

КАЗАНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ –  
ФИЛИАЛ ФГБОУ ДПО РМАНПО МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

**ГАРИФУЛЛОВА ЮЛИЯ ВЛАДИМИРОВНА**

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

**14.01.01 – акушерство и гинекология**

**Диссертация  
на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук**

**Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор  
Л.И. Мальцева**

Казань 2018

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ</b>	3
<b>ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b>	11
1.1. Современный взгляд на этиологию и патогенез доброкачественной патологии молочной железы	11
1.2. Диагностика и лечение диффузной дисплазии молочных желез	19
1.3. Роль витамина D в патогенезе патологии молочной железы	24
<b>ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ</b>	38
2.1. Общая характеристика выделенных групп женщин	38
2.2. Общеклинические методы исследования	39
2.3. Материалы и методы генотипирования	41
2.4. Методы статистической обработки результатов исследования	45
<b>ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОК С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЁЗ И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН</b>	47
<b>ГЛАВА 4. ОБЕСПЕЧЕННОСТЬ ВИТАМИНОМ D ЖЕНЩИН С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЁЗ</b>	70
<b>ГЛАВА 5. ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ СИСТЕМЫ ВИТАМИНА D У ЖЕНЩИН С ДЗМЖ</b>	84
<b>ГЛАВА 6. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ ДИФФУЗНОЙ ФОРМЫ МАСТОПАТИИ ВИТАМИНОМ D</b>	97
<b>ОБСУЖДЕНИЕ</b>	116
<b>ВЫВОДЫ</b>	130
<b>ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ</b>	132
<b>ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ</b>	133
<b>СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b>	134
<b>СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ</b>	157

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы исследования.** Доброкачественные заболевания молочных желёз продолжают занимать лидирующие позиции в структуре заболеваний молочных желёз у женщин молодого возраста и приводят к снижению качества жизни, длительному затратному лечению и, самое главное, существенному повышению риска рака молочной железы (Morrow M. et al., 2015; Socolov D., Anghelache I., Pea C. et al., 2015). Это позволяет рассматривать профилактику и лечение доброкачественных заболеваний молочных желёз как приоритетное направление в первичной профилактике неопластических процессов молочной железы (Рожкова Н.И., 2016; Радзинский В.Е., 2017).

Ведущими факторами риска, общими как для доброкачественной патологии, так и неопластических процессов молочной железы, являются гормональные нарушения, где особая роль отведена гиперпролактинемии и нарушению метаболизма эстрогенов (Ашрафян Л.А., 2009; Кит О.И. и др., 2012; Подзолкова Н.М. и др., 2015; Высоцкая И.В. и др., 2016). На сегодняшний день другим доказанным фактором риска рака молочной железы является дефицит витамина D (Nuria Estébanez et al., 2018), коррекция которого может явиться высокоэффективным и безопасным методом первичной профилактики РМЖ.

Современная комплексная терапия доброкачественных заболеваний молочных желёз включает в себя широкий спектр лекарственных препаратов, направленных в первую очередь на нормализацию гормональных нарушений (Коган И.Ю., 2012; Киселев В.И., 2013; Трубникова Л.И. и др., 2013; Новикова В.А., 2016), однако добиться полного излечения или длительной ремиссии не всегда удаётся. Учитывая высокий уровень распространённости доброкачественной патологии молочных желёз и не снижающийся рост заболеваемости раком молочной железы, поиск дополнительных факторов риска развития указанной патологии является актуальной проблемой современного здравоохранения.

**Степень научной разработанности темы.** В течение последних лет рядом работ показана связь между доступностью солнечных лучей, обеспеченностью

витамином D (VD) и раком молочной железы (Rejnmark L. et al., 2009; Beildeck M.E. et al., 2009; Eliassen A.H. et al., 2016): самая высокая частота рака молочной железы (PMЖ) обнаружена у женщин с уровнем VD – менее 13 нг/мл [Garland C. et al., 2007]. Женщины с ранними стадиями PMЖ также имеют повышенный риск отдалённых метастазов при концентрации VD менее 20 нг/мл (John E.M. et al, 1999; Cui Y. et al., 2006; Pérez-López F.R. et al., 2009), а анализ маммографического скрининга PMЖ 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; Zinser G.M. et al., 2017). 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-потенциал (Simboli-Campbell M. et al., 1996), усиление некроза опухоли за счёт каспаза-зависимых механизмов (Weitsman G.E. et al., 2003), ингибирование ангиогенеза (Oikawa T. et al, 1990; Mantell D.J. et al., 2000; Quesada-Gómez J.M. et al., 2015; Nebbioso M. et al., 2017), 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, указывает не только на общность патогенеза заболеваний, но и позволяет 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 PMЖ (Lundin A.C. et al., 1999; Lowe L.C. et al., 2005; Dalessandri K.M. et al., 2012). 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; Wang T.J. et al., 2010), являясь генетическими маркёрами 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 железистой ткани фиброгландулярной зоны молочных желёз при ультразвуковом исследовании молочных желёз.

3. Изучить роль полиморфизмов генов ядерного рецептора витамина D, (Fok 1 – Met1Thr, rs2228570), микросомальной гидролазы 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 исследования.** В настоящем исследовании впервые разработана концепция связи витамина D с доброкачественными заболеваниями молочных желёз у женщин. Выявлены клинические особенности диффузной формы

мастопатии и фиброаденомы молочных желёз. Впервые 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 с диффузной формой мастопатии до 30 лет.

Впервые установлено, что пациентки с диффузной формой мастопатии и фиброаденомой 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 фиброаденомой 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.

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.

Учитывая, что дефицит витамина D 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 при лечении витамином D, не прибегая к применению пролактин снижающих препаратов.

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.

**Методология и методы исследования.** Методология диссертационного исследования включила изучение и анализ литературных данных по этиологии, патогенезу и лечению доброкачественных заболеваний молочных желёз и диффузной формы мастопатии, в частности, связи дефицита витамина D с раком молочной железы, его биологических эффектах, причинах возникновения и методах лечения. В соответствии с поставленной целью и задачами исследования были выбраны объекты исследования, методы комплексной диагностики диффузной формы мастопатии и фибroadеномы молочных желёз. Объектами исследования стали пациентки с диффузной формой мастопатии и фибroadеномами молочных желёз – основная группа и женщины без патологии молочных желёз – группа сравнения. Всем женщинам проведено общеклиническое и ультразвуковое исследование молочных желёз, лицам старше 39 лет – цифровая маммография, лабораторное исследование включило в себя определение уровня витамина D в крови, пролактина, тиреотропного гормона, прогестерона. Оценка болевого синдрома у пациенток с диффузной формой мастопатии проведена по визуально-аналоговой шкале (ВАШ). Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы в статистической среде R в программе RStudio с современным представлением результатов в виде боксплотов и диаграмм рассеяния.

### **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**

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. Москва, Республиканской междисциплинарной научно-практической конференции «Патология молочных желез в практике гинеколога и онколога», 15 декабря 2017 г., г. Казань, 30-м Европейском

конгрессе патологов (ЕСР 2018), 9 сентября 2018 г., 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 № 1 и кафедры акушерства, гинекологии и репродуктологии КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России 17 сентября 2018, протокол № 24.

**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 (100%).

**Соответствие заявленной специальности.** Диссертация соответствует заявленной специальности 14.01.01 – акушерство и гинекология (медицинские науки). Результаты диссертации соответствуют области исследования специальности, пунктам 3 и 4 (исследование эпидемиологии, этиологии, патогенеза гинекологических заболеваний и разработка и усовершенствование методов диагностики и профилактики осложнённого течения беременности и родов, гинекологических заболеваний) паспорта специальности.

**Внедрение результатов исследования в практику.** Основные результаты исследования внедрены в работу ООО «Поликлиника профилактической медицины», гинекологического отделения и женской консультации № 8 ГАУЗ «Клиническая больница № 2», диспансерно-профилактического отделения ГАУЗ «РКОД МЗ РТ». Материалы и результаты диссертационной работы включены в учебный процесс кафедры акушерства и гинекологии КГМА – филиала ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России.

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

**Объём и структура диссертационного исследования.** Диссертация состоит из следующих элементов: титульного листа, оглавления, введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, глав результатов собственных исследований, обсуждения, выводов, практических рекомендаций, перспектив дальнейшей разработки темы, списка литературы, списка сокращений, представленных на 169 страницах текста компьютерного набора. Работа иллюстрирована 81 рисунком, 39 таблицами. Список литературы включает 223 источника, из них 81 отечественных и 142 зарубежных авторов.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Современный взгляд на этиологию и патогенез доброкачественной патологии молочной железы

Доброкачественная дисплазия молочной железы (ДДМЖ) может быть определена как любое незлокачественное заболевание молочной железы и включает в себя широкий спектр клинических и патологических процессов [41, 32]. Мастопатия по классификации ВОЗ определяется как фиброзно-кистозная болезнь, характеризующаяся широким спектром пролиферативных и регрессивных изменений тканей молочной железы [61].

Основным клиническим проявлением ДДМЖ являются боли в молочных железах, ощущение увеличения их объёма, нагрубания. Болезненные ощущения имеют различную интенсивность и характер, иногда иррадиируют в подмышечную впадину, плечо, лопатку, шею. Этому состоянию могут сопутствовать наличие уплотнений и узловых образований, различного рода выделения из сосков. Клиническая картина мастопатий определяется её формой и степенью выраженности процесса. У части пациенток мастопатия может протекать бессимптомно и выявляться лишь при обследовании молочной железы. Нередко ДДМЖ сочетается с предменструальным синдромом, обычно возникающим во вторую фазу менструального цикла или за несколько дней до менструации и проявляется нервно-психическими, вегетативно-сосудистыми и обменно-эндокринными нарушениями. Частыми жалобами, особенно в предменструальный период, бывают головная боль (иногда по типу мигрени), отёки лица и конечностей, тошнота (реже – рвота), нарушение функции кишечника, метеоризм [51]. Этиология заболевания до конца не ясна. Среди возможных причин отмечают нарушения гормональной регуляции, заключающиеся в развитии абсолютной или относительной гиперэстрогемии, нарушении метаболизма эстрогенов и гиперпролактинемии, стресс, наличие в анамнезе мастита или травмы молочной железы, обменно-эндокринные заболевания, широкий спектр гинекологической патологии (аденомиоз, миома матки,

функциональные кисты яичников, ановуляторные нарушения менструального цикла) [28, 72, 75, 81, 64]. Отмечаются также и определённые особенности клинических проявлений мастопатии у женщин с сопутствующей гинекологической патологией. Так, например, при сочетании ДДМЖ с сочетанной гиперпластической патологией матки (миома, аденомиоз, гиперплазия эндометрия) подавляющее число больных отмечают выраженную масталгию по сравнению с группой больных с монопатологией, например, только миомой матки, и с контрольной группой без сопутствующей гинекологической патологии. Работы Т.Т. Тагиевой (2009) и И.Ю. Коган (2010) показали, что особо значимым является доказанный факт повышенного риска пролиферативных форм мастопатии у больных с миомой или генитальным эндометриозом [73, 23]. У этих же пациенток имеется гораздо более высокий риск развития рака молочной железы [47]. Причем основными причинами развития сочетанной патологии матки и ДДМЖ является гормональный дисбаланс, который сопровождается, прежде всего, локальным дефицитом прогестерона. Это вызывает морфофункциональную перестройку и матки и молочной железы [35]. Имеются сведения, что ДДМЖ развиваются у женщин с определёнными психологическими особенностями и типами личности [60].

Среди диффузных форм мастопатии, согласно классификации Н.И. Рожковой, различают варианты, которые находят своё отражение при рентгенографии и морфологическом исследовании: диффузная мастопатия с преобладанием железистого компонента (аденоз), диффузная фиброзно-кистозная мастопатия с преобладанием фиброзного компонента, диффузная фиброзно-кистозная мастопатия с преобладанием кистозного компонента, смешанная форма диффузной фиброзно-кистозной мастопатии, склерозирующий аденоз (с наличием микрокальцинатов) [57]. Отдельно выделяется синдром патологической секреции из соска, куда входит ряд заболеваний млечных протоков, сопровождающихся выделениями из соска вне периода лактации [63].

ДЗМЖ приводят к существенному повышению риска РМЖ, однако степень этого повышения определяется в первую очередь характером гистологических изменений. К заболеваниям с низким риском рака молочной железы относятся:

фиброаденома, гамартома, жировой некроз, склерозирующий аденоз, склеротическое поражение, радиальный рубец, гиперплазия цилиндрических клеток, а высокий риск ассоциирован преимущественно с патологией, сопровождающейся атипией клеток [110, 160]. Данные последних исследований также подтверждают наличие самого высокого риска РМЖ при наличии пролиферативного заболевания с атипией клеток [3], при этом показано, что к повышению риска РМЖ (OR – 2,23, 95% ДИ: 1,86 – 2,68) приводят даже непролиферативные формы доброкачественных заболеваний молочных желёз [100].

Интересными представляются результаты исследования, охватившего 14602 случая доброкачественных биопсий молочной железы у женщин в возрасте от 30 до 89 лет и 215283 женщин с маммографией, которые были оценены как «отрицательный» или «благоприятный результат». В последующем среди 14602 женщин было идентифицировано 480 диагнозов рака молочной железы и 4402 диагноза рака среди 215283 женщин с маммографией. При этом наиболее сильные ассоциации с развитием рака молочной железы среди гистологических диагнозов с низким риском имели аденоз, апокринная метаплазия, кальцификаты и протоковая гиперплазия. Фиброаденомы, кисты и воспаление не имели связи с развитием рака молочной железы. Пациентки с диагнозами низкого риска и меньшей плотностью молочной железы имели относительный риск рака молочной железы 2,09, в то время как женщины с маммографически плотной грудью – 3,36 [95].

Доказанным фактором патогенеза мастопатии является нарушение гормонального гомеостаза – относительная или абсолютная гиперэстрогения, приводящая к нарушению пролиферативных процессов в молочной железе. Часто данному состоянию сопутствует гиперпролактинемия и нарушение функции щитовидной железы [30, 48]. Пролиферация клеток тканей молочной железы может быть не только эстрогензависимой, но и пролактинзависимой и прогестеронзависимой. Известно, что эстрогеновые и прогестероновые рецепторы играют ведущую роль в росте и развитии молочных желёз. Они необходимы для дифференцировки железистой ткани органа при беременности и лактации, а также для функционирования миоэпителиальных клеток. Кроме этого, имеются данные о

том, что рецепторы к эстрогенам и прогестерону способны модулировать ответ клетки при воздействии одноимённых гормонов. В некоторых исследованиях показано увеличение содержания в эпителии эстрогеновых рецепторов при протоковой гиперплазии, атипическом склерозирующем аденозе, папилломатозе. Исследования А.С. Жирновой и др. (2016) показали, что непролиферативная и пролиферативная формы фиброзно-кистозной болезни, а также фиброаденомы представляют собой гетерогенные по своим молекулярно-биологическим характеристикам заболевания [18]. Так, пролиферативные варианты данной патологии, по сравнению с непролиферативными и фиброаденомами, характеризуются формированием в молочных железах очагов с избыточным содержанием в эпителии эстрогеновых рецепторов.

Данные отечественных учёных [26, 5] свидетельствуют, что при мастопатии у 80% пациенток преобладают явления дольковой гиперплазии, у 20% – протоковой, встречается сочетание этих процессов, что авторы объясняют различной чувствительностью клеток к эндогенным факторам (гормональным, факторам роста), а также физическими причинами.

Работа А.С. Жирновой и др. (2015) показала, что у женщин репродуктивного возраста изменения структурной организации проявляются преимущественно в эпителиальном компоненте и характеризуются гиперплазией эпителиальных клеток, сопровождающейся облитерацией протоков. Формация стромального компонента в свою очередь проявляется межуточным отёком. В тканях с преобладанием явлений протоковой гиперплазии происходило достоверное увеличение групповых и одиночных протоков. В группе женщин с наличием в ткани дольковой гиперплазии выявлено увеличение площади долек, а также преобладание стромы. Авторы исследования полагают, что выявленные особенности морфометрических показателей у женщин с этой патологией обусловлены повышением уровня эстрогенов [17].

Вообще, молочную железу можно представить как своеобразный интракринный, гормональнозависимый орган, в котором есть все необходимые ферменты для локального синтеза и метаболизма эстрогенов. Именно эстрогенам

присваивают ключевую роль в запуске и стимуляции канцерогенеза в молочных железах, благодаря их уникальной способности инициировать синтез белков в клетке-мишени. Связываясь со своим рецептором в цитозоле клетки, эстрогены образуют комплекс гормон-рецептор и поступают в ядро, где связываются с геном-мишенью в ДНК и запускают процесс синтеза белков [99]. Концепция «генотоксического» эстроген-индуцированного канцерогенеза сформировалась в 80-е годы XX века и подтверждается способностью эстрогенов и их метаболитов повреждать ДНК. В модельной системе клеток дольково-протокового эпителия молочных желёз мышей и человека установлено, что, помимо катехолэстрогенов (4-гидроксиэстрона), генотоксическими свойствами обладает и 16- $\alpha$ -гидроксиэстрадиол. Оказалось, что данные метаболиты эстрогенов могут увеличивать доступность хроматина к влиянию истинных канцерогенов, модифицировать метаболическую активацию последних и элиминацию организмом инициированных клеток, действуя по генотоксическому механизму. Кроме того, они способны увеличивать образование свободных радикалов и связанное с этим окислительное повреждение клеточных мембран. При этом концентрация эстрадиола в кровотоке не отражает его уровень в ткани молочной железы [19]. Небольшая часть эстрадиола сразу подвергается реакции 16- $\alpha$ -гидроксилирования с образованием эстриола, который затем сразу реагирует с глюкуроновой кислотой и экскретируется. Основной же пул эндогенных эстрогенов утилизируется с помощью реакции гидроксилирования эстрона – продукта, образующегося из эстрадиола с помощью монооксигеназной системы цитохромов P-450. Изоферменты цитохрома P-450 обеспечивают конверсию эстрадиола в 2-гидроксиэстрон (2-OHE1) и 16- $\alpha$ -гидроксиэстрон (16 $\alpha$ -OHE1). Оба эти метаболита обладают противоположными биологическими свойствами. 2-OHE1 практически не влияет на клеточную пролиферацию, действуя как слабый агонист эстрадиола, а иногда как антиэстроген. 16 $\alpha$ -OHE1 же напротив является мощным агонистом эстрадиола благодаря возможности образовывать ковалентные связи со специфическими эстрогеновыми рецепторами, в результате чего продолжительность пролиферативного сигнала может составлять от нескольких часов до нескольких суток [12]. Возможно, именно нарушение гормонального равновесия, а именно

дисбаланс соотношения 2-OHE1 и 16 $\alpha$ -OHE1 является основной причиной возникновения злокачественных гормон-зависимых опухолей, таких как рак молочной железы. Так, например, отмечено снижение уровня 2-OHE1 в моче на 27,1% и повышение 16 $\alpha$ -OHE1 на 54,4% по сравнению со здоровыми женщинами [12]. Установлена прямая связь между уровнем половых гормонов и пролактина в ткани рака молочной железы, зависящая от возраста и менструальных особенностей. Для рака молочной железы характерны гиперпролактинемия, абсолютная или относительная гиперэстрогения, гипоандрогения и прогестероновый дефицит [40]. S.A. Missmer и др. (2004) наблюдали статистически значимую прямую связь между риском рака молочной железы и уровнем как эстрогенов, так и андрогенов, но не обнаружили статистически значимых ассоциаций между этим риском и уровнем прогестерона или глобулина, связывающего половые стероиды [115]. Когда анализ ограничили только опухолями с эстроген- и прогестеронположительными рецепторами (ER+/PR+), то обнаружили повышенный риск рака молочной железы, связанный с эстрадиолом (относительный риск [RR] = 3,3, 95% доверительный интервал [ДИ] = от 2,0 до 5,4), тестостероном (RR = 2,0, 95% ДИ – от 1,2 до 3,4), андростендионом (RR = 2,5, 95% ДИ – от 1,4 до 4,3) и ДЭАС (RR = 2,3, 95% ДИ – от 1,3 до 4,1). Кроме того, все гормоны, как правило, наиболее тесно были связаны с карциномой *in situ*.

Как показано некоторыми исследователями [52, 46], повышение концентрации пролактина в крови даже в пределах, не превышающих нормативные показатели, ассоциируется с риском развития рака молочных желёз. L.M. Arendt и др. (2008) в исследованиях на мышях с повышенным локальным синтезом пролактина в ткани молочных желёз обнаружили развитие различной патологии, включающей ранние повреждения (гиперплазию и интраэпителиальную неоплазию, сходную с протоковой карциномой *in situ*) и Er<sup>+</sup> и Er<sup>-</sup> карциномы [90]. K.A. O’Leary и др. (2015) получили подобные результаты: у мышей с локальным повышением синтеза пролактина в молочной железе даже без изменения уровня эстрогенов развивались различные гистопатические типы метастатического рака, преимущественно с эстрогенпозитивными рецепторами (Er<sup>+</sup>) в ткани опухоли [163]. Основными

механизмами канцерогенного действия пролактина считаются повышение клеточной пролиферации, подвижности клеток и васкуляризации опухоли [98]. V. Goffin (2017) показал увеличение числа рецепторов к пролактину в ткани опухоли молочной железы и простаты, хотя явной причинно-следственной связи между мутациями генов, кодирующих пролактин и его рецепторы, и раком молочной железы проследить не удалось [125]. Интересно, что высокий уровень циркулирующего прогестерона, соответствующего II триместру беременности, через прогестероновые рецепторы стимулирует экспрессию рецепторов к пролактину в ткани молочной железы и способствует пролиферации и морфогенезу альвеол. Совместное действие рецепторов прогестерона и пролактина через активацию его сигнальных путей (JAKs и STATs) может одновременно участвовать как в развитии нормальной ткани молочной железы, так и в биологии рака молочной железы [172]. В то же время R. Kavarthapu и M.L. Dufau (2016) показали запуск синтеза и активации рецептора к пролактину через активацию эстрогенами рецепторов к эстрогену независимым от ДНК образом в клетках MCF-7 рака молочной железы – культуре клеток, выделенных из опухоли молочной железы человека и искусственно культивируемых для изучения этой патологии [139, 140].

Одним из последних достижений молекулярной и геномной биологии последних лет явилась разработка иерархической системы развития раковой опухоли. Согласно новой концепции все клетки опухоли первоначально развиваются из ограниченного числа мультипотентных клеток-предшественниц, обладающих способностью к постоянному самообновлению – стволовых раковых клеток. M. Al-Hajj, M.S. Wicha, A. Benito-Hernandez и др. (2003) впервые выделили стволовые раковые клетки молочной железы [175]. Экспериментальные данные указывают, что воздействие онкогенов приводит к инициации канцерогенеза из пула нормальных стволовых клеток через образование раковых стволовых клеток [36]. Последние, наряду со свойствами нормальных стволовых клеток, обладают способностью к инвазии и миграции, резистентны к лучевой и лекарственной терапии, что играет решающую роль в рецидивировании и метастазировании рака молочной железы [21, 56].

Многочисленные клинические исследования подтвердили высокую прогностическую значимость селективного маркера стволовых опухолевых клеток альдегиддегидрогеназы 1 (ALDH1) при раке молочной железы [134]. Так разработанная Е.А. Маслюковой, Л.И. Кобытовой, Г.А. Раскиным и др. (2016) прогностическая модель трёхлетней выживаемости при раке молочной железы наряду с известными прогностическими факторами, такими как рецептор активации нуклеарного фактора-кВ (RANK), Ki-67, рецепторы эстрогена и прогестерона, наличие поражённых регионарных лимфатических узлов включила в себя и селективный маркер стволовых опухолевых клеток альдегиддегидрогеназа 1(ALDH1) [55]. При этом выживаемость у пациентов, имеющих экспрессию ALDH1 менее 1%, была выше, чем у пациентов с уровнем экспрессии более 1% [70].

Ключевым моментом опухолевой прогрессии является процесс эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), в результате которого происходит изменение эпителиального фенотипа на мезенхимальный с приобретением клетками способности к мобильности и инвазии [117, 59]. При этом ЭМП поддерживает пул стволовых клеток за счёт перехода нестволовых клеток в стволовые [111, 180]. Главным регулятором ЭМП является микроокружение клеток – строма [71].

Стромальные клетки, такие как фибробласты, эндотелиальные и иммунные клетки, модулируют процесс ЭМП за счёт выделения в межклеточный матрикс растворимых факторов роста и цитокинов [127, 188].

В процессе ЭМП происходит увеличение экспрессии генов, ответственных за мезенхимальный фенотип, усиление клеточной подвижности вследствие реорганизации цитоскелета, повышение экспрессии генов, кодирующих матриксные металлопротеиназы, участвующих в деградации внеклеточного матрикса и базальной мембраны, подавление экспрессии гена E-кадгерина, участвующего в образовании плотных контактов между эпителиоцитами [118, 197]. Таким образом, воздействие на сигнальные пути, запускающее процесс ЭМП и, соответственно, процесс образования раковых стволовых клеток, приведёт к контролю прогрессирования опухоли и преодолению проблемы резистентности и рецидивирования неопластического процесса [101, 144].

Установлено, что важную роль в патогенезе ДДМЖ играет активность пролиферации и апоптоза клеток ткани молочных желёз, за которую отвечает определённый баланс цитокинов [67]. Триггерные механизмы патологической пролиферации многочисленны и, зачастую, точно не установлены. До сих пор активно изучаются клинические и иммунологические аспекты инициализации онкопролиферации. Известен широкий спектр цитокинов, которые принимают участие в предраковых и злокачественных превращениях клеток на фоне хронического воспаления или стресса. Из широкого спектра цитокинов именно ИЛ-4, ИЛ-10, ФНО-альфа, ИФН-гамма принимают участие в реализации механизмов «неправильной» пролиферации клеток и коррелируют со стадией рака молочной железы. Стимулы от соседних клеток, таких как изменённый эпителий молочной железы, или адипоциты, могут вызвать стрессовую реакцию, создавая фенотип HD-фибробластов, что приводит к воспалению. HD-фибробласты могут вести себя как макрофаги, стимулируя воспаление через секрецию цитокинов [145, 136].

Таким образом, представляя собой патологию, в основе которой лежит нарушение процессов пролиферации и регрессии эпителиального и соединительно-тканного компонентов ДДМЖ повышают риск заболеваемости раком молочной железы [159, 97, 112].

## **1.2 Диагностика и лечение доброкачественной диффузной дисплазии молочных желёз**

В комплексном обследовании пациенток с ДДМЖ основное место занимают методы лучевой диагностики: рентгеновская маммография, ультразвуковое исследование и МРТ. Именно эти методы рекомендованы для скрининга рака молочной железы и имеют широкую доказательную базу. Каждый из перечисленных методов имеет свои преимущества и недостатки, а их сочетание позволяет максимально повысить эффективность дифференциальной диагностики ДДМЖ и рака молочной железы.

Рентгеновская маммография (РМГ) имеет высокую информативность и низкую затратность, поэтому является основным методом скрининга и диспансерного

наблюдения при заболеваниях молочных желёз. С помощью РМГ можно оценить распространённость и особенности роста образований молочной железы, расширить возможности инвазивных методик диагностики, таких как рентгеновская дуктография, и лечения. Рентгеновская дуктография продолжает оставаться «золотым стандартом» диагностики внутрипротоковой патологии и позволяет визуализировать весь проток доли молочной железы на всём протяжении до терминальных отделов независимо от характера его расположения. Недостатками маммографии являются наличие дозовой нагрузки и низкая информативность при высокой плотности молочной железы, что повышает вероятность рентген негативных злокачественных образований, частота которых может достигать 6% [79, 218].

Соотношение жировой ткани, соединительно-тканного и железистого компонентов позволяет определить степень выраженности мастопатии. При выполнении РМГ плотность паренхимы МЖ оценивается согласно классификации Американской коллегии радиологии [77]. ACR 1 – преобладание жировой ткани, железистая ткань составляет < 25%, ACR 2 – фиброзно-железистая ткань, железистая ткань 25 – 50%, ACR 3 – неомогенная плотная ткань, железистая ткань составляет 50 – 75%, ACR 4 – чрезмерно плотная ткань, железистая ткань составляет > 75%. У женщин с плотными молочными железами в дополнение к маммографии предпочтительнее проведение ультразвукового исследования, а не МРТ [83].

С целью стандартизации данных, полученных при маммографии, ультразвуковом исследовании и МРТ, и определения тактики ведения пациенток с различной патологией молочной железы в клиническую практику введена система BI-RADS, предложенная американской коллегией радиологов [84]. Модифицированная система BI-RADS включает 6 категорий, отражающих характер обнаруженных изменений.

Новые алгоритмы реконструкции при рентгенологическом обследовании позволяют повысить чувствительность и специфичность обследования и направлены в первую очередь на совершенствование дифференциальной диагностики рака молочной железы. Так, метод дигитального томосинтеза и метод ОФЭКТ/КТ представляют совмещение рентгеновского компьютерного изображения и картины

накопления изотопов в патологическом очаге. Данные методики позволяют получить объёмное изображение опухоли и оценить её по степени накопления радиоактивного изотопа [10].

Сочетание высокой информативности, неинвазивности и доступности определили лидирующие позиции ультразвукового исследования в диагностике патологии молочной железы. Сравнительный анализ чувствительности и специфичности ультразвукового исследования и маммографии, проведённый у 260 пациенток с доброкачественными заболеваниями молочных желез в возрасте 30 – 62 лет, показал, что чувствительность УЗИ существенно выше в диагностике доброкачественных опухолей молочной железы у пациенток в возрасте от 30 до 40 лет и в диагностике рака молочной железы, развившегося на фоне кистозной мастопатии [76]. В 2013 году с целью унифицирования данных ультразвукового исследования по аналогии с маммографией было введено использование BI-RADS терминологии (D’Orsi C.J., et al., 2013). BI-RADS лексикон УЗИ включает в себя описание структуры молочной железы (однородная, неоднородная) и характеристику объёмного образования: форма, контуры, ориентация, эхоструктура, дорзальные артефакты. Также обязательно полное описание дополнительных критериев: кальцинаты (в образовании, за пределами образования, внутрипротоковые кальцификаты), ассоциированные симптомы (нарушение архитектоники молочной железы, изменения в протоках, утолщение кожи, втяжение кожи, отёк), особенности васкуляризации (отсутствует, внутри образования, вокруг образования) и эластичность (мягкое, промежуточной эластичности, плотное). К особым случаям относят простую кисту, сгруппированные (кластерные) микрокисты, осложнённую кисту, образование в коже или на коже, инородное тело, включая импланты, интрамаммарный лимфоузел, аксиллярный лимфоузел, васкулярные аномалии (артериовенозная мальформация), болезнь Мондора, послеоперационное скопление жидкости, жировой некроз. При этом тремя наиболее важными категориями для прогнозирования рака являются форма, ориентация и контуры образования [31].

Как показывают исследования И.А. Солнцевой (2002), И.Ю. Когана (2008), О.С. Тонких и др. (2015), значимыми критериями диагностики мастопатии являются и

определённые объективные эхографические показатели: толщина железистой ткани (фиброгландулярной зоны), количество и размеры кист, выраженность дуктэктазий, экзогенность тканей, толщина премаммарной и ретромаммарной клетчатки [14, 65, 22]. Оценка указанных биометрических показателей ткани молочной железы является важным дополнительным критерием в диагностике конкретной формы (кистозная, железистая, фиброзная и смешанная) мастопатии и оценке эффективности лечения ДДМЖ.

Отдельного внимания заслуживает ультразвуковая картина очаговой мастопатии, так как ультразвуковые признаки недостаточно специфичны, чтобы дифференцировать доминирующий компонент: фокальный фиброз, склерозирующий аденоз или ФКМ [184]. Таким образом, очаговая мастопатия требует проведения дополнительных методик, повышающих чувствительность и специфичность обследования.

Необходимость более детальной визуализации анатомических структур молочной железы привело к разработке нового метода – радиальной сонографии. Данная методика позволяет визуализировать не только долю молочной железы со всеми анатомическими структурами: сосок, ареола, система млечных протоков, связки Купера, передний и задний листки фасции, ткани передней грудной стенки, но и оценить пространственное расположение очагов относительно друг друга и по отношению к ареоле и соску [6, 57].

Интересными представляются результаты проспективного рандомизированного многоцентрового исследования ACR Imaging Network (ACRIN) 6666 (Bergetal, 2008), охватившего 2809 женщин в 21 центре, у которых были гетерогенно плотные или чрезвычайно плотные ткани молочной железы. Всего было выполнено 7473 маммограммы и УЗИ, диагностировано 111 случаев рака: 33 обнаружены только при маммографии, 32 только по УЗИ, 26 – маммография и УЗИ, 9 – МРТ, 11 не были обнаружены никакими методами визуализации. При этом уровень обнаружения рака при ультразвуковом скрининге был выше, чем при использовании только маммографии, а прогностическая ценность биопсии была выше при использовании обоих методов диагностики [109].

Важно, что частота рака по данным биопсии сложных кист с кистозно-солидным строением, толстыми стенками и перегородками, внутрикистозными образованиями достигает 36% [107, 171]. По данным трёхлетнего опыта ACRIN 6666 кластерные микрокисты были злокачественными в 0,8% случаев.

Поскольку мастопатии разнообразны по проявлениям и имеют разную клиническую и рентгеносонографическую картину, обусловленную особенностями гистологического строения, разработано множество вариантов комплексного лечения. На сегодняшний день при лечении мастопатии используют большой перечень лекарственных препаратов. С учётом многофакторности механизмов развития мастопатии консервативное лечение представляет комплекс гормональной, антиоксидантно-метаболической, конкурентно-рецепторной, иммунокорригирующей и фитотерапии [15, 61, 39, 42], а также методы иглорефлексотерапии [69]. Основой для лечения является консервативная терапия с применением гормональных средств (антиэстрогенов, антигонадотропинов, агонистов гонадолиберина, агонистов рецепторов дофамина, препаратов прогестерона) [50, 24, 41, 53, 34, 49]. Довольно широко как сопутствующая терапия применяется витаминотерапия. Для лечения мастопатии наиболее часто применяют витамины групп А, Е, С [62]. Однако в ряде случаев отмечается отсутствие какого-либо эффекта от проводимой терапии. И, к сожалению, до сих пор не существует стандартной тактики ведения больных с данной патологией. Это заставляет искать новые пути решения многогранной проблемы мастопатии. Совершенно не ясен вопрос адекватной продолжительности терапии. Все исследователи сходятся во мнении, что лечение должно быть комплексным, длительным, следует учитывать гормональные, метаболические особенности и сопутствующие заболевания, а также должно быть направленным на восстановление гомеостаза всей репродуктивной системы [11]. Особенно актуален вопрос методов и продолжительности лечения ДДМЖ в связи с возможной трансформацией доброкачественного процесса в рак [78, 80]. С целью профилактики заболеваний молочных желёз предлагаются мероприятия по организации здорового образа жизни и рационального питания, направленного на введение в рацион большего содержания продуктов (капуста, пшеничные отруби, морепродукты и жирную рыбу, бобы, в том

числе соя, овощи и фрукты, зелень), не только богатых полезными микроэлементами и питательными веществами, но и способных выводить из организма повышенное содержание эстрогенов [13]. Учитывая, что в основе патологических процессов в ткани молочной железы лежит нарушение метаболизма эстрогенов, одним из патогенетических механизмов устранения повреждений клеток и восстановления соотношения метаболитов эстрогенов является применение индол-3-карбинола, индол-3,3'-дииндолметана и эпигаллокатехин-3-галлата. Это новое направление в лечении гиперпластических процессов органов женской репродуктивной системы – эпигенетическая терапия. Сегодня имеются убедительные данные, что эти вещества обладают мультитаргетным противоопухолевым действием в отношении большого числа пролиферативных заболеваний различных органов и тканей, особенно эстрогензависимых. При этом самым важным антипролиферативным свойством следует считать именно их антиэстрогенное действие, т.е. способность блокировать внутриклеточные сигнальные механизмы, индуцированные эстрогенами. В первую очередь индол-3-карбинол повышает сниженное при диспластических и онкологических процессах соотношение физиологических и канцерогенных метаболитов эстрогенов 2-OHE1/16 $\alpha$ -OHE1 [146]. Л.А. Ашрафян и др. (2009) показали, что применение в послеоперационном периоде у женщин с раком молочной железы, тела матки и яичников индол-3-карбинола приводило к смещению соотношения метаболитов эстрогенов 2-OHE1/16 $\alpha$ -OHE1 в благоприятную сторону, что сопровождалось снижением частоты рецидивов заболевания [1].

### **1.3. Роль витамина D в патогенезе патологии молочной железы**

В течение последних нескольких лет рядом работ [167, 177] показана связь между обеспеченностью витамином D и раком молочной железы (РМЖ), а также установлено снижение плотности молочной железы при приёме витамина D и кальция у женщин в пременопаузе [219, 194]. Витамин D (VD) сегодня пересёк границы костного метаболизма и стал важным фактором обеспечения многих физиологических функций. Сегодня это стероидный гормон с эндокринными, паракринными и аутокринными эффектами [215]. В последнее время всё чаще в

литературе обращают внимание на участие VD в регуляции развития и функционирования различных гормонально-зависимых тканей и органов [104]. Под влиянием ультрафиолетовых лучей В дигидрохолестерин в коже превращается в провитамин Д<sub>3</sub>, из которого быстро образуется VD<sub>3</sub>. В связанном состоянии с транспортным белком – витамин-Д-связывающим протеином – VD<sub>3</sub> транспортируется в печень, где с помощью фермента 25-гидроксилазы (CYP27A1) превращается в 25(OH)Д<sub>3</sub> – основную циркулирующую форму VD, по уровню которой в крови судят об обеспеченности VD<sub>3</sub>. Затем в почках под влиянием фермента 1 $\alpha$ -гидроксилазы (CYP27B1) происходит второй этап гидроксилирования, что приводит к синтезу активной формы гормона – 1,25(OH)<sub>2</sub>Д<sub>3</sub> (кальцитриола) [142]. Уровень кальцитриола в крови определяется активностью 1 $\alpha$ -гидроксилазы в почках, находящейся под контролем паратиреоидного гормона, а также фактора роста фибробластов-23 (FGF23). CYP24A1 экспрессирует фермент 24-гидроксилазу, который регулирует катаболизм витамина Д. Нужно отметить, что 1 $\alpha$ -гидроксилаза присутствует во многих тканях организма, что позволяет обеспечить высокие внутриклеточные концентрации 1,25(OH)<sub>2</sub>Д<sub>3</sub> [207]. Этот факт также может объяснить многогранность эффектов VD в организме человека. Биологически активная форма VD связывается с рецептором VDR и взаимодействует с нуклеотидными последовательностями генов мишеней, что приводит к реализации биологических эффектов VD [27, 45]. В отечественной и зарубежной литературе есть сведения, что VD модулирует активность более 200 генов, отвечающих за иммунитет, пролиферацию, регуляцию апоптоза, клеточную дифференцировку, степень инвазии, ангиогенеза и метастазирования [176, 205, 195, 193, 221]. В настоящее время установлено, что дефицит VD затрагивает широкий спектр острых и хронических заболеваний, включая сердечно-сосудистую патологию [202, 183], ревматоидный артрит [203, 206], метаболический синдром [208], сахарный диабет, гинекологическую патологию, депрессивные состояния и болезнь Альцгеймера, заболевания желудочно-кишечного тракта [121], рак различной локализации [7, 44, 74], репродуктивное здоровье женщины [8, 29], в том числе исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий [9]. Исследования последних лет в

области эпидемиологии и профилактики неопластических процессов обратили внимание на значение VD в процессах канцерогенеза. Некоторые исследователи обнаружили корреляцию между раком молочной железы и доступностью солнечных лучей или показали наличие прямой связи между дефицитом VD в крови и раком молочной железы [126, 124, 204, 177, 141, 167]. Однако причинами дефицита витамина D могут быть не только сниженная инсоляция, но и генетический полиморфизм генов системы витамина D [33].

Большую помощь в изучении биологических эффектов VD при канцерогенезе дают экспериментальные исследования. Так, на животных моделях было показано, что  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  тормозит развитие и рост опухолей [222, 216]. В этом свете интересным будет рассмотреть результаты экспериментального исследования на двух линиях мышей с дефицитом и достаточным количеством VD. Обеим группам были введены клетки рака молочной железы линии MCF-7, которые приводят к смешанным остеолитическим и остеосклеротическим поражениям. Параллельно оценивалась экспрессия ядерного рецептора VD VDR и влияние активного метаболита VD  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  на пролиферацию *in vitro*. Через 3 – 4 недели исследования VD-дефицитные мыши имели большие области поражения в костях по сравнению с VD-достаточными особями. MCF-7 клетки *in vitro* были высокочувствительны к  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ , что при максимальных подавляющих концентрациях приводило к подавлению пролиферации. Экспрессия VDR увеличилась в несколько раз под воздействием  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ . В целом дефицит VD был связан с ускоренным ростом опухоли у мышей. Механизм защитного действия VD при метастатическом поражении может быть связан не только с подавлением костной резорбции, но и прямым ингибирующим влиянием на рост опухоли в костях [209]. Так было показано, что витамин D вызывает изменения в экспрессии белков, участвующих в регуляции клеточного цикла, таких как циклины циклин-зависимых киназ (CDK) и CDK-ингибиторов. Витамин D и его аналоги индуцируют повышенную экспрессию CDK-ингибиторов p21 и p27, таким образом блокируя прогрессирование клеточного цикла, а также приводит к нарушению экспрессии и активности киназы CDK2, гена CDK4, циклина D1, циклина D3, циклина A1и

циклина E1, что провоцирует арест G0-G1 перехода в клеточном цикле, а это, в свою очередь, коррелирует с гипофосфорилицией белка ретинобластомы (pRB). Вместе с тем сообщается и о подавлении с-Мус онкобелка, который также способствует подавлению пролиферации [133, 85, 156, 132]. Кроме подавления пролиферации опухолевых клеток путём атаки на клеточный цикл деления, мишенью для витамина D является ген TCF-4, кодирующий T-клеточный транскрипционный фактор, участвующий в контроле пролиферации и дифференцировки клеток [104].

Анализ клинических исследований подтверждает связь обеспеченности VD, риском рака молочной железы и смертности при уже диагностированном раке молочной железы [106, 165]. Так, данные мета-анализа 1760 наблюдений, включившего результаты двух исследований, Nurses Health Study, проведённого Гарвардской школой общественного здоровья, и St. Georg's Hospital Study, в которых определяли исходный уровень VD у пациенток европеоидной расы, подобранных по возрасту, менопаузальному статусу и ЗГТ, показали чёткую дозозависимую связь между частотой рака молочной железы и уровня VD. Все участницы исследования были разделены на пять равных групп по уровню VD, при этом пациентки с уровнем VD 52 нг/мл имели 50% снижение риска рака молочной железы по сравнению с лицами с уровнем VD менее 13 нг/мл [204]. В 2009 году группа учёных, изучив имеющиеся на тот момент результаты исследований связи уровня сывороточного VD и риска рака молочной железы, сделала вывод, что целевым уровнем VD следует считать диапазон 40 – 60 нг/мл, позволяющий снизить риск рака молочной железы более чем на 50% [212]. Анализ 5 когортных исследований, охвативших 4413 больных раком молочной железы, также обнаружил значительное снижение смертности у женщин с уровнем VD более 75 нмоль/л [181]. Гудвин и др. (2009) сообщили, что женщины с ранними стадиями рака молочной железы и концентрацией 25(ОН)Д менее 20 нг/мл имели повышенный риск отдалённых метастазов и смерти по сравнению с теми, чьи концентрации были больше чем 29 нг/мл [173], а потребление VD менее 10 мкг в день признано опасным для женщин группы риска [199]. Данные других авторов также подтверждают важную прогностическую значимость обеспеченности VD у пациенток с раком молочной

железы: повышение риска метастазирования, влияние на межрецидивную и общую выживаемость [174, 138].

Витамин D играет важную роль в модуляции процессов инвазии и метастазирования. Hansen и др. (1994) продемонстрировали, что витамин D снижает активность и экспрессию металлопротеиназ [128, 143], повышает клеточный редокс-потенциал [185], усиливает некроз опухоли за счёт каспаза-зависимых механизмов [210]. Другим механизмом антиракового эффекта VD является его подавляющий эффект на ангиогенез. Показана возможность ингибирования ангиогенеза аналогом VD в низких концентрациях *in vivo* [131, 187, 157]. Исследования на мышах также подтвердили ингибирующий эффект VD на васкуляризацию опухоли [152].

В исследовании, изучавшем наличие VDR, ретиноидного X-рецептора (RXR) и рецепторов, активируемых пероксисомными пролифераторами (PPAR), которые функционируют в качестве фактора транскрипции, у женщин с BRCA1-ассоциированным раком, было установлено наличие их более чем у 90% больных. Авторы делают предположение, что эти рецепторы могут стать новыми точками приложения в лечении и профилактике рака молочной железы, даже при наличии мутации BRCA1 [214]. Более высокая экспрессия VDR в ткани опухоли молочной железы, определенная иммуногистохимически, связана с лучшими исходами безрецидивной и общей выживаемости, а также с размерами опухоли [191]. Активная форма VD обладает антипролиферативной и проапоптотической активностью на разные типы трансформированных клеток молочной железы [196], но применение именно активной формы может сопровождаться развитием гиперкальциемии. В то же время, при образовании VD в коже после облучения ультрафиолетовыми лучами, а также после приёма синтетического VD не отмечается роста сывороточного кальция, но при этом замечено влияние на процессы роста опухоли. Но, как отмечают авторы исследования, это происходит только в тканях с достаточным содержанием VDR [154]. В случае с VDR регуляция генов требуется димеризации и, чаще всего, гетеродимеризации с семейством ретиноидных X-рецепторов (RXR). Однако установлено, что VDR может функционировать как гомодимер или как гетеродимер с

другими, отличными от RTX, парами, демонстрируя таким образом значительную пластичность осуществления геномных эффектов VD [158].

Основным механизмом антипролиферативного эффекта VD является снижение экспрессии эстрогеновых рецепторов и инсулинзависимого фактора роста [189, 213, 153, 94, 166]. При изучении биомаркёров рака молочной железы была выявлена положительная корреляция между экспрессией VDR и рецепторов к эстрогенам: в эстрогенпозитивных опухолях частота обнаружения VDR была выше и составила 74,2% [87]. Возможность витамин D-зависимой регуляции рецепторов к эстрогенам и подавления действия эстрогенов в клетках рака молочной железы может стать предпосылкой для разработки недорогого и эффективного средства профилактики рака молочной железы. Другим важным эффектом 1,25(OH)<sub>2</sub>D является снижение экспрессии CYP19A1, основного фермента, кодирующего фермент ароматазу, катализирующего образование эстрадиола, в ER<sup>+</sup> клетках опухоли молочной железы и снижение активности фактора транскрипции Уильямса (WSTF), который обычно выступает как ингибитор экспрессии генов, но в случае рака молочной железы он выступает как активатор промоторной активности CYP19A1 и ER $\alpha$ . Обработка тканей опухоли MCF-7 1,25(OH)<sub>2</sub>D отделяла WSTF от промоторов CYP19A1 и ER $\alpha$ , и, соответственно, снижала их активность [147]. Недавние исследования показали также наличие связи экспрессии VDR и прогестероновых рецепторов в клетках РМЖ [91]. Таким образом, VD-регуляция экспрессии генов мишеней в тканях РМЖ сложна и до конца не изучена, что определяет необходимость дальнейшего изучения механизмов антипролиферативного эффекта VD.

