



Оригинальная статья

Экспрессия фосфорилированного варианта АКТ1-киназы (p-АКТ1) в высокодифференцированных нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы: иммуногистохимическое исследование

Делекторская В.В.¹ • Соловьева О.Н.¹ • Чемерис Г.Ю.¹ • Патютко Ю.И.¹

Делекторская Вера Владимировна – д-р мед. наук, заведующая лабораторией гистохимии и электронной микроскопии отдела патологической анатомии опухолей человека¹

✉ 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация. Тел.: +7 (499) 324 61 11.

E-mail: delektorskaya@yandex.ru

Соловьева Олеся Николаевна – аспирант хирургического отделения опухолей печени и поджелудочной железы¹

Чемерис Галина Юрьевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. отдела патологической анатомии опухолей человека¹

Патютко Юрий Иванович – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотр. хирургического отделения опухолей печени и поджелудочной железы¹

Актуальность. Высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы (НЭО ПЖ) образуют группу редких эпителиальных новообразований с крайне вариабельным клиническим течением. АКТ1 – одна из наиболее часто активируемых протеинкиназ в НЭО ПЖ, способствует усилению опухолевого роста и представляет интерес в качестве фактора прогноза и мишени для поиска новых подходов к лечению. **Цель** – изучить особенности экспрессии фосфорилированного варианта АКТ1-киназы (p-АКТ1) в первичных НЭО ПЖ и их метастазах в печени и определить корреляцию результатов с основными клинико-морфологическими характеристиками опухоли и прогнозом. **Материал и методы.** Особенности экспрессии p-АКТ1 были изучены с помощью иммуногистохимического анализа в первичных очагах и метастазах в печени 52 больных НЭО ПЖ. **Результаты.** Высокий уровень цитоплазматической и/или ядерной иммунореактивности был выявлен в 24 (46,2%) из 52 первичных НЭО ПЖ и в 16 (59,3%) из 27 метастазов НЭО ПЖ в печени. Экспрессия p-АКТ1 наблюдалась в 3 (21,4%) НЭО G1, в 14 (46,7%) НЭО G2 и в 7 (87,5%) НЭО G3. Экспрессия p-АКТ1 чаще выявлялась в категории НЭО G3 и увеличивалась в процессе опухолевой прогрессии

в метакронных метастазах в печени по сравнению с соответствующей первичной опухолью. Кроме того, p-АКТ1-позитивность была статистически значимо связана с увеличением степени злокачественности от G1 до G3 ($p=0,004$), индекса Ki-67 ($p=0,029$), стадии pTNM ($p=0,0008$), наличием периневральной инвазии ($p=0,031$) и уменьшением безрецидивной выживаемости ($p=0,05$). **Заключение.** Полученные результаты демонстрируют, что p-АКТ1 играет важную роль в патогенезе НЭО ПЖ и может служить дополнительным параметром оценки прогноза и эффективности лечения опухолей данного типа.

Ключевые слова: нейроэндокринная опухоль, поджелудочная железа, p-АКТ1, иммуногистохимия, прогноз

Для цитирования: Делекторская ВВ, Соловьева ОН, Чемерис ГЮ, Патютко ЮИ. Экспрессия фосфорилированного варианта АКТ1-киназы (p-АКТ1) в высокодифференцированных нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы: иммуногистохимическое исследование. Альманах клинической медицины. 2018;46(4):314–22. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-314-322.

Поступила 04.04.2018;

принята к публикации 16.05.2018

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; 115478, г. Москва, Каширское шоссе, 24, Российская Федерация



Высокодифференцированные нейроэндокринные опухоли (НЭО) поджелудочной железы (ПЖ) образуют гетерогенную группу редких эпителиальных новообразований, для которых характерны общие морфологические характеристики и крайне вариабельное клиническое течение [1, 2]. В последние годы произошел значительный прогресс в понимании биологических особенностей этих опухолей, расширились возможности их лекарственного лечения, в том числе с использованием таргетных препаратов.

Сегодня основным показателем для выбора варианта лечения и оценки риска прогрессии новообразования считается уровень пролиферативной активности опухолевых клеток, который определяет степень злокачественности опухоли и оценивается главным образом с учетом пороговых значений индекса Ki-67. В соответствии с критериями четвертой редакции классификации Всемирной организации здравоохранения, опубликованной в 2017 г. (ВОЗ, 2017), высокодифференцированные нейроэндокринные новообразования ПЖ включают опухоли трех степеней злокачественности (Grade, G): НЭО G1 (индекс Ki-67 < 3%), НЭО G2 (индекс Ki-67 от 3 до 20%), НЭО G3 (индекс Ki-67 > 20%) [3].

Категория НЭО G3 введена в данной классификации впервые и объединяет группу редких опухолей, которые сходны по своим биологическим особенностям с НЭО G1/G2, но имеют худший прогноз, так как демонстрируют высокий уровень пролиферативной активности клеток. Прогрессия индекса Ki-67 часто наблюдается в метастазах НЭО G1/G2 в печени, и его значения во вторичных очагах опухолевого роста могут значительно увеличиваться по сравнению с исходной опухолью, нередко достигая уровня G3. Первичные и метастатические НЭО G3 требуют особых подходов к лечению, поскольку эти опухоли не демонстрируют такого высокоагрессивного клинического течения, как низкодифференцированные варианты нейроэндокринных новообразований (нейроэндокринный рак крупноклеточного и мелкоклеточного типов) [4]. В этой связи большое внимание уделяется изучению молекулярных маркеров, предсказывающих эффективность лекарственной терапии и прогноз НЭО ПЖ различной степени злокачественности. Кроме того, в настоящее время многие исследования сфокусированы на поиске молекул, которые могут служить потенциальными маркерами ответа на разные виды «таргетной» терапии.

