

# Витамин D и эстрогензависимые опухоли

О.А.Громова<sup>1,2</sup>, И.Ю.Торшин<sup>1</sup>, Д.Е.Фролова<sup>2</sup>, Н.П.Лапочкина<sup>2</sup>, А.Н.Громов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Федеральный исследовательский центр "Информатика и управление"» РАН. 119333, Россия, Москва, ул. Вавилова, д. 40;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия». 153462, Россия, Иваново, пр. Шереметевский, д. 8

Витамин D характеризуется неоспоримыми противоопухолевыми свойствами, которые важны как для профилактики, так и для терапии опухолевых заболеваний. В работе представлены результаты систематического анализа молекулярных механизмов противоопухолевых эффектов витамина D (ингибирование каскада Wnt/ $\beta$ -катенина, фактора транскрипции WSTF) и результаты клинических исследований пациентов с эстрогензависимыми опухолями, указывающие на перспективность сочетанного применения препаратов эстрогенов и витамина D.

**Ключевые слова:** эстрогены, витамин D, рак молочной железы, рак толстого кишечника, менопаузальная гормональная терапия, Аквадетрим.

✉ unesco.gromova@gmail.com

**Для цитирования:** Громова О.А., Торшин И.Ю., Фролова Д.Е. и др. Витамин D и эстрогензависимые опухоли. Гинекология. 2018; 20 (1): 23–30. DOI: 10.26442/2079-5696\_20.1.23-30

## Vitamin D and estrogen-dependent tumors

O.A.Gromova<sup>1,2</sup>, I.Yu.Torshin<sup>1</sup>, D.E.Frolova<sup>2</sup>, N.P.Lapochkina<sup>2</sup>, A.N.Gromov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Federal Research Centre "Information and Management" of the Russian Academy of Sciences. 119333, Russian Federation, Moscow, ul. Vavilova, d. 40;

<sup>2</sup>Ivanovo State Medical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation. 153462, Russian Federation, Ivanovo, pr. Sheremetevskii, d. 8

Vitamin D is characterized by undeniable antitumor properties that are important for both prevention and treatment of tumor diseases. The results of a systematic analysis of the molecular mechanisms of antitumor effects of vitamin D (inhibition of the Wnt/ $\beta$ -catenin cascade, the transcription factor WSTF) and the results of clinical studies of patients with estrogen-dependent tumors are presented, indicating the promise of combined use of estrogen and vitamin D.

**Key words:** estrogens, vitamin D, breast cancer, colon cancer, menopausal hormone therapy, Aquadetrim.

✉ unesco.gromova@gmail.com

**For citation:** Gromova O.A., Torshin I.Yu., Frolova D.E. et al. Vitamin D and estrogen-dependent tumors. Gynecology. 2018; 20 (1): 23–30. DOI: 10.26442/2079-5696\_20.1.23-30

### Введение

Эстрогенсодержащие препараты используются в гинекологии для проведения менопаузальной гормональной терапии (МГТ), контрацепции, регуляции менструального цикла. Как показали результаты фундаментальных исследований и сверхбольших доказательных исследований (более 1 млн участников в каждом), эстрогены, особенно при приеме per os, обладают выраженной пролиферативной активностью [1]. В зоне риска гиперпролиферации находятся ткани, в которых плотность рецепторов к эстрогенам повышена (молочные железы, матка, яичники, толстый кишечник). Предикторами возникновения рака молочной железы (РМЖ) считают нарушения гормонального фона у женщин в виде гиперэстрогении в сочетании с гиперпролактинемией на фоне прогестероновой недостаточности. Также выявлена сильная прямая корреляционная связь ( $r=+0,914$ ) РМЖ с гинекологическими заболеваниями (эндометриозом, миомой матки), доброкачественными заболеваниями молочной железы ( $r=+0,986$ ) и пролиферативной мастопатией ( $r=+0,83$ ) [2].

Витамин D увеличивает адгезию клеток эпителия молочных желез, увеличивая синтез вещества Е-кадгерина. Если уровень витамина D понижается, клетки эпителия молочной железы не склерозируются, давая возможность стволовым клеткам для быстрого митоза. Быстро делящиеся стволовые клетки рано или поздно превращаются в раковый клон, способный повреждать базальную мембрану, и при продолжающемся дефиците витамина D эти клетки проникают в лимфатические сосуды, метастазируя в головной мозг, кости и легкие, и убивают пациента.

Например, метаанализ 35 клинических исследований ( $n=3\ 898\ 376$ , в том числе 87 845 случаев РМЖ) показал, что прием эстроген-гестагенных препаратов соответствует повышению риска РМЖ на 76% (относительный риск – ОР 1,76, 95% доверительный интервал – ДИ 1,56–1,96), причем с каждым последующим годом приема эстрогенов риск повышается на 8% (ОР 1,08, 95% ДИ 1,08–1,08). Даже наличие приема эстрогенов в анамнезе, без приема эстрогенов в настоящее время, соответствовало повышению риска РМЖ на 14% (ОР 1,14, 95% ДИ 1,05–1,22) [3].

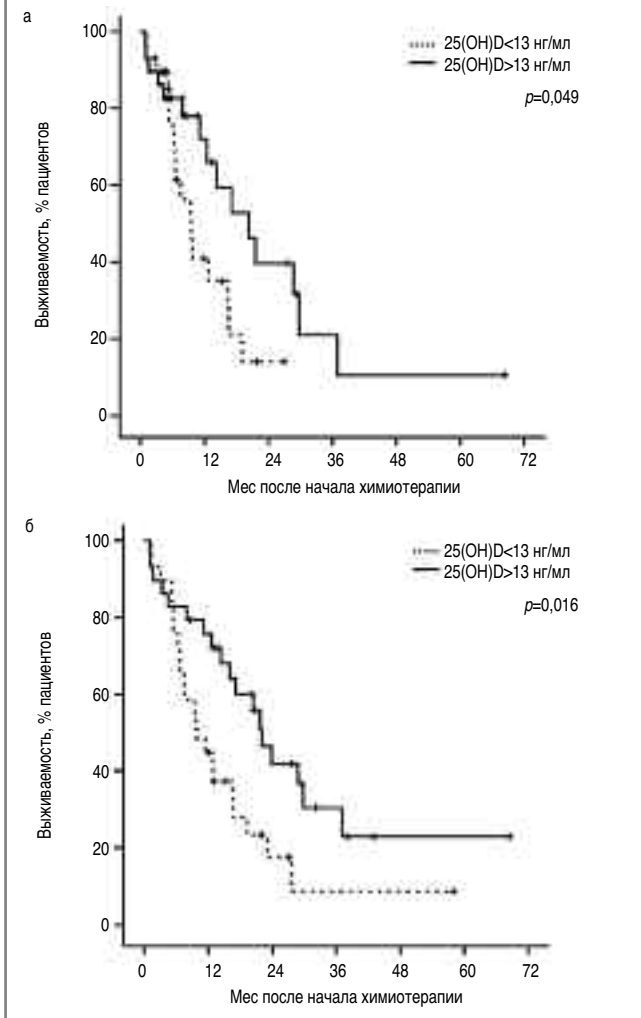
Крупномасштабные исследования серии WHI («Инициатива: женское здоровье», США) указали на серьезные

осложнения пероральной терапии эстрогенами [4] еще в начале 2000-х годов. Публикация результатов исследования серии WHI привела к резкому снижению использования пероральной МГТ в США и в ряде других западных стран. В контексте результатов исследования WHI и других крупномасштабных исследований стало очевидно, что препараты для пероральной МГТ не просто являются устаревшей (можно сказать, архаичной) формой МГТ, но и представляют существенную опасность для здоровья пациентов. Эстрогенсодержащие средства повышают риск не только опухолевых заболеваний, но также системного воспаления, атеросклероза, тромбоемболий, тромбоза глубоких вен, инсулинорезистентности, желчнокаменной болезни. Поэтому в США уже к концу 2002 г. общее число назначений эстрогеновой МГТ снизилось примерно на 30% по сравнению с весной 2002 г. Эта тенденция сохранилась и в течение следующих 7 лет. Так, к 2009 г. общее число назначений МГТ снизилось более чем на 70% по сравнению с 2002 г. [5].

Использование определенных витаминов и других микронутриентов – важное направление предупреждения нежелательных эффектов при приеме эстрогенов. Витамины характеризуются выраженными противоопухолевыми свойствами. Результаты доказательных исследований, систематизированные в работе О.А.Громовой и соавт. [6], показывают, что витамины целесообразно использовать, во-первых, для долговременной профилактики опухолевых заболеваний, во-вторых, для компенсации низкой обеспеченности витаминами пациентов с опухолевыми заболеваниями, в-третьих, для повышения эффективности стандартной противоопухолевой терапии и, в-четвертых, для адъювантной терапии опухолевых заболеваний с целью ослабления побочных эффектов химиотерапии.

