

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA E CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE VITAMINA D PLASMÁTICA E O CÂNCER
DE MAMA: UM ESTUDO RETROSPECTIVO**

Aluna: Talita Siemann Santos Pereira
Orientadora: Profª Dra. Selene Elifio Esposito
Co-orientador: Dr José Claudio Casali da Rocha

Curitiba, 2023

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA E CIÊNCIAS DA VIDA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE VITAMINA D PLASMÁTICA E O CÂNCER
DE MAMA: UM ESTUDO RETROSPECTIVO**

Dissertação de mestrado acadêmico apresentada
ao Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde como requisito parcial para obtenção
do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^ª Dra. Selene Elifio Esposito
Co-orientador: Dr José Claudio Casali da Rocha

Curitiba, 2023

Dados da Catalogação na Publicação
Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR
Biblioteca Central
Edilene de Oliveira dos Santos CRB-9 /1636

P436a 2024	Pereira, Talita Siemann Santos Avaliação da associação entre vitamina D plasmática e o câncer de mama : um estudo retrospectivo / Talita Siemann Santos Pereira ; orientadora: Selene Elifio Esposito ; coorientador: José Claudio Casali da Rocha. -- 2024 45 f. ; il. : 30 cm Dissertação (mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2023 Bibliografia: f.36-42 1. Mamas – Câncer. 2.Vitamina D. 3 Prevenção primárias. 4. Câncer – Fatores de riscos. I. Elifio Esposito, Selene II. Rocha, José Claudio Casali da. III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. IV. Título CDD. 20. ed. – 616.99449
---------------	--



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Escola de Medicina e Ciências da Vida
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL DE MESTRADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ.

Ao 01 dia do mês de dezembro de 2023 às 15:00, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação “AVALIAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE VITAMINA D PLASMÁTICA E O CÂNCER DE MAMA: UM ESTUDO RETROSPECTIVO” apresentado por **Talita Siemann Santos Pereira** para obtenção do título de mestre; Área de concentração: Pesquisa Médica Translacional.

A banca examinadora foi composta pelos seguintes membros:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Profa. Dra. Selene Elifio Esposito - Presidente	
Profa. Dra. Vanessa Santos Sotomaior - PUCPR	
Profa. Dra. Íris Rabinovich - UFPR	

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Profa. Dra. Selene Elifio Esposito

Conceito: **APROVADA**

Profa. Dra. Vanessa Santos Sotomaior

Conceito: **APROVADA**

Profa. Dra. Íris Rabinovich

Conceito: **APROVADA**

Parecer Final: **APROVADA**

Observações da Banca Examinadora:

Profa. Dra. Selene Elifio Esposito
Presidente da Banca Examinadora

Profa. Dra. Cristina Pellegrino Baena
Coordenadora do PPGCS-PUCPR

Agradecimento

A Deus, que sempre está comigo, iluminando meu caminho, meus pensamentos e que colocou as pessoas certas na minha vida para que eu conseguisse completar a caminhada até aqui.

A todos os colegas que ajudaram na construção desta pesquisa, em especial o Olair Carlos Beltrame, Édipo Giovani França Lara e Camila Polakowski juntamente com o Serviço de Nutrição do Hospital Erasto Gaertner. Todos me ajudaram de forma extraordinária e foram fundamentais para que eu conseguisse concluir a pesquisa.

A todos do laboratório Experimental Multiusuário do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da PUCPR, que me acolheram e me ajudaram neste caminho da pós-graduação em especial a Fernanda Pinhatti, Thatyanne do Nascimento e a Steffanni Marques.

A todos os alunos que participaram do recrutamento das participantes do trabalho em especial a Jamylle Martins, Bruna Bialetzki Pauletti e Stephany Mansur que ajudaram reunir todos os dados entre os colegas.

A Professora Marcia Olandoski, que contribuiu com as análises dos resultados desta pesquisa, sempre atenciosa e disponível a nos ajudar.

Aos docentes da banca de qualificação, Profa. Dra. Andrea Novais Moreno Amaral e Dr Paulo Gustavo Kotze, que contribuíram para o enriquecimento do trabalho.

A toda a equipe do Programa de Pós-Graduação, por toda orientação e paciência, especialmente a secretaria, pelo cuidado dispensado durante todo processo.

A todas as pacientes envolvidas no estudo, imprescindíveis para a realização deste, nos permitindo contribuir um pouco mais para o avanço da ciência médica.

Dedicatória

Dedico esta obra...

A meus pais, Estácio e Rita, que com muito amor e esforço me conduziram e me incentivaram até aqui. Vocês sempre serão o meu verdadeiro alicerce.

A minha orientadora, Professora Selene Elifio Esposito, que me aceitou como sua orientanda, e assim o fez de maneira brilhante, me incentivando e conduzindo durante todo o processo, além de compartilhar do seu conhecimento com paciência e sabedoria. A levarei sempre comigo com grande carinho e respeito.

Ao meu co-orientador, Professor José Cláudio Casali da Rocha, que me deu a oportunidade de fazer parte do seu projeto de pesquisa, acreditando na minha capacidade e me incentivando para eu prosseguir no caminho da pesquisa.

Esta dissertação foi elaborada seguindo a normatização estabelecida pela ABNT. A coleta de dados para este trabalho foi realizada no Hospital Erasto Gaertner, Curitiba, contando com a colaboração de membros do setor da Nutrição e do Laboratório de Análises Clínicas. Declaramos que não há conflito de interesse na realização deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação molecular dos tumores mamários	5
Tabela 2. Valores de concentração de 25(OH)D correlacionados com hipovitaminose D, hipervitaminose D e condições normalidade da vitamina D em países ensolarados.....	11
Tabela 3. Características sociodemográficas e clínicas dos participantes	21
Tabela 4. Análise dos fatores de risco para câncer de mama dos participantes dos grupos controle e caso.	23
Tabela 5. Características clínicas e anatomopatológicas de mulheres com câncer de mama e associação com níveis de vitamina D.	27
Tabela 6. Avaliação dos dados nutricionais em relação ao ponto de corte da vitamina D..	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Síntese da vitamina D e os seus precursores (vitamina D2 e vitamina D3).....	12
Figura 2. Pareamento entre casos e controles.....	16
Figura 3. Cronograma inclusão de participantes no estudo.....	16
Figura 4. Desenho do estudo	18
Figura 5. Avaliação da Vitamina D sérica nos grupos caso e controle ao longo do ano e exposição ao sol. A) Comparação dos níveis de vitamina D entre os grupos; B) Frequência de exposição solar diária; C) Níveis de vitamina D ao longo do ano.....	24
Figura 6. Gráfico forest plot de variáveis significativas para associação com câncer de mama dos grupos caso e controle.	25
Figura 7. Curva ROC para estimar o ponto de corte do nível de Vitamina D entre casos e controles.	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

HEG	Hospital Erasto Gaertner
LDL-C	Lipoproteína de baixa densidade
HDL-C	Lipoproteína de alta densidade
IMC	Índice de massa corpórea
VDR	Receptor de vitamina D
RE	Receptor de estrogênio
RP	Receptor de progesterona
HER2	Receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano
CDIS	Carcinoma ductal in situ
CDI	Carcinoma ductal invasivo
CLI	Carcinoma lobular invasivo
TG	Triglicerídeos
ACO	Anticoncepcionais Orais

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	12
RESUMO POPULAR	13
1. INTRODUÇÃO	1
2. JUSTIFICATIVA.....	2
3. REVISÃO DA LITERATURA.....	5
3.1 Câncer de mama e os fatores de risco	5
3.2 Vitamina D	10
3.3 Câncer de mama e vitamina D	12
4. OBJETIVOS.....	14
4.1 Objetivo geral	14
4.2 Objetivos específicos	14
5. MATERIAIS E MÉTODOS	15
5.1 Tipo e população de estudo.....	15
5.2 Aspectos éticos.....	16
5.3 Métodos de Coleta de Dados	17
5.4 Análise estatística.....	18
6. RESULTADOS	20
6.1 Características das participantes	20
7. DISCUSSÃO.....	30
8. Conclusão	35
9. Considerações finais.....	36
Referências	37
ANEXOS	44

RESUMO

O câncer de mama é o mais prevalente entre as mulheres em todo o mundo e a identificação de fatores de risco é crucial para a sua prevenção e controle. A vitamina D (VitD) tem sido considerada um fator de proteção, mas sua relação com qualquer aspecto da doença permanece controversa. O presente trabalho teve como objetivo geral determinar a associação entre os níveis plasmáticos de VitD com a ocorrência do câncer de mama. Foi realizado um estudo transversal, de centro único, com 141 mulheres diagnosticadas com câncer de mama e 239 mulheres no grupo controle, entre agosto de 2015 e agosto de 2018. Foram dosados os níveis séricos de VitD e o perfil lipídico. Os dados clínicos e nutricionais foram obtidos por meio de entrevistas e análise de prontuário. A média de idade das participantes foi de 43,1 e 41,7 anos nos grupos casos e controle, respectivamente ($p=0,103$). A dosagem sérica de VitD apresentou valor médio de 25.5 ng/ml e 31.0 ng/ml para caso e controle ($p<0,001$), com variações em ambos os grupos ao longo do ano, sendo que os valores máximos foram detectados entre os meses de agosto/setembro (57.1 ng/ml casos e 61.2 ng/ml controle). O ponto de corte para VitD, que discrimina a presença e ausência de câncer de mama, foi igual a 27.45 ng/mL. A média de LDL-C foi maior no grupo caso (121.4 ± 32.8 mg/dL) em comparação ao grupo controle (110.7 ± 29.5 mg/dL) ($p=0.002$), enquanto HDL-C foi menor no grupo caso (47.6 ± 10.6 mg/dL) em comparação ao grupo controle ($53,3\pm14.1$ mg/dL) ($p=0.001$). Entre os hábitos avaliados, o consumo de bebida alcoólica por semana foi significativamente superior no grupo casos (média de doses 5,3 x 2,7; $p<0,001$). Outras variáveis como, histórico familiar para neoplasias, histórico ginecológico e alterações clínicas prévias foram analisadas, porém, não apresentaram diferenças estatísticas significativas. Na análise multivariada a VitD mantém associação com o grupo casos, independente das outras variáveis. Os resultados sugerem uma possível associação entre níveis mais baixos e a presença do câncer de mama. Esses achados podem ter implicações importantes para a estratégia de prevenção, reforçando o benefício da manutenção de níveis adequados de VitD além da possibilidade da identificação de um grupo de risco.

Palavras-chave: câncer de mama; Vitamina D; prevenção primária, fatores de risco.

ABSTRACT

Breast cancer is the most prevalent cancer among women worldwide and identifying risk factors is crucial for its prevention and control. Vitamin D (VitD) has been considered a protective factor, but its relationship with any aspect of the disease remains controversial. This study aimed to determine the association between plasma levels of VitD with the occurrence of breast cancer. A cross-sectional, single-center clinical study was conducted with 141 women diagnosed with breast cancer and 239 women in the control group between August 2015 and August 2018. Serum levels of VitD and lipid profile were measured. Clinical and nutritional data were obtained through interviews and medical record analysis. Appropriate statistical tests were used to compare groups, correlation coefficients, and logistic regression models. The mean age of the participants was 43.1 and 41.7 years in the cases and control groups, respectively ($p=0.103$). The serum VitD dosage presented mean value of 25.5 ng/ml and 31.0 ng/ml for case and control ($p<0.001$), with variations in both groups throughout the year, and the maximum values were detected between the months of August/September (57.1 ng/ml cases and 61.2 ng/ml control). The cutoff point for VitD that discriminates in the presence and absence of breast cancer was equal to 27.45 ng/mL. The mean LDL-C was higher in the case group (121.4 32.8 mg/dL) compared to the control group (110.7 29.5 mg/dL) ($p=0.002$), while HDL-C was lower in the case group (47.6 10.6 mg/dL) compared to the control group (53.3 14.1 mg/dL) ($p=0.001$). Among the habits evaluated, alcohol consumption per week was significantly higher in the cases group (mean doses 5.3 x 2.7; $p<0.001$). Other variables such as family history for neoplasms, gynecological history and previous clinical changes were analyzed, but did not show significant statistical differences. In multivariate analysis, VitD maintains association with the case group, independent of the other variables. The results suggest an association between lower levels and the presence of breast cancer. These findings may have important implications for the prevention strategy, reinforcing the benefit of maintaining adequate levels of VitD in addition to the possibility of identifying a risk group.

Keywords: Breast Cancer; Vitamin D; Primary Prevention; Risk Factors.