Серин/треониновая протеинкиназа АКТ1 (продукт гена *Akt1*) – мультифункциональная киназа. Она выступает ключевым компонентом сигнального каскада mTOR (mammalian target of rapamycin, мишень рапамицина у млекопитающих). Данный сигнальный путь играет определяющую роль в патогенезе НЭО, а ингибиторы mTOR занимают важное место среди возможных путей лечения этих опухолей, в частности, ингибитор mTOR эверолимус (everolimus) одобрен для лечения распространенных НЭО ПЖ [5].

АКТ1 входит в семейство протеинкиназ В (РКВ) наряду с еще двумя внутриклеточными белками АКТ2 и АКТ3. В активном состоянии АКТ1 регулирует широкий спектр биологических процессов, включая рост, дифференцировку и выживание клеток. Некоторые исследования демонстрируют, что АКТ1-киназа усиливает процессы клеточной миграции и инвазии путем регуляции активности ряда нижестоящих молекул, в том числе mTOR [6].

Известно, что белок АКТ1 вовлечен в развитие нескольких злокачественных новообразований человека, однако данные о влиянии экспрессии АКТ-1 на биологические характеристики и прогноз течения НЭО ПЖ практически отсутствуют.

Целью исследования было изучение особенностей экспрессии активированной АКТ1-киназы в первичных НЭО ПЖ и их метастазах в печени и определение корреляции полученных результатов с ключевыми клинико-морфологическими характеристиками опухоли и прогнозом заболевания.

Материал и методы

Проведен ретроспективный анализ клинических данных и операционного материала 52 больных НЭО ПЖ, прошедших хирургическое лечение в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Собранные данные включали первичный диагноз, пол, возраст больного НЭО ПЖ, данные о хирургическом лечении (резекция опухоли ПЖ, первичное и повторное удаление метастазов в печени), локализацию опухоли (отдел ПЖ), первоначальную стадию по критериям AJCC/UICC (American Joint Committee on Cancer / Union for International Cancer Control, 2017).

В исследованную группу больных НЭО ПЖ вошли 23 мужчины и 29 женщин, возраст которых варьировал от 24 до 77 лет (средний возраст на момент диагностики составил 53 года). Диаметр опухолей был от 0,5 до 18 см (средний – 5,2 см). В 14 (26,9%) случаях опухоль локализовалась в головке, в 38 (73,1%) – в хвосте и теле ПЖ. На момент установления диагноза у 33 (63,5%)

пациентов наблюдалась локализованная форма болезни, у 19 (36,5%) больных выявляли регионарное распространение и/или наличие отдаленных метастазов. Клинико-морфологическая характеристика материала дана в табл. 1.

Во всех случаях диагноз НЭО ПЖ верифицирован с помощью гистологического и иммуногистохимического (ИГХ) исследования. Изученный морфологический материал включал 52 первичные НЭО ПЖ и 27 метастатических опухолей (22 синхронных и 5 метахронных метастазов в печени), переоценка которых проведена с учетом критериев последней классификации опухолей эндокринных органов (ВОЗ, 2017) и обновленной системы определения Grade и pTNM-стадии для НЭО ПЖ (AJCC).

Иммуногистохимическое окрашивание выполнено на серийных парафиновых срезах ткани опухолей с использованием антител к цитокератинам широкого спектра (клон AE1/AE3), цитокератину 18, хромогранину А, синаптофизину, CD56, p53, Ki-67 (клон MIB-1, "Dako"), рецепторам к соматостатину 2А типа – SSTR-2А (клон UMB-1, "Epitomics") и системы детекции Super Sensitive Polymer-HRP ("BioGenex").

Для ИГХ-анализа экспрессии фосфорилированного варианта АКТ1 (p-AKT1) использовали кроличьи моноклональные антитела к фосфорилированному по остатку серина-473 варианту АКТ1 (phospho Ser473, клон EP2109Y, "Epitomics"). Оценку иммунореактивности проводили с учетом локализации (цитоплазматическое и/или ядерное окрашивание) и интенсивности реакции, а также процента антигенпозитивных клеток. Реакция считалась негативной (0) в отсутствие окрашивания и позитивной (+) при окрашивании более 10% опухолевых клеток. При этом наличие иммунореактивности оценивали от 1+ при слабом окрашивании до 3+ при сильном окрашивании цитоплазмы и/или ядер клеток. Оценка реакции «2+/3+» соответствовала высокому уровню и «0/1+» – низкому уровню экспрессии p-AKT1. Экспрессию маркера оценивали два независимых морфолога с учетом как процента антигенпозитивных клеток, так и интенсивности ядерного и цитоплазматического окрашивания антителами к p-AKT1.

В процессе дальнейшего исследования проводили анализ зависимости ИГХ-статуса p-AKT1 с гистологической степенью злокачественности (Grade), стадией, наличием нейро- и ангиоинвазии, статусом метастазов в лимфатических узлах и печени, индексом пролиферации Ki-67, экспрессией SSTR-2А, а также показателями общей и безрецидивной выживаемости.

