

Основные моменты**Что уже известно об этой теме?**

- ▶ В мире ежегодно диагностируется более 1 млн случаев рака молочной железы (РМЖ)
- ▶ Витамин D – не только регулятор кальциево-фосфорного обмена, но и стероидный гормон, воздействующий на различные ткани и органы
- ▶ Существенным представляется анализ влияния дефицита/недостаточности витамина D на течение РМЖ

Что нового дает статья?

- ▶ Представлены результаты обследования 67 женщин 29–48 лет с гистологически верифицированным РМЖ и гиповитаминозом D
- ▶ Показано, что уровень 25(OH)D ниже 18,9 нг/мл достоверно ассоциирован с выраженной прогрессией РМЖ независимо от молекулярного подтипа опухоли
- ▶ Разработаны дополнительные критерии, позволяющие спрогнозировать прогрессирование РМЖ

Как это может повлиять на клиническую практику в обозримом будущем?

- ▶ Снижение уровня 25(OH)D в сыворотке крови менее 18,9 нг/мл – прогностический маркер прогрессии РМЖ различных молекулярных подтипов
- ▶ Для выявления вторичных изменений у больных РМЖ рекомендуется определять уровень 25(OH)D в периферической крови

Highlights**What is already known about the subject?**

- ▶ More than 1 million cases of breast cancer (BC) are diagnosed in the world annually
- ▶ Vitamin D is not only a regulator of calcium-phosphorus metabolism, but also a steroid hormone that affects various tissues and organs
- ▶ It seems essential to analyze the effect of vitamin D deficiency/insufficiency during BC

What are the new findings?

- ▶ The results of examining 67 women aged 29–48 years old with histologically verified BC and hypovitaminosis D are presented
- ▶ It was shown that 25(OH)D level less than 18.9 ng/ml is significantly associated with prominent BC progression, regardless of tumor molecular subtype
- ▶ Additional criteria were developed allowing to predict BC progression

How might it impact the clinical practice in the foreseeable future?

- ▶ Decreased serum 25(OH)D level below 18.9 ng/ml is a prognostic marker for BC progression of various molecular subtypes
- ▶ To identify secondary changes in BC patients, it is recommended to determine the peripheral blood 25(OH)D level

Критерии включения и исключения / Inclusion and exclusion criteria

Использовались следующие критерии включения:

- возраст старше 18 лет и моложе 50 лет;
- наличие злокачественного новообразования молочной железы, подтвержденное результатами клинического обследования, ультразвукового исследования (УЗИ), маммографии, гистологического заключения.

Критериями исключения являлись:

- наличие в анамнезе заболеваний, сопровождающихся дефицитом витамина D;
- психические расстройства;
- острые инфекционные заболевания;
- острые стадии хронических воспалительных процессов;
- период беременности и лактации.

Группы пациенток / Groups of patients

Самой молодой пациентке (n=1; 1,49%) было 29 лет, возраст большей части больных (n=66; 98,51%) составлял 46–48 лет. Пациентки были разделены на две группы. Основная группа (n=34) включала пациенток, которым выполнено специализированное противоопухолевое лечение РМЖ согласно клиническим рекомендациям [8]. Женщины этой группы принимали препараты витамина D (действующее вещество – холекальциферол, водный раствор) в дозе 4000 МЕ/сут в течение 6 мес. В группу сравнения (n=33) вошли пациентки с РМЖ, которые получали такое же комплексное лечение, но не принимали препараты витамина D.

Методы исследования / Study methods

Всем пациенткам проводили рентгеновскую маммографию в двух проекциях на аппарате цифровой маммографии Senographe (GE Healthcare, США), УЗИ молочных желез и регионарной зоны лимфатического оттока на аппарате экспертного класса Logiq 9 (GE Healthcare, США). Выполняли трепанобиопсию опухоли молочной железы с гистологическим, иммуногистохимическим исследованиями с определением рецепторного статуса, наличия онкогена – рецептора эпидермального фактора роста 2-го типа

(англ. Human epidermal growth factor receptor 2, Her2/neu). Уровень промежуточного метаболита витамина D – 25(OH)D в периферической крови определяли с помощью хемилюминесцентного метода у всех пациенток трижды: в исходном состоянии (до лечения, 1-й визит), через 6 мес (2-й визит) и через 12 мес (3-й визит).

