



# Клинический анализ сывороточных уровней интерлейкина-16 и фактора роста эндотелия сосудов с учетом морфологических характеристик новообразований и отдаленных результатов лечения больных опухолями костей

Бабкина И.В.<sup>1</sup> • Алферов А.А.<sup>2</sup> • Бондарев А.В.<sup>3</sup> • Щупак М.Ю.<sup>3</sup> • Кузнецов И.Н.<sup>2</sup> • Булычева И.В.<sup>1</sup> • Соловьев Ю.Н.<sup>1</sup> • Алиев М.Д.<sup>1</sup> • Кушлинский Н.Е.<sup>1</sup>

**Бабкина Ирина Валентиновна** – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотр. лаборатории клинической биохимии<sup>1</sup>  
✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация.  
Тел.: +7(499) 324 11 69.  
E-mail: docbabkina@rambler.ru

**Алферов Александр Андреевич** – аспирант кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования<sup>2</sup>

**Бондарев Александр Викторович** – хирург-онколог хирургического отделения по лечению опухолей опорно-двигательного аппарата<sup>3</sup>

**Щупак Михаил Юрьевич** – хирург-онколог, заведующий хирургическим отделением по лечению опухолей опорно-двигательного аппарата<sup>3</sup>

**Кузнецов Игорь Николаевич** – канд. биол. наук, ст. лаборант кафедры клинической биохимии и лабораторной диагностики факультета дополнительного профессионального образования<sup>2</sup>

**Булычева Ирина Вячеславовна** – д-р мед. наук, врач-патологоанатом отдела патологической анатомии опухолей человека<sup>1</sup>

**Соловьев Юрий Николаевич** – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, гл. науч. сотр. отдела патологической анатомии опухолей человека<sup>1</sup>

**Алиев Мамед Джавадович** – д-р мед. наук, профессор, академик РАН, заведующий отделом общей онкологии<sup>1</sup>

**Кушлинский Николай Евгеньевич** – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией клинической биохимии<sup>1</sup>

**Актуальность.** Прогресс в лечении онкологических заболеваний, включая злокачественные опухоли костей, связывают с достижениями молекулярной биологии. На основании результатов ряда исследований в лечении сарком костей стали использовать препараты целенаправленного действия (таргетная терапия), в том числе антиангиогенные, в частности бевацизумаб. Он ингибирует связывание ключевого активатора неоангиогенеза фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) с его рецепторами 1-го и 2-го типа (Flt-1 и KDR) на поверхности эндотелиальных клеток, что приводит к снижению васкуляризации и угнетению роста опухоли. Наряду с VEGF выделены другие активаторы неоангиогенеза, среди которых интерлейкин 16 (IL-16). **Цель** – сравнительное изучение исходных уровней IL-16 и VEGF в сыворотке крови больных злокачественными, пограничными и доброкачественными новообразованиями костей. **Материал и методы.** Иммуноферментным методом проведено сравнительное исследование содержания IL-16 (реактивы “Biosource”, США) и VEGF (реактивы “R&D”, США) в сыворотке крови 138 больных опухолями костей: доброкачественными (n=10), пограничными – гигантоклеточная опухоль кости (n=22), злокачественными (n=106) в возрасте от 14 до 50 лет до начала специфического лечения. Злокачественные новообразования были представлены остеосаркомой (n=45; типичная – в 35 наблюдениях, паростальная – 6, периостальная – 4), хондросаркомой (n=24), саркомой Юинга (n=27), недифференцированной плеоморфной саркомой (n=7) и хордомой (n=3). **Результаты.** Частота выявления IL-16 в сыворотке крови у 138 больных при новообразованиях костей составила 93%, достоверных различий в уровнях IL-16 с учетом гистологического строения опухоли не выявлено. Взаимосвязи между размером первичной опухоли и содержанием IL-16 в сыворотке крови не обнаружено. Общая 3- и 5-летняя

выживаемость больных злокачественными опухолями костей при содержании IL-16 в сыворотке крови более 33 пг/мл была значительно ниже, чем у пациентов с уровнями IL-16 33 пг/мл и ниже. При остеосаркоме общая 5-летняя выживаемость среди пациентов с высоким содержанием IL-16 в сыворотке крови была в 1,6 раза, при саркоме Юинга в 1,7, при хондросаркоме в 1,8 раза ниже, чем у пациентов с содержанием IL-16 в сыворотке крови 33 пг/мл и менее. При саркомах костей уровни VEGF были значительно выше, чем при пограничных и доброкачественных новообразованиях, статистический анализ не выявил достоверных различий в уровнях VEGF с учетом гистологического строения первичной опухоли. Максимальные показатели VEGF отмечены при периостальной остеосаркоме, минимальные – при паростальной остеосаркоме. При содержании VEGF в сыворотке крови выше среднего по группе (> 493 пг/мл) общая 3- и 5-летняя выживаемость у пациентов со злокачественными опухолями костей была выше, чем при низких уровнях этого показателя. Такие же результаты получены и при остеосаркоме, тогда как при саркоме Юинга и хондросаркоме высокие показатели 3- и 5-летней выживаемости отмечены у пациентов с содержанием VEGF в сыворотке крови менее 493 пг/мл. **Заключение.** Полученные данные позволяют предположить, что экспрессия IL-16 и VEGF может иметь связь с патогенетическими изменениями, сопряженными с ростом и метастазированием сарком костей, и может служить предметом дальнейших исследований по определению уровня этих показателей и их значения в прогнозе злокачественных новообразований костей.

