

CONTROVERSE PRIVIND RELAȚIA ÎNTRE RADIĂȚILE SOLARE, SINTEZA CUTANATĂ A VITAMINEI D ȘI DEZVOLTAREA MELANOMULUI MALIGN

Controversies regarding the relation between solar radiation, cutaneous synthesis of vitamin D and the development of malignant melanoma

Corina-Daniela Ene^{1,2}, Amalia-Elena Anghel^{2,3}, Alina Mușetescu⁴, Ilinca Nicolae⁴

¹Spitalul de Nefrologie „Dr. Carol Davila“, București

²POSDRU 159/1.5/S/135760 CERO – Profil de carieră: cercetător român

³SKINMED CLINIC, București, România

⁴Departamentul de Cercetare în Dermatologie, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Victor Babeș“ București

REZUMAT

Relația între expunerea la soare, sinteza vitaminei D și apariția cancerului cutanat este complexă. Radiațiile solare stimulează sinteza cutanată a vitaminei D, pe de o parte, iar, pe de altă parte, promovează dezvoltarea cancerului cutanat. O serie de studii epidemiologice și experimentale au relatat rezultate contradictorii privind relația dintre vitamina D și melanomul malign. Deficitul de 25-OH vitamina D3, indicator biochimic fidel al statusului de vitamină D din organism, ar putea fi implicat în promovarea metastazării melanomului malign cutanat prin activarea proliferării celulare, prin stimularea chemotaxiei neutrofilelor și promovarea angiogenezei. Identificarea unor strategii terapeutice de normalizare a nivelurilor serice ale 25-OH vitamina D3 ar putea reprezenta instrumente utile în prevenirea metastazării melanomului cutanat.

Cuvinte cheie: radiații solare, melanom malign, metastazare, vitamina D

ABSTRACT

The relation between sun exposure, vitamin D synthesis and skin cancer is a complex one. Radiations from the sun stimulate the cutaneous vitamin D synthesis, one way, and promote the development of the skin cancer on the other way. A lot of epidemiologic and experimental studies revealed contradictory results regarding the relation between vitamin D and malignant melanoma. The vitamin D deficiency, accurate biochemical indicator of the vitamin D status in the body, could be implicated in promoting metastasis of the malignant melanoma by activation of the cellular proliferation, stimulation of the neutrophils chemotaxis and promoting angiogenesis. Identification of therapeutic strategies to normalise serum levels of the 25-OH vitamin D3 could represent useful tools in preventing melanoma metastasis.

Keywords: sun radiations, malignant melanoma, metastasis, vitamin D

INTRODUCERE

Radiația solară este un factor etiologic implicat în apariția melanomului malign cutanat. Expunerea la soare crește sinteza cutanată a vitaminei D3. Multe studii, dar nu toate, sugerează că niveluri mai ridicate de vitamina D3 în sânge sunt asociate

cu un risc redus de cancer. Pornind de la aceste efecte duale ale vitaminei D3 asupra cancerului cutanat, este utilă cunoașterea mecanismelor prin care vitamina D3 ar putea influența dezvoltarea, agresivitatea sau prognosticul melanomului. Evidențierea proceselor și mecanismelor prin care vitamina D3 influențează apariția și evoluția mela-

Autor corespondent:

Dr. Ilinca Nicolae, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale „Victor Babeș“, Șoseaua Mihai Bravu nr. 281, București
E-mail: drnicolaei@yahoo.ro

nomului malign cutanat ar putea contribui la elaborarea unor metode de intervenție medicală nutrițională în cazul acestor pacienți.