Этические аспекты / Ethical aspects

Все процедуры, выполненные в данном исследовании, соответствовали этическим стандартам Хельсинской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям, а также сопоставимым нормам этики. Все пациентки до начала исследования подписали информированное добровольное согласие. Дизайн исследования рассмотрен и одобрен локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России (протокол № 1 от 17 января 2018 г.).

Статистический анализ / Statistical analysis

Данные обрабатывали с использованием методов математической статистики: проводили расчет числовых характеристик случайных величин, проверку статистических гипотез на основе параметрических и непараметрических критериев.

Для сравнения прогнозируемой и наблюдаемой частот встречаемости исследуемых признаков использовали критерии χ^2 , Вилкоксона–Манна–Уитни и t-тест Стьюдента. Числовые показатели представлены в виде среднего арифметического и среднего квадратического отклонения ($M \pm \sigma$), рассчитанных с помощью программного обеспечения Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Анализ предикторов (клинических и биохимических) прогрессирования РМЖ, в т.ч. концентрации 25(OH)D, выполняли с использованием ROC-анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Стадия I РМЖ определена у 20 (29,85%) больных, IIa – у 37 (55,22%), IIb – у 2 (2,98%), IIIa – у 1 (1,49%), IIIb – у 7 (10,46%), стадия IV не встречалась. Лечение носило преимущественно комплексный характер и включало (нео)адьювантную полихимиоте-

рапию, радикальную мастэктомию, послеоперационную лучевую терапию, таргетную и гормонотерапию.

По гистологическому строению преобладал инфильтрирующий дольковый рак – 89,55%, протоковый рак отмечен в 8,95% случаев, «редкие» гистологические РМЖ – в 1,49%. У пациенток основной группы чаще встречались агрессивные молекулярные подтипы опухолей: Her2/neu-положительный РМЖ – у 11 (32,35%), трижды негативный (англ. Triple-negative, Trip.neg) – у 13 (38,23%).

В исследованной выборке прогрессия заболевания была выявлена в 4 (5,97%) случаях. При анализе 42 показателей состояния, собранных в ходе исследования, установлено, что пациентки существенно различались по 10 клиническим и биохимическим показателям (табл. 1).

Показатель уровня 25(OH)D снижался на 3-м визите, что явилось наиболее сильным предиктором прогрессирования опухоли: уровень 25(OH)D не более 18,9 нг/мл на 3-м визите выявлен у 100% пациенток с прогрессией РМЖ и только у 16% без прогрессии. Следует отметить, что содержание 25(OH)D в периферической крови перед началом прогрессирования заболевания снижалось вне зависимости от приема препаратов витамина D, результатов гистологического исследования опухоли и молекулярных подтипов РМЖ.

Выполнен ROC-анализ, по результатам которого было показано, что при концентрации 25(OH)D менее 18,9 нг/мл диагностируется прогрессирование заболевания. Специфичность и чувствитель-

ность данного предиктора составили 77,3% и 100% соответственно, площадь под кривой (англ. area under curve, AUC) – 0,914 (рис. 1).

Вторым наиболее информативным предиктором стал показатель биолюминесценции – тангенс (Tg) угла убывания сигнала после достижения максимальной интенсивности (на 2-м визите), который отражает антиоксидантный статус пациенток: Tg свыше –30 ед. был определен на 2-м визите у всех больных с прогрессией РМЖ (100%) и ни у одной пациентки без прогрессии заболевания (0%).

ОБСУЖДЕНИЕ / DISCUSSION

Наиболее информативные показатели – уровни 25(OH)D на 3-м визите и Tg на 2-м визите являются биохимическими параметрами, измерение которых инвазивно, т.к. требует отбора проб крови. Многие из менее информативных показателей (см. табл. 1) получены при физикальном обследовании пациенток и при анализе анамнеза жизни (неинвазивно).

