

## **Vitamine D en borstkanker**

**Te verdedigen door : Marijke Timmers, Soumaya Faouzi, Nathalie Odeur**

**Promotoren : prof. dr. W. Tjalma, prof. dr. M.T. Huizing, prof. dr. J. Van Offel**

**Masterproef  
ter verkrijging van het diploma van  
master in de geneeskunde  
Academiejaar 2014-2015**

## **Inhoudsopgave**

Dankwoord .....	1
0 Abstract .....	2
1 Introductie .....	6
2 Doelstellingen .....	11
3 Materiaal en methoden – Statistiek .....	12
3.1 Materiaal en methoden .....	12
3.2 Statistische benadering .....	14
4 Resultaten .....	17
4.1 Eerste onderzoeksvraag: Retrospectief deel .....	17
4.2 Tweede en derde onderzoeksvraag: Case-control deel .....	17
4.3 Vierde onderzoeksvraag: Prognostisch deel .....	17
4.4 Conclusie .....	27
5 Discussie .....	28
5.1 Aandachtspunten .....	28
5.2 Borstkankerrisico .....	28
5.3 Prognose .....	29
5.4 Toekomstperspectieven .....	31
6 Referenties .....	34
7 Bijlagen .....	37
7.1 Tabel 5: Klinische studies .....	37
7.2 Verklarende woordenlijst .....	43
7.3 Informatiebrochures voor patiënten .....	44
7.3.1 Brochure borstkankergroep .....	44
7.3.2 Brochure controlegroep .....	48
7.4 TNM classificatie .....	54
7.5 Publicatie literatuurstudie .....	58

## **Dankwoord**

Graag willen wij onze promotoren, professor Huizing, professor Van Offel en professor Tjalma bedanken voor de begeleiding die ze ons gedurende de masterjaren hebben gegeven. Verder willen we Kristien Wouters bedanken voor haar feedback over onze statistische analyses.

## **0 Abstract**

**Inleiding** Vitamine D is een belangrijk hormoon voor tal van processen. Het is betrokken bij de bothomeostase en calciumhuishouding. Het is een belangrijke component van het immuunsysteem. Het heeft een anticarcinogene werking. Vitamine D deficiëntie komt frequent voor en kan bijdragen tot een hele waaier aan pathologie, waaronder ook maligniteiten. Borstkanker is de meest voorkomende maligniteit bij vrouwen. Borstkankerpatiënten ontwikkelen bovendien een toegenomen botresorptie door adjuvante therapie en vitamine D deficiëntie. Dit proces van botresorptie bevordert de vorming van botmetastasen, wat op lange termijn een belangrijke prognostische factor is voor een mammacarcinoom. Het anticarcinogeen profiel van vitamine D en zijn rol in de botgezondheid, hebben vragen doen rijzen over de rol die de vitamine al dan niet kan hebben in de preventie en therapie van borstkanker.

**Onderzoeksvragen** In deze masterproef werden vier onderzoeksvragen gesteld. 1. Hoe frequent werd de serum 25 (OH) vitamine D concentratie in 2012 gemeten bij borstkankerpatiënten in het UZA? 2. Wat is de prevalentie van vitamine D deficiëntie bij borstkankerpatiënten en vrouwen zonder maligniteit? 3. Liggen de serum 25 (OH) vitamine D waarden lager bij vrouwen met borstkanker dan bij vrouwen zonder maligniteit? 4. Kan de serum 25 (OH) vitamine D concentratie gecorreleerd worden met prognostische markers van het mammacarcinoom?

**Materiaal en methoden** Voor de eerste onderzoeksvraag werd er retrospectief in de databank van het UZA gekeken. Voor de tweede en derde onderzoeksvraag werd een case-control studie opgesteld waarbij de vitamine D waarden van 144 borstkankerpatiënten vergeleken werden met de waarden van 144 vrouwen zonder maligniteit. Voor de vierde onderzoeksvraag, werd er bij de 144 borstkankerpatiënten nagegaan of er een correlatie was tussen de vitamine D status en een reeks prognostische factoren.

**Resultaten** 1. Vitamine D werd slechts bij 31.7% van de borstkankerpatiënten gemeten. 2. Bij 86% van de borstkankerpatiënten en 91% van de controlegroep werd een vitamine D concentratie < 30

ng/ml gevonden. 3. De vitamine D waarden lagen significant hoger bij de borstkankergroep. 4. De serum 25 (OH) vitamine D concentratie kon significant invers gecorreleerd worden met het tumorstadium en het aantal ingenomen lymfenodi op moment van diagnose, na uitvoeren van correcties voor seizoen van bloedafname, BMI, de interactie tussen BMI en vitamine D, leeftijd bij diagnose en inname van supplementen. Er kon geen significante correlatie gevonden worden tussen de vitamine D spiegel en de expressie van ER, PR, HER(2)/neu, Ki 67, het type carcinoom, de differentiatiegraad, metastasen bij diagnose, botmetastasen, botdichtheid, en het doormaken van infecties.

**Conclusie** Vitamine D deficiëntie komt frequent voor, ook bij gezonde jonge vrouwen. Ondanks de potentiële rol die de vitamine kan hebben in de borstkankerprognose, wordt het niet vaak gemeten in het UZA. Er zijn meer grootschalige studies nodig met lange follow-up om de effecten van vitamine D volledig in beeld te brengen.

**Trefwoorden Vitamine D – Borstkanker – Anticarcinogeen – Prognose – Botmetastasen.**

## **Abstract**

**Introduction** Vitamin D is a hormone that is involved in numerous processes such as bone homeostasis and calcium metabolism. Furthermore, it constitutes an important component of the immune system and it has been shown to have anticarcinogenic effects. Vitamin D deficiency is a common problem and contributes to a whole scale of pathologies, amongst which malignancies. Breast cancer is the most common cancer among women. Breast cancer patients also develop an increased bone resorption because of vitamin D deficiency and adjuvant therapies. This process of bone resorption promotes bone metastasis, a major prognostic factor of breast cancer. The anticarcinogenic profile of vitamin D and its role in bone homeostasis do raise certain questions about the role it may or may not have in prevention and therapy of breast cancer.

**Research questions** In this master thesis, four research questions were asked. 1. How frequently were circulating 25 (OH) vitamin D levels measured among breast cancer patients in the Antwerp University Hospital (UZA) in 2012? 2. What is the prevalence of vitamin D deficiency among breast cancer patients and women without any malignancy? 3. Do women with breast cancer have a lower serum 25 (OH) vitamin D concentration compared to women without any malignancy? 4. Can serum 25 (OH) vitamin D levels be correlated with prognostic markers of breast cancer?

**Materials and methods** To answer the first research question, we performed a retrospective study of the database of the breast clinic. For the second and third question, a case-control study was conducted in which the vitamin D values of 144 breast cancer patients were compared to those of 144 women without any malignancies. For the fourth research question, we investigated if there was a correlation between the vitamin D status and a series of prognostic factors among the breast cancer patients.

**Results** 1. Vitamin D was measured in only 31.7% of the breast cancer population. 2. A vitamin D concentration < 30 ng/ml was present in 86% of the breast cancer patients and 91% of the control group. 3. The vitamin D values were significantly higher in the breast cancer group. 4. The serum 25

(OH) vitamin D concentration was significantly inversely associated with tumor stage and lymph node metastases at diagnosis after correction for season of blood draw, BMI, interaction between BMI and vitamin D, age at diagnosis and intake of supplements. There was no significant correlation between the vitamin D value and the expression of ER, PR, HER(2)/neu, Ki 67, carcinoma type, grade of differentiation, metastases at diagnosis, bone metastases, bone density and infections.

**Conclusion** Vitamin D deficiency is common, even in healthy young women. Despite its potential role in breast cancer prognosis, it's not frequently measured. More large-scale studies with long follow-up are warranted to fully comprehend the effects of vitamin D.

**Keywords** Vitamin D - Breast cancer - Anticarcinogenic - Prognosis - Bone metastases.

## 1 Introductie

Vitamine D deficiëntie komt veel voor op wereldniveau (1), ook in Vlaanderen. De Wereldgezondheidsorganisatie spreekt van deficiëntie bij serum 25 (OH) vitamine D concentraties lager dan 10 ng/ml en van insufficiëntie bij concentraties lager dan 20 ng/ml (2).

Vitamine D is een vetoplosbaar vitamine dat karakteristieken heeft van een (pro)hormoon (zie figuur 1) (3). Het is samen met parathormoon (PTH) betrokken in de calciumhomeostase en botmineralisatie. De laatste jaren gaat er echter ook meer aandacht naar niet-calciëmische effecten van dit vitamine (3). Vitamine D zou een belangrijke rol spelen in het immuunstelsel (4). Dit heeft geleid tot de hypothese dat vitamine D deficiëntie via een gebrekkige immuunrespons de vatbaarheid voor infecties zou vergroten, tot chronische inflammatie zou leiden en mede daardoor betrokken zou zijn bij tal van chronische ziekten, zoals kanker, auto-immuunziekten, en cardiovasculaire aandoeningen (4).

Een belangrijk niet-calciëmische effect van 1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamine D, niet volledig los te koppelen van zijn rol in de immuniteit, is zijn anticarcinogene werking (2, 5-9). De vitamine is een remmer van de celcyclus (2). Het stimuleert differentiatie en apoptose (2). Het geeft inhibitie van de oestrogenafhankelijke proliferatie bij borstkanker (10). Het reduceert proliferatie van tumorcellen bij inflammatie (5, 7, 11). Het remt angiogenese (7), invasie en metastasering (7), in het bijzonder naar het bot (2, 5, 6).

Omwille van dit anticarcinogeen profiel en zijn belang in de botgezondheid, ging de afgelopen jaren veel aandacht naar vitamine D in oncologische setting, onder andere bij het mammacarcinoom. Borstkanker is de meest voorkomende maligniteit bij vrouwen: een op acht zal ooit met deze aandoening kampen (12). Door vitamine D deficiëntie en de daarmee gepaard gaande secundaire hyperparathyreoïdie zien we bij vrouwen vaak een lage botdichtheid (13). Deze toegenomen



botresorptie en veranderde micro-architectuur van het bot verhoogt niet alleen de kans op fracturen, maar maakt het bot mogelijk ook vatbaarder voor micro-metastasen (13, 14). Op moment van diagnose is er reeds bij 30% van de borstkankerpatiënten microscopische botaantasting aanwezig (14). Patiënten met een borstcarcinoom ontwikkelen bovendien ook een toegenomen botresorptie onder adjuvante therapie (chemotherapie, chronisch gebruik van corticosteroiden, antihormonale therapie waaronder aromatase remmers, ovariële ablatie) (13). Deze resorptie draagt weer verder bij tot de vorming van micrometastasen (13). Deze microscopische haarden kunnen na een latente periode van verschillende jaren, uitgroeien tot actieve botmetastasen en voor verdere metastasering naar viscerale organen zorgen (14). Dit heeft geleid tot de hypothese dat microscopische ziekte in het bot een belangrijke prognostische factor is voor het mammacarcinoom (14). Daarnaast kunnen botmetastasen ook de levenskwaliteit zeer nadelig beïnvloeden door het optreden van pathologische fracturen, dwarslaesies, hypercalciëmie en botpijn (zogenaamde skeletal related events) (15).

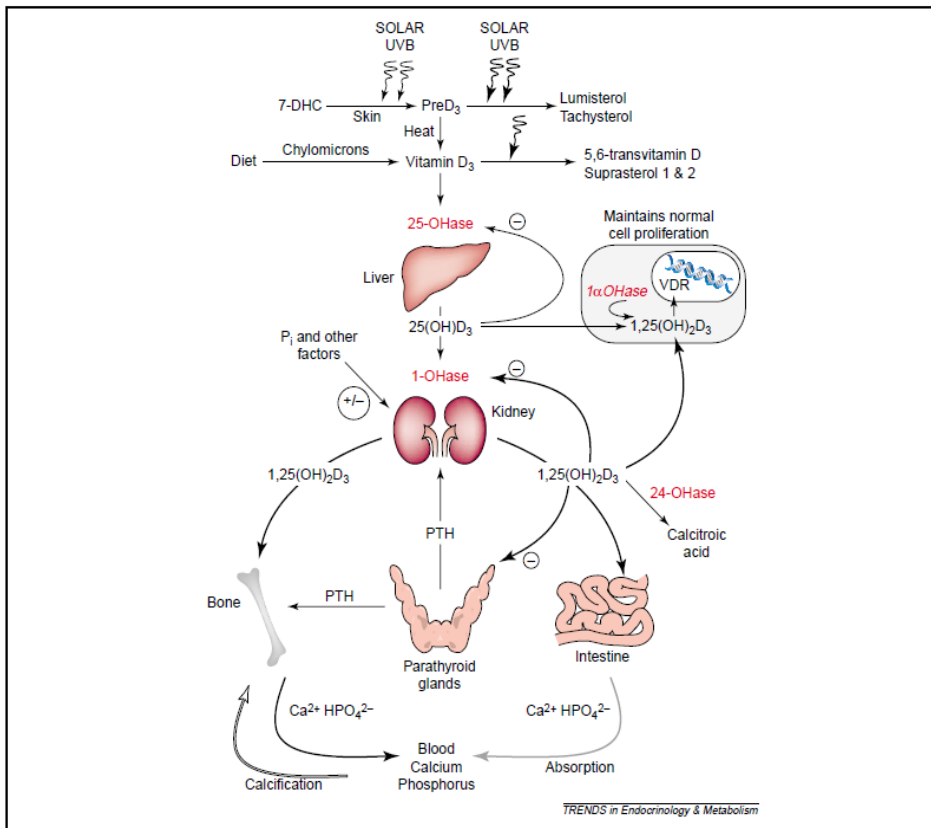
Dit fenomeen van homing van tumorcellen naar het bot is een zeer complex en multifactorieel gebeuren (15). Het bot vormt een unieke niche voor tumorcellen door nabijheid van hematopoëtische stamcellen in het beenmerg (15). De toegenomen botresorptie bij borstkankerpatiënten leidt tot verhoging van chemotactische, adhesieve en neo-angiogenetische factoren in de micro-omgeving van het bot, die hematopoëtische stamcellen uit het beenmerg mobiliseren en tumorcellen aantrekken. De aanwezigheid en activiteit van deze stamcellen bevordert op zijn beurt ook rekrutering en overleving van tumorcellen (2, 5, 6, 14, 15). Sommige borsttumoren brengen RANK tot expressie, wat ook meespeelt bij de homing naar het bot (zie figuur 2) (15).

De vrijzetting van calcium en groeifactoren uit de botmatrix bij botresorptie bevordert echter niet alleen de homing van tumorcellen, maar stimuleert ook celproliferatie (14). De secundaire hyperparathyreoïdie bij vitamine D tekort prikkelt tumorcellen ook door gelijkenis van het

parathormoon met de groeifactor parathyroïd related peptide (PTHrP) (6). De meeste type borstkankercellen hebben bovendien een calcium sensing receptor (CaSR) en kunnen bij laag vitamine D ook PTHrP secreteren (14). Vermoedelijk wordt deze CaSR echter ook geactiveerd door een hoog calcium bij botresorptie, waardoor er een 'auto-loop' ontstaat met extra secretie van PTHrP.

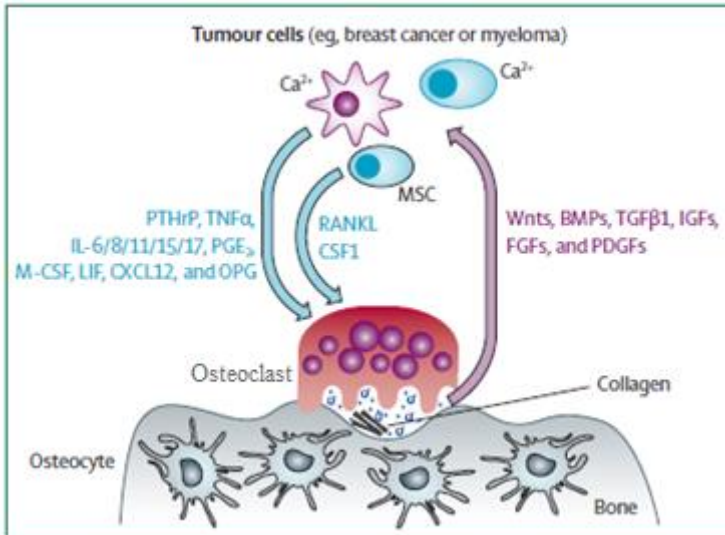
De toegenomen resorptie bevordert dus de homing en proliferatie van tumorcellen in het bot en er ontstaat een vicieuze cirkel, aangezien de tumorcellen osteoclasten aanzetten tot verdere resorptie via RANK, interleukines... (zie figuur 2) (15).

In deze masterproef werd getracht om verder te onderzoeken wat de mogelijke rol van vitamine D in het ontstaan en de prognose van borstkanker kan zijn, en in welke mate er in de praktijk aandacht is hiervoor.



Figuur 1: Vitamine D metabolisme (16)

Legende: De belangrijkste bron van vitamine D is de endogene synthese van vitamine D<sub>3</sub> uit 7-dehydrocholesterol in de huid door blootstelling aan UVB-stralen in zonlicht; het is slechts in beperkte mate aanwezig in onze voeding als ergocalciferol (vitamine D<sub>2</sub>), bijvoorbeeld in paddenstoelen, en cholecalciferol (vitamine D<sub>3</sub>), bijvoorbeeld in vette vissoorten. In de lever wordt het aangemaakte of opgenomen vitamine D gehydroxyleerd tot 25-hydroxyvitamine D [25 (OH) vitamine D] of calcidiol. Dit is het prohormoon met het langste halfleven en wordt doorgaans beschouwd als de beste indicator van de hoeveelheid vitamine D in het lichaam. In de nier ondergaat het een tweede hydroxylatie tot het actieve 1,25 -dihydroxyvitamine D [1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamine D], of calcitriol. Dit is werkzaam via binding aan een intracellulaire vitamine D receptor (VDR). Deze vormt een complex met de retinoid receptor (RXR) en fungeert also als ligand-geactiveerde transcriptiefactor (3). Vitamine D verhoogt zo de intestinale absorptie van calcium en fosfaat, en terugresorptie van calcium en fosfaat uit de distale tubuli van het nefron. Wanneer de calciumspiegels hiermee onvoldoende worden verhoogd, dan wordt RANK-ligand productie door osteoblasten gestimuleerd. De RANK-ligand interageert met RANK (Receptor Activator of Nuclear Factor κβ) op osteoclasten, waardoor er botresorptie ontstaat. Deze botresorptie, door stijging van het parathormoon (PTH) bij vitamine D tekort, wordt secundaire hyperparathyreoïdie genoemd (14). De 1α- hydroxylering en productie van actief vitamine D, vindt echter niet alleen plaats in de nier, maar ook in vele, zo niet alle, extra-renale weefsels. Deze lokale aanmaak heeft vooral para- en autocriene effecten in de desbetreffende organen: via binding aan de vitamine D receptor (VDR) gebeurt transcriptie van een hele reeks proteïnen met uiteenlopende functies. Op deze wijze zou vitamine D bijvoorbeeld een rol kunnen spelen in de celdifferentiatie, apoptose, inflammatie... (3).



Figuur 2: Viciuze cirkel bij botmetastasen (15).

Legende: Botresorptie zorgt voor vrijkomen van groeifactoren en calcium die de homing, proliferatie en overleving van tumorcellen in het bot onderhouden. Borstkankercellen stimuleren op hun beurt de osteoclasten tot verdere resorptie, waardoor er een viciuze cirkel ontstaat. De activatie van de osteoclasten door de tumorcellen gebeurt zowel rechtstreeks via cytokines, en onrechtstreeks via RANK (Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa$ B). Sommige tumorcellen brengen namelijk RANK tot expressie. Dit bevordert de homing van deze cellen naar het bot, aangezien daar osteoblasten aanwezig zijn die instaan voor productie van RANK-ligand. De tumorcellen stimuleren door expressie van RANK de osteoblasten tot extra productie van RANK-ligand. Deze RANK-ligand bindt aan RANK op de osteoclasten, en door deze interactie ontstaat er opnieuw een toegenomen botresorptie.

## **2 Doelstellingen**

Gezien het potentieel belang van vitamine D, zoals aangehaald in de introductie, werden er vier onderzoeksvragen geformuleerd.

**1** Hoe frequent werd de serum 25 (OH) vitamine D concentratie anno 2012 gemeten in de borstkliniek van het UZA?

**2** Wat is de prevalentie van vitamine D deficiëntie bij patiënten met borstkanker en vrouwen zonder oncologische voorgeschiedenis?

**3** Ligt de mediane serum 25 (OH) vitamine D concentratie lager bij patiënten met een mammacarcinoom dan bij vrouwen zonder oncologische voorgeschiedenis?

**4** Kan de serum 25 (OH) vitamine D waarde gecorreleerd worden met prognostische factoren van het mammacarcinoom?

### **3 Materiaal en methoden – Statistiek**

#### **3.1 Materiaal en methoden**

De masterproef omvat zowel een retrospectief deel (onderzoeksvraag 1), een case-control gedeelte (onderzoeksvragen 2 en 3), en een prognostisch gedeelte (onderzoeksvraag 4). Het studieprotocol werd goedgekeurd door het ethisch comité van het Universitair Ziekenhuis Antwerpen (UZA) (registratienummer B3002013169400).

Voor het eerste deel van het onderzoek (onderzoeksvraag 1) is retrospectief gekeken in de databank van de borstkliniek van 2012. In een steekproef van borstkankerpatiënten is nagegaan bij hoeveel procent op moment van diagnose of ooit in het verloop van het ziekteproces de serum 25 (OH) vitamine D concentratie bepaald is geweest. Met het programma PASS werd berekend dat er minstens 62 patiënten geïncludeerd moesten worden om de geschatte frequentie van vitamine D bepaling – in dit geval geschat op 20% - met een precisie van 20% te schatten. De precisie werd gedefinieerd als de volledige breedte van het 95% confidentie-interval.

Voor het case-control deel (onderzoeksvragen 2 en 3) werden de 25 (OH) vitamine D waarden van 144 borstkankerpatiënten en 144 controlepatiënten vergeleken. De poweranalyse werd gedaan met het programma G power voor onderzoeksvraag drie op basis van de Mann-Whitney U test en een geschatte mediane 25 (OH) vitamine D waarde van 15 ng/ml in de controlegroep en 10 ng/ml in de borstkankergroep met een standaarddeviatie van 10. Dit toonde dat er in het totaal 140 patiënten geïncludeerd moesten worden opdat een power van 80% behaald zou worden met een significantieniveau van 5% en een effectgrootte van 0.5. Alle patiënten werden gerekruteerd in het UZA tijdens consultaties in juli, augustus en september 2013 en februari 2014. De patiënten met borstkanker werden gerekruteerd op de raadplegingen gynaecologische oncologie en senologie; de controlegroep, bestaande uit patiënten zonder oncologische voorgeschiedenis, op de raadpleging gynaecologie. Alle vrouwen moesten ouder zijn dan 18 jaar. De overige patiënt karakteristieken staan

vermeld in tabel 1. Het was door de beperkte studietijd niet mogelijk om voor matching van karakteristieken tussen beide groepen te zorgen.

De vrouwen kregen allemaal mondelinge toelichting en een informatiebrochure over de studie (zie bijlage 3). Ze ondertekenden een informed consent voor toestemming tot inzage in hun dossier en - indien dit nog niet eerder gebeurd was - een bloedafname ter bepaling van het 25 (OH) vitamine D.

Voor het prognostisch deel (de vierde onderzoeksvraag), werd cross-sectioneel gekeken naar de correlatie van de serum 25 (OH) vitamine D concentratie met een aantal prognostische factoren op moment van diagnose. Aangezien het onderzoek maar een relatief korte periode omvatte, was het immers niet mogelijk om overleving als primaire uitkomstmaat te beschouwen. Het tumorstadium op ogenblik van diagnose werd gekozen als primair eindpunt; de secundaire eindpunten zijn het aantal betrokken lymfenoedi bij diagnose (N stadium), de differentiatiegraad van de tumor, overexpressie van de oestrogeen receptor (ER), overexpressie van de progesteron receptor (PR), de expressie van Human Epidermal growth factor Receptor 2 (HER(2)/neu), het type tumor (ductaal of lobulair), de proliferatie marker Ki 67, metastasen bij diagnose (M stadium), het optreden van botmetastasen (tot juli 2014), de botdichtheid (bone mineral density BMD), en het doormaken van infecties een jaar volgend op de vitamine D bepaling (tot juli 2014). Voor meer informatie over de TNM stadiëring van het mammacarcinoom, verwijzen we naar bijlage 4. De poweranalyse werd uitgevoerd met het programma G power aan de hand van de Mann-Whitney U test en het geschatte voorkomen van tumorstadia bij diagnose in de borstkankerpopulatie (geschatte verhouding stadium I/II-IV: 40/60%). Dit toonde aan dat er 140 patiënten nodig waren om tot een power van 80% te komen met een significantieniveau van 5% en een effectgrootte van 0.5. Het gaat om dezelfde vrouwen die ook deelnamen aan het case-control deel van de masterproef. Ze kregen een andere brochure dan de vrouwen uit de controlegroep, waarin ook informatie stond over dit deel van het onderzoek (zie bijlage 3).

