

Protinádorové účinky vitamínu D

Beáta Bolerázska^{1,2}, Tomáš Koky¹

¹Ústav lekárskej a klinickej biochémie UPJŠ LF Košice

²Klinická biochémia, Medirex, a. s., Košice

Nedostatok vitamínu D bol pôvodne odhalený ako príčina krivice v dôsledku nedostatočnej expozície slnečnému žiareniu alebo príjmu potravín bohatých na vitamín D. Okrem svojej úlohy pri homeostáze vápnika a kostí vitamín D participuje na regulácii mnohých ďalších bunkových funkcií. Receptor vitamínu D (VDR) je takmer všeobecne exprimovaný v jadrových bunkách. Spektrum endokrinnnej aktivity vitamínu D je teda oveľa širšie ako homeostáza vápnika/kostí a systém vitamín D – VDR sa v tomto ohľade podobá spektru iných ligandov jadrových receptorov, ako sú hormóny štítnej žľazy.

Vzhľadom na široký rozsah súčasných poznatkov o vitamíne D sa v tomto príspevku podrobnejšie venujeme vzťahu vitamínu D k vzniku a progresii nádorových ochorení, kde sa opakovane potvrdili jeho významné antikancerogénne vlastnosti. K tým najdôležitejším patrí indukcia zastavenia bunkového cyklu, stimulácia apoptózy a inhibícia angiogenézy, ale uplatňuje sa aj pri zápaloch asociovaných s nádorovým ochorením a reparatívnych procesoch DNA a metastázovaní.

Kľúčové slová: vitamín D, kancerogenéza, protinádorové účinky

Anti-tumour effects of vitamin D

Vitamin D deficiency was initially discovered as the cause of rickets due to insufficient exposure to sunlight or intake of vitamin D-rich foods. In addition to its role in calcium and bone homeostasis, vitamin D participates in the regulation of many other cellular functions. The vitamin D receptor (VDR) is almost universally expressed in nuclear cells. Thus, the spectrum of vitamin D endocrine activity is much broader than calcium/bone homeostasis, and the vitamin D-VDR system resembles that of other nuclear receptor ligands, such as thyroid hormones, in this respect.

Given the full range of current knowledge about vitamin D, we discuss in more detail the relationship of vitamin D to cancer development and progression, where its significant anticancerogenic properties have been repeatedly confirmed. The most important are induction of cell cycle arrest, stimulation of apoptosis and inhibition of angiogenesis. Still, it is also applied to inflammation associated with cancer and reparative DNA processes and metastasis.

Keywords: vitamin D, carcinogenesis, antitumor effects

NewsLab, 2020; roč. 11 (1): 33 – 36

Úvod

V súčasnosti sa na vitamín D nahliada ako na steroidný hormón rozpustný v tukoch, ktorého genómové účinky sú sprostredkované po naviazaní na špecifický receptor. K potvrdeným účinkom vitamínu D okrem uchovania zdravých kostí (tzv. klasické účinky) radíme tzv. neklasické, nonkalciemické účinky. Tie sa aktuálne sledujú pri autoimunitných a kardiovaskulárnych ochoreniach, precitlivenosti na infekcie, pri vzniku nádorových ochorení, ale aj v súvislosti s priebehom fyziologického starnutia. Vzhľadom na široký rozsah súčasných poznatkov sa v tomto príspevku budeme podrobnejšie venovať vzťahu vitamínu D k vzniku a progresii nádorových ochorení, kde sa opakovane potvrdili jeho významné antikancerogénne vlastnosti. K tým najdôležitejším patrí indukcia zastavenia bunkového cyklu, stimulácia apoptózy a inhibícia angiogenézy⁽¹⁾, ale uplatňuje sa aj pri zápaloch asociovaných s nádorovým ochorením, reparatívnych procesoch DNA a metastázovaní. Prehľad mechanizmov účinku vitamínu D s antikancerogénnym efektom sumarizuje **tabuľka 1**.