Таблица 1. Клинико-морфологическая характеристика 52 пациентов с высокодифференцированными нейроэндокринными опухолями поджелудочной железы

Характеристика	n	%
Возраст		
< 60	19	36,5
≥ 60	33	63,5
Пол		
мужчины	23	44,2
женщины	29	55,8
Grade		
G1	14	26,9
G2	30	57,7
G3	8	15,4
Внутрисосудистая инвазия		
нет	27	51,9
да	25	48,1
Перинеуральная инвазия		
нет	26	50
да	26	50
Первичная опухоль (pT)		
T1	5	9,6
T2	11	21,2
T3	35	67,3
T4	1	1,9
Метастазы в лимфоузлах (pN)		
нет	33	63,5
да	19	36,5
Метастазы в печени (M)		
нет	33	63,5
да	19	36,5
Стадия pTNM (AJCC)		
I	3	5,8
IIa	8	15,4
IIb	15	28,8
IIIa	1	1,9
IIIb	5	9,6
IV	19	36,5
Биологический материал		
первичная опухоль	52	100
метастазы в печени	27	51,9

Математический анализ полученных результатов проводился с использованием статистических программ SPSS 17.0 for Windows и Microsoft Office Access 2007. Рассчитывалось среднее значение показателей, стандартная ошибка среднего, медиана. Статистическая значимость различий частот признаков в изучаемых группах определялась с помощью теста Краскела – Уоллиса (различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$). Анализ актуальной выживаемости и построение кривых выживаемости проводились

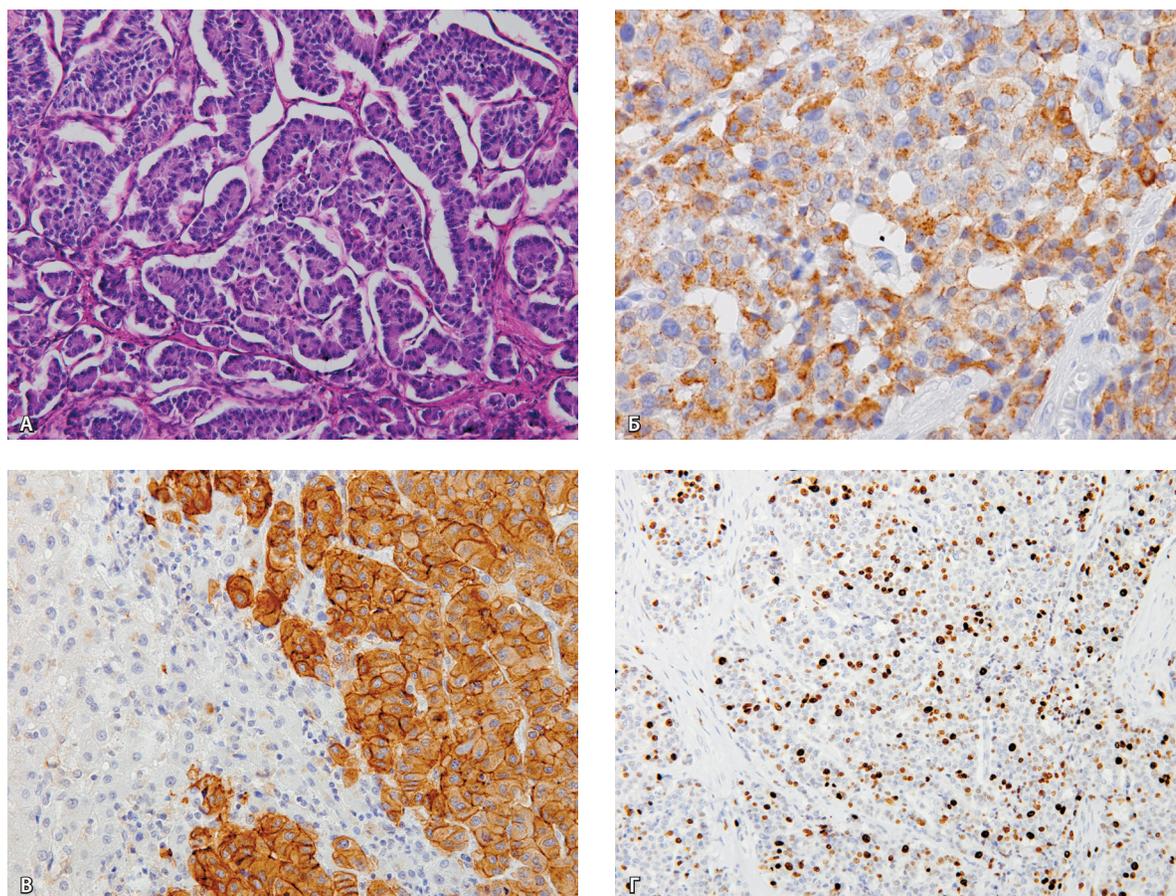


Рис. 1. Гистологические и иммуногистохимические особенности нейроэндокринных опухолей (НЭО) поджелудочной железы: **А** – альвеолярная модель строения опухоли (×400); **Б** – экспрессия хромогранина А в клетках НЭО G3 (×600); **Б** – экспрессия SSTR-2A в клетках метастаза НЭО G3 в печени (×600); **Г** – индекс Ki-67 в клетках метастаза НЭО G3 в печени составляет 40% (×200). Окраска гематоксилином и эозином (**А**); иммуногистохимическое исследование, ядра клеток докрашены гематоксилином Майера (**Б–Г**)

методом Каплана – Мейера. Статистическая значимость различий в выживаемости оценивалась с помощью критерия Вилкоксона и лог-ранк теста. Различия при использовании двух методов считали статистически значимыми при допустимой вероятности ошибки 0,05.

Результаты

Во всех исследованных случаях высококодифференцированные НЭО ПЖ имели характерную нейроэндокринную морфологию и были представлены мелкими округлыми клетками, образующими солидно-альвеолярные, трабекулярные или ацинарные структуры (рис. 1А). Иммунофенотип клеток опухолей характеризовала экспрессия хромогранина А (рис. 1Б), синаптофизина, CD56, а также различная степень выраженности экспрессии SSTR-2A (рис. 1В) и отсутствие диффузной ядерной экспрессии p53.

