

На правах рукописи

МУХАМАТГАЛЕЕВА

Луиза Хамбалевна

**ЗНАЧЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНЫХ ФАКТОРОВ ДЛЯ
ПРОГНОЗА ТЕЧЕНИЯ МЕЛАНОМЫ КОЖИ**

14.01.12 – Онкология

**Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук**

Казань – 2016

Работа выполнена на кафедре онкологии, радиологии и паллиативной медицины ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор Зинаида Александровна Афанасьева

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор Семиглазов Владислав Владимирович, заведующий кафедрой онкологии ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России

Доктор медицинских наук, профессор Ахметзянов Фоат Шайхутдинович, заведующий кафедрой онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Ведущая организация:

Московский научно - исследовательский онкологический институт имени П.А. Герцена – филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский радиологический центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «13» декабря 2016 г. в 14 часов на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 208.052.01 ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская д.68).

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБУ «НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и на сайте <http://www.niioncologii.ru/science/thesis>

Автореферат разослан «___» _____ 2016 г.

Учёный секретарь совета по защите докторских и кандидатских диссертаций
доктор медицинских наук

Елена Вилльевна Бахидзе

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

Меланома кожи многие годы остается одной из актуальных проблем онкологии, значимость которой определяется стремительными темпами роста заболеваемости, высокой агрессивностью опухоли, ранним метастазированием, большой долей лиц молодого и среднего трудоспособного возраста (35% в возрасте от 35 до 54 лет) и отсутствием удовлетворительных результатов лечения [Фрадкин С.З. и соавт., 2000; Барчук А.С., 2001; Белякова Н.И. и соавт., 2008; Демидов Л.В. и соавт., 2012; Markovic S.N. et al., 2007; Vereecken P. et al., 2012; Varughese V.E. et al., 2013]. По данным Национального Института Рака (США), ежегодный прирост заболеваемости составляет 3-5% в год, т.е. больше, чем при других злокачественных опухолях [Белякова Н.И. и соавт., 2008; Armstrong V.K. et al., 1994; Jemal A. et al., 2004]. В России также отмечается стойкая тенденция к увеличению заболеваемости меланомой кожи. Так за десятилетие с 2005 по 2014 год прирост составил 29,96% [Чиссов В.И. и соавт.; 2007; Каприн А.Д. и соавт., 2016]. Среди других злокачественных новообразований кожи меланома встречается относительно редко (менее 5%), но на её долю приходится около 80% летальных исходов, связанных с опухолями кожи [Демидов Л.В. и соавт., 2007; Miller A.J. et al., 2006; Sladden M.J. et al., 2010; Rodriguez-Cerdeira C. et al., 2011; Varughese V.E. et al., 2013].

По данным литературы, у 27-58% больных меланомой кожи при I и II стадии к началу лечения могут быть клинически скрытые микрометастазы в регионарных лимфатических узлах и отдаленных органах [Леончук А.Д., 1990; Вагнер Р.И. и соавт., 1996; Курдина М.И. и соавт., 1996; Анищенко И.С. и соавт., 2003; Кукушкина М.Н. и соавт., 2012; Ellis M.S. et al., 2010], поэтому лимфаденэктомия клинически поражённых метастазами лимфатических узлов, как правило, оказывается запоздалой.

Известно, что стресс-ассоциированные нейротрансмиттеры могут существенно модулировать пролиферацию, апоптоз трансформированных клеток, неоангиогенез в опухоли и тем самым вносить вклад в формирование и прогрессию злокачественных новообразований [Балицкий К.П. и соавт., 1987; Абрамов В.В. и соавт., 1998; Guo K. et al., 2009; Tilan J. et al., 2010] или напротив, могут выступать ингибиторами роста опухоли [Wick M.M., 1980; Kubota R. et al., 1992; Entschladen F. et al., 2005]. В доступной литературе отсутствуют работы, посвященные изучению нейромедиаторного обмена в крови при меланоме кожи, влиянию нейромедиаторов на прогноз и течение болезни. Но имеются данные о том, что меланоциты производят классические нейротрансмиттеры стресса, нейропептиды, гормоны, и этот процесс изменяется и регулируется ультрафиолетовым излучением, биологическими факторами и стрессом [Slominski A. et al., 2010]. Это свидетельствует о том, что меланома имеет нейроэндокринную дифференцировку [Горбунова В.А. и соавт., 2007; Eyden B. et al., 2005; Slominski A. et al., 2010]. Поэтому изучение нейромедиаторного обмена и

хромогранина - одного из специфичных для нейроэндокринных опухолей маркера, является актуальным для возможного раскрытия новых механизмов патогенеза болезни и, следовательно, новых методов диагностики и лечения столь агрессивной опухоли.

В настоящее время перспективным прогностически значимым маркером меланомы кожи рассматривается опухолеассоциированный сывороточный белок S100B [Сергеева Н.С. и соавт., 2008; Guo H.B. et al., 1995; von Schoutz E. et al., 1996; Gogas H. et al., 2009]. Тем не менее, не существует единого мнения о зависимости уровня S100B от стадии меланомы, ее клинико-морфологических характеристик, а также по внедрению белка S100B в клиническую практику [Mocellin S. et al., 2008; Palmer S.R. et al., 2011].

Таким образом, в настоящее время актуальным является определение молекулярных факторов ранней диагностики и прогноза течения меланомы кожи, как со стороны опухоли, так и со стороны макроорганизма, и выработка новых терапевтических стратегий с учетом нейроэндокринного статуса организма и молекулярных характеристик опухоли.

Цель исследования - определить прогностическое значение нейротрансмиттеров, белка S100B и хромогранина А при меланоме кожи.

Задачи исследования

1. Изучить содержание нейротрансмиттеров (адреналина, норадреналина, серотонина и дофамина) в плазме крови больных меланомой кожи и определить их значимость при прогнозе.
2. Изучить соотношения нейротрансмиттеров в плазме крови больных меланомой кожи.
3. Оценить значимость сывороточного белка S100B в качестве молекулярного маркера прогноза течения меланомы кожи.
4. Исследовать в сыворотке крови больных меланомой кожи в качестве диагностического и прогностического молекулярного маркера хромогранин А.
5. Разработать диагностическую и прогностическую математические модели с учетом молекулярных факторов при меланоме кожи.

Научная новизна

Впервые:

- изучены нейромедиаторы (адреналин, норадреналин, дофамин, серотонин) и их соотношения в плазме крови у пациентов с меланомой кожи, определена их роль в прогнозе заболевания;
- определено значение сывороточного белка S100B в качестве молекулярного маркера при меланоме кожи;
- изучено содержание онкомаркера нейроэндокринных опухолей – хромогранина А в плазме крови больных меланомой кожи и его значение в качестве диагностического маркера при данном заболевании;
- разработаны диагностическая и прогностическая математические

модели с учетом молекулярных факторов при меланоме кожи.

Личный вклад автора

Автором обоснована тема исследования, поставлены цель и задачи, определены этапы работы и их дизайн, проведена выборка больных меланомой кожи. Проанализированы амбулаторные карты, истории болезни, результаты клинико-лабораторных обследований пациентов, созданы компьютерные базы данных больных, проведено диспансерное наблюдение за больными в процессе исследования. Автор принимал непосредственное участие в заборах и подготовке крови для исследования. Осуществлена статистическая обработка полученных результатов, оформлены результаты диссертации, сформулированы выводы и практические рекомендации.

