

3. Еремича Л. А. Разработка методов лечения первичных злокачественных опухолей костей: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1979.
4. Противоопухолевая химиотерапия (справочник) / Под ред. Н. И. Переводчиковой. — М., 1993. — С. 194—197.
5. Ситников П. А. Современные подходы к химиотерапии остеогенной саркомы: Дис. ... д-ра мед. наук. — М., 1993.
6. Трапезников Н. Н., Еремича Л. А., Амирасланов А. Т. и др. // Тер. арх. — 1988. — № 9. — С. 132—136.
7. Тюлядин С. А. Длительные внутривенные инфузии противоопухолевых препаратов: Дис. ... канд. мед. наук. — М., 1985.
8. Dellepiane G., Dellepiane N. et al. // International Congress on anti-cancer chemotherapy, 4th. — Paris, 1993. — P. 230.
9. Eichfeld U., Glaser A. et al. // Zentralbl. Chir. — 1993. — Vol. 118, N 2. — P. 63—68.
10. Hayes F. A., Thompson E. L. et al. // Brit. J. Cancer. — 1990. — Vol. 62, N 2. — P. 328.
11. Kaplan G., Meier P. // J. Am. Stat. Assoc. — 1958. — Vol. 53. — P. 457—481.
12. Kushida Y., Takeuchi S. et al. // Gan To Kagaku Ryoho. — 1992. — Vol. 19, Suppl. 10. — P. 1701—1704.
13. Wunder J. S., Paulian G. et al. // International Symposium on Limb Salvage, 8th. — Florence, 1995. — P. 65.

Поступила 28.11.96 / Submitted 28.11.96

© Коллектив авторов, 1997
УДК 616-006.83:577,171.6

О. И. Костылева, Б. Б. Тайлаков, Н. Е. Кушлинский,
Ю. Н. Соловьев, Н. А. Макрецов, Ч. М. Касумов,
П. А. Ситников

РЕЦЕПТОРЫ СТЕРОИДНЫХ ГОРМОНОВ В ОПУХОЛЯХ ЮИНГА

НИИ клинической онкологии

Несмотря на существенный прогресс, достигнутый за последние годы в терапии опухоли Юинга, обладающей чрезвычайно высоким метастатическим потенциалом, отдаленные результаты ее лечения остаются малоудовлетворительными [5]. Дальнейшее углубленное изучение природы этого заболевания, в том числе и эндогенных факторов (гормонов, полипептидных факторов роста, простаноидов), влияющих на его течение, позволит определить патогенетические подходы в стратегии лечения данной категории больных [1].

В последние годы стало известно, что рост и дифференцировка костей человека в норме и при бластомогенезе находятся под контролем регуляции гормонов гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, щитовидной и паращитовидной желез [1—3].

При этом половые стероидные гормоны как универсальные биорегуляторы контролируют практически все жизненно важные физиологические функции организма, в том числе и формирование скелета [4, 8]. Повышенный интерес у практических онкологов вызывает изучение роли стероидных гормонов и их рецепторов, таких, как эстрогены, глюкокортикоиды и андрогены, в процессах опухолевого роста.

Несмотря на то что в настоящее время достаточно хорошо изучены физиологические эффекты половых

[5] including Ewing sarcoma [9,12]. Y.Kushida et al. [12] used this technique in 8 patients with Ewing sarcoma of limbs to conclude that this technique reduced the risk of recurrence. There were no recurrences within a follow-up of 3 to 55 months, the 5-year survival being 56.3%. E.S.Gotko [1] treated 23 patients with adriamycin as administered by 72-hour intra-arterial infusions to achieve good immediate results (pain disappearance in all cases) with only 2 (8.77±5.8%) cases recurring within a follow-up of more than 24 months.

We believe that intra-arterial infusions of antitumor drugs in combination with radiotherapy both enhance the local effect on the primary and provide early beginning of the systemic influence on clinically undetectable metastases.

It should be noted in conclusion that intra-arterial chemotherapy in combined-modality treatment for Ewing sarcoma increases treatment efficacy with minimal cytostatics toxicity, reduces the risk of recurrence and provides early prophylaxis of subclinical metastasis development.