Проллиферативная активность клеток НЭО ПЖ варьировала в широких пределах. В большей части изученных опухолей показатели индекса Ki-67 составляли $\leq 20\%$ и соответствовали НЭО G1 или НЭО G2 (44/52; 84,6%). Однако в 8 (15,4%) наблюдениях НЭО ПЖ демонстрировали высококодифференцированную морфологию, но при этом пролиферативная активность опухолевых клеток превышала пороговый уровень 20%, варьируя от 35 до 55% (рис. 1Г). Данные наблюдения были диагностированы как НЭО G3 и включали не только первичные, но и, в 5 случаях, метастатические опухоли, в которых индекс Ki-67 достиг высоких значений в процессе прогрессии НЭО G1/G2.

Иммуногистохимические особенности экспрессии p-AKT1 изучены в высококодифференцированных НЭО ПЖ различной степени злокачественности, включая НЭО G1, G2, G3, а также их

Таблица 2. Экспрессия p-AKT1 в первичных и метастатических высокодифференцированных нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы

p-AKT1	Первичные, n (%)	Метастазы, n (%)	G1, n (%)	G2, n (%)	G3, n (%)
Высокий уровень	24 (46,2)	16 (59,3)	3 (21,4)	14 (46,7)	7 (87,5)
Низкий уровень	28 (53,8)	11 (40,7)	11 (78,6)	16 (53,3)	1 (12,5)
Всего	52 (100)	27 (51,9)	14 (26,9)	30 (57,7)	8 (15,4)

синхронные и метакронные метастазы в печени. Спектр иммунореактивности варьировал от полностью негативного до разного уровня позитивного специфического окрашивания и включал разные типы распределения маркера в виде цитоплазматической, ядерной или ядерно-цитоплазматической экспрессии. Иммунореактивность к p-AKT1 не была ограничена опухолевыми

клетками, а наблюдалась также в нормальной ткани поджелудочной железы: p-AKT1-позитивное окрашивание было обнаружено в ацинарных клетках и не было выявлено в эндокринных клетках островков Лангерганса.

Все опухоли были классифицированы в соответствии с уровнем иммунореактивности как НЭО с высоким (2+/3+) и низким (0/1+) уровнем

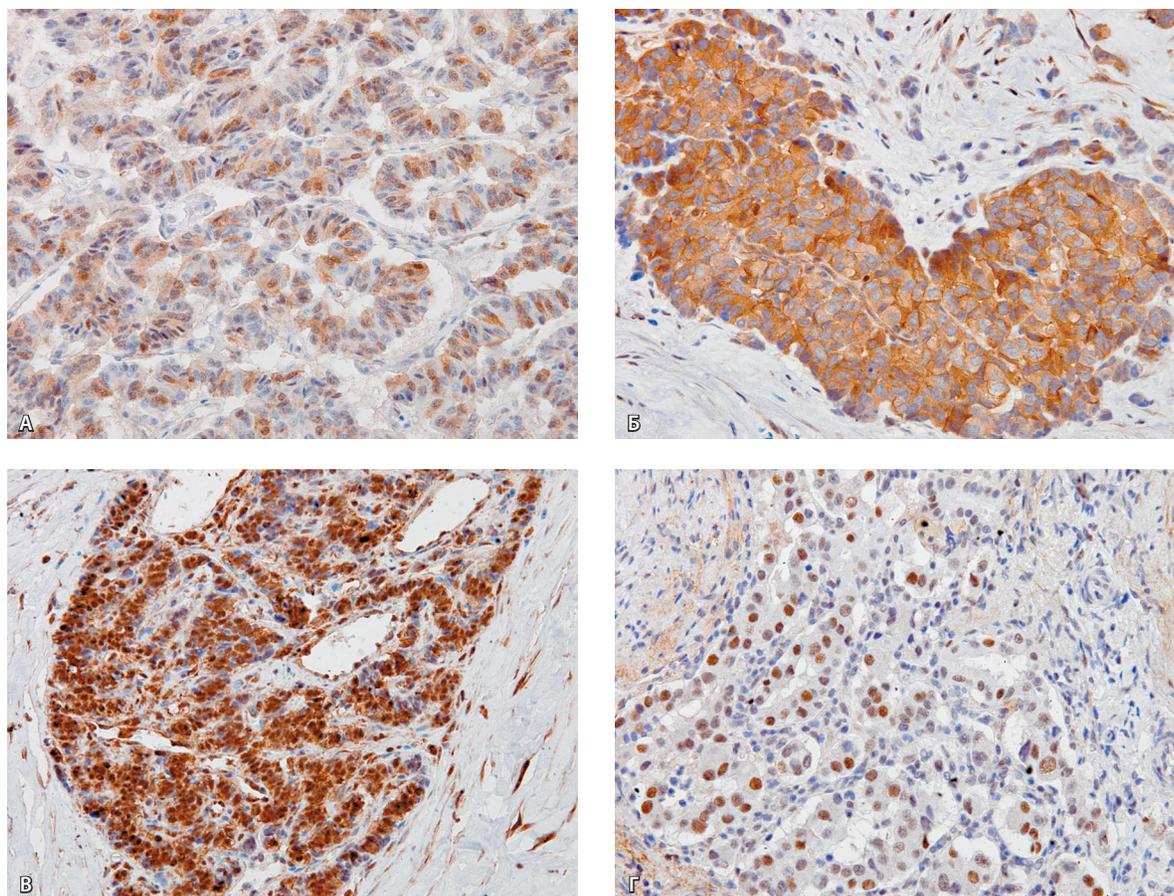


Рис. 2. Иммуногистохимический статус p-AKT1 в нейроэндокринных опухолях (НЭО) поджелудочной железы: **А** – умеренная цитоплазматическая (2+) экспрессия в клетках НЭО G1; **Б** – сильная цитоплазматическая (3+) экспрессия в клетках НЭО G2; **В** – сильная ядерно-цитоплазматическая (3+) экспрессия в клетках НЭО G3; **Г** – сильная ядерная (3+) экспрессия и отсутствие цитоплазматической реакции в клетках метастаза НЭО G3. Иммуногистохимическое исследование, ядра клеток докраснены гематоксилином Майера, $\times 400$

