

Оценка экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона в опухолевых клетках при увеальной меланоме

С.В. Саакян — д-р мед. наук, профессор, начальник отдела офтальмоонкологии и радиологии¹, зав. учебной частью кафедры глазных болезней²

М.Г. Жильцова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник отдела офтальмоонкологии и радиологии¹

В.В. Вальский — д-р мед. наук, главный научный сотрудник отдела офтальмоонкологии и радиологии¹

А.Ю. Цыганков — канд. мед. наук, младший научный сотрудник отдела офтальмоонкологии и радиологии¹, ассистент кафедры глазных болезней²

¹ ФГБУ «Московский НИИ глазных болезней им. Гельмгольца» Минздрава России, 105062, Москва, ул. Садовая-Черногрозская, д. 14/19

² ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет» Минздрава России, 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

Цель — изучение рецепторного статуса клеток увеальной меланомы (УМ) к эстрогену (РЭ) и прогестерону (РП). **Материал и методы.** Обследовано 22 больных (8 мужчин и 14 женщин) с УМ в возрасте от 22 до 76 лет (в среднем $54,3 \pm 2,2$ года). Во всех случаях по показаниям проведена энуклеация ($n = 20$) или тонкоигольная аспирационная биопсия ($n = 2$). Материал для цитологического исследования ($n = 22$) получали методом отпечатка из энуклеированных глаз. Для подтверждения диагноза выполняли рутинное цитологическое исследование, на втором этапе применяли метод иммуноцитохимии для дифференцировки меланоцитарной природы опухоли. **Результаты.** Цитологический диагноз УМ установлен у всех больных, включая два срочных цитологических исследования на операционном столе. В 80 % меланом наблюдали положительную экспрессию НМВ 45 (маркер меланоцитарной дифференцировки) и *cocktail Melan* (меланома-ассоциированный маркер), что подтверждало меланоцитарную природу опухоли. Отмечали слабовыраженную реакцию на S100 (маркер нейрональной дифференцировки). Во всех случаях была ярко выраженная реакция на виментин, проявляющаяся четкой коричневой окраской цитоплазмы. При изучении экспрессии РЭ и РП получен отрицательный результат: ни в одном из исследуемых образцов в количественном отношении реакция не имела положительного значения. **Заключение.** В нашей работе на основании изучения образцов УМ 22 больных положительной экспрессии РЭ и РП в опухолевой ткани не выявлено, что коррелирует с данными литературы.

Ключевые слова: увеальная меланома, цитология, иммуноцитохимия, рецепторы эстрогена, рецепторы прогестерона.

Для цитирования: Саакян С.В., Жильцова М.Г., Вальский В.В., Цыганков А.Ю. Оценка экспрессии рецепторов эстрогена и прогестерона в опухолевых клетках при увеальной меланоме. Российский офтальмологический журнал. 2018; 11 (1): 17-23. doi: 10.21516/2072-0076-2018-11-1-17-23.

Увеальная меланома (УМ) — наиболее частая внутриглазная злокачественная опухоль среди взрослого населения [1]. Отмечены единичные слу-

чай развития УМ у детей и подростков [2]. Опухоль характеризуется выраженной злокачественностью и склонностью к раннему метастазированию, при

этом основным органом-мишенью является печень (до 90 %). Выделяют несколько групп факторов, влияющих на прогноз УМ: клинические, патоморфологические и молекулярно-генетические [3]. За последние годы накоплен значительный опыт изучения различных аспектов патогенеза опухоли, включая генетические, иммунологические и эндокринологические [4–7].

В ряде работ описана возможная роль гормонального статуса пациента в определении степени риска злокачественной трансформации меланоцитов и развития УМ [8, 9]. Так, А. Kubicka-Trzaska и соавт. полагают, что беременность и сопутствующие ей гормональные, метаболические, гематологические, сосудистые и иммунологические изменения могут влиять на функционирование органа зрения в целом и развитие УМ в частности [8]. Аналогичное мнение высказывают в своей работе М. Pilas-Pomykalska и соавт., подтверждая худший прогноз у беременных пациенток с УМ [9]. В то же время Е. Holly и соавт. не нашли убедительных данных о роли гормональных изменений, включая таковые во время беременности и при приеме гормональных контрацептивных препаратов, в развитии УМ [4]. К. Egan и соавт. изучали группу молодых пациенток репродуктивного возраста с УМ, которые забеременели или принимали гормональные препараты после лечения по поводу УМ. Согласно полученным данным, гормональный статус не влияет на риск развития метастатической болезни у молодых пациенток с УМ [10].

В последние годы частота беременных пациенток с УМ, в том числе в возрасте более 35 лет, поступающих в отдел офтальмоонкологии и радиологии МНИИ ГБ им. Гельмгольца, возросла. Хирургическая тактика ведения данных пациентов не отличается от таковых в общей популяции, однако недостаточное понимание роли гормонального статуса, в том числе эстрогена и прогестерона, препятствует выработке дифференцированного подхода к лечению таких больных. В Российской Федерации исследования, посвященные эндокринологическим особенностям больных УМ, отсутствуют.