**Ключевые слова:** IL-16, VEGF, саркомы костей, общая выживаемость

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-5-606-612

<sup>1</sup> ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация

<sup>2</sup> ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России; 127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20–1, Российская Федерация

<sup>3</sup> Московская городская онкологическая больница № 62; 143423, Московская область, Красногорский район, п/о Степановское, поселок Истра, 27



**П**рогресс в лечении онкологических заболеваний, в том числе злокачественных опухолей костей, связывают с достижениями молекулярной биологии. На основании результатов молекулярно-биологических исследований в лечении сарком костей стали использовать препараты целенаправленного действия (таргетная терапия), в частности антиангиогенные препараты. Среди них бевацизумаб – один из первых ингибиторов ангиогенеза, который широко применяют в лечении генерализованных форм колоректального рака, рака молочной железы, почки, немелкоклеточного рака легких в комбинации с химиопрепаратами [1–3]. Доказано, что антиангиогенные препараты ингибируют связывание ключевого активатора неоангиогенеза фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) с его рецепторами 1-го и 2-го типа (Flt-1 и KDR) на поверхности эндотелиальных клеток, что приводит к снижению васкуляризации и угнетению роста опухоли [4–7]. Кроме того, анализ экспрессии VEGF в опухолях костей и в частности в остеосаркоме пытаются использовать для оценки прогноза заболевания [8].

Наряду с VEGF были выделены другие активаторы неоангиогенеза опухолевого роста, например, проангиогенный цитокин интерлейкин 16 (IL-16). Известно, что IL-16 входит в семейство провоспалительных цитокинов и продуцируется активированными CD8<sup>+</sup> Т-клетками [9], тучными клетками [10] и В-клетками [11]. Вместе со способностью стимулировать экспрессию факторов неоангиогенеза [12] IL-16 активирует секрецию опухолеассоциированных воспалительных цитокинов (TNF-α, IL-1β, IL-6 и IL-15) моноцитами [13]. Исследование сывороточного IL-16 проводили при раке почки [14], носоглотки [15], колоректальном раке и раке желудка [16], гепатоцеллюлярной карциноме [17], раке простаты [18], саркомах костей [19, 20]. Обсуждается возможность изучения IL-16 в качестве маркера с целью диагностики, прогноза, оценки эффективности лечения, а также мишени химиотерапии при миеломе [21].

Цель настоящего исследования – изучение исходных уровней IL-16 и VEGF в сыворотке крови больных злокачественными, пограничными и доброкачественными новообразованиями костей.

## Материал и методы

В сыворотке крови определяли содержание IL-16 и VEGF у 138 больных с опухолями костей: доброкачественными (n = 10), пограничными – гигантоклеточная опухоль кости (n = 22),

злокачественными (n = 106) в возрасте от 14 до 50 лет. В группу злокачественных новообразований вошли 45 больных с остеосаркомой (типичной – 35 пациентов, паростальной – 6, периостальной – 4), хондросаркомой (n = 24), саркомой Юинга (n = 27), недифференцированной плеоморфной саркомой (n = 7), хордомой (n = 3).

Содержание IL-16 и VEGF в сыворотке крови больных до начала специфического лечения определяли иммуноферментным методом реактивами фирм “Biosource” (США) и “R&D” (США) соответственно.

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи пакета программ Statistica 7. Для количественных данных рассчитывали средние арифметические значения и стандартную ошибку среднего ( $M \pm m$ ), для качественных – абсолютные и относительные (%) значения. Анализ общей выживаемости проводили с использованием построения кривых Каплана – Майера и критерия Кокса. Корреляцию оценивали по коэффициенту Пирсона.

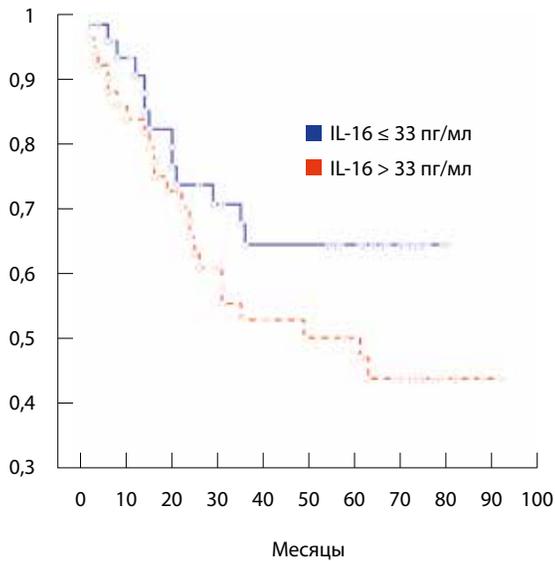
## Результаты

### Изменение уровня IL-16

Повышение содержания IL-16 выявлено в образцах сыворотки крови 124 из 138 (93%) больных. Среднее содержание IL-16 при доброкачественных новообразованиях костей составило  $34,4 \pm 2,1$  пг/мл и достоверно не отличалось от показателей у больных пограничными ( $28,9 \pm 2,3$  пг/мл) и злокачественными ( $33,02 \pm 1,88$  пг/мл) опухолями ( $p > 0,05$ ). Различий в содержании IL-16 в сыворотке крови с учетом гистологического строения опухоли при саркомах костей не выявлено. Вместе с тем у больных типичной остеосаркомой уровни сывороточных IL-16 были ниже по сравнению с периостальным и паростальным ее вариантами:  $29 \pm 2,5$  пг/мл,  $30,9 \pm 5,2$  пг/мл и  $31,2 \pm 8,9$  пг/мл соответственно. Взаимосвязи между максимальным размером первичной опухоли и содержанием IL-16 в сыворотке крови также не обнаружено ( $r = 0,38$ ,  $p > 0,05$ ).

