

Гарифуллова Юлия Владимировна

**КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ВИТАМИНА D  
В ТЕЧЕНИИ И ПРОГРЕССИРОВАНИИ МАСТОПАТИИ  
У ЖЕНЩИН**

14.01.01 – Акушерство и гинекология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

Волгоград - 2019

Работа выполнена в Казанской государственной медицинской академии – филиале Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:** Мальцева Лариса Ивановна, доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Коган Игорь Юрьевич** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, врио директора Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта»

**Овсянникова Тамара Викторовна** - доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины факультета повышения квалификации медицинских работников медицинского института Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства образования и науки Российской Федерации

**Ведущая организация:** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Защита состоится « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2019 г. в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.008.10 Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, г. Волгоград, площадь Павших борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России и на сайте [www.volgmed.ru/ru/dsovet/browse/9/](http://www.volgmed.ru/ru/dsovet/browse/9/), а с авторефератом – на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ [www.vak.ed.gov.ru](http://www.vak.ed.gov.ru).

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,

д.м.н., профессор

Селихова Марина Сергеевна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Доброкачественные заболевания молочных желёз продолжают занимать лидирующие позиции в структуре заболеваний молочных желёз у женщин молодого возраста и приводят к существенному повышению риска рака молочной железы. Ведущими факторами риска, общими как для доброкачественной патологии, так и неопластических процессов молочной железы, являются гормональные нарушения, где особая роль отведена гиперпролактинемии и относительной или абсолютной гиперэстрогенемии. На сегодняшний день другим доказанным фактором риска рака молочной железы является дефицит витамина D, коррекция которого может явиться высокоэффективным и безопасным методом первичной профилактики рака молочной железы.

**Степень научной разработанности темы.** Многочисленные исследования показали, что наличие доброкачественных заболеваний молочных желёз (ДЗМЖ) существенно повышает риск заболеваемости раком молочной железы (Morrow M. et al., 2015, Socolov D. et al., 2015). В течение последних лет рядом работ показана связь между доступностью солнечных лучей, обеспеченностью витамином D (VD) и раком молочной железы (Eliassen A.H. et al., 2016; Rejnmark L. et al., 2009, Beildeck M.E. et al, 2009): самая высокая частота рака молочной железы (РМЖ) обнаружена у женщин с уровнем VD менее 13 нг/мл (Garland C. et al, 2007). Женщины с ранними стадиями РМЖ также имеют повышенный риск отдалённых метастазов при концентрации VD менее 20 нг/мл (John E.M. et al, 1999; Pérez-López F.R. et al, 2009; Cui Y. et al, 2006), а анализ маммографического скрининга РМЖ подтвердил, что низкий уровень VD чётко коррелирует со злокачественными изменениями по данным маммографии (Fillenberg S. et al, 2012).

Реализация биологических эффектов VD осуществляется за счёт модуляции генов, отвечающих за иммунитет, пролиферацию, регуляцию апоптоза, клеточную дифференцировку, степень инвазии, ангиогенеза и метастазирования (Zinser G. et al, 2002; Lopes N. et al., 2012; Vanoirbeek E. et al, 2014; Narvaez C.J., 2014). Ключевыми моментами противоопухолевой активности VD являются снижение активности и экспрессии металлопротеиназ (Hansen C.M. et al., 1994; Koli K. Et al., 2000), повышение

клеточного редокс-потенциала (Simboli-Campbell M. Et al., 1996), усиление некроза опухоли за счёт каспаза-зависимых и каспаза-независимых механизмов (Weitsman G.E. et al., 2003), ингибирование ангиогенеза (Oikawa T. et al, 1990; Quesada-Gómez J.M. et al, 2015; Nebbioso M. et al, 2017, Mantell D.J. et al, 2000), снижение экспрессии эстрогеновых рецепторов (Swami S. et al, 2000) и гена, кодирующего фермент ароматазу (Lundqvist J. et al, 2017).

Прогрессирующие изменения экспрессии рецепторов к VD и основных регуляторных протеинов, отвечающих за синтез и деградацию VD в ткани нормальной молочной железы, при доброкачественной патологии, карциноме *in situ* и инвазивных опухолях, указывают не только на общность патогенеза заболеваний, но и позволяют рассматривать ДЗМЖ как обязательный этап неоканцерогенеза молочной железы (Lopes N. et al, 2010).

Полиморфизм гена рецептора к витамину D (VDR) также ассоциирован с повышенным риском РМЖ (Dalessandri K.M. et al, 2012, Lundin A.C. et al, 1999, Lowe L.C. et al, 2005). Обнаружено значительное увеличение риска рака молочной железы среди лиц с полиморфизмом Fok1, клетки с таким генотипом также характеризуются повышенной экспрессией провоспалительных генов (Raimondi S. et al, 2009, Tang C. et al, 2009, Colin E.M. et al, 2000, Uitterlinden A. G. et al, 2004). Полиморфизм генов VDR, CYP2R1, кодирующего микросомальную гидроксилазу, и GC, кодирующего витамин D связывающий белок, могут оказывать влияние и на уровень циркулирующей формы VD (Zhang Z. et al, 2013, Anderson L.N. et al, 2013), являясь генетическими маркерами дефицита VD.

**Цель исследования:** определить влияние обеспеченности витамином D на течение диффузной мастопатии и фиброаденом молочных желёз у женщин и обосновать применение витамина для лечения больных.

#### **Задачи исследования**

1. Изучить клинические, гормональные, маммографические и ультразвуковые особенности больных с диффузной формой мастопатии и фиброаденомой молочных желёз.
2. Определить обеспеченность витамином D обследованных женщин по содержанию его в крови и связь с клиническим течением заболевания, уровнем пролактина, прогестерона, тиреотропного гормона, а также степенью плотности молочных желёз по маммографическим данным и

толщиной фиброгландулярной зоны молочных желёз при ультразвуковом исследовании молочных желёз.

3. Изучить роль полиморфизмов генов ядерного рецептора витамина D Fok 1 (-Met1Thr, rs2228570), микросомальной гидроксилазы CYP2R1 (-1559T > C, rs2060793) и GC, кодирующего витамин D связывающий белок (-26-796 A > C, rs2282679) в формировании генетической предрасположенности к ДЗМЖ и влияние указанных полиморфизмов на уровень циркулирующей формы витамина D у обследованных групп женщин.

4. Оценить лечебные эффекты витамина D у женщин с доброкачественными заболеваниями молочных желёз.

### **Научная новизна работы**

В настоящем исследовании впервые разработана концепция связи витамина D с доброкачественными заболеваниями молочных желёз у женщин, выявлены клинические особенности диффузной формы мастопатии и фибroadеномы молочных желёз, установлен факт стабильно повышенного уровня пролактина у женщин с доброкачественными заболеваниями молочных желёз по сравнению со здоровыми, не снижающийся по мере старения женщины, и достоверное уменьшение содержания прогестерона в крови у больных до 30 лет с диффузной формой мастопатии.