Tabuľka 1. Mechanizmy protinádorových účinkov vitamínu D⁽²⁾

Proliferácia	Zvýšenie expície proteínov p21 a p27
	Zníženie expície CDKs, cyklinov a produktov génov MYC a RB
Apoptóza	Zvýšenie expície BAX
	Zníženie expície BCL – 2
	Zvýšenie senzitivity na rádioterapiu a chemoterapiu
Diferenciácia	Diferenciácia buniek myeloidnej leukémie na monocytu
	Zvýšenie expície faktorov diferenciácie ako kazeín, lipidy, PSA, E-cadherin
Zápal	Inhibícia expície COX-2, PG receptorov, stresových kináz a NF-κB signalizácie
	Zvýšenie odpovede TIMP1 a E-cadherinu
Invazivita a tvorba metastáz	Zníženie expície MMP9, α6-integrínu, 4-integrínu a aktivátora plazminogénu
Angiogenéza	Pokles hladín HIF1-α, VEGF, IL-8, tenascin C a PGE2

Indukcia zastavenia bunkového cyklu a stimulácia apoptózy

Proliferujúca bunka prechádza vysoko usporiadanými fázami G1, S, G2 a M v sekvencii, z ktorých kritické sú S (fáza syntézy DNA) a M (fáza mitózy). Vstup do nich (začiatok S fázy a M fázy) je prísne regulovaný, čo vedie k vzniku dvoch „kontrolných bodov“ v cykle. Poškodenie DNA z akejkoľvek príčiny môže zastaviť bunkový cyklus v hociktorej z týchto fáz a presný priebeh cyklu v nich určuje genetickú stabilitu bunky. Všeobecne najväčší antiproliferačný účinok má indukcia zastavenia bunkového cyklu založená na blokáde G1 fázy⁽²⁶⁾, ktorú možno dosiahnuť navodením zvýšenej tvorby proteínov p21 a p27. Pri aktívnej forme vitamínu D 1,25-(OH)₂D₃ sa preukázala schopnosť zastaviť bunkový cyklus v nádorových bunkových líniách aj vo fáze G2/M⁽³⁾. Vitamín D je schopný navodiť apoptózu nádorových buniek už na génovej úrovni prostredníctvom inhibície známeho antiapoptotického génu Bcl-2 (B-cell lymphoma 2)⁽⁴⁾, indukciou proapoptotických génov, ako je DAP (Death-Associated Protein-3), CFKAR (caspase 8 apoptosis-related cysteine peptidase) a FADD (Fas-Associated protein with Death Domain)⁽⁵⁾, a dokáže dokonca aktivovať proautofagický gén beclin-1⁽⁶⁾. Okrem toho kalcitriol zvyšuje aktivitu proapoptotických proteínov Bax a μ -calpain^(3,7-9). Schopnosť navodenia apoptózy je jednoznačne jednou z najdôležitejších funkcií proteínu p53, známeho hlavného regulátora apoptózy a produktu tumor-supresorového génu TP53. Pri viacerých nádorových bunkových líniách bolo zistené, že mechanizmus indukcie apoptózy prostredníctvom vitamínu D varíruje v závislosti od typu bunky a môže byť sprostredkovaný proteínom p53, ale aj bez jeho prítomnosti^(10,11).

Inhibícia angiogenézy

Efekt vitamínu D na angiogenézu bol prvýkrát opísaný v roku 1990, keď sa zistilo, že 1,25-(OH)₂D₃ a jeho analóg 22-oxo-1,25-D₃ inhibuje embryonálnu angiogenézu v choriovej membráne⁽¹²⁾.