RESUMO POPULAR

O câncer de mama é tipo de câncer que mais mata mulheres no mundo, por isso a identificação de fatores de risco para o desenvolvimento da doença é primordial. Aqueles já identificados têm se mostrado ineficientes para mudar os resultados. Neste contexto, as pesquisas têm se voltado para descobrir novas associações com o câncer de mama, como a vitamina D, cuja relação ainda se demonstra controversa. Foi realizado um estudo clínico envolvendo 141 mulheres com câncer de mama (grupo caso) do Hospital Erasto Gaertner que foram comparadas a 239 mulheres sem a doença (grupo controle). Elas foram submetidas a coleta de sangue para dosagem da Vitamina D. A média dos valores de dose da vitamina nos grupos foi de 25,5 ng/ml e 31,0 ng/ml no grupo caso e controle, respectivamente. Através de cálculos matemáticos encontrou-se que esses valores eram diferentes entre si de uma forma significativa, ou seja, que os valores de vitamina D as diferenciavam entre o grupo com câncer de mama e o grupo sem o câncer. O valor exato que diferenciava os grupos foi de 27,45ng/ml, ou seja, mulheres com nível igual ou superior a este valor estavam mais relacionadas ao grupo sem câncer, enquanto as mulheres com nível inferior estavam relacionadas ao grupo com câncer. Esses resultados podem ajudar na identificação de um grupo de risco para o desenvolvimento do câncer de mama, reforçando o benefício da manutenção de níveis adequados de vitamina D como forma de prevenção.

1. INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o câncer mais frequente no mundo e o de maior incidência entre as mulheres, sem contar os casos de câncer de pele não melanoma. É a quinta causa de morte por câncer em todo o mundo, com 685.000 óbitos. Em 2020, foram estimados 2,3 milhões de casos novos no mundo, representando 11,7% de todos os casos de câncer, ultrapassando o câncer de pulmão. Entre as mulheres, o câncer de mama é responsável por 1 em 6 mortes por câncer, ocupando o primeiro lugar na mortalidade entre elas em 110 países (SUNG *et al* 2021).

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), no Brasil são esperados mais de 73.000 casos novos de câncer de mama para o triênio de 2023-2025, com um risco estimado de 84,46 casos por 100 mil mulheres na Região Sudeste, 71,44 na Região Sul, 57,28 no Centro-Oeste; 52,20 no Nordeste; e 24,99 na Região Norte (INCA, 2022). Em 2021 ocorreram 18.139 óbitos por câncer de mama em mulheres no Brasil (BRASIL, 2022).

O rastreio do câncer de mama é realizado em mulheres sem quaisquer sinais ou sintomas. Os componentes do rastreamento mamário dependem da idade e de outros fatores, como histórico clínico e familiar, e podem incluir a avaliação da mama pelas mulheres, encontros clínicos regulares, com avaliação de risco e exame clínico da mama. Os exames de imagem para a triagem incluem a mamografia e, em casos selecionados, a ressonância magnética das mamas (NCCN, 2021b). Segundo o Colégio Brasileiro de Radiologia, para mulheres com o risco populacional usual para o desenvolvimento do câncer, é recomendado o rastreamento anual com mamografia para as mulheres entre 40 e 74 anos de idade, sendo que a partir dos 75 anos, recomenda-se manter o rastreamento se não houver comorbidades que reduzam a expectativa de vida e que esta seja de pelo menos sete anos (URBAN *et al.*, 2023).

Ao contrário da imagem para rastreamento, a avaliação diagnóstica é usada para caracterizar um achado clínico ou possível anormalidade encontrada durante o exame de rastreamento. A avaliação diagnóstica pode incluir exame físico e diagnóstico por imagem, que por sua vez, pode incluir mamografia, ultrassonografia e, às vezes, ressonância magnética das mamas. A eventual decisão quanto à necessidade de biópsia é baseada no nível de suspeita por imagem e/ou exame clínico (NCCN, 2021b).

A detecção precoce com os exames de imagem e os avanços no tratamento tem reduzido as taxas de mortalidade, entretanto, não houve redução na incidência do câncer de mama nos últimos 20 anos (SIEGEL *et al.*, 2017). Isso destaca a necessidade de identificar e implementar estratégias eficazes de redução dos fatores de risco para a diminuição das taxas de incidência (MCDONNELL *et al.*, 2018).

A vitamina D é uma vitamina lipossolúvel que desempenha um papel na homeostase do cálcio e fósforo. Recentemente, algumas pesquisas têm relacionado a deficiência da vitamina D a um risco aumentado para diabetes mellitus, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer como, cólon, próstata e mama. Existem vários mecanismos pelos quais a vitamina D influencia a história natural do câncer. Estes incluem o papel da vitamina D na indução de apoptose, estímulo da diferenciação celular e inibição da angiogênese (DE LA PUENTE-YAGUE *et al.*, 2018). A deficiência de vitamina D é comum em pacientes com câncer de mama e algumas evidências sugerem que o baixo status de vitamina D aumenta o risco de desenvolvimento ou progressão da doença (Welsh J, 2017).

2. JUSTIFICATIVA

O câncer é o principal problema de saúde pública no mundo. Na maioria dos países, corresponde a primeira ou a segunda causa de morte prematura, antes dos 70 anos (SUNG *et al.*, 2022). Nos países desenvolvidos, entre os principais fatores de risco apontados para

o desenvolvimento do câncer de mama, encontramos o estilo de vida, idade tardia do primeiro filho e terapia de reposição hormonal (LEHMANN *et al*, 2015; TFAYLI *et al.*, 2010). Já nos países em desenvolvimento, as principais razões para a alta incidência e mortalidade são a falta de conscientização ou conhecimento adequado sobre a doença, programas de rastreamento inadequados, diagnóstico tardio e suporte médico insuficiente (DA COSTA VIEIRA *et al*, 2017; SHULMAN *et al.*, 2010).

Os dados epidemiológicos dos últimos 50 anos demonstram a relação entre estilo de vida, fatores ambientais e o surgimento do câncer (TORRE *et al*, 2012). Grandes variações nos níveis de educação, status econômico, condições ambientais, hábitos alimentares, fatores de estilo de vida e outras práticas culturais causam diferença na incidência de câncer de mama em todo o mundo. Diferenças nos padrões alimentares, consumo de álcool e dieta com alta quantidade de carne vermelha também são responsáveis pela variação na incidência de câncer de mama (GANDHI *et al*, 2017).

Pesquisas em laboratório e em animais apoiam um papel protetor para a vitamina D na carcinogênese mamária, mas estudos epidemiológicos têm sido inconclusivos (VISVANATHAN *et al*, 2023). A forma biologicamente ativa da vitamina D regula a diferenciação, proliferação e apoptose das células epiteliais, dando peso às evidências clínicas que ligam a deficiência da vitamina D com a incidência e mortalidade por câncer de mama. A deficiência de vitamina D tem sido identificada em pacientes com câncer de mama, sugerindo que a vitamina possa contribuir para o desenvolvimento da doença (SHENG *et al*, 2018).

A associação entre o câncer de mama e a vitamina D não está clara na literatura, os estudos até o momento se mostraram insuficientes e inconclusivos. Nossa hipótese é de que mulheres com câncer de mama apresentariam mais baixos níveis de 25(OH)D do que as mulheres sem câncer de mama. Assim, a simples suplementação da vitamina D seria

importante no auxílio das estratégias de prevenção contra a doença, visto que as existentes, como redução de peso e estímulo a atividade física, até o momento têm se demonstrado insuficientes para melhora do cenário atual.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Câncer de mama e os fatores de risco

Atualmente o câncer de mama é considerado uma doença heterogênea, no qual diferentes subtipos podem ser distinguidos com base na combinação da proliferação celular e a presença de receptores hormonais: receptor de estrogênio (RE), de progesterona (RP) e receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano (HER2) (ANDERSON *et al*, 2014). Os tumores podem então ser classificados de acordo com a presença desses receptores (Tabela 1) (GOLDHIRSCH *et al*, 2013). Os tumores positivos para hormônios são comumente encontrados em cerca de 70% dos casos (SORLIE *et al.*, 2001). Já os tumores que apresentam somente positividade para HER2, representam 10% de todos os cânceres de mama; e, por fim, os tumores triplo-negativos, definidos pela ausência de RE, RP e HER2 (PENAULT-LLORCA *et al.*, 2012), representam 10-20% de todos os diagnósticos (ANDERSON *et al*, 2014).

Tabela 1. Classificação imunoistoquímica dos tumores mamários

Classificação	Receptores expressos
Luminal A	RE+/RP $\geq$ 20% e Ki67<14%
Luminal B	RE+/RP<20% ou RE+, qualquer RP e Ki67 $\geq$ 14%
Luminal B Her 2+	RE+/ Her2+, qualquer RP
Her2+	RE/RP negativos/Her2+
Triplo negativo	RE/RP e Her2 negativos

RE: receptor de estrogênio; RP: receptor progesterona; Her 2: receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico humano

Com base na morfologia histológica e nos padrões de crescimento, 21 tipos histológicos de câncer de mama foram definidos pela Organização Mundial da Saúde (DIECI *et al.*, 2014). Entretanto, são descritos duas grandes categorias de câncer de mama, o

carcinoma in situ (CDIS) e o carcinoma invasivo. Os subtipos histológicos do carcinoma invasivo são designados por sua arquitetura, secreção (mucínica/coloide) ou forma estrutural (medular, tubular, papilar). Entre esses subtipos, o carcinoma lobular invasivo (CLI) é o subtipo especial mais comum, correspondente a cerca de 10-15% dos casos, e o subtipo não especial (NST), também frequentemente chamado de câncer ductal invasivo (CDI) que corresponde a 75-80% dos casos. O CDI é classificado em graus tumorais (bem, moderadamente ou pouco diferenciados) com base no índice mitótico, formação de túbulos e polimorfismos nucleares (MALHOTRA *et al.*, 2010; ONKAR *et al.*, 2023; JENKINS *et al.*, 2021).

A terapêutica do câncer de mama inclui o tratamento da doença local com cirurgia, radioterapia ou ambos, e tratamento sistêmico com quimioterapia, terapia endócrina, terapia biológica ou combinações destes. A necessidade e seleção de várias terapias locais ou sistêmicas são baseadas em diversos fatores prognósticos e preditivos. Esses, incluem a histologia do tumor, as características clínicas e patológicas do tumor primário, o acometimento de linfonodos axilares ou não, o conteúdo de RE/RP do tumor, a presença de HER2 no tumor ou não, a presença ou ausência de doença metastática detectável, além de presença de comorbidades, a idade e o estado da menopausa da paciente (NCCN, 2021a).

Os fatores de risco identificados para o câncer de mama podem ser divididos em i) fatores não modificáveis e ii) fatores de risco modificáveis, geralmente associados ao estilo de vida (YOUN; HAN, 2020). Dentre os fatores não modificáveis estão sexo, idade, características genéticas, incluindo histórico familiar ou pessoal de câncer de mama, etnia e menarca precoce ou menopausa. Segundo estatísticas brasileiras, pacientes do sexo masculino constituem aproximadamente 1% do total de casos, e a idade é considerada um dos mais importantes fatores de risco para a doença, com cerca de quatro em cada cinco casos de câncer de mama ocorrendo após os 50 anos (INCA, 2019). Apesar de no Brasil, a

média de idade ao diagnóstico ser de 54 anos, 41,1% dos casos ocorrem em mulheres com menos de 50 anos. Demonstrando assim, que no Brasil existe maior risco de diagnósticos de tumores de mama em idade mais jovem do que em países de alta renda (SIMON *et al*, 2019; FRANCO-MARINA *et al*, 2015).

Os cânceres hereditários são frequentemente caracterizados por mutações genéticas associadas a uma alta probabilidade de desenvolvimento de câncer, ou seja, um genótipo de alta penetrância, transmissão vertical pela mãe ou pelo pai e uma associação com outros tipos de tumores (LYNCH *et al* 1990; PHAROAH *et al*, 1997). Eles costumam ter uma idade precoce de início e exibem um padrão de herança autossômica dominante (NCCN, 2021c). Também já foi demonstrada a associação do câncer de mama com a etnia (ACS, 2015), idade da menarca e menopausa (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2012).