Впервые установлено, что пациентки с диффузной формой мастопатии и фибroadеномой молочных желёз характеризуются высокой частотой дефицита и недостаточности витамина D, не связанного с уровнем инсоляции и не зависящего от возрастного критерия. Показано, что низкий уровень витамина D у пациенток с диффузной формой мастопатии и фибroadеномой молочных желёз имеет обратную корреляцию с выраженностью болевого синдрома, уровнем пролактина и рентгенологической плотностью молочной железы.

Впервые установлена связь низкого уровня витамина D с носительством генотипа TT полиморфизма Fok 1 (rs2228570) рецептора VD и генотипа AC полиморфизма GC (rs2282679) гена, кодирующего витамин D связывающий белок, у пациенток с диффузной формой мастопатии. Впервые показано, что полиморфизмы генов Fok 1 (rs2228570) VDR, CYP2R1 (rs2060793) и GC (rs2282679) не приводят к генетической

предрасположенности к диффузной форме мастопатии и фиброаденоме молочных желёз.

Впервые доказана высокая эффективность лечения витамином D диффузной формы мастопатии, заключающаяся в уменьшении болевого синдрома, снижении рентгенологической плотности молочных желёз, нормализации ультразвуковой картины заболевания, уменьшении уровня пролактина в крови.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные результаты позволили научно обосновать необходимость изучения обеспеченности витамином D пациенток с ДЗМЖ в репродуктивном возрасте и периоде менопаузального перехода. Наличие дефицита витамина D может явиться дополнительным показанием для комплексного обследования молочных желёз.

Установлена связь между низким уровнем витамина D и повышенным уровнем пролактина у пациенток с ДЗМЖ, показана возможность коррекции повышенного пролактина при лечении витамином D.

Обосновано включение витамина D в комплексную терапию ДФМ, что приводит к быстрому купированию болевого синдрома, снижению плотности молочной железы и может быть эффективным, безопасным методом лечения даже в виде монотерапии.

### **Положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Особенности течения диффузной мастопатии у женщин является высокая плотность молочных желёз (ACR 3 и ACR 4) в 55,5% случаев, стабильное повышение уровня пролактина в крови в среднем на 61,31 мМЕ/л по сравнению со здоровыми, не имеющее тенденции к снижению по мере старения женщины и уменьшение содержания прогестерона в крови у больных до 30 лет.
2. Женщины с доброкачественными заболеваниями молочных желёз отличаются низкой обеспеченностью витамином D. При диффузной форме мастопатии у 66,3% женщин установлен дефицит витамина D в крови, у 31,5% – недостаточность, при фиброаденоме – у 45,2 и 52,4% соответственно. Фактор инсоляции не влияет на уровень витамина D у больных, в отличие от здоровых. Низкий уровень витамина D коррелирует с

болевым синдромом, повышенным уровнем пролактина, высокой плотностью молочных желёз.

3. Стабильно низкая обеспеченность витамином D у женщин с диффузной мастопатией генетически детерминирована и связана с полиморфизмом гена рецептора витамина D Fok 1 и гена GC, кодирующего витамин D связывающий белок. Гомозиготы по аллели T (TT) VDR Fok1 встречающиеся в 25,92% случаев и гетерозиготы по минорной аллели AC гена GC у 36,98% больных с диффузной мастопатией ассоциированы с низким уровнем витамина D.

4. Коррекция дефицита витамина D у женщин с доброкачественными заболеваниями молочных желёз дозой 5000 ME 1 раз в сутки в течение 2 месяцев с последующим переводом на поддерживающую дозу 2000 ME 1 раз в сутки и достижением уровня витамина D в крови не менее 43 нг/мл позволяет добиться положительной клинической, маммографической и ультразвуковой динамики: снижения плотности молочных желёз, толщины фиброгландулярной зоны, уровня пролактина до 49,86 мМЕ/л после 6 месяцев терапии.

#### **Степень достоверности и апробация результатов**

Обработку полученных результатов проводили в статистической среде R в программе RStudio. Для визуализации количественных данных использовали боксплоты (коробчатые графики) и диаграммы рассеяния. Описание количественных признаков даётся с использованием медианы и квартилей, а для сравнения групп применяли критерии: t-тест в модификации Уэлча, непараметрические ранговые критерии Манна-Уитни и Крускала-Уоллиса, ранговый парный тест Вилкоксона, F-критерий Фишера. Статистическая связь между признаками выявлялась с помощью корреляционного анализа с расчётом коэффициента корреляции Спирмена и оценки его значимости. Для попарного множественного сравнения использовали тест Тьюки. Для прогнозирования риска развития диффузной формы мастопатии у женщин в возрасте до 50 лет была построена модель множественной логистической регрессии. Оценка чувствительности и специфичности указанной модели логистической регрессии проведена с помощью рок-анализа.



Диссертационная работа соответствует паспорту специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на I Национальном конгрессе «Онкология репродуктивных органов: от профилактики и раннего выявления к эффективному лечению» и IV междисциплинарном форуме «Медицина молочной железы», 19 – 21 мая 2016 г., г. Москва, Республиканской междисциплинарной научно-практической конференции «Патология молочных желёз в практике гинеколога и онколога», 15 декабря 2017 г., г. Казань, 30-м Европейском конгрессе патологов (ЕСР 2018), 9 сентября 2018, г. Бильбао, Испания, VI Общероссийском семинаре «Репродуктивный потенциал России: казанские чтения», 15–17 ноября 2018 года.

Апробация диссертации состоялась на совместном заседании сотрудников кафедры акушерства и гинекологии им. проф. В.С. Груздева ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и кафедры акушерства и гинекологии Казанской государственной медицинской академии – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Министерства здравоохранения Российской Федерации.

**Личный вклад автора в проведённое исследование.** Автор принимал непосредственное участие в выборе направления исследования, разработке дизайна, определении цели и задач исследования. Автором проведён обзор и анализ отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме (100%). Участие в сборе первичного материала – 100%. Обобщение полученных данных, анализ полученных результатов и внедрение их в практику выполнены автором лично.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 14 работ, из них 6 – в журналах, рекомендованных перечнем ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации, 3 – в зарубежной печати.

**Объём и структура диссертации.** Диссертация изложена в традиционной форме и содержит введение, обзор литературы, главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, указатель литературы. Работа представлена на 157 страницах текста компьютерного набора, иллюстрирована 39 таблицами и 81 рисунком.



Библиографический указатель включает 223 источника литературы, из них 81 отечественных и 142 иностранных автора.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы исследования.** Научно-исследовательская работа выполнена на кафедре акушерства и гинекологии КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Министерства здравоохранения Российской Федерации. Клинические наблюдения и сбор материала проведены на базе ООО «Поликлиника профилактической медицины» г. Казань и диспансерно-профилактического отделения ГАУЗ «Республиканского онкологического диспансера МЗ РТ».