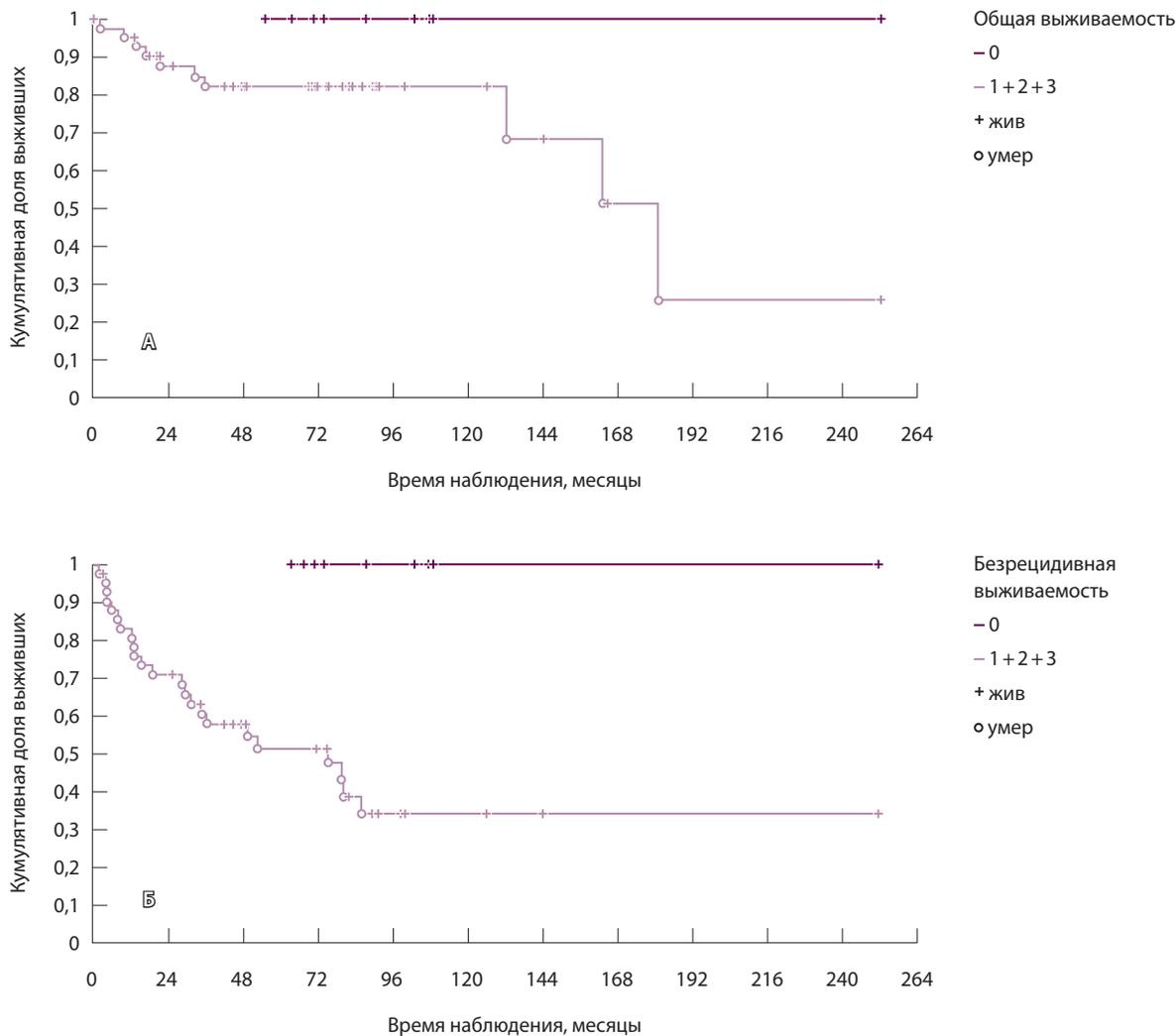


Рис. 3. Сравнение общей (А) и безрецидивной (Б) выживаемости (%) в зависимости от статуса р-АКТ1 в нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы (метод Каплана – Мейера); $p=0,1$ (А); $p=0,05$ (Б)

экспрессии р-АКТ1. Высокий уровень экспрессии р-АКТ1 был выявлен в 24 (46,2%) из 52 исследованных первичных НЭО ПЖ и 16 (59,3%) из 27 синхронных и метастатических очагов (табл. 2).

При анализе экспрессии р-АКТ1 в опухолях разной степени злокачественности среди 14 наблюдений НЭО G1 обнаружено только 3 (21,4%) антигенпозитивных случая (рис. 2А). В метастазах НЭО G1 в печени экспрессия маркера не выявлена.

При анализе группы НЭО G2 позитивная реакция в виде цитоплазматической (рис. 2Б) и, частично, ядерной экспрессии была обнаружена примерно в половине случаев (14/30, 46,7%). Выраженная ядерно-цитоплазматическая

р-АКТ1-позитивность была также выявлена в метастазах НЭО G2 в печени в 7 (46,7%) из 15 случаев. Следует отметить, что в подгруппе р-АКТ1-позитивных наблюдений наиболее интенсивное окрашивание часто было видно в клетках, расположенных в инвазивном фронте, по сравнению с клетками, которые находились в центральных участках опухоли. При этом специфическое р-АКТ1-окрашивание усиливалось преимущественно в ядрах клеток, а интенсивность цитоплазматического окрашивания не изменялась.