Пациентки с прогрессированием опухоли отличались так называемым гиперэстрогеновым фенотипом, включающим наличие предменструального синдрома (ПМС), обильных и длительных менструаций, чистую кожу при отсутствии акне, а также локализацией опухоли слева (см. табл. 1). Гиперэстрогеновый профиль у них усугубляется при регулярном потреблении пива и алкоголя (был установлен тренд, $p=0,0738$). Эстрогены являются активато-

Таблица 1. Показатели, отличающие пациенток с прогрессированием рака молочной железы (РМЖ) от больных со стабильным состоянием

Table 1. Parameters distinguishing progression vs. stable breast cancer (BC) patients

Показатель / Parameter	Прогрессия РМЖ / BC progression (n=4)	Стабильные / Stable (n=63)	p
Уровень 25(OH)D, нг/мл*** / 25(OH)D level, ng/ml ***	17,10±1,55	43,10±23,48	0,0011
Биолюминесценция, Tg мВ/с** / Bioluminescence, Tg mV/s**	-28,25±1,77	-41,32±9,84	0,0090
Предменструальный синдром, % / Premenstrual syndrome, %	100,0	75,0	0,0181
Менструации болезненные, длительные, обильные, % / Menstruation painful, prolonged, profuse, %	100,0	87,0	0,0211
Акне, % / Acne, %	0,0	6,0	0,0224
Локализация опухоли слева, % / Left-sided tumor, %	100,0	55,0	0,0230
Высокий уровень стресса, % / High stress level, %	100,0	80,0	0,0241
Биолюминесценция S, мВ×с** / Bioluminescence S, mV×s**	797±37	934±146	0,0245
Биолюминесценция I _{max} , мВ** / Bioluminescence I _{max} , mV**	4,15±0,71	6,66±1,17	0,0255
Биолюминесценция I _{max} , мВ* / Bioluminescence I _{max} , mV*	734±72	902±132	0,0498
Длительность менструации, сут / Duration of menstruation, days	7,00±1,00	5,43±1,38	0,0516
Уровень 25(OH)D, нг/мл** / 25(OH)D level, ng/mL**	27,06±6,67	41,42±23,87	0,0532
Биолюминесценция Tg, мВ/с* / Bioluminescence Tg, mV/s*	-25,50±4,95	-34,32±8,99	0,0698
Голубые или серые глаза, % / Blue or gray eyes, %	100,0	65,0	0,0734
Потребление пива и алкоголя, % / Beer and alcohol consumption, %	67,0	21,0	0,0738

Примечание. Показатели упорядочены по убыванию информативности, т.е. по возрастанию статистической значимости различий (p) между группами. Полужирным шрифтом выделены статистически значимые различия. S – светосумма за 30 с; I_{max} – значение максимальной интенсивности перекисного окисления липидов за все время измерения; Tg – тангенс угла убывания сигнала после достижения максимальной интенсивности, характеризующий скорость реакций обрыва свободнорадикальных процессов и являющийся показателем активности антиоксидантной системы со знаком (-). * 1-й визит; ** 2-й визит; *** 3-й визит.

Note. The parameters are sorted in descending order of informativeness, i.e., in order of increasing statistical significance of inter-group differences (p). Statistically significant differences are highlighted in bold. S – the light sum within 30 s; I_{max} – the magnitude of the maximum intensity of lipid peroxidation within the entire measurement time; Tg – tangent of the angle of signal decay after reaching the maximum intensity, which characterizes the rate of termination reactions of free radical processes being an indicator of (-) antioxidant system activity. * Visit 1; ** Visit 2; *** Visit 3.

