

**Фамилья Фриас Диана Росина**

**ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ И ПРОЛИФЕРАТИВНОЙ  
АКТИВНОСТИ ОПУХОЛЕЙ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ**

3.3.2 Патологическая анатомия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Москва, 2026

Работа выполнена на кафедре патологической анатомии Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

**Научный руководитель:**

**Бабиченко Игорь Иванович**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой патологической анатомии Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы».

**Официальные оппоненты:**

**Туманова Елена Леонидовна**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ, заведующая кафедрой патологической анатомии и клинической патологической анатомии детского возраста ИБПЧ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет);

**Славнова Елена Николаевна**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник отделения онкоцитологии МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России;

**Казачков Евгений Леонидович**, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заведующий кафедрой патологической анатомии и судебной медицины имени профессора В.Л. Коваленко ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России.

Защита состоится «11» июня 2026 г. в \_\_\_\_ на заседании Диссертационного совета ПДС 0300.006 при Российском университете дружбы народов по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале УНИБЦ (Научная библиотека) ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (адрес: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 6) и на сайте: <http://rudn.ru/science/dissovet/dissertacionnye-sovety/pds-03000006>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
ПДС 0300.006 кандидат медицинских наук

Горячев Вячеслав  
Александрович

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность и степень разработанности темы

Опухоли слюнных желез (ОСЖ) представляют собой редкую и в тоже время гетерогенную группу новообразований, на долю которых приходится менее 5% всех опухолей области головы и шеи (Sanabria A. et al., 2025; Familia Frias D.R., 2022). Согласно последней классификации опухолей головы и шеи ВОЗ (5-е издание, 2022), выделяют более 30 различных гистологических типов доброкачественных и злокачественных ОСЖ, каждый из которых обладает уникальными морфологическими, иммунофенотипическими и молекулярно-генетическими характеристиками (El-Naggar A.K. et al., 2022; Skálová A. et al., 2022; Yagi H. et al., 2025). Рутинная световая микроскопия и гистологическая оценка остаются «золотым стандартом» в диагностике ОСЖ, однако субъективность в интерпретации некоторых критериев, особенно при наличии градаций злокачественных опухолей, диктует необходимость внедрения объективных биомаркеров (Xu B. et al., 2025; Jensen E. et al., 2025).

Современная онкоморфология переходит от чисто описательного подхода к комплексному, интегрирующему данные о фундаментальных биологических процессах, лежащих в основе онкогенеза, таких как неконтролируемая пролиферация, метаболическая адаптация и уклонение от клеточного старения (иммортализация) (Hanahan D. et al., 2011; Hanahan D., 2022). Изучение маркеров, отражающих эти процессы, является ключом к пониманию биологического поведения ОСЖ и к персонализации подходов в лечении (Abdelmoneim N.A. et al., 2025; Sasaki E. et al., 2025; Teng F. et al., 2025). Особую значимость данное направление приобретает в условиях обновления международных классификаций опухолей, таких как последняя редакция ВОЗ (2022), в которой подчеркивается необходимость перехода от исключительно морфологических критериев к многоуровневому анализу, включающему молекулярно-генетические параметры (El-Naggar A.K. et al., 2022).

### **Степень разработанности темы исследования**

Проблема диагностики и прогнозирования течения ОСЖ широко представлена в современной научной литературе, что обусловлено их выраженной клинической и морфологической гетерогенностью. Фундаментальные аспекты эпидемиологии и гистологической классификации этих новообразований подробно систематизированы и закреплены в последнем издании классификации ВОЗ, которая акцентирует внимание на необходимости интеграции традиционных морфологических критериев с молекулярными и генетическими данными (El-Naggar A.K. et al., 2022; Skálová A. et al., 2022). Несмотря на достигнутые успехи, вопросы объективизации гистологической градации, особенно для мукоэпидермоидной карциномы (МЭК), остаются предметом дискуссий из-за субъективности оценки и вариабельности клинического поведения опухолей, что требует внедрения дополнительных объективных критериев (Xu B. et al., 2025; Jensen E. et al., 2025).

Значительный пласт исследований посвящен изучению пролиферативной активности опухолей с использованием маркера Ki-67. Доказано, что высокий индекс пролиферации коррелирует с агрессивностью течения и неблагоприятным прогнозом при злокачественных новообразованиях (Utsumi et al., 2025; Lima-Souza et al., 2025). Тем не менее, анализ литературы показывает отсутствие единого мнения относительно пороговых значений Ki-67 для разграничения степеней злокачественности МЭК (da Silva G.M. et al., 2019; Bussari S. et al., 2018; Miyabe S. et al., 2009; Faur A.C. et al., 2015), а данные о пролиферативной активности при промежуточной степени градации остаются противоречивыми и варьируют в широких пределах, что затрудняет стандартизацию при постановке диагноза (Seethala R.R., 2011; Faur A.C. et al., 2015; Walsh H. et al., 2023).

Отдельное направление исследований касается метаболического перепрограммирования опухолевых клеток, известного как эффект Варбурга (Warburg O., 1956; Liberti M.V., Locasale J. W., 2016), и экспрессии транспортера глюкозы GLUT1. В ряде работ показано, что гиперэкспрессия GLUT1 характерна для карцином и коррелирует с плохим прогнозом, в то время как в

доброкачественных тканях она минимальна или отсутствует (Starska K. et al., 2015; Mineta H. et al., 2002; Ye Y., Cao Z., 2024). Однако в литературе практически не освещен вопрос о распределении экспрессии GLUT1 в зависимости от клеточного состава гетерогенных опухолей, а стандартизированные подходы к интерпретации этого маркера в комплексе с показателями пролиферации до сих пор не разработаны, особенно в отношении анализа конкретных клеточных популяций (Alves F.A. et al., 2004; Фамилья Фриас Д.Р. и др., 2025).