Er werd bij het zoeken naar correlaties rekening gehouden met bias door de seizoensvariatie van de vitamine D concentratie (aangezien het niet mogelijk was om de bloedafname voor elke patiënt in hetzelfde seizoen uit te voeren), inname van vitamine D supplementen (indien gestart voor de bloedafname), body mass index (en invloed hiervan op de vitamine D concentratie), en leeftijd op moment van diagnose. Het optreden van botmetastasen werd bijkomend gecorrigeerd voor botdichtheid. Infectie werd gedefinieerd als een gedocumenteerde infectie in het patiëntendossier, het gelijktijdig optreden van leukocytose ( $> 10 \times 10^9/l$ ) en een CRP gehalte  $> 10 \text{ mg/l}$  of het gelijktijdig optreden van leukopenie ( $< 4 \times 10^9/l$ ) en een CRP gehalte  $> 10 \text{ mg/l}$ .

### **3.2 Statistische benadering**

Voor de eerste onderzoeksvraag werd het percentage patiënten bepaald waarbij het serum 25 (OH) vitamine D gemeten is geweest.

Voor de tweede onderzoeksvraag werd naar de prevalentie van verschillende gradaties van vitamine D deficiëntie gekeken. Voor de derde onderzoeksvraag werd de mediane serum 25 (OH) vitamine D concentratie van de case- en controlepopulatie vergeleken met de Mann-Whitney U test. Er werd nagekeken aan hoeveel patiënten vitamine D supplementen voorgeschreven werden. De Mann-Whitney U test werd nogmaals uitgevoerd na exclusie van de patiënten bij wie vitamine D supplementatie opgestart was voor het moment van bloedafname.

Voor de vierde onderzoeksvraag werd er voor ieder eindpunt afzonderlijk (behalve Ki 67 en botdichtheid) een logistische regressie uitgevoerd met vitamine D als onafhankelijke variabele en de prognostische factor als afhankelijke variabele. Voor het tumorstadium (I-IV), de differentiatiegraad (goed/matig/slecht), nodale status (N0-NIII) en aantal botmetastasen (0/1-4/ $\geq 5$ ), werd er ook een multinomiale en een ordinale regressie uitgevoerd, maar er bleek onvoldoende power te zijn. De analyse bleef dus beperkt tot een binaire logistische regressie (stadium I tov stadium II-IV;



differentiatiegraad goed tov matig en slecht; N0 tov N1-N3; botmetastasen aanwezig of niet). De correlatie tussen vitamine D en Ki 67 werd onderzocht met Spearman. Er werd een lineaire regressie voor botdichtheid uitgevoerd. Met de Mann-Whitney U test werden de vitamine D waarden van de subgroep triple negatieve tumoren vergeleken met deze van de subgroep tumoren die ER + en/of PR + en/of HER(2)/neu + waren.

De analyses werden eerst uitgevoerd in een univariabel model met alleen vitamine D als onafhankelijke variabele. Deze regressie werd bovendien meerdere malen uitgevoerd; zowel met vitamine D als continue covariaat, met vitamine D in een cut off (< of  $\geq$  aan 30 ng/mL) en met vitamine D als categorische variabele ( $\leq 10$  ng/mL; 10- 20 ng/mL; 20-30 ng/mL; of  $\geq 30$  ng/mL).

Vervolgens werden correcties uitgevoerd voor leeftijd op moment van diagnose, seizoen van bloedafname, body mass index en supplementatie. Voor het optreden van botmetastasen werd er bijkomend een correctie voor de botdichtheid uitgevoerd. Er werd ook getracht om te kijken naar het effect van verschillende vormen van antihormonale therapie op de botdensiteit, maar er bleken onvoldoende patiënten te zijn in onze studie om dit te kunnen onderzoeken. Gezien de beperkte studiepopulatie en studietijd, was het eveneens niet mogelijk om rekening te houden met de invloed van chemotherapie op het al dan niet doormaken van infecties.

Er werd telkens eerst een model gemaakt om voor elke factor afzonderlijk te corrigeren. Nadien werden deze correcties stapsgewijs aan het model toegevoegd, en tenslotte werd er gecorrigeerd voor alle factoren tesamen. In de laatste stap werd ook de interactie tussen vitamine D en BMI in het model opgenomen. De invloed van leeftijd en BMI op de eindpunten werden ook afzonderlijk getest. De correlatie tussen vitamine D en BMI, en tussen vitamine D en leeftijd bij diagnose werden onderzocht met Spearman. Om de invloed van het seizoen van bloedafname op de vitamine D concentratie na te gaan, werd er een Kruskal Wallis toets uitgevoerd. Alle analyses werden nogmaals

uitgevoerd na exclusie van patiënten die supplementen hadden ingenomen voor de bloedafname. Met de Mann-Whitney U test werden de vitamine D waarden in de subgroep van patiënten die vitamine D supplementen voor de bloedafname hadden genomen, vergeleken met deze van de vrouwen die geen supplementen hadden genomen, of hier pas later mee waren gestart. Alle statistische analyses werden gedaan met het programma SPSS versie 22.

## **4 Resultaten**

### **4.1 Eerste onderzoeksvraag: Retrospectief deel**

We stelden vast dat de serum 25 (OH) vitamine D concentratie in 2012 niet zo frequent werd bepaald in de borstkliniek. Slechts bij 8 van de 63 patiënten (12.7%) uit onze steekproef werd vitamine D gemeten op moment van diagnose. In het totaal werd de vitamine bij 20 patiënten (31.7%) ten minste één keer gemeten, ofwel bij diagnose, ofwel in het latere verloop van de ziekte.

### **4.2 Tweede en derde onderzoeksvraag: Case-control deel**

De resultaten staan in tabel 1. In de borstkankerpopulatie bedroeg de mediane serum 25 (OH) vitamine D waarde 20 ng/ml (min. 4 ng/ml – max. 61 ng/ml) en was er bij 86% sprake van deficiëntie (serum 25 (OH) vitamine D < 30 ng/ml), terwijl de mediaan in de controlepopulatie 15 ng/ml (min. 4 ng/ml –max. 51 ng/ml) was en 91% een deficiënt vitamine D gehalte had. De Mann-Whitney U test toonde aan dat deze mediane vitamine D waarden significant verschillend waren in de twee groepen (p 0.000027). De borstkankerpopulatie was globaal ouder (mediaan 54 jaar (min. 27 jaar - max. 89 jaar)) dan de controlepopulatie (mediaan 32 jaar (min. 19 jaar – max. 68 jaar)). Van de borstkankergroep nam 45% vitamine D supplementen; in de controlegroep was dit 2%. Het verschil in 25 (OH) vitamine D concentratie was nog steeds significant (p 0.000054) na uitvoeren van de analyse zonder de 10 borstkankerpatiënten en 3 controlepersonen bij wie de supplementatie opgestart was voor het moment van bloedafname.

### **4.3 Vierde onderzoeksvraag: Prognostisch deel**

Vitamine D bleek niet normaal verdeeld te zijn, BMD wel (respectievelijk vitamine D p 0.0003, BMD lumbale wervelzuil p 0.318, BMD femur p 0.078 Shapiro Wilk). Er was een significant negatief verband tussen BMI en serum 25 (OH) vitamine D waarde (p 0.001 en correlatiecoëfficiënt Spearman -0.299) (zie figuur 3). De Kruskal Wallis toets toonde dat de mediane serum 25 (OH) vitamine D waarde inderdaad significant verschillend was naargelang het seizoen waarop de bloedafname

gebeurd was (Chi kwadraat 8.111(3) p 0.044) (figuur 4). Een diagnose op latere leeftijd bleek ook significant geassocieerd te zijn met een lagere vitamine D concentratie (p 0.03 correlatiecoëfficiënt Spearman -0.181). De vitamine D concentratie verschilde niet significant tussen de borstkankersubgroep die wel supplementen innam (voor de bloedafname) en de borstkankersubgroep die geen supplementen innam (p 0.240). De zojuist vermelde correlaties hielden stand na exclusie van de tien patiënten die supplementen hadden ingenomen voor de bloedafname.

Het primaire eindpunt van de vierde onderzoeksvraag van deze masterproef was het tumorstadium. Op ogenblik van diagnose bevonden 27.8% van de vrouwen zich in stadium I; 40.3% in stadium II; 20.1% in stadium III; en 11.8% in stadium IV (tabel 2). Wanneer er gecorrigeerd werd voor leeftijd op moment van diagnose, seizoen van bloedafname en verschillen in body mass index, maar de interactie tussen BMI en vitamine D niet werd beschouwd, dan kon er geen significant verband tussen het tumorstadium bij diagnose (stadium I tov stadium II-IV) en de serum 25 (OH) vitamine D waarde aangetoond worden (p 0.975 OR 0.999 CI [0.958;1.042]). Opvallend is dat zodra de interactie tussen vitamine D en BMI aan het model werd toegevoegd, de serumconcentratie van vitamine D wél een significante omgekeerde correlatie vertoonde met het tumorstadium (p 0.012 OR 0.712 CI [0.548; 0.927]): voor eenzelfde BMI, leeftijd en seizoen van bloedafname, was een lager serum 25 (OH) vitamine D geassocieerd met een verder gevorderd tumorstadium bij diagnose. Dit negatief verband was bovendien significant minder sterk naarmate de BMI hoger was: hoe hoger de BMI, hoe minder sterk we lage vitamine D spiegels konden associëren met een hoger tumorstadium; hoe lager de BMI, hoe meer uitgesproken het negatieve effect van een laag vitamine D (p 0.012 OR 1.014 CI [1.003; 1.025]). De BMI op zichzelf, evenals de leeftijd op ogenblik van diagnose hadden geen invloed op het tumorstadium (respectievelijk p 0.112 OR 0.855 CI [0.705; 1.037] en (p 0.927 OR 1.002 CI [0.970; 1.034])). Na het weglaten van de 10 patiënten die supplementen ingenomen hadden, kon ook de BMI, net zoals vitamine D, significant negatief gecorreleerd worden met het tumorstadium

(respectievelijk  $p$  0.043 OR 0.804 CI [0.651; 0.993];  $p$  0.004 OR 0.645 CI [0.479; 0.869]): voor eenzelfde vitamine D, leeftijd en seizoen van bloedafname, was ook een lagere BMI geassocieerd met een verder gevorderd tumorstadium bij diagnose. De associatie van vitamine D en BMI met het tumorstadium werd bovendien significant minder sterk naarmate de andere factor (BMI of vitamine D) hoger was ( $p$  0.005 OR 1.017 CI [1.005; 1.029]) (zie tabel 3).

Op ogenblik van diagnose was het N stadium 0, 1, 2 en 3 bij respectievelijk 48.9% ; 31.6% ; 9.8% ; en 9.7% van de populatie. Zoals bij het vorige eindpunt, was de associatie tussen de serum vitamine D waarde en de lymfenodi niet significant na correctie voor leeftijd, seizoen en BMI ( $p$  0.791 OR 1.005 CI [0.967; 1.046]), maar werd er wel een significante inverse correlatie gezien na in rekening brengen van de interactie tussen BMI en vitamine D ( $p$  0.008 OR 0.687 CI [0.520; 0.908]). Na correctie bleek een lager vitamine D dus gepaard te gaan met een hoger N stadium bij diagnose. Wederom werd deze correlatie minder sterk naarmate de BMI hoger was ( $p$  0.007 OR 1.015 CI [1.004; 1.027]). De BMI bleek ook een significante invloed te hebben op het aantal ingenomen lymfenodi ( $p$  0.049 OR 0.811 CI [0.658;0.999]), maar eveneens zoals vitamine D alleen in het model waar de interactie tussen vitamine D en BMI werd beschouwd. Een lagere BMI ging gepaard met meer aangetaste lymfenodi bij diagnose. De leeftijd bij diagnose was niet geassocieerd met het N stadium ( $p$  0.164 OR 0.977 CI [0.946; 1.009]). Na het weglaten van de tien patiënten die vitamine D supplementen ingenomen hadden, bleef vitamine D en de interactie met de BMI significant (respectievelijk  $p$  0.036 OR 0.736 CI [0.553; 0.980];  $p$  0.024 OR 1.013 CI [1.002; 1.024]), maar werd het effect van BMI niet-significant ( $p$  0.113 OR 0.844 CI [0.684; 1.041]).

Bij 26.6% van de onderzochte vrouwen was de tumor goed gedifferentieerd, bij 40.3% was de differentiatiegraad matig, en bij 33.1% slecht. Er kon geen significant verband gevonden worden met de vitamine D status, ook niet na correctie voor leeftijd, BMI, seizoen, interactie tussen BMI en vitamine D en innemen van supplementen ( $p$  0.425 OR 0.881, CI [0.646; 1.202]). Ook leeftijd en BMI

bleken niet significant geassocieerd te zijn met de differentiatiegraad (p 0.306 OR 1.020 CI [0.982; 1.061]; p 0.770 OR 0.968 CI [0.779; 1.203]).

In de onderzochte borstkankerpopulatie waren 80.4% van de tumoren ER positief en 60.7% PR positief. HER(2)/neu overexpressie werd bij 25.7% van patiënten gezien. Er waren 14 (0.097%) triple negatieve tumoren (i.e. ER-, PR- en HER(2)/neu-). Zowel de overexpressie van ER, PR en HER(2)/neu toonden geen significant verband met de 25 (OH) vitamine D status, ook niet na correctie voor leeftijd, BMI, seizoen, interactie tussen BMI en vitamine D, en inname van supplementen (respectievelijk voor ER p 0.452 OR 0.96 CI [0.685; 1.184]; voor PR p 0.730 OR 1.045, CI[0.813; 1.343]; voor HER(2)/neu p 0.339 OR 0.845 CI [0.599; 1.193]). Ook de leeftijd op ogenblik van diagnose en de BMI waren niet significant geassocieerd met de ER en PR-receptorstatus en HER(2)/neu overexpressie (respectievelijk voor leeftijd: ER p 0.820 OR 0.996 CI [0.960; 1.032]; PR p 0.156 OR 0.977 CI [0.947; 1.009]; HER(2)/neu p 0.417 OR 0.985 CI [0.950; 1.022]; voor BMI: ER p 0.216 OR 0.881 CI [0.721; 1.077]; PR p 0.985 OR 1.002 CI [0.830; 1.208]; HER(2)/neu p 0.149 OR 0.800 CI [0.591; 1.083]). De vitamine D concentratie van de subgroep met triple negatieve tumoren was niet significant verschillend ten opzichte van deze van de subgroep tumoren die ER + en/of PR + en/of HER(2)/neu + waren (p 0.266).

Ki 67 bleek niet significant geassocieerd te zijn met de serum vitamine D concentratie (p 0.618 correlatiecoëfficiënt Spearman -0.73).

Van de vrouwen die deelnamen aan het onderzoek, hadden 83.3 % een ductaal carcinoom, en 16.7% een lobulair carcinoom. Er kon geen significant verband worden aangetoond tussen de vitamine D waarden en het soort carcinoom, ook niet na het doorvoeren van hoger vermelde correcties (p 0.380 OR 1.219 CI [0.784; 1.894]). In alle modellen, ook na uitvoeren van alle correcties, bleef leeftijd significant geassocieerd met het type carcinoom (p 0.014 OR 0.943 CI [0.899; 0.988]): een ductaal

carcinoom komt significant vaker voor op jongere leeftijd; een lobulair carcinoom vaker op oudere leeftijd. Het type carcinoom leek geen significante correlatie te vertonen met de BMI (p 0.275 OR 1.233 CI [0.846; 1.798]).

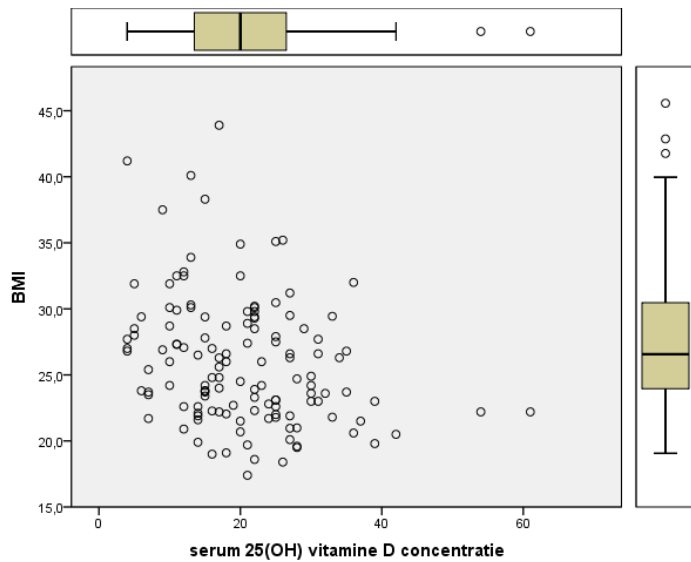
Op moment van diagnose hadden 11.8 % van de patiënten metastasen. 12.8% vertoonde minstens één botmetastase voor juli 2014. Er kon voor beide factoren geen significant verband met de vitamine D status worden aangetoond, ook niet na correctie voor de factoren BMI, interactie tussen vitamine D en BMI, leeftijd bij diagnose, het seizoen van bloedafname en supplementatie (respectievelijk voor metastasen p 0.607 OR 0.897 CI [0.592; 1.358]; voor botmetastasen p 0.399 OR 0.832 CI [0.542; 1.277]). Ook na het doorvoeren van een aanvullende correctie voor botdensiteit (BMD a LWZ, b femur) kon het optreden van botmetastasen niet significant gecorreleerd worden met de serum 25 (OH) vitamine D concentratie (a p 0.786 OR 0.779 CI [0.128; 4.739]; b p 0.883 OR 1.147 CI [0.185; 7.128]). Een significante associatie tussen BMI en botmetastasen en BMD en botmetastasen bleef eveneens uit (respectievelijk a p 0.995 OR 0.996 CI [0.293; 3.385]; p 0.588 OR 0.625 CI [0.116; 3.399] en b p 0.525 OR 1.662 CI [0.347; 7.954]; p 0.292 OR 0.078 CI [0.001; 9.010]). De leeftijd op ogenblik van diagnose en de BMI bleken niet significant geassocieerd te zijn met het M stadium bij diagnose (p 0.275 OR 0.973 CI [0.927; 1.022]); p 0.784 OR 0.958 CI [0.703; 1.304]).

Bij 68 patiënten (47%) werd een DEXA (Dual-energy X-ray absorptiometry) meting gedaan. Van de 89 patiënten die een antihormonale therapie kregen met mogelijke repercussies op de botgezondheid, zijn er 32 (36%) bij wie geen botdichtheidsmeting gebeurd is. Tussen BMD en de serum 25 (OH) vitamine D concentratie was er geen significant verband, ook niet na correctie voor BMI, interactie tussen vitamine D en BMI, leeftijd bij diagnose, het seizoen van bloedafname en het gebruik van vitamine D supplementen (a p 0.156 B -0.187 CI [-0.447; 0.074]; b p 0.892 B 0.011 CI [-0.153; 0.175]). Leeftijd bij diagnose zou wel significant gecorreleerd zijn aan BMD (a p 0.021 B -0.030 CI [-0.056; -0.005]; b p 0.00002 B -0.044 CI [-0.060; -0.028]): op oudere leeftijd was de BMD significant lager. De

correlatie tussen BMI en BMD was niet significant (a  $p = 0.353$  B  $-0.086$  CI  $[-0.269; 0.098]$ ; b  $p = 0.461$  B  $0.043$  CI  $[-0.073; 0.158]$ ).

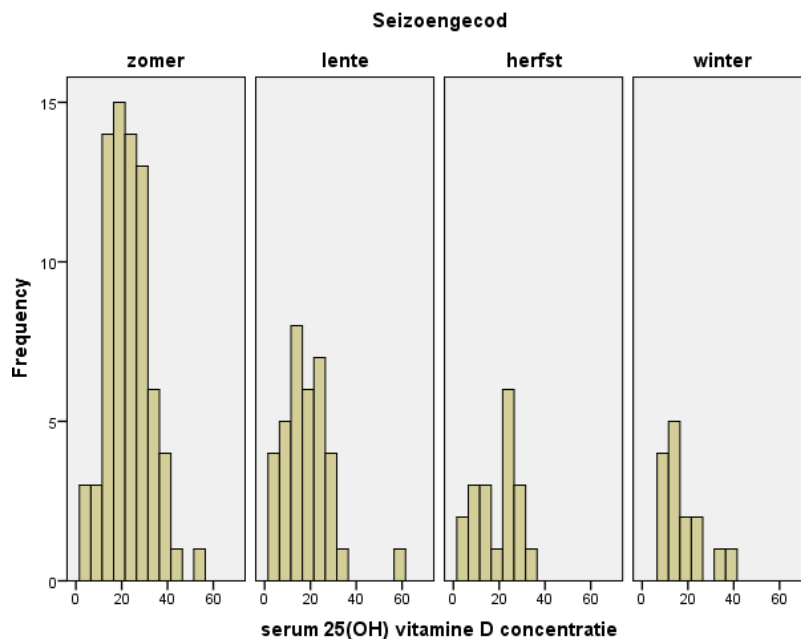
49.2% van de patiënten maakte minstens één infectieuze episode door in de periode tussen het vaststellen van de diagnose en juli 2014. Een verband met het serum 25 (OH) vitamine D kon niet aangetoond worden na correctie voor seizoen van bloedafname, leeftijd bij diagnose, BMI, interactie tussen vitamine D en BMI, en supplementen ( $p = 0.075$  OR  $0.789$  CI  $[0.607; 1.024]$ ).





Figuur 3: Correlatie BMI en serum 25(OH) vitamine D in de borstkankerpopulatie

Er is een significante omgekeerde correlatie tussen vitamine D en BMI: naarmate de BMI van de vrouwen hoger was, was de serum 25 (OH) vitamine D concentratie significant lager, en andersom.



Figuur 4: Seizoensvariatie van vitamine D in de borstkankerpopulatie

Verdeling bloedafnames: Zomer (51.4%) – Lente (25%) – Herfst (13.2%) - Winter (10.4%)

De mediane vitamine D concentratie was significant verschillend naargelang het seizoen.