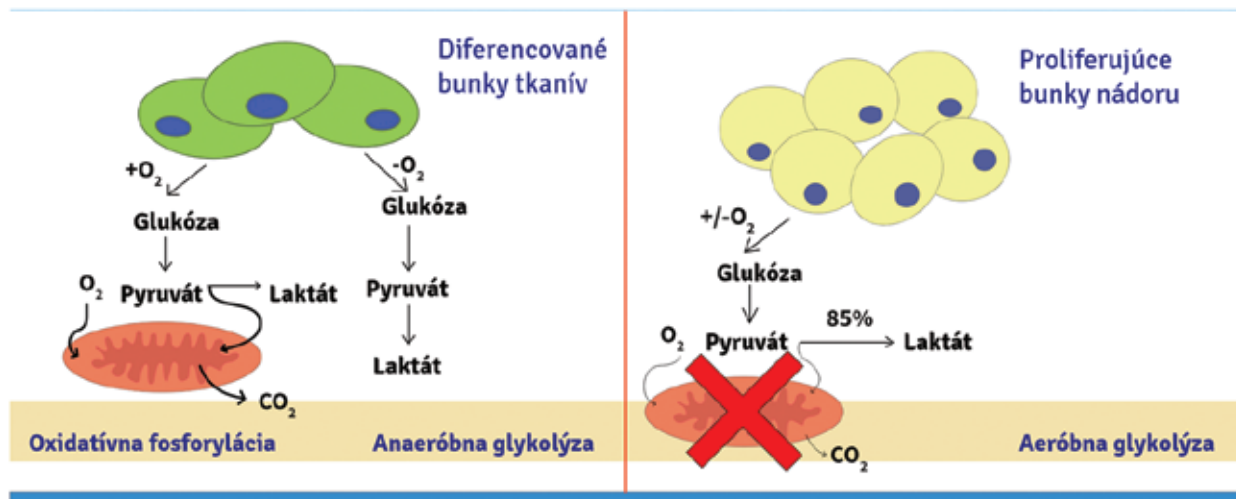
Podpora angiogenézy nádoru, jeho invázie a metastázovania môže byť dôsledkom aktivácie tzv. spínačov angiogenézy, ktorých aktiváciu kontroluje predovšetkým endoteliálny rastový faktor (Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)⁽¹³⁾. Bolo preukázané, že vitamín D dokáže znižovať expresiu VEGF v nádorových bunkách a tiež znižuje odpoveď endoteliálnych buniek na tento faktor⁽¹⁴⁾. Zákonite je hypoxia výrazný induktor tvorby VEGF a počas jej pôsobenia, za súčasnej aplikácie vitamínu D, dochádzalo k významnému zníženiu tvorby VEGF⁽¹⁵⁾.

Glykolytický metabolizmus nádorových buniek

Kalcitriol svojimi antikancerogénnymi účinkami zasahuje aj do energetického metabolizmu nádorových buniek. Anaeróbny spôsob spracovania glukózy preferovaný malígne transformovanými bunkami je negatívne regulovaný aktívnymi formami vitamínu D. Santos a kol. (2017) vo svojej štúdií na bunkových kultúrach získaných z karcinómu prsníka zaznamenali pokles miery glykolýzy po podaní vitamínu D. Vitamín D dokázal znížiť expresiu membránových glukózových transportérov GLUT1 a tak spomaliť utilizáciu glukózy nádorovými bunkami. Dokázaná bola aj supresia aktivity mTOR (z angl. mammalian target of rapamycin), ktorý je súčasťou signálnej dráhy Warburgovho efektu – tzn. preferencie anaeróbnej glykolýzy nádorovými bunkami. Santos a kol. (2017) dokázali aj zníženú produkciu laktátu po liečbe vitamínom D (**obrázok 1**)⁽¹⁶⁾.

Obrázok 1. V patologicky nezmenenom tkanive je 85 % energie vo forme ATP produkovanej v procese oxidatívnej fosforylácie v mitochondriách; anaeróbna glykolýza je proces rezervovaný pre akútne epizódy hypoxie (intenzívne cvičenie), v tomto procese pyruvát dočasne nevstupuje do citrátového cyklu a je metabolizovaný na laktát, produkt anaeróbnej glykolýzy. Warburgov efekt predstavuje chronickú, nonoxidatívnu produkciu ATP v cytoplazme buniek premenou pyruvátu na laktát pri normoxických podmienkach. Malígne transformované bunky využívajú Warburgov efekt na produkciu 85 % energie⁽¹⁷⁾.

