

Received: 14.03.2019  
Accepted: 12.09.2019  
Published: 31.12.2019

## Rola witaminy D3 w szlakach sygnałowych – potencjalne właściwości przeciwnowotworowe kalcytriolu i jego analogów

The role of vitamin D3 in signaling pathways – potential anticancer properties of calcitriol and its analogues

**Olga Wiecheć**

Zakład Biofizyki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

### Streszczenie

Witamina D, przez wiele lat od jej odkrycia, była łączona przede wszystkim z procesami metabolicznymi układu kostno-szkieletowego. Rozwój badań w tej dziedzinie stworzył jednak nowe możliwości wykorzystania tego związku. Obecnie, wiele prac wskazuje na jej znaczenie w zapobieganiu i zwalczaniu wielu schorzeń, w tym chorób nowotworowych. Niedobór natomiast jest łączony z większą podatnością na zachorowania i gorszym rokowaniem w leczeniu, zwłaszcza chorób nowotworowych. Kalcytriol, czyli aktywna postać witaminy D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) oraz różne jej pochodne wykazują wiele aktywności, w tym o charakterze przeciwnowotworowym. Liczne badania wskazały, że aktywna postać witaminy D3 może działać antyproliferacyjnie w komórkach nowotworowych przez zahamowanie cyklu komórkowego, indukcję różnicowania, nasilenie apoptozy i wzmacnianie autofagii. Niezwykle ważne są także możliwości zmniejszania inwazyjności nowotworów przez wpływ na angiogenezę, adhezję i kontaktowe hamowanie wzrostu, a także migrację komórek nowotworowych. Zwłaszcza w nowotworach, których komórki wykazują ekspresję receptorów VDR, sugeruje się przeciwnowotworową rolę witaminy D3. Wiele komórek rakowych nie tylko przejawia ekspresję receptora VDR, ale także dochodzi w nich do lokalnej regulacji metabolizmu 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, dzięki ekspresji hydroksylaz CYP27B1 i CYP24A. W wielu przeprowadzonych badaniach z zastosowaniem witaminy D3 wykazano, że kalcytriol i jego analogi wpływają na komórki nowotworowe, dzięki czemu mogą odgrywać ważne role w terapiach przeciwnowotworowych. Ze względu na szeroki plejotropizm działania kalcytriolu i jego pochodnych oraz rozwój badań nad tym problemem, w pracy przedstawiono wpływ aktywnych postaci witaminy D na niektóre szlaki sygnałowe i na regulację wybranych białek w różnych nowotworach.

**Słowa kluczowe:**

witamina D • kalcytriol • receptor witaminy D (VDR) • szlaki sygnałowe • leczenie przeciwnowotworowe

### Summary

Vitamin D, for many years after the discovery, primarily was associated with bone metabolic processes. Currently, many studies indicate its beneficial effect in the prevention and treatment of many diseases, including cancer. However, deficiency of vitamin D is associated with greater tendency to get sick and worse prognosis in treatment, especially cancer. Calcitriol, an active form of vitamin D (1.25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) and its analogues have a pleiotropic activity, including anti-cancer properties. Many studies indicate, that the active forms of vitamin D3 may show

anti-proliferative effects in cancer cells by inhibiting the cell cycle, inducing differentiation or leading to apoptosis and enhancing autophagy. Also, extremely important are the possibilities of reducing the invasiveness of tumours through the influence on angiogenesis or adhesion and others. Especially, the anti-cancer role of vitamin D3 is suggested in the case of tumors whose cells express VDR receptors. Interestingly, many cancer cells not only express the VDR receptors, but also due to the expression of CYP27B1 and CYP24A hydroxylases, they can regulate metabolism of calcitriol. Many of the studies using vitamin D3 show that calcitriol and its analogues, due to the influence on cancer cells, can play promising roles in anticancer therapies. Consider the broad pleiotropism of the action of active metabolites of vitamin D3 and the development of research in this field, the current work presents the effect of active forms of vitamin D on some signalling pathways and the regulation of selected proteins in various cancers.

**Keywords:** vitamin D • calcitriol • vitamin D receptor (VDR) • signalling pathway • antitumor treatment

**GICID** 01.3001.0013.7864  
**DOI:** 10.5604/01.3001.0013.7864  
**Word count:** 10741  
**Tables:** –  
**Figures:** 3  
**References:** 120

**Adres autorki:** mgr Olga Wiecheć, Zakład Biofizyki, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków; e-mail: olga.wiechec@doctoral.uj.edu.pl

**Wykaz skrótów:** **1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>** – 1,25-dihydroksycholekalcyferol (kalcytriol); **20(OH)D<sub>3</sub>** – 20-hydroksywitamina 20-hydroksywitamina D<sub>3</sub>; **25(OH)D<sub>3</sub>** – 25-hydroksywitamina D<sub>3</sub> (kalcydiol); **Bax, Bak, Bad** – białka proapoptotyczne z rodziny Bcl-2; **Bcl-2, Bcl-X<sub>L</sub>** – białka antyapoptotyczne z rodziny Bcl-2; **Cdk** – kinazy cyklinozależne (cyclin-dependent kinases); **c-myc** – białko będące regulatorem cyklu komórkowego (myelocytomatosi); **CYP11A1** – desmolaza cholesterolowa; **CYP24A1** – 24-hydroksylaza 1,25-dihydroksywitaminy D<sub>3</sub>; **CYP27B1** – 1 $\alpha$ -hydroksylaza 25-hydroksywitaminy D<sub>3</sub>; **E2F** – rodzina czynników transkrypcyjnych; **Eag1** – kanały potasowe Ether-à-Go-Go (Ether-à-go-go1); **EGF** – epidermalny czynnik wzrostu (epidermal growth factor); **HL60** – linia komórkowa ludzkiej ostrej białaczki promielocytarnej (human leukemia 60); **IGFBP-3** – białko wiążące czynnik IGF 3 (insulin-like growth factor-binding protein 3); **MARRS** – alternatywny receptor witaminy D, białko błonowe wiążące sterydy (membrane-associated rapid response steroid binding protein); **MKP** – fosfataza MAPK (MAP kinase phosphatase 5); **NF- $\kappa$ B** – jądrowy czynnik transkrypcyjny (nuclear factor kappa B); **NRF2** – czynnik transkrypcyjny związany z ochroną antyoksydacyjną (nuclear erythroid 2-related factor); **PDF** – czynnik pochodny prostaty (prostate derived factor); **PDIA3** – alternatywny receptor witaminy D<sub>3</sub>, białkowa izomeraza di-siarczkowa (protein disulfide isomerase 3); **PG** – prostaglandyny (prostaglandin); **PI3K** – kinaza fosfatydyloinozytolu (phosphatidylinositol 3-kinase); **PKC** – kinaza białkowa C (protein kinase C); **pRb** – białko retinoblastoma (retinoblastoma protein); **PTEN** – gen supresorowy, którego produkt białkowy jest zaangażowany w regulację cyklu komórkowego (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten); **ROR $\alpha$ , ROR $\gamma$**  – receptory sieroce związane z kwasem retinowym (retinoic acid-related orphan receptors); **RXR** – receptor kwasu 9-cis-retinowego (retinoid X receptor); **SNAIL** – czynniki transkrypcyjne z motywami palców cynkowych (snail family zing finger); **STAT3** – czynnik transkrypcyjny (signal transducer and activator of transcription 3); **TCF** – czynnik specyficzny dla komórek T (T cell-specific factor); **TERT** – odwrotna transkryptaza telomerazowa (telomerase reverse transcriptase); **TGF- $\beta$**  – nowotworowy czynnik wzrostu beta (tumor growth factor  $\beta$ ); **TNF- $\alpha$**  – czynnik martwicy nowotworu (tumour necrosis factor alpha); **TXNRD1** – reduktaza tioredoksyny 1 (thioredoxin reductase 1); **UVB** – promieniowanie ultrafioletowe B; **VDBP** – białko wiążące i transportujące witaminę D (vitamin D binding protein); **VDR** – receptor witaminy D (vitamin D receptor); **VDRE** – sekwencje DNA wiążące receptor VDR (vitamin D-responsive elements); **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (vascular endothelial growth factor); **Wnt** – szlak sygnalizacyjny biorący udział w embriogenezie i karcynogenezie.

## WPROWADZENIE

Witamina D należy do grupy sekosteroidowych związków organicznych [20]. Wyróżniamy dwie postaci witaminy D: cholekalciferol (D3) – pochodna cholesterolu oraz ergokalciferol (D2) – pochodna ergosterolu [20, 47]. Jednak związki te nie są aktywne biologicznie [26]. Czynną biologicznie postacią jest natomiastkalcytriol ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ), który powstaje w organizmie przez aktywację witaminy D w procesie dwóch hydroksylacji [15, 47]. Witaminę D3 u ludzi uzyskuje się głównie przez fototransformację jej prekursora, 7-dehydrocholesterolu pod wpływem działania promieniowania ultrafioletowego B (UVB) w skórze, a dostarczanie jej w diecie jest jedynie dodatkowym źródłem [26, 30]. Działanie witaminy D łączy się głównie z gospodarką wapniową oraz wpływa na układ kostno-szkieletowy. Dzięki odkryciu receptora witaminy D (VDR, vitamin D receptor), także w innych komórkach organizmu, podkreśla się jej wpływ na metabolizm różnych narządów i tkanek pozakostnych [48, 117]. Plejotropowe właściwości kalcytriolu są szeroko badane ze względu na jego potencjalne zastosowanie w terapiach wielu schorzeń, w tym chorób nowotworowych.

## WITAMINA D – OD PROMIENIOWANIA UV DO PLEJOTROPOWEGO DZIAŁANIA

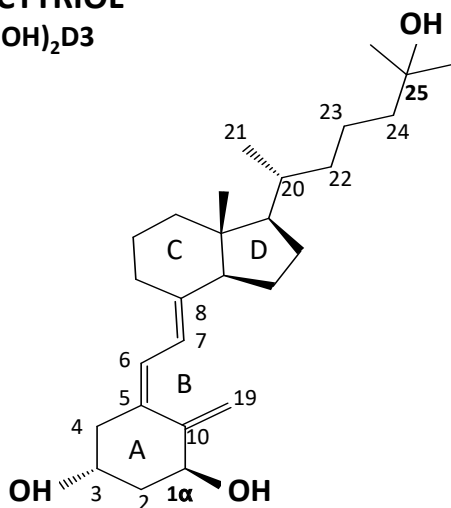
### Powstawanie i aktywacja witaminy D

Witamina D3 będąca prohormonen, powstaje w warstwie podstawnej naskórka. Absorbowanie promieniowania UVB przez nienasycony pierścień B w cząsteczce

7-dehydrocholesterolu w komórkach epidermalnych powoduje powstanie prewitaminy D3 [45]. Pod wpływem temperatury dochodzi do przegrupowania trzech wiązań podwójnych i utworzenia witaminy D3 [26, 45, 47]. Witamina D uwolniona do naczyń krwionośnych i limfatycznych umiejscowionych w głębszych warstwach naskórka, ulega związaniu z białkiem VDBP (vitamin D binding protein) i przetransportowaniu do wątroby [26]. W wątrobie z udziałem 25-hydroksylazy dochodzi do pierwszej hydroksylacji i wytworzenia kalcydiolu ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ), który jest następnie transportowany w krwiobiegu w postaci związanej z białkiem VDBP do nerek [26]. Obecne w cewkach proksymalnych białko transbłonowe, megalina, pełni funkcję receptora VDBP, umożliwiając wychwyt ( $25(\text{OH})\text{D}_3$ ) w komórkach nabłonkowych kanalików przez internalizację endocytarną [26]. W nerkach odbywa się druga hydroksylacja i powstawanie aktywnej witaminy D3, czyli kalcytriolu ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) [15, 67, 85]. Strukturę cząsteczki kalcytriolu przedstawiono na Ryc. 1.

Podsumowując, 1,25-dihydroksywitamina D3 powstaje etapowo przez pierwszą hydroksylację przy węglu C25 w wątrobie, przeprowadzaną przez hydroksylazę CYP2R1 (25-hydroksylaza witaminy D) i/lub CYP27A1 (27 $\alpha$ -hydroksylaza sterolowa) oraz drugą hydroksylację przy węglu C1 $\alpha$  w nerkach, za co odpowiada hydroksylaza CYP27B1 (1 $\alpha$ -hydroksylaza 25-hydroksywitaminy D3) [48, 57]. Kalcytriol jest również syntetyzowany lokalnie w komórkach, które wykazują ekspresję powyższych enzymów, czyli: keratynocyty, komórki dendrytyczne, limfocyty, melanocyty oraz komórki nowotworowe [90, 116].