Riscul de melanom a fost asociat cu aportul de **vitamina D3**. O serie de investigații epidemiologice și studii de laborator au sugerat rezultate contradictorii cu privire la relația între vitamina D3 și cancer. Astfel, unele studii au relatat prezența unei asocieri negative între aportul de vitamina D3 și riscul de melanom malign cutanat (Vinceti M. 2011), altele au sugerat prezența unor asocieri pozitive (Stryker W.S. 2009; Weinstock M.A., 1992) sau lipsa oricărei dependențe (Asgari M.M., 2009). Interesul autorilor pentru o analiză a relației între statusul vitaminei D3 și dezvoltarea melanomului malign cutanat a pornit de la ipoteza că radiațiile UV sunt, pe de o parte, factor de risc pentru melanom și, pe de altă parte, stimulator al sintezei de vitamina D3.

SINTEZA VITAMINEI D

La ora actuală se cunoaște că vitamina D3 este un mediator chimic esențial, metabolizat la nivel cutanat, hepatic și renal prin intermediul sistemelor enzimatice CYP27A1(CYP2R1), CYP27B1, CYP24A1 (Fig. 1) sau CYP11A1 (Fig. 2).

Sinteza vitaminei D mediată de CYP27A1 și CYP27B1

După expunerea la UVB, 7-dehidrocolesterolul este transformat în provitamina D3 în keratinocitele din stratul bazal și stratul spinos din piele (Fig. 1). Prin reacții de izomerizare spontană, provitamina D3 poate da naștere la vitamina D3, numită și colecalciferol. Vitamina D3 nu are activitate biologică semnificativă, și de aceea trebuie să fie metabolizată la forme hormonal active. La nivel hepatic, vitamina D3 suferă o primă hidroxilare pentru a forma 25-OH vitamina D3. Având în vedere timpul de înjumătățire prelungit, de 2-3 săptămâni, 25-OH vitamina D3 constituie principalul rezervor circulant și cel mai bun indicator al statusului global de vitamina D3. La nivelul tubului proximal al rinichiului, o parte din 25-OH vitamina D3 este transformată în 1,25-(OH)₂ vitamina D3, numită și calcitriol. Calcitriolul, forma biologic activă a vitaminei D3, este eliberat în circulație, legat de VDBP (vitamin D binding protein) și transportat la diferite organe țintă. Sinteza excesivă a vitaminei D3 în piele este prevenită prin conversia fotosensibilă a vitaminei D3 în tachisterol sau lumisterol, compuși inactivi biologic, care nu intră în circulația sistemică. Tot la nivel cutanat, prin reacții de izomerizare,

vitamina D3 poate fi transformată și în 5,6-trans-vitamina D3, suprasterol-1, suprasterol-2, foto-produși implicați în reglementarea proliferării și diferențierii epidermice. Keratinocitele din epiderm, monocitele, macrofagele și celulele imune conțin sistemele enzimatice necesare pentru a transforma vitamina D3 în derivați hidroxilați, dar și receptori pentru vitamina D3 (VDR). 1,25-(OH)₂ vitamina D3 se asociază cu heterodimerul VDR-RXR (receptorul acidului retinoic) și se leagă de ADN prin secvențele VDREs (vitamin D response elements). Aceste interacțiuni inițiază transcrierea mai multor gene care codifică proteine ce reglează proliferarea celulară, diferențierea, apoptoza, angiogeneza, răspunsul inflamator, răspunsul imun, homeostazia calciului, viabilitatea și maturarea melanocitelor, anihilarea speciilor reactive de oxigen, protejarea ADN împotriva daunelor oxidative (Brozyna, 2013; Slominski, 2012; Deeb, 2007; Reddy, 2013; Tang, 2013; Hummei, 2014; Yong Zhang, 2012; Tuckey, 2013; Mostafa, 2014; Bikle, 2011; Wobke, 2014). Efectele antiproliferative ale VDR în melanom se realizează prin suprareglarea MEK/ERK, PI3K/AKT, calbindin, IGFBP, E-caderina, și/sau subreglarea BCL2, IL-1, IL-12, TNFalfa, IFNgamma, EGFR, telomerazei (Newton Bishop, 2011).