Практическая значимость

На основании полученных результатов предложена диагностическая модель и модель течения меланомы кожи с учетом молекулярных факторов.

Выявленные нарушения в симпатико-адреналовой системе на этапе диагностики и лечения дают возможность внедрения в процесс ведения больных меланомой кожи нейрофармакологической терапии и психологического тренинга как одного из методов реабилитации.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты исследования и основные рекомендации используются в практической работе ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» МЗ Республики Татарстан, ГБУ «Республиканский онкологический диспансер» Республики Марий Эл, а также в учебном процессе на кафедре онкологии, радиологии и паллиативной медицины ГБОУ ДПО «Казанская государственная медицинская академия» МЗ РФ, на кафедре онкологии, лучевой диагностики и лучевой терапии ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» МЗ РФ.

Положения диссертации, выносимые на защиту

1. У больных меланомой кожи имеют место нарушения в содержании нейротрансмиттеров и в их соотношениях, что может быть использовано в комплексной оценке течения заболевания.
2. Найденные нарушения в медиаторном обмене делают целесообразным использование нейрофармакологических препаратов в лечении больных меланомой кожи.
3. Сывороточный белок S100B и хромогранин А могут быть молекулярными диагностическими и прогностическими маркерами меланомы.
4. Изучение молекулярных факторов позволяет создать диагностическую и прогностическую математические модели при меланоме кожи.

Апробация диссертации

Материалы диссертации доложены на IV Международном конгрессе «Опухоли головы и шеи» Байкал – 2011, г. Иркутск, 2-4 сентября 2011 г.; на Научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной фундаментальной и клинической медицины», г. Ханты-Мансийск, 27-28

ноября 2014 г.; на IX Международной научно-практической конференции молодых ученых-медиков, организуемой Казанским, Воронежским и Курским медицинскими образовательными учреждениями, посвященной 95-летию Казанской государственной медицинской академии, г. Казань, 14-15 апреля 2015 г.; на Всероссийской конференции молодых ученых-онкологов, посвященной памяти академика РАМН Н.В.Васильева «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической онкологии», г. Томск, 22 мая 2015 г.; на V Международной научно-практической конференции «Новые концепции механизмов воспаления, аутоиммунного ответа и развития опухоли», г. Казань, 1-2 октября 2015 г.; на VII Конференции молодых ученых РМАПО с международным участием «ШАГ В ЗАВТРА», г. Москва, 20-21 апреля 2016г.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 22 печатных работ, из них 4 в изданиях, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ и 1 учебно-методическое пособие.

Объем и структура диссертации

Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, глав собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Библиография включает: 86 отечественных и 186 зарубежных источников. Объем диссертации 130 страниц машинописного текста. Работа иллюстрирована 31 таблицей и 4 рисунками.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Характеристика клинических наблюдений

Мы располагаем наблюдениями над 126 больными меланомой кожи (МК), поступившими в хирургическое отделение №3 ГБУ «Республиканский онкологический диспансер» МЗ Республики Марий Эл и онкологическое отделение №3 ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» МЗ Республики Татарстан, до начала специализированного противоопухолевого лечения. Больные были разделены на три группы. Распределение больных меланомой кожи представлено в таблице 1.

Таблица 1

Распределение больных меланомой кожи

Число больных	Группы больных меланомой кожи			
	Первичные больные МК (I группа)	Больные с рецидивом МК (II группа)	Больные без рецидива МК (III группа)	Всего
Абс.	53	30	43	126
%	42,1	23,8	34,1	100

Большую часть пациентов в трех исследуемых группах составили женщины (65,1%), соотношение - 1,9:1.

Распределение больных меланомой кожи по возрасту, представлено на рисунке 1.

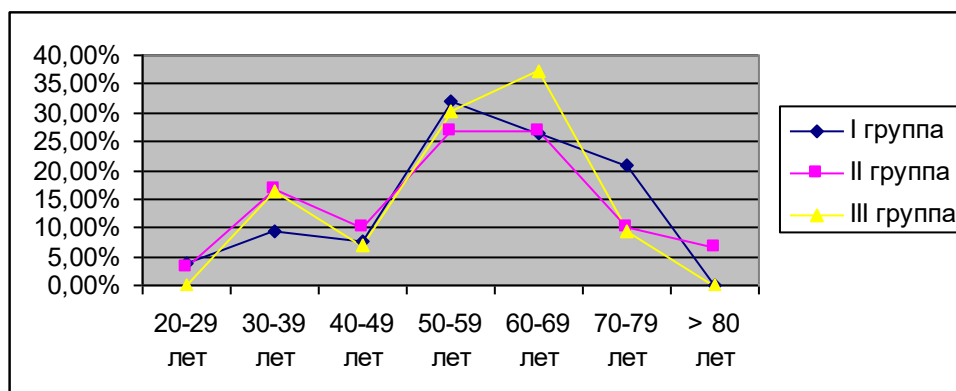


Рис.1 Распределение больных меланомой кожи по возрасту

Наибольшее число пациентов приходилось на пятую и шестую декаду жизни. Группа контроля представлена 38 условно здоровыми добровольцами обоего пола в возрасте от 24 до 74 лет.

Методы исследования

Методы дооперационных клинико-инструментальных исследований

Все больные, поступившие в отделения онкологических диспансеров, подверглись общепринятому обследованию, включавшему физикальное обследование, клиническое и биохимическое исследование крови, рентгенологическое исследование органов грудной клетки, УЗИ регионарных лимфатических узлов, УЗИ органов брюшной полости и органов малого таза. При необходимости применялись РКТ и МРТ исследования.

Морфологическая верификация диагноза у больных проводилась путем цитологического, гистологического и иммуногистохимического исследований специалистами патологоанатомических отделений ГАУЗ РКОД МЗ РТ (заведующий, врач высшей категории - Н.В. Балатенко) и ГБУ РКБ РМЭ (заведующий - А.Ю. Зуев) и лаборатории иммуногистохимической диагностики опухолей ГАУЗ РКОД МЗ (заведующий - профессор С.В.Петров). При гистологическом исследовании определяли глубину инвазии по Кларку и толщину опухоли по Бреслоу. Иммуногистохимические исследования проводились при трудностях морфологической верификации опухоли. Использовались моноклональные антитела к НВМ-45, тирозиназе, Melan A, S-100 и виментину. Иммуногистохимические исследования проведены у 15 пациентов.

Методика определения нейротрансмиттеров в плазме крови

Концентрацию адреналина (А), норадреналина (НА), дофамина (ДА) и серотонина (С) в плазме крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией. Для определения адреналина, норадреналина и дофамина использовался набор реагентов - 5000 Catecholamines in plasma, Reagent kit for HPLC analysis, для определения серотонина – набор реагентов - 3030 Serotonin in serum/plasma/whole blood, Reagent kit for HPLC analysis.

Пробы размораживались однократно в момент проведения анализа. Методика пробоподготовки включала в себя несколько этапов: твердофазную экстракцию, разбавление, осаждение, центрифугирование. Комплекс хроматографического оборудования состоял из бинарного насоса, автосемплера, электрохимического детектора Chromsystems CLC 100 (Chromsystems Instruments & Chemicals GmbH, Германия). Концентрация нейротрансмиттеров выражалась в пг/мл.

Пробы для исследования в замороженном виде в термоконтейнерах отправлялись в лабораторию ООО «МедиаЛаб» (город Уфа, Республика Башкортостан, заведующий к.м.н. Ф.С. Билалов).