Патоморфологические исследования проводились в патолого-анатомических отделениях ГАУЗ «Республиканского клинического онкологического диспансера МЗ РТ», г. Казань и ФГБУ «Объединённая больница с поликлиникой» Управления делами Президента РФ города Москвы. Генотипирование образцов выполняли на базе кафедры биохимии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Казань.

На первом этапе для решения поставленных задач была сформирована группа из 134 пациенток с доброкачественными заболеваниями молочных желёз и группа сравнения – 124 женщины без патологии молочных желёз. В первой группе выделено 2 подгруппы: 92 пациентки с диффузной формой мастопатии (ДФМ) и 42 с фиброаденомой молочных желёз (ФА).

У всех женщин получено информированное согласие на расширенный алгоритм обследования согласно плану выполняемой научной работы. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Всем пациенткам проведено комплексное общеклиническое исследование с учётом стандартов согласно приказу МЗ РТ №572н от 01.11.2012 «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «Акушерство и гинекология». Рентгеновскую маммографию проводили на аппарате цифровой маммографии Маммоскан фирмы Адони с выполнением снимка молочной железы в двух проекциях (прямой и косой) и описанием данных согласно BIRADS (Breast Imaging Reporting and Data System) терминологии и определением плотности молочной железы (ACR)

согласно классификации Американской коллегии радиологии. Ультразвуковое исследование молочных желёз выполняли на аппарате экспертного класса Logiq 6 с описанием данных согласно BIRADS терминологии. С целью количественной оценки состояния паренхимы молочной железы применена модифицированная методика Солнцевой И.А. (2002), заключающаяся в измерении толщины фиброгландулярной зоны.

Уровень циркулирующей формы VD сыворотки крови оценивался методом хемиллюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах (СМIA) системы ARCHITECT 25-ОН Vitamin D (Abbott Laboratories, США), уровни пролактина, прогестерона и тиреотропного гормонов определялись методом иммуноферментного анализа.

Генотипирование образцов проводили методом ПЦР в реальном времени с праймерами и зондами, разработанными в ООО «СибДНК» (г. Новосибирск) согласно протокол уфирмы-производителя на термоциклируемом амплификаторе CFX96 (BioRad, США). Для выделения ДНК из лейкоцитов периферической венозной крови использовали метод ускоренного лизиса с коммерческим набором «ДНК-экспресс» согласно инструкции фирмы-производителя (НПФ «Литех», г. Москва).

Оценка болевого синдрома проведена с помощью визуальной аналоговой шкалы (ВАШ): 1 – 3 балла – слабая боль, 4 – 7 баллов – умеренный болевой синдром, 8 и более баллов – сильная боль.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Для решения первой задачи проведён сравнительный анализ клинико-anamнестических данных пациенток с доброкачественными заболеваниями молочных желёз и здоровых женщин. Было выявлено, что у всех больных с ДЗМЖ имеется гинекологическая патология, в отличие от женщин группы сравнения, где более половины её не имели. Пациентки с ДЗМЖ характеризовались достоверным ( $p < 0,001$ ) повышением частоты миомы матки и/или генитального эндометриоза и воспалительных заболеваний органов малого таза (ВЗОМТ). Полученные нами данные полностью согласуются с данными литературы о высокой частоте гинекологической патологии среди пациенток с ДЗМЖ (Радзинский В.Е., 2017, Кравченко Е.Н. 2014, Попов Э.Н. и соавт., 2012). Анализ акушерского анамнеза показал, что частота абортóв у

пациенток с диффузной формой мастопатии была выше ( $p < 0,001$ ), чем у здоровых женщин.

По данным лучевых методов диагностики пациентки достоверно ( $p = 0,0011$ ) различались по распределению форм диффузной мастопатии в возрастных группах до 40 лет и 41 – 50 лет: при преобладании смешанной формы мастопатии в обеих группах, 50 и 53,4% соответственно, у больных до 40 лет чаще диагностируется кистозная форма – 26,5%, в группе 41 – 50 лет – железистая форма – 39,7%, фиброзная мастопатия обнаружена только в старшей возрастной группе (5,2%). Анализ 117 маммограмм показал, что высокая плотность молочной железы (ACR 3 + ACR 4) диагностирована у каждой второй пациентки с ДФМ – 55,5%, в то время как в группе контроля подавляющее большинство женщин (92,6%) имели низкую плотность (ACR 1 + ACR 2) молочной железы ( $p = 1.091e-07$ ). При этом в возрасте 46 – 50 лет высокая плотность диагностирована у 42,3% больных, тогда как все (100%) здоровые женщины старше 45 лет имели низкую плотность молочных желёз.

При проведении ультразвукового исследования молочных желез оценивалась толщина фиброгландулярной зоны – FGR. Толщина FGR у пациенток с ДФМ во всех возрастных группах (до 40 лет, 41 – 45 лет, 46 – 50 лет) превышала показатели здоровых женщин ( $p = 1.149e-14$ ,  $p = 2.978e-11$  и  $p = 1.833e-09$  соответственно). Средний уровень различий показателя между группой ДФМ и группы сравнения в возрасте до 40 лет составил 5,29 мм (95% ДИ 4,49 – 6,0 мм), 41 – 45 лет – 7,1 мм (95% ДИ 6,4 – 7,79 мм), 46 – 50 лет – 5,4 мм (95% ДИ 4,5 – 6,39 мм). У пациенток с ДФМ показано значимое ( $p = 2.856e-05$ ) снижение данного показателя в старшей возрастной группе 46 – 50 лет, больные до 40 лет не отличались от женщин 41 – 45 лет. Аналогичные данные были получены И.Ю. Коганом (2008).

Для пациенток с ДФМ оказалось характерным наличие прямой корреляции толщины FGR со шкалой ВАШ ( $r = 0,54$ ,  $p = 2.738e-08$ ) и рентгенологической плотностью молочных желез ( $r_s = 0.0275$ ,  $p = 0.03783$ ).

Исследование гормонального статуса больных показало достоверное ( $p = 0,003$ ) увеличение уровня пролактина у пациенток с ДФМ и у женщин с фибroadеномой по сравнению со здоровыми: медиана уровня пролактина у здоровых женщин составила 256,6 мМЕ/л, в группе ДФМ – 290,8 мМЕ/л, у женщин с ФА – 338,3 мМЕ/л (рисунок 1). Средняя величина отличий

здоровых женщин и больных с ДФМ составила 61,8 мМЕ/л (95% ДИ – 117,33 – -6,27 мМЕ/л,  $p = 0,024$ ), при сравнении здоровых женщин и больных с ФА – 78,89 мМЕ/л (95% ДИ – 155,54 – -2,25 мМЕ/л,  $p = 0,04$ ).