Значительное увеличение экспрессии р-АКТ1 наблюдалось в серии случаев НЭО G3 с индексом Ki-67, превышающим 20% (рис. 2В). Высокий уровень маркера был выявлен как в первичных опухолях (7/8; 87,5%), так и в их синхронных

и метакронных метастазах в печени (9/12; 75%). При этом иммунореактивность имела преимущественно ядерную локализацию, а интенсивность цитоплазматического окрашивания значительно уменьшалась (рис. 2Г). Следует отметить, что гиперэкспрессия p-AKT1 с увеличенной ядерной локализацией и уменьшением цитоплазматического окрашивания наблюдалась наиболее часто в НЭО G3 по сравнению с НЭО G1/G2.

В случаях метастатических НЭО ПЖ выполнен парный анализ первичных опухолей и соответствующих синхронных и/или метакронных метастазов в печени. Не было обнаружено статистически значимых различий в уровне экспрессии p-AKT1 в клетках первичных опухолей и синхронных метастазов. Метакронные метастазы в печени, в которых наблюдалась прогрессия индекса Ki-67 с течением времени, часто демонстрировали увеличение уровня ядерной экспрессии p-AKT1 и процента антигенпозитивных клеток по сравнению с соответствующими первичными опухолями.

При оценке связи клинических характеристик больных НЭО ПЖ с наличием p-AKT1-позитивности в опухоли обнаружена статистически значимая корреляция высокого уровня экспрессии маркера и увеличения степени злокачественности НЭО ПЖ от G1 до G3 ($p=0,004$). Кроме того, выявлена значимая ассоциация между высоким уровнем экспрессии p-AKT1 и увеличением пролиферативной активности клеток опухоли с учетом индекса Ki-67 ($p=0,029$), стадии pTNM ($p=0,0008$), наличием периневральной инвазии ($p=0,031$). Не было обнаружено статистически значимых различий при сравнении экспрессии маркера с полом и возрастом пациентов, размером опухоли, наличием ангиоинвазии, регионарных и отдаленных метастазов и статусом SSTR-2A в опухоли.

Анализ прогностической значимости маркера проведен с учетом высокого (2+/3+) и низкого (0/1+) уровня экспрессии p-AKT1 в опухоли, при этом общая 5-летняя выживаемость в группах с высокой и низкой экспрессией составила 84 и 86% соответственно ($p=0,54$), а 5-летняя безрецидивная выживаемость – 76 и 41% соответственно ($p=0,21$). С учетом ошибки разница была статистически незначимой в обеих группах.

При сравнении выживаемости в группах с полным отсутствием экспрессии (0) и наличием экспрессии p-AKT1 любого уровня (1+, 2+, 3+) общая 5-летняя выживаемость также не продемонстрировала статистически значимых различий и составила в негативной группе 100%, в позитивной – 82% ($p=0,103$) (рис. 3А). Однако

безрецидивная 5-летняя выживаемость статистически значимо различалась в зависимости от наличия или отсутствия маркера и составила в группах пациентов, опухоли которых были p-AKT1-негативны, 100%, а p-AKT1-позитивны – 54% (метод Каплана – Мейера, $p=0,05$) (рис. 3Б).

Таким образом, показано, что наличие p-AKT1-позитивности в опухоли было связано с уменьшением показателей безрецидивной выживаемости с пограничным уровнем статистической значимости и не демонстрировало статистически значимой связи с показателями общей выживаемости.

Обсуждение

Высокодифференцированные НЭО ПЖ характеризуются различной степенью злокачественности, непредсказуемым клиническим течением и высоким риском развития метастазов в печени. Параметры оценки прогноза и особенностей лекарственного лечения НЭО ПЖ требуют дальнейшей разработки.

Накопленные данные свидетельствуют, что белок AKT1 – важная сигнальная молекула, способствующая развитию и прогрессии целого ряда опухолей человека, включая рак молочной железы, желудка, легкого и другие опухоли [7–14].

Показано, что в НЭО ПЖ AKT1 – одна из наиболее часто активируемых протеинкиназ и связана с ускорением опухолевого роста и агрессивностью течения заболевания [15]. Результаты нашего исследования подтверждают эти данные, демонстрируя экспрессию p-AKT1 в различных группах больных НЭО ПЖ. При этом высокий уровень экспрессии маркера выявлен в 3 из 14 (21,4%), 14 из 30 (46,7%) и 7 из 8 (87,5%) случаев НЭО ПЖ G1, G2 и G3 соответственно. Самый высокий уровень и ядерная локализация иммунореактивности выявлены в категории НЭО G3, которые составляют наиболее прогностически неблагоприятную группу. Кроме того, экспрессия маркера часто увеличивалась в клетках инвазивного фронта первичной опухоли. Экспрессия p-AKT1 выявлена также в синхронных и метакронных метастазах НЭО ПЖ в печени, при этом высокий уровень экспрессии маркера наблюдался в 7 из 15 (46,7%) и 9 из 12 (75%) метастазов в печени НЭО ПЖ G2 и G3 соответственно. Следует отметить, что экспрессия p-AKT1 увеличивалась в процессе опухолевой прогрессии в метакронных метастазах в печени по сравнению с соответствующей первичной опухолью.

Как установлено рядом исследований, в НЭО бронхопульмональной системы гиперэкспрессия



фосфорилированного варианта АКТ1 усиливает клеточную пролиферацию и метастазирование опухолевых клеток, а также связана с плохой общей выживаемостью [16, 17]. В опухолях больших НЭО ПЖ, по нашим данным, наблюдается схожая тенденция, при этом наличие ядерной и/или цитоплазматической экспрессии p-AKT1 связано с увеличением степени злокачественности ($p=0,004$), индекса Ki-67 ($p=0,029$), стадии pTNM ($p=0,0008$), наличием периневральной инвазии ($p=0,031$) и уменьшением безрецидивной выживаемости ($p=0,05$). Экспрессия маркера не демонстрировала значимой связи с показателями общей выживаемости, а также наличием регионарных и/или отдаленных метастазов, что может быть обусловлено недостаточно большим количеством наблюдений, включенных в настоящее исследование.