Адекватная обеспеченность витамином D занимает особое место в структуре противоопухолевой защиты организма. Витамин D является доказанным стимулятором противоопухолевого иммунитета, который компенсирует иммунодефицитные состояния [7], способствующие метастазированию. Противоопухолевый эффект витамина D основан на прямом влиянии активированного рецептора вита-

**Рис. 1.** Выживаемость пациентов с миелоидной лейкемией после терапии азацитидином при очень низких уровнях витамина до начала лечения [25(OH)D<13 нг/мл, n=29] по сравнению с более высокими уровнями до начала лечения [25(OH)D>13 нг/мл, n=29]: а – результаты анализа при исключении данных о пациентах, перенесших аллогенную трансплантацию стволовых клеток после применения азацитидина; б – результаты анализа без исключения пациентов, перенесших аллогенную трансплантацию стволовых клеток.



мина D на транскрипцию более 3 тыс. генов, вовлеченных в регуляцию деления и апоптоза клеток. Поддержка витамином D процессов апоптоза чрезвычайно важна для элиминации опухолевых клеток из организма [8].

В литературе представлены очевидные доказательства противоопухолевых свойств витамина D [9]. Например, в эксперименте было показано, что водный раствор мицелл с витамином D<sub>3</sub> (Аквадетрим) снижает рост и метастазирование перевиваемой эпидермоидной карциномы легких Льюис. Воздействие витамина D<sub>3</sub> до 13 сут развития карциномы легких Льюис сопровождалось нарастающей тенденцией торможения роста опухоли на 25–30% ( $p=0,016$ ); наблюдались отчетливые признаки подавления процессов метастазирования – число малых метастазов статистически значимо снижалось на 35–40% ( $p<0,05$ ) [10].

Приведен другой пример, указывающий на важность адекватной обеспеченности витамином D пациентов, проходящих химиотерапию. Низкий уровень витамина D в сыворотке крови ассоциирован с меньшей продолжительностью жизни пациентов с миелодиспластическим синдромом и вторичной олигобластной острой миелоидной лейкемией после лечения азацитидином (n=58). Еще до начала применения азацитидина средние уровни 25(OH)D у пациентов были крайне низки (13 нг/мл, 95% ДИ 4–25 нг/мл). Оценочная вероятность выживания пациента в течение 2 лет составила 14% в подгруппе пациентов с тяжелым дефицитом витамина D (<13 нг/мл, n=29) и 40% в подгруппе

пациентов со средним дефицитом витамина D (>13 нг/мл, n=29,  $p<0,05$ ); рис. 1. Добавление наномолярных концентраций 25(OH)D к азацитидину приводило к потенцированию активности противоопухолевого препарата. Таким образом, терапия миелоидной лейкемии обязательно должна сопровождаться дотациями витамина D, особенно при лечении азацитидином [11].

Систематический обзор проспективных исследований взаимодействий между витамином D и риском эстрогензависимого рака толстой кишки (РТК) включил 18 исследований и более 1 млн участников из европейских стран. Самый высокий квартиль потребления витамина D соответствовал снижению риска на 12% (ОР 0,88, 95% ДИ 0,80–0,96); самый высокий квартиль уровней 25(OH)D – снижению риска на 33% (ОР 0,67, 95% ДИ 0,54–0,80) [12, 13].

Таким образом, витамин D характеризуется неоспоримыми противоопухолевыми свойствами, которые важны и для профилактики, и для терапии опухолевых заболеваний, особенно на фоне применения эстрогенов [1]. В настоящей статье представлены результаты систематического анализа молекулярных механизмов противоопухолевых эффектов витамина D и клинических исследований эстрогензависимых опухолей, указывающие на перспективность сочетанного применения препаратов эстрогенов и витамина D.

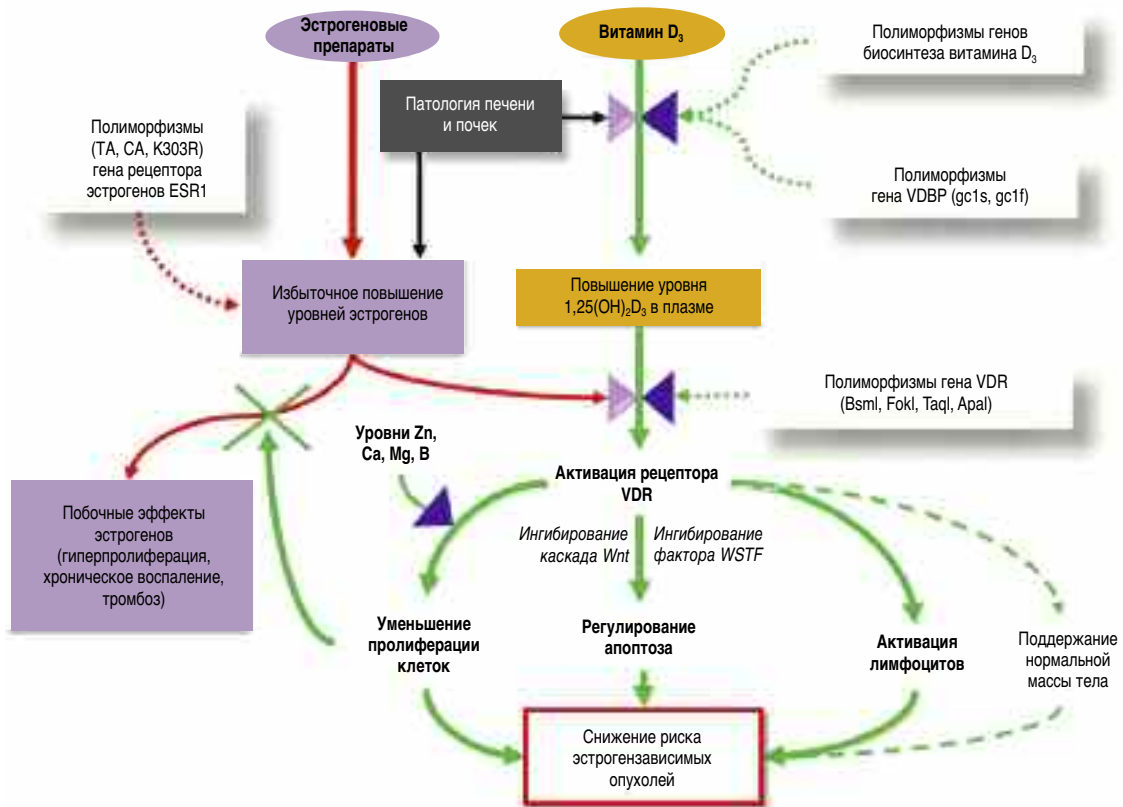
### Молекулярные механизмы противоопухолевых эффектов витамина D в случае эстрогензависимых опухолей

Противоопухолевые эффекты витамина D и его гормонально активной формы, 1,25(OH)<sub>2</sub>D, подробно описаны в многочисленных доклинических и клинических исследованиях. Молекулярные механизмы, лежащие в основе этих эффектов, весьма разносторонни и интенсивно изучаются в настоящее время. В целом противоопухолевый эффект витамина D<sub>3</sub> обусловлен активностью активированного рецептора витамина D<sub>3</sub> (VDR), который экспрессируется во многих клетках иммунной системы: моноцитах, макрофагах, Т-лимфоцитах и В-лимфоцитах. Активация транскрипции посредством рецепторов VDR в этих и других типах клеток имеет антипролиферативный и иммуномодулирующий эффект [14].

Активированная витамином молекула рецептора VDR взаимодействует с ДНК более 3 тыс. генов, оказывая комплексное воздействие на процессы транскрипции генома. В результате моделирования изменений транскрипции методами функционального связывания с использованием функциональных категорий стандартной аннотации генома человека (Gene Ontology) [8] было установлено, что витамин D может приводить к изменениям в экспрессии более 700 генов, активность которых чрезвычайно важна для онкопротекции. Данные гены подразделяются на три большие группы: деление и пролиферация клеток (GO 0008270 – связывание ионов цинка, GO 0003700 – белок – фактор транскрипции, GO 0007049 – цикл деления клетки, более 300 генов), регулирование апоптоза (GO 0008283 – регулировка цикла деления и размножения клеток, GO 0006512 – убиквитинзависимая деградация белков, GO 0005739 – функционирование митохондрий, 120 генов), активация лимфоцитов (GO 0008270 – связывание ионов цинка, GO 0006355 – регуляция транскрипции, GO 0007165 – внутриклеточная передача сигнала, 290 генов). Была сформулирована общая модель взаимосвязи между риском эстрогензависимых опухолей и обеспеченностью витамином D (рис. 2).