Также активно изучаются молекулярные механизмы клеточной иммортализации, в частности роль теломеразы и амплификации гена *TERC*. Известно, что реактивация теломеразы является ключевым этапом канцерогенеза (Shay J.W., Wright W.E., 2001), а увеличение числа копий гена *TERC* ассоциировано с агрессивным фенотипом карцином (Liu H. et al., 2012; Heselmeyer-Haddad K. et al., 2005; Cao Y. et al., 2008; Gharib E., Robichaud G.A., 2024). При этом особый интерес вызывает гипотеза о том, что нарушения в системе теломеразы могут возникать уже на этапе доброкачественных опухолей, таких как плеоморфная аденома (ПА), служа ранним маркером генетической нестабильности, однако данные по этому вопросу в литературе немногочисленны и требуют уточнения (Nikolic N. et al., 2015; Gaspar T.B. et al., 2018; Cormier C., Agarwal S., 2022; Feijoo P. et al., 2014).

Таким образом, несмотря на наличие работ по отдельным биомаркерам, в доступной литературе отсутствуют комплексные исследования, объединяющие анализ пролиферации, метаболизма и иммортализации в единой когорте пациентов с учетом клеточной гетерогенности опухолей (Seethala R.R., 2011; Faur A.C. et al., 2015; Walsh H. et al., 2023). Недостаточно изучен вклад конкретных клеточных популяций (мукоцитов, эпидермоидных и промежуточных клеток) в общий биологический потенциал опухоли, а данные о сочетанной роли Ki-67, GLUT1 и статуса гена *TERC* в дифференциальной диагностике и градации ОСЖ остаются фрагментарными (Yang H. et al., 2019; Larsen S.R. et al., 2012). Это определяет очевидный пробел в знаниях и обосновывает необходимость проведения настоящего комплексного исследования.

**Цель исследования** – комплексное изучение пролиферативной активности (Ki-67), экспрессии белков GLUT1, TERT и амплификации гена *TERC* в различных типах опухолей слюнных желез с целью разработки морфологических и молекулярных критериев для улучшения их дифференциальной диагностики и прогностической оценки.

### **Задачи исследования**

1. Оценить особенности пролиферативной активности, экспрессии белков GLUT1 и TERT в доброкачественных опухолях слюнных желез (на модели ПА).

2. Провести сравнение пролиферативной активности и экспрессии белков GLUT1 и TERT в некоторых злокачественных опухолях слюнных желез (МЭК, полиморфная аденокарцинома).

3. Выявить особенности распределения пролиферативной активности и экспрессии белка GLUT1 в различных гистологических компонентах МЭК.

4. Провести корреляционный анализ между пролиферативной активностью, экспрессией белка GLUT1 и различными системами гистологической градации МЭК.

5. Провести анализ амплификации гена *TERC* методом FISH в ПА, МЭК и полиморфной аденокарциноме.

### **Методология и методы исследования.**

Методология исследования построена на системном и комплексном анализе данных. Методы, использованные в работе: морфологический анализ, иммуногистохимическое исследование, молекулярно-генетическое исследование, технология тканевых матриц (ТМА, tissue microarray), анализ ряда клинических данных, статистическая обработка результатов. Предмет исследования: архивный операционный и биопсийный материал лаборатории патологической анатомии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России за период с 2014 года по 2023 год.

### **Научная новизна исследования.**

Впервые на репрезентативной когорте пациентов проведен комплексный анализ маркеров, характеризующих три фундаментальных аспекта онкогенеза в

ОСЖ: пролиферацию, метаболизм глюкозы и механизмы иммортализации. Ключевым элементом новизны является детальный сравнительный анализ экспрессии Ki-67 и GLUT1 в отдельных клеточных популяциях мукоэпидермоидной карциномы. Доказано, что основной вклад в биологический потенциал опухоли вносят эпидермоидные и промежуточные клетки, тогда как мукоциты остаются инертными. Впервые проведен сравнительный анализ статуса гена *TERC* (методом FISH) в спектре от доброкачественной плеоморфной аденомы до злокачественных карцином (МЭК и полиморфная аденокарцинома – ПАК), что позволило подтвердить гипотезу об амплификации *TERC* как события, ассоциированном со злокачественностью.

### **Теоретическая и практическая значимость.**

Теоретическая значимость заключается в углублении представлений о молекулярных механизмах гетерогенности ОСЖ. Результаты работы подтверждают концепцию о том, что биологическое поведение МЭК определяется соотношением пролиферирующего пула (эпидермоидные/промежуточные клетки) и дифференцированного компонента. Практическая значимость состоит в разработке научно-обоснованных рекомендаций:

- 1) внедрение пошагового алгоритма градации МЭК (выявление зон GLUT1 → подсчет Ki-67 в этих зонах);
- 2) обоснование предпочтительного использования систем градации AFIP и Modified Healey;
- 3) использование панели Ki-67/GLUT1/TERT для дифференциальной диагностики сложных случаев ОСЖ;
- 4) применение FISH-анализа амплификации *TERC* для выявления пациентов группы высокого риска.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Комплексный анализ маркеров Ki-67, GLUT1 и TERT позволяет объективно оценивать биологический потенциал ОСЖ. ПА характеризуется низким индексом Ki-67, TERT и отсутствием значимой экспрессии GLUT1, что отличает ее от злокачественных новообразований.

2. В МЭК пролиферативная и метаболическая активность распределена неравномерно: она максимальна в эпидермоидных и промежуточных клетках и минимальна в мукоцитах. Это требует дифференцированного подхода при гистологической оценке.

3. Существует сильная корреляция между экспрессией Ki-67, GLUT1 и степенью злокачественности МЭК. Основной биологический сдвиг агрессивности происходит при переходе от низкой (G1) к средней (G2) степени.

