

ОЦЕНКА ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ И МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ В КЛЕТКАХ МУКОЭПИДЕРМОИДНОЙ КАРЦИНОМЫ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СИСТЕМАХ ГРАДАЦИИ

Д. Р. Фамилья Фриас¹✉, З. Ю. Висайтова², Ю. О. Тигай¹, А. А. Ивина¹, И. И. Бабиченко^{1,2}¹ Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия² Национальный медицинский исследовательский центр стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Москва, Россия

Мукоэпидермоидная карцинома (МЭК) является наиболее распространенной злокачественной опухолью слюнных желез и состоит из трех основных гистологических компонентов: мукоцитов, промежуточных и эпидермоидных клеток. Различные системы градации (AFIP, Brandwein, Modified Healy, MSKCC) сложны в применении. Маркеры Ki-67 и GLUT1, связанные с агрессивностью опухоли, могут улучшить диагностику и классификацию МЭК. Целью исследования было провести оценку корреляции пролиферативной активности и метаболизма глюкозы клеток с системами градации МЭК. Были проанализированы опухоли 40 пациентов с МЭК и определены по системам градации: AFIP, Brandwein, Modified Healy и MSKCC. Для оценки индексов пролиферации Ki-67 и интенсивности экспрессии GLUT1 использовали иммуногистохимическое исследование (ИГХ). ИГХ показало высокие индексы Ki-67 и GLUT1 у эпидермоидных и промежуточных клеток, при этом в мукоцитах выявлена низкая или отсутствующая экспрессия. Статистически значимые различия в экспрессии Ki-67 и GLUT1 обнаружены между эпидермоидными ($p < 0,005$) и промежуточными клетками ($p < 0,01$). Сравнения показали увеличение между степенями 1 и 2, 1 и 3, но без различий между степенями 2 и 3. Корреляция Спирмена выявила умеренные положительные связи для GLUT1 и Ki-67 с градацией опухоли, причем система AFIP показала наибольшую корреляцию (Ki-67: $rs = 0,55$; GLUT1: $rs = 0,50$). Таким образом, GLUT1 и Ki-67 наиболее интенсивно экспрессируются в эпидермоидных и промежуточных клетках, сильно коррелируя со степенью и агрессивностью опухоли, особенно при низкой и средней степени МЭК. Эти маркеры могут улучшить точность диагностики степени злокачественности МЭК. Система AFIP наиболее точно соответствует этим маркерам в эпидермоидных и промежуточных клетках.

Ключевые слова: GLUT-1, Ki-67, градация МЭК, AFIP, Brandwein, Modified Healy, MSKCC**Вклад авторов:** И. И. Бабиченко — концепция и дизайн исследования; Д. Р. Фамилья Фриас, Ю. О. Тигай, З. Ю. Висайтова — сбор и обработка материала; Д. Р. Фамилья Фриас — написание текста; И. И. Бабиченко, А. А. Ивина — редактирование.**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом РУДН (протокол № 3 от 11 марта 2025 г.).✉ **Для корреспонденции:** Диана Р. Фамилья Фриас
ул. Миклухо-Маклая, 21, к. 2, г. Москва, 117198, Россия; drff26@gmail.com**Статья получена:** 13.03.2025 **Статья принята к печати:** 27.03.2025 **Опубликована онлайн:** 11.04.2025**DOI:** 10.24075/vrgmu.2025.017**Авторские права:** © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

ASSESSING PROLIFERATIVE ACTIVITY AND GLUCOSE METABOLISM IN CELLS OF SALIVARY GLAND MUCOEPIDERMOID CARCINOMA USING DIFFERENT GRADING SYSTEMS

Familia Frias DR¹✉, Visaitova ZYu², Tigay YuO¹, Ivina AA¹, Babichenko II^{1,2}¹ Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia² National Medical Research Center of Dentistry and Maxillofacial Surgery, Moscow, Russia

Mucoepidermoid carcinoma (MEC) is the most common malignant tumor of the salivary gland consisting of three main histological components: mucocytes, intermediate and epidermoid cells. Various grading systems (AFIP, Brandwein, modified Healy, MSKCC) are difficult to use. The Ki-67 and GLUT1 markers associated with tumor aggressiveness can improve MEC diagnosis and classification. The study aimed to assess the correlation of the cell proliferative activity and glucose metabolism with the MEC grading systems. Tumors of a total of 40 patients with MEC were analyzed and determined in accordance with the following grading systems: AFIP, Brandwein, modified Healy, and MSKCC. Immunohistochemistry (IHC) was used to estimate Ki-67 proliferation indices and GLUT1 expression intensity. IHC showed high Ki-67 indices and GLUT1 values in epidermoid and intermediate cells, while mucocytes showed low or no expression. There were significant differences in Ki-67 and GLUT1 expression between epidermoid ($p < 0.005$) and intermediate cells ($p < 0.01$). Comparison revealed the increase between grades 1 and 2, 1 and 3, but no differences between grades 2 and 3. Spearman's rank correlation test revealed moderate positive correlations with tumor grades for GLUT1 and Ki-67, and the AFIP system showed the highest correlation (Ki-67: $rs = 0.55$; GLUT1: $rs = 0.50$). Thus, GLUT1 and Ki-67 are most intensely expressed in epidermoid and intermediate cells showing a strong correlation with the tumor grade and aggressiveness, especially in low-grade and intermediate-grade MEC. These markers can improve the diagnosis of MEC malignancy degree. The AFIP system most closely matches these markers in epidermoid and intermediate cells.