Так как рецепторы витамина D представлены практически во всех тканях тела, общий механизм противоопухолевого воздействия витамина одинаков для всех тканей. Взаимодействие между уровнями эстрогенов (которые повышены при регулярном приеме эстрогенсодержащих препаратов) и витамином D осуществляется, по всей видимости, на уровне внутриклеточных сигнальных путей [15]. В частности, эффекты витамина D на деление и пролиферацию клеток, регулирование апоптоза, активацию лимфоцитарного звена противоопухолевого иммунитета осуществляются посредством воздействия на каскад

Рис. 2. Противоопухолевый эффект витамина D.



Примечание. VDBP – витамин D-связывающий транспортный белок; VDR – витамин D-рецептор. Символ ►◀ » отображает зависимость эффекта от дополнительных условий.

Wnt/ $\beta$ -катенина и фактор транскрипции синдрома Уильямса (белок WSTF).

Так, кальцитриол [1,25-дигидроксивитамин D, 1,25(OH)<sub>2</sub>D] оказывает таргетное цитотоксическое действие на клетки, инициирующие развитие эстрогензависимых опухолей (также известны как опухолевые стволовые клетки), уменьшая их проопухолевую активность. Эксперименты на клетках линии MMTV-Wnt1 (опухоль молочной железы) в культуре показали, что эти клетки экспрессируют функциональные рецепторы витамина D и эстрогеновые рецепторы (ER). 1,25-дигидроксивитамин D индуцировал подавление экспрессии генов рецептора эстрогена. После перевивания (имплантации) опухолевых клеток MMTV-Wnt1 мышам инъекции 1,25(OH)<sub>2</sub>D, равно как и диета с повышенным содержанием витамина D, приводили к выраженной задержке появления и к снижению интенсивности роста опухоли, тогда как диета с дефицитом витамина D ускоряла появление и рост опухолей (рис. 3) [16].

Эксперименты на линии опухолевых клеток MMTV-Wnt1 в культуре также показали, что витамин D ингибирует образование так называемых «сфероидов» – сферических колоний раковых клеток с диаметром более 50 мкм. Присутствие сфероидов *in vitro* указывает на активную агрегацию клеток, вызывающих рак. Применение 1,25(OH)<sub>2</sub>D дозозависимо снижало образование сфероидов (рис. 4). Комбинация 1,25(OH)<sub>2</sub>D и ионизирующего излучения тормозила образование сфероидов в большей степени, чем каждое из этих воздействий по отдельности [16].

Важно отметить, что ингибирование 1,25(OH)<sub>2</sub>D клеток, инициирующих опухоль, преодолевается при резком повышении экспрессии  $\beta$ -катенина. Данный факт указывает на то, что противоопухолевые эффекты витамина D осуществляются, в частности, посредством ингибирования сигнального пути Wnt/ $\beta$ -катенина. Таким образом, сочетанное применение соединений витамина D и стандартных разновидностей лечения опухолей может повышать эффективность противоопухолевой терапии [16].

Фактор транскрипции синдрома Уильямса (белок WSTF) опосредует внутриклеточную передачу сигналов от рецептора эстрогена в клетках РМЖ. Эффекты белка WSTF ингибируются активной формой витамина D – 1,25(OH)<sub>2</sub>D. Белок WSTF экспрессируется в опухолевой ткани молочной железы в большем количестве, чем в нормальной ткани (рис. 5, 6), а 1,25(OH)<sub>2</sub>D снижает экспрессию гена CYP19A1 (который кодирует ароматазу, синтезирующую эстрадиол) и экспрессию гена эстроген-рецептора ER $\alpha$  (основного медиатора фармакологических эффектов эстрогенов). Белок WSTF играет ключевую роль в этом процессе и, связываясь с промоторами генов CYP19A1 и ER $\alpha$ , активирует экспрессию этих генов. Активная форма витамина D, 1,25(OH)<sub>2</sub>D, вызывает отделение транскрипционного фактора WSTF от промоторов генов CYP19A1 и ER $\alpha$ , что снижает экспрессию этих генов [17].

Заметим, что витамин D не является единственным микронутриентом, который демонстрирует противоопухолевые свойства на молекулярном уровне. Противоопухолевые эффекты витамина D усиливаются другими микронутриентами. Например, бор:

- 1) способствует физиологическому усвоению организмом и витамина D, и эстрогенов;
- 2) усиливает всасывание магния, также проявляющего противоопухолевые свойства;
- 3) снижает уровень воспалительных биомаркеров (таких, как С-реактивный белок и фактор некроза опухоли  $\alpha$ );
- 4) повышает уровень антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы;
- 5) защищает от окислительного стресса, вызванного пестицидами, и от токсичности, вызываемой тяжелыми металлами (ртуть, кадмий, свинец и др.).

Все эти эффекты бора приводят к онкопревентивному и терапевтическому воздействию этого микроэлемента и помогают смягчить неблагоприятные эффекты эстрогенов и традиционных химиотерапевтических агентов. Противоопухолевые эффекты бора появляются при приеме в дозах более 3 мг/сут [18].

Рис. 3. Влияние 1,25(OH)<sub>2</sub>D и диетарного потребления витамина D<sub>3</sub> на рост опухолей линии MMTV-Wnt1. Мыши получали стандартную диету, диету с дефицитом витамина D (Низк.-D) или диету с высоким содержанием витамина D (Выс.-D) в течение 12 нед. Параллельная экспериментальная группа состояла из мышей на стандартной диете, получавших инъекции 1,25(OH)<sub>2</sub>D в течение последних 7 нед 12-недельного периода. На экспериментальной неделе 12 мышам были перевиты опухолевые клетки MMTV-Wnt1. Прием витамина D или лечение 1,25(OH)<sub>2</sub>D продолжали в течение следующих 7 нед: а – анализ возникновения опухолей у мышей в различных экспериментальных группах; б – объемы опухолей в экспериментальных группах в конце исследования.

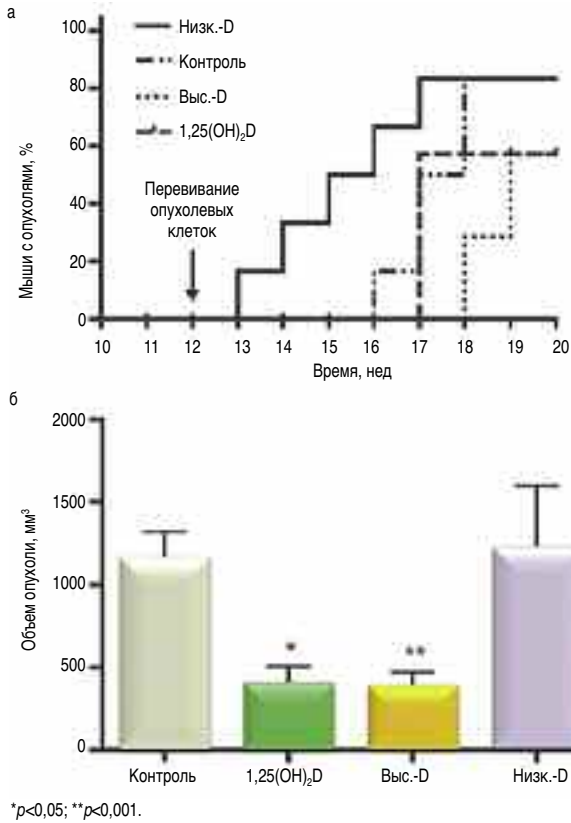
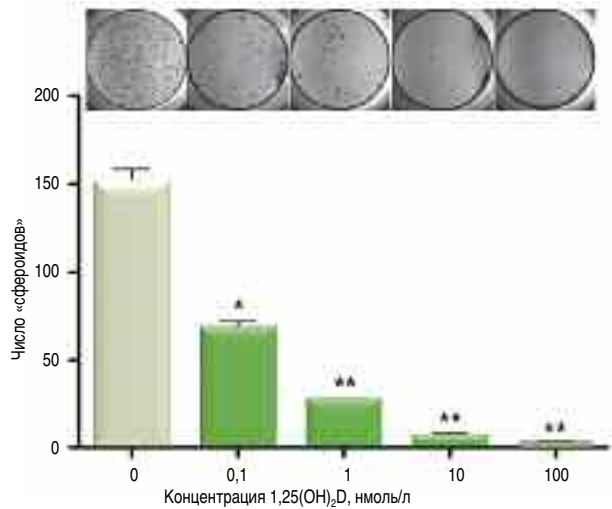


Рис. 4. 1,25(OH)<sub>2</sub>D ингибирует пролиферацию и агрегацию в «сфероиды» клеток, инициирующих РМЖ.