ЦЕЛЬ работы — изучение рецепторного статуса клеток УМ к эстрогену (РЭ) и прогестерону (РП).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Все пациенты с подозрением на наличие УМ по данным клинических и инструментальных методов исследования подписывали информированное согласие на проведение исследования. Критериями соответствия служили показания к проведению энуклеации (удаления) пораженного глаза, а именно большие размеры опухоли (высота опухоли — более 8 мм, диаметр основания — более 15 мм), ее неблагоприятная локализация в цилиарном теле, наличие экстрабульбарного роста, вторичной болящей глаукомы. Все исследования проведены в стационаре отдела офтальмоонкологии и радиологии

МНИИ ГБ им. Гельмгольца в течение 2 лет: с 2014 по 2016 г. Материал для цитологического исследования получали методом отпечатка из энуклеированных (удаленных) глаз. У 2 больных была выполнена тонкоигольная аспирационная биопсия (ТИАБ) на живом глазу в операционной в связи с необходимостью исключения метастатического поражения глаза (в анамнезе у одного больного зафиксирован рак прямой кишки).

Наличие рецепторов РЭ и РП изучали с помощью метода иммуноцитохимии (ИЦХ). Метод основан на высокоспецифической реакции антиген-антитело при изучении гисто- и цитопрепаратов с целью идентификации и установления локализации в клетках разнообразных молекулярных структур и соединений: гормонов, ферментов, рецепторов поверхностных мембран, белков промежуточных филаментов. Метод ИЦХ используют для определения экспрессии молекулярных маркеров на клеточном уровне. ИЦХ-реакция может быть ядерной, цитоплазмной и мембранной. Ядерная реакция проявляется интенсивным окрашиванием ядра и подсчитывается при определении РЭ и РП [11].

Выполняли рутинное цитологическое исследование для подтверждения диагноза, используя стандартную окраску Мая — Грюнвальда с последующей окраской азури-эозином. На втором этапе выполняли метод ИЦХ для дифференцировки меланоцитарной природы опухоли, используя панель МАТ (все маркеры цитоплазматические): HMB 45 — маркер меланоцитарной дифференцировки, cocktail Melan — меланома-ассоциированный маркер, S100 — маркер нейрональной дифференцировки, виментин — белок промежуточных филаментов. Для изучения рецепторного статуса использовали антитела к РЭ и РП фирмы Dako (Дания). Для визуализации реакций применяли систему детекции «Ultra VISION LP Пероксидаза Полимер» и DAB плюс хромоген (Thermo Fisher Scientific, США). Данная система детекции позволяет выявлять специфические мышинные IgG-или кроличьи IgG-антитела, связанные с антигеном в препарате. Локус, в котором находятся специфические антитела, выявляют с помощью универсального препарата вторых антител, конъюгированного с полимером, меченым ферментом, который выявляет мышинный или кроличий IgG. Затем полимерный комплекс визуализируется с помощью соответствующей системы хромоген-субстратов. Реакции проводили согласно инструкции фирмы-производителя. Оценку результатов проводили на световом микроскопе Axiostarplus (Carl Zeiss, Германия), используя увеличение 200, 400 и 1000.

В работе изучали опухолевую ткань энуклеированных глаз с УМ, определяя экспрессию РЭ и РП по количеству и интенсивности окрашивания ядер опухолевых клеток. Оценку экспрессии РЭ и РП оценивали количественным методом по системе H-score [12]. Система подсчета включает интенсивность

иммуноцитохимической окраски, оцениваемой по 4-балльной шкале, и долю окрашенных клеток и представляет собой сумму произведений процентов, отражающих долю клеток с различной интенсивностью окраски на балл, соответствующий интенсивности реакции. Интенсивность окраски в баллах: 0 — нет окрашивания, 1 — слабое окрашивание, 2 — умеренное окрашивание, 3 — сильное окрашивание, 4 — очень сильное окрашивание. Подсчет проводят в 3 когортах по 100 опухолевых клеток в различных полях зрения объективом $\times 40$. Количество окрашенных ядер опухолевых клеток в баллах: 0 — отсутствие окрашивания; 1 — от 0 до 1 %; 2 — от 1 до 10 %; 3 — от 10 до 33 %; 4 — от 33 до 66 %; 5 — от 66 до 100 %. В практической работе нами используется простая схема оценки степени выраженности маркера в собственной модификации: отрицательная реакция трактуется как полное отсутствие или экспрессия антигена менее чем в 5 % опухолевых клеток, слабоположительная — при наличии в 6–25 % клеток, умеренно положительная — в 26–75 %, выраженная — более чем в 75 % клеток.