Warburgov efekt



Zápal asociovaný s nádormi a vitamín D

Zápal asociovaný s nádormi je dôležitou súčasťou viacerých aspektov tumorogenézy a vývoja nádorového ochorenia. K potvrdeným účinkom vitamínu D patrí taktiež schopnosť znižovať tvorbu prozápalových cytokínov aj ich biologickú aktivitu, čo predstavuje významný protizápalový efekt⁽¹⁸⁾. Zápalová reakcia sprevádzajúca rast nádoru je vo všeobecnosti charakterizovaná prítomnosťou zápalových buniek, mediátorov zápalovej reakcie, ako sú cytokíny, chemokíny, prostaglandíny a kyslíkové radikály⁽¹⁹⁾. Práve aktivita VEGF významne závisí aj od mediátorov zápalu. Schopnosťou znížiť zápalovú reakciu môže teda vitamín D prostredníctvom VEGF zasahovať aj do nádorovej angiogenézy. V literatúre sa opisuje tiež vznik nádorových ochorení v dôsledku chronického zápalového procesu. So vznikom nádorových ochorení, obzvlášť s procesom, ktorý vedie od zápalu ku kancerogéze, sa opakovane spája skupina transkripčných faktorov známych pod označením NF- κ B (Nuclear Factor Kappa B), ktoré sa podieľajú na kontrole transkripcie DNA, produkcie cytokínov a bunkového prežívania⁽²⁰⁾. V porovnaní so zdravými bunkami mali mnohé nádorové bunky zvýšené hladiny NF- κ B. Potvrdilo sa, že kalcitriol je schopný blokovať aktiváciu NF- κ B⁽²¹⁾ a táto inhibícia sa javí ako veľmi sľubná možnosť protinádorovej liečby. Kalcitriol vykazuje protizápalovú aktivitu vo viacerých typoch malígnych nádorov. Zmenami expresie NF- κ B, jeho translokácie do jadra a väzby na špecifické sekvencie na DNA vitamín D znižoval expresiu prozápalovo pôsobiaceho cytokínu IL-8 napríklad v bunkách karcinómu prostaty D⁽²¹⁾. Vitamín D mení expresiu NF- κ B pôsobením na IGFBP-3 (insuline-like growth factor binding protein), ktorý reguluje funkciu NF- κ B⁽²²⁾.

Vitamín D významne zasahuje aj do syntézy a biologickej aktivity prostaglandínov v zmysle ich inhibície. Prostaglandíny podporujú karcinogézu, pozitívnym spôsobom indukujú bunkovú proliferáciu, angiogézu a vplývajú na rozvoj metastáz. Vitamín D vstupuje do ich metabolizmu a biologickej aktivity 3 základnými mechanizmami:

inhibíciou enzýmu cyklooxygenáza 2 (COX-2), ktorý je kľúčový v syntéze prostaglandínov

upreguláciou expresie enzýmu 15-hydroxyprostaglandín-dehydrogenáza (15-PGDH), ktorý je zodpovedný za degradáciu prostaglandínov

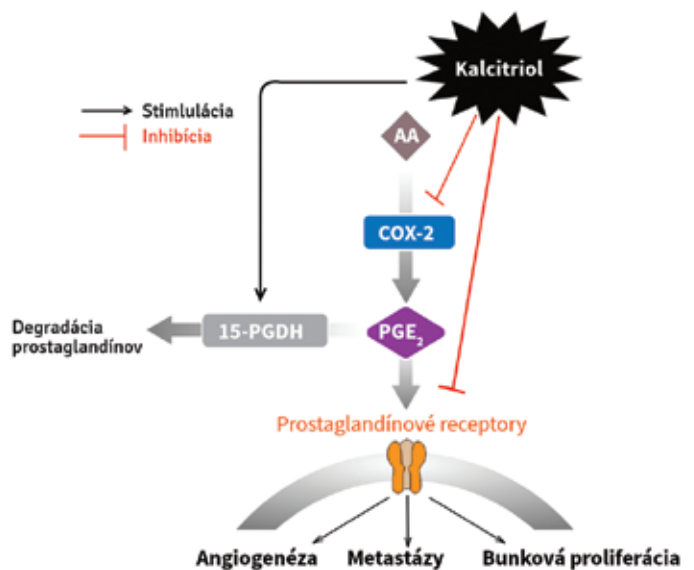
downreguláciou expresie membránových prostaglandínových receptorov, esenciálnych pre bunkovú signalizáciu (**obrázok 2**)⁽²²⁾

Krishan a Feldmann (2011)⁽²²⁾ rovnako uvádzajú, že dôležitými cieľovými molekulami vitamínu D v procese zápalu sú aj MAP kinázy. Napríklad expresia MAP kinázy – fosfatázy 5 (MKP5) je indukovaná kalcitriolom a následne inhibuje stresový proteín p38, čo vedie k zníženiu expresie prozápalových cytokínov, najmä IL-6.