## KALCYTRIOL $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$



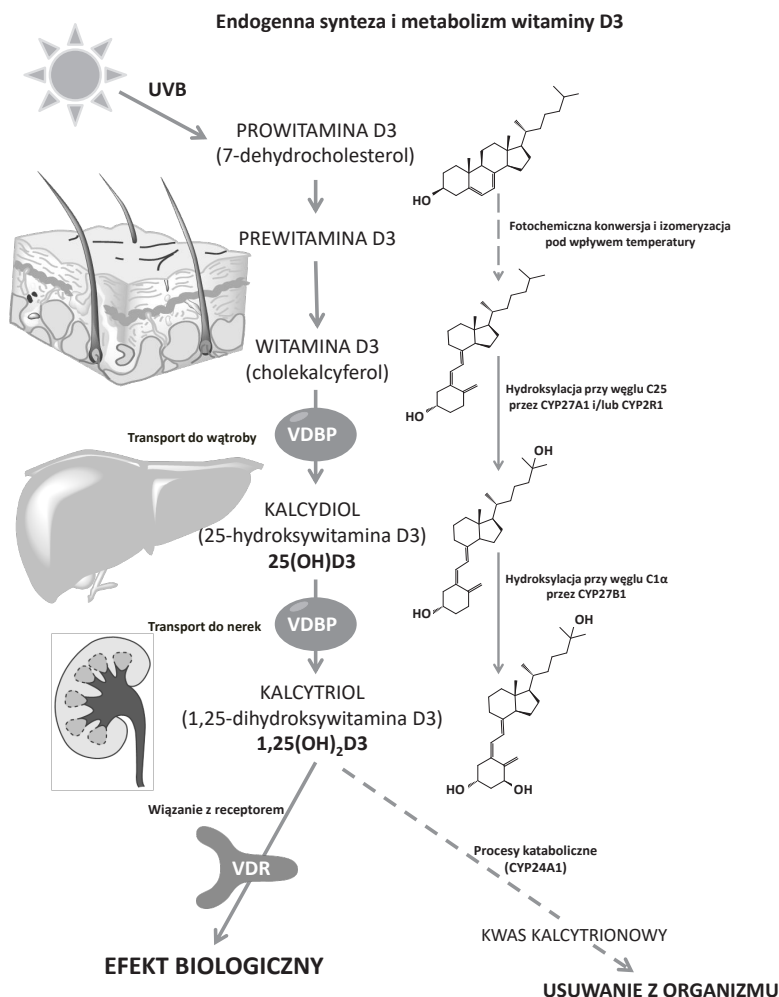
**Ryc. 1.** Struktura cząsteczki kalcytriolu ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  - 1,25-dihydroksycholekalcyferol). Zaznaczono kolejność atomów węgla i oznaczenie pierścieni (A,B,C,D). Pogrubioną czcionką uwzględniono węgiel C25 oraz C1 $\alpha$ ; ryc. wykonano z wykorzystaniem programu ChemDraw Professional 17.1

## Działanie i metabolizm witaminy D

Aktywność biologiczna  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  oparta jest na oddziaływaniu z receptorem witaminy D. Receptor VDR po połączeniu z kalcytriolem ulega heterodimeryzacji z retinoidowym receptorem X (RXR, retinoid X receptor) [84]. Powstały kompleks przenika do jądra, gdzie może regulować ekspresję ponad 900 genów, związanych m.in. z różnicowaniem oraz apoptozą komórek [84, 116]. Zidentyfikowano także alternatywne szlaki metabolizmu witaminy D, które są inicjowane przez hydroksylazę CYP11A1 (desmolaza cholesterolowa), znany głównie, jako enzym ograniczający szybkość steroidogenezy, gdzie cholesterol przekształcaný jest w pregnenolon [100, 102]. Produkty tego szlaku to wiele pochodnych hydroksylowych, w tym 20-hydroksywitamina D3 ( $20(\text{OH})\text{D}_3$ ), które są aktywne biologicznie i działają poprzez receptor

VDR oraz receptory alternatywne [97, 98, 100]. Dlatego też witamina D może podlegać alternatywnym szlakom aktywacji w skórze lub narządach, w których dochodzi do ekspresji CYP11A1 [100, 102].

Ilość witaminy D wytwarzanej podczas ekspozycji na promieniowanie ultrafioletowe jest regulowana w organizmie, a jej nadmiar ulega fotodegradacji [113]. Stężenie aktywnej postaci witaminy D ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) podlega ściślejszej regulacji w procesie hydroksylacji przy węglu w pozycji C24 przeprowadzanej przez CYP24A1 (24-hydroksylaza  $1,25$ -dihydroksywitaminy D3) [3, 116]. Hydroksylacja kalcytriolu powoduje drastyczny spadek jego aktywności biologicznej oraz dalsze utlenianie przez CYP24A1, a następnie wydalenie z moczem powstałego metabolitu [83, 116]. Uproszczony schemat syntezy i metabolizmu witaminy D przedstawiono na Ryc. 2.



**Ryc. 2.** Endogenna synteza i metabolizm witaminy D3. Obecny w naskórku 7-dehydrocholesterol pod wpływem promieniowania UVB ulega fotochemicznej konwersji do prewitaminy D, a następnie w wyniku izomeryzacji pod wpływem temperatury tworzy się witamina D. Dzięki aktywności 25-hydroksylazy (CYP27A1 i/lub CYP2R1) w wątrobie powstaje kalcydiol, który po związaniu z białkami wiążącymi i transportującymi witaminę D (VDBP) jest transportowany do nerek, gdzie na skutek hydroksylacji przez 1 $\alpha$ -hydroksylazę (CYP27B1) dochodzi do wytworzenia kalcytriolu. Połączenie kalcytriolu z receptorem witaminy D (VDR) ma wpływ biologiczny w komórkach docelowych. Witamina D podlega procesom katabolicznym, w które zaangażowana jest 24-hydroksylaza (CYP24A1) i jest usuwana z organizmu w postaci kwasu kalcytrionowego; ryc. wykonano z wykorzystaniem programu ChemDraw Professional 17.1

Hydroksylaza CYP24A1 zasługuje na uwagę nie tylko ze względu na pełnią rolę w dezaktywacji witaminy D, ale również przez zaangażowanie w syntezę związków będących pochodnymi witaminy D, w tym o działaniu przeciwnowotworowym. Najnowsze badania z wykorzystaniem ludzkiej oraz szczurzej hydroksylazy CYP24A1 wykazały, że jej aktywność prowadzi do wytworzenia pochodnych dihydroksywitaminy D<sub>3</sub>, które zachowują aktywność biologiczną [109]. Szczególnie istotne wydaje się zaangażowanie CYP24A1 w metabolizmie metabolitów 20(OH)D<sub>3</sub> oraz 20,23(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Ich metabolizm przez CYP24A1 jest ważny ze względu na możliwości terapeutyczne w zaburzeniach zapalnych i hiperproliferacyjnych [109]. Sugeruje się również podnoszenie aktywności przeciwnowotworowej metabolitu 20(OH)D<sub>3</sub> przez CYP24A1, wskazując na odwrotną korelację między ekspresją CYP24A1 a rozwojem czerniaka [109].

### Znaczenie witaminy D

Aktywna postać witaminy D<sub>3</sub> jest znana ze względu na rolę, jaką odgrywa w regulacji homeostazy wapnia i fosforanów oraz mineralizacji kości [48, 49, 57]. Ponadto, witamina D wpływa na wiele procesów komórkowych zaangażowanych w regulację rozmaitych funkcji, wśród których warto wymienić metabolizm komórkowy, różnicowanie komórek, apoptozę, naprawę DNA, a także utrzymywanie homeostazy wielu układów w organizmie [20, 48, 49, 57].

### Skutki niedoboru

Niedobór witaminy D jest definiowany przez wielu ekspertów jako poziom 25-hydroksywitaminy D poniżej stężenia 20 ng/ml (50 nM) [48], chociaż w wielu pracach potwierdzono, że minimalne stężenie 25(OH)D<sub>3</sub> w osoczu zmniejszające częstotliwość występowania wielu schorzeń wynosi 30 ng/ml (75 nM) [91]. Niedobór witaminy D, jak również nieprawidłowa lub obniżona ekspresja receptora VDR oraz deregulacja funkcji enzymów metabolizujących witaminę D są powiązane z wieloma chorobami [57, 117]. Wśród nich można wymienić choroby autoimmunologiczne, cukrzycę typu 2, zaburzenia neurologiczne, choroby układu sercowo-naczyniowego oraz choroby nowotworowe [26, 49, 57]. Istnieje także wiele przesłanek znajdujących poparcie w badaniach populacyjnych, które wskazują, że właściwe stężenie witaminy D prawdopodobnie może być związane ze zmniejszeniem ogólnej śmiertelności populacji [5].

### Analogi kalcytriolu jako niekalcemiczne związki witaminy D

Niewątpliwie 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> jako aktywny metabolit witaminy D<sub>3</sub> ma wiele korzystnych działań w organizmie. Mimo to jego zbyt duże stężenie w organizmie, spowodowane stosowaniem dawek ponadfizjologicznych, może doprowadzić do toksycznej hiperkalcemii, ograniczając tym samym działanie terapeutyczne [107]. Rozwiązaniem może być poszu-

kiwanie analogów witaminy D<sub>3</sub> ze zmodyfikowanymi łańcuchami bocznymi, których wpływ na homeostazę wapniową w organizmie jest znacznie mniejszy niż samego kalcytriolu [106].

Główną rolę w syntezie pochodnych witaminy D przypisuje się hydroksylazie CYP11A1 (cytochrom P450<sub>sc</sub>), która hydroksyluje witaminę D<sub>3</sub> przy węglach w pozycji 17, 20, 22 i 23, powodując powstanie związków z grupy sekosteroidów, w tym pochodnych o właściwościach przeciwnowotworowych [107]. CYP11A1 może prowadzić do wytworzenia różnych pochodnych mono-, di- i trihydroksywitaminy D, takich jak: 20(OH)D<sub>3</sub>; 22(OH)D<sub>3</sub>; 20,23(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>; 20,22(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>; 1,20(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>; 1,20,23(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub> oraz 17,20,23(OH)<sub>3</sub>D<sub>3</sub> [99, 100]. Struktury i syntezę analogów witaminy D przedstawiono w [100, 107].

Głównymi produktami aktywności CYP11A1 są 20(OH)D<sub>3</sub> i 20,23(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (20,23-dihydroksywitamina D<sub>3</sub>) [107]. To właśnie te dwie pochodne są najszersze badanymi sekosteroidami pod względem ich aktywności biologicznych. 20(OH)D<sub>3</sub> i 20,23(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> mogą działać na receptor VDR jako agoniści, działając podobnie do kalcytriolu [99, 107, 109]. Związki te są także odwrotnymi agonistami receptorów ROR $\alpha$  i ROR $\gamma$  (retinoic acid-related orphan receptors) [99, 107, 109]. W badaniach *in vitro* wykazano ich zdolność m.in. do promowania różnicowania i hamowania proliferacji zarówno komórek prawidłowych, jak i nowotworowych oraz wykazywania aktywności przeciwwzapalnej [107, 109]. Dowiedziono, że skutki biologiczne produktów nowych szlaków sekosteroidowych inicjowanych przez CYP11A1 są porównywalne lub nawet lepsze niż 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> [99]. Badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych wykazały, że 20(OH)D<sub>3</sub> w ekstremalnie wysokich dawkach (30–60  $\mu$ g/kg m.c. u myszy i 3  $\mu$ g/kg m.c. u szczurów) nie wykazywał oznak toksyczności [99]. W związku z tym uważa się, że 20(OH)D<sub>3</sub> oraz najprawdopodobniej jego metabolity są obiecującymi kandydatami do zastosowania terapeutycznego [99].

Jak już wspomniano, również hydroksylaza CYP24A1 może być zaangażowana w syntezę i metabolizm związków będących pochodnymi witaminy D o aktywności przeciwnowotworowej, zwłaszcza 20-hydroksywitaminy D<sub>3</sub> oraz 20,23 dihydroksywitaminy D<sub>3</sub> [109].

Niekalcemiczne analogi 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, obniżające ryzyko wystąpienia hiperkalcemii, mogą stać się nowymi lekami z wyłączeniem ewentualnej toksyczności witaminy D<sub>3</sub>, związanej ze stosowaniem farmakologicznie skutecznych dawek. Podsumowując, obecnie znanych jest wiele analogów kalcytriolu, mających potencjał terapeutyczny.

### RECEPTOR WITAMINY D (VDR) W KOMÓRKACH PRAWIDŁOWYCH I NOWOTWOROWYCH

Podstawy molekularnych mechanizmów działania kalcytriolu w każdej komórce oparte są na występowaniu receptora VDR. Jego obecność odkryto w komórkach

wielu tkanek, w keratynocytach, makrofagach, w komórkach przytarczyc, komórkach trzustki oraz niektórych komórkach nerwowych [63].

### Mechanizm działania receptora VDR

Receptor VDR należy do nadrodziny receptorów hormonów steroidowych, które regulują ekspresję genów w sposób zależny od liganda [44]. Receptor ten przeważnie jest białkiem jądrowym, chociaż znajdujący się również w cytoplazmie komórek, które odpowiadają na witaminę D [36]. Receptor VDR wymaga heterodimeryzacji z retinoidowym receptorem X, co zapewnia lepsze powinowactwo wiązania z genami docelowymi [84, 104]. Heterodimeryzacja receptora VDR z receptorem RXR prowadzi do translokacji kompleksu kalcytriol-VDR-RXR do jądra komórkowego. Powstały kompleks jest wiązany do elementów odpowiadających na działanie witaminy D (VDRE, vitamin D-responsive elements) w obrębie regionów promotorowych genów, inicjując transkrypcję [36, 44, 84].

### Rola i regulacja receptora VDR

Receptor witaminy D odpowiada na kalcytriol w gospodarce wapniowo-fosforanowej oraz wykazuje aktywność w innych szlakach metabolicznych, m.in. w układzie immunologicznym, nerwowym, epithelialnym i endokrynnym [44, 84]. W większości nowotworów zachowana jest ekspresja receptora VDR, którego obecność jest konieczna do przeciwnowotworowego działania 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> lub jego analogów w komórkach nowotworowych [26]. Na podstawie wielu badań uważa się, że większa ekspresja receptora VDR w komórkach nowotworowych jest skorelowana z lepszym rokowaniem i dłuższym czasem przeżycia całkowitego (OS, overall survival) [26]. Inna hipoteza głosi, że komórki nowotworowe mogą zmniejszać ekspresję receptora VDR dzięki mutacjom wywołującym nowotwór. Znanych jest wiele czynników wpływających na ekspresję receptora VDR w komórkach nowotworowych. Białkiem regulującym ekspresję genu tego receptora jest czynnik transkrypcyjny p53. Ekspresja prawidłowej (typu dzikiego) postaci białka p53 zwiększa aktywność receptora VDR w niektórych typach nowotworów [36]. Natomiast zmutowana postać tego białka może obniżać ekspresję genu receptora VDR lub wchodzić w interakcje z tym receptorem [36]. Osłabienie ekspresji genu receptora witaminy D może być spowodowane również nadmierną ekspresją czynników transkrypcyjnych SNAIL (snail family zing finger), powodujących m.in. osłabienie działania antyproliferacyjnego aktywnych postaci witaminy D<sub>3</sub> [36, 80]. Białka SNAIL mogą się wiązać do sekwencji w promotorze genu receptora VDR i zwiększać przyłączanie białek o charakterze represyjnym [36].