Статистический анализ. Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием приложения Microsoft Excel — 2010 и статистической программы Statistica 10.1 (StatSoft, США). Проведен расчет среднего арифметического значения (M), стандартного отклонения от среднего арифметического значения ($m1$), минимальных (min) и максимальных (max) значений, размаха вариации Rv (разность $max-min$). При сравнении частот выявления признака использовался точный критерий Фишера. Различия между выборками считали достоверными при $p < 0,05$, доверительный интервал — 95 %.

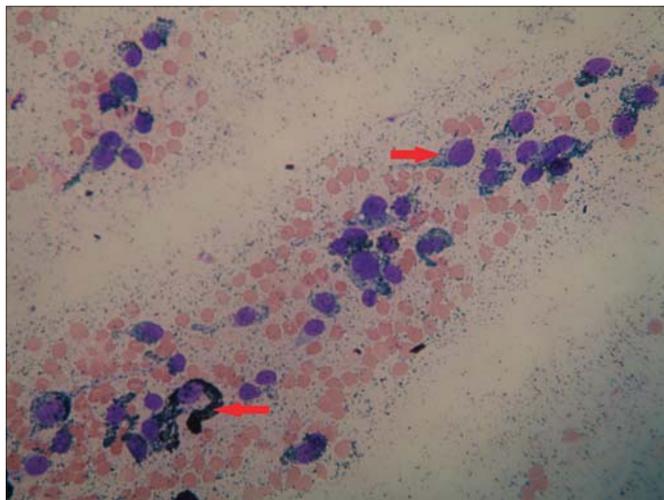


Рис. 1. ТИАБ увеальной меланомы на живом глазу в условиях операционной. Веретеноклеточный тип. Стрелками обозначены клетки увеальной меланомы веретенообразной формы. Ув. 400.

Fig. 1. FNAB of uveal melanoma in operating room. Spindle cell type. Uveal melanoma spindle cells are pointed. Magnification 400.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Обследовано 22 больных (8 мужчин и 14 женщин) с УМ, среди которых одна беременная при сроке 18 нед и один больной с экстрабульбарным ростом опухоли. Возраст составил от 22 до 76 лет (в среднем $54,3 \pm 2,2$ года). Средняя высота опухоли по данным ультразвукового исследования составила $9,7 \pm 1,2$ (2,5–16,5) мм, диаметр основания опухоли — $15,3 \pm 2,8$ (3,9–20,1) мм.

Цитологический диагноз УМ установлен у всех больных, включая два срочных цитологических исследования на операционном столе (рис. 1). На основании ТИАБ исключили метастатическую опухоль и идентифицировали УМ, с последующей энуклеацией и гистологическим подтверждением. Гистологическое исследование подтвердило диагноз УМ у всех 22 больных, в том числе эпителиоидноклеточный ($n = 4$), смешанноклеточный ($n = 11$) (рис. 2), веретеноклеточный ($n = 7$) гистологические типы.

В 80 % УМ наблюдали положительную экспрессию HMB 45 и соcтаил Melan, что подтверждало меланоцитарную природу опухоли (рис. 3). Отмечали слабовыраженную реакцию на S100 (рис. 4). Во всех случаях была ярко выраженная реакция на виментин, проявляющаяся четкой коричневой окраской цитоплазмы (рис. 5).

Используя предложенную выше схему, мы получили отрицательный результат, так как во всех препаратах визуализировались единичные коричневоокрашенные ядра опухолевых клеток. Данный результат свидетельствовал о том, что реакция прошла, но в количественном отношении не имела положительного результата (рис. 6, 7). У беременной пациентки не отмечено положительного результата,

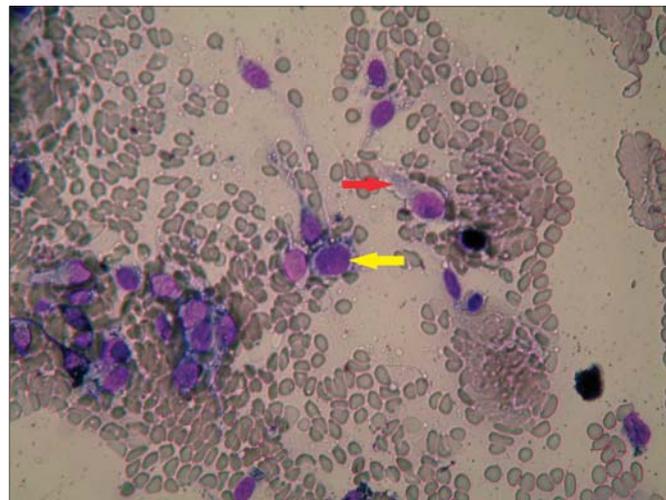


Рис. 2. ТИАБ увеальной меланомы. Смешанноклеточный тип. Красной стрелкой обозначена клетка веретенообразной формы, желтой стрелкой — клетка эпителиоидной формы. Ув. 1000.