Что касается выживаемости пациентов, отдаленные результаты удалось проследить у 89 (83,9%) больных саркомами костей (от 6 до 92 месяцев). За период наблюдения 35 пациентов умерли (39,3%), 54 – живы (60,7%). Общая 3-летняя выживаемость составила 60%, 5-летняя – 57%.

Проанализирована общая выживаемость этих пациентов с учетом содержания IL-16 в сыворотке крови. Пациентов разделили на 2 группы: в 1-ю группу включили 41 больного с уровнями сывороточного IL-16 ниже среднего по



группе ( $\leq 33$  пг/мл), во 2-ю – 48 пациентов, у которых IL-16 был выше его среднего значения ( $> 33$  пг/мл). В 1-й группе за период наблюдения умерли 12 (29,2%) больных, живы – 29 (70,8%), во 2-й группе умерли 23 (47,9%) пациента, живы – 25 (52,1%). У пациентов 1-й группы общая 3-летняя выживаемость составила 69%, 5-летняя – 64%. У больных 2-й группы показатели 3- и 5-летней общей выживаемости составили соответственно 54 и 48% (рисунок).

Проведен анализ отдаленных результатов лечения больных злокачественными опухолями костей в трех группах: типичная остеосаркома ( $n=27$ ), хондросаркома ( $n=19$ ), саркома Юинга ( $n=27$ ) (табл. 1). В зависимости от исходного уровня IL-16 в сыворотке крови больные этих групп были также разделены на 2 подгруппы: в 1-ю включили пациентов с уровнем сывороточного IL-16 33 пг/мл и ниже, во 2-ю – выше 33 пг/мл.

Больных типичной остеосаркомой в 1-й подгруппе было 8, за период наблюдения умерли 2 (25%), живы – 6 (75%); во 2-й подгруппе – 19: умерли 9 (47,4%), живы – 10 (52,6%). У пациентов 1-й подгруппы показатели общей 3- и 5-летней выживаемости составили 69%, у больных 2-й подгруппы соответственно 58 и 44%.

Среди больных хондросаркомой в 1-й подгруппе ( $n=10$ ) за период наблюдения умерли 2 больных (20%), живы – 8 (80%), во 2-й подгруппе ( $n=9$ ) умерли 5 пациентов (55,6%), живы – 4 (44,4%). У пациентов 1-й подгруппы показатели общей 3- и 5-летней выживаемости составили 77%, у больных 2-й подгруппы – 42%.

В группе больных саркомой Юинга в 1-й подгруппе ( $n=17$ ) за период наблюдения

Общая выживаемость больных со злокачественными опухолями костей с учетом уровня IL-16 в сыворотке крови

умерли 6 (35,3%), живы – 11 (64,7%), во 2-й подгруппе ( $n=10$ ) умерли 6 (60%), живы – 4 (40%) пациента. Показатели общей 3- и 5-летней выживаемости составили 58% у больных 1-й подгруппы и 34% у пациентов 2-й подгруппы.

#### Изменение уровня VEGF

В табл. 2 представлены результаты определения VEGF в сыворотке крови практически здоровых людей (группа контроля) и у 124 пациентов с новообразованиями костей (злокачественные – 96, пограничные – 20, доброкачественные – 8). Выявлено, что сывороточные уровни VEGF у больных злокачественными, пограничными и доброкачественными опухолями костей не различались.

Проведен анализ содержания VEGF в сыворотке крови при сравнении с гистологическим строением сарком костей (табл. 3). Максимальные показатели VEGF отмечены при периостальной остеосаркоме, минимальные – при паростальной остеосаркоме, однако достоверных различий не выявлено.

**Таблица 1.** Показатели общей 3- и 5-летней выживаемости больных саркомами костей с учетом уровня IL-16 в сыворотке крови

Выживаемость, %	Уровень IL-16, пг/мл	Саркомы костей	Остеосаркома	Хондросаркома	Саркома Юинга
3-летняя	$\leq 33$	69 (n=41)	69 (n=8)	77 (n=10)	58 (n=17)
	$> 33$	54 (n=48)	58 (n=19)	42 (n=9)	34 (n=10)
5-летняя	$\leq 33$	64 (n=41)	69 (n=8)	77 (n=10)	58 (n=17)
	$> 33$	48 (n=48)	44 (n=19)	42 (n=9)	34 (n=10)

**Таблица 2.** Уровни VEGF в сыворотке крови больных злокачественными, пограничными, доброкачественными новообразованиями костей и в контроле

Группа	Количество наблюдений, абс.	VEGF, пг/мл			
		среднее арифметическое и стандартная ошибка ( $M \pm m$ )	интервалы (min – max)	квартили (Q25–Q75)	медiana (Me)
Контроль	7	$156 \pm 30,4$	41–267	92–213	186
Доброкачественные новообразования костей	8	$351 \pm 112,8$	48–1050	105–418	332
Пограничные опухоли костей	20	$318 \pm 69,6$	49–1300	95–435	220
Злокачественные опухоли костей	96	$493 \pm 38,7$	21–1865	217–630	433



**Таблица 3.** Уровни VEGF в сыворотке крови больных саркомами костей с учетом гистологического строения опухоли

Группа	Количество наблюдений, абс.	VEGF, пг/мл			
		среднее арифметическое и стандартная ошибка (M ± m)	интервалы (min – max)	квартили (Q25–Q75)	медiana (Me)
Остеосаркома типичная	29	522,5 ± 82,2	30,7–1864,9	244,4–566,9	442,6
Остеосаркома периостальная	4	669,2 ± 286,8	140,6–1278,2	180,6–1157,8	628,9
Остеосаркома паростальная	6	265,1 ± 79,7	21,3–458,4	42,7–434,9	316,8
Хондросаркома	23	396,2 ± 69,1	74,1–1628,0	169,5–536,2	365,5
Саркома Юинга	26	559,9 ± 69,4	63,9–1258,9	222,6–834,0	561,1
Недифференцированная плеоморфная саркома	5	548,5 ± 153,5	262,2–1039,6	311,6–778,4	350,8
Хордома	3	504,7 ± 185,8	311,8–876,2	311,9–876,2	326,2

