

Показатели транспорта глюкозы и пролиферативной активности в различных клеточных компонентах мукоэпидермоидной карциномы слюнной железы

Д.Р. Фамилья Фриас¹, З.Ю. Висаитова², Ю.О. Тигай¹, А.А. Ивина¹, И.И. Бабиченко^{1,2}

¹ ФГАОУ ВО Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы, Москва, Россия

² ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии» Минздрава России, Москва, Россия

Резюме. Введение. Мукоэпидермоидная карцинома – это злокачественная опухоль слюнных желез железисто-эпителиального происхождения. Основными компонентами мукоэпидермоидной карциномы являются эпидермоидные, промежуточные и слизистые клетки. Участие этих компонентов при развитии опухоли на сегодняшний день не изучено. Цель исследования – изучить пролиферацию клеток и метаболизм глюкозы в эпидермоидных, промежуточных и слизистых клетках мукоэпидермоидной карциномы.

Материалы и методы. В работе проанализированы образцы, полученные от 31 пациента с диагнозом «мукоэпидермоидная карцинома». Пролиферацию клеток изучали иммуногистохимическим методом при помощи антител к белку Ki67, а метаболизм глюкозы исследовали по иммуноположительной реакции на белок GLUT-1. Изучение Ki67+ клеток рассматривали непосредственно в ядрах, а подсчет GLUT-1+ клеток оценивался по реакции в цитоплазме и на клеточной мембране.

Результаты. При сравнении клеточных компонентов выявлено, что эпидермоидные и промежуточные клетки демонстрируют наибольшую пролиферативную активность и иммуноположительную реакцию к GLUT-1, что указывает на их ключевую роль в росте и метаболизме.

Заключение. Эпидермоидные и промежуточные клетки являются основными факторами роста мукоэпидермоидной карциномы, тогда как слизистые клетки демонстрируют низкую пролиферативную активность и слабый метаболизм глюкозы.

Ключевые слова: мукоэпидермоидная карцинома, GLUT-1, пролиферативная активность

Для корреспонденции: Диана Росина Фамилья Фриас. E-mail: drff26@gmail.com

Для цитирования: Фамилья Фриас Д.Р., Висаитова З.Ю., Тигай Ю.О., Ивина А.А., Бабиченко И.И. Показатели транспорта глюкозы и пролиферативной активности в различных клеточных компонентах мукоэпидермоидной карциномы слюнной железы. Клини. эксп. морфология. 2025;14(4):49–54. DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.49-54.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного бюджетного финансирования.

Статья поступила 26.11.2024. Получена после рецензирования 26.12.2024. Принята в печать 17.02.2025.

Indicators of glucose transport and proliferative activity across cellular components in salivary gland mucoepidermoid carcinoma

D.R. Familia Frias¹, Z.Yu. Visaitova², Yu.O. Tigay¹, A.A. Ivina¹, I.I. Babichenko^{1,2}

¹ Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

² National Medical Research Center "Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery", Moscow, Russia

Abstract. Introduction. Mucoepidermoid carcinoma is a malignant tumor of the salivary glands that originates from glandular epithelial cells. Its main components are epidermoid, intermediate, and mucous cells, whose role in tumor development remains poorly understood. The aim of this study was to investigate cell proliferation and glucose metabolism in epidermoid, intermediate, and mucous cells of mucoepidermoid carcinoma.

Materials and methods. We analyzed samples from 31 patients diagnosed with mucoepidermoid carcinoma. Cell proliferation was assessed using the Ki-67 protein via immunohistochemistry, while glucose metabolism was studied with the immunopositive reaction of the GLUT-1 protein. Immunopositive cells for the Ki-67 protein were evaluated in the nuclei, whereas GLUT-1-positive cells were assessed based on cytoplasmic and membrane staining.

Results. The comparison of the cellular components revealed that epidermoid and intermediate cells exhibited the highest proliferative activity and a strong immunopositive reaction to GLUT-1, indicating their key role in tumor growth and metabolic activity.

Conclusion. Epidermoid and intermediate cells are the primary drivers of growth in mucoepidermoid carcinoma, whereas mucous cells show low proliferative activity and weak glucose metabolism.

Keywords: mucoepidermoid carcinoma, GLUT-1, proliferative activity

Corresponding author: Diana R. Familia Frias. E-mail: drff26@gmail.com

For citation: Familia Frias D.R., Visaitova Z.Yu., Tigay Yu.O., Ivina A.A., Babichenko I.I. Indicators of glucose transport and proliferative activity across cellular components in salivary gland mucoepidermoid carcinoma. Clin. exp. morphology. 2025;14(4):49–54 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2025.14.4.49-54.