4. Системы градации AFIP и Modified Healey демонстрируют наибольшую корреляцию с молекулярно-биологическим профилем опухоли, что делает их наиболее надежными прогностическими инструментами.

5. Амплификация гена *TERC* является специфическим маркером злокачественности, выявляемым в карциномах (МЭК, ПАК), и отсутствует в доброкачественных плеоморфных аденомах.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности.**

Область настоящего диссертационного исследования соответствует п. 3 («Исследование структурных, молекулярно-клеточных и молекулярно-генетических механизмов развития заболеваний в целом и отдельных их проявлений (симптомы, синдромы), создание основ персонализированной патогенетической терапии и профилактики») паспорта специальности 3.3.2 Патологическая анатомия.

#### **Внедрение результатов исследования.**

Результаты диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре патологической анатомии медицинского института РУДН и используются при преподавании следующих дисциплин: Патологическая анатомия, клиническая патологическая анатомия (специальность «Лечебное дело», 3-й курс); Патологическая анатомия, патанатомия головы и шеи (специальность «Стоматология», 3-й курс); Патологическая анатомия (ординатура и ДПО).

#### **Степень достоверности и апробация результатов.**

Выводы соответствуют задачам и логически следуют из результатов, полученных в ходе исследования. Достоверность результатов обоснована

изучением достаточного объема материала и использованием методов, отвечающих поставленным задачам.

Результаты диссертационного исследования были доложены и опубликованы в виде докладов и тезисов на ряде международных и всероссийских научных конференций. Впервые материалы исследования были представлены на FIRMST International Conference on Applied Anatomy, проходившей в Москве 11–12 февраля 2022 года. В 2023 году автор выступила с докладом и публикацией тезисов на Ежегодной Медицинской Конференции в Баку (27–28 апреля 2023 г.), а также на XIV International Scientific Conference «#SCIENCE4HEALTH2023», состоявшейся в РУДН 14–15 апреля 2023 года. В том же году результаты исследования были представлены на VIII Всероссийской научной конференции «Клинические и теоретические аспекты современной медицины» (РУДН, 15–16 декабря 2023 г.), на VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (РУДН им. П. Лумумбы, 22 декабря 2023 г.), на 78-й Международной научно-практической конференции «Достижения фундаментальной, прикладной медицины и фармации», на XX Международной (XXIX Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых и на Международной научной конференции «SCIENCE4HEALTH» 2025.

**Личный вклад автора** заключался в планировании и проведении исследования, обработке полученных результатов и их анализе, подготовке публикаций и написании текста диссертации. Изучение литературы, охватывающий как отечественные, так и зарубежные источники, посвященные теме диссертационной работе. Автор принимала участие в морфологических исследованиях и систематизировала их результаты. Также провела современный статистический анализ полученных данных. В результате проведенного исследования автор самостоятельно подготовила публикации по результатам диссертационного исследования и разработала практические рекомендации.

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, из них 3 статьи в журналах, входящих в перечень учитываемых SCOPUS научных изданий, и 1 – в

журнале из перечня ВАК, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, и 4 публикации – в материалах российских и международных научных конференций.

### **Объем и структура диссертации**

Объем диссертации составляет 116 страниц и включает введение, обзор литературы, описание материалов и методов, 2 главы собственных исследований, заключение, выводы, практические рекомендации, перспективы дальнейшей разработки темы. Список литературы представлен 259 источниками отечественных и иностранных авторов. Работа иллюстрирована 31 рисунками и 4 таблицами.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ**

### **Материалы и методы исследования**

**Характеристика исследуемой группы:** работа выполнена на базе лаборатории патологической анатомии ФГБУ НМИЦ «ЦНИИСиЧЛХ» Минздрава России. Дизайн исследования представлял собой ретроспективный анализ архивного операционного и биопсийного материала за десятилетний период (с 2014 года по 2023 год).

Проведение диссертационного исследования одобрено Комитетом по этике научных исследований ФГАОУ ВО РУДН им. Патриса Лумумбы (9 декабря 2025 года, протокол №10).

Из общего архива была сформирована репрезентативная выборка, включающая 135 наблюдений новообразований слюнных желез, верифицированных в соответствии с критериями 5-го издания Классификации опухолей головы и шеи ВОЗ (2022). В исследование вошли образцы 75 женщин (55,6%) и 60 мужчин (44,4%) с медианой возраста 48 лет (диапазон 18–82 года).

Выборка была разделена на три диагностические группы:

1) ПА: 67 случаев (49,6% выборки). Группа включала 40 женщин и 27 мужчин, медиана возраста составила 45 лет. Данная группа служила моделью доброкачественного процесса для сравнения молекулярных профилей;

2) МЭК: 58 случаев (43,0% выборки). Группа состояла из 30 женщин и 28 мужчин, медиана возраста – 50 лет. Для всех случаев МЭК была проведена сравнительная гистологическая градация (определение степени злокачественности G1–G3) с использованием четырех международно признанных систем: AFIP (Armed Forces Institute of Pathology), балльной системы Brandwein-Gensler, модифицированной системы Healey и системы MSKCC (Memorial Sloan Kettering Cancer Center) (Таблица 1);

3) ПАК: 10 случаев (7,4% выборки), представленная равным соотношением мужчин и женщин (по 5), с медианой возраста 62 года. Данная группа использовалась как модель злокачественной опухоли с низкой/промежуточной степенью агрессивности и специфическим молекулярным профилем.