Методика определения S100B и хромогранина А

Уровень сывороточного белка S100B определяли набором тест-системы «CanAg S100 EIA» (CanAg Diagnostics, Швеция). Набор предназначен для количественного определения белка S100B (S100A1B+S100BB) в образцах сыворотки иммуноферментным методом.

Настоящий метод является твердофазным, неконкурентным, основанным на использовании двух видов мышиных моноклональных антител, специфически распознающих два разных эпитопа молекулы S100B. Метод определяет S100A1B и S100BB, без перекрестной реакции с другими формами S100. Диапазон измерения 10-3500 нг/л. Чувствительность 10 нг/л.

Концентрацию хромогранина А определяли набором тест-системы «NEOLISA Chromogranin A» (EURO-DIAGNOSTICA, США) для количественного определения хромогранина в сыворотке крови. Метод представляет собой твердофазный иммуноферментный анализ типа «сэндвич». Метод «NEOLISA Chromogranin A» основан на использовании двух типов моноклональных антител.

Пробы отправлялись в замороженном виде в термоконтейнерах в иммунологическую лабораторию ГАУЗ «Республиканский клинический онкологический диспансер» МЗ РТ (заведующая Г.А.Усманова). Пробы размораживались однократно в момент проведения анализа.

Выполнено 902 анализа по определению молекулярных факторов. Для определения соотношения нейротрансмиттеров в плазме крови рассчитывались следующие коэффициенты: норадреналин-адреналиновый (НА/А) – соотношение концентрации норадреналина к адреналину, норадреналин-дофаминовый (НА/ДА) – соотношение норадреналина к дофамину и дофаминовый (НА+А)/ДА) – соотношение суммы норадреналина и адреналина к дофамину. При расчете диагностической информативности маркеров S100B и хромогранина А руководствовались дискриминационными уровнями, принятыми в тест-системах. Дискриминационный уровень S100B составил 90 нг/л, хромогранина А – 100 нг/мл. Диагностическая информативность молекулярного маркера оценивалась путем расчета чувствительности, специфичности и точности.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Microsoft Excel 8, BIOSTATISTICA 4.03 [Glantz S.A., 1999],

MedCalc Software 11.4 [Sheskin D.J., 2004]. Рассчитывали среднюю арифметическую, ошибку средней арифметической. Достоверность различий показателей в сравниваемых группах определяли по критериям Стьюдента. Различия считали достоверными при $p < 0,05$. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm m$.

Математические модели расчета

Для дифференциальной диагностики и прогноза меланомы кожи были отобраны информативные математические модели. Для дифференциальной диагностики выбрана логистическая модель, которая моделирует логарифм шансов заболевания. Для моделирования прогноза выживаемости выбрана математическая модель «ускорения времени» (accelerated failure time (AFT) model) - распределения gengamma и модель пропорционального ущерба Кокса (PH) – распределение gompertz, так как прогностическая выживаемость по средним значениям переменных совпадает с реальной выживаемостью по Каплан-Майеру. Для анализа использовалась функция flexsurvreg [<https://cran.r-project.org/web/packages/flexsurv/flexsurv.pdf>].

Результаты исследований и их обсуждение

Клинико-морфологическая характеристика больных первичной меланомой кожи

Группа с первичной меланомой кожи (I группа) представлена 53 пациентами. Средний возраст составил $57,8 \pm 1,8$ лет. Женщин было 35 человек, мужчин - 18 человек, соотношение - 1,9:1.

Распределение больных I группы по анатомической локализации первичной опухоли, представлено на рисунке 2.

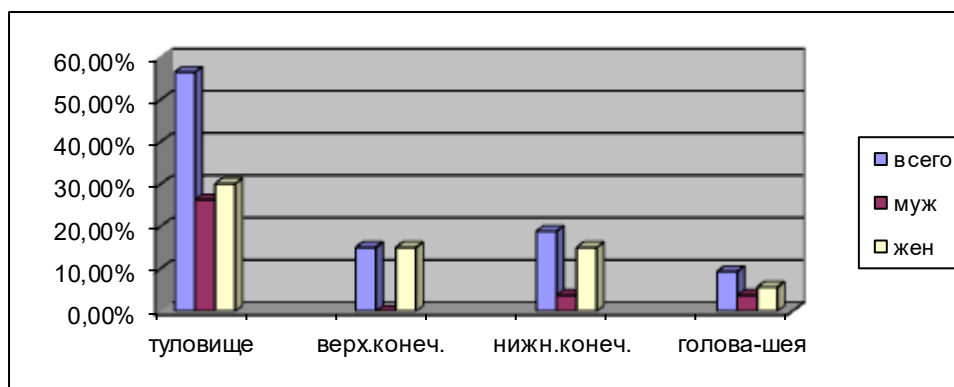


Рис. 2 Распределение больных I группы по локализации первичной опухоли

Как видно, у 56,6 % пациентов опухоль располагалась на коже туловища. Для мужчин и женщин характерна локализация опухоли на коже туловища (26,4% и 30,2% соответственно), с преимущественным расположением на спине (13,2% и 18,9% соответственно). Кроме того, у женщин одинаково часто первичная опухоль локализуется на коже верхних и нижних конечностей (по 15,1%). У большей части больных (92,5%) опухоль содержала пигмент.

Распределение больных I группы по уровню инвазии по Кларку с

учетом пола, представлено на рисунке 3.

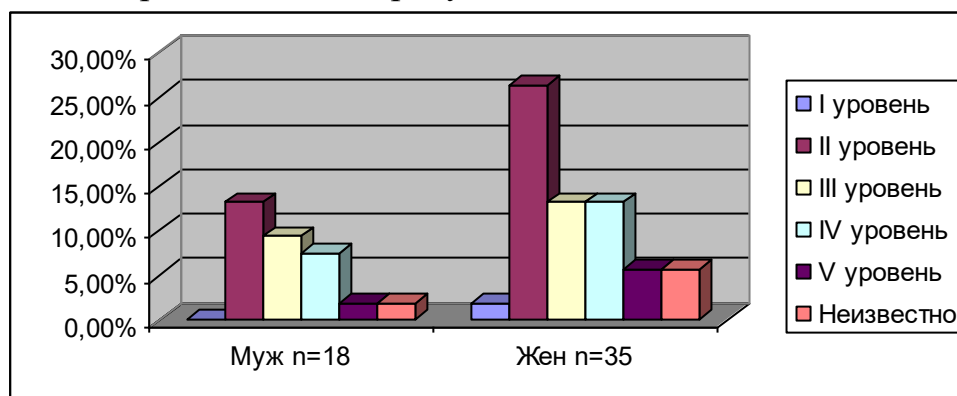


Рис. 3 Распределение больных I группы по уровню инвазии по Кларку с учетом пола.

Как видно, среди пациентов с известным уровнем инвазии по Кларку преобладали больные с II уровнем. Среди пациентов с известной толщиной опухоли по Бреслау (36 пациентов) большую часть составили пациенты с толщиной от 1,5 мм до 4 мм (38,9%). По клинико-биологическим особенностям гистологических форм меланомы кожи у пациентов преобладала узловая (49,1%) и поверхностно-распространяющаяся (47,2%) форма меланомы. Распределение больных меланомой кожи по TNM (1997г.) и стадии заболевания с учетом пола, представлено на рисунке 4.