### Polimorfizm receptora VDR

Znane są setki wariantów allelicznych w *locus* receptora VDR [12], ale powiązania między polimorfizmem pojedynczego nukleotydu SNP (single nucleotide polymor-

phism) w genie receptora VDR i ryzykiem wystąpienia choroby nowotworowej są nadal niewyjaśnione. Wykazano silne korelacje tylko w raku piersi, prostaty i czerniaka złośliwego, przy czym dla większości nowotworów otrzymane wyniki były sprzeczne [59].

### Znaczenie poziomu ekspresji receptora VDR w komórkach nowotworowych

Aktywność receptorów witaminy D może być skorelowana ze stopniem zróżnicowania komórek, a co najważniejsze komórki nowotworowe cechuje mniejsza aktywność receptorów VDR niż sąsiadujące z nimi prawidłowe tkanki [92]. W raku jelita grubego i piersi stwierdzono, że aktywność mRNA receptora witaminy D występuje w wysokich stężeniach w dobrze zróżnicowanych komórkach, natomiast niewielką aktywność wykryto w komórkach słabo zróżnicowanych [92]. Zatem aktywność receptorów witaminy D, może służyć jako marker różnicowania, inhibicji wzrostu przez kalcytriol oraz przewidywania wyniku leczenia u pacjentów [119].

### Alternatywne receptory witaminy D

Oprócz klasycznego mechanizmu wiązania metabolitu 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> z receptorem VDR i odpowiedzią genomową, istnieją także alternatywne miejsca oddziaływania i receptory witaminy D. Receptor VDR zawiera alternatywne miejsce wiązania, tzw. kieszeń A, które po połączeniu z aktywnym metabolitem witaminy D<sub>3</sub> prowadzi przez mechanizmy niegenomowe do szybkiej odpowiedzi na poziomie błony [97].

Jako alternatywny receptor aktywnych postaci witaminy D zidentyfikowano białko błonowe wiążące steroidy 1,25D<sub>3</sub>-MARRS (membrane-associated rapid response steroid-binding), które znane jest także pod nazwą PDIA3 (protein disulfide isomerase family 3) [97]. Oddziaływanie kalcytriolu i jego analogów z receptorem 1,25D<sub>3</sub>-MARRS/PDIA3 oparte jest na mechanizmie związanym z działaniem białka G i aktywacją fosfolipazy C (PLC, phospholipase C), prowadzącej do powstania 1,4,5-trifosforanu inozytoli (IP<sub>3</sub>, inositol 1,4,5-triphosphate) i diacyloglicerolu (DAG), co powoduje otwarcie kanałów wapniowych, zwiększając wewnątrzkomórkowy poziom jonów wapnia, a następnie do aktywowania kinazy białkowej C (PKC, protein kinase C) i do aktywacji białek szlaku ERK1/2 (extracellular signal regulated kinases) [32].

Jak już wspomniano, niektóre aktywne hydroksylowane pochodne witaminy D<sub>3</sub> mogą również oddziaływać z receptorami sierocymi związanymi z kwasem retinowym, ROR $\alpha$  i ROR $\gamma$  [97, 98]. Te receptory jądrowe odgrywają podstawowe role w procesach fizjologicznych związanych przede wszystkim z homeostazą, metabolizmem i układem immunologicznym [101]. Wiązanie aktywnych metabolitów witaminy D z receptorami ROR obniża ich podstawową aktywność ze względu na odwrotną antagonistyczną lub agonistyczną aktywność tych pochodnych [98]. To odkrycie

być może w pewnym stopniu pomoże wytłumaczyć plejotropowe działanie analogów kalcytriolu i brak ich kalcemicznej aktywności [101].

## PRZECIWNOWOTWOROWE DZIAŁANIE KALCYTRIOLU I JEGO ANALOGÓW

Liczne prace wskazują, że witamina D może mieć korzystne działanie w zwalczaniu komórek nowotworowych. Po raz pierwszy wpływ kalcytriolu na komórki nowotworowe wykazali Colson i wsp. w 1981 r., kiedy kalcytriol powodował zahamowanie proliferacji komórek czerniaka złośliwego [27, 30]. Obecnie sugeruje się, że niewielkie stężenie kalcydiolu jest ważnym czynnikiem ryzyka występowania nowotworów [29]. W wielu badaniach z wykorzystaniem metaanalizy wykazano, że niski poziom witaminy D w surowicy wiązał się z gorszym rokowaniem u pacjentów m.in. z rakiem gruczołu krokowego, piersi i okrężnicy [21, 34]. Nieprawidłowa ekspresja receptorów VDR, jak również zaburzenia enzymów regulujących aktywację witaminy D i jej metabolizm, tj. hydroksylazy CYP27B1 i CYP24A1, są powiązane z większą agresywnością oraz gorszymi wynikami zwalczania wielu nowotworów złośliwych [18, 19, 57].

### Działanie antyproliferacyjne

Główną rolę w hamowaniu wzrostu komórek nowotworowych w odpowiedzi na kalcytriol odgrywa receptor witaminy D [36]. Wiele czynników regulujących cykl komórkowy jest celem kalcytriolu w sposób bezpośredni lub pośredni poprzez istnienie elementów VDRE w ich regionach promotorowych [30].

W większości nowotworów, w których dochodzi do ekspresji funkcjonalnego receptora witaminy D, kalcytriol prowadzi do akumulacji komórek w fazie G0/G1 cyklu komórkowego [26, 55]. Jako bezpośredni cel  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  zidentyfikowano gen białka p21, inhibitora cyklu komórkowego [43]. W komórkach nowotworowych traktowanych aktywnymi postaciami witaminy D3 może dochodzić również do podwyższenia ekspresji białka p27 oraz kinaz zależnych od cyklin, przede wszystkim Cdk2, Cdk4, Cdk6 [23, 119]. Podstawowymi regulatorami aktywności kinaz cyklinozależnych są cykliny, których funkcja jest kontrolowana przez zmiany poziomów tych białek [119]. Kalcytriol może prowadzić także do znaczącego obniżenia ekspresji cyklin A2, B1, B2, D3, E1 i F [4, 30]. Działanie kalcytriolu dotyczy także inhibitorów kinaz zależnych od cyklin (CKI, cyclin-dependent kinase inhibitor), które są małymi białkami, oddziałującymi i hamującymi aktywność kompleksów Cdk, powodując zatrzymanie cyklu w fazie G1 [93].

Ekspresja białek BRCA1, p53 i p73, których geny są uważane za supresory nowotworów (antyonkogeny) mogą również podlegać regulacji przez kalcytriol [23]. W terapii szczególnie istotny jest wzrost ekspresji białka p53 uważanego powszechnie za tzw. „strażnika genomu” [30]. Działanie kalcytriolu jest także związane z białkiem

retinoblastoma (pRb, retinoblastoma protein), którego gen również jest zaliczany do genów supresorowych. Aktywne postaci witaminy D3 zapobiegają fosforylacji białka pRb, przyczyniają się natomiast do jego defosforylacji [55]. Wspomniane już białko p27, będące jednym z głównych regulatorów cyklu komórkowego, hamuje fosforylację pRb [115, 119]. Obniżenie fosforylacji białka pRb na skutek działania kalcytriolu powoduje zatrzymanie cyklu w fazie G1 [119]. Dzięki takiej aktywności kalcytriolu dochodzi do zahamowania proliferacji komórek złośliwych, ponieważ białko pRb w nieufosforylowanej postaci hamuje postęp cyklu komórkowego przez sekwestrację czynnika transkrypcyjnego E2F [30].

Zahamowanie proliferacji komórek przez kalcytriol odbywać się może również poprzez oddziaływanie na szlak sygnałowy Wnt/ $\beta$ -katenina. Kalcytriol obniża interakcję kompleksu  $\beta$ -kateniny i czynnika komórek T (TCF, T cell-specific factor), a także wzmacnia ekspresję E-kadheryny (białka należącego do nadrodziny białek adhezyjnych), powodując eksport  $\beta$ -kateniny z cytoplazmy do jądra komórkowego oraz indukując ekspresję białka DKK (dickkopf-related protein) będącego inhibitorem szlaku Wnt [26, 65]. Ten cykl zdarzeń w rezultacie obniża transkrypcję genów docelowych białka TCF, w tym transkrypcji c-myc (myelocytomatosis), które jest głównym regulatorem progresji cyklu komórkowego [26, 65]. Białko c-myc, zaliczane do protoonkogenów, może zwiększać aktywność Cdk przez inaktywację różnych inhibitorów kinaz zależnych od cyklin. Dzięki aktywności kalcytriolu lub jego pochodnych dochodzi do zmniejszenia transkrypcji genu c-myc [22] i do zahamowania proliferacji [119].

Znany jest również wpływ kalcytriolu na białka regulujące cykl komórkowy z grupy czynników wzrostu, a zwłaszcza na czynnik wzrostu TGF- $\beta$  (tumor growth factor- $\beta$ ), epidermalny czynnik wzrostu EGF (epidermal growth factor), insulinopodobny czynnik wzrostu IGF (insulin-like growth factor), płytkopochodny czynnik wzrostu PDGF (platelet-derived growth factor) oraz czynnik wzrostu fibroblastów FGF (fibroblast growth factor) [26].

### Efekt promujący różnicowanie komórek

Do indukcji różnicowania komórek przez kalcytriol może dojść przez aktywację receptora witaminy D, w wyniku tworzenia kompleksu VDR z kinazą fosfatydyloinozytolu (PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase), prowadząc do zahamowania proliferacji komórek nowotworowych [46]. Różnicowanie komórek może zostać nasilone pod wpływem  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  – również z udziałem kinazy PKC oraz transformującego czynnika wzrostu TGF- $\beta$  [119]. Promowanie różnicowania może zachodzić także pod wpływem hamowania szlaku  $\beta$ -kateniny i indukowanie ekspresji białek adhezyjnych (E-kadheryny, okludyny i winkuliny) [79]. Ponadto wiadomo, że kalcytriol może bezpośrednio wpływać na oddziaływanie receptora VDR z  $\beta$ -kateniną, hamując w ten sposób procesy onkogenne, w których pośredniczy  $\beta$ -katenina [30, 79]. W komórkach nowotworowych zwiększone różni-

cowanie przez kalcytriol może zachodzić również przez wzrost aktywacji kompleksu białkowego AP-1 (activator protein 1), który działa jako czynnik transkrypcyjny zależny od kinaz PKC i Jun N-końcowej (JNK, c-Jun N-terminal kinase) [119]. Innym możliwym mechanizmem inicjowania procesu różnicowania przez witaminę D3 jest wzrost ekspresji białka p21, prowadzącego do ostatecznego zróżnicowania komórek [71], a w konsekwencji do hamowania ich proliferacji.

### Działanie promujące apoptozę

Jednym z podstawowych mechanizmów działania kalcytriolu w procesie apoptozy jest stymulowanie białek Bax, Bak i Bad (białka proapoptotyczne z rodziny Bcl-2) oraz hamowanie białek Bcl-2 czy też Bcl-X<sub>L</sub> (białka antyapoptotyczne z rodziny Bcl-2) [29, 30, 114]. Regulacja równowagi między białkami proapoptotycznymi i antyapoptotycznymi odgrywa główną rolę w odpowiedzi na sygnały proapoptotyczne i decyduje o dalszym losie komórki [119]. Kalcytriol może się przyczyniać do aktywacji czynnika apoptotycznego, jakim jest cytochrom c uwalniany z przestrzeni międzybłonowej mitochondrium. Uwolniony cytochrom c uaktywnia kaspazy, przede wszystkim kaspazę-3 i jej aktywatora, kaspazę-9 [26]. Po aktywowaniu kaskady szlaku sygnałowego białek z rodziny kaspaz, komórka nieodwracalnie kierowana jest na drogę śmierci apoptotycznej [30].

Śmierć komórkowa może być indukowana przez kalcytriol także z powodu wzrostu stężenia wapnia lub wytwarzania reaktywnych form tlenu na skutek obniżenia wewnątrzkomórkowego stężenia glutationu [30]. Glutation ( $\gamma$ -glutamylcysteinylglycyna) dzięki właściwościom przeciwutleniającym, chroni komórki przed reaktywnymi formami tlenu, natomiast jego redukcja zależna od kalcytriolu sprzyja apoptozie [30]. Kalcytriol może także indukować apoptozę przez interferencję w szlaku sygnałowym czynnika martwicy nowotworów TNF- $\alpha$  (tumour necrosis factor alfa) [26]. Traktowanie komórek nowotworowych 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 może doprowadzić do apoptozy za pośrednictwem genu supresorowego *PTEN* (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten). Kalcytriol za pośrednictwem receptora VDR zwiększa regulację *PTEN*, który negatywnie reguluje szlak antyapoptotycznej sygnalizacji kinazy Akt (kinaza serynowo-treoninowa) [36], doprowadzając przez swoją aktywność do zatrzymania cyklu komórkowego i inicjacji apoptozy.

Znany jest również wpływ kalcytriolu na aktywność telomerazy, odwrotnej transkryptazy odpowiadającej za syntezę DNA w rejonach telomerów. 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 na poziomie transkrypcyjnym może represjonować katalityczną podjednostkę tego enzymu i działać poprzez hamowanie ekspresji mRNA w wyniku destabilizacji transkryptów odwrotnej transkryptazy (TERT, telomerase reverse transcriptase) [56]. Pośrednim mechanizmem wyciszenia transkryptów tego enzymu jest działanie miRNA-498, zmniejszające ekspresję TERT i wywołujące śmierć komórki [30].