Úloha vitamínu D v prevencii nádorovej invazivity a vzniku metastáz

Vznik metastáz je komplexný proces zahŕňajúci bunkovú adhéziu, migráciu, inváziu, proliferáciu a angiogézu⁽²¹⁾. Pre kancerogézu na molekulovej úrovni majú veľký význam signálne dráhy v bunke. Poruchy v týchto kaskádach – obvykle overexpresia alebo inhibícia určitého medzičlánku kaskády – môžu v bunke vyvolať zmeny, ktoré jej poskytujú proliferáčnne výhody.

Obrázok 2. Vplyv vitamínu D na stimuláciu a inhibíciu metabolizmu prostaglandínov⁽²²⁾



Úloha vitamínu D v súvislosti s nádorovou invazivitou sa v súčasnosti podrobne študuje pri kolorektálnom karcinóme. Pri tomto type nádoru sa až v 90 % objavuje porucha v priebehu Wnt/betakatenínovej signálnej dráhy, a to na úrovni betakatenínu (proteín podieľajúci sa na medzibunkovom adhéznom spojení). Presun tohto proteínu z cytoplazmy do bunkovej membrány dokáže ovplyvniť hladina vitamínu D⁽²³⁾.

Diáz a kol. (2010)⁽²⁴⁾ uvádzajú, že vitamín D je silným induktorom expresie cystatínu D, inhibítora cysteínových proteáz z katepsínovej rodiny. Cystatín D sa podieľa na antikanerogénnych účinkoch vitamínu D, taktiež najmä v prípadoch kolorektálneho karcinómu. Je zapojený do procesov znižujúcich migračnú aktivitu buniek a potláča funkcie génov tzv. epiteliálno-mezenchymálneho prechodu. Práve produkty týchto génov sú schopné potláčať fyziologicky prítomnú polaritu epitelových buniek, ktorá je tiež daná prítomnosťou špecifických adhezívnych štruktúr.

Vitamín D sa tiež zúčastňuje na regulácii matrixových metaloproteáz (MMPs) a špecifických tkanivových inhibítorov matrixových metaloproteáz (TIMPs). MMPs sú proteázy dependentné od zinku, schopné degradovať zložky extracelulárneho matrixu a bazálnej membrány. MMPs aj TIMPs bývajú často dysfunkčné pri malígnych nádorových ochoreniach a tieto dysfunkčné zmeny prispievajú k invazivite a potenciálu zakladať vzdialené metastázy.

Viacere štúdie poukázali na skutočnosť, že suplementácia vitamínu D znižuje expresiu metaloproteázy 9 (MMP 9) a zvyšuje expresiu TIMP 1 pri karcinóme prsníka a prostaty⁽²⁴⁾.

Záver

V súčasnosti je vitamín D pre svoje biologické vlastnosti považovaný za hormón a pre široké spektrum pôsobenia sa oprávnene prirovnáva k hormónom štítnej žľazy. Epidemiologické štúdie naznačujú, že nedostatok vitamínu D by mohol zohrávať dôležitú úlohu aj v etiológii rôznych typov nádorových ochorení u ľudí. Protinádorová aktivita sa aktuálne zaraďuje medzi jeho neklasické (nonkalcemické)

účinky a môže byť sprostredkovaná viacerými mechanizmami vrátane inhibície bunkovej proliferácie, indukcie apoptózy, stimulácie diferenciácie, potlačenia invázie nádoru, metastázy

zy a angiogenézy. Predklinický výskum naznačuje, že aktívny metabolit vitamínu D (ev. jeho analóg) by sa mohol uplatniť ako preventívna a terapeutická protirakovinová látka.