Fig. 2. FNAB of uveal melanoma. Mixed cell type. Uveal melanoma spindle cells are pointed red, epithelioid cells are pointed yellow. Magnification 1000.

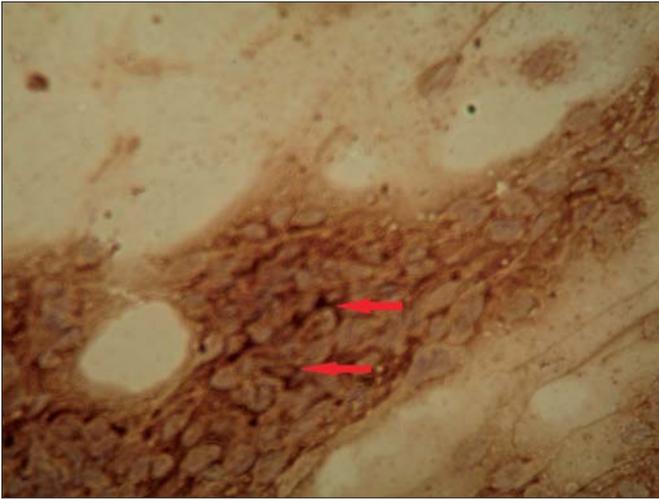


Рис. 3. ИЦХ увеальной меланомы, коктейль melan. Стрелки показывают экспрессию меланосомного антигена в виде напыления и грубых гранул коричневого цвета. Ув. 1000.

Fig. 3. ICC of uveal melanoma, cocktail-melan. Melanosomic antigen expression (sputter, brown granules) is pointed. Magnification 1000.

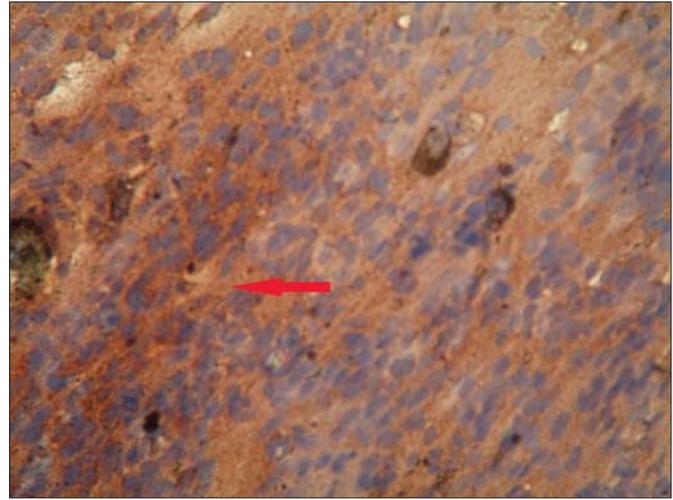


Рис. 4. ИЦХ увеальной меланомы, S100, слабовыраженная реакция. Стрелкой обозначена положительная экспрессия белка S100 (коричневое окрашивание). Ув. 1000.

Fig. 4. ICC of uveal melanoma, S100, ill-defined reaction. S100 positive expression is pointed (brown coloration). Magnification 1000.

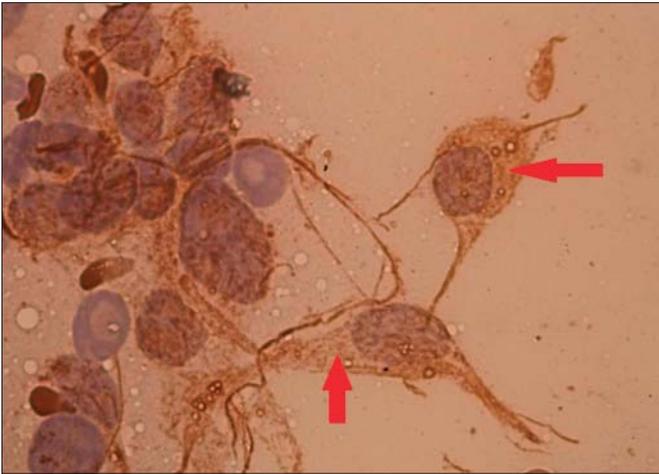


Рис. 5. ИЦХ увеальной меланомы, цитоплазмальная реакция. Стрелками обозначена положительная экспрессия виментина в цитоплазме, проявляющаяся ее коричневым окрашиванием. Ув. 1000.

Fig. 5. ICC of uveal melanoma, cytoplasmic reaction. Positive vimentin expression in cytoplasm is pointed, visualized as brown coloration. Magnification 1000.