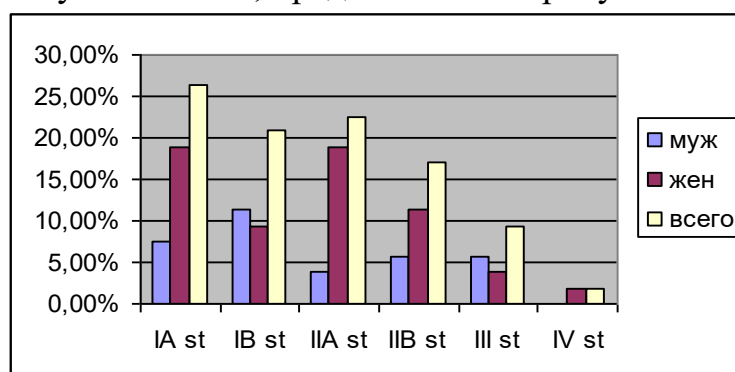


Рис.4 Распределение больных I группы по стадии заболевания с учетом пола.

Как следует из рисунка, преобладают пациенты с T1N0M0, T2N0M0 и T3N0M0, т.е. IA, IB, IIA стадии заболевания, при этом у женщин преобладала IA и II A стадии, у мужчин – IB стадия заболевания.

Клинико-морфологическая характеристика больных с рецидивом заболевания

Вторая группа пациентов меланомой кожи представлена пациентами с рецидивом заболевания в количестве 30 человек. Средний возраст пациентов на момент диагностики рецидива заболевания составил $56,1 \pm 2,8$ лет. Среди больных с рецидивом заболевания женщины составили 20 человек (66,7%), мужчины – 10 человек (33,3 %), у которых в различные сроки (от 2 месяцев до 10 лет) диагностировались рецидивы заболевания. Рецидив меланомы преимущественно диагностировался у пациентов с локализацией первичного

очага меланомы на коже спины (26,7%), голени и стопы (16,7% и 13,3% соответственно). Распределение больных с рецидивом заболевания по TNM (1997г.) и стадии первичной меланомы кожи представлено в таблице 2.

Таблица 2

Распределение больных с рецидивом заболевания по TNM (1997г.) и стадии первичной меланомы кожи

Стадия и TNM	I		II		III T1-4N1-3M0	Неизвестно	Всего
	IA T1N0 M0	IB T2N0 M0	IIA T3N0 M0	IIB T4N0 M0			
Число больных	2	9	5	4	5	5	30
%	6,7	30	16,7	13,3	16,7	16,7	100

Как следует из таблицы, у пациентов начиная с IB стадии, повышается риск рецидива заболевания. Распределение больных с рецидивом заболевания по локализации очага рецидива, представлено на рисунке 5.

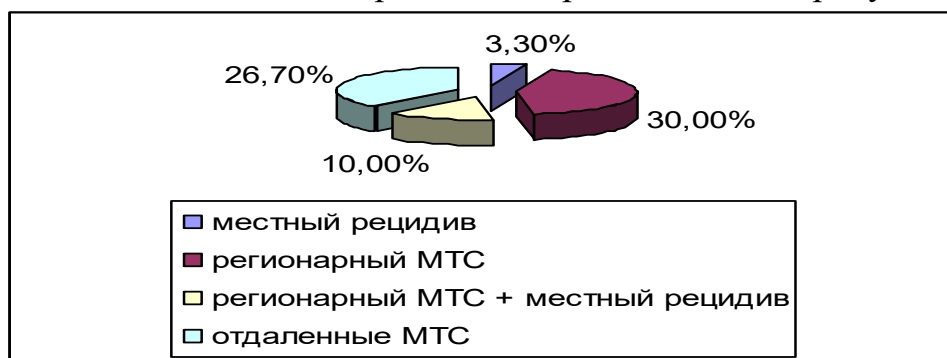


Рис. 5 Распределение больных с рецидивом заболевания по локализации очага рецидива

Независимо от пола больных, самым частым видом прогрессирования меланомы кожи (рис. 5) явилось регионарное метастазирование и диссеминированный процесс, который диагностировался в виде метастазов в отдаленные лимфатические узлы, мягкие ткани и отдаленные органы (головной мозг, легкие, печень). В нашем исследовании не было наблюдений транзитных метастазов. У 53,3% больных рецидивы возникают до года после лечения, у 30% в период от 1 года до 3 лет, поэтому значимым для диспансеризации являются первые 3 года наблюдения. При этом у 53,8% больных с регионарными метастазами последние возникают до года. Это может свидетельствовать о недиагностированных микрометастазах в лимфатических узлах и вследствие этого непредпринятой лимфодиссекции. У 58,3% больных из числа больных с отдаленными метастазами последние возникли во временном промежутке до года после лечения, что свидетельствует о неадекватности диагностики распространенности процесса до оперативного лечения. Следовательно, актуально применение молекулярных маркеров для реальной оценки распространенности меланомы

кожи до начала лечения и определения тактики последнего.

Клинико-морфологическая характеристика больных диспансерной группы

Диспансерная группа пациентов без рецидива меланомы кожи представлена в количестве 43 человек. Средний возраст пациентов на момент проведения исследования составил $56,5 \pm 1,8$ лет. Женщины составили – 62,8%, мужчины – 37,2%. Первичный очаг у мужчин и женщин преимущественно локализовался на коже туловища – 51,2% (22 человека). У 95,3% пациентов меланомой кожи опухоль содержала пигмент. Среди пациентов с известным уровнем инвазии преобладали больные с 2-ым и 3-им уровнем инвазии по Кларку. Среди диспансерной группы больных меланомой кожи большую часть составили пациенты с IA(T1N0M0) и IB(T2N0M0) стадиями заболевания (34,9% и 32,6% соответственно).

Молекулярные факторы у больных меланомой кожи Содержание нейротрансмиттеров в плазме крови больных меланомой кожи

Нейротрансмиттеры и их концентрация (пг/мл) в плазме крови больных меланомой кожи представлены в таблице 3.

Таблица 3

Нейротрансмиттеры и их концентрация (пг/мл) в плазме крови больных меланомой кожи (пг/мл)

Нейротрансмиттеры и их концентрация	Адреналин (А) M±m	Норадреналин (НА) M±m	Дофамин (ДА) M±m
Первичные больные n=47	48,36±4,04 p=0,000	284,6±24,7 p=0,000	42,98±1,96 p=0,048
Больные с рецидивом n=27	51,74±6,82 p=0,002	368,6±36,6 p=0,332	47,59±4,95 p=0,037
Больные без рецидива n=37	50,3±4,44 p=0,000	346,7±26,14 p=0,079	42,51±2,71 p=0,120
Контрольная группа n=38	77,58±4,54	409,1±23,3	36,84±2,39

Примечание: p – достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля. M – среднее значение, m – ошибка среднего.

По результатам исследования, как следует из таблицы, выявлено достоверно значимое снижение по сравнению с группой контроля уровня адреналина во всех трех исследуемых группах. Уровень норадреналина достоверно снижен только в группе первичных больных меланомой кожи. В первой и во второй группе больных выявлено достоверное повышение уровня дофамина в плазме крови, по сравнению с группой контроля.

Соотношения нейротрансмиттеров в исследуемых группах больных меланомой кожи представлены в таблице 4.