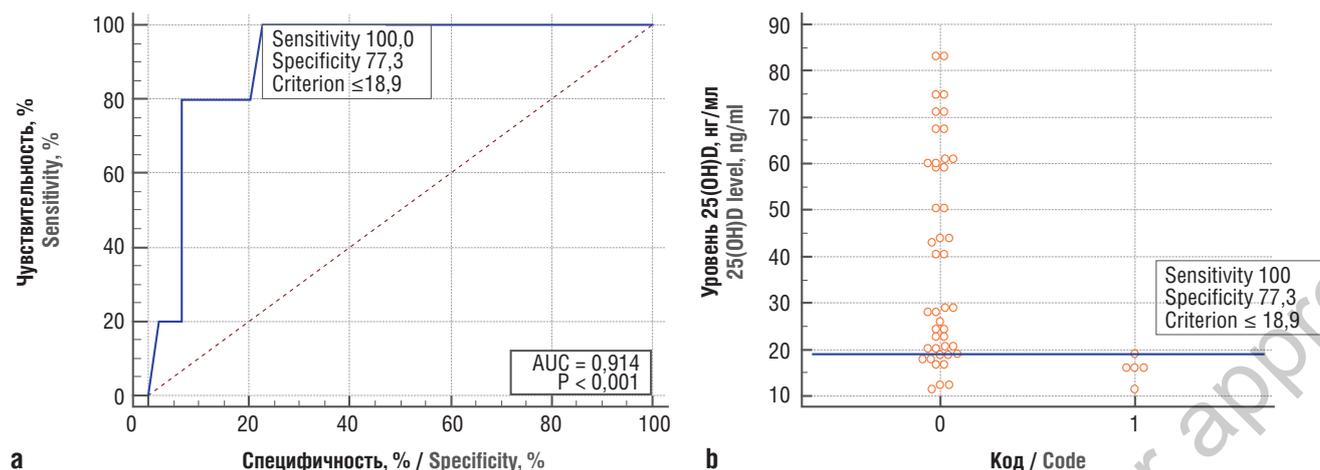


Рисунок 1. Результаты ROC-анализа содержания промежуточного метаболита витамина 25(OH)D в крови больных раком молочной железы (а, б)

Figure 1. ROC-analysis data for serum 25(OH)D intermediate metabolite level in breast cancer patients (a, b)

рами пролиферативных процессов, особенно в эстрогенозависимых тканях, в т.ч. в молочных железах и яичниках. Давно известно, что хронический прием алкоголя вызывает гиперэстрогенизм даже у мужчин [9].

У пациенток с прогрессированием опухоли был серый или голубой, но не карий цвет глаз. Хотя данное наблюдение являлось трендом ($p=0,0734$), оно имеет физическое обоснование. Известно, что цвет радужной оболочки глаз ассоциирован с наличием определенных нуклеотидных вариантов генов, кодирующих цитохромы P450, таким образом, ассоциация между цветом глаз и риском прогрессирования опухолевых заболеваний имеет генетическую природу. В частности, у обследуемых с глазами голубого цвета наличие варианта цитохрома CYP2D6-EM соответствует повышенному риску развития опухолей [10].

Установление связи между цветом радужной оболочки глаза и риском прогрессии РМЖ является новым наблюдением, неизвестным в научной литературе по данному вопросу. Поэтому оно указывает на необходимость проведения более масштабных исследований. Наша работа ограничена тем, что число пациенток с прогрессией РМЖ и определенным цветом глаз было весьма мало, и даже не удалось показать статистически достоверные ассоциации между цветом глаз и прогрессией РМЖ.

Сочетания перечисленных физикальных и анамнестических признаков являются более важными и информативными предикторами, чем наличие каждого из признаков по отдельности. Так, сочетание 8 информативных физикальных/анамнестических признаков (отсутствие акне, высокий уровень стресса, предменструальный синдром, длительные менструации – 6 и более дней, болезненные и обильные менструации, локализация опухоли слева, голубой или серый цвет глаз) встречалось у всех пациенток с прогрессией (100%) и только у 3 из 67 больных без прогрессии (4%). Следовательно, наличие сочетания этих 8 признаков соответствует крайне высокому риску прогрессирования опухоли. Хотя по отдельности некоторые из признаков были ассоциированы с прогрессией РМЖ только как тренд (голубой или серый цвет глаз, $p=0,0734$), различия в частоте сочетания 8 указанных признаков были статистически достоверны (отношение шансов 20; 95% доверительный интервал 3,28–121,84; $\chi^2=4,53 \times 10^{-5}$).

Во же время у пациенток с высоким риском прогрессирования злокачественной опухоли молочной железы, оцененным по физикальным/анамнестическим данным, измерение уровня 25(OH)D на 3-м визите и показателя биолюминесценции Tg на 2-м визите

позволяет зарегистрировать раннее начало прогрессирования заболевания.

Итак, по результатам нашего исследования предложен двухшаговый алгоритм скринингового обследования больных РМЖ.