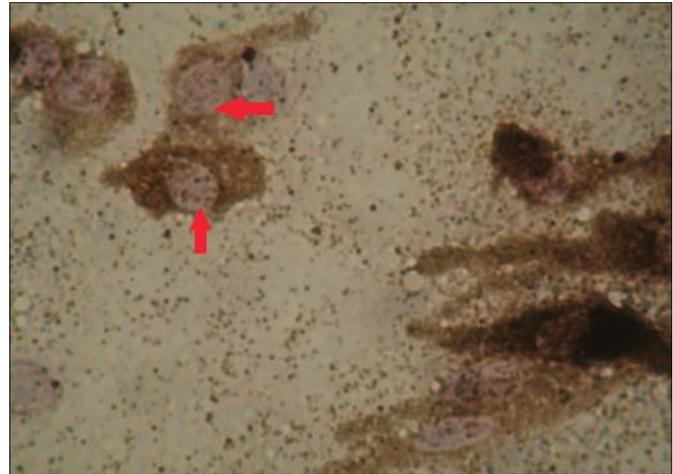


Рис. 6. ИЦХ увеальной меланомы, отрицательная реакция на эстроген. Стрелками обозначены неокрашенные ядра. Ув. 1000.

Fig. 6. ICC of uveal melanoma, negative reaction to estrogen. Unstained nuclei are pointed. Magnification 1000.

хотя в препаратах просматривались единичные окрашенные ядра и коричневые конгломераты, что расценивали как артефакты. Для контроля проведена реакция на РЭ и РП у больной с раком молочной железы (материал предоставлен из Московского НИИ онкологии им. П.А. Герцена), где четко визуализировалась ядерная реакция на РЭ (+8 баллов) (рис. 8).

ОБСУЖДЕНИЕ

В работе проведена оценка экспрессии РЭ и РП у 22 больных с УМ, положительной экспрессии РЭ и РП в опухолевой ткани не выявлено. К. Egan и соавт., обследовав 1818 больных с УМ: 905 мужчин и 913 женщин (748 рожающих и 165 нерожающих),

показали, что 10-летняя выживаемость среди рожающих женщин значительно лучше (69 %), чем у мужчин (61 %) и в подгруппе нерожающих женщин (59 %) ($p = 0,02$) [13]. J. Seddon и соавт. наблюдали пациентов с УМ, из них 5 беременных женщин, одну пациентку наблюдали в течение 2 беременностей с последующей энуклеацией и гистологическим анализом [14]. Исследование показало, что количество энуклеаций больше у женщин старше 44 лет, чем у мужчин аналогичного возраста, однако выявленные различия были статистически незначимыми. Для проверки гипотезы о гормональных особенностях пациентов с УМ авторы проанализировали 7 образцов опухолевой ткани УМ, включая один от беременной женщины, на наличие РЭ. Согласно полученным данным, специфических РЭ в опухолевой ткани, как

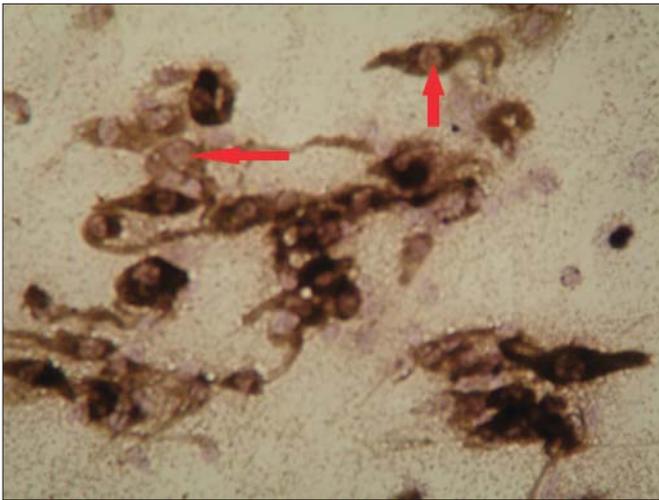


Рис. 7. ИЦХ увеальной меланомы, отрицательная реакция на прогестерон. Стрелками обозначены неокрашенные ядра. Ув. 400.
Fig. 7. ICC of uveal melanoma, negative reaction to progesterone. Unstained nuclei are pointed. Magnification 400.

и статистически значимой разницы в продолжительности жизни мужчин и женщин, не выявлено [14]. В нашем исследовании при проведении ИЦХ-анализа 22 энуклеированных глаз с УМ ни в одном случае не выявлена экспрессия РЭ и РП.

Аналогичные результаты приводят R. Grosten и соавт. на основании анализа данных исследования COMS (Collaborative Ocular Melanoma Study). В работе приведены данные иммуногистохимического анализа 14 энуклеированных глаз с опухолями больших размеров, проведенного для определения РЭ I типа. Авторы не обнаружили указанные рецепторы ни в одном из исследуемых образцов [15].

J. Shields и соавт. провели исследование энуклеированного материала у 16 беременных пациенток, средний возраст которых составил 30 лет, а период гестации — 6 мес. Отмечено, что опухоли не имели гистологических отличий от таковых в общей популяции, а РЭ и РП на опухолевых клетках УМ не выявлены [16]. Среди пациентов, вошедших в настоящее исследование, была одна беременная женщина с УМ, однако при ИЦХ-анализе удаленного глаза РЭ и РП выявлены не были.

