

## МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ПРОГНОЗА ПРИ САРКОМЕ ЮИНГА

### **И.В. Бабкина**

д.м.н., профессор, кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова  
E-mail: biochimia@mtu-net.ru

### **Е.А. Тен**

аспирант, кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

### **И.Н. Кузнецов**

к.б.н., кафедра клинической биохимии и лабораторной диагностики, Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова

### **А.В. Бондарев**

хирург-онколог, Московская городская онкологическая больница № 62 (Москва)

### **М.Ю. Щупак**

хирург-онколог, Московская городская онкологическая больница № 62 (Москва)

### **Ю.Н. Соловьев**

академик РАН, профессор, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)

### **И.В. Булычева**

д.м.н., врач-патологоанатом, отдел патологической анатомии опухоли человека, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)

### **М.Д. Алиев**

академик РАН, профессор, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)

### **Н.Е. Кушлинский**

д.м.н., чл.-корр. РАН, профессор, Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина (Москва)

Проведен анализ содержания интерлейкинов (ИЛ-2 и ИЛ-16) и интерферонов (ИФН-альфа и ИФН-гамма) в сыворотке крови 27 больных саркомой Юинга, которые были под наблюдением от 6 до 88 месяцев до начала специфического лечения. За период наблюдения 12 (44,44%) пациентов умерли, 15 (55,56%) – живы. Максимальные показатели общей кумулятивной 3- и 5-летней выживаемости выявлены у пациентов с содержанием ИЛ-16 <30 пг/мл и ИФН-гамма <24 пг/мл в сыворотке крови – 57%, минимальные – при содержании ИЛ-16 >30 пг/мл и ИФН-гамма >24 пг/мл – 25%. Полученные результаты можно использовать для продолжения исследований по изучению роли ИФН-гамма и ИЛ-16 в прогнозе саркомы Юинга.

**Ключевые слова:** саркома Юинга, ИЛ-2, ИЛ-16, ИФН-гамма, ИФН-альфа.

В 1921 г. Джеймс Юинг выделил из группы круглоклеточных сарком опухоль, обладавшую своеобразными клиническими, биологическими и морфологическими особенностями. Считая, что она происходит из эндотелия кровеносных сосудов ткани костного мозга, автор назвал ее «диффузная эндотелиома кости». Позже Юинг изменил точку зрения на происхождение опухоли, он указал, что она происходит из эндотелия периваскулярных лимфатических сосудов костного мозга и предложил название «эндотелиома миелома». Однако термины, предложенные Юингом не получили признания. Американский Регистрационный комитет по костным саркомам, учитывая по-

стоянство симптомов заболевания, включил его в 1925 г. в классификацию опухолей костей под эпонимическим названием «опухоль Юинга». Впоследствии происхождение опухоли Юинга пытались связывать с костно-мозговыми элементами, с сосудами, и лишь с введением ряда новых методов исследования (иммуногистохимия, цитогенетика, культивирование клеток, индукция дифференцировки опухолевых клеток) получены неоспоримые доказательства принадлежности клеток опухоли к нейроэктодерме. В настоящее время к группе опухолей Юинга относятся: собственно саркома Юинга, примитивные нейроэктодермальные опухоли (PNET-опухоли), нейробластома взрослых,

злокачественная мелкоклеточная опухоль торакопюльмональной области (опухоль Аскина), паравертебральная мелкоклеточная опухоль, а также атипичная саркома Юинга. Данные опухоли имеют единое гистологическое происхождение, обладают аналогичными патогистологическими характеристиками, у них отмечены одинаковые транслокации в одних и тех же генах [1].