Keywords: GLUT-1, Ki-67, MEC grading, AFIP, Brandwein, Modified Healy, MSKCC**Author contribution:** Babichenko II — study concept and design; Familia Frias DR, Tigay YuO, Visaitova ZYu — data acquisition and processing; Familia Frias DR — manuscript writing; Babichenko II, Ivina AA — editing.**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of RUDN (protocol No. 3 dated 11 March 2025).✉ **Correspondence should be addressed:** Diana Rosina Familia Frias
Mikluho-Maklaya, 21, str. 2, Moscow, 117198, Russia; drff26@gmail.com**Received:** 13.03.2025 **Accepted:** 27.03.2025 **Published online:** 11.04.2025**DOI:** 10.24075/brsmu.2025.017**Copyright:** © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Мукоэпидермоидная карцинома (МЭК) — самая распространенная злокачественная опухоль слюнных желез и встречается в 30% случаев выявления злокачественных опухолей слюнных желез [1]. Чаще всего МЭК поражает крупные слюнные железы, в частности околоушную слюнную железу (60% случаев), но может затрагивать и малые слюнные железы [2, 3].

В гистопатологической структуре МЭК выделяют мукоциты, промежуточные и эпидермоидные клетки в качестве основных компонентов, но могут также содержаться цилиндрические, светлые клетки и онкоциты, что представляет диагностические сложности для патологов [4–6]. Эти компоненты формируют различные гистологические структуры, такие как кистозная (наиболее распространенная и хорошо дифференцированная), солидная (редкая, с некрозом и со значительной клеточной и ядерной атипией) или солидно-кистозные структуры, которые характерны для опухолей, более склонных к инвазивному росту и формированию метастазов [7, 8].

МЭК может быть диагностирована на основании только ее гистологических особенностей, без использования других дополнительных исследований, таких как иммуногистохимическое (ИГХ) или генетические исследования, однако при постановке окончательного диагноза нередко возникают сложности [1]. В настоящее время создано множество систем градации для классификации МЭК, однако универсально признанной

единой системы нет [9]. МЭК классифицируют как опухоль низкой (G1), средней (G2) или высокой (G3) степени злокачественности по четырем различным системам градации, таким как система Goode, Auclair и Ellis AFIP (Институт патологии Вооруженных сил) и система Brandwein, которые используют в повседневной гистопатологической практике [1, 4, 6], а также модифицированные системы градации Healy и MSKCC качественного характера (табл. 1). Методики AFIP и Brandwein не всегда согласуются при классификации одной и той же опухоли, особенно когда дело доходит до установления конкретных различий между опухолями G2- и G3-степени. Исследования, сравнивающие системы градации, показали различия при описании больших и малых слюнных желез [7, 10].

Канцерогенез — это многоэтапный процесс, в котором нарушения метаболизма глюкозы могут играть значительную роль из-за быстрого размножения клеток, характерного для злокачественного роста [11]. В современных исследованиях выявлены высокий энергетический метаболизм злокачественных опухолей и участие глюкозы в их росте. Глюкоза является основным источником энергии для клеток млекопитающих, а транспортеры глюкозы (GLUT) на цитоплазматической мембране способствуют ее проникновению в клетки. Таким образом, GLUT — важные ферменты, опосредующие метаболизм глюкозы в процессе канцерогенеза [12]. Высокая экспрессия GLUT1 в злокачественных опухолях

Таблица 1. Системы градации мукоэпидермоидной карциномы

Критерии	AFIP	Brandwein	Modified Healey	MSKCC
Кистозный компонент	(< 20%) 2	(< 25%) 2	L: макро + микрокисты I: микрокисты + солидные H: солидные ± микрокисты	L: преимущественно кистозная (> 80%) I: преимущественно солидная H: любая (обычно солидная)
Периневральное инвазирование (PI)	2	3	H: присутствует	n/a*
Некроз (N)	3	3	n/a	L: отсутствует I: отсутствует H: присутствует
Митозы	3 (≥ 4/10 HPF)	3 (≥ 4/10 HPF)	L: редкие I: немногочисленные H: многочисленные	L: 0–1/10 HPF I: 2–3/10 HPF H: 4+ /10 HPF
Ядерная аномалия / плеоморфизм	4	2	L: отсутствует/минимальный I: небольшой/умеренный H: значительный (включая ядрышки)	L: незначительный I: незначительный H: любой
Граница / инвазивный фронт	n/a	2	L: широкая/ограниченная I: неограниченная H: инвазия в мягкие ткани / периневральная / сосудистая	L: хорошо ограниченная I: хорошо ограниченная или инфильтративная H: любая (обычно инфильтративная)
Лимфоваскулярное инвазирование	n/a	3	H: присутствует	n/a
Инвазия в кость	n/a	3	n/a	n/a
Промежуточные клетки	n/a	n/a	L: редкие I: более частые H: преобладающие	n/a
Строма	n/a	n/a	L: экстравазиранный муцин + фиброз + CI I: фиброз, разделяющий гнезда + CI H: десмоплазия, минимальный CI	n/a
Архитектура	n/a	n/a	L: дочерние кисты из больших I: более крупные каналы менее заметные H: переменная архитектура/морфология клеток	n/a
Градация	L — 0–4 I — 5–6 H — 7–14	L — 0 I — 2, 3 H — ≥ 4	L — низкая степень I — средняя степень H — высокая степень	

Примечание: n/a — неприменимо.