На первом этапе, который проводится при первичном посещении врача-онколога или маммолога (1-й визит), устанавливается принадлежность пациентки к группе с повышенным риском прогрессирования РМЖ (в соответствии с наличием всех 8 информативных физикальных/анамнестических признаков). Если больная отнесена к данной группе, то на втором этапе каждые 6 мес у нее измеряется уровень 25(OH)D и показатель биолюминесценции Tg (по данным анализа крови). Негативная динамика указанных показателей (25(OH)D менее 18,9 нг/мл при 3-м визите и Tg свыше –30 ед. при 2-м визите) свидетельствует о начале прогрессирования опухоли. При этом снижение значений происходит даже на фоне приема препаратов витамина D3 в дозе 4000–10000 МЕ/сут.

Таким образом, были разработаны дополнительные критерии на основании концентраций 25(OH)D, показателей биолюминесценции крови, анамнестических и физикальных данных (см. табл. 1), позволяющие прогнозировать прогрессирование РМЖ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ / CONCLUSION

Снижение уровня промежуточного метаболита витамина D – 25(OH)D в сыворотке крови является прогностическим признаком прогрессирования РМЖ независимо от молекулярного подтипа опухоли и потребления витамина D. На основании полученных данных были установлены признаки, сочетание которых позволяет делать прогноз о прогрессировании РМЖ: сниженное содержание 25(OH)D, отсутствие акне, высокий уровень стресса, наличие ПМС, длительные (6 и более дней) и обильные менструации, локализация опухоли слева, голубой или серый цвет глаз. Так, при уровне промежуточного метаболита витамина D – 25(OH)D менее 18,9 нг/мл диагностируется прогрессирование заболевания. Выборки может быть недостаточно для получения корректных данных, и требуются более масштабные исследования для подтверждения изложенной гипотезы.

Таким образом, для выявления вторичных изменений (наличие отдаленных метастазов у больных РМЖ) и улучшения наблюдения за пациентками рекомендуется привлекать дополнительные методы диагностики и определять уровень промежуточного метаболита витамина D – 25(OH)D в периферической крови.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Mattiuzzi C., Lippi G. Current cancer epidemiology. *J Epidemiol Glob Health*. 2019; 9 (4): 217–22. <https://doi.org/10.2991/jeqh.k.191008.001>.
2. Brown R.B. Vitamin D, cancer, and dysregulated phosphate metabolism. *Endocrine*. 2019; 65 (2): 238–43. <https://doi.org/10.1007/s12020-019-01985-y>.
3. Carlberg C., Muñoz A. An update on vitamin D signaling and cancer. *Semin Cancer Biol*. 2022; 79: 217–30. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.05.018>.
4. Ercisli M.F., Kahrizi D., Azizaram Z. Environmental factors affecting the risk of breast cancer and the modulating role of vitamin D on this malignancy. *Cent Asian J Environ Sci Technol Innov*. 2021; 2 (4): 175–83. <https://doi.org/10.22034/CAJESTI.2021.04.04>.
5. Милехина С.А., Трейбич М.А., Гринько Г.В. Роль витамина Д в развитии онкологических заболеваний. *Международный журнал гуманитарных и естественных наук*. 2022; 6-1: 82–5. <https://doi.org/10.24412/2500-1000-2022-6-1-82-85>.
6. Santos J.M., Khan Z.S., Munir M.T., et al. Vitamin D₃ decreases glycolysis and invasiveness, and increases cellular stiffness in breast cancer cells. *J Nutr Biochem*. 2018; 53: 111–20. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.10.013>.
7. Voutsadakis I.A. Vitamin D baseline levels at diagnosis of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2021; 14 (1): 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2020.08.005>.
8. Клинические рекомендации. *Рак молочной железы*. 2021. URL: <http://oncology.ru/specialist/treatment/references/actual/379.pdf> (дата обращения 05.08.2021).
9. Kielkiewicz D., Medraś M., Dolna M. Use of a dynamic test with HCG for evaluation of endocrine function in gonads of men with chronic alcohol abuse. *Pol Merkur Lekarski*. 2001; 10 (56): 85–8 (in Polish).
10. Torshin I.Yu. Sensing the change: from molecular genetics to personalized medicine. 1st ed. NY: Nova Science Publishers Inc.; 2012: 336 pp.