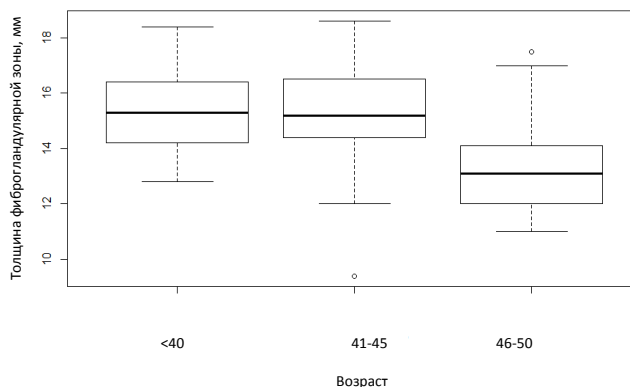


Рисунок 1 – Уровень пролактина у женщин с ДФМ, ФА и в группе сравнения.

Изучение уровня пролактина в разных возрастных группах выявило, что у здоровых женщин ( $p = 0,014$ ) и у пациенток с ФА ( $p = 0,026$ ) с возрастом его показатель снижается, в отличие от женщин с ДФМ, где уровень пролактина остаётся стабильно повышенным ( $p = 0,067$ ) по сравнению со здоровыми, независимо от возраста.

Установлено, что самый высокий уровень гормона ассоциирован с сильным болевым синдромом по шкале ВАШ (Me – 433,9 мМЕ/л,  $p = 0,046$ ) и очень высокой (ACR 4) плотностью молочных желёз (Me – 635,6 мМЕ/л,  $p < 0,0001$ ). В то же время нами не выявлена ( $p = 0,2781$ ) зависимость толщины FGR по ультразвуковым данным от уровня пролактина.

Изучение уровня прогестерона показало, что для здоровых женщин характерна отрицательная связь ( $r = -0,44$ ,  $p = 0,0001$ ) между прогестероном и возрастом; с увеличением возраста показатель прогестерона значимо снижался. Больные с ДФМ в возрастной группе до 30 лет имели существенно более низкий уровень прогестерона, чем здоровые женщины ( $p < 0,001$ ): медиана группы сравнения – 15,6 нг/мл, при ДФМ – 8,47 нг/мл, в остальные возрастные периоды уровень прогестерона не отличался в обеих группах. Показатель прогестерона у женщин с ФА не отличался от группы сравнения ( $p > 0,05$ ) во всех возрастных группах, так же как и уровень тиреотропного гормона во всех исследуемых группах женщин ( $p = 0,926$ ).

Для решения второй задачи был проведён анализ обеспеченности витамином D женщин обследованных групп (таблица 1).

Таблица 1 – Обеспеченность витамином D женщин с ДФМ, ФА и в группе сравнения

| Группы женщин              | Min. | 1 <sup>st</sup> Qu | Median | Mean  | 3 <sup>rd</sup> Qu | Max   |
|----------------------------|------|--------------------|--------|-------|--------------------|-------|
| Группа сравнения (n = 124) | 15,4 | 24,35              | 27,35  | 28,47 | 31,3               | 56,69 |
| ДФМ (n = 92)               | 4,2  | 13,85              | 17,8*  | 17,85 | 21,95              | 31,5  |
| ФА (n = 42)                | 6,7  | 16,02              | 20,5*  | 20,5  | 25,35              | 36,1  |

Примечание. Достоверность различий показателей с группой сравнения: \* –  $p < 0,0001$ .

Пациентки с ДФМ и ФА характеризовались достоверно более низким уровнем VD: медиана VD у пациенток с ДФМ составила 17,8 нг/мл ( $p = 1.224e-08$ ), при ФА – 20,5 нг/мл ( $p < 2.2e-16$ ) и у здоровых женщин – 27,35 нг/мл. Принципиально различна и степень недостаточности VD среди здоровых женщин и больных с ДЗМЖ (рисунок 2). Более половины пациенток с ДФМ (66,3%) имели дефицит VD, 31,5% – недостаточность и только у 2,2% обеспеченность была в пределах нормы. Среди больных с ФА 52,4% имели недостаточность VD, 45,2% – дефицит, нормальная обеспеченность – 2,4%. Основная масса (68,5%) здоровых женщин находилась в зоне недостаточности VD, нормальный уровень VD установлен практически у каждой 4 пациентки – 24,2%, дефицит встречался только у 7,3%.

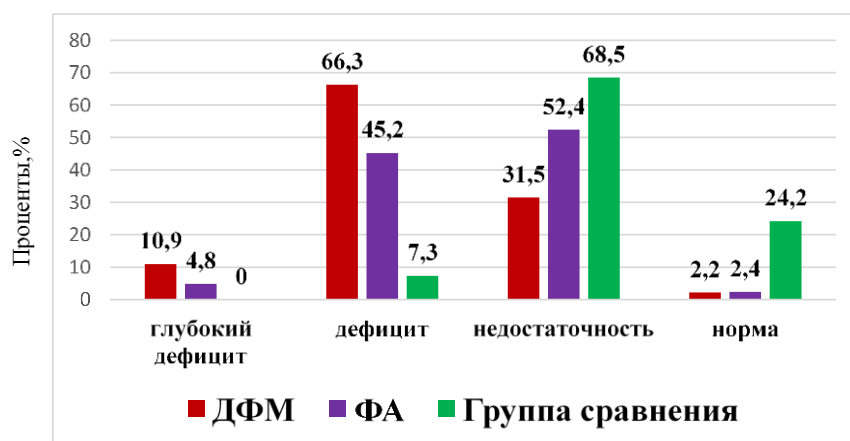


Рисунок 2 – Степень обеспеченности витамином D пациенток с ДФМ, ФА и здоровых женщин (Норма VD –  $\geq 30$  нг/мл, недостаточность VD –  $\geq 20$  и  $< 30$  нг/мл, дефицит VD –  $< 20$  нг/мл, глубокий дефицит VD –  $< 10$  нг/мл).

Анализ всех женщин, включённых в исследование, не выявил ( $p = 0,349$ ) достоверного уменьшения обеспеченности VD у пациенток в возрасте старше 40 лет, по сравнению с женщинами младшей возрастной группы.

Известно, что образование VD положительно коррелирует с инсоляцией, но у пациенток с диагнозом ДФМ и ФА такой связи не обнаружено (рисунок 3).

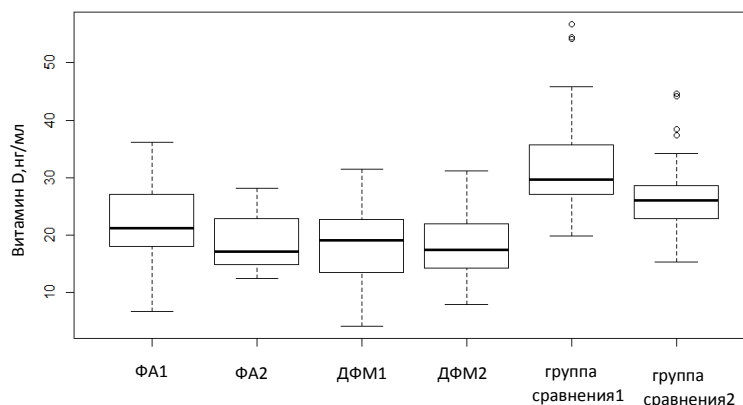


Рисунок 3 – Обеспеченность витамином D пациенток с ФА, ДФМ и здоровых женщин в зависимости от времени года 1 – лето, 2 – осень – зима.