Особое значение имеют работы, посвящённые связи сывороточного уровня VD и данным маммографического исследования. Так, S. Fillenberg и др. (2012) показали наличие корреляции между уровнем сывороточного VD и плотностью молочных желёз по системе BIRADS у пре- и постменопаузальных женщин. Авторы обследовали 991 пациентку и обнаружили, что более низкое содержание витамина D у 99 пациенток чётко коррелировало со степенью BIRADS 4 – 6, что соответствует злокачественным изменениям по данным маммографии. Напротив, у 892 женщин с плотностью молочных желёз 1 – 3 по системе BIRADS, что соответствует

нормальным и доброкачественным изменениям, уровень VD был значительно выше [198].

Сочетание определения уровня VD в крови и оценка плотности молочных желёз, возможно, могло бы улучшить прогностическую ценность лучевых методов диагностики. Обнаружено также, что приём VD и кальция с едой сопряжён со снижением плотности молочных желёз [129, 130]. Другие исследователи показали, что такая закономерность определяется только у женщин в пременопаузе, подобной зависимости у женщин в постменопаузе не обнаружено. Было сделано предположение, что влияние VD у женщин в пременопаузе связано с подавлением эстрогензависимой пролиферативной активности, изначально более высокой, чем в постменопаузе [Verube' S. et al., 2005]. Последний мета-анализ 68 исследований, опубликованных с 1998 по 2018 годы, подтвердил связь уровня VD и РМЖ у женщин в пременопаузе [211]. Также есть данные, что уровень циркулирующих гормонов (эстрогенов, андрогенов) и плотность молочной железы сильно и независимо друг от друга влияют на риск развития рака молочной железы [116]. Другие авторы исследовали связь уровня VD и маммографической плотности у женщин в постменопаузе и отметили, что риск рака молочной железы был в 4 раза выше у тех пациенток, у которых уровень VD попадал в нижний тертиль, а плотность ткани молочной железы в верхний. При этом они не обнаружили поперечной связи между уровнями циркуляции 25(OH)D или 1,25(OH)<sub>2</sub>D с маммографической плотностью, после чего сделали вывод, что плотность молочной железы не зависит от метаболизма VD [Green A.K. et al., 2010]. Другие исследователи также не выявили значимой связи между уровнем VD и плотностью молочной железы у женщин в постменопаузе в возрасте 55 – 70 лет [Brian L. et al., 2012].

Генетические основы дефицита VD и нарушений путей регуляции VD. Рецептор к витамину Д (VDR) относится к семейству ядерных рецепторов, к которому также принадлежат рецепторы к эстрогенам, прогестерону, андрогенам, а также к тиреоидным гормонам [102]. Как показывают зарубежные исследования, витамин Д, а именно достаточная экспрессия рецепторов к VD и обеспеченность самим витамином играют важную роль в развитии нормальной ткани молочной

железы [205, 137]. В исследовании на мышах показано, что VDR экспрессируется во всех структурных единицах ткани молочной железы: базальных, эпителиальных и стромальных клетках, причём количество VDR зависит от репродуктивного цикла. Наибольшее число VDR насчитывается во время беременности и лактации [148], а увеличение количества VDR может регулироваться лактогенными гормонами [155]. Так, Зингер и др. (2002) при исследовании на VDR-нокаутированных мышах продемонстрировали роль передачи сигналов системы VD в период полового созревания особей. Нокаутированные женские особи демонстрировали более выраженную элонгацию и ветвление протоков долек молочных желёз по сравнению с диким генотипом. При этом усиленный морфогенез не сопровождался нарушением регуляции пролиферативной и апоптотической активности в терминальных альвеолах, а число VDR было больше в дифференцированной ткани молочной железы по сравнению с пролиферирующей. Кроме того, нокаут VDR сопровождается увеличением роста груди и повышением чувствительности к эстрогенам и прогестерону, что выражается в увеличении роста клеток [221]. Также были получены интересные данные, что эти же нокаутированные по VDR самки мышей демонстрировали замедление обратного развития молочной железы после прекращения лактации и что эти эффекты были связаны со снижением апоптоза в эпителии молочной железы [223]. Другие данные свидетельствуют, что нокаут VDR рецепторов приводит не только к нарушению морфологического развития молочной железы, а именно эктазии первичных, вторичных и третичных протоков и атрофии жирового слоя, но и ассоциируется с нарушением функции яичников и снижением содержания  $17\beta$ -эстрадиола [86]. Основным механизмом действия витамина Д называют влияние на транскрипцию генов, но существует и так называемый быстрый механизм реагирования на витамин Д. Предположительно, этот быстрый эффект опосредуется через рецепторы, расположенные на мембране клеток – мембранный VDR и мембрано-ассоциированный связывающий стероиды протеин быстрого ответа (1,25D3-MARRS) [108, 161].

И нормальные, и опухолевые клетки молочной железы экспрессируют VDR. Исследования гена VDR показали его важную роль в развитии молочной железы.

Изучение морфологии молочной железы позволило предположить, что рецептор сдерживает рост железы. Это подтверждается и ускоренным развитием молочной железы во время беременности у животных с отсутствием гена [141]. В эксперименте показан защитный эффект VDR: у мышей с инактивированным геном в процессе индуцирования аденокарциномы молочной железы 7,12-диметилбензантраценом чаще и быстрее развивались более агрессивные опухоли [222]. В целом исследования на животных показали, что дефицит VDR является причиной роста, снижения дифференцировки и нарушения апоптоза в клетках молочной железы, увеличивая риск развития опухоли [193].

Весьма важным аспектом функционального дефицита VD является полиморфизм гена рецептора VDR. Имеются данные о выделении более 470 различных полиморфных вариантов. Полиморфные гены могут быть физиологически менее активными и не связываться с VD. Роль полиморфизма VDR ещё до конца не изучена, однако некоторые из них наиболее вероятно связаны с риском развития рака молочной железы. К ним относятся Fok1, Bsm1, Apa1, Taq1 [114]. Мета-анализ обнаружил значительное увеличение риска рака молочной железы среди лиц с генотипом Fok1 ff [178, 120]. Аллель f приводит к образованию биологически менее активного белка VDR, что снижает его функциональные возможности. Следовательно, при генотипе ff на тканевом уровне последствия будут такими же, как при дефиците VD [105, 122]. Более того, клетки с генотипом Fok1 ff характеризуются повышенной экспрессией провоспалительных генов. Таким образом, генотип VDR Fok1 ff играет существенную роль в повышении риска рака молочной железы и может определять группы населения, которым целесообразны не только профилактика, но и, возможно, лечение VD не только при уже развившейся патологии, но и задолго до этого [200]. Другие исследования указывают на определённую связь с патологией молочной железы мутаций гена VDR Apa1. Так, ретроспективное пилотное исследование, проведённое в Калифорнии, показало повышение индивидуального риска развития рака молочной железы у носителей гомозиготного полиморфизма Apa1 A2/A2. Было проведено генотипирование 164 европеоидных женщин с уже установленным диагнозом первичного рака

молочной железы, в группу контроля вошли 174 женщины без патологии. Индивидуальные прижизненные риски были определены с использованием полифакторной модели риска, включавшей 22 полиморфизма в 19 генах и 5 клинических фактора риска. Оказалось, что у женщин с повышенным риском в 64% случаев определяется гомозиготный полиморфизм рецептора витамина Д *VDR* *Apa1* *A2/A2* по сравнению с 34% в контрольной группе. Это позволило авторам исследования отнести генетический гомозиготный полиморфизм *VDR* *Apa1* *A2/A2* к факторам повышенного риска развития рака молочной железы [169]. Данные прочих авторов свидетельствуют об участии других полиморфизмов *VDR* в развитии рака молочной железы. Так, А.С. Lundin и др. (1999) описали влияние гена *Taq1* на прогрессирование заболевания. Пациенты с раком молочной железы без полиморфного гена *Taq1* имели повышенный риск метастазов в лимфатические узлы, в то время как у женщин, гомозиготных по этому полиморфизму, отмечалась тенденция к повышению выживаемости [92]. А. L.C. Lowe и др. (2005) отметили, что гомозиготы *bb* при генотипе *Bsm1* имеют повышенный риск рака молочной железы по сравнению с гетерозиготами *Bb* и гомозиготами *BB* [168].

Генетические факторы могут определять и обеспеченность *VD* не только на тканевом уровне, но и по уровню циркулирующей формы *VD*. Так, в ходе полногеномного анализа ассоциаций был выявлен ряд генетических маркёров, обуславливающих содержание циркулирующей формы *VD*. Была обнаружена ассоциация циркулирующего *VD* с полиморфизмом генов рецептора витамина D – *VDR* (кодирует ядерный рецептор витамина D), *GC* (кодирует витамин D связывающий белок – *DBP*) и *CYP2R1* (кодирует фермент микросомальную гидролазу, превращающий витамин 25(OH)D<sub>3</sub> в активную для рецепторного захвата форму 1,25(OH)D<sub>3</sub>) [103, 88, 123].

Иммуногистохимический анализ ткани нормальной железы, кроме экспрессии белка *VDR*, демонстрирует также и наличие ферментов, участвующих в метаболизме 25(OH)D<sub>3</sub>, а именно *CYP27B1* и *CYP24A1* [93, 87]. Реализация эффектов *VD* во многом зависит от своевременного и достаточного образования активной его формы, а именно 1,25(OH)<sub>2</sub>D [68, 2]. Нарушение процессов синтеза и деградации 1,25(OH)<sub>2</sub>D

зачастую обусловлены не столько снижением поступления экзогенного VD, сколько изменением экспрессии генов, отвечающих за синтез 1 $\alpha$ -гидроксилазы и 24-гидроксилазы – CYP27B1 и CYP24A1. Важность этого процесса подтверждается наличием фермента 1 $\alpha$ -гидроксилазы во многих тканях организма, в том числе и ткани молочной железы. Локально синтезированный 1,25(OH)<sub>2</sub>D регулирует пролиферацию клеток молочной железы. Кроме того, ткань молочной железы имеет и другой фермент 24-гидроксилазу, посредством которого образуются менее активные метаболиты VD. Такая паракринная продукция VD играет важную роль в развитии и нормальном функционировании молочной железы, а при нарушении этого гомеостаза развивается патология вплоть до рака молочной железы. В ходе злокачественной трансформации опухолевые клетки теряют способность синтезировать активную форму VD, меняется чувствительность VDR, что сопровождается увеличением деградации 1,25(OH)<sub>2</sub>D. Поэтому нарушение путей метаболизма VD в тканях молочной железы так же важно, как и абсолютный уровень VD в сыворотке крови [164].

Большинство исследований, посвящённых VD и патологии молочных желёз, относятся, преимущественно, к раку молочной железы [134, 118, 217]. Остаётся открытым вопрос возможности первичной профилактики рака молочной железы в группах повышенного риска этого заболевания. В этом контексте огромное значение представляют данные, полученные при ретроспективном исследовании, проведённом в Бразилии на основе архивных материалов. Исследование охватило 379 случаев доброкачественных поражений молочных желёз, 189 – карциномы *in situ*, 350 – инвазивные карциномы и 29 – нормальной ткани молочных желёз. При этом 189 серий опухоли молочной железы были двухкомпонентными и содержали соответственно карциному *in situ* и инвазивную опухоль. Основной целью такого крупномасштабного исследования явилось иммуногистохимическое исследование рецептора к витамину Д и основных регуляторных протеинов, отвечающих за синтез и деградацию 1,25(OH)<sub>2</sub>D, CYP27B1 и CYP24A1 в ткани нормальной молочной железы и при различной патологии. Доброкачественные поражения молочной железы были представлены обычной (20,1%) и атипичной (5,4%) протоковой гиперплазией,

columna cells lining с изменёнными клетками дистальных отделов протоков и долек (25,6%), папилломатозом (16,9%) и аденозом (17,2%). Было показано, что нормальная ткань молочной железы характеризуется 100% экспрессии VDR, высокой экспрессией CYP27B1 в 63,6% случаев и низкой экспрессией CYP24A1 – в 29,6% случаев [87]. Аналогичные результаты получены при исследовании доброкачественных поражений молочной железы: высокий процент экспрессии VDR (в 93,5%) и CYP27B1 (в 55,8%), но низкий уровень экспрессии CYP24A1 (в 19%) [220]. Таким образом, можно предположить, что при доброкачественных поражениях молочной железы сохраняется высокая биологическая активность в паракринном участке метаболизма VD.

В случаях карциномы *in situ* обнаружено значительное снижение экспрессии VDR. Его уровень составил всего 47,3%, что в 2 раза ниже по сравнению с нормальной тканью молочной железы и доброкачественных заболеваний молочной железы. Также, было отмечено сохранение достаточно высокого уровня экспрессии CYP27B1 в 66,4% случаев, что позволяет думать о сохранении локального синтеза 1,25(OH)<sub>2</sub>D. В то же время у больных с карциномой *in situ* обнаружилось повышение экспрессии CYP24A1 в 56% случаев, а это свидетельствует о повышении катаболизма активной формы витамина Д в менее активные. Авторы предполагают, что такие изменения сопровождаются выраженным функциональным дефицитом витамина Д в тканях карциномы молочной железы. При инвазивных опухолях, так же как и при карциноме *in situ*, сохраняется низкая экспрессия VDR (56,2% случаев) и высокая CYP24A1 (53,7% случаев), но, в отличие от карциномы *in situ*, отмечается выраженное снижение экспрессии CYP27B1 в 44,6% случаев. Это говорит о том, что в случае инвазии имеется чрезвычайно глубокий дефицит витамина Д в тканях инвазивной карциномы молочной железы [87].

Выявление групп повышенного риска и коррекция дефицита VD может явиться эффективным методом профилактики и лечения доброкачественных заболеваний молочных желёз. Дефицит VD, по мнению экспертов Международного эндокринологического общества, определяется как уровень 25(OH)D в сыворотке крови менее 20 нг/мл, значения между 20 – 30 нг/мл должны расцениваться как

недостаточность VD, а оптимальный уровень – более 30 нг/мл [135]. Передозировка возможна при значениях 150 нг/мл и более. В связи с этим большой интерес представляет протективный эффект VD при ДЗМЖ. Влияние низкого уровня VD на развитие доброкачественной патологии молочной железы не изучено, в то время как биологические эффекты витамина D позволяют рассматривать его как один из возможных протекторных факторов в профилактике и лечении доброкачественных заболеваний молочных желёз (ДЗМЖ).

В то же время, как отмечают многие ученые, VD блокирует рост опухолевых клеток *in vitro*, а применение VD или его аналогов, а также диета, богатая VD, позволяют замедлить рост опухоли у животных [43, 162, 113].

В практической медицине остаётся открытым вопрос эффективного целевого диапазона VD, необходимого для полной реализации лечебных и профилактических эффектов. При огромном количестве исследований, посвящённых использованию VD для лечения и профилактики различных заболеваний, до сих пор нет чётких рекомендаций по приёму VD при раке молочной железы и при доброкачественной дисплазии молочных желёз [192, 20, 151].

Таким образом, дальнейшее изучение истинных причин развития доброкачественных дисплазий молочных желёз и вопросы дальнейшей трансформации этих состояний в злокачественные процессы остаются чрезвычайно актуальными. Участие VD в патогенезе заболеваний молочной железы активно изучается в зарубежных странах, но практически не исследовано в популяции Российской Федерации. Причём следует отметить, что вопрос обеспеченности VD и присутствие различных вариантов полиморфизмов генов VDR и ферментов, участвующих в метаболизме VD, могут отличаться в зависимости от страны и популяции. Поэтому представляется необходимым оценить эти показатели у женщин, проживающих в нашей стране и разработать меры профилактики и лечения заболеваний молочных желёз в зависимости от выявленных ультразвуковых, рентгенологических, морфологических параметров ткани молочной железы, а также уровня VD в крови и возможного наличия генетических особенностей каждой пациентки.

Остаётся открытым вопрос первичной профилактики рака молочной железы у пациенток с доброкачественными заболеваниями молочной железы. Своевременное и регулярное использование лучевых методов диагностики патологии молочной железы помогает лишь обнаружить уже имеющуюся патологию и как можно раньше начать терапию. Это, как правило, даёт результаты только при выявлении доброкачественной дисплазии молочной железы или на самых ранних стадиях рака, а запущенные формы продолжают пополнять статистику неэффективности лечения. Поэтому так важны поиски патогенетических механизмов развития патологии молочных желёз и, соответственно, патогенетической терапии, а также средств, предотвращающих саму возможность формирования тех или иных заболеваний молочной железы.

## ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Общая характеристика выделенных групп женщин

Настоящее исследование проводилось на базе ООО «Поликлиника профилактической медицины» г. Казани и диспансерно-профилактического отделения ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» МЗ РТ.

За период с 2013 по 2018 годы было обследовано 258 пациенток в возрасте от 18 до 50 лет включительно. Пациентки, участвовавшие в исследовании, были разделены на 2 группы: основная группа – 134 женщины с доброкачественными заболеваниями молочных желёз, группа контроля – 124 женщины, не имеющие патологии молочной железы. В основной группе выделено 2 подгруппы: первая – 92 пациентки с диффузной фиброзно-кистозной мастопатией и вторая – 42 пациентки с фибroadеномой молочной железы.

Критериями включения в основную группу исследования были:

1. Наличие диффузной фиброзно-кистозной мастопатии или фибroadеномы молочной железы, подтверждённые данными клинического обследования, ультразвукового исследования, маммографии, гистологического заключения.
2. Возраст – 19 – 50 лет включительно.
3. Сохранный менструальный цикл.

Критериями невключения в основную группу исследования были:

1. Возраст менее 18 лет и старше 50 лет.
2. Наличие заболеваний, сопровождающихся дефицитом витамина D: системный остеопороз, сахарный диабет, ожирение (индекс массы тела более 29,9 кг/м<sup>2</sup>), некомпенсированный гипотиреоз, заболевания сердечно-сосудистой системы, онкологические заболевания, психические расстройства, острые инфекционные заболевания, обострение хронических воспалительных процессов.
3. Наличие клинически манифестного или осложнённого течения гинекологической патологии (миомы тела матки, аденомиоза, кистозно-изменённые яичники, гиперплазия эндометрия и т.д.).
4. Период беременности и лактации.

5. Приём в течение последних 6 месяцев и на момент обследования средств гормональной контрацепции.

## 2.2. Общеклинические методы исследования

С диагностической целью всем пациенткам проведено комплексное обследование: физикальный осмотр, ультразвуковое исследование молочных желёз, лицам старше 39 лет – цифровая маммография. Диагноз подтверждался данными пункционной биопсии и результатами гистологического исследования тканей, полученных в результате секторальной резекции молочной железы.

Болевой синдром оценивался по шкале ВАШ: до 3 баллов – слабая боль (1 – нагрубание, 2 – дискомфорт, 3 – слабая боль), 4 – 7 – болевые ощущения средней интенсивности, более 7 – выраженная боль. Динамика болевого синдрома проводилась через 1 и 6 месяцев лечения.

Ультразвуковое исследование молочных желёз у пациенток с ДЗМЖ проводилось до начала лечения и через 6 месяцев терапии на аппарате экспертного класса Logiq 6 с описанием данных согласно BIRADS терминологии. В динамике проведена оценка кистозных компонентов и толщины железистой ткани (фиброгландулярной зоны). С целью количественной оценки состояния железистой ткани применялась модифицированная методика Солнцевой И.А., заключающаяся в измерении толщины железистой ткани в наружном верхнем квадранте вдоль радиальной линии, разделяющей квадрант пополам от наружного контура переднего до наружного контура заднего листка фасции в зоне максимальной выраженности железистой ткани. Толщина последней оценивалась на 5 – 7 день менструального цикла с расчётом средней величины показателя по данным толщины паренхимы в левой и правой молочных железах.

Рентгеновская маммография проводилась на аппарате цифровой маммографии Маммоскан фирмы Адони с выполнением снимка молочной железы в двух проекциях (прямой и косой). Общая расчётная доза исследования составила 0,2 мЗв. Анализ маммограмм проведён согласно модифицированной системе BIRADS (Breast Imaging

Reporting and Data System), включающей 6 категорий (приказ Министерства здравоохранения Республики Татарстан от 24 июня 2013 г. № 1123 "О совершенствовании работы по раннему выявлению онкологических заболеваний").

Категория 1 – без патологии, отсутствие очаговых изменений. Рекомендуемая тактика: дальнейшее дообследование не требуется, последующее обследование проводится соответственно возрасту: в возрасте 40 – 50 лет маммография в плановом порядке проводится 1 раз в 2 года, после 50 лет – 1 раз в год.

Категория 2 – однозначно доброкачественные очаговые изменения (значительно обызвествлённая киста/фиброаденома, галактоцеле, масляная киста, липома, значительно обызвествлённый жировой некроз, перенесенный плазмоцитарный мастит, любое ранее выявленное изменение категории 3, не изменяющееся год и более).

Категория 3 – скорее всего, доброкачественные изменения (киста/фиброаденома, жировой некроз, атерома, гамартома, диффузная ФКМ (выраженная), узловатая мастопатия). Тактика ведения: УЗИ молочных желёз "на месте": при подтверждении доброкачественного характера выявленных изменений, последующее маммографическое обследование проводится соответственно возрасту.

Категория 4 – подозрение на злокачественный процесс (скопление патологических микрокальцинатов, процесс неясного характера). Тактика ведения: повторная оценка маммограмм и УЗИ данных и, при необходимости, биопсия в условиях специализированного учреждения.

Категория 5 – злокачественный процесс (рак).

Категория 0 – необходимо дообследование (перевод в категории 1, 2, 3 или 4, 5). Тактика ведения: эта категория используется при скрининге. Для дополнительной диагностики рекомендовано применение увеличения изображений, специальных проекций, прицельной маммографии.

Также проведена оценка плотности молочной железы согласно классификации Американской коллегии радиологии. При этом ACR 1 – преобладание жировой ткани, железистая ткань составляет < 25%, ACR 2 – фиброзно-железистая ткань, железистая ткань 25 – 50%, ACR 3 – негетерогенная плотная ткань, железистая ткань

составляет 50 – 75%, ACR 4 – чрезмерно плотная ткань, железистая ткань составляет > 75%. Динамика маммографии проведена у 27 пациенток через 6 месяцев терапии.

Уровень циркулирующей формы VD сыворотки крови оценивали методом хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах (СМІА) системы ARCHИТЕСТ 25-ОН Vitamin D (Abbott Laboratories, США) трижды: исходный уровень, через 1 – 2 месяца приёма лечебной дозы и через 6 месяцев лечения. Методом ИФА оценивался уровень пролактина, прогестерона, тиреотропного гормона, свободного тироксина, витамин D связывающего белка.

Гистологическое исследование тканей молочной железы, полученных в результате секторальной резекции молочной железы, проводили в патолого-анатомических отделениях ГАУЗ «РКОД МЗ РТ» и ФГБУ «Объединённая больница с поликлиникой» г. Москва.

### 2.3. Материалы и методы генотипирования

Генотипирование полиморфизма генов ядерного рецептора витамина D (VDR, FokI полиморфизм, Met1Thr, rs2228570), микросомальной гидролазы, превращающей витамин D3 в активную для рецепторного захвата форму для последующего переноса (CYP2R1, полиморфизм -1559T > C (находится вблизи промоторной области), rs2060793), и гена, кодирующего витамин D связывающий белок (DBP) (GC, полиморфизм 26 – 796 A > C (rs2282679), проведено у 220 женщин, не состоящих в биологическом родстве: 82 пациентки с ДФМ, 37 – с ФА и 101 женщины из группы сравнения.

**Выделение геномной ДНК.** Материалом для генотипирования служили образцы ДНК, полученные из клеток лейкоцитов периферической крови. Геномную ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции с некоторыми модификациями. Лизис эритроцитов и клеточной мембраны лейкоцитов проводили в 35 мл лизирующего буфера, содержащего 0,32 М сахарозы, 0,01 М трис-НСl (рН7,6), 5 мМ хлорида магния, 1% тритона X-100. Осаждённые центрифугированием (при 4000 об/мин, в течение 20 мин) ядра лейкоцитов ресуспендировали в 4 мл раствора, содержащего 25 мМ ЭДТА (рН 8,0) и 75 мМ NaCl. Последующий лизис ядерной

мембраны и расщепление белков осуществляли добавлением 400 мкл 10% SDS и 35 мкл протеиназы Р (10 мг/мл). Смесь инкубировали в термостате при температуре 37 °С в течение 14 – 16 часов. ДНК освобождали от белков и других низкомолекулярных компонентов последовательной экстракцией фенолом (рН 7,8), смесью фенол: хлороформ (1 : 1), хлороформом/изоамиловым спиртом (24 : 1). ДНК концентрировали осаждением в охлажденном (температура –20 °С) двухкратном объеме 96% этанола. Препараты ДНК хранили в 70% этаноле при температуре –20 °С.

Перед использованием осадок ДНК центрифугировали 1 мин, удаляли остатки спирта, высушивали при комнатной температуре 20 – 25 мин и далее растворяли в 1 мл дистиллированной воды. Оценку качества и количества полученных образцов ДНК проводили спектрофотометрическим методом на основании данных поглощения при длинах волн 260 и 280 нм на приборе Implen (Германия).

#### **Генотипирование полиморфных локусов исследуемых генов.**

Генотипирование полиморфизма исследуемых генов проводили методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием конкурирующих TaqMan зондов. Данная методика основана на использовании 5'-эксонуклеазной активности полимеразы. В реакционную смесь добавляют ДНК-зонды, в состав которых входит флуоресцентная метка в 5'-положении и гаситель флуоресценции в 3'-положении, а также фосфатная группа в 3'-положении. Эти зонды имеют места посадки внутри амплифицируемой области. Гаситель поглощает испускаемое флуоресцентной меткой излучение, а фосфатная группа в 3'-положении блокирует полимеразу. В ходе ПЦР во время стадии отжига праймеров происходит присоединение ДНК-зонда к комплементарной цепи ДНК, причём чем больше продуктов амплификации образуется в ходе ПЦР, тем больше молекул зондов свяжется с соответствующими ампликонами. Во время стадии элонгации полимеразы синтезирует комплементарную цепь ДНК и при достижении зонда начинает его расщеплять благодаря наличию 5'-эксонуклеазной активности. Данная методика основана на использовании 5'-эксонуклеазной активности полимеразы. В реакционную смесь добавляют ДНК-зонды, в состав которых входит флуоресцентная метка в 5'-положении и гаситель флуоресценции в 3'-положении, а также фосфатная

группа в 3'-положении. Эти зонды имеют места посадки внутри амплифицируемой области. Гаситель поглощает испускаемое флуоресцентной меткой излучение, а фосфатная группа в 3'-положении блокирует полимеразу. В ходе ПЦР во время стадии отжига праймеров происходит присоединение ДНК-зонда к комплементарной цепи ДНК, причём чем больше продуктов амплификации образуется в ходе ПЦР, тем больше молекул зондов свяжется с соответствующими ампликонами. Во время стадии элонгации полимеразы синтезирует комплементарную цепь ДНК и при достижении зонда начинает его расщеплять благодаря наличию 5'-экзонуклеазной активности. Таким образом, происходит разъединение флуоресцентной метки и гасителя, что приводит к увеличению детектируемого свечения. Полимеразную цепную реакцию проводили в реакционной смеси объемом 10 мкл, содержащей 1 мкл исследуемой ДНК, 4 мкл 2,5-кратной смеси А, содержащей праймеры и зонд, 5 мкл 2-кратной смеси В, содержащей *dNTP*, *TrisHCl*, *Tween-20*,  $(NH_4)_2SO_4$ ,  $MgCl_2$ , и 0,1 мкл Таq-ДНК-полимеразы согласно протоколу фирмы-производителя ООО «СибДНК» (г. Новосибирск) (таблица 2.1) на термоциклируемом амплификаторе CFX96 (BioRad, США). Во избежание испарения реакционной смеси в каждую лунку 96-луночного планшета добавляли 25 мкл минерального масла.

Таблица 2.1 – Температурный режим ПЦР

Температура °С	Время	Количество циклов
96	3 мин	1
95	10с	40
59	30с	
63	10с	

Интерпретацию данных генотипирования проводили согласно инструкции фирмы-производителя (таблица 2.2, рисунок 2.1).

Таблица 2.2. Интерпретация данных генотипирования

Ген	Полиморфизм	Канал флуоресценции/аллель	
<i>VDR</i>	rs2228570	FAM – Т	HEX – С
<i>CYP2R1</i>	rs2060793	Cy5 – Т	ROX – С
<i>GC</i>	rs2282679	FAM – А	HEX – С

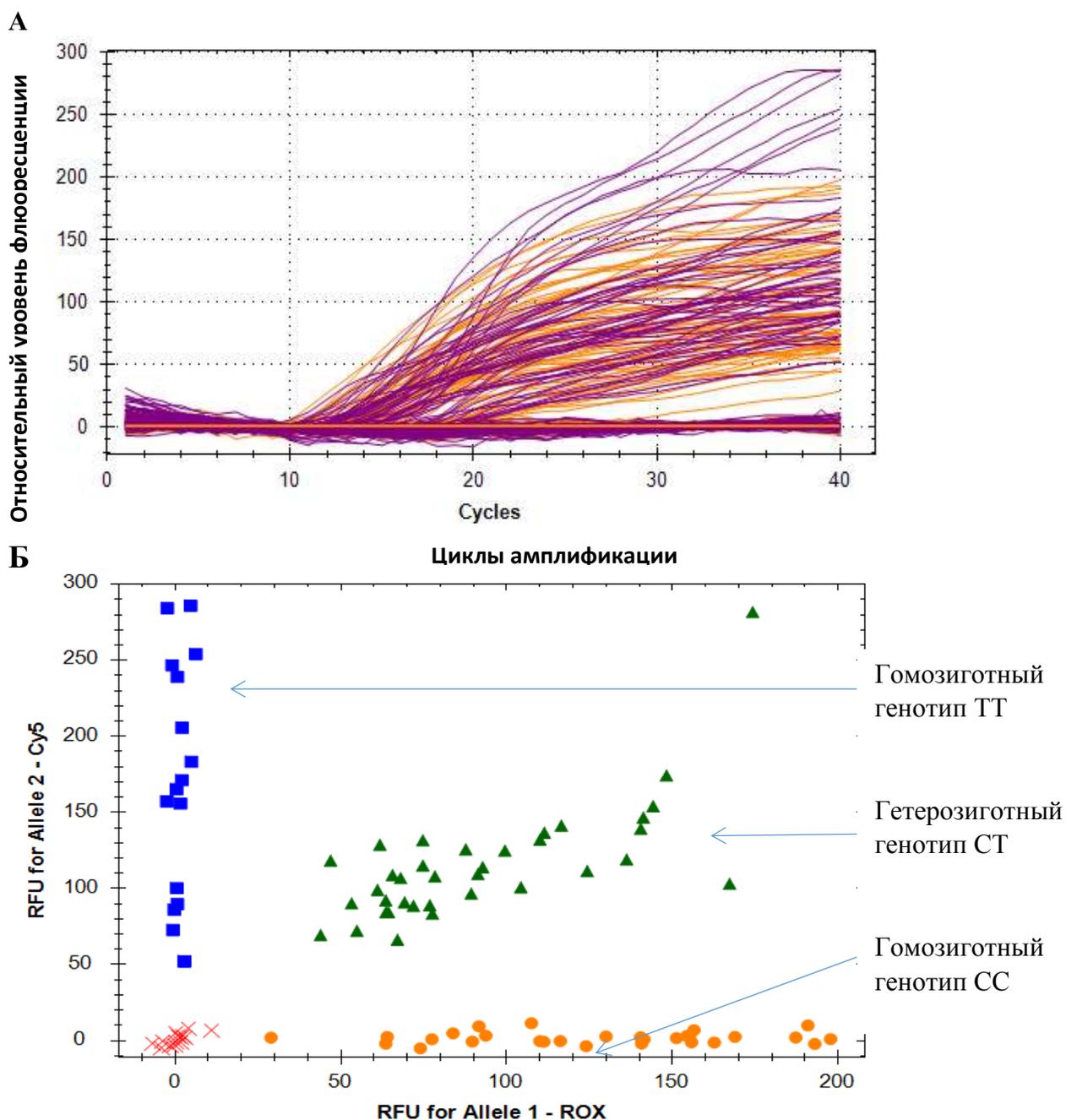


Рисунок 2.1 – Данные генотипирования (А) и интерпретации данных (Б) по полиморфному локусу гена *CYP2R1* (rs2060793).

В данной работе проведены ассоциативные исследования по выявлению роли однонуклеотидных замен (SNP) в формировании генетической предрасположенности к доброкачественным заболеваниям молочной железы в генах ядерного рецептора витамина D (*VDR*, *FokI* полиморфизм; Met1Thr, rs2228570); микросомальной гидролазы, превращающей витамин D<sub>3</sub> в активную для рецепторного захвата форму для последующего переноса (*CYP2R1*, полиморфизм -1559T > C (находится вблизи промоторной области), rs2060793) и гена, кодирующего витамин D связывающий

белок (DBP) (*GC*, полиморфизм 26 – 796 A>C (rs2282679)). Также изучено влияние полиморфизма исследованных генов на уровень витамина D при ДЗМЖ.

**Статистическая обработка данных.** Соответствие распределения частот аллелей и генотипов равновесию Харди-Ванберга в исследуемых группах использовали критерий  $\chi^2$  при уровне значимости  $p = 0,05$ . В случае таблиц сопряженности  $2 \times 2$  применяли  $\chi^2$  с поправкой Йетца. Статистический анализ проводили с использованием пакета Excel 2010.

## 2.4. Методы статистической обработки результатов исследования

Обработку полученных результатов проводили в статистической среде R в программе RStudio. Для визуализации количественных данных использовали боксплоты (коробчатые графики) и диаграммы рассеяния (рис. 2.2).

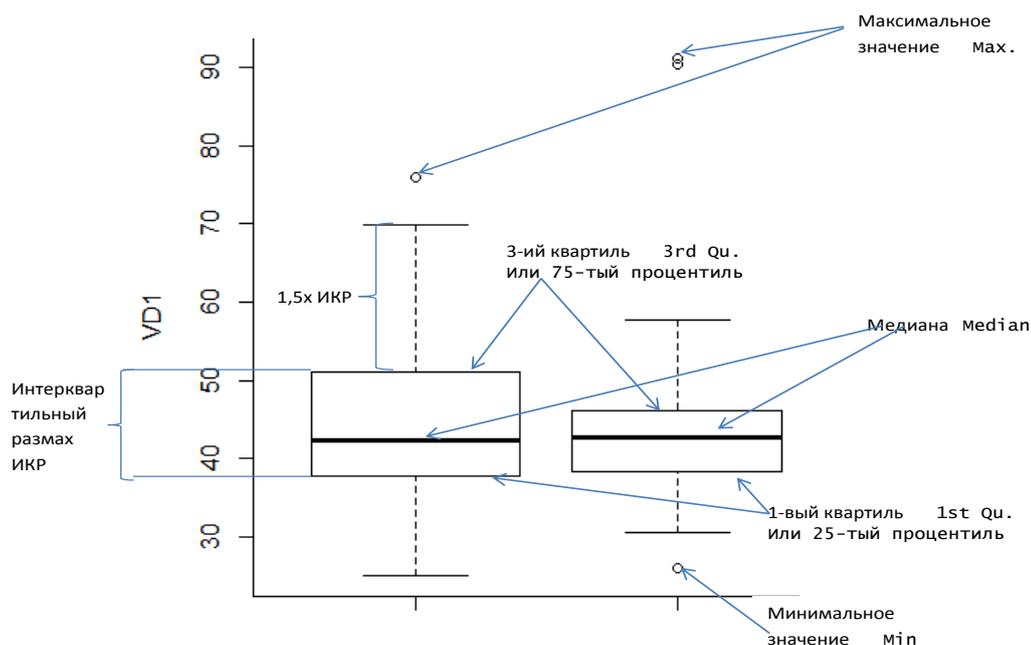


Рисунок 2.2 – Интерпретация боксплота («коробчатого» графика).

Медиана (*Mediana*) выделена жирной чертой и расположена приблизительно посередине «ящика». Верхний «ус» простирается от верхней границы «ящика» до наибольшего выборочного значения, находящегося в пределах расстояния 1,5 интерквартильного размаха (ИКР) от этой границы. Аналогично нижний «ус» простирается от нижней границы «ящика» до наименьшего выборочного значения, находящегося в пределах расстояния 1,5 ИКР от этой границы.

Проверка на нормальность распределения изучаемых количественных признаков с использованием теста Шапиро-Уилка (жирным выделены p-value) свидетельствует, что распределения этих признаков отличаются от нормальной модели, поэтому описание количественных признаков даётся с использованием медианы и квартилей (процентили), а для сравнения групп применяли непараметрические критерии. Для сравнения количественных признаков в группах использовали t-тест в модификации Уэлча, дисперсионный анализ, непараметрические ранговые критерии Манна-Уитни и Крускала-Уоллиса, для сравнения дисперсий – F-критерий Фишера, для оценки величины различий строились 95% доверительные интервалы. Для попарного множественного сравнения использовали тест Тьюки.

Для выявления статистической связи между признаками проводили корреляционный анализ, рассчитывали коэффициенты корреляции Пирсона и Спирмена и оценивали их значимость.

Качественные признаки анализировали с помощью критерия  $\chi^2$  и точного критерия Фишера, таблиц сопряжённости. Для визуализации таблиц сопряжённости строили мозаичные графики (mosaicplots), в которых сочетания вариантов двух качественных признаков показаны прямоугольниками, размеры этих прямоугольников пропорциональны количеству (или доле) наблюдений (или пациентов) с таким сочетанием изучаемых признаков. Для наглядности использовали разные цвета для больных и условно здоровых женщин.

Отношения шансов (ОШ) и доверительные интервалы для них определяли на основе моделей логистической регрессии. Для оценки значимости коэффициентов логистической регрессии использовали тест отношения правдоподобия и тест Вальда. Для определения чувствительности и специфичности моделей использовали ROC-кривые.

### ГЛАВА 3. КЛИНИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОК С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЁЗ И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН

При сравнении клинико-anamnestических данных больных с ДЗМЖ и женщин группы сравнения был выявлен ряд закономерностей. При том, что женщины были сопоставимы по возрастному критерию (таблица 3.1), анализ гинекологического статуса показал, что у всех больных с ДЗМЖ имеется гинекологическая патология (таблица 3.2), в то время как большинство женщин группы сравнения были здоровы.

Таблица 3.1 – Критерии сопоставимости пациенток по возрастам

Возраст	Группа сравнения (n = 124)	ДЗМЖ (n = 134)	ДФМ (n = 92)	ФА (n = 42)
Возраст менее 30 лет	32	44	4	26
Возраст 31-40 лет	40	45	30	14
Возраст 41-50 лет	52	60	58	2

Таблица 3.2 – Структура гинекологической патологии среди пациенток с ДЗМЖ и здоровых женщин

Структура гинекологической патологии	Группа сравнения (n=124)	ДЗМЖ (n=134)	ДФМ (n=92)	ФА (n=42)
Миома тела матки /генитальный эндометриоз (n = 104)	35 (28,2%)	69 (51,5%)*	52 (56,5%)	17 (40,5%)
Хроническая ановуляция (n = 14)	4 (3,2%)	10 (7,5%)	7 (7,6%)	3 (7,1%)
ВЗОМТ (n = 63)	8 (6,5%)	55 (41%)*	33 (35,9%)	22 (52,4%)
Бесплодие неясного генеза (n = 4)	4 (3,2%)	0	0	0
Здоровые женщины (n = 73)	73 (58,9%)	0	0	0

Примечание. Достоверность различий показателей с группой сравнения: \* –  $p < 0,001$ .

У каждой второй женщины (51,5%) с ДЗМЖ диагностированы миома тела матки и/или генитальный эндометриоз, что почти в 2 раза превышает уровень заболеваемости группы сравнения ( $p < 0,001$ ). Обращает на себя внимание высокая частота воспалительных заболеваний органов малого таза, выявляемая у 41% больных, что в шесть раз выше аналогичного показателя среди здоровых женщин –

6,5% ( $p < 0,001$ ). Частота хронической ановуляции достоверно не отличалась в группах сравнения и ДЗМЖ ( $p > 0,05$ ). Распределение изучаемых пяти типов гинекологического статуса значимо ( $p < 2,2e-16$ ) отличается в группе сравнения и ДФМ. Последняя характеризуется достоверным повышением частоты встречаемости миомы тела матки и/или генитального эндометриоза ( $p < 0,001$ ) и ВЗОМТ ( $p < 0,001$ ). При этом бесплодие неясного генеза и женщины с отсутствием гинекологических заболеваний в группе с ДФМ не встречались.

Возраст менархе, частота родов и аборт в среднем достоверно не отличались в обеих группах, однако у пациенток с ДФМ по сравнению со здоровыми частота аборт была более чем в 2 раза выше ( $p < 0,001$ ) соответственно.

Ультразвуковое исследование проведено у всех женщин, маммографическое – у 119, из них у 65 с ДЗМЖ (63 с диффузной мастопатией и 2 – фибroadеномой), а также у 54 здоровых женщин. По данным лучевых методов диагностики кистозная мастопатия диагностирована у 10 (10,9%), железистая форма диффузной мастопатии – у 31 (33,7%), смешанная форма – у 48 (52,2%) и фиброзная форма – у 3 (3,2%) женщин. При этом пациентки достоверно ( $p = 0,0011$ ) различались по распределению форм диффузной мастопатии в возрастных группах до 40 лет и 41 – 50 лет (рисунок 3.1).

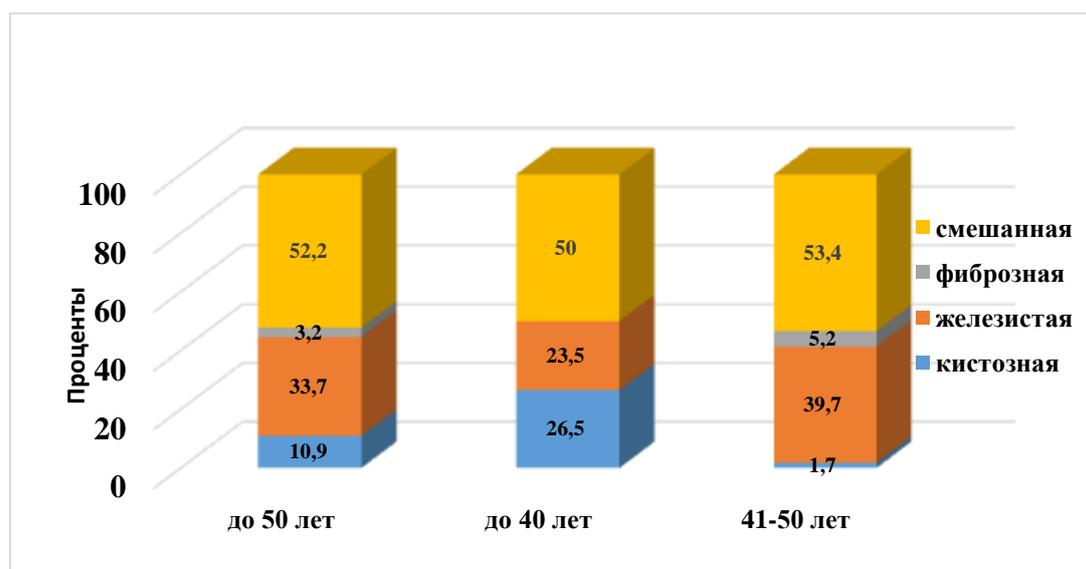


Рисунок 3.1 – Формы диффузной мастопатии у пациенток различных возрастных групп.

При преобладании в обеих возрастных группах смешанной формы мастопатии, 50 и 53,4% соответственно, в группе до 40 лет чаще диагностируется кистозная форма – 26,5%, в группе 41 – 50 лет – железистая форма (39,7%), фиброзная мастопатии обнаружена только в старшей возрастной группе (5,2%).

Хирургические вмешательства в виде пункции кист с последующим склерозированием проводились у 42 больных, причём у 19 из них 2 и более раз. По данным ультразвукового исследования множественные крупные кисты (2 см и более в диаметре) диагностированы у 11 (14%) женщин, у 4 проведена секторальная резекция молочной железы в связи с узловым образованием. Гистологическое заключение – пролиферативная мастопатия без атипии у 3, пролиферативная мастопатия с тяжёлой атипией у 1 больной. Оценка длительности заболевания показала, что у 12 (13%) женщин диффузная мастопатия была обнаружена впервые, длительность заболевания до 1 года имели 9 (9,8%), от 1 года до 5 лет – 47 (51,1%), более 5 лет – 24 (26,1%) больных.

В клинической картине пациенток с ДФМ в подавляющем большинстве (91 – 98,9%) лидировал болевой синдром различной интенсивности (рисунок 3.2), на наличие объёмного образования в молочной железе предъявляли жалобы 17 (18,5%) больных, при осмотре выделения из сосков диагностированы у 12 (13%).



Рисунок 3.2 – Частота основных симптомов диффузной мастопатии у женщин.

Оценка по шкале ВАШ показала, что нагрубание молочных желез, дискомфорт или слабую боль (1 – 3 балла) отметили 12 (13%), умеренный болевой синдром (4 – 7 баллов) – 74 (80,4%), сильные боли (8 и более баллов) – 6 (6,5%) женщин. Лица до 40 лет (34 наблюдения) характеризовались более выраженным болевым синдромом,

сильную боль (более 8 баллов) отметили 4 (11,8%), болевой синдром средней интенсивности 30 женщин (88,2%). У пациенток старше 40 лет (58 наблюдений) – болевой синдром характеризовался меньшей степенью выраженности: боль не беспокоила или была минимальной у 13 (22,4%), умеренной – у 43 (74,1%), сильной – у 2 (3,5%) женщин. При этом пациентки в возрасте менопаузального перехода 46 – 50 лет (30 наблюдений) чаще других отмечали слабую выраженность болевого синдрома (рисунок 3.3).

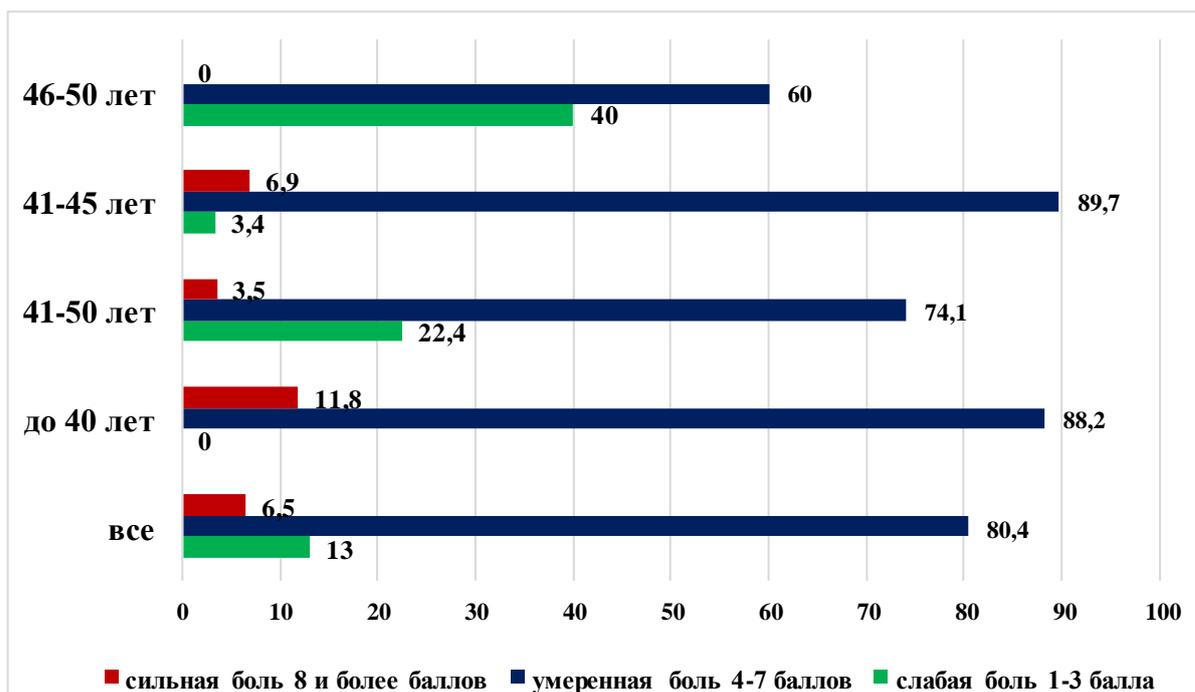


Рисунок 3.3 – Характеристика болевого синдрома по шкале ВАШ у пациенток разных возрастных групп.