Представляет интерес многоцентровое исследование влияния гормонального статуса на развитие УМ, проведенное в 9 европейских странах [17]. В работе проводили опрос 293 пациентов (165 мужчин и 128 женщин) с УМ, а также 3198 здоровых лиц (2121 мужчина и 1077 женщин). Данных об ассоциации риска развития УМ с особенностями гормонального статуса, приемом гормональной терапии или оральных контрацептивов не получено [17].

Аналогичные другим исследованиям данные приводят Т. Makitie и соавт. в работе по ИЦХ-изучению экспрессии РЭ при первичной и метастатической УМ [18]. В работе изучали 23 парафиновых блока образцов первичной и 24 — метастатической

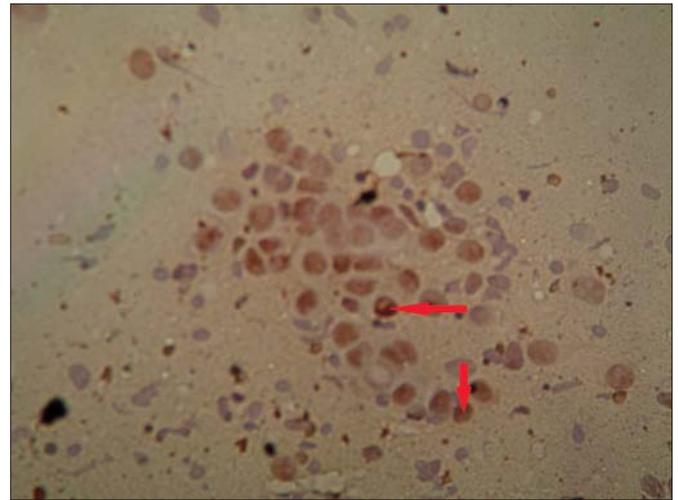


Рис. 8. ИЦХ рака молочной железы, положительная реакция на эстроген. Стрелками обозначена коричневая окраска ядер. Ув. 400.
Fig. 8. ICC of breast cancer, positive reaction to estrogen. Brown nuclei staining is pointed. Magnification 400.

УМ методом ИЦХ с применением моноклонального антитела (MAb) 1D5. Ни в одном исследуемом случае не выявлены опухолевые клетки, демонстрирующие клеточную реакцию на РЭ с MAb1D5 [18].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые в Российской Федерации проведена оценка экспрессии РЭ и РП у пациентов с УМ. При изучении образцов УМ 22 больных положительной экспрессии РЭ и РП в опухолевой ткани не выявлено, что коррелирует с немногочисленными данными литературы. Поиск возможной взаимосвязи с рецепторами других белков, включая 17-оксипрогестерон, необходимо проводить с помощью широкого спектра антител. Для определения влияния беременности на течение УМ необходимы дальнейшие исследования.

Конфликт интересов: отсутствует.

Прозрачность финансовой деятельности: никто из авторов не имеет финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах.

Литература

1. Козина Е.В., Козина Ю.В., Гололобов В.Т., Кох И.А. Увеальная меланома: основные эпидемиологические аспекты и факторы риска. Сибирское медицинское обозрение. 2014; 4 (88): 57–64.
2. Саакян С.В., Амирян А.Г., Цыганков А.Ю. Увеальная меланома у детей и подростков: анализ собственных наблюдений у 21 больного. Российская педиатрическая офтальмология. 2015; 10 (3): 33–6.
3. Амирян А.Г., Саакян С.В. Факторы прогноза увеальной меланомы. Вестник офтальмологии. 2015; 131(1): 90–5. doi: 10.17116/ofalma2015131190-94.
4. Holly E.A., Aston D.A., Ahn D.K., et al. Uveal Melanoma, Hormonal and Reproductive Factors in Women. Cancer Res. 1991; 51(5): 1370–2.
5. Саакян С.В., Мякошина Е.Б., Кричевская Г.И. и др. Обследование больных увеальной меланомой на наличие герпес-вирусных инфекций. Вопросы вирусологии. 2016; 61 (6): 284–7. doi: 10.18821/0507-4088-2016-61-6-284-287.