Медиана VD, определяемого в период высокой инсоляции, при ДФМ составляет 19,2 нг/мл; ФА – 21,2 нг/мл и не отличается от значений в период низкой инсоляции: Me 17,5 нг/мл ( $p = 0,3978$ ) и Me 17,2 нг/мл ( $p = 0,103$ ) соответственно. У женщин из группы сравнения высокая инсоляция достоверно ( $p = 7,55e-06$ ) повышает уровень VD до 29,6 нг/мл по сравнению с периодом низкой инсоляции (Me -26,0 нг/мл).

Как показали исследования, витамин D оказывает весомое влияние на клиническое течение заболевания. В группе ДФМ выявлена достоверная отрицательная корреляция уровня шкалы VASH и исходного витамина D ( $r_s = -0,263$ ,  $p = 0,013$ ).

Оценка обеспеченности VD женщин с различной степенью рентгенологической плотности молочных желёз показала наличие достоверной ( $r_s = -0,3299$ ,  $p = 0,00026$ ) отрицательной связи между уровнем VD и плотностью молочных желёз (рисунок 4).

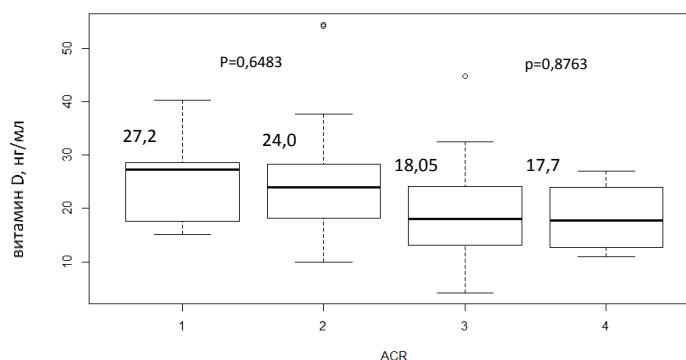


Рисунок 4 – Обеспеченность витамином D в группах с низкой (ACR1 и ACR2) и высокой плотностью (ACR3 и ACR4) молочных желёз.

Достоверной внутригрупповой разницы в уровне VD между пациентками с ACR 1 и ACR 2 ( $p = 0,6483$ ) и ACR 3 и ACR 4 ( $p = 0,8763$ ) обнаружено не было.

Изучение связи толщины FGR и обеспеченности VD в разные возрастные периоды показало отрицательную связь уровня VD и толщины FGR у пациенток до 45 лет ( $r_s = -0,312$ ,  $p = 0,018$ ). Эта связь стала особенно очевидной в процессе лечения витамином D.

Определение уровня VD у обследованных женщин в группах с разной гинекологической патологией позволило установить, что больные с миомой/генитальным эндометриозом, хронической ановуляцией и ВЗОМТ характеризуются достоверно ( $p = 3,566e-10$ ) более низкой обеспеченностью витамином D в крови по сравнению с женщинами с бесплодием неясного генеза и отсутствием гинекологической патологии.

Проведённый корреляционный анализ показал наличие отрицательной связи ( $r_s = -0,23$ ,  $p = 0,001$ ) между обеспеченностью VD и уровнем пролактина (рисунок 5). Женщины с дефицитом VD имели достоверно ( $p = 0,019$ ) самый высокий уровень пролактина (Me -315,8 мМЕ/л) по сравнению с лицами с нормальной обеспеченностью VD (Me - 223,9 мМЕ/л) и тенденцию ( $p = 0,079$ ) к более высокому пролактину по сравнению с недостаточностью VD (Me - 286,5 мМЕ/л). Не было выявлено достоверных отличий уровня прогестерона и ТТГ в обследуемых группах женщин в зависимости от обеспеченности VD.

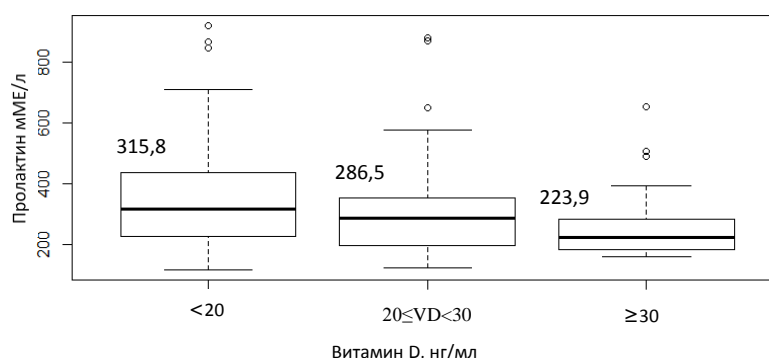


Рисунок 5 – Показатели пролактина у обследуемых женщин в зависимости от уровня обеспеченности витамином D.

Для решения третьей задачи нами были проведены ассоциативные исследования по выявлению роли полиморфизмов в генах ядерного рецептора витамина D (VDR, FokI, rs2228570), микросомальной гидролазы CYP2R1 (rs2060793) и гена GC, кодирующего витамин D связывающий белок



(rs2282679), на формирование генетической предрасположенности к ДЗМЖ и влияния полиморфизмов на уровень циркулирующей формы витамина D. При анализе ассоциаций было установлено отсутствие статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ) в распределении частот генотипов между группой сравнения и пациентками с ДФМ и ФА, а также общей группой с диагнозом ДЗМЖ. Таким образом, нами не выявлено вклада в формирование генетической предрасположенности к ДЗМЖ среди исследованных генетических локусов.

Анализ влияния полиморфизма гена VDR Fok 1 на уровень VD (рисунок 6) показал, что гомозиготные носительницы аллеля Т (генотип ТТ) в группе ДФМ характеризуются достоверно ( $p = 0,0462$ ) более низким уровнем VD по сравнению с генотипом СС: средний уровень отличий составил -3,64 нг/мл (95% ДИ различий -7,24 – -0,048). В литературе на сегодняшний день имеются единичные данные о возможной ассоциации полиморфизма VDR Fok 1 с низким уровнем витамина D, однако именно этот полиморфизм связывают с повышенным риском рака молочной железы (Raimondi S. et al. 2009, Tang C. et al, 2009).

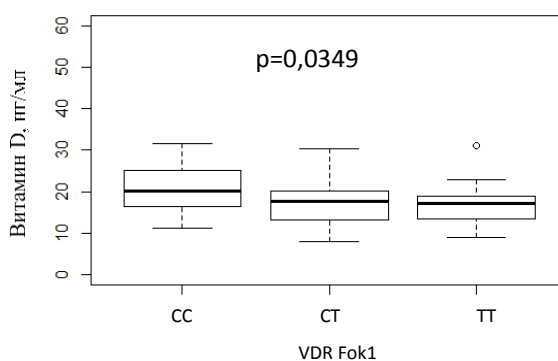


Рисунок 6 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма VDR Fok1 (rs2228570) у пациенток с диффузной формой мастопатии.