Проведённый анализ показал достоверную ( $r_s = -0,55$ ,  $p = 2.301e-08$ ) отрицательную корреляцию уровня шкалы ВАШ и возраста (рисунок 3.4).

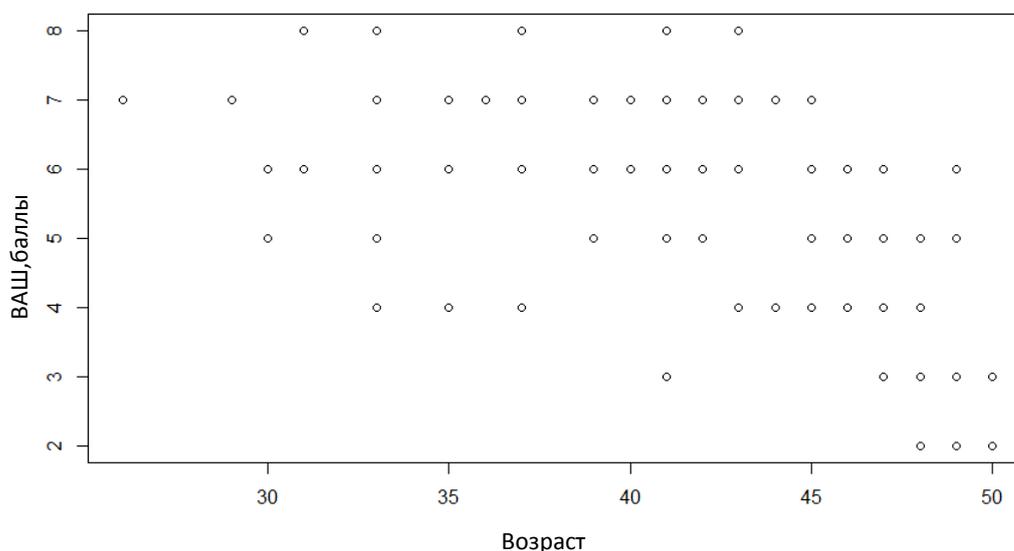


Рисунок 3.4 – Зависимость шкалы ВАШ у пациенток с ДФМ от возраста.

При анализе влияния формы мастопатии на выраженность болевого синдрома не было обнаружено достоверной разницы между кистозной, железистой и смешанной мастопатией: при всех типах ДФМ преобладал средний болевой синдром (4 – 7 баллов по ВАШ) – 87,1, 84,6 и 75% соответственно.

В подгруппе больных с ФА (42) главной причиной обследования явилось определение объёмного образования в молочной железе. При этом боли пациенток не беспокоили. Впервые установленное заболевание было у 37 (88%) женщин, длительностью не более года – у 3 (7,1%), более 3 лет – у 2 (4,9%).

Результаты цифровой маммографии, позволившие достоверно оценить степень выраженности железистой ткани и особенности её структуры по системе ACR у обследованных женщин, представлены в таблице 3.3.

Таблица 3.3 – Плотность молочных желёз (ACR) у обследуемых женщин

Плотность молочной железы (ACR)	Диффузная форма мастопатии n = 63			Группа сравнения n = 54		
	≤ 50 лет	≤ 45 лет	46 – 50 лет	≤ 50 лет	≤ 45 лет	46–50 лет
ACR 1	2 (3,2%)	2 (5,4%)	0 (0%)	13 (24,1%)	9 (27,3%)	4 (19%)
ACR 2	26 (41,3%)	11 (29,7%)	15 (57,7%)	37 (68,5%)	20 (60,6%)	17 (81%)
ACR 1 + 2	28* (44,5%)	13* (35,1%)	15* (57,7%)	50 (92,6%)	29 (87,9%)	21 (100%)
ACR 3	29 (46%)	19 (51,4%)	10 (38,5%)	4 (7,4%)	4 (12,1%)	0 (0%)

Плотность молочной железы (ACR)	Диффузная форма мастопатии n = 63			Группа сравнения n = 54		
	≤ 50 лет	≤ 45 лет	46 – 50 лет	≤ 50 лет	≤ 45 лет	46–50 лет
ACR 4	6 (9,5%)	5 (13,5%)	1 (3,8%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
ACR 3+4	35* (55,5%)	24* (64,9%)	11 (42,3%)	4 (7,4%)	4 (12,1%)	0 (0%)

Примечание. Достоверность различий показателей с группой сравнения: \* –  $p < 0,001$ .

Анализ 117 маммограмм (рисунок 3.5) 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.

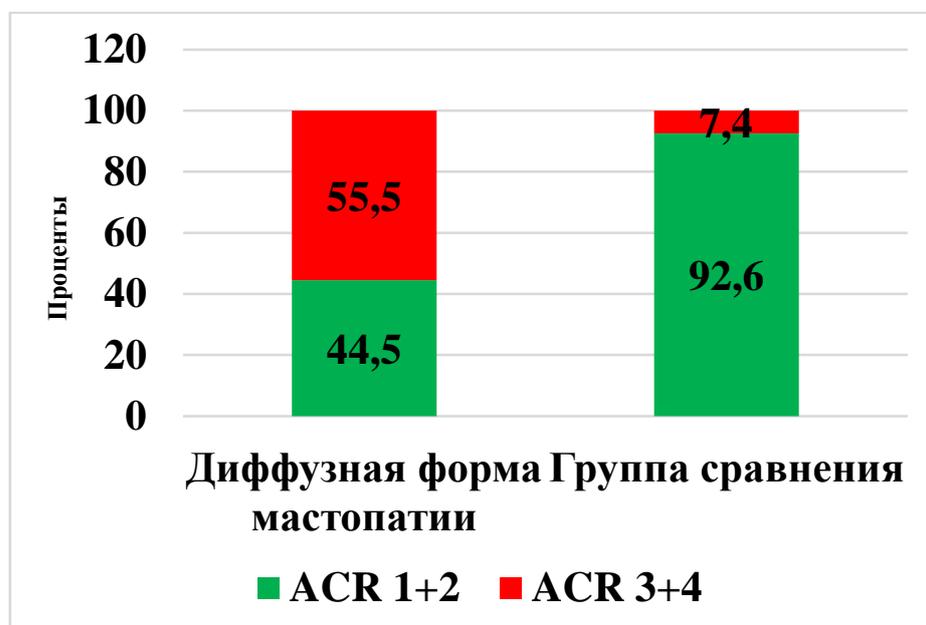


Рисунок 3.5 – Характеристика плотности молочных желёз (ACR) у обследуемых женщин.

Сравнительный анализ с помощью критерия хи-квадрат подтвердил высокую достоверность ( $p = 1.091e-07$ ) обнаруженных различий (рисунок 3.6).

Плотная молочная железа у пациенток с ДФМ характеризуется не только увеличением объема железистой ткани, но и появлением гиперплазированных долек в структуре органа. В отличие от этого плотность молочной железы ACR 3 у здоровых женщин до 45 лет определяется физиологическим преобладанием железистой ткани с неизменной архитектоникой (гиперплазия долек отсутствует).

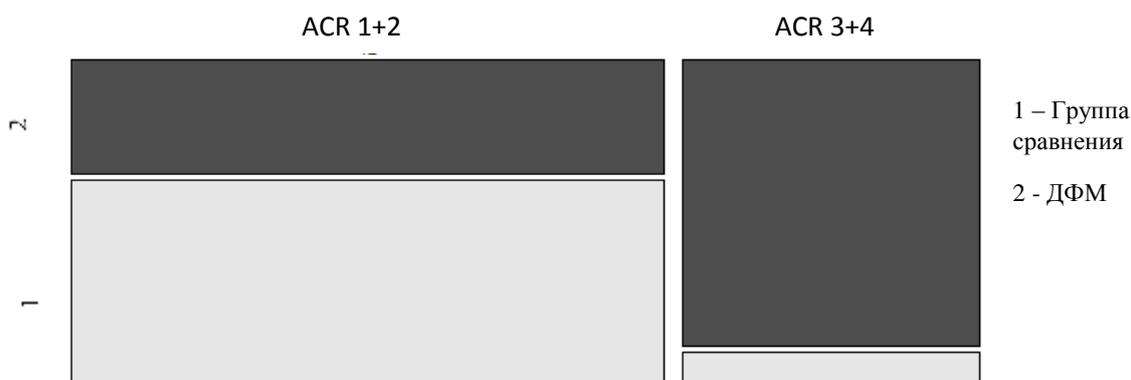


Рисунок 3.6 – Характеристика частоты высокой и низкой рентгенологической плотности молочной железы (ACR) у пациенток с ДФМ и здоровых женщин.

Для больных с ДФМ было характерно нарушение процессов возрастной инволюции молочных желёз, сопровождающихся замещением железистой ткани жировой тканью: в возрасте до 45 лет высокая плотность обнаружена у 64,9% женщин, в возрасте 46 – 50 лет – у 42,3% (рисунок 3.7). В группе здоровых женщин низкая плотность молочных желёз в возрасте до 45 лет диагностирована в 87,9%, старше 45 лет – в 100% случаев.

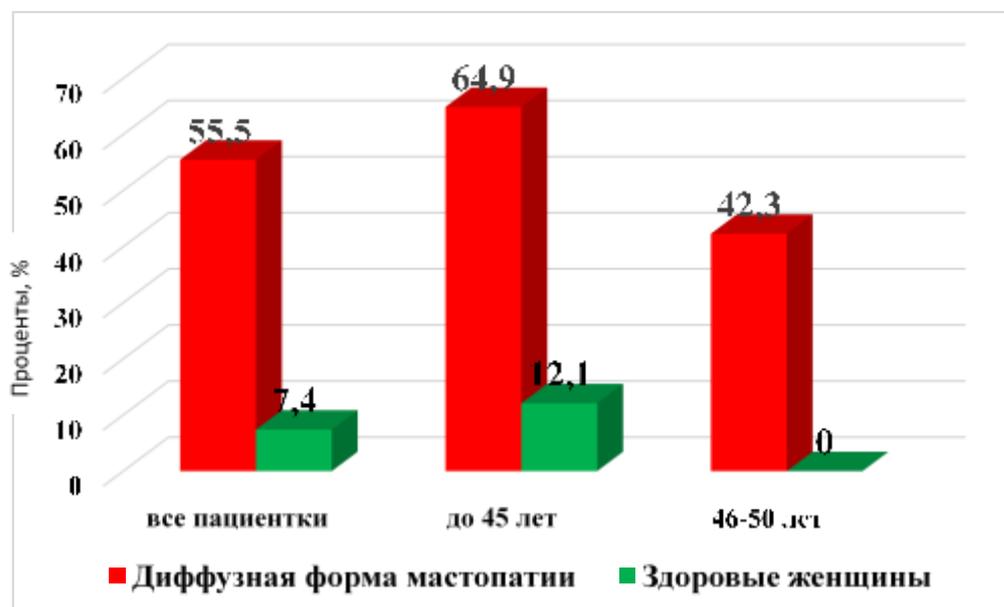


Рисунок 3.7 – Высокая рентгенологическая плотность молочных желёз (ACR 3 + ACR 4) у обследуемых женщин в разные возрастные периоды.

На рисунках 3.8 – 3.11 представлены снимки, соответствующие разной маммографической плотности. Низкая плотность молочной железы (рисунки 3.8 и

3.9) – ACR 1 (преобладание жировой ткани, железистая ткань менее 25%) и ACR 2 (фиброзно-железистая ткань, железистая ткань 25-50%).

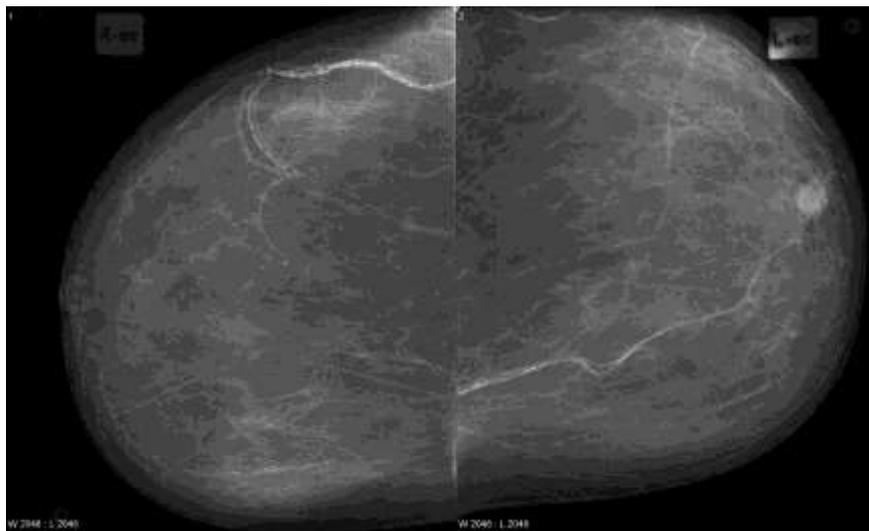


Рисунок 3.8 – Низкая рентгенологическая плотность молочной железы – ACR 1.

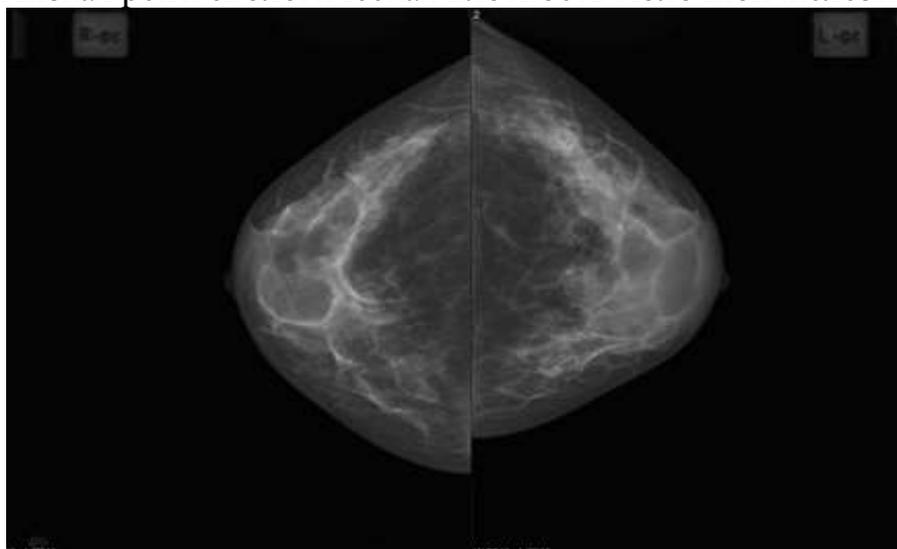


Рисунок 3.9 – Низкая рентгенологическая плотность молочной железы – ACR 2.

На прямых снимках молочные железы не деформированы, кожа, соски не изменены. Отмечается фиброзно-жировая инволюция ткани молочных желёз. Железистой ткани менее 25% (рисунок 3.8).

На прямых снимках молочные железы не деформированы, кожа, соски не изменены. Ткань молочных желёз представлена железистой тканью с участками жировой ткани и линейных зон фиброза, при этом объём железистой ткани составляет 25 – 50% (рисунок 3.9).

Высокая плотность молочной железы (рисунки 3.10, 3.11) – ACR 3 (неоднородная плотная ткань, железистая ткань 50 – 75%) и ACR 4 (максимальная степень выраженности пролиферативных процессов, железистая ткань составляет > 75%).

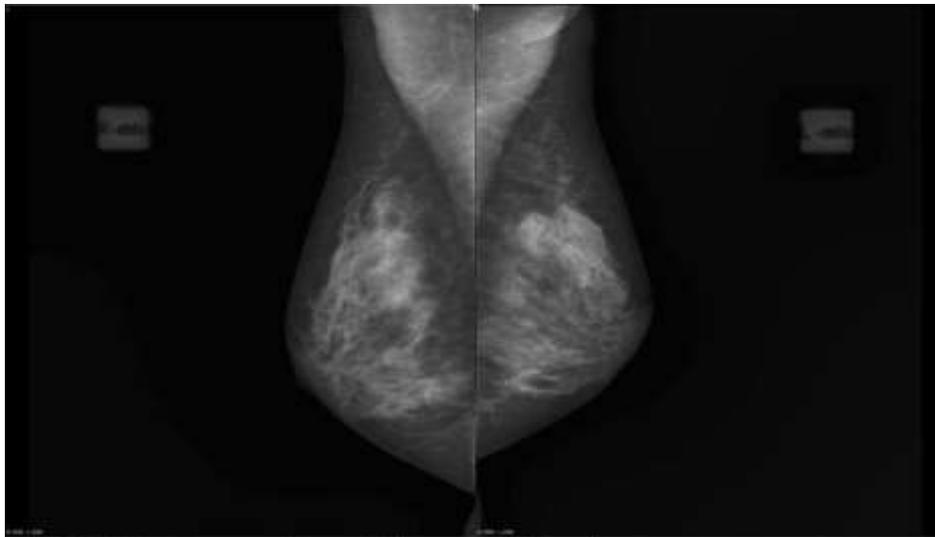


Рисунок 3.10 – Высокая рентгенологическая плотность молочной железы – ACR 3 (железистая ткань 50-75%).

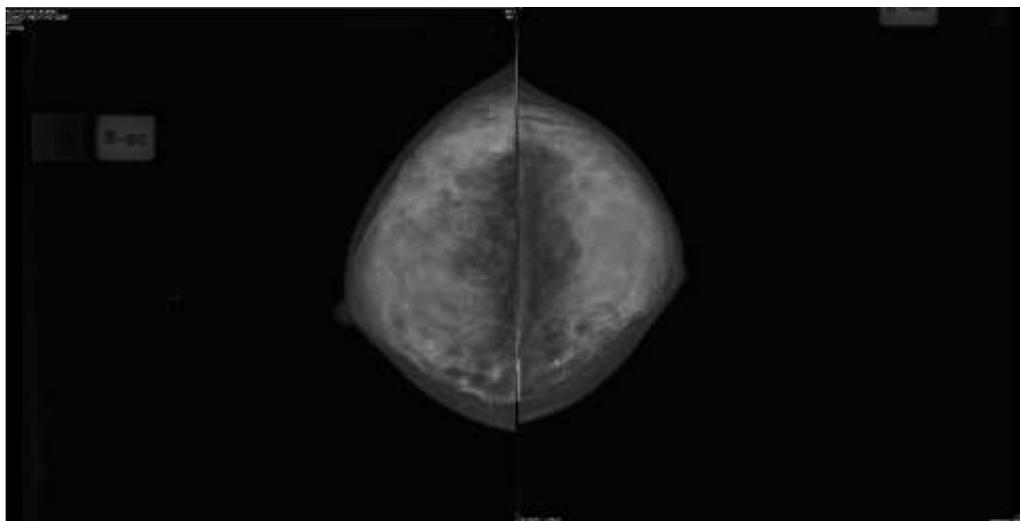


Рисунок 3.11 – Высокая рентгенологическая плотность молочной железы – ACR 4.

На косых снимках молочные железы не деформированы, кожа, соски не изменены. Ткань молочных желёз уплотнена за счёт гиперплазии железистой ткани, на фоне которой определяются дополнительные тени округлой формы, с чётким, ровным контуром, размерами до 2,0 × 1,9 см – кисты. Железистая ткань 50 – 75% (рисунок 3.10).

На прямых снимках молочные железы не деформированы. Кожа, соски не изменены. Определяется выраженная гиперплазия железистой ткани молочных желёз. Железистая ткань более 75% (рисунок 3.11).

При проведении ультразвукового исследования, помимо определения выраженности кистозного компонента и дуктэктазий, средней эхогенности ткани, выраженности явлений жировой инволюции, проводилась оценка толщины фиброгландулярной зоны (FGR). Характеристика толщины FGR у больных с ДФМ и здоровых женщин представлена в таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Характеристика толщины фиброгландулярной зоны (FGR) у пациенток с ДФМ и здоровых женщин

Толщина железистой ткани FGR	Диффузная форма мастопатии (n = 92)			Группа сравнения (n = 124)		
	≤ 40 лет	41 – 45 лет	46 – 50 лет	≤ 40 лет	41 – 45 лет	46 – 50 лет
Min.	12,8	9,4	11	7,2	6,6	5,6
1 <sup>st</sup> Qu	14,3	13,68	12,1	8,7	7,4	6,975
Median	15,3*	14,75*	13,3*	9,8	8,0	7,5
Mean	15,28	14,72	13,36	10,16	8,25	7,764
3 <sup>rd</sup> Qu	16,35	16,2	14,05	11,2	9,15	8,3
Max	18,4	18,6	17,5	14,7	10,4	9,8

Примечание. Достоверность различий показателей с группой сравнения: \* –  $p < 0,001$ .

Как следует из таблицы 3.4, 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).

Оценка толщины FGR у пациенток с ДФМ в разные возрастные периоды (рисунок 3.12) показала значимое ( $p = 2.856e-05$ ) снижение данного показателя в старшей возрастной группе 46 – 50 лет (Me – 13,3 мм), больные до 40 лет (Me – 15,3 мм) не отличались от женщин 41 – 45 лет (Me – 14,75 мм).

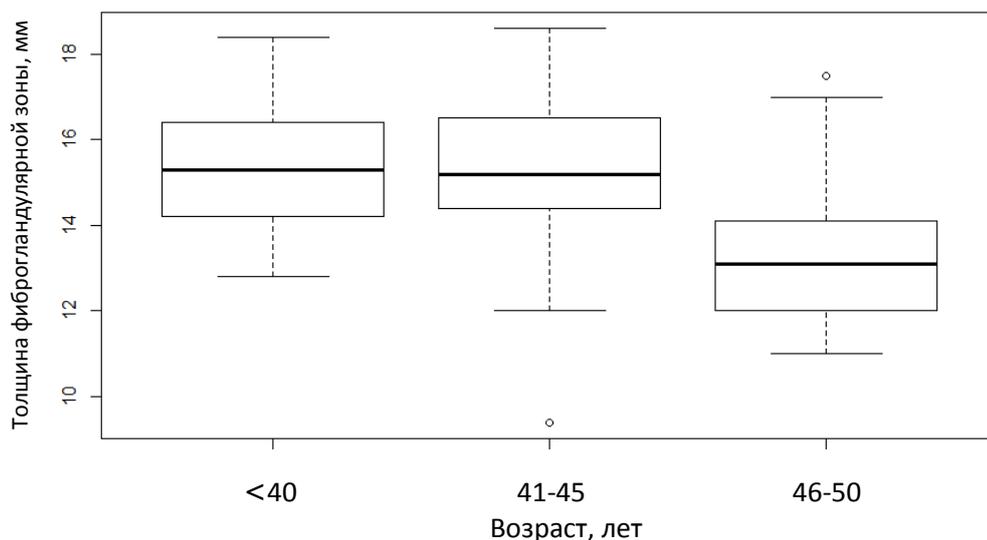


Рисунок 3.12 – Толщина фиброглангулярной зоны (FGR) у пациенток с диффузной формой мастопатии в разные возрастные периоды.

В группе ДФМ выявлена прямая корреляционная связь толщины FGR со шкалой ВАШ ( $r = 0,54$ ,  $p = 2.738e-08$ ): пациентки с сильным болевым синдромом (ВАШ  $\geq 8$ ) имели максимальные показатели толщины FGR – 16,3 мм, ВАШ 4 – 7 – 14,8 мм, ВАШ 1 – 3 – 12,6 мм (таблица 3.5, рисунок 3.13). Оценка влияния характера гинекологической патологии на толщину FGR не выявила достоверной связи ( $p = 0,2902$ ).

Таблица 3.5 – Толщина FGR у пациенток с ДФМ в зависимости от выраженности болевого синдрома

Толщина FGR, мм	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
ВАШ 1 – 3	11	11,8	12,6	12,78	13,7	14,5
ВАШ 4 – 7	9,4	13,7	14,8*	14,73	16,2	18,6
ВАШ $\geq 8$	14,6	15,08	16,3*	16,17	16,48	18,6

Примечание. Достоверность различий показателей с группой ВАШ 1 – 3: \* –  $p < 0,001$ .

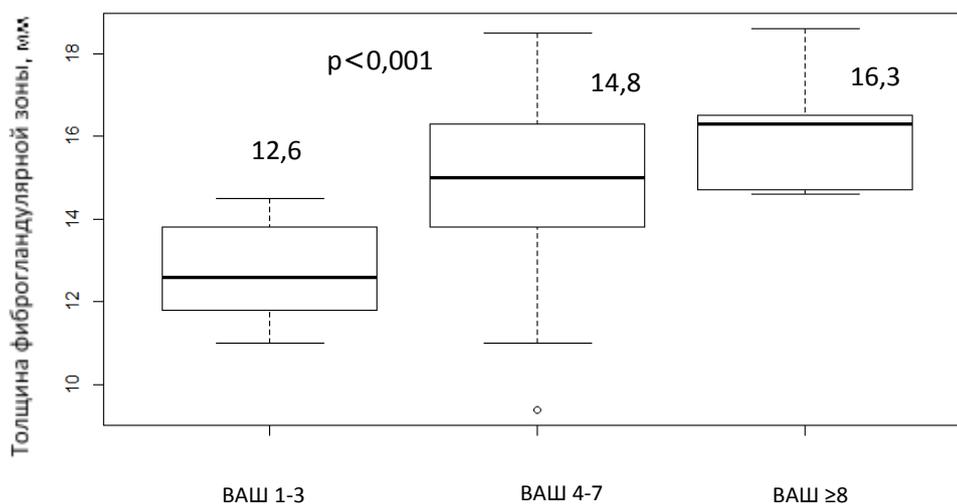


Рисунок 3.13 – Зависимость уровня ВАШ от толщины фиброглангулярной зоны (FGR) у пациенток с диффузной формой мастопатии.

Изучение корреляции между плотностью молочной железы (ACR) и FGR показало положительную связь: увеличение толщины FGR сопровождается ( $r_s = 0,0275$ ,  $p = 0,03783$ ) повышением плотности молочной железы (таблица 3.6, рисунок 3.14).

Однако такая взаимосвязь выявлена только у женщин до 45 лет ( $p = 0,031$ ), у лиц старшего возраста (46 – 50 лет) значимой зависимости выявлено не было ( $p = 0,603$ ) (рисунок 3.15).

Таблица 3.6 – Толщина фиброглангулярной зоны (FGR) у пациенток с диффузной формой мастопатии в зависимости от плотности (ACR) молочных желез

Плотность молочных желёз (ACR)	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
ACR 1 (n = 2)	17,4	17,45	17,5	17,5	17,55	17,6
ACR 2 (n = 26)	11	12,3	14,2	14,13	14,95	18,5
ACR 3 (n = 29)	11	13,6	14,7	14,61	16	17,9
ACR 4 (n = 6)	13,6	14,58	15	15,65	16,7	18,6
ACR1 ≤ 45 лет (n = 2)	17,4	17,45	17,5	17,5	17,55	17,6
ACR2 ≤ 45 лет (n = 11)	12	14,2	14,6*	14,87	15,2	18,5
ACR3 ≤ 45 лет (n = 19)	13,2	14,7	15,2*	15,43	16,3	17,9
ACR4 ≤ 45 лет (n = 5)	14,5	14,8	15,5*	16,06	17,2	18,6
ACR2 > 45 лет (n = 15)	11	12	13,5**	13,59	14,6	17,5
ACR3 > 45 лет (n = 10)	11	12,27	13**	13,06	13,78	16,2
ACR4 > 45 лет (n = 1)	13,6	13,6	13,6**	13,6	13,6	13,6

Примечание. Достоверность различий показателей у пациенток ≤45 лет: \* –  $p < 0,05$ ; достоверность различий показателей у пациенток > 45 лет: \*\* –  $p > 0,05$

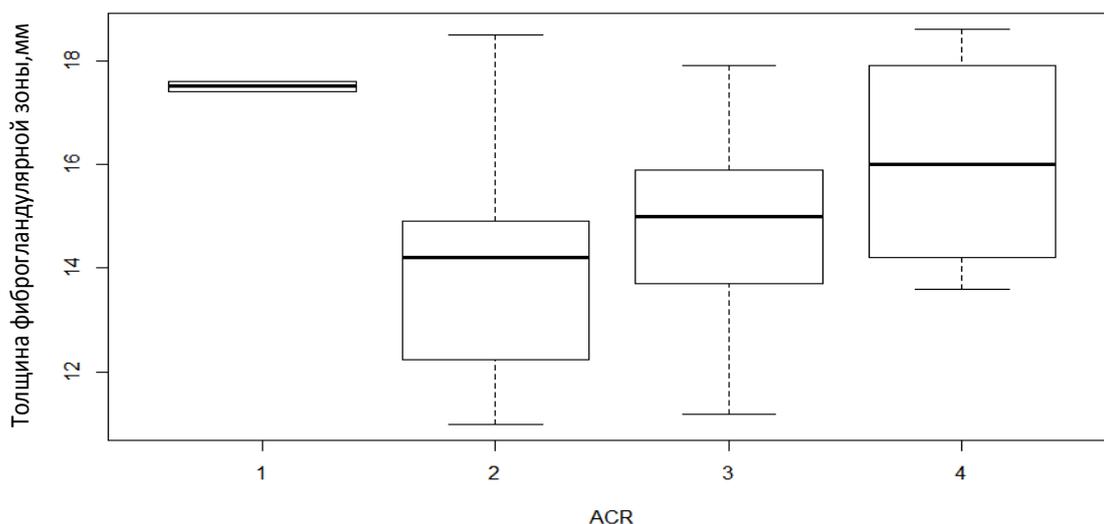


Рисунок 3.14 – Толщина фиброглангулярной зоны (FGR) при разной плотности молочной железы (ACR) у пациенток с диффузной формой мастопатии.

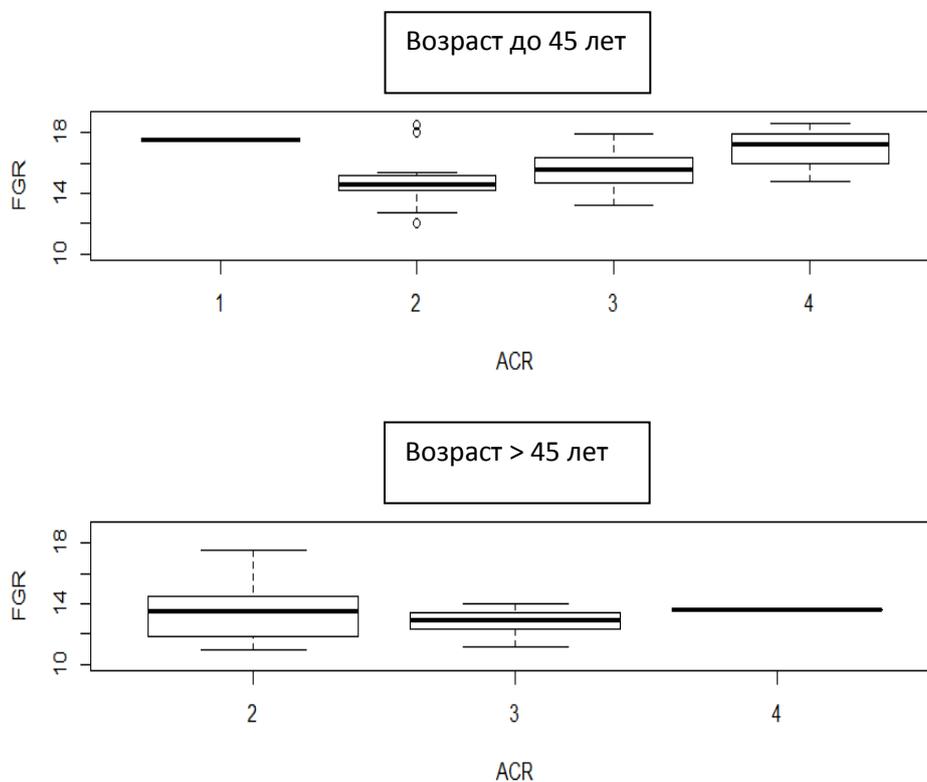


Рисунок 3.15 – Толщина фиброглангулярной зоны (FGR) при разной плотности молочных желёз (ACR) у пациенток до 45 лет и старше 45 лет.

Исследование гормонального статуса больных показало достоверное ( $p = 0,003$ ) увеличение уровня пролактина у пациенток с ДФМ и у женщин с ФА 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 (таблица 3.7, рисунок 3.16).

Таблица 3.7 – Уровень пролактина у обследуемых женщин

Группы женщин	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
Группа сравнения (n=124)	116,8	176,2	256,6	274	315,6	655,4
ДФМ (n=92)	151,9	230,1	290,8*	335,8	423,1	921,3
ФА (n=42)	163,1	260,9	338,3*	352,9	444	651,6

. Примечание. Достоверность различий показателей с группой сравнения: \* –  $p < 0,05$ .

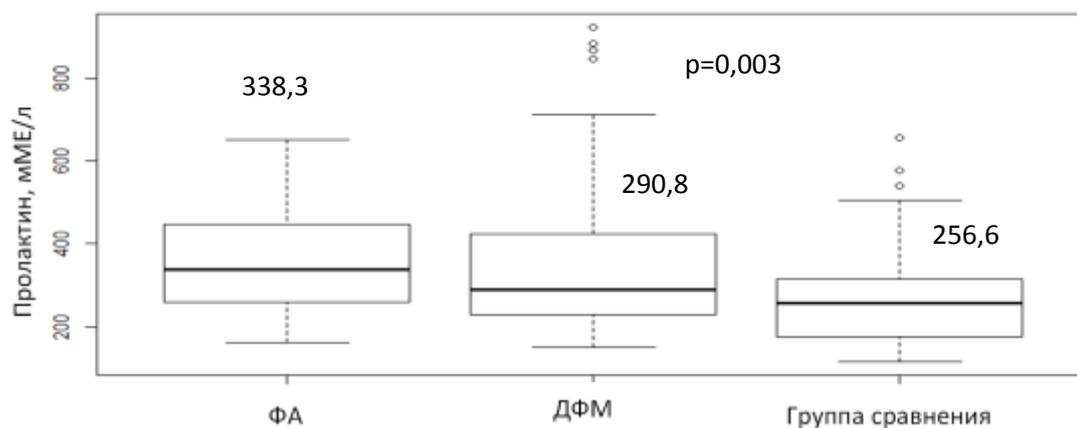


Рисунок 3.16 – Уровень пролактина у женщин с ДФМ, ФА и в группе сравнения.

Использование теста Тьюки с целью оценки достоверности межгрупповых отличий показало, что 95% ДИ для величины различий здоровых женщин и больных с ДФМ составил  $-117,33 - -6,27$  мМЕ/л, средняя величина отличий  $61,8$  мМЕ/л ( $p = 0,024$ ). При сравнении здоровых женщин и больных с ФА средняя величина отличий  $-78,89$  мМЕ/л, 95% ДИ для величины различий составил  $-155,54 - -2,25$  мМЕ/л, ( $p = 0,04$ ).

При этом распределение по уровню пролактина имеет асимметричный характер (рисунок 3.17). На графике представлена гистограмма уровня пролактина (по оси абсцисс) для нормы (столбики), совмещённая с кривыми плотности вероятности (по оси ординат), означающей вероятность встречи женщин с одинаковыми значениями пролактина для нормы, ДФМ и ФА. Уровень пролактина в зависимости от возраста в изучаемых группах женщин представлен в таблице 3.8. и на рисунках 3.18 – 3.19.

Изучение уровня пролактина в разных возрастных группах показало, что у здоровых женщин с возрастом его показатель снижается ( $p = 0.014$ ), в отличие от

пациенток с ДФМ, где уровень пролактина остаётся стабильно повышенным по сравнению со здоровыми независимо от возраста ( $p = 0.067$ ).

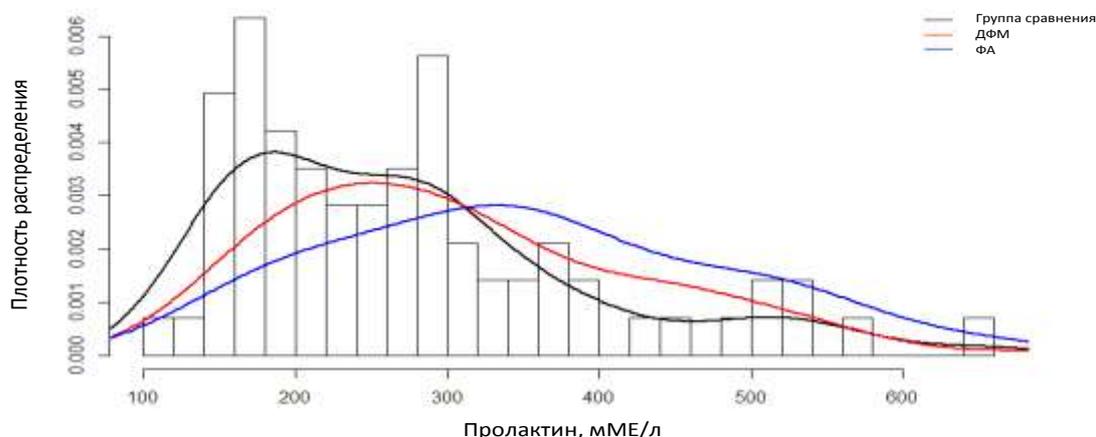


Рисунок 3.17 – Характер распределения уровня пролактина у обследуемых женщин.

Таблица 3.8 – Уровень пролактина у обследуемых женщин в разные возрастные периоды

Группы женщин	Группа сравнения			ДФМ			ФА		
	≤ 30 лет	31 – 40	41 – 50	≤ 30 лет	31 – 40	41 – 50	≤ 30 лет	31 – 40	41 – 50
Min.	157,7	123,8	116,8	228,9	162,4	151,9	163,1	164,7	367,4
1 <sup>st</sup> Qu	256,6	203,9	168,2	271,0	224,8	223,8	312,8	214,9	367,4
Median	280,4*	244,1*	213,0*	316,5**	286,5**	305,2**	385,2	257,9*	367,4
Mean	364,0	269,2	243,0	321,9	347,3	340,0	396,6	263,8	367,4
3 <sup>rd</sup> Qu	506,0	313,1	302,9	367,4	350,9	427,2	495,4	312,4	367,4
Max	655,4	505,6	540,0	425,6	921,3	882,1	651,6	377,8	367,4

Примечание. Достоверность различий показателей в группе сравнения и в группе ФА по сравнению с возрастом ≤30 лет:\* –  $p < 0,05$ ; достоверность различий показателей в группе ДФМ:\*\* –  $p > 0,05$ .

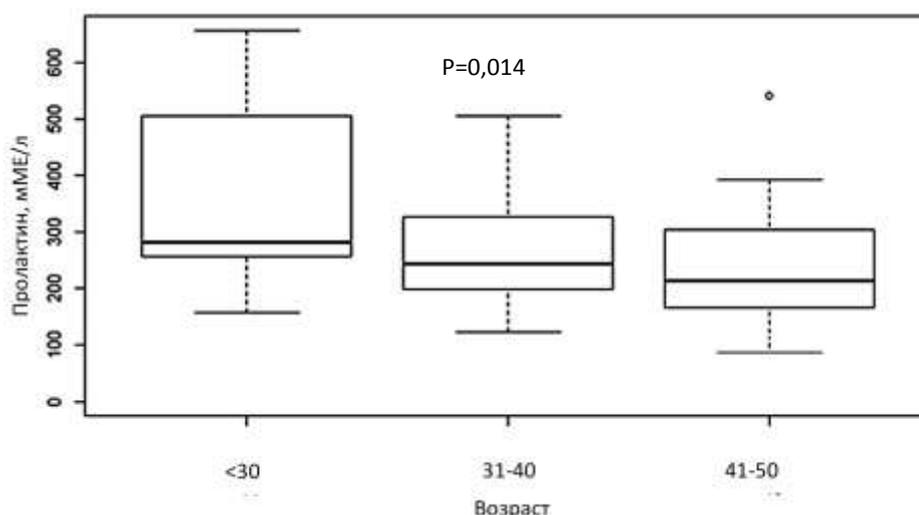


Рисунок 3.18 – Уровень пролактина у здоровых женщин разных возрастных групп.

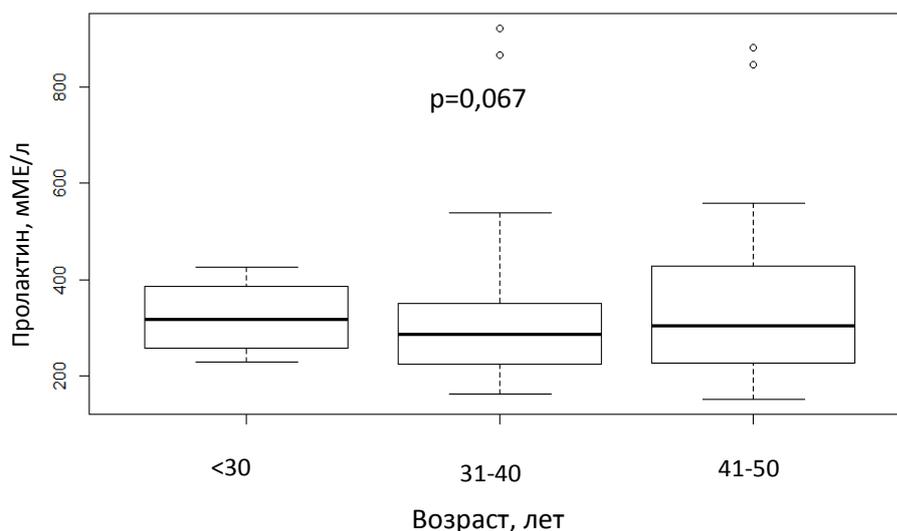


Рисунок 3.19 – Уровень пролактина у пациенток с ДФМ в разные возрастные периоды.

Пациентки с ФА также характеризуются достоверным снижением уровня пролактина в возрасте 30 – 40 лет ( $p = 0,026$ ), некоторое повышение уровня гормона в возрастной группе старше 40 лет является недостоверным вследствие малого количества больных ( $p = 0,273$ ).

Изучение связи между уровнем пролактина и плотностью молочной железы показало, что женщины с очень высокой плотностью молочной железы ACR 4 имеют достоверно ( $p < 0,0001$ ) более высокий уровень пролактина – медиана 635,6 мМЕ/л по сравнению с женщинами с плотностью молочной железы ACR 1 – медиана 287 мМЕ/л, ACR 2 – медиана 270 мМЕ/л, ACR 3 – медиана 250,6 мМЕ/л. Показатели пролактина при разной плотности молочной железы представлены в таблице 3.9 и на рисунке 3.20.

В то же время нами не установлена ( $p = 0,2781$ ) зависимость толщины FGR по ультразвуковым данным от уровня пролактина (рисунок 3.21).

Таблица 3.9 – Уровень пролактина при разной плотности (ACR) молочных желез

Плотность молочных желез (ACR)	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
ACR 1	169	195	287	265,8	314,6	356,5
ACR 2	141	184,2	270	285,2	343,5	846,4
ACR 3	116,8	184,8	250,6	293,5	405,6	557,5
ACR 4	340,7	389,5	635,6*	623,6	870	882,1

Примечание. Достоверность различий по сравнению с группами ACR 1, ACR 2, ACR 3: \* –  $p < 0,0001$ .

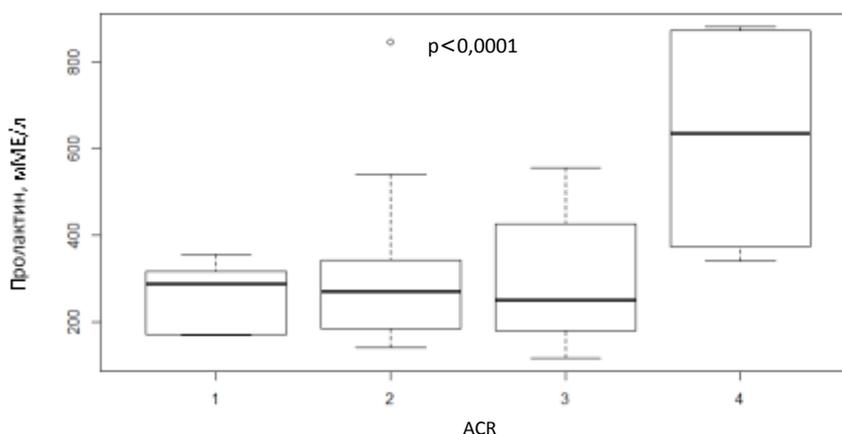


Рисунок 3.20 – Уровень пролактина при разной плотности (ACR) молочных желёз.

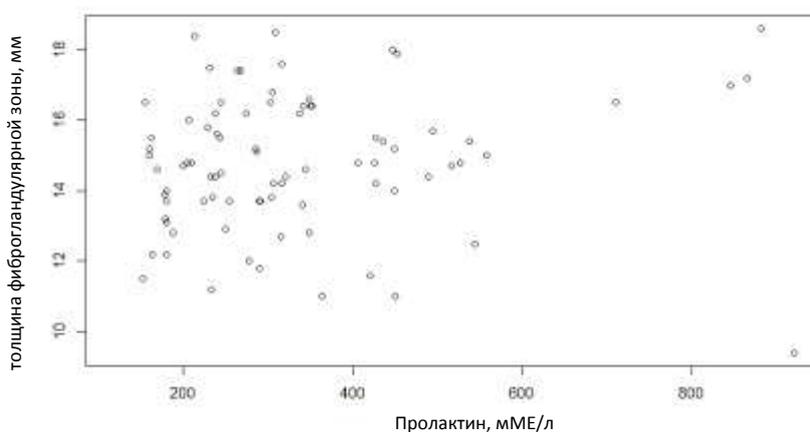


Рисунок 3.21 – Толщина FGR и уровень пролактина у пациенток с ДФМ.

Анализ зависимости болевого синдрома от уровня пролактина показал, что повышение уровня гормона достоверно коррелирует с выраженностью болевого синдрома ( $r_s = 0,24$ ,  $p = 0,03$ ). При этом пациентки с сильной болью (ВАШ  $\geq 8$  баллов) имели самый высокий уровень пролактина ( $p = 0,046$ ) – 433,9 мМЕ/л, в то время как больные со слабой (ВАШ 1 – 3 балла) и средней степенью (ВАШ 4 – 7 баллов) болевого синдрома достоверно не отличались по уровню пролактина (340,7 мМЕ/л и 276,8 мМЕ/л соответственно,  $p > 0,05$ ). Данные, характеризующие уровень пролактина у пациенток с разной степенью болевого синдрома, отражены в таблице 3.10 и на рисунке 3.22.