Tabel 1: Karakteristieken Case- en controlepopulatie

Karakteristieken	Borstkankerpatiënten	Controlepatiënten
<b>25 (OH) D gemiddelde</b>	20.61 ng/ml	16.19 ng/ml
<b>25 (OH) D mediaan</b>	20 ng/ml	15 ng/ml
<b>25 (OH) D min</b>	4 ng/ml	4 ng/ml
<b>25 (OH) D max</b>	61 ng/ml	51 ng/ml
	<b>Aantal patiënten (%)</b>	<b>Aantal patiënten (%)</b>
<b>Categorie 25 (OH)D</b>		
<b>≤10 ng/ml</b>	20 (13.9%)	39 (27.1%)
<b>11-20 ng/ml</b>	54 ( 37.5%)	71 ( 49.3%)
<b>≤ 20 ng/ml</b>	74 (51.4%)	110 (76.4%)
<b>21-30 ng/ml</b>	50 (34.7%)	21 (14.6%)
<b>&gt;30 ng/ml</b>	20 (13.9%)	13 (9%)
<b>Leeftijd gemiddelde</b>	55.22 jaar	34.15 jaar
<b>Leeftijd mediaan</b>	54 jaar	32 jaar
<b>Leeftijd min</b>	27 jaar	19 jaar
<b>Leeftijd max</b>	89 jaar	68 jaar
<b>Categorie leeftijd</b>		
<b>&lt;40 jaar</b>	11(7.6%)	115 (79.9%)
<b>40-60 jaar</b>	88 (61.1%)	23 (16%)
<b>&gt;60 jaar</b>	45 (31.3%)	6 (4.1%)
<b>Vitamine D Supplementen</b>		
<b>- Totaal</b>	65 (45%)	3 (2%)
<b>- Voor bloedafname</b>	10 (6.9%)	3 (2%)
<b>Seizoen van bloedafname</b>		
<b>Winter</b>	15 (10.4%)	68 (47.2%)
<b>Lente</b>	36 (25%)	12 (8.3%)
<b>Zomer</b>	74 (51.4%)	31 (21.5%)
<b>Herfst</b>	19 (13.2%)	33 (23%)
<b>Zwangerschap</b>	0 (0%)	92 (63.88%)

**Tabel 2: Tumorkarakteristieken van de onderzochte borstkankerpopulatie**

<b>Tumorstadium</b>	Stadium I	27.8%
	Stadium II	40.3%
	Stadium III	20.1%
	Stadium IV	11.8%
<b>Nodale status</b>	N0	48.9%
	N1	31.6%
	N2	9.8%
	N3	9.7%
<b>Differentiatiegraad</b>	Goed	26.6%
	Matig	40.3%
	Slecht	33.1%
<b>ER receptorstatus</b>	Positief	80.4%
<b>PR receptorstatus</b>	Positief	60.7%
<b>HER(2)/neu expressie</b>	Positief	25.7%
<b>Triple negatief</b>		0.097%
<b>Type carcinoom</b>	Ductaal/Lobulair	83.3%/16.7%
<b>Metastasen</b>		11.8%
<b>Botmetastasen</b>	Minstens 1	12.8%
<b>BMD</b>	DEXA gebeurd	47%
<b>Infecties</b>	Minstens 1	49.2%

Voor meer informatie omtrent de TNM stadiëring van het mammacarcinoom verwijzen we naar de bijlage. ER oestrogenreceptor. PR progesteron receptor. HER(2)/neu: Human epidermal growth factor Receptor. BMD bone mineral density.

Tabel 3: Correlatie tussen serum 25 (OH) vitamine D en prognostische factoren\*.

	Serum25(OH)vitamine D			BMI			BMI*vitamine D		
	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI	p	OR	95% CI
<b>Tumorstadium</b> <b>(Primair eindpunt)</b>	<b>0.004</b>	0.645	[0.479; 0.869]	<b>0.043</b>	0.804	[0.651; 0.993]	<b>0.005</b>	1.017	[1.005; 1.029]
<b>Nodale status</b>	<b>0.036</b>	0.736	[0.553; 0.980]	0.113	0.844	[0.684; 1.041]	<b>0.024</b>	1.013	[1.002; 1.024]
<b>Differentiatiegraad</b>	0.425	0.881	[0.646; 1.202]	0.770	0.968	[0.779; 1.203]	0.321	1.006	[0.994; 1.018]
<b>ER receptor status</b>	0.452	0.96	[0.685; 1.184]	0.216	0.881	[0.721; 1.077]	0.498	1.004	[0.993; 1.014]
<b>PR receptor status</b>	0.730	1.045	[0.813; 1.343]	0.985	1.002	[0.830; 1.208]	0.616	0.998	[0.988; 1.007]
<b>Expressie HER(2)</b>	0.339	0.845	[0.599; 1.193]	0.149	0.800	[0.591;1.083]	0.290	1.007	[0.994; 1.021]
<b>Type carcinoom</b>	0.380	1.219	[0.784; 1.894]	0.275	1.233	[0.846; 1.798]	0.338	0.992	[0.975; 1.009]
<b>Metastasen</b>	0.607	0.897	[0.592; 1.358]	0.784	0.958	[0.703; 1.304]	0.627	1.004	[0.988; 1.020]
<b>Botmetastasen a)</b>	0.786	0.779	[0.128; 4.739]	0.995	0.996	[0.293; 3.385]	0.833	1.008	[0.939; 1.082]
<b>b)</b>	0.883	1.147	[0.185; 7.128]	0.525	1.662	[0.347; 7.954]	0.805	0.991	[0.919; 1.068]
<b>Infecties</b>	0.075	0.789	[0.607; 1.024]	0.327	0.909	[0.751; 1.100]	0.066	1.009	[0.999; 1.019]
	<b>p</b>	<b>B</b>	<b>95% CI</b>	<b>p</b>	<b>B</b>	<b>95% CI</b>	<b>p</b>	<b>B</b>	<b>95% CI</b>
<b>BMD a) LWZ</b>	0.156	-0.187	[-0.447; 0.074]	0.353	-0.086	[-0.269; 0.098]	0.129	0.008	[-0.002; 0.017]
<b>b) femur</b>	0.892	0.011	[-0.153; 0.175]	0.461	0.043	[-0.073;0.158]	0.959	0.000	[-0.006; 0.006]

\*In deze tabel wordt de correlatie tussen de serum 25 (OH) vitamine D concentratie en de prognostische factoren weergegeven. Het model werd gecorrigeerd voor seizoen van bloedafname, leeftijd bij diagnose, BMI, interactie tussen BMI en vitamine D, en supplementatie. Het optreden van botmetastasen werd ook gecorrigeerd voor BMD (a LWZ, b femur).

Tabel 4: Invloed van leeftijd bij diagnose\*

	Leeftijd bij diagnose		
<b>Serum 25 (OH) Vitamine D</b>	p <b>0.03</b>	Spearman -0.181	
<b>Type carcinoom (lobulair/ductaal)</b>	p <b>0.014</b>	OR 0.943	95% CI [0.899; 0.988]
<b>BMD a)</b>	p <b>0.021</b>	B -0.030	95% CI [-0.056; -0.005]
<b>b)</b>	p <b>0.000002</b>	B -0.044	95% CI [-0.060; -0.028]

\* Gegevens werden gecorrigeerd voor seizoen van bloedafname, leeftijd bij diagnose, BMI, interactie tussen BMI en vitamine D, en supplementatie,

#### **4.4 Conclusie**

Ondanks het potentieel belang van vitamine D, wordt de serum 25 (OH) vitamine D concentratie niet frequent gemeten in de borstkliniek, en is er slechts aan ongeveer de helft van de borstkankerpatiënten een supplement voorgeschreven. Slechts bij 47% van deze vrouwen gebeurde er een DEXA meting. Zowel in de borstkanker – als in de controlegroep was de vitamine D spiegel gemiddeld laag en werden veel tekorten geobserveerd. De vitamine D waarden lagen significant hoger in de borstkankergroep dan in de controlegroep. Een lagere serum vitamine D concentratie was significant geassocieerd met een verder gevorderd tumorstadium bij diagnose, en een groter aantal aangetaste lymfenodi, wanneer gecorrigeerd werd voor BMI, de interactie tussen vitamine D en BMI, leeftijd bij diagnose, seizoen van bloedafname en supplementatie. De negatieve invloed van een laag vitamine D op deze twee prognostische factoren nam bovendien significant af naarmate de BMI van de vrouwen toenam. Voor de overige eindpunten konden geen significante correlaties met de vitamine D spiegel worden aangetoond.

## **5 Discussie**

### **5.1 Aandachtspunten**

Uit onze studie komen een aantal aandachtspunten voor de praktijk naar voor. Ondanks de wetenschap dat een deficiëntie vaak voorkomt in de algemene bevolking van ons land, blijkt dat vitamine D niet vaak gemeten wordt. Voor de tweede en derde onderzoeksvraag zijn er bijgevolg veel extra metingen uitgevoerd moeten worden. Bovendien is er slechts aan ongeveer de helft van de borstkankerpatiënten een supplement voorgeschreven. Opvallend is ook dat er bij 36% van de borstkankerpatiënten met antihormonale therapie (aromatase-inhibitoren, premenopauzale ovariële ablatie/salpingo oöforectomie, GnRH receptor agonist) geen DEXA meting is gebeurd. Dit is belangrijk gezien een lage BMD gepaard kan gaan met een hoger risico op fracturen en botmetastasen. Er is dus in de klinische praktijk meer aandacht nodig voor vitamine D meting, substitutie, en het nagaan van de repercussies van deficiënties op de botgezondheid.

### **5.2 Borstkankerrisico**

Onze resultaten bevestigen dat er veel vitamine D tekorten zijn. Ook in de controlegroep zien we een groot percentage met een laag vitamine D. Dit is een belangrijke observatie. Het gaat hier immers om jonge vrouwen (mediane leeftijd 32 jaar) die na vele jaren met vitamine D tekort uiteindelijk mogelijks een groter cumulatief risico vertonen op een mammacarcinoom, op osteoporose, op botmetastasen...

Aangezien een gebrek aan zonlicht en vitamine D in verband wordt gebracht met een hoger borstkankerrisico, lijkt het in eerste instantie dan ook verrassend dat de vitamine D waarden bij de borstkankergroep hoger zijn dan deze van de gezonde vrouwen. Een belangrijke beperking van onze studie was echter dat er door het korte tijdsbestek geen matching tussen beide groepen mogelijk was wat betreft karakteristieken zoals leeftijd, levensstijl, blootstelling aan zonlicht, voeding, BMI, comorbiditeiten... In de controlegroep was 63.88% van de vrouwen zwanger. Dit kan ook door

hemodilutie een lagere vitamine D spiegel geven. De borstkankerpatiënten waren gemiddeld ouder en vaker gepensioneerd. De hogere vitamine D waarden zouden bijgevolg mogelijks ook te wijten kunnen zijn aan een grotere blootstelling aan zonlicht en een actievere levensstijl. Op oudere leeftijd maakt de huid echter weer minder vitamine D aan (4). Bovendien zijn patiënten die chemotherapie gekregen hebben zeker in het eerste jaar meer zongevoelig, en dienen deze mensen overmatig zonlicht te vermijden (17). Het verschil in vitamine D gehalte zou echter ook kunnen wijzen op een grotere aandacht voor vitamine D substitutie bij de zieke populatie (45% in onze borstkankergroep). Er waren echter maar dertien patiënten (tien in de borstkankergroep; drie in de controlegroep) bij wie de substitutie voor het moment van bloedafname was gestart, en ook na exclusie van deze personen was het verschil in vitamine D nog steeds significant. Om te achterhalen of vitamine D deficiëntie een risicofactor is voor het ontwikkelen van een mammacarcinoom, zouden de vrouwen in de controlepopulatie in principe opgevolgd moeten worden.

### **5.3 Prognose**

De kenmerken van de borsttumoren, zoals weergegeven in tabel 2, liggen op een aantal uitzonderingen na in het verlengde van de epidemiologische resultaten van andere studies (18). We merken op dat het aantal triple negatieve tumoren eerder aan de lage kant is, dat het percentage vrouwen met stadium N0 iets lager ligt dan verwacht en dat de HER(2)/Neu expressie ook iets hoger is.

We vonden een inverse correlatie tussen de vitamine D status en het tumorstadium en de vitamine D status en het nodale stadium bij diagnose, enkel na correctie voor de BMI en de interactie tussen vitamine D en BMI. Voor eenzelfde BMI was een lager vitamine D geassocieerd met een verder gevorderd tumorstadium bij diagnose en een hoger N stadium. Deze resultaten zijn conform met andere studies (19, 20).

De correlaties werden bovendien significant minder sterk naarmate de BMI van de vrouwen hoger was. De betekenis van deze resultaten kunnen kaderen in wat er in de literatuur omtrent vitamine D, BMI, en borstkankerprognose wordt beschreven. Geweten is dat een hoge BMI gepaard gaat met een lagere serumconcentratie vitamine D omdat calcitriol een vetoplosbaar vitamine is. Er wordt eveneens geobserveerd dat een hoge BMI geassocieerd is met een slechte prognose. Bijgevolg wordt er gespeculeerd dat een deel van de toegenomen mortaliteit bij hoge BMI mogelijks terug te brengen is op een laag serum vitamine D, en ook andersom dat de invloed van vitamine D op de prognose mogelijks voor een groot deel enkel te wijten is aan het verschil in BMI (21). Verdere studies moeten dit nog meer verduidelijken. Het lijkt echter in eerste instantie complexer te zijn, aangezien vitamine D in het vetweefsel in de borst, ook paracrine anticarcinogene effecten zou kunnen hebben op de tumor, buiten de serumconcentratie om (2). Dit zou mogelijks ook een verklaring kunnen bieden voor onze bevindingen dat er enkel een significant verband met vitamine D is wanneer je corrigeert voor verschillen in BMI én tegelijkertijd ook rekening houdt met de interactie van vitamine D met de BMI. Lage serum concentraties zouden namelijk, zoals in de resultaten beschreven, mogelijks een grotere negatieve invloed hebben op de prognose bij personen met weinig vetweefsel en een lage BMI dan bij personen met een hoge BMI en veel vitamine D met anticarcinogene activiteiten in het vetweefsel rondom de tumor. Bovendien kan een te lage BMI ook door zijn effect op de botdensiteit een negatieve prognose in de hand werken (13).

Voor de overige eindpunten van onze vierde onderzoeksvraag konden geen significante correlaties met de vitamine D spiegel of BMI worden aangetoond. Dit kan mogelijks te wijten zijn aan een tekort aan power, of afwezigheid van correlatie met de vitamine D status. Voor het eindpunt botmetastasen onderzochten we bovendien enkel een correlatie tussen vitamine D en botmetastasen die voor juli 2014 opgetreden waren. Om het onderzoek voor dit eindpunt te vervolledigen, zouden we in principe de populatie een lange tijd moeten opvolgen, aangezien er



zoals in de introductie beschreven, een lange latente periode mogelijk is voor botmetastasen gediagnosticeerd worden.

De correlaties die we in de resultaten beschreven hebben, zeggen bovendien enkel indirect iets over de prognose, door beschrijving van kenmerken van de tumor op het moment van diagnose. Hieruit kan niet geconcludeerd worden of vitamine D op zich nog een onafhankelijke prognostische factor kan zijn, of enkel gecorreleerd kan worden met andere factoren zoals het tumorstadium en lymfenodi. Op basis hiervan is het bovendien ook niet te achterhalen of de correlatie causaal is. Lage spiegels zouden immers ook een gevolg kunnen zijn van de gevorderde tumor (14). Naar analogie hiervan, kan vitamine D deficiëntie ook een gevolg zijn van (en marker zijn voor) de chronische inflammatie bij vele aandoeningen, eerder dan bij te dragen aan de etiologie. Een gangbare hypothese stelt dat een chronische infectie met intracellulaire (cel wand deficiënte) bacteriën zorgt voor incompetentie van de vitamine D receptor (VDR). Hierdoor zou er een verstoring van de vitamine D gemedieerde immuunrespons optreden, met chronische infectie en inflammatie tot gevolg. In een poging een upregulatie van de VDR te krijgen, zou er een overproductie van 1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamine D, de ligand van de VDR, ontstaan in vele extra-renale weefsels, waardoor het serum 25 (OH) vitamine D verbruikt wordt. De lage 25 (OH) vitamine D concentraties zijn dan eerder het gevolg van en een marker voor deze infectie en inflammatie, dan een oorzaak (4).

#### **5.4 Toekomstperspectieven**

Wanneer we de resultaten van onze studie toetsen aan de literatuur, dan merken we op dat de meningen over de mogelijke rol van vitamine D in borstkanker nog steeds sterk verdeeld zijn. Verschillende klinische studies laten voorlopig uiteenlopende resultaten zien ten aanzien van vitamine D en borstkankerrisico en – prognose (zie tabel 5 in bijlage 1) (9, 19, 20, 22-58). Bovendien kunnen de resultaten niet zonder meer geëxtrapoleerd worden, aangezien vele studies een andere definitie van deficiëntie hanteren (9, 59). Op basis hiervan is er nog geen harde evidentie dat het

toedienen van supplementen kan bijdragen aan borstkankerpreventie, of de overleving van vrouwen met een mammacarcinoom daadwerkelijk kan verbeteren. Er is hiervoor meer onderzoek nodig, met follow-up van grote cohorten vrouwen met en zonder borstkanker, met verschillende categorieën van vitamine D spiegels, over een lange periode.

Daarnaast zijn er ook studies nodig om andere vragen te kunnen beantwoorden. De invloed van verschillende vitamine D receptor polymorfismen moet nog verder worden onderzocht. De effecten van vitamine D bij verschillende subtypen van tumoren moeten eveneens nog worden vergeleken. Het is momenteel nog niet duidelijk of we best de combinatie van een vitamine D en calcium supplement, of een vitamine D supplement alleen zouden toedienen, en wat de dosering zou moeten zijn. Bovendien is nog niet geweten naar welke serum 25 (OH) vitamine D concentratie gestreefd moet worden. In de studie van Goodwin et al werd er voor het optreden van metastasen en ziektevrije overleving geen bovengrens geconstateerd waarboven extra vitamine D geen voordeel meer zou bieden. Voor algemene overleving (niet alleen borstkankermortaliteit, maar ook globale mortaliteit door andere aandoeningen) was er in die studie wel een (weliswaar niet-significant) interval tussen 32 en 44 ng/ml (80 en 110 nmol/l) waarin de invloed van vitamine D optimaal leek. Er was mogelijk ook een minder goede prognose bij vrouwen met een hoger vitamine D. Een mogelijke verklaring voor de eventueel minder gunstige effecten van een hoger vitamine D op de borstkankermortaliteit, zou kunnen liggen in het feit dat een hogere vitamine D spiegel de aromatase activiteit kan stimuleren, met als gevolg een toename in oestrogeen concentratie, en een interferentie met antihormonale therapieën zoals aromatase inhibitoren (52). Het negatief effect van de toegenomen oestrogeenafhankelijke proliferatie staat anderzijds wel tegenover een minder lage botdensiteit bij hogere oestrogeen- en vitamine D concentraties, met verminderde homing van tumorcellen naar het bot (15). Preventie en behandeling van een lage botdichtheid (BMD) met calcium en vitamine D supplementen, bisfosfanaten, en de RANKL inhibitor denosumab, lijkt gunstig te zijn. Dit zou niet alleen fractures voorkomen, maar ook de microscopische ziekte in het bot

remmen, en het risico op botmetastasen en herval verminderen (13). Naar de toekomst toe zijn er dus nog meerdere longitudinale studies nodig met een lange follow-up om de endocrinologische en adjuvante therapie van het mammacarcinoom te optimaliseren.

## 6 Referenties

1. Palacios C, Gonzalez L. Is vitamin D deficiency a major global public health problem? *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;144(A):138-45.
2. Welsh J. Cellular and molecular effects of vitamin D on carcinogenesis. *Arch Biochem Biophys.* 2011;523(1):107-14.
3. Christakos S, Seth T, Wei R, Veldurthy V, Sun C, Kim KI, et al. Vitamin D and health: beyond bone. *MD Advis.* 2014;7(3):28-32.
4. Mangin M, Sinha R, Fincher K. Inflammation and vitamin D: the infection connection. *Inflamm Res.* 2014;63(10):803-19.
5. Shao T, Klein P, Grossbard ML. Vitamin D and breast cancer. *Oncologist.* 2012;17(1):36-45.
6. Buttigliero C, Monagheddu C, Petroni P, Saini A, Dogliotti L, Ciccone G, et al. Prognostic role of vitamin d status and efficacy of vitamin D supplementation in cancer patients: a systematic review. *Oncologist.* 2011;16(9):1215-27.
7. Krishnan AV, Feldman D. Mechanisms of the anti-cancer and anti-inflammatory actions of vitamin D. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2011;51:311-36.
8. Chen P, Hu P, Xie D, Qin Y, Wang F, Wang H. Meta-analysis of vitamin D, calcium and the prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2010;121(2):469-77.
9. Timmers M, Faouzi S, Odeur N, Huizing M T, Van Offel J, Altintas S, Tjalma W A A. Vitamine D en borstkanker. *Tijdschrift voor geneeskunde.* 2013;69(12):603-13.
10. Krishnan AV, Swami S, Feldman D. Vitamin D and breast cancer: inhibition of estrogen synthesis and signaling. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010;121(1-2):343-8.
11. Thill M, Reichert K, Woeste A, Polack S, Fischer D, Hoellen F, et al. Combined Treatment of Breast Cancer Cell Lines with Vitamin D and COX-2 Inhibitors. *Anticancer Res.* 2015;35(2):1189-95.
12. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians.* 2012;62(1):10-29.
13. Ruzs O, Kahán Z. Bone homeostasis and breast cancer: implications for complex therapy and the maintenance of bone integrity. *Pathol Oncol Res.* 2013;19(1):1-10.
14. Santini D, Pantano F, Vincenzi B, Tonini G, Bertoldo F. The role of bone microenvironment, vitamin D and calcium. *Recent Results Cancer Res.* 2012;192:33-64.
15. Hofbauer LC, Rachner TD, Coleman RE, Jakob F. Endocrine aspects of bone metastases. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014;2(6):500-12.
16. Chen TC, Holick MF. Vitamin D and prostate cancer prevention and treatment. *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14(9):423-30.
17. Holick MF. Vitamin D, sunlight and cancer connection. *Anticancer Agents Med Chem.* 2013;13(1):70-82.
18. Rick Alteri M, Cammie Barnes M, Adriane Burke M, Ted Gansler M, MPH, Susan Gapstur P, Mia Gaudet P, et al. Breast Cancer Facts & Figures 2013-2014. Atlanta, American Cancer Society, Inc. 2013.
19. Jacobs ET, Thomson CA, Flatt SW, Newman VA, Rock CL, Pierce JP. Correlates of 25-hydroxyvitamin D and breast cancer stage in the Women's Healthy Eating and Living Study. *Nutr Cancer.* 2013;65(2):188-94.
20. Hatse S, Lambrechts D, Verstuyf A, Smeets A, Brouwers B, Vandorpe T, et al. Vitamin D status at breast cancer diagnosis: correlation with tumor characteristics, disease outcome, and genetic determinants of vitamin D insufficiency. *Carcinogenesis.* 2012;33(7):1319-26.
21. Morton ML, Thompson CL. Decreasing 25-hydroxy-vitamin D levels account for portion of the effect of increasing body mass index on breast cancer mortality. *Mol Nutr Food Res.* 2013;57(2):260-6.
22. Mohr SB, Gorham ED, Kim J, Hofflich H, Garland CF. Meta-analysis of vitamin D sufficiency for improving survival of patients with breast cancer. *Anticancer Res.* 2014;34(3):1163-6.

23. Bertrand KA, Scott CG, Tamimi RM, Jensen MR, Pankratz VS, Norman AD, et al. Dense and Nondense Mammographic Area and Risk of Breast Cancer by Age and Tumor Characteristics. *Cancer Epidemiol Biomarkers & Prev.* 2015;25(4):1-12.
24. Alco G, Igdem S, Dincer M, Ozmen V, Saglam S, Selamoglu D, et al. Vitamin D levels in patients with breast cancer: importance of dressing style. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(3):1357-62.
25. Bidgoli SA, Azarshab H. Role of vitamin D deficiency and lack of sun exposure in the incidence of premenopausal breast cancer: a case control study in Sabzevar, Iran. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(8):3391-6.
26. Wang J, Eliassen AH, Spiegelman D, Willett WC, Hankinson SE. Plasma free 25-hydroxyvitamin D, vitamin D binding protein, and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study II. *Cancer Causes Control.* 2014;25(7):819-27.
27. Huss L, Butt S, Borgquist S, Almquist M, Malm J, Manjer J. Serum levels of vitamin D, parathyroid hormone and calcium in relation to survival following breast cancer. *Cancer Causes Control.* 2014;25(9):1131-40.
28. Clark AS, Chen J, Kapoor S, Friedman C, Mies C, Esserman L, et al. Pretreatment vitamin D level and response to neoadjuvant chemotherapy in women with breast cancer on the I-SPY trial (CALGB 150007/150015/ACRIN6657). *Cancer Med.* 2014;3(3):693-701.
29. Alipour S, Hadji M, Hosseini L, Omranipour R, Saberi A, Seifollahi A, et al. Levels of serum 25-hydroxy-vitamin d in benign and malignant breast masses. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2014;15(1):129-32.
30. Kim Y, Franke AA, Shvetsov YB, Wilkens LR, Cooney RV, Lurie G, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D3 is associated with decreased risk of postmenopausal breast cancer in whites: a nested case-control study in the multiethnic cohort study. *BMC Cancer.* 2014;14:29.
31. Vrieling A, Seibold P, Johnson TS, Heinz J, Obi N, Kaaks R, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D and postmenopausal breast cancer survival: Influence of tumor characteristics and lifestyle factors? *Int J Cancer.* 2014;134(12):2972-83.
32. Yousef FM, Jacobs ET, Kang PT, Hakim IA, Going S, Yousef JM, et al. Vitamin D status and breast cancer in Saudi Arabian women: case-control study. *Am J Clin Nutr.* 2013;98(1):105-10.
33. Kühn T, Kaaks R, Becker S, Eomois PP, Clavel-Chapelon F, Kvaskoff M, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and the risk of breast cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition: a nested case-control study. *Int J Cancer.* 2013;133(7):1689-700.
34. Scarmo S, Afanasyeva Y, Lenner P, Koenig KL, Horst RL, Clendenen TV, et al. Circulating levels of 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study. *Breast Cancer Res.* 2013;15(1):R15.
35. Chen P, Li M, Gu X, Liu Y, Li X, Li C, et al. Higher blood 25(OH)D level may reduce the breast cancer risk: evidence from a Chinese population based case-control study and meta-analysis of the observational studies. *PLoS One.* 2013;8(1):e49312.
36. Mohr SB, Gorham ED, Alcaraz JE, Kane CI, Macera CA, Parsons JK, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and breast cancer in the military: a case-control study utilizing pre-diagnostic serum. *Cancer Causes Control.* 2013;24(3):495-504.
37. Villaseñor A, Ballard-Barbash R, Amba A, Bernstein L, Baumgartner K, Baumgartner R, et al. Associations of serum 25-hydroxyvitamin D with overall and breast cancer-specific mortality in a multiethnic cohort of breast cancer survivors. *Cancer Causes Control.* 2013;24(4):759-67.
38. Bilinski K, Boyages J. Association between 25-hydroxyvitamin D concentration and breast cancer risk in an Australian population: an observational case-control study. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;137(2):599-607.
39. Imtiaz S, Siddiqui N, Raza SA, Loya A, Muhammad A. Vitamin D deficiency in newly diagnosed breast cancer patients. *Indian J Endocrinol Metab.* 2012;16(3):409-13.
40. Fedirko V, Torres-Mejía G, Ortega-Olvera C, Biessy C, Angeles-Llerenas A, Lazcano-Ponce E, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer: results of a large population-based case-control study in Mexican women. *Cancer Causes Control.* 2012;23(7):1149-62.