Большинство работ, опубликованных в доступной литературе в последние годы, посвящено описанию гистологических, рентгенологических и других методов диагностики [6], методам лечения и результатам выживаемости больных саркомой Юинга [4] и мало внимания уделено определению молекулярно-биологических факторов, хотя, по мнению многих специалистов, прогресс в лечении онкологических заболеваний (и опухолей костей в том числе) связан с существенным прорывом в молекулярной биологии, иммунологии, понимании причин возникновения опухолевой клетки и закономерностей развития опухолевого процесса, что позволит создавать лекарственные препараты направленного действия, способные влиять на экспрессию биологически активных веществ данной конкретной опухоли [2, 5, 8, 9].

В одном из европейских исследований [3] проведен анализ результатов лечения 359 пациентов с локализованной формой саркомы Юинга кости. Однофакторный анализ показал, что плохой прогноз заболевания с разной степенью достоверности сочетался со следующими характеристиками: мужской пол ( $p < 0,02$ ); возраст старше 12 лет ( $p < 0,006$ ); локализация опухоли в трубчатых костях ( $p < 0,04$ ); наличие лихорадки ( $p < 0,0001$ ); анемии ( $p < 0,0025$ ); высокий уровень ЛДГ в плазме ( $p < 0,0001$ ); применение только местной лучевой терапии ( $p < 0,009$ ); вариант химиотерапии ( $p < 0,0001$ ); низкая степень лечебного патоморфоза в опухоли ( $p < 0,001$ ). При многофакторном анализе наиболее весомую роль в прогнозе играли такие факторы, как высокий уровень ЛДГ в сыворотке крови ( $p < 0,0003$ ), вариант химиотерапии ( $p < 0,0003$ ) и наличие лихорадки у пациентов ( $p < 0,0002$ ). Многофакторный анализ у пациентов, получивших хирургическое лечение, показал, что независимым фактором плохого прогноза является низкая степень лечебного патоморфоза в опухоли ( $p < 0,0001$ ).

Через 10 лет, американские ученые попытались выявить факторы неблагоприятного прогноза саркомы Юинга на основании анализа результатов лечения 725 пациентов (372 детей и 352 взрослых) [7]. Самую низкую общую выживаемость отметили

у взрослых пациентов латиноамериканской расы, низкого социально-экономического статуса, с опухолью больших размеров ( $> 8$  см), метастазами, не получавших хирургического лечения.

Еще в одном из исследований проведен анализ выживаемости 1163 пациентов с саркомой Юинга. Показано, что общая 10-летняя выживаемость у пациентов без метастазов составила 66,8%, а у больных с метастазами – 28,1%. К неблагоприятным факторам прогноза также отнесли наличие метастазов, размер первичной опухоли  $>10$  см, локализацию опухоли в трубчатых костях и возраст  $\geq 20$  лет [4].

Цель исследования – изучение содержания интерлейкинов (ИЛ-2 и ИЛ-16) и интерферонов (ИФН-альфа и ИФН-гамма) в сыворотке крови больных саркомой Юинга и практически здоровых людей соответствующего возраста для выявления возможной взаимосвязи с основными клинико-морфологическими характеристиками и прогнозом заболевания.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовали 27 больных саркомой Юинга (24 мужчины и 3 женщины) в возрасте от 14 до 50 лет (медиана – 20 лет). Контрольная группа состояла из 14 практически здоровых людей (8 мужчин и 6 женщин) в возрасте от 14 до 30 лет (медиана – 22,5 лет). У всех больных диагноз установлен впервые и подтвержден данными гистологического исследования опухоли.

У 18 пациентов удалось определить размер первичной опухоли, в связи с чем они были разделены на две группы: в первую группу включили 11 больных с опухолями, максимальный размер которых был меньше 10 см; во вторую – 7 больных с опухолями, максимальный размер которых был более 10 см. Определение всех показателей проводили до начала специфического лечения с использованием реактивов фирмы «Bender MedSystems» (Австрия) (для ИФН-альфа, ИФН-гамма, ИЛ-2) и «Biosource» (США) (для ИЛ-16) при использовании автоматического ридера «Elx 800» («Biotek Instruments Inc.»).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ИФН-альфа и ИФН-гамма обнаружили в сыворотке крови всех обследованных практически здоровых людей и больных саркомой Юинга.