Sinteza vitaminei D mediată de CYP11A1

Recent, s-a definit o altă cale de sinteză a unor derivați hidroxilați ai vitaminei D3, inițiată de citocromul P450_{sc} (CYP11A1). *In vitro* și, cu mare probabilitate, și *in vivo*, se formează, în principal, 17-OH vitamina D3, 20-OH vitamina D3, 22-OH vitamina D3, 17,20 (OH)₂ vitamina D3, 20,22-(OH)₂ vitamina D3, 20,23-(OH)₂ vitamina D3, 17,20,23-(OH)₃ vitamina D3 (Fig. 2). Acești produși hidroxilați sunt activi biologic, au proprietăți antimelanom, antileucemice, inhibă proliferarea keratinocitelor normale și melanocitelor maligne, stimulează diferențierea keratinocitelor umane, induc expresia CYP24A1 la nivelul ARNm, stimulează translocarea VDR din citoplasma în nucleu, inhibă NFkB, stimulează Ikb, au efecte noncalcemice (Slominski, 2012; Tang, 2013; Young Zhang, 2012; Hummei, 2014; Tuckey, 2013).

METODE DE DETERMINARE A VITAMINEI D

25-OH vitamina D3 are un timp de înjumătățire de două-trei săptămâni, motiv pentru care constituie cel mai bun indicator al statusului de vitamina D din organism. Pentru identificarea și cuantificarea