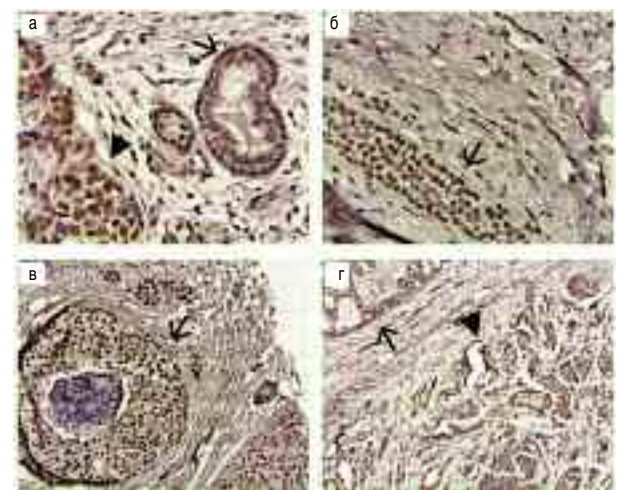


Примечание. Приведены представительные изображения и количественные оценки, подтверждающие то, что обработка клеток 1,25(OH)<sub>2</sub>D (0,1, 1, 10, 100 нмоль/л) дозозависимо снижала склонность опухолеобразующих клеток к образованию сфероидных колоний. \**p*<0,01; \*\**p*<0,001 по сравнению с контролем.

Рис. 5. Экспрессия витамин D-регулируемого фактора транскрипции синдрома Уильямса (белок WSTF) в клетках РМЖ. Иммуногистохимическое окрашивание опухолей молочной железы со слабой (а), умеренной (б) и сильной (в) экспрессией WSTF. Ув. 400.



Рис. 6. Иммуногистохимическое окрашивание WSTF: а – в ядрах нормальных эпителиальных клеток молочной железы (->), инвазивных опухолевых клетках (▶), ув. 250; б – в дольковой карциноме (->), ув. 250; в – в протоковой карциноме (->), ув. 100; г – в протоковой карциноме (->) с инвазивными опухолевыми клетками (▶), ув. 100.



Анализ когорты женщин в постменопаузе (n=57 403, из них 2482 случаев РМЖ) показал, что риск РМЖ в постменопаузе снижается, когда пациентки регулярно и длительно принимают витамин D (ОШ 0,82, 95% ДИ 0,69–0,97, *p*=0,02). Противоопухолевое действие витамина D было более выражено у пациенток, которые использовали гормональную терапию эстрогенами (ОШ 0,74, 95% ДИ 0,60–0,90, *p*=0,02) [21].

### Клинические исследования взаимосвязи недостаточности витамина D и риска эстрогензависимых опухолей: РМЖ

Дефицит витамина D ассоциирован с более тяжелым течением РМЖ у женщин в постменопаузе (n=192, 45–75 лет). В данной группе пациенток достаточные уровни витамина D (>30 нг/мл) были обнаружены у 65 (33,9%) пациенток, недостаточный уровень (20–30 нг/мл) – 92 (47,9%), а дефицит (<20 нг/мл) – 35 (18,2%). У обследованных женщин с недостаточными или с дефицитными уровнями 25(OH)D отмечена повышенная частота встречаемости опухолей с более тяжелой гистологической картиной (*p*<0,05). Недостаточность витамина D была также ассоциирована с метастазами в лимфатических узлах (отношение шансов – ОШ 1,58, 95% ДИ 1,02–2,92) и также с более высокими значениями балла по иммуногистохимической шкале Ki-67, которая оценивает скорость пролиферации опухоли (ОШ 2,62, 95% ДИ 1,40–4,98). Таким образом, сниженные уровни витамина D (<30 нг/мл) ассоциированы с наличием быстро пролиферирующих опухолей молочной железы с метастазированием [19].

Сниженные уровни 25(OH)D коррелируют с более агрессивным течением РМЖ. Анализ данных группы женщин в постменопаузе с ранним РМЖ (n=220) показал, что недостаточность витамина D была достоверно ассоциирована с опухолями III стадии (*p*=0,015), с узловой формой РМЖ (*p*=0,043) на фоне более высокого индекса массы тела – ИМТ (*p*=0,017). Недостаточность витамина D также была ассоциирована с повышенной экспрессией эстрогенового рецептора в опухолевой ткани (*p*=0,033) [20].



Рис. 7. Метаанализ самого высокого квартиля уровней 25(OH)D сыворотки по сравнению с самым низким квартилем. «Вес исследования» вычислялся как обратная дисперсия.

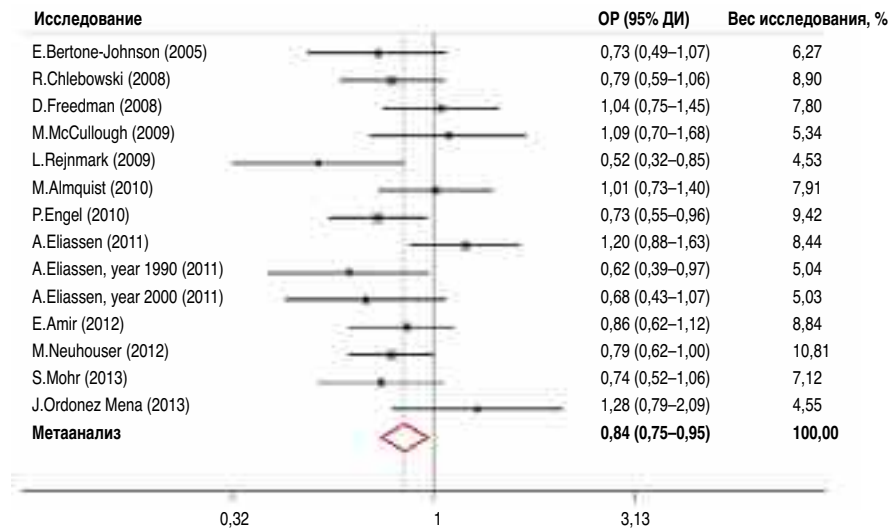


Рис. 8. Дозозависимый эффект воздействия потребления витамина D на риск РМЖ. Короткими штрихами отмечена линейная аппроксимация дозозависимого эффекта снижения риска.

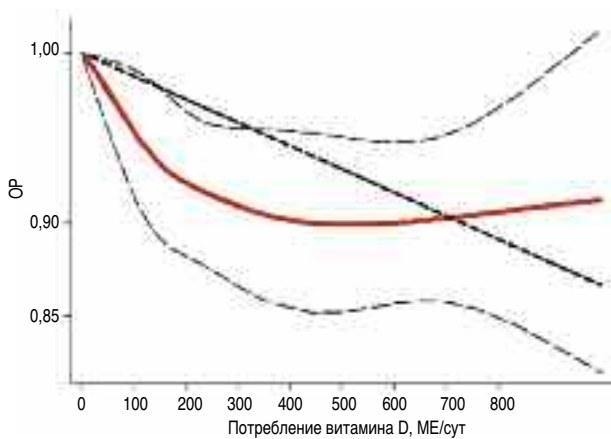
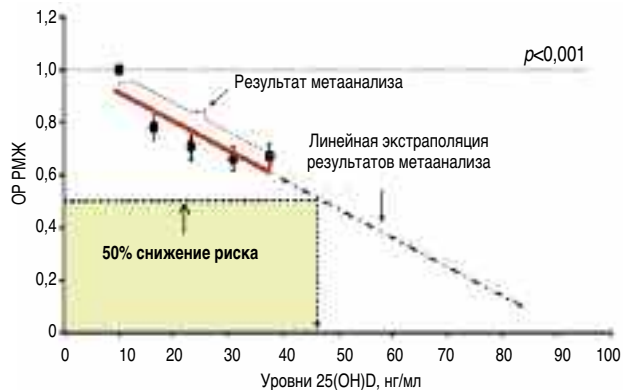


Рис. 9. Метаанализ концентраций 25(OH)D сыворотки и риска РМЖ. Риск РМЖ в зависимости от уровней 25(OH)D сыворотки, исследования 1966–2010 гг. ТОЛЬКО с участием популяций, проживающих выше 37-й параллели северной широты.