### Regulacja angiogenezy

Kalcytriol może hamować proces tworzenia nowych naczyń w nowotworze. Jednym z proponowanych mechanizmów jest hamowanie ekspresji białek z rodziny czynników wzrostu śródbłonna naczyniowego (VEGF, vascular endothelial growth factor), w tym przypadku cytokin proangiogennych [36]. Kalcytriol może bezpośrednio hamować proliferację komórek śródbłonna pochodzenia nowotworowego, a także zatrzymać indukowany przez VEGF wzrost tych komórek [36, 74]. Regulacja transkrypcji VEGF przez kalcytriol jest możliwa w sposób bezpośredni, ze względu na obecność funkcjonalnych elementów VDRE w promotorze tego czynnika [30]. Oprócz dokładnie opisanego w literaturze wpływu kalcytriolu na czynnik wzrostu VEGF, witamina D może również zwiększać stężenie trombospondyny-1 (THBS1, thrombospondin 1), białka będące silnym czynnikiem antyangiogenym [29].

Jednak kalcytriol może również stymulować proliferację komórek naczyniowych przez indukowanie ekspresji i wydzielanie VEGF. Niezwykle ważne jest to, że indukcja VEGF przez kalcytriol może ograniczyć patologiczną angiogenezę w guzie, a tym samym przywrócić prawidłową budowę naczyń krwionośnych, co jest pomocne w dostarczaniu chemioterapeutyków do komórek nowotworowych. Działanie 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 jest ciągle jeszcze nie do końca poznane [74]. W rzeczywistości kalcytriol może indukować lub hamować angiogenezę, w zależności od docelowego działania i rodzaju komórek [30].

### Rola w autofagii

Niedobór witaminy D3 jest związany z wieloma patologiami powodowanymi wadliwą autofagią. Witamina D3 i jej analogi mogą się przyczyniać do indukowania śmierci komórek w wyniku autofagii. Traktowanie komórek kalcytriolem może zahamować aktywność kinazy serynowo-treoninowej mTOR (mammalian target of rapamycin kinase), podnosząc dzięki temu poziom białka beclin-1, będącego białkiem proapoptotycznym oraz do wzmocnienia interakcji między tym białkiem a kinazą PI3K [36]. Promowanie autofagii przez witaminę D może się również odbywać pod wpływem złożonego oddziaływania z inhibitorami kinaz zależnych od cyklin, ze szczególną rolą białka p27 [108]. Obecnie brakuje badań *in vivo*, które umożliwiłyby bezpośrednie połączenie autofagii z przeciwnowotworowym działaniem witaminy D mimo obiecujących, opisanych w literaturze związków między tymi mechanizmami [36].

### Działanie antyoksydacyjne

Witamina D3 lub jej analogi mogą brać udział w regulacji wielu podstawowych białek o aktywności przeciwutleniającej, a także indukować ekspresję enzymów zaangażowanych w ochronę antyoksydacyjną. Kalcytriol może wpływać na podwyższenie stężenia mRNA dla dysmutaz ponadtlenkowych SOD1 [7, 64] i SOD2 (superoxide dismutase 1/2) [82], które są uważane za białka będące pierwszą linią



obrony w systemie antyoksydacyjnym chroniącym przed uszkodzeniami, w których uczestniczą rodniki nadtlenkowe [7]. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> może indukować dehydrogenazę glukozo-6-fosforanową (G6PD, glucose-6-phosphate dehydrogenase), zaangażowaną w utrzymywanie obniżonego stężenia glutationu w komórkach [36]. Bezpośrednia regulacja dehydrogenazy glukozo-6-fosforanowej przez witaminę D jest możliwa, dzięki obecności VDRE w genie dla tego enzymu [8]. W niektórych typach nowotworów wykazano także, że jednym z enzymów, którego ekspresja aktywowana jest kalcytriolem lub jego analogami, jest reduktaza tioredoksyny 1 (TXNRD1, thioredoxin reductase 1). Enzym ten odpowiada za utrzymywanie w stanie zredukowanym innego białka, tioredoksyny, w celu umożliwienia pełnienia funkcji przeciwutleniacza [36, 82].

Możliwa jest także pośrednia regulacja czynników antyoksydacyjnych przez kalcytriol w wyniku indukcji czynnika transkrypcyjnego NRF2 (nuclear erythroid2-related factor), który pełni również kluczowe funkcje w ochronie komórek przed szkodliwymi skutkami stresu oksydacyjnego [51]. Dzięki jego zaangażowaniu w kontrolę ekspresji genów wielu enzymów antyoksydacyjnych wykazano, że za pośrednictwem witaminy D, liczba genów docelowych czynnika NRF2 była zwiększona w niektórych komórkach [36]. Dotyczy to m.in. peroksydazy glutationowej 3 (GPX3, glutathione peroxidase 3), oksygenazy hemowej 1 (HMOX1, heme oxygenase 1), aldo-keto reduktazy 1C2 (AKR1C2) i reduktazy tioredoksynowej TXNRD1 [60].

#### Adhezja i kontaktowe hamowanie wzrostu

Utrata zahamowania kontaktowego jest powszechnym zjawiskiem w procesie rozwoju nowotworu, prowadzącego do nabycia możliwości poruszania się komórek nowotworowych. Kalcytriol może modulować aktywność E-kadheryny, transbłonowego białka, odpowiadającego za spolaryzowaną konformację i utrzymującego adhezyjny charakter komórek nabłonka [52]. Ponadto, witamina D<sub>3</sub> nie tylko indukuje ekspresję E-kadheryny, ale także hamuje szlak sygnałowy β-kateniny, wywierając aktywność przeciwnowotworową [79]. Traktowanie komórek nowotworowych kalcytriolem może powodować zmiany kształtu komórek i wzmacniać ich adhezję, prowadząc do zmian w kierunku fenotypu prawidłowego [52].

#### Wpływ na reakcje zapalne i mikrośrodowisko nowotworu

Witamina D jest ważnym regulatorem układu immunologicznego. Kalcytriol może regulować wiele genów w komórkach układu odpornościowego, których produkty białkowe są potrzebne do ich prawidłowego działania [36]. Chociaż większość z prezentowanych w obecnej literaturze badań dotyczy doniesień innych niż nowotworowe, znanych jest kilka badań odnoszących się do komórek rakowych i środowiska nowotworowego, dotyczących m.in. regulacji czynnika jądrowego κB [31], interleukiny-6 i TNF-α [78], jak również hormonów należących do grupy prostaglandyn [61].

Witamina D może regulować czynnik jądrowy kappaB (NF-κB, nuclear factor kappa B), który bierze udział w odpowiedziach zapalnych. Aktywacja czynnika NF-κB wpływa na regulację ekspresji wielu genów, które są bardzo związane z transformacją komórek, proliferacją, działaniem przeciwapoptotycznym, inwazją i tworzeniem przerzutów, angiogenezą oraz stanami zapalnymi [30, 31]. Kalcytriol lub jego pochodne mogą regulować białko NF-κB przez obniżenie ilości lub przez hamowanie aktywności tego białka w wyniku stymulowania inhibitora czynnika transkrypcyjnego NF-κB (IκBα, inhibitor of kappa B) lub przez oddziaływanie VDR z kinazą inhibitora NF-κB (IKKβ, IκB kinase), a także przez blokowanie wiązania NF-κB do sekwencji wiążących w DNA [25, 30, 61].

Kalcytriol może hamować działanie interleukiny-6 (IL-6) oraz wspomniany już czynnik martwicy nowotworów (TNF-α) w komórkach układu odpornościowego oraz w komórkach nowotworowych [30, 78]. Czynniki TNF-α i IL-6 są ważnymi cytokinami zapalnymi, które mogą aktywować onkogeną sygnalizację STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) w karcynogenezie [30]. Czynniki transkrypcyjny STAT3 jest uznawany za onkogen, ze względu na powiązanie długotrwałej aktywacji tego białka z progresją nowotworów. Hamujący wpływ witaminy D na wytwarzanie cytokin zapalnych wskazuje możliwość hamowania stanu zapalnego z późniejszą prewencją rozwoju nowotworu.

Kalcytriol i jego pochodne mogą hamować także syntezę i działanie prozapalnych prostaglandyn (PG, prostaglandin), które mają potencjał onkogeny [30]. Znane są różne mechanizmy działania 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, takie jak wyciszenie ekspresji cyklooksygenazy 2, enzymu syntetyzującego PG; wzmocnienie ekspresji dehydrogenazy 15-hydroksyprostaglandynowej – enzymu, który inaktywuje prostaglandyny, a także hamowanie ekspresji receptorów prostaglandyn [61].

Obecnie dane na temat witaminy D i układu immunologicznego wskazują, że witamina D powinna hamować stany zapalne, które sprzyjają rozwojowi nowotworu. Jednak tę hipotezę potwierdza na razie niewiele danych, w rezultacie ciągle istnieje potrzeba weryfikacji skutecznego działania witaminy D w zapobieganiu nowotworom oraz jej wpływu na środowisko nowotworowe [36]. Ze względu na różne mechanizmy działania kalcytriolu w hamowaniu procesów nowotworowych, oczekuje się, że wywoływane skutki biologiczne również na układ immunologiczny są przeciwnowotworowe.

#### WPLYW WITAMINY D<sub>3</sub> NA SZLAKI SYGNAŁOWE W WYBRANYCH NOWOTWORACH

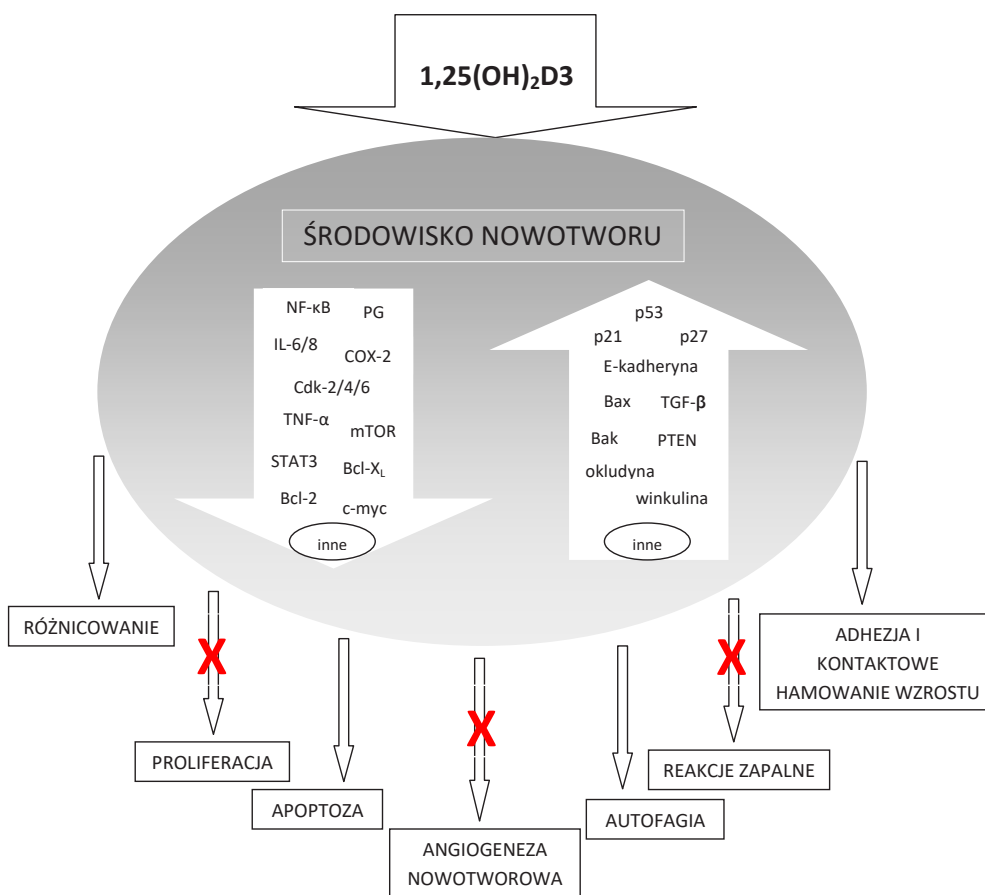
Wiele prac wskazuje, że optymalny poziom witaminy D jest czynnikiem ochronnym przeciwko nowotworom. Większość ekspertów uważa, że stężenie kalcydiolu w surowicy wynoszący około 75 nM, może zapewnić znaczącą ochronę przeciwko wielu chorobom [52]. Przeprowadzone badania dowodzą, że mechanizmy

indukowane witaminą D są związane m.in. z zatrzymaniem wzrostu i apoptozą komórek nowotworowych oraz komórek progenitorowych, a także z naprawą DNA i immunomodulacją [35]. Przykładowe białka i szlaki sygnałowe, których aktywność może podlegać regulacji przez kalcytriol przedstawiono na Ryc. 3. Aktywne postaci witaminy D3 mogą modulować szlaki sygnalizacyjne związane m.in. z takimi czynnikami jak Wnt, TGF- $\beta$ , EGF i inne, a także mogą wpływać na ekspresję genów przez mechanizmy parakryne, które obejmują wydzielanie cytokin lub czynników wzrostu [66]. Niżej omówiono doniesienia literaturowe na temat wpływu kalcytriolu lub jego pochodnych na szlaki sygnałowe w wybranych nowotworach.