Funding. The study was carried out within the framework of state budget funding.

Received 26.11.2024. **Received in revised form** 26.12.2024. **Accepted** 17.02.2025.

Введение

Мукоэпидермоидная карцинома (МЭК) составляет около 25–26% от всех злокачественных новообразований слюнных желез [1, 2]. В 2017 году Всемирная организация здравоохранения на основании клинико-гистологических признаков классифицировала МЭК как железисто-эпителиальную злокачественную опухоль [3, 4].

Основные клеточные компоненты МЭК включают мукоциты, промежуточные и эпидермоидные клетки, а также реже встречающиеся столбчатые, онкоциты и светлые клетки, что может затруднять диагностику для патологов [5, 6]. Эти клеточные элементы формируют разные гистологические структуры, от кистозной, наиболее часто встречающейся и хорошо дифференцированной, до солидной, характеризующейся некрозами, выраженной клеточной атипией, инвазивным ростом и метастазированием [7].

Несмотря на то, что диагноз «мукоэпидермоидная карцинома» в основном ставят на основании рутинного гистологического исследования для определения степени злокачественности опухолей слюнных желез, при более детальном анализе отдельных клеточных компонентов и изучении процессов метаболизма клетки важно использовать дополнительные методы исследования. Иммуногистохимические (ИГХ) и молекулярно-генетические методы позволяют оценить клеточную пролиферацию и метаболизм глюкозы при использовании антител к белкам Ki67 и GLUT-1 [8]. Для определения степени дифференцированности МЭК используют разные классификационные системы, среди которых наиболее распространены системы Эллиса (AFIP) и Брандвейна. Они основаны на гистологических характеристиках и позволяют разделить опухоли по степени злокачественности: G1 – низкая, G2 – средняя и G3 – высокая, что отражено в классификации ВОЗ опухолей головы и шеи 2017 года [4, 5, 9].

Злокачественные новообразования характеризуются инвазивным и быстрым ростом за счет высокой пролиферативной активности. Основным источником энергии для этого процесса является глюкоза, удовлетворяющая биоэнергетические и биосинтетические потребности раковых клеток [10–13]. Транспорт глюкозы

в клетки осуществляется с помощью белков-транспортёров, таких как GLUT [10, 12]. Эти белки, ответственные за перемещение глюкозы из внеклеточной среды в клетку, локализуются на клеточной мембране и в цитоплазме. На сегодняшний день к самым значимым из изученных транспортеров глюкозы (GLUT-1–GLUT-12) относят GLUT-1 [14].

Пролиферация, дифференцировка и скорость митоза раковых клеток напрямую зависят от повышенного потребления глюкозы и эффективности ее транспортировки [14]. Активный транспорт глюкозы может быть обнаружен не только в злокачественных клетках, но и в здоровых, например эритроцитах, эндотелиальных клетках, клетках гематоэнцефалического барьера, а также в предраковых и доброкачественных опухолях эпителия [15].

Цель исследования – изучить пролиферацию и метаболизм глюкозы в эпидермоидных, промежуточных и слизистых клетках МЭК.

Материалы и методы

В исследование был отобран операционный и архивный биопсийный материал из лаборатории патологической анатомии Национального медицинского исследовательского центра «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии». В исследование включены образцы от 31 пациента с диагнозом «мукоэпидермоидная карцинома», собранные в период с 2014 по 2024 год. Исследование выполнено в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации и одобрено этическим комитетом Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы (протокол № 1 от 14.01.2025).

Были проанализированы клинические данные, включая пол и возраст. Взаимосвязь пола и возраста с развитием МЭК не обнаружена.

Стандартный протокол гистологического и ИГХ исследования проводили в автоматическом режиме методом Quanto с системой UltraVision Quanto Detection System HRP DAB (Thermo Fisher Scientific, США) для ИГХ исследований. Для оценки клеточной пролиферации применяли моноклональные кроличьи антитела –

клон SP6 к белку Ki67 в разведении 1:100 и поликлональные кроличьи антитела к GLUT-1 в разведении 1:200 (Thermo Fisher Scientific, США).

В результате рутинного гистологического исследования в группу G1 (опухоли низкой степени злокачественности) были отобраны 10 случаев, в группу G2 (опухоли средней степени злокачественности) – восемь случаев и в группу G3 (опухоли высокой степени злокачественности) – 13 случаев.