Примечание. Москва находится на 53-й параллели северной широты, Севастополь – 44-й, Сочи – 43-й.

Метаанализ проспективных исследований взаимосвязи уровней 25(OH)D в сыворотке крови и риска РМЖ (рис. 7) включил 14 исследований (9110 случаев РМЖ и 16 244 контрольных). Более высокие уровни 25(OH)D были достоверно ассоциированы со снижением риска РМЖ (ОР 0,85, 95% ДИ 0,75–0,95) [22].

Метаанализ 9 исследований 5206 пациенток и 6450 контрольных случаев включил влияние моделирования доза-ответ у женщин в постменопаузе на риск РМЖ. Оказалось, что риск снижался на 12% при повышении уровней 25(OH)D в плазме на каждые 5 нг/мл (ОР 0,88, 95% ДИ 0,79–0,97); см. рис. 7. Дальнейшего снижения риска не наблюдалось при уровнях 25(OH)D > 35 нг/мл [23]. Метаанализ эффектов витамина D показал, что в квартиле с самым высоким уровнем 25(OH)D отмечено достоверное снижение риска РМЖ на 48% (ОР 0,52, 95% ДИ 0,40–0,68,  $p < 0,00001$ ) [24].

Метаанализ эффектов потребления витамина D включил данные 10 клинических исследований (n=14 450). Анализ дозозависимых эффектов позволил установить, что потребление витамина D не менее 400 МЕ/сут, кальция более 600 мг/сут и уровни 25(OH)D в сыворотке более 30 нг/мл соответствовали наименьшему риску заболевания (рис. 8) [25].

Метаанализ 11 исследований влияния уровней 25-гидроксивитамина D сыворотки на профилактику РМЖ показал, что уровни 25(OH)D в самом высоком квартиле соответствовали снижению риска патологии на 39% (ОР 0,61, 95%

ДИ 0,47–0,80). Уровни 25(OH)D ≥ 47 нг/мл соответствовали снижению риска РМЖ на 50% (рис. 9) [26].

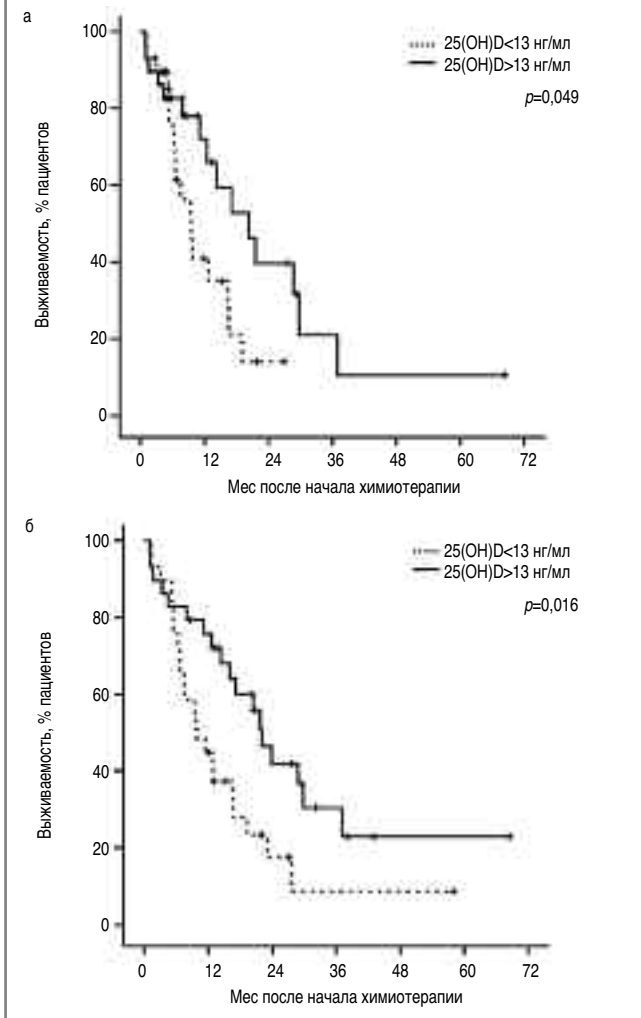
Метаанализ эффектов высокого потребления витамина D (более 800 МЕ/сут) на профилактику РМЖ включил 11 исследований диетарного потребления витамина D, 7 исследований взаимосвязи уровней 25(OH)D и риска РМЖ. Самый высокий квартиль значений уровней 25(OH)D в крови был ассоциирован с 45% снижением риска РМЖ (ОР 0,55, 95% ДИ 0,38–0,80); рис. 10 [13].

Метаанализ 30 проспективных исследований заболеваемости (24 исследования, n=31 867) и смертности вследствие РМЖ (6 исследований, 870 смертей) показал, что уровни активной формы витамина 25(OH)D в самом высоком квартиле достоверно снижали смертность от РМЖ на 42% в среднем (ОР 0,58, 95% ДИ 0,40–0,85) и также снижали смертность от всех причин (ОР 0,61, 95% ДИ 0,48–0,79) [27].

### Клинические исследования взаимосвязи недостаточности витамина D и риска эстрогензависимых опухолей: РТК

Результаты исследований показали, что у пациенток, находящихся на гормональной терапии эстрогенами, применение витамина D приводит к увеличению риска РТК. В то же время у пациенток, не употребляющих эстрогены, наоборот, наблюдается уменьшение риска РТК при регулярном приеме даже таких небольших доз витамина D<sub>3</sub>, как 400 МЕ/сут (ОР 0,7, 95% ДИ 0,5–1,1) [28].

Рис. 1. Выживаемость пациентов с миелоидной лейкемией после терапии азациитидином при очень низких уровнях витамина до начала лечения [25(OH)D<13 нг/мл, n=29] по сравнению с более высокими уровнями до начала лечения [25(OH)D>13 нг/мл, n=29]: а – результаты анализа при исключении данных о пациентах, перенесших аллогенную трансплантацию стволовых клеток после применения азациитидина; б – результаты анализа без исключения пациентов, перенесших аллогенную трансплантацию стволовых клеток.



мина D на транскрипцию более 3 тыс. генов, вовлеченных в регуляцию деления и апоптоза клеток. Поддержка витамином D процессов апоптоза чрезвычайно важна для элиминации опухолевых клеток из организма [8].

В литературе представлены очевидные доказательства противоопухолевых свойств витамина D [9]. Например, в эксперименте было показано, что водный раствор мицелл с витамином D<sub>3</sub> (Аквадетрим) снижает рост и метастазирование перевиваемой эпидермоидной карциномы легких Льюис. Воздействие витамина D<sub>3</sub> до 13 сут развития карциномы легких Льюис сопровождалось нарастающей тенденцией торможения роста опухоли на 25–30% ( $p=0,016$ ); наблюдались отчетливые признаки подавления процессов метастазирования – число малых метастазов статистически значимо снижалось на 35–40% ( $p<0,05$ ) [10].

Приведен другой пример, указывающий на важность адекватной обеспеченности витамином D пациентов, проходящих химиотерапию. Низкий уровень витамина D в сыворотке крови ассоциирован с меньшей продолжительностью жизни пациентов с миелодиспластическим синдромом и вторичной олигобластной острой миелоидной лейкемией после лечения азациитидином (n=58). Еще до начала применения азациитидина средние уровни 25(OH)D у пациентов были крайне низки (13 нг/мл, 95% ДИ 4–25 нг/мл). Оценочная вероятность выживания пациента в течение 2 лет составила 14% в подгруппе пациентов с тяжелым дефицитом витамина D (<13 нг/мл, n=29) и 40% в подгруппе

пациентов со средним дефицитом витамина D (>13 нг/мл, n=29,  $p<0,05$ ); рис. 1. Добавление наномолярных концентраций 25(OH)D к азациитидину приводило к потенцированию активности противоопухолевого препарата. Таким образом, терапия миелоидной лейкемии обязательно должна сопровождаться дотациями витамина D, особенно при лечении азациитидином [11].

Систематический обзор проспективных исследований взаимодействий между витамином D и риском эстрогензависимого рака толстой кишки (РТК) включил 18 исследований и более 1 млн участников из европейских стран. Самый высокий квартиль потребления витамина D соответствовал снижению риска на 12% (ОР 0,88, 95% ДИ 0,80–0,96); самый высокий квартиль уровней 25(OH)D – снижению риска на 33% (ОР 0,67, 95% ДИ 0,54–0,80) [12, 13].