Полиморфизм VDR Fok 1 не оказывал значимого влияния на уровень VD у пациенток с ФА ( $p = 0,351$ ) и здоровых женщин ( $p = 0,2391$ ).

Следующим полиморфизмом, достоверно ( $p = 0,0288$ ) ассоциированным с низким уровнем VD у пациенток с ДФМ, оказался полиморфизм гена GC (rs2282679), кодирующего витамин D связывающий белок (рисунок 7).

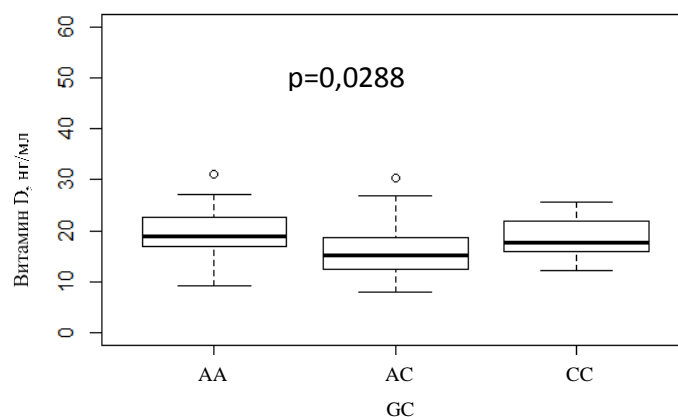


Рисунок 7 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма GC (rs2282679) у пациенток с диффузной формой мастопатии.

Носительницы гетерозиготного генотипа по минорной аллели С (генотип АС) имели достоверно ( $p = 0,04891$ ) более низкий уровень VD по сравнению с гомозиготами АА: средний уровень отличий составил  $-3,05$  нг/мл (95% ДИ различий  $-6,1 - -0,011$ ).

У здоровых женщин, так же как и у пациенток с ДФМ, выявлено достоверное ( $p = 0,0222$ ) влияние полиморфизма GC (rs2282679) на уровень VD: носительницы гетерозиготного генотипа по минорной аллели С (генотип АС) имели достоверно ( $p = 0,0463$ ) самый низкий уровень VD по сравнению с гомозиготами АА: средняя величина отличий составила  $-3,32$  нг/мл (95% ДИ  $-6,96 - 0,304$ ). Отсутствие достоверного влияния гомозиготного генотипа СС связано с небольшой частотой встречаемости данного генотипа в обследованной популяции: 8,4% в группе сравнения и 10,9% у больных с ДФМ.

Всем больным независимо от формы мастопатии было назначено лечение витамином D со стартовой дозы 5000 МЕ в сутки, через 1 или 2 месяца эта доза снижалась до поддерживающей в 2000 МЕ в сутки при достижении уровня витамина D в крови 30 – 60 нг/мл, признанного оптимальным. Общая длительность приёма VD составила 6 месяцев.

Пациентки с ДФМ и исходным дефицитом VD через 2 месяца лечения показали максимальный подъём VD: медиана VD через 1 месяц – 39,24 нг/мл, через 2 месяца – 53,45 нг/мл ( $p = 0,0001$ ). При исходной недостаточности VD уже через 1 месяц приёма лечебной дозы абсолютное большинство женщин находилось в зоне нормальной обеспеченности VD (Me – 43,29 нг/мл), через 2 месяца этот показатель достигал значений 60 нг/мл ( $p = 0,01$ ), близкий к верхним цифрам целевого уровня. На фоне нормализации обеспеченности

VD все пациентки были переведены на поддерживающую дозу 2000 МЕ в сутки, которую получали до 6 месяцев.

В процессе лечения выявлено значимое снижение шкалы ВАШ через 1 месяц ( $p = 9,957e-16$ ) и через 6 месяцев ( $p = 3,526e-08$ ) терапии. К окончанию лечения отсутствие болевого синдрома (ВАШ 0 баллов) отмечено у 20 (31,3%) пациенток, нагрубание молочных желёз (ВАШ 1 балл) – у 10 (15,6%), дискомфорт (ВАШ 2 балла) – у 25 (39%), слабая боль (ВАШ 3 балла) – у 8 (12,5%), умеренная боль (ВАШ 4 балла) – у 1 (1,6%).

Динамика ультразвуковой картины показала, что в целом у всех больных с ДФМ через 6 месяцев терапии витамином D произошло значимое уменьшение FGR в среднем на 2,9 мм (95% ДИ 2,3 – 3,5 мм). Медиана FGR до начала терапии составила 14,75 мм, через 6 месяцев – 12,0 мм ( $p = 5,567e-15$ ). При этом молодые пациентки в возрастных группах до 40 лет и 41 – 45 лет имели достоверно ( $p = 0,0003$ ) большее снижение показателя FGR по сравнению с лицами 46 – 50 лет. У 69,4% женщин с кистозной и смешанной формами ДФМ зафиксировано уменьшение как абсолютного размера кист, так и их количества. Динамика рентгенологической плотности молочных желёз (ACR 3 и ACR 4) при лечении VD проведена у 27 пациенток через 6 месяцев терапии. Положительные эффекты в виде уменьшения маммографической плотности по критерию ACR зарегистрированы в 18 случаях (рисунок 8).

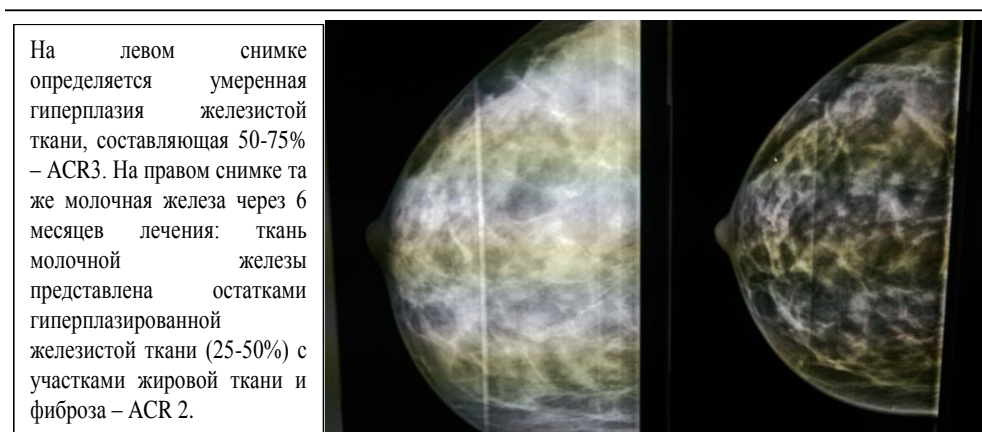


Рисунок 8 – Динамика плотности (ACR) молочных желёз у пациентки с диффузной формой мастопатии через 6 месяцев терапии витамином D.