Пролиферацию клеточных компонентов МЭК оценивали как отношение Ki67+ ядер к общему числу ядер. Уровень метаболизма глюкозы устанавливали при помощи оценки интенсивности окрашивания GLUT-1 в цитоплазме и цитоплазматической мембране. Иммуноположительные клетки различали по интенсивности реакции: 0 – отсутствие окрашивания,

1+ – слабое окрашивание, 2+ – умеренное окрашивание и 3+ – интенсивное окрашивание. Исследование выполняли с помощью микроскопа AxioPlan 2 Imaging (Karl Zeiss, Германия), а фотофиксацию при помощи камеры AxioCam ERc5s (Karl Zeiss, Германия), $\times 400$.

Статистическое исследование проводилось на платформе Windows 10 (IBM Corporation, США) с применением программы SPSS Statistics версии 23. Сравнение между группами проводили при помощи критерия Манна–Уитни.

Результаты

При гистологическом окрашивании МЭК гематоксилином и эозином были выявлены основные клеточные компоненты: мукоциты, промежуточные и эпидермоидные клетки (рис. 1 А).

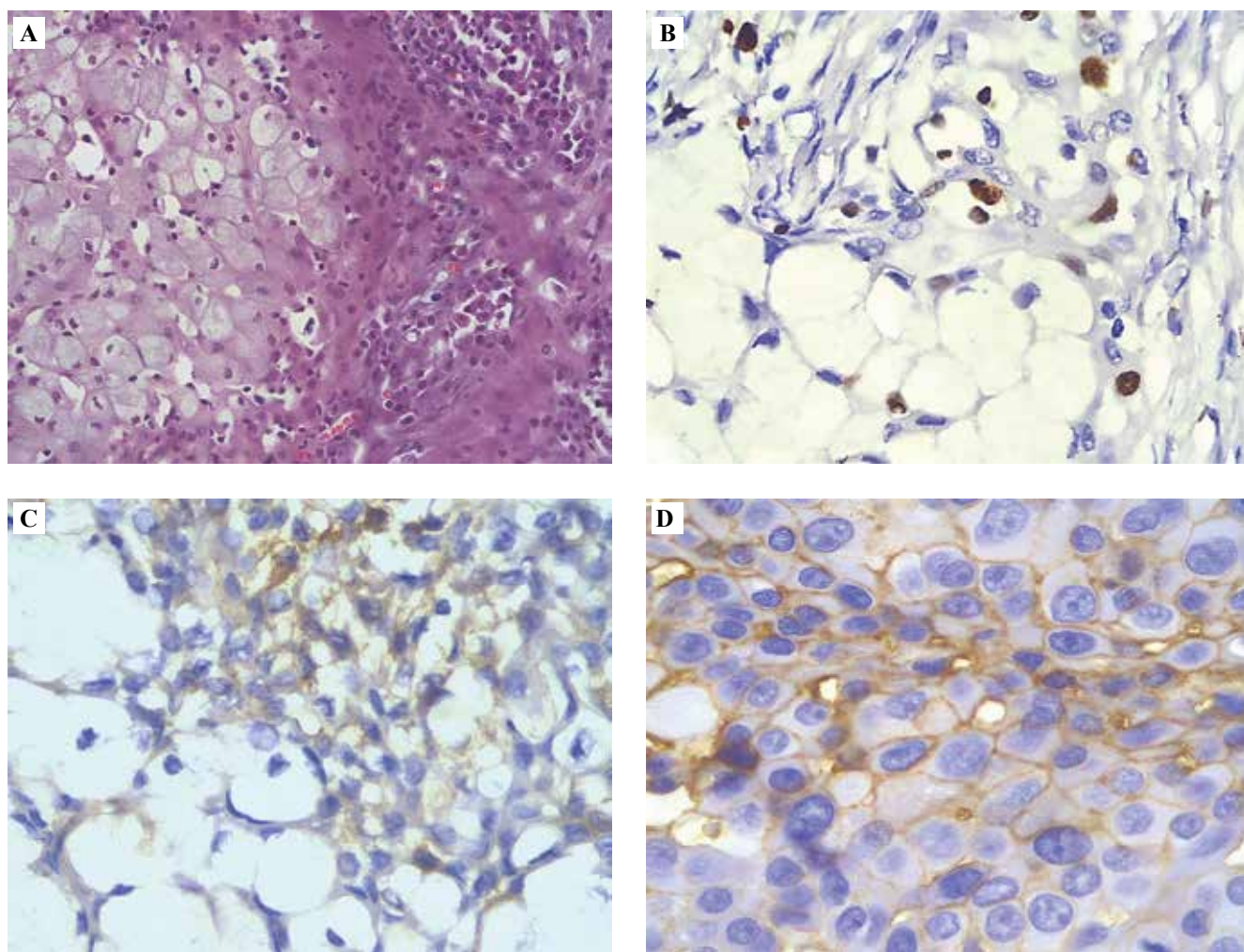


Рис 1. Мукоэпидермоидная карцинома

А – окрашивание гематоксилином и эозином, В – иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki67, С – окрашивание цитоплазмы GLUT-1 в эпидермоидных и промежуточных клетках и отсутствие реакции в мукоцитах, D – интенсивное окрашивание цитоплазматической мембраны GLUT-1 в эпидермоидных клетках, $\times 400$

Fig. 1. Mucocystic carcinoma

А – H&E staining, В – IHC staining with anti-Ki-67 antibodies, С – cytoplasmic GLUT-1 staining in epidermoid and intermediate cells, with no reaction in mucous cells, D – intense staining of the cytoplasmic membrane for GLUT-1 in epidermoid cells, $\times 400$

Таблица | Table

Сравнительный анализ пролиферативной активности Ki67 в исследуемых клеточных компонентах с помощью критерия Манна–Уитни | Comparative analysis of Ki-67 proliferative activity cellular components by the Mann–Whitney U test

Клеточные компоненты Cellular components	Пролиферативная активность Me (Q1; Q3) Proliferative activity, Me (Q1; Q3)	Парные сравнения Paired comparisons (p)		
		М–ЭК М–ЕС	М–ПК М–ИС	ЭК–ПК ЕС–ИС