41. Friedman CF, Demichele A, Su HI, Feng R, Kapoor S, Desai K, et al. Vitamin D Deficiency in Postmenopausal Breast Cancer Survivors. *J Womens Health (Larchmt)*. 2012;21(4):456-62.
42. Cescon DW, Ganz PA, Beddows S, Ennis M, Mills BK, Goodwin PJ. Feasibility of a randomized controlled trial of vitamin D vs. placebo in women with recently diagnosed breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2012;134(2):759-67.
43. Kermani IA, Kojidi HT, Gharamaleki JV, Sanaat Z, Ziaei JE, Esfahani A, et al. Association of serum level of 25 hydroxy-vitamin d with prognostic factors for breast cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2011;12(6):1381-4.
44. Vrieling A, Hein R, Abbas S, Schneeweiss A, Flesch-Janys D, Chang-Claude J. Serum 25-hydroxyvitamin D and postmenopausal breast cancer survival: a prospective patient cohort study. *Breast Cancer Res*. 2011;13(4):R74.
45. Kim HJ, Lee YM, Ko BS, Lee JW, Yu JH, Son BH, et al. Vitamin D deficiency is correlated with poor outcomes in patients with luminal-type breast cancer. *Ann Surg Oncol*. 2011;18(7):1830-6.
46. Eliassen AH, Spiegelman D, Hollis BW, Horst RL, Willett WC, Hankinson SE. Plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study II. *Breast Cancer Res*. 2011;13(3):R50.
47. Yao S, Sucheston LE, Millen AE, Johnson CS, Trump DL, Nesline MK, et al. Pretreatment serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and breast cancer prognostic characteristics: a case-control and a case-series study. *PLoS One*. 2011;6(2):e17251.
48. Jacobs ET, Thomson CA, Flatt SW, Al-Delaimy WK, Hibler EA, Jones LA, et al. Vitamin D and breast cancer recurrence in the Women's Healthy Eating and Living (WHEL) Study. *Am J Clin Nutr*. 2011;93(1):108-17.
49. Engel P, Fagherazzi G, Boutten A, Dupré T, Mesrine S, Boutron-Ruault MC, et al. Serum 25(OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study from the French E3N cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2010;19(9):2341-50.
50. Almquist M, Bondeson AG, Bondeson L, Malm J, Manjer J. Serum levels of vitamin D, PTH and calcium and breast cancer risk-a prospective nested case-control study. *Int J Cancer*. 2010;127(9):2159-68.
51. Vashi PG, Trukova K, Lammersfeld CA, Braun DP, Gupta D. Impact of oral vitamin D supplementation on serum 25-hydroxyvitamin D levels in oncology. *Nutr J*. 2010;9(1):60.
52. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Koo J, Hood N. Prognostic effects of 25-hydroxyvitamin D levels in early breast cancer. *J Clin Oncol*. 2009;27(23):3757-63.
53. Rejnmark L, Tietze A, Vestergaard P, Buhl L, Lehbrink M, Heickendorff L, et al. Reduced prediagnostic 25-hydroxyvitamin D levels in women with breast cancer: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18(10):2655-60.
54. McCullough ML, Stevens VL, Patel R, Jacobs EJ, Bain EB, Horst RL, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and postmenopausal breast cancer risk: a nested case control study in the Cancer Prevention Study-II Nutrition Cohort. *Breast Cancer Res*. 2009;11(4):R64.
55. Abbas S, Chang-Claude J, Linseisen J. Plasma 25-hydroxyvitamin D and premenopausal breast cancer risk in a German case-control study. *Int J Cancer*. 2009;124(1):250-5.
56. Abbas S, Linseisen J, Slinger T, Kropp S, Mutschelknauss EJ, Flesch-Janys D, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of post-menopausal breast cancer--results of a large case-control study. *Carcinogenesis*. 2008;29(1):93-9.
57. Freedman DM, Chang SC, Falk RT, Purdue MP, Huang WY, McCarty CA, et al. Serum levels of vitamin D metabolites and breast cancer risk in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17(4):889-94.
58. Chlebowski RT, Johnson KC, Kooperberg C, Pettinger M, Wactawski-Wende J, Rohan T, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst*. 2008;100(22):1581-91.
59. Kim Y, Je Y. Vitamin D intake, blood 25(OH)D levels, and breast cancer risk or mortality: a meta-analysis. *Br J Cancer*. 2014;110(11):2772-84.

## 7 Bijlagen

7.1 Tabel 5: Klinische studies

Eerste auteur, publicatiejaar	Aard van de studie	Studiegroep	Resultaten
<b>Bertrand, 2015</b>	Prospectief en gecontroleerd	493 patiënten	Premenopauzale vrouwen in het hoogste tertiel percentage mammografische densiteit en laagste tertiel van serum 25 (OH) D concentratie hadden een 60% verhoogd risico op borstkanker in vergelijking met vrouwen met lagere mammografische densiteit en hoge serum 25 (OH) D concentraties (RR = 1.63, 95% CI [1.15;2.33]).
<b>Alco, 2014</b>	Cross-sectioneel en cohort	186 patiënten	70% had een deficiënte / insufficiënte serum 25 (OH) D concentratie < 25 ng/ml). Prevalentie vitamine D deficiëntie/insufficiëntie hoger bij patiënten zonder supplementatie (p <0.001), BMI ≥ 25 kg/m <sup>2</sup> (p=0.042), geen gebruik van bisfosfonaten (p=0.004) en conservatieve kledingstijl (p<0.001).
<b>Bidgoli, 2014</b>	Retrospectief en gecontroleerd	60 patiënten en 116 controlepatiënten	Geen significant verschil in gemiddelde serum 25 (OH) D concentratie tussen patiënten en controlepatiënten (15.17±8.15 vs. 15.47±7.45 ng/ml).
<b>Wang, 2014</b>	Prospectief en gecontroleerd	610 patiënten en 610 controlepatiënten	Totale plasma 25 (OH) D concentratie was niet geassocieerd met een verhoogd risico op borstkanker bij vergelijking van het hoogste versus het laagste kwantiel (RR=1.18, 95% CI [0.80;1.76]).
<b>Huss, 2014</b>	Prospectief en cohort	672 patiënten	Statistisch significante hogere kankerspecifieke mortaliteit bij patiënten in het eerste (serum 25 (OH) D concentratie ≤ 30ng/ml; HR = 1.84, 95% CI [1.08;3.13]) en derde (serum 25 (OH) D concentratie ≥ 40 ng/ml; HR = 1.81, 95% CI [1.06;3.07]) tertiel in vergelijking met het tweede tertiel (serum 25 (OH) D concentratie 30.4 – 39.7 ng/ml). Dit verband bleef significant na correctie voor het al dan niet aanwezig van ingenomen lymfeklieren en metastasen op afstand (HR = 2.46, 95% CI [1.38;4.37]; HR = 1.99, 95% CI [1.14;3.49] respectievelijk).
<b>Clark, 2014</b>	Prospectief en cohort	82 patiënten	Er bleek geen significante associatie tussen serum 25 (OH) D concentratie en hervolvrije overleving (HR = 0.98, 95% CI [0.95;1.02]).
<b>Alipour, 2014</b>	Cross-sectioneel	308 patiënten (136 borstkanker, 172 benigne massa's) en 364 controlepatiënten	Significant verhoogd risico op borstkanker bij patiënten met een serum 25 (OH) D concentratie van 25-35 ng/ml (OR = 1.79, 95% CI [0.9;3.5]), 12.5-25 ng/ml (OR = 0.96, 95% CI [0.3;2.8]) en <12.5 ng/ml (OR = 3.0, 95% CI [1.11;8.1]) in vergelijking met serum 25 (OH) D concentraties >35 ng/ml.

<b>Kim, 2014</b>	Prospectief en gecontroleerd	707 patiënten en 707 controlepatiënten	Een toename van de serum 25 (OH) D concentratie met 20 ng/ml werd geassocieerd met een verminderd risico op borstkanker bij blanke vrouwen (OR = 0.43, 95% CI [0.23;0.80]).
<b>Vrieling, 2014</b>	Prospectief en cohort	2 177 patiënten	Lagere serum 25 (OH) D concentraties bij vergelijking van het laagste (< 14 ng/ml) met het hoogste (≥ 22 ng/ml) tertiel bij stadia I-IIIa waren geassocieerd met: - een hoger risico op algemene mortaliteit (HR = 1.86, 95% CI [1.22;2.82]); - een hoger risico op gevorderde ziekte (HR = 1.76, 95% CI [1.24;2.49]). Deze associaties bleven uit voor stadia IIIb-IV.
<b>Yousef, 2013</b>	Retrospectief en gecontroleerd	120 patiënten en 120 controlepatiënten	Patiënten hadden een significant lager gemiddelde serum 25 (OH) D concentratie ( $9.4 \pm 6.4$ ng/ml) dan de controlepatiënten ( $15.4 \pm 12.3$ ng/ml, $p=0.001$ ). In vergelijking met patiënten met een serum 25 (OH) D concentratie in het hoogste tertiel (≥20ng/ml), bedroegen de overeenkomstige OR's voor invasieve borstkanker 6.1 (95% CI [2.4;15.1]) voor patiënten met een serum 25 (OH) D concentratie < 10 ng/ml en 4.0 (95% CI [1.6;10.4]) voor patiënten met een serum 25 (OH) D concentratie ≥ 10 en <20ng/ml.
<b>Kühn, 2013</b>	Prospectief en gecontroleerd	1 391 patiënten en 1 391 controlepatiënten	Er kon geen significante associatie aangetoond worden tussen serum 25 (OH) D concentratie en borstkankerrisico bij vergelijking van het hoogste (>25.0 ng/ml) met het laagste (≤ 15.7 ng/ml) kwartiel (OR = 1.07, 95% CI [0.86;1.34]). ER/PR status zouden niet geassocieerd zijn met serum 25 (OH) D concentratie (geen data). Een BMI ≥ 25kg/m <sup>2</sup> zou de associatie tussen serum 25 (OH) D concentratie en borstkanker risico significant beïnvloeden (OR = 1.3, 95% CI [1.00;1.69]).
<b>Scarmo, 2013</b>	Prospectief en gecontroleerd	1 585 patiënten en 2 940 controlepatiënten	Er kon geen significante associatie aangetoond worden tussen serum 25 (OH) D concentratie en borstkankerrisico bij vergelijking van het hoogste (K5) met het laagste (K1) kwantiel (OR = 0.94, 95% CI [0.76;1.16]). Een inverse associatie tussen serum 25 (OH)D concentratie en borstkankerrisico werd vastgesteld bij pre-menopauzale vrouwen (OR K5-K1 = 0.67, 95% CI [0.48; 0.92]) en bij vrouwen met een leeftijd ≤ 45 jaar (OR K5-K1 = 0.48, 95% CI [0.30; 0.79]).
<b>Jacobs, 2013</b>	Retrospectief en cohort	904 patiënten	Bij vrouwen met een stadium III tumor was er een grotere proportie vitamine D deficiënt (40.5%) in vergelijking met stadium II (31.2%) of I (31.6%). Vergeleken met vrouwen met een stadium I tumor bedroegen de OR voor



			<p>vitamine D deficiëntie 0.98 (95% CI [0.70;1.37]) voor stadium II en 1.47 (95% CI [0.88;2.45]) voor stadium III.</p> <p>Er bleek geen significante associatie tussen serum 25 (OH) D concentratie en stadium II (OR = 0.85, 95% CI [0.59;1.22]) en III (OR = 1.23, 95% CI [0.71;2.15]), in vergelijking met stadium I.</p>
<b>Chen, 2013</b>	Prospectief en gecontroleerd	593 patiënten en 580 controlepatiënten	<p>In vergelijking met het laagste kwartiel (&lt;10.4 ng/ml), hadden vrouwen met een hoger serum 25 (OH) D concentratie een significant verminderd borstkankerrisico (OR = 0.43 (95% CI [0.31;0.60]) voor K2 (10.4– 13.4 ng/ml), 0.24 (95% CI [0.17;0.35]) voor K3 (13.4–17.9 ng/ml) en 0.10 (95% CI [0.06;0.15]) voor K4 (&gt;17.9 ng/ml)).</p>
<b>Mohr, 2013</b>	Prospectief en gecontroleerd	600 patiënten en 600 controlepatiënten	<p>Er bleek een inverse associatie tussen serum 25 (OH) D concentratie en borstkankerrisico bij vergelijking van het laagste (<math>\leq 14</math> ng/ml) met het hoogste (<math>\geq 35.2</math> ng/ml) kwintiel (OR = 3.3, 95% CI [1.6;7.1]), indien diagnose maximaal 90 dagen na bloedname gesteld werd.</p>
<b>Villasenor, 2013</b>	Prospectief en cohort	585 patiënten	<p>Per stijging van 10 ng/ml serum 25 (OH) D concentratie werd er een verminderd risico op algemene mortaliteit bij patiënten vastgelegd (HR = 0.85, 95% CI [0.68;1.09]). Een significant verband tussen serum 25 (OH) D concentratie en kankerspecifieke mortaliteit bleef uit (HR = 1.08, 95% CI [0.75;1.54]).</p>
<b>Bilinski, 2013</b>	Cross-sectioneel en gecontroleerd	214 patiënten en 852 controlepatiënten	<p>16% van de patiënten had een optimaal (<math>\geq 30.05</math> ng/ml) serum 25 (OH) D concentratie t.o.v. 32% van de controles (<math>p &lt; 0.001</math>). In vergelijking met patiënten met een sufficiënte (<math>\geq 30.05</math> ng/ml) serum 25 (OH) D concentratie bedroegen de OR's voor borstkanker 2.3 (95% CI [1.3;4.3]), 2.5 (95% CI [1.6;3.9]) en 2.5 (95% CI [1.6;3.8]) voor patiënten met een respectievelijk ernstig deficiënt (&lt; 10.00 ng/ml), deficiënt (10.00-19.99 ng/ml) of insufficiënt (20.00-30.01ng/ml) vitamine D gehalte.</p>
<b>Imtiaz, 2012</b>	Cross-sectioneel en gecontroleerd	90 patiënten en 90 controlepatiënten	<p>Geen significant verband tussen stadium en serum 25 (OH) D concentratie (<math>p = 0.247</math>).</p>
<b>Hatse, 2012</b>	Cross-sectioneel, prospectief en cohort	1 800 patiënten	<p>Er bleek een significante associatie tussen serum 25 (OH) D concentratie en tumorgrootte (<math>p = 0.0197</math>). Deze associatie hield stand na correctie voor leeftijd bij diagnose, seizoen van bloedname en BMI (<math>p = 0.0063</math>).</p>
<b>Fedirko, 2012</b>	Cross-sectioneel en gecontroleerd	573 patiënten en 639 controlepatiënten	<p>Serum 25 (OH) D concentratie zou bij alle patiënten geassocieerd zijn met risico op borstkanker: de OR voor vrouwen in het hoogste (&gt;25 ng/ml) vergeleken met vrouwen in het laagste tertiel (&lt;20 ng/ml) bedroeg 0.53 (95% CI [0.36;0.78]).</p>

<b>Friedman, 2012</b>	Retrospectief en cohort	391 patiënten	35% van de patiënten had een deficiënt (< 30 ng/ml) serum 25 (OH) D gehalte. De vitamine D-supplementatie was significant geassocieerd met een lager risico op vitamine D-deficiëntie (OR = 0.29 95% CI [0.17;0.48]).
<b>Cescon, 2012</b>	Prospectief en cohort	173 patiënten	85% van de patiënten gebruikte vitamine D supplementen (mediaan dosis = 1400 IU/dag). Er bestond een sterke correlatie tussen supplementatie en serum 25 (OH) D concentratie (r = 0.41, p < 0.0001). Mediane serum 25 (OH) D concentratie bedroeg 34.3 ng/ml (p=0.1). 3.8% had een deficiënt (<20ng/ml) vitamine D gehalte, 23.8% een insufficiënt (20-28.8 ng/ml) en 72.5% een suffiënt (>28.8 ng/ml).
<b>Kermani, 2011</b>	Cross-sectioneel en cohort	119 patiënten	- Geen significante associatie tussen serum 25 (OH) D concentratie en tumorgrootte(p=0.74). - Mediane serum 25 (OH) D concentratie significant hoger bij patiënten met metastasen in vergelijking met patiënten zonder metastasen (27.7 vs. 12.0 ng/ml; p=0.03). - Mediane serum 25 (OH) D concentratie lager bij patiënten met P53 mutatie in vergelijking met patiënten zonder de mutatie (13.6 vs. 17.3 ng/ml; p=0.07).
<b>Vrieling, 2011</b>	prospectief en cohort	1 295 patiënten	Lagere serum 25 (OH) D concentraties werden geassocieerd met groter risico op dood (HR = 1.08, 95% CI [1.00;1.17] per afname van 4ng/ml ) en een groter risico op herval (HR = 1.14, 95% CI [1.05;1.24]).
<b>Kim, 2011</b>	Retrospectief en cohort	310 patiënten	Vitamine D deficiëntie (< 20 ng/ml) werd geassocieerd met een hoger risico op herval in vergelijking met een suffiënte (30-150 ng/ml) serum 25 (OH) D concentratie (p=0.002). Een inverse associatie tussen serum 25(OH) D concentratie en prognose werd vastgelegd bij luminaal A (p = 0.012) en luminaal B (p = 0.023) types borstkanker bleef uit bij triple negatieve vormen (p = 0.879) en Her2\neuropositieve tumoren (p = 0.245).
<b>Eliassen, 2011</b>	Prospectief en gecontroleerd	613 patiënten en 1 218 controlepatiënten	Geen significante associatie tussen serum 25 (OH) D concentratie en risico op borstkanker bij vergelijking van het hoogste(≥ 30.6 ng/ml) met het laagste (< 18.4 ng/ml) kwantiel (RR = 1.20, 95% CI [0.88;1.63]).
<b>Yao, 2011</b>	retrospectief en gecontroleerd	579 patiënten en 574 controlepatiënten	Inverse associatie tussen de serum 25 (OH) D concentratie en het borstkankerrisico voor concentraties ≥ 30 ng/ml vergeleken met concentraties < 20 ng/ml (OR = 0.37, 95% CI [0.27;0.51]). Premenopauzale patiënten met een serum 25 (OH) D concentratie > 22,8 ng/ml hadden minder kans op triple negatieve borstkanker vergeleken met een concentratie < 22,8

			ng/ml (OR = 0.21, 95% CI [0.08;0.53]).
<b>Jacobs, 2011</b>	prospectief en gecontroleerd	512 patiënten en 512 controlepatiënten	Geen associatie tussen serum 25 (OH) D concentratie en herval voor concentraties < 10 ng/ml vergeleken met concentraties ≥ 30 ng/ml (OR = 1.14, 95% CI [0.57;2.31]).
<b>Engel, 2010</b>	Prospectief en gecontroleerd	636 patiënten en 1 272 controlepatiënten	Er bleek een inverse associatie tussen serum 25 (OH) D concentratie en borstkankerrisico: OR voor het hoogste (> 27 ng/ml) vergeleken met het laagste (< 19.8 ng/ml) tertiel = 0.73, 95% CI [0.55;0.96].
<b>Almquist, 2010</b>	prospectief en gecontroleerd	764 patiënten en 764 controlepatiënten	Geen significante relatie tussen de serum 25 (OH) D concentratie en het borstkankerrisico voor het hoogste kwantiel (≥ 43 ng/ml) vergeleken met het laagste (concentraties < 28 ng/ml) (OR = 0.96, 95% CI [0.68;1.37]).
<b>Vashi, 2010</b>	retrospectief en cohort	2 198 patiënten	69.4% van de patiënten had als uitgangswaarde een serum 25 (OH) D concentratie < 32 ng/ml. Na de toediening van 2000 IU per dag gedurende gemiddeld 14.7 weken aan patiënten met een suboptimaal 25 (OH) D gehalte bedroeg de gemiddelde serumconcentratie 37.6 ng/ml (standaardafwijking: ± 16.8 ng/ml) (p < 0.001). Factoren significant geassocieerd met de respons op supplementatie: leeftijd (p = 0.02); uitgangswaarde van de serum 25 (OH) D concentratie: een lagere uitgangswaarde gecorreleerd met een betere respons (p < 0.001).
<b>Goodwin, 2009</b>	prospectief en cohort	512 patiënten	Significante associatie tussen de serum 25 (OH) D concentratie bij de diagnose en het risico op: - distale recurrentie (HR [95% CI] voor concentraties < 20 ng/ml vergeleken met concentraties > 28 ng/ml: 1.71 [1.02;2.86]) - mortaliteit (HR [95% CI] voor concentraties < 20 ng/ml vergeleken met concentraties > 28 ng/ml: 1.60 [0.96;2.64]).
<b>Rejnmark, 2009</b>	prospectief en gecontroleerd	142 patiënten en 420 controlepatiënten	Omgekeerde associatie tussen 25 (OH) D en het borstkankerrisico (RR [95% CI] voor het hoogste kwantiel (≥ 34 ng/ml) vergeleken met het laagste (< 24 ng/ml): 0.52 [0.32;0.85]).
<b>McCullough, 2009</b>	prospectief en gecontroleerd	516 patiënten en 516 controlepatiënten	Geen associatie tussen 25 (OH) D en borstkanker (OR [95% CI] voor het hoogste kwantiel (≥ 30 ng/ml) vergeleken met het laagste (< 20 ng/ml): 0.86 [0.059;1.26]).
<b>Abbas, 2009</b>	retrospectief en gecontroleerd	289 patiënten en 595 controlepatiënten	Inversie relatie tussen de serum 25 (OH) D concentratie en het risico op borstkanker (OR [95% CI] voor het hoogste kwantiel (≥ 24 ng/ml) vergeleken met het laagste (< 12 ng/ml): 0.45 [0.29;0.70]).
<b>Abbas, 2008</b>	retrospectief en gecontroleerd	1 394 patiënten en 1 365 controlepatiënten	Verminderd risico op borstkanker voor hogere serum 25 (OH) D concentraties (OR [95% CI] voor het hoogste (≥ 30 ng/ml)

			vergeleken met het laagste kwantiel (< 12 ng/ml): 0.31 [0.24;0.42]).
<b>Freedman, 2008</b>	prospectief en gecontroleerd	1 005 patiënten en 1 005 controlepatiënten	Geen associatie tussen 25 (OH) D en het borstkankerrisico (RR [95% CI] voor het hoogste kwantiel ( $\geq$ 33.7 ng/ml) vergeleken met het laagste (< 18.3 ng/ml): 1.04 [0.75;1.45]).
<b>Chlebowski, 2008</b>	prospectief en gecontroleerd	1 067 patiënten en 1 067 controlepatiënten	Geen associatie tussen de 25 (OH) D concentratie en het borstkankerrisico (OR [95% CI] voor het laagste kwantiel (13 ng/ml) vergeleken met het hoogste (27 ng/ml): 1.22 [0.89;1.67]).