## Nowotwory skóry

Rola witaminy D w nowotworach skóry może się wydawać zastanawiająca, ponieważ głównym źródłem cholekalcyferolu jest ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe UVB, ale ekspozycja na promieniowanie UVA i UVB jest także najważniejszym czynnikiem ryzyka różnych chorób skóry, szczególnie nowotworów, np. czerniaka [96, 110]. Ten paradoks może być przedmiotem sprzecznych ustaleń w odniesieniu do zależności nasłonecznienia i wytwarzania witaminy D, jak również wszelkich korzystnych lub szkodliwych skutków witaminy D w profilaktyce chorób [20]. Jednak liczne badania, wskazują na korzystny wpływ witaminy D zarówno w zapobieganiu, jak i w roko-

### Regulacja szlaków sygnałowych i białek w komórkach nowotworowych przez 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (kalcytriol)



**Ryc. 3.** Regulacja szlaków sygnałowych i białek w komórkach nowotworowych przez 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (kalcytriol). Pod wpływem działania kalcytriolu może dochodzić do obniżenia regulacji (strzałka pionowa w dół) białek z grupy PG (prostaglandyny), NF- $\kappa$ B (jądrowy czynnik transkrypcyjny NF kappa B), IL-6/8 (interleukina-6 i -8), COX-2 (cyklooksygenaza-2), Cdk-2/4/6 (kinaza zależna od cyklin 2, 4 i 6), TNF- $\alpha$  (czynnik martwicy nowotworów- $\alpha$ ), mTOR (kinaza mTOR), STAT3 (czynnik transkrypcyjny STAT3), Bcl-X<sub>L</sub> i Bcl-2 (białka antyapoptotyczne), c-myc (czynnik transkrypcyjny c-myc) i in. Działanie kalcytriolu może także zwiększać regulację (strzałka pionowa w górę) czynników transkrypcyjnych p53, p21 i p27, E-kadheryny, białek Bax i Bak (białka proapoptotyczne), TGF- $\beta$  (nowotworowy czynnik wzrostu  $\beta$ ), fosfatazy PTEN, okludyny oraz winkuliny i in. Dochodzi do promowania (strzałka nieprzekreślona) lub hamowania (strzałka przekreślona) różnych procesów biologicznych, takich jak apoptoza, proliferacja, różnicowanie i in.; ryc. wykonano z wykorzystaniem programu ChemDraw Professional 17.1

waniu u pacjentów z chorobą nowotworową [110]. Ponadto, sugeruje się, że wytwarzanie witaminy D w skórze i jej późniejsza aktywność przez receptory VDR, może częściowo wyewoluować jako mechanizm ochronny przeciwko tworzeniu się nowotworów skóry, wywołanych przez promieniowanie ultrafioletowe [16]. W wielu pracach wiąże się niedobór witaminy D oraz nieprawidłowe funkcjonowanie receptorów VDR z podatnością na rozwój czerniaka, a także z gorszym rokowaniem u pacjentów z tą chorobą [19, 96, 106].

Podobnie jak w przypadku innych nowotworów niezwykle ważny jest poziom receptora VDR. Wysoka ekspresja receptora witaminy D jest związana z lepszym rokowaniem w przypadku czerniaka skóry oraz określa mniej złośliwy fenotyp tego nowotworu, natomiast obniżona ekspresja VDR ułatwia rozwój choroby [19]. Ze zwiększonym ryzykiem rozwoju czerniaka może być związany polimorfizm receptora VDR [96, 106]. Niezwykle ważną wydaje się również rola pigmentacji w działaniu witaminy D oraz jej analogów. Wykazano, że aktywna melanogeneza może osłabiać aktywność analogów witaminy D, a sama melanina może zmniejszać ich dostępność w oddziaływaniu z receptorami [116]. W komórkach wykazujących obecność melaniny dochodzi do atenuacji, czyli osłabienia translokacji receptora VDR do jądra komórkowego oraz może wystąpić obniżona ekspresja genów receptora VDR i hydroksylazy CYP24A1 w porównaniu do komórek niepigmentowanych [116]. Związany z melanogenezą podwyższony poziom reaktywnych form tlenu, może modulować tworzenie utlenionych postaci witaminy D i wpływać w ten sposób na ich aktywność [116]. Wykazano także, że aktywne postaci witaminy D mogą hamować działanie czynnika NF- $\kappa$ B w komórkach niepigmentowanych, w których dochodzi m.in. do blokowania wiązania NF- $\kappa$ B z DNA, co nie zaobserwowano w komórkach czerniaka o wysokim poziomie pigmentu [54]. Sugeruje się więc, że kalcytriol i jego pochodne mogą celować w NF- $\kappa$ B i regulować progresję czerniaka, ale w komórkach niepigmentowanych [54]. Istotne wyniki otrzymano także w badaniach dotyczących zmian ekspresji 1 $\alpha$ -hydroksylazy CYP27B1 w czerniakach. Wykazano, że ekspresja CYP27B1 była zmniejszona w guzach przerzutujących, w czerniakach, które nie dawały przerzutów, a hamowanie ekspresji 1 $\alpha$ -hydroksylazy było związane z krótszym całkowitym przeżyciem pacjentów [17]. Zauważono także odwrotną korelację między ekspresją CYP27B1, a obecnością melaniny w komórkach czerniaka [17].

## Rak piersi

Rola witaminy D w zapobieganiu i leczeniu raka piersi nie jest całkowicie wyjaśniona. Jednak, mimo niespójności, istnieje wiele przesłanek przemawiających za udziałem witaminy D w zmniejszeniu ryzyka występowania raka piersi. Na podstawie badań obserwacyjnych, oceniających związek między poziomem 25(OH)D w surowicy a ryzykiem raka piersi obejmujących grupę 1760 osobników, stwierdzono, że stężenie 25(OH)D w surowicy powyżej 130 nM prowadzi do 50% obniżenia częstotliwości występowania tego nowotworu [39]. Duże stężenie 25(OH)D w osoczu może wpływać korzystnie w zapobieganiu raka piersi, szczególnie u starszych kobiet. Natomiast na ryzyko zachorowania na ten nowotwór może także wpływać poziom lokalnej konwersji 25(OH)D do 1,25(OH)<sub>2</sub>D w tkance piersiowej, a także krążącego 1,25(OH)<sub>2</sub>D w surowicy [13]. Uważa się także, że niedobór witaminy D3 wiąże się z gorszym rokowaniem u pacjentów z tym nowotworem [40].

Wykazano, że 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> może indukować apoptozę oraz hamować proliferację komórek ludzkiego raka piersi [94]. Apoptoza charakteryzuje się kondensacją cytoplazmy i chromatyny, fragmentacją DNA, reorganizacją białek macierzy jądrowej oraz zwiększoną ekspresją niektórych białek [94]. Kalcytriol i pochodne witaminy D mogą również odgrywać rolę w regulowaniu ekspresji genów i aktywności białek zaangażowanych w apoptozę. Prowadzą m.in. do obniżenia ekspresji białka Bcl-2 i wzrostu ekspresji białka p53 i p21 [53]. Pochodne witaminy D mogą także hamować aktywność ścieżki sygnałowej STAT3, jednocześnie zmniejszając potencjał inwazyjny komórek nowotworowych [103].

Podjęto również próby wyjaśnienia molekularnych podstaw blokady cyklu komórkowego przez 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Wykazano, że komórki MCF-7 są zatrzymywane w fazie G1 cyklu komórkowego przez hamowanie aktywacji cykliny Cdk4 prowadzącej do osłabienia fosforylacji pRb, wywołując tym samym wydłużenie unieczynnienia czynnika E2F, a tym samym do zmniejszonej ekspresji cykliny A i represji aktywności kinazy Cdk2, która jest niezbędna do przejścia fazy G1/S [55]. Dowiedziono, że w obrębie promotora genu białka p21, będącego regulatorem cyklu komórkowego w fazie G1, znajdują się nie tylko sekwencje DNA wiążące białko p53 (p53-RE, p53 responsive elements), ale również są umiejscowione elementy VDRE [87], których obecność może się przyczyniać do antyproliferacyjnego działania kalcytriolu w komórkach nowotworowych.

W badaniach dotyczących metabolizmu witaminy D w komórkach raka piersi wykazano, że ekspresja 1 $\alpha$ -hydroksylazy ulega zwiększeniu w guzach, prowadząc do aktywacji witaminy D [112]. Jednak w tych komórkach dochodzi do rozregulowania ekspresji 24-hydroksylazy i może to prowadzić do hamowania działania wytwarzanego lokalnie 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> [112]. Dodatkowo, ze względu na zmienioną ekspresję mRNA hydroksylazy CYP24A1 i receptora VDR w komórkach nowotworowych, funkcja i metabolizm 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> mogą być zaburzone w sposób sprzyjający tworzeniu się guzów [2].

W celu wykrycia nowych ścieżek molekularnych związanych z antyproliferacyjną aktywnością witaminy D<sub>3</sub> w nowotworach piersi, bierze się również pod uwagę wpływ kalcytriolu na kanały potasowe Ether-à-Go-Go (Eag1) [37]. Kalcytriol może zahamować ekspresję kanałów Eag1, które promują onkogenę i są zaangażowane

w proliferację komórek raka sutka [37]. Mechanizm ten jest zależny od receptora VDR, a może temu towarzyszyć hamowanie proliferacji komórek [37]. Hamowanie wzrostu guza w wyniku blokowania kanałów Eag1, potwierdzono również w następnych badaniach, w których zastosowano terapię kombinowaną kalcytriolu i astemizolu [38].

## Rak stercza

Mimo powszechnego przekonania, że aktywna postać witaminy D ma korzystny wpływ na zapobieganie i leczenie nowotworów, niektóre badania dotyczące raka stercza nie potwierdziły tej hipotezy. Przykładowo, badania kliniczno-kontrolne w ramach badania prospektywnego przeprowadzonego na grupie 14203 mężczyzn w Japonii w wieku 40–69 lat nie wykazały związku między poziomem 25(OH)D w surowicy a występowaniem raka stercza [88]. Jednak autorzy wielu prac dowiedli, że zmniejszenie ekspozycji na słońce lub niedobór witaminy D jest związany ze zwiększonym ryzykiem raka prostaty we wcześniejszym wieku, a także z bardziej agresywnym rozwojem tej choroby [24]. Potwierdzono, że ludzkie komórki stercza mają receptory witaminy D, stąd też komórki nowotworowe reagują na witaminę D3 w sposób wzmacniający różnicowanie i apoptozę oraz hamują proliferację, inwazyjność i tworzenie przerzutów [24, 95]. Wykryto także, że komórki gruczołu krokowego, jak i komórki raka stercza wykazują ekspresję  $1\alpha$ -hydroksylazy i są zdolne do przekształcania 25-hydroksywitaminy D3 do 1,25-dihydroksywitaminy D3 [90].

Wiele ośrodków badawczych usiłuje wyjaśnić molekularne podstawy działania witaminy D3 w komórkach raka stercza. Traktowanie tych komórek kalcytriolem może powodować ich akumulację w fazie G0/G1 cyklu komórkowego i zablokowanie przejścia do fazy S [86]. Wykazano, że traktowanie komórek 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 może doprowadzić do spadku proliferacji, na skutek zmniejszenia ekspresji czynnika transkrypcyjnego c-myc, którego nadaktywność jest związana z wieloma nowotworami, w tym też z rakiem stercza [86]. 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 oraz analog EB1089 mogą zahamować wzrost komórek rakowych, przez zwiększoną ekspresję i stabilność mRNA oraz akumulację białka wiążącego czynnik IGF 3 (IGFBP-3, insulin-like growth factor-binding protein 3) o właściwościach proapoptotycznych, a także przez zmniejszoną ekspresję genu *IGF-II*, którego produkt białkowy wykazuje działanie antyapoptotyczne [50]. 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 może zwiększać ekspresję białka IGFBP-3, które odgrywa główną rolę w hamowaniu wzrostu komórek raka stercza przez zwiększenie ekspresji inhibitora cyklu komórkowego p21 [62]. Kalcytriol może również spowodować obniżenie stężenia białek Bcl-2, Bcl-XL i Mcl-1 (myeloid cell leukemia-1), BAG1L (BAG family molecular chaperone regulator 1), XIAP (inhibitors of apoptosis), cIAP1 i cIAP2 (cellular inhibitor of apoptosis 1/2) o właściwościach antyapoptotycznych, a także stymulować uwalnianie cytochromu c z mitochondriów przez mechanizm niezależny od

kaspazy [42]. 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 reguluje również ekspresję genów zaangażowanych w metabolizm prostaglandyn, które są stymulatorami wzrostu komórek stercza, działając tym samym antyproliferacyjnie [75]. Kalcytriol hamuje szlak prostaglandyn przez hamowanie ekspresji enzymu syntetyzującego PG (cyklooksygenazy-2), a także przez indukcję ekspresji enzymu inaktywującego PG (dehydrogenazy 15-prostaglandynowej) oraz przez obniżenie ekspresji receptorów PG [61, 62, 75]. Kalcytriol wpływa także na czynnik PDF (prostate derived factor), który należy do nadrodziny TGF- $\beta$  i jest zaangażowany w działanie antyproliferacyjne i proapoptotyczne [64]. Wykazano, że gen PDF jest silnie indukowany w komórkach raka stercza przez 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 i zależy od działania VDR [64]. Chemoprewencyjną rolę kalcytriolu w komórkach raka stercza wykazano również w wyniku indukcji ekspresji fosfatazy MKP5 (MAP kinase phosphatase 5), która jest negatywnym regulatorem kinaz MAP [62]. 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 indukując ekspresję MKP5, prowadzi do defosforylacji i dezaktywacji kinazy p38, hamując aktywację białka p38, mającego działanie pronowotworowe [62].

Kalcytriol w komórkach raka stercza może działać hamująco na ważne etapy angiogenezy [9]. Między innymi, 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 może prowadzić do wyciszenia ekspresji i hamowania aktywności IL-8, a także hamować szlak NF- $\kappa$ B, jako jeden z najważniejszych regulatorów IL-8 [9]. Obserwacje te wskazały, że witamina D3 może zapobiec rozwojowi raka stercza, hamując sygnalizację IL-8, która jest wymagana w angiogenezie nowotworu [9]. Hamowanie szlaku czynnika NF- $\kappa$ B, oprócz działania antyangiogenego, wywołuje także silne działanie przeciwzapalne w komórkach raka prostaty [61].