**Таблица 1** – Распределение исследованных опухолей МЭК слюнных желёз по системам градации

Тип опухоли	Система градации	G1	G2	G3
Мукоэпидермоидная карцинома (МЭК)	AFIP	18	27	13
	Brandwein	14	29	15
	Modified Healey	17	26	15
	MSKCC	20	25	13

**Гистологические и иммуногистохимические методы:** Материал фиксировали в 10% нейтральном забуференном формалине (24 часа) и подвергали стандартной гистологической проводке с заливкой в парафин. С блоков изготавливали серийные срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии и верификации диагноза.

Иммуногистохимическое (ИГХ) исследование проводилось на автоматическом иммуностейнере Autostainer 360 (Thermo Scientific) с использованием системы детекции QUANTO. Протокол включал высокотемпературную демаскировку антигенов в РТ-модуле с использованием цитратного буфера (pH 6,0) для ядерных маркеров и буфера с pH 9,0 для мембранных маркеров. Панель антител включала:

**Ki-67:** кроличьи моноклональные антитела (клон SP6, Diagnostic Biosystems, США) для оценки пролиферативной активности. Подсчет проводился в «горячих

точках» (hot spots) с анализом не менее 300–500 опухолевых клеток. Индекс Ki-67 рассчитывался как процент позитивно окрашенных ядер.

**Особенность методики для МЭК:** оценка индекса Ki-67 проводилась дифференцированно для трех типов клеток: мукоцитов, промежуточных и эпидермоидных клеток, что позволило выявить внутриопухолевую гетерогенность пролиферации.

**GLUT1:** поликлональные антитела к транспортеру глюкозы (Thermo Fisher Scientific, США) 1 для оценки метаболической адаптации. Оценка проводилась полуколичественно по интенсивности мембранно-цитоплазматического окрашивания (0 – отсутствие, 1 – слабая, 2 – умеренная, 3 – выраженная). Случай расценивался как позитивный при наличии окрашивания  $\geq 5\%$  клеток.

**TERT:** поликлональные кроличьи антитела к теломеразной обратной транскриптазе (TRT, Abbotec, США). Оценивалась интенсивность ядерного окрашивания по шкале 0–3 балла.

**Молекулярно-генетический анализ (FISH):** для оценки статуса иммортализации (амплификации гена *TERC*) (CytoTest, США) использовался метод флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) на тканевых матрицах (Tissue Microarrays – TMA).

**Конструирование TMA:** из донорских парафиновых блоков, предварительно размеченных по срезам, окрашенным гематоксилином и эозином, извлекались репрезентативные цилиндры ткани (керны) диаметром 1,5 мм и переносились в реципиентный блок. Это обеспечило стандартизацию условий гибридизации для большого массива образцов.

**Протокол гибридизации:** использовался двухцветный зонд LSP *TERC/CCP3* FISH Probe Kit (CytoTest), где *TERC* (локус 3q26.2) был мечен оранжевым флуорохромом, а центромера 3-й хромосомы (*CCP3*) – зеленым. Анализ проводился на флуоресцентном микроскопе.

Интерпретация: подсчитывалось количество сигналов в 100 интерфазных ядрах. Амплификация констатировалась при соотношении сигналов *TERC/CCP3*  $> 2,0$  или при наличии кластеров сигналов гена *TERC*.

Статистическая обработка данных выполнялась в программном пакете IBM SPSS Statistics v.23. Проверка на нормальность распределения показала, что количественные данные (индекс Ki-67) имеют распределение, отличное от нормального, поэтому использовались методы непараметрической статистики. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного размаха (IQR; 25-й и 75-й процентиля). Для сравнения трех и более независимых групп (например, клеточных популяций в МЭК или степеней злокачественности G1 – G3) применялся Н-критерий Краскела – Уоллиса. При выявлении значимых различий проводились апостериорные попарные сравнения с использованием критерия Данна с поправкой Бонферрони на множественность сравнений. Корреляционный анализ между экспрессией маркеров и системами градации проводился с расчетом коэффициента ранговой корреляции Спирмена ( $\rho$ ). Различия считались статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Морфофункциональная характеристика доброкачественных опухолей**

В ходе исследования была проведена комплексная оценка 67 случаев ПА, которая послужила моделью доброкачественного опухолевого роста. Гистологически все образования демонстрировали классическое двухфазное строение с переменным соотношением эпителиального и мезенхимального компонентов (Рисунок 1А).

Иммуногистохимический анализ пролиферативной активности выявил стабильно низкий уровень экспрессии белка Ki-67. Медианное значение индекса метки (ИМ) Ki-67 в группе составило 3,2% (интерквартильный размах: 1,3–6,7%). В 75% наблюдений уровень пролиферации не превышал порогового значения в 7%, что подтверждает индолентный характер течения данного новообразования (Рисунок 1Б). Однако в единичных случаях (так называемых ПА с признаками клеточной атипии) отмечались локальные зоны повышенной пролиферативной активности, что требовало тщательной дифференциальной диагностики с карциномой из плеоморфной аденомы (Рисунок 2А-Б).