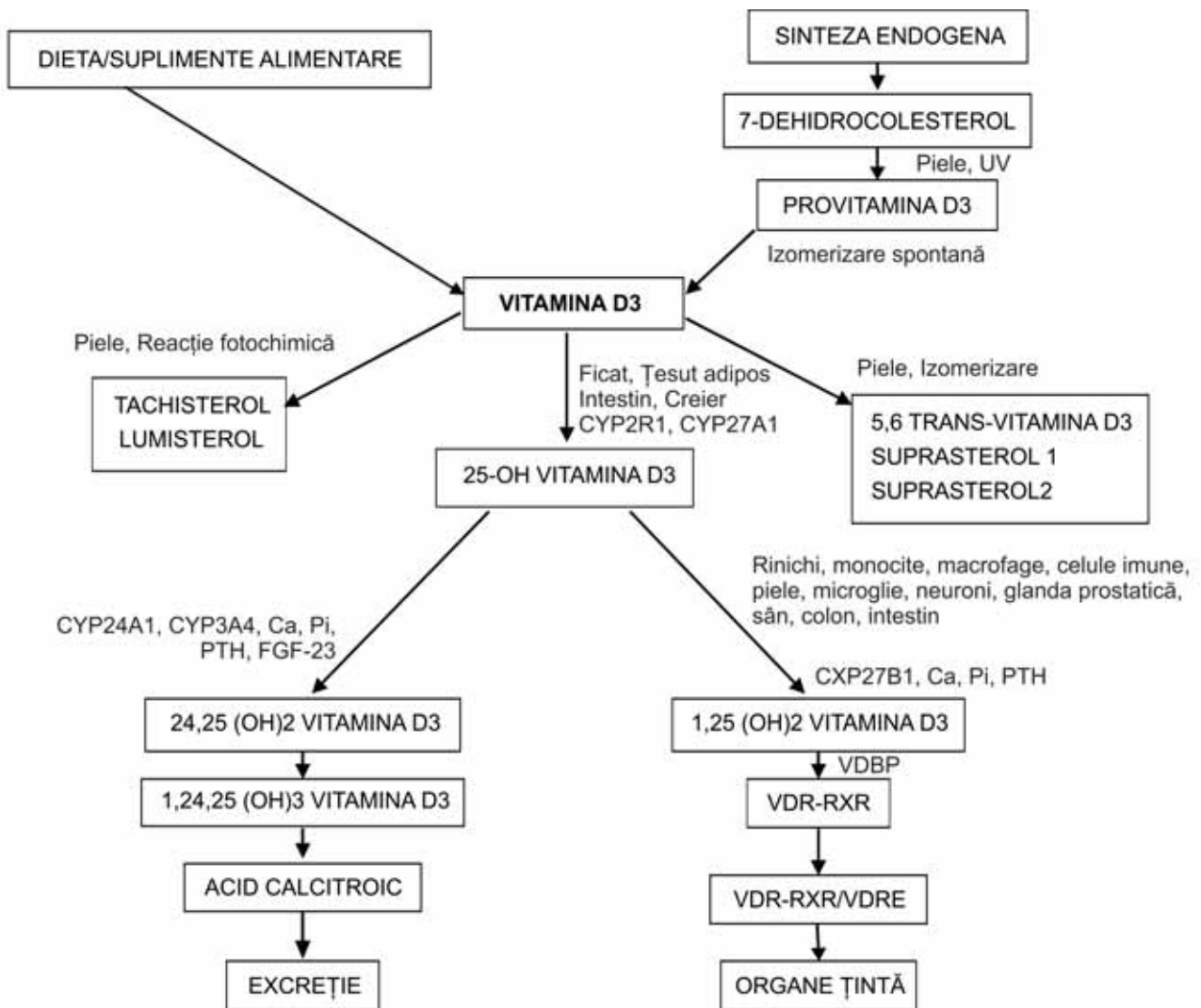


FIGURA 1. Sinteza clasică a vitaminei D3 mediată de CYP27A1(CYP2R1) și CYP27B1.

CYP: cytochrome; **VDBP:** vitamin D binding protein; **Pi:** inorganic phosphat; **PTH:** parathyroid hormone; **FGF:** Fibroblastic Growth Factor **VDR:** receptor for 1,25(OH)2 vitamin D3; **RXR:** retinod X receptor; **VDRE:** vitamin D response element.

vitaminei D s-au elaborat numeroase metode analitice, dintre care enumerăm: cromatografia în strat subțire, metode spectrofotometrice de absorbție UV/VIS, HPLC (high-performance liquid chromatography), LC-MS/MS (liquid chromatography-mass spectrometry), CLIA (tehnici imunochimice cu detecție prin chemoluminescență), ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), EIA (enzyme immunoassay), RIA (radioimmunoassay), microarray. Rezultatele se pot exprima în ng/mL ser sau nmol/L ser, transformarea făcându-se astfel:

$$25\text{-OH vitamina D3}(\text{ng/mL}) \cdot 2.5 = 25\text{-OH vitamina D3}$$

Nivelul seric al 25-OH vitamina D3 este influențat de vârstă, sex, rasă, dietă, zona geografică, expunere la razele solare. De aceea nu există un

consens asupra valorilor serice optime de vitamina D. Cele mai multe organizații științifice medicale, susțin ca valori mai mici de 10 ng/ml indică un deficit sever de vitamina D, valori cuprinse între 10 și 20 ng/ml definesc un nivel insuficient de vitamina D în sânge. Valorile cuprinse între 20 și 30 ng/ml se asociază cu un nivel suboptim de vitamina D, între 30 și 50 ng/ml – nivel optim, între 50 și 70 ng/ml – valori crescute, între 70 și 150 ng/ml – supradoză, valori mai mari de 150 ng/ml – intoxicație cu vitamina D.

ACTIVITATEA ANTIMELANOM A VITAMINEI D

Noile tendințe în cercetarea biomedicală sunt orientate în direcția stabilirii unor markeri de de-