De acordo com a American Cancer Society (ACS), as taxas de incidência e mortalidade por câncer de mama são maiores entre as mulheres brancas não hispânicas e mulheres negras. As de etnia asiática apresentam as menores taxas de incidência e mortalidade. Segundo a mesma fonte, na faixa etária entre 60 e 84 anos pode se observar uma incidência evidentemente maior entre as mulheres brancas. Todavia, mulheres negras apresentam número maior de casos novos com menos de 45 anos e mostram-se mais suscetíveis a morrerem por esta doença em qualquer idade (ACS, 2015).

O risco de câncer de mama aumenta ligeiramente para cada ano mais jovem do início da primeira menstruação (cerca de 5%) bem como, para cada ano a mais do início da menopausa (cerca de 3%). Por exemplo, o risco de câncer de mama é cerca de 20% maior entre as meninas que começam a menstruar antes da idade de 11 anos em comparação com aquelas que começam aos 13 anos. Da mesma forma, as mulheres que experimentam a menopausa aos 55 anos ou mais têm um risco cerca de 12% maior em comparação com

aquelas que o fazem entre as idades de 50-54 (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2012). Esse risco aumentado pode ser devido à exposição ao longo da vida a hormônios reprodutivos e tem sido mais fortemente associada a câncer de mama RE+ do que os outros subtipos (ANDERSON *et al*, 2014).

Dentre os fatores de risco modificáveis pode-se listar o consumo de álcool (LIU *et al*, 2015; CHEN *et al*, 2011; SINGLETARY *et al*, 2001), sobrepeso ou obesidade, IMC e nível de atividade física (MIZOO *et al.*, 2013; SUZUKI *et al.*, 2013; WADA *et al.*, 2014; SANGRAJRANG *et al.*, 2013). Ter filhos ou ter filhos em idade mais jovem (ALBREKTSEN *et al.*, 2005; SCHEDIN, 2006), além de tempo de amamentação por um ano ou mais tem sido considerados fatores de proteção (FAUPEL-BADGER *et al*, 2013).

Em relação ao consumo de álcool, estudos confirmaram que ele aumenta o risco de câncer de mama em cerca de 7% -10% para cada 10g (aproximadamente uma dose) de álcool consumido por dia (LIU *et al*, 2015; CHEN *et al*, 2011). Um dos mecanismos pelos quais o álcool aumenta o risco de câncer de mama é o aumento dos níveis de estrogênio e androgênio (SINGLETARY *et al*, 2001).

O sobrepeso ou obesidade está associado ao aumento do risco de câncer de mama, especialmente em mulheres que chegaram à menopausa. Isso se deve à gordura corporal, em vez dos ovários, tornar-se a principal fonte de estrogênio na menopausa (ACS, 2016). Internacionalmente, estudos epidemiológicos descobriram que mulheres na pós-menopausa com um índice de massa corpórea (IMC) aumentado têm um risco aumentado de câncer de mama entre 10-60% (TAHERGORABI *et al.*, 2016). Vários estudos mostraram correlação entre aumento do risco de câncer de mama e o IMC, sobrepeso ou obesidade e baixo nível de atividade física (MIZOO *et al.*, 2013; SUZUKI *et al.*, 2013; WADA *et al.*, 2014). Além disso, um estudo mostrou que o IMC baixo em uma idade jovem (com idades entre 10 e 20

anos) estava associado a uma diminuição do risco da doença (SANGRAJRANG *et al.*, 2013).

Um estudo prospectivo com mais de 70.000 pacientes verificou que mulheres que mantinham atividade física regular tinham um risco 14% menor de desenvolver câncer de mama em comparação com mulheres menos ativas (MCTIENAN *et al.*, 2003). Da mesma forma, uma revisão de estudos epidemiológicos estimou que o risco de desenvolver a doença foi reduzido em 25% em mulheres fisicamente ativas, em comparação com mulheres menos ativas (LYNCH *et al.*, 2011). Fatores que explicam a relação entre atividade física e câncer de mama baseiam-se principalmente na modulação de marcadores inflamatórios, esteroides sexuais, eixo insulina/fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 e adipocinas (JONES *et al.*, 2013).

Não ter filhos ou ter filhos em idade mais avançada está associado com risco aumentado de câncer de mama, ao passo que ter o primeiro filho em uma idade mais jovem e ter um maior número de filhos está associado à diminuição do risco. Por exemplo, mulheres que têm um primeiro filho antes dos 20 anos de idade têm um risco de câncer de mama 50% reduzido ao longo da vida em comparação com mulheres que não tiveram filhos. Essa associação está também relacionada à exposição aos hormônios reprodutivos (ALBREKTSEN *et al.* 2005; SCHEDIN, 2006).

A maioria dos estudos sugere que a amamentação por um ano ou mais reduz ligeiramente o risco geral de câncer de mama em mulheres, sendo considerado um fator de proteção (FAUPEL-BADGER *et al.*, 2013). Em uma revisão de 47 estudos em 30 países, o risco de câncer de mama foi reduzido em 4% a cada 12 meses de amamentação (Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002). Uma possível explicação para esse efeito é de que a amamentação inibe a menstruação, reduzindo assim o número de ciclos menstruais ao longo da vida (BRITT *et al.*, 2007).

Neste contexto, a dieta e o uso de vitaminas são fatores de risco modificáveis com um efeito pouco claro sobre o câncer de mama. O alto consumo de frutas e hortaliças esteve associado à diminuição do risco da doença, enquanto o aumento da ingestão de alimentos gordurosos e a deficiência de vitamina D foram associados a maior risco (DE CICCIO *et al*, 2019; BUJA *et al.*, 2020).

3.2 Vitamina D

O calcitriol (1,25 diidroxicolecalciferol ou vitamina D ativa) é um hormônio esteroide produzido por hidroxilação hepática e renal da vitamina D3 (colecalfiferol) que por sua vez, é sintetizada a partir da fotólise do 7-deidrocolesterol armazenado no tecido cutâneo (Figura 1). Visto que a exposição à luz solar é necessária para a síntese da vitamina D3 na pele, modificações à exposição solar com base na estação do ano, por exemplo, influenciarão no processo de síntese (SPIRO; BUTTRISS, 2014). A vitamina D3 é o precursor mais abundante da forma ativa, correspondendo a cerca de 80 a 90% do total. Os restantes 10 a 20% derivam da hidroxilação da vitamina D2 (ergocalciferol) proveniente da dieta (CASTRO, 2011; HOLICK, 2008).

Uma vez disponíveis no plasma, o colecalfiferol e o ergosterol (precursor da vitamina D2) ligam-se a proteína de ligação da vitamina D (DBP – *Vitamin D binding protein*) e são transportados para o fígado onde sofrem da ação da enzima 25-hidroxilase, gerando o 25-hidroxicolecalciferol (25(OH)D3). Este será ainda hidroxilado no tecido renal por ação da enzima α -1-hidroxilase (CYP27B1), resultando no 1,25-diidroxicolecalciferol (1,25(OH)₂D3). Uma vez dentro da célula, a vitamina D ativa irá ligar-se ao receptor de vitamina D (VDR – *Vitamin D Receptor*) e regular a expressão gênica de elementos de resposta à vitamina (PANDE *et al*, 2013; ALVES *et al*, 2013).

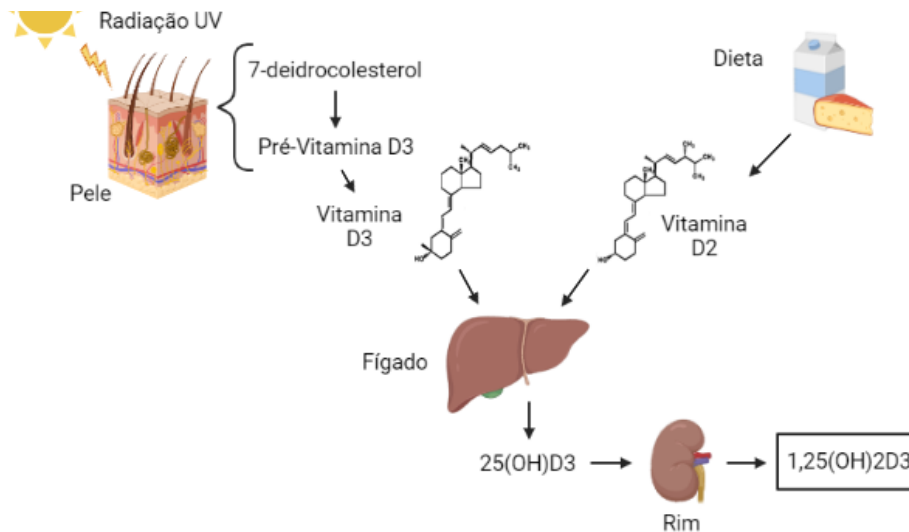
A função principal do $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ é manter a homeostase do cálcio e do fósforo no organismo. No entanto, o VDR não é expresso apenas no intestino, rim e tecido ósseo, mas também em outros sítios, incluindo tecidos cancerosos e na glândula mamária. Estudos pré-clínicos *in vitro* e *in vivo* ilustraram que a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ modula vias de sinalização variáveis envolvidas na proliferação celular, apoptose, diferenciação, inflamação, invasão e angiogênese (CHRISTAKOS *et al.*, 2019; ZINSER; WELSH, 2004; HUSS *et al.*, 2019).

Os níveis de $25(\text{OH})\text{D}$ podem ser classificados clinicamente em “deficiente”, “insuficiente”, “suficiente”, “normal em países ensolarados”, “excessivo”, “intoxicação”, conforme tabela 2 (GRANT *et al.*, 2005). As concentrações séricas de vitamina D, tanto em adultos jovens quanto em idosos variam conforme a região geográfica, dependendo da latitude, das estações do ano, hábitos culturais como a exposição solar, o uso de roupas e de protetor solar por tempo prolongado (BANDEIRA *et al.*, 2006). A hipovitaminose D é um problema de saúde mundial e o Brasil está inserido neste cenário (MAEDA *et al.*, 2014). Embora não haja um consenso sobre os níveis ideais de Vitamina D no soro, a maioria dos especialistas define como deficiente valores inferiores a 20 ng/mL (50 nmol/L) e insuficientes níveis entre 20 a 30 ng/mL (50 a 75 nmol/L) (HOLICK, 2008).

Tabela 2. Valores de concentração de $25(\text{OH})\text{D}$ correlacionados com hipovitaminose D, hipervitaminose D e condições normalidade da vitamina D em países ensolarados.

25(OH)D ng/mL	25(OH)D nmol/L	Implicação clínica
<20	<50	Deficiente
20-30	50-75	Insuficiente
30-100	75-250	Suficiente
54-90	135-225	Normal em países ensolarados
>100	>250	Excessivo
>150	>325	Intoxicação

Figura 1. Síntese da vitamina D e os seus precursores (vitamina D2 e vitamina D3).



Fonte: elaborado pela autora com BioRender

3.3 Câncer de mama e vitamina D

A vitamina D tem sido apontada como recurso para prevenir e melhorar o prognóstico de vários tipos de câncer, incluindo o câncer de mama (HUSS *et al.*, 2019). Alguns trabalhos relataram a deficiência de vitamina D em pacientes com câncer de mama no momento do diagnóstico, que foi correlacionada com maior grau tumoral e subtipos não luminais quando comparadas aos grupos opostos (KARTHIKAYAN *et al.*, 2018, MACHADO *et al.*, 2019). Estudos de meta-análises foram realizados para investigar essa relação, e apontam uma associação entre os níveis séricos de 25(OH)D e o risco de sobrevivência (VAUGHAN-SHAW *et al.* 2017, SONG *et al.* 2019, HOSSAIN *et al.*, 2019).

Estudos em animais demonstraram que a deficiência de vitamina D pode desempenhar um papel no crescimento do tumor primário e no desenvolvimento de metástases em células de câncer de mama (WILLIAMS *et al.*, 2016). Uma possível explicação de como a vitamina D pode afetar a biologia do câncer de mama se dá pela presença do VDR no tecido neoplásico, combinada com os seus potenciais efeitos

antitumorais (VANHEVEL *et al.*, 2022). A vitamina D ativa pode interagir com diferentes proteínas transmembrana (exemplo: receptor do fator de crescimento epidérmico) e afetar várias vias de sinalização que regulam fenômenos essenciais em células cancerosas, como apoptose, diferenciação, parada de crescimento, ciclo celular, expressão de oncogenes e supressores tumorais. Interações da vitamina D ativa com essas proteínas levam a uma cascata de eventos, resultando na ativação de várias vias de sinalização, que podem regular diretamente a vida e a morte de células cancerosas ou controlar a transcrição de genes cujos produtos contribuem para a transformação do câncer (BLASIAK *et al.*, 2022).