В нескольких работах показано, что протеинкиназа АКТ1 является важной мишенью для поиска новых подходов к лечению НЭО и потенциальным предиктивным маркером ответа на терапию ингибиторами mTOR [18, 19]. Результаты проведенного нами исследования демонстрируют наличие выраженной иммунореактивности в клетках опухоли, при этом

иммуногистохимическая экспрессия активированного варианта АКТ1 часто наблюдается не только в первичных, но и в метастатических НЭО ПЖ и связана с агрессивным течением и плохим прогнозом заболевания. Полученные данные служат основанием для дальнейшего изучения потенциальных возможностей применения терапии с использованием ингибиторов сигнального пути АКТ/mTOR для лечения пациентов с НЭО ПЖ.

Заключение

Таким образом, p-AKT1 можно рассматривать как важный фактор патогенеза НЭО ПЖ, экспрессия которого в опухоли ассоциирована с большей клинической агрессивностью, увеличением гистологической степени злокачественности и уменьшением безрецидивной выживаемости. Связь экспрессии p-AKT1 с факторами риска прогрессии НЭО ПЖ позволяет предположить потенциальную значимость данного компонента сигнального пути mTOR как дополнительного параметра оценки прогноза и эффективности лечения опухоли, а также мишени для молекулярно-направленной терапии данной категории больных. ©

Конфликт интересов

Авторы статьи заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование

Работа проведена без привлечения дополнительного финансирования со стороны третьих лиц.

Литература / References

- Ohmoto A, Rokutan H, Yachida S. Pancreatic neuroendocrine neoplasms: basic biology, current treatment strategies and prospects for the future. *Int J Mol Sci*. 2017;18(1). pii: E143. doi: 10.3390/ijms18010143.
- Simtniece Z, Vanags A, Strumfa I, Sperga M, Vasko E, Prieditis P, Trapencieris P, Gardovskis J. Morphological and immunohistochemical profile of pancreatic neuroendocrine neoplasms. *Pol J Pathol*. 2015;66(2):176–94. doi: 10.5114/pjp.2015.53015.
- Klöppel G, Couvelard A, Hruban R, Klimstra D, Komminoth P, Osamura R. Neoplasms of the neuroendocrine pancreas. Introduction. In: Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, Rosai J, editors. *WHO classification of tumours of endocrine organs*. Lyon: IARC; 2017. p. 211–4.
- Rinke A, Gress TM. Neuroendocrine cancer, therapeutic strategies in G3 cancers. *Digestion*. 2017;95(2):109–14. doi: 10.1159/000454761.
- Robbins HL, Hague A. The PI3K/Akt Pathway in Tumors of Endocrine Tissues. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016;6:188. doi: 10.3389/fendo.2015.00188.
- Ocana A, Vera-Badillo F, Al-Mubarak M, Templeton AJ, Corrales-Sanchez V, Diez-Gonzalez L, Cuenca-Lopez MD, Seruga B, Pandiella A, Amir E. Activation of the PI3K/mTOR/AKT pathway and survival in solid tumors: systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(4):e95219. doi: 10.1371/journal.pone.0095219.
- Kirkegaard T, Witton CJ, McGlynn LM, Tovey SM, Dunne B, Lyon A, Bartlett JM. AKT activation predicts outcome in breast cancer patients treated with tamoxifen. *J Pathol*. 2005;207(2):139–46. doi: 10.1002/path.1829.
- Xiao L, Wang YC, Li WS, Du Y. The role of mTOR and phospho-p70S6K in pathogenesis and progression of gastric carcinomas: an immunohistochemical study on tissue microarray. *J Exp Clin Cancer Res*. 2009;28:152. doi: 10.1186/1756-9966-28-152.
- Yu G, Wang J, Chen Y, Wang X, Pan J, Li G, Jia Z, Li Q, Yao JC, Xie K. Overexpression of phosphorylated mammalian target of rapamycin predicts lymph node metastasis and prognosis of Chinese patients with gastric cancer. *Clin Cancer Res*. 2009;15(5):1821–9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2138.
- Oh MH, Lee HJ, Yoo SB, Xu X, Choi JS, Kim YH, Lee SY, Lee CT, Jheon S, Chung JH. Clinicopathological correlations of mTOR and pAkt expression in non-small cell lung cancer. *Virchows Arch*. 2012;460(6):601–9. doi: 10.1007/s00428-012-1239-6.
- Trigka EA, Levidou G, Saetta AA, Chatziandreu I, Tomos P, Thalassinou N, Anastasiou N, Spartalis E, Kavantzis N, Patsouris E, Korkolopoulou P. A detailed immunohistochemical analysis of the PI3K/AKT/mTOR pathway in lung cancer: correlation with PIK3CA, AKT1, K-RAS or PTEN mutational status and clinicopathological features. *Oncol Rep*. 2013;30(2):623–36. doi: 10.3892/or.2013.2512.
- Yu Z, Weinberger PM, Sasaki C, Egleston BL, Speier WF 4th, Haffty B, Kowalski D, Camp R, Rimm D, Vairaktaris E, Burtness B, Psyrris A. Phosphorylation of Akt (Ser473) predicts poor clinical outcome in oropharyngeal squamous cell cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007;16(3):553–8. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0121.
- Wu N, Du Z, Zhu Y, Song Y, Pang L, Chen Z. The expression and prognostic impact of the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Technol Cancer Res Treat*. 2018;17:1533033818758772. doi: 10.1177/1533033818758772.
- Yeung Y, Lau DK, Chionh F, Tran H, Tse JWT, Weickhardt AJ, Nikfarjam M, Scott AM, Tebbutt NC, Mariadason JM. K-Ras mutation and amplification status is predictive of resistance and high basal pAKT is predictive of sensitivity to everolimus in biliary tract cancer cell lines. *Mol Oncol*. 2017;11(9):1130–42. doi: 10.1002/1878-0261.12078.