Анализируя норадреналин-адреналиновый коэффициент в исследуемых группах больных, мы отметили достоверную однонаправленность изменений в виде усиления норадренергического и ослабления адренергического звена симпатико-адреналовой системы, т.е. у больных меланомой кожи имеет место преобладание медиаторного звена над гормональным. При оценке норадреналин-дофаминового и дофаминового коэффициентов выявлено, что при нормальном или даже повышенном уровне дофамина (субстрат для синтеза норадреналина и адреналина) уровень последних ниже нормы, что может свидетельствовать о дисфункции ферментных систем, задействованных в обмене нейротрансмиттеров и, возможно, и/или захватом их опухолью. Максимальные нарушения нейротрансмиттерного обмена наблюдается в группе больных с рецидивом заболевания.

Таблица 4

Соотношения нейротрансмиттеров в исследуемых группах больных меланомой кожи

Соотношения нейротрансмиттеров	НА/А M±m	НА/ДА M±m	(НА+А)/ДА M±m
Первичные больные n=47	7,8±0,89 p=0,032	6,8±0,58 p=0,000	7,97±0,59 p=0,000
Больные с рецидивом n=27	10,34±1,51 p=0,000	8,45±0,77 p=0,009	9,74±0,82 p=0,004
Больные без рецидива n=37	8,96±1,03 p=0,002	8,81±0,67 p=0,005	10,05±0,67 p=0,002
Контрольная группа n=38	5,58±0,27	13,8±1,57	16,29±1,77

Примечание: p – достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля. M – среднее значение, m – ошибка среднего.

Концентрация катехоламинов и их соотношения в группе первичных больных меланомой кожи с учетом стадии заболевания представлена в таблице 5.

Наблюдали повышение норадреналин-адреналинового коэффициента при всех стадиях заболевания, но достоверно значимое отличие получено при I и III стадии заболевания. При оценке норадреналин-дофаминового и дофаминового коэффициентов выявлено их снижение при всех стадиях заболевания, но достоверность результатов получена при I и II стадиях. Таким образом, имеет место некая фазность в обмене катехоламинов в зависимости от стадии заболевания.

Таблица 5

Концентрация катехоламинов и их соотношения в группе первичных больных меланомой кожи с учетом стадии заболевания (пг/мл)

Концентрация	А M±m	НА M±m	НА/А M±m	ДА M±m	НА/ДА M±m	(НА+А) /ДА M±m
I стадия n=22	42,05±5,9 p=0,000	287,7±34, 1 p=0,004	8,82±1,3 p=0,004	44,41±3,2 p=0,062	6,57±0,7 p=0,001	7,53±0,74 p=0,000
II стадия n=19	53,68±5,9 p=0,003	267,8±37, 2 p=0,001	6,7±1,24 p=0,243	42,53±3,0 p=0,161	6,99±1,1 p=0,005	8,34±1,1 p=0,004
III стадия n=5	55,6±16,2 p=0,118	336,6±99, 1 p=0,000	8,73±3,6 p=0,031	40±3,58 p=0,643	8,07±1,9 p=0,202	9,44±1,78 p=0,175
Контроль ная группа n=38	77,58±4,5 4	409,1±23, 3	5,58±0,2 7	36,84±2,3 9	13,8±1,5 7	16,29±1,7 7

Примечание: p – достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля. M – среднее значение, m – ошибка среднего.

Концентрация катехоламинов и их соотношения в группе больных с рецидивом заболевания с учетом локализации рецидива представлены в таблице 6.

Таблица 6

Концентрация катехоламинов (пг/мл) и их соотношения в группе больных с рецидивом заболевания с учетом локализации рецидива

Концентрация и соотношения	А M±m	НА M±m	НА/А M±m	ДА M±m	НА/ДА M±m	(НА+А/ ДА M±m
Рецидив в регионарные л/узлы n=12	53,83±10, 19 p=0,019	403,2±54, 17 p=0,909	10,52±2, 34 p=0,000	50,08±9, 67 p=0,058	9,51±1,3 5 p=0,147	10,78±1, 47 p=0,099
Диссеминированный процесс n=11	41,91±9,7 4 p=0,000	290,2±50, 14 p=0,024	10,33±2, 53 p=0,002	43,73±5, 32 p=0,198	6,84±0,8 6 p=0,024	7,85±0,8 7 p=0,015
Контрольная группа n=38	77,58±4,5 4	409,1±23, 3	5,58±0,2 7	36,84±2, 39	13,8±1,5 7	16,29±1, 77

Примечание: p – достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля. M – среднее значение, m – ошибка среднего.

Как следует из таблицы, достоверно значимые различия с группой

контроля в концентрации нейротрансмиттеров и их соотношениях наблюдается у больных с диссеминированным процессом, что свидетельствует о глубоких нарушениях в их обмене.

Концентрация серотонина в плазме крови больных меланомой кожи, представлена в таблице 7.

Таблица 7

Концентрация серотонина в плазме крови больных меланомой кожи
(пг/мл)

Группа и число больных (n)	Первичные больные (I группа) n=47	Больные с рецидивом (II группа) n=27	Больные без рецидива (III группа) n=37	Контрольная группа n=38
Серотонин M±m	78,46±9,58 p=0,03	91,78±12,67 p=0,283	78,16±11,17 p=0,04	108,5±9,42

Примечание: p – достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля. M – среднее значение, m – ошибка среднего.

Как следует из таблицы, уровень серотонина снижен. Достоверно значимое снижение его наблюдалось в первой и в третьей группе по сравнению с группой контроля, что может привести к развитию у больных психодезадаптационного состояния с преобладанием депрессивной симптоматики. Отсутствие достоверности в содержании серотонина в группе больных с рецидивом заболевания, возможно, связано с меньшим количеством исследуемых.

Концентрация серотонина в плазме крови в группе первичных больных с учетом стадии заболевания представлена в таблице 8.

Таблица 8

Концентрация серотонина в плазме крови в группе первичных больных меланомой кожи с учетом стадии заболевания (пг/мл)

Стадия и число больных (n)	I n=22	II n=19	III n=5	Контрольная группа n=38
Серотонин M±m	87,27±15,21 p=0,215	66,83±14,87 p=0,017	71,6±19,16 p=0,179	108,5±9,42

Примечание: p – достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля. M – среднее значение, m – ошибка среднего.

Как следует из таблицы, снижение уровня серотонина наблюдали при всех стадиях заболевания, достоверно значимое отличие получено только при II стадии.

Таким образом, у больных меланомой кожи имеет место нарушение нейротрансмиттерного обмена с преобладанием медиаторного звена над гормональным при снижении концентрации серотонина, что требует нейрофармакологической коррекции, которая должна быть персонафицирована с учетом индивидуальных нарушений этого обмена.

Содержание белка S100B и хромогранина А в сыворотке крови больных меланомой кожи

Концентрация S100B в сыворотке крови больных меланомой кожи представлена в таблице 9.

Таблица 9

Концентрация S100B в сыворотке крови больных меланомой кожи (нг/л)

Группа больных и число больных	S100B M±m	P	Диапазон уровня S100B	Медиана	Доля больных с повышенным уровнем S100B, %
Первичные больные n=50	112,4±8,99	p1=0,000	34,5-280,9	86,21	46
Больные с рецидивом n=26	236,1±44,75	p1=0,000 p2=0,000	55,1-953,9	174,1	73,1
Больные без рецидива n=31	77,29±6,35	p1=0,114 p3=0,006 p4=0,000	28,2-154,3	66,44	32,2
Контрольная группа n=38	64,86±4,72		11-123	67,35	15,8

Примечание: p1 – достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля. p2- достоверность различий между I и II группами больных с меланомой. p3- достоверность различий между I и III группами. p4-достоверность различий между II и III группами больных меланомой кожи. M-среднее значение, m- ошибка среднего

В группе первичных больных и в группе с рецидивом меланомы наблюдается повышение уровня S100B по сравнению с группой контроля, и его уровень в группе больных с рецидивом заболевания выше такового в группе с первичной меланомой и группе диспансерных больных. S100B проявил себя лучше в качестве маркера диагностики рецидива заболевания, т.к. он был повышен у 73,1% больных в группе с рецидивом меланомы. Концентрация S100B в сыворотке крови в группе первичных больных меланомой кожи с учетом стадии заболевания и с учетом уровня инвазии по Кларку представлена соответственно в таблице 10 и таблице 11.