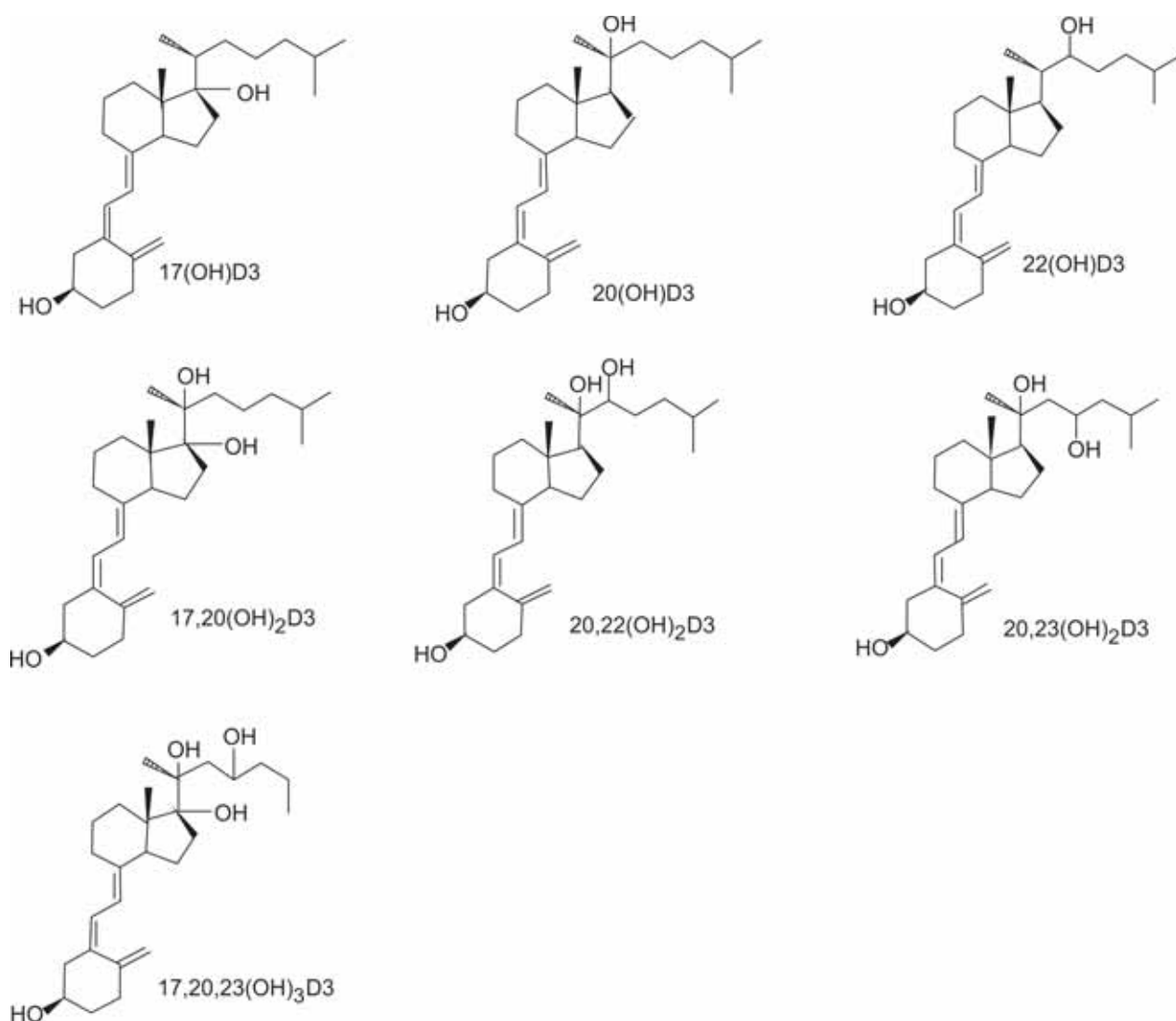


FIGURA 2. Structura principalilor metaboliți hidroxilați ai vitaminei D3 via CYP11A1.