ЭК ЕС	4,00 (2,00; 8,00)	<0,001	<0,001	0,043
ПК ИС	2,00 (1,2; 3,2)			
М М	0 (0; 0,4)			

ЭК | ЕС – эпидермоидные клетки | epidermoid cells, ПК | ИС – промежуточные клетки | intermediate cells, М | М – мукоциты | mucin-producing cells

ИГХ исследование показало, что Ki67+ клетки выявлены в ядрах всех типов клеток МЭК (рис. 1 В). Между клеточными компонентами обнаружены статистически значимые различия в уровне пролиферации ($p<0,001$). Установлено, что эпидермоидные клетки ($Me=4,00$ [2,00; 8,00]) имеют значительно более высокую пролиферативную активность, чем мукоциты ($Me=0$ [0; 0,4]) при уровне значимости $p<0,001$, а также чем промежуточные клетки ($Me=2,00$ [1,2; 3,2]) при $p=0,043$. Мукоциты тоже отличались от промежуточных клеток по уровню пролиферации ($p<0,001$) (табл.).

GLUT-1+ клетки были выявлены во всех трех компонентах МЭК, но в разной локализации. При этом самое слабое окрашивание цитоплазмы выявлено в мукоцитах, в промежуточных клетках отмечалось слабое окрашивание цитоплазмы и клеточных мембран (рис. 1 С), а в эпидермоидных клетках наблюдалось интенсивное окрашивание цитоплазматической мембраны (рис. 1 D).

Иммуноположительная реакция к GLUT-1 показала статистически значимые различия между клеточными компонентами ($p<0,001$). Мукоциты ($Me=0$ [0; 1]) отличались по уровню реакции GLUT-1 от эпидермоидных клеток ($Me=2$ [1; 3]) и промежуточных клеток ($Me=1$ [1; 3]) при уровне значимости $p<0,001$. Однако различия между эпидермоидными и промежуточными клетками по экспрессии GLUT-1 не выявлены ($p=1,0$).

Обсуждение

МЭК состоит из мукоцитов, эпидермоидных и промежуточных клеток [3, 5, 6]. Опухоли с низкой степенью злокачественности обычно характеризуются более выраженной кистозной структурой, что связано с преобладанием мукоцитов, минимальной клеточной атипией, небольшим количеством митозов и отсутствием перинеуральной инвазии. В опухолях с высокой степенью злокачественности, наоборот, наблюдаются инфильтративный рост, солидная структура, выраженная клеточная атипия, некрозы и перинеуральные инвазии [3].