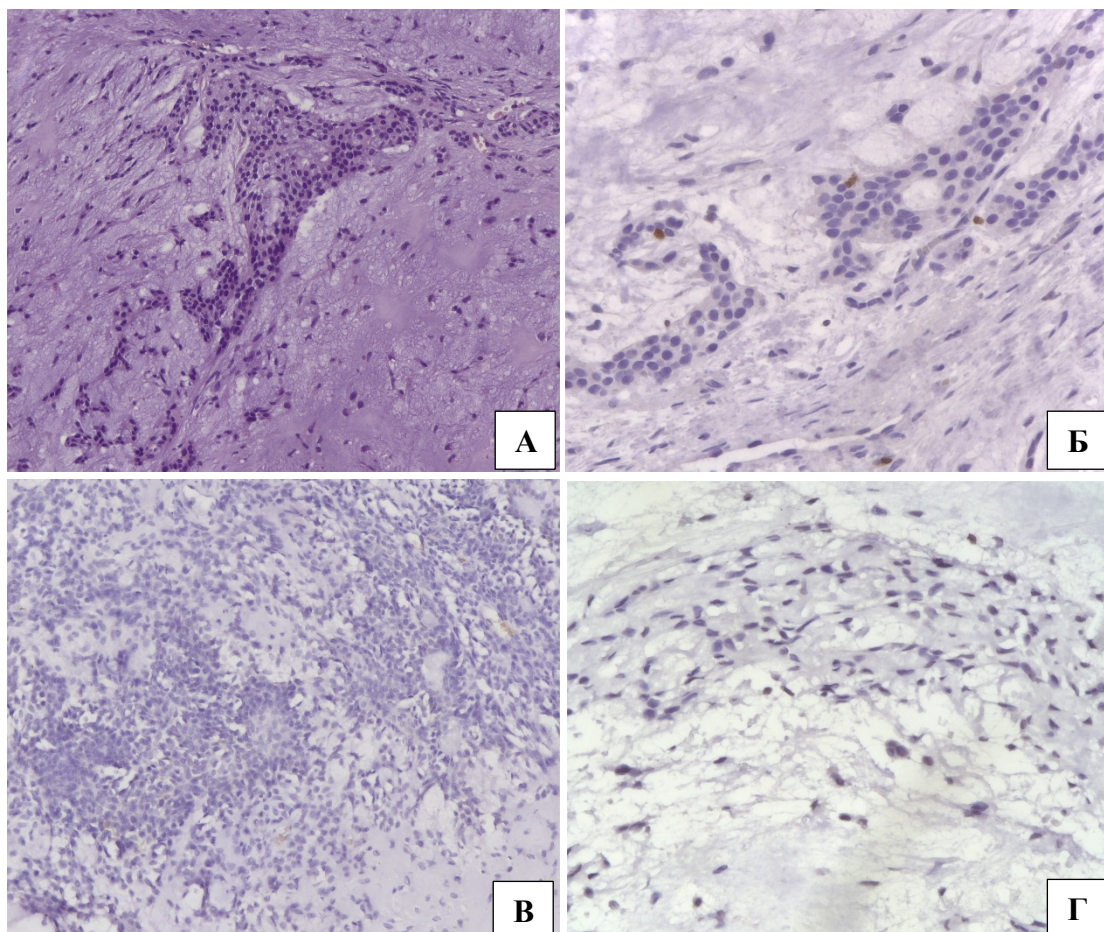


Рисунок 1 – А – ПА  $\times 100$  окрашивание гематоксилин-эозин; Б – ПА  $\times 200$  ИГХ реакция с антителами к белку Ki-67; В – ПА  $\times 100$ , ИГХ реакция с антителами к белку GLUT1; Г – ПА  $\times 200$ , отсутствует ядерной реакции к теломеразной обратной транскриптазе (TERT). Окр. ДАБ-гематоксилином Майера.

Оценка метаболического профиля показала отсутствие эффекта Варбурга в доброкачественных клетках. Экспрессия мембранного транспортера глюкозы GLUT1 отсутствовала (0 баллов) в 65 из 67 случаев (97%) (Рисунок 1В). Лишь в 3% наблюдений фиксировалась слабая очаговая реакция (1 балл) (Рисунок 2В), не имеющая диффузного характера. Это свидетельствует о том, что метаболическое перепрограммирование на аэробный гликолиз является признаком, специфичным для злокачественной трансформации в слюнных железах.

При исследовании механизмов иммортализации было установлено, что в подавляющем большинстве случаев (82,1%) экспрессия каталитической субъединицы теломеразы (TERT) отсутствует (Рисунок 1Г). Тем не менее, в 17,9% образцов была выявлена слабая ядерная экспрессия TERT. Сопоставление этих данных с результатами FISH-анализа, который продемонстрировал отсутствие амплификации гена *TERC* во всех случаях ПА (соотношение сигналов 2:2), позволяет сделать вывод, что появление белка TERT может быть ранним, эпигенетически регулируемым событием, предшествующим геномной нестабильности. Таким образом, группа ПА с экспрессией TERT может рассматриваться как когорта повышенного риска, требующая длительного мониторинга.