## Rak jelita grubego

Rak jelita grubego jest jednym z lepiej poznanych nowotworów pod kątem roli witaminy D w zapobieganiu i leczeniu [110]. Uważa się, że witamina D jest czynnikiem ochronnym przeciwko temu nowotworowi. Według danych literaturowych odpowiednie dzienne spożycie witaminy D może obniżyć o 50% ryzyko wystąpienia raka jelita grubego [41]. Rola kalcytriolu i jego pochodnych w zapobieganiu występowania tego nowotworu jest związana m.in. z obniżaniem ryzyka zaawansowanej neoplazji okrężnicy, która prowadzi do rozwoju choroby [70], a także w wyniku hamowania stanu zapalnego, przez osłabienie wytwarzania prozapalnych cytokin TNF- $\alpha$  i IL-6 [14]. Niewątpliwie jednym z ważniejszych mechanizmów działania kalcytriolu jest hamowanie szlaku sygnałowego Wnt/ $\beta$ -katenina [65]. 1,25(OH)<sub>2</sub>D3 antagonizuje szlak Wnt/ $\beta$ -kateniny w raku okrężnicy przez indukowanie interakcji receptora VDR z  $\beta$ -kateniną, redukując ilość kateniny związanej z czynnikami transkrypcyjnymi TCF lub poprzez indukcję ekspresji E-kadheryny oraz w procesie aktywacji ekspresji pozakomórkowego inhibitora sygnalizacji Wnt (Dickkopf) [1, 65, 79].

Hamowanie proliferacji komórek raka jelita grubego przez kalcytriol tłumaczy się m.in. regulacją na poziomie mRNA i ekspresji receptora epidermalnego czynnika wzrostu (EGFR, epidermal growth factor receptor), a także hamowaniem podstawowej i zależnej od EGF ekspresji cykliny D1 [111].

Wykazano także, że w komórkach raka okrężnicy może dochodzić do podwyższonej ekspresji 1 $\alpha$ -hydroksylazy 25-hydroksywitminy (1 $\alpha$ -OHazy) i 24-hydroksylazy 25-hydroksywitminy (24-OHazy), natomiast wytwarzanie endogennej 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> jest odwrotnie proporcjonalne do aktywności 24-OH-azy, co może ograniczyć antymitotyczne działanie kalcytriolu, zwłaszcza w późnych stadiach jego progresji [11].

Analiza ekspresji genów w komórkach raka jelita grubego po traktowaniu kalcytriolem, wykazała wpływ kalcytriolu na ekspresję genów białek m.in. z rodziny Jun (c-Jun, Jun B, Jun D), białek z motywem palca cynkowego ZNF-44/KOX7 (zinc finger protein), pektyny, filaminy, keratyny i proteazy M [81]. Produkty wykrytych genów są zaangażowane m.in. w transkrypcję, adhezję komórek, syntezę DNA, apoptozę, reakcje redoks i sygnalizację wewnątrzkomórkową [81].

Obecnie wiadomo także, że wysoka ekspresja receptora VDR jest związana z dłuższym przeżyciem pacjentów [33]. Sugeruje się, że poziom receptora witaminy D jest skorelowany ze stopniem zróżnicowania w komórkach raka okrężnicy i może służyć jako marker biologiczny w przewidywaniu wyników terapii u pacjentów [92]. Jednak wysoka ekspresja receptora witaminy D, która wiąże się z dobrym rokowaniem, może być tracona podczas progresji guza [80]. Wykazano, że podwyższona ekspresja czynnika transkrypcyjnego SNAIL hamuje ekspresję genu receptora VDR w ludzkich komórkach raka jelita grubego, a tym samym blokuje działanie przeciwnowotworowe analogu kalcytriolu (EB1089) [80].

### Rak trzustki

Wpływ witaminy D na komórki raka trzustki nie jest dokładnie wyjaśniony. Badania prospektywne przeprowadzone w grupie palaczy z Finlandii wykazały, że wyższe stężenia 25(OH)D w osoczu były związane z trzykrotnie wyższym ryzykiem wystąpienia raka trzustki wśród tej grupy badanych [105]. Jednak badania kohortowe przeprowadzone w latach 1986–2006 w grupie 118 597 uczestników z „Nurses’ Health Study and Health Professionals Follow-up Study” wykazały, że wyższy poziom 25(OH)D wiązał się z mniejszym ryzykiem wystąpienia raka trzustki [10]. Przeprowadzono również metaanalizę dotyczącą badań wiążących spożycie witamin i ryzyko wystąpienia raka trzustki, z uwzględnieniem 25 badań korelacyjnych, obejmujących 1 214 995 osób [72]. Wykazano, że spożycie witamin, a zwłaszcza witaminy D, może zmniejszać ryzyko wystąpienia tego nowotworu [72].

Na podstawie przeprowadzonych badań *in vitro* oraz *in vivo* stwierdzono, że komórki gruczolakoraka trzustki zawierają receptory VDR i odpowiadają funkcjonalnie na działanie analogu witaminy D o nazwie EB 1089, w sposób prowadzący do hamowania ich wzrostu [28]. Obecność receptorów VDR została potwierdzona także w innych badaniach, a także wykazana została ekspresja 1- $\alpha$  hydroksylazy w komórkach tego nowotworu [89]. Dowiedziano także, że kalcytriol i jego analogi hamują proliferację komórek rakowych trzustki, co jest skorelowane z poziomem indukcji białek p27 i p21 – inhibitorami kinaz białkowych *zależnych od cyklin* oraz z zahamowaniem cyklu komórkowego w punkcie kontrolnym G1/S [89]. Przeprowadzone zostały badania, w których wykazano, że inaktywacja sygnalizacji witaminy D i jej receptora VDR ma krytyczny udział w rozwój i progresję nowotworu trzustki przez podwyższoną ekspresję i funkcję FOXM1 (forkhead box M1), prowadzącą do wzmocnienia inwazji i tworzenia przerzutów przez komórki tego nowotworu [69].

### Nowotwory hematologiczne

Badania wpływu witaminy D na nowotwory hematologiczne dotyczą przede wszystkim komórek układu krwiotwórczego. Wykazano, że w ludzkich komórkach białaczki HL60 (human leukemia 60) traktowanych kalcytriolem, wraz ze stężeniem 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> wzrastał poziom białka p27 oraz dochodziło do zwiększenia ilości cykliny D i E, co wskazało, że białko p27 może regulować cykl komórkowy, blokując wejście do fazy S w komórkach traktowanych aktywną witaminą D<sub>3</sub> [115]. Podobnie w innych badaniach wykazano, że traktowanie komórek ostrej białaczki promielocytowej (UF-1) kalcytriolem powodowało zwiększoną ekspresję inhibitorów kinaz zależnych od cyklin, p21 oraz p27, które pośredniczą w zatrzymaniu komórek w fazie G1 cyklu komórkowego, sugerując, że może być to związane z różnicowaniem komórek białaczki w kierunku dojrziałych granulocytów [76].

Zbadano także wpływ kalcytriolu w komórkach przewlekłej białaczki szpikowej (K562) na geny związane z apoptozą [58]. Wykazano, że traktowanie kalcytriolem hamuje ekspresję czynników antyapoptotycznych Bcl-2 i Bcl-XL, podnosi natomiast ekspresję czynników proapoptotycznych Bax i p21 oraz, podobnie jak w innych pracach, dochodziło do zatrzymania progresji cyklu komórkowego w fazie G1, co powodowało zmniejszenie liczby komórek w fazie S [58]. W komórkach ostrej mieloblastycznej białaczki (HL60), apoptoza komórek nowotworowych traktowanych kalcytriolem była spowodowana obniżeniem aktywności telomerazy [118].

### Inne nowotwory

Na podstawie danych literaturowych wiadomo o dużej liczbie prowadzonych badań dotyczących wpływu aktywnych form witaminy D<sub>3</sub> na inne nowotwory. Dane epidemiologiczne sugerują m.in., że niedobór witaminy D może się przyczyniać do rozwoju raka jajnika,

a receptor witaminy D, który pośredniczy w wielu działaniach przeciwnowotworowych, może stanowić cel molekularny do opracowania nowych terapii do walki z tym nowotworem [120]. Wykazano również, że kalcytriol prowadzi do hamowania wzrostu komórek raka jajnika w fazie G1 cyklu komórkowego przez stabilizację białka p27, przez zmniejszenie aktywności kinazy Cdk2 i ilości białka Skp2 (S-phase kinase-associated protein 2), które degradują czynnik p27 [68]. W badaniach porównujących poziom hydroksylazy CYP27B1 w komórkach prawidłowych nabłonka jajnika i komórek nowotworowych określono, że w komórkach raka jajnika ekspresja tego białka jest obniżona, a nowotwory, które rozwinęły przerzuty cechują się najniższym poziomem CYP27B1 [18]. Wykazano także, że ekspresja CYP27B1 była dodatnio skorelowana z wolniejszym tempem proliferacji oraz z wolniejszą dynamiką wzrostu tego guza [18]. W raku jajnika apoptoza komórek nowotworowych traktowanych kalcytriolem może zostać spowodowana przez obniżenie aktywności telomerazy [56], podobnie jak w komórkach ostrej mieloblastycznej białaczki (HL60) [118].

W komórkach nowotworu siatkówki (Y79) po traktowaniu kalcytriolem oraz jego analogiem (KH1060) dochodziło do hamowania wzrostu komórek, powodując zatrzymanie cyklu komórkowego i apoptozy, której towarzyszył wzrost ekspresji białka Bax i zmniejszenie ekspresji białka Bcl-2 [114].

Innym nowotworem, dla którego sugerowany jest wpływ witaminy D<sub>3</sub>, jest urotelialny rak pęcherza. W komórkach tego nowotworu, wykryto ekspresję receptora VDR oraz indukcję genu 24-hydroksylazy, wskazując na funkcjonalną aktywność 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> [73]. Kalcytriol może również regulować ekspresję miRNA, które odgrywają

ważną rolę regulacyjną w jego rozwoju i progresji, a tym samym może się przyczyniać do różnych funkcji biologicznych w badanych komórkach [73].

Znane są także prace sugerujące zastosowanie kalcytriolu, w charakterze terapii raka szyjki macicy [6, 23]. Wykazano wpływ kalcytriolu na kanały potasowe Eher  $\alpha$ -go-go-1 [6], które wykazują właściwości onkogenne. W komórkach raka szyjki macicy traktowanych 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dochodziło do hamowania proliferacji oraz do obniżenia ekspresji na poziomie transkryptu oraz białka Eag1, a skutek był silniejszy w komórkach z wyższym poziomem receptora VDR [6]. Wyjaśniono także mechanizm działania kalcytriolu w hamowaniu ekspresji genu *hEag1* [23]. Kompleks białkowy tworzony m.in. przez receptor VDR, RXR i czynniki transkrypcyjne oddziałują z elementami VDRE w promotore genu *hEag1*, powodując hamowanie jego ekspresji [23].

Wykazano także wpływ kalcytriolu na komórki raka płuc z przerzutami, których wzrost był hamowany przez 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> w mysim modelu zwierzęcym [77].

## PODSUMOWANIE

Na podstawie ogromu wiedzy wypływającej z przeprowadzonych do tej pory badań dotyczących wpływu witaminy D na organizm, jak również nowotworów i ciągle rodzących się nowych pytań związanych z narastającą wiedzą, niezwykle trafne pozostaje stwierdzenie *The more we know, the less we know* (Im więcej wiemy, tym mniej wiemy) [91]. Niewątpliwie obecny stan wiedzy oraz jej ciągły rozwój umożliwi opracowanie skutecznych terapii w zwalczaniu i zapobieganiu różnych nowotworów, dotyczy to szczególnie terapii kombinowanych. Stąd też oczywista wydaje się potrzeba dalszego prowadzenia badań.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Aguilera O., Pena C., Garcia J.M., Larriba M.J., Ordonez-Moran P., Navarro D., Barbachano A., Lopez de Silanes I., Ballestar E., Fraga M.F., Esteller M., Gamallo C., Bonilla F., Gonzalez-Sancho J.M., Munoz A.: The Wnt antagonist *DICKKOPF-1* gene is induced by 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> associated to the differentiation of human colon cancer cells. *Carcinogenesis*, 2007; 28: 1877–1884
- [2] Anderson M.G., Nakane M., Ruan X., Kroeger P.E., Wu-Wong J.R.: Expression of VDR and CYP24A1 mRNA in human tumors. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 2006; 57: 234–240
- [3] Annalora A.J., Goodin D.B., Hong W.X., Zhang Q., Johnson E.F., Stout C.D.: Crystal structure of CYP24A1, a mitochondrial cytochrome P450 involved in Vitamin D metabolism. *J. Mol. Biol.*, 2010; 396: 441–451
- [4] Artaza J.N., Sirad F., Ferrini M.G., Norris K.C.: 1,25(OH)<sub>2</sub>vitamin D<sub>3</sub> inhibits cell proliferation by promoting cell cycle arrest without inducing apoptosis and modifies cell morphology of mesenchymal multipotent cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2010; 119: 73–83
- [5] Autier P., Gandini S.: Vitamin D supplementation and total mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arch. Intern. Med.*, 2007; 167: 1730–1737
- [6] Avila E., García-Becerra R., Rodríguez-Rasgado J.A., Díaz L., Ordaz-Rosado D., Zügel U., Steinmeyer A., Barrera D., Halhali A., Larrea F., Camacho J.: Calcitriol down-regulates human ether  $\alpha$ -go-go 1 potassium channel expression in cervical cancer cells. *Anticancer Res.*, 2010; 30: 2667–2672
- [7] Banakar M.C., Paramasivan S.K., Chattopadhyay M.B., Datta S., Chakraborty P., Chatterjee M., Kannan K., Thygarajan E.: 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> prevents DNA damage and restores antioxidant enzymes in rat hepatocarcinogenesis induced by diethylnitrosamine and promoted by phenobarbital. *World J. Gastroenterol.*, 2004; 10: 1268–1275
- [8] Bao B.Y., Ting H.J., Hsu J.W., Lee Y.F.: Protective role of 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> against oxidative stress in nonmalignant human prostate epithelial cells. *Int. J. Cancer*, 2008; 122: 2699–2706
- [9] Bao B.Y., Yao J., Lee Y.F.: 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> suppresses interleukin-8-mediated prostate cancer cell angiogenesis. *Carcinogenesis*, 2006; 27: 1883–1893
- [10] Bao Y., Ng K., Wolpin B.M., Michaud D.S., Giovannucci E., Fuchs C.S.: Predicted vitamin D status and pancreatic cancer risk in two prospective cohort studies. *Br. J. Cancer*, 2010; 102: 1422–1427
- [11] Bareis P., Bises G., Bischof M.G., Cross H.S., Peterlik M.: 25-Hydroxy-vitamin D metabolism in human colon cancer cells during tumor progression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001; 285: 1012–1017
- [12] Berlanga-Taylor A.J., Knight J.C.: An integrated approach to defining genetic and environmental determinants for major clinical outcomes involving vitamin D. *Mol. Diagn. Ther.*, 2014; 18: 261–272