Таким образом, витамин D характеризуется неоспоримыми противоопухолевыми свойствами, которые важны и для профилактики, и для терапии опухолевых заболеваний, особенно на фоне применения эстрогенов [1]. В настоящей статье представлены результаты систематического анализа молекулярных механизмов противоопухолевых эффектов витамина D и клинических исследований эстрогензависимых опухолей, указывающие на перспективность сочетанного применения препаратов эстрогенов и витамина D.

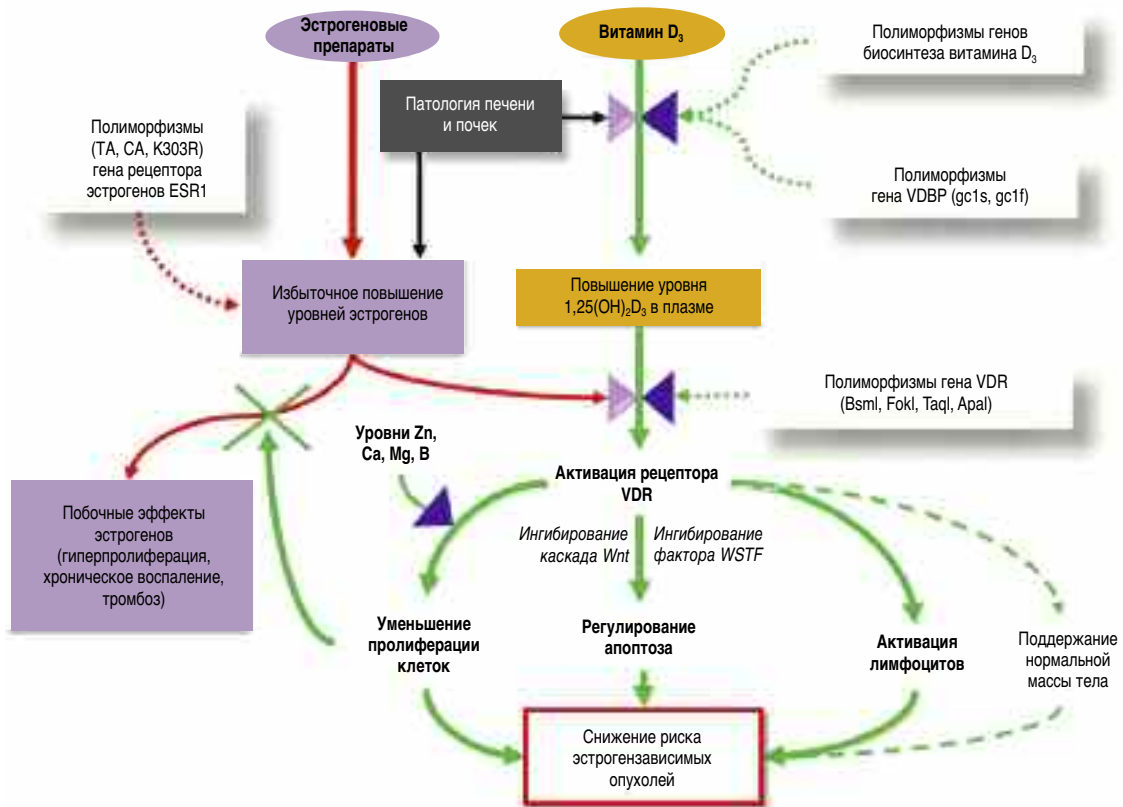
### Молекулярные механизмы противоопухолевых эффектов витамина D в случае эстрогензависимых опухолей

Противоопухолевые эффекты витамина D и его гормонально активной формы, 1,25(OH)<sub>2</sub>D, подробно описаны в многочисленных доклинических и клинических исследованиях. Молекулярные механизмы, лежащие в основе этих эффектов, весьма разносторонни и интенсивно изучаются в настоящее время. В целом противоопухолевый эффект витамина D<sub>3</sub> обусловлен активностью активированного рецептора витамина D<sub>3</sub> (VDR), который экспрессируется во многих клетках иммунной системы: моноцитах, макрофагах, Т-лимфоцитах и В-лимфоцитах. Активация транскрипции посредством рецепторов VDR в этих и других типах клеток имеет антипролиферативный и иммуномодулирующий эффект [14].

Активированная витамином молекула рецептора VDR взаимодействует с ДНК более 3 тыс. генов, оказывая комплексное воздействие на процессы транскрипции генома. В результате моделирования изменений транскрипции методами функционального связывания с использованием функциональных категорий стандартной аннотации генома человека (Gene Ontology) [8] было установлено, что витамин D может приводить к изменениям в экспрессии более 700 генов, активность которых чрезвычайно важна для онкопротекции. Данные гены подразделяются на три большие группы: деление и пролиферация клеток (GO 0008270 – связывание ионов цинка, GO 0003700 – белок – фактор транскрипции, GO 0007049 – цикл деления клетки, более 300 генов), регулирование апоптоза (GO 0008283 – регулировка цикла деления и размножения клеток, GO 0006512 – убиквитинзависимая деградация белков, GO 0005739 – функционирование митохондрий, 120 генов), активация лимфоцитов (GO 0008270 – связывание ионов цинка, GO 0006355 – регуляция транскрипции, GO 0007165 – внутриклеточная передача сигнала, 290 генов). Была сформулирована общая модель взаимосвязи между риском эстрогензависимых опухолей и обеспеченностью витамином D (рис. 2).

Так как рецепторы витамина D представлены практически во всех тканях тела, общий механизм противоопухолевого воздействия витамина одинаков для всех тканей. Взаимодействие между уровнями эстрогенов (которые повышены при регулярном приеме эстрогенсодержащих препаратов) и витамином D осуществляется, по всей видимости, на уровне внутриклеточных сигнальных путей [15]. В частности, эффекты витамина D на деление и пролиферацию клеток, регулирование апоптоза, активацию лимфоцитарного звена противоопухолевого иммунитета осуществляются посредством воздействия на каскад

Рис. 2. Противоопухолевый эффект витамина D.



Примечание. VDBP – витамин D-связывающий транспортный белок; VDR – витамин D-рецептор. Символ  $\blacktriangleleft$   $\rightarrow$  отображает зависимость эффекта от дополнительных условий.

Wnt/ $\beta$ -катенина и фактор транскрипции синдрома Уильямса (белок WSTF).

Так, кальцитриол [1,25-дигидроксивитамин D, 1,25(OH)<sub>2</sub>D] оказывает таргетное цитотоксическое действие на клетки, инициирующие развитие эстрогензависимых опухолей (также известны как опухолевые стволовые клетки), уменьшая их проопухолевую активность. Эксперименты на клетках линии MMTV-Wnt1 (опухоль молочной железы) в культуре показали, что эти клетки экспрессируют функциональные рецепторы витамина D и эстрогеновые рецепторы (ER). 1,25-дигидроксивитамин D индуцировал подавление экспрессии генов рецептора эстрогена. После перевивания (имплантации) опухолевых клеток MMTV-Wnt1 мышам инъекции 1,25(OH)<sub>2</sub>D, равно как и диета с повышенным содержанием витамина D, приводили к выраженной задержке появления и к снижению интенсивности роста опухоли, тогда как диета с дефицитом витамина D ускоряла появление и рост опухолей (рис. 3) [16].

Эксперименты на линии опухолевых клеток MMTV-Wnt1 в культуре также показали, что витамин D ингибирует образование так называемых «сфероидов» – сферических колоний раковых клеток с диаметром более 50 мкм. Присутствие сфероидов *in vitro* указывает на активную агрегацию клеток, вызывающих рак. Применение 1,25(OH)<sub>2</sub>D дозозависимо снижало образование сфероидов (рис. 4). Комбинация 1,25(OH)<sub>2</sub>D и ионизирующего излучения тормозила образование сфероидов в большей степени, чем каждое из этих воздействий по отдельности [16].

Важно отметить, что ингибирование 1,25(OH)<sub>2</sub>D клеток, инициирующих опухоль, преодолевается при резком повышении экспрессии  $\beta$ -катенина. Данный факт указывает на то, что противоопухолевые эффекты витамина D осуществляются, в частности, посредством ингибирования сигнального пути Wnt/ $\beta$ -катенина. Таким образом, сочетанное применение соединений витамина D и стандартных разновидностей лечения опухолей может повышать эффективность противоопухолевой терапии [16].