Среднее содержание ИФН-гамма в сыворотке крови практически здоровых людей составило

30,7±3,9 пг/мл, (медиана – 29,4, пределы колебаний 9,7–52,9) и не отличалось достоверно от показателей у пациентов с саркомой Юинга – 23,7±1,8 пг/мл (медиана – 20,8, пределы колебаний 9,7–68,3) ( $p = 0,08$ ). При изучении содержания ИФН-гамма в сыворотке крови контрольной группы с учетом пола и возраста оказалось, что у мужчин уровни цитокина были достоверно ниже ( $p < 0,05$ ), чем у женщин: 23,9±3,8 пг/мл (медиана – 23,9, пределы колебаний 9,7–43,5) и 39,7±6,3 пг/мл (медиана – 44,3, пределы колебаний 13,0–52,9) соответственно. Выявлена обратная корреляционная зависимость между возрастом и содержанием ИФН-гамма в сыворотке крови ( $r = -0,66$ ;  $p = 0,011$ ). У больных саркомой Юинга достоверных различий в содержании ИФН-гамма в крови у женщин и мужчин не выявили: 20,9±2,5 и 24,2±2,1 пг/мл соответственно ( $p = 0,50$ ). Взаимосвязи между возрастом пациентов и содержанием ИФН-гамма не обнаружили ( $r = 0,06$ ;  $p = 0,76$ ).

У больных саркомой Юинга не выявлено достоверных отличий между уровнем ИФН-гамма и максимальным размером опухоли. Так, уровни ИФН-гамма в сыворотке крови больных с размером опухоли более 10 см и менее 10 см составили соответственно 27,7±4,4 и 22,5±3,3 пг/мл. Корреляционный анализ также не обнаружил взаимосвязи между максимальным размером первичной опухоли и содержанием ИФН-гамма в сыворотке крови ( $r = 0,028$ ;  $p = 0,91$ ).

Все пациенты были под наблюдением от 6 до 88 мес. За период наблюдения 12 (44,4%) больных саркомой Юинга умерли, 15 (55,6%) – живы. Общая 3- и 5-летняя выживаемость составила 59%. Был проведен анализ общей выживаемости этих пациентов с учетом содержания ИФН-гамма в сыворотке крови. Пациентов разделили на две группы: в первую включили 17 больных с уровнями ИФН-гамма ниже среднего его содержания по группе (24 пг/мл), во вторую – 10 пациентов с уровнем ИФН-гамма выше 24 пг/мл. В первой группе за период наблюдения умерли 7 больных (41,18%), живы – 10 (58,82%), во второй – умерли 5 пациентов (50%), живы – 5 (50%). У пациентов первой группы общая 3-летняя выживаемость составила 61%, 5-летняя – 54%, у больных второй группы (с содержанием ИФН-гамма > 24 пг/мл) 3-летняя выживаемость составила 54%, 5-летняя – 36%.

Таким образом, общая 3- и 5-летняя выживаемость больных саркомой Юинга при уровнях

ИФН-гамма >24 пг/мл в сыворотке крови была ниже, чем при уровнях ИФН-гамма < 24 пг/мл, хотя различия статистически не достоверны ( $p = 0,36$ ).

У 16 больных саркомой Юинга были исследовали уровни ИФН-альфа в сыворотке крови, которые достоверно не отличались от показателей в группе практически здоровых людей (54,3±5,2 и 63,5±7,1 пг/мл соответственно).

Достоверных различий в содержании ИФН-альфа в сыворотке крови больных с учетом максимального размера первичной опухоли не выявлено.

Корреляционный анализ показал наличие не достоверной положительной корреляционной связи между содержанием ИФН-альфа и ИФН-гамма в сыворотке крови практически здоровых людей ( $r = 0,74$ ;  $p = 0,155$ ) и достоверной положительной связи у больных саркомой Юинга ( $r = 0,74$ ;  $p = 0,001$ ).