**Таблица 4.** Уровни VEGF в сыворотке крови больных саркомами костей с учетом их гистологического строения и содержания IL-16 в сыворотке крови

Уровень IL-16, пг/мл	VEGF, пг/мл			
	среднее арифметическое и стандартная ошибка (M ± m)	интервалы (min – max)	квартили (Q25–Q75)	медiana (Me)
≤ 33				
остеосаркома типичная (n=8)	363,1 ± 134,5	44,4–1222,8	115,7–425,6	134,5
хондросаркома (n=11)	415,2 ± 127,5	74,1–1628,0	213,5–447,2	127,5
саркома Юинга (n=16)	527,1 ± 100,6	63,9–1258,9	143,9–899,8	499,6
> 33				
остеосаркома типичная (n=21)	583,2 ± 99,8	30,7–1864,9	375,5–629,5	486,9
хондросаркома (n=12)	378,8 ± 68,4	85,8–716,4	121,8–554,9	465,0
саркома Юинга (n=10)	612,3 ± 85,5	222,6–1062,1	461,7–724,7	637,8

Интерес представляли исследования уровней VEGF с учетом низких ( $\leq 33$  пг/мл) и высоких ( $> 33$  пг/мл) показателей IL-16 в сыворотке крови у больных саркомами костей различного гистологического строения (табл. 4). По средним значениям и по медиане уровни VEGF в сыворотке крови всех представленных групп сравнения с учетом

гистологического строения первичной опухоли были выше при исходном содержании IL-16 более 33 пг/мл (у этих пациентов, по данным настоящего исследования, прогноз был менее благоприятный), чем у пациентов с низкими показателями IL-16 ( $\leq 33$  пг/мл), однако различия не достигли уровня статистической значимости ( $p > 0,05$ ).

Между уровнями IL-16 и VEGF в сыворотке крови больных саркомами и пограничными опухолями костей взаимосвязи не выявлено ( $r = 0,16$ ,  $p > 0,05$  и  $r = 0,02$ ,  $p > 0,05$ ), а при доброкачественных новообразованиях отмечена прямая зависимость ( $r = 0,46$ ,  $p > 0,05$ ). В группе практически здоровых людей зависимости между уровнями исследованных цитокинов не наблюдалось ( $r = -0,34$ ,  $p > 0,05$ ).

В исследование отдаленных результатов с учетом содержания VEGF включили 88 пациентов со значимыми уровнями IL-16 в сыворотке крови, которых разделили на 2 подгруппы: в 1-ю вошли пациенты со средним исходным значением VEGF 493 пг/мл и ниже, во 2-ю – выше 493 пг/мл. Анализ показал, что за период наблюдения 34 (38,6%) пациента умерли, 54 (61,4%) остались живы (табл. 5). В 1-й подгруппе за период наблюдения умерли 16 (31,4%) больных, живы – 35 (68,6%), во 2-й – 18 (48,6%) и 19 (51,4%) пациентов соответственно. У пациентов 1-й подгруппы общая 3-летняя выживаемость составила 70%, 5-летняя – 66%, у больных 2-й подгруппы – 59 и 46% соответственно.

При остеосаркоме у пациентов 1-й подгруппы ( $n = 17$ ) общая 3-летняя выживаемость равнялась 61%, 5-летняя – 51%, у больных 2-й подгруппы показатель 3-летней выживаемости достиг 76%, 5-летней – 64%. При хондросаркоме данные различались: у пациентов 1-й подгруппы ( $n = 12$ ) показатели общей 3- и 5-летней выживаемости составили 81%, у больных 2-й подгруппы – 32%. В группе больных с саркомой Юинга общая 3- и 5-летняя выживаемость у пациентов с низким содержанием VEGF в сыворотке крови ( $n = 9$ ) составила 66%, при высоком содержании VEGF ( $n = 18$ ) – 38%.

## Заключение

Подводя итоги настоящего исследования, следует отметить, что частота выявления IL-16 в сыворотке крови больных новообразованиями костей составила 93%. Не обнаружено зависимости сывороточных уровней IL-16 от гистологического строения новообразования. При саркомах костей уровни сывороточного VEGF не зависели от гистологического строения опухоли, но были значительно выше, чем при пограничных

**Таблица 5.** Показатели общей 3- и 5-летней выживаемости больных саркомами костей с учетом уровня VEGF в сыворотке крови

Выживаемость, %	Уровень VEGF, пг/мл	Саркомы костей	Остеосаркома	Хондросаркома	Саркома Юинга
3-летняя	≤ 493	70 (n=51)	61 (n=17)	81 (n=12)	66 (n=9)
	> 493	59 (n=37)	76 (n=10)	32 (n=8)	38 (n=18)
5-летняя	≤ 493	66 (n=51)	51 (n=17)	81 (n=12)	66 (n=9)
	> 493	46 (n=37)	64 (n=10)	32 (n=8)	38 (n=18)