6. *Цыганков А.Ю., Амирян А.Г., Саакян С.В.* Роль патоморфологических и молекулярно-генетических факторов в развитии экстрабульбарного роста увеальной меланомы. Современные технологии в медицине. 2016; 8 (2): 76–83. doi: 10.17691/stm2016.8.2.11.
7. *Величко Л.Н., Вит В.В., Малецкий А.П.* Уровень экспрессии молекулярных маркеров активации лимфоцитов у больных увеальной меланомой с различными клеточными типами. Офтальмологический журнал. 2013; 3 (452): 33–7.
8. *Kubicka-Trzaska A., Karska-Basta I., Kobylarz J., Romanowska-Dixon B.* [Pregnancy and the eye]. *Klin Oczna*. 2008; 110 (10–12): 401–4.
9. *Pilas-Pomykalska M., Czajkowski J., Oszukowski P.* [Ocular changes during pregnancy]. *Ginekol Pol*. 2005; 76 (8): 655–60.
10. *Egan K.M., Walsh S.M., Seddon J.M., Gragoudas E.S.* An evaluation of the influence of reproductive factors on the risk of metastases from uveal melanoma. *Ophthalmology*. 1993; 100 (8): 1160–5. doi:10.1016/s0161-6420(93)31512-5.
11. *Волченко Н.Н., Савостикова М.В.* Атлас цитологической и иммуноцитохимической диагностики опухолей. Москва: Репроцентр М; 2010.
12. *McCarty K.S.Jr., Miller L.S., Cox E.B., Konrath J., McCarty K.S.Sr.* Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1985; 109 (8): 716–21.
13. *Egan K.M., Quinn J.L., Gragoudas E.S.* Childbearing history associated with improved survival in choroidal melanoma. *Arch. Ophthalmology*. 1999; 117: 339–42. doi: 10.1001/archophth.117.7.939.
14. *Seddon J.M., Machanghlin D.T., Albert D.M., et al.* Uveal melanomas presenting during pregnancy and the investigation of oestrogen receptors in melanomas. *Br. J. Ophthalmol*. 1982; 66 (11): 695–704. doi:10.1136/bjo.66.11.695.
15. *Grosten R.J., Slusker Shternfeld I., Bacus S.S., et al.* Absence of type I estrogen receptors in choroidal melanoma analysis: analysis of Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) eyes. *Am. J. Ophthalmol*. 2001; 131 (6): 788–91. doi:10.1016/s0002-9394(00)00959-4.
16. *Shields J.A., Shields C.L., Eagle R.J., et al.* Uveal melanoma and pregnancy. A report of 16 cases. *Ophthalmology*. 1991; 98 (11): 1677–83.
17. *Behrens T., Kaerlev L., Cree I., et al.* Hormonal exposures and the risk of uveal melanoma. *Cancer Causes Control*. 2010; 21 (10): 1625–34. doi:10.1007/s10552-010-9591-9.
18. *Mäkitie T., Tarkkanen A., Kivelä T.* Comparative immunohistochemical oestrogen receptor analysis in primary and metastatic uveal melanoma. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol*. 1998; 236 (6): 415–9. doi:10.1007/s004170050099.

Поступила: 29.06.2017

Estrogen and progesterone receptors expression in uveal melanoma tumor cells

S.V. Saakyan — Dr. Med. Sci., Professor, head of ocular oncology and radiology department¹, deputy director of education, ophthalmology faculty²

M.G. Zhiltsova — Cand. Biol. Sci., researcher, ocular oncology and radiology department¹

V.V. Valskiy — Dr. Med. Sci., principal researcher, ocular oncology and radiology department¹

A.Yu. Tsygankov — Cand. Med. Sci., researcher, ocular oncology and radiology department¹, assistant, ophthalmology faculty²

¹Moscow Helmholtz Research Institute of Eye Diseases, 14/19, Sadovaya-Chernogryazskaya St., Moscow, 105062, Russia

²Moscow State Medical Stomatological University, 20/1, Delegatskaya St., Moscow, 127473, Russia
alextsygankov1986@yandex.ru

Purpose: study of uveal melanoma (UM) cells receptor status to estrogen (ER) and progesterone (PR). **Material and methods.** 22 patients (8 men and 14 women) with UM aged 22 to 76 (mean 54.3 ± 2.2 years) were subjected enucleation ($n = 20$) or fine-needle aspiration biopsy, depending on clinical indications. The material for cytological examination ($n = 22$) was obtained from enucleated eyes by imprinting. A routine cytological study was performed to confirm the diagnosis, while at the second stage the method of immunocytochemistry (ICC) was used to differentiate the melanocytic nature of the tumor. **Results.** The cytological diagnosis of melanoma was established in all patients, including two urgent cytological tests on the operating table. In 80 % of melanomas, a positive expression of HMB 45 (melanocytic differentiation marker) and cocktail Melan (a melanoma-associated marker) were observed, which confirmed the melanocytic nature of the tumor. A weak reaction to S100 (neuronal differentiation marker) was noted. In all cases, a pronounced reaction to vimentin was observed, which manifested itself as a brown coloration of the cytoplasm. When studying the expression of ER and PR, a negative result was obtained; none of the studied samples displayed a quantitatively positive reaction. **Conclusions.** In our investigation, based on UM samples study, 22 patients had no positive expression of estrogen and progesterone receptors in the tumor tissue, which correlates with literary data.

Keywords: uveal melanoma; cytology; immunocytochemistry; estrogen receptors; progesterone receptors.

For citation: Saakyan S.V., Zhiltsova M.G., Valskiy V.V., Tsygankov A.Yu. Estrogen and progesterone receptors expression in uveal melanoma tumor cells. Russian ophthalmological journal. 2018; 11 (1): 17–23. doi: 10.21516/2072-0076-2018-11-1-17-23 (In Russian).