Таблица 3.10 – Уровень пролактина у пациенток с ДФМ в зависимости от уровня болевого синдрома

Шкала ВАШ, баллы	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
ВАШ 1 – 3	180,0	289,2	340,7	396,8	449,5	870,9
ВАШ 4 – 7	151,9	210,1	276,8	318,4	363,3	921,3
ВАШ $\geq 8$	337,4	345,3	433,9*	523,6	662,1	882,1

Примечание. Достоверность различий по сравнению с ВАШ 1-3 и ВАШ 4-7: \* –  $p < 0,05$

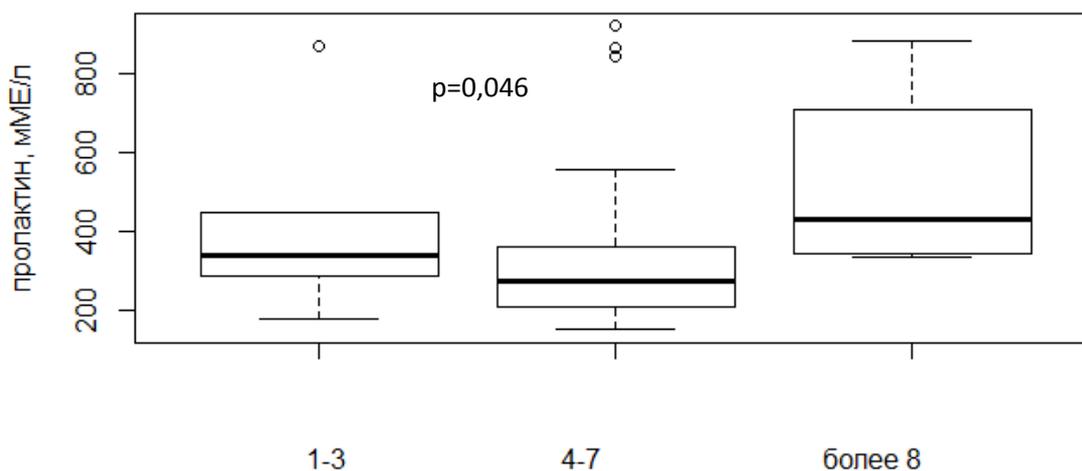


Рисунок 3.22 – Уровень пролактина у пациенток с ДФМ в зависимости от выраженности болевого синдрома.

Учитывая доказанное влияние гинекологической патологии на уровень пролактина, особое внимание было уделено изучению связи гормона с неопухолевыми заболеваниями матки и её придатков (таблица 3.11, рисунок 3.23).

Таблица 3.11 – Уровень пролактина у обследованных женщин при разных видах гинекологической патологии

Гинекологическая патология	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
Миома тела матки / генитальный эндометриоз	116,8	214,4	308,2	327,9	384,1	882,1
Хроническая ановуляция	223,8	285,3	437,8*	452,3	504,9	846,4
ВЗОМТ	151,9	222,7	281,6	328,8	372,0	921,3
Бесплодие неясного генеза	141,0	160,7	180,4	254,0	310,5	440,6
Здоровые женщины	123,8	169,1	248,2	262,7	298,7	576,6

Примечание. Достоверность различий по сравнению со здоровыми женщинами: \* –  $p = 0,01$

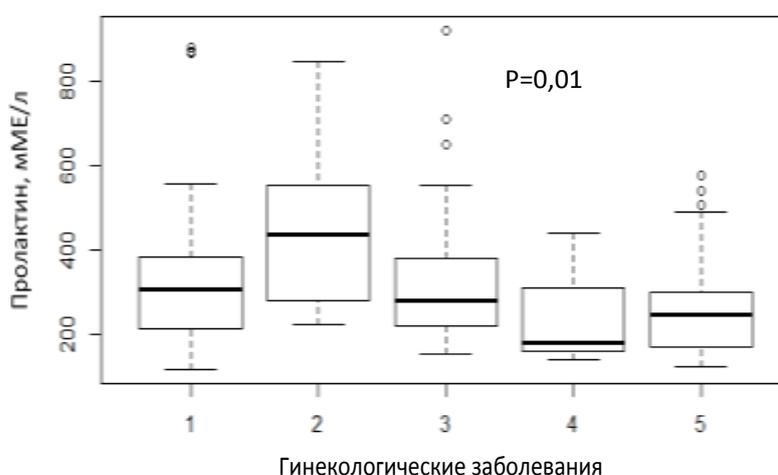


Рисунок 3.23 – Уровень пролактина у обследованных женщин при разных видах гинекологической патологии: 1 – миома тела матки/ генитальный эндометриоз; 2 – хроническая ановуляция; 3 – ВЗОМТ; 4 – бесплодие неясного генеза; 5 – здоровые.

Как следует из таблицы 3.11 и рисунка 3.23, пациентки с хронической ановуляцией имели достоверно ( $p = 0,01$ ) самый высокий уровень пролактина по сравнению со здоровыми женщинами – медиана 437,8 и 248,2 мМЕ/л соответственно. В среднем вышеуказанные группы отличались на 189,68 мМЕ/л (95% ДИ 348,65 – 30,72).

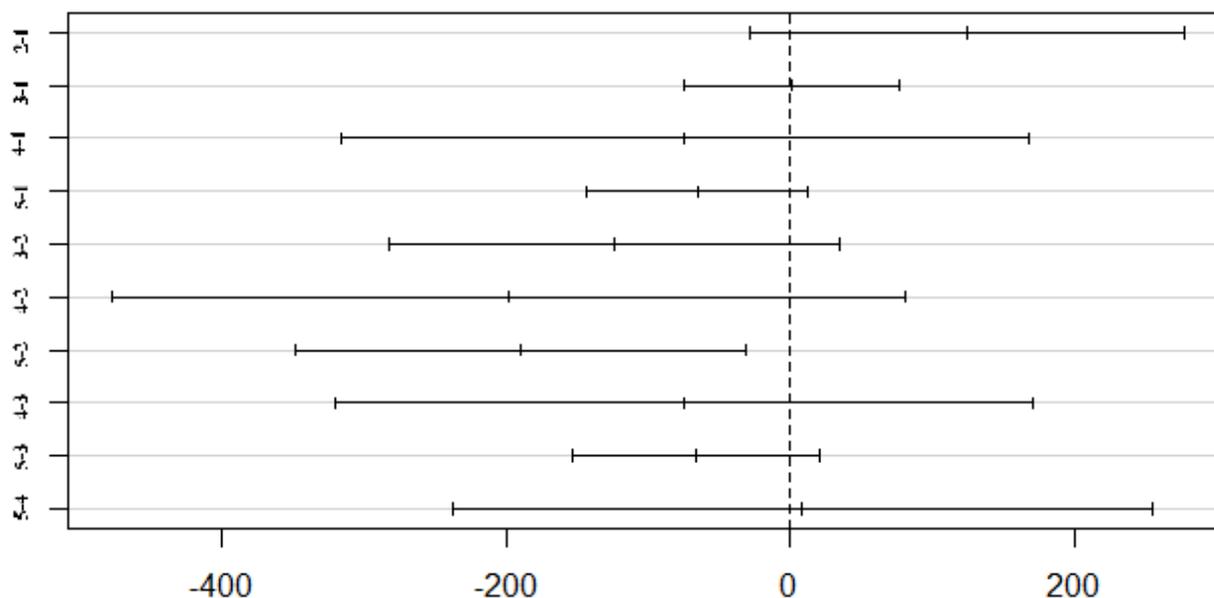
С целью оценки достоверности различий показателя пролактина в разных группах использован тест Тьюки (таблица 3.12, рисунок 3.24). Критерием достоверности различий уровня гормона между разными группами является отсутствие пересечения горизонтальных линий, отражающих 95% доверительный интервал, вертикальной 0 линий.

Таблица 3.12 – Оценка величины различий уровня пролактина у обследованных женщин с разной гинекологической патологией

Попарные сравнения гинекологической патологии	Средняя величина отличий	95% ДИ	p
Хроническая ановуляция – миома тела матки/генитальный эндометриоз	124,41	-28,41 – 277,25	0,16
ВЗОМТ – миома тела матки/генитальный эндометриоз	0,878	-75,00 – 76,7	0,999
Бесплодие неясного генеза - миома тела матки/генитальный эндометриоз	-73,93	-316,56 – 168,68	0,917
Здоровые – миома тела матки/генитальный эндометриоз	-65,268	-142,83 – 12,302	0,14
ВЗОМТ – Хроническая ановуляция	-123,54	-281,68 – 34,6	0,202
Бесплодие неясного генеза - хроническая ановуляция	-198,35	-477,85 – 81,141	0,292
Здоровые – хроническая ановуляция	-189,68	-348,65 – -30,72	0,01
Бесплодие неясного генеза – ВЗОМТ	-74,81	-320,82 – 171,19	0,91
Здоровые – ВЗОМТ	-66,14	-153,71 – 21,42	0,23
Здоровые – бесплодие неясного генеза	8,66	-237,86 – 255,2	0,99

Анализ теста Тьюки показал, что аналогичной тенденцией к повышенному уровню пролактина характеризовались также больные с миомой тела матки и генитальным эндометриозом (отличие в среднем на 65,26 мМЕ/л, 95% ДИ 142,83 – 12,3,  $p = 0,14$ ) и с ВЗОМТ (отличие в среднем на 66,14 мМЕ/л, 95% ДИ 153,7 – 21,4  $p = 0,23$ ). Оценка достоверности различий в уровне пролактина между пациентками с неопухолевыми заболеваниями матки показала также наличие тенденции к его более

высокому уровню у больных с хронической ановуляцией по сравнению с миомой тела и генитальным эндометриозом ( $p = 0,16$ ) и ВЗОМТ ( $p = 0,2$ ).



95% доверительный интервал для попарных различий уровня пролактина, мМЕ/л

Рисунок 3.24 – Достоверность различий уровня пролактина у обследованных женщин при разных видах гинекологической патологии:

1 – миома тела матки/генитальный эндометриоз; 2 – хроническая ановуляция; 3 – ВЗОМТ; 4 – бесплодие неясного генеза; 5 – здоровые.

Гормоны щитовидной железы играют большую роль в развитии мастопатии, в связи с этим нами были изучены колебания показателей ТТГ у обследуемых женщин (таблица 3.13, рис. 3.25).

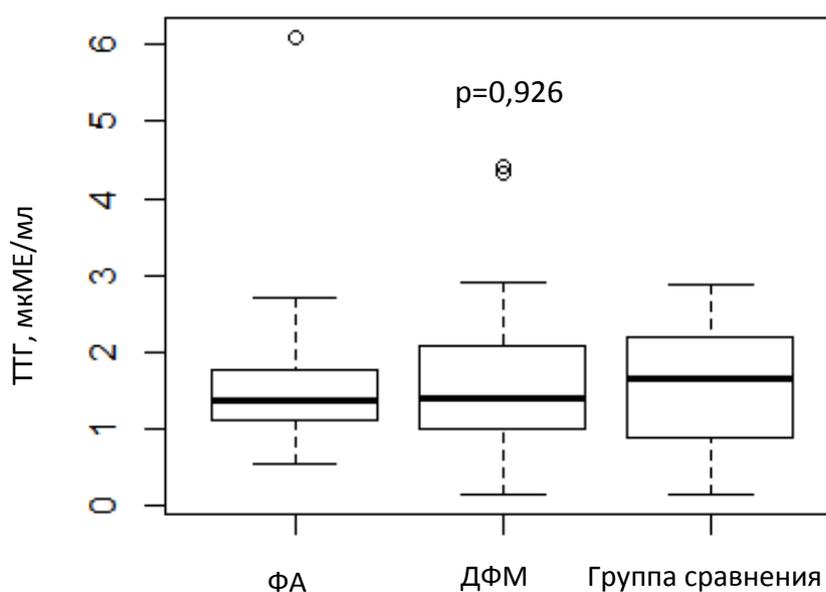


Рисунок 3.25 – Уровень ТТГ у обследуемых женщин.

Таблица 3.13 – Уровень ТТГ у обследуемых групп женщин

Группы женщин	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
Группа сравнения	0,169	0,9	1,675*	1,583	2,195	2,87
ДФМ	0,15	1,0	1,3*	1,551	2,1	4,4
ФА	0,56	1,155	1,385*	1,643	1,74	6,1

Примечание. Достоверность различий между всеми исследуемыми группами: \*–  $p > 0,05$ .

Как следует из представленных данных, лишь у двух пациенток наблюдались повышенные значения ТТГ, средние показатели у женщин с ДЗМЖ и здоровых не отличались и соответствовали нормативным значениям.

Изучение уровня прогестерона у здоровых женщин выявило отрицательную корреляцию ( $r = -0.44$ ,  $p = 0.0001$ ) между прогестероном и возрастом; с увеличением возраста показатель прогестерона значимо снижался (рисунок 3.26).

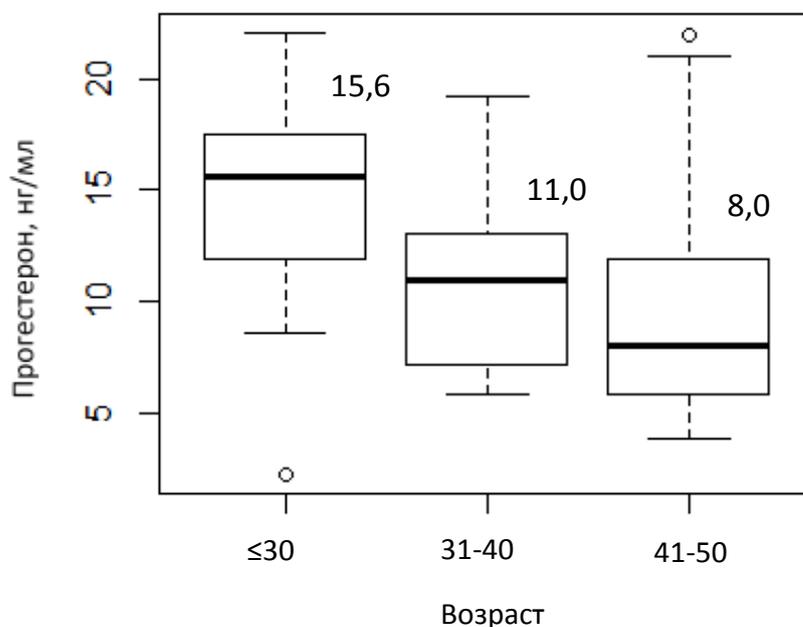


Рисунок 3.26 – Уровень прогестерона в разные возрастные периоды у здоровых женщин.

В целом показатели уровня прогестерона у всех обследуемых женщин представлены в таблице 3.14.

Таблица 3.14 – Уровень прогестерона у обследуемых групп женщин в разные возрастные периоды

Группы женщин	Группа сравнения			ДФМ			ФА		
	≤ 30 лет	31 – 40 лет	41 – 50 лет	≤ 30 лет	31 – 40 лет	41 – 50 лет	≤ 30 лет	31 – 40 лет	41 – 50 лет
Min.	2,2	5,8	3,8	3,8	1,1	0,5	6,1	4,1	6,1
1 <sup>st</sup> Qu	12,68	7,2	5,8	6,1	8,7	4,35	12,68	10,38	6,1
Median	15,6	11	8,0	8,47*	13,8	7,2	16,8**	15,2	6,1
Mean	14,66	11,06	9,46	9,0	13,21	7,9	17,5	16,22	6,1
3 <sup>rd</sup> Qu	17,23	13	11,9	11,63	18	10,2	22,15	21,55	6,1
Max	22,1	19,2	22,0	14,8	25,2	17,4	29,3	32,0	6,1

Примечание. Достоверность различий по сравнению с группой сравнения ≤ 30 лет: \* –  $p < 0,001$ , \*\* –  $p > 0,05$ .

Сравнительный анализ обследуемых групп показал, что больные с ДФМ в возрастной группе до 30 лет (рисунок 3.27) 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 отличие от женщин с ФА, где уровень прогестерона 16,8 нг/мл не отличался от нормы ( $p > 0,05$ ).

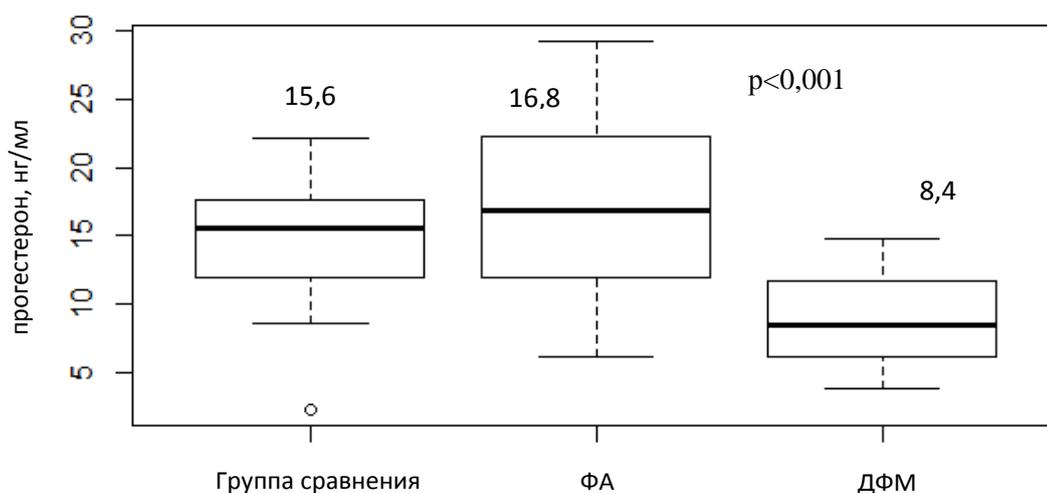


Рисунок 3.27 – Уровень прогестерона у женщин обследуемых групп до 30 лет.

Таким образом, следует подчеркнуть, что женщины с ДФМ независимо от возраста имели стабильно сниженные показатели прогестерона в крови, тогда как здоровые изначально отличались более высоким уровнем прогестерона.

Корреляционный анализ у больных с ДФМ не показал достоверной связи между уровнями пролактина и прогестерона ( $r = - 0,15$ ,  $p = 0,3244$ ), прогестерона и выраженностью болевого синдрома по шкале ВАШ ( $r = - 0,21$ ,  $p = 0,151$ ).

Обобщая результаты проведённого исследования, можно заключить, что пациентки с ДЗМЖ характеризуются высокой распространённостью гинекологической патологии, среди которой основное место занимают неопухольевые заболевания матки, и большей частотой искусственного прерывания беременности. Основным симптомом в клинической картине женщин с ДФМ является болевой синдром, с ФА – только наличие объёмного образования. Более половины женщин с ДФМ по данным маммографии имеют высокую степень плотности молочной железы, в то время как у большинства здоровых определена низкая плотность. Для женщин всех возрастных групп характерно преобладание смешанной формы мастопатии, при этом в возрасте до 40 лет второй по частоте является кистозная, в старшей возрастной группе – железистая форма патологии. По данными гормонального статуса у пациенток с ДЗМЖ обнаружены более высокие уровни пролактина по сравнению со здоровыми женщинами. Больные с ДФМ характеризуются отсутствием возрастного снижения пролактина, наличием прямой связи между уровнем пролактина и степенью выраженности болевого синдрома и плотности молочной железы, а также достоверно значительным снижением уровня прогестерона в возрасте до 30 лет.

## ГЛАВА 4. ОБЕСПЕЧЕННОСТЬ ВИТАМИНОМ D ЖЕНЩИН С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЁЗ

Анализ обеспеченности витамином D (VD) больных с диффузной формой мастопатии (ДФМ), фиброаденомой (ФА) и здоровых женщин представлен в таблице 4.1 и на рисунке 4.1.

Таблица 4.1 – 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 по сравнению с группой сравнения: \* –  $p < 0,0001$ .

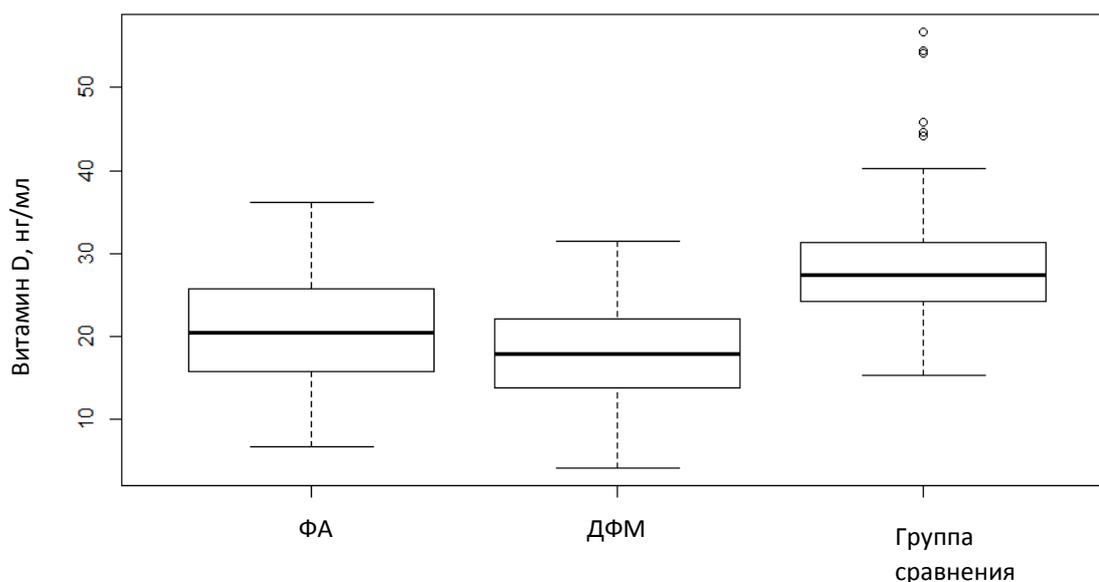


Рисунок 4.1 – Обеспеченность витамином D пациенток с ДФМ, ФА и у здоровых женщин.

Как следует из таблицы 4.1 и рисунка 4.1, 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.

В целом женщины с ДЗМЖ имели достоверно ( $p < 2.2e-16$ ) значительно более низкий уровень VD по сравнению со здоровыми. При этом разница между ФКМ и ФА не достоверна ( $p = 0,098$ ).

Принципиально различна и степень недостаточности VD среди здоровых женщин и больных с ДЗМЖ (рисунок 4.2).

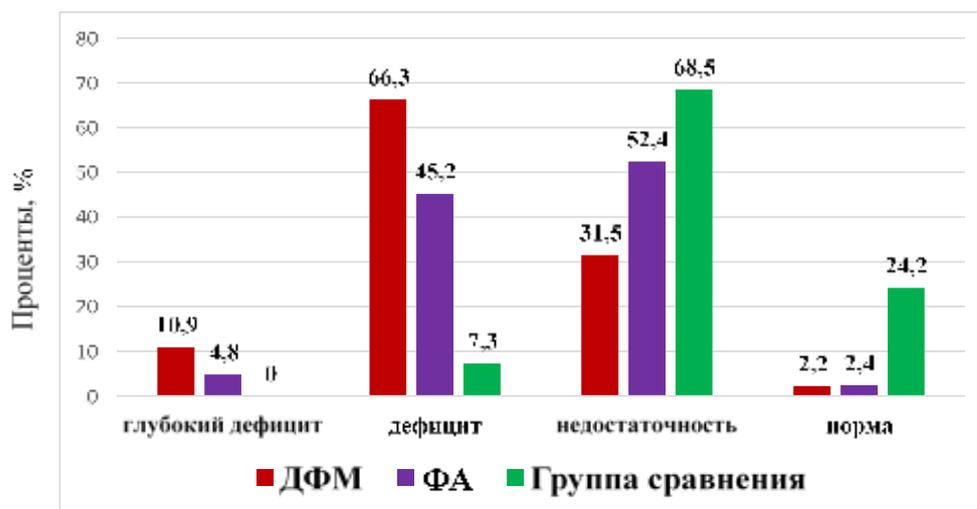


Рисунок 4.2 – Степень обеспеченности витамином D пациенток с ДФМ, ФА и здоровых женщин.

Примечание. 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.

Более половины пациенток (66,3%) с ДФМ имели дефицит VD (разброс 4,2 – 19,9 нг/мл, Me – 16,2 нг/мл), 31,5% – недостаточность (20,1 – 27,8 нг/мл, Me – 22,95 нг/мл) и только у 2,2% (30,4 – 31,5 нг/мл, Me – 31,2 нг/мл) обеспеченность была в пределах нормы. При этом дефицит  $\leq 13$  нг/мл отмечен у 21,7% пациенток, глубокий дефицит  $\leq 10$  нг/мл – 10,9%. Среди больных с ФА 52,4% имели недостаточность (20,3 – 29,5 нг/мл, Me – 24,2 нг/мл) VD, 45,2% – дефицит (6,7 – 18,8 нг/мл, Me – 15,5 нг/мл), нормальная обеспеченность (33,5 – 36,1 нг/мл, Me – 34,8 нг/мл) определена всего у 2,4% больных.

Основная масса (68,5%) здоровых женщин находилась в зоне недостаточности VD (20,4 – 29,9 нг/мл, Me – 25,38 нг/мл), нормальный уровень (30,5 – 56,69 нг/мл, Me – 35,15 нг/мл) VD установлен практически у каждой 4 пациентки – 24,2%, дефицит (15,4 – 19,8 нг/мл, Me – 16,7 нг/мл) встречается только у 7,3%.

С целью оценки значимости различий в уровне VD у больных с ДФМ и здоровых женщин также был применён метод расчёта хи-квадрата с построением мозаичного плота (рисунок 4.3). Как следует из рисунка, пациентки с ДФМ характеризовались достоверно ( $p < 2.2e-16$ ) большей частотой дефицита VD по

сравнению со здоровыми женщинами, которые значительно чаще по сравнению с больными имеют нормальную обеспеченность витамином D.



Рисунок 4.3 – Характеристика частоты разной обеспеченности VD у пациенток с ДФМ и здоровых женщин:

1 – группа сравнения; 2 – ДФМ.

С увеличением возраста способность кожи к синтезу провитамина D<sub>3</sub> падает. Диффузная мастопатия также является заболеванием женщин старшей возрастной группы. В связи с этим был изучен вопрос влияния возрастного фактора на уровень обеспеченности VD (таблица 4.2).

Таблица 4.2 – Обеспеченность витамином D у обследованных женщин в зависимости от возраста

Группы женщин	Группа сравнения			ДФМ			ФА		
	≤ 30 лет	31 – 40	41 – 50	≤ 30 лет	31 – 40	41 – 50	≤ 30 лет	31 – 40	41 – 50
Min.	16,6	16,6	15,4	19,3	8,9	4,2	11,0	6,7	0
1 <sup>st</sup> Qu	24,0	24,48	24,12	22,08	14,27	13,5	15,88	15,73	0
Median	26,2*	26,95*	27,4*	24,85*	17,6*	18,2*	20,95*	20,5*	0
Mean	27,14	28,22	28,82	24,85	18,09	17,7	21,1	20,59	0
3 <sup>rd</sup> Qu	29,55	31,0	31	27,62	21,02	22,3	26,15	25,85	0
Max	38,5	45,9	56,69	30,4	31,5	27,8	36,1	36,1	0

Примечание. Достоверность различий разных возрастных периодов в пределах одной изучаемой группы (ДФМ, ФА, группа сравнения): \* –  $p > 0,05$ .

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 (рисунок 4.4). Медиана VD до 30 лет составила – 25,0 (1<sup>st</sup> Qu. – 20,95, 3<sup>rd</sup> Qu. – 28,55), 31 – 40 лет – 24,20 (1<sup>st</sup> Qu. – 18,42, 3<sup>rd</sup> Qu. – 28,17), старше 40 лет – 22,80 (1<sup>st</sup> Qu. – 16,95, 3<sup>rd</sup> Qu. – 27,40).

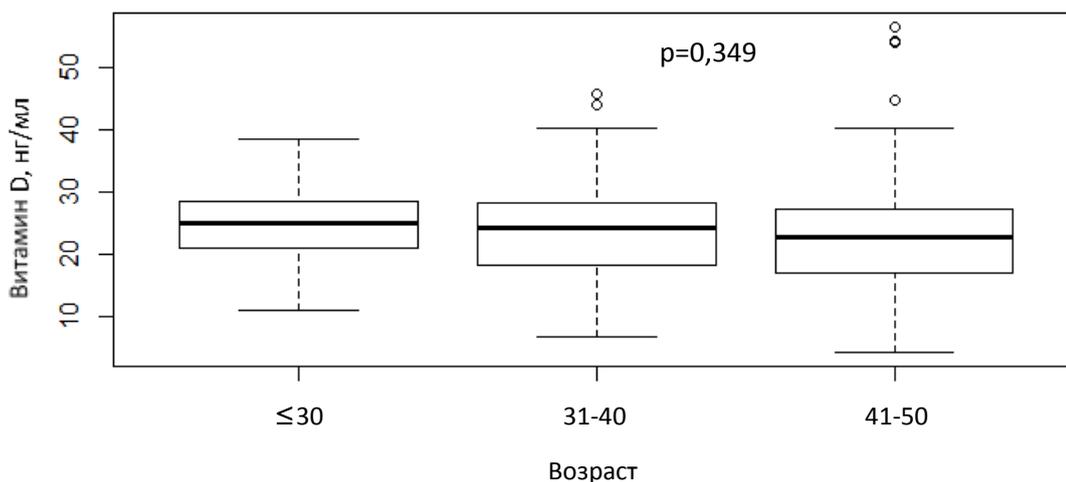


Рисунок 4.4 – Обеспеченность витамином D в разные возрастные периоды у обследованных женщин (n = 258).

Детализация влияния возрастного фактора внутри каждой изучаемой группы также не обнаружила достоверной разницы (при ДФМ  $p = 0,447$ , ФА  $p = 0,4859$  и в группе сравнения  $p = 0,3442$ ). Более высокое значение медианы у пациенток с ДФМ не является достоверным ввиду небольшого количества наблюдений (рисунок 4.5).

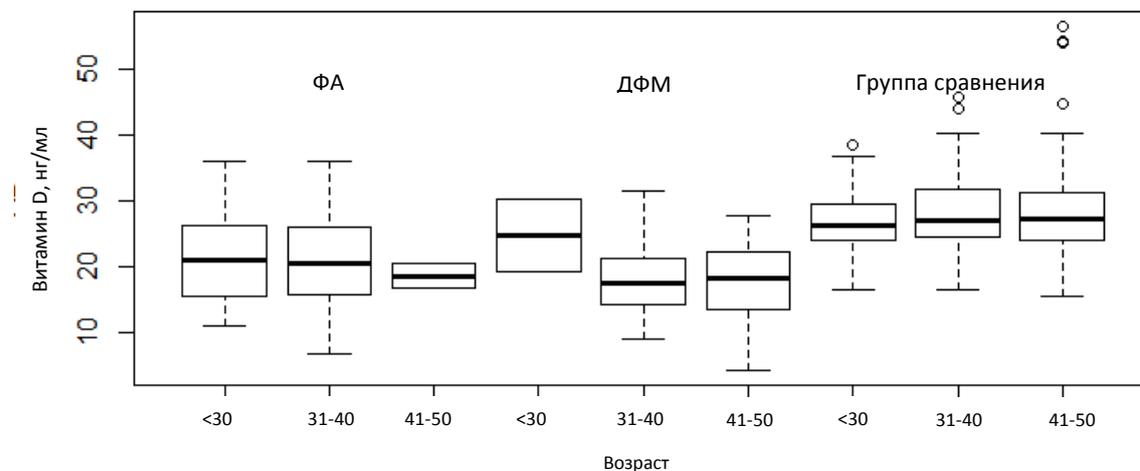


Рисунок 4.5 – Обеспеченность витамином D в разные возрастные периоды у пациенток с ДФМ, ФА и в группе сравнения.

Следующим важным фактором, определяющим обеспеченность VD, является показатель инсоляции. Известно, что образование VD положительно коррелирует с инсоляцией, различной летом и в осенне-зимний период, но у пациенток с диагнозом ДФМ ( $p = 0,3978$ ) и ФА ( $p = 0,103$ ) такой связи не обнаружено (таблица 4.3, рисунок 4.6).

Было выявлено, что медиана VD, определяемая в период высокой инсоляции, при ДФМ составляет 19,2 нг/мл (1st Qu. – 13,35, 3rd Qu. – 22,9); ФА – 21,2 нг/мл (1st Qu. – 18,1, 3rd Qu. – 27,15) и не отличается от значений в период низкой инсоляции: Me – 17,5 нг/мл (1st Qu. – 14,35, 3rd Qu. – 22,15) и Me – 17,2 нг/мл (1st Qu. – 14,85, 3rd Qu. – 22,85) соответственно; в то время как у женщин из группы сравнения высокая инсоляция достоверно повышает уровень витамина D ( $p = 7.55e-06$ ) по сравнению с периодом низкой инсоляции (таблица 4.3).

Таблица 4.3 – Обеспеченность витамином D обследованных женщин в зависимости от времени года

Группы женщин	Группа сравнения		ДФМ		ФА	
	лето	осень – зима	лето	осень – зима	лето	осень – зима
Min	19,80	15,40	4,2	7,90	6,7	12,50
1 <sup>st</sup> Qu	26,72	22,85	13,35	14,35	18,10	14,85
Mediana	29,60	26,00*	19,20	17,50**	21,20	17,20**
Mean	31,96	26,16	18,57	17,78	21,88	18,82
3 <sup>rd</sup> Qu	35,75	28,60	22,90	22,15	27,15	22,85
Max	56,69	44,70	31,50	31,20	36,10	28,20

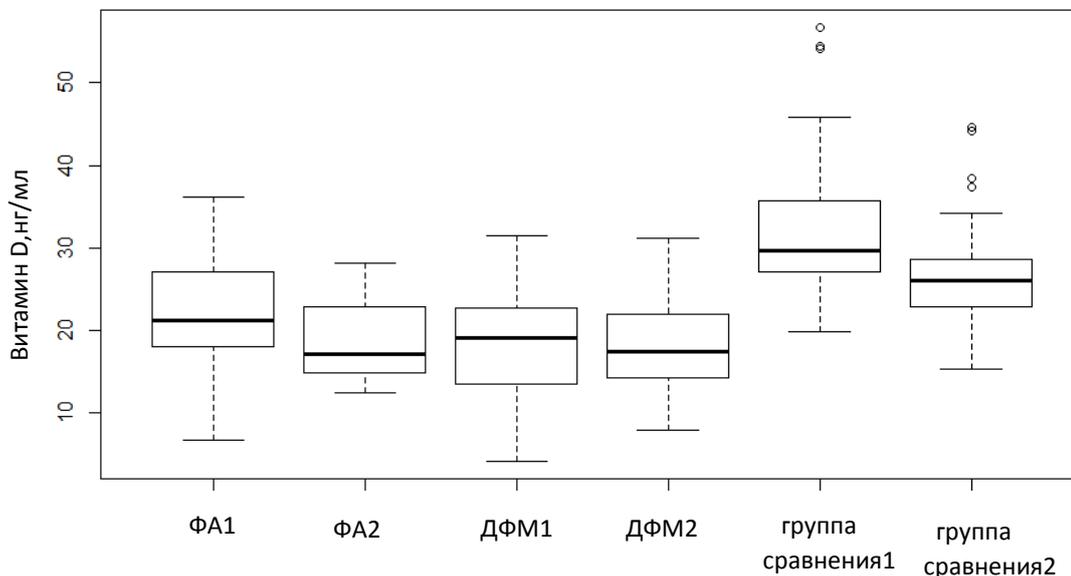


Рисунок 4.6 – Обеспеченность витамином D пациенток с ФА, ДФМ и здоровых женщин в зависимости от времени года 1 – лето, 2 – осень – зима.

Примечания. Достоверность различий ФА1 и ФА2 –  $p > 0,05$ ; ДФМ1 и ДФМ2 –  $p > 0,05$ ; группы сравнения 1 и группы сравнения 2 –  $p < 0,0001$ .

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 ( $r_s = -0,63$ ,  $p$

= 0,013). Пациентки, отмечающие слабую боль (2 – 3 балла по ВАШ, n = 12) и 1 степень умеренной боли (4 балла по шкале ВАШ, n = 10), имели достоверно (p = 0,002) более высокие уровни VD – Me – 20,9 нг/мл по сравнению с женщинами с умеренным болевым синдромом (5 – 7 баллов по шкале ВАШ, n = 50) – Me – 16,75 нг/мл. Незначительное повышение уровня VD (рисунок 4.7) при максимальной выраженности болевого синдрома (8 баллов по шкале ВАШ) не является достоверным ввиду небольшого количества пациенток (n = 6).

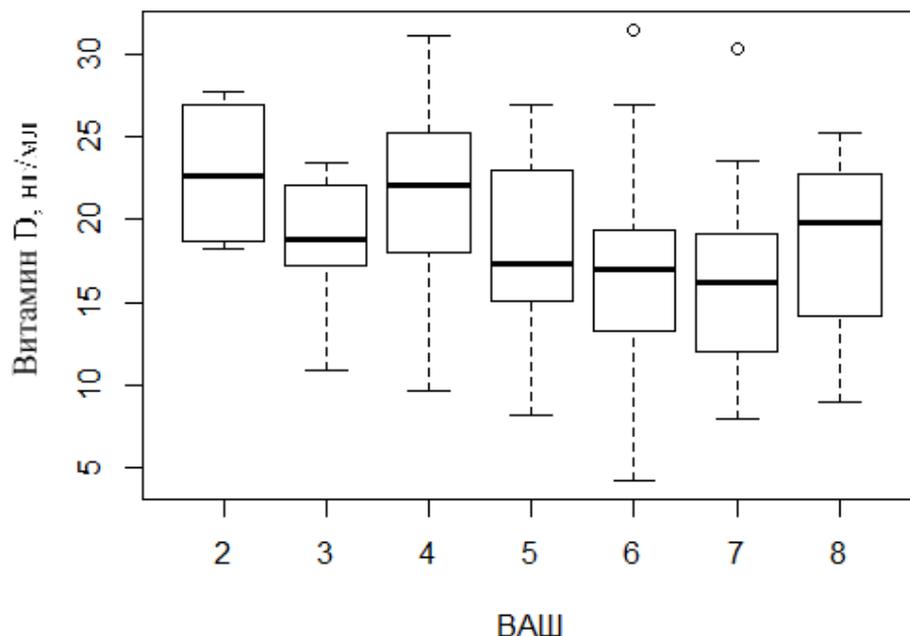


Рисунок 4.7 – Зависимость болевого синдрома от уровня витамина D.

Важнейшей задачей исследования явилась оценка обеспеченности VD женщин с различной степенью рентгенологической плотности (ACR) молочных желёз. Обеспеченность VD при разной плотности молочных желёз по данным маммографического обследования представлена в таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Обеспеченность витамином D при разной плотности (ACR) молочных желёз.

Плотность молочных желёз (ACR)	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
ACR 1	15,1	17,55	27,2*	25,48	28,5	40,3
ACR 2	10,0	18,2	24,0*	24,4	28,3	54,4
ACR 3	4,20	13,15	18,05	18,60	23,55	44,70
ACR 4	10,90	13,60	17,70	18,32	22,42	27,00

Примечание. Достоверность различий по сравнению с группами ACR 3 и ACR 4: \* – p < 0,0001.

Как следует из таблицы 4.4, самый низкий уровень VD установлен при высокой (ACR 3 и ACR 4) плотности молочных желёз, а самый высокий VD – при низкой (ACR 1 и ACR 2) плотности молочных желёз ( $p = 4.047e-05$ ). Наглядно эта связь представлена на рисунке 4.8.

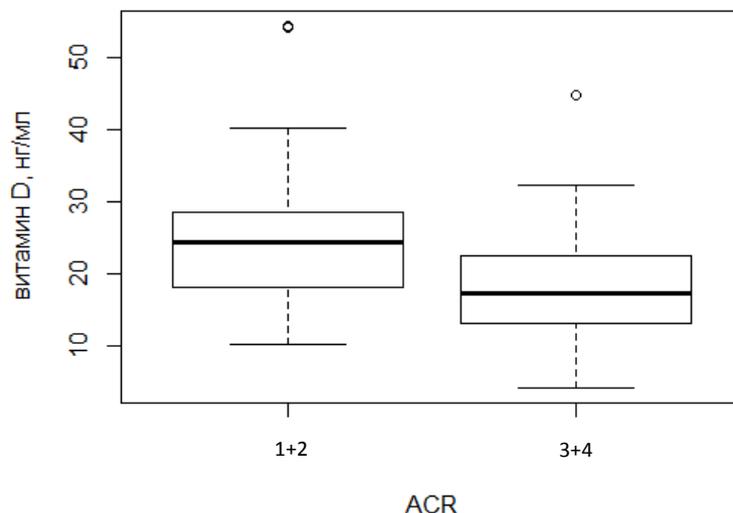


Рисунок 4.8 – Обеспеченность витамином D в группах с низкой (ACR 1 + ACR 2) и высокой плотностью (ACR 3 + ACR 4) молочной железы.

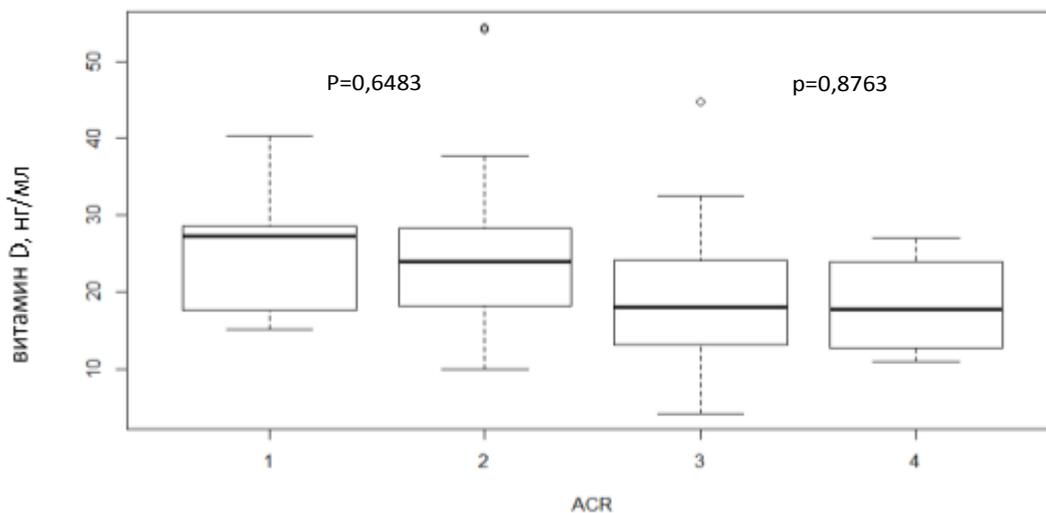


Рисунок 4.9 – Обеспеченность витамином D в группах с низкой (ACR 1 и ACR 2) и высокой плотностью (ACR 3 и ACR 4) молочной железы.

Важно отметить, что достоверной внутригрупповой разницы в уровне витамина D между пациентками с ACR 1 и ACR 2 ( $p = 0,6483$ ) и ACR 3 и ACR 4 ( $p = 0,8763$ ) обнаружено не было (рисунок 4.9).

Проведенный корреляционный анализ подтвердил наличие значимой отрицательной связи между уровнем VD и плотностью молочных желез ( $r_s = -0,3299$ ,  $p = 0,00026$ ).

Оценка толщины фиброглангулярной зоны (FGR) у больных с ДФМ представлена в таблице 4.5, из которой следует, что в среднем толщина FGR достоверно не меняется ( $p = 0.174$ ) в зависимости от уровня VD, но при этом наибольший разброс 9,4 – 18,5 мм этого показателя выявлен в группе дефицита витамина D < 20 нг/мл (рисунок 4.10).

Таблица 4.5 – Толщина фиброглангулярной зоны (FGR) при разной обеспеченности VD

Толщина железистой ткани FGR, мм	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
FGR мм, VD < 20 нг/мл	9,4	13,6	14,8*	14,84	16,45	18,5
FGR мм, 20 ≤ VD < 30 нг/мл	11,8	13,7	14,4*	14,47	15,4	18,6
FGR мм, VD ≥ 30 нг/мл	13,7	13,85	14,0*	14,3	14,6	15,2

Примечание. Достоверность различий групп с разной обеспеченностью VD: \* –  $p > 0,05$ .

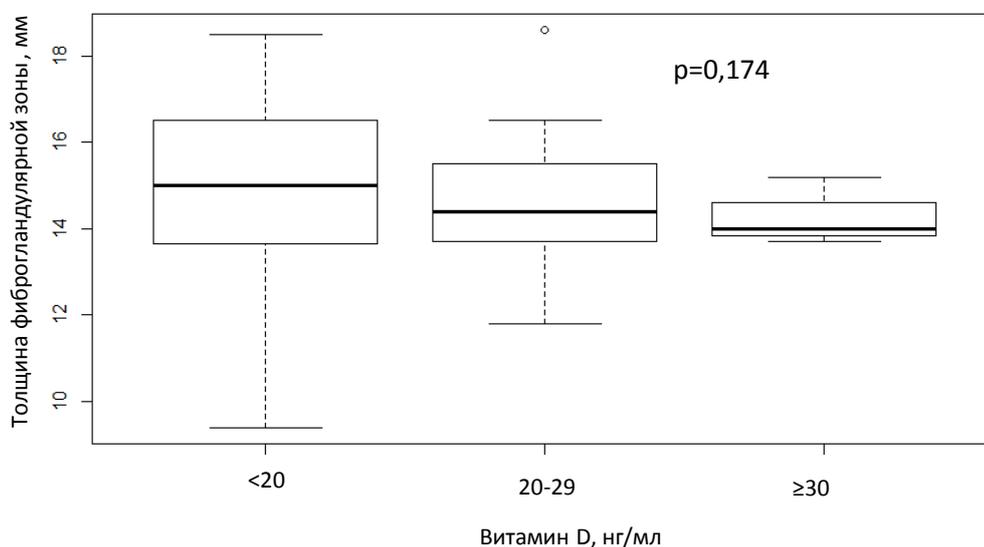


Рисунок 4.10 – Толщина FGR при разной обеспеченности витамином D.

Вместе с тем изучение связи толщины железистой ткани и обеспеченности VD в разные возрастные периоды показало значимую 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 (таблица 4.6, рисунок 4.11) показало, что больные с миомой/генитальным эндометриозом, хронической ановуляцией и воспалительными заболеваниями органов малого таза 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.

Таблица 4.6 – Обеспеченность витамином D женщин с разной гинекологической патологией (n = 258)

Гинекологическая патология	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
Миома/генитальный эндометриоз (n = 104)	4,2	16,17*	20,8	21,23	26,58	40,3
Хр. ановуляция (n = 14)	9,7	14,0*	19,75	19,63	23,7	35,7
ВЗОМТ (n = 63)	7,9	16,85*	20,1	21,5	26,25	56.69
Бесплодие неясного генеза (n = 4)	25,2	26,7	27,6	33,7	34,6	54,4
Здоровые женщины (n = 73)	16,6	24,4	26,7	28,28	30,8	54,1

Примечание. Достоверность различий по сравнению с бесплодием и здоровыми женщинами: \* –  $p < 0,0001$ .

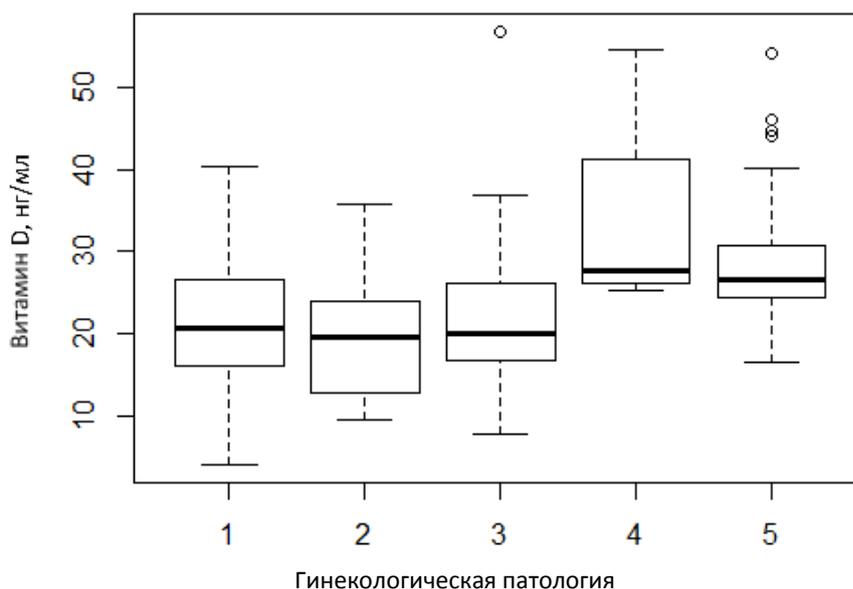


Рисунок 4.11 – Уровень витамина D при разных видах гинекологической патологии: 1 – миома/генитальный эндометриоз; 2 – хроническая ановуляция; 3 – ВЗОМТ; 4 – бесплодие неясного генеза; 5 – здоровые женщины.