и доброкачественных новообразований костей. Максимальные показатели VEGF обнаружены при периостальной остеосаркоме, минимальные – при паростальной остеосаркоме. При содержании IL-16 более 33 пг/мл сывороточные значения VEGF при всех гистологических вариантах строения первичной опухоли были выше, чем при уровне IL-16 33 пг/мл и ниже, однако статистический анализ достоверных различий не выявил. У практически здоровых людей не наблюдалось зависимости между показателями VEGF и IL-16 в сыворотке крови ( $r = -0,34$ ),

а при доброкачественных новообразованиях отмечена прямая зависимость между значениями этих цитокинов ( $r = 0,46$ ). Показатели общей 3- и 5-летней выживаемости больных саркомами костей при уровне IL-16 в сыворотке крови выше 33 пг/мл были значительно ниже, чем у пациентов с уровнями IL-16 33 пг/мл и ниже. При остеосаркоме общая 5-летняя выживаемость у пациентов с высоким содержанием IL-16 в сыворотке крови была в 1,6, при саркоме Юинга – в 1,7, при хондросаркоме – в 1,8 раза ниже, чем у пациентов с содержанием IL-16 в сыворотке крови 33 пг/мл и ниже. При содержании VEGF в сыворотке крови выше среднего по группе (> 493 пг/мл) общая 3- и 5-летняя выживаемость у пациентов со злокачественными опухолями костей была выше, чем при низких ( $\leq 493$  пг/мл) уровнях этого показателя. Анализ отдаленных результатов лечения с учетом гистологического строения опухоли показал, что такие же результаты получены и при остеосаркоме, тогда как при саркоме Юинга и хондросаркоме высокие показатели 3- и 5-летней выживаемости отмечены у пациентов с содержанием VEGF в сыворотке крови 493 пг/мл и ниже. ©

## Литература

- Rossi B, Schinzari G, Maccauro G, Scaramuzza L, Signorelli D, Rosa MA, Fabbriani C, Carlo B. Neoadjuvant multidrug chemotherapy including high-dose methotrexate modifies VEGF expression in osteosarcoma: an immunohistochemical analysis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010;11:34. doi: 10.1186/1471-2474-11-34.
- Qu Y, Xu J, Jiang T, Zhao H, Gao Y, Zheng C, Shi X. Difference in pre- and postchemotherapy vascular endothelial growth factor levels as a prognostic indicator in osteosarcoma. *J Int Med Res.* 2011;39(4):1474–82. doi: 10.1177/147323001103900436.
- Lammli J, Fan M, Rosenthal HG, Patni M, Rinehart E, Vergara G, Ablah E, Wooley PH, Lucas G, Yang SY. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor correlates with the advance of clinical osteosarcoma. *Int Orthop.* 2012;36(11):2307–13. doi: 10.1007/s00264-012-1629-z.
- Fox E, Aplenc R, Bagatell R, Chuk MK, Dombi E, Goodspeed W, Goodwin A, Kromplewski M, Jayaprakash N, Marotti M, Brown KH, Wenrich B, Adamson PC, Widemann BC, Balis FM. A phase 1 trial and pharmacokinetic study of cediranib, an orally bioavailable pan-vascular endothelial growth factor receptor inhibitor, in children and adolescents with refractory solid tumors. *J Clin Oncol.* 2010;28(35):5174–81. doi: 10.1200/JCO.2010.30.9674.
- Dubois SG, Shusterman S, Ingle AM, Ahern CH, Reid JM, Wu B, Baruchel S, Glade-Bender J, Ivy P, Grier HE, Adamson PC, Blaney SM. Phase I and pharmacokinetic study of sunitinib in pediatric patients with refractory solid tumors: a children's oncology group study. *Clin Cancer Res.* 2011;17(15):5113–22. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0237.
- Glade Bender JL, Lee A, Reid JM, Baruchel S, Roberts T, Voss SD, Wu B, Ahern CH, Ingle AM, Harris P, Weigel BJ, Blaney SM. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of pazopanib in children with soft tissue sarcoma and other refractory solid tumors: a children's oncology group phase I consortium report. *J Clin Oncol.* 2013;31(24):3034–43. doi: 10.1200/JCO.2012.47.0914.
- Versleijen-Jonkers YM, Vlenterie M, van de Luijngaarden AC, van der Graaf WT. Anti-angiogenic therapy, a new player in the field of sarcoma treatment. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2014;91(2):172–85. doi: 10.1016/j.critrevonc.2014.02.001.
- Baptista AM, Camargo AF, Filippi RZ, Oliveira CR, Azevedo Neto RS, Camargo OP. Correlation between the expression of vegf and survival in osteosarcoma. *Acta Ortop Bras.* 2014;22(5):250–5. doi: 10.1590/1413-78522014220500978.
- Laberge S, Cruikshank WW, Kornfeld H, Center DM. Histamine-induced secretion of lymphocyte chemoattractant factor from CD8+ T cells is independent of transcription and translation. Evidence for constitutive protein synthesis and storage. *J Immunol.* 1995;155(6):2902–10.
- Rumsaeng V, Cruikshank WW, Foster B, Prussin C, Kirshenbaum AS, Davis TA, Kornfeld H, Center DM, Metcalfe DD. Human mast cells produce the CD4+ T lymphocyte chemoattractant factor, IL-16. *J Immunol.* 1997;159(6):2904–10.
- Sharma V, Sparks JL, Vail JD. Human B-cell lines constitutively express and secrete interleukin-16. *Immunology.* 2000;99(2):266–71.
- Yellapa A, Bahr JM, Bitterman P, Abramowicz JS, Edassery SL, Penumatsa K, Basu S, Rotmensch J, Barua A. Association of interleukin 16 with the development of ovarian tumor and tumor-associated neoangiogenesis in laying hen model of spontaneous ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer.* 2012;22(2):199–207. doi: 10.1097/IGC.0b013e318236a27b.
- Mathy NL, Scheuer W, Lanzendorf M, Honold K, Ambrosius D, Norley S, Kurth R. Interleukin-16 stimulates the expression and production of pro-inflammatory cytokines by human monocytes. *Immunology.* 2000;100(1):63–9. doi: 10.1046/j.1365-2567.2000.00997.x.
- Zhu J, Qin C, Yan F, Wang M, Ding Q, Zhang Z, Yin C. IL-16 polymorphism and risk of renal cell carcinoma: association in a Chinese