17(OH)D3: 17-hidroxi vitamina D3; **20(OH)D3:** 20-hidroxi vitamina D3; **22(OH)D3:** 22-hidroxi vitamina D3;

17,20(OH)₂D3: 17,20-dihidroxi vitamina D3; **20,22(OH)₂D3:** 20,22 dihidroxi vitamina D3;

2est compus are un timp de înjumătățire de 2-3 săptămâni. **20,23(OH)₂D3:** 20,23 dihidroxi vitamina D3;

17,20,23(OH)₃D3: 17,20,23 trihidroxi vitamina D3.

tecție precoce a melanomului malign, de apreciere a evoluției și supraviețuirii pacienților cu melanom malign. La tranziția din faza de creștere orizontală în faza de creștere pe verticală, moment fiziopatologic asociat cu inițierea metastazării melanomului malign, autorii au constatat reducerea substanțială a nivelului seric al 25-OH vitamina D3, concomitent cu creșterea activității proteolitice și angiogenezei. În consecință, reducerea nivelului seric al 25-OH vitaminei D3 constituie un semn de agravare a bolii neoplazice (rezultate nepublicate). Toate aceste constatări reconfirmă posibilul rol al vitaminei D3 în tumorigeneză, transformare malignă, proliferare tumorală, invazie și metastazare.

Activitatea antimelanom a vitaminei D3 este susținută de rezultatele unor studii observaționale,

epidemiologice și preclinice. Există o serie de date obținute *in vitro* care sugerează că vitamina D3 amplifică diferențierea melanocitelor în cultura și are efecte antiproliferative și proapoptotice. Efectele antiproliferative ale vitaminei D3 se realizează prin subreglarea MAPK, supresia factorului de creștere al insulinei (IGFs), represia receptorului pentru factorul de creștere a epidermei (EGFR – cale supraexprimată în melanom). Activitatea proapoptotică a vitaminei D3 se realizează prin intermediul căii de semnalizare IGF1R/PI3K-AKT, supresia telomerazei și BCL2, stimularea BAX și activarea caspazelor. Aceste efecte conduc la dereglarea ciclului celular, degradarea p27, creșterea E-caderinei și represia protooncogenei MYC (Deeb, 2007; Miscalencu, 2002; Miscalencu, 2010; Wobke, 2014;

Bikle 2011). S-au relatat și fenomene de rezistență a melanomului față de vitamina D3. Pentru a explora factorii care determină rezistența melanomului la vitamina D3, s-au folosit SKMEL5 (melanom rezistent la vitamina D) și celule MeWo (melanom sensibil la vitamina D). Administrarea vitaminei D în mediul de cultură a evidențiat un răspuns pozitiv numai în celulele MeWo, concretizat în creșterea RNAm specific VDR și CYP24A1 și inhibarea cu până la 50% a creșterii celulare. Rezistența melanomului față de vitamina D s-ar datora fie reducerii VDR în melanom, fie unor defecte în transcrierea VDR (Reichrath, 2007).

Activitatea antiproliferativă a analogilor vitaminei D3 este complexă, acționând asupra mai multor căi de semnalizare relevante pentru tratamentul melanomului (Szyszka 2013, Young Zhang 2012, Tuckey 2013, Tang 2013, Hummei 2014). Analogii vitaminei D3 determină supresia ciclurilor prin efectul exercitat asupra transcrierii p19 (CDKN2D), p21 (CDKN1A), p27 (CDKN1B) și D1, D3, E1, X1. Aceste efecte conduc la inhibarea activității CDKs, hipofosforilarea Rb, p107 și p130, modularea E2F și reglementarea replicării ADN, reparării ADN și desfășurării ciclului celular. Analogii vitaminei D3 interacționează cu factorul de transcriere NFκB, influențând astfel imunitatea pacienților cu melanom. O altă cale de semnalizare utilizată de analogii vitaminei D3 este reprezentată de supresia proteinelor antiapoptotice BCL-2, BCL-X1 și reglarea pozitivă a proteinelor proapoptotice BAX, BCL-X5, BAK, BAD, activarea caspazelor și apoptozei. Interacțiunea analogilor de vitamina D3 cu PER57 și PDIA3 este un subiect actual și promițător pentru evaluarea efectelor anticancer ale vitaminei D3 (Szyszka, 2013). Evidențierea proceselor și mecanismelor prin care insuficiența de vitamina D3 ar putea fi implicată în

aparitia și evoluția melanomului malign cutanat reprezintă obiectivul unor studii experimentale și clinice în desfășurare.