A enzima CYP27B1 também tem sido detectada em células da mama normal e cancerígenas, indicando que ambas podem sintetizar a forma ativa da vitamina D. A degradação da CYP27B1 tem sido encontrada de forma aumentada nos tumores, acabando por impedir os efeitos antineoplásicos da vitamina D (VOUTSADAKIS, 2020). Além disso, os RNAs não-codificantes que desempenham um papel importante na patogênese do câncer de mama, podem ser modulados pela vitamina D o que pode sugerir um efeito protetor no desenvolvimento do câncer de mama (BLASIAK *et al.*, 2022).

Apesar dos resultados dos estudos experimentais, a relação entre os níveis circulantes de 25(OH)D3 e a incidência de câncer de mama varia em estudos populacionais, onde alguns demonstram que não existe evidência de um efeito causal entre níveis reduzidos de vitamina D circulante e o risco para o câncer de mama, mostrando que ainda existem controvérsias nesse assunto (MANSON *et al.*, 2019; JIANG *et al.*, 2019; BOUILLON *et al.*, 2019).

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Determinar a associação entre os níveis plasmáticos de 25(OH)D3 e o câncer de mama em mulheres com diagnóstico recente.

4.2 Objetivos específicos

- a. Comparar os níveis de concentração plasmática de 25(OH)D3 em mulheres com diagnóstico de câncer de mama e o grupo controle.
- b. Avaliar a correlação entre a concentração de 25(OH)D3 com as características clínicas e demográficas das participantes e com as características tumorais.
- c. Avaliar a correlação entre a concentração de 25(OH)D3 e demais fatores de risco para o câncer de mama.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

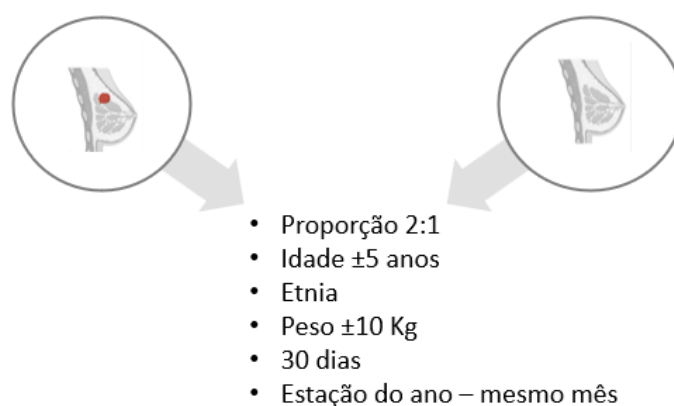
5.1 Tipo e população de estudo

Foi realizado um estudo caso-controle transversal com dados de pacientes atendidas entre agosto de 2015 e agosto de 2018, com idade entre 18 e 69 anos, diagnosticadas com carcinoma invasivo de mama, submetidas a tratamento oncológico curativo de câncer de mama no Hospital Erasto Gaertner (HEG), Curitiba, PR, Brasil. Foram recrutados 10 novos casos por mês para garantir o mesmo número de pacientes ao longo das estações do ano.

Os casos foram incluídos no estudo, desde que não tivesse decorrido mais do que um mês desde a ressecção primária do tumor e não tivesse iniciado terapia adjuvante local (radioterapia) ou terapia sistêmica (terapia hormonal, quimioterapia ou anticorpo monoclonal).

Para o grupo controle, foram recrutadas mulheres voluntárias do Banco de Sangue do HEG sem suspeita ou diagnóstico prévio de câncer ou qualquer tipo de lesão precursora benigna. A idade limite de 69 anos para a doação de sangue acabou por estabelecer mulheres no grupo caso em idades mais jovens, haja visto que foram pareadas na idade em ± 5 anos com o grupo controle. O pareamento com o grupo de casos, também foi feito em relação a etnia autorreferida e peso de 10 Kg na proporção 2:1. A estação do ano também foi considerada para o processo de pareamento (Figura 2). Assim, os controles foram incluídos no mesmo mês de cada caso, preferencialmente num número máximo 10 casos e 20 controles/mês (Figura 3).

Figura 2. Pareamento entre casos e controles



Fonte: elaborado pela autora com BioRender

Os critérios de exclusão foram dados incompletos do prontuário médico, doenças inflamatórias, endócrinas e autoimunes, osteoporose e uso de suplementos de vitamina D ou bronzeamento artificial nos últimos seis meses.

Figura 3. Cronograma inclusão de participantes no estudo

SAZONALIDADE	VERÃO	OUTONO	INVERNO	PRIMAVERA
	Dez - Fev	Mar - Maio	Jun - Ago	Set - Nov
Casos por sítio (~10/mês)	25	25	25	25
Controles por sítio (~20/mês)	50	50	50	50

Fonte: projeto inicial

5.2 Aspectos éticos

O estudo original (CAE 51367415.2.0000.0098) foi aprovado na Comissão de Ética em Pesquisa (CEP) do HEG, sob o protocolo número 2381057/2017. Todas as participantes foram informadas sobre os objetivos, riscos e benefícios potenciais do estudo, consentindo com sua participação assinando em duplicado o termo de consentimento livre e esclarecido.

5.3 Métodos de Coleta de Dados

A partir dos registros iniciais, foram recrutadas 390 mulheres, com 10 participantes posteriormente excluídos: nove devido ao uso contínuo de vitamina D monitorado em laboratório e um devido ao diagnóstico de CDIS. Como resultado, a amostra final foi composta por 380 mulheres, sendo 141 com diagnóstico de câncer de mama (grupo caso) e 239 sem câncer de mama (grupo controle).

O recrutamento das participantes foi realizado por alunos universitários do curso de medicina da Pontifícia Universidade Católica do Paraná e da Universidade Positivo de Curitiba, envolvidos em atividade de pesquisa vinculada ao presente estudo. Esses foram orientados e treinados para recrutarem as participantes do estudo e realizar aplicação de um questionário logo após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. Este questionário abrangeu perguntas sobre idade, escolaridade, histórico médico prévio, histórico de câncer familiar, uso de bebidas alcoólicas e tempo de exposição solar, onde foi considerado o tempo na realização de atividades laborais ou recreativas desenvolvidas ao ar livre nas últimas 4 semanas, registrado em minutos.

Para determinar os parâmetros bioquímicos plasmáticos, após responder o questionário, as participantes foram dirigidas ao laboratório de análise clínica do HEG para coleta de um total de 5 ml de sangue por punção venosa periférica em tubo EDTA. A determinação quantitativa da vitamina D (25(OH)D) foi realizada pela técnica de imunoensaio competitivo utilizando o Vitros Immunoassay Nutritional Assessment 25-hydroxyvitamin D (Ortho-Clinical Diagnostics, New Jersey, EUA). As medidas dos níveis de colesterol total (CT), HDL-C e Triglicerídeos (TG) foram realizadas pela técnica de lâmina seca usando Vitros CHOL Slides, Vitros Direct HDL Slides e Vitros TRIG Slides (Ortho-Clinical Diagnostics, New Jersey, EUA). O cálculo do LDL-C seguiu a fórmula de Martin (MARTIN *et al.*, 2013).

Após a coleta de sangue as participantes foram avaliadas por uma nutricionista do HEG, a qual realizava a avaliação antropométrica através da medida do peso corporal e a estatura. Para avaliar o estado nutricional, foi calculado o Índice de Massa Corporal (IMC) por meio da fórmula: $IMC = \text{Peso (Kg)} / \text{Estatura (m}^2\text{)}$, e a classificação foi feita de acordo com os pontos de corte recomendados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2000. No mesmo momento foi realizado o questionário de frequência alimentar, o qual investigou o consumo alimentar nas últimas 72 horas. O consumo de macro e micronutrientes foi determinado posteriormente com base na Tabela de Composição Nutricional dos alimentos consumidos no Brasil (IBGE, 2011). O desenho do estudo está representado na Figura 4.

Figura 4. Desenho do estudo



Fonte: elaborado pela autora com BioRender

5.4 Análise estatística

Para a análise descritiva, foram apresentadas médias, desvio padrão, mediana, mínimo e máximo (variáveis quantitativas) ou frequência absoluta e percentual (variáveis categóricas). A condição de normalidade das variáveis quantitativas foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. O teste t de amostras independentes ou o teste não paramétrico de Mann-Whitney foi empregado para comparar dois grupos com variáveis quantitativas. O modelo One-Factor Analysis of Variance (ANOVA) foi utilizado quando se trata de mais de dois grupos.

As variáveis categóricas foram analisadas por meio dos testes exato ou qui-quadrado de Fisher. A análise de correlação entre variáveis quantitativas foi realizada estimando-se o coeficiente de correlação de Pearson ou Spearman. Para analisar a associação dos fatores com o câncer de mama, foram ajustados os modelos de Regressão Logística e utilizado o teste de Wald para avaliar a significância das variáveis. O modelo multivariado inicialmente incluiu variáveis que apresentaram significância estatística na análise univariada.

O modelo final foi obtido utilizando uma abordagem de Seleção de Variáveis Stepwise Backward (probabilidade de entrada de 0,05 e probabilidade de remoção de 0,10). A medida de associação estimada foi o Odds Ratio (OR), com intervalos de confiança de 95%. A significância estatística foi indicada por p-valores $< 0,05$. Os dados foram analisados pelo software IBM SPSS Statistics v.28.0. Armonk, NY: IBM Corp.

6. RESULTADOS

6.1 Características das participantes

A população do estudo foi composta por 239 mulheres no grupo controle e 141 no grupo caso. A comparação das variáveis clínicas e demográficas entre os grupos está apresentada na Tabela 2. A média de idade no grupo controle foi de 41,7 anos (mediana 40) e no grupo caso de 43,1 anos (mediana 45). A maioria referiu etnia branca, sendo 76% no grupo controle e 86% no grupo caso. Os participantes do grupo caso tiveram menor escolaridade (48,2% com menos do que o ensino médio completo) em comparação às participantes do grupo controle (22,6%; $p<0,001$). Esses resultados demonstram diferenças significativas e a não homogeneidade dos grupos.

A história ginecológica mostrou diferenças no estado de pós-menopausa, apresentando diferença significativa entre os grupos, com 39,4% na menopausa no grupo caso comparado a 20,4% no grupo controle ($p<0,001$). Quanto ao número de filhos biológicos, a maioria das mulheres do grupo caso (33,9%) teve três ou mais filhos, enquanto apenas 18,5% do grupo controle relataram o mesmo número ($p=0,008$). O aleitamento materno, embora praticado por mais da metade das participantes, foi significativamente mais relatado pelas pacientes do grupo caso do que do grupo controle ($p=0,009$). O uso de contraceptivos orais, ooforectomia e terapia de reposição hormonal também foram avaliados e não apresentaram diferenças significativas (Tabela 3).

Quanto às características clínicas, a presença de hipertensão arterial sistêmica (HAS) foi relatada por 22% dos pacientes com câncer e 7,9% no grupo controle ($p<0,001$). Outras características clínicas, como diabetes mellitus e IMC, foram avaliadas e não apresentaram diferenças significativas entre os grupos. O perfil lipídico também diferiu; os valores para o grupo caso foram maiores para LDL-C ($p=0,001$) e menores para HDL-C ($p<0,001$) em

relação ao grupo controle. Os níveis de CT e TG foram semelhantes entre os grupos. Entre os hábitos das participantes, o consumo de álcool foi mais frequente entre as mulheres do grupo caso (42,2% vs. 24,7%; $p=0,002$), enquanto o tabagismo não diferiu entre os grupos.