- population. *Int J Urol*. 2010;17(8):700–7. doi: 10.1111/j.1442-2042.2010.02559.x.
15. Gao LB, Liang WB, Xue H, Rao L, Pan XM, Lv ML, Bai P, Fang WL, Liu J, Liao M, Zhang L. Genetic polymorphism of interleukin-16 and risk of nasopharyngeal carcinoma. *Clin Chim Acta*. 2009;409(1–2):132–5. doi: 10.1016/j.cca.2009.09.017.
16. Gao LB, Rao L, Wang YY, Liang WB, Li C, Xue H, Zhou B, Sun H, Li Y, Lv ML, Du XJ, Zhang L. The association of interleukin-16 polymorphisms with IL-16 serum levels and risk of colorectal and gastric cancer. *Carcinogenesis*. 2009;30(2):295–9. doi: 10.1093/carcin/bgn281.
17. Li S, Deng Y, Chen ZP, Huang S, Liao XC, Lin LW, Li H, Peng T, Qin X, Zhao JM. Genetic polymorphism of interleukin-16 influences susceptibility to HBV-related hepatocellular carcinoma in a Chinese population. *Infect Genet Evol*. 2011;11(8):2083–8. doi: 10.1016/j.meegid.2011.09.025.
18. Thomas G, Jacobs KB, Yeager M, Kraft P, Wacholder S, Orr N, Yu K, Chatterjee N, Welch R, Hutchinson A, Crenshaw A, Cancel-Tassin G, Staats BJ, Wang Z, Gonzalez-Bosquet J, Fang J, Deng X, Berndt SI, Calle EE, Feigelson HS, Thun MJ, Rodriguez C, Albanes D, Virtamo J, Weinstein S, Schumacher FR, Giovannucci E, Willett WC, Cussenot O, Valeri A, Andriole GL, Crawford ED, Tucker M, Gerhard DS, Fraumeni JF Jr, Hoover R, Hayes RB, Hunter DJ, Chanock SJ. Multiple loci identified in a genome-wide association study of prostate cancer. *Nat Genet*. 2008;40(3):310–5. doi: 10.1038/ng.91.
19. Chen D, Zhang YJ, Zhu KW, Wang WC. A systematic review of vascular endothelial growth factor expression as a biomarker of prognosis in patients with osteosarcoma. *Tumour Biol*. 2013;34(3):1895–9. doi: 10.1007/s13277-013-0733-z.
20. Кушлинский НЕ, Герштейн ЕС, Тимофеев ЮС, Короткова ЕА, Бабкина ИВ, Зуев АА, Бондарев АВ, Щупак МЮ, Соловьев ЮН, Алиев МД. Компоненты системы RANK/RANKL/OPG и интерлейкины-6, -8, -16 в сыворотке крови больных первичными опухолями костей. *Молекулярная медицина*. 2016;14(1):39–44.
21. Mahindra A, Anderson KC. Role of interleukin 16 in multiple myeloma pathogenesis: a potential novel therapeutic target? *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(13):964–5. doi: 10.1093/jnci/djs274.
1. Rossi B, Schinzari G, Maccauro G, Scaramuzzo L, Signorelli D, Rosa MA, Fabbriani C, Carlo B. Neoadjuvant multidrug chemotherapy including high-dose methotrexate modifies VEGF expression in osteosarcoma: an immunohistochemical analysis. *BMC Musculoskelet Disord*. 2010;11:34. doi: 10.1186/1471-2474-11-34.
2. Qu Y, Xu J, Jiang T, Zhao H, Gao Y, Zheng C, Shi X. Difference in pre- and postchemotherapy vascular endothelial growth factor levels as a prognostic indicator in osteosarcoma. *J Int Med Res*. 2011;39(4):1474–82. doi: 10.1177/147323001103900436.
3. Lammler J, Fan M, Rosenthal HG, Patni M, Rinehart E, Vergara G, Ablah E, Wooley PH, Lucas G, Yang SY. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor correlates with the advance of clinical osteosarcoma. *Int Orthop*. 2012;36(11):2307–13. doi: 10.1007/s00264-012-1629-z.
4. Fox E, Aplenc R, Bagatell R, Chuk MK, Dombi E, Goodspeed W, Goodwin A, Kromplewski M, Jayaprakash N, Marotti M, Brown KH, Wenrich B, Adamson PC, Widemann BC, Balis FM. A phase 1 trial and pharmacokinetic study of cediranib, an orally bioavailable pan-vascular endothelial growth factor receptor inhibitor, in children and adolescents with refractory solid tumors. *J Clin Oncol*. 2010;28(35):5174–81. doi: 10.1200/JCO.2010.30.9674.
5. Dubois SG, Shusterman S, Ingle AM, Ahern CH, Reid JM, Wu B, Baruchel S, Glade-Bender J, Ivy P, Grier HE, Adamson PC, Blaney SM. Phase I and pharmacokinetic study of sunitinib in pediatric patients with refractory solid tumors: a children's oncology group study. *Clin Cancer Res*. 2011;17(15):5113–22. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0237.
6. Glade Bender JL, Lee A, Reid JM, Baruchel S, Roberts T, Voss SD, Wu B, Ahern CH, Ingle AM, Harris P, Weigel BJ, Blaney SM. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of pazopanib in children with soft tissue sarcoma and other refractory solid tumors: a children's oncology group phase I consortium report. *J Clin Oncol*. 2013;31(24):3034–43. doi: 10.1200/JCO.2012.47.0914.
7. Versleijen-Jonkers YM, Vletterie M, van de Luijngaarden AC, van der Graaf WT. Anti-angiogenic therapy, a new player in the field of sarcoma treatment. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2014;91(2):172–85. doi: 10.1016/j.critrevonc.2014.02.001.
8. Baptista AM, Camargo AF, Filippi RZ, Oliveira CR, Azevedo Neto RS, Camargo OP. Correlation between the expression of vegf and survival in osteosarcoma. *Acta Ortop Bras*. 2014;22(5):250–5. doi: 10.1590/1413-78522014220500978.
9. Laberge S, Cruikshank WW, Kornfeld H, Center DM. Histamine-induced secretion of lymphocyte chemoattractant factor from CD8+ T cells is independent of transcription and translation. Evidence for constitutive protein synthesis and storage. *J Immunol*. 1995;155(6):2902–10.
10. Rumsaeng V, Cruikshank WW, Foster B, Prussin C, Kirshenbaum AS, Davis TA, Kornfeld H, Center DM, Metcalfe DD. Human mast cells produce the CD4+ T lymphocyte chemoattractant factor, IL-16. *J Immunol*. 1997;159(6):2904–10.
11. Sharma V, Sparks JL, Vail JD. Human B-cell lines constitutively express and secrete interleukin-16. *Immunology*. 2000;99(2):266–71.
12. Yellapa A, Bahr JM, Bitterman P, Abramowicz JS, Edassery SL, Penumatsa K, Basu S, Rotmensch J, Barua A. Association of interleukin 16 with the development of ovarian tumor and tumor-associated neoangiogenesis in laying hen model of spontaneous ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer*. 2012;22(2):199–207. doi: 10.1097/IGC.0b013e318236a27b.
13. Mathy NL, Scheuer W, Lanzendörfer M, Hohnold K, Ambrosius D, Norley S, Kurth R. Interleukin-16 stimulates the expression and production of pro-inflammatory cytokines by human monocytes. *Immunology*. 2000;100(1):63–9. doi: 10.1046/j.1365-2567.2000.00997.x.
14. Zhu J, Qin C, Yan F, Wang M, Ding Q, Zhang Z, Yin C. IL-16 polymorphism and risk of renal cell carcinoma: association in a Chinese population. *Int J Urol*. 2010;17(8):700–7. doi: 10.1111/j.1442-2042.2010.02559.x.
15. Gao LB, Liang WB, Xue H, Rao L, Pan XM, Lv ML, Bai P, Fang WL, Liu J, Liao M, Zhang L. Genetic polymorphism of interleukin-16 and risk of nasopharyngeal carcinoma. *Clin Chim Acta*. 2009;409(1–2):132–5. doi: 10.1016/j.cca.2009.09.017.
16. Gao LB, Rao L, Wang YY, Liang WB, Li C, Xue H, Zhou B, Sun H, Li Y, Lv ML, Du XJ, Zhang L. The association of interleukin-16 polymorphisms with IL-16 serum levels and risk of colorectal and gastric cancer. *Carcinogenesis*. 2009;30(2):295–9. doi: 10.1093/carcin/bgn281.
17. Li S, Deng Y, Chen ZP, Huang S, Liao XC, Lin LW, Li H, Peng T, Qin X, Zhao JM. Genetic polymorphism of interleukin-16 influences susceptibility to HBV-related hepatocellular carcinoma in a Chinese population. *Infect Genet Evol*. 2011;11(8):2083–8. doi: 10.1016/j.meegid.2011.09.025.
18. Thomas G, Jacobs KB, Yeager M, Kraft P, Wacholder S, Orr N, Yu K, Chatterjee N, Welch R, Hutchinson A, Crenshaw A, Cancel-Tassin G, Staats BJ, Wang Z, Gonzalez-Bosquet J, Fang J, Deng X, Berndt SI, Calle EE, Feigelson HS,