Среди пациентов, у которых определяли содержание ИФН-альфа, 6 (37,5%) умерли от прогрессирования заболевания, 10 (62,5%) остались живы. У пациентов, которые умерли, коэффициент корреляции между уровнями ИФН-гамма и ИФН-альфа в сыворотке до начала специфического лечения, был максимальным и составил  $r = 0,88$  ( $p = 0,021$ ), у больных без прогрессирования заболевания  $r = 0,65$  ( $p = 0,042$ ).

Отмечена тенденция к повышению среднего содержания ИФН-альфа в сыворотке крови у пациентов, которые умерли в период наблюдения, среднее содержание ИФН-альфа в сыворотке крови было выше, чем у тех, кто остался жив (66,4±12,2 и 47,0±2,7 пг/мл соответственно;  $p = 0,07$ ).

Как известно, взаимодействие клеток иммунной системы между собой осуществляется как за счет непосредственных межклеточных контактов, так и путем секреции множества растворимых белковых факторов – цитокинов. Одним из наиболее важных и хорошо изученных цитокинов, участвующих в процессе развития и усиления иммунного ответа, является ИЛ-2. В литературе представлены сведения об использовании ИЛ-2 в качестве дополнения к стандартной химиотерапии при саркоме Юинга [5, 8]. Было изучено содержание ИЛ-2 в сыворотке крови 16 больных саркомой Юинга и 10 практически здоровых людей соответствующего возраста. Значимых уровней ИЛ-2 ни у практически здоровых людей, ни у больных саркомой Юинга не обнаружили.

Еще одним представителем семейства цитокинов является ИЛ-16, который также называют проангиогенным цитокином, обладающим способностью стимулировать экспрессию факторов неоплазии [10].

Мы исследовали уровни ИЛ-16 в сыворотке крови 27 больных саркомой Юинга и 13 практически здоровых людей соответствующего возраста. Среднее содержание ИЛ-16 в сыворотке крови практически здоровых людей и больных саркомой Юинга не отличалось и составило  $35,7 \pm 1,8$  и  $30,7 \pm 4,6$  пг/мл. Достоверных различий в содержании ИЛ-16 в сыворотке крови больных с учетом максимального размера первичной опухоли не выявлено. По содержанию ИЛ-16 в сыворотке крови пациентов разделили на две группы: первая группа включала 17 пациентов с содержанием ИЛ-16  $<30$  пг/мл; вторая – 10 больных с уровнем ИЛ-16  $>30$  пг/мл. За период наблюдения в первой группе умерли шесть больных (35,29%), живы – 11 (64,71%), во второй – умерли 6 пациентов (60%), живы – 4 (40%). У пациентов первой группы общая 3- и 5-летняя выживаемость составила 58%, у больных второй группы – 34%, различия статистически не достоверны ( $p = 0,24$ ).

Достоверных корреляций ни между содержанием ИЛ-16 и ИФН-гамма ( $r = -0,07$ ), ни между ИЛ-16 и ИФН-альфа ( $r = 0,21$ ) у больных саркомой Юинга не выявили.

Статистический анализ позволил разделить больных саркомой Юинга на группы с учетом содержания ИЛ-16 и ИФН-гамма в сыворотке крови до лечения: первая группа – 8 пациентов (ИЛ-16  $<30$  пг/мл и ИФН-гамма  $<24$  пг/мл); вторая группа – 9 пациентов (ИЛ-16  $>30$  пг/мл и ИФН-гамма  $<24$  пг/мл); третья группа – 5 пациентов (ИЛ-16  $<30$  пг/мл и ИФН-гамма  $>24$  пг/мл); четвертая группа – 5 пациентов (ИЛ-16  $>30$  пг/мл и ИФН-гамма  $>24$  пг/мл). Максимальные показатели общей 3- и 5-летней выживаемости выявлены у пациентов первой группы – 57%, минимальные – у пациентов четвертой группы – 25%.