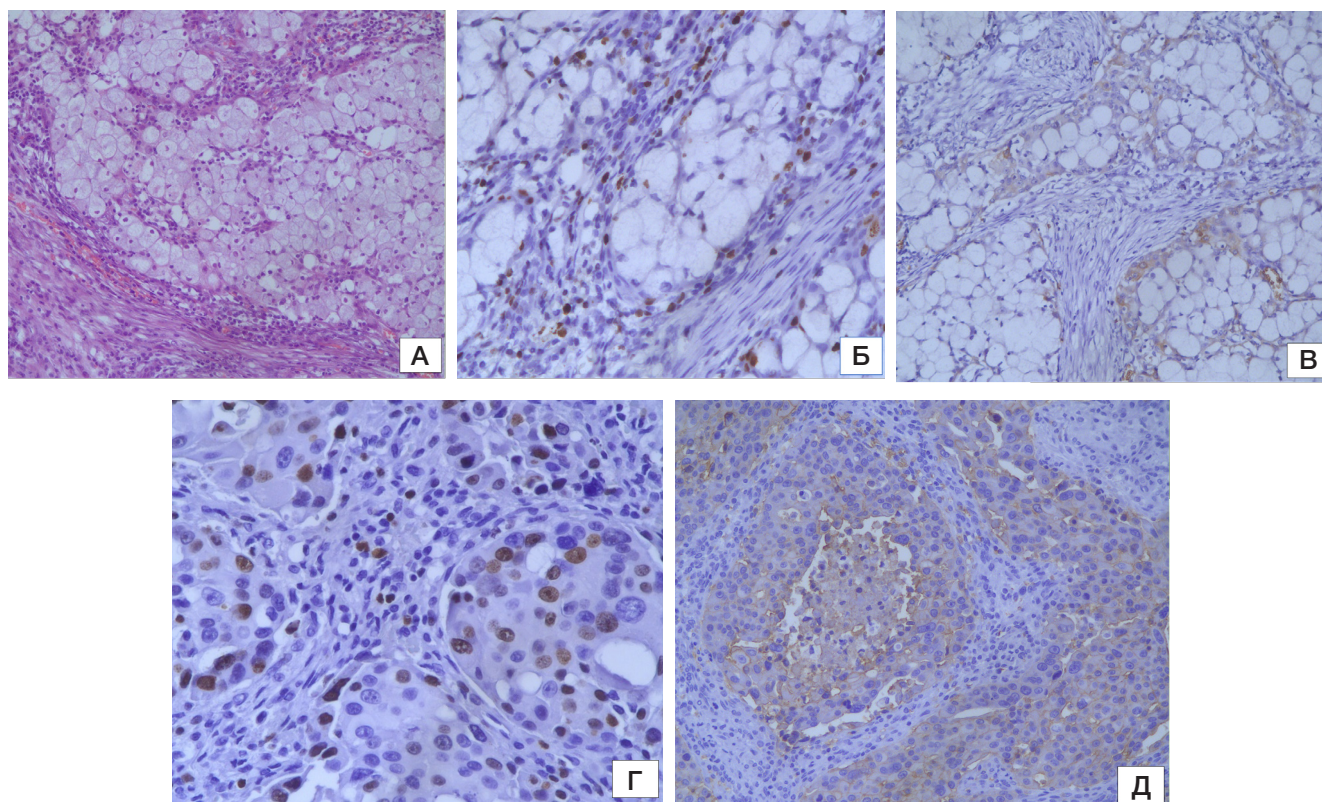


Рис. 1. МЭК, окраска гематоксилином и эозином —100 (А). Иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki-67 ×200 (Б). Окрашивание цитоплазмы GLUT1 в эпидермоидных и промежуточных клетках, слабая реакция в клетках, продуцирующих муцин ×100 (В). Интенсивная пролиферативная активность по Ki-67 в эпидермоидных клетках ×400 (Г). Интенсивное окрашивание цитоплазматической мембраны GLUT1 в эпидермоидных клетках ×200 (Д). ИГХ-реакция с фоновым окрашиванием гематоксилином Майера DAB

связана с инвазией и метастазами, включая рак головы и шеи [13]. Золотым стандартом изучения злокачественных процессов слюнных желез является маркер пролиферации Ki-67. Роль Ki-67 в диагностике и классификации опухолей слюнных желез огромна: он напрямую коррелирует со скоростью клеточной пролиферации, которая является ключевым показателем агрессивности опухоли [14].

Цель исследования — дать оценку различных систем градации МЭК на основе пролиферативной активности и метаболизма глюкозы их клеток для определения степени злокачественности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ретроспективно были проанализированы парафиновые блоки опухолей 40 пациентов (женщин и мужчин) с диагнозом «мукоэпидермоидная карцинома» из архива Лаборатории патологической анатомии ФГБУ НМИЦ «Центрального научно-исследовательского института стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Министерства здравоохранения Российской Федерации за период с 2014 по 2023 г.

Морфологические исследования проводили согласно стандартным протоколам окраски гематоксилином и эозином. Гистологические препараты оценивали с использованием следующих четырех систем градации: модифицированная градация Nealy, градация MSKCC, градация AFIP и градация Brandwein. Эти системы сравнивали с итоговыми оценками каждого случая и коррелировали с ИГХ-исследованиями.