Наблюдали повышение уровня маркера по средним концентрациям с ростом стадии заболевания, но из-за малого количества наблюдений, достоверность различий не была получена, и говорить о стадиоспецифичности не представляется возможным.

При небольшой выборке первичных больных определялась тенденция к повышению уровня сывороточного маркера S100B с глубиной инвазии по Кларку.

Таблица 10

Концентрация S100B в сыворотке крови в группе первичных больных меланомой кожи с учетом стадии заболевания (нг/л)

Стадия и число больных (n)	I n=25	II n=19	III n=5	IV n=1	Контрольная группа n=38
S100B M±m	95,3±11,98	129,6±14,95	142±28,17	>3250	64,86±4,72
p	p1=0,009	p1=0,000 p2=0,077	p1=0,000		
Доля больных с повышенным уровнем S100B, %	40	52,6	60		

Примечание: p1 – достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля. p2- достоверность различий между I и II стадией. M-среднее значение, m-ошибка среднего.

Таблица 11

Концентрация S100B в сыворотке крови в группе первичных больных с учетом уровня инвазии по Кларку (нг/л)

Уровень инвазии по Кларку и число больных (n)	I n=1	II n=20	III n=12	IV n=11	V n=4	Контрольн ая группа n=38
S100B M±m	116, 1	110,1±15, 2	90,77±11, 5	121,7±18, 5	186,7±41, 9	64,86±4,72
p		p=0,000	p=0,018	p=0,000	p=0,000	
Доля больных с повышенным уровнем S100B, %		35	41,7	45,5	75	

Примечание: p – достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля; M-среднее значение, m- ошибка среднего

Концентрация S100B в сыворотке крови в группе больных с рецидивом заболевания с учетом локализации рецидива представлена в таблице 12, из которой следует, что с нарастанием диссеминации процесса наблюдается тенденция к росту уровня маркера.

Таблица 12

Концентрация S100B в сыворотке крови в группе больных с рецидивом заболевания с учетом локализации рецидива (нг/л)

Локализация рецидива	Местный рецидив n=2	Регионарные л/узлы n=13	Местный рецидив+ Регионарные л/узлы n=3	Отдаленные метастазы n=8	Контрольная группа n=38
S100B M±m	118,2±16,4	200±47,68	418,3±269,1	255,9±80,67	64,86±4,72
p	p=0,015	p=0,000	p=0,000	p=0,000	

Примечание: p– достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля; M-среднее значение, m- ошибка среднего.

Информативность S-100B при меланоме кожи представлена в таблице 13.

Таблица 13

Информативность S100B при меланоме кожи

Группы больных	Чувствительность	Специфичность	Точность
I группа	46%	84,2%	62,5%
II группа	73,1%	84,2%	79,7%
III группа	32,2%	84,2%	60,9%
Все больные	48,6%	84,2%	57,9%

Маркер S100B информативен для диагностики рецидива заболевания, что согласуется и с данными литературы. Учитывая, что у 46% первичных больных он был выше дискриминационного уровня, возможно его применение и в комплексной диагностике первичной меланомы.

Концентрация хромогранина А в сыворотке крови больных меланомой кожи представлена в таблице 14.

Таблица 14

Концентрация хромогранина А в сыворотке крови больных меланомой кожи (нг/мл)

Группа и число больных (n)	Первичные больные (I группа) n=40	Больные с рецидивом (II группа) n=24	Больные без рецидива (III группа) n=27	Контрольная группа n=37
Хромогранин А M±m	56,92±8,09	44,67±12,44	37,86±7,14	41,99±5,06
p	p=0,129	p=0,821	p=0,629	

Примечание: p – достоверность различий в сравнении с показателями в группе контроля; M-среднее значение, m- ошибка среднего.

Из таблицы следует, что достоверных различий в содержании хромогранина А у больных меланомой и здоровых нет, поэтому данный маркер не может рассматриваться в качестве диагностического. Учитывая, что у части больных (14%) хромогранин А был выше дискриминационного уровня, можно предположить, что у них меланома носила нейроэндокринный характер.

Математическая диагностическая и прогностическая модели с учетом молекулярных факторов при меланоме кожи

С учетом молекулярных факторов разработаны математические модели для диагностики и прогноза меланомы кожи. Использовалась логистическая модель вероятности заболевания, которая моделирует логарифм шансов заболевания. Если p – вероятность наличия болезни, то используется логит-функция $\ln\left(\frac{p}{1-p}\right)$ для отношения шансов иметь болезнь к шансам не иметь.

Константа модели равна -2.236007. Зная все переменные, можно вычислить отношение шансов для любых сочетаний переменных, учтенных в модели.

Вероятность p вычисляется как:

$$p = \frac{\exp(a_0 + a_1X_1 + \dots + a_nX_n)}{1 + \exp(a_0 + a_1X_1 + \dots + a_nX_n)},$$

где a_0, a_1, \dots, a_n , коэффициенты модели, X_1, X_2, \dots, X_n - значения переменных.

Использовали пол, возраст и маркеры. Выполнялся автоматический выбор переменных. Определены значимые коэффициенты модели (пол, возраст (Age), S100B (S100), норадреналин-адреналиновый (Nad-Ad) и норадреналин-дофаминовый (Nad-Dad) коэффициенты):

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-2.236007	0.988851	-2.261	0.023746
NAd_A	0.108107	0.045410	2.381	0.017281
NAd_Dad	-0.242400	0.064565	-3.754	0.000174
S100	0.008065	0.003366	2.396	0.016585
Age	0.052041	0.016050	3.242	0.001185

По набору маркеров определяли вероятность принадлежности к группам: условно больные (1+2) (первичные больные (1) + больные с рецидивом меланомы кожи (2)), против группы условно здоровых (3+4) (больные без рецидива заболевания (3) + контрольная группа (4)). Распределение модельных вероятностей для здоровых (3+4) и больных (1+2) и ROC-анализ представлены на рисунке 6. Как видно из рисунка, представленная модель с использованием набора переменных - S100B (S100), норадреналин – адреналинового (NAd-A) и норадреналин – дофаминового (NAd-Dad) коэффициентов, пола и возраста помогает в диагностике наличия заболевания (первичной меланомы или её рецидива) или его отсутствия.