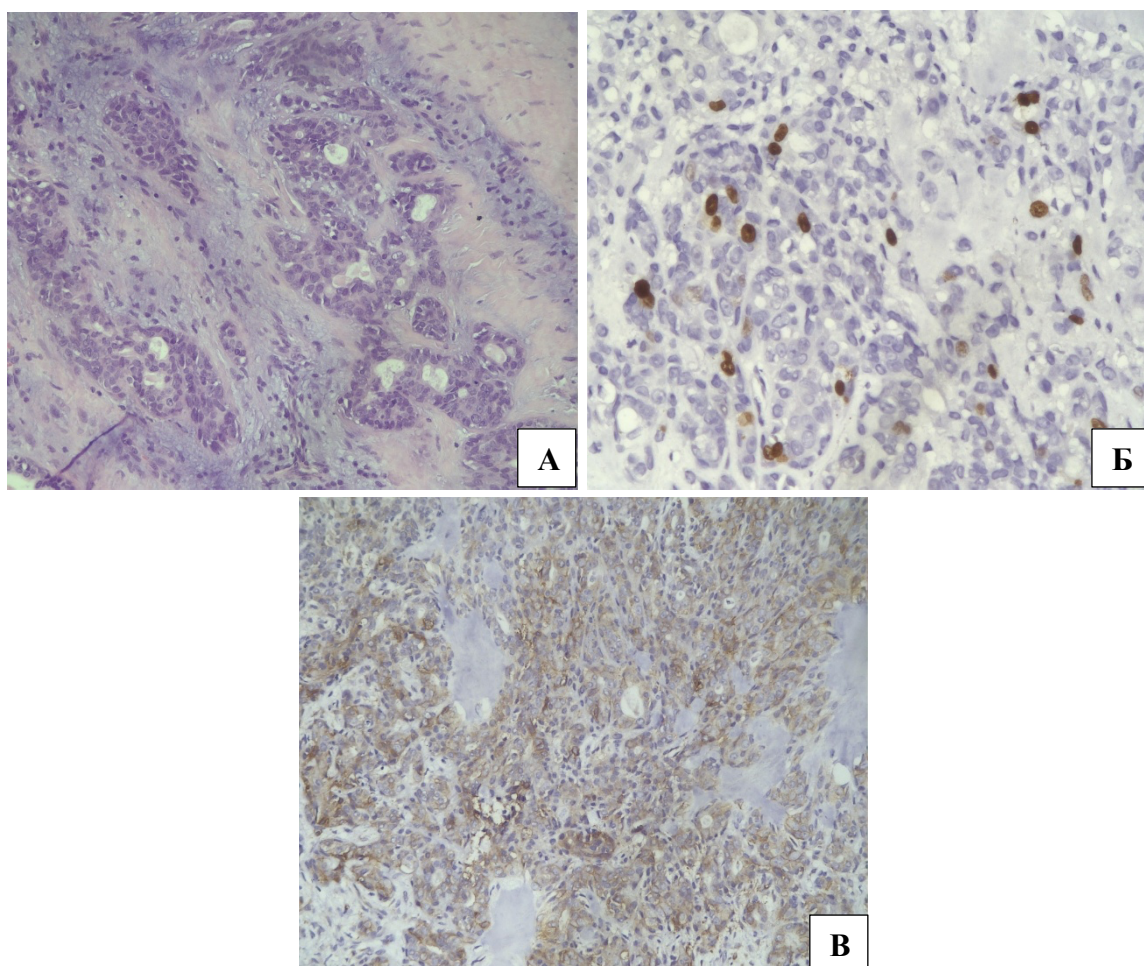


Рисунок 2 – А – ПА с подозрением на злокачественную трансформацию  $\times 100$ , окрашивание гематоксилин-эозин; Б – ПА с подозрением на злокачественную трансформацию  $\times 200$ , ИГХ реакция с антителами к белку Ki-67; В – ПА с подозрением на злокачественную трансформацию  $\times 100$ , ИГХ реакция с антителами к белку GLUT1. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера

**Закономерности клеточной гетерогенности и градации МЭК.** Центральным этапом исследования стал анализ 58 случаев МЭК. Гистологическое строение опухолей варьировало от кистозного (низкая степень злокачественности) до солидного (высокая степень) (Рисунок 3).

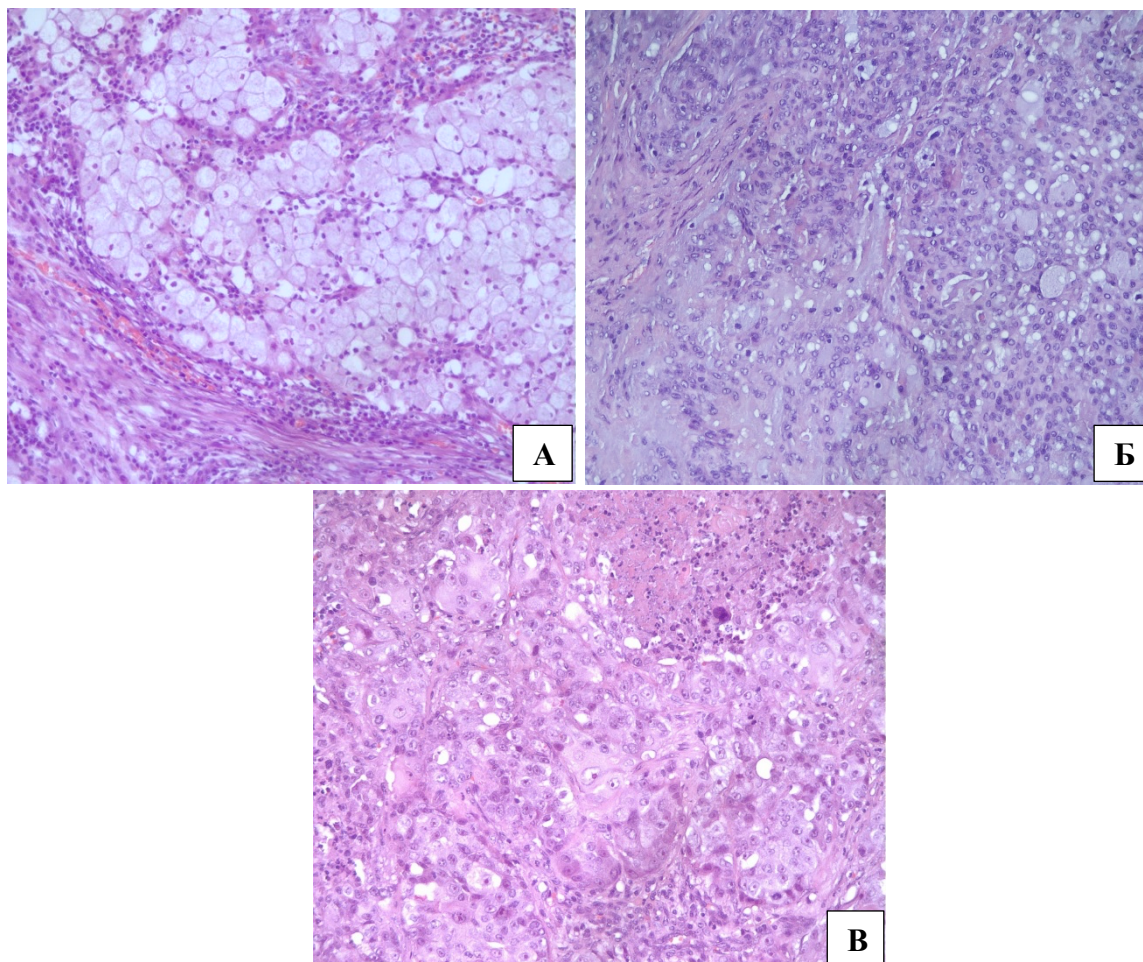


Рисунок 3 – А – МЭК G1  $\times 200$ ; Б – МЭК G2  $\times 100$ ; В – МЭК G3  $\times 200$ , окрашивание гематоксилин-эозин.