- [13] Bertone-Johnson E.R., Chen W.Y., Holick M.F., Hollis B.W., Colditz G.A., Willett W.C., Hankinson S.E.: Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 2005; 14: 1991-1997
- [14] Bessler H., Djaldetti M.:  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$  modulates the interaction between immune and colon cancer cells. *Biomed. Pharmacother.*, 2012; 66: 428-432
- [15] Bikle D.D.: Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem. Biol.*, 2014; 21: 319-329
- [16] Bikle D.D., Elalieh H., Welsh J., Oh D., Cleaver J., Teichert A.: Protective role of vitamin D signaling in skin cancer formation. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2013; 136: 271-279
- [17] Brożyna A.A., Józwicki W., Janjetovic Z., Slominski A.T.: Expression of the vitamin D-activating enzyme  $1\alpha$ -hydroxylase (CYP27B1) decreases during melanoma progression. *Hum. Pathol.*, 2013; 44: 374-387
- [18] Brożyna A.A., Józwicki W., Jochymowski C., Slominski A.T.: Decreased expression of CYP27B1 correlates with the increased aggressiveness of ovarian carcinomas. *Oncol. Rep.*, 2015; 33: 599-606
- [19] Brożyna A.A., Józwicki W., Slominski A.T.: Decreased VDR expression in cutaneous melanomas as marker of tumor progression: New data and analyses. *Anticancer Res.*, 2014; 34: 2735-2744
- [20] Burns E.M., Elmets C.A., Yusuf N.: Vitamin D and skin cancer. *Photochem. Photobiol.*, 2015; 91: 201-209
- [21] Buttiglieri C., Monagheddu C., Petroni P., Saini A., Dogliotti L., Ciccone G., Berruti A.: Prognostic role of vitamin D status and efficacy of vitamin D supplementation in cancer patients: A systematic review. *Oncologist*, 2011; 16: 1215-1227
- [22] Caligo M.A., Cipollini G., Petrini M., Valentini P., Bevilacqua G.: Down regulation of NM23.H1, NM23.H2 and c-myc genes during differentiation induced by  $1,25$  dihydroxyvitamin  $D_3$ . *Leuk. Res.*, 1996; 20: 161-167
- [23] Cazares-Ordóñez V., Gonzalez-Duarte R.J., Diaz L., Ishizawa M., Uno S., Ortiz V., Ordóñez-Sánchez M.L., Makishima M., Larrea F., Avila E.: A cis-acting element in the promoter of human ether a go-go 1 potassium channel gene mediates repression by calcitriol in human cervical cancer cells. *Biochem. Cell Biol.*, 2015; 93: 94-101
- [24] Chen T.C., Holick M.F.: Vitamin D and prostate cancer prevention and treatment. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2003; 14: 423-430
- [25] Chen Y., Zhang J., Ge X., Du J., Deb D.K., Li Y.C.: Vitamin D receptor inhibits nuclear factor  $\kappa$ B activation by interacting with I $\kappa$ B kinase  $\beta$  protein. *J. Biol. Chem.*, 2013; 288: 19450-19458
- [26] Christakos S., Dhawan P., Verstuyf A., Verlinden L., Carmeliet G.: Vitamin D: Metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiol. Rev.*, 2016; 96: 365-408
- [27] Colston K., Colston M.J., Feldman D.:  $1,25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$  and malignant melanoma: the presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. *Endocrinology*, 1981; 108: 1083-1086
- [28] Colston K.W., James S.Y., Ofori-Kuragu E.A., Binderup L., Grant A.G.: Vitamin D receptors and anti-proliferative effects of vitamin D derivatives in human pancreatic carcinoma cells in vivo and in vitro. *Br. J. Cancer*, 1997; 76: 1017-1020
- [29] Deeb K.K., Trump D.L., Johnson C.S.: Vitamin D signalling pathways in cancer: Potential for anticancer therapeutics. *Nat. Rev. Cancer*, 2007; 7: 684-700
- [30] Díaz L., Díaz-Muñoz M., García-Gaytán A.C., Méndez I.: Mechanistic effects of calcitriol in cancer biology. *Nutrients*, 2015; 7: 5020-5050
- [31] Didonato J.A., Mercurio F., Karin M.: NF- $\kappa$ B and the link between inflammation and cancer. *Immunol. Rev.*, 2012; 246: 379-400
- [32] Doroudi M., Schwartz Z., Boyan B.D.: Phospholipase  $A_2$  activating protein is required for  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$  dependent rapid activation of protein kinase C via Pdia3. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2012; 132: 48-56
- [33] Ferrer-Mayorga G., Larriba M.J., Crespo P., Muñoz A.: Mechanisms of action of vitamin D in colon cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2019; 185: 1-6
- [34] Field S., Elliott F., Randerson-Moor J., Kukulicz K., Barrett J.H., Bishop D.T., Newton-Bishop J.A.: Do vitamin A serum levels moderate outcome or the protective effect of vitamin D on outcome from malignant melanoma? *Clin. Nutr.*, 2013; 32: 1012-1016
- [35] Fleet J.C.: Molecular actions of vitamin D contributing to cancer prevention. *Mol. Aspects Med.*, 2008; 29: 388-396
- [36] Fleet J.C., DeSmet M., Johnson R., Li Y.: Vitamin D and cancer: a review of molecular mechanisms. *Biochem. J.*, 2012; 441: 61-76
- [37] García-Becerra R., Díaz L., Camacho J., Barrera D., Ordaz-Rosado D., Morales A., Ortiz C.S., Avila E., Bargallo E., Arrecillas M., Halhali A., Larrea F.: Calcitriol inhibits ether- $\alpha$ -go-go potassium channel expression and cell proliferation in human breast cancer cells. *Exp. Cell Res.*, 2010; 316: 433-442
- [38] García-Quiroz J., García-Becerra R., Santos-Martínez N., Barrera D., Ordaz-Rosado D., Avila E., Halhali A., Villanueva O., Ibarra-Sánchez M.J., Esparza-López J., Gamboa-Domínguez A., Camacho J., Larrea F., Díaz L.: In vivo dual targeting of the oncogenic ether- $\alpha$ -go-go-1 potassium channel by calcitriol and astemizole results in enhanced antineoplastic effects in breast tumors. *BMC Cancer*, 2014; 14: 745-754
- [39] Garland C.F., Gorham E.D., Mohr S.B., Grant W.B., Giovannucci E.L., Lipkin M., Newmark H., Holick M.F., Garland F.C.: Vitamin D and prevention of breast cancer: Pooled analysis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2007; 103: 708-711
- [40] Goodwin P.J., Ennis M., Pritchard K.I., Koo J., Hood N.: Prognostic effects of 25-hydroxyvitamin D levels in early breast cancer. *J. Clin. Oncol.*, 2009; 27: 3757-3763
- [41] Gorham E.D., Garland C.F., Garland F.C., Grant W.B., Mohr S.B., Lipkin M., Newmark H.L., Giovannucci E., Wei M., Holick M.F.: Vitamin D and prevention of colorectal cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2005; 97: 179-194
- [42] Guzey M., Kitada S., Reed J.C.: Apoptosis induction by  $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin  $D_3$  in prostate cancer. *Mol. Cancer Ther.*, 2002; 1: 667-677
- [43] Hager G., Kornfehl J., Knerer B., Weigel G., Formanek M.: Molecular analysis of p21 promoter activity isolated from squamous carcinoma cell lines of the head and neck under the influence of  $1,25(OH)_2$  vitamin  $D_3$  and its analogs. *Acta Otolaryngol.*, 2004; 124: 90-96
- [44] Haussler M.R., Whitfield G.K., Haussler C.A., Hsieh J.C., Thompson P.D., Selznick S.H., Dominguez C.E., Jurutka P.W.: The nuclear vitamin D receptor: Biological and molecular regulatory properties revealed. *J. Bone Miner. Res.*, 1998; 13: 325-349
- [45] Henry H.L.: Regulation of vitamin D metabolism. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2011; 25: 531-541
- [46] Hmama Z., Nandan D., Sly L., Knutson K.L., Herrera-Velitz P., Reiner N.E.:  $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin  $D_3$ -induced myeloid cell differentiation is regulated by a vitamin D receptor-phosphatidylinositol 3-kinase signaling complex. *J. Exp. Med.*, 1999; 190: 1583-1594
- [47] Holick M.F.: Vitamin D: A millenium perspective. *J. Cell. Biochem.*, 2003; 88: 296-307
- [48] Holick M.F.: Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med.*, 2007; 357: 266-281
- [49] Hossein-Nezhad A., Holick M.F.: Vitamin D for health: A global perspective. *Mayo Clin. Proc.*, 2013; 88: 720-755
- [50] Huynh H., Pollak M., Zhang J.C.: Regulation of insulin-like growth factor (IGF) II and IGF binding protein 3 autocrine loop in human PC-3 prostate cancer cells by vitamin D metabolite  $1,25(OH)_2D_3$  and its analog. *Int. J. Oncol.*, 1998; 13: 137-143
- [51] Hybertson B.M., Gao B., Bose S.K., McCord J.M.: Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation. *Mol. Aspects Med.*, 2011; 32: 234-246