## 7.2 Verklarende woordenlijst

**BMI:** Body mass index

**BMD:** Bone mineral density

**DEXA:** Dual-energy X-ray absorptiometry

**ER:** Oestrogeenreceptor

**HER(2)/neu:** Human Epidermal Growth Factor Receptor 2

**Ki67:** Marker voor proliferatie

**PR:** Progesteron receptor

**RANK:** Receptor activator of nuclear factor kappa-B

**RANK-L:** RANK-Ligand

**Triple negatief:** ER, PR en HER(2)/neu negatief

**VDR:** Vitamine D receptor

## 7.3 Informatiebrochures voor patiënten

### 7.3.1 Brochure borstkankergroep

Geachte mevrouw,

U wordt uitgenodigd om vrijwillig deel te nemen aan een klinische studie over het effect van vitamine D op het ontstaan en verloop van borstkanker. Vooraleer u toestemt om aan deze studie deel te nemen, is het belangrijk dat u dit formulier leest. In dit informatie- en toestemmingsformulier worden het doel, de onderzoeken, de voordelen, risico's en ongemakken gepaard gaande met de studie beschreven. Ook de voor u beschikbare alternatieven en het recht om op elk ogenblik de studie te verlaten, zijn hieronder beschreven. Er kunnen geen beloften gedaan worden noch waarborgen gegeven worden betreffende de resultaten van de klinische studie. U hebt het recht om op elk ogenblik vragen te stellen.

#### Doel en beschrijving van de studie

Dit is een medisch-wetenschappelijk onderzoek waaraan naar verwachting ongeveer 140 borstkankerpatiënten en 140 vrouwen zonder borstkanker zullen deelnemen in het UZA.

Het **doel** van deze studie is 2-dubbel:

1. Enerzijds willen we onderzoeken of het vitamine D gehalte bij borstkankerpatiënten lager ligt dan het vitamine D gehalte in de algemene bevolking. In dit deel van de studie worden zowel mensen met borstkanker als mensen zonder borstkanker gerekruteerd.
2. Anderzijds willen we onderzoeken of bij personen met een laag vitamine D gehalte de borstkanker slechter verloopt dan bij personen met een hoger vitamine D gehalte. In dit deel van de studie worden enkel borstkankerpatiënten gerekruteerd.

#### Achtergrond: waarom vitamine D in verband brengen met borstkanker?

Vitamine D in ons lichaam is afkomstig van twee belangrijke bronnen. Enerzijds nemen we het op uit onze voeding. Anderzijds wordt het door ons lichaam zelf aangemaakt door blootstelling aan de zon. De laatste jaren werd geobserveerd dat mensen met een grotere zonneblootstelling, vitamine D rijke voeding of hogere vitamine D waarde in het bloed, een lager risico hadden op het krijgen van borstkanker, en ook een beter verloop hadden van hun borstkanker als ze die toch ontwikkelden. Bijgevolg worden er studies gedaan die naar verklaringen zoeken voor deze observatie.

Celdeling in ons lichaam wordt normaal gezien strikt gecontroleerd door allerlei processen. Het gebeurt enkel wanneer er nood is aan nieuwe cellen, dus in de periode van groei, ter vervanging van oudere, afgeschilferde of beschadigde cellen... Er zijn stoffen in het lichaam die de celdeling stimuleren, en stoffen die de celdeling onderdrukken. Wanneer de controle over de celdeling verloren gaat, kunnen cellen ongecontroleerd en overmatig gaan delen, waardoor kanker kan ontstaan. Kankercellen kunnen gaan woekeren en het orgaan vernietigen, en zich verspreiden in het lichaam (uitzaaien). Onderzoek met cellen heeft uitgewezen dat vitamine D de celdeling afremt en zelfs celdood stimuleert en het voor cellen minder gemakkelijk maakt om zich te verspreiden via de bloedbaan en uit te zaaien. Ook werd gezien dat de vitamine ontsteking afremt. Bij ontsteking komen er allerlei stoffen vrij die de celdeling en dus het verder ontwikkelen van kanker bevorderen. Door dit

af te remmen, zou vitamine D dan ook een gunstig effect hebben. Daarnaast remt de vitamine ook de aanmaak en werking van het vrouwelijk hormoon oestrogeen. Dit is belangrijk aangezien dit hormoon één van de stoffen is die de kankercellen doet groeien.

Verder onderzoek naar het effect van toedienen van vitamine D supplementen op het risico op en het verloop van borstkanker is nog nodig.

#### Hoe willen we deze doelstellingen onderzoeken?

Dit is een interventionele studie: we gaan bij elke patiënt een bloedname doen om het vitamine D gehalte in het bloed te bepalen.

Voor doelstelling 1 (dus voor personen met en personen zonder borstkanker): Om te onderzoeken of vitamine D bij borstkankerpatiënten lager ligt dan bij gezonde patiënten, gaan we simpelweg deze waarden bij beide groepen meten en vergelijken.

Informatie over doelstelling 2 (dus enkel voor borstkankerpatiënten): Zoals in doelstelling 2 vermeld werd, willen we onderzoeken of een laag vitamine D gehalte slecht is voor het verloop van borstkanker. Omdat we maar een beperkte tijd voor deze studie hebben (zie verderop), kunnen we echter niet gaan kijken hoe de ziekte evolueert en wat het effect is van vitamine D supplementen op de evolutie. In plaats daarvan gaan wij op het moment van de diagnose kijken naar het vitamine D gehalte in het bloed en naar factoren die het verloop van de borstkanker (zowel gunstig als ongunstig) kunnen beïnvloeden in de loop van de tijd. Aan de hand van deze informatie willen we onderzoeken of een lager vitamine D gehalte voorkomt met meer negatieve factoren en een hoger vitamine D gehalte met meer positieve factoren geassocieerd is. Concreet komt het er dus op neer dat we op het moment van de diagnose het vitamine D gehalte en een aantal andere factoren gaan meten en gaan onderzoeken of er een verband is.

#### **Opdrachtgever van de studie**

De opdrachtgever van de studie is de Universiteit Antwerpen in samenwerking met het Universitair Ziekenhuis Antwerpen.

#### **Duur van de klinische studie**

De studie duurt ongeveer 50 weken.

#### **Onderzoeken in het kader van de studie**

Indien u aanvaardt aan de studie deel te nemen en u voldoet aan alle voorwaarden voor deelname aan de studie, dan zullen de volgende tests en onderzoeken worden uitgevoerd:

- Een bloedafname ter bepaling van vitamine D tijdens de consultatie

#### **Vrijwillige deelname**

U neemt geheel vrijwillig deel aan deze studie en u hebt het recht te weigeren eraan deel te nemen. Uw beslissing om al dan niet aan deze studie deel te nemen of om uw deelname aan de studie stop

te zetten, zal geen enkele invloed hebben op uw verdere behandeling door uw studiearts (of onderzoeksarts) of in dit ziekenhuis.

Indien u aanvaardt om eraan deel te nemen, zal u deze informatiefolder krijgen om te bewaren en zal er u gevraagd worden het aangehechte toestemmingsformulier te ondertekenen.

De studiearts kan op elk ogenblik een einde stellen aan uw deelname aan de studie, zelfs zonder dat hij/zij hiervoor uw toestemming moet vragen, om één van de volgende redenen:

- u houdt zich niet aan de instructies voor deelname aan de studie;
- er wordt naderhand vastgesteld dat u niet aan de studievoorwaarden voldoet

U hebt het recht om uw deelname aan de studie op elk ogenblik stop te zetten, zelfs nadat u het toestemmingsformulier ondertekend heeft. U hoeft geen reden te geven voor het intrekken van uw toestemming tot deelname. Het intrekken van uw toestemming zal geen enkel nadeel of verlies van voordelen met zich meebrengen. Uw beslissing zal geen weerslag hebben op uw medische behandeling.

### **Risico's en ongemakken**

Vermits deze studie van u een bloedafname vraagt, is er een risico op een bloeding.

### **Wat indien u zwanger bent, zwanger wenst te worden of borstvoeding geeft?**

De studie wordt gedaan met vrouwen die niet zwanger zijn en geen borstvoeding geven op het moment dat de bloedafnames bij hen gedaan worden. Eventueel wordt dit met een zwangerschapstest bevestigd.

### **Voordelen**

Wij kunnen u niet bevestigen dat, indien u toestemt om aan deze studie deel te nemen, u persoonlijk enig rechtstreeks voordeel zal halen uit uw deelname aan deze studie.

Indien u toestemt om aan deze studie deel te nemen, kan blijken dat vitamine D al dan niet nuttig is voor de preventie en behandeling van borstkanker. De uit deze studie bekomen informatie kan bijdragen tot een betere kennis over het gebruik van vitamine D supplementen voor de preventie en behandeling van borstkanker bij toekomstige patiënten.

### **Verzekering**

Indien u of uw rechthebbenden (familie) schade ondervindt die verband houdt met deze onderzoeksstudie, zal deze schade door de opdrachtgever van deze studie vergoed worden overeenkomstig de wet inzake experimenten op de menselijke persoon van 7 mei 2004. U hoeft hiervoor geen fout aan te tonen. De opdrachtgever heeft een burgerlijke aansprakelijkheidsverzekering afgesloten die de risico's en de schade, die zouden voortvloeien uit deze studie, dekken. U of uw rechthebbenden kunnen de verzekeraar rechtstreeks in België dagvaarden.



### **Vergoeding**

U moet niet zelf de kosten verbonden aan de bloedname voor het bepalen van vitamine D betalen.

### **Bescherming van de persoonlijke levenssfeer**

Uw identiteit en uw deelname aan deze studie worden strikt vertrouwelijk behandeld. U zult niet bij naam of op een andere herkenbare wijze geïdentificeerd worden in dossiers, resultaten of publicaties in verband met de studie.

Uw identiteit blijft geheim aangezien informatie over uw persoon enkel aan de hand van een uniek patiëntnummer (dus gecodeerd) zal worden aangeduid.

De informatie over u zal elektronisch (d.w.z. in de computer) of handmatig verwerkt en geanalyseerd worden om de resultaten van deze studie te bepalen. U hebt het recht aan de studiearts te vragen welke gegevens er over u worden verzameld in het kader van de studie en wat de bedoeling ervan is. U hebt ook het recht om aan de studiearts te vragen u inzage in uw persoonlijke informatie te verlenen en er eventueel de nodige verbeteringen in te laten aanbrengen. De bescherming van de persoonlijke gegevens is wettelijk bepaald door de wet van 8 december 1992 betreffende de bescherming van de persoonlijke levenssfeer.

Indien u toestemt in deelname aan dit onderzoek, betekent dit dat u ook toestemming geeft voor het gebruik van uw gecodeerde medische gegevens voor de hierboven beschreven doelen en het overmaken ervan aan bovenvermelde personen en/of instanties.

### **Kennisgeving van nieuwe informatie**

Soms komt er in de loop van een onderzoeksproject nieuwe informatie aan het licht over het bestudeerde onderwerp. Indien dit het geval is, zal u op de hoogte gebracht worden van nieuwe informatie die uw bereidheid om aan deze studie verder deel te nemen, kan beïnvloeden.

In dat geval zal u gevraagd worden een nieuw informatie- en toestemmingsformulier te ondertekenen. Mocht u naar aanleiding van de nieuwe informatie besluiten met het onderzoek te willen stoppen, dan zal uw onderzoeksarts ervoor zorgen dat u op de beste manier verder wordt behandeld.

### **Commissie voor ethiek**

Deze klinische studie is beoordeeld door een onafhankelijke commissie voor ethiek, nl. de commissie van het UZA/UA die een gunstig advies heeft gegeven op (11/03/2013).

### **Contactpersonen in geval van vragen in verband met de studie**

Indien u meent studiegebonden schade te hebben opgelopen of indien u vragen heeft over het onderzoek of uw rechten als studiedeelnemer, nu of tijdens of na uw deelname, dan kan u contact opnemen met:

Studiearts: professor dokter W. Tjalma

Telefoon: 00 32 (3) 821 35 80

### 7.3.2 Brochure controlegroep

Geachte mevrouw,

U wordt uitgenodigd om vrijwillig deel te nemen aan een klinische studie over het effect van vitamine D op het ontstaan en verloop van borstkanker. Vooraleer u toestemt om aan deze studie deel te nemen, is het belangrijk dat u dit formulier leest. In dit informatie- en toestemmingsformulier worden het doel, de onderzoeken, de voordelen, risico's en ongemakken gepaard gaande met de studie beschreven. Ook de voor u beschikbare alternatieven en het recht om op elk ogenblik de studie te verlaten, zijn hieronder beschreven. Er kunnen geen beloften gedaan worden noch waarborgen gegeven worden betreffende de resultaten van de klinische studie. U hebt het recht om op elk ogenblik vragen te stellen.

#### **Doel en beschrijving van de studie**

Dit is een medisch-wetenschappelijk onderzoek waaraan naar verwachting ongeveer 140 borstkankerpatiënten en 140 vrouwen zonder borstkanker zullen deelnemen in het UZA. U behoort tot de controlegroep, de vrouwen zonder borstkanker.

Het **doel** van deze studie is onderzoeken of het vitamine D gehalte bij borstkankerpatiënten lager ligt dan het vitamine D gehalte in de algemene bevolking.

#### **Achtergrond: waarom vitamine D in verband brengen met borstkanker?**

Vitamine D in ons lichaam is afkomstig van twee belangrijke bronnen. Enerzijds nemen we het op uit onze voeding. Anderzijds wordt het door ons lichaam zelf aangemaakt door blootstelling aan de zon. De laatste jaren werd geobserveerd dat mensen met een grotere zonneblootstelling, vitamine D rijke voeding of hogere vitamine D waarde in het bloed, een lager risico hadden op het krijgen van borstkanker, en ook een beter verloop hadden van hun borstkanker als ze die toch ontwikkelden. Bijgevolg worden er studies gedaan die naar verklaringen zoeken voor deze observatie.

Celdeling in ons lichaam wordt normaal gezien strikt gecontroleerd door allerlei processen. Het gebeurt enkel wanneer er nood is aan nieuwe cellen, dus in de periode van groei, ter vervanging van oudere, afgeschilferde of beschadigde cellen... Er zijn stoffen in het lichaam die de celdeling stimuleren, en stoffen die de celdeling onderdrukken. Wanneer de controle over de celdeling verloren gaat, kunnen cellen ongecontroleerd en overmatig gaan delen, waardoor kanker kan ontstaan. Kankercellen kunnen gaan woekeren en het orgaan vernietigen, en zich verspreiden in het lichaam (uitzaaien). Onderzoek met cellen heeft uitgewezen dat vitamine D de celdeling afremt en zelfs celdood stimuleert en het voor cellen minder gemakkelijk maakt om zich te verspreiden via de bloedbaan en uit te zaaien. Ook werd gezien dat de vitamine ontsteking afremt. Bij ontsteking komen er allerlei stoffen vrij die de celdeling en dus het verder ontwikkelen van kanker bevorderen. Door dit af te remmen, zou vitamine D dan ook een gunstig effect hebben. Daarnaast remt de vitamine ook de aanmaak en werking van het vrouwelijk hormoon oestrogeen. Dit is belangrijk aangezien dit hormoon één van de stoffen is die de kankercellen doet groeien.

Verder onderzoek naar het effect van toedienen van vitamine D supplementen op het risico op en het verloop van borstkanker is nog nodig.

#### Hoe willen we deze doelstellingen onderzoeken?

Dit is een interventionele studie: we gaan bij elke patiënt een bloedname doen om het vitamine D gehalte in het bloed te bepalen. We gaan simpelweg deze waarden bij beide groepen meten en vergelijken.

#### Opdrachtgever van de studie

De opdrachtgever van de studie is de Universiteit Antwerpen in samenwerking met het Universitair Ziekenhuis Antwerpen.

#### Duur van de klinische studie

De studie duurt ongeveer 50 weken.

#### Onderzoeken in het kader van de studie

Indien u aanvaardt aan de studie deel te nemen en u voldoet aan alle voorwaarden voor deelname aan de studie, dan zullen de volgende tests en onderzoeken worden uitgevoerd:

- Een bloedafname ter bepaling van vitamine D tijdens de consultatie.

#### Vrijwillige deelname

U neemt geheel vrijwillig deel aan deze studie en u hebt het recht te weigeren eraan deel te nemen. Uw beslissing om al dan niet aan deze studie deel te nemen of om uw deelname aan de studie stop te zetten, zal geen enkele invloed hebben op uw verdere behandeling door uw studiearts (of onderzoeksarts) of in dit ziekenhuis.

Indien u aanvaardt om eraan deel te nemen, zal u deze informatiefolder krijgen om te bewaren en zal er u gevraagd worden het aangehechte toestemmingsformulier te ondertekenen.

De studiearts kan op elk ogenblik een einde stellen aan uw deelname aan de studie, zelfs zonder dat hij/zij hiervoor uw toestemming moet vragen, om één van de volgende redenen:

- u houdt zich niet aan de instructies voor deelname aan de studie;
- er wordt naderhand vastgesteld dat u niet aan de studievoorwaarden voldoet

U hebt het recht om uw deelname aan de studie op elk ogenblik stop te zetten, zelfs nadat u het toestemmingsformulier ondertekend heeft. U hoeft geen reden te geven voor het intrekken van uw toestemming tot deelname. Het intrekken van uw toestemming zal geen enkel nadeel of verlies van voordelen met zich meebrengen. Uw beslissing zal geen weerslag hebben op uw medische behandeling.

### **Risico's en ongemakken**

Vermits deze studie van u een bloedafname vraagt, is er een risico op een bloeding.

### **Wat indien u zwanger bent, zwanger wenst te worden of borstvoeding geeft?**

De studie wordt gedaan met vrouwen die zwanger kunnen zijn en geen borstvoeding geven op het moment dat de bloedafnames bij hen gedaan worden.

### **Voordelen**

Wij kunnen u niet bevestigen dat, indien u toestemt om aan deze studie deel te nemen, u persoonlijk enig rechtstreeks voordeel zal halen uit uw deelname aan deze studie.

Indien u toestemt om aan deze studie deel te nemen, kan blijken dat vitamine D al dan niet nuttig is voor de preventie en behandeling van borstkanker. De uit deze studie bekomen informatie kan bijdragen tot een betere kennis over het gebruik van vitamine D supplementen voor de preventie en behandeling van borstkanker bij toekomstige patiënten.

### **Verzekering**

Indien u of uw rechthebbenden (familie) schade ondervindt die verband houdt met deze onderzoeksstudie, zal deze schade door de opdrachtgever van deze studie vergoed worden overeenkomstig de wet inzake experimenten op de menselijke persoon van 7 mei 2004. U hoeft hiervoor geen fout aan te tonen. De opdrachtgever heeft een burgerlijke aansprakelijkheidsverzekering afgesloten die de risico's en de schade, die zouden voortvloeien uit deze studie, dekken. U of uw rechthebbenden kunnen de verzekeraar rechtstreeks in België dagvaarden.

### **Vergoeding**

U moet niet zelf de kosten verbonden aan de bloedname voor het bepalen van vitamine D betalen.

### **Bescherming van de persoonlijke levenssfeer**

Uw identiteit en uw deelname aan deze studie worden strikt vertrouwelijk behandeld. U zult niet bij naam of op een andere herkenbare wijze geïdentificeerd worden in dossiers, resultaten of publicaties in verband met de studie.

Uw identiteit blijft geheim aangezien informatie over uw persoon enkel aan de hand van een uniek patiëntnummer (dus gecodeerd) zal worden aangeduid.

De informatie over u zal elektronisch (d.w.z. in de computer) of handmatig verwerkt en geanalyseerd worden om de resultaten van deze studie te bepalen. U hebt het recht aan de studiearts te vragen welke gegevens er over u worden verzameld in het kader van de studie en wat de bedoeling ervan is. U hebt ook het recht om aan de studiearts te vragen u inzage in uw persoonlijke informatie te verlenen en er eventueel de nodige verbeteringen in te laten aanbrengen. De bescherming van de persoonlijke gegevens is wettelijk bepaald door de wet van 8 december 1992 betreffende de bescherming van de persoonlijke levenssfeer.

Indien u toestemt in deelname aan dit onderzoek, betekent dit dat u ook toestemming geeft voor het gebruik van uw gecodeerde medische gegevens voor de hierboven beschreven doelen en het overmaken ervan aan bovenvermelde personen en/of instanties.

#### **Kennisgeving van nieuwe informatie**

Soms komt er in de loop van een onderzoeksproject nieuwe informatie aan het licht over het bestudeerde onderwerp. Indien dit het geval is, zal u op de hoogte gebracht worden van nieuwe informatie die uw bereidheid om aan deze studie verder deel te nemen, kan beïnvloeden.

In dat geval zal u gevraagd worden een nieuw informatie- en toestemmingsformulier te ondertekenen. Mocht u naar aanleiding van de nieuwe informatie besluiten met het onderzoek te willen stoppen, dan zal uw onderzoeksarts ervoor zorgen dat u op de beste manier verder wordt behandeld.

#### **Commissie voor ethiek**

Deze klinische studie is beoordeeld door een onafhankelijke commissie voor ethiek, nl. de commissie van het UZA/UA die een gunstig advies heeft gegeven op (11/03/2013).

#### **Contactpersonen in geval van vragen in verband met de studie**

Indien u meent studiegebonden schade te hebben opgelopen of indien u vragen heeft over het onderzoek of uw rechten als studiedeelnemer, nu of tijdens of na uw deelname, dan kan u contact opnemen met:

Studiearts: professor dokter W. Tjalma

Telefoon: 00 32 (3) 821 35 80

## TOESTEMMINGSFORMULIER

Studie: het effect van vitamine D op het ontstaan en verloop van borstkanker

***Deel enkel bestemd voor de patiënt(e) of de wettelijke vertegenwoordig(st)er:***

Hierbij bevestig ik, ondergetekende (naam & voornaam) \_\_\_\_\_ dat ik over de studie ben ingelicht en een kopie van de "Patiënteninformatie" en het "Toestemmingsformulier" ontvangen heb. Ik heb de informatie gelezen en begrepen. Mijn arts heeft mij voldoende informatie gegeven met betrekking tot de voorwaarden en de duur van de studie, én de voor- en de nadelen. Bovendien werd mij voldoende tijd gegeven om de informatie te overwegen en om vragen te stellen, waarop ik bevredigende antwoorden gekregen heb.

- Ik heb begrepen dat ik mijn deelname aan deze studie op elk ogenblik mag stopzetten nadat ik mijn arts hierover heb ingelicht, zonder dat dit mij enig nadeel kan berokkenen.
- Ik geef toestemming aan de verantwoordelijken van de opdrachtgever en aan regulerende overheden om inzage te hebben in mijn patiëntendossier. Mijn medische gegevens zullen strikt vertrouwelijk behandeld worden. Ik ben mij bewust van het doel waarvoor deze gegevens verzameld, verwerkt en gebruikt worden in het kader van deze studie.
- Ik ga akkoord met de verzameling, de verwerking en het gebruik van deze medische gegevens, zoals beschreven in het informatieblad voor de patiënt. Ik ga eveneens akkoord met de overdracht en de verwerking van deze gegevens in andere landen dan België.
- Ik ga akkoord met het gebruik door de opdrachtgever van deze gecodeerde medische gegevens voor andere onderzoeksdoeleinden.
- Ik stem geheel vrijwillig toe om deel te nemen aan deze studie en om mee te werken aan alle gevraagde onderzoeken. Ik ben bereid informatie te verstrekken i.v.m. mijn medische geschiedenis, mijn geneesmiddelengebruik en eventuele deelname aan andere studies.
- Ik ga ermee akkoord dat mijn huisarts/specialist en andere zorgverleners die bij mijn behandeling betrokken zijn, op de hoogte worden gebracht van mijn deelname aan dit onderzoek.

**Datum:** \_\_\_\_\_

**Handtekening patiënt(e) (of wettelijk vertegenwoordig(st)er):** \_\_\_\_\_

***Deel enkel bestemd voor het onderzoeksteam*** (het is niet noodzakelijk de onderzoeksarts die de informatie en IC-procedure met de patiënt doorloopt; dit wordt soms ook door een ander lid van het onderzoeksteam gedaan):

Ik, ondergetekende, \_\_\_\_\_, bevestig hierbij dat ik, \_\_\_\_\_  
(naam van de patiënt(e) voluit) of zijn wettelijke gegevens vertegenwoordig(st)er heb ingelicht en dat hij (zij) zijn (haar) toestemming heeft gegeven om deel te nemen aan de studie.