Tabela 3. Características sociodemográficas e clínicas dos participantes

		Controle	Caso	p*
Variáveis quantitativas				
Média $\pm$ DP ou Mediana [min-máx]				
Idade (anos)		41.7 $\pm$ 7.8 40 [24-65]	43.1 $\pm$ 7.9 45 [21-61]	0.103
Colesterol total (mg/dL)		191.2 $\pm$ 35.5	198.5 $\pm$ 38.1	0.068
LDL-C Martin (mg/dL)		110.7 $\pm$ 29.5	121.4 $\pm$ 32.8	0.002
HDL-C (mg/dL)		53.3 $\pm$ 14.1	47.6 $\pm$ 10.6	<0.001
Triglicerídeo (mg/dL)		161.8 $\pm$ 75.9	176.2 $\pm$ 96.3	0.122
Variáveis categóricas (n (%))				
Etnia	Branco	164 (76.3)	122 (86.5)	0.019
	Não-branco	51 (23.7)	19 (13.5)	
Educação	< Ensino médio	49 (22.6)	68 (48.2)	<0.001
	Ensino médio	88 (40.7)	57 (40.4)	
	> Superior completo	79 (36.6)	16 (11.3)	
Nº de filhos	0	39 (18.1)	15 (12.1)	0.268
	1-2	137 (63.4)	67 (54)	
	≥ 3	40 (18.5)	42 (33.9)	
Amamentação	Não	47 (22.2)	11 (10)	0.009
	Sim	165 (77.8)	99 (90)	
Contraceptivo oral	Não	40 (18.5)	26 (23.4)	0.296
	Sim	176 (81.5)	85 (76.6)	
Ooforectomia	Não	214 (99.1)	105 (94.6)	0.020
	Sim	2 (0.9)	6 (5.4)	
Menopausa	Não	172 (79.6)	77 (60.6)	<0.001
	Sim	44 (20.4)	50 (39.4)	
TRH	Não	201 (93.1)	117 (97.5)	0.127
	Sim	15 (6.9)	3 (2.5)	
IMC (kg/m ²)	Desnutrido/Eutrófico	75 (31.4)	53 (37.6)	0.137
	Sobrepeso	95 (39.7)	46 (32.6)	
	Obesidade	69 (28.9)	42 (29.8)	
Diabetes	Não	212 (98.1)	117 (95.9)	0.293
	Sim	4 (1.9)	5 (4.1)	
HAS	Não	198 (92.1)	96 (78.0)	<0.001
	Sim	17 (7.9)	27 (22.0)	

Tabagismo	Não	153 (71.2)	83 (69.7)	0.786
	Sim	62 (28.8)	36 (30.3)	
Ingestão alcoólica	Não	162 (75.3)	52 (57.8)	0.002
	Sim	53 (24.7)	38 (42.2)	

Nota: TRH: Terapia de Reposição Hormonal; IMC: Índice de Massa Corpórea; HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica; LDL-C: Lipoproteína de Baixa Densidade Colesterol; HDL-C: Lipoproteína de Alta Densidade Colesterol. *Logistic Regression Model and Wald's test, $p < 0.05$.

Alguns fatores de risco conhecidos para câncer de mama também foram comparados entre os grupos controle e caso (Tabela 3). O uso de anticoncepcionais orais hormonais (ACO) foi maior no grupo caso (127,7 vs. 70,4 meses; $p=0,038$) bem como o consumo de álcool (5,3 vs. 2,7 doses por semana; $p < 0,001$). Idade na menarca, menopausa, idade no primeiro parto, tempo de lactação e IMC não foram estatisticamente diferentes entre os grupos ($p > 0,05$).

Em relação à associação entre os grupos e os fatores de risco, os valores mais significativos foram sobre o uso de álcool e a duração do uso de ACO. O tempo médio de uso de ACO foi maior no grupo caso do que no grupo controle (127,7 vs 70,4 meses, respectivamente; $p=0,038$). Em relação ao álcool, as mulheres do grupo caso relataram utilizar uma média de 5,3 doses por semana, maior que as 2,7 doses relatadas pelo grupo controle ($p < 0,001$) (Tabela 4).

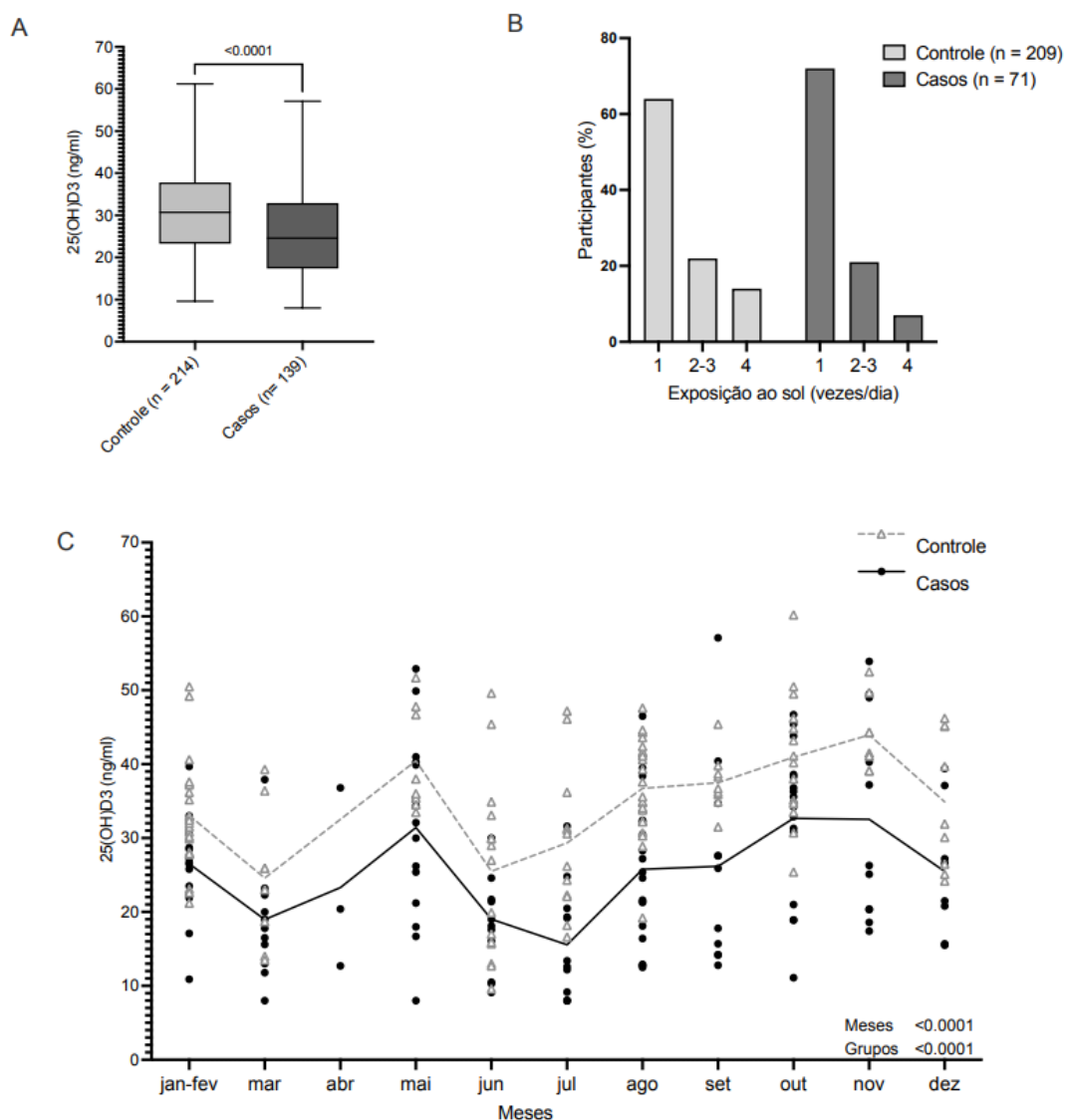
Tabela 4. Análise dos fatores de risco para câncer de mama dos participantes dos grupos controle e caso.

Fatores de risco	Média ± DP; Mediana [min-max]		p**
	Controle (n = 237)	Caso (n = 141)	
Menarca (idade)	12.7 ± 1.6; 13 [9–18]	12.6 ± 1.5; 13 [9–7]	0.326
Menopausa (idade)	43.6 ± 7.6; 47 [27-56]	45.0 ± 5.8; 45.5 [27-56]	0.338
Primeira gestação (idade)	22.6 ± 5.7; 21 [14–42]	22.0 ± 4.7; 20 [15-34]	0.433
Amamentação (meses)	20.2 ± 24.3; 12.5 [1-252]	26.6 ± 26.2; 18 [1-132]	0.069
Uso de ACO (meses)	70.4 ± 58.0; 60 [1-180]	127.7 ± 98.1; 120 [4-360]	0.038
Bebida alcoólica*	2.7 ± 2.5; 2 [0.5-10]	5.3 ± 4.2; 3.5 [1 – 13]	<0.001
IMC (kg/m ²)	27.7 ± 4.9; 27.1 [18.8-46.4]	27.4 ± 5.3; 26.9 [17.6-46.4]	0.557

Nota: ACO: Anticoncepcionais Orais; IMC: Índice de Massa Corporal; *dose por semana; *teste t de Student para amostras independentes ou teste não paramétrico de Mann-Whitney, p<0,05.

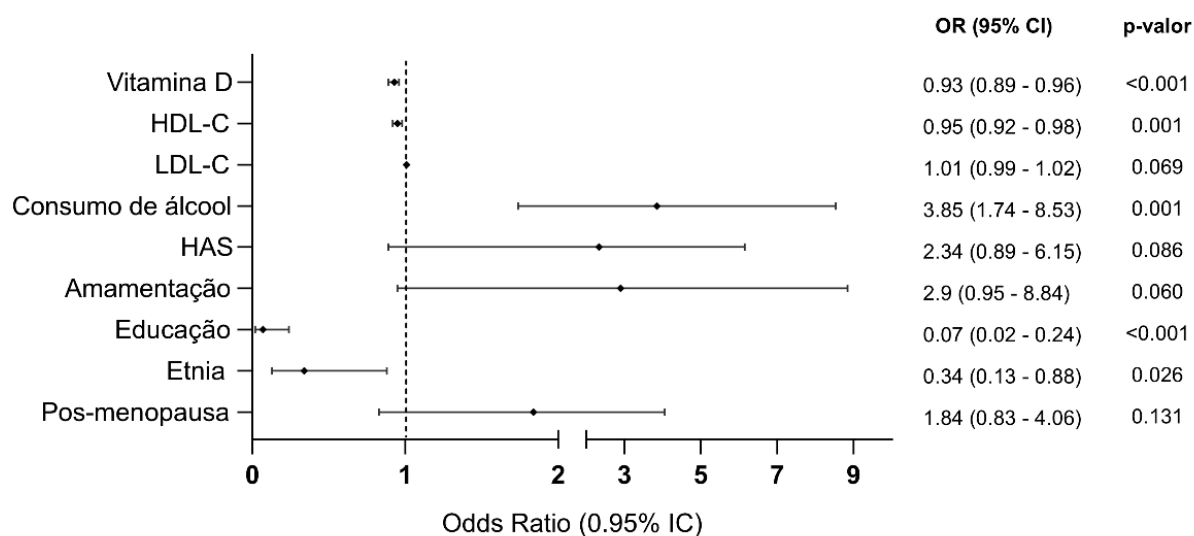
A dosagem sérica de vitamina D, considerando todas as amostras, foi significativamente diferente entre os grupos caso e controle, com mediana de 25,5 ng/mL e 31,0 ng/mL, respectivamente (p<0,001) (Figura 5A). Essa diferença também se manteve ao analisar os níveis de vitamina D ao longo do ano e estações do ano (p<0,0001) (Figura 5C), enquanto o tempo gasto ao sol durante o dia foi o mesmo para ambos os grupos (Figura 5B).

Figura 5. Avaliação da Vitamina D sérica nos grupos caso e controle ao longo do ano e exposição ao sol. A) Comparação dos níveis de vitamina D entre os grupos; B) Frequência de exposição solar diária; C) Níveis de vitamina D ao longo do ano.



Nota: Análise estatística: A) teste t; B) ANOVA; C) ANOVA para diferenças entre meses e grupos.
Fonte: elaborado pelo próprio autor.

Figura 6. Gráfico forest plot de variáveis significativas para associação com câncer de mama dos grupos caso e controle.



Nota: HDL-C: Colesterol Lipoproteico de Alta Densidade; LDL-C: Colesterol Lipoproteico de Baixa Densidade; HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica; Consumo de álcool sim x não; Amamentação: sim x não; Educação: superior completo x fundamental incompleto; Etnia branca x não branca.

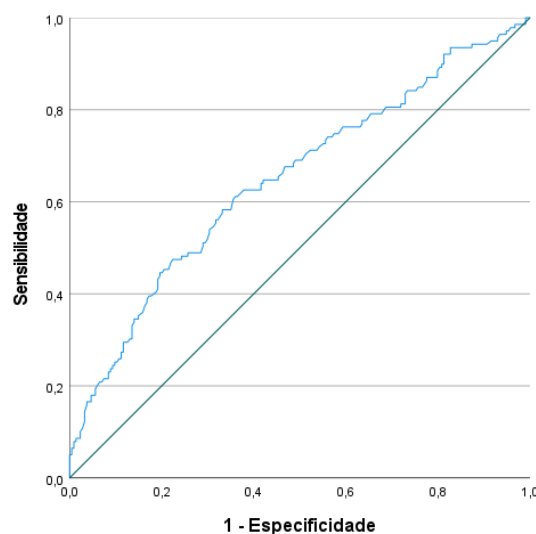
Fonte: elaborado pelo próprio autor.