15. Komori Y, Yada K, Ohta M, Uchida H, Iwashita Y, Fukuzawa K, Kashima K, Yokoyama S, Inomata M, Kitano S. Mammalian target of rapamycin signaling activation patterns in pancreatic neuroendocrine tumors. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2014;21(4):288–95. doi: 10.1002/jhbp.26.
16. Ali G, Boldrini L, Capodanno A, Pelliccioni S, Servadio A, Crisman G, Picchi A, Davini F, Mussi A, Fontanini G. Expression of p-AKT and p-mTOR in a large series of bronchopulmonary neuroendocrine tumors. *Exp Ther Med.* 2011;2(5):787–92. doi: 10.3892/etm.2011.291.
17. Gagliano T, Bellio M, Gentilin E, Molè D, Tagliati F, Schiavon M, Cavallesco NG, Andriolo LG, Ambrosio MR, Rea F, Degli Uberti E, Zatelli MC. mTOR, p70S6K, AKT, and ERK1/2 levels predict sensitivity to mTOR and PI3K/mTOR inhibitors in human bronchial carcinoids. *Endocr Relat Cancer.* 2013;20(4):463–75. doi: 10.1530/ERC-13-0042.
18. Falletta S, Partelli S, Rubini C, Nann D, Doria A, Marinoni I, Polenta V, Di Pasquale C, Degli Uberti E, Perren A, Falconi M, Zatelli MC. mTOR inhibitors response and mTOR pathway in pancreatic neuroendocrine tumors. *Endocr Relat Cancer.* 2016;23(11):883–91. doi: 10.1530/ERC-16-0329.
19. Pellat A, Dreyer C, Couffignal C, Walter T, Lombard-Bohas C, Niccoli P, Seitz JF, Hentic O, André T, Coriat R, Faivre S, Zappa M, Ruzsniowski P, Pote N, Couvelard A, Raymond E. Clinical and biomarker evaluations of sunitinib in patients with grade 3 digestive neuroendocrine neoplasms. *Neuroendocrinology.* 2018;107(1):24–31. doi: 10.1159/000487237.

Expression of the phosphorylated variant of the AKT1-kinase (p-AKT1) in well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors: immunohistochemical evaluation

V.V. Delektorskaya¹ • O.N. Solov'eva¹ • G.Yu. Chemeris¹ • Yu.I. Patyutko¹

Background: Well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors (pNETs) represent a group of rare epithelial neoplasms with a highly variable clinical course. AKT1 is one of the most frequently activated protein kinases in pNETs, which promotes the tumor growth and is of interest as a prognostic factor and a target for new treatment approaches. **Aim:** To study the expression of the phosphorylated variant of AKT1-kinase (p-AKT1) in primary pNETs and their liver metastases and to correlate the results with various clinical and pathological parameters and the disease prognosis. **Materials and methods:** P-AKT1 expression was studied by the immunohistochemical analysis of the primary lesions and liver metastases in 52 pNETs patients. **Results:** A high level of cytoplasmic and/or nuclear immunoreactivity was detected in 24/52 of the primary pNETs (46.2%) and in 16/27 of their liver metastases (59.3%). p-AKT1 expression was observed in 3 (21.4%) of NET grade (G) 1, in 14 (46.7%) of NET G2, and in 7 (87.5%) of NET G3. p-AKT1 expression was more frequently identified in pNET G3 category and increased during the tumor progression in metachronous

liver metastases, as compared to the corresponding primary tumor. In addition, p-AKT1 positivity was significantly associated with an increase of grade from G1 to G3 ($p=0.004$), the Ki-67 index ($p=0.029$), the pTNM stage ($p=0.0008$), perineural invasion ($p=0.031$) and a decrease in disease-free survival ($p=0.05$). **Conclusion:** The results suggest that p-AKT1 plays an important role in the pathogenesis of pNETs and may be an additional criterion for assessment of the prognosis and treatment effectiveness in this type of tumors.

Key words: neuroendocrine tumor, pancreas, p-AKT1, immunohistochemistry, prognosis

For citation: Delektorskaya VV, Solov'eva ON, Chemeris GYu, Patyutko YuI. Expression of the phosphorylated variant of the AKT1-kinase (p-AKT1) in well-differentiated pancreatic neuroendocrine tumors: immunohistochemical evaluation. *Almanac of Clinical Medicine.* 2018;46(4):314–22. doi: 10.18786/2072-0505-2018-46-4-314-322.

Received 4 April 2018; accepted 16 May 2018

Conflict of interests

The authors declare no conflicts of interests.

Vera V. Delektorskaya – MD, PhD, Head of Histochemistry and Electron Microscopy Laboratory, Department of Pathology of Human Tumors¹
✉ 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation. Tel.: +7 (499) 324 61 11.
E-mail: delektorskaya@yandex.ru

Olesya N. Solov'eva – MD, Postgraduate Student, Department of Liver and Pancreatic Tumors¹

Galina Yu. Chemeris – PhD (in Biology), Senior Research Fellow, Department of Pathology of Human Tumors¹

Yuri I. Patyutko – MD, PhD, Professor, Chief Research Fellow, Department of Liver and Pancreatic Tumors¹

¹N.N. Blokhin National Medical Research Centre of Oncology; 24 Kashirskoe shosse, Moscow, 115478, Russian Federation