В рамках данного исследования были изучены метаболическая и пролиферативная активность различных клеточных компонентов МЭК. Маркеры GLUT-1 и Ki67 оказались наиболее перспективными для оценки злокачественности МЭК, поскольку они выявлялись во всех типах клеток опухоли. Результаты показали, что наибольшее количество иммуноположительных клеток при использовании этих маркеров наблюдается в эпидермоидных и промежуточных клетках, что свидетельствует о высокой пролиферативной и метаболической активности глюкозы, обуславливающей рост и агрессивность опухоли, в этих компонентах.

Исследование L.B. de Sousa et al. [16] также показало, что GLUT-1 интенсивно проявляется в эпидермоидных клетках МЭК, и это согласуется с нашими результатами, где иммуноположительная реакция к GLUT-1 была выше в эпидермоидных и промежуточных клетках. Повышенное потребление глюкозы через GLUT-1 связано с активной пролиферацией и злокачественной трансформацией клеток [10–14, 17–19].

Иммуногистохимический метод оказался полезным дополнением к традиционному гистологическому анализу, при этом маркер пролиферации Ki67 стал наиболее надежным индикатором для оценки клеточного цикла. Использование Ki67 позволило определить уровень пролиферативной активности клеток, а для изучения метаболизма использовался глюкозный транспортер GLUT-1.

Заключение

В ходе исследования проанализирована пролиферация клеток и изучена активность GLUT-1 в различных клеточных компонентах мукоэпидермоидной карциномы. Морфометрический анализ показал: эпидермоидные и промежуточные клетки обладают наибольшей пролиферативной активностью и метаболизмом глюкозы, что делает их основными источниками опухолевого роста. В то же время мукоциты характеризуются минимальной пролиферативной и метаболической активностью, связанной с транспортом глюкозы.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – И.И. Бабиченко.
Сбор и обработка материала – Д.Р. Фамилья Фриас, Ю.О. Тигай,
З.Ю. Висайтова.

Написание текста – Д.Р. Фамилья Фриас.

Редактирование – И.И. Бабиченко, А.А. Ивина.

Authors contributions

Conceived the study and designed the experiment – I.I. Babichenko.

Collected the data and performed the analysis – D.R. Familia Frias,
Y.O. Tigay, Z.Yu. Visaitova.

Wrote the paper – D.R. Familia Frias.