CONCLUZII

Relația între expunerea la soare și riscul de melanom este complexă. Se apreciază că expunerea la soare crește riscul de melanom mai ales dacă se asociază cu arsuri solare. În plus, protecția solară exagerată determină sinteza insuficientă de vitamina D3. În consecință, date științifice convergente susțin că este nevoie de un echilibru între protecția și expunerea la soare.

Din punct de vedere farmacologic, trebuie semnalat faptul că utilizarea vitaminei D3 sau a analogilor săi este limitată din cauza efectelor toxice (imunosupresie, hipercalcemie, insuficiența de organ, posibil deces). Utilizarea unor analogi ai vitaminei D3, derivați hidroxilați sintetizați prin intermediul unui sistem enzimatic reprezentat de CYP11A1, a demonstrat efecte noncalcemice, non-toxice, antiproliferative, antitumorale în linii de melanom. De asemenea, o serie de studii experimentale au sugerat că suplimentarea cu vitamina D3 ar putea îmbunătăți rata de supraviețuire a persoanelor cu cancer. Aceste constatări de etapă justifică continuarea studiului privind consecințele insuficienței de vitamina D3 asupra evoluției pacienților cu melanom malign metastatic.

NOTĂ

Această lucrare a beneficiat de suport financiar prin proiectul „CERO – profil de carieră: cercetător român“, contract nr. POSDRU/159/1.5/S/135760, proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013.

BIBLIOGRAFIE

1. **Asgari M.M., Maruti S.S., Kushi L.H., White E.** A cohort study of vitamin D intake and melanoma risk. *J Invest Dermatol.* 2009; 129:1675–1680.
2. **Bikle D.D.** Vitamin D metabolism and function in the skin, *Mol Cell Endocrinol.* 2011, 347: 80-89.
3. **Brożyna A.A., Józwicki W. A., Janjetovic Z., Slominski A.T.** Expression of Vitamin D-Activating Enzyme 1α-Hydroxylase (CYP27B1) Decreases during Melanoma Progression *Hum Pathol.* Author manuscript; available in PMC 2014 Mar 1. Published in final edited form as: *Hum Pathol.* 2013 Mar; 44(3): 374–387.
4. **Chang G.Z., Parks S., Shu S., et al.** Advances of AKT pathway in human oncogenesis and as a target for anti-cancer drug discovery. *Curr. Cancer Drug Targets.* 2008; 8:2-6.
5. **Deeb K.K., Trump D.L., Johnson C.S.** Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. *Nat Rev Cancer.* 2007 Sep;7(9): 684-700.
6. **Miscalencu D., Mocanu M., Mailat F., Nicolae I., Ionescu L., Schipor S., Nicolae C.D.** Ciclinele, 2010, ed unibuc, ISBN: 978-973-737-812-5.
7. **Miscalencu D., Nicolae I., Mailat F., Gheza S., Schipor S.** Factori moleculari ai metastazării în cancer, 2002, Ed. Icar, ISBN:973-603-010-1.
8. **Mostafa W., Hegazy R., et al.** Vitamin D and the skin: Focus on a complex relationship: A review, *Journal of Advanced Research*, 2014, doi 10.1016.