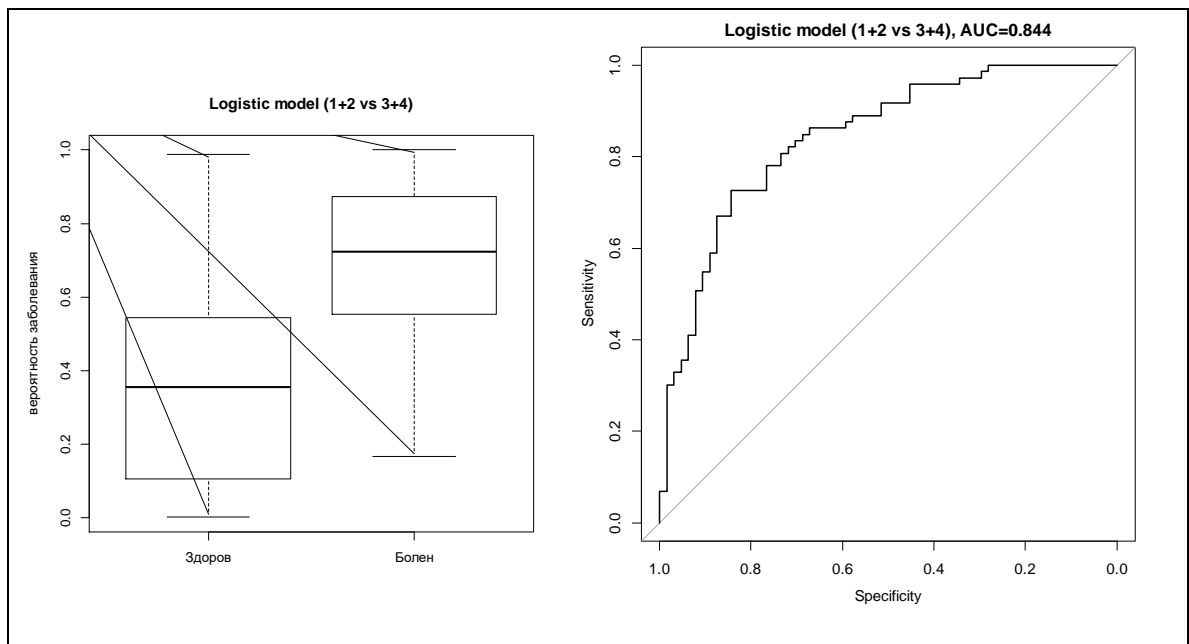


Рис.6 Распределение модельных вероятностей и ROC –анализ для группы здоровых и больных

Для построения математической модели прогностической выживаемости выполнили автоматический набор оптимальной модели пропорционального ущерба Кокса на все переменные. Были выделены значимые переменные: S100B (S100), хромогранин (Xp), адреналин (Ad), норадреналин-адреналиновый коэффициент (NAd-A), норадреналин-дофаминовый коэффициент (NAd-Dad). С учетом выделенных набором факторов построили различные математические модели, которые более сложные, и потенциально лучше отражают действительность в отличие от модели Кокса. Нами были выбраны модель «ускорения времени» (AFT), распределения gengamma и модель пропорционального ущерба Кокса (PH) – распределение gompertz, так как прогностическая выживаемость по средним значениям переменных совпадает с реальной выживаемостью по Каплан-Майеру. Модель прогностической выживаемости gengamma с учетом средних значений S100, хромогранина, адреналина, норадреналин-адреналинового и норадреналин-дофаминового коэффициентов представлена на рисунке 7.

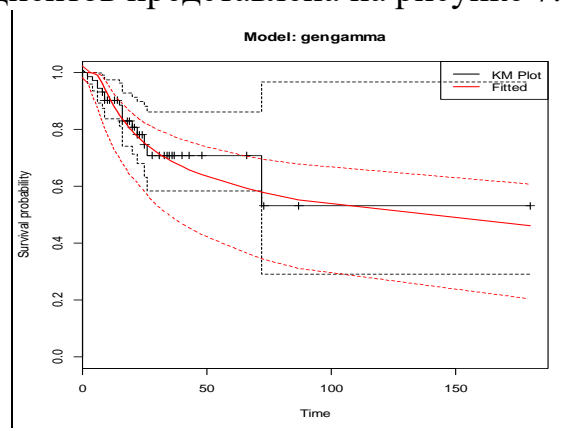


Рис.7 Модель прогностической выживаемости gengamma при меланоме кожи

Параметры модели gengamma

	mu	sigma	Q	S100	Xp	Ad	NAd_A	Nad_Dad
Coef	4.2257	1.1362	-3.5444	-0.0014	0.0020	-0.0245	-0.0545	0.0611
se	0.8739	0.3622	1.4376	0.0000	0.0032	0.0113	0.0320	0.0432
p-value	0.0000	0.0010	0.0070	0.0000	0.2590	0.0150	0.0440	0.0790

Все переменные очень значимы, p-value < 0.01%. Первые три коэффициента – это параметры распределения, остальные – множители для переменных. Если коэффициент отрицательный (например, для S100, Ad и Nad-A), то с увеличением S100, Ad и Nad-A выживаемость падает.

Таким образом, разработанные математические модели: диагностическая и прогностическая с учетом молекулярных факторов, помогают в проведении дифференциальной диагностики между рецидивом заболевания и его отсутствием, а также помогают моделировать прогноз течения меланомы.

Выводы

1. В плазме крови больных первичной меланомой кожи, больных рецидивной меланомой и больных без рецидива заболевания снижен уровень адреналина. Уровень норадреналина снижен в группе больных с первичной меланомой и при диссеминированном процессе в группе больных с рецидивом заболевания. Уровень дофамина повышен в группе первичных больных и больных с рецидивом заболевания. Уровень серотонина снижен во всех группах больных, достоверно значимое снижение – в группе больных первичной меланомой и в группе больных без рецидива заболевания.

2. В группе первичных больных меланомой кожи уровень адреналина снижен при I и II стадиях, уровень норадреналина снижен при всех стадиях, уровень серотонина снижен при II стадии заболевания, по уровню дофамина достоверно значимых различий не получено.

3. Во всех исследуемых группах больных меланомой кожи наблюдается повышение норадреналин-адреналинового коэффициента и снижение норадреналин-дофаминавого и дофаминавого коэффициентов, что свидетельствует о достоверной однонаправленности изменений в соотношениях катехоламинов в виде усиления норадренергического и ослабления адренергического звена симпатико-адреналовой системы и нарушении метаболизма катехоламинов.

4. В группе первичных больных и больных с рецидивом заболевания повышен уровень S100B. В группе первичных больных с ростом стадии заболевания и с увеличением глубины инвазии по Кларку наблюдается тенденция к повышению маркера. В группе больных с рецидивом заболевания наблюдается тенденция к росту уровня маркера с нарастанием диссеминации процесса. Наибольшую информативность: чувствительность 73,1%, специфичность 84,2% и точность 79,7% - показал маркер S100B при рецидиве заболевания, что делает его целесообразным использовать при диспансерном наблюдении больных меланомой кожи.

5. По уровню хромогранина А достоверно значимых различий у

больных меланомой кожи и здоровых не получено, и данный маркер не может рассматриваться в качестве диагностического.

6. Разработанные математические модели с учетом молекулярных факторов позволяют проводить дифференциальную диагностику между рецидивом заболевания и его отсутствием, а также с моделировать прогноз течения меланомы.

Практические рекомендации

1. Для определения состояния нейромедиаторной системы у больных меланомой кожи необходимо определять уровень адреналина, норадреналина, дофамина, серотонина и их соотношения в плазме крови.

2. Для раннего выявления рецидива меланомы целесообразно применять исследование белка S100B в сыворотке крови.

3. Возможно применение серологического белка S100B в комплексной диагностике первичной меланомы кожи.

4. Целесообразно применение нейрофармакологических препаратов для нормализации симпатико-адреналовой системы при всех стадиях заболевания, и особенно при диссеминации процесса с учетом концентрации нейротрансмиттеров и их соотношений в плазме крови.