**Datum:** \_\_\_\_\_

**Handtekening:** \_\_\_\_\_

## 7.4 TNM classificatie

### T – primaire tumor

TX niet vast te stellen

T0 geen aanwijzingen voor primaire tumor

Tis carcinoom in situ

Tis (DCIS) ductaal carcinoom in situ

Tis (LCIS) lobulair carcinoom in situ

Tis (Paget) Paget van de tepel zonder tumor

N.B. Paget met tumor wordt geclassificeerd aan de hand van de tumorgrootte

T1 tumor 2 cm of kleiner in grootste dimensie

T1mic microinvasie 0,1 cm of minder in grootste dimensie (1)

T1a meer dan 0,1 cm maar niet meer dan 0,5 cm

T1b meer dan 0,5 cm maar niet meer dan 1 cm

T1c meer dan 1 cm maar niet meer dan 2 cm

T2 tumor meer dan 2 cm maar niet meer dan 5 cm in grootste dimensie

T3 tumor meer dan 5 cm in grootste dimensie

T4 tumor van elke grootte met directe uitbreiding in borstwand (ribben, intercostale spieren, en de m. serratus anterior, maar niet de m. pectoralis) of huid zoals beschreven in T4a t/m T4d

T4a uitbreiding in de borstwand

T4b oedeem (waaronder peau d'orange), of ulceratie van de huid van de borst, of huidsatellieten in de huid van de borst

T4c 4a en 4b

T4d inflammatoir carcinoom (2)

Ad 1) microinvasie is de uitbreiding van carcinoom buiten de basaalmembraan in omgevende weefsels in een gebied kleiner dan 0,1 cm. Als er verschillende gebieden met invasie zijn, moet de grootste gebruikt worden om microinvasie vast te stellen. (de verschillende gebieden moeten niet opgeteld worden). Multipole foci met microinvasie moeten wel vermeld worden.

Ad 2) inflammatoir carcinoom wordt gekenmerkt door diffuse huidinduratie met een erysipelasachtig aspect, meestal zonder onderliggende tumormassa. Als er in huidbiopten geen tumor wordt gevonden en er geen meetbare tumor is, is de pT classificatie pTX, terwijl de klinische classificatie T4d is.



Dimpling van de huid, tepelretractie en andere huidveranderingen, behalve zoals genoemd onder T4b en T4d, kunnen voorkomen bij T1, T2, of T3, zonder de classificatie te beïnvloeden.

**N – regionale lymfklieren (klinisch – c)**

NX niet te beoordelen (bijv. na eerdere klierdissectie)

N0 geen regionale kliermetastasen

N1 metastasen in mobiele ipsilaterale okselklier(en)

N2 metastasen in gefixeerde ipsilaterale okselklier(en), of klinisch ontdekte (3) ipsilaterale parasternale klieren zonder klinisch evidente okselkliermetastasen

N2a metastasen in onderling verbakken klieren, of met andere structuren vergroeide klieren

N2b metastasen uitsluitend in klinisch ontdekte (3) ipsilaterale parasternale lymfklieren zonder klinisch evidente okselkliermetastasen

N3 metastase in ipsilaterale subclaviculaire klier(en) met of zonder okselkliermetastasering; of klinisch ontdekte (3) ipsilaterale parasternale metastasering samen met klinisch evidente okselkliermetastasering; of metastasen in ipsilaterale supraclaviculaire lymfklier(en) met of zonder oksel- of parasternale kliermetastasering

N3a metastase subclaviculair

N3b metastasen parasternaal en in oksel

N3c metastase supraclaviculair

Ad 3) klinisch ontdekt = door middel van lichamelijk onderzoek of met behulp van beeldvorming (met uitzondering van lymfoscintigrafie)

**M – metastasen op afstand**

MX niet vast te stellen

M0 geen aanwijzingen voor afstandsmetastasen

M1 afstandsmetastasen

**pTNM – classificatie op basis van pathologie bevindingen**

**pT – primaire tumor**

Voor het vaststellen van de pT is een macroscopisch volledige excisie van de tumor vereist. De pT kan bepaald worden in geval van microscopische uitbreiding in een resectievlak.

NB. De pT is een maat van de invasieve component. Als er een grote in situ component is (bijv. 4 cm) en een kleine invasieve (bijv. 0,5 cm), wordt de tumor gecodeerd als pT1a.

**pN – regionale klieren (4)**

pNX niet vast te stellen

pN0 geen regionale metastasen (5)

pN1mi micrometasasen (groter dan 0,2 mm, maar niet groter dan 2 mm in grootste dimensie)

pN1 metastasen in 1 t/m 3 ipsilaterale okselklieren, en/of parasternale metastasen in klinisch onverdachte klieren die uitgenomen zijn naar aanleiding van schildwachtklier onderzoek

pN1a 1 t/m 3 okselkliermetastasen, waarvan tenminste een groter dan 2 mm

pN1b metastase in klinisch onverdachte parasternale klier uitgenomen naar aanleiding van schildwachtklier onderzoek

pN1c pN1a en pN1b

pN2 metastasen in 4 t/m 9 okselklieren, of in klinisch verdachte parasternale klier zonder okselkliermetastasen

pN2a 4 t/m 9 okselkliermetastasen, waarvan tenminste een groter dan 2 mm

pN2b metastase in klinisch verdachte parasternale klier zonder okselklier-metastasen

pN3 metastasen in minstens 10 okselklieren; of subclaviculaire metastase; of metastasering in klinisch verdachte parasternale klier(en) samen met okselkliermetastasen; of in meer dan 3 okselklieren samen met metastase in klinisch onverdachte parasternale klier; of ipsilaterale supraclaviculaire metastase

pN3a metastasen in minstens 10 okselklieren, waarvan tenminste een groter dan 2 mm, of metastase in subclaviculaire klier

pN3b metastase in klinisch verdachte parasternale klier(en) samen met okselkliermetastasen; of metastasen in tenminste 3 okselklieren samen met parasternale metastasen in klinisch onverdachte klieren, uitgenomen naar aanleiding van schildwachtklier onderzoek

pN3c metastase in supraclaviculaire klier

Ad 4) voor het vaststellen van de pN moet in ieder geval een dissectie van de level I okselklieren worden uitgevoerd. Als de okselklierstadiëring gebaseerd is op een schildwachtklierprocedure moet (sn) toegevoegd worden in de codering, bijv. pN1(sn).

Ad 5) gevallen waarbij uitsluitend geïsoleerde tumorcellen worden gevonden, worden als pN0 gecodeerd. Geïsoleerde tumorcellen zijn solitaire cellen of kleine clusters, minder dan 0,2 mm in grootste dimensie, die meestal door middel van immunohistochemische kleuring ontdekt worden; meestal ontbreekt een stromareactie (vaatproliferatie/desmoplasie).

#### **PM – afstandsmetastasen**

De categorieën corresponderen met de klinische M.

## Stadium

<b>Stadium</b>	<b>T-waarde</b>	<b>N-waarde</b>	<b>M-waarde</b>
Stadium 0	Tis	N0	M0
Stadium I	T1	N0	M0
Stadium IIA	T0	N1	M0
	T1	N1	M0
	T2	N0	M0
Stadium IIB	T2	N1	M0
	T3	N0	M0
Stadium IIIA	T0	N2	M0
	T1	N2	M0
	T2	N2	M0
	T3	N1	M0
	T3	N2	M0
Stadium IIIB	T4	Elke N	M0
Stadium IIIC	Elke T	N3	M0
Stadium IV	Elke T	Elke N	M1

## EPIDEMIOLOGIE

## Vitamine D en borstkanker

M. TIMMERS<sup>1</sup>, S. FAOUZI<sup>1</sup>, N. ODEUR<sup>1</sup>, M.T. HUIZING<sup>2</sup>, J. VAN OFFEL<sup>3</sup>, S. ALTINTAS<sup>2</sup>, W.A.A. TJALMA<sup>2,4</sup>

## Samenvatting

De relatie tussen vitamine D en borstkanker wordt duidelijk uit epidemiologische gegevens. Vitamine D-deficiëntie lijkt niet alleen het risico op een mammacarcinoom te verhogen, maar ook de prognose en de mortaliteit van borstkankerpatiënten negatief te beïnvloeden. Daarnaast lopen deze vrouwen door het vitamine D-tekort en de antitumorale behandeling ook een groot risico op osteoporose.

Op moleculair vlak werden verklaringen gezocht om deze gegevens omtrent het borstkankerrisico en de -prognose te staven. Calcitriol bezit anticarcinogene eigenschappen: het remt de celcyclus, het stimuleert differentiatie en apoptose, het vermindert de inflammatiegeïnduceerde tumorontwikkeling, de oestrogenafhankelijke proliferatie, de neiging tot angiogenese, invasie en metastasering en vormt een belangrijke effector in het immuunstelsel. Het specifieke vitamine D-receptorpolymorfisme van een vrouw zou de individuele gevoeligheid voor de vitamine kunnen bepalen. De invloed bij verschillende typen van borsttumoren is eveneens een aspect dat verder verduidelijkt moet worden. De ideale concentratie van vitamine D in het kader van kankerpreventie en -behandeling is nog niet gekend.

Sommige studies wijzen erop dat de relatie tussen de vitamine D-status en de carcinogenese omgekeerd zou zijn. Andere onderzoekers pleiten voor een U-vormige associatie, waarbij ook hogere waarden minder gunstig zijn. Verder onderzoek is nodig om dit te kunnen duiden en de rol van supplementatie te achterhalen.

## Inleiding

Borstkanker is de meest voorkomende maligniteit bij vrouwen: een op acht zal ooit met deze aandoening kampen (1). Vitamine D-deficiëntie is eveneens een vaak voorkomend probleem (2). Het ontstaan van borstkanker is multifactorieel: het betreft een interactie tussen het genoom en exogene risicofactoren. Vanwege de mogelijk grote rol die deze risicofactoren kunnen spelen, gaat steeds meer aandacht naar levensstijl en voeding als mogelijke preventie van kanker (3). Epidemiologisch onderzoek heeft uitgewezen dat vitamine D-deficiëntie geassocieerd is met een hoger risico op het ontwikkelen van een mammacarcinoom en met een slechtere prognose (3). Betekent dit dat supplementatie van de vitamine een gunstig effect kan hebben? De rol van vitamine D in het kader van kankerpreventie en -behandeling

wordt grondig onderzocht. In dit overzicht wordt getracht de relatie tussen vitamine D en het mammacarcinoom nader te onderzoeken en de optimale vitamine D-concentratie te achterhalen.

## Materiaal en methoden

Tot 27 februari 2012 werd er gezocht naar artikels op *Pubmed* en *Medline* onder de termen „vitamin D and cancer”, „vitamin D and breast cancer”, „immune system, vitamin D and breast cancer”, „vitamin D and the prognosis of breast cancer”, „vitamin D and the prevention of breast cancer”, „vitamin D and the prevention of the development of cancer”, „osteoporosis and vitamin D and breast cancer”, „bone health and breast cancer and vitamin D”, „bone loss and breast cancer and vitamin D”, „hypovitaminosis D and breast cancer” en „vitamin D deficiency and breast cancer”. Ook interessante artikels uit de literatuurlijst van de gevonden artikels werden opgenomen. Bij het selecteren van klinische studies werd er gekeken naar studies die de concentratie 25-hydroxyvitamine D (25OHD) in het serum daadwerkelijk hebben gemeten omdat dit de beste indicator is van de hoeveelheid vitamine D in het lichaam en omdat de auteurs vragenlijsten over vitamine D-opname uit voeding en UV-blootstelling minder betrouwbaar achten. Andere studies werden niet opgenomen.

<sup>1</sup> Student geneeskunde, Universitaire Multidisciplinaire Borstkliniek Antwerpen.

<sup>2</sup> Universitaire Multidisciplinaire Borstkliniek Antwerpen, Universitair Ziekenhuis Antwerpen-Universiteit Antwerpen.

<sup>3</sup> Dienst reumatologie, Universitair Ziekenhuis Antwerpen-Universiteit Antwerpen.

<sup>4</sup> Correspondentieadres: prof. dr. W.A.A. Tjalma, Universitaire Multidisciplinaire Borstkliniek Antwerpen, Universitair Ziekenhuis Antwerpen, Wilrijkstraat 10, 2650 Edegem; e-mail: wietjen.tjalma@uza.be

## Resultaten

### Epidemiologie

De anticarcinogene activiteit van vitamine D blijkt uit epidemiologische studies (3-5). Er lijkt een omgekeerde correlatie te bestaan tussen de hoeveelheid zonlicht en de borstkankerincidentie en -mortaliteit, vooral bij postmenopauzale vrouwen (5-8). Vrouwen die in zuidelijke gebieden wonen (< 46°N), vertonen een lager risico op borstkanker ten opzichte van vrouwen in noordelijke gebieden (> 49°N) (8). Meer zelfs, patiënten bij wie de diagnose in de zomer of de herfst gesteld is, hebben een betere prognose dan lotgenoten bij wie de behandeling in de winter gestart wordt (9). Vermoedelijk speelt de aanmaak van cholecalciferol in de huid hier een rol (5). Daarnaast wordt er ook een lager risico op borstkanker gezien bij mensen met een vitamine D-rijk voedingspatroon. Deze vaststelling blijkt in sommige studies echter enkel bij premenopauzale vrouwen (5, 7, 10).

De Wereldgezondheidsorganisatie (WHO) stelt dat concentraties van vitamine D lager dan 10 ng/ml een deficiëntie aanduiden en concentraties lager dan 20 ng/ml op een insufficiëntie wijzen (3, 11). De meeste experts nemen echter aan dat een vitamine D-gehalte van minder dan 20 ng/ml wijst op een deficiëntie (5). Dit betekent dat de meeste mensen in de Verenigde Staten en de meeste Europeanen deficiënt of insufficiënt zijn (2). Risicofactoren voor het ontwikkelen van een deficiëntie zijn onder meer obesitas, een zuivelarm dieet, een donkere pigmentatie van de huid, een hogere leeftijd en weinig zonlicht (5). Gehalten tussen 35 en 80 ng/ml worden als voldoende beschouwd en toxiciteit treedt op vanaf een niveau van 80 ng/ml (11). Andere studies wijzen er echter op dat intoxicatieverschijnselen pas optreden bij hogere waarden, namelijk boven 150 ng/ml. Men weet reeds dat de concentratie het best boven 30 ng/ml wordt gehouden om de intestinale calciumopname te optimaliseren en het ontstaan van secundaire hyperparathyreoïdie en botresorptie te vermijden (5). Voor kankerpreventie is de ideale concentratie nog niet gekend.

Uit tal van studies bleek dat vitamine D-deficiëntie prominent aanwezig is bij borstkanker, gaande van 24% tot 74% (9, 12-17). Er is een omgekeerde correlatie gevonden tussen enerzijds de incidentie en de graad van verschillende tumoren en anderzijds de vitamine D-status (3, 5, 6). Lowe et al. stelden vast dat vrouwen met een serum-25OHD-concentratie lager dan 20 ng/ml een vijfmaal hoger risico vertonen op het ontwikkelen van borstkanker (18). Uit de studie van Yao et al. bleek dat een optimaal ( $\geq 30$  ng/ml) serum-25OHD-gehalte geassocieerd is met een 63% lager risico op borstkanker (15). Rejnmark et al. vonden ook een omgekeerde statistisch significante relatie tussen de serum-25OHD-concentratie en het risico op een mammacarcinoom (19). Abbas et al. hebben in twee aparte studies – één uitgevoerd bij premenopauzale en één bij postmenopauzale

vrouwen – gekeken naar de relatie tussen de serum-25OHD-concentratie en het risico op het ontwikkelen van borstkanker (20, 21). Hogere 25OHD-concentraties (> 30 ng/ml) leken in beide studies samen te gaan met een significant lager risico op borstkanker. Het zou gaan om een niet-lineair verband met een drempelwaarde. In de studie van Bertone-Johnson et al. kwam men tot het besluit dat het 25OHD-serumgehalte inderdaad omgekeerd geassocieerd is met het borstkankerrisico, maar dit resultaat was niet significant (22).

Ook de prognose en de mortaliteit van kankerpatiënten zouden beter zijn als ze over een grotere serumconcentratie van de vitamine beschikken (3, 5, 6, 11). Studies hebben uitgewezen dat de ziektevrije en de globale overleving bij borstkankerpatiënten met hypovitaminose D (< 10 ng/ml) lager ligt dan bij hun lotgenoten met een voldoende vitaminegehalte ( $\geq 30$  ng/ml). Sommige studies met vrouwen na de menopauze konden dit verschil in overleving echter niet bevestigen (5, 11, 23). Patiënten met vitamine D-deficiëntie ontwikkelen eveneens vaker secundaire tumoren. Dit is op lange termijn een van de meest bedreigende complicaties bij patiënten met borstkanker (16).

Freedman et al. zijn er niet in geslaagd om een significant verband aan te tonen tussen de serum-25OHD enerzijds en de kankermortaliteit of het risico op borstkanker anderzijds (24, 25). McCullough et al., Almquist et al. en Jacobs et al. eindigden met hetzelfde besluit (tabel 1) (26-28).

### Vitamine D: metabolisme en functie

De vitamine D in het lichaam is slechts voor een klein gedeelte afkomstig van voeding. De voornaamste bron is de endogene productie van vitamine D<sub>3</sub> uit 7-dehydrocholesterol in de huid door blootstelling aan UVB-stralen. De vitamine D uit de voeding en de huid wordt in de lever omgezet tot het prohormoon 25OHD door het 25-hydroxylase (CYP27A1). Dit prohormoon is de beste indicator van de vitamine D-status in het lichaam wegens zijn lange halfleven. In de nieren wordt dit prohormoon een tweede keer gehydroxyleerd tot het actieve 1,25-dihydroxyvitamine D (1,25diOHD), ook „calcitriol“ genoemd, door het enzym 1- $\alpha$ -hydroxylase (CYP27B1). Eens calcitriol aangemaakt is, bindt het aan de vitamine D-receptoren (VDR) aanwezig in alle lichaamscellen. Die receptoren werken dan als ligandgeactiveerde transcriptiefactoren die de genexpressie beïnvloeden en zo de effecten van vitamine D in het lichaam bewerkstelligen (5, 7). Het enzym 1- $\alpha$ -hydroxylase schijnt echter ook in meerdere extrarenale weefsels aanwezig te zijn, waaronder de huid, de lymfeknopen, het colon, de colonkankercellijnen HT-29 en Caco-2, de pancreas, het bijniemerg, de hersenen, de placenta, het prostaatepithel en de MCF-7-borstkankercel lijn, waardoor ook daar actieve vitamine D lokaal aangemaakt kan worden en op een paracrine manier zijn functie kan uitoefenen (5).



Vitamine D kan bijgevolg meer beschouwd worden als een (pro)hormoon dan als een vitamine (2, 6). Vitaminen zijn strikt genomen immers stoffen die het lichaam niet in voldoende mate zelf kan aanmaken en bijgevolg noodzakelijk zijn in de voeding. Vitamine D oefent zijn invloed bovendien uit via de VDR, in tegenstelling tot vitaminen, die betrokken zijn bij biochemische reacties (2).

#### De rol van vitamine D in de carcinogenese

Ook op moleculair vlak is de antitumorale werking van vitamine D beschreven (3, 5-7, 11). De grootste vitamine D-gevoeligheid wordt teruggevonden bij het mammacarcinoom, alsook bij colon- en rectumkanker. Ook bij maligniteiten van de blaas, de hersenen, het endometrium, de oesofagus, de galblaas, de nieren, de longen, de eierstokken, de pancreas, de prostaat en de maag zou calcitriol een beschermende rol spelen (3). Dit kan verklaard worden door de hierboven reeds aangehaalde vaststelling dat verschillende extrarenale weefsels, waaronder ook de borst, het enzym  $\alpha$ -1-hydroxylase tot expressie brengen en actieve 1,25diOHD uit circulerende 25OHD kunnen aanmaken. De lokaal geproduceerde calcitriol werkt als transcriptiefactor die bijdraagt tot het behoud van een gedifferentieerd fenotype, weerstand tegen cellulaire stress en bescherming van het genoom en die met andere woorden een bescherming biedt tegen het ontwikkelen van kanker (3).

De beschermende effecten van VDR-agonisten komen tot stand door het stoppen van de celcyclus in de G0/G1- of de G2/M-fase, de inductie van differentiatie in de cellijnen, de stimulatie van celdood door apoptose en autofagie, alsook de vermindering van inflammatie, wat op zich een risicofactor is voor tumorontwikkeling (3). Bovendien nemen onder invloed van calcitriol de oestrogensynthese en -activiteit af, met een verminderde oestrogeeninduceerde proliferatie tot gevolg (5, 6). Ook op de angiogenese, de metastasering en het immuunstelsel heeft calcitriol een gunstige invloed (6, 29). Al deze aspecten worden in de volgende paragrafen besproken.

#### Effecten op de cellulaire groei

Er zijn verschillende manieren aangetoond waarop 1,25diOHD de celcyclus remt (3, 5). Globaal is er een daling van het mitogene effect van onder andere oestrogeen, de epitheliale groeifactor (EGF), de insulineachtige groeifactor 1 (IGF-1) en de keratinocytengroeifactor (KGF), alsook een stimulatie van de effecten van negatieve factoren zoals de transformerende groeifactor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (3). Onder invloed van calcitriol neemt de productie van cyclineafhankelijke kinaseremmers (zoals p21 en p27 in MCF-7-cellijnen) toe en wordt de expressie van de oncogenen c-myc en c-fos beïnvloed (3, 5, 11). In veel cellijnen treedt er gelijktijdig met dit groei arrest een

differentiatie op met de inductie van merkers zoals caseïne, lipidendruppels en adhesiemoleculen (3).

Calcitriol schijnt apoptose te kunnen opwekken in borstkankercellen, maar niet in gezond epitheliaal weefsel. Vermoedelijk kan dit verklaard worden door de inductie van meer proapoptotische eiwitten zoals „Bcl-2-associated X protein” (Bax) en „Bcl-2 homologous antagonist killer” (Bak) en een relatief gezien verminderde expressie van antiapoptotische proteïnen zoals „B cell lymphoma 2” (Bcl-2) en „B cell lymphoma extra large” (Bcl-XL) (5, 6). Een andere redenering is dat vitamine D zorgt voor de aantrekking van  $Ca^{2+}$  vanuit de extracellulaire ruimte en de mobilisatie van  $Ca^{2+}$  uit intracellulaire opslagplaatsen, waardoor in borstkankercellen de concentratie van intracellulair  $Ca^{2+}$  stijgt. Normale epitheelcellen zijn in staat om de vrijgekomen  $Ca^{2+}$  tegen te houden, maar in borstkankercellen neemt het calciumgehalte toe. Door deze stijging worden er twee proteasen ( $Ca^{2+}$ -afhankelijk  $\mu$ -calpain en  $Ca^{2+}$ -afhankelijk caspase-12) geactiveerd en wordt er een vitamine D-afhankelijke apoptose uitgevoerd (6, 30).

1,25diOHD verbetert de sensitiviteit van borstkanker voor verschillende tumorbehandelingen. Vitamine D maakt apoptose mogelijk opgewekt door adriamycine, taxol, bestraling en tamoxifen. Dit betekent dat aangepaste hoeveelheden van vitamine D de effecten van deze behandeling kunnen verbeteren en de overleving kunnen verlengen (16).

Niet enkel in de borstkliercellen, maar ook in de fibroblasten en de adipocyten die tussen het borstepitheel liggen, wordt er actieve calcitriol geproduceerd door het  $\alpha$ -1-hydroxylase. In deze vetcellen leidt signaaltransductie via de VDR tot het vrijkomen van remmende groeifactoren voor de celcyclus van de nabijgelegen epitheelcellen. Vermits de metabolieten van het vetoplosbare vitamine D opgeslagen worden in vetweefsel, kan het effect van adipocyten op tumorsuppressie erg groot zijn. Dit moet nog nader onderzocht worden (3).

#### Effecten van inflammatie

Inflammatie speelt een rol in de ontwikkeling en de progressie van veel soorten kankers. Tal van mediators, zoals cytokinen, prostaglandinen, reactieve zuurstofmoleculen en stikstof, werken carcinogenese in de hand via verschillende signaaltransductie cascaden in het neoplasma. Volgens recente gegevens zou een deel van de antitumorale effecten van 1,25diOHD het gevolg kunnen zijn van de anti-inflammatoire werking (6).