## Выводы

1. Максимальные показатели общей кумулятивной 3- и 5-летней выживаемости выяв-

лены у пациентов с содержанием ИЛ-16  $<30$  пг/мл и ИФН-гамма  $<24$  пг/мл в сыворотке крови – 57%, минимальные – при содержании ИЛ-16  $>30$  пг/мл и ИФН-гамма  $>24$  пг/мл – 25%.

2. Полученные результаты можно использовать для продолжения исследований по изучению роли ИФН-гамма и ИЛ-16 в прогнозе саркомы Юинга.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Чибнэр Б.Э., Линч Т.Дж., Лонго Д.Л. Руководство по онкологии. М.: МЕДпресс-информ. 2011. 656 с.
2. Atanackovic D., Hildebrandt Y., Templin J., et al. Role of interleukin 16 in multiple myeloma // J. Natl. Cancer Inst. 2012. V. 104. № 13. P. 1005–1020.
3. Bacci G., Ferrari S., Bertoni F., et al. Prognostic factors in nonmetastatic Ewing's sarcoma of bone treated with adjuvant chemotherapy: analysis of 359 patients at the Istituto Ortopedico Rizzoli // J. Clin. Oncol. 2000. V. 18. № 1. P. 4–11.
4. Duchman K.R., Gao Y., Miller B.J. Prognostic factors for survival in patients with Ewing's sarcoma using the surveillance, epidemiology, and end results (SEER) program database // Cancer Epidemiol. 2015. pii: S1877-7821(14)00231-8.
5. Fagioli F., Biasin E., Mereuta O.M., et al. Poor prognosis osteosarcoma: new therapeutic approach // Bone Marrow Transplant. 2008. V. 41. Suppl. 2. P. 131–134.
6. Jamshidi K., Shiradi M.R. Unusual form and location for a tumor: multiosseous ewing sarcoma in the foot // Am. J. Orthop. (Belle Mead NJ). 2015. V. 44. № 1. P. 32–35.
7. Lee J., Hoang B.Y., Ziogas A., Zell J.A. Analysis of prognostic factors in ewing sarcoma using a population-based cancer registry // Cancer. 2010. V. 116. № 8. P. 1964–1973.
8. Mackall C.L., Rhee E.H., Read E.J., et al. A pilot study of consolidative immunotherapy in patients with high-risk pediatric sarcomas // Clin. Cancer Res. 2008. V. 14. № 15. P. 4850–4858.
9. Mc Tiernan A., Jinks R.C., Sydes M.R., et al. Presence of chemotherapy-induced toxicity predicts improved survival in patients with localised extremity osteosarcoma treated with doxorubicin and cisplatin: a report from the European Osteosarcoma Intergroup // Eur. J. Cancer. 2012. V. 48. № 5. P. 703–712.
10. Yellapa A., Bahr J.M., Bitterman P., et al. 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. V. 22. № 2. P. 199–207.

Поступила 12 мая 2015 г.

## MOLECULAR AND BIOLOGICAL FACTORS OF PROGNOSIS IN EWING'S SARCOMA

© Authors, 2015

**I.V. Babkina**

Dr.Sc. (Med.), Professor, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov

**E.A. Ten**

Post-graduant Student, Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov

**I.N. Kuznetsov**

Ph.D. (Biol.), Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I. Evdokimov (Moscow)

**A.V. Bondarev**

Oncologist, Moscow Oncology Hospital № 62 (Moscow)

**M.Yu. Schupak**

Oncologist, Moscow Oncology Hospital № 62 (Moscow)

**Yu.N. Soloviev**

Dr.Sc. (Med.), Professor, Russian Cancer Research Center of N.N. Blokhin (Moscow)

**I.V. Boulitcheva**

Dr.Sc. (Med.), pathologist, Russian Cancer Research Center of N.N. Blokhin (Moscow)

**M.D. Aliev**

Dr.Sc. (Med.), Professor, Russian Cancer Research Center of N.N. Blokhin (Moscow)