The encouraging immediate results obtained suggest that reduction in radiotherapy dosage and enlargement of indications to surgery should be considered.

О. И. Костылева, Б. Б. Тайлаков, Н. Е. Кушлинский,
Ю. Н. Соловьев, Н. А. Макрецов, Ч. М. Касумов,
П. А. Ситников

STEROID HORMONE RECEPTORS IN EWING SARCOMA

Research Institute of Clinical Oncology

Notwithstanding the significant progress in treatment of Ewing sarcoma which possesses a great metastasizing potential, the follow-up results remain poor [5]. Further profound study of the disease nature, including endogenous factors (hormones, polypeptide growth factors, prostanoids) influencing its course will propose new approaches to treatment strategy of this disease [1].

It was discovered recently that normal and pathogenic growth and differentiation of human bone cells are controlled by hormones of the hypothalamus-pituitary-gonad system, thyroid and parathyroid [1-3]. Sex steroid hormones as universal bioregulators control practically all vital physiological functions of the body including skeleton construction [4, 8]. Study of the role of steroid hormones and their receptors, such as estrogens, glucocorticoids and androgens in neoplastic disease development is in the focus of attention of practical oncologists.

Although physiological effects of sex steroids and glucocorticosteroids on skeletal tissues have been studied rather well, mechanism of their action is to a large degree unknown [7, 9, 10]. Achievements in molecular biology and experimental endocrinology over the last decades made it possible to formulate the concept of steroid hormone receptor proteins. These receptors bind

стероидов и глюкокортикоидов на ткани скелета, механизм их действия во многом остается неясным [7, 9, 10]. Достижения молекулярной биологии и экспериментальной эндокринологии в последние десятилетия дали возможность сформулировать положение о существовании белков-рецепторов стероидных гормонов.

Последние специфически связывают стероиды в цитозоле гормоночувствительных клеток и транслоцируют их в ядро, где опосредуют трансформацию гормонального сигнала в биохимический ответ клетки, выражающийся в изменении их функционального состояния [2, 4].

Экспериментальные исследования и клинические наблюдения по изучению биологических особенностей опухолей костей показали, что эта группа злокачественных новообразований, вероятно, может относиться к числу гормоночувствительных опухолей, о чем свидетельствует обнаружение рецепторов стероидных гормонов в остеогенной саркоме, хондросаркоме, злокачественной фиброзной гистиоцитоме кости [1, 6].

Эти данные послужили основанием для проведения исследований по определению рецепторов стероидных гормонов в опухолях Юинга для оценки ее гормоночувствительности.

Материалы и методы. Исследованы образцы 13 больных опухолью Юинга (7 женщин и 6 мужчин) в возрасте от 15 до 22 лет (19.0 ± 1.5 года), находившихся в НИИ клинической онкологии ОНЦ РАМН с декабря 1993 г. по январь 1996 г. Опухоли локализовались в ребрах (4), лучевой (3), плечевой (3), бедренной (1), малоберцовой (1) и подвздошной (1) костях. Чтобы оценить истинное содержание рецепторов стероидных гормонов, образцы опухолей исследовали у больных, не получавших специфическое лечение.

Образцы опухолей (500–600 мг), полученные после операции или биопсии, доставляли на холоду в лабораторию, замораживали в жидком азоте и хранили при -70°C до исследования рецепторов стероидных гормонов.

Для получения цитозоля образцы опухолей измельчали в жидком азоте, а затем гомогенизировали при 4°C в ТЭД-буфере (pH 7.4 при 20°C), содержащем 10 мМ трис-НСl, 1.5 мМ ЭДТА, 0.5 мМ дитиотрейтола (фирма «Serva», Германия), 10% глицерина (о.с.ч.) по объему, из расчета 1 мл буфера на 100 мг ткани.

Цитозольную фракцию получали после центрифугирования гомогената при 105 000 g при 4°C в течение 40 мин (центрифуга Optima TM TLC, «Beckman», США).