Prostaglandinen bevorderen de ontwikkeling en de progressie van tumoren door het stimuleren van cellulaire proliferatie, het bieden van resistentie tegen apoptose, het bevorderen van angiogenese en invasie en het activeren van carcinogenen. Daarnaast bevorderen ze ook de aanmaak van aromatase, wat zorgt voor de omzetting van androgenen naar oestrogenen, met een positief gevolg voor de oestrogeenafhankelijke proliferatie in de borst. Bijgevolg wijzen meer en meer studies erop dat

cyclo-oxygenase-2 (COX-2), dat zorgt voor de productie van prostaglandinen uit arachidonzuur, een oncogen zou zijn. De expressie van het enzym neemt toe door mitogenen, cytokinen, tumorpromotoren en groeifactoren tijdens de carcinogenese. Overexpressie komt meer voor bij agressievere kankers, grotere/hoggradige tumoren, oestrogenereceptor-negatieve (ER-negatieve) tumoren en kankers met overexpressie van de humane epidermale groeifactor-receptor-2 (HER2/neu). In 40% van de invasieve borstkankers wordt een verhoogde concentratie van COX-2 gevonden. De ziektevrije overleving is langer als het COX-2-niveau lager is en omgekeerd. De moleculen zou dan ook een belangrijk doelwit kunnen worden in de behandeling van kanker. In sommige studies is een langdurige inname van niet-steroïde anti-inflammatoire geneesmiddelen (NSAID's), die COX-2 remmen, bijvoorbeeld gecorreleerd met de afgenomen sterftecijfers van een aantal kankers, waaronder borst- en colorectale kanker, maar ook maag-, long-, prostaat-, blaas- en ovariumkanker. In diersmodellen kunnen NSAID's het ontstaan van een mammacarcinoom zelfs tegengaan (6). 15-hydroxyprostaglandinedehydrogenase zou als tumorsuppressor kunnen functioneren in borstweefsel omdat het prostaglandinen omzet naar minder actieve ketoderivaten (6). Calcitriol vermindert de prostaglandineconcentratie door de transcriptie van COX-2 te verminderen en die van 15-hydroxyprostaglandinedehydrogenase te verhogen. Op deze wijze zorgt de vitamine voor een daling van de carcinogene effecten van prostaglandinen (5). Daarenboven vermindert actieve vitamine D het aantal prostaglandinereceptoren, namelijk EP en FP, die normaal gezien aanwezig zijn in tumorcellen, alsook in de omliggende stromacellen, macrofagen en endotheelcellen. Door de binding van prostaglandinen aan deze receptoren worden er positieve feedbacksignalen gecreëerd die de transcriptie van COX-2 bevorderen, wat de progressie van kanker stimuleert (6).

Nucleaire factor kappa bèta (NF- $\kappa$ B) is een transcriptiefactor met een belangrijke rol in het aangeboren immuunsysteem en inflammatie. In normale omstandigheden is het een dimeer gebonden aan remmende proteïnen. Pro-inflammatoire stimuli leiden tot fosforylatie en degradatie van die remmende proteïnen, alsook tot translocatie van NF- $\kappa$ B naar de nucleus voor de transcriptie van pro-inflammatoire cytokinen, chemokinen en antiapoptotische genen. Neoplastisch weefsel bezit een overmaat aan deze transcriptiefactor, wat de inflammatie en de carcinogenese bevordert. Calcitriol heeft een modulerend effect op deze transcriptiefactor (6).

Een ander anti-inflammatoir effect van vitamine D is de vermindering in synthese van pro-inflammatoire cytokinen, zoals interleukine-6 (IL-6), een belangrijke mediator in de inflammatiegeïnduceerde tumorontwikkeling. Dit komt tot stand doordat calcitriol de transcriptie van de tyrosineproteïnekinasereceptor MPK5 doet toenemen. MPK5 defosforyleert en inactieveert het mitogeengeactiveerde proteïnekinase (p38-MAPK) en het stresseiwit „Jun N-terminal kinase” (JNK) (6). Deze eiwitten spelen ook een rol in de angiogenese en worden in een latere paragraaf nog besproken.

### Effecten op oestrogeen

In een normale borst komt aromatase enkel tot expressie in de fibroblasten van het vetweefsel en de preadipocyten. Bij kanker kunnen ook de tumorcellen het enzym aanmaken. Vitamine D doet de expressie van aromatase in de borstkankercellen en de preadipocyten errond dalen, enerzijds rechtstreeks door een transcriptionele repressie en anderzijds onrechtstreeks door een gedaalde productie van prostaglandinen die de expressie van aromatase stimuleren (6). Op deze wijze is er een vitamine D-afhankelijke daling van oestrogeen. Ook de activiteit van oestrogeen neemt af door de vitamine dankzij de verminderde expressie van de ER (5, 6). Er lijkt echter geen samenhang te bestaan tussen de expressie van de VDR, de ER en de progesteronreceptor (PR) (10). Oestrogeen doet de concentratie van de VDR en het 1- $\alpha$ -hydroxylase stijgen en kan op deze manier een subklinische deficiëntie van calcitriol verhullen (5).

### Effecten op invasie, metastasering en angiogenese

Een vitamine D-tekort zou ook de proliferatie van gemetastaseerde borstkankercellen in het bot bevorderen. De verklaring hiervoor kan liggen in het feit dat vitamine D-deficiëntie, hetgeen vaak voorkomt bij een gevorderd mammacarcinoom, leidt tot botresorptie en zo de micro-omgeving verandert. Zo zou secundaire hyperparathyreoïdie metastasering bevorderen (3, 5, 11). Het parathormoon is bovendien verwant aan de groeifactor „parathyroid-related peptide” en deze twee peptiden binden aan dezelfde receptor in verschillende soorten tumoren (11). De preventie van botresorptie heft deze effecten slechts gedeeltelijk op, wat erop wijst dat een gebrek aan calcitriol ook het gedrag van de tumorcellen zelf kan veranderen in de richting van een toegenomen metastasering. Uit een studie is gebleken dat de voortdurende toediening van een vitamine D-analoog, namelijk EB1089, het aantal en de ernst van de botmetastasen verminderde (3). Bovendien wekt calcitriol de expressie van E-cadherine op, wat invasie vermindert. Ook de activiteit van matrixmetalloproteïnasen (MMP's), de „urokinase-type plasminogen activator” en de „tissue-type plasminogen activator” wordt verminderd, terwijl de activiteit van de MMP-1-remmer stijgt. Dit alles beperkt de mogelijkheid tot metastasering (5).

Vitamine D remt de angiogenese in het tumorweefsel in vitro en in diersproeven. Er wordt een daling van proangiogene factoren vastgesteld, zoals interleukine-8 (IL-8), NF- $\kappa$ B, angiopoëtiene-1 en „platelet-derived growth factor” (PDGF). Er is ook een daling van „hypoxie-induceerbare factor-1” (HIF-1), met als gevolg een verminderde vasculaire endotheliale groeifactor (VEGF). Dit komt tot stand door enerzijds een directe transcriptionele repressie van HIF-1 en anderzijds een lagere expressie van het prostaglandine E2 (PGE2), wat HIF-1 normaal gezien doet stijgen. Door COX-2 te



doen dalen, vermindert calcitriol dus niet enkel de prostaglandinegeïnduceerde inflammatie, maar ook de PGE<sub>2</sub>-gestimuleerde angiogenese. VEGF wekt bovendien normaliter p38-MAPK en JNK op, noodzakelijk om COX-2-expressie in endotheelcellen te bewerkstelligen, wat een soort van positieve feedback geeft. Calcitriol remt de p38-MAPK-sig-naalcascade en JNK en doet VEGF en COX-2 afnemen. Al deze afzonderlijke effecten dragen bij tot remming van de angiogenese (6).

#### Effecten op het immuunsysteem

Het immuunsysteem speelt een belangrijke rol in het identificeren en elimineren van tumorcellen. Vitamine D is een belangrijke effector in dit immuunstelsel. Calcitriol zorgt namelijk voor de activatie van macrofagen, die vervolgens kankercellen vernietigen. Om volledig geactiveerd te kunnen worden, hebben de macrofagen vitamine D3-bindingproteïne (Gc-proteïne) nodig, een voorloper van een macrofaagactivator. De concentratie van dit Gc-proteïne bij patiënten met borstkanker is gedaald, deels door een gestegen activiteit van een enzym (nagalase) uitgescheiden door de tumorcellen. Bij de toediening van Gc-macrofaagactivator, Gc-proteïne gecombineerd met  $\beta$ -galactosidase en sialidase aan patiënten met gemetastaseerde borstkanker is aangetoond dat er een stijging optreedt van het Gc-proteïne, alsook dat er geen recidieven meer zijn gedurende meer dan vier jaar (29, 31).

#### De invloed van vitamine D-receptoren op de prognose

Vermits de VDR-expressie in neoplasieën is toegenomen, kan de lichaamsreserve van vitamine D ook een invloed hebben op de progressie van de ziekte en niet enkel op het ontstaan ervan (3, 5, 6, 10). Tumoren met een grotere expressie zijn geassocieerd met een langere ziekte-vrije periode en een langere overleving (10). De receptor zou bijgevolg een doelwit kunnen worden in de behandeling. Door de concentratie aan vitamine D of synthetische vitamine D-analogen te laten stijgen, zou de prognose van de patiënt of de respons op andere therapieën zoals chemo en bestraling kunnen verbeteren (3, 5). Bij gevorderde ziekte wordt soms echter een afname van de VDR-expressie gezien zodat er een soort van resistentie optreedt tegen de endogene antitumorale effecten van calcitriol. Ook studies met VDR-knock-outmuizen tonen een toegenomen ontwikkeling en proliferatie van borstkankercellen (specifieke effecten, proliferatie, apoptose, oxidatieve DNA-schade, chronische inflammatie, een gestegen activatie van oncogenen en verlies van tumorsuppressorgenen, een toegenomen gevoeligheid voor de carcinogene effecten van chemische stoffen en het blokkeren van de groei-effecten van oestrogeen), wat bevestigt dat de receptor nodig is om de anticarcinogene effecten van calcitriol te bewerkstelligen (3, 5).

Er bestaan meerdere VDR-polymorfismen. Deze polymorfismen bepalen de persoonsgebonden gevoeligheid voor calcitriol: ze kunnen de activiteit van de receptor verhogen of verlagen. In studies met verschillende tumoren wordt soms een positieve en soms een negatieve correlatie gevonden tussen de prognose en een aantal specifieke polymorfismen. In een studie waarin zowel de 25OHD-concentratie als de VDR-polymorfismen zijn gemeten, is de positieve correlatie van verschillende polymorfismen met overleving echter enkel significant wanneer mensen een lage serumconcentratie van vitamine D hebben. Dit leidt tot de hypothese dat VDR-polymorfismen die zorgen voor een sterkere werking van de receptor de negatieve gevolgen van hypovitaminose doen afnemen, maar bij normale vitamine D-waarden niet veel voordeel bieden (11).

Hoewel een aantal studies een omgekeerd verband tussen de vitamine D-status en de prognose aantonen, zijn er ook resultaten die wijzen op een U-vormige associatie waarbij het risico op borstkanker en overlijden toeneemt bij zowel een hoge als een lage concentratie (2, 11). Dit zou dus betekenen dat een hogere vitamine D-waarde eveneens prognostisch ongunstig is. Polymorfismen die leiden tot een toegenomen VDR-activiteit, zouden bijgevolg positief zijn in geval van hypovitaminose, maar negatief bij mensen met hogere vitamine D-waarden, al dan niet bekomen door supplementen. Hoewel lage calcitriolreserves in het lichaam dus geassocieerd zijn met een slechtere prognose, moet er nog verder onderzoek verricht worden naar het toedienen van supplementen, de juiste concentratie en de relatie met VDR-polymorfismen (11).

#### Typen borstkanker

Er zijn vijf subtypen van borstkanker beschreven. Deze typen zijn lumaal A (ER- en/of PR-positief en HER2-negatief), lumaal B (ER- en/of PR-positief en HER2- of Ki-67-positief), non-lumaal HER2+/neu (ER- en PR-negatief en HER2-positief), basal-like (ER-, PR- en HER2-negatief en CK5/6- en/of HER1-positief) en niet-geclassificeerd/triple negatief (ER-, PR-, HER2-, CK5/6- en HER1-negatief) (15).

In het algemeen zijn de serumconcentraties van vitamine D het laagst (19,9 ng/ml) bij premenopauzale patiënten met triple-negatieve borstkanker en vertonen patiënten met ER-positieve borstkanker hogere waarden (23 ng/ml) dan patiënten met ER-negatieve borstkanker (21,3 ng/ml). Een hogere serumconcentratie zorgt dan ook voor een verlaging van de kans op het ontwikkelen van ER- en triple-negatieve borstkanker. Ook postmenopauzale patiënten vertonen een daling van het risico bij hogere waarden van vitamine D (15).

De relatie tussen vitamine D en het risico op borstkanker was sterker bij PR-negatieve tumoren (odds ratio (OR) = 0,29 bij een concentratie van  $\geq 24$  ng/ml versus een concentratie van  $< 12$  ng/ml) dan bij PR-positieve tumoren (OR = 0,73) (20). De VDR-expressie,



de affiniteit van deze receptor voor zijn ligand calcitriol en het vitaminegeïnduceerde arrest van de celcyclus zijn sterker in borstkankercellijnen met ER dan in ER-negatieve borstkankers, maar in beide gevallen hebben vitamine D-analogen hun nut (3, 16). De remming van proliferatie en de regressie van bestaande tumoren door VDR-agonisten liggen in dezelfde grootorde als de remming en de regressie door oestrogenantagonisten, zoals tamoxifen bij oestrogeengevoelige tumoren (3).

Uit een studie is gebleken dat er een significante associatie bestaat tussen lymfekliermetastasen en de vitamine D-concentratie, maar enkel in niet-luminale typen. Ook ziet men dat er een langere ziektevrije overleving is bij vrouwen met een voldoende concentratie ( $\geq 30$  ng/ml) ten opzichte van vrouwen met een deficiënte concentratie ( $< 20$  ng/ml). De onderzoekers besluiten dat de vitamine D-concentratie enkel prognostisch is bij de luminale borstkankers. Een mogelijke verklaring voor het feit dat de vitamine D-concentratie bij niet-luminale celtypen niet prognostisch zou zijn, is dat vitamine D bij luminale celtypen synergistisch werkt om de effecten van oestrogenen te onderdrukken (16).

#### Vitamine D als chemopreventie en therapie

De aanbevolen dagelijkse hoeveelheid vitamine D bedraagt 600 IU voor mensen jonger dan 70 jaar en 800 IU voor ouderen. Dit is niet voldoende om een eventueel bestaand tekort te corrigeren (5).

Volgens sommigen ligt de optimale vitamine D-concentratie in de oncologie tussen 40 en 60 ng/ml (5). Om deze waarden te bereiken, is het nodig om 2.000 tot 4.000 IU supplementen aan 25OHD dagelijks toe te dienen, afhankelijk van de blootstelling aan de zon, de leeftijd, het geslacht, het lichaamsgewicht en de serumconcentratie (3). Voor elke 100 IU die men toedient, neemt de serumconcentratie toe met ongeveer 1 ng/ml. De sterkste toename treft men aan bij patiënten met een lage beginwaarde: naarmate de concentratie hoger wordt, neemt de respons op supplementen af. De frequentie van toedienen is ondergeschikt aan de cumulatieve hoeveelheid, dus wekelijks of maandelijks grotere hoeveelheden aan patiënten geven, lijkt ook gunstig te zijn (5). Bovendien zou het mogelijk kunnen zijn dat de therapietrouw hierdoor toeneemt.

Zoals eerder aangehaald, vermoeden sommigen dat het verband tussen enerzijds het risico op kanker en de geassocieerde mortaliteit en anderzijds de vitamine D-status U-vormig is. Dit zou betekenen dat men moet opletten met te hoge concentraties en men de serumconcentratie nauwgezet moet opvolgen bij de toediening van supplementen (2, 11).

Lappe et al. hebben een klinische studie uitgevoerd waarbij de patiënten gerandomiseerd toegewezen worden aan een van de volgende interventies: calciumsupplementen, calcium- en vitamine D-supplementen of een placebo. Patiënten in de calcium- en de vitamine D-arm bleken een significant lager risico te hebben op

het ontwikkelen van verschillende typen kanker. Uit hetzelfde onderzoek bleek ook dat de dagelijkse toediening van 1.000 IU een suboptimale serum-vitamine D-concentratie kon corrigeren zonder toxische verschijnselen. Er was in die studie echter slechts een lage incidentie van borstkanker, de cijfers moeten dus met de nodige voorzichtigheid geïnterpreteerd worden (32). Er zijn nog andere studies uitgevoerd omtrent supplementatie als preventie of deel van de behandeling, maar vaak wordt de serumconcentratie van 25OHD niet gekwantificeerd met als gevolg dat gegevens over de optimale serumwaarden ontbreken.

De huidige gegevens wijzen erop dat de antitumorale activiteit van vitamine D vooral doeltreffend is in de beginfase van de ziekte en als chemopreventie. De werking is immers vooral antiproliferatief, anti-inflammatoir, pro-differentiatie en eerder cytostatisch dan cytolytisch. Het is echter nog te vroeg om een effect bij meer gevorderde carcinomen uit te sluiten. Studies zullen dit moeten uitwijzen. Bovendien moet niet enkel de doelconcentratie worden bepaald, maar moet men ook nagaan met welke toedieningsvorm het beste effect bereikt wordt: met vitamine D<sub>3</sub>, het actieve calcitriol, 1,25diOHD-analogen of combinaties van vitamine D met andere middelen (6). Daarnaast lijkt het nuttig om te onderzoeken op welke leeftijden vitamine D het meest nodig is (3, 6). Men weet reeds dat de toediening van vitamine D<sub>3</sub> beter is dan calcitriol (6). Tussen de 1,25diOHD-concentratie en borstkanker is er immers geen associatie aantoonbaar (7). Men weet namelijk dat er een expressie is van 1- $\alpha$ -hydroxylase in borstkanker. Hierdoor is het mogelijk om 25OHD toe te dienen en een lokale productie van calcitriol te bekoemen in het tumorweefsel. De actieve vorm van vitamine D kan bijgevolg zijn antitumorale effecten direct in het neoplastische weefsel uitoefenen, met minder risico op hypercalciëmie, hypercalciurie en nierstenen. Ook het intermitterend toedienen van hogere dosissen in plaats van een veelvuldiger inname vermindert dit risico. Er ontstaat slechts af en toe hypercalciëmie en zelden een niersteen. Vitamine D-analogen zouden eveneens minder leiden tot hypercalciëmie, met een even sterke of zelfs toegenomen antiproliferatieve activiteit. EB1089 (seocalcitol) toont in fase I-studies geen echt antikankereffect, zoals een regressie van de tumorgrootte, maar geeft wel een stabilisatie van gevorderde mammacarcinomen bij 6 van de 36 patiënten. Bij 2 van de 22 mensen met een hepatocellulair carcinoom wordt er zelfs een gedeeltelijke tot volledige remissie bereikt. Vermits dit een dodelijke maligniteit is, zijn deze resultaten zeker hoopgevend (6).

Omdat calcitriol het enzym 24-hydroxylase (CYP24) opwekt, wat 1,25diOHD en 25OHD naar minder actieve metabolieten helpt om te zetten, is het antiproliferatieve effect van calcitriol omgekeerd evenredig met de CYP24-concentratie. CYP24-remmers zoals liarozol, ketoconazol of genisteïne versterken dus de cellulaire respons op calcitriol. Een combinatietherapie van vitamine D met zulke remmers zou bijgevolg zijn nut kunnen hebben in de oncologie. Het kan bovendien ook toelaten om een lagere dosis vitamine D te gebruiken. Een andere

mogelijkheid zou zijn om structurele analogen van calcitriol te gebruiken die minder snel gehydroxyleerd worden door CYP24 en bijgevolg actiever blijven (6).

#### Vitamine D en osteoporose bij borstkankerpatiënten

Osteoporose wordt door de WHO gedefinieerd als een verhoogd risico op breuken. Omdat dat risico afhangt van meerdere factoren, heeft men Frax ontwikkeld. Dit is een algoritme waarmee men aan de hand van de botmineraaldensiteit (BMD) van de femur nek enerzijds en een aantal klinische risicofactoren anderzijds een oppuntstelling kan maken van het fractuurrisicoprofiel van de patiënt (33). De BMD moet gemeten worden via „dual-energy X-ray“-absorptiometrie (DEXA). De verkregen BMD-waarde wordt vergeleken met de optimale BMD voor hetzelfde geslacht. Afwijkingen ten opzichte van de referentiewaarden worden uitgedrukt in standaardafwijkingen en noemt men „T-scores“. Een T-score lager dan -2,5 wijst op osteoporose en een T-score tussen -2,5 en -1,0 op osteopenie (34).

Klinische risicofactoren zijn hypovitaminose D, aromataseremmertherapie, een leeftijd ouder dan 65, het vrouwelijke geslacht, een doorgemaakte menopauze, een BMI minder dan 20, een familiale voorgeschiedenis van een heupfractuur, een persoonlijke voorgeschiedenis van fragiele breuken op een leeftijd ouder dan 50 jaar, een oraal corticoïdengebruik langer dan zes maanden en roken (34-37). Belangrijke risicofactoren specifiek voor borstkankerpatiënten zijn enerzijds sommige antitumorale therapieën en anderzijds de mogelijke vitamine D-deficiëntie. Voor hormoonreceptorpositieve borsttumoren is er naast chemotherapie ook een endocriene behandeling (38, 39). Deze endocriene behandeling kan bestaan uit aromataseremmers, gonadotrofinevrijzettend-hormoonagonisten (GnRH-agonisten) of selectieve oestrogenreceptormodulatoren (SERM's) (35). Botverlies kan veroorzaakt worden door deze borstkankertherapie en dit heeft een ander karakter dan bij seniele osteoporose: het kent een abrupte start en een snellere evolutie (34, 37).

Chemotherapie en GnRH-agonisten wekken premenopauze ovarieel falen op en aangezien het ovarium een belangrijke bron is van oestrogenen, ontstaat er op deze wijze osteoporose (40).

De werking van SERM's is weefselafhankelijk: in de borstkankercellen is er een antioestrogeneffect, terwijl het pro-oestrogeen kan werken in bijvoorbeeld het endometrium. Ook ziet men een verschil van het effect op het bot afhankelijk van de hormonale status van de patiënt: premenopauzaal is er een nefaste invloed op het bot, postmenopauzaal is het omgekeerde waar (40).

Aromataseremmers verhinderen de omzetting van androgenen naar oestrogenen, een conversie die plaatsgrijpt onder invloed van het enzym aromatase. Hierdoor ontstaat er een hypo-oestrogene toestand die zijn weerslag heeft op het bot (34, 39, 40). Oestrogen remt immers de productie van de receptoractivator van

nucleaire factor  $\kappa$ B-ligand (RANKL) in de osteoblast, waardoor de osteoclastgemedieerde botresorptie normaliter geremd wordt (6). Studies hebben aangetoond dat de BMD daalt en dat het aantal fracturen per jaar stijgt onder aromataseremmertherapie (34, 37, 39). De combinatie van calcitriol met aromataseremmers bleek een positief effect te hebben bij postmenopauzale kankerpatiënten, want calcitriol zou een selectieve aromatasemodulator zijn die aromatase-expressie enkel in de borst remt en op andere plaatsen de oestrogensynthese laat gebeuren of zelfs doet toenemen, zoals in het bot (6).

Zoals eerder aangehaald, vormt een tekort aan vitamine D een risicofactor voor het ontwikkelen van fracturen (34-37). Verschillende studies hebben aangetoond dat hypovitaminose D zeer prominent is onder borstkankerpatiënten en dat die parameter gerelateerd is aan een lage BMD en een hogere kans op metastasen (3, 5, 11, 14, 37, 41). Toch wordt in de praktijk het vitamine D-gehalte niet systematisch gecontroleerd bij de aanvang van een osteoporose-inducerende behandeling of opgevolgd gedurende de therapie (42, 43). In de studie van Hadji et al. besloot men dat een oppuntstelling van het fractuurrisico van de patiënt gemaakt moet worden bij de aanvang van een behandeling met aromataseremmers en dat men gelijktijdig moet beginnen met calcium- en vitamine D-supplementen, tenzij bij tegenaanwijzingen. Bij een T-score lager dan 2 moet er gestart worden met bisfosfonaten. Zelfs bij patiënten met een zeer laag risico op het ontwikkelen van breuken is opvolging onontbeerlijk (35). Dit wordt ook aanbevolen in andere studies (34, 37, 39).