Фактор транскрипции синдрома Уильямса (белок WSTF) опосредует внутриклеточную передачу сигналов от рецептора эстрогена в клетках РМЖ. Эффекты белка WSTF ингибируются активной формой витамина D – 1,25(OH)<sub>2</sub>D. Белок WSTF экспрессируется в опухолевой ткани молочной железы в большем количестве, чем в нормальной ткани (рис. 5, 6), а 1,25(OH)<sub>2</sub>D снижает экспрессию гена CYP19A1 (который кодирует ароматазу, синтезирующую эстрадиол) и экспрессию гена эстроген-рецептора ER $\alpha$  (основного медиатора фармакологических эффектов эстрогенов). Белок WSTF играет ключевую роль в этом процессе и, связываясь с промоторами генов CYP19A1 и ER $\alpha$ , активирует экспрессию этих генов. Активная форма витамина D, 1,25(OH)<sub>2</sub>D, вызывает отделение транскрипционного фактора WSTF от промоторов генов CYP19A1 и ER $\alpha$ , что снижает экспрессию этих генов [17].

Заметим, что витамин D не является единственным микронутриентом, который демонстрирует противоопухолевые свойства на молекулярном уровне. Противоопухолевые эффекты витамина D усиливаются другими микронутриентами. Например, бор:

- 1) способствует физиологическому усвоению организмом и витамина D, и эстрогенов;
- 2) усиливает всасывание магния, также проявляющего противоопухолевые свойства;
- 3) снижает уровень воспалительных биомаркеров (таких, как С-реактивный белок и фактор некроза опухоли  $\alpha$ );
- 4) повышает уровень антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы;
- 5) защищает от окислительного стресса, вызванного пестицидами, и от токсичности, вызываемой тяжелыми металлами (ртуть, кадмий, свинец и др.).

Все эти эффекты бора приводят к онкопревентивному и терапевтическому воздействию этого микроэлемента и помогают смягчить неблагоприятные эффекты эстрогенов и традиционных химиотерапевтических агентов. Противоопухолевые эффекты бора появляются при приеме в дозах более 3 мг/сут [18].

Рис. 3. Влияние 1,25(OH)<sub>2</sub>D и диетарного потребления витамина D<sub>3</sub> на рост опухолей линии MMTV-Wnt1. Мыши получали стандартную диету, диету с дефицитом витамина D (Низк.-D) или диету с высоким содержанием витамина D (Выс.-D) в течение 12 нед. Параллельная экспериментальная группа состояла из мышей на стандартной диете, получавших инъекции 1,25(OH)<sub>2</sub>D в течение последних 7 нед 12-недельного периода. На экспериментальной неделе 12 мышам были перевиты опухолевые клетки MMTV-Wnt1. Прием витамина D или лечение 1,25(OH)<sub>2</sub>D продолжали в течение следующих 7 нед: а – анализ возникновения опухолей у мышей в различных экспериментальных группах; б – объемы опухолей в экспериментальных группах в конце исследования.

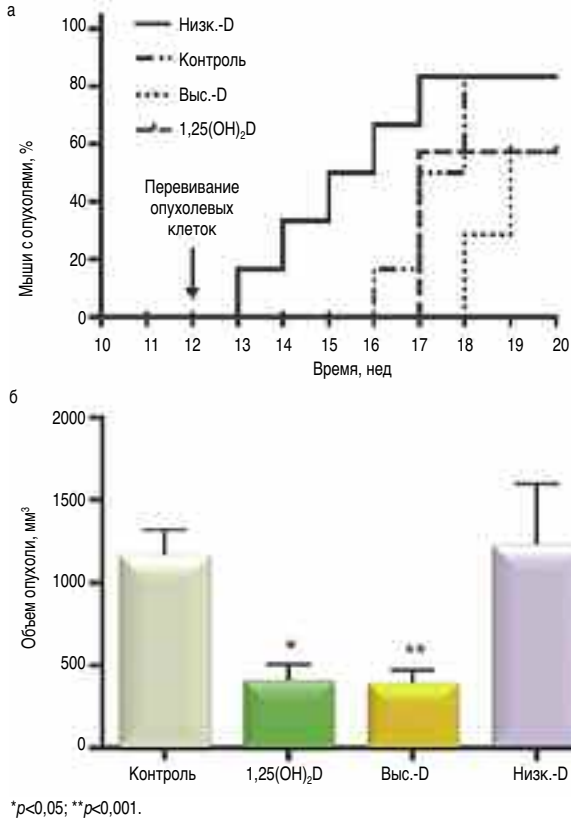
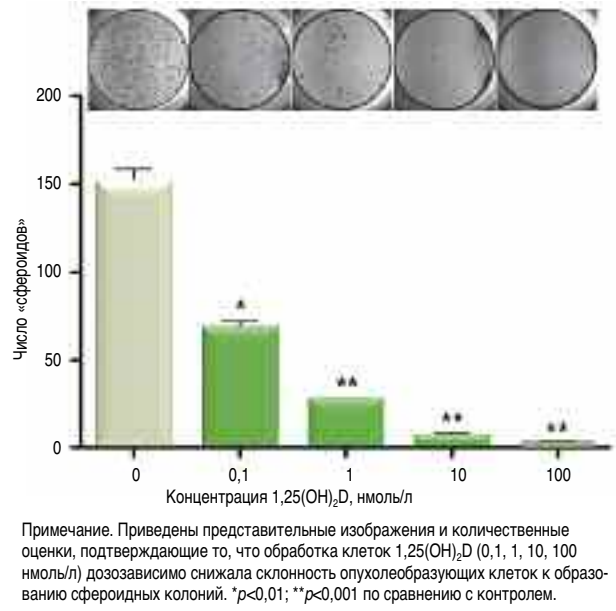


Рис. 4. 1,25(OH)<sub>2</sub>D ингибирует пролиферацию и агрегацию в «сфероиды» клеток, инициирующих РМЖ.

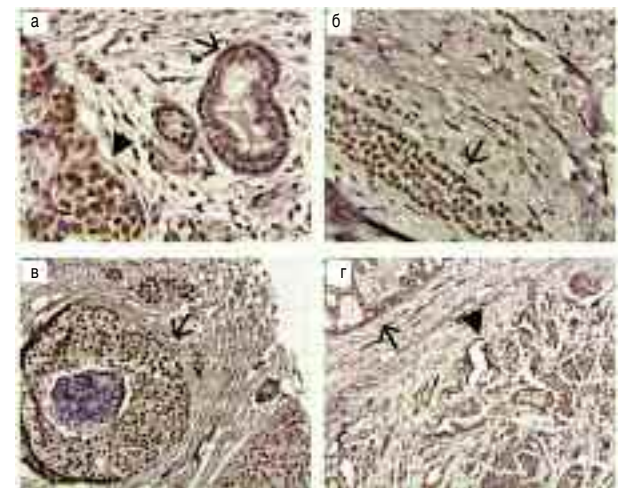


Примечание. Приведены представительные изображения и количественные оценки, подтверждающие то, что обработка клеток 1,25(OH)<sub>2</sub>D (0,1, 1, 10, 100 нмоль/л) дозозависимо снижала склонность опухолеобразующих клеток к образованию сфероидных колоний. \**p*<0,01; \*\**p*<0,001 по сравнению с контролем.

Рис. 5. Экспрессия витамин D-регулируемого фактора транскрипции синдрома Уильямса (белок WSTF) в клетках РМЖ. Иммуногистохимическое окрашивание опухолей молочной железы со слабой (а), умеренной (б) и сильной (в) экспрессией WSTF. Ув. 400.



Рис. 6. Иммуногистохимическое окрашивание WSTF: а – в ядрах нормальных эпителиальных клеток молочной железы (->), инвазивных опухолевых клетках (▶), ув. 250; б – в дольковой карциноме (->), ув. 250; в – в протоковой карциноме (->), ув. 100; г – в протоковой карциноме (->) с инвазивными опухолевыми клетками (▶), ув. 100.



Анализ когорты женщин в постменопаузе (n=57 403, из них 2482 случаев РМЖ) показал, что риск РМЖ в постменопаузе снижается, когда пациентки регулярно и длительно принимают витамин D (ОШ 0,82, 95% ДИ 0,69–0,97, *p*=0,02). Противоопухолевое действие витамина D было более выражено у пациенток, которые использовали гормональную терапию эстрогенами (ОШ 0,74, 95% ДИ 0,60–0,90, *p*=0,02) [21].