В цитозолях опухолей определяли рецепторы эстрогенов (РЭ), глюкокортикоидов (РГ) и андрогенов (РА). Исследование рецепторов проводили конкурентным радиолигандным методом с разделением свободного и связанного с рецептором гормона на активированном угле (Norit A), покрытом декстраном Т-70 (фирма «Serva», Германия) [3].

Специфическое связывание определяли при одной насыщающей концентрации ^3H -меченного лиганда в присутствии и в отсутствие 100–200-кратного избытка немеченого гормона, а именно: для РЭ — 5 нМ ^3H -эстрадиол (Санкт-Петербург; удельная радиоактивность 3000–4000 ТБк/моль), конкурент — диэтилстильбэстрол («Sigma», США); для РГ — 30 нМ ^3H -дексаметазон («Amersham»; удельная радиоактивность 75–95 Ки/ммоль), конкурент — дексаметазон («Serva», Германия); для РА — 3 нМ ^3H -R-1881 (метилтриенолон; NEN, США; удельная радиоактивность 86 Ки/ммоль), конкурент — немеченый метилтриенолон (NEN, США).

Инкубацию цитозолей с гормоном проводили в течение 18–20 ч при $0-4^\circ\text{C}$. Связанную с рецептором радиоактивность после осаждения избытка гормона суспензией угля, покрытого декстраном, просчитывали на сцинтилляционном счетчике LS-6500 («Beckman», США).

Опухоли считали рецепторположительными по РЭ и РГ, если количество специфически связанного гормона составляло не менее 10 фмоль на 1 мг общего белка цитозоля, по РА — при специфическом связывании более 5 фмоль/мг общего белка цитозоля.

steroids in cytosol of hormone-sensitive cells to translocate them to the nucleus in which they mediate transformation of the hormonal signal into cell biochemical response, manifesting itself as a change in their functional status [2, 4].

Experimental and clinical study of biological peculiarities of bone tumors suggest that they belong to hormone-sensitive neoplasms which is also confirmed by discovery of steroid hormone receptors in osteogenic sarcoma, chondrosarcoma and malignant fibrous bone histiocytoma [1, 6].

These findings were the basis for a study of steroid hormone receptors in Ewing sarcoma to evaluate its hormonal sensitivity.

Materials and Methods. The study was performed in 13 tumor specimens from patients with Ewing sarcoma (7 females and 6 males) of age ranging from 15 to 22 years (19.0 ± 1.5) managed at the Research Institute of Clinical Oncology, CRC RAMS during December 1993 to January 1996. Tumor sites were ribs (4), radius (3), humerus (3), femur (1), fibula (1) and ilial bone (1). To evaluate true content of steroid hormone receptors the tumor specimens were taken from patients not undergoing specific treatment.

Surgical or bioptic tumor specimens (500–600 mg) were transferred in cold to the laboratory, frozen in liquid nitrogen and stored at -70°C till study.

To derive cytosol the tumor specimens were minced in liquid nitrogen and homogenized at 4°C in TED buffer (pH 7.4 at 20°C) containing 10 mM tris-HCl, 1.5 mM EDTA, 0.5 mM dithiotreitol (all supplied by Serva, Germany), 10% (vol) glycerol (very high purity) at 1 ml buffer per 100 mg tissue. Cytosol fraction was derived after the homogenate centrifugation at 105,000 g at 4°C for 40 min (centrifuge Optima TM TLC, Beckman, USA).

The tumor specimens were studied for estrogen (ER), glucocorticoid (GR) and androgen (AR) receptors. The receptor study was performed by competitive radioligand assay involving separation of free and receptor-bound hormones on activated charcoal (Norit A) coated with dextran T-70 (all reagents supplied by Serva, Germany) as described in [3].

Specific binding was measured by one saturating concentration of ^3H -labeled ligand in the presence and in the absence of 100–200-fold non-labeled ligand excess, namely: for ER 5 nM ^3H -estradiol (St. Petersburg, specific radioactivity 3000–4000 TBq/mol), competitor: dexamethasone (Serva, Germany); for AR 3 nM ^3H -R-1881 (methyltrienolone; NEN, USA; specific radioactivity 86 Ci/mmol), competitor: non-labeled methyltrienolone (NEN, USA).