Thun MJ, Rodriguez C, Albanes D, Virtamo J, Weinstein S, Schumacher FR, Giovannucci E, Willett WC, Cussenot O, Valeri A, Andriole GL, Crawford ED, Tucker M, Gerhard DS, Fraumeni JF Jr, Hoover R, Hayes RB, Hunter DJ, Chanock SJ. Multiple loci identified in a genome-wide association study of prostate cancer. *Nat Genet.* 2008;40(3):310–5. doi: 10.1038/ng.91.

19. Chen D, Zhang YJ, Zhu KW, Wang WC. A systematic review of vascular endothelial growth

factor expression as a biomarker of prognosis in patients with osteosarcoma. *Tumour Biol.* 2013;34(3):1895–9. doi: 10.1007/s13277-013-0733-z.

20. Kushlinskii NE, Gershteyn ES, Timofeev YuS, Korotkova EA, Babkina IV, Zuev AA, Bondarev AV, Shchupak MYu, Solov'ev YuN, Aliev MD. Komponenty sistemy RANK/RANKL/OPG i interleykiny-6, -8, -16 v syvorotke krovi bol'nykh pervichnymi opukholyami kostey

[RANK/RANKL/OPG system components and interleukins 6, 8, 16 in blood serum of patients with primary bone neoplasms]. *Molekul'yarnaya meditsina [Molecular medicine].* 2016;14(1):39–44 (in Russian).