Отсутствие динамики – сохранение исходной плотности молочной железы – в 9 наблюдениях. Отрицательная динамика в виде увеличения плотности молочной железы не была зарегистрирована ни в одном из случаев

терапии. Женщины с положительной динамикой имели достоверно ( $p = 0,002$ ) более высокие значения VD в крови – Me -49,4 нг/мл (1<sup>st</sup> Qu – 42,95 нг/мл, 3<sup>rd</sup> Qu – 52,85 нг/мл) в конце курса терапии, чем пациентки с отсутствием динамики плотности молочных желёз – Me – 37,0 нг/мл (рисунок 9). При этом средняя разница значений уровня VD между обеими группами составила 12,05 нг/мл (95% ДИ 4,8 – 18,7).

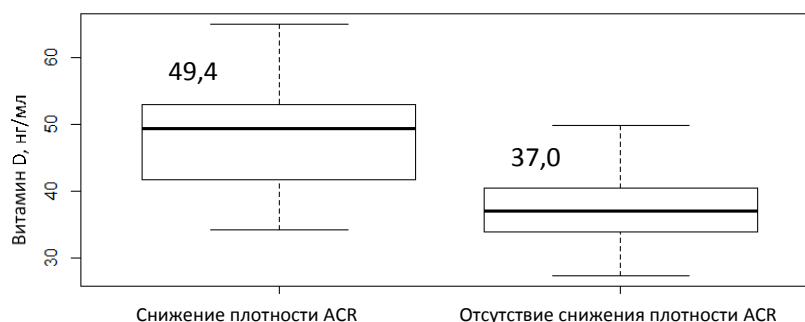


Рисунок 9 – Уровень витамина D у пациенток с оценкой динамики рентгенологической плотности молочных желёз через 6 месяцев терапии.

Отрицательная корреляция между уровнем VD через 6 месяцев терапии и плотностью молочных желёз ( $r_s = -0,54$ ,  $p = 0,0038$ ) подтверждает эффект снижения плотности молочной железы вследствие влияния витамина D.

Оценка динамики уровня пролактина через 6 месяцев терапии VD показала достоверное ( $p = 0,024$ ) снижение его значений – Me разницы 24,31 мМЕ/л (95% ДИ 2,77 – 49,86 мМЕ/л). Возможность снижения повышенного уровня пролактина путём коррекции сопутствующего дефицита витамина D продемонстрирована ранее у пациенток с гиперпролактинемией на фоне аденомы гипофиза (Krysiak R. et al., 2015). Таким образом, можно предполагать, что реализация лечебного эффекта витамина D связана не только с прямой регуляцией процессов пролиферации и апоптоза собственно витамином D, но и опосредована через не прямое воздействие.

Для прогнозирования риска развития диффузной формы мастопатии у женщин в возрасте до 50 лет была построена модель множественной логистической регрессии, согласно которой к значимым факторам риска развития ДФМ относятся уровень витамина D – ОШ 1,32 (95% ДИ 1,15 – 1,51), плотность молочной железы ACR – 0,1 (95% ДИ 0,03 – 0,35) и наличие гинекологической патологии – ОШ 1,77 (95% ДИ 1,18 – 2,66), тогда как возраст, уровень пролактина, прогестерона и ТТГ не увеличивали риск

развития ДФМ. Для порогового значения 0,3 чувствительность модели составила – 96%, специфичность – 70%.

### **Выводы**

**1.** Особенности клинического течения доброкачественных заболеваний молочных желёз является преобладание (52,2%) диффузной смешанной формы мастопатии у женщин всех возрастных групп, наличие кистозной формы у 26,5% пациенток до 40 лет, железистой формы у 39,7% женщин старше 40 лет, фиброаденомы – у 61,9% в возрастной группе до 30 лет. По данным маммографии 55,5% больных с диффузной формой мастопатии имеют высокую плотность молочных желёз (ACR 3 и ACR 4), в отличие от здоровых, где преобладает (у 92,6%) низкая плотность (ACR 1 и ACR 2).

**2.** Женщины с доброкачественными заболеваниями молочных желёз имеют низкую обеспеченность витамином D в крови: дефицит установлен у 66,3% при диффузной мастопатии и у 45,2% при фиброаденоме молочных желёз, недостаточность витамина D диагностирована у 31,5% больных диффузной мастопатией и у 52,4% с фиброаденомой. Глубокий дефицит витамина D (менее 10 нг/мл) выявлен у 10,9% пациенток. Дефицит VD у больных с диффузной мастопатией имеет отрицательную корреляцию со степенью выраженности болевого синдрома, повышением уровня пролактина, высокой плотностью молочных желёз и увеличением толщины фиброгландулярной зоны у женщин до 45 лет.

У здоровых женщин нормальные показатели витамина D в крови имели 24,2%, недостаточность – 68,5%, дефицит – 7,3%, которые успешно компенсировались в весенне-летний период до нормы или близко к норме (Me – 29,6 нг/мл), в отличие от больных, имевших стабильно низкую обеспеченность.

**3.** Полиморфизм Fok 1 (rs2228570) гена рецептора витамина D (VDR) оказывает достоверное влияние на уровень витамина D в крови у пациенток с диффузной формой мастопатии: гомозиготные носительницы аллеля T (25,92% больных) характеризуются более низкой обеспеченностью ( $p = 0,04$ ) витамином D по сравнению с генотипом CC (35,8% больных). У пациенток с фиброаденомой и у здоровых женщин влияния полиморфизма Fok 1 на уровень витамина D в крови нет.

Достоверно более низкие значения витамина D в крови имели также носители гетерозиготного генотипа AC полиморфного локуса GC (rs2282679), гена, кодирующего витамин D связывающий белок, среди здоровых – у 38,55% и больных с диффузной мастопатией – у 36,98% по сравнению с гомозиготным генотипом AA у 55,42 и 54,79% соответственно. Общая доля больных с ДФМ, носительниц сочетаний генотипов, ассоциированных с низким уровнем витамина D, составила 56%.

Все указанные полиморфизмы не оказывали влияния на формирование генетической предрасположенности к ДЗМЖ.

**4.** Применение витамина D с целью коррекции существующего дефицита у пациенток с диффузной формой мастопатии явилось эффективным методом лечения заболевания. При монотерапии витамином D через 1 месяц лечения зафиксировано снижение болевого синдрома по шкале ВАШ на 3 балла, через 6 месяцев отмечено уменьшение толщины фиброгландулярной зоны в среднем на 2,9 мм, кистозного компонента у 69,4% женщин по данным ультразвукового исследования и плотности молочной железы у 66,7% женщин. Целевым уровнем витамина D, необходимым для снижения плотности молочной железы, следует считать показатель не менее 43 нг/мл в крови. При исходном дефиците такой уровень достигается приёмом лечебной дозы витамина D 5000 МЕ 1 раз в сутки в течение 2 месяцев и поддерживающей дозы не менее 2000 МЕ в сутки не менее 4 месяцев.

### **Практические рекомендации**

Полученные результаты позволили научно обосновать необходимость изучения обеспеченности витамином D пациенток с ДЗМЖ в репродуктивном возрасте и периоде менопаузального перехода.