Гистологическое и ИГХ-исследования проводили в соответствии со стандартным протоколом. Все образцы биопсийного материала окрашивали моноклональными

антителами кролика от Thermo scientific (США, клон SP6) к белкам Ki-67, поликлональными антителами кролика от Thermo scientific (США) к белкам GLUT1. Полученный материал оценивали с помощью микроскопа AxioPlan 2 Imaging (Karl Zeiss, Германия) и для фотографирования препаратов использовали камеру AxioCam ERc5s (Karl Zeiss, Германия). Визуализацию ИГХ проводили при помощи системы визуализации UltraVision Quanto Detection System HRP DAB (США). Экспрессию белка пролиферации Ki-67 оценивали по индексу пролиферативной активности (процент клеток с интенсивно окрашенными ядрами на 300 ядер каждого типа клеток МЭК). Экспрессию GLUT1 изучали по окрашиванию цитоплазмы и/или цитоплазматических мембран и оценивали по условным критериям в баллах: отсутствие экспрессии — 0, слабая экспрессия — 1, умеренная экспрессия — 2, сильная экспрессия — 3.

Градацию МЭК проводили с использованием четырех систем, и корреляции между маркерами, клеточными компонентами и градациями анализировали с помощью тестов Краскала–Уоллиса, попарных сравнений Данна–Бонферрони и корреляции Спирмена. Статистический анализ проводили с использованием программы SPSS Statistics 23 версии в Windows 10 (IBM Corporation, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Гистологическая градация

Система градации AFIP продемонстрировала более консервативный подход, позволяя классифицировать наибольшее количество опухолей, относящихся к низкой степени (G1) (40%), по сравнению с другими системами. Опухоли, классифицированные как опухоли средней

Таблица 2. Парные сравнения (метод Данна–Бонферрони)

Компонент клетки	Сравнение	Значимость ($p < 0,05$)
Эпидермоидные	G1–G2	0,003
	G1–G3	0,0003
	G2–G3	0,067
Промежуточные	G1–G2	0,036
	G1–G3	0,003
	G2–G3	0,23
Мукоциты	G1–G2	0,12
	G1–G3	0,12
	G2–G3	0,12

степени (G2), составили 35%, в то время как опухоли высокой степени (G3) — только 25%. Это распределение позволяет предположить, что по системе AFIP происходит присвоение опухолям более низких градаций, что приводит к потенциальному недооцениванию их агрессивности по сравнению с другими системами.

Для системы градации Brandwein характерен более агрессивный подход: наименьшему числу опухолей присваивается низкая степень (G1) (20%), в то время как наибольшее число классифицируется высокой степенью (G3) (45%). Опухоли, оцененные как опухоли средней степени (G2), составили 35%, что схоже с системой AFIP. Это позволяет предположить, что в системе Brandwein потенциально больше опухолей определяется агрессивными, но в некоторых случаях с риском переоценки тяжести заболевания.

В системе градации Modified Nealy представлено более сбалансированное распределение градаций: 25% опухолей, классифицированных как опухоли низкой степени (G1), 50% — как средней степени (G2) (наибольшая доля среди всех систем) и 25% — как высокой степени (G3). Эта система градации акцентирует внимание на промежуточной категории, что потенциально делает ее более полезной для идентификации граничных или умеренно агрессивных опухолей.

Система градации MSKCC продемонстрировала консервативный подход, аналогичный AFIP: 35% опухолей, классифицированных как опухоли низкой степени (G1), и 45% — как средней степени (G2). Однако наименьшее число опухолей было отнесено к высокой степени (G3) (20%), что отражает тенденцию снижения случаев более высоких степеней злокачественности МЭК. Это, в некоторых случаях, может привести к недооценке агрессивности опухолей.

Иммуногистохимическое исследование

При изучении МЭК на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, были обнаружены мукоциты, промежуточные и эпидермоидные клетки (рис. 1А). ИГХ-исследование является эффективным дополнением к диагностике срезов, окрашенных гематоксилином и эозином. В данном исследовании обнаружение ядерных антигенов Ki-67, связанных с клеточным циклом, позволило оценить активность пролиферации клеток, а GLUT1 в качестве показателя метаболизма глюкозы в МЭК.

Во всех клеточных компонентах МЭК белок Ki-67 был обнаружен в ядрах клеток (рис. 1Б, Г), а GLUT1 — в цитоплазме и на цитоплазматической мембране (рис. 1В, Д). Распределение индексов пролиферации Ki-67 значительно

отличалось между тремя компонентами МЭК (эпидермоидный, промежуточный, мукоидный). Детализированный статистический анализ указывал на высокий уровень пролиферации по Ki-67 в эпидермоидных клетках, где медиана составила 13,3% (9,3; 20,0). Промежуточные клетки продемонстрировали более низкие уровни пролиферации по сравнению с эпидермоидными, с медианой равной 6,7% (3,5; 10,7), а мукоциты показали минимальную экспрессию Ki-67 с медианой 1,3% (0,0; 2,7).

Для оценки связи между индексами Ki-67 и градацией опухоли были проведены тест Краскала–Уоллиса и парные сравнения. Статистически значимые различия в индексах Ki-67 были обнаружены между градациями опухолей для эпидермоидных ($H = 16,25$, $p = 0,0003$) и промежуточных ($H = 10,85$, $p = 0,0045$), но не для мукоцитов ($H = 4,12$, $p = 0,12$).

Парные сравнения с использованием метода Данна–Бонферрони показали, что значительные различия были обнаружены для эпидермоидных и промежуточных клеток (табл. 2). Мукоциты не показали значительных различий по градациям.