A análise multivariada foi realizada para avaliar se a associação entre níveis de vitamina D e câncer de mama é afetada por outras variáveis significativas para esse desfecho. Os resultados indicam que independentemente da etnia, escolaridade, hipertensão, consumo de álcool, HDL e LDL e menopausa, a vitamina D está significativamente associada ao grupo com câncer de mama. Para cada unidade extra de vitamina D, há uma redução de 7% na chance de estar no grupo de câncer de mama. Essa análise também encontrou associação independente com HDL-C, consumo de álcool, escolaridade e raça (Figura 6).

Com a vitamina D como fator de associação independente com câncer de mama, uma curva ROC foi ajustada para determinar um ponto de corte para discriminar caso e controle. A área sob a curva foi igual a 0,65 com significância estatística ($p < 0,001$), sensibilidade foi de 61,2% e especificidade de 64,0% (Figura 7). O ponto de corte de 27,45 foi encontrado para discriminar casos e controles com acurácia igual a 65%; valores abaixo de 27,45 foram associados ao câncer de mama, e valores acima foram relacionados à ausência de câncer de

mama. Considerando que esse ponto de corte é muito próximo ao utilizado clinicamente (28 ng/ml), as seguintes análises utilizaram valores abaixo e acima de 28 como categorias dicotômicas para vitamina D.

Figura 7. Curva ROC para estimar o ponto de corte do nível de Vitamina D entre casos e controles.



Fonte: elaborado pelo autor (2023).

A associação de vitamina D dicotômica e dados diagnósticos no grupo caso foi avaliada. Verificou-se que os pacientes com vitamina $D \geq 28$ estavam em sua maioria em estágio clínico II, enquanto aqueles com vitamina $D < 28$ estavam em sua maioria em estágio clínico III ($p=0,01$). Em relação ao subtipo molecular, ambos os grupos apresentaram o maior percentual como luminal B. No entanto, observou-se que os subtipos triplo-negativos foram encontrados em 20,7% dos grupos de vitamina $D < 28$ e 18% nos grupos de vitamina $D \geq 28$ ($p=0,041$) (Tabela 5). O subtipo histológico mais comumente encontrado entre as mulheres foi o subtipo não especial (carcinoma ductal invasivo), mas o baixo número de casos dos outros subtipos histológicos comprometeu a análise estatística.

Tabela 5. Características clínicas e anatomopatológicas de mulheres com câncer de mama e associação com níveis de vitamina D.

		Vitamina D				p*
Características	Classificação	< 28 (n=87)		≥ 28 (n=52)		
		n	%	n	%	
Tipo histológico	Carcinoma ductal Invasivo	79	91	42	84	-
	Lobular invasivo	5	6	5	10	
	CDI e Lobular	2	2	1	2	
	Mucinoso	1	1	0	0	
	Oculto	0	0	1	2	
	Microinvasor	0	0	1	2	
Grau	1	10	14	5	12	0.108
	2	42	61	18	44	
	3	17	25	18	44	
Estágio	IA e IB	10	12	10	19	0.010
	II A E IIB	30	34	29	56	
	IIIA, B, C	32	37	10	19	
	IV	15	17	3	6	
Subtipo molecular	Luminal A	6	7	5	10	0.041
	Luminal B	46	53	30	58	
	Luminal B HER2	10	11	1	2	
	HER2	7	8	10	19	
	Triplo-negativo	18	21	5	10	

Nota: HER2: Receptor do fator de crescimento epidérmico humano 2. *Teste exato de Fisher ou teste de qui-quadrado, p<0,05.

Um recordatório alimentar foi realizado para avaliar se os níveis de vitamina D poderiam ser influenciados pela dieta, ou seja, se a ingestão de alguns nutrientes poderia interferir na absorção de vitamina D. Os dados nutricionais avaliados no grupo caso, como

ingestão calórica (valor energético VET-total e Kcal/Kg) e avaliação de macro e micronutrientes, comparados ao ponto de corte de vitamina D, não apresentaram diferenças entre os grupos analisados (Tabela 6).

Tabela 6. Avaliação dos dados nutricionais em relação ao ponto de corte da vitamina D

Variável	Vitamina D	n	Média $\pm$ SD	Mediana (min-max)	p*
VET	< 28	86	1889.3 $\pm$ 220.4	1958.5 (1274 - 2163)	0.425
	$\geq$ 28	52	1857.6 $\pm$ 228	1939 (1425 - 2202)	
Kcal/Kg	< 28	86	29.5 $\pm$ 7	29.7 (14,7 - 50)	0.214
	$\geq$ 28	52	28.1 $\pm$ 6.1	27.7 (14,7 - 39,5)	
Carboidrato (g)	< 28	86	293 $\pm$ 28.5	302 (157 - 341)	0.582
	$\geq$ 28	52	291.1 $\pm$ 32.3	292 (198 - 341)	
Consumo proteína / Peso (g/kg)	< 28	86	1.3 $\pm$ 0.4	1.3 (0.5 - 2.2)	0.198
	$\geq$ 28	52	1.3 $\pm$ 0.4	1.2 (0.5 - 2.3)	
Proteína (g)	< 28	86	89.8 $\pm$ 21	91.5 (36 - 140)	0.139
	$\geq$ 28	52	85.9 $\pm$ 21	85 (50 - 140)	
Consumo Lipídios / Peso (g/Kg)	< 28	86	0.7 $\pm$ 0.3	0.6 (0.3 - 1.6)	0.267
	$\geq$ 28	52	0.6 $\pm$ 0.2	0.6 (0.3 - 1.2)	
Lipídios (g)	< 28	86	46.1 $\pm$ 15.2	43 (24 - 74)	0.817
	$\geq$ 28	52	43.8 $\pm$ 11.7	44.5 (25 - 74)	
Fibra dietética (g)	< 28	86	18.5 $\pm$ 3	19.3 (10.9 - 24.1)	0.373
	$\geq$ 28	52	18 $\pm$ 3	17.4 (13.7 - 24.1)	
Cálcio (mg)	< 28	86	1038.6 $\pm$ 143.1	1048 (524 - 1258)	0.797
	$\geq$ 28	52	1045.5 $\pm$ 158.4	1028 (789 - 1265)	
Ferro (mg)	< 28	86	6.5 $\pm$ 1.3	6.8 (3.9 - 8.5)	0.605
	$\geq$ 28	52	6.4 $\pm$ 1.3	6.4 (4.3 - 8.5)	
Sódio (mg)	< 28	86	1725 $\pm$ 198.8	1734 (1355 - 2132)	0.430
	$\geq$ 28	52	1695.8 $\pm$ 216.1	1625 (1355 - 2140)	
Zinco (mg)	< 28	86	9.8 $\pm$ 1.8	9.8 (6.6 - 13.4)	0.210
	$\geq$ 28	52	9.4 $\pm$ 1.7	9,3 (6.6 - 12.1)	
Potássio (mg)	< 28	86	4.8 $\pm$ 0.9	4.8 (2.9 - 6.1)	0.685
	$\geq$ 28	52	4.7 $\pm$ 0.9	4.8 (2.9 - 6.2)	

Nota: VET: valor energético total ; *Teste t de Student para amostras independentes ou teste não-paramétrico de Mann-Whitney, p<0.05

7. DISCUSSÃO

Estudos experimentais *in vitro* e utilizando modelos *in vivo* já demonstraram relação entre a vitamina D no desenvolvimento do câncer de mama. No entanto, as evidências epidemiológicas são limitadas (ESTÉBANEZ *et al.*, 2018). Ao mesmo tempo, estudos identificaram e definiram fatores de riscos relacionados ao desenvolvimento do câncer de mama, e apesar desses resultados, a prevenção baseada nesses dados não foi suficiente para diminuir a incidência da doença (SIEGEL *et al.*, 2017; SUNG *et al.*, 2021). No presente estudo, mulheres com níveis de vitamina D abaixo de 27,45 ng/mL foram mais associadas ao grupo de câncer de mama do que mulheres com níveis superiores a esse valor.

Os achados do presente trabalho são próximos aos encontrados em uma revisão sistemática e metanálise descrevendo os níveis de vitamina D em pacientes com câncer de mama recém-diagnosticado, que encontraram níveis médios da vitamina em pacientes com câncer de mama de 26,88 ng/ml (IC 95% 22,8-30,96 ng/ml) e no grupo controle de 31,41 ng/ml (IC 95% 19,31-43,5 ng/ml) (VOUTSADAKIS, 2021). Da mesma forma, um estudo caso-controle avaliando a relação entre os níveis plasmáticos de vitamina D e o risco de câncer de mama na pós-menopausa concluiu que os níveis circulantes de 25(OH)D3 e 25(OH)D estavam associados a um risco reduzido de câncer de mama em mulheres brancas (KIM; JE *et al.*, 2014). Esses resultados se alinham a outros estudos da literatura realizados em diferentes populações (SHAUKAT *et al.*, 2017; WU *et al.*, 2017; O'BRIEN *et al.*, 2017).

Analisando grupos de mulheres de uma forma geral, uma metanálise mostrou que a deficiência sérica de 25(OH)D, bem como a ingestão total e suplementar de vitamina D, estavam associadas à ocorrência de câncer de mama (HOSSAIN *et al.*, 2019). No entanto, na metanálise realizada por Estébanez e cols, a relação entre vitamina D e câncer de mama quando estratificado pelo estado menopausal, demonstrou que a associação de ação protetora da vitamina foi significativa apenas no grupo de pré menopausa (ESTÉBANEZ *et al.*, 2018).

Por fim, o estudo randomizado realizado por Dimitrakopoulou *et al.*, encontrou pouca evidência de uma associação causal linear entre a concentração de vitamina D circulante e o risco de vários tipos de câncer, incluindo câncer de mama, sugerindo na sua conclusão que o rastreamento da deficiência de vitamina D e a suplementação não devem ser recomendados como estratégia de prevenção primária do câncer (DIMITRAKOPOULOU *et al*, 2017).

A média dos níveis de vitamina D encontrada no estudo entre o grupo casos de 25,5ng/mL é considerada insuficiente assim como o ponto de corte encontrado entre os grupos de 27,4 ng/mL. A deficiência e insuficiência de vitamina D é um problema de saúde global que afeta mais de um bilhão de crianças e adultos em todo o mundo (HOLICK, 2017). A vitamina D é produzida na pele quando exposta à luz solar, por isso a deficiência é geralmente o resultado da baixa exposição ao sol (REID *et al*, 2019). A síntese cutânea vai depender de uma série de fatores, dentre eles a superfície da pele exposta, etnia, idade, bem como do tempo de exposição solar, que por sua vez, depende da latitude, da sazonalidade, do uso de protetor solar e das vestes. A quantidade de UVB é maior em maiores altitudes e áreas ensolaradas, o que não encontramos em nosso local de estudo visto que, Curitiba encontra-se no sul do Brasil e apresenta poucos dias ensolarados ao longo do ano (CHANG *et al*, 2019).

Os aspectos clínicos e outros fatores de risco para câncer de mama avaliados neste estudo não influenciaram significativamente os resultados sobre a associação entre nível de vitamina D e câncer de mama, demonstrando que o nível de vitamina D seria um fator independente para essa relação. Este resultado está em concordância com o estudo realizado por Machado *et al.* com mulheres na pós menopausa entre 45 e 75 anos, nas quais, após análise do risco ajustado para idade, tempo desde a menopausa e IMC, demonstraram que as

pacientes com câncer de mama tinham um risco 1,5 vezes maior de ter baixos níveis de vitamina D do que as mulheres no grupo controle (MACHADO *et al.*, 2019).

Em relação aos hábitos de vida analisados neste estudo, nenhum mostrou influenciar a relação entre a vitamina D e o câncer de mama. Entretanto, alguns se mostraram igualmente independentes para associação com o câncer, como o consumo de bebida alcoólica. Este hábito já foi apontado pelo World Cancer Research Fund (WCRF) como um papel causal no câncer de mama na pós-menopausa e prováveis evidências na pré-menopausa, com um risco adicional de 9% por aumento de 10 g/dia no consumo de álcool. Tal associação foi reforçada em metanálise atualizada no qual reafirmou a associação dose-resposta entre ingestão de álcool e incidência da doença (ZHOU *et al.*, 2022).