Высокая достоверность связи низких значений VD и неопухолевых заболеваний матки подчёркивает единство механизмов развития доброкачественных заболеваний молочных желёз и пролиферативной патологии матки.

Большое внимание было уделено связи обеспеченности VD и гормонального статуса пациенток. Проведённый корреляционный анализ показал наличие достоверной отрицательной связи между обеспеченностью VD и уровнем пролактина ( $r_s = -0,23$ ,  $p = 0,001$ ). Сводные данные по уровню пролактина при разной обеспеченности VD представлены в таблице 4.7 и на рисунке 4.12.

Таблица 4.7 – Уровень пролактина у женщин с разной обеспеченностью витамином D

Пролактин, мМЕ/л	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
VD < 20 нг/мл	116,8	227,6	315,8*	346,5	436,8	921,3
20 ≤ VD < 30 нг/мл	123,8	198,0	286,5	307,2	353,4	882,1
VD ≥ 30 нг/мл	161,6	184,3	223,9	264,6	283,2	655,4

Примечание. Достоверность различий по сравнению с группой VD ≥ 30 нг/мл: \* –  $p < 0,01$

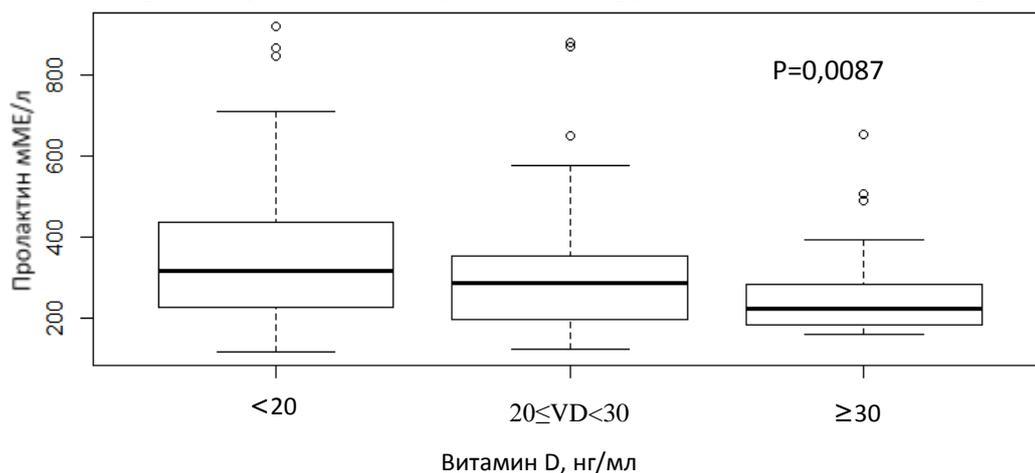


Рисунок 4.12 – Показатели пролактина у обследуемых женщин в зависимости от уровня обеспеченности витамином D.

Как следует из рисунка 4.12 и таблицы 4.7, женщины с дефицитом VD (< 20 нг/мл) имели достоверно ( $p = 0,0087$ ) самый высокий уровень пролактина по сравнению с лицами с нормальной обеспеченностью VD и тенденцию к более высокому пролактину по сравнению с недостаточностью VD ( $p = 0,07914$ ), но при этом достоверных различий в показателях пролактина при нормальной обеспеченности VD и его недостаточностью обнаружено не было ( $p = 0,1249$ ). Отрицательная корреляция между дефицитом VD и повышенным показателем пролактина оказалась высоко достоверной, и особенно эта связь стала очевидной при

лечении. В среднем при дефиците VD показатель пролактина увеличивается на 29,1% по сравнению с нормальной обеспеченностью VD. Схематично эти связи представлены на рисунке 4.13.

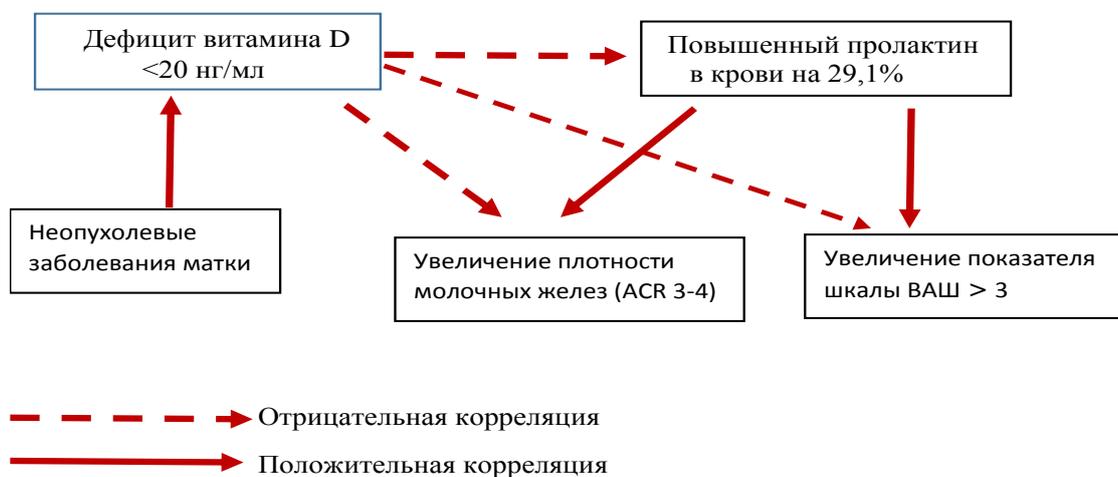


Рисунок 4.13 – Корреляционные плеяды между дефицитом витамина D и уровнем пролактина в крови.

С учётом полученных данных становится очевидным, что дефицит VD сопряжен со стабильно повышенным уровнем пролактина в крови независимо от возраста, что в свою очередь приводит к усилению боли и напряжения в молочных железах, увеличению плотности желёз.

Оценка уровня прогестерона в зависимости от обеспеченности VD у пациенток с ДФМ, ФА и среди здоровых женщин представлена в таблице 4.8 и на рисунках 4.14 – 4.16.

Таблица 4.8 – Показатели прогестерона (нг/мл) у обследуемых женщин в зависимости от уровня обеспеченности витамином D

Группы женщин	Группа сравнения			ДФМ			ФА		
	< 20	20 ≤ VD < 30	VD ≥ 30	<20	20 ≤ VD < 30	VD ≥ 30	< 20	20 ≤ VD < 30	VD ≥ 30
Min	5,5	2,2	5,8	0,5	4,0	1,1	6,1	4,1	13,5
1 <sup>st</sup> Qu	6,7	6,7	7,2	5,45	6,3	2,45	8,6	13,25	13,5
Mediana	7,4*	11,8*	8,5*	8,53**	9,65**	3,8**	13,4***	18,1***	13,5***
Mean	9,1	11,77	10,32	9,73	11,43	6,23	15,0	17,58	13,5
3 <sup>rd</sup> Qu	12,0	16,0	11,8	14,2	15,22	8,8	18,0	21,85	13,5
Max	13,4	13,4	21,0	20,71	25,2	13,8	29,3	32,0	13,5

Примечание. Достоверность различий при разной обеспеченности VD в обследованных группах: \* - p > 0,05; \*\* - p > 0,05; \*\*\* - p > 0,05.

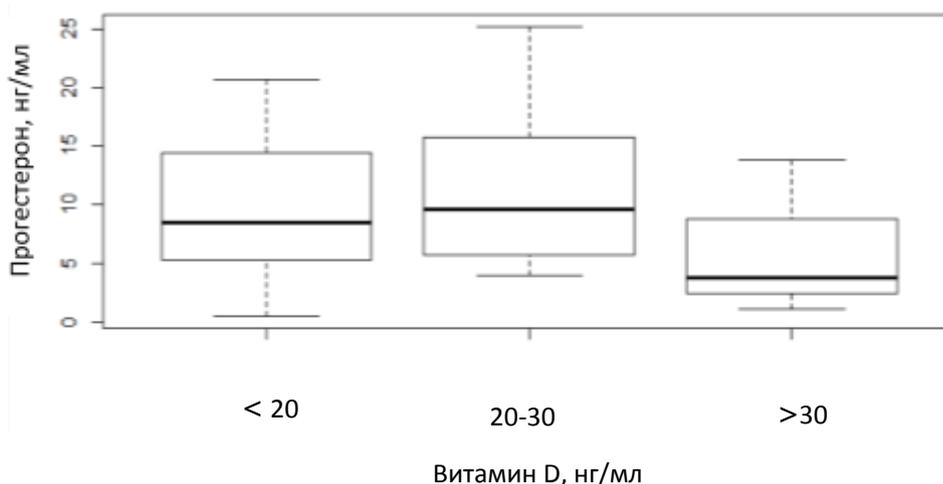


Рисунок 4.14 – Показатели прогестерона у пациенток с ДФМ в зависимости от уровня обеспеченности витамином D.

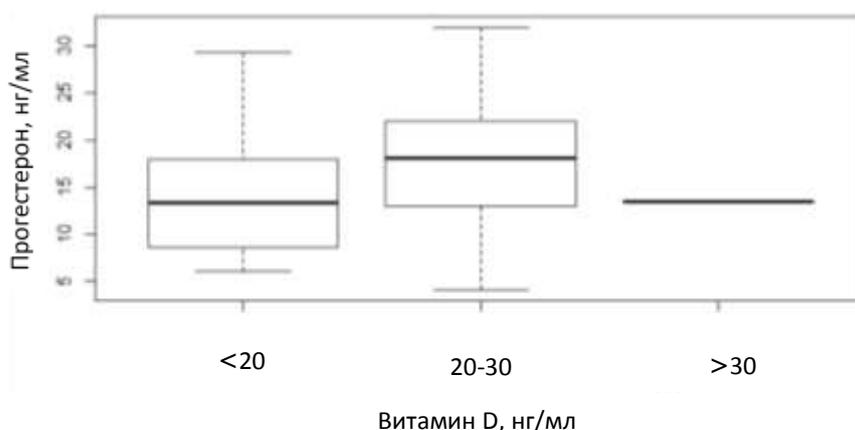


Рисунок 4.15 – Показатели прогестерона у пациенток с ФА в зависимости от уровня обеспеченности витамином D.

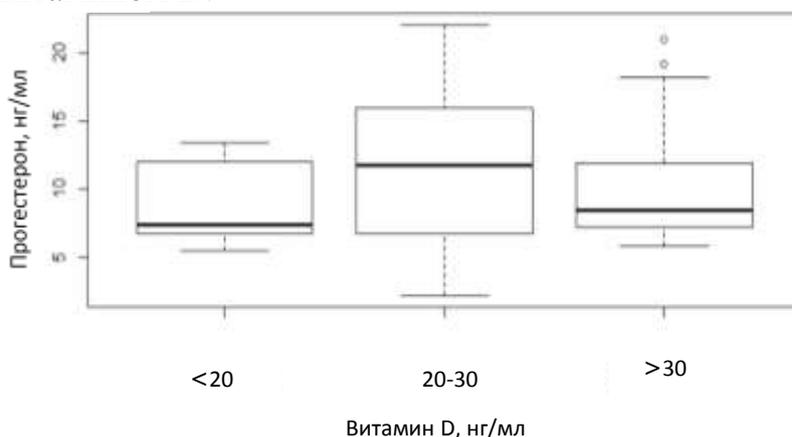


Рисунок 4.16 – Показатели прогестерона у пациенток группы сравнения в зависимости от уровня обеспеченности витамином D.

Как следует из рисунков и таблицы, не было выявлено достоверных отличий уровня прогестерона в группах с ДФМ ( $p = 0,65$ ), ФА ( $p = 0,45$ ) и здоровых женщин ( $p = 0,51$ ) в зависимости от обеспеченности витамином D.

Аналогичными оказались результаты анализа связи обеспеченности витамина D и уровня ТТГ. Показатели значений ТТГ в зависимости от степени обеспеченности VD у больных и здоровых женщин представлена в таблице 4.9 и на рисунках 4.17 – 4.19.

Таблица 4.9 – Показатели уровня ТТГ у обследуемых женщин в зависимости от уровня обеспеченности витамином D

Группы женщин	Группа сравнения			ДФМ			ФА		
	< 20	20 ≤ VD < 30	VD ≥ 30	< 20	20 ≤ VD < 30	VD ≥ 30	< 20	20 ≤ VD < 30	VD ≥ 30
Min	0,38	0,46	0,16	0,31	0,15	0,64	0,56	0,63	1,2
1 <sup>st</sup> Qu	0,8	0,93	0,9	1,073	0,82	0,87	1,16	1,18	1,2
Mediana	1,6*	1,67*	1,74*	1,6*	1,2*	1,1*	1,39*	1,39*	1,2*
Mean	1,45	1,63	1,52	1,67	1,28	1,19	1,35	1,99	1,2
3 <sup>rd</sup> Qu	2,18	2,2	2,1	2,27	1,42	1,47	1,58	2,53	1,2
Max	2,3	2,87	2,4	4,33	4,4	1,84	2,3	6,1	1,2

Примечание. Достоверность различий групп с разной обеспеченностью VD: \* –  $p > 0,05$ .

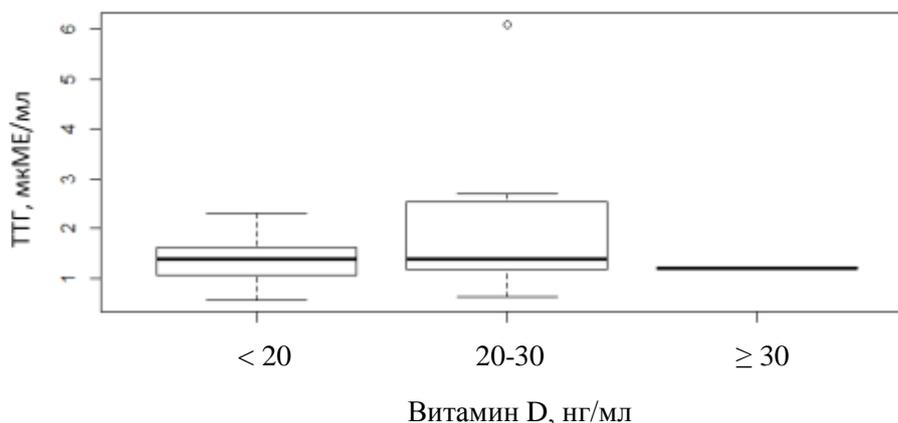


Рисунок 4.17 – Показатели ТТГ у пациенток с ФА в зависимости от уровня обеспеченности витамином D.

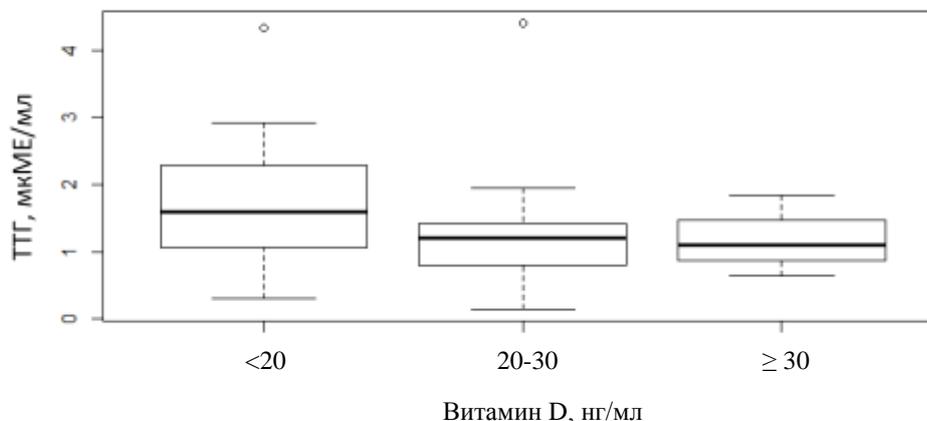


Рисунок 4.18 – Показатели ТТГ у пациенток с ДФМ в зависимости от уровня обеспеченности витамином D.

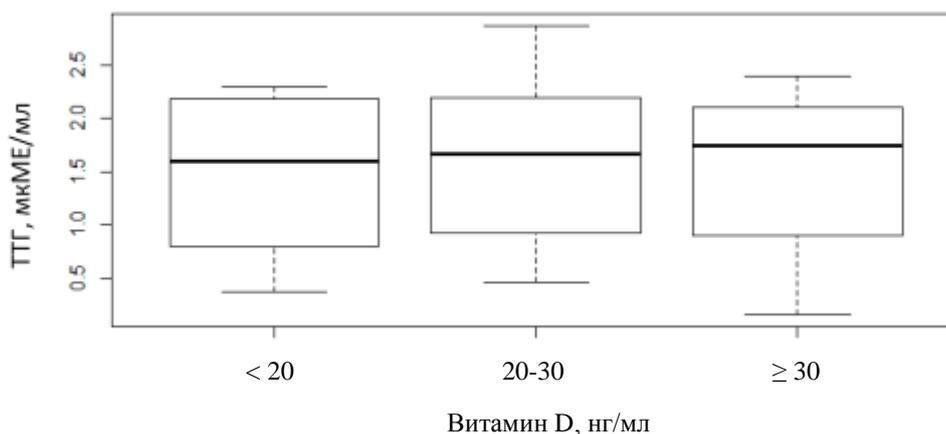


Рисунок 4.19 – Показатели ТТГ у пациенток группы сравнения в зависимости от уровня обеспеченности витамином D.

Представленные данные убедительно показывают, что уровень ТТГ также не связан с дефицитом и нормальной обеспеченностью витамином D у пациенток с ДФМ ( $p = 0,35$ ), ФА ( $p = 0,42$ ) и здоровых женщин ( $p = 0,27$ ).

Таким образом, пациентки с ДЗМЖ характеризуются низкой обеспеченностью витамином D: более половины женщин с ДФМ находятся в зоне дефицита, у 10% диагностируется глубокий дефицит, в то время как большинство здоровых женщин имеет недостаточность VD, а каждая 4 – нормальный уровень гормона. Для женщин с ДЗМЖ характерно отсутствие влияния фактора инсоляции на уровень VD, в отличие от здоровых, имеющих максимальное значение VD в период высокой инсоляции. Возрастной критерий также не оказывает значимого влияния на обеспеченность витамином D. Вместе с тем у пациенток с ДФМ дефицит VD коррелирует со степенью выраженности болевого синдрома, плотностью молочных желез по данным маммографии и уровнем пролактина. Женщины с дефицитом витамина D среди всех обследуемых лиц характеризуются самым высоким уровнем пролактина в крови.

## ГЛАВА 5. ЗНАЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМОРФИЗМОВ СИСТЕМЫ ВИТАМИНА D У ЖЕНЩИН С ДОБРОКАЧЕСТВЕННЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЁЗ

### 5.1. Полиморфизмы генов системы витамина D и риск развития доброкачественных заболеваний молочных желёз

В данной работе проведены ассоциативные исследования по выявлению роли полиморфизма в генах ядерного рецептора витамина D (*VDR*, *FokI* полиморфизм; Met1Thr, rs2228570), микросомальной гидроксилазы, превращающей витамин D3 в активную для рецепторного захвата форму для последующего переноса, *CYP2R1* (полиморфизм -1559T > C (находится вблизи промоторной области), rs2060793) и гена, кодирующего витамин D связывающий белок (DBP) – GC (полиморфизм 26 – 796 A > C, rs2282679) в формировании генетической предрасположенности к ДЗМЖ.

Все изученные нами полиморфизмы находились в соответствии с равновесием Харди-Вайнберга как в общей выборке, так и в отдельно исследуемых группах женщин (таблица 5.1).

Таблица 5.1 – Соответствие частот генотипов равновесию Харди-Вайнберга полиморфизма генов *VDR*, *CYP2R1* и GC в исследуемых группах

Генотипы	Группа сравнения	ДФМ	ФА	ДЗМЖ
<i>FokI</i> полиморфизм гена <i>VDR</i>				
	n = 100	n = 81	n = 35	n = 116
CC	0,33	0,358	0,4117	0,3739
CT	0,42	0,3827	0,4411	0,4
TT	0,25	0,2592	0,1764	0,2247
$\chi^2$	2,3898	0,272	0,822	0,294
p	0,1221	0,8728	0,6629	0,8632
Полиморфизм -1559T>C гена <i>CYP2R1</i>				
	n = 101	n = 82	n = 37	n = 118
CC	0,297	0,439	0,4722	0,4491
CT	0,5544	0,4512	0,4722	0,4492
TT	0,1485	0,1097	0,0833	0,101
$\chi^2$	1,8114	3,174	2,745	5,503
p	0,1783	0,2045	0,2534	0,0638

Продолжение таблицы 5.1

Генотипы	Группа сравнения	ДФМ	ФА	ДЗМЖ
Полиморфизм 26-796 А>С гена <i>GC (DBP)</i>				
	n = 85	n = 75	n = 35	n = 110
AA	0,5542	0,5479	0,6764	0,5607
AC	0,3855	0,3698	0,2058	0,3177
CC	0,0843	0,1095	0,1470	0,1214
$\chi^2$	0,0607	0,685	2,567	0,972
p	0,8054	0,7099	0,277	0,6151

При анализе ассоциаций показано отсутствие статистически значимых различий в распределении частот генотипов между группой сравнения и пациентками с ДФМ и ФА, а также общей группой с диагнозом ДЗМЖ (рисунках 5.1 – 5.3).

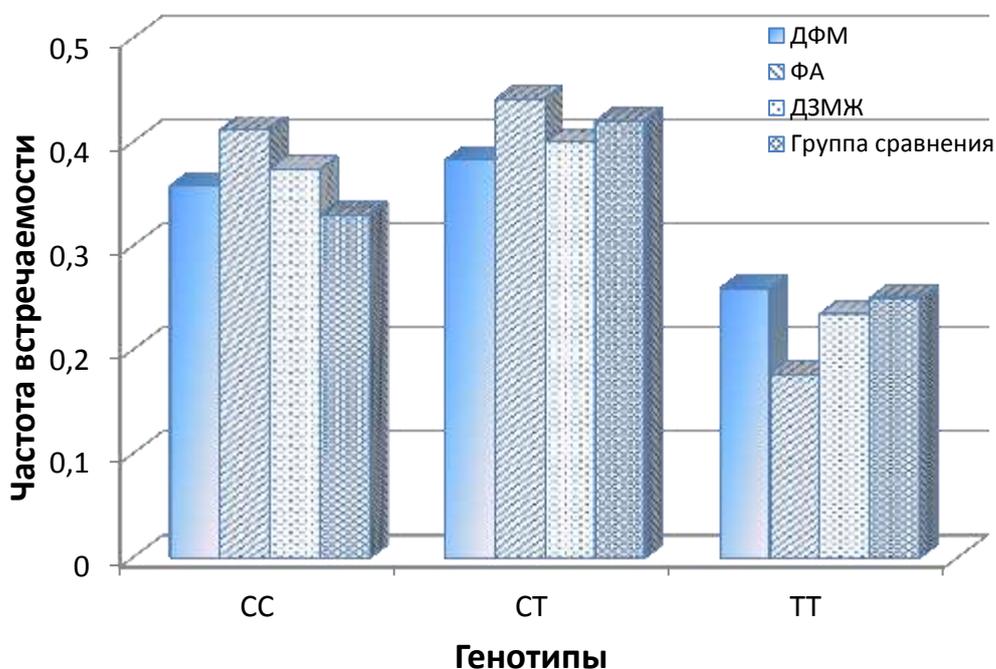


Рисунок 5.1 – Частота встречаемости генотипов полиморфизма VDR Fok1 (rs2228570) у обследованных групп женщин.

Примечание. Достоверность различий частот встречаемости указанных генотипов среди всех обследованных групп  $p > 0,05$ .

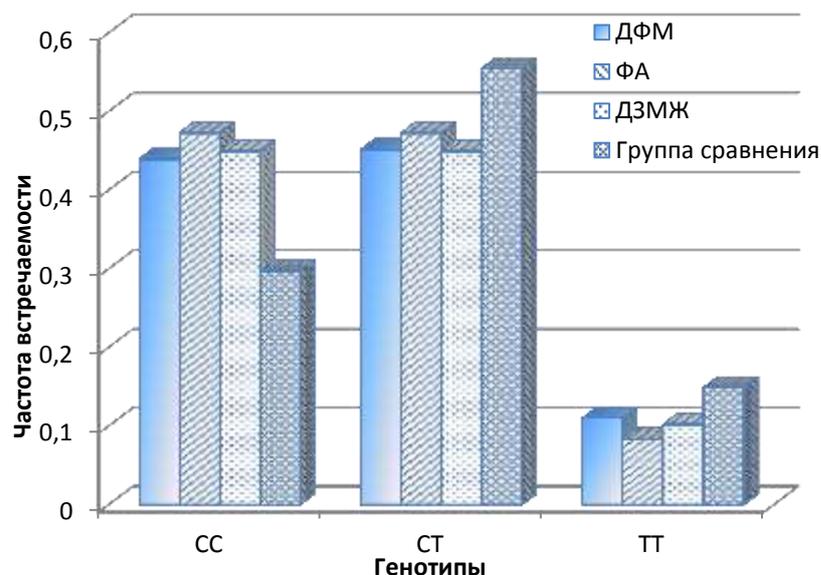


Рисунок 5.2 – Частота встречаемости генотипов CYP2R1 (rs2060793) у обследованных групп женщин.

Примечание. Достоверность различий частот встречаемости указанных генотипов среди всех обследованных групп  $p > 0,05$ .

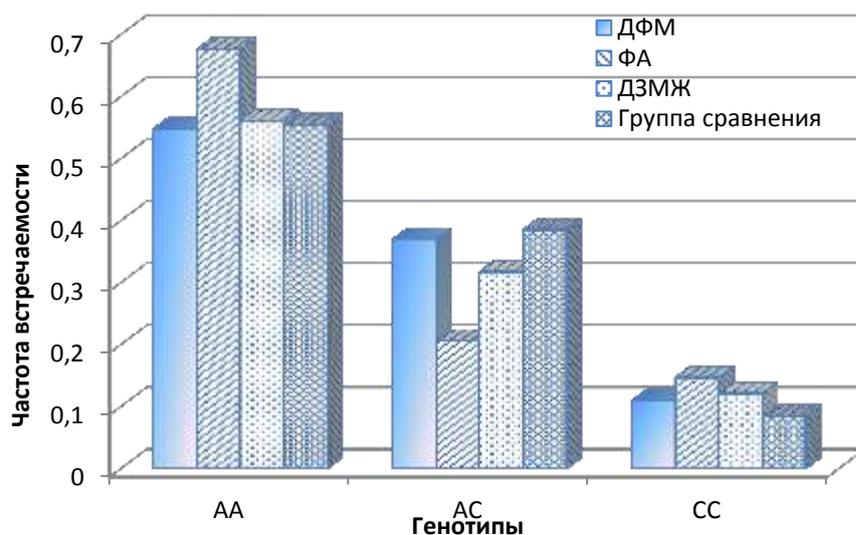


Рисунок 5.3 – Частота встречаемости генотипов GC (rs2282679) у обследованных групп женщин.

Примечание. Достоверность различий частот встречаемости указанных генотипов среди всех обследованных групп  $p > 0,05$ .

Таким образом, нами не выявлено значимого вклада в формирование генетической предрасположенности к ДЗМЖ среди исследованных генетических локусов (таблица 5.2).

Таблица 5.2 – Показатели отношения шансов (ОШ) и 95% доверительного интервала (95% ДИ) для исследованных локусов

Генотипы	ДФМ				ФА				ДЗМЖ (ДФМ+ФА)			
	$\chi^2$	p	ОШ	95%ДИ	$\chi^2$	p	ОШ	95%ДИ	$\chi^2$	p	ОШ	95%ДИ
<i>FokI</i> полиморфизм гена <i>VDR</i>												
СС	0,43	0,80	1,13	0,61 – 2,10	0,82	0,66	1,26	0,56 – 2,82	0,82	0,66	1,17	0,66 – 2,05
СТ			1,05	0,58 – 1,90			1,09	0,50 – 2,39			1,06	0,62 – 1,83
ТТ			0,8	0,40 – 1,61			0,64	0,24 – 1,73			0,76	0,39 – 1,43
Полиморфизм -1559Т > С гена <i>CYP2R1</i>												
СС	2,35	0,14	1,85	0,91 – 3,41	3,24	0,15	2,12	0,97 – 4,63	5,50	0,06	1,93	0,87 – 3,38
СТ			0,66	0,37 – 1,19			0,64	0,30 – 1,38			0,66	0,38 – 1,12
ТТ			0,71	0,29 – 1,71			0,52	0,14 – 1,92			0,65	0,29 – 1,46
Полиморфизм 26-796 А>С гена <i>GC (DBP)</i>												
АА	0,49	0,78	1,23	0,67 – 2,25	0,01	0,91	1,13	0,52 – 2,47	0,41	0,82	1,20	0,69 – 2,07
АС			0,89	0,48 – 1,66			0,83	0,37 – 1,86			0,87	0,49 – 1,53
СС			0,80	0,31 – 2,06			1,13	0,37 – 3,44			0,90	0,40 – 2,06

Поскольку исследованные полиморфизмы не являются изолированными друг от друга, а наследуются согласно законам Менделя, то большее диагностическое значение имеет анализ сочетаний генотипов. В ходе анализа из 27 возможных сочетаний генотипов трёх генов в группе ДФМ выявлено 19 вариантов, в группе пациентов с ФА – 16 вариантов, а в группе контроля – 24 возможных варианта, при этом общими для всех 3-х групп являются 13 вариантов сочетаний генотипов (таблица 5.3).

Таблица 5.3 – Частота встречаемости сочетаний генотипов в исследованных группах

Сочетания генов VDR-CYP2R1-GC	ДФМ (n = 71)	ФА (n = 31)	Группа сравнения (n = 83)
CC-CC-AA	0,0845	0,1935	0,0602
CC-CC-AC	0,0423	0,0323	0,0241
CC-CC-CC	0,0141	0	0,0120
CC-CT-AA	0,0986	0,1290	0,0843
CC-CT-AC	0,0423	0,0323	0,0843
CC-CT-CC	0,0563	0,0323	0,0120
CC-TT-AA	0	0	0,0241
CC-TT-AC	0	0	0,0120
CC-TT-CC	0	0,0323	0,0120
CT-CC-AA	0,0563	0,1290	0,1084
CT-CC-AC	0,0986	0,0645	0,0241
CT-CC-CC	0,0141	0	0
CT-CT-AA	0,0986	0,1290	0,1325
CT-CT-AC	0,0704	0,0323	0,1084
CT-CT-CC	0	0,0323	0,0120
CT-TT-AA	0,0141	0	0,0241
CT-TT-AC	0,0282	0	0,0241
CT-TT-CC	0	0	0,0120
TT-CC-AA	0,0845	0,0323	0,0482
TT-CC-AC	0,0282	0,0323	0,0241
TT-CC-CC	0,0282	0	0
TT-CT-AA	0,0423	0,0323	0,0482
TT-CT-AC	0,0704	0	0,0482
TT-CT-CC	0	0,0323	0,0241
TT-TT-AA	0,0282	0,0323	0,0120
TT-TT-AC	0	0	0,0241
TT-TT-CC	0	0	0

Наиболее распространёнными во всех исследуемых группах являются 7 сочетаний генотипов: СС-СС-АА, СС-СТ-АА, СТ-СС-АА, СТ-СС-АС, СТ-СТ-АА, СТ-СТ-АС и ТТ-СС-АА (рисунок 5.4).

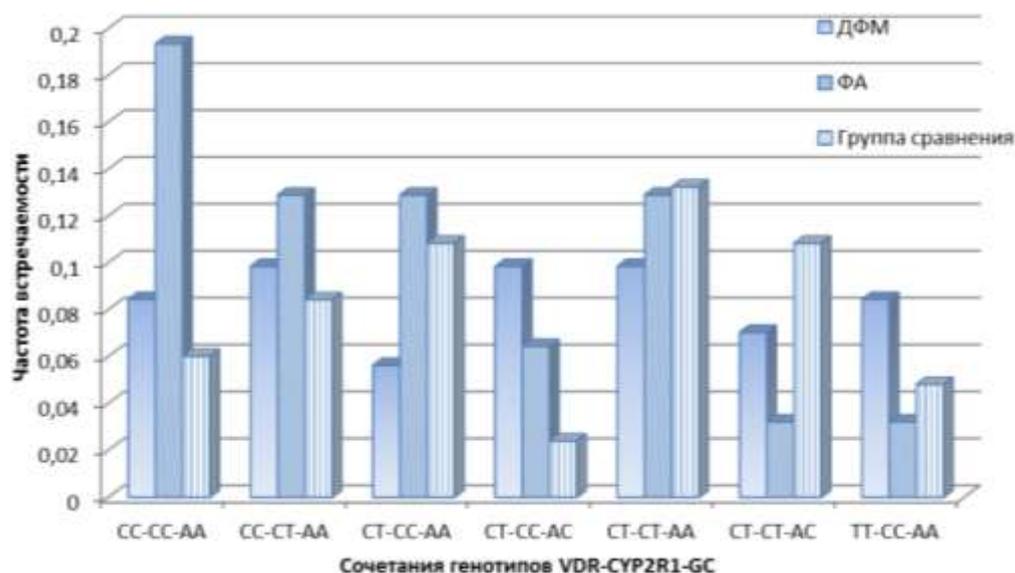


Рисунок 5.4 – Диаграмма распределения основных сочетаний генотипов трех исследованных генов в группах с ДЗМЖ (ДФМ и ФА) и группе сравнения. Примечание. Достоверность различий частот встречаемости указанных генотипов среди всех обследованных групп  $p > 0,05$ .

Однако статистически значимых различий в их распределении нами не выявлено, хотя для пациенток с ДФМ наблюдается тенденция к снижению частоты встречаемости варианта СТ-СС-АА и увеличению доли комбинаций генотипов СТ-СС-АС и ТТ-СС-АА ( $p = 0,3779$ ). Для группы больных с ФА почти в 2 раза увеличена частота встречаемости комбинации СС-СС-АА и СТ-СС-АС и снижена частота наблюдений носителей вариантов СТ-СТ-АС и ТТ-СС-АА ( $p = 0,4595$ ).

Таким образом, проведённый анализ ассоциации полиморфизма исследованных генов показал отсутствие их вклада в формирование генетической предрасположенности к ДЗМЖ.

## 5.2. Влияние полиморфизма генов системы витамина D на уровень витамина D в крови

Общие данные, отражающие обеспеченность VD в обследуемых группах, при разных генотипах исследуемых полиморфных локусов представлены в таблице 5.4.

Таблица 5.4 – Обеспеченность витамином D при разных генотипах исследованных полиморфных локусов у женщин с ДФМ, ФА и группы сравнения

Выборочные характеристики	ДФМ			ФА			Группа сравнения		
	FokI полиморфизм гена VDR (n = 217)								
	СС n=29	СТ n=31	ТТ n=21	СС n=14	СТ n=15	ТТ n=5	СС n=34	СТ n=43	ТТ n=25
Min.	11,2	7,9	8,9	12,6	9,7	18,8	16,9	16,1	15,4
1 <sup>st</sup> Qu	16,5	13,1	13,5	17,12	13,55	21,12	25,4	24,42	22,3
Median	20,1	17,6	17,2	20,5	18,3	24,95	27,4	27,15	25,3
Mean	20,22	17,17	16,58	20,34	20,69	25,0	29,26	28,52	26,07
3 <sup>rd</sup> Qu	25,2	20,1	18,8	22,25	27,4	27,2	32,7	30,28	29,18
Max	31,5	30,4	31,2	28,7	36,1	33,5	56,69	54,4	38,5
Полиморфизм -1559Т>С гена CYP2R1 (n=219)									
Выборочные характеристики	СС n=36	СТ n=37	ТТ n=9	СС n=17	СТ n=16	ТТ n=3	СС n=30	СТ n=56	ТТ n=15
Min.	7,9	8,9	9,6	12,6	9,7	17,2	16,6	15,4	21,2
1 <sup>st</sup> Qu	15,55	14,5	17,2	15,5	16,7	22,35	24,7	23,58	24,7
Median	18,2	17,5	17,5	20,3	21,5	27,5	27,2	26,95	28,0
Mean	17,96	18,14	18,52	19,62	21,45	26,07	29,07	27,88	28,49
3 <sup>rd</sup> Qu	20,2	22,8	20,9	22,5	26,8	30,5	31,78	30,05	32,55
Max	31,2	31,5	30,4	29,5	36,1	33,5	56,69	54,4	36,4
Полиморфизм 26-796 А>С гена GC (DBP) (n=195)									
Выборочные характеристики	АА n=40	АС n=27	СС n=8	АА n=23	АС n=7	СС n=5	АА n=46	АС n=32	СС n=7
Min.	9,2	7,9	12,3	9,7	12,8	14,2	18,9	16,1	16,7
1 <sup>st</sup> Qu	17,08	12,35	16,5	16,4	16,3	16,7	25,62	22,28	24,95
Median	18,95	15,1	17,6	20,3	20,5	17,2	28,15	25,9	26,8
Mean	19,3	16,24	18,65	20,26	21,3	19,96	29,63	26,31	26,31
3 <sup>rd</sup> Qu	22,42	18,7	20,4	24,25	27,25	23,6	32,4	27,75	28,3
Max	31,2	30,4	25,7	36,1	28,7	28,1	56,69	44,7	34,2

Как следует из таблицы, связь полиморфизма гена VDR Fok 1 с уровнем VD обнаружена не у всех обследованных групп женщин. Только у пациенток с ДФМ данный полиморфизм оказывает достоверное влияние на обеспеченность VD (рисунок 5.5).

Применение теста Тьюки с целью оценки достоверности различий показало, что гомозиготные носительницы аллеля Т (генотип ТТ) характеризуются достоверно ( $p = 0,04$ ) более низким уровнем VD по сравнению с генотипом СС (рисунок 5.6).

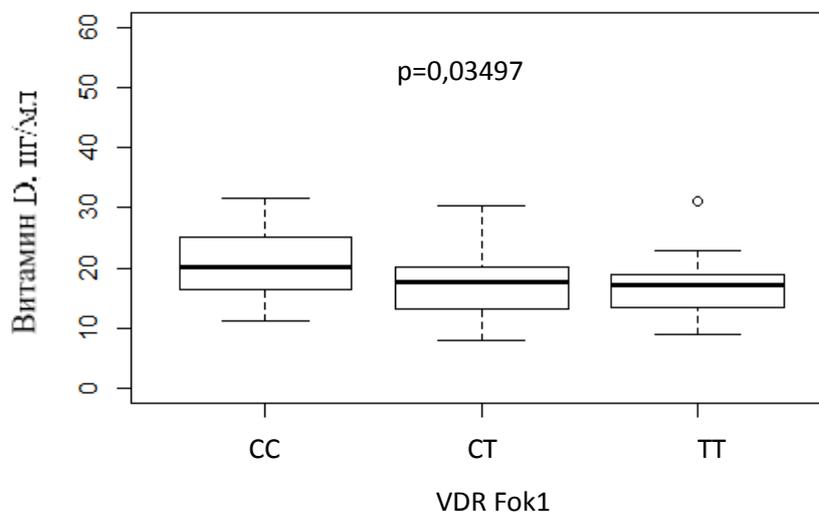


Рисунок 5.5 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма VDR Fok1 у пациенток с диффузной формой мастопатии.

Примечание. Достоверность различий  $p = 0,03497$  (критерий Крускала-Уоллиса).

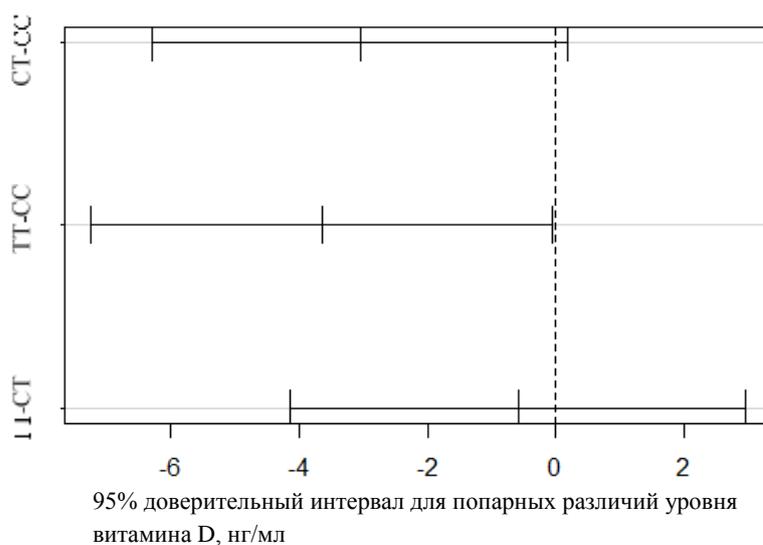


Рисунок 5.6 – Достоверность различий уровня витамина D при различных вариантах генотипа VDR Fok1 у пациенток с ДФМ.

При этом средняя величина отличий составила  $-3,64$  нг/мл (95% ДИ для уровня различий  $-7,24 - -0,04$  нг/мл). Пациентки, гетерозиготные по аллелю Т, характеризуются тенденцией к более низкому уровню VD по сравнению с гомозиготами СС ( $p = 0,069$ ).

У пациенток с ФА и здоровых женщин полиморфизм VDR Fok 1 не оказывал значимого влияния на уровень VD (рис. 5.7-5.8).

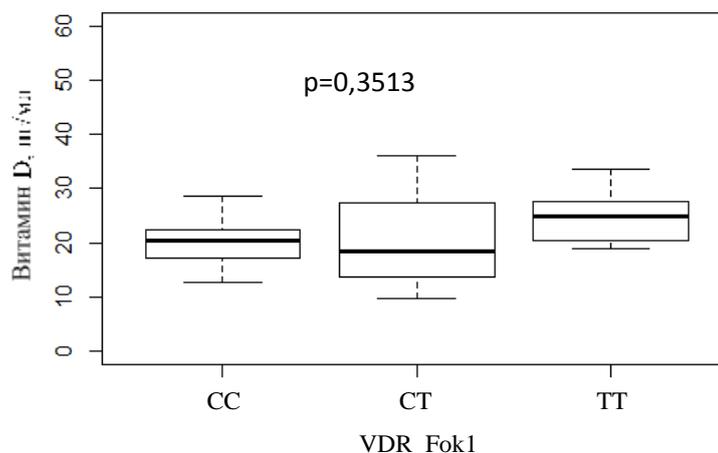


Рисунок 5.7 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма VDR Fok1 у пациенток с фиброаденомой молочной железы.

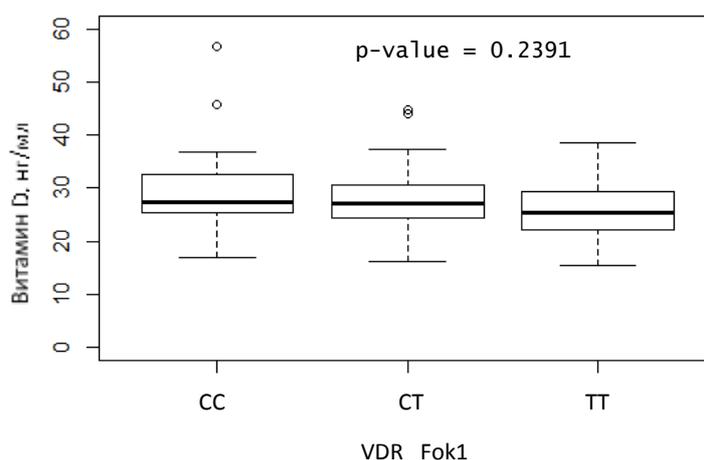


Рисунок 5.8 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма VDR Fok1 у здоровых женщин.

Вторым известным генетическим фактором, ассоциированным с дефицитом VD, является полиморфизм гидроксилазы CYP2R1 (rs2060793). Однако анализ уровня VD у пациенток с различными вариантами генотипов данного полиморфизма в нашем исследовании не обнаружил достоверной разницы в обеспеченности витамином во всех обследуемых группах женщин (рисунки 5.9 – 5.11).

Таким образом, генетический полиморфизм CYP2R1 (rs2060793) не вносит свой вклад в генетически детерминированный дефицит VD у обследованной популяции лиц.

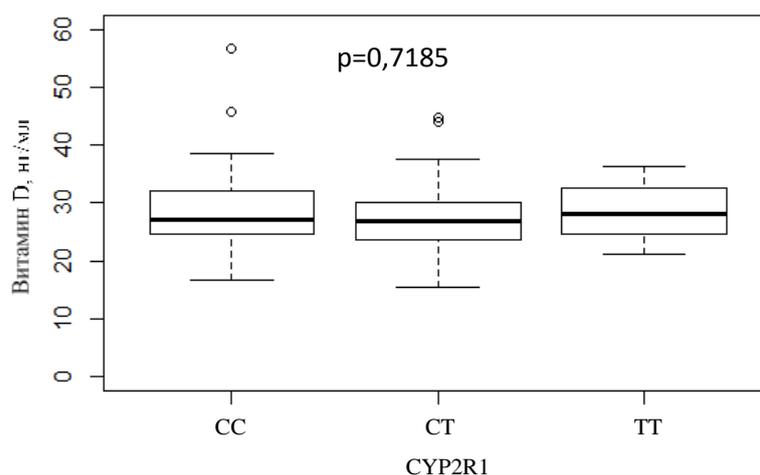


Рисунок 5.9 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма CYP2R1 у здоровых женщин.

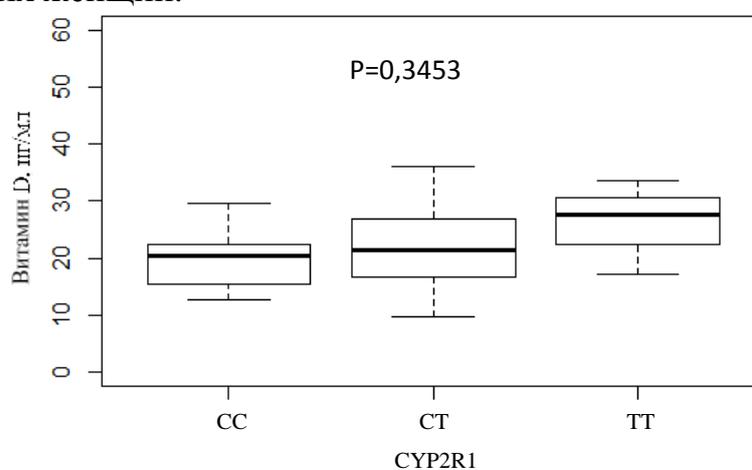


Рисунок 5.10 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма CYP2R1 у женщин с фибroadеномой молочной железы.

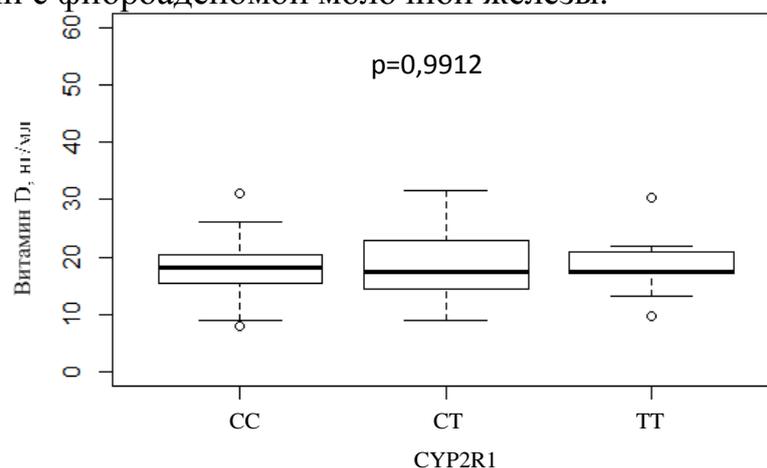


Рисунок 5.11 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма CYP2R1 у пациенток с диффузной формой мастопатии.