Учитывая, что дефицит витамина D (менее 20 нг/мл) является значимым фактором риска развития ДФМ, наличие последнего может явиться дополнительным показанием для комплексного обследования молочных желёз.

Установлена связь между низким уровнем витамина D и повышенным уровнем пролактина у пациенток с ДЗМЖ. Показана возможность коррекции повышенного пролактина в пределах 10% от уровня здоровых при лечении витамином D, не прибегая к применению пролактин снижающих препаратов.



Женщинам с гинекологической патологией в виде миомы тела матки и генитального эндометриоза, ВЗОМТ, хронической ановуляцией следует рекомендовать приём витамина D в дозах, поддерживающих уровень витамина в крови не менее 43 нг/мл, что позволит снижать риск развития мастопатии.

В связи с генетическими особенностями больных с диффузной формой мастопатии (связь низкого уровня витамина D с носительством генотипа TT полиморфизма Fok 1 (rs2228570) гена VDR и генотипа AC гена GC (rs2282679)) обоснована необходимость постоянной пожизненной дотации витамином D этим пациенткам.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Одним из приоритетных направлений современной онкологии является разработка мер профилактики рака молочной железы, основанном на своевременном лечении доброкачественных заболеваний молочных желёз. Доказанная нами низкая обеспеченность витамином D пациенток с диффузной формой мастопатии и фиброаденомой молочных желёз, высокая эффективность лечения препаратами витамина D диффузной формы мастопатии, по данным клинического, ультразвукового и маммографического исследований позволяют обосновать целесообразность дальнейших исследований терапевтических и профилактических эффектов витамина D у пациенток с доброкачественными заболеваниями молочных желёз. Выявленные связи дефицита витамина D с генетическими полиморфизмами рецептора к витамину D и гена, кодирующего витамин D связывающий белок у пациенток с диффузной формой мастопатии и здоровых женщин, определяют необходимость дальнейшего исследования генетических маркёров дефицита витамина D с целью выделения групп высокого риска по развитию диффузной мастопатии и обоснованию пожизненной дотации витамина D с уровнем в крови не менее 43 нг/мл.

### **Список работ, опубликованных по теме диссертации**

- 1. Гарифуллова, Ю.В. Особенности гормонального статуса пациенток с доброкачественными заболеваниями молочных желёз при различных**



типах гинекологической патологии / Ю.В. Гарифуллова // **Практическая медицина.** – 2018. – Т. 16. – № 6. – С. 135 – 140.

2. Мальцева, Л.И. Роль витамина D в снижении плотности молочных желёз у женщин с диффузной формой мастопатии / Л.И. Мальцева, Ю.В. Гарифуллова, М.Г. Калинин // **Практическая медицина.** – 2018. – Т. 16. – № 6 – С. 111 – 117.

3. Valeeva, E. Prolactin and circulating vitamin D levels as risk factors for benign breast tumour / E. Valeeva, I. Garifullova, O. Kravtsova et al. // Abstracts 30<sup>th</sup> European Congress of Pathology September 2018. - V. 473, Suppl. 1. - P.58 Virchows Archiv, <https://doi.org/10.1007/s00428-018-2422-1>.

4. Гарифуллова, Ю.В. Модулируемые факторы риска высокой плотности молочной железы / Ю.В. Гарифуллова, Л.И. Мальцева // **Материалы XI Регионального научно-образовательного форума «Мать и дитя» (27 - 29 июня 2018 г., г. Ярославль).** – Москва, 2018. – С. 3.

5. Мальцева, Л.И. Эффективность лечения масталгии витамином D при диффузной мастопатии / Л.И. Мальцева, Ю.В. Гарифуллова // **Материалы XI Регионального научно-образовательного форума «Мать и дитя» (27– 29 июня 2018 г., г. Ярославль).** – Москва, 2018. – С. 4.

6. Garifullova, I. Influence of gene polymorphism on vitamin D level among healthy women from Republic of Tatarstan / I. Garifullova, E. Valeeva, O. Kravtsova // **European journal of clinical investigation.** – 2018. - V. 48, Issue S1. – P.188 (P098- F) (Abstracts of the 52th Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical investigation "Precision medicine for healthy ageing", Barcelona, Spain, 30th May-1st June 2018).

7. Гарифуллова, Ю.В. Витамин D – перспектива лечения мастопатии у женщин / Ю.В. Гарифуллова, Мальцева Л.И. // **Сборник тезисов Всероссийского конгресса с международным участием «Амбулаторно-поликлиническая практика: диагностика, лечение, профилактика».** – Москва, 4 – 7 апреля 2016. – С. 35 – 36.

8. Гарифуллова, Ю.В. Клиническое значение обеспеченности витамином D при мастопатии у женщин / Ю.В. Гарифуллова, Л.И. Мальцева // **Сборник тезисов XXIV Всероссийского конгресса с международным участием и специализированной выставочной экспозицией «Амбулаторно-**

поликлиническая помощь: проблемы, достижения, перспективы». – Москва, 4–6 апреля 2018 г. – С. 124.

**9. Мальцева, Л.И. Клинико-генетические параллели обеспеченности витамином D и доброкачественных заболеваний молочных желёз / Л.И. Мальцева, Ю.В. Гарифуллова // Акушерство и гинекология. – 2018. – № 1. – С. 91 – 95.**

**10. Гарифуллова, Ю.В. Лучевые методы диагностики доброкачественных заболеваний молочных желёз / Ю.В. Гарифуллова // Практическая медицина. – 2017. – № 7(108). – С. 51 – 56.**

**11. Мальцева, Л.И. Роль обеспеченности витамином D в формировании риска и прогрессировании мастопатии у женщин / Л.И. Мальцева, Ю.В. Гарифуллова // Практическая медицина. – 2016. – № 1(93). – С. 58 – 62.**

12. Maltseva, L.I. Clinical significance of vitamin D supplementation in women with mastopathy / L.I. Maltseva, U.V. Garifullova, E.A. Gafarova, D.M. Nikogosyan // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016. – V. 7 (6). - P.2897-2902.

13. Мальцева, Л.И. Витамин D и доброкачественные заболевания молочных желёз у женщин / Л.И. Мальцева, Ю.В. Гарифуллова // Материалы XVI Всероссийского научного форума «Мать и дитя». – Москва, 22– 25 сентября 2015. – С. 132.

**14. Мальцева, Л.И. Витамин D и рак молочной железы / Л.И. Мальцева, Ю.В. Гарифуллова // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 8. – С. 33 – 38.**

#### Список принятых сокращений

PMЖ – рак молочной железы

ДЗМЖ – доброкачественные заболевания молочных желёз

ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза

ДФМ – диффузная форма мастопатии

ФА – фиброаденома

VD – витамин D

FGR – фиброгландулярная зона

VDR – рецептор к витамину D

CYP2R1 – ген, кодирующий микросомальную 25-гидроксилазу

GC – ген, кодирующий витамин D связывающий белок

ДИ – доверительный интервал