Cytosols were incubated with hormones for 18–20 hours at $0-4^\circ\text{C}$. Receptor radioactivity was counted using an LS-6500 (Beckman, USA) scintillation beta-counter after precipitation of the hormone excess with dextran-coated charcoal suspension.

Tumors were considered ER- and GR-positive if amount of the specifically bound hormone was not less than 10 fmol per mg cytosol total protein, AR-positive at a specific binding of more than 5 fmol/mg cytosol total protein.

Patient follow-up was ranging from 6 to 22 months. All the patients received treatment at the Institute of Clinical Oncology, CRC RAMS by protocols developed previously [5].

Results and Discussion. Analysis of sex steroid and glucocorticoid receptors in Ewing sarcoma discovered GR (62%) most and ER (23%) less frequently. AR was discovered in 1 case only (table 1). Mean receptor contents in Ewing sarcoma were: GR 65.9 ± 13.9 fmol/mg protein, ER 50.1 ± 24.4 fmol/mg protein. The content variation was very large: from 10.5 to 137.6 fmol/mg protein for GR and from 25.3 to 98.8 fmol/mg protein for ER. The large variation in the receptor content seems to be due to the tumor morphologic and biologic heterogeneity which was also found in study of receptor

Сроки наблюдения за больными составили от 6 до 22 мес. Все пациенты получали лечение в клинике общей онкологии ОНЦ РАМН согласно ранее разработанным протоколам [53].

Результаты и обсуждение. При анализе содержания рецепторов половых стероидов и глюкокортикоидов выявлено, что чаще всего в первичной опухоли Юинга выявлялись РГ (62%), реже — РЭ (23%). РА были обнаружены только в одном наблюдении (табл. 1). Среднее содержание РГ в опухолях Юинга составило $65,9 \pm 13,9$ фмоль/мг белка, РЭ — $50,1 \pm 24,4$ фмоль/мг белка.

Содержание рецепторов гормонов в цитозолях колебалось в широких пределах: от 10,5 до 137,6 фмоль/мг белка для РГ и от 25,3 до 98,8 фмоль/мг белка для РЭ. Возможно, такие широкие пределы колебания уровня рецепторов стероидных гормонов связаны с морфологической и биологической гетерогенностью опухоли, что нашло подтверждение при исследовании белков-рецепторов в клетках некоторых гормонозависимых опухолей [1, 3].

Не было опухолевых образцов, в которых удалось бы обнаружить все три вида изучаемых рецепторов стероидных гормонов. Вместе с тем РЭ и РГ одновременно присутствовали в трех, а РА и РГ — в одной опухоли Юинга.

Несмотря на то что число больных, приведенных в настоящем предварительном сообщении, невелико, тем не менее нами проведена ретроспективная оценка прогноза заболевания у этих пациентов с учетом анализа рецепторного статуса первичной опухоли.

За указанный период наблюдения у 5 (46,2%) из 8 больных с наличием в опухоли РГ выявлены отдаленные метастазы (табл. 2). Из 3 больных с РЭ+опухолью диссеминация процесса отмечена у 2. Следовательно, большинство больных с наличием в первичной опухоли Юинга РГ или РЭ имели неблагоприятный прогноз относительно ранней диссеминации опухолевого процесса. Подобные результаты получены в исследованиях Н. Е. Кушлинского и соавт. [1], которые также отметили неблагоприятный прогноз у больных с костеобразующими саркомами при наличии в опухоли РА. Вместе с тем выявленный нами факт у больных опухолью Юинга, казалось бы, находится в противоречии с ранее представленными данными о том, что для больных раком молочной и предстательной желез с рецепторотрицательными опухолями по РЭ и РА соответственно более характерен неблагоприятный прогноз заболевания, чем для больных с рецепторположительными опухолями [3]. Однако полагаем, что первичные саркомы костей, в том числе и опухоль Юинга, вероятно, имеют определенные особенности эндокринной регуляции метаболических процессов в отличие от рака молочной железы. Кроме того, в литературе [3] также имеются данные о том, что наличие РА при раке гортани может считаться неблагоприятным фактором прогноза. Вместе с тем следует помнить о том, что наличие в гормонозависимых опухолях рецепторов стероидных гормонов не во всех случаях свидетельствует об их чувствительности к эндокринной терапии [1, 2, 4]. В настоящей работе использован метод, который позволяет обнаружить только специфическое связывание гормона с белком-рецептором, но остается неизвестной функциональная активность выявленных