Níveis séricos elevados de 25(OH)D estão associados a um perfil lipídico sérico favorável bem como a deficiência está associada a baixos níveis de HDL-C (SAHEB SHARIF-ASKARI *et al.*, 2020; FARIDI *et al.*, 2017; LUPTON *et al.*, 2016). Níveis mais elevados de colesterol são considerados essenciais para a proliferação de células cancerígenas e progressão tumoral (KUZU *et al.*, 2016). Estas descobertas sugerem que o HDL pode desempenhar um papel importante na promoção da progressão do tumor (LI *et al.*, 2017). Assim, um papel para o HDL-C tem sido sugerido na relação com o câncer de mama e no momento os resultados entre os níveis encontrados nos estudos apresentam-se conflitantes (MAZZUFERI *et al.*, 2021). Neste estudo reforçamos a associação entre baixos níveis de HDL-C e o grupo com câncer de mama, o qual também apresentou menores níveis de vitamina D.

Entre as pacientes com câncer de mama, cerca de 43% apresentaram tumores em estágios mais avançados (estágio III e IV). Em partes, isso pode ser justificado devido a média da idade das pacientes (43.1 anos). Estudos apontam um comportamento dos tumores em pacientes mais jovens, na maioria das vezes, mais agressivo do que daqueles que se

desenvolvem em mulheres idosas (GUO *et al*, 2018; KIM *et al*, 2022). As mulheres mais jovens são propensas a apresentar sintomas em um estágio mais avançado, levando a atrasos no diagnóstico, o que pode ser justificado parcialmente devido à falta de rastreamento preciso (PARTRIDGE *et al*, 2012; ZABICKI *et al*, 2006).

As pacientes com estágio tumoral mais avançado (III e IV) apresentaram associação significativa com níveis de vitamina D <28 ng/ml. Tal relação é descrita por Yao S *et al*, em estudo de coorte prospectivo o qual avaliou níveis séricos de vitamina D no momento do diagnóstico, e encontrou uma associação significativa entre as médias de nível sérico de 25-hidroxivitamina D e o estágio tumoral, com valores que variavam de 21,5 ng/mL no estágio I à 18,5ng/mL no estágio IV (YAO *et al.*, 2017).

Em uma revisão sistemática com 13.135 paciente com câncer de mama, baixos níveis de vitamina D foram associados ao tumor do tipo triplo negativo (TOMMIE *et al.*, 2018). Diferentemente do que foi descrito em estudo observacional prospectivo, o qual relatou que pacientes com deficiência moderada de vitamina D eram menos propensas a ter tumor triplo negativo, com maiores taxas de tumores luminais B (ZEMPLIN *et al.*, 2023). Neste estudo, observamos uma associação tanto entre tumores triplos negativos quanto Luminais B/Her 2 entre as paciente com menores níveis de vitamina D.

Os resultados aqui encontrados reforçam que os benefícios da vitamina D podem ser incluídos na redução do risco de câncer de mama. Alguns estudos que analisaram a influência da suplementação de vitamina D sobre o risco da doença encontraram um efeito protetor limítrofe e concluem que esse resultado se deve ao fato de a principal fonte de vitamina D ser a luz solar e não os alimentos ou suplementos, e ainda, que a quantidade total de vitamina necessária para alcançar um efeito protetor pode ser muito alta para se alcançar em regiões com baixa radiação ultravioleta (ESTÉBANEZ *et al*, 2018; KIM; JE *et al.*, 2014). Por outro lado, o presente trabalho também mostrou que determinar um ponto de corte ao avaliar os

níveis séricos de vitamina D pode fornecer um benefício positivo ao identificar populações em risco de câncer de mama e, posteriormente, poder fornecer melhores estratégias de intervenção para prevenção que vão além da suplementação.

Este estudo apresenta algumas limitações. Primeiramente, embora os resultados tenham sido ajustados para potenciais fatores de confusão, por se tratar de um estudo transversal, não é possível comprovar uma relação causal entre os níveis séricos de vitamina D e o câncer de mama. Em segundo lugar, há viés de seleção, uma vez que o grupo controle foi selecionado do serviço de doação de sangue, que tem limite de idade de 69 anos, restringindo assim a idade do grupo caso. Como ponto forte, podemos destacar o fato das participantes serem incluídas ao longo do ano, sendo que caso e controles eram alocadas dentro do mesmo mês, o que proporcionou a observação da variação dos níveis de vitamina D.

8. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que as mulheres com níveis de vitamina D inferiores a 27,5 ng/mL apresentaram maior probabilidade de estarem associadas ao grupo de câncer de mama. Em contraste, as mulheres com níveis de vitamina D acima deste valor tinham maior probabilidade de estarem associadas ao grupo controle.

Neste estudo, também conseguiu-se concluir que nenhuma característica clínica (exemplo: hipertensão arterial, amamentação e nível de HDL e LDL-C) bem como as características demográficas (exemplo: etnia e escolaridade) influenciaram na associação dos níveis de vitamina D sérico e as mulheres com câncer de mama.

Em relação a associação da vitamina D sérica e as características tumorais das pacientes, concluiu-se que níveis de vitamina $<28\text{ng/ml}$ estavam relacionados com tumores em estágios mais avançados e subtipos triplos negativos e Luminais B/Her 2 do que aquelas que apresentam níveis $\geq 28\text{ng/ml}$. Outras características do câncer de mama, como o grau histológico, não apresentaram correlação no presente estudo.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O câncer de mama é um desafio devido à falta de conhecimento de sua patogênese por completo e grande heterogeneidade da doença. Pesquisas voltadas para a prevenção primária e implementação de intervenções baseadas em evidências se fazem necessárias para redução da incidência entre as mulheres.

A vitamina D já é conhecida por exibir propriedades anticancerígenas, mas muitos aspectos permanecem desconhecidos e a sua relação com o câncer de mama ainda é conflitante. Os resultados do presente estudo reforçam a possibilidade dos benefícios da suplementação como estratégia de prevenção primária do câncer de mama e sugerem a identificação de um grupo de risco que possa se beneficiar de um melhor planejamento dessa.

Assim sendo, ensaios clínicos bem delimitados são necessários para investigar a relação direta de causa e efeito entre a associação do nível sérico de vitamina D e o risco de câncer de mama, bem como o efeito da suplementação na prevenção.

REFERÊNCIAS

- ALBREKTSSEN, G *et al.* Breast cancer risk by age at birth, time since birth and time intervals between births: exploring interaction effects. *Br J Cancer*. 2005;92(1):167-75.
- ALVES, M *et al.* Vitamina D – Importância da avaliação laboratorial. *Rev Port Endocrinol Diabetes Metab* 2013; 8(1):32-39.
- AMERICAN CANCER SOCIETY – ACS. Breast Cancer Facts & Figures 2015-2016. Atlanta: American Cancer Society, Inc. 2015.
- ANDERSON, KN; SCHWAB, RB; MARTINEZ ME. Reproductive risk factors and breast cancer subtypes: a review of the literature. *Breast Cancer Res Treat*. 2014;144(1):1–10.
- BLASIAK, J *et al.* Vitamin D May Protect against Breast Cancer through the Regulation of Long Noncoding RNAs by VDR Signaling. *Int. J. Mol. Sci.* 2022 Mar;23(6):3189.
- BOUILLON, R *et al.* Skeletal and Extraskelatal Actions of Vitamin D: Current Evidence and Outstanding Questions. *Endocr Rev*. 2019 Aug;40(4):1109-1151.
- BRASIL. Ministério da Saúde. DATASUS. Tabnet. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://datasus.saude.gov.br/informacoes-de-saude-tabnet/>. Acesso em: 10 jul. 2022.
- BRITT, K; ASHWORTH, A; SMALLEY, M. Pregnancy and the risk of breast cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2007;14(4):907-33.
- BUJA, A *et al.* Breast Cancer Primary Prevention and Diet: An Umbrella Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Jul;17(13):4731.
- CASTRO, LCG. O sistema endocrinológico vitamina D. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2011, 55(8):566-75.
- CHANG, SW; LEE, HC. Vitamin D and health - The missing vitamin in humans. *Pediatr Neonatol*. 2019 Jun;60(3):237-244.
- CHEN, WY *et al.* Moderate alcohol consumption during adult life, drinking patterns, and breast cancer risk. *JAMA*. 2011;306: 1884-90.
- CHRISTAKOS, S; LI, S; DE LA CRUZ, J; BIKLE, DD. New developments in our understanding of vitamin metabolism, action and treatment. *Metabolism*. 2019 Sep; 98:112-120.
- COLLABORATIVE GRUPO ON HORMONAL FACTORS IN BREAST CANCER. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet*. 2002;360: 187-95.

COLLABORATIVE GROUP ON HORMONAL FACTORS IN BREAST CANCER. Menarche, menopause, and breast cancer risk: individual participant meta-analysis, including 118 964 women with breast cancer from 117 epidemiological studies. *Lancet Oncol.* 2012 Nov;13(11):1141-51.

DA COSTA VIEIRA, RA *et al.* Breast cancer screening in developing countries. *Clinics (Sao Paulo).* 2017 Apr; 72(4):244-53.

DE CICCIO, P *et al.* Nutrition and Breast Cancer: A Literature Review on Prevention, Treatment and Recurrence. *Nutrients.* 2019 Jul; 11(7):1514.

DE LA PUENTE-YAGUE, M *et al.* Vitamin D: And its role in breast cancer. *Kaohsiung J Med Sci.* 2018 Aug;34(8):423-427.

DIECI, MV *et al.* Rare breast cancer subtypes. *The Oncologist.* 2014; 19:805–13.

DIMITRAKOPOULOU, VI *et al.* Circulating vitamin D concentration and risk of seven cancers: Mendelian randomisation study. *BMJ.* 2017 Oct;359:j4761.

ESTÉBANEZ, N *et al.* Vitamin D exposure and Risk of Breast Cancer: a meta-analysis. *Sci Rep.* 2018 Jun;8(1):9039.

FARIDI, KF *et al.* Serum vitamin D and change in lipid levels over 5 y: the atherosclerosis risk in communities study. *Nutrition.* 2017;38:85–93.

FAUPEL-BADGER, JM *et al.* Postpartum remodeling, lactation, and breast cancer risk: summary of a National Cancer Institute-sponsored workshop. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105: 166-74.

FRANCO-MARINA, F *et al.* Breast cancer age at diagnosis patterns in four Latin American Populations: A comparison with North American countries. *Cancer Epidemiol.* 2015 Dec;39(6):831-7.

GANDHI, AK *et al.* Burden of preventable cancers in India: Time To Strike The Cancer Epidemic. *J Egypt Natl Canc Inst.* 2017 Mar; 29(1):11-8.

GOLDHIRSCH, A *et al.* Panel members. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol.* 2013 Sep;24(9):2206-23.

GRANT, WB; HOLICK, MF. Benefits and requirements of vitamin D for optimal Health. A review. *Altern Med Rev* 2005; 10(2): 94-111.

GUO, F *et al.* Trends in breast cancer mortality by stage at diagnosis among young women in the United States. *Cancer.* 2018;124:3500–3509.

HOLICK MF. Vitamin D: a D-Lightful health perspective. *Nutr Rev.* 2008 Oct;66(10 Suppl 2):S182-94.

HOLICK MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017 Jun;18(2):153-165.

HOSSAIN, S *et al*. Vitamin D and breast cancer: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Clin Nutr ESPEN*. 2019 Apr; 30:170-184.

HUSS, L *et al*. Vitamin D receptor expression in invasive breast tumors and breast cancer survival. *Breast Cancer Res*. 2019 Jul 29;21(1):84.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009. Tabelas de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil. 2011.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA - INCA. Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. – Rio de Janeiro : 2022.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Tipos de câncer. Rio de Janeiro: INCA, 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer>. Acesso em: 15/05/2021

JENKINS, S *et al*. Rare Breast Cancer Subtypes. *Curr Oncol Rep*. 2021 Mar; 23(5):54.

JIANG, X *et al*. Circulating vitamin D concentrations and risk of breast and prostate cancer: a Mendelian randomization study. *Int J Epidemiol*. 2019 Oct 1;48(5):1416-1424.

JONES, S *et al*. Effect of exercise on markers of inflammation in breast cancer survivors: The yale exercise and survivorship study. *Cancer Prevention Research* 2013; 6 (2): 109-18.

KARTHIKAYAN, A; SURESHKUMAR, S; KADAMBARI, D; VIJAYAKUMAR, C. Low serum 25-hydroxy vitamin D levels are associated with aggressive breast cancer variants and poor prognostic factors in patients with breast carcinoma. *Arch Endocrinol Metab*. 2018 Aug;62(4):452-9.