### Клинические исследования взаимосвязи недостаточности витамина D и риска эстрогензависимых опухолей: РМЖ

Дефицит витамина D ассоциирован с более тяжелым течением РМЖ у женщин в постменопаузе (n=192, 45–75 лет). В данной группе пациенток достаточные уровни витамина D (>30 нг/мл) были обнаружены у 65 (33,9%) пациенток, недостаточный уровень (20–30 нг/мл) – 92 (47,9%), а дефицит (<20 нг/мл) – 35 (18,2%). У обследованных женщин с недостаточными или с дефицитными уровнями 25(OH)D отмечена повышенная частота встречаемости опухолей с более тяжелой гистологической картиной (*p*<0,05). Недостаточность витамина D была также ассоциирована с метастазами в лимфатических узлах (отношение шансов – ОШ 1,58, 95% ДИ 1,02–2,92) и также с более высокими значениями балла по иммуногистохимической шкале Ki-67, которая оценивает скорость пролиферации опухоли (ОШ 2,62, 95% ДИ 1,40–4,98). Таким образом, сниженные уровни витамина D (<30 нг/мл) ассоциированы с наличием быстро пролиферирующих опухолей молочной железы с метастазированием [19].

Сниженные уровни 25(OH)D коррелируют с более агрессивным течением РМЖ. Анализ данных группы женщин в постменопаузе с ранним РМЖ (n=220) показал, что недостаточность витамина D была достоверно ассоциирована с опухолями III стадии (*p*=0,015), с узловой формой РМЖ (*p*=0,043) на фоне более высокого индекса массы тела – ИМТ (*p*=0,017). Недостаточность витамина D также была ассоциирована с повышенной экспрессией эстрогенового рецептора в опухолевой ткани (*p*=0,033) [20].



Рис. 7. Метаанализ самого высокого квартиля уровней 25(OH)D сыворотки по сравнению с самым низким квартилем. «Вес исследования» вычислялся как обратная дисперсия.

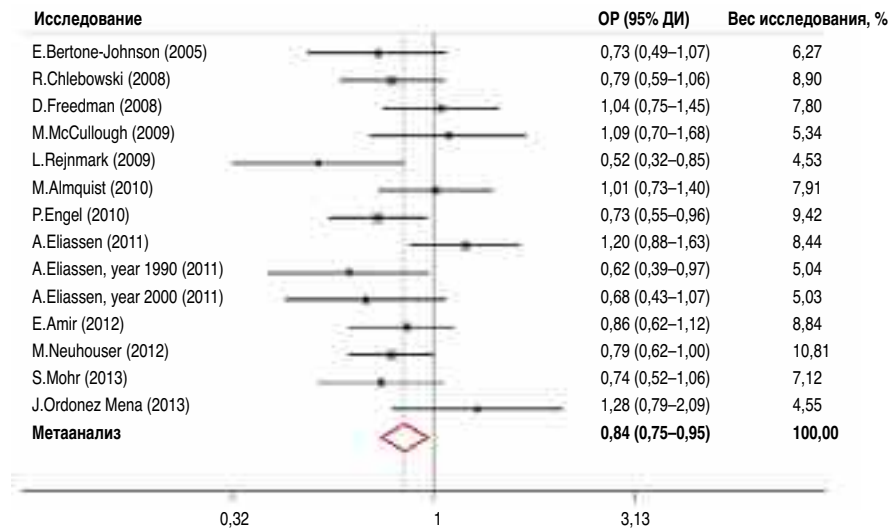


Рис. 8. Дозозависимый эффект воздействия потребления витамина D на риск РМЖ. Короткими штрихами отмечена линейная аппроксимация дозозависимого эффекта снижения риска.

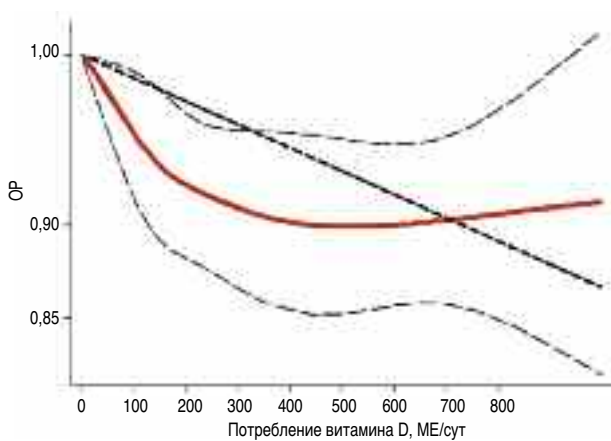
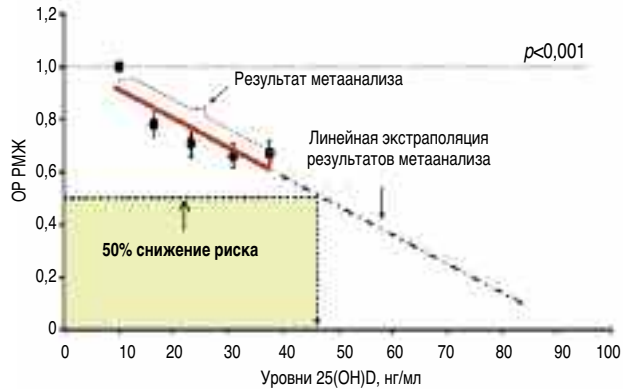


Рис. 9. Метаанализ концентраций 25(OH)D сыворотки и риска РМЖ. Риск РМЖ в зависимости от уровней 25(OH)D сыворотки, исследования 1966–2010 гг. ТОЛЬКО с участием популяций, проживающих выше 37-й параллели северной широты.



Примечание. Москва находится на 53-й параллели северной широты, Севастополь – 44-й, Сочи – 43-й.

Метаанализ проспективных исследований взаимосвязи уровней 25(OH)D в сыворотке крови и риска РМЖ (рис. 7) включил 14 исследований (9110 случаев РМЖ и 16 244 контрольных). Более высокие уровни 25(OH)D были достоверно ассоциированы со снижением риска РМЖ (ОР 0,85, 95% ДИ 0,75–0,95) [22].

Метаанализ 9 исследований 5206 пациенток и 6450 контрольных случаев включил влияние моделирования доза-ответ у женщин в постменопаузе на риск РМЖ. Оказалось, что риск снижался на 12% при повышении уровней 25(OH)D в плазме на каждые 5 нг/мл (ОР 0,88, 95% ДИ 0,79–0,97); см. рис. 7. Дальнейшего снижения риска не наблюдалось при уровнях 25(OH)D > 35 нг/мл [23]. Метаанализ эффектов витамина D показал, что в квартиле с самым высоким уровнем 25(OH)D отмечено достоверное снижение риска РМЖ на 48% (ОР 0,52, 95% ДИ 0,40–0,68,  $p < 0,00001$ ) [24].

Метаанализ эффектов потребления витамина D включил данные 10 клинических исследований (n=14 450). Анализ дозозависимых эффектов позволил установить, что потребление витамина D не менее 400 МЕ/сут, кальция более 600 мг/сут и уровни 25(OH)D в сыворотке более 30 нг/мл соответствовали наименьшему риску заболевания (рис. 8) [25].

Метаанализ 11 исследований влияния уровней 25-гидроксивитамина D сыворотки на профилактику РМЖ показал, что уровни 25(OH)D в самом высоком квартиле соответствовали снижению риска патологии на 39% (ОР 0,61, 95%

ДИ 0,47–0,80). Уровни 25(OH)D ≥ 47 нг/мл соответствовали снижению риска РМЖ на 50% (рис. 9) [26].

Метаанализ эффектов высокого потребления витамина D (более 800 МЕ/сут) на профилактику РМЖ включил 11 исследований диетарного потребления витамина D, 7 исследований взаимосвязи уровней 25(OH)D и риска РМЖ. Самый высокий квартиль значений уровней 25(OH)D в крови был ассоциирован с 45% снижением риска РМЖ (ОР 0,55, 95% ДИ 0,38–0,80); рис. 10 [13].

Метаанализ 30 проспективных исследований заболеваемости (24 исследования, n=31 867) и смертности вследствие РМЖ (6 исследований, 870 смертей) показал, что уровни активной формы витамина 25(OH)D в самом высоком квартиле достоверно снижали смертность от РМЖ на 42% в среднем (ОР 0,58, 95% ДИ 0,40–0,85) и также снижали смертность от всех причин (ОР 0,61, 95% ДИ 0,48–0,79) [27].

### Клинические исследования взаимосвязи недостаточности витамина D и риска эндостаточных опухолей: РТК

Результаты исследований показали, что у пациенток, находящихся на гормональной терапии эстрогенами, применение витамина D приводит к увеличению риска РТК. В то же время у пациенток, не употребляющих эстрогены, наоборот, наблюдается уменьшение риска РТК при регулярном приеме даже таких небольших доз витамина D<sub>3</sub>, как 400 МЕ/сут (ОР 0,7, 95% ДИ 0,5–1,1) [28].