Таблица 1

Table 1

Распределение рецепторположительных и рецепторотрицательных опухолей Юинга в зависимости от пола больных
Distribution of receptor-positive and receptor-negative Ewing tumors with respect to patients' sex

Пол	РГ+	РГ-	РЭ+	РЭ-	РА+	РА-
Мужской Males	3 (50)	3 (50)	2 (33)	4 (67)	—	6 (100)
Женский Females	5 (71)	2 (29)	1 (17)	6 (83)	1 (17)	6 (83)
Всего... Total...	8 (62)	5 (38)	3 (23)	10 (77)	1 (8)	12 (92)
$M \pm m$ Mean $\pm$ SD	$65,9 \pm 13,9$	—	$50,1 \pm 24,4$	—	6,7	—
Sex	GR+	GR-	ER+	ER-	AR+	AR-

Примечание. Здесь и в табл. 2 в скобках указан процент больных.
Note. Here and in table 2 numbers in parentheses show percentage.

proteins in cells of some hormone-dependent tumors [1, 3].

There were no tumor specimens with three steroid hormone receptors. ER together with GR were found in 3 and AR together with GR in 1 Ewing tumors.

Although there were too few cases studied we performed retrospective evaluation of disease prognosis in these patients with respect to receptor status of the primary.

During the follow-up time mentioned above 5 (46.2%) of the 8 patients with GR-positive tumors developed distant metastases (table 2). 2 of the 3 patients with ER-positive tumors presented with disseminated disease. So, most patients with GR- or ER-positive tumors had poor disease prognosis as concerns early dissemination. Similar results were reported by N. E. Kushlinsky et

Таблица 2

Table 2

Частота метастазирования опухоли Юинга в зависимости от содержания рецепторов стероидных гормонов
Metastasis rate in Ewing tumor with respect to steroid hormone receptor status

Рецептор	Число больных	Частота метастазирования			Всего
		через 0—6 мес	через 7—12 мес	через 13—18 мес	
РГ+ / GR+	8	2	1	2	5 (62,5)
РГ- / GR-	5	1	Не было None	Не было None	1 (20)
РЭ+ / ER+	3	2	» »	» »	2 (66,4)
РЭ- / ER-	10	1	1	2	4 (40)
Receptors	No. of cases	at 0-6 mo	at 7-12 mo	at 13-18 mo	Total
No. of patients with metastases					

белков, которые специфически связываются с соответствующими лигандами.

В заключение следует отметить, что наличие рецепторов стероидных гормонов, особенно высокая частота обнаружения РГ в опухоли Юинга, позволяют предположить, что эти новообразования могут быть гормоночувствительными.

Небольшое число наблюдений не позволяет сделать окончательные выводы. Тем не менее нам представляется, что данное направление исследований в костной онкологии перспективно и дальнейшие наблюдения позволят оценить значимость определения рецепторов стероидных гормонов в клиническом течении и прогнозе опухоли Юинга.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Кулипинский Н. Е., Соловьев Ю. Н., Азирасланов А. Т. и др. // Вестн. ОНЦ РАМН. — 1993. — № 2. — С.31—37.
2. Мейтуоринг У. Механизмы действия андрогенов. — М., 1979.
3. Рецепторы стероидных гормонов в опухолях человека / Под ред. Л. С. Бассалык. — М., 1987.
4. Розен В. Б., Смирнов А. Н. Рецепторы и стероидные гормоны. — М., 1981.
5. Трапезников Н. Н. // Арх. пат. — 1988. — № 9. — С. 132—136.
6. Трапезников Н. Н., Кулипинский Н. Е., Соловьев Ю. Н., Алиев М. Д. // Бюл. экспер. онкол. мед. — 1996. — № 9. — С. 305—310.
7. Avioli L. V. // Br. J. Rheumatol. — 1993. — Suppl. 2. — P. 27—30.
8. Corvol T., Cartacosa A., Tsagis L. et al. // Endocrinology. — 1987. — Vol. 121. — P. 819—824.
9. Delany A. M., Dong Y., Canalis E. // J. Cell. Biochem. — 1994. — Vol. 56, N 3. — P. 295—302.
10. Migliaccio S., Wetsel W. C., Fox W. M. et al. // Molec. cell. Endocr. — 1993. — Vol. 7, N 9. — P. 1133—1143.