При статистическом корреляционном анализе методом Спирмена определена значительная взаимосвязь между индексами пролиферации по Ki-67 и степенью злокачественности МЭК по трем изучаемым компонентам. Самая сильная корреляция обнаружена у эпидермоидных клеток ($0,53$, $p = 0,0005$). Данный показатель предполагает, что с увеличением степени злокачественности опухоли увеличивается индекс пролиферации Ki-67 в эпидермоидных клетках и увеличивается последовательно, что придает большое значение при изучении агрессивности опухолевого процесса и может быть использовано как маркер агрессивности опухоли. Умеренно положительная корреляция наблюдалась также у промежуточных клеток ($r_s = 0,47$, $p = 0,0025$), что подтверждает их вклад в прогрессирование опухоли, хотя в меньшей степени, чем у эпидермоидных клеток. В отличие от этого, мукоциты показали слабую и статистически незначимую корреляцию ($r_s = 0,25$, $p = 0,12$), что отражает их минимальную пролиферативную активность и ограниченную роль в градации опухоли (1Д).

Градация МЭК по подсчету пролиферативной активности в эпидермоидных и промежуточных клеток предполагает низкую степень (G1) с активностью менее 10%, промежуточную степень (G2) от 10% до 15% и высокую степень (G3), превышающую 15–20%. Эти градации, основанные на маркировке Ki-67, дают важную информацию о биологическом поведении МЭК, позволяя определять степень злокачественности опухоли с помощью количественных показателей пролиферации различных клеточных популяций внутри опухоли.

При анализе интенсивности окраски GLUT1 по всем образцам выявлены значительные различия между тремя компонентами. Промежуточные и эпидермоидные клетки продемонстрировали наивысшую среднюю интенсивность окраски с медианой 2 балла (1; 3), что указывает на умеренные уровни изменчивости, в то время как мукоциты показали наименьшую интенсивность медианой 0 баллов (0; 0), отражая последовательно низкое или отсутствующее выражение GLUT1 в этом компоненте (рис. 1Г).

Тесты Краскала–Уоллиса позволили выявить значительные различия в интенсивности окраски GLUT1 по степеням злокачественности опухоли для эпидермоидных клеток ($p = 0,005$) и промежуточных клеток ($p = 0,01$), но не для мукоцитов ($p = 0,15$). Парные сравнения с использованием метода Данна–Бонферрони показали, что для эпидермоидных и промежуточных клеток интенсивность окраски значительно увеличивалась между степенью 1 и степенью 2, а также между степенью 1 и степенью 3. Однако значимые различия между степенями 2 и 3 не обнаружены для обоих компонентов, что позволяет предположить наличие плато в экспрессии GLUT1 при более высоких степенях опухоли. Мукоидные клетки показали низкую интенсивность и равномерность окрашивания вне зависимости от степени малигнизации опухолевого процесса слюнной железы, статистически значимые различия тоже не были обнаружены.

В дополнение к статистическому анализу был проведен анализ корреляции Спирмена, где также определяли взаимосвязь интенсивности окрашивания по GLUT1 со степенью злокачественности опухоли. Были получены следующие результаты: эпидермоидные клетки — $rs = 0,48$ ($p = 0,003$), промежуточные клетки — $rs = 0,42$ ($p = 0,008$). Эти данные указывают на умеренно положительную корреляцию со степенью злокачественности опухоли и указывают на прогрессивное увеличение экспрессии GLUT1 в зависимости от увеличения ее агрессивности. В отличие от этого, мукоциты показали слабую и незначимую корреляцию ($rs = 0,15$, $p = 0,36$), что отражает их незначительный вклад в градацию опухоли.

При МЭК оценка интенсивности окрашивания GLUT1 различных клеточных компонентов позволяет получить критическое представление о метаболической активности, связанной с различными степенями злокачественности. Эпидермоидные и промежуточные клетки демонстрируют прогрессирующее увеличение экспрессии GLUT1. Это прогрессирование отражает значительное повышение метаболической активности по мере увеличения степени злокачественности опухоли — от низкой степени с минимальной экспрессией GLUT1, что указывает на снижение метаболических потребностей, до высокой степени, когда интенсивность окрашивания приближается к максимальной, свидетельствуя о высокой метаболической активности, необходимой для быстрого роста и агрессивности опухоли.

Корреляция между GLUT1 и Ki-67 в различных компонентах МЭК

Анализ корреляции Спирмена позволил выявить сильную положительную связь между интенсивностью окраски GLUT1 и Ki-67 в эпидермоидных клетках ($rs = 0,68$, $p < 0,001$). Это указывает на то, что более высокая экспрессия GLUT1 стабильно ассоциируется с увеличенной пролиферативной активностью в этом компоненте. Умеренная положительная

корреляция была обнаружена в промежуточных клетках ($rs = 0,52$, $p = 0,004$), что позволяет предположить наличие значимой, хотя и менее выраженной, ассоциации между двумя маркерами. В отличие от этого, мукоциты показали слабую и незначимую корреляцию ($rs = 0,20$, $p = 0,18$), что отражает минимальное взаимодействие между экспрессией GLUT1 и пролиферацией Ki-67 в этом компоненте.