Следующим полиморфизмом, достоверно ( $p = 0,02888$ ) влияющим на уровень VD у пациенток с ДФМ, оказался полиморфизм гена GC (26-796 A > C, rs2282679), кодирующего витамин D связывающий белок (рисунок 5.12).

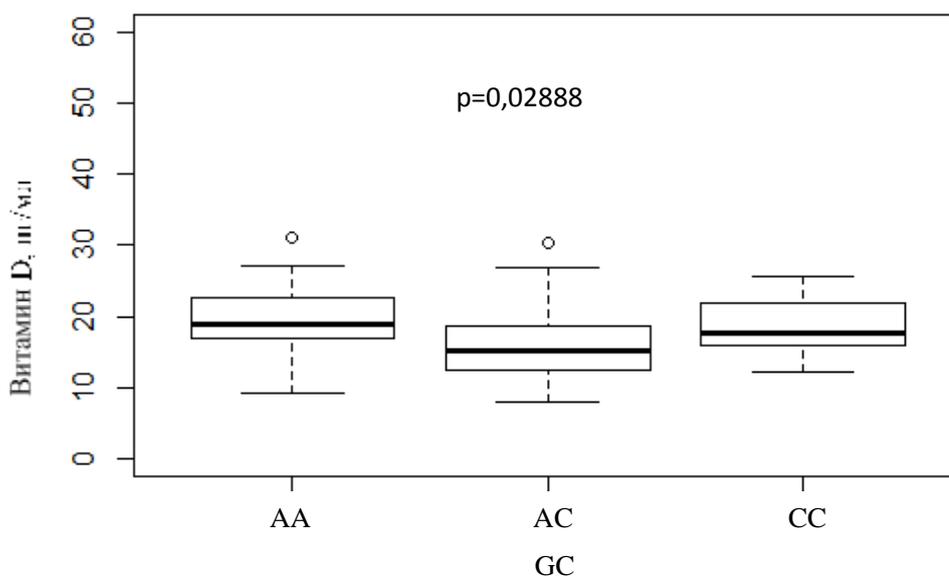


Рисунок 5.12 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма GC (rs2282679) у пациенток с диффузной формой мастопатии.

Примечание. Достоверность различий  $p = 0,0288$  (критерий Крускала-Уоллиса).

Анализ теста Тьюки показал, что носительницы гетерозиготного генотипа по минорной аллели С (генотип AC) имели достоверно ( $p = 0,04891$ ) более низкий уровень VD по сравнению с гомозиготами AA. Средний уровень отличий составил  $-3,05$  нг/мл (95% ДИ различий  $-6,1 - -0,011$ ). Отсутствие влияния гомозиготного генотипа по минорной аллели С (генотип CC) на уровень VD может являться следствием недостаточного количества наблюдений ( $n = 8$ ) и требует дальнейшего изучения.

У больных с ФА не обнаружено значимого снижения уровня VD при разных вариантах генотипов полиморфизма GC (рисунок 5.13). Однако доминирующее преобладание генотипа AA ( $n=23$ ) в группе с ФА по сравнению с генотипами AC ( $n = 7$ ) и CC ( $n = 5$ ) не позволяют полностью исключить влияния данного полиморфизма на уровень VD.

У здоровых женщин, так же как у пациенток с ДФМ выявлено достоверное ( $p = 0,02227$ ) влияние полиморфизма GC (rs2282679) на уровень VD (рисунок 5.14).

Носительницы гетерозиготного генотипа по минорной аллели С (генотип AC) имели достоверно ( $p = 0,04635$ ) самый низкий уровень VD по сравнению с гомозиготами AA: средняя величина отличий составила  $-3,32$  нг/мл (95% ДИ составил  $-6,96 - 0,304$ ). Отсутствие влияния гомозиготного генотипа по минорной

аллели С (СС) на уровень витамина D, так же, как и у пациенток с ДФМ, может быть обусловлено с недостаточным количеством наблюдений (n = 7).

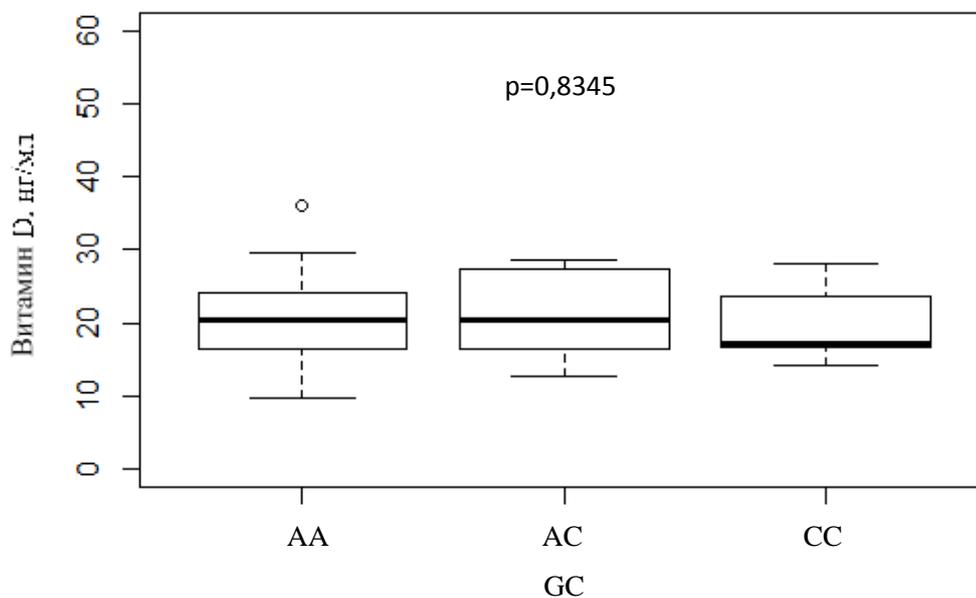


Рисунок 5.13 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма GC (rs2282679) у пациенток с фиброаденомой молочной железы.

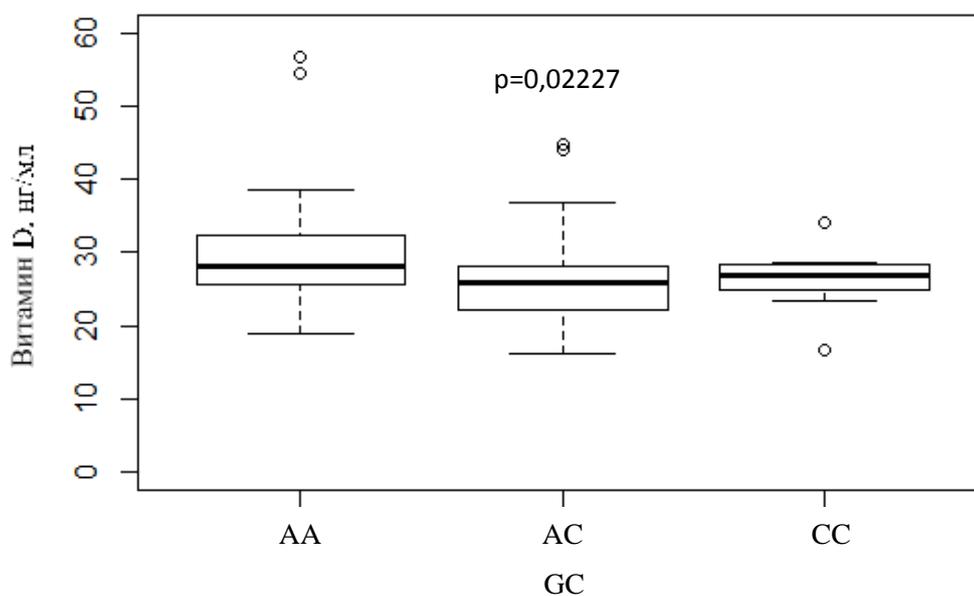


Рисунок 5.14 – Уровень витамина D при различных вариантах полиморфизма GC (rs2282679) у здоровых женщин.

Таким образом, гетерозиготы AC полиморфизма GC (rs2282679) в группах больных с ДФМ и здоровых женщин характеризовались достоверно сниженным уровнем VD.

Анализ частоты встречаемости сочетаний генотипов показал, что пациентки с ДФМ в 56% случаев имеют сочетания, включающие полиморфные аллели,

ассоциированные с низким уровнем витамина D. В группе здоровых женщин частота таких сочетаний составила 37%.

Таким образом, полиморфизмы в генах ядерного рецептора витамина D VDR (FokI полиморфизм; Met1Thr, rs2228570), микросомальной гидролазы, CYP2R1 (полиморфизм -1559T > C, rs2060793) и гена, кодирующего витамин D связывающий белок GC (полиморфизм 26-796 A > C (rs2282679)), не оказывают влияния на генетическую предрасположенность к доброкачественным заболеваниям молочных желёз. Низкая обеспеченность витамином D у пациенток с ДФМ генетически детерминирована и ассоциирована с генотипом TT (25,92%) FokI полиморфизма гена VDR и генотипом AC (36,98%) полиморфизма GC (rs2282679). При этом частота встречаемости сочетаний генотипов, ассоциированных с низким уровнем витамина D у пациенток с ДФМ, составила 56%, тогда как в группе сравнения доля таких женщин не превышала 37%.

## ГЛАВА 6. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ ДИФFUЗНОЙ ФОРМЫ МАСТОПАТИИ ВИТАМИНОМ D

Все больные, независимо от формы мастопатии, начинали лечение витамином D со стартовой дозы 5000 МЕ, через 1 или 2 месяца эта доза снижалась до поддерживающей в 2000 МЕ при достижении доз витамина D в крови, признанных как оптимальные для обеспечения основных функций VD в организме, – 30 – 60 нг/мл. Часть женщин (78 – 84,8%) ранее уже получала лечение в виде витаминов, гомеопатических средств, прожестожеля, достинекса при повышенных уровнях пролактина, но без успеха, у других (14 – 15,2%) VD явился стартовой терапией. В качестве лечебного был выбран препарат витамина D – «Аквдетрим» фирмы MEDANA PHARMA S.A действующее вещество холекальциферол. Общая длительность приёма VD составила 6 месяцев. Абсолютное большинство пациенток – 89 (96,7%) женщин – получали монотерапию витамином D, 3 (3,3%) пациенткам с уровнем пролактина более 700 мМЕ/л дополнительно был назначен достинекс. Динамика обеспеченности VD обследованных женщин после 1 – 2 месяцев приема лечебной дозы представлена на рисунке 6.1.

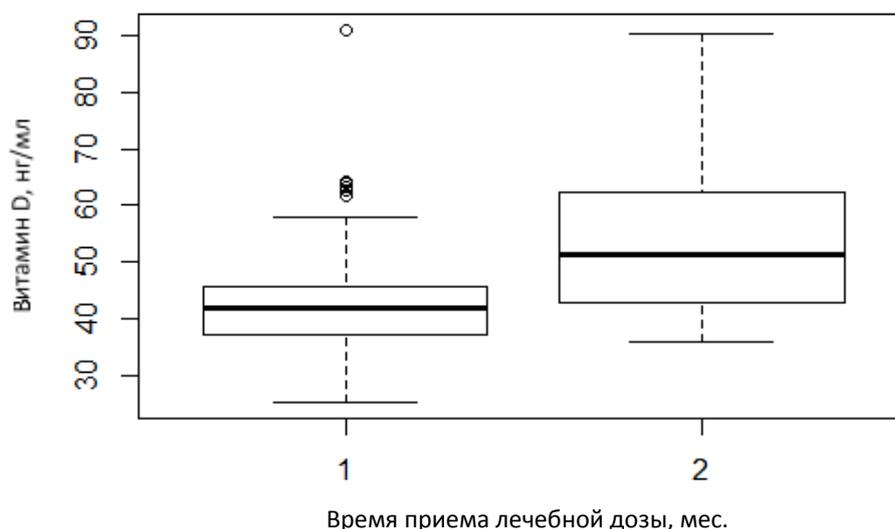


Рисунок 6.1 – Динамика обеспеченности витамина D обследуемых женщин через 1 и 2 месяца приёма лечебной дозы.

Как следует из рисунка 6.1, приём препарата в течение 2 месяцев приводит к значимо более высокому подъёму VD (Me – 51,3 нг/мл), чем приём лечебной дозы в течение месяца (Me – 41,3 нг/мл,  $p = 6.175e-05$ ), 6 женщин (4,3%) через 1 месяц

лечения остались в зоне недостаточности VD (VD 25,1 – 29,8 нг/мл), а при длительности терапии 2 месяца все исследуемые имели уровень VD в пределах нормальных величин (VD 35,8 – 90,3 нг/мл). Аналогичная закономерность выявлена у всех пациенток с ДФМ. Прием VD в течение 2 месяцев позволял достигать ( $p = 0,0002$ ) более высокого уровня витамина, соответствующего адекватной обеспеченности: медиана VD через 1 месяц приема – 41,36 нг/мл, через 2 месяца – 54,99 нг/мл (рисунок 6.2).

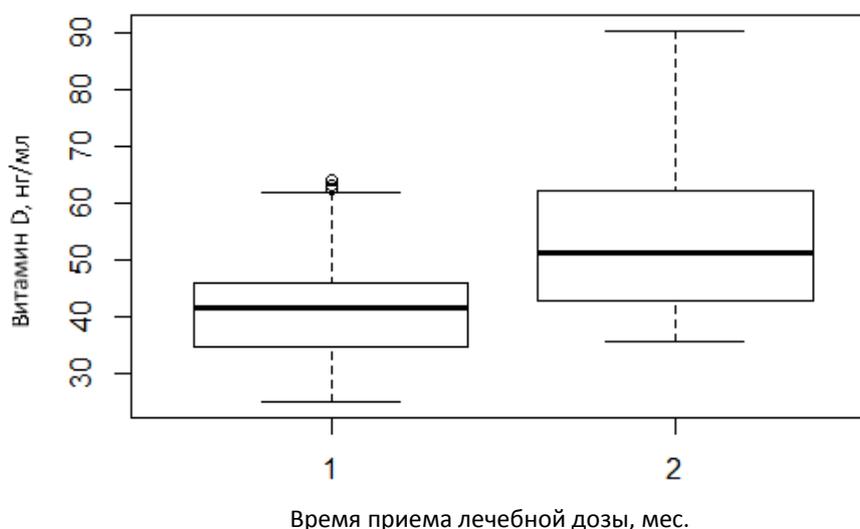


Рисунок 6.2 – Динамика витамина D у пациенток с ДФМ через 1 и 2 месяца приёма лечебной дозы без учёта исходного уровня витамина D.

Динамика VD через 1 и 2 месяца приёма лечебной дозы у пациенток с исходным дефицитом витамина D представлена в таблице 6.1 и на рисунке 6.3.

Таблица 6.1 – Динамика обеспеченности VD через 1 и 2 месяца приёма лечебной дозы у пациенток с исходным дефицитом VD (< 20 нг/мл)

Группы женщин	Все обследуемые женщины (n = 91)		ДФМ (n = 63)	
	VD, 1 месяц приёма лечебной дозы VD, нг/мл	VD, 2 месяца приём лечебной дозы VD, нг/мл	VD, 1 месяц приёма лечебной дозы VD, нг/мл	VD, 2 месяца приёма лечебной дозы VD, нг/мл
Min.	25,1	35,8	25,1	35,8
1 <sup>st</sup> Qu	34,62	42,75	34,25	42,85
Median	39,85	51,35*	37,9	52,85*
Mean	40,1	52,55	39,24	53,46
3 <sup>rd</sup> Qu	43,85	61,47	43,7	63,0
Max	64,1	76,0	64,1	76,0

Примечание. Достоверность различий показателей по сравнению с 1 месяцев приема лечебной дозы: \* –  $p < 0,001$ .

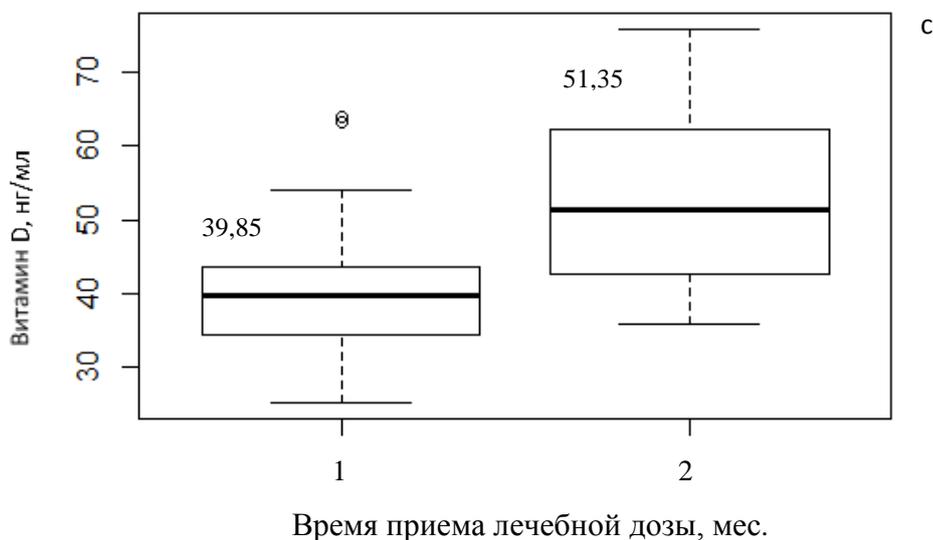


Рисунок 6.3 – Динамика обеспеченности витамином D через 1 и 2 месяца приёма лечебной дозы у обследованных женщин с исходным дефицитом VD (< 20 нг/мл).

Как следует из таблицы 6.1 и рисунка 6.3, динамика с достоверно значимым повышением содержания VD через 2 месяца приёма лечебной дозы отмечена у всех пациенток с исходным дефицитом VD: медиана VD через 1 месяц составила 39,85 нг/мл, через 2 месяца – 51,35 нг/мл.

Пациентки с ДФМ и исходным дефицитом VD через 2 месяца терапии также показали максимальный подъем VD: медиана витамина D через 1 месяц – 37,9 нг/мл, через 2 месяца – 52,85 нг/мл ( $p = 0,0001$ ).

Динамика обеспеченности VD через 1 и 2 месяца приема лечебной дозы при исходной недостаточности VD ( $20 \leq VD < 30$  нг/мл) представлена в таблице 6.2 и на рисунке 6.4.

Таблица 6.2 – Динамика обеспеченности VD через 1 и 2 месяца приёма лечебной дозы у пациенток с исходной недостаточностью VD

Группы женщин	Все обследуемые женщины (n = 79)		ДЗМЖ (n = 28)
	1 месяц приёма лечебной дозы VD, нг/мл	2 месяца приёма лечебной дозы VD, нг/мл	1 месяц приёма лечебной дозы VD, нг/мл
Min.	26,0	50,4	26,0
1 <sup>st</sup> Qu	38,32	58,2	40,2
Median	42,7	59,6*	44,2
Mean	43,3	61,2	44,29
3 <sup>rd</sup> Qu	46,0	74,1	47,8
Max	91,1	90,3	62,5

Примечание. Достоверность различий показателей по сравнению с 1 месяцев приема лечебной дозы: \* –  $p = 0,01$ .

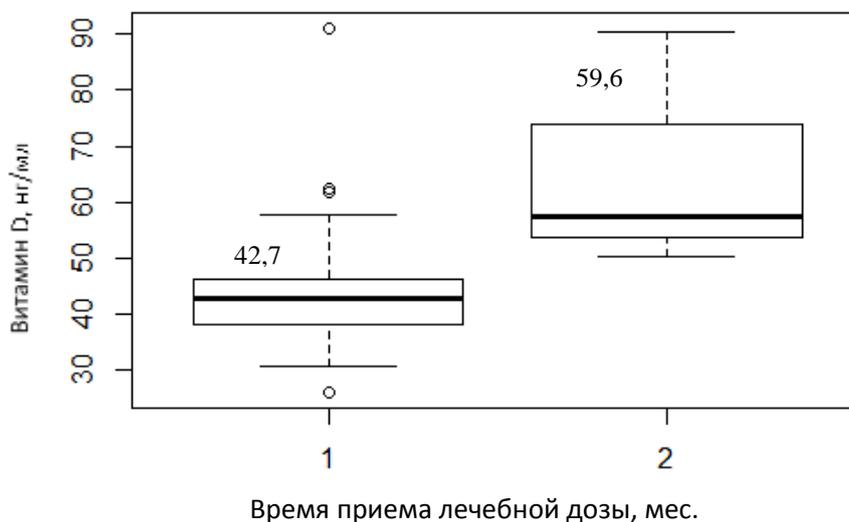


Рисунок 6.4 – Обеспеченность витамином D через 1 и 2 месяца приема лечебной дозы у обследованных женщин с недостаточностью VD ( $20 \leq VD < 30$  нг/мл).

При исходной недостаточности VD уже через 1 месяц приёма лечебной дозы абсолютное большинство женщин находилось в зоне нормальной обеспеченности VD Медиана – 42,7 нг/мл, через 2 месяца этот показатель достигал значений 59,6 нг/мл ( $p = 0,01$ ), близкий к верхним цифрам целевого уровня. В группе с ДЗМЖ медиана VD через 1 месяц составила 44,2 нг/мл.

На фоне нормализации обеспеченности VD все пациентки были переведены на поддерживающую дозу 2000 МЕ в сутки, которую получали 4 или 5 месяцев. Динамика обеспеченности VD через 6 месяцев терапии в обследуемых группах женщин представлена в таблице 6.3.

Таблица 6.3 – Обеспеченность витамином D через 6 месяцев терапии у обследуемых групп женщин, нг/мл

Группы женщин	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
Группа сравнения (n = 30)	32,8	37,85	39,7*	40,2	43,7	48,2
Пациентки ДФМ (n = 58)	23,8	34,08	40,2*	40,23	46,08	61,8
Пациентки с ФА (n = 14)	28,6	36,02	37,3*	40,5	44,25	58,7

Примечание. Достоверность различий среди всех обследованных групп: \* –  $p > 0,05$ .

Как следует из таблицы 6.3, через 6 месяцев терапии без учёта исходного уровня VD и длительности приёма лечебной дозы достоверной разницы во всех

группах обследуемых женщин обнаружено не было ( $p > 0,05$ ): медиана группы сравнения – 39,7 нг/мл, ДФМ – 40,2 нг/мл, ФА – 37,3 нг/мл. Однако детальный анализ динамики VD через 6 месяцев терапии с учётом исходного уровня VD и длительности приёма лечебной дозы показал достоверно значимые различия в степени прироста показателя (таблица 6.4, рисунок 6.5 – 6.6).

Таблица 6.4 – Обеспеченность витамином D через 6 месяцев терапии у обследуемых женщин в зависимости от исходного уровня VD и длительности приема лечебной дозы

	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
<b>Пациентки с исходным дефицитом VD (&lt; 20 нг/мл)</b>						
Все обследуемые женщины, приём лечебной дозы 1 месяц (n = 27)	23,8	34,0	37,0	37,3	41,25	52,2
Все обследуемые женщины, приём лечебной дозы 2 месяца (n = 22)	28,2	40,2*	44,2	45,41	50,6	65,0
ДФМ, приём лечебной дозы 1 месяц (n = 18)	23,8	33,18	34,9	35,13	37,8	46,3
ДФМ, приём лечебной дозы 2 месяца (n = 21)	28,2	40,85*	46,3	46,57	51,3	65,0
<b>Пациентки с исходной недостаточностью VD (<math>20 \leq VD &lt; 30</math> нг/мл)</b>						
Все обследуемые женщины, приём лечебной дозы 1 месяц (n = 42)	28,6	37,72	41,85	42,23	46,4	58,7
ДФМ, приём лечебной дозы 1 месяц (n = 17)	28,6	40,53	46,0	45,29	52,75	58,7

Примечание. Достоверность различий у пациенток с исходным дефицитом VD по сравнению с длительностью приема лечебной дозы 1 месяц: \* –  $p < 0,01$ .

Пациентки с дефицитом VD, принимавшие 5000 ME VD в течение 2 месяцев, имели достоверно ( $p = 2.313e-05$ ) более высокие уровни VD к окончанию приёма лечебной дозы – 51,35 нг/мл. Снижение лечебной дозы до поддерживающей (2000 ME) позволило сохранить обеспеченность VD на уровне 44,2 нг/мл ( $p = 0,0066$ ). Следует подчеркнуть, что аналогичная закономерность наблюдалась и у женщин с ДФМ (рисунок 6.6).

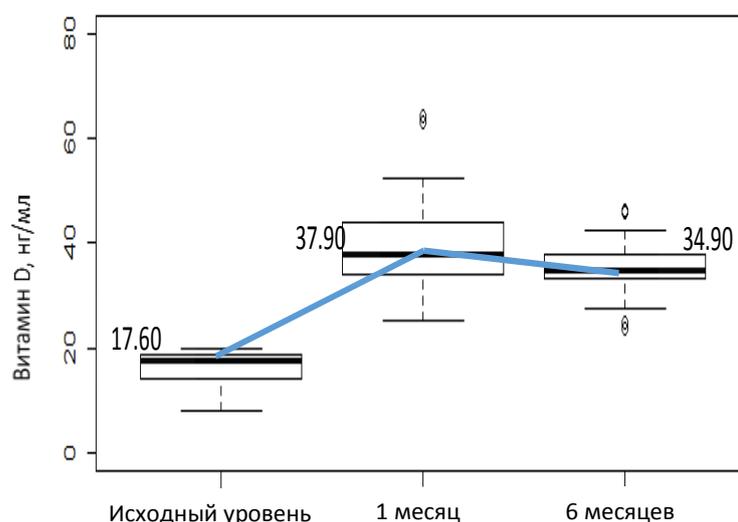


Рисунок 6.5 – Динамика обеспеченности витамином D у пациенток с ДФМ с исходным дефицитом при длительности приёма лечебной дозы 1 месяца.

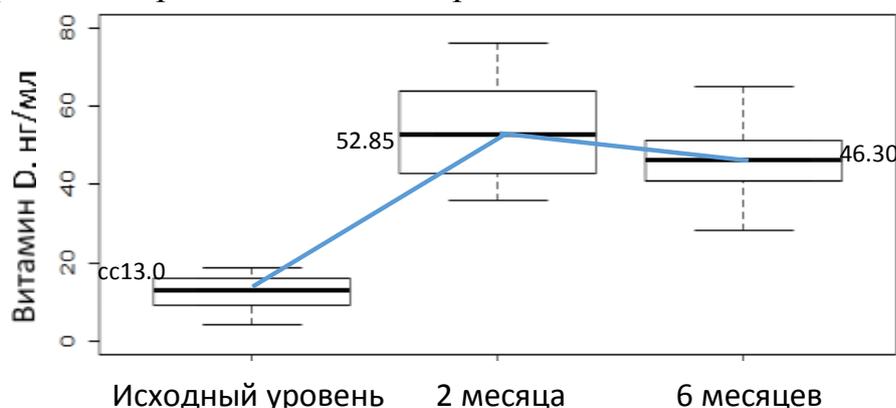


Рисунок 6.6 – Динамика обеспеченности витамином D у пациенток с ДФМ с исходным дефицитом при длительности приёма лечебной дозы 2 месяца.

Исследования показали, что лечебная доза 5000 МЕ в течение 1 месяца с переходом на поддерживающую 2000 МЕ у пациенток с исходной недостаточностью (рисунок 6.7) вполне обеспечивает адекватный уровень VD к окончанию терапии (Me VD – 46 нг/мл).

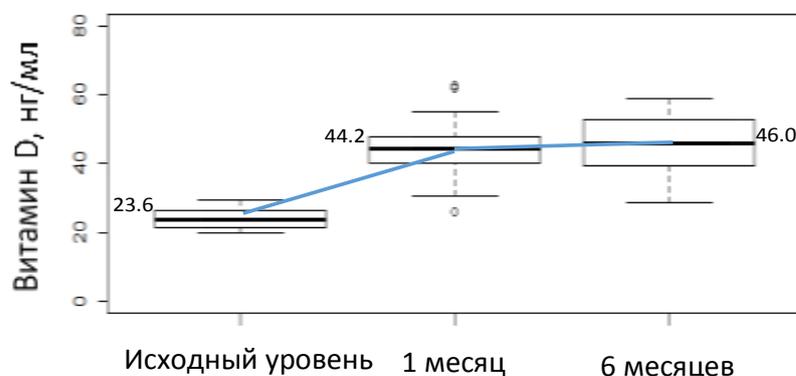


Рисунок 6.7 – Динамика обеспеченности витамином D у пациенток с ДЗМЖ с исходной недостаточностью VD через 1 и 6 месяцев терапии.

Таким образом, у женщин с недостаточностью витамина D ( $20 \leq VD < 30$  нг/мл) лечебную дозу можно использовать только в течение 1 месяца, с дефицитом ( $< 20$  нг/мл) – не менее 2 месяцев.

Оценка эффективности терапии витамином D проводилась по характеристике болевого синдрома (шкала ВАШ), данным ультразвуковой картины – толщине фиброглангулярной зоны (FGR), выраженности кистозного компонента и результатам динамики плотности молочной железы (ACR), оцениваемой методом цифровой маммографии. Характеристика болевого синдрома в процессе лечения представлена в таблице 6.5 и на рисунке 6.8.

Таблица 6.5 – Характеристика болевого синдрома через 1 и 6 месяцев терапии у пациенток с ДФМ

Шкала ВАШ, баллы	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
ВАШ (исходный уровень)	2,0	5,0	6,0	5,58	7,0	8,0
ВАШ через 1 месяц терапии	1,0	2,5	3,0*	3,03	4,0	6,0
ВАШ через 6 месяцев терапии	0	0	2,0*	1,45	2,0	4,0

Примечание. Достоверность различий групп через 1 месяц и 6 месяцев терапии по сравнению с группой до лечения  $p < 0,0001$

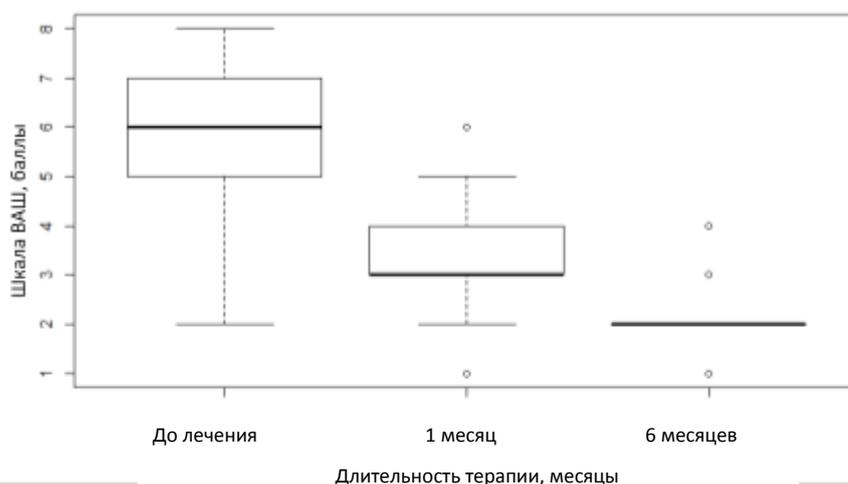


Рисунок 6.8 – Динамика шкалы ВАШ через 1 и 6 месяцев терапии у пациенток с диффузной формой мастопатии

Как следует из таблицы 6.5 и рисунка 6.8, до начала терапии медиана болевого синдрома у больных с ДФМ (6 баллов) находилась в диапазоне умеренной боли (ВАШ 4 – 7 баллов). В процессе лечения выявлено значимое снижение шкалы ВАШ через 1 месяц (Me – 3 балла,  $p = 9.957e-16$ ) и через 6 месяцев терапии (Me – 2 балла,

$p = 3.526e-08$ ). При этом темпы снижения болевого синдрома были максимальными уже через 1 месяц терапии и составили в среднем 3 балла. К окончанию лечения уменьшение боли было в среднем на 1 балл по сравнению с данными через 1 месяц терапии.

Проведён анализ влияния исходного VD на динамику болевого синдрома через 1 месяц терапии (рисунок 6.9).

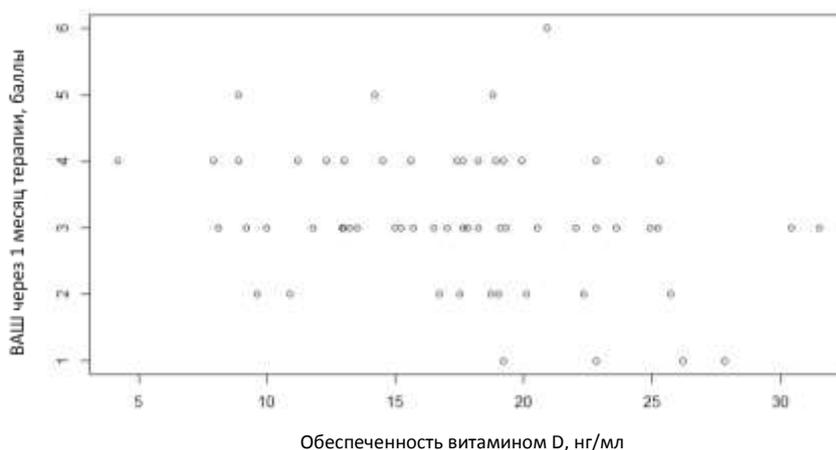


Рисунок 6.9 – Значения ВАШ через 1 месяц терапии от исходного витамина D.

Показатели шкалы ВАШ через месяц лечения выявили достоверную отрицательную связь уровня болевого синдрома и исходного VD ( $r_s = -0.280$ ,  $p = 0,02844$ ). Пациентки с исходным дефицитом VD дольше сохраняли более высокий уровень болевого синдрома по сравнению с женщинами, имеющими недостаточность VD. При исходном дефиците через 1 месяц умеренную боль отмечали 16 женщин (36,4%), лёгкую боль – 28 (63,6%), а при исходной недостаточности умеренная боль была у 3 (17,6%), лёгкая боль – у 14 (82,4%) женщин.

Детальный анализ шкалы ВАШ через 6 месяцев показал отсутствие болевого синдрома (ВАШ 0 баллов) 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 пациентки (1,6%). Таким образом, только 14,1% больных через 6 месяцев предъявляют жалобы на собственно боли в молочных железах, в то время как большинство женщин (85,6%) отмечали либо полное отсутствие болевых ощущений, либо их минимальную

степень выраженности (нагрубание или дискомфорт молочных желёз). При сравнении больных, сохраняющих жалобы на лёгкую боль в молочной железе, по сравнению с лицами, отметившими полное отсутствие каких-либо болевых ощущений, было выявлено, что первые характеризуются большим дефицитом исходного VD (Me – 14,2 и 18,85 нг/мл), меньшим приростом VD через 6 месяцев (Me – 41 и 45,6 нг/мл), более высокими уровнями исходного пролактина (Me – 350,8 и 236,97 нг/мл) и максимальной выраженностью болевого синдрома до начала терапии (ВАШ 8 и 5,6 баллов). Пациентка, предъявляющая жалобы на сохранение умеренного болевого синдрома, характеризовалась длительным течением заболевания – более 7 лет, возрастная группа до 45 лет, высоким уровнем исходного пролактина 882,12 мМЕ/л, высокой плотностью молочной железы АСР 4, осложненным течением заболевания – многократные (n = 5) пункции кист молочных желёз.

Другими важными факторами, помимо витамина D, определяющими выраженность боли при терапии, явились возраст и уровень пролактина в крови.

Через месяц лечения выявлена достоверная ( $r_s = 0,36$ ,  $p = 0.0063$ ) положительная связь уровня ВАШ и исходного пролактина. Пациентки с более высоким уровнем исходного пролактина характеризовались максимальными значениями шкалы ВАШ. Противоположная зависимость установлена при анализе влияния возрастного фактора на степень выраженности болевого синдрома через 1 месяц лечения. Доказана достоверная ( $r_s = -0,501$ ,  $p = 3,901e-05$ ) отрицательная связь уровня ВАШ и возраста: пациентки старшей возрастной группы (46 – 50 лет) характеризовались самыми низкими баллами (1 – 3 балла), соответствующими слабой боли по шкале ВАШ, в то время как женщины моложе 45 лет продолжали находиться в диапазоне умеренной боли (4 – 6 баллов по шкале ВАШ).

Характеристика толщины фиброгландулярной зоны (FGR) в процессе лечения представлена в таблице 6.6 и на рисунке 6.10. Анализ динамики ультразвуковой картины показал, что в целом у всех пациенток 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 ( $p = 5.567e-15$ ).

Таблица 6.6 – Характеристика толщины фиброгландулярной зоны (FGR) через 6 месяцев терапии у пациенток с ДФМ в разные возрастные периоды

Толщина железистой ткани FGR, мм	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Media n	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
Исходная толщина FGR (n = 92)	9,4	13,62	14,75	14,71	16,15	18,6
Толщина FGR через 6 месяцев терапии (n = 63)	6,5	10,7	12,0*	11,82	13,0	16,0
Толщина FGR через 6 месяцев терапии у пациенток ≤ 40 лет (n = 25)	9,0	11,42	12,25	12,1	12,92	15,0
Толщина FGR через 6 месяцев терапии у пациенток 41 – 45 лет (n = 22)	6,5	11,0	12,5	12,23	13,35	16
Толщина FGR через 6 месяцев терапии у пациенток 46 – 50 лет (n = 16)	9,4	10,25	10,75**	10,86	11,3	13,5

Примечание. Достоверность различий по сравнению с исходной толщиной FGR:\* –  $p < 0,001$ ; достоверность различий по сравнению с толщиной FGR у пациенток ≤40 и 41-45 лет: \*\* –  $p < 0,01$

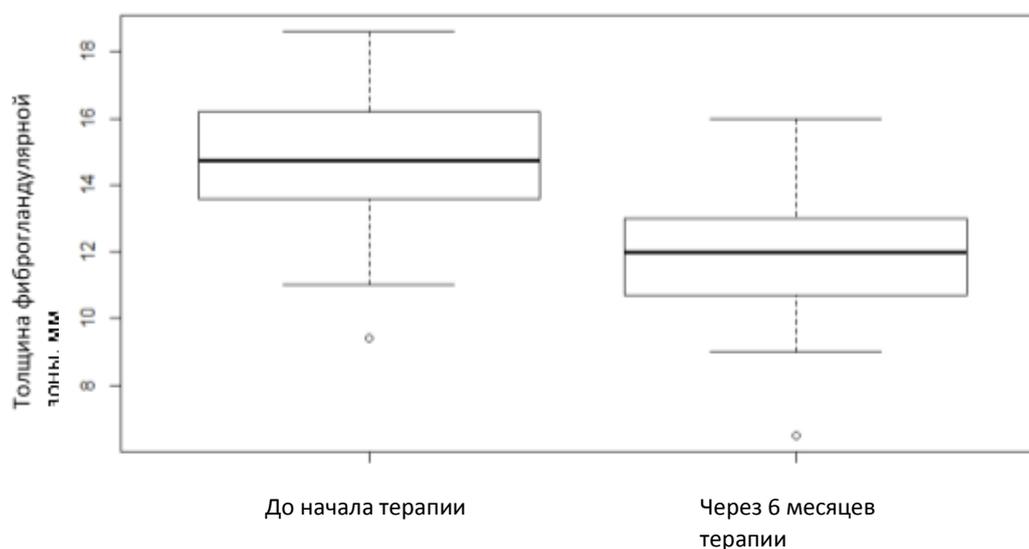


Рисунок 6.10 – Динамика толщины фиброгландулярной зоны (FGR) через 6 месяцев терапии.

Наиболее точную характеристику эффективности лечения VD дает показатель, характеризующий степень уменьшения толщины железистой ткани - FGR0-FGR6. Характеристика выраженности уменьшения толщины железистой ткани FGR0-FGR6 в разных возрастных группах представлены в таблице 6.7 и на рисунке 6.11.

Таблица 6.7 – Степень уменьшения толщины фиброглангулярной зоны (FGR0-FGR6) у пациенток разных возрастных групп.

Динамика уменьшения толщины железистой ткани (FGR0-FGR6), мм	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Media n	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
FGR0-FGR6 у пациенток < 40 лет (n = 25)	1,1	2,85	3,55*	3,586	4,050	5,2
FGR0-FGR6 у пациенток 41 – 45 лет (n = 22)	1,7	2,7	3,0*	3,174	3,9	4,8
FGR0-FGR6 у пациенток 46 – 50 лет (n = 16)	0,4	1,4	2,05	1,95	2,4	4

Примечание. Достоверность различий по сравнению с пациентками 46-50 лет:\* –  $p < 0,001$

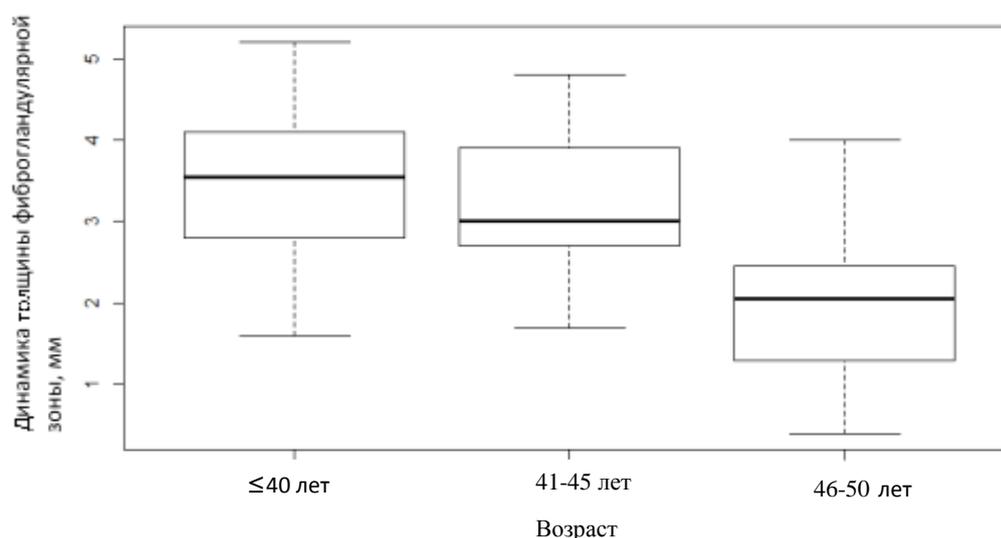


Рисунок 6.11 – Динамика толщины фиброглангулярной зоны (FGR0-FGR6) через 6 месяцев терапии в разные возрастные периоды.

Так, 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.

Уменьшение железистой ткани в зависимости от типа гинекологической патологии на фоне лечения витамином D представлены в таблице 6.8 и на рисунке 6.12. Было установлено, что женщины с хронической ановуляцией характеризовались значимо меньшим ( $p = 0.019$ ) снижением толщины FGR по сравнению с больными, имеющими миому, аденомиоз или ВЗОМТ.

Таблица 6.8 – Степень уменьшения толщины фиброглангулярной зоны (FGR0-FGR6) у пациенток с разной гинекологической патологией

Динамика уменьшения толщины железистой ткани (FGR0-FGR6), мм	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
FGR0-FGR6 у пациенток с миомой/аденомиозом (n=39)	0,4	2,7	3,2	3,262	4,1	5,2
FGR0-FGR6 у пациенток с хр. ановуляцией (n=3)	0,5	1,05	1,6*	1,5	2,0	2,4
FGR0-FGR6 у пациенток с ВЗОМТ (n=21)	0,8	2,1	2,8	2,757	3,6	4,9

Примечание. Достоверность различий по сравнению с другими группами: \* –  $p < 0,05$

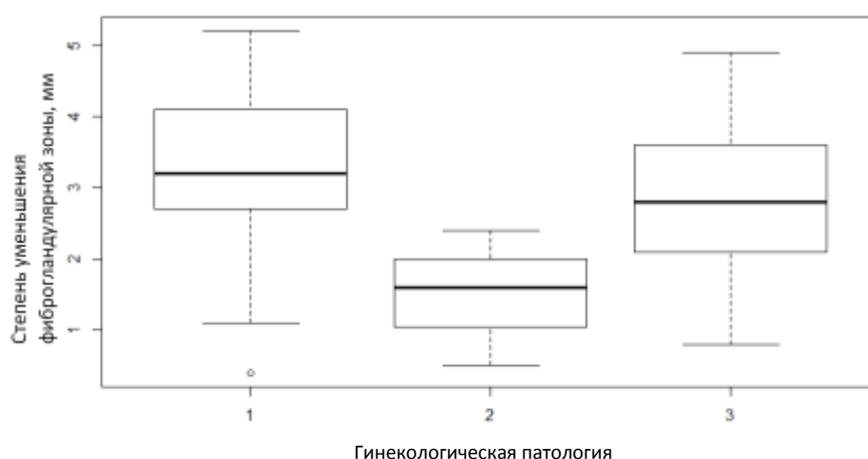


Рисунок 6.12 – Степень уменьшения толщины фиброглангулярной зоны (FGR0-FGR6) через 6 месяцев терапии у пациенток с различной гинекологической патологией:

1 – миома/аденомиоз; 2 – хроническая ановуляция; 3 – ВЗОМТ.

Изучение влияния степени уменьшения толщины FGR на выраженность болевого синдрома показало, что максимальное снижение болевого синдрома по шкале ВАШ на 4 – 6 баллов (рисунок 6.13) соответствовало более выраженному уменьшению толщины FGR ( $p = 0,0098$ ).

Оценка динамики кистозного компонента также показала высокую эффективность терапии VD. У 69,4% женщин с кистозной и смешанной формами ДФМ зафиксировано уменьшение кистозного компонента, выражающееся в уменьшении как абсолютного размера кист, так и их количества (рисунок 6.14). Нарастание количества кист или увеличение размеров кист не было зарегистрировано ни в одном случае.

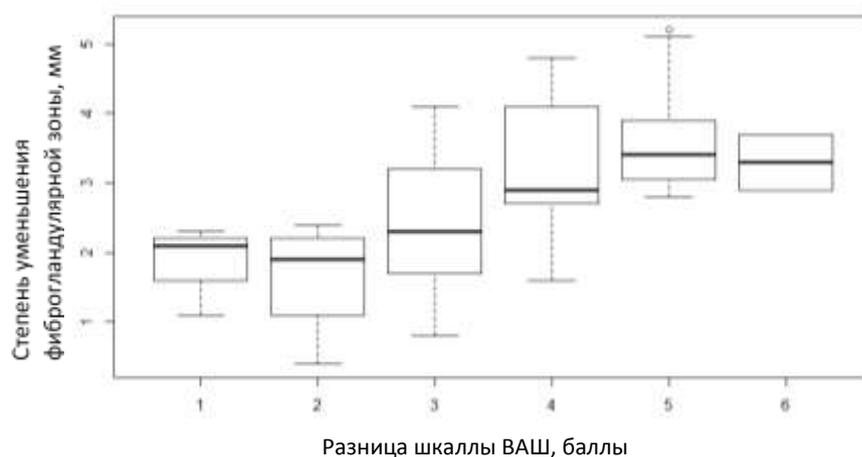


Рисунок 6.13 – Динамика толщины фиброглангулярной зоны (FGR0-FGR6) через 6 месяцев терапии при разной степени уменьшения болевого синдрома (ВАШ).



Рисунок 6.14 – Характеристика динамики кистозного компонента у пациенток с ДФМ через 6 месяцев терапии.

Динамика рентгенологической плотности (ACR) молочных желёз при лечении VD проведена у 27 пациенток с исходной плотностью молочных желёз ACR 3 и ACR 4 через 6 месяцев терапии. Положительная динамика в виде уменьшения маммографической плотности по критерию ACR зарегистрирована в 18 случаях. 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. Был проведён анализ зависимости плотности молочной железы через 6 месяцев терапии с уровнем VD через 6 месяцев терапии (таблица 6.9, рисунок 6.15).