9. **Newton-Bishop J.A., Chang Y.M., Elliott F., Chan M., et al.** Relationship between sun exposure and melanoma risk for tumours in different body sites in a large case-control study in a temperate climate. *Eur J Cancer*. 2011 Mar; 47(5):732-41.
10. **Nicolae C., Nicolae I.** Antibodies against GM1 Gangliosides associated with metastatic melanoma, *Acta Dermatovenerologica Croatica*, 2013, vol 21/nr.2.
11. **Palmer R.** Circulating Serologic and Molecular Biomarkers in Malignant Melanoma *Mayo Clin Proc*. 2011 Oct; 86(10): 981–990.
12. **Reichrath J., Rech M., Moeini M., et al.** In vitro comparison of the vitamin D endocrine system in 1,25(OH)2D3-responsive and -resistant melanoma cells. *Cancer Biol Ther*. 2007 Jan; 6(1):48-55.
13. **Reddy K.K.** Vitamin D level and basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, and melanoma risk. *J Invest Dermatol*. 2013 Mar; 133(3):589-92.
14. **Schall, T.J.** (1994). In *The Chemokines*. (Thomson, A., ed.), pp. 419- 460, *Academic Press*, New York.
15. **Slominski A.T., Janejetovic Z., Tae-Kang K., Adam C., et al.** Novel Vitamin D Hydroxyderivatives Inhibit Melanoma Growth and Show Differential Effects on Normal Melanocytes. *Anticancer Res*. Author manuscript; available in PMC 2013 Sep 1. Published in final edited form as: *Anticancer Res*. 2012 Sep; 32(9): 3733–3742.
16. **Stryker W.S., Stampfer M.J., Stein E.A., Kaplan L., Louis T.A., et al.** Diet, plasma levels of beta-carotene and alpha-tocopherol, and risk of malignant melanoma. *Am J Epidemiol*. 1990; 131:597–611.
17. **Szyszka P., Zmijewski M.A., Slominski A.T.** New vitamin D analogs as potential therapeutics in melanoma. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2012 May; 12(5):585-99.
18. **Takamori H., Oades Z.G., Hoch O.C., Burger M., et al.** Autocrine growth effect of IL-8 and GRO α on a human pancreatic cancer cell line, Capan-1. *Pancreas* 2000; 21:52-56.
19. **Tuckey R.C., Li W., Shehabi H.Z., Janjetovic Z., Slominski A.T., et al.** Production of 22-Hydroxy Metabolites of Vitamin D3 by Cytochrome P450scc (CYP11A1) and Analysis of Their Biological Activities on Skin Cells. *Drug Metab Dispos*. 2011 Sep; 39(9): 1577–1588.
20. **Vinceti M., Malagoli C., et al.** Inverse association between dietary vitamin D and risk of cutaneous melanoma in a northern Italy population, *Rac Nutr*, 2011, 63:506-513.
21. **Tang.** Hydroxylation of Cyp 11A1 derived product of vitamin D3-Drug metabolism and disposition, 41, 2013.
22. **Tang E.K.Y., Chen J., Janjetovic Z., Tieu E.W., Slominski A.T, Wei Li et al.** Hydroxylation of CYP11A1-Derived Products of Vitamin D3 Metabolism by Human and Mouse CYP27B. *Drug Metab Dispos*. 2013 May; 41(5): 1112–1124. Published online 2013 May.
23. **Hummel D.M., Fetahu I.S., Gröschel C., Manhardt T. Et al.** Role of proinflammatory cytokines on expression of vitamin D metabolism and target genes in colon cancer cells. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014 Oct; 144: 91–95.
24. **Zhang Y., Leung D.Y.M, Richers B.N., et al.** Vitamin D Inhibits Monocyte/Macrophage Targeting MAPK Phosphatase - *Journal of Immunology*, 2012, 188:2127-2135.
25. **Weinstock M.A., Stampfer M.J., Lew R.A., Willett W.C., Sober A.J.** Case-control study of melanoma and dietary vitamin D: implications for advocacy of sun protection and sunscreen use. *J Invest Dermatol*. 1992; 98:809–811.
26. **Wöbke T.K., Sorg B.L., Steinhilber D.** Vitami D in inflammatory diseases, *Front Physiol*. 2014 Jul 2; 5:244. doi: 10.3389/fphys.2014.00244. eCollection 2014.