5. В реабилитации больных меланомой кожи для нормализации симпатико-адреналовой системы необходимо участие онкопсихологов.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Афанасьева, З.А. Меланома кожи головы и шеи в республике Марий Эл / З.А. Афанасьева, Л.Х. Гаптрахманова // IV международный конгресс «Опухоли головы и шеи» 2-4 сентября, Байкал-2011, Иркутск. Онкохирургия. – 2011.- С. 77.

2. Афанасьева, З.А. Меланома кожи в Республике Марий Эл / З.А. Афанасьева, Л.Х. Гаптрахманова, В.В. Поляков // Новые технологии диагностике и лечении злокачественных новообразований: материалы межрег. науч.-практ. конф., посвящ. 65-летию Респуб. клинического онкологического диспансера» – Чебоксары. – 2011. – С.42-44.

3. Мухаматгалеева, Л.Х. Эпидемиология и лечение меланомы кожи головы и шеи в Республике Марий Эл / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, В.В. Поляков // Онкохирургия. Материалы I междисциплинарного конгресса по заболеваниям органов головы и шеи, 27-29 мая 2013 г. – 2013. – Спец. вып. №1. – С. 48-49.

4. Мухаматгалеева, Л.Х. Клинико-морфологические особенности меланомы кожи головы и шеи в республике Марий Эл / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, В.В. Поляков // Вопрос онкологии. Материалы VIII Всероссийского съезда онкологов «Онкология XXI века: от научных исследований – в клиническую практику», 11-13 сентябрь 2013 г. – 2013. – Приложение к №3, Т.59. – С. 494-495.

5. Мухаматгалеева, Л.Х. Клинико-эпидемиологические особенности меланомы кожи в республике Марий Эл / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, В.В. Поляков // Онкохирургия. – 2014.

– №1. – С.31-35.

6. Мухаматгалеева, Л.Х. Роль нейротрансмиттеров в диагностике злокачественной меланомы / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева // **Практическая медицина – 2014. – №3. – С. 12-17.**

7. Афанасьева, З.А. Катехоламины в плазме крови больных меланомой кожи / З.А. Афанасьева, Л.Х. Мухаматгалеева, Ф.С. Билалов // Научный медицинский вестник Югры. Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной фундаментальной и клинической медицины», Ханты-Мансийск, 27-28 ноября 2014 г. – 2014. – №1-2(5-6). – С. 18-20.

8. Мухаматгалеева, Л.Х. О целесообразности определения сывороточного белка S-100В при меланоме кожи / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, Г.А. Усманова // Научный медицинский вестник Югры. Материалы научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной фундаментальной и клинической медицины», Ханты-Мансийск, 27-28 ноября 2014 г. – 2014. – №1-2 (5-6). – С. 135-137.

9. Афанасьева, З.А. Изучение содержания катехоламинов у больных меланомой кожи / З.А. Афанасьева, Л.Х. Мухаматгалеева, Ф.С. Билалов // Материалы VIII Республиканской научно-практической конференции «Перспективные направления и новые технологии в здравоохранении», Йошкар-Ола, 28 ноября 2014 г. – Йошкар-Ола. – 2014 – С.3-4.

10. Афанасьева, З.А. О соотношении содержания нейротрансмиттеров в плазме крови больных меланомой кожи / З.А. Афанасьева, Л.Х. Мухаматгалеева, Ф.С. Билалов // Онкология и хирургия. – 2015. – №1. – С.4-7.

11. Мухаматгалеева, Л.Х. Диагностическая значимость определения белка S-100В при меланоме кожи / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, Г.А. Усманова // Материалы VIII Республиканской научно-практической конференции «Перспективные направления и новые технологии в здравоохранении», Йошкар-Ола, 28 ноября 2014г. – Йошкар-Ола. – С.39-40.

12. Мухаматгалеева, Л.Х. Содержание нейротрансмиттеров в плазме крови больных меланомой кожи / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, Ф.С. Билалов // Материалы IX Международной научно-практической конференции молодых ученых-медиков, организуемой Казанским, Воронежским и Курским медицинскими образовательными учреждениями, Казань, 14-15 апр. 2015 г. – Казань, 2015. – С.194-195.

13. Мухаматгалеева, Л.Х. Сывороточный белок S-100В при меланоме кожи / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, Г.А. Усманова // Материалы IX Международной научно-практической конференции молодых ученых-медиков, организуемой Казанским, Воронежским и Курским медицинскими образовательными учреждениями, Казань, 14-15 апреля 2015 г. – Казань, 2015. – С.196-198.

14. Мухаматгалеева, Л.Х. Уровень катехоламинов в плазме крови больных меланомой кожи / Л.Х. Мухаматгалеева // Сибирский

онкологический журнал. – 2015. – Приложение №1. – С.63-64.

15. Мухаматгалеева, Л.Х. Меланома кожи и сывороточный белок S100В / Мухаматгалеева Л.Х. // Сибирский онкологический журнал. – 2015 . – Приложение №1. – С.63.

16. Афанасьева, З.А. О соотношении нейротрансмиттеров в плазме крови у больных первичной и рецидивной меланомой» / З.А. Афанасьева, Л.Х. Мухаматгалеева, Ф.С. Билалов // Материалы V Международной научно-практической конференции «Новые концепции механизмов воспаления, аутоиммунного ответа и развития опухоли», Казань, 1-2 октяб. 2015 г. – Казань, 2015. – С.15.

17. Мухаматгалеева, Л.Х. Белок S-100 при первичной и рецидивной меланоме / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, Г.А. Усманова // Материалы V Международной научно-практической конференции «Новые концепции механизмов воспаления, аутоиммунного ответа и развития опухоли», Казань, 1-2 октября 2015 г. – Казань, 2015. – С. 64.

18. Мухаматгалеева, Л.Х. Определение уровня нейротрансмиттеров в плазме крови больных меланомой кожи / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, Ф.С. Билалов // Злокачественные опухоли. Материалы XIX Российского онкологического конгресса, Москва, 17-19 нояб. 2015 г. – 2015 г. – Спец. вып. 2. - №4. – С.195-196.

19. Мухаматгалеева, Л.Х. Белок S-100В и его диагностическая информативность при меланоме / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, Г.А. Усманова // Злокачественные опухоли. Материалы XIX Российского онкологического конгресса, Москва, 17-19 ноября 2015 г. – 2015. – Спец. вып. 2. - №4. – С.196.

20. Мухаматгалеева, Л.Х. Медиаторный обмен у больных меланомой кожи / Л.Х. Мухаматгалеева // Материалы конференции VII Конференции молодых ученых РМАПО с международным участием «ШАГ В ЗАВТРА», Москва, 20-21 апреля 2016 г.: т. II. – М., 2016. – С.67.

21. Мухаматгалеева, Л.Х. Определение белка S100В и его диагностическая значимость при меланоме кожи / Л.Х. Мухаматгалеева, З.А. Афанасьева, Г.А. Усманова // Саркомы костей, мягких тканей и опухоли кожи. – 2016. – №1. – С. 65-69.

22. Мухаматгалеева, Л.Х. Состояние нейротрансмиттерного обмена у больных меланомой кожи / Л.Х. Мухаматгалеева // Евразийский онкологический журнал (Международный научно-практический журнал). – 2016. – Т.4, №2. – С.269.

23. Меланома кожи: учебно-методическое пособие / З.А. Афанасьева, Л.Х. Мухаматгалеева. – Казань: Участок ротапечатающей печати НБ КГМА, 2015. – 64 с.