Оба маркера, GLUT1 и Ki-67, продемонстрировали высокую корреляцию и сильную взаимосвязь в эпидермоидных и промежуточных клетках. В эпидермоидных клетках для GLUT1 и Ki-67 были получены следующие значения: $rs = 0,48$ ($p = 0,003$) и $rs = 0,53$ ($p = 0,0005$). Аналогично, в промежуточных клетках: GLUT1 — $rs = 0,42$ ($p = 0,008$) и Ki-67 — $rs = 0,47$ ($p = 0,0025$). Это указывает на умеренную корреляцию со степенью малигнизации процесса, что придает выбранным маркерам большую роль в исследовании прогрессирования опухоли. В отличие от эпидермоидных и промежуточных клеток, мукоциты при изучении корреляции со степенью злокачественности показали слабую взаимосвязь как для GLUT1, где $rs = 0,15$ при $p = 0,36$, так и для Ki-67, где $rs = 0,25$ при $p = 0,12$, что еще раз подчеркивает их ограниченное участие в градации опухоли.

Корреляция GLUT1 с системами градации опухолей

Интенсивность окраски GLUT1 продемонстрировала умеренные положительные значения корреляции со степенями злокачественности опухолей во всех системах градации. Наиболее сильная корреляция наблюдалась с системой AFIP ($rs = 0,50$, $p = 0,001$), это указывает на то, что GLUT1 хорошо согласуется с агрессивностью опухолей, определенной критериями AFIP. Система Modified Healy ($rs = 0,48$, $p = 0,002$) также показала сопоставимую корреляцию. Системы Brandwein ($rs = 0,45$, $p = 0,003$) и MSKCC ($rs = 0,40$, $p = 0,01$) продемонстрировали несколько более слабые корреляции, что предполагает менее прочное соответствие GLUT1 их критериям градации.

Корреляция Ki-67 с системами градации опухолей

Индексы пролиферации Ki-67 продемонстрировали более сильную корреляцию со степенью злокачественности опухолей, чем GLUT1, во всех системах градации. Наивысшая корреляция была отмечена с системой AFIP ($rs = 0,55$, $p = 0,0005$), за которой следует система Modified Healy ($rs = 0,52$, $p = 0,001$). Эти результаты подчеркивают эффективность Ki-67 как надежного маркера прогрессирования опухоли, особенно в рамках этих систем градации. Системы Brandwein ($rs = 0,48$, $p = 0,002$) и MSKCC ($rs = 0,45$, $p = 0,003$) также продемонстрировали умеренную корреляцию, но несколько слабее, чем системы AFIP и Modified Healy.

Сравнение систем градации

Среди четырех проанализированных систем градации система AFIP последовательно демонстрировала самую сильную корреляцию как с экспрессией GLUT1, так и с Ki-67, что позволяет предположить наиболее тесное соответствие биологии опухоли, отраженной этими маркерами. Система Modified Healy показала практически такие же результаты,

Таблица 3. Корреляция между GLUT1 и Ki-67 и степенями злокачественности опухолей

Корреляция между GLUT1 и степенями опухолей		
Система градации	Коэффициент корреляции (rs)	p-значение
AFIP	0,5	0,001
Brandwein	0,45	0,003
Modified Healy	0,48	0,002
MSKCC	0,4	0,01
Корреляция между Ki-67 и степенями опухолей		
Система градации	Коэффициент корреляции (rs)	p-значение
AFIP	0,55	0,0005
Brandwein	0,48	0,002
Modified Healy	0,52	0,001
MSKCC	0,45	0,003

особенно для Ki-67, что делает ее еще одной надежной основой для оценки агрессивности опухоли. Системы Brandwein и MSKCC продемонстрировали несколько более слабую корреляцию, особенно для GLUT1, что указывает на меньшее согласование с метаболической и пролиферативной активностью (табл. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данном исследовании изучали пролиферативную активность (Ki-67) и активность белка, транспортирующего глюкозу (GLUT1), различных компонентов МЭК, которые были обнаружены во всех клеточных компонентах. Высокий уровень экспрессии выбранных белков выявлен в эпидермоидных и промежуточных клетках МЭК, что указывает на рост и агрессивность опухолевого процесса. Полученные результаты схожи с данными, представленными ранее [15, 16], по которым экспрессия GLUT1 была выше в эпидермоидном компоненте и опухолях высокой степени злокачественности соответственно.

Индекс Ki-67 служит важнейшим биомаркером для определения степени злокачественности МЭК, что дополняет традиционные гистологические исследования. Так, у 46 пациентов низкий индекс Ki-67 коррелировал с благоприятным прогнозом, в то время как более высокий индекс указывал на повышенный риск агрессивного поведения при заболевании [17]. В отличие от более субъективной гистологической оценки, которая косвенно измеряет пролиферативную активность по доле солидных участков, индекс Ki-67 позволяет напрямую определить пролиферацию путем подсчета активно делящихся клеток. Такой прямой подход делает его более объективным и надежным маркером, позволяющим четко различать вялотекущую и агрессивную формы МЭК [14, 17]. Таким образом, использование индекса Ki-67 наряду с гистологической оценкой может значительно повысить точность прогнозирования клинического течения этих опухолей, обеспечивая бесценное руководство для целенаправленных терапевтических стратегий.

В основном такие системы изучения градации, как AFIP и MSKCC, склонны к консервативной градации, что подчеркивает низкие и промежуточные классификации, в то время как для системы Brandwein характерны более

агрессивный подход и большая эффективность при работе с опухолями высокой степени злокачественности. Система Modified Healy более эффективна при работе с опухолями промежуточной степени. Эти вариации подчеркивают влияние критериев градации на классификацию опухолей и важность согласования системы градации с клиническими целями, такими как стратификация риска или планирование лечения.