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.

KIM, HJ; KIM, S; FREEDMAN, RA; PARTRIDGE, AH. The impact of young age at diagnosis (age < 40 years) on prognosis varies by breast cancer subtype: A U.S. SEER database analysis. *Breast*. 2022;61:77–83.

KUZU, OF; NOORY, MA; ROBERTSON, GP. The role of cholesterol in Cancer. *Cancer Res*. 2016;76(8):2063–2070.

LEHMANN, BD; PIETENPOL, JA.; TAN, AR. Triple-negative breast cancer: molecular subtypes and new targets for therapy. *American Society of Clinical Oncology Educational Book* . 2015.

LI, X *et al*. The effect of preoperative serum triglycerides and high-density lipoprotein-cholesterol levels on the prognosis of breast cancer. *Breast*. 2017;32:1-6.

LIU, Y; NGUYEN, N; COLDITZ GA. Links between alcohol consumption and breast cancer: a look at the evidence. *Women's Health (London, England)*. 2015;11: 65-77.

LUPTON, JR *et al*. Deficient serum 25-hydroxyvitamin D is associated with an atherogenic lipid profile: the Very Large Database of Lipids (VLDL-3) study. *J Clin Lipidol*. 2016;10(1):72–81.

LYNCH, B; NEILSON, H; FRIEDENREICH, C. Physical activity and breast cancer prevention. *Recent Results Cancer Res* 2011;186:13-42.

LYNCH, HT; WATSON, P; CONWAY, TA; LYNCH, JF. Clinical/genetic features in hereditary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 1990 Feb;15(2):63-71.

MACHADO, MRM *et al*. Low pretreatment serum concentration of vitamin D at breast cancer diagnosis in postmenopausal women. *Menopause*. 2019 Mar; 26(3):293-299.

MCTIENAN, A *et al*. Women's Health Initiative Cohort Study. Recreational physical activity and the risk of breast cancer in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Cohort Study. *JAMA*. 2003;10;290(10):1331-6.

MCDONNELL, SL *et al*. Breast cancer risk markedly lower with serum 25-hydroxyvitamin D concentrations ≥ 60 vs < 20 ng/ml (150 vs 50 nmol/L): Pooled analysis of two randomized trials and a prospective cohort. *PLoS ONE*. 2018; 13(6):e0199265.

MALHOTRA, GK *et al*. Histological, molecular and functional subtypes of breast cancers. *Cancer Biol Ther*. 2010;10(10):955–60.

MANSON, JE *et al*. VITAL Research Group. Vitamin D Supplements and Prevention of Cancer and Cardiovascular Disease. *N Engl J Med*. 2019 Jan 3;380(1):33-44.

MARTIN, SS *et al*. Comparison of a novel method vs the Friedewald equation for estimating low-density lipoprotein cholesterol levels from the standard lipid profile. *JAMA*. 2013 Nov 20;310(19):2061-8.

MAZZUFERI, G; BACCHETTI, T; ISLAM, MO; FERRETTI, G. High density lipoproteins and oxidative stress in breast cancer. *Lipids Health Dis*. 2021 Oct 25;20(1):143.

MISRA, M; PACAUD, D; PETRYK, A; COLLETT-SOLBERG, PF; KAPPY, M. Drug and Therapeutics Committee of the Lawson Wilkins Pediatric Endocrine Society. Vitamin D deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. *Pediatrics*. 2008 Aug;122(2):398-417.

MIZOO, T *et al*. Effects of lifestyle and single nucleotide polymorphisms on breast cancer risk: a case-control study in Japanese women. *BMC Cancer*. 2013;13:565.

NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK – NCCN. Breast Cancer (Versão 4.2021). Disponível em: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=1&id=1419>. Acesso em: 08/05/2021a.

NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK - NCCN. Breast Cancer Screening and Diagnosis. Disponível em: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=2&id=1421>. Acesso em: 08/05/2021b.

NATIONAL COMPREHENSIVE CANCER NETWORK – NCCN. Breast Cancer Risk Reduction (Versão 1.2021). Disponível em: <https://www.nccn.org/guidelines/guidelines-detail?category=2&id=1420>. Acesso em: 08/05/2021c.

O'BRIEN, KM; SANDLER, DP; TAYLOR, JÁ; WEINBERG, CR. Serum vitamin D and risk of breast cancer within five years. *Environ Health Perspect* 2017;125:077004.

ONKAR, SS *et al.* The Great Immune Escape: Understanding the Divergent Immune Response in Breast Cancer Subtypes. *Cancer Discov.* 2023 Jan 9;13(1):23-40.

ORTHO CLINICAL DIAGNOSTICS. 25-OH Vitamin D Total Calibrator and Reagent Pack. [Reagent Instructions for Use]. New Jersey, EUA. Disponível em: Technical Documents (ocdx.com). Acesso em: 15/10/2015.

PANDE, M *et al.* Genetic variants in the vitamin D pathway and breast cancer disease-free survival. *Carcinogenesis*. 2013;34(3):587-94.

PHAROAH, PD *et al.* Family history and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer*. 1997;71(5):800-9.

PENAULT-LLORCA, F; VIALE, G. Pathological and molecular diagnosis of triple-negative breast cancer: a clinical perspective. *Ann Oncol*. 2012; 23(Suppl 6):vi19–22.

PARTRIDGE, AH *et al.* The Effect of Age on Delay in Diagnosis and Stage of Breast Cancer. *Oncologist*. 2012; 17:775–782.

REID, IR; BOLLAND, MJ. Controversies in medicine: the role of calcium and vitamin D supplements in adults. *Med J Aust*. 2019; 211(10):468-473.

SAHEB SHARIF-ASKARI, F *et al.* Low Vitamin D Serum Level Is Associated with HDL-C Dyslipidemia and Increased Serum Thrombomodulin Levels of Insulin-Resistant Individuals. *Diabetes Metab Syndr Obes*. 2020. 12;13:1599-1607.

SANGRAJRANG, S *et al.* Obesity, diet and physical inactivity and risk of breast cancer in Thai women. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2013;14(11):7023-7.

SCHEDIN P. Pregnancy-associated breast cancer and metastasis. *Nat Rev Cancer*. 2006 Apr;6(4):281-91.

SHAUKAT, N; JALEEL, F; MOOSA, FA; QURESHI, NA. Association between Vitamin D deficiency and Breast Cancer. *Pak J Med Sci*. 2017 Jun;33(3):645-649.

SHENG, L; CALLEN, DF; TURNER AG. Sinalização de vitamina D e câncer de mama: insights de modelos de camundongos transgênicos. *J Esteroide Biochem Mol Biol*. 2018 Abr;178:348-353.

SHULMAN, LN; WILLETT, W; SIEVERS, A; KNAUL, FM. Breast cancer in developing countries: opportunities for improved survival. *J Oncol*. 2010; 2010:595167.

SIEGEL, RL; MILLER, KD; JEMAL A. Cancer Statistics, 2017. *CA Cancer J Clin*. 2017 Jan;67(1):7-30.

SIMON, SD *et al*. Characteristics and prognosis of stage I-III breast cancer subtypes in Brazil: The AMAZONA retrospective cohort study. *Breast*. 2019; 44:113-119.

SINGLETERY, KW; GAPSTUR, SM. Alcohol and breast cancer: review of epidemiologic and experimental evidence and potential mechanisms. *JAMA*. 2001;286: 2143-51.

SORLIE, T *et al*. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 Sep; 98(19):10869-74.

SONG, D *et al*. Vitamin D intake, blood vitamin D levels, and the risk of breast cancer: a dose-response meta-analysis of observational studies. *Aging (Albany NY)*. 2019 Dec 28;11(24):12708-12732.

SPIRO, A; BUTTRISS, JL. Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. *Nutr Bull*. 2014 Dec;39(4):322-50.

SUNG, H *et al*. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin* (2021).

SUZUKI, S *et al*. Obesity/weight gain and breast cancer risk: findings from the Japan collaborative cohort study for the evaluation of cancer risk. *J Epidemiol*. 2013;23:139–45.

TAHERGORABI, Khazaei M, Moodi M, Chamani E. From obesity to cancer: a review on proposed mechanisms. *Cell Biochem Function*. 2016; 34:533–45.

TFAYLI, A; TEMRAZ, S; ABOU MRAD, R; SHAMSEDDINE, A. Breast cancer in low- and middle-income countries: an emerging and challenging epidemic. *J Oncol*. 2010; 2010:490631.

TOMMIE, JL; PINNEY, SM; NOMMSEN-RIVERS, LA. Serum Vitamin D Status and Breast Cancer Risk by Receptor Status: A Systematic Review. *Nutr Cancer*. 2018 Jul; 70(5):804-20.

TORRE, LA *et al*. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65:87.

URBAN, LABD *et al*. Recomendações do Colégio Brasileiro de Radiologia e Diagnóstico por Imagem, da Sociedade Brasileira de Mastologia e da Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia para o rastreamento do câncer de mama no Brasil. *Radiol Bras*. 2023 Jul/Ago;56(4):207–214.

VANHEVEL, J *et al*. The role of vitamin D in breast cancer risk and progression. *Endocr Relat Cancer*. 2022 Jan 24;29(2):R33-R55.

VAUGHAN-SHAW, PG *et al.* The impact of vitamin D pathway genetic variation and circulating 25-hydroxyvitamin D on cancer outcome: systematic review and meta-analysis. *Br J Cancer*. 2017 Apr 11;116(8):1092-110.

VISVANATHAN, K *et al.* Circulating vitamin D and breast cancer risk: an international pooling project of 17 cohorts. *Eur J Epidemiol*. 2023 Jan;38(1):11-29.

VOUTSADAKIS, IA. Vitamin D receptor (VDR) and metabolizing enzymes CYP27B1 and CYP24A1 in breast cancer. *Mol. Biol. Rep.* 2020; 47:9821–9830.

VOUTSADAKIS, IA. Vitamin D baseline levels at diagnosis of breast cancer: A systematic review and meta-analysis. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2021 Mar;14(1):16-26.

WADA, K *et al.* Body mass index and breast cancer risk in Japan: a pooled analysis of eight population-based cohort studies. *Ann Oncol*. 2014;25:519–24.

WELSH J. Vitamin D and breast cancer: Past and present. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018 Mar; 177:15-20.

WILLIAMS, JD *et al.* Tumor autonomous effects of vitamin D deficiency promote breast cancer metastasis. *Endocrinology*. 2016;157:1341–47.

WU, Y *et al.* Association of Vitamin D3 Level with Breast Cancer Risk and Prognosis in African-American and Hispanic Women. *Cancers (Basel)*. 2017 Oct 24;9(10):144.

YOUN, HJ; HAN, W. A Review of the Epidemiology of Breast Cancer in Asia: Focus on Risk Factors. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2020 Apr 1;21(4):867-880.

YAO, S *et al.* Association of Serum Level of Vitamin D at Diagnosis With Breast Cancer Survival: A Case-Cohort Analysis in the Pathways Study. *JAMA Oncol*. 2017 Mar 1;3(3):351-57.

ZABICKI, K *et al.* Breast Cancer Diagnosis in Women ≤ 40 versus 50 to 60 Years: Increasing Size and Stage Disparity Compared With Older Women Over Time. *Ann. Surg. Oncol*. 2006; 13:1072–1077.

ZEMLIN, C *et al.* Prevalence and Relevance of Vitamin D Deficiency in Newly Diagnosed Breast Cancer Patients: A Pilot Study. *Nutrients*. 2023 Mar 17;15(6):1450.

ZHOU, X *et al.* Alcohol consumption, blood DNA methylation and breast cancer: a Mendelian randomisation study. *Eur J Epidemiol*. 2022 Jul;37(7):701-12.

ZINSER, GM; WELSH J. Accelerated mammary gland development during pregnancy and delayed postlactational involution in vitamin D3 receptor null mice. *Mol Endocrinol*. 2004 Sep;18(9):2208-23.

ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER DO COMITE DE ÉTICA

Título da Pesquisa: ESTUDO DE FATORES DE RISCO PARA DESENVOLVIMENTO DE CÂNCER DE MAMA

Pesquisador: JOSE CLAUDIO CASALI DA ROCHA

Versão: 13

CAAE: 51367415.2.1001.0098

Instituição Proponente: Hospital Erasto Gaertner

Patrocinador principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do parecer: 6.007.006

ANEXO 2 – PARTICIPAÇÃO EM EVENTOS