LITERATÚRA

1. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-281.
2. Feldman D, Krishnan AV, Swami S, et al. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer* 2014; 14(5): 342-357. doi: 10.1038/nrc3691. Epub 2014 Apr 4.
3. Jiang F, Li P, Fornace AJ Jr, et al. G2/M arrest by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in ovarian cancer cells mediated through the induction of GADD45 via an exonic enhancer. *J Biol Chem* 2003; 278(48): 48030-48040.
4. Blutt SE, McDonnell TJ, Polek TC, et al. Calcitriol-induced apoptosis in LNCaP cells is blocked by overexpression of Bcl-2. *Endocrinology* 2000; 141: 10-17.
5. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol* 2014; 21: 319-329.
6. Høyer-Hansen M, Bastholm L, Mathiasen IS, et al. Vitamin D analog EB1089 triggers dramatic lysosomal changes and Beclin 1-mediated autophagic cell death. *Cell Death Differ* 2005; 12: 1297-1309.
7. James SY, Mackay AG, Colston KW. Effects of 1,25 dihydroxyvitamin D3 and its analogues on induction of apoptosis in breast cancer cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 1996; 58(4): 395-401.
8. Diaz GD, Paraskeva C, Thomas MG, et al. Apoptosis is induced by the active metabolite of vitamin D3 and its analogue EB1089 in colorectal adenoma and carcinoma cells: possible implications for prevention and therapy. *Cancer Research* 2000; 60(8): 2304-2312.
9. Kumagai T, Shih LY, Hughes SV, et al. 19-Nor-1,25(OH)2D2 (a novel, noncalcemic vitamin D analogue), combined with arsenic trioxide, has potent antitumor activity against myeloid leukemia. *Cancer Research* 2005; 65(6): 2488-2497.
10. Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53. *Oncogene* 2003; 22(56): 9030-40.
11. Chakraborti CK. Vitamin D as a promising anticancer agent. *Indian J Pharmacol* 2011; 43(2): 113-120.
12. Oikawa T, et al. 1990. Inhibition of angiogenesis by vitamin D3 analogues. *European Journal of Pharmacology* 1990; 178(2), s. 247-250.
13. Kundu JK, Surh YJ. Inflammation: gearing the journey to cancer. *Mutat Res* 2008; 659(1-2): 15-30.
14. Mantell DJ, Owens PE, Bundred NJ, et al. 1 Alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circulation Research* 2000; 87(3): 214-220.
15. Ben-Shoshan M, Amir S, Dang DT, et al. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 (Calcitriol) inhibits hypoxia-inducible factor-1/vascular endothelial growth factor pathway in human cancer cells. *Mol. Cancer Ther* 2007; 6: 1433-1439.
16. Santos JM, et al. 2017. Vitamin D3 decreases glycolysis and invasiveness, and increases cellular stiffness in breast cancer cells. *J Nutr Biochem* 2018; 53: s. 111-120.
17. Gibas KJ. The Retrograde Signal: Dependency on Glucose Marks the Cancerous Phenotype. *Austin J Nutr Metab* 2017; 4(2): 1051.
18. Moreno J, Krishnan AV, Swami S, et al. Regulation of prostaglandin metabolism by calcitriol attenuates growth stimulation in prostate cancer cells. *Cancer Res* 2005; 65(17): 7917-7925.
19. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature* 2008; 454(7203): 436-444.
20. Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF- κ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 2013; 12: 86.
21. MA Y, et al. 2016. Mechanistic Insights of Vitamin D Anticancer Effects. *Vitamins and Hormones* 2016; 100: s. 395-431.
22. Krishan AV, Feldman D. Mechanisms of the Anti-Cancer and Anti-Inflammatory Actions of Vitamin D. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol* 2011; 51: s. 311-336.
23. Piccoto G, et al. 2012. Molecular Aspects of Vitamin D Anticancer Activity. *Cancer Investigation* 2012; 30: s.604-614
24. Diáz S Á, et al. Proteases, protease inhibitors and cancer. *Cell Cycle* 2010; 9(1): s. 32-37.

MUDr. Beáta Bolerázka, PhD.

Klinická biochémia, Medirex, a. s.

Magnezitárska 2/C, 040 13 Košice

e-mail: beata.bolerazska@medirex.sk