Таблица 6.9 – Уровень витамина D через 6 месяцев терапии и динамика рентгенологической плотности молочной железы (ACR)

Динамика VD через 6 месяцев, нг/мл	Min.	1 <sup>st</sup> Qu	Median	Mean	3 <sup>rd</sup> Qu	Max
VD через 6 месяцев при уменьшении ACR (n = 18)	34,2	42,95	49,4*	48,53	52,85	65
VD через 6 месяцев при отсутствии динамики ACR (n = 9)	27,4	34,0	37,0	36,99	40,5	49,9

Примечание. Достоверность различий по сравнению с отсутствием динамики ACR:\* –  $p < 0,01$

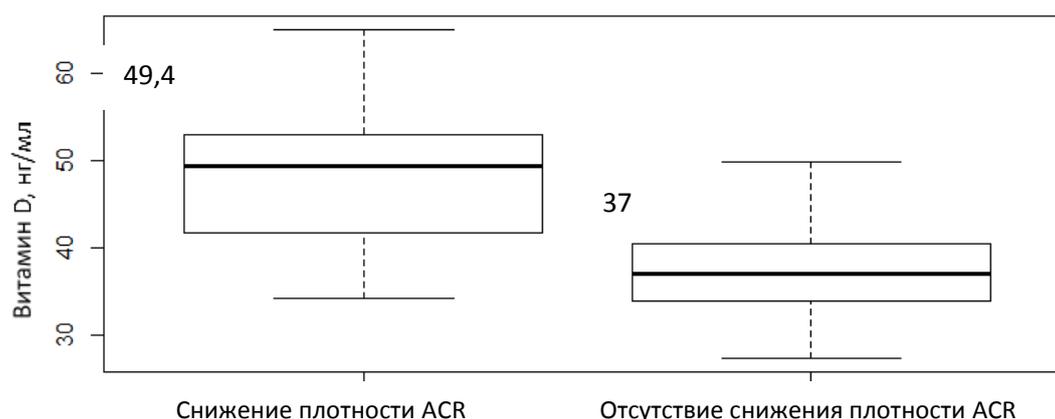


Рисунок 6.15 – Уровень витамина D у пациенток с оценкой динамики рентгенологической плотности молочных желёз через 6 месяцев терапии. Примечание. Достоверность отличий групп  $p < 0,01$ .

Как следует из рисунка 6.15, женщины с положительной динамикой имели достоверно ( $p = 0,0023$ ) более высокие значения VD в конце курса терапии. Медиана VD при снижении плотности ACR составила – 49,4 нг/мл, при отсутствии снижения плотности ACR – 37 нг/мл. При этом средняя разница значений уровня VD между обеими группами составила 12,05 нг/мл. На рисунках 6.16 – 6.18 представлена положительная динамика плотности молочной железы (слева – исходная плотность, справа – динамика ACR).

Прямые снимки правой молочной железы в динамике (рис. 6.16). На левом снимке молочная железа имеет смешанное строение, определяется умеренная гиперплазия железистой ткани, составляющая 50 – 75% – ACR 3. На правом снимке та же молочная железа через 6 месяцев лечения. Плотность молочной железы

снизилась: ткань молочной железы представлена остатками гиперплазированной железистой ткани (25 – 50%) с участками жировой ткани и фиброза – ACR 2.

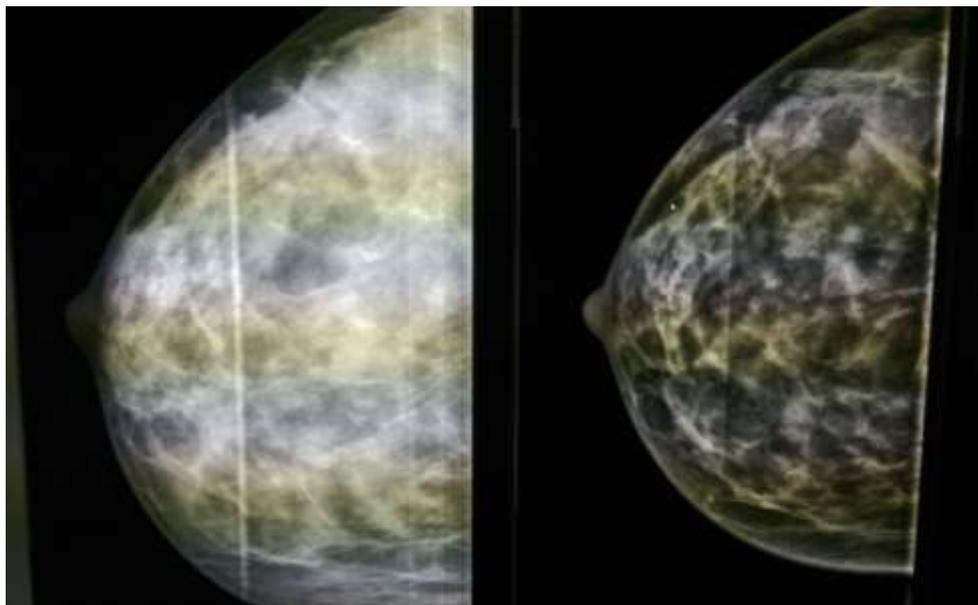


Рисунок 6.16 – Динамика плотности молочной железы через 6 месяцев терапии витамином D.

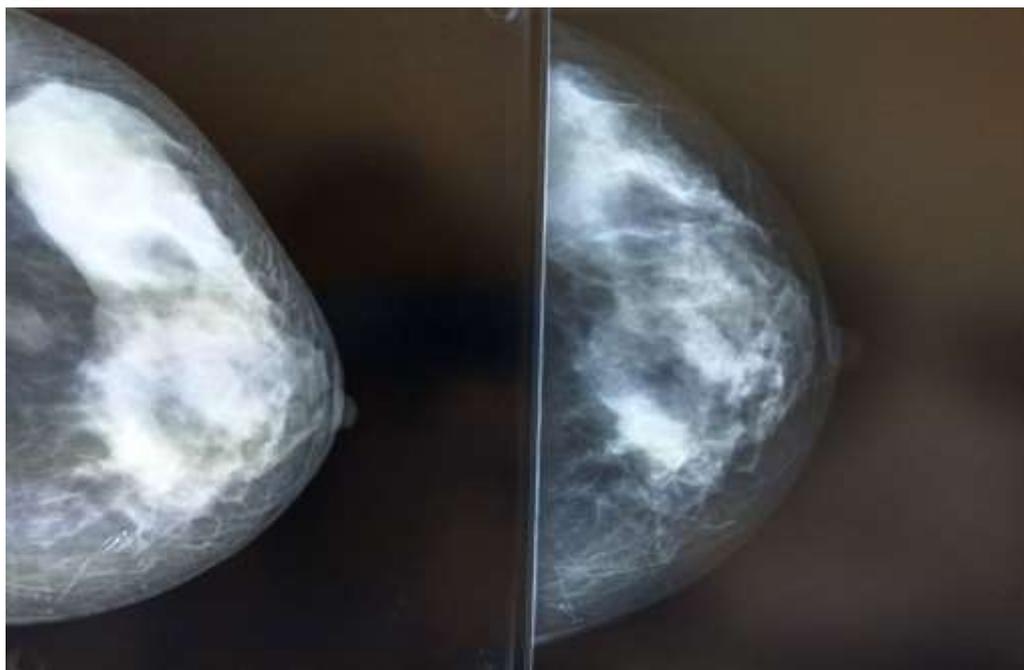


Рисунок 6.17 – Динамика плотности молочной железы через 6 месяцев терапии витамином D.

Прямые снимки левой молочной железы в динамике (рис. 6.17). На левом снимке ткань молочной железы уплотнена за счёт выраженной гиперплазии железистой ткани, составляющей 75%, – ACR 3. На правом снимке та же молочная железа через 6 месяцев лечения. Плотность молочной железы снизилась: ткань

молочной железы представлена остатками гиперплазированной железистой ткани (25 – 50%) с участками жировой ткани и фиброза – ACR 2.



Рисунок 6.18 – Динамика плотности молочной железы: ACR 4 до начала терапии, ACR 3 – через 6 месяцев лечения.

Прямые снимки правой молочной железы в динамике (рис.6.18). На левом снимке молочной железы определяется выраженная гиперплазия железистой ткани с участками фиброза, составляющая более 75%, – ACR 4. На правом снимке та же молочная железа через 6 месяцев лечения. Плотность молочной железы снизилась: ткань молочной железы представлена умеренно гиперплазированной железистой тканью и фиброза (50 – 75%) – ACR 3.

Таким образом, можно связывать эффект снижения плотности молочной железы с действием витамина D, что подтверждается наличием отрицательной корреляционной связи между уровнем VD через 6 месяцев терапии и плотностью молочной железы ( $r_s = -0,54$ ,  $p = 0,0038$ ).

Учитывая исходно повышенный уровень пролактина у пациенток с ДФМ, большой интерес представляла оценка динамики этого показателя через 6 месяцев терапии витамином D.

Для оценки достоверности динамики уровня пролактина использован ранговый парный тест Вилкоксона. Обнаружено, что в динамике через 6 месяцев терапии произошло достоверное ( $p = 0,024$ ) снижение уровня пролактина, при этом

95% ДИ для величины различий составил 2,77 – 49,86 мМЕ/л, медиана разницы – 24,31 мМЕ/л. 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 на другие факторы риска развития диффузной мастопатии.

Для прогнозирования риска развития диффузной формы мастопатии у женщин в возрасте до 50 лет была построена модель множественной логистической регрессии. Использование алгоритма пошагового включения или исключения факторов риска позволило выделить наиболее значимые факторы риска из перечня исследуемых признаков: возраста, уровня VD, пролактина, ТТГ, прогестерона, плотности молочной железы (ACR), наличие гинекологической патологии.

По результатам моделирования в таблице 6.10 представлены отношения шансов с доверительным интервалом с поправкой на множественность сравнений, оценка значимости отношения шансов в тесте Вальда (Wald's test), коэффициенты регрессии и их статистическая достоверность значимых факторов риска.

Таблица 6.10 – Характеристика модели оценки риска развития диффузной формы мастопатии у женщин

Факторы риска	ОШ (95% ДИ)	P (Wald's test)	Коэффициент регрессии, b	Статистическая значимость (p)
Витамин D	1,32 (1,15 – 1,51)	< 0,001	0,27	6,8e-05
ACR	0,1 (0,03 – 0,35)	< 0,001	-2,28	0,000282
Гинекологическая патология	1,77 (1,18 – 2,66)	0,006	0,57	0,006040
Константа			-2,94	0,086

Как следует из таблицы 6.10, 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 значимо не увеличивали риск развития ДФМ.

На рисунке 6.19 представлены результаты рок-анализа модели логистической регрессии.

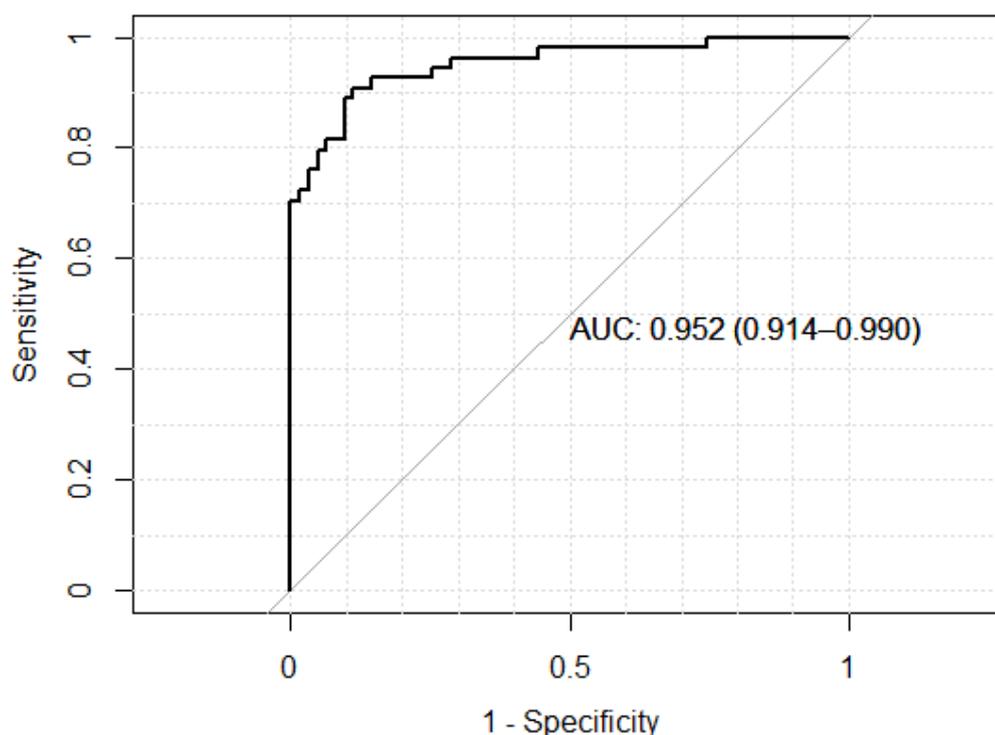


Рисунок 6.19 – Рок-анализ модели логистической регрессии.

Данный график свидетельствует о хорошей предсказательности выбранной нами модели логистической регрессии. Для порогового значения 0,3 чувствительность модели составила – 96%, специфичность – 70%.

Таким образом, лечение витамином D имеет дозозависимый эффект: приём препарата в дозе 5000 МЕ 1 раз в день в течение 2 месяцев, приводит к нормализации уровня витамина D. На фоне лечения наблюдаются снижение болевого синдрома по шкале ВАШ, уменьшение толщины фиброгландулярной зоны и выраженность кистозного компонента по данным ультразвукового исследования, а также плотности молочной железы (ACR) по данным маммографического исследования. Приём VD уже в течение 1 месяца приводит к снижению уровня болевого синдрома у всех пациенток, при этом степень снижения болевого синдрома зависит также от исходного уровня VD, пролактина и возраста.

Целевым диапазоном витамина D, обеспечивающего снижение плотности молочной железы (ACR), является уровень VD не менее 43 нг/мл. У пациенток с исходным дефицитом прием VD по 5000 МЕ 1 раз в день в течение 2 месяцев (суммарная лечебная доза 300000 МЕ) с последующим переводом на

поддерживающую дозу 2000 МЕ обеспечивает сохранение уровня VD через 4 месяца достаточного для снижения плотности молочной железы.

Значимыми факторами риска развития ДФМ по данным модели множественной логистической регрессии являются уровень витамина D, рентгенологическая плотность молочной железы и сопутствующая гинекологическая патология.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Доброкачественные заболевания молочных желёз, такие как фиброаденома и диффузная форма мастопатии, занимают лидирующее место в структуре патологии молочной железы и не имеют тенденции к снижению роста заболеваемости. Актуальность проблемы ДЗМЖ определяется не только снижением качества жизни женщины, обусловленного развитием болевого синдрома, необходимостью постоянного диспансерного наблюдения, длительного комплексного лечения с высокими материальными затратами, высокой частотой диагностических и лечебных инвазивных вмешательств (пункционные биопсии, секторальные резекции молочной железы), но и существенным повышением риска рака молочной железы. Учитывая высокую значимость в этиологии ДЗМЖ таких факторов, как хронический стресс, низкий паритет родов и высокая частота искусственного прерывания беременности, уменьшение доли грудного вскармливания, распространённость гинекологической патологии, длительный и подчас бесконтрольный приём гормональных препаратов позволяют прогнозировать дальнейший рост патологии молочной железы.

Общность звеньев патогенеза рака молочной железы и ДЗМЖ заставляют открывать новые варианты терапии. К одной из таких возможностей относится гормональная система витамина D, регулирующей основные физиологические процессы молочной железы: пролиферацию, апоптоз и неоангиогенез.

Настоящее исследование включило в себя 258 пациенток в возрасте от 18 до 50 лет. Все женщины были разделены на 2 группы: основная – 134 с доброкачественными заболеваниями молочных желёз (ДЗМЖ) и группа сравнения – 124 женщины, не имеющих патологии молочных желёз. В основной группе было выделено 2 подгруппы: первая – 92 больные с диффузной формой мастопатии (ДФМ) и вторая – 42 с фиброаденомой молочных желёз (ФА). Большинство женщин (78 – 84,8%) ранее уже получали лекарственную терапию, у остальных (14 – 15,2%) VD явился стартовой терапией.

С диагностической целью всем пациенткам проведено комплексное обследование: физикальный осмотр, ультразвуковое исследование молочных желёз, лицам старше 39 лет – цифровая маммография. Диагноз подтверждался данными пункционной биопсии и результатами гистологического исследования тканей, полученных в результате секторальной резекции молочной железы.

Болевой синдром оценивался по шкале ВАШ от 0 до 10 баллов. Динамика болевого синдрома проводилась через 1 и 6 месяцев лечения. Ультразвуковое исследование молочных желёз у пациенток с ДФМ проводилось на 5 – 7 день менструального цикла до начала и через 6 месяцев терапии, в динамике оценивали кистозный компонент и толщину фиброгландулярной зоны (FGR) по методике Солнцевой И.А.

Рентгеновская маммография проведена в первой половине менструального цикла у 119 женщин, динамика маммографии оценена у 27 пациенток с ДФМ через 6 месяцев терапии.

Уровень циркулирующей формы VD сыворотки крови оценивали трижды: исходный уровень, через 1 – 2 месяца приёма лечебной дозы и через 6 месяцев лечения. Также методом ИФА оценивался уровень пролактина, прогестерона, тиреотропного гормона.

Всем женщинам со сниженным уровнем VD было назначено лечение витамином D со стартовой дозы 5000 МЕ, через 1 или 2 месяца эта доза снижалась до поддерживающей в 2000 МЕ при достижении витамина D в крови, признанных как оптимальные для обеспечения основных функций VD в организме, 30 – 60 нг/мл. Лечение препаратом VD проводили как монотерапию, не включая его в комплексное лечение у 89 (96,7%) пациенток с ДФМ. У 3 (3,3%) женщин с повышенным уровнем пролактина (более 700 мМЕ/л) дополнительно к VD был назначен достинекс. Общая длительность приёма VD составила 6 месяцев.

Анализ возрастного фактора показал, что ДФМ в подавляющем большинстве случаев является заболеванием женщин старшей возрастной группы: 63% больных с ДФМ находились в возрасте старше 40 лет, в отличие от ФА, представляющей собой заболевание молодых женщин, 45,2% были в возрасте до 25 лет. Это согласуется с

результатами мета-анализа опубликованного Angela L.W. Meisner et all, 2008, показавших, что пик заболеваемости фиброаденомой молочной железы приходится на возраст 21 – 24 года, а максимальная частота заболеваемости диффузной мастопатии отмечена у пациенток в возрасте 40 – 49 лет [89]. Наши данные также согласуются с работами Кравченко Е.Н., 2014, Попова Э.Н. и др., 2012, Варнаковой Е.С., 2013 показавших высокий уровень гинекологической заболеваемости у женщин с ДЗМЖ [4, 28, 47]. В нашем исследовании у каждой второй женщины (52,7%) диагностирована миома и/или генитальный эндометриоз, у 41,9% ВЗОМТ. Обращает на себя внимание двукратное увеличение частоты искусственного прерывания беременности среди пациенток с ДФМ по сравнению со здоровыми женщинами ( $p < 0,001$ ).

В клинической картине ДФМ лидировал болевой синдром, имеющий максимальную выраженность у пациенток до 40 лет: жалобы на сильную боль предъявляли 11,8%, умеренную боль – 88,2%. Для 40% больных, находящихся в периоде менопаузального перехода, более характерна была слабая боль.

Лучевые методы диагностики (ультразвуковое исследование и цифровая маммография) позволили установить, что наиболее распространённой формой диффузной мастопатии является смешанная (железисто-кистозная) форма – 52,2%. Обращает на себя внимание также высокая частота железистой формы мастопатии, диагностированной методом цифровой маммографии – 14,1%. При данной форме диффузной мастопатии использование только ультразвукового метода исследования может привести к запоздалой диагностике заболевания и как следствие к неуклонному его прогрессированию. При этом высокую рентгенологическую плотность молочных желёз (ACR3 + ACR4), по данным маммографии, обусловленную пролиферацией железистой ткани имела половина (55,5%) пациенток с ДФМ, в то время как у здоровых в подавляющем большинстве (92,6% случаев) диагностирована низкая плотность (ACR1 + ACR2). Это подтверждает факт, что ДФМ является самостоятельным значимым фактором риска рака молочной железы. Наши исследования также указывают на крайне высокую частоту хирургических вмешательств при ДФМ (пункции и секторальные резекции) – 50%

случаев. У пациенток до 45 лет другим достоверным фактором, позволяющим количественно оценить железистую ткань, является показатель толщины фиброгландулярной зоны (FGR), определяемый методом ультразвуковой диагностики. Наличие положительной корреляции ( $r_s = 0,027$ ,  $p = 0,03$ ) между толщиной FGR и плотности молочной железы (ACR) по данным маммографии позволяет использовать данный критерий также с целью оценки эффективности проводимости терапии.

Исследования гормонального статуса показало, что, несмотря на то, что уровень пролактина во всех исследуемых группах находился в пределах референсных значений, больные с ДФМ и ФА имеют достоверное увеличение уровня пролактина по сравнению со здоровыми женщинами: медиана пролактина у здоровых составила 256,6 мМЕ/л, в группе ДФМ – 290,8 мМЕ/л, у женщин с ФА – 338,3 мМЕ, средняя величина отличий составила 61,8 мМЕ/л ( $p = 0,024$ ) и 78,89 мМЕ/л ( $p = 0,04$ ) соответственно.

Показательно, что с возрастом уровень пролактина у здоровых женщин уменьшается, в то время как у больных с ДФМ продолжает оставаться на стабильно повышенном уровне. Учитывая, что повышение уровня пролактина является самостоятельным фактором риском рака молочной железы [52, 46] отсутствие его возрастного снижения у пациенток с ДФМ можно рассматривать как одно из ключевых патогенетических звеньев развития заболевания. Подтверждением этого является факт, что самые высокие цифры пролактина имеют пациентки с очень высокой плотностью молочной железы (ACR 4). Анализ клинической картины показал, что самый высокий уровень пролактина ассоциирован с максимальной выраженностью болевого синдрома и наличием сопутствующей хронической ановуляции.

Изучение содержания прогестерона в крови у обследуемых женщин выявило значительное ( $p < 0,001$ ) снижение его уровня при ДФМ у больных до 30 лет – медиана 8,47 нг/мл по сравнению со здоровыми женщинами – медиана 15,6 нг/мл, что, согласно данным литературы, также является пусковым механизмом развития ДФМ [35].

Изучение обеспеченности VD пациенток с ДЗМЖ показало, что абсолютное большинство больных с ДФМ – 97,8% и с ФА – 97,6% имеют низкий уровень витамина D (менее 30 нг/мл), при этом его дефицит (менее 20 нг/мл) диагностирован у 66,3% женщин с ДФМ и у 45,2% с ФА. Частота глубокого дефицита (менее 10 нг/мл) среди пациенток с ДФМ составила 10,9%, среди ФА – 4,8% случаев. У здоровых дефицит VD составил всего 7,3%, нормальная обеспеченность отмечена в 24,2% случаев, недостаточность VD ( $20 \leq VD < 30$  нг/мл) в 68,5% случаев. Несмотря на высокую частоту сниженного уровня VD у здоровых женщин ни в одном из случаев не было зарегистрировано глубокого дефицита VD. Таким образом, пациентки с ДЗМЖ характеризуются низкой обеспеченностью VD. Это позволяет утверждать, что наличие ДЗМЖ должно быть включено в список заболеваний, при котором проводится обязательное обследование уровня витамина D. На сегодняшний день, согласно клиническим рекомендациям, в такой список внесены заболевания, сопровождающиеся высоким риском тяжёлого дефицита VD: болезни костной ткани, возраст старше 60 лет, ожирение, хроническая болезнь почек, печёночная недостаточность, синдромы мальабсорбции, гранулёматозные заболевания, приём некоторых лекарственных средств, дети и взрослые с тёмным оттенком кожи, беременные и кормящие, имеющие факторы риска. Анализ влияния возраста на степень обеспеченности витамином D не выявил достоверной разницы у женщин разных возрастных групп: до 30 лет, 31 – 40 лет, 41 – 50 лет. Это фактор имеет огромное клиническое значение, так как пациентки с ДЗМЖ могут иметь глубокий дефицит уже в возрасте до 30 лет, что существенно повысит риск развития других заболеваний, связанных с дефицитом VD, в первую очередь – риск остеопороза, поскольку клинические рекомендации по лечению дефицита VD выделяют подгруппу глубокого дефицита VD именно в связи с нарушением архитектоники костной ткани при такой степени дефицита VD. Обобщая, следует отметить, что молодые женщины с ДЗМЖ попадают в группу риска развития VD-дефицитных заболеваний, не характерных для данной возрастной группы: сердечно-сосудистая патология, нарушения метаболизма глюкозы, остеопороз, аутоиммунная патология и т.д.

История связи витамина D с распространённостью раком молочной железы уходит корнями к исследованиям Garland F., 1990 о широтном градиенте рака молочной железы [124]. В связи с этим нами был изучен вопрос о влиянии уровня инсоляции в разные периоды года на уровень обеспеченности VD пациенток с ДЗМЖ и здоровых женщин. Было показано, что при низком уровне инсоляции в нашем регионе даже большая часть здоровых женщин (68,5%) находится в диапазоне недостаточности витамина D – медиана 26 нг/мл, однако в период высокой инсоляции показатели VD у здоровых женщин достоверно ( $p = 7.55e-06$ ) повышаются – медиана 29,6 нг/мл. Пациентки же с ДЗМЖ не имеют достоверной разницы в обеспеченности VD в разные периоды года: медиана VD в период низкой инсоляции при ДФМ составила – 17,5 нг/мл, при высокой – 19,2 нг/мл ( $p > 0,05$ ), при ФА 21,2 нг/мл и 17,2 нг/мл ( $p > 0,05$ ). Обнаруженная закономерность определяет тактику круглогодичной терапии дефицита витамина D у пациенток с ДЗМЖ.

Одной из причин дефицита VD и отсутствия его сезонных колебаний у пациенток с ДЗМЖ может явиться нарушение сигнальных путей VD. Анализ исследований последних лет в области молекулярной медицины показал огромное значение генетических факторов в проблеме дефицита витамина D [33]. Другим направлением генетических исследований является изучение роли генетических полиморфизмов генов в развитии ДЗМЖ. Так, работы Павловой Е.А. и соавторов показали, что генетический полиморфизм может явиться одной из причин нарушения метаболизма эстрогенов, что является, несомненно, значимым звеном в патогенезе заболеваний молочной железы [38]. Целью наших генетических исследований явилось изучение вклада полиморфизма генов ядерного рецептора витамина D (VDR, FokI Met1Thr полиморфизм, rs2228570), микросомальной гидроксилазы, превращающей витамин D3 в активную для рецепторного захвата форму (CYP2R1, полиморфизм -1559T > C, rs2060793) и гена, кодирующего витамин D связывающий белок (DBP) (GC, полиморфизм 26-796 A > C, rs2282679) в формировании генетической предрасположенности к ДЗМЖ, а также влияние указанных полиморфизмов на уровень циркулирующего витамина D. Выбор изучения полиморфизма Fok 1 определялся тем, что по многочисленным данным

именно этот полиморфизм сопровождается повышенным риском рака молочной железы [120, 178, 200]. Собственные исследования показали высокую распространённость данного полиморфизма среди всех обследуемых групп женщин. При этом достоверного вклада в формирование генетической предрасположенности к ДЗМЖ среди исследованных генетических локусов, а также сочетаний генотипов выявлено не было.

Однако анализ влияния указанных полиморфизмов на уровень циркулирующего витамина D показал, что больные с ДФМ, являющиеся носителями генотипа TT полиморфизма гена VDR Fok1 (Met1Thr, rs2228570) и генотипа AC полиморфизма гена GC (rs2282679), имеют достоверное снижение уровня циркулирующей формы VD по сравнению с другими генотипами. При этом у пациенток с ФА достоверного влияния указанных полиморфизмов на уровень витамина D обнаружено не было. У здоровых женщин – носительниц генотипа AC полиморфизма GC (rs2282679) – также выявлена более низкая обеспеченность витамином по сравнению с другими генотипами.

Таким образом, полученные нами данные подтверждают результаты других исследований, показавших наличие связи между уровнем циркулирующего VD и генетическим полиморфизмом VDR Fok 1 [119] и гена GC [88]. Отсутствие влияния минорного гомозиготного генотипа CC полиморфного локуса GC на уровень витамина D, возможно, является следствием малого количества наблюдений среди здоровых (7%) и больных с доброкачественными заболеваниями молочных желёз (12%).

Обеспеченность VD определяла особенности клинической картины, выраженность структурных изменений ткани молочных желёз по данным ультразвукового исследования и цифровой маммографии. У больных с ДФМ выявлена отрицательная корреляция уровня болевого синдрома и степени обеспеченности VD ( $r = -0,267$ ,  $p = 0,011$ ). Другим важным критерием, определяющим уровень болевого синдрома, явился показатель пролактина: обнаружена прямая корреляция уровня пролактина и выраженности болевого синдрома ( $r_s = 0,24$ ,  $p = 0,03$ ). Таким образом, наличие масталгии может явиться не

только первым симптомом ДЗМЖ, но и фактором, указывающим на возможность наличия дефицита витамина D и/или повышенного уровня пролактина.

Изучение обеспеченности VD женщин в различной гинекологической патологией показало, что пациентки с миомой/генитальным эндометриозом (Me – 20,8 нг/мл), хронической ановуляцией (Me – 19,75 нг/мл) и воспалительными заболеваниями органов малого таза (Me – 20,1 нг/мл) характеризуются достоверно ( $p = 3.566e-10$ ) более низкими значениями показателя по сравнению с женщинами с бесплодием неясного генеза (Me – 27,6 нг/мл) и отсутствием гинекологической патологии (Me – 26,7 нг/мл). Это является важным фактором, доказывающим общность звеньев патогенеза неопухолевых заболеваний матки и ДЗМЖ и объясняющим высокую частоту сочетания данных патологий.

Изучение связи обеспеченности VD и плотностью молочной железы, показало наличие достоверной обратной связи ( $r_s = -0,3299$ ,  $p = 0,00026$ ). Самый низкий уровень VD (Me – 7,7 нг/мл) диагностирован при самой высокой плотности молочной железы (ACR 4), а самый высокий (Me – 27,2 нг/мл) при самой низкой плотности молочной железы (ACR 1). Исследования, посвящённые связи циркулирующей формы VD и плотности молочной железы, многочисленны и противоречивы. Однако в целом полученные данные показывают наличие значимой связи низкого уровня витамина D и высокой плотности молочных желёз у женщин в пременопаузе и отсутствие такой связи у женщин в постменопаузе [150, 182, 194].

Полученные нами результаты согласуются с данными исследований показавшими, что высокий уровень циркулирующего VD ассоциирован с низкой плотностью молочной железы, причём чем выше доза употребляемого витамина D, тем сильнее эта связь [129, 201]. Связь низкого уровня витамина D с высокой плотностью молочной железы принципиально важна, поскольку повышенный риск рака молочной железы при дефиците VD обнаружен именно у женщин с высокой плотностью молочной железы [170]. Такое отличие полученных результатов в зависимости от возраста женщины объясняется тем, что женщины в период пременопаузы характеризуются более высоким уровнем циркуляции свободных эстрогенов и инсулинзависимого фактора роста, а соответственно и большей

экспрессией соответствующих рецепторов. Именно регуляцией экспрессии указанных рецепторов определяется антипролиферативный эффект витамина D [94, 128, 148, 153, 166, 168, 216]. Таким образом, в возрасте пременопаузы имеются точки приложения для реализации основных биологических эффектов VD.

Учитывая высокую частоту дефицита витамина D у пациенток с ДЗМЖ, наличие достоверной обратной связи между уровнем VD и плотностью молочной железы считаем обязательным назначение маммографического обследования женщин в возрасте 40 – 50 лет с диагностированным дефицитом витамина D. На сегодняшний день маммографическому скринингу подлежат женщины в возрасте 39 – 50 лет, у которых есть факторы риска ДЗМЖ или пролиферативные формы мастопатии. Включение дефицита витамина D в список факторов риска ДЗМЖ позволит существенно расширить эффективность ранней диагностики заболеваний молочной железы.

Оценка ультразвуковых характеристик показала также наличие значимой отрицательной связи уровня VD и толщины FGR у пациенток до 45 лет ( $r_s = -0,312$ ,  $p = 0,018$ ). Учитывая наличие достоверной прямой связи между плотностью молочной железы и толщиной железистой ткани FGR ( $r_s = 0,0275$ ,  $p = 0,03783$ ) можно рассматривать последний критерий как ультразвуковой параметр, отражающий пролиферацию железистой ткани.

Оценка связи дефицита VD и уровня пролактина показало наличие достоверной отрицательной связи между обеспеченностью VD и уровнем пролактина ( $r_s = -0,23$ ,  $p = 0,001$ ). Обнаруженная нами корреляция исходного дефицита витамина D и повышенного уровня пролактина является очень важным клиническим аргументом, подтверждающим сложную аутокринную взаимосвязь этих основных факторов регуляции клеточной пролиферации. Наши исследования подтверждают данные Aboelnaga M.M. и соавторов, 2017, исследовавших связь между уровнями пролактина и витамина D у пациенток с пролактиномой. Было обнаружено, что пациентки с пролактиномой и высоким уровнем пролактина имеют более низкий уровень циркулирующего VD по сравнению со здоровыми

женщинами, при этом степень его дефицита ассоциировалась с размерами опухоли [82].

Возможность прямого взаимодействия пролактина и VD на уровне клетки доказана также в эксперименте на человеческих клетках рака простаты: обработка клеток псевдофосфорилированным пролактином приводила к усилению экспрессии рецепторов к VD [179]. Таким образом показано, что фосфорилированная форма пролактина может участвовать не только в аутокринной регуляции уровня пролактина, путём подавления секреции нефосфорилированного пролактина клетками гипофиза, но и нивелировать биологический эффект активных форм пролактина на клеточном уровне органов мишеней, в частности молочной железы путём повышения экспрессии VDR.

Обобщая выше сказанное, можно утверждать, что добавление к стандартной терапии витамина D у пациенток с диффузной мастопатией на фоне гиперпролактинемических состояний является патогенетически обоснованным ввиду синергизма действия препаратов, снижающих уровень пролактина. При этом мы не выявили достоверной связи между уровнем VD и уровнем циркулирующего прогестерона. Полученные нами данные не противоречат общепринятой точке зрения о решающей роли дефицита прогестерона в развитии мастопатии. Учитывая механизм действия VD, мы можем предполагать наличие тканевого дефицита прогестерона, возникающего вследствие повышенной экспрессии эстрогеновых рецепторов на фоне дефицита витамина D.

Отсутствие связи между уровнем VD и ТТГ, возможно, определяется изначально исключением из исследования пациенток с патологией щитовидной железы (в первую очередь некомпенсированных форм гипотиреоза).

Использованная нами схема лечения дефицита витамина D согласуется с принятыми стандартами, изложенными в клинических рекомендациях по лечению дефицита витамина D. Общая суммарная доза при лечении дефицита VD составила 300000 МЕ, при лечении недостаточности VD 150000 МЕ холекальциферола. Наши исследования подтвердили эффективность указанных доз и длительности приёма препарата при лечении сниженного уровня VD. Последующий перевод пациенток на

поддерживающую дозу 2000 МЕ в сутки позволял сохранять достигнутый уровень в течение 6 месяцев терапии. Монотерапию VD получали 89 (96,7%) пациенток с ДФМ, 3 (3,3%) больным с целью коррекции повышенного уровня пролактина дополнительно был назначен агонист дофаминовых рецепторов – достинекс в дозе ¼ таблетки 1 раз в неделю.

С целью оценки эффективности терапии использовались также анализ уровня болевого синдрома по шкале ВАШ, динамика толщины фиброгландулярной зоны и плотности молочной железы по данным маммографии. Анализ шкалы ВАШ на фоне лечения показал, что максимальное снижение болевого синдрома происходит уже через 1 месяц терапии в среднем на 3 балла. В течение последующих 5 месяцев происходило дальнейшее снижение выраженности болевого синдрома с уменьшением в среднем на 1 балл. Через 6 месяцев лечения терапия витамином D показала свою высокую эффективность: отсутствие болевого синдрома отмечено у каждой третьей женщины – 31,3%, нагрубание молочных желёз и дискомфорт – у 54,6%, слабая боль – у 12,5%, умеренная боль сохранилась только у одной пациентки – 1,6%. Анализ анамнестических факторов показал, что вероятность сниженного эффекта в лечении болевого синдрома, проявляющаяся в сохранении слабой или умеренной боли, возможна при длительности заболевания более 5 лет, осложнённом течении заболевания в виде наличия неоднократных инвазивных вмешательств, высокой исходной рентгенологической плотности молочных желёз и повышенном уровне пролактина. Можно предполагать, что в таких случаях одной из возможных причин, объясняющих сниженный эффект VD, является выраженность фиброзного компонента в структуре молочной железы. Он не только препятствует нормализации архитектоники ткани молочной железы, но и продолжает вследствие приобретения фибробластами некоторых функций макрофагов поддерживать провоспалительный фон в окружающих тканях.

Применение метода ультразвуковой диагностики с целью оценки эффективности лечения диффузной мастопатии витамином D путём измерения толщины фиброгландулярной зоны явилось высокоинформативным и надёжным методом контроля терапии у пациенток до 45 лет. Именно в этой возрастной

категории произошло максимальное уменьшение железистой ткани в процессе лечения, что опять же может быть объяснено большей эстрогенной насыщенностью пациенток молодого возраста. Таким образом, наши исследования согласуются с данными Мкртчян Н.С., 2005 и Соломоновой А.М., 2015 о возможности применения данного критерия в комплексной оценке эффективности терапии мастопатии [37, 66]. Характер гинекологической патологии также оказал влияние на степень уменьшения толщины железистой ткани FGR: пациентки с хронической ановуляцией показали меньшее уменьшение данного показателя по сравнению с больными миомой и/или генитальным эндометриозом или ВЗОМТ. Учитывая, что миома и/или генитальный эндометриоз сопровождаются абсолютной гиперэстрогемией, обусловленной в том числе локальным синтезом эстрогенов в тканях миомы или эндометриоидных гетеротопий, повышенная экспрессия эстрогеновых рецепторов может явиться основной точкой для реализации антипролиферативного эффекта витамина D. В случае наличия ВЗОМТ точкой приложения для витамина D может быть повышенный уровень пролактина, характерный для таких пациенток, оказывающий пролиферативный эффект в тканях молочной железы.

Изучение динамики уровня пролактина на фоне терапии витамином D показало достоверное ( $p = 0,024$ ) снижение уровня пролактина в крови. Возможность снижения повышенного уровня пролактина на фоне терапии дефицита витамина D представлена в исследовании Krysiak R и соавторов, 2015, показавших не только связь низкого уровня VD и повышенного уровня пролактина при макропролактинеме, но и возможность снижения гиперпролактинемии путём коррекции дефицита витамина D [190]. При этом авторы отметили, что степень снижения пролактина определялась не только исходным уровнем пролактина, но и исходным уровнем витамина D. Таким образом, мы можем утверждать, что степень снижения пролактина на фоне лечения дефицита витамина D имеет дозозависимый характер и с повышением лечебных доз VD можно добиться большего снижения пролактина. Такое снижение пролактина на фоне лечения витамином D объясняет другие возможные механизмы в реализации антипролиферативного эффекта

витамина D, помимо непосредственной регуляции экспрессии эстрогеновых рецепторов. Возможность снижения уровня пролактина на фоне терапии витамином D имеет особую значимость ввиду доказанной роли пролактина в развитии как доброкачественной патологии молочных желёз, так и неопластических процессов молочной железы [58].

Оценка динамики кистозного компонента по данным УЗИ также оказалась достоверным критерием эффективности терапии: уменьшение количества и размеров кист молочных желёз выявлено у 69,4% женщин, отсутствие динамики – 30,6%. Ни в одном из случаев не зарегистрировано роста и увеличения количества кист молочных желёз.

У женщин старше 40 лет с высокой рентгенологической плотностью молочной железы – ACR 3 и ACR 4 – оценка эффективности лечения проводилась также с использованием маммографии через 6 месяцев терапии. Как показали наши исследования, динамическая маммография через 6 месяцев терапии является высокоинформативным методом оценки эффективности лечения. Динамика маммографии проведена у 27 больных с высокой плотностью молочной железы, обусловленной умеренной и выраженной гиперплазией железистой ткани. Через 6 месяцев положительный эффект терапии, заключающийся в снижении плотности молочной железы, зарегистрирован у 18 (66,7%) пациенток, отсутствие снижения плотности – у 9 (33,3%). Анализ обеспеченности витамина D у больных показал, что снижение плотности молочной железы было достигнуто в группе с медианой VD – 49,4 нг/мл (1<sup>st</sup> Qu – 42,95 нг/мл, 3<sup>st</sup> Qu – 52,85 нг/мл), у пациенток с отсутствием снижения плотности молочной железы медиана VD составила 37 нг/мл (1<sup>st</sup> Qu – 34 нг/мл, 3<sup>st</sup> Qu – 40,5 нг/мл). Таким образом, целевой уровень, необходимый для снижения плотности молочных желёз, составил 42,95 – 52,85 нг/мл.

Для прогнозирования риска развития диффузной формы мастопатии у женщин в возрасте до 50 лет была построена модель множественной логистической регрессии, показавшая, что наиболее значимыми факторами риска развития ДФМ явились уровень VD, плотность молочной железы по данным маммографии и наличие сопутствующей гинекологической патологии, а оценка достоверности

различий в частоте дефицита VD, высокой плотности молочной железы и сопутствующей гинекологической патологии среди пациенток с ДФМ и здоровых женщин подтвердила высокую значимость обнаруженных отличий.

## 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 (ACR3 и ACR4), в отличие от здоровых, где преобладает (у 92,6%) низкая плотность (ACR1 и ACR2).

**2.** Женщины с доброкачественными заболеваниями молочных желез имеют низкую обеспеченность витамином D в крови: дефицит установлен у 66,3% больных 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 с диффузной мастопатией. 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 (медиана – 29,6 нг/мл) в отличие от больных, имевших стабильно низкую обеспеченность.

**3.** Полиморфизм Fok 1 (Met1Thr, 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 (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% больных соответственно. Общая доля больных с ДФМ, носительниц 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% больных 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 диффузной формы мастопатии, 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 генотипов TT (25%) полиморфизма Fok 1 (rs2228570) гена VDR и генотипа AC (36%) гена GC (rs 2282679) 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, основанной на своевременном лечении доброкачественных заболеваний молочных желёз. Доказанная нами низкая обеспеченность витамином D пациенток с диффузной формой мастопатии и фиброаденомой молочной железы, 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ашрафян Л.А. Патогенетическая профилактика рака репродуктивных органов / Л.А. Ашрафян, В.И. Киселев, Е.Л. Муйжнек – М.: Изд. Димитрейд График Групп, 2009. – 171 с.
2. Активные формы витамина D и функция мышечной ткани: анализ молекулярно-биологических и клинических данных / А.В. Гилельс, И.Ю. Торшин, О.А. Громова и др. // Вестник эстетической медицины. - 2014. - Т.13. - № 2. - С. 66-75.
3. Беспалов В.Г. Фиброзно-кистозная болезнь и риск рака молочной железы (обзор литературы) / В.Г. Беспалов, М.Л. Травина // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2015. – Том 11. - №4. – С.58-70.
4. Варнакова Е.С. Оптимизация методов диагностики и лечения хронического дуктофорита на фоне диффузной мастопатии: дис. ...канд. мед. наук. / Е.С. Варнакова. – Новосибирск, 2013. – 126 с..
5. Виноградова А.В. Фиброзно-кситозная мастопатия как фактор риска развития рака молочной железы / А.В. Виноградова, А.А. Уткина, К.А. Блинова // В сборнике: Медико-биологические, клинические и социальные вопросы здоровья и патологии человека XII областной фестиваль «Молодые ученые – развитию Ивановской области»: межрегиональная научная конференция студентов и молодых ученых с международным участием. – М.: Министерство здравоохранения РФ, 2016. – С.368-369.
6. Виртуальная сонография молочной железы. Опыт клинического применения / О.Э.Якобс, А.Д. Каприн, Н.И. Рожкова и др. // Медицинская визуализация. – 2014. – №2. – С 22-32.
7. Витамин D – новый вектор профилактики онкологических заболеваний? / О.С. Кобякова, И.А. Деев, Д.С. Тюфилин и др. // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2015. – Т.70. – №5. – С.526-533

8. Влияние витамина D на репродуктивное здоровье женщины / М.О. Баклейчева, И.В. Ковалева, О.Н. Беспалова, И.Ю. Коган // Журнал акушерства и женских болезней. - 2018. - Т. 67. - № 3. - С. 4-19.
9. Влияние дефицита и недостаточности витамина D на исходы программ вспомогательных репродуктивных технологий (обзор литературы) / Н.М. Подзолкова, А.Л. Власова, Ю.А. Колода и др. // Проблемы репродукции. – 2017. – Т.23. - №23. – С.67-76
10. Возможности ОФЭКТ/КТ в уточняющей диагностике узловых образований молочных желез / М.А. Шершнева, В.А. Солодкий, Е.В. Меских Е.В. и др. // Вестник Российского научного центра рентгенорадиологии Минздрава России. – 2015. – С.1-26.
11. Возможности терапии сочетания миомы матки и доброкачественных дисплазий молочных желез / В.Е. Радзинский, И.М. Ордиянц, М.Н. Масленникова и др. // Акушерство и гинекология. – 2013. - №4. – С. 44-47.
12. Гиперпластические процессы органов женской репродуктивной системы: теория и практика / В.И. Киселев, И.С. Сидорова, А.Л. Унанян, Е.Л. Муйжнек. – М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М». – 2011. - 468 с.
13. Дзахмишева З.А. Профилактика заболеваний молочных желез женщин с помощью функциональных продуктов питания / З.А. Дзахмишева, И.Ш Захмишева // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №4. – С. 440.
14. Диагностика диффузной дисгормональной дисплазии молочных желез / О.С. тонких, Л.С. Сотникова, О.М. Гергет, Е.В. Удут // Доктор. Ру. – 2015. - №1 (102). – С.17-20.
15. Дуплий Н.А. Хирургическое и комплексное лечение мастопатии с применением антиоксидантов: автореф. дис. ... канд.мед.наук. / Н.А. Дуплий. – Владивосток, 2012. – 23 с.
16. Жирнова А.С. Морфологические особенности тканей молочной железы у женщин различных возрастных групп в норме и при мастопатии / А.С. Жирнова, Н.Н. Шевлюк, П.П. Курлаев // Журнал анатомии и гистопатологии. - 2015. - Т.4. - №4. - С.34-38.

