 97:129e32.
- Nahas EAP, Padoani NP, Nahas-Neto J, Orsatti FL, Tardivo AP, Dias R. Metabolic syndrome and its associated risk factors in Brazilian postmenopausal women. *Climacteric* 2009;12(5):431-8.
- Naito Y, Kai Y, Ishikawa T, Fujita T, Uehara K, Doihara K, Tokunaga S, Shimokawa M, Ito Y, Saeki T. Chemotherapy-induced nausea and vomiting in patients with breast cancer: a prospective cohort study *Breast Cancer*, 2020; 27:122–128

- 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.
- NAS- National Academy of Sciences–Institute of Medicine–Food and Nutrition Board. Dietary reference intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D, and fluoride Washington (DC): National Academy Press; 1997.
- 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.
- NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines) in Breast Cancer. *J Natl Compr Canc Netw*. 2023;4:63-64
- 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.
- O'Brien KM, Sandler DP, Taylor JA, Weinberg CR. Serum vitamin D and risk of breast cancer within five years. *Environmental Health Perspectives* 2017; 125 077004
- Ozmen MD V, Ordu MD C, Ilgun MD AS, Unal MD C, Soybir MD G, Erdogan MD Z, Tapan MS TK, Aktepe MD F, Alco MD G, Duymaz MS T, Ozmen MD T. The effects of vitamin D replacement on pathological complete response (pCR) in breast cancer patients receiving neoadjuvant systemic chemotherapy (NAC). *Breast J*. 2021; 27:902–905.
- Pan H, Gray R, Braybrooke J, Davies C, Taylor C, McGale P, et al. 20-year risks of breast- cancer recurrence after stopping endocrine therapy at 5 years. *N Engl J Med*. 2017;377:1836-46
- Pandolfi F, Franza L, Mandolini C, Conti P. Immune Modulation by Vitamin D: Special Emphasis on Its Role in Prevention and Treatment of Cancer. *Clin Ther* 2017;39:884– 893.

- Pinder MC, Duan Z, Goodwin JS, Hortobagyi GN, Giordano SH. Congestive heart failure in older women treated with adjuvant anthracycline chemotherapy for breast cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25:3808-15.
- Poole EM, Shu X, Caan BJ, Flatt SW, Holmes MD, Lu W, Kwan ML, Nechuta SJ, Pierce JP, Chen WY. Postdiagnosis supplement use and breast cancer prognosis in the After Breast Cancer Pooling Project. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 139:529-37.
- Rejnmark L, Tietze A, Vestergaard P, Buhl L, Lehbrink M, Heickendorff L, Mosekilde L: Reduced prediagnostic 25-hydroxyvitamin D levels in women with breast cancer: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:2655-2660.
- Rosen CJ. Clinical practice. Vitamin D insufficiency. *New Engl J Med* 2011;364(3):248-54.
- 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.
- Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, 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;96:53–8.
- Saponaro F, Saba A, Zucchi R. An update on vitamin D metabolism, *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21 6573
- 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.
- Schmitt EB, Nahas-Neto J, Bueloni-Dias F, Poloni PF, Orsatti CL, Petri Nahas EA. Vitamin D deficiency is associated with metabolic syndrome in postmenopausal women. *Maturitas* 2018;107:97-102.

- Schulz KF, Altman DG, Moher D, Group C. CONSORT 2010 statement: updated guidelines for reporting parallel group randomized trials. *Ann Intern Med* 2010;152(11):726-32.
- Smith RA, Andrews KS, Brooks D, Fedewa SA, Manassaram-Baptiste D, Saslow D, et al. Cancer screening in the United States, 2019: A review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. *CA Cancer J Clin*. 2019;69(3)
- Simon MS, Beebe-Dimmer JL, Hastert TA, Manson JE, Cespedes Feliciano EM, Neuhaus ML, Ho GYF, Freudenheim JL, Strickler H, Ruterbusch J, Barac A, Chlebowski R, Caan B. Cardiometabolic risk factors and survival after breast cancer in the Women's Health Initiative. *Cancer* 2018;124(8): 1798-1807
- Sperati F, Vici P, Maugeri-Sacca M, Stranges S, Santesso N, Mariani L et al. Vitamin D supplementation and breast cancer prevention: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *PloS ONE* 2013;8(7):e69269
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(3).
- Szymiczek A, Lone A, Akbari MR. Molecular intrinsic versus clinical subtyping in breast cancer: A comprehensive review. *Clin Genet*. 2021;99(5):613-637.
- Tabár L, Vitak B, Chen THH, Yen AMF, Cohen A, Tot T, et al. Swedish two-county trial: Impact of mammographic screening on breast cancer mortality during 3 decades. *Radiology*. 2011;260(3)
- Tokunaga E, Masuda T, Ijichi H, et al. Impact of serum vitamin D on the response and prognosis in breast cancer patients treated with neoadjuvant chemotherapy. *Breast Cancer*. 2022;29(1):156-163.
- 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.

- Valladares T, Simoes R, Bernardo W, Schmitt ACB, Cardoso MRA, Aldrighi JM. Prevalence of hypovitaminosis D in postmenopausal women: a systematic review. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 2019; 65 (5) 691–698.
- 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.
- Vaughan-Shaw PG, O'Sullivan F, Farrington SM, Theodoratou E, Campbell H, Dunlop MGet al. The impact of vitamin D pathway genetic variation and circulating 25- hydroxyvitamin D on cancer outcome: systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer* 2017;116(8):1092–1110
- Verlinden L, Verstuyf A, Convents R, et al. Action of 1,25(OH)₂D₃ on the cell cycle genes, cyclin D1, p21 and p27 in MCF-7 cells. *Mol Cell Endocrinol.* 1998;142:57–65.
- Viala M, Chiba A, Thezenas S, et al. Impact of vitamin D on pathological complete response and survival following neoadjuvant chemotherapy for breast cancer: A retrospective study. *BMC Cancer* 2018, 18, 770.
- Voutsadakis I. Vitamin D baseline levels at diagnosis of breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Hematol Oncol Stem Cell Ther* 14, 2021; 16– 26
- Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, etal. 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;138:241-56.
- Zeichner SB, Koru-Sengul T, Shah N, Liu Q, Markward NJ, Montero AJ, Glück S, Silva O, AhnER. Improved Clinical Outcomes Associated With Vitamin D Supplementation During Adjuvant Chemotherapy in Patients With HER2p Nonmetastatic Breast Cancer. *Clin Breast Cancer* 2015; 15(1): e1-11.