**N.E. Kushlinskii**

Dr.Sc. (Med.), Professor, Russian Cancer Research Center of N.N. Blokhin (Moscow)

Group of Ewing tumors combines several disease, among which: the actual Ewing's sarcoma, primitive neuroectodermal tumor (PNET-tumor), neuroblastoma adults, small cell malignant tumor thoracopulmonary field (Askin tumor), paravertebral small cell tumor, and atypical Ewing's sarcoma. These tumors are common histological origin, have similar histological characteristics, they are marked in the same translocation of the same genes and all are characterized by an aggressive course.

A comparative study of serum interleukin (IL-2 and IL-16) and interferon (IFN-alpha and IFN-gamma) levels was performed in 27 patients with Ewing's sarcoma (24 men and 3 women) aged 14 to 50 years (median - 20 years) and in the control group consisted of 14 healthy individuals (8 men and 6 women) aged 14 to 30 years (mean - 22.5 years). In all patients, the diagnosis is confirmed first time by histological examination of the tumor.

IL-2, IL-16, IFN-alpha and IFN-gamma analysis in serum in Ewing's sarcoma patients were before specific treatment. No significant differences in performance levels of IFN-alpha, IFN-gamma and IL-16 in healthy subjects and patients with Ewing's sarcoma were found. The correlations between the levels of IFN-alpha, IFN-gamma and IL-16 and a maximum size of tumors of Ewing sarcoma patients not showed.

**Key words:** Ewing's sarcoma, IL-2, IL-16, IFN- $\gamma$ , IFN- $\alpha$ .

### References

1. Chebnjer B.Je., Linch T.Dzh., Longo D.L. Rukovodstvo po onkologii. M.: MEDpress-inform. 2011. 656 s.
2. Atanackovic D., Hildebrandt Y., Templin J., et al. Role of interleukin 16 in multiple myeloma // J. Natl. Cancer Inst. 2012. V. 104. № 13. P. 1005–1020.
3. Bacci G., Ferrari S., Bertoni F., et al. Prognostic factors in nonmetastatic Ewing's sarcoma of bone treated with adjuvant chemotherapy: analysis of 359 patients at the Istituto Ortopedico Rizzoli // J. Clin. Oncol. 2000. V. 18. № 1. P. 4–11.
4. Duchman K.R., Gao Y., Miller B.J. Prognostic factors for survival in patients with Ewing's sarcoma using the surveillance, epidemiology, and end results (SEER) program database // Cancer Epidemiol. 2015. pii: S1877-7821(14)00231-8.
5. Fagioli F., Biasin E., Mereuta O.M., et al. Poor prognosis osteosarcoma: new therapeutic approach // Bone Marrow Transplant. 2008. V. 41. Suppl. 2. P. 131–134.
6. Jamshidi K., Shiradi M.R. Unusual form and location for a tumor: multiosseous ewing sarcoma in the foot // Am. J. Orthop. (Belle Mead NJ). 2015. V. 44. № 1. P. 32–35.
7. Lee J., Hoang B.Y., Ziogas A., Zell J.A. Analysis of prognostic factors in ewing sarcoma using a population-based cancer registry // Cancer. 2010. V. 116. № 8. P. 1964–1973.
8. Mackall C.L., Rhee E.H., Read E.J., et al. A pilot study of consolidative immunotherapy in patients with high-risk pediatric sarcomas // Clin. Cancer Res. 2008. V. 14. № 15. P. 4850–4858.
9. Mc Tiernan A., Jinks R.C., Sydes M.R., et al. Presence of chemotherapy-induced toxicity predicts improved survival in patients with localised extremity osteosarcoma treated with doxorubicin and cisplatin: a report from the European Osteosarcoma Intergroup // Eur. J. Cancer. 2012. V. 48. № 5. P. 703–712.
10. Yellapa A., Bahr J.M., Bitterman P., et al. 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. V. 22. № 2. P. 199–207.