Поступила 24.03.97 / Submitted 24.03.97

© Коллектив авторов, 1997
УДК 616.351-006.6-089

Ю. А. Барсуков, Ю. М. Тимофеев, А. В. Николаев

СФИНКТЕРОСОХРАНЯЮЩИЕ ОПЕРАЦИИ У БОЛЬНЫХ С НИЖНЕАМПУЛЯРНЫМ РАКОМ ПРЯМОЙ КИШКИ

НИИ клинической онкологии

В последние годы как отечественными, так и зарубежными исследователями отмечается неуклонное возрастание частоты заболеваемости раком прямой кишки.

Так, в США и ФРГ рак данной локализации занимает второе место по частоте заболеваемости после рака легких, опередив широко распространенные рак желудка, молочной железы, пищевода, предстательной железы [1].

В европейских странах рак прямой кишки занимает второе — седьмое место, составляя 2—5% от всех злокачественных новообразований и 25—30% от опухолей желудочно-кишечного тракта [4].

Непрерывное возрастание удельного веса рака прямой кишки в общей структуре злокачественных новообразований отмечается и в нашей стране. Так, если заболеваемость в 1972 г. составляла 5,8 на 100 тыс.

al. [1] who also demonstrated poor disease prognosis in patients with AR-positive osteogenic sarcoma. It seems that our findings in Ewing sarcoma patients disagree with previously reported poor disease prognosis in ER- and AR-negative breast and prostatic cancers [3]. This controversy may be due to the fact that primary bone sarcomas including Ewing sarcoma demonstrate specific features of endocrine regulation of metabolic processes different from breast cancer. There are also published data [3] in favor of poor disease prognosis in AR-positive laryngeal cancer. However, it should be noted that the presence of steroid hormone receptors in receptor-dependent tumors is not always indicative of tumor responsiveness to endocrine therapy [1, 2, 4]. This study applied a test that detected specific hormone-receptor binding while failing to evaluate functional activity of the discovered proteins specifically bound to relevant ligands.

It should be noted in conclusion that the presence of steroid hormone receptors, in particular high rate of GR-positive Ewing tumors suggests that this neoplasm may be hormone-sensitive. There were too few cases studied to make a definite conclusion. However, we believe this field of bone cancer study to be very promising, and hope that further studies will evaluate significance of steroid hormone receptors in clinical course and prognosis of Ewing sarcoma.

Yu. A. Barsukov, Yu. M. Timofeyev, A. V. Nikolayev

SPHINCTER-PRESERVATION SURGERY FOR LOWER AMPULAR RECTAL CANCER

Research Institute of Clinical Oncology

There is a continuous rise in incidence of rectal cancer both in this country and abroad.

In the USA and FRG rectal cancer is the second most common malignancy after lung cancer, leaving behind gastric, breast, esophageal and prostatic cancers [1].

In Europe rectal cancer occupies the second through seventh place, its rate being 2 to 5% of all malignancies and 25 to 30% of gastrointestinal cancers [5].

Continuous rise in the rate of rectal cancer among other malignancies is also observed in this country. The incidence was 5.8 per 100,000 in 1972 versus 8.0 per 100,000 in 1980 and 9.6 in males, 7.0 in females in 1985 [2].

Among rectal cancers involvement of the upper ampulla is encountered in 22.8%, mid ampulla in 32.8%