**Внутриопухолевая гетерогенность.** Впервые был проведен дифференцированный количественный анализ биомаркеров в зависимости от типа опухолевых клеток. Статистический анализ (критерий Краскела – Уоллиса,  $N=85,92$ ,  $p<0,0001$ ) выявил фундаментальные различия в биологическом потенциале клеточных популяций:

1. эпидермоидные клетки демонстрировали наивысшую активность: Ki-67: Me 13,3 [9,3; 18,35]; GLUT1: Me 2 [1; 3];

2. промежуточные клетки занимали срединное положение: Ki-67: Me 7,5 [5,3; 10,7]; GLUT1: Me 1 [1; 2];

3. мукоциты характеризовались минимальной активностью: медиана Ki-67 Me 2,35 [0,0; 3,85], экспрессия GLUT1 отсутствовала (0 баллов) в большинстве клеток.

Полученные данные доказывают, что драйвером опухолевого роста и метаболической агрессии является солидный компонент (эпидермоидные и промежуточные клетки) (Рисунок 4), тогда как слизеобразующие элементы представляют собой терминально дифференцированную, функционально инертную популяцию. Это диктует необходимость пересмотра подходов к оценке индекса Ki-67: подсчет маркера «в среднем» по всей площади среза в богатых муцином опухолях ведет к ложному занижению показателей агрессивности.

**Связь со степенью злокачественности.** Установлена прямая корреляция между экспрессией исследуемых маркеров и гистологическим грейдом (G1 – G3).

1. В опухолях G1 (низкой степени) преобладали низкие значения Ki-67 ( $\leq 18,7\%$ ) и отсутствие/слабая экспрессия GLUT1 (53,4% случаев).

2. При переходе к G2 (средней степени) наблюдался статистически значимый скачок показателей пролиферации и гликолиза.

3. Опухоли G3 (высокой степени) в 100% случаев демонстрировали высокую пролиферативную активность ( $> 30\%$ ) и диффузную экспрессию GLUT1 (2–3 балла).