#### Bespreking

Uit de epidemiologie blijkt dat hypovitaminose D vaak voorkomt bij borstkankerpatiënten en dat deze een slechtere prognose hebben (9, 12-17). Bovendien lopen mensen met lagere waarden een hoger risico op het ontwikkelen van borstkanker (15, 18, 19). Uit preklinische studies is gebleken dat vitamine D anticarcinogene eigenschappen heeft. Deze bevinding is het sterkst bij het mammacarcinoom (6). Klinische studies tonen echter niet zo'n eenduidig verband aan.

Bij de interpretatie van de studieresultaten moet er rekening gehouden worden met vertekening. Is de vitamine D-deficiëntie werkelijk de reden van de slechtere prognose? Het kan ook omgekeerd zijn, namelijk dat mensen minder buitenkomen door de ernstige ziekte, de zware behandelingen en de eventuele hospitalisaties en bijgevolg minder zonlicht krijgen en een tekort ontwikkelen. Ook is het mogelijk dat hun dagritme en hun eetpatroon erg veranderen (2, 9). Bovendien kan een lage vitamine D-waarde ook geassocieerd zijn met andere risicofactoren voor borstkanker, zoals obesitas, roken en een gebrek aan fysieke activiteit (2, 44). Ook de therapietrouw bij supplementatie moet in rekening gebracht worden. De associatie tussen vitamine D en het mammacarcinoom is dus misschien niet volledig oorzakelijk, maar er is zeker wel sprake van een verband.



De studie van Bolland et al. biedt een langdurige opvolging van meer dan 36.000 vrouwen gedurende zeven jaar met het toedienen van 1 mg calcium en 400 IU vitamine D3 of een placebo (45). Hier besluit men dat er geen daling van het kankerrisico was. Er moet evenwel opgemerkt worden dat de serumconcentraties niet gemeten zijn en uit andere onderzoeken is geweten dat supplementatie niet steeds tot adequate vitamine D-concentraties leidt (9, 12, 46). Andere verklaringen kunnen zijn dat de dosis te laag is, maar het is ook mogelijk dat de patiënten niet therapietrouw waren, dat zeven jaar een te korte observatieperiode is of dat er een interactie met andere factoren is opgetreden (2).

Vermits de serumconcentratie van vitamine D grotendeels afhangt van de endogene productie van cholecalciferol in de huid, moet er rekening gehouden worden met seizoensverschillen in de blootstelling aan UV-stralen. Om dit in rekening te brengen, kan men meerdere keren per jaar de concentratie bepalen of bij laagnormale waarden in oktober alerter zijn dan bij dezelfde waarden in maart (5).

Sommige studies met postmenopauzale vrouwen kunnen het verschil in borstkankerrisico en mortaliteit naargelang van de vitamine D-status niet aantonen. Een verklaring voor dit fenomeen wordt gezocht in het feit dat met de ouderdom de concentratie IGF en IGF-bindend proteïne 3 afneemt. Het antitumoreffect van vitamine D komt namelijk mee tot stand door remming van de IGF-1-afhankelijke celtgroei van kankercellen en een toegenomen productie van IGF-bindend proteïne 3, een eiwit dat de effecten van IGF op de celcyclus moduleert. Vermits deze producten afnemen op hogere leeftijd, zal het effect van vitamine D hierop bij postmenopauzale vrouwen minder duidelijk tot stand komen. Verder onderzoek naar de IGF-hormonen en de factoren die deze hormonen beïnvloeden, is dus nog nodig om het belang van de menopauzale status te kunnen duiden. Obesitas kan bijvoorbeeld, zeker na de menopauze, een invloed hebben op de IGF-hormonen (5). Een andere verklaring zou gevonden kunnen worden in de berekening of de interpretatie van de studieresultaten.

In het kader van osteoporose is reeds geweten wat de ideale serumwaarden van vitamine D zijn. Voor kankerpreventie is men hier nog niet uit (5). Is het voldoende om deficiënties en insufficiënties te corrigeren of is er een nood aan hogere concentraties voor preventie en therapie? Uit sommige studies is gebleken dat de relatie tussen vitamine D en het ontstaan en de prognose van borstkanker omgekeerd is (15, 18, 19). Andere studies wijzen echter op een U-vormige associatie, waarbij niet enkel lage, maar ook hoge concentraties nefast zijn voor het risico en het verloop (2, 11). Verder onderzoek is nodig om te kunnen besluiten of er dus enkel een onder- of ook een bovengrens is waartussen de vitamine D-waarden moeten liggen voor een optimale kankerpreventie en -behandeling. Ook de ideale toedieningswijze, de rol van VDR-polymorfismen en de typen borstkanker moeten hun plaats nog krijgen.

### Beeluit

Op moleculair en cellulair vlak is er een anticarcinogene activiteit van vitamine D aangetoond. Bij een groot aantal epidemiologische studies werd een lage vitamine D-concentratie gecorreleerd met een hoger risico op borstkanker en een slechtere prognose. De optimale vitamine D-concentratie is echter nog niet gekend. Verder onderzoek hiernaar, alsook naar het effect van vitamine D-supplementatie op de preventie en de behandeling van borstkanker is nog nodig.

### Mededeling

Geen belangenconflict en geen financiële ondersteuning gemeld.

### Abstract

#### Vitamin D and breast cancer

Epidemiological studies support a relationship between the vitamin D status and breast cancer: a vitamin D deficiency does not only increase the risk of a mamma carcinoma, but also influences negatively the prognosis and the mortality of patients already diagnosed with breast cancer. Moreover, a vitamin D deficiency together with the anti-tumor treatment amplifies the disease state of the patient by enhancing the development of osteoporosis.

On the molecular level, explanations were sought to explain these data on breast cancer risk and prognosis. Calcitriol, the activated form of vitamin D, possesses anti-carcinogenic properties. It has been shown amongst others to inhibit the progression through the cell cycle, to stimulate differentiation and apoptosis, to reduce the inflammation-induced tumour development, the estrogen-dependent proliferation, the tendency towards angiogenesis, invasion and metastasis, finally constituting an important effector of the immune system.

The specific vitamin D receptor polymorphism of a woman may also play an important role in determining the individual sensitivity to the vitamin. Moreover, the influence of different types of breast tumors needs to be investigated as well. The ideal concentration of vitamin D in the context of cancer prevention and treatment remains unknown. Some studies suggest the relationship between the vitamin D status and carcinogenesis to be inverse, while other researchers argue in favor of a U-shaped association, with less favorable higher values as well.

Further research is warranted to fully comprehend the role of vitamin D in the prevention and the progression of breast cancer and to identify the possible therapeutic potential of a supplement.

TABEL 1  
*Geraadpleegde studies.*

Eerste auteur, publicatiejaar (ref.)	Aard van de studie	Studiegroep	Resultaten
Abbas, 2008 (21)	retrospectief en gecontroleerd	1.394 patiënten en 1.365 controlepatiënten	verminderd risico op borstkanker voor hogere serum-25OHD-concentraties [OR (95%-BI) voor het hoogste (concentraties $\geq$ 30 ng/ml) vergeleken met het laagste kwantiel (concentraties < 12 ng/ml): 0,31 (0,24; 0,42)]
Abbas, 2009 (20)	retrospectief en gecontroleerd	289 patiënten en 595 controlepatiënten	omgekeerde relatie tussen de serum-25OHD-concentratie en het risico op borstkanker [OR (95%-BI) voor het hoogste kwantiel (concentraties $\geq$ 24 ng/ml) vergeleken met het laagste (concentraties < 12 ng/ml): 0,45 (0,29; 0,70)]
Almqvist, 2010 (27)	prospectief en gecontroleerd	764 patiënten en 764 controlepatiënten	geen significante relatie tussen de serum-25OHD-concentratie en het borstkankerrisico [OR (95%-BI) voor het hoogste kwantiel (concentraties $\geq$ 43 ng/ml) vergeleken met het laagste (concentraties < 28 ng/ml): 0,96 (0,68; 1,37)]
Bertone-Johnson, 2005 (22)	prospectief en gecontroleerd	701 patiënten en 724 controlepatiënten	geen significante relatie tussen de serum-25OHD-concentratie en het borstkankerrisico [RR (95%-BI) voor het hoogste kwantiel vergeleken met het laagste: 0,73 (0,49; 1,07)]
Freedman, 2007 (24)	prospectief en cohort	16.818 patiënten	omgekeerde associatie tussen de serum-25OHD-concentratie en borstkanker [RR (95%-BI) voor concentraties $\geq$ 25 ng/ml vergeleken met concentraties < 25 ng/ml: 0,28 (0,08; 0,93)]
Freedman, 2008 (25)	prospectief en gecontroleerd	1.005 patiënten en 1.005 controlepatiënten	geen associatie tussen 25OHD en het borstkankerrisico [RR (95%-BI) voor het hoogste kwantiel (concentraties $\geq$ 33,7 ng/ml) vergeleken met het laagste (concentraties < 18,3 ng/ml): 1,04 (0,75; 1,45)]
Jacobs, 2011 (28)	prospectief en gecontroleerd	512 patiënten en 512 controlepatiënten	geen associatie tussen 25OHD en de borstkankerrecurrentie [OR (95%-BI) voor concentraties < 10 ng/ml vergeleken met concentraties $\geq$ 30 ng/ml: 1,14 (0,57; 2,31)]
Kim, 2011 (16)	retrospectief en cohort	310 patiënten	bij patiënten met het niet-luminale type borstkanker die een voldoende 25OHD-concentratie (30-150 ng/ml) hadden, kwam een lymfeknoopmetastase vaker voor ( $p = 0,008$ ) de serum-25OHD is een significante voorspeller van de ziektevrije overleving: patiënten met voldoende serum-25OHD-concentraties verdoonden een betere ziektevrije overleving ( $p = 0,002$ ) een deficiënte 25OHD-status (< 20 ng/ml) is een onafhankelijke indicator van de recurrentie [HR (95%-BI): 3,97 (1,76; 8,91)] omgekeerde associatie tussen de serum-25OHD-status en de prognose bij luminale borstkankers type A ( $p = 0,012$ ) en B ( $p = 0,023$ )
Lappe, 2007 (32)	gerandomiseerd en gecontroleerd	1.179 vrouwen	25OHD is een significante voorspeller van het risico op diverse kankers, ook borstkanker [RR (95%-BI) na 12 maanden in de calcium- en de vitamine D-groep: 0,232 (0,09; 0,60)]
McCullough, 2009 (26)	prospectief en gecontroleerd	516 patiënten en 516 controlepatiënten	geen associatie tussen 25OHD en borstkanker [OR (95%-BI) voor het hoogste kwantiel (concentraties $\geq$ 30 ng/ml) vergeleken met het laagste (concentraties < 20 ng/ml): 0,86 (0,059; 1,26)]
Rejnmark, 2009 (19)	prospectief en gecontroleerd	142 patiënten en 420 controlepatiënten	omgekeerde associatie tussen 25OHD en het borstkankerrisico [RR (95%-BI) voor het hoogste kwantiel (concentraties $\geq$ 34 ng/ml) vergeleken met het laagste (concentraties < 24 ng/ml): 0,52 (0,32; 0,85)]
Wieling, 2011 (23)	prospectief en cohort	1.295 patiënten	25OHD is een significante voorspeller van de recurrentie [HR (95%-BI) per daling van de serumconcentratie met 4 ng/ml: 1,14 (1,05; 1,24)] 25OHD is een significante indicator van de algemene overleving [HR (95%-BI) voor concentraties $\geq$ 22 ng/ml vergeleken met concentraties < 14 ng/ml: 1,55 (1,00; 2,39)]
Yao, 2011 (15)	retrospectief en gecontroleerd	579 patiënten en 574 controlepatiënten	omgekeerde associatie tussen de serum-25OHD-concentratie en het borstkankerrisico [OR (95%-BI) voor concentraties $\geq$ 30 ng/ml vergeleken met concentraties < 20 ng/ml: 0,37 (0,27; 0,51)] premenopauzale patiënten met een serum-25OHD-concentratie > 22,8 ng/ml hadden minder kans op triple-negatieve borstkanker vergeleken met een concentratie < 22,8 ng/ml [OR (95%-BI): 0,21 (0,08; 0,53)]

Eerste auteur, publicatiejaar (ref.)	Aard van de studie	Studiegroep	Resultaten
Lowe, 2005 (18)	retrospectief en gecontroleerd	179 patiënten en 179 controlepatiënten	verhoogd risico op borstkanker in het laagste kwantiel van de 25OHD-concentratie (< 20 ng/ml) vergeleken met het hoogste (> 60 ng/ml) [OR (95%-BI): 5,8 (2,3; 14,7)]
Chlebowski, 2008 (47)	prospectief en gecontroleerd	1.067 patiënten en 1.067 controlepatiënten	geen associatie tussen de 25OHD-concentratie en het borstkankerrisico [OR (95%-BI) voor het laagste kwantiel (13 ng/ml) vergeleken met het hoogste (27 ng/ml): 1,22 (0,89; 1,67)]
Goodwin, 2009 (13)	prospectief en cohort	512 patiënten	significante associatie tussen de serum-25OHD-concentratie bij de diagnose en het risico op: distale recurrentie [HR (95%-BI) voor concentraties < 20 ng/ml vergeleken met concentraties < 28 ng/ml: 1,71 (1,02; 2,86)] mortaliteit [HR (95%-BI) voor concentraties < 20 ng/ml vergeleken met concentraties < 28 ng/ml: 1,60 (0,96; 2,64)]
Washi, 2010 (17)	retrospectief en cohort	2.198 patiënten	69,4% van de borstkankerpatiënten heeft als uitgangswaarde een 25OHD-concentratie < 32 ng/ml na de toediening van 2.000 IU per dag gedurende gemiddeld 14,7 weken aan patiënten met een suboptimaal 25OHD-gehalte bedroeg de gemiddelde serumconcentratie 37,6 ng/ml (standaardafwijking: ± 16,8 ng/ml) (p < 0,001) factoren significant geassocieerd met de respons op supplementatie: leeftijd (p = 0,02) uitgangswaarde van de serum-25OHD-concentratie: een lagere uitgangswaarde gecorreleerd met een betere respons (p < 0,001)
Peppone, 2011 (14)	retrospectief en cohort	224 patiënten	33,5% van de patiënten had een voldoende serum-25OHD-uitgangswaarde, gedefinieerd als > 32 ng/ml een wekelijkse hoge dosis supplementatie (50.000 of 100.000 IU per week) deed de serum-25OHD-concentratie significant toenemen (p < 0,01), bij een dagelijkse lage dosis supplementatie (1.000 IU per dag) werd dit niet waargenomen (p < 0,15)
Crew, 2009 (9)	prospectief en cohort	103 patiënten	6% van de patiënten had een voldoende serum-25OHD-uitgangswaarde, gedefinieerd als > 30 ng/ml na één jaar supplementatie met 400 IU per dag bereikte 11% van de patiënten een voldoende serumconcentratie
Friedman, 2012 (12)	retrospectief en cohort	391 patiënten	35% van de patiënten had een deficiënt (< 30 ng/ml) serum-25OHD-gehalte de vitamine D-supplementatie was significant geassocieerd met een lager risico op vitamine D-deficiëntie [OR (95%-BI): 0,29 (0,17; 0,48)]

25OHD: 25-hydroxyvitamine D; 95%-BI: 95%-betrouwbaarheidsinterval; HR: hazardratio; OR: odds ratio; RR: relatief risico.

### Literatuur

1. SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29.
2. LAZZERONI M, GANDINI S, PUNTONI M, BONANNI B, GENNARI A, DeCENSI A. The science behind vitamins and natural compounds for breast cancer prevention. Getting the most prevention out of it. *Breast* 2011; 20 (Suppl 3): S36-S41.
3. WELSH J. Cellular and molecular effects of vitamin D on carcinogenesis. *Arch Biochem Biophys* 2011; 523: 107-114.
4. ROLLSON DE, COLE AL, TUNG KH, et al. Vitamin D intake, vitamin D receptor polymorphisms, and breast cancer risk among women living in the southwestern U.S. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 132: 683-691.
5. SHAO T, KLEIN P, GRIBSBARD ML. Vitamin D and breast cancer. *Oncologist* 2012; 17: 36-45.
6. KRISHNAN AV, FELDMAN D. Mechanisms of the anti-cancer and anti-inflammatory actions of vitamin D. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2011; 51: 311-336.
7. CHEN P, HU P, XIE D, QIN Y, WANG F, WANG H. Meta-analysis of vitamin D, calcium and the prevention of breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2010; 121: 469-477.
8. ENGEL P, FAGHERAZZI G, MESRINE S, BOUTRON-ROUAULT MC, CLAVEL-CHAPELON F. Joint effects of dietary vitamin D and sun exposure on breast cancer risk: results from the French E3N cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011; 20: 187-198.
9. CREW KD, SHANE E, CREMERS S, McMAHON DJ, IRANI D, HERSHMAN DL. High prevalence of vitamin D deficiency despite supplementation in premenopausal women with breast cancer undergoing adjuvant chemotherapy. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2151-2156.
10. DITSCH N, TOTZ B, MAYR D, et al. The association between vitamin D receptor expression and prolonged overall survival in breast cancer. *J Histochem Cytochem* 2012; 60: 121-129.



11. BUTTIGLIERO C, MONAGHEDDU C, PETRONI P, et al. Prognostic role of vitamin D status and efficacy of vitamin D supplementation in cancer patients: a systematic review. *Oncologist* 2011; 16: 1215-1227.
12. FRIEDMAN CF, DEMICHELE A, SU HI, et al. Vitamin D deficiency in postmenopausal breast cancer survivors. *J Womens Health (Larchmt)* 2012; 21: 456-462.
13. GOODWIN PJ, ENNIS M, PRITCHARD KI, KOO J, HOOD N. Prognostic effects of 25-hydroxyvitamin D levels in early breast cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 3757-3763.
14. PIPPONE LJ, HUSTON AJ, REID ME, et al. The effect of various vitamin D supplementation regimens in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2011; 127: 171-177.
15. YAO S, SUCHESTON LE, MILLEN AE, et al. Pretreatment serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and breast cancer prognostic characteristics: a case-control and a case-series study. *PLoS One* 2011; 6: e17251.
16. KIM HJ, LEE YM, KO BS, et al. Vitamin D deficiency is correlated with poor outcomes in patients with luminal-type breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1830-1836.
17. VASHI PG, TRUKOVA K, LAMMERSFELD CA, BRAIN DP, GUPTA D. Impact of oral vitamin D supplementation on serum 25-hydroxyvitamin D levels in oncology. *Nutr J* 2010; 9: 60.
18. LOWE LC, GUY M, MANSI JL, et al. Plasma 25-hydroxy vitamin D concentrations, vitamin D receptor genotype and breast cancer risk in a UK Caucasian population. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1164-1169.
19. REINMARK L, TIETZE A, VESTERGAARD P, et al. Reduced prediagnostic 25-hydroxyvitamin D levels in women with breast cancer: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 2655-2660.
20. ABBAS S, CHANG-CLAUDE J, LINSSESEN J. Plasma 25-hydroxyvitamin D and premenopausal breast cancer risk in a German case-control study. *Int J Cancer* 2009; 124: 250-255.
21. ABBAS S, LINSSESEN J, SLANGER T, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of post-menopausal breast cancer—results of a large case-control study. *Carcinogenesis* 2008; 29: 93-99.
22. BERTONE-JOHNSON ER, CHEN WY, HOLICK MF, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1991-1997.
23. VRIELING A, HEIN R, ABBAS S, SCHNEWEISS A, FLEISCH-JANYS D, CHANG-CLAUDE J. Serum 25-hydroxyvitamin D and postmenopausal breast cancer survival: a prospective patient cohort study. *Breast Cancer Res* 2011; 13: R74.
24. FREEDMAN DM, LOOKER AC, CHANG SC, GRAUBARD BI. Prospective study of serum vitamin D and cancer mortality in the United States. *J Natl Cancer Inst* 2007; 99: 1594-1602.
25. FREEDMAN DM, CHANG SC, FALK RT, et al. Serum levels of vitamin D metabolites and breast cancer risk in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17: 889-894.
26. MCCULLOUGH ML, STEVENS VL, PATIL R, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations and postmenopausal breast cancer risk: a nested case control study in the Cancer Prevention Study-II Nutrition Cohort. *Breast Cancer Res* 2009; 11: R64.
27. ALMQUIST M, BONDESON AG, BONDESON L, MALM J, MANJER J. Serum levels of vitamin D, PTH and calcium and breast cancer risk – a prospective nested case-control study. *Int J Cancer* 2010; 127: 2159-2168.
28. JACOBS ET, THOMSON CA, FLATT SW, et al. Vitamin D and breast cancer recurrence in the Women's Healthy Eating and Living (WHEL) Study. *Am J Clin Nutr* 2011; 93: 108-117.
29. YAMAMOTO N, SUYAMA H, USHIDAMA N. Immunotherapy of metastatic breast cancer patients with vitamin D-binding protein-derived macrophage activating factor (GcMAF). *Int J Cancer* 2008; 122: 461-467.
30. SERGEEV IN. Vitamin D and cellular Ca<sup>2+</sup> signaling in breast cancer. *Anticancer Res* 2012; 32: 299-302.
31. HINES SL, JOHN HK, THOMPSON KM, LARSON JM. Breast cancer survivors and vitamin D: a review. *Nutrition* 2010; 26: 255-262.
32. LAPPE JM, TRAVERS-GUSTAFSON D, DAVIES KM, RECKER RR, HEANRY RP. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 1586-1591.
33. KANIS JA, BORGSTROM F, DE LAET C, et al. Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int* 2005; 16: 581-589.
34. PEREZ EA, WEILBAECHER K. Aromatase inhibitors and bone loss. *Oncology (Williston Park)* 2006; 20: 1029-1039.
35. HADDI P, BODY JJ, AAPRO MS, et al. Practical guidance for the management of aromatase inhibitor-associated bone loss. *Ann Oncol* 2008; 19: 1407-1416.
36. WICKHAM R. Osteoporosis related to disease or therapy in patients with cancer. *Clin J Oncol Nurs* 2011; 15: E90-E104.
37. COLEMAN RE, BODY JJ, GRALOW JR, LIPTON A. Bone loss in patients with breast cancer receiving aromatase inhibitors and associated treatment strategies. *Cancer Treat Rev* 2008; 34 (Suppl 1): S31-S42.
38. MARRKOPOULOS C, TZORACOLEPTHERAKIS E, POLYCHRONIS A, et al. Management of anastrozole-induced bone loss in breast cancer patients with oral risedronate: results from the ARBI prospective clinical trial. *Breast Cancer Res* 2010; 12: R24.
39. KELMAN A, LANE NE. The management of secondary osteoporosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2005; 19: 1021-1037.
40. ABDEL-RAZEQ H, AWIDI A. Bone health in breast cancer survivors. *J Cancer Res Ther* 2011; 7: 256-263.
41. SERVITTA S, NOGUÉS X, PRIETO-ALHAMBRA D, et al. Bone health in a prospective cohort of postmenopausal women receiving aromatase inhibitors for early breast cancer. *Breast* 2012; 21: 95-101.
42. WANG-GILLAM A, MILES DA, HITCHINS LF. Evaluation of vitamin D deficiency in breast cancer patients on bisphosphonates. *Oncologist* 2008; 13: 821-827.
43. TRUKOVA KP, GRUTSCH J, LAMMERSFELD C, LIEPA G. Prevalence of vitamin D insufficiency among breast cancer survivors. *Nutr Clin Pract* 2012; 27: 122-128.
44. MANSON JE, MAYNE ST, CLINTON SK. Vitamin D and prevention of cancer—ready for prime time? *N Engl J Med* 2011; 364: 1385-1387.
45. BOLLAND MJ, GREY A, GAMBLE GD, REID IR. Calcium and vitamin D supplements and health outcomes: a reanalysis of the Women's Health Initiative (WHI) limited-access data set. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 1144-1149.
46. AMER E, SIMMONS CE, FREEDMAN OC, et al. A phase 2 trial exploring the effects of high-dose (10,000 IU/day) vitamin D(3) in breast cancer patients with bone metastases. *Cancer* 2010; 116: 284-291.
47. CHLEBOWSKI RT, JOHNSON KC, KOOPERBERG C, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 1581-1591.