REFERENCES:

1. Mattiuzzi C., Lippi G. Current cancer epidemiology. *J Epidemiol Glob Health*. 2019; 9 (4): 217–22. <https://doi.org/10.2991/jeqh.k.191008.001>.
2. Brown R.B. Vitamin D, cancer, and dysregulated phosphate metabolism. *Endocrine*. 2019; 65 (2): 238–43. <https://doi.org/10.1007/s12020-019-01985-y>.
3. Carlberg C., Muñoz A. An update on vitamin D signaling and cancer. *Semin Cancer Biol*. 2022; 79: 217–30. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2020.05.018>.
4. Ercisli M.F., Kahrizi D., Azizaram Z. Environmental factors affecting the risk of breast cancer and the modulating role of vitamin D on this malignancy. *Cent Asian J Environ Sci Technol Innov*. 2021; 2 (4): 175–83. <https://doi.org/10.22034/CAJESTI.2021.04.04>.
5. Milekhina S.A., Treibich M.A., Grinko G.V. The correlation of vitamin D with the development of cancer. *International Journal of Humanities and Natural Science*. 2022; 6-1: 82–5 (in Russ.). <https://doi.org/10.24412/2500-1000-2022-6-1-82-85>.
6. Santos J.M., Khan Z.S., Munir M.T., et al. Vitamin D₃ decreases glycolysis and invasiveness, and increases cellular stiffness in breast cancer cells. *J Nutr Biochem*. 2018; 53: 111–20. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.10.013>.
7. Voutsadakis I.A. Vitamin D baseline levels at diagnosis of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. 2021; 14 (1): 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2020.08.005>.
8. Clinical guidelines. Breast cancer. 2021. Available at: <http://oncology.ru/specialist/treatment/references/actual/379.pdf> (in Russ.) (accessed 05.08.2021).
9. Kielkiewicz D., Medraś M., Dolna M. Use of a dynamic test with HCG for evaluation of endocrine function in gonads of men with chronic alcohol abuse. *Pol Merkur Lekarski*. 2001; 10 (56): 85–8 (in Polish).
10. Torshin I.Yu. Sensing the change: from molecular genetics to personalized medicine. 1st ed. NY: Nova Science Publishers Inc.; 2012: 336 pp.

Сведения об авторах

Фролова Дарья Евгеньевна – ассистент кафедры онкологии, акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России (Иваново, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6207-5575>; РИНЦ SPIN-код: 6668-6245.

Лапочкина Нина Павловна – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой онкологии, акушерства и гинекологии ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия» Минздрава России (Иваново, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4581-8610>; РИНЦ SPIN-код: 7976-1083.

Громова Ольга Алексеевна – д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник, научный руководитель Института фармакоинформатики ФБУ «ФИЦ "Информатика и управление" РАН» (Москва, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>; WoS ResearcherID: J-4946-2017; Scopus Author ID: 7003589812; РИНЦ SPIN-код: 6317-9833. E-mail: unesco.gromova@gmail.com.

Торшин Иван Юрьевич – к.ф.м.н., к.х.н., старший научный сотрудник Института фармакоинформатики ФБУ «ФИЦ "Информатика и управление" РАН» (Москва, Россия). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>; WoS ResearcherID: C-7683-2018; Scopus Author ID: 7003300274; РИНЦ SPIN-код: 1375-1114.

About the authors

Daria E. Frolova – MD, Assistant Professor, Chair of Oncology, Obstetrics and Gynecology, Ivanovo State Medical Academy (Ivanovo, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-6207-5575>; RSCI SPIN-code: 6668-6245.

Nina P. Lapochkina – Dr. Med. Sc., Professor, Chief of Chair of Oncology, Obstetrics and Gynecology, Ivanovo State Medical Academy (Ivanovo, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4581-8610>; RSCI SPIN-code: 7976-1083.

Olga A. Gromova – Dr. Med. Sc., Professor, Leading Researcher, Research Supervisor, Institute of Pharmacoinformatics, Federal Research Center "Informatics and Management", RAS (Moscow, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-7663-710X>; WoS ResearcherID: J-4946-2017; Scopus Author ID: 7003589812; RSCI SPIN-code: 6317-9833. E-mail: unesco.gromova@gmail.com.

Ivan Yu. Torshin – PhD (Phys. Math.), PhD (Chem.), Senior Researcher, Institute of Pharmacoinformatics, Federal Research Center "Informatics and Management", RAS (Moscow, Russia). ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2659-7998>; WoS ResearcherID: C-7683-2018; Scopus Author ID: 7003300274; RSCI SPIN-code: 1375-1114.