21. Mahindra A, Anderson KC. Role of interleukin 16 in multiple myeloma pathogenesis: a potential novel therapeutic target? *J Natl Cancer Inst.* 2012;104(13):964–5. doi: 10.1093/jnci/djs274.

## Clinical analysis of serum interleukin-16 and vascular endothelial growth factor levels depending on morphological characteristics of the tumors and long-term treatment outcomes in patients with bone neoplasms

Babkina I.V.<sup>1</sup> • Alferov A.A.<sup>2</sup> • Bondarev A.V.<sup>3</sup> • Shchupak M.Yu.<sup>3</sup> • Kuznetsov I.N.<sup>2</sup> • Boulytcheva I.V.<sup>1</sup> • Solov'ev Yu.N.<sup>1</sup> • Aliev M.D.<sup>1</sup> • Kushlinskii N.E.<sup>1</sup>

**Background:** The progress in cancer treatment, including bone malignancies, is associated with advances in molecular biology. Based on the results of a number of studies, treatment of bone sarcomas have been expanded with targeted therapy that uses drugs with targeted actions, including anti-angiogenic and bevacizumab, in particular. It inhibits the binding of a key activator of neoangiogenesis, vascular endothelial growth factor (VEGF), with its receptors type 1 and 2 (Flt-1 and KDR) on the surface of endothelial cells, which results in a decrease in vascularization and in inhibition of tumor growth. Beyond VEGF, other activators of neoangiogenesis have been identified, such as interleukin 16 (IL-16). **Aim:** To compare baseline serum IL-16 and VEGF in patients with malignant, borderline and benign bone tumors.

**Materials and methods:** Serum IL-16 and VEGF levels was compared in 138 patients with primary bone tumors: benign (n=10); borderline (giant cell bone, n=22); malignant (n=106), aged 14 to 50 years, by immunoenzyme assay (Biosource, USA for IL-16 and R&D, USA for VEGF) before any specific treatment. Bone malignancies were identified as osteosarcoma (n=45, among them 35 typical, 6 parosteal, and 4 periosteal), chondrosarcoma (n=24), Ewing sarcoma (n=27), and undifferentiated pleomorphic sarcoma (n=7) and chordoma (n=3). **Results:** The rate of IL-16 identification in the serum of bone tumors patients was 93%, with no significant differences depending on the histological structure of the tumor. No association between the size of primary tumors and IL-16 serum levels was found. Overall 3 and 5-year survival of

patients with malignant bone tumors with IL-16 serum levels > 33 pg/mL was significantly lower than in those IL-16 levels of ≤ 33 pg/mL. Overall 5-year survival in osteosarcoma patients with higher IL-16 serum levels 1.6-fold lower, in Ewing sarcoma patients, 1.7-fold lower, and in chondrosarcoma patients, 1.8-fold lower than that the patients with IL-16 levels of ≤ 33 pg/mL. VEGF levels in bone sarcomas patients were significantly higher than in those with borderline and benign tumors, whereas statistical analysis did not find any significant difference in VEGF levels depending on the histological structure of the primary tumor. Maximal VEGF levels were found in periosteal osteosarcoma, minimal ones, in parosteal osteosarcoma. Overall 3 and 5-year survival of patients with bone malignancies and serum VEGF concentrations above the mean for the group (> 493 pg/mL) was higher than that in the patients with low VEGF levels. Similar results were obtained in osteosarcoma, whereas in Ewing sarcoma and chondrosarcoma higher 3 and 5-year survival rates were observed in patients with serum VEGF levels below 493 pg/mL.

**Conclusion:** These data suggest that IL-16 and VEGF expression could be associated with pathophysiological changes related to growth and metastatic process of bone sarcomas, and may be a subject for further studies to determine the levels of these biomarkers and their predictive value in bone malignancies.

**Key words:** IL-16, VEGF, bone sarcoma, overall survival

doi: 10.18786/2072-0505-2016-44-5-606-612

**Babkina Irina V.** – MD, PhD, Professor, Leading Research Fellow, Clinical Biochemistry Laboratory<sup>1</sup>  
✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 11 69.  
E-mail: docbabkina@rambler.ru

**Alferov Aleksandr A.** – MD, Postgraduate Student, Chair of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Faculty of Additional Professional Education<sup>2</sup>

**Bondarev Aleksandr V.** – MD, Orthopaedic Surgeon, Orthopaedic Department<sup>3</sup>

**Shchupak Mikhail Yu.** – MD, Orthopaedic Surgeon, Head of Orthopaedic Department<sup>3</sup>

**Kuznetsov Igor' N.** – PhD (in Biology), Research Assistant, Chair of Clinical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, Faculty of Additional Professional Education<sup>2</sup>

**Boulytcheva Irina V.** – MD, PhD, Surgical Pathologist, Pathology Department<sup>1</sup>

**Solov'ev Yuriy N.** – MD, PhD, Professor, Member of Russian Academy of Sciences, Chief Research Fellow, Pathology Department<sup>1</sup>

**Aliev Mamed D.** – MD, PhD, Professor, Member of Russian Academy of Sciences, Chief of Department of General Oncology<sup>1</sup>

**Kushlinskii Nikolay E.** – MD, PhD, Professor, Member-Correspondent of Russian Academy of Sciences, Head of Clinical Biochemistry Laboratory<sup>1</sup>

<sup>1</sup> N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation

<sup>2</sup> Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov; 20–1 Deleghatskaya ul., Moscow, 127473, Russian Federation

<sup>3</sup> Moscow City Cancer Hospital No 62; 27 poselok Istra, p/o Stepanovskoe, Krasnogorskiy rayon, Moskovskaya oblast', 143423, Russian Federation