Edited the manuscript – I.I. Babichenko, A.A. Ivina.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. Meyer MT, Watermann C, Dreyer T, Ergün S, Karnati S. Update on diagnostic markers and translocation in salivary gland tumors. *Int J Mol Sci.* 2021;22(13):6771. DOI: 10.3390/ijms22136771.
2. Cunha JL, Coimbra AC, Silva JV, Nascimento IS, Andrade ME, Oliveira CR et al. Epidemiologic analysis of salivary gland tumors over a 10-years period diagnosed in a northeast Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2020;25(4):e516–22. DOI: 10.4317/medoral.23532.
3. Peraza A, Gómez R, Beltrán J, Amarista FJ. Mucoepidermoid carcinoma. An update and review of the literature. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2020;121(6):713–20. DOI: 10.1016/j.jormas.2020.06.003.
4. 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.
5. The WHO Classification of Tumours Editorial Board (eds.). WHO classification of tumours. Head and neck tumours. V. 9. 5th ed. Lyon: IARC, 2022. 1146 p.
6. Donempudi P, Bhayya H, Venkateswarlu M, Avinash Tejasvi ML, Paramkusam G. Mucoepidermoid carcinoma of the minor salivary gland: presenting as ranula. *J Cancer Res Ther.* 2018;14(6):1418–21. DOI: 10.4103/0973-1482.204884.
7. Fehr A, Werenicz S, Trocchi P, Falk M, Friedrich RE, Stammner A et al. Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands revisited with special reference to histologic grading and CRTC1/3-MAML2 genotyping. *Virchows Arch.* 2021;479(5):975–85. DOI: 10.1007/s00428-021-03146-x.
8. Pardis S, Zare R, Jaafari-Ashkavandi Z, Ashraf MJ, Khademi B. Twist expression in pleomorphic adenoma, adenoid cystic carcinoma and mucoepidermoid carcinoma of salivary glands. *Turk Patoloji Derg.* 2016;32(1):15–21. DOI: 10.5146/tjpath.2015.01343.
9. Qannam A, Bello IO. Comparison of histological grading methods in mucoepidermoid carcinoma of minor salivary glands. *Indian J Pathol Microbiol.* 2016;59(4):457–62. DOI: 10.4103/0377-4929.191765.
10. Sampedro-Núñez M, Bouthelier A, Serrano-Somavilla A, Martínez-Hernández R, Adrados M, Martín-Pérez E et al. LAT-1 and GLUT-1 carrier expression and Its prognostic value in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Cancers (Basel).* 2020;12(10):2968. DOI: 10.3390/cancers12102968.
11. Yin C, Gao B, Yang J, Wu J. Glucose transporter-1 (GLUT-1) expression is associated with tumor size and poor prognosis in locally advanced gastric cancer. *Med Sci Monit Basic Res.* 2020;26:e920778. DOI: 10.12659/MSMBR.920778.
12. Yang H, Zhong JT, Zhou SH, Han HM. Roles of GLUT-1 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. Karageorgis G, Reckzeh ES, Ceballos J, Schwalfenberg M, Sievers S, Ostermann C et al. Chromopyrones are pseudo natural product glucose uptake inhibitors targeting glucose transporters GLUT-1 and -3. *Nat Chem.* 2018;10(11):1103–11. DOI: 10.1038/s41557-018-0132-6.
14. Pezzuto A, D'Ascanio M, Ricci A, Pagliuca A, Carico E. Expression and role of p16 and GLUT1 in malignant diseases and lung cancer: a review. *Thorac Cancer.* 2020;11(11):3060–70. DOI: 10.1111/1759-7714.13651.
15. Dura M, Němcová K, Jakša R, Bárta M, Kodet O, Tichá I et al. Expression of Glut-1 in malignant melanoma and melanocytic nevi: an immunohistochemical study of 400 cases. *Pathol Oncol Res.* 2017;25(1):361–8. DOI: 10.1007/s12253-017-0363-7.
16. de Souza LB, de Oliveira LC, Nonaka CFW, Lopes MLDS, Pinto LP, Queiroz LMG. Immunoeexpression of GLUT-1 and angiogenic index in pleomorphic adenomas, adenoid cystic carcinomas, and mucoepidermoid carcinomas of the salivary glands. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2017;274(6):2549–56. DOI: 10.1007/s00405-017-4530-y.
17. Demasi AP, Costa AF, Altemani A, Furuse C, Araújo NS, Araújo VC. Glucose transporter protein 1 expression in mucoepidermoid carcinoma of salivary gland: correlation with grade of malignancy. *Int J Exp Pathol.* 2010;91(2):107–13. DOI: 10.1111/j.1365-2613.2009.00702.x.
18. Sánchez-Romero C, Bologna-Molina R, Mosqueda-Taylor A, Paes de Almeida O. Immunohistochemical expression of GLUT-1 and HIF-1α in tooth germ, ameloblastoma, and ameloblastic carcinoma. *Int J Surg Pathol.* 2016;24(5):410–8. DOI: 10.1177/1066896916640359.
19. Almahmoud S, Wang X, Vennerstrom JL, Zhong HA. Conformational studies of glucose transporter 1 (GLUT1) as an anti-cancer drug target. *Molecules.* 2019;24(11):2159. DOI: 10.3390/molecules24112159.

Информация об авторах

Диана Росина Фамилья Фриас – ассистент кафедры патологической анатомии медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы.

Зулихан Юсуповна Висайтова – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела высокотехнологичных методов челюстно-лицевой хирургии НМИЦ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии».

Юлия Олеговна Тигай – ассистент кафедры патологической анатомии медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы.

Анастасия Анатольевна Ивина – доктор медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы.

Игорь Иванович Бабиченко – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии медицинского института Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы, заведующий лабораторией патологической анатомии НМИЦ «Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии».

Author information

Diana R. Familia Frias – Assistant, Department of Anatomic Pathology, Medical Institute, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0001-7878-2901>

Zulikhan Yu. Visaitova – Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Department of Advanced Maxillofacial Surgery Methods, National Medical Research Center "Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery".

<https://orcid.org/0000-0002-6029-4691>

Yuliya O. Tigay – Assistant, Department of Anatomic Pathology, Medical Institute, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0002-6500-9220>

Anastasia A. Ivina – Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Anatomic Pathology, Medical Institute, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia.

<https://orcid.org/0000-0001-8387-4413>

Igor I. Babichenko – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Anatomic Pathology, Medical Institute, Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia; Head of the Laboratory of Anatomic Pathology, National Medical Research Center "Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery".

<https://orcid.org/0000-0001-5512-6813>