Conflict of interests: there is no conflict of interests.

Financial disclosure: No author has a financial or property interest in any material or method mentioned.

References

1. Kozina E.V., Kozina Ju.V., Gololobov V.T., Koh I.A. Uveal melanoma: basic epidemiological aspects and risk factors. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie*. 2014; 4 (88): 57–64 (in Russian).
2. Saakyan S.V., Amiryana A.G., Tsygankov A.Yu. Uveal melanoma in children and adolescents: the analysis of the original observations of 21 patients. *Rossijskaja pediatricheskaja oftal'mologija*. 2015; 10 (3): 33–6 (in Russian).
3. Amiryana A.G., Saakyan S.V. Prognostic factors for uveal melanoma. *Vestnik oftal'mologii*. 2015; 131 (1): 90–5. doi: 10.17116/oftalma2015131190-94 (in Russian).
4. Holly E.A., Aston D.A., Ahn D.K., et al. Uveal Melanoma, Hormonal and Reproductive Factors in Women. *Cancer Res*. 1991; 51 (5): 1370–2.
5. Saakyan S.V., Myakoshina E.B., Krichevskaja G.I., et al. Testing patients with uveal melanoma for herpes virus infections. *Voprosy virusologii*. 2016; 61 (6): 284–7. doi: 10.18821/0507-4088-2016-61-6-284-287 (in Russian).
6. Tsygankov A.Yu., Amiryana A.G., Saakyan S.V. The role of pathologic and molecular genetic factors in development of uveal melanoma extrabulbar growth. *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2016; 8 (2): 76–83. doi: 10.17691/stm2016.8.2.11 (in Russian).
7. Velichko L.N., Vit V.V., Maleckij A.P. The level of expression of molecular markers of lymphocyte activation in different uveal melanoma cellular types. *Oftal'mologicheskij zhurnal*. 2013; 3 (452): 33–7 (in Russian).
8. Kubicka-Trzaska A., Karska-Basta I., Kobylarz J., Romanowska-Dixon B. [Pregnancy and the eye]. *Klin Oczna*. 2008; 110 (10–12): 401–4 (in Polish).
9. Pilas-Pomykalska M., Czajkowski J., Oszukowski P. [Ocular changes during pregnancy]. *Ginekol Pol*. 2005; 76 (8): 655–60 (in Polish).
10. Egan K.M., Walsh S.M., Seddon J.M., Gragoudas E.S. An evaluation of the influence of reproductive factors on the risk of metastases from uveal melanoma. *Ophthalmology*. 1993; 100 (8): 1160–5. doi:10.1016/s0161-6420(93)31512-5.
11. Volchenko N.N., Savostikova M.V. Tumor cytological and immunocytochemical diagnostics. Moscow: Reprocentr M; 2010 (in Russian).
12. McCarty K.S.Jr., Miller L.S., Cox E.B., Konrath J., McCarty K.S.Sr. Estrogen receptor analyses. Correlation of biochemical and immunohistochemical methods using monoclonal antireceptor antibodies. *Arch. Pathol. Lab. Med*. 1985; 109 (8): 716–21.
13. Egan K.M., Quinn J.L., Gragoudas E.S. Childbearing history associated with improved survival in choroidal melanoma. *Arch. Ophthalmology*. 1999; 117: 339–42. doi: 10.1001/archophth.117.7.939.
14. Seddon J.M., Machanghlin D.T., Albert D.M., et al. Uveal melanomas presenting during pregnancy and the investigation of oestrogen receptors in melanomas. *Br J Ophthalmol*. 1982; 66 (11): 695–704. doi:10.1136/bjo.66.11.695.
15. Grosten R.J., Slusker Shternfeld I., Bacus S.S., et al. Absence of type I estrogen receptors in choroidal melanoma analysis: analysis of Collaborative Ocular Melanoma Study (COMS) eyes. *Am. J. Ophthalmol*. 2001; 131 (6): 788–91. doi:10.1016/s0002-9394(00)00959-4.
16. Shields J.A., Shields C.L., Eagle R.J., et al. Uveal melanoma and pregnancy. A report of 16 cases. *Ophthalmology*. 1991; 98 (11): 1677–83.
17. Behrens T., Kaerlev L., Cree I., et al. Hormonal exposures and the risk of uveal melanoma. *Cancer Causes Control*. 2010; 21 (10): 1625–34. doi:10.1007/s10552-010-9591-9.
18. Mäkitie T., Tarkkanen A., Kivelä T. Comparative immunohistochemical oestrogen receptor analysis in primary and metastatic uveal melanoma. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol*. 1998; 236 (6): 415–9. doi:10.1007/s004170050099.

Для контактов: Цыганков Александр Юрьевич
E-mail: alextsygankov1986@yandex.ru