ВЫВОДЫ

Данное исследование подчеркивает ключевую роль GLUT1 и Ki-67 в оценке метаболической и пролиферативной активности МЭК слюнных желез. Высокая экспрессия этих маркеров выявлена в эпидермоидных и промежуточных клетках и соответствовала следующим цифрам: низкая степень — Ki-67 менее 10%, интенсивность GLUT1 составляет 1–2; средняя степень — Ki-67 от 10 до 15%, интенсивность GLUT1 составляет 2; высокая степень — Ki-67 >15%, интенсивность GLUT1 составляет 3. Полученные данные коррелировали со степенью злокачественности опухоли, в то время как мукоциты продемонстрировали минимальную активность. GLUT1 и Ki-67 помогают эффективно различать опухоли низкой степени (G1) от средней (G2) и высокой (G3) степеней, при этом между степенями 2 и 3 наблюдается эффект плато. Среди четырех проанализированных систем градации система AFIP показала наиболее сильную корреляцию с этими биомаркерами, что указывает на ее соответствие биологическому поведению МЭК. Система Modified Healy также показала хорошие результаты, подходит для опухолей средней степени злокачественности, в то время как система Brandwein больше подходит для работы с высокоагрессивными низкодифференцированными опухолями, а система MSKCC кажется более консервативной. Эти результаты подчеркивают потенциальную полезность интеграции ИГХ-маркеров, таких как GLUT1 и Ki-67, в протоколы градации МЭК для повышения точности диагностики и прогностической оценки. Однако несоответствия между системами градации подчеркивают необходимость стандартизированных подходов. Для подтверждения этих результатов и изучения эффективности дополнительных маркеров в улучшении диагностики, градации и планирования лечения МЭК необходимы дальнейшие масштабные исследования.

Литература

1. Peraza A, Gómez R, Beltran J, Amarista FJ. Mucoepidermoid carcinoma. An update and review of the literature. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 2020; 121: 713–20.
2. Ullah A, Khan J, Waheed A, et al. Mucoepidermoid Carcinoma of the Salivary Gland: Demographics and Comparative Analysis in U.S. Children and Adults with Future Perspective of Management. *Cancers (Basel)*. 2022; 15 (1): 250. Published 2022. DOI: 10.3390/cancers15010250.
3. Robinson L, van Heerden MB, Ker-Fox JG, Hunter KD, van Heerden WFP. Expression of Mucins in Salivary Gland Mucoepidermoid Carcinoma. *Head Neck Pathol*. 2021; 15 (2): 491–502. DOI: 10.1007/s12105-020-01226-z.
4. El-Naggar AK, Chan JKC, Rubin-Grandis J, Takata T, Slootweg PJ, International Agency for Research on Cancer. World Health Organization classification of tumours. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2017.
5. Donempudi P, Bhayya H, Venkateswarlu M, Avinash Tejasvi M L, Paramkusam G. Mucoepidermoid carcinoma of the minor salivary gland: Presenting as ranula. *J Can Res Ther*. 2018; 14: 1418–21.
6. Fehr A, Werenicz S, Trocchi P et al. Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands revisited with special reference to histologic grading and CRTC1/3-MAML2 genotyping. *Virchows Arch* (2021). Available from: <https://doi.org/10.1007/s00428-021-03146-x>.
7. Lin HH, Limesand KH, Ann DK. Current State of Knowledge on Salivary Gland Cancers. *Crit Rev Oncog*. 2018; 23 (3–4): 139–51. DOI: 10.1615/CritRevOncog.2018027598.
8. Gotoh S, Nakasone T, Matayoshi A, et al. Mucoepidermoid carcinoma of the anterior lingual salivary gland: A rare case report. *Mol Clin Oncol*. 2022; 16 (1): 7. DOI: 10.3892/mco.2021.2444.
9. Cipriani NA, Lusardi JJ, McElherne J, Pearson AT, Olivas AD, Fitzpatrick C, et al. Mucoepidermoid carcinoma: A comparison of histologic grading systems and relationship to MAML2 rearrangement and prognosis. *Am J Surg Pathol*. 2019; 43: 885–97.
10. Qannam A, Bello IO. Comparison of histological grading methods in mucoepidermoid carcinoma of minor salivary glands. *Indian J Pathol Microbiol*. 2016; 59: 457–62. DOI: 10.4103/0377-4929.191765.
11. Sampedro-Núñez M, Bouthelie A, Serrano-Somavilla A, et al. LAT-1 and GLUT1 Carrier Expression and Its Prognostic Value in Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors. *Cancers (Basel)*. 2020; 12 (10): 2968. Available from: <https://doi.10.3390/cancers12102968>.
12. Yang H, Zhong JT, Zhou SH, Han HM. Roles of GLUT1 and HK-II expression in the biological behavior of head and neck cancer. *Oncotarget*. 2019; 10 (32): 3066–83. DOI: 10.18632/oncotarget.24684.
13. Kang F, Ma W, Ma X, et al. Propranolol inhibits glucose metabolism and 18F-FDG uptake of breast cancer through posttranscriptional downregulation of hexokinase-2. *J Nucl Med*. 2014; 55 (3): 439–45. DOI: 10.2967/jnumed.113.121327.
14. Kaza S, Rao TJM, Mikkilineni A, Ratnam GV, Rao DR. Ki-67 Index in Salivary Gland Neoplasms. *Int J Phonosurg Laryngol*. 2016; 6 (1): 1–7.
15. de Souza LB, de Oliveira LC, Nonaka CFW, et al. Immunoexpression of GLUT1 and angiogenic index in pleomorphic adenomas, adenoid cystic carcinomas, and mucoepidermoid carcinomas of the salivary glands. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2017; 274: 2549–56. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00405-017-4530-y>.
16. Demasi APD, Costa AF, Altamiani A, Furuse C, Araújo NS and Araújo VC. Glucose transporter protein 1 expression in mucoepidermoid carcinoma of salivary gland: correlation with grade of malignancy. *International Journal of Experimental Pathology*. 2010; 91: 107–13. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2613.2009.00702.x>.
17. Skalova A, Lehtonen H, von Boguslawsky K, Leivo I. Prognostic significance of cell proliferation in mucoepidermoid carcinomas of the salivary gland: clinicopathological study using MIB 1 antibody in paraffin sections. *Hum Pathol*. 1994; 25 (9): 929–35. DOI: 10.1016/0046-8177(94)90014-0.