- [52] Ingraham B.A., Bragdon B., Nohe A.: Molecular basis of the potential of vitamin D to prevent cancer. *Curr. Med. Res. Opin.*, 2008; 24: 139–149
- [53] James S.Y., Mackay A.G., Colston K.W.: Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and its analogues on induction of apoptosis in breast cancer cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1996; 58: 395–401
- [54] Janjetovic Z., Brożyna A.A., Tuckey R.C., Kim T.K., Nguyen M.N., Jozwicki W., Pfeffer S.R., Pfeffer L.M., Slominski A.T.: High basal NF-κB activity in nonpigmented melanoma cells is associated with an enhanced sensitivity to vitamin D<sub>3</sub> derivatives. *Br. J. Cancer*, 2011; 105: 1874–1884
- [55] Jensen S.S., Madsen M.W., Lukas J., Binderup L., Bartek J.: Inhibitory effects of 1α,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on the G<sub>1</sub>-S phase-controlling machinery. *Mol. Endocrinol.*, 2001; 15: 1370–1380
- [56] Jiang F., Bao J., Li P., Nicosia S.V., Bai W.: Induction of ovarian cancer cell apoptosis by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> through the down-regulation of telomerase. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 53213–53221
- [57] Józwicki W., Brożyna A., Siekiera J., Slominski A.: Expression of vitamin D receptor (VDR) positively correlates with survival of urothelial bladder cancer patients. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015; 16: 24369–24386
- [58] Kizildag S., Ates H., Kizildag S.: Treatment of K562 cells with 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> induces distinct alterations in the expression of apoptosis-related genes BCL2, BAX, BCL<sub>XL</sub>, and p21. *Ann. Hematol.*, 2010; 89: 1–7
- [59] Köstner K., Denzer N., Müller C.S., Klein R., Tilgen W., Reichrath J.: The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: A review of the literature. *Anticancer Res.*, 2009; 29: 3511–3536
- [60] Kovalenko P.L., Zhang Z., Cui M., Clinton S.K., Fleet J.C.: 1,25-dihydroxyvitamin D-mediated orchestration of anticancer, transcript-level effects in the immortalized, non-transformed prostate epithelial cell line, RWPE1. *BMC Genomics*, 2010; 11: 26–40
- [61] Krishnan A. V., Feldman D.: Molecular pathways mediating the anti-inflammatory effects of calcitriol: Implications for prostate cancer chemoprevention and treatment. *Endocr. Relat. Cancer*, 2010; 17: R19–R38
- [62] Krishnan A. V., Moreno J., Nonn L., Malloy P., Swami S., Peng L., Peehl D.M., Feldman D.: Novel pathways that contribute to the anti-proliferative and chemopreventive activities of calcitriol in prostate cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2007; 103: 694–702
- [63] Lai Y.H., Fang T.C.: The pleiotropic effect of vitamin D. *ISRN Neurophrol.*, 2013; 2013: 898125
- [64] Lambert J.R., Kelly J.A., Shim M., Huffer W.E., Nordeen S.K., Baek S.J., Eling T.E., Lucia M.S.: Prostate derived factor in human prostate cancer cells: Gene induction by vitamin D via a p53-dependent mechanism and inhibition of prostate cancer cell growth. *J. Cell. Physiol.*, 2006; 208: 566–574
- [65] Larriba M.J., González-Sancho J.M., Barbáchano A., Niell N., Ferrer-Mayorga G., Muñoz A.: Vitamin D is a multilevel repressor of Wnt/β-catenin signaling in cancer cells. *Cancers*, 2013; 5: 1242–1260
- [66] Larriba M.J., González-Sancho J.M., Bonilla F., Muñoz A.: Interaction of vitamin D with membrane-based signaling pathways. *Front. Physiol.*, 2014; 5: 60–70
- [67] Lehmann B., Meurer M.: Vitamin D metabolism. *Dermatol. Ther.*, 2010; 23: 2–12
- [68] Li P., Li C., Zhao X., Zhang X., Nicosia S. V., Bai W.: p27<sup>Kip1</sup> Stabilization and G<sub>1</sub> arrest by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in ovarian cancer cells mediated through down-regulation of cyclin E/cyclin-dependent kinase 2 and Skp1-cullin-F-box protein/Skp2 ubiquitin ligase. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 25260–25267
- [69] Li Z., Jia Z., Gao Y., Xie D., Wei D., Cui J., Mishra L., Huang S., Zhang Y., Xie K.: Activation of vitamin D receptor signaling down-regulates the expression of nuclear FOXM1 protein and suppresses pancreatic cancer cell stemness. *Clin. Cancer Res.*, 2015; 21: 844–853
- [70] Lieberman D.A., Prindiville S., Weiss D.G., Willett W.: Risk factors for advanced colonic neoplasia and hyperplastic polyps in asymptomatic individuals. *JAMA*, 2003; 290: 2959–2967
- [71] Liu M., Lee M.H., Cohen M., Bommakanti M., Freedman L.P.: Transcriptional activation of the Cdk inhibitor p21 by vitamin D<sub>3</sub> leads to the induced differentiation of the myelomonocytic cell line U937. *Genes Dev.*, 1996; 10: 142–153
- [72] Liu Y., Wang X., Sun X., Lu S., Liu S.: Vitamin intake and pancreatic cancer risk reduction: A meta-analysis of observational studies. *Medicine*, 2018; 97: e0114–e0121
- [73] Ma Y., Hu Q., Luo W., Pratt R.N., Glenn S.T., Liu S., Trump D.L., Johnson C.S.: 1α,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> differentially regulates miRNA expression in human bladder cancer cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2015; 148: 166–171
- [74] Mantell D.J., Owens P.E., Bundred N.J., Mawer E.B., Canfield A.E.: 1α,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> inhibits angiogenesis in vitro and in vivo. *Circ. Res.*, 2000; 87: 214–220
- [75] Moreno J., Krishnan A. V., Swami S., Nonn L., Peehl D.M., Feldman D.: Regulation of prostaglandin metabolism by calcitriol attenuates growth stimulation in prostate cancer cells. *Cancer Res.*, 2005; 65: 7917–7925
- [76] Muto A., Kizaki M., Yamato K., Kawai Y., Kamata-Matsushita M., Ueno H., Ohguchi M., Nishihara T., Koeffler H.P., Ikeda Y.: 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> induces differentiation of a retinoic acid-resistant acute promyelocytic leukemia cell line (UF-1) associated with expression of p21<sup>WAF1/CIP1</sup> and p27<sup>KIP1</sup>. *Blood*, 1999; 93: 2225–2233
- [77] Nakagawa K., Kawaura A., Kato S., Takeda E., Okano T.: 1α,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> is a preventive factor in the metastasis of lung cancer. *Carcinogenesis*, 2005; 26: 429–440
- [78] Noyola-Martínez N., Díaz L., Avila E., Halhali A., Larrea F., Barrera D.: Calcitriol downregulates TNF-α and IL-6 expression in cultured placental cells from preeclamptic women. *Cytokine*, 2013; 61: 245–250
- [79] Pálmer H.G., González-Sancho J.M., Espada J., Berciano M.T., Puig I., Baulida J., Quintanilla M., Cano A., de Herreros A.G., Lafarga M., Muñoz A.: Vitamin D<sub>3</sub> promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of β-catenin signaling. *J. Cell Biol.*, 2001; 154: 369–387
- [80] Pálmer H.G., Larriba M.J., García J.M., Ordóñez-Morán P., Peña C., Peiró S., Puig I., Rodríguez R., De La Fuente R., Bernad A., Pollán M., Bonilla F., Gamallo C., García De Herreros A., Muñoz A.: The transcription factor SNAIL represses vitamin D receptor expression and responsiveness in human colon cancer. *Nat. Med.*, 2004; 10: 917–919
- [81] Pálmer H.G., Sánchez-carbayo M., Ordóñez-morán P., Larriba M.J., Cordon-Cardo C., Munoz A.: Genetic signatures of differentiation induced by 1α,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in human colon cancer cells. *Cancer Res.*, 2003; 63: 7799–7806
- [82] Peehl D.M., Shinghal R., Nonn L., Seto E., Krishnan A. V., Brooks J.D., Feldman D.: Molecular activity of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in primary cultures of human prostatic epithelial cells revealed by cDNA microarray analysis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2004; 92: 131–141
- [83] Prosser D.E., Jones G.: Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem. Sci.*, 2004; 29: 664–673
- [84] Prüfer K., Racz A., Lin G.C., Barsony J.: Dimerization with retinoid X receptors promotes nuclear localization and subnuclear targeting of vitamin D receptors. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 41114–41123
- [85] Reichrath J., Lehmann B., Carlberg C., Varani J., Zouboulis C.C.: Vitamins as hormones. *Horm. Metab. Res.*, 2007; 39: 71–84
- [86] Rohan J.N., Weigel N.L.: 1α,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> reduces c-myc expression, inhibiting proliferation and causing G<sub>1</sub> accumulation in C4-2 prostate cancer cells. *Endocrinology*, 2009; 150: 2046–2054



- [87] Saramäki A., Banwell C.M., Campbell M.J., Carlberg C.: Regulation of the human p21<sup>waf1/cip1</sup> gene promoter via multiple binding sites for p53 and the vitamin D<sub>3</sub> receptor. *Nucleic Acids Res.*, 2006; 34: 543–554
- [88] Sawada N., Inoue M., Iwasaki M., Yamaji T., Shimazu T., Sasazuki S., Tsugane S.: Plasma 25-hydroxy vitamin D and subsequent prostate cancer risk in a nested case-control study in Japan: The JPHC study. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2017; 71: 132–136
- [89] Schwartz G.G., Eads D., Rao A., Cramer S.D., Willingham M.C., Chen T.C., Jamieson D.P., Wang L., Burnstein K.L., Holick M.F., Komenis C.: Pancreatic cancer cells express 25-hydroxyvitamin D-1 $\alpha$ -hydroxylase and their proliferation is inhibited by the prohormone 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Carcinogenesis*, 2004; 25: 1015–1026
- [90] Schwartz G.G., Whitlatch L.W., Chen T.C., Lokeshwar B.L., Holick M.F.: Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> from 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 1998; 7: 391–395
- [91] Scott M.G., Gronowski A.M., Reid I.R., Holick M.F., Thadhani R., Phinney K.: Vitamin D: The more we know, the less we know. *Clin. Chem.*, 2015; 61: 462–465
- [92] Shabahang M., Buras R.R., Davoodi F., Schumaker L.M., Nauta R.J., Evans S.R.: 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor as a marker of human colon carcinoma cell line differentiation and growth inhibition. *Cancer Res.*, 1993; 53: 3712–3718
- [93] Sherr C.J., Roberts J.M.: Inhibitors of mammalian G<sub>1</sub> cyclin-dependent kinases. *Genes Dev.*, 1995; 9: 1149–1163
- [94] Simboli-Campbell M., Narvaez C.J., Tenniswood M., Welsh J.: 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> induces morphological and biochemical markers of apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 1996; 58: 367–376
- [95] Skowronski R.J., Peehl D.M., Feldman D.: Vitamin D and prostate cancer: 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptors and actions in human prostate cancer cell lines. *Endocrinology*, 1993; 132: 1952–1960
- [96] Slominski A.T., Brożyna A., Jozwicki W., Tuckey R.C.: Vitamin D as an adjuvant in melanoma therapy. *Melanoma Manag.*, 2015; 2: 1–4
- [97] Slominski A.T., Brożyna A.A., Zmijewski M.A., Józwicki W., Jetten A.M., Mason R.S., Tuckey R.C., Elmetts C.A.: Vitamin D signaling and melanoma: role of vitamin D and its receptors in melanoma progression and management. *Lab. Investig.*, 2017; 97: 706–724
- [98] Slominski A.T., Kim T.K., Hobrath J. V., Oak A.S., Tang E.K., Tieu E.W., Li W., Tuckey R.C., Jetten A.M.: Endogenously produced nonclassical vitamin D hydroxy-metabolites act as “biased” agonists on VDR and inverse agonists on ROR $\alpha$  and ROR $\gamma$ . *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2017; 173: 42–56
- [99] Slominski A.T., Kim T.K., Li W., Postlethwaite A., Tieu E.W., Tang E.K., Tuckey R.C.: Detection of novel CYP<sub>11A1</sub>-derived secosteroids in the human epidermis and serum and pig adrenal gland. *Sci. Rep.*, 2015; 5: 14875–14886
- [100] Slominski A.T., Kim T.K., Shehabi H.Z., Semak I., Tang E.K., Nguyen M.N., Benson H.A., Korik E., Janjetovic Z., Chen J., Yates C.R., Postlethwaite A., Li W., Tuckey R.C.: In vivo evidence for a novel pathway of vitamin D<sub>3</sub> metabolism initiated by P450scc and modified by CYP27B1. *FASEB J.*, 2012; 26: 3901–3915
- [101] Slominski A.T., Kim T.K., Takeda Y., Janjetovic Z., Brożyna A.A., Skobowiat C., Wang J., Postlethwaite A., Li W., Tuckey R.C., Jetten A.M.: ROR $\alpha$  and ROR $\gamma$  are expressed in human skin and serve as receptors for endogenously produced noncalcemic 20-hydroxy- and 20,23-dihydroxyvitamin D. *FASEB J.*, 2014; 28: 2775–2789
- [102] Slominski A.T., Li W., Kim T.K., Semak I., Wang J., Zjawiony J.K., Tuckey R.C.: Novel activities of CYP11A1 and their potential physiological significance. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2015; 151: 25–37
- [103] So J.Y., Smolarek A.K., Salerno D.M., Maehr H., Uskokovic M., Liu F., Suh N.: Targeting CD44-STAT3 signaling by gemini vitamin D analog leads to inhibition of invasion in basal-like breast cancer. *PLoS One*, 2013; 8: e54020–e54029
- [104] Sone T., Kerner S., Pike J.W.: Vitamin D receptor interaction with specific DNA. Association as a 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-modulated heterodimer. *J. Biol. Chem.*, 1991; 266: 23296–23305
- [105] Stolzenberg-Solomon R.Z., Vieth R., Azad A., Pietinen P., Taylor P.R., Virtamo J., Albanes D.: A prospective nested case-control study of vitamin D status and pancreatic cancer risk in male smokers. *Cancer Res.*, 2006; 66: 10213–10219
- [106] Szyszka P., Zmijewski M.A., Slominski A.T.: New vitamin D analogs as potential therapeutics in melanoma. *Expert Rev. Anticancer Ther.*, 2012; 12: 585–599
- [107] Tang E.K., Chen J., Janjetovic Z., Tieu E.W., Slominski A.T., Li W., Tuckey R.C.: Hydroxylation of CYP11A1-derived products of vitamin D<sub>3</sub> metabolism by human and Mouse CYP27B1. *Drug Metab. Dispos.*, 2013; 41: 1112–1124
- [108] Tavera-Mendoza L., Wang T.T., Lallemand B., Zhang R., Nagai Y., Bourdeau V., Ramirez-Calderson M., Desbarats J., Mader S., White J.H.: Convergence of vitamin D and retinoic acid signalling at a common hormone response element. *EMBO Rep.*, 2006; 7: 180–185
- [109] Tieu E.W., Li W., Chen J., Kim T.K., Ma D., Slominski A.T., Tuckey R.C.: Metabolism of 20-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 20,23-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> by rat and human CYP24A1. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, 2015; 149: 153–165
- [110] Toner C.D., Davis C.D., Milner J.A.: The vitamin D and cancer conundrum: Aiming at a moving target. *J. Am. Diet. Assoc.*, 2010; 110: 1492–1500
- [111] Tong W.M., Hofer H., Ellinger A., Peterlik M., Cross H.S.: Mechanism of antimetastatic action of vitamin D in human colon carcinoma cells: relevance for suppression of epidermal growth factor-stimulated cell growth. *Oncol. Res.*, 1999; 11: 77–84
- [112] Townsend K., Banwell C.M., Guy M., Colston K.W., Mansi J.L., Stewart P.M., Campbell M.J., Hewison M.: Autocrine metabolism of vitamin D in normal and malignant breast tissue. *Clin. Cancer Res.*, 2005; 11: 3579–3586
- [113] Wacker M., Holick M.F.: Sunlight and vitamin D. A global perspective for health. *Dermatoendocrinol.*, 2013; 5: 51–108
- [114] Wagner N., Wagner K.D., Schley G., Badiali L., Theres H., Scholz H.: 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>-induced apoptosis of retinoblastoma cells is associated with reciprocal changes of Bcl-2 and bax. *Exp. Eye Res.*, 2003; 77: 1–9
- [115] Wang Q.M., Jones J.B., Studzinski G.P.: Cyclin-dependent kinase inhibitor p27 as a mediator of the G<sub>1</sub>-S phase block induced by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in HL60 cells. *Cancer Res.*, 1996; 56: 264–267
- [116] Wasiewicz T., Szyszka P., Cichorek M., Janjetovic Z., Tuckey R., Slominski A., Zmijewski M.: Antitumor effects of vitamin D analogs on hamster and mouse melanoma cell lines in relation to melanin pigmentation. *Int. J. Mol. Sci.*, 2015; 16: 6645–6667
- [117] Wierzbicka J., Piotrowska A., Zmijewski M.A.: The renaissance of vitamin D. *Acta Biochim. Pol.*, 2014; 61: 679–686
- [118] Yamada O., Ozaki K., Nakatake M., Akiyama M., Kawauchi K., Matsuoka R.: Multistep regulation of telomerase during differentiation of HL60 cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2008; 83: 1240–1248
- [119] Ylikomi T., Laaksi I., Lou Y.R., Martikainen P., Miettinen S., Penanen P., Purmonen S., Syväälä H., Vienenonen A., Tuohimaa P.: Antiproliferative action of vitamin D. *Vitam. Horm.*, 2002; 64: 357–406
- [120] Zhang X., Nicosia S.V., Bai W.: Vitamin D receptor is a novel drug target for ovarian cancer treatment. *Curr. Cancer Drug Targets*, 2006; 6: 229–244

Autorka deklaruje brak potencjalnych konfliktów interesów.