17. Жирнова А.С. Гистоархитектоника и морфофункциональные особенности клеточного микроокружения в тканях молочной железы у женщин репродуктивного возраста/ А.С. Жирнова, Н.Н. Шевлюк, П.П. Курлаев // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №5. – С. 122-130
18. Иммуногистохимический анализ рецепторов эстрогена и прогестерона при доброкачественной непальпируемой патологии молочных желез / А.С. Жирнова, Н.Н. Шевлюк, П.П. Курлаева и др. // Наука и Мир. – 2016. – Т.2. - №10 (38). – С.108-109
19. Индолкарбинол – метод мультитаргетной терапии при циклической мастодинии/ В.И. Киселев, В.П. Сметник, Л.В. Сутурина и др. // Акушерство и гинекология. – 2013. – №7. – С. 56-62.
20. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых / Е.А. Пигарова, Л.Я. Рожинская, Ж.Е.Белая и др. // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62. - №4. – С.60-84
21. Клиническое значение стволовых клеток рака молочной железы (обзор литературы) / И.Б. Щепотин, А.С. Зотов, Р.В. Любота [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. - 2014. - №3. - С.14-19.
22. Коган И.Ю. Гиперпластические процессы в молочных железах у женщин (патогенез, диагностика, прогнозирование течения): дис. ... д-ра мед. наук / И.Ю. Когана. – С-Петербург, 2008. – 291 с.
23. Коган И.Ю. Мастопатия: новые подходы к диагностике и патогенетической терапии. / И.Ю. Коган // Журнал акушерства и женских болезней. – 2010. – Т. LIX. – Вып. 1. – С.66-70.
24. Коган И.Ю. Местное применение микронизированного прогестерона у больных репродуктивного возраста с мастопатией / И.Ю. Коган, Е.В. Мусина // Акушерство и гинекология. – 2012. - №2. – С. 102-106.
25. Коган И.Ю. Прогестерон в лечении мастопатии. Монография / И.Ю. Коган, М.О. Мясникова, Е.В. Мусина; под ред. Э.К. Айламазяна. – С-Петербург: Лема, 2012. – 68 с.

26. Корженкова Г.П. Фиброзно-кистозная мастопатия: вариант нормы или болезнь? / Г.п. Корженкова // Онкогинекология. – 2012. - №3. – С.46-55
27. Косторнова О.С. Дефицит витамина D: природа, распространенность, факторы, приводящие к дефициту, и последствия / О.С. Косторонова, К.С. Светлицкий, Ю.С. Кравцова // Актуальные направления научных исследований: от теории к практике. – 2015. – №3(5). – С.68-69.
28. Кравченко Е.Н. Состояние молочных желез при гинекологических заболеваниях (литературный обзор) / Е.Н. Кравченко, М.А. Ожерельева // Мать и дитя в Кузбассе. - 2014. - №2. - С. 19-23.
29. Кузнецова И.В. Лечебные и профилактические эффекты витамина D при гинекологических заболеваниях, связанных с избыточной пролиферацией / И.В. Кузнецова //Акушерство и гинекология. – 2018. - №4. – С.138-143
30. Летагин В.П. Мастопатия / В.П. Летагин // РМЖ. – 2000. - №11. – С.2-7.
31. Липонекроз молочной железы: ультразвуковые маски / Е.П. Фисенко, Д.В. Мельников, О.И. Старцева и др. // Ультразвуковая и функциональная диагностика. – 2015. – №3. – С. 13-25.
32. Магомедов А.М. Фиброзно-кистозная мастопатия и сопутствующая патология / А.М. Магомедов, Н.А. Магомедов, А.В. Хорошкевич // Международный студенческий научный вестник. – 2016. – № 2. – С.1.
33. Майлян Э.А. Влияние генетических полиморфизмов генов системы витамина D на сывороточный уровень 25(ОН)D (Обзор) / Э.А. Майлян // Вестник Смоленской государственной академии. – Т.16 (№1). – С.19-25
34. Максимов М.Л. Лечение мастопатии и масталгии / М.Л. Максимов // Лечащий врач. – 2014. - №12. - С.25-27.
35. Медицина молочной железы и гинекологические болезни / Под редакцией В.Е. Радзинского М.: Медиабюро Статус Презенс, 2017 – 352 с.
36. Мелихова В.С. Создание функциональной ткани молочной железы из одной стволовой клетки / В.С. Мелихова // Журнал Гены и клетки. – 2006. - Т. 1. - №1. - С.21-22.

37. Мкртчян Н.С. Ультразвуковая диагностика в оценке эффективности лечения мастопатии: дис. ... канд. мед. наук / Н.С. Мкртчян. – Москва, 2005. – 140 с.
38. Молекулярно-генетические предикторы развития доброкачественных заболеваний молочных желез / Е.А. Павлова, И.М. Ордянец, Н.Д. Плаксина и др. // Вестник Российского университета Дружбы народов. – 2013. - №55. – С.225-229
39. Мусина Е.В. Мастопатия: патогенез и возможность коррекции / Е.В. Мусина, И.Ю. Коган // Акушерство и гинекология. 2016. - №10 – С.33-38.
40. Новикова В.А. Факторы риска рака молочной железы в репродуктивном возрасте / В.А. Новикова // Акушерство и гинекология. – 2015. – № 10. – С. 27-34.
41. Новикова В.А. Доброкачественная дисплазия молочной железы и комбинированные оральные контрацептивы / В.А. Новикова, Г.А. Пенжоян, О.К. Федорович // Акушерство и гинекология. – 2016. - №4. – С. 145-150.
42. Овсянникова Т.В. Эффективность фитотерапии доброкачественных заболеваний молочных желез в гинекологической практике / Т.В. Овсянникова, И.А. Куликов // Consilium Medicum. – 2017. – Т.19. – №6. – С.62-65
43. О противоопухолевом эффекте препаратов витамина Д3: фундаментальные исследования и доказательная медицина / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, С.Е. Малыгин и др. // Фарматека. -2014. - №19(292). - С. 48-58.
44. Пестрикова Т.Ю. Витамин d и его роль в формировании постменопаузальных расстройств (обзор литературы) / Т.Ю. Пестрикова, Т.В. Ячинская // Гинекология. – 2015. – Т.17. – №4. – С.19-22.
45. Плещева А.В. Витамин d и метаболизм: факты, мифы и предубеждения / А.В. Плещева, Е.А. Пигарова, Л.К. Дзеранова // Ожирение и метаболизм. – 2012. – № 2. – С. 33-42.
46. Подзолкова Н.М. Пролактин и молочные железы. Новые данные рандомизированных исследований / Н.М. Подзолкова, Л.В. Сумятина, Ю.А. Мохова // Акушерство и гинекология. – 2015. – №12. – С.46-50.
47. Попов Э.Н. Особенности фиброзно-кистозной болезни молочной железы у женщин с гиперпластическими процессами матки / Э.Н. Попов, И.Ю. Коган, Е.Н.

- Байлюк // Журнал акушерства и женских болезней. – 2012. – Т. LXI. – Вып. 1. – С. 68-72.
48. Практическая маммология / Под ред. М.И. Давыдова, В.П. Летягина. — М.: Практическая медицина. - 2007. – 272 с.
49. Практические рекомендации по лекарственной коррекции диффузной дисгормональной дисплазии молочных желез / И.В. Высоцкая, В.П. Летягин, Е.А. Ким и др. // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2014. - №2. - С.45-52.
50. Прилепская В.Н. Доброкачественные заболевания молочных желез: принципы терапии в помощь практическому врачу / В.Н. Прилепская, О.Б. Швецова // Гинекология. – 2000. – Т. 2. – №6. – С. 201-204.
51. Прилепская В.Н. Предменструальный синдром / В.Н. Прилепская, Е.А. Межевитинова // Гинекология. – 2005. – Т. 7, № 4. – С. 210-214.
52. Прилепская В.Н. Фиброзно-кистозная болезнь молочных желез: возможности негормональной терапии / В.Н. Прилепская, Т.Т. Тагиева // Медлайн-Экспресс. – 2008. - №5. – С.10-17.
53. Прилепская В.Н. Мастодиния: возможности терапии с применением микронизированного прогестерона / В.Н. Прилепская, Т.Н. Бебнева // Клиническая практика. - 2010. - №3 (3). - С 84-91.
54. Прогнозирование возникновения доброкачественной патологии молочных желез у женщин репродуктивного возраста / А.С. Жирнова, П.П. Курлаев, Н.Н. Шевлюк и др. // Альманах молодой науки. – 2016. – №3 – С.13-15.
55. Прогностическая значимость новых иммуногистохимических маркеров (ALDH1, RANK, OPG) у больных раком молочной железы / Е.А. Маслюкова, Л.И. Корытова, Г.А. Раскин и др. // Медицинский алфавит. – 2016. – Т. 1. - №25(288). - С.54-58.
56. Рак молочной железы и опухолевые клетки. Обзор / И.А. Смирнова, А.А. Енилеева, О.Н. Матчук и др. // Радиация и риск (бюллетень национального радиационно-эпидемиологического регистра). – 2016. – Т. 25. - №4. – С. 31-47.
57. Рожкова Н.И. Лучевая диагностика в маммологии. Руководство для врачей. М.: Изд-во СпецИздат. – 2014. – 128 с.

58. Рожкова Н.И. Молочная железа и пролактин: новые данные о роли пролактина в генезе заболеваний молочных желез / Н.И. Рожкова, Н.М. Подзолкова, Т.В. Овсянникова // Здоровье женщины. – 2018. - №1(127). – С.14-18.
59. Роль стволовых клеток рака молочной железы в метастазировании / Г.А. Дашян, В.Ф. Семиглазов, Р.В. Донских и др. // Вопросы онкологии. - 2015. – Т. 61. - № 2. - С.169-173.
60. Руженков В.А. психические расстройства у женщин с доброкачественной дисплазией молочной железы / В.А. Руженков, Е.А. Шуличенко // Современные проблемы науки и образования. – 2016. – №4. –С.52-60.
61. Своевременное лечение диффузных гиперплазий – профилактика рака молочной железы / Н.И. Рожкова, И.И. Бурдина, С.Б. Запирова и др. // Онкогинекология. – 2016. –№1. – С.4-11.
62. Синчикин С.П. Применение витаминов-антиоксидантов при фиброзно-кистозной мастопатии у гинекологических больных / С.П. Синчикин, О.Б. Мамиев // Астраханский медицинский журнал. – 2008. – Т. 3 (№2). – С.83-89.
63. Скрининг и ранняя диагностика гинекологического рака / Г.Т. Сухих, В.А. Солодкий, Л.А. Ашрафян, Н.И. Рожкова - М.: Молодая гвардия, 2011. – 200 с.
64. Содержание половых гормонов, пролактина и метаболитов эстрогенов в перифокальной зоне при злокачественной и доброкачественной пролиферации в молочной железе / О.И. Кит, Е.М. Франциянц, В.А. Бандовкина, М.И. Верескунова и др. // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2012. - №22 (141). – Вып. 20/2. – С.113-116
65. Солнцева И.А. Возможности эхографии в диагностике диффузного фиброаденоматоза молочных желёз: автореф. дис. ... канд. мед. наук / И.А. Солнцева. - СПб, 2002. – 32 с.
66. Соломонова А. М. Комплексная лучевая диагностика и оценка эффективности лечения гиперпластических процессов молочной железы: дис. ... канд. мед. наук / А.М. Соломонова. – Астана, 2015. – 167 с.

67. Сотникова Л.С. К вопросу эффективности терапии доброкачественной патологии молочных желез / Л.с. Сотникова, Е.В. Голубятникова // Эффективная фармакотерапия. – 2016. – №31. – С.12-18
68. Спиричев В.Б. О биологических эффектах витамина D / В.Б. Спиричев // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. - 2011. - Т.90. - №6. - С. 113-119.
69. Способ лечения диффузных мастопатий: пат. 2010561 Россия: МПК А61Н39/00 / Егина Л.В. и др.; заявители и патентообладатели Л.В. Егина, А.Ф. Жаркин, Л. В. Ткаченко, А.Г. Фальянц. - №4885873/14; заявл. 26.11.90; опубл. 15.04.94. – 3 с.
70. Стволовые опухолевые клетки – новые горизонты в прогнозе течения рака молочной железы / Е.А. Маслюкова, С.И. Заброда, Л.И. Корытова и др. // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2015. – Т. 11. - №3. - С.10-14.
71. Стволовые опухолевые клетки при раке молочной железы / А.А. Иванов, О.П. Попова, А.В. Кузнецова и др. // Архив патологии. - 2015. – Т. 77. - №5. - С.64-67.
72. Тагиева Т.Т. Факторы риска развития заболеваний молочных желез/ Т.Т. Тагиева // Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. - 2007. - Т.18. - №2. - С. 68-73.
73. Тагиева Т.Т. Фиброзно-кистозная болезнь молочных желез в практике гинеколога (диагностика, прогнозирование, тактика ведения): дис. ...д-ра мед. наук / Т.Т. Тагиева. - Москва, 2009. – 253 с.
74. Трошина Е.А. Перспективы в лечении рака молочной железы у женщин в постменопаузе с избыточной массой тела и ожирением / Е.А. Трошина, П.О. Румянцев, М.В. Алташина и др. // Ожирение и метаболизм. - 2013. - №3. - С. 3-10.
75. Трубникова Л.И. Комплексное обследование и лечение женщин с заболеваниями молочных желез и половых органов / Л.И. Трубникова, Н.Ю. Тихонова, Н.А. Савинова // Ульяновский медико-биологический журнал. - 2013. - №3. - С. 65-75.
76. Ультрасонография и рентгеновская маммография в диагностике рака молочной железы, развившегося на фоне мастопатии / Д.Г. Бухарин, С.А. Величко, И.Г. Фролова, С.В. Лунева // Сибирский медицинский журнал. - 2012. – Т. 27 (№1). - С. 99-102

77. Фишер У. Маммография: 100 клинических случаев / Уве Фишер, Фридеманн Баум; Пер. с англ.; Под общ. ред проф. Н.В. Заболотской. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 368 с.
78. Ханафиев Г.Х. Лечение мастодинии и масталгии в пери- и постменопаузе / Г.Х. Ханафиев // Акушерство и гинекология. – 2014. - №11. – С. 113-115.
79. Харченко В.П. Маммология. Национальное руководство / В.П. Харченко, Н.И. Рожкова. - М.:ГЭОТАР-медиа, 2009. – 328 с.
80. Чистяков С.С. Онкологические аспекты заболеваний молочных желез / С.С. Чистяков, З.Р. Габуня, О.П. Гребенникова // Гинекология. – 2001. - Т. 3. - № 5. – С. 184-187.
81. Эль Акад Е.В. Закономерности гормональной регуляции при диффузной доброкачественной дисплазии молочных желез: автореф. дис. ... канд. мед. наук. / Е.В. Эль Акад. – Томск, 2014. – 23 с.
82. Aboelnaga M.M 25-hydroxyvitamin D Correlation with Prolactin Levels and Adenoma Size in Female Patients with Newly Diagnosed Prolactin Secreting Adenoma / M.M. Aboelnaga, N Abdullah, El Shaer M // Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. – 2017. – V. 17(3). – P.219-225.
83. ACR appropriateness criteria for breast cancer screening / Martba B. Mainiero, Ana Lourenco, Mary C. Maboney et al. // J. Am. Coll. Radiol. - 2013. – V.10. – P.11-14.
84. ACR BI-RADS® Atlas, Breast Imaging Reporting and Data System / C.J. D’Orsi, E.A. Sickles, E.B. Mendelson, E.A. Morris et al. // Reston, VA, American College of Radiology; 2013.
85. Action of 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> on the cell cycle genes, cyclin D1, p21 and p27 in MCF-7 cells / L. Verlinden, A. Verstuyf, R. Convents et al. // Mol. Cell. Endocrinol. – 1998. – V.142. – P.57-65.
86. Age-related changes in the epithelial and stromal compartments of the mammary gland in normocalcemic mice lacking the vitamin D<sub>3</sub> receptor / J Welsh, L.N. Zinser, L Miannecki-Morton et al. // PLoS One. – 2011. – V.6 (1) - e16479.
87. Alterations in Vitamin D signalling and metabolic pathways in breast cancer progression: a study of VDR, CYP27B1 and CYP24A1 expression in benign and

- malignant breast lesions / N. Lopes, B. Sousa, D. Martins et al. // *BMC Cancer*. - 2010. – V.10:483.
88. An analysis of the association between the vitamin D pathway and serum 25-hydroxyvitamin D levels in a healthy Chinese population / Z. Zhang, He J-W., Fu W-Z et al. // *J. Bone and Min. Res.* – 2013. – V. 28(8). – P. 1784-1792.
89. Angela L.W. Meisner *Breast Disease: Benign and Malignant* / Angela L.W. Meisner, M.H. Fekrazad, Melanie E. Royce // *Med. Clin. N. Am.* – 2008. – V.92. – P. 1115–1141.
90. Arendt L.M. Transgenic models to study actions of prolactin in mammary neoplasia / L.M. Arendt, L.A. Schuler // *Mammary Gland Biol. Neoplasia*. – 2008. – V.13 (1). – P. 29-40.
91. Assessment of functional variants and expression of long noncoding RNAs in vitamin D receptor signaling in breast cancer / V. K. Oskooei, L. Geranpayeh, M. D. Omrani et al. // *Cancer Management and Research* 2018. – V.10. – P. 3451–3462
92. Association of breast cancer progression with a vitamin D receptor gene polymorphism/ A.C.Lundin, P. Soderkvist, B. Eriksson et al. // *Cancer Res.* – 1999. – № 59. – P. 2332-2334.
93. Autocrine metabolism of vitamin D in normal and malignant breast tissue / K. Townsend, C.M. Banwell, M. Guy et al. // *Clin Cancer Res.* – 2005. – V. 11. – P.3579-3586.
94. Banerjee P. Antiproliferative role of vitamin D and its analogs—a brief overview / P. Banerjee, M. Chatterjee // *Mol Cell Biochem.* – 2003. – V.253. – P.247 - 54.
95. Benign breast biopsy diagnosis and subsequent risk of breast cancer/ E.L. Ashbeck, R.D. Rosenberg, P.M. Stauber et al. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2007. – V.16 (3). – P. 467– 472.
96. Benign breast disease, mammographic breast density, and the risk of breast cancer / J.A. Tice, E.S. O'Meara, D.L. Weaver et al. // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 2013. – V. 105(14). – P.1043-1049.

97. Benign breast disease and the risk of breast cancer in the next 15 years Rev. / D. Socolov, I. Anghelache, C. Ilea et al. // *Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi.* – 2015. – V. 119 (1). – P.135-140.
98. Bernichtein S. New concepts in prolactin biology/ S. Bernichtein, P. Tourain, V. Goffin // *J. Endocrinol.* – 2010. – V. 206. – P. 1-11.
99. Boonyaratanakornkit V. The role of ovarian sex steroids in metabolic homeostasis, obesity and postmenopausal breast cancer/ V. Boonyaratanakornkit, P. Pateetin // *Biomed. Res. Int.* – 2015. – V. 34 (7). – P. 234-239.
100. Breast cancer risk after diagnosis by screening mammography of nonproliferative or proliferative benign breast disease: a study from a population-based screening program / X. Castells, L. Domingo, J.M. Corominas et al. // *Breast. Cancer. Res. Treat.* - 2015. – V. 149(1). – P. 237-44.
101. Breast cancer stem cells: the roles and therapeutic implications / F. Yang, J. Xu, L. Tang et al. // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2017. – V.74, №6. – P. 951-966.
102. Campbell M.J. Vitamin D and the RNA transcriptome: more than mRNA regulation / Moray J. Campbell // *Front. Physiol.* – 2014. – V.5. – P.1-13
103. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genomewide association study / T.J. Wang, F. Zhang, J.B. Richards [et al.] // *Lancet.* – 2010. – V.376 (9736). – P.180-188.
104. Control of TCF-4 expression by VDR and vitamin D in the mouse mammary gland and colorectal cancer cell lines / M.E. Beildeck, M. Islam, S. Shah et al. // *PLoS One.* - 2009. - V 4 (11). - e7872
105. Consequences of vitamin D receptor gene polymorphisms for growth inhibition of cultured human peripheral blood mononuclear cells by 1,25-dihydroxyvitamin D / E.M. Colin, A.E. Weel, A. G. Uitterlinden et al. // *Clin. Endocrinol. (Oxford).* – 2000. – №52. – P. 211-216;
106. Cui Y. Vitamin D, calcium, and breast cancer risk: a review / Y. Cui, T.E. Rohan // *Cancer. Epidemiol. Biomarkers. Prev.* - 2006. – V. 15(8). – P.1427-37.

107. Cystic Breast Masses and the ACRIN 6666 Experience / Wendie A. Berg, Alan G. Sechtin, Helga Marques et al. // Radiologic. Clinics. of North America. - 2010. - V. 48 (5). – P. 931-987.
108. Deeb K.K. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics / K.K. Deeb, D.L. Trump, C.S. Johnson // Nat. Rev. Cancer. – 2007. – V.7. – P.684-700.
109. Detection of Breast Cancer with Addition of Annual Screening Ultrasound or a Single Screening MRI to Mammography in Women with Elevated Breast Cancer Risk / W.A. Berg, Zh.Zhang, D. Lehrer et al. // JAMA. – 2012. – V. 307, № 13. – P. 1394-1404
110. Diagnosis and management of benign, atypical, and indeterminate breast lesions detected on core needle biopsy / L. Neal, N.P. Sandhu, T.J. Hieken et al. // Mayo Clin Proc. - 2014 . – V. 89(4). – P.536-47.
111. Dynamic equilibrium between cancer stem cells and non-stem cancer cells in human SW620 and MCF-7 cancer cell populations / G. Yang, Y. Quan, W. Wang et al. // Br. J. Cancer. - 2012. - V.106. - P. 1512-1519
112. Dyrstad S.W. Breast cancer risk associated with benign breast disease: systematic review and meta-analysis / S.W. Dyrstad, Yan Y., Fowler A.M., Colditz G.A // Breast Cancer Res. Treat. – 2015. – V.149 (3). – p. 569-75.
113. Efficacy of vitamin D compounds to modulate estrogen receptor negative breast cancer growth and invasion / L. Flanagan, K. Packman, B. Juba et al. // J. Steroid Biochem. Mol. Biol. – 2003. – V. 84. – P.181–192.
114. Eman Abd-Elkader Abd-Elsalam Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk among postmenopausal Egyptian women / Eman Abd-Elkader Abd-Elsalam, Nadia A. Ismaeil, Hoda Sibai Abd-Alsalam // Tumor Biology. – 2015. – V. 36 (Issue 8) – P. 6425–6431
115. Endogenous estrogen, androgen, and progesterone concentrations and breast cancer risk among postmenopausal women / S.A. Missmer, A.H. Eliassen, R.L. Barbieri, S.E. Hankinson // J. Natl. Cancer. Inst. – 2004. – V. 96 (24). – P.1856-65.

116. Endogenous hormone levels, mammographic density, and subsequent risk of breast cancer in postmenopausal women / R.M. Tamimi, C. Byrne, G.A. Colditz GA Hankinson S.E. // *J. Natl Cancer Inst.* – 2007. - V. 99 (15). – P.1178-87.
117. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease / J.P. Thiery, H. Acloque, R.Y. Huang, M. A. Nieto // *Cell.* – 2009. – V.139. – P.871-890.
118. Epithelial-stromal interactions in human breast cancer: effects on adhesion, plasma membrane fluidity and migration speed and directness / C. Angelucci, G. Maulucci, G. Lama et al. // *PLoS One.* - 2012; V.7, №12- e50804.
119. Evidence for genetic regulation of vitamin D status in twins with multiple sclerosis /S.M. Orton, A.P. Morris, B.M. Herrera et al. // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2008. – V.88. – P. 441-447
120. Fok I Polymorphism of vitamin D receptor gene contributes to breast cancer susceptibility: a meta-analysis/ C. Tang, N. Chen, M. Wu et al. // *Breast .Cancer. Res. Treat.* - 2009. – V117. - P. 391-399.
121. Garg M. Serum Vitamin D and Risk of Clinical Relapse in Patients With Ulcerative Colitis / M. Garg // *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* – 2017. – V. 15(7). – P.1136.
122. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms / A. G. Uitterlinden, Y. Fang, J.B. Van Meurs et al. // *Gene.* – 2004. – V.338. – P.143-156.
123. Genetic Variants in Vitamin D Pathway Genes and Risk of Pancreas Cancer; Results from a Population-Based Case-Control Study in Ontario, Canada / L.N. Anderson, M. Cotterchio, J.A. Knight et al. // *PLoS ONE.* – 2013. – <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066768>
124. Geographic variation in breast cancer mortality in the United States: a hypothesis involving exposure to solar radiation / F. Garland, C. Garland, E.Gorham et al. // *Prev. Med.* - 1990. - №19. - P. 614-622.
125. Goffin V. Prolactin receptor targeting in breast and prostate cancers: New insights into an old challenge / V. Goffin // *Pharmacol. Ther.* - 2017. – V. 179. – P.111-126.
126. Gorham E. Acid haze air pollution and breast and colon cancer in 20 Canadian cities / E. Gorham, C.F. Garland, F. Garland // *Can. J. Publ Health.* – 1989. – №80. – P. 96-100.

127. Hanahan D. Hallmarks of cancer: the next generation / D. Hanahan, R.A. Weinberg // *Cell*. 2011. – V. 144. – P. 646–674.
128. Hansen C.M. 1 alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits the invasive potential of human breastcancer cells in vitro / C.M. Hansen, T.L. Frandsen, N. Brunner, L Binderup // *Clin. Exp. Metastasis*. – 1994. – V.12. – P.195-202.
129. Holmes M.D. Mammographic density and diet / M.D. Holmes, S.E. Hankinson, C. Byrne // *Am. J. Epidemiol.* – 2001. – V.153:S10.
130. Increased vitamin D and calcium intake associated with reduced mammographic breast density among premenopausal women / A.M. Fair, T.J. Lewis, M. Sanderson et al. // *Nutr. Res.* – 2015. – V. 35 (10). – P. 851-857.
131. Inhibition of angiogenesis by vitamin D analogues / T. Oikawa, K. Hirotani, H. Ogasavara et al. // *Eur. J. Pharmacol.* – 1990. – №178. – P.247-250.
132. Inhibition of c-myc in breast and ovarian carcinoma cells by 1,25-dihydroxyvitamin D3, retinoic acid and dexamethasone / DE Saunders, C Christensen, NL Wappler et al. // *Anticancer Drugs*. – 1993. – V. 4. – P.201-20.
133. Inhibitory effects of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D(3) on the G(1)-S phase-controlling machinery / S.S. Jensen, M.W. Madsen, J. Lukas et al. // *Mol. Endocrinol.* – 2001. – V.15. – P.1370-1380.
134. Intrinsic resistance of tumorigenic breast cancer cells to chemotherapy / X. Li, M.T. Lewis, J. Huang et al. // *J.Natl. Cancer Inst.* - 2008. - V.100. - P. 672-679.
135. IOF position statement: vitamin D recommendations for older adults / B. Dawson-Hughes, A. Mithal, J.P. Bonjour et al. // *Osteoporos. Int.* - 2010. – V. 21(7). – P.1151-1154.
136. JNK1 stress signaling is hyper-activated in high breast density and the tumor stroma: connecting fibrosis, inflammation, and stemness for cancer prevention/ M.P. Lisanti, A. Tsigirigos, S. Pavlides et al. // *Cell. Cycle*. – 2014. – V. 13. – P. 580-599.
137. Johnson A.L. Loss of vitamin D receptor signaling from the mammary epithelium or adipose tissue alters pubertal glandular development / A.L. Johnson, G.M. Zinser, S.E. Waltz // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* - 2014. – V. 307(8). - E674-85.

138. Karthikayan A. Low serum 25-hydroxy vitamin D levels are associated with aggressive breast cancer variants and poor prognostic factors in patients with breast carcinoma / A. Karthikayan, S. Sureshkumar, D. Kadambari, C.Vijayakuma // Arch. Endocrinol. Metab. – 2018. – V.62(4) – P. 452-459.
139. Kavarthapu R. Role of EGF/ERBB1 in the transcriptional regulation of the prolactin receptor independent of estrogen and prolactin in breast cancer cells / R. Kavarthapu, M.L. Dufau // Oncotarget. - 2016. – V. 7(40). – P.65602-65613.
140. Kavarthapu R. Essential role of endogenous prolactin and CDK7 in estrogen-induced upregulation of the prolactin receptor in breast cancer cells / R. Kavarthapu, M.L. Dufau // Oncotarget. - 2017. – V. 8(16). – P. 27353-27363.
141. Kay W. Vitamin D and breast cancer risk / W. Kay // Colston Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. - 2008. - V.22 (4). - P.587-599.
142. Khan Q.J. The relationship between vitamin D and breast cancer incidence and natural history / Q. J. Khan, B. F. Kimler, C.J. Fabian // Curr. Oncol. Rep. – 2010. – 12(2). – P. 136–142.
143. Koli K. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and its analogues down-regulate cell invasion-associated proteases in cultured malignant cells / K.Koli, J. Keski-Oja // Cell. Growth. Differ. – 2000. – V.11. – P. 221-229.
144. Kotival S. Breast cancer stem cells, EMT and therapeutic targets / S. Kotival, S. Bhattacharva // Biochem Biophys Res Commun. – 2014. - 453(1). – P. 112-116.
145. Kundu J.K. Emerging avenues linking inflammation and cancer / J.K. Kundu, Y.J. Surh // Free. Radic. Biol. Med. - 2012. - V. 52 (9). - P. 2013–2037.
146. Lord R.S. Estrogen metabolism and the diet-cancer connection: rationale for assessing the ratio of urinary hydroxylated estrogen metabolites / R.S Lord, B. Bongiovanni, J.A Bralley // Altern. Med. Rev. -2002. – V. 7 (2). – P.112-129.
147. Lundqvist J. Williams syndrome transcription factor (WSTF) acts as an activator of estrogen receptor signaling in breast cancer cells and the effect can be abrogated by 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D(3) / J. Lundqvist, T. Kirkegaard, A.V. Laenholm // J. Steroid. Biochem. Mol. Biol. – 2017. – V. 177. – P.171-178.

148. Mammary gland 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor content during pregnancy and lactation / K.W. Colston, U. Berger, P. Wilson et al. // *Mol. Cell Endocrinol* - 1988. – V.60. – P.15–22
149. Mammographic density, plasma vitamin D levels and risk of breast cancer in postmenopausal women / A.K. Green, S.E. Hankinson, E.R. Bertone-Johnson et al. // *Int. J. Cancer*. - 2010. – V. 127(3). – P.667-674.
150. Mammographic Density and Vitamin D Levels - A Cross-sectional Study / L. Straub, J. Riede, Peter B. Luppa et al. // *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 2017. - V. 77(3). – P. 257-267.
151. Management of Aromatase Inhibitor-Associated Bone Loss (AIBL) in postmenopausal women with hormone sensitive breast cancer: Joint position statement of the IOF, CABS, ECTS, IEG, ESCEO IMS, and SIOG / P. Hadji, M.S. Aapro, J.J. Body [et al.] // *J. Bone. Oncol.* - 2017. – V. 23(7). – P.1-12.
152. Mantell D.J. 1,25(OH)<sub>2</sub>D inhibits angiogenesis in vitro and in vivo/ D.J. Mantell, P.E. Owens, N.J. Bundred et al. // *Circ. Res.* – 2000. – V.87. – P.214-220.
153. Mechanisms implicated in the growth regulatory effects of vitamin D compounds in breast cancer cells / L. Lowe, C.M. Hansen, S. Senarathe et al. // *Recent. Results. Cancer. Res.* – 2003. – V.164. – P.99-110.
154. Meggan E.V. Vitamin D Receptor-Dependent Inhibition of Mammary Tumor Growth by EB1089 and Ultraviolet Radiatio in Vivo / E. V. Meggan, A. H. Brunet, JoEllen Welsh // *Endocrinology*. - 2007. – V.148. – P. 4887–4894.
155. Mezzetti G. 1,25-Dihydroxycholecalciferol receptor regulation in hormonally induced differentiation of mouse mammary gland in culture / G. Mezzetti, B. Barbiroli, T. Oka // *Endocrinology*. - 1987. – V.120. – P.2488 –93.
156. Modulation of cell cycle control by vitamin D<sub>3</sub> and its analogue, EB1089, in human breast cancer cells / G. Wu, R.S. Fan, W. Li et al. // *Oncogene*. – 1997. – V. 15. – P.1555-1563.
157. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on eye disorders: A critical review / M. Nebbioso, G. Buomprisco, A. Pascarella et al. // *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* – 2017. – V.57(3). – P.559-565.

158. Molecular nature of the vitamin D receptor and its role in regulation of gene expression. Rev. / P.W. Jurutka, G.K. Whitfield, J.C Hsieh et al. // *Endocr. Metab. Disord.* – 2001. - V. 2 (2). – P. 203–216.
159. Morrow M. Current management of lesions associated with an increased risk of breast cancer / M. Morrow, S.J. Schnitt, L. Norton // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* - 2015. – V.12 (4). – P. 227-238.
160. Neal L. Clinician's Guide to Imaging and Pathologic Findings in Benign Breast Disease/ L. Neal, C. L. Tortorelli, A. Nassar // *Mayo. Clinic. Proceedings.* - 2010. – V.85. – № 3. – P.274-279
161. Nonnuclear effects of the steroid hormone 1 alpha,25(OH)<sub>2</sub>-vitamin D<sub>3</sub>: analogs are able to functionally differentiate between nuclear and membrane receptors / MC Dormanen, JE Bishop, MW Hammond et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1994. – V. 201. – P.394-401.
162. Novel vitamin D analogs as potential therapeutics: metabolism, toxicity profiling, and antiproliferative activity / J. Chen, J. Wang, T.K. Kim et al. // *Anticancer Res.* – 2014. - V.34 (5). – P. 2153–2164.
163. O’Leary K.A. Modeling prolactin action in breast cancer in vivo/ K.A. O’Leary, M.P. Shea, L.A. Schuler // *Adv. Exp. Med.Biol.* – 2015. – №846. – P.201-220.
164. Osanai M. CYP24A1-induced vitamin D insufficiency promotes breast cancer growth / M. Osanai, Lee GH // *Oncol. Rep.* – 2016. – V. 36(5). – P.2755-2762.
165. Pérez-López F.R. Review article: vitamin D acquisition and breast cancer risk / F.R. Pérez-López, P. Chedraui, J. Haya // *Reprod. Sci.* – 2009. – V. 16(1). – P.7-19.
166. Pirianov G. Interaction of vitamin D analogs with signaling pathways leading to active cell death in breast cancer cell / G. Pirianov, K.W. Colston // *Steroids.* – 2001. – V. 66. – P.309-18.
167. Plasma 25 Hydroxyvitamin D and Risk of Breast Cancer in Women Followed over 20 Years / A.H. Eliassen, E.T. Warner, B. Rosner et al. // *Cancer. Res.* – 2016. – V.76 (18). – P. 5423-30

168. Plasma 25-hydroxy-vitamin D concentration, vitamin D receptor genotypes and breast cancer risk in UK Caucasian population / L.C. Lowe, M. Guy, J.L. Mansi et al. // *Eur.J. Cancer.* – 2005. – №41. – P.1164-1169
169. Polymorphisms and breast cancer risk in a high-incidence population: a pilot study/ K.M. Dalessandri, R. Miike, J.K. Wiencke et al. // *J.Am.Coll.Surg.* – 2012. – V. 21. - № 5. – P. 652-657.
170. Premenopausal plasma 25-hydroxyvitamin D, mammographic density, and risk of breast cancer / A. Kimberly Bertrand, Bernard Rosner, A. Heather Eliassen et al. // *Breast Cancer Res Treat.* - 2015. – V. 149(2). – P. 479-487.
171. Probably Benign lesions at screening Breast Us in a Population with elevated risk: Prevalence and Rate of Malignancy in the ACRIN 6666 / Richard G. Barr, Zheng Zhang, Jean B. Cormack et al. // *Trial. Radiology.* - 2013. – V. 269 (3). - P.701-712.
172. Progesterone receptors (PR) mediate STAT actions: PR and prolactin receptor signaling crosstalk in breast cancer models / K.A. Leehy, T.H. Truong, L.J. Mauro et al. // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* – 2018. – V.176. – P. 88-93.
173. Prognostic effects of 25-hydroxyvitamin D levels in early breast cancer. Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI et al. // *J. Clin. Oncol.* – 2009. – V.27. – P.3757–3763.
174. Prognostic role of vitamin D status and efficacy of vitamin D supplementation in cancer patients: a systematic review / C. Buttigliero, C. Monagheddu, P. Petroni et al. // *Oncologist.* - 2011. –V. 16 (9). - P. 1215-27.
175. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells / M. Al-Hajj, M.S. Wicha, A. Benito-Hernandez et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* - 2003. - V.100. - P. 3983-3988
176. Ramagopalan S.V. A ChIP-seq defined genome-wide map of vitamin D receptor binding: Associations with disease and evolution / S.V. Ramagopalan, A. Heger, A.J. Berlanga // *Genome. Res.* - 2010. – V 20 (10). – P.1352-1360.
177. Reduced pre-diagnostic 25-hydroxyvitamin D levels in women with breast cancer / L. Rejnmarka, A. Tietzeb, P. Vestergaarda et al. // *Bone.* - 2009. – V.44. – S.162-167.

178. Review and metaanalysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk / S. Raimondi, H. Johansson, P. Maisonneuve et al. // *Carcinogenesis*. - 2009. - V.30. - P. 1170-1180.
179. S179D prolactin increases vitamin D receptor and p21 through up-regulation of short 1b prolactin receptor in human prostate cancer cells / W. Wu, E. Ginsburg, B.K. Vonderhaar et al. // *Cancer. Res.* – 2005. – V. 65(16). – P.7509-15.
180. Sequencing of breast cancer stem cell populations indicates a dynamic conversion between differentiation states in vivo / D. Klevebring, G. Rosin, R. Ma et al. // *Breast. Cancer Res.* - 2014. - V.16. - R72.
181. Serum 25-hydroxyvitamin D levels and survival in colorectal and breast cancer patients: Systematic review and meta-analysis of prospective cohort studies / H. Maalmi, J. M. Ordonez-Mena, B. Schottker et al. // *European. J. of Cancer.* – 2014. – V. 50. – P.1510–152.
182. Serum 25–Hydroxyvitamin D3 and Mammography Density among Mexican Women / Amina Amadou, Carine Biessy, Sabina Rinaldi et al. // *PLOS ONE.* – 2016. – V. 11(8). – e0161686
183. Serum 25-hydroxyvitamin D and the risk of cardiovascular disease: dose-response meta-analysis of prospective studies / R. Zhang, B. Li, X. Gao et al. // *Am. J. Clin. Nutr.* – 2017. - V. 105 (4). – P.810-819.
184. Shetty M.K. Sonographic findings in focal fibrocystic changes of the breast / M. K. Shetty, Y.P. Shan // *Ultrasound. Q.* – 2002. – V.18 (1). – P. 35-40.
185. Simboli-Campbell M. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 induces morphological and biochemical markers of apoptosis in MCF-7 breast cancer cells / M. Simboli-Campbell, C.J. Narvaez, M. Tenniswood, J. Welsh // *J. Steroid. Biochem Mol Biol.* – 1996. – V.58. – P.367-376.
186. Standing committee on the scientific evaluation of dietary reference intakes. Vitamin D: DRI (dietary reference intakes) for calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and fluoride. Washington, DC: National Academies Press: 1997. - p. 250-287.
187. Stimulation of in-vitro angiogenesis by low concentrations of risedronate is mitigated by 1,25-dihydroxyvitamin D3 or 24,25-dihydroxyvitamin D3 / Quesada-Gómez

J.M., Santiago-Mora R., Navarro-Valverde C. et al. // *J. Steroid. Biochem Mol. Biol.* – 2015. – V.148. – P.214-218.

188. Stromal gene expression predicts clinical outcome in breast cancer / G. Finak, N. Bertos, F. Pepin et al. // *Nat. Med.* – 2008. – V.14, №5. – P.518–527.

189. Swami S. 1,25-Dihydroxyvitamin D downregulates estrogen receptor abundance and suppress estrogen actions in MCF-7 human breast cancer cells / S. Swami, A.V. Kishnan, D. Feldman // *Clin. Cancer.Res.* – 2000. – V. 6 (8). – P. 3371-3379.

190. The association between macroprolactin levels and vitamin D status in premenopausal women with macroprolactinemia: a pilot study / R. Krysiak, B. Kowalska, W. Szkróbka, B. Okopień // *Exp. Clin. Endocrinol Diabetes.* – 2015. – V. 123(8). – P.446-50.

191. The Association between Vitamin D Receptor Expression and Prolonged Overall Survival in Breast Cancer / N. Ditsch, B. Toth, D. Mayr et al. // *J. of Histochemistry & Cytochemistry.* – 2012. – V. 60(2). – P. 121–129

192. The clinical use of vitamin D metabolites and their potential developments: a position statement from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO) and the International Osteoporosis Foundation (IOF) / L. Cianferotti, C. Cricelli, J. A. Kanis et al. // *Endocrine.* – 2015. – V. 50 (1). – P.12-26.

193. The impact of vitamin D in breast cancer: genomics, pathways, metabolism / C.J. Narvaez, D. Matthews, E.La Porta et al. // *Frontiers in Physiology.* – 2014. – V. 5:(213). – P.2-10.

194. The vitamin D pathway and mammographic breast density among postmenopausal women Breast Cancer/ L. Brian, A. Sprague, R.E. Trentham-Dietz et al. // *Res Treat.* 2012. – V.131 (1). – P. 255–265.

195. Vanoirbeek E. PDLIM2 expression is driven by vitamin D and is involved in the pro-adhesion, and anti-migration and -invasion activity of vitamin D / E. Vanoirbeek, G. Eelen, L. Verlinden // *Oncogene.* – 2014. – V.33 (15). – P.1904-1911.

196. VDR primary targets by genome-wide transcriptional profiling / F. Goeman, F. De Nicola, D'Onorio De Meo P et al. // *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.* - 2014 Sep. – V.143. – P. 348-56.
197. Vimentin regulates EMT induction by Slug and oncogenic H-Ras and migration by governing Axl expression in breast cancer / K. Vuoriluoto, H. Haugen, S. Kiviluoto et al. // *Oncogene.* – 2011. - V.30. – P.1436–1448.
198. Vitamin D and breast density in pre- and postmenopausal women / S. Fillenber, L. Johannal, R. Loreen et al. // *Maturitas.* – 2012. – V 71. – S.30-31
199. Vitamin D and breast cancer risk: NHASHES I Epidemiologic follow-up study/ E.M. John, G.G. Schwartz, D.M. Dreon et al. // *Cancer. Epidemiol. Biomarkers Prev.* – 1999. – №8(5). – P.399-406.
200. Vitamin D and breast cancer: emerging concepts/ R. G. Mehta, X. Peng, F. Alimirah et al. // *Cancer letters.* – 2013. – V. 334. – P. 95-100.
201. Vitamin D and Calcium Intakes from Food or Supplements and Mammographic Breast Density / S. Berube, C. Diorio, B. Ma<sup>^</sup>sse et al. // *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* – 2005. – V. 14 (7). – P. 1653-1658
202. Vitamin D and cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis / M.B. Elamin, N.O. Abu Elnour, K.B. Elamin et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* – 2011. – V.96 (7). – P.1931-1932
203. Vitamin D and immunomodulation in early rheumatoid arthritis: A randomized double-blind placebo-controlled study / I. Buondonno, G. Rovera, F. Sassi et al. // *PloS One.* – 2017. – V.12 (6). – e0178463.
204. Vitamin D and prevention of breast cancer: Pooled analysis/ C.F. Garland, E.D. Gorham, S.B. Mohr et al. // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* - 2007. - №103. - P. 708-711.
205. Vitamin D and the mammary gland: a review on its role in normal development and breast cancer / N. Lopes, J. Paredes, J. Luis Costa et al. // *Breast. Cancer Research.* – 2012. – № 14. – P. 211- 218.
206. Vitamin D deficiency and clinical correlations in systemic sclerosis patients: A retrospective analysis for possible future developments // A.C. Trombetta, V. Smith, E. Gotelli // *PloS One.* –2017. – V.12(6):e0179062.

207. Vitamin D deficiency: Evidence, safety, and recommendations for the Swiss population / H. Bischoff-Ferrari, P. Burckhardt, K. Quack-Loetscher et al. // Report written by a group of experts on behalf of the Federal Commission for Nutrition (FCN) 2012. <http://www.iccidd.org/p142000804.html>
208. Vitamin D deficiency is associated with metabolic syndrome in postmenopausal women / E.B. Schmitt, J. Nahas-Neto, F. Bueloni-Dias et al. // *Maturitas*. - 2018. – V. 107. – P. 97-102.
209. Vitamin D deficiency promotes growth of MCF-7 human breast cancer in a rodent model of osteosclerotic bone metastasis / L.L. Ooi, Y. Zheng, H. Zhou et al. // *Bone*. – 2010. – №47. – P. 795-803.
210. Vitamin D enhances caspase-dependent and -independent TNF $\alpha$ -induced breast cancer cell death: The role of reactive oxygen species and mitochondria / G.E. Weitsman, A. Ravid, U.A. Liberman et al. // *Int J Cancer*. – 2003. – V. 106. – P. 178-186.
211. Vitamin D exposure and Risk of Breast Cancer: a meta-analysis / Nuria Estébanez, Inés Gómez-Acebo, Camilo Palazuelos et al. // *Scientific Reports*. - 2018 – V. 8:9039.
212. Vitamin D for Cancer Prevention: Global Perspective / C.F. Garland, E.D. Gorham, S.B. Mohr et al. // *Ann Epidemiol*. – 2009. – V. 19. – P. 468–483.
213. Vitamin D-3 receptor as a target for breast cancer prevention / J. Welsh, J.A. Wietzke, G.M. Zinser et al. // *J Nutr*. 2003. – V. 133(7 Suppl). – P. 2425S-2433S.
214. Vitamin D receptor, Retinoid X receptor and peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  are overexpressed in BRCA1 mutated breast cancer and predict prognosis / S. Heublein, D. Mayr, A. Meindl et al. // *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. – 2017. – V. 36:57.
215. Vitamins as hormones / J. Reichrath, B. Lehmann, C. Carlberg et al. // *Metab. Res*. – 2007. – V. 39 (2). – P. 71-84.
216. Welsh J. Vitamin D and breast cancer: insights from animal models / J. Welsh // *Am. J. Clin. Nutr*. – 2004. – V. 80 (6):1721S-4S.
217. Welsh J. Function of the vitamin D endocrine system in mammary gland and breast cancer / J. Welsh // *Mol Cell Endocrinol*. – 2017. - V. 453. – P. 1-2.

218. Werner J. Breast Pathology. Second Edition / J. Werner, W.J. Boecker, D.J. Dabbs // Elsevier. – 2017. – P. 373-395.
219. Yaghjyan L. Vitamin D and mammographic breast density: a systematic review / L. Yaghjyan, G. A. Colditz, B. Drake // Cancer Causes Control. – 2012. – V. 23 (1). – P. 1–13.
220. Zhalehjoon N Gene expression profiles of CYP24A1 and CYP27B1 in malignant and normal breast tissues / N Zhalehjoon, Y Shakiba, M Panjehpour // Mol. Med. Rep. – 2017. – V. 15(1). – P.467-473.
221. Zinser G. Vitamin D(3) receptor ablation alters mammary gland morphogenesis / G. Zinser, K. Packman, J. Welsh // Development. – 2002. – V. 129. – P. 3067-3076.
222. Zinser GM Vitamin D(3) receptor ablation sensitizes skin to chemically induced tumorigenesis / GM Zinser, JP Sundberg, J.Welsh // Carcinogenesis. – 2002. – V.23. – P.2103-2109.
223. Zinser GM Accelerated mammary gland development during pregnancy and delayed postlactational involution in vitamin D3 receptor null mice / GM Zinser, J Welsh // Mol Endocrinol. – 2004. – V.18. – P.2208-2223.

**СПИСОК ПРИНЯТЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

PMЖ – рак молочной железы

ДЗМЖ – доброкачественные заболевания молочных желез

ДДМЖ – доброкачественная дисплазия молочных желез

ВЗОМТ – воспалительные заболевания органов малого таза

ДФМ – диффузная форма мастопатии

ФА – фиброаденома

VD – витамин D

FGR – фиброглангулярная зона

VDR – рецептор к витамину D

CYP2R1 – ген, кодирующий микросомальную 25-гидроксилазу

GC – ген, кодирующий витамин D связывающий белок

ДИ – доверительный интервал

Me – медиана