References

1. Peraza A, Gómez R, Beltran J, Amarista FJ. Mucoepidermoid carcinoma. An update and review of the literature. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*. 2020; 121: 713–20.
2. Ullah A, Khan J, Waheed A, et al. Mucoepidermoid Carcinoma of the Salivary Gland: Demographics and Comparative Analysis in U.S. Children and Adults with Future Perspective of Management. *Cancers (Basel)*. 2022; 15 (1): 250. Published 2022. DOI: 10.3390/cancers15010250.
3. Robinson L, van Heerden MB, Ker-Fox JG, Hunter KD, van Heerden WFP. Expression of Mucins in Salivary Gland Mucoepidermoid Carcinoma. *Head Neck Pathol*. 2021; 15 (2): 491–502. DOI: 10.1007/s12105-020-01226-z.
4. El-Naggar AK, Chan JKC, Rubin-Grandis J, Takata T, Slootweg PJ, International Agency for Research on Cancer. World Health Organization classification of tumours. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2017.
5. Donempudi P, Bhayya H, Venkateswarlu M, Avinash Tejasvi M L, Paramkusam G. Mucoepidermoid carcinoma of the minor salivary gland: Presenting as ranula. *J Can Res Ther*. 2018; 14: 1418–21.
6. Fehr A, Werenicz S, Trocchi P et al. Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands revisited with special reference to histologic grading and CRTC1/3-MAML2 genotyping. *Virchows Arch* (2021). Available from: <https://doi.org/10.1007/s00428-021-03146-x>.
7. Lin HH, Limesand KH, Ann DK. Current State of Knowledge on Salivary Gland Cancers. *Crit Rev Oncog*. 2018; 23 (3–4): 139–51. DOI: 10.1615/CritRevOncog.2018027598.
8. Gotoh S, Nakasone T, Matayoshi A, et al. Mucoepidermoid carcinoma of the anterior lingual salivary gland: A rare case report. *Mol Clin Oncol*. 2022; 16 (1): 7. DOI: 10.3892/mco.2021.2444.
9. Cipriani NA, Lusardi JJ, McElherne J, Pearson AT, Olivas AD, Fitzpatrick C, et al. Mucoepidermoid carcinoma: A comparison of histologic grading systems and relationship to MAML2 rearrangement and prognosis. *Am J Surg Pathol*. 2019; 43: 885–97.
10. Qannam A, Bello IO. Comparison of histological grading methods in mucoepidermoid carcinoma of minor salivary glands. *Indian J Pathol Microbiol*. 2016; 59: 457–62. DOI: 10.4103/0377-4929.191765.
11. Sampedro-Núñez M, Bouthelie A, Serrano-Somavilla A, et al. LAT-1 and GLUT1 Carrier Expression and Its Prognostic Value in Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors. *Cancers (Basel)*. 2020; 12 (10): 2968. Available from: <https://doi.10.3390/cancers12102968>.
12. Yang H, Zhong JT, Zhou SH, Han HM. Roles of GLUT1 and HK-II expression in the biological behavior of head and neck cancer. *Oncotarget*. 2019; 10 (32): 3066–83. DOI: 10.18632/oncotarget.24684.
13. Kang F, Ma W, Ma X, et al. Propranolol inhibits glucose metabolism and 18F-FDG uptake of breast cancer through posttranscriptional downregulation of hexokinase-2. *J Nucl Med*. 2014; 55 (3): 439–45. DOI: 10.2967/jnumed.113.121327.
14. Kaza S, Rao TJM, Mikkilineni A, Ratnam GV, Rao DR. Ki-67 Index in Salivary Gland Neoplasms. *Int J Phonosurg Laryngol*. 2016; 6 (1): 1–7.
15. de Souza LB, de Oliveira LC, Nonaka CFW, et al. Immunoexpression of GLUT1 and angiogenic index in pleomorphic adenomas, adenoid cystic carcinomas, and mucoepidermoid carcinomas of the salivary glands. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2017; 274: 2549–56. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00405-017-4530-y>.
16. Demasi APD, Costa AF, Altamiani A, Furuse C, Araújo NS and Araújo VC. Glucose transporter protein 1 expression in mucoepidermoid carcinoma of salivary gland: correlation with grade of malignancy. *International Journal of Experimental Pathology*. 2010; 91: 107–13. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2613.2009.00702.x>.
17. Skalova A, Lehtonen H, von Boguslawsky K, Leivo I. Prognostic significance of cell proliferation in mucoepidermoid carcinomas of the salivary gland: clinicopathological study using MIB 1 antibody in paraffin sections. *Hum Pathol*. 1994; 25 (9): 929–35. DOI: 10.1016/0046-8177(94)90014-0.