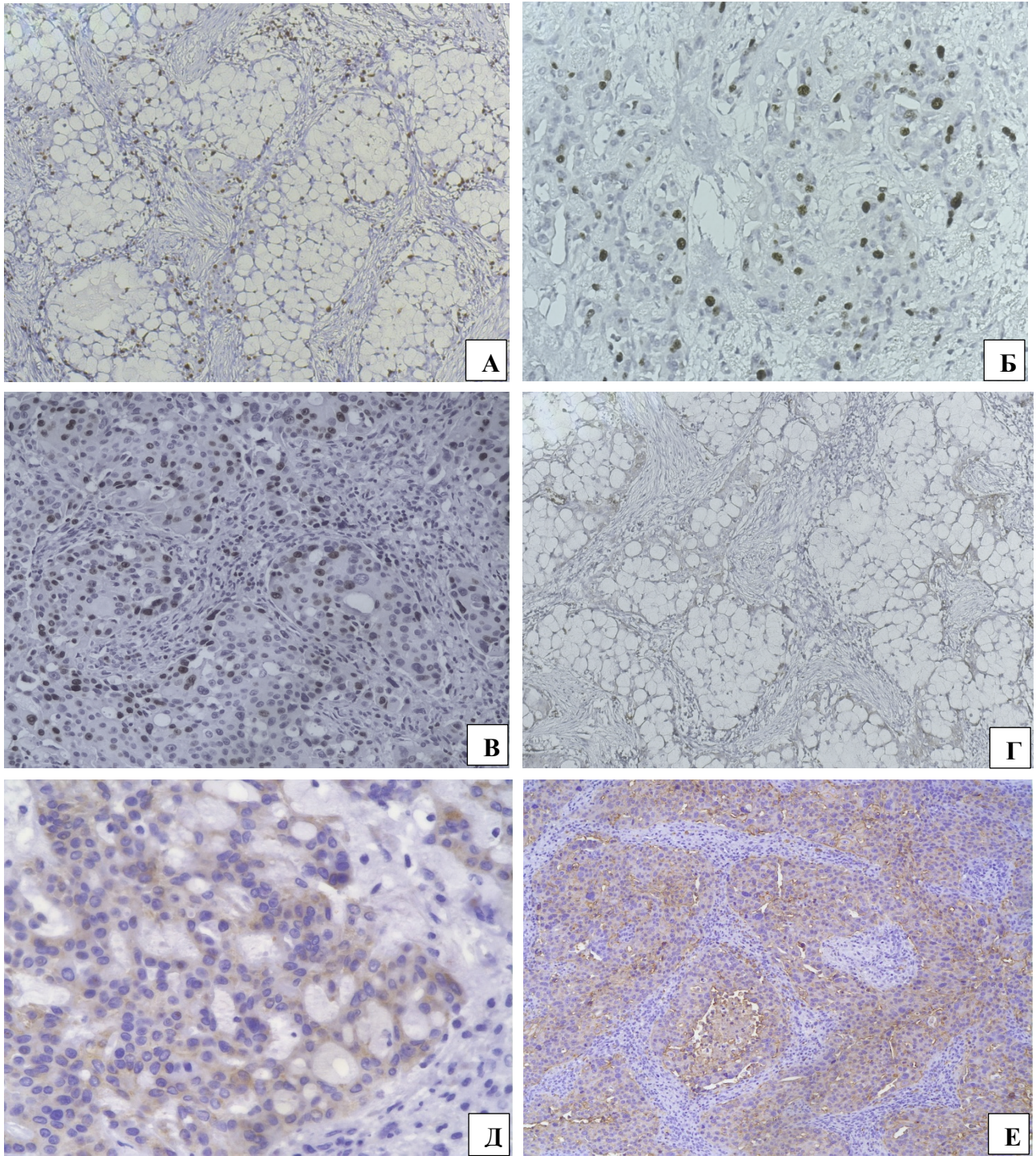


Рисунок 4 – А – МЭК G1×100; Б – МЭК G2×200; В – МЭК G3×200, ИГХ реакция с антителами к белку Ki-67; Г – МЭК G1×100; Д – МЭК G2×200; Е – МЭК G3×100, ИГХ реакция с антителами к белку GLUT1. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера

Экспрессия TERT также прогрессивно нарастала от единичных позитивных ядер в G1 до выраженной реакции в G3 ( $p < 0,001$ ), что отражает активацию механизмов поддержания длины теломер как необходимого условия для бесконтрольной пролиферации (Рисунок 5).

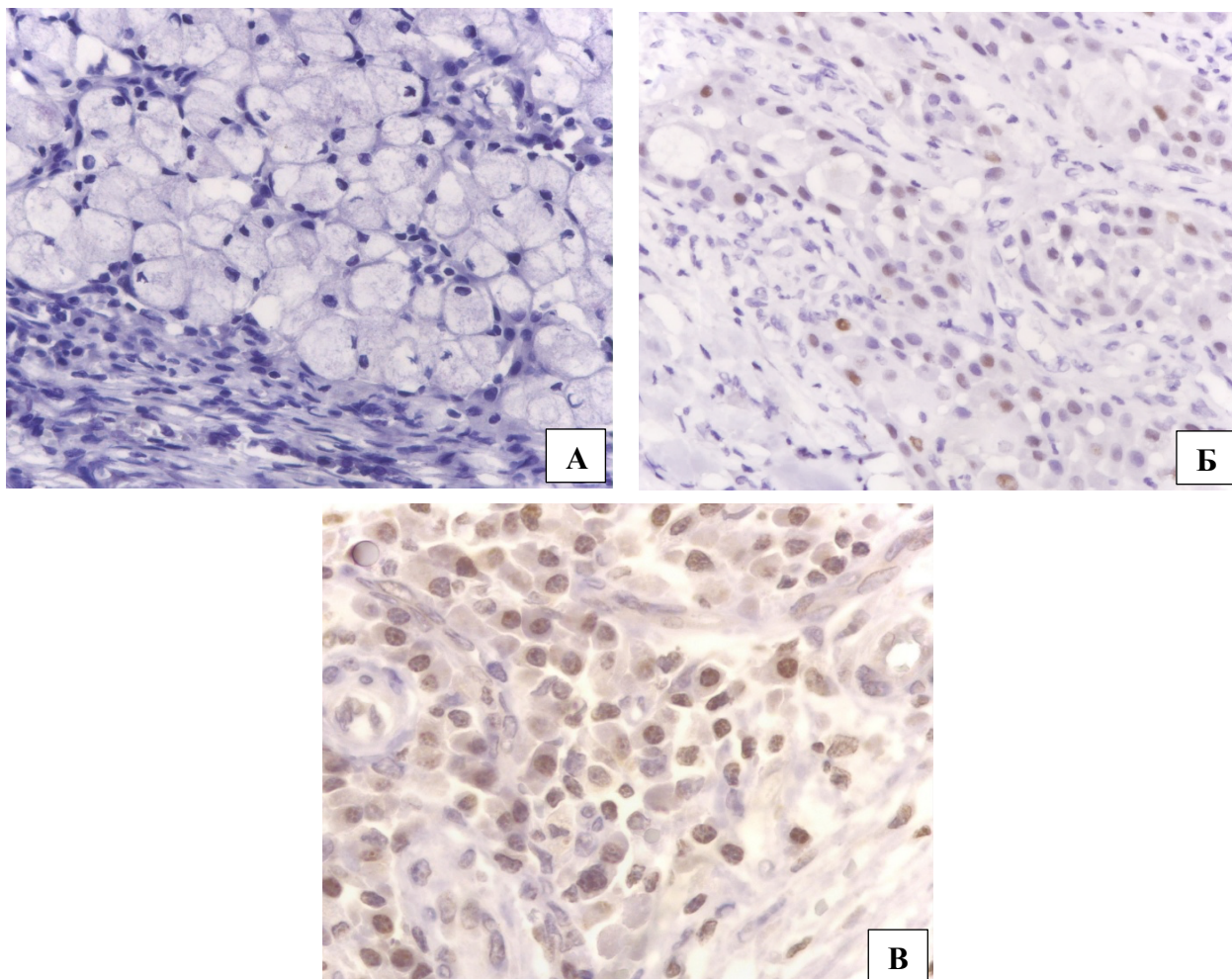


Рисунок 5 – А – МЭК G1×200; Б – МЭК G2×200; В –МЭК G3×400, ядерная реакция к обратной транскриптазе TERT. Окр. ДАБ-гематоксилином Майера

### **Валидация систем гистологической градации**

Сравнительный корреляционный анализ четырех систем градации (AFIP, Brandwein, Modified Healey, MSKCC) с объективным молекулярным профилем опухоли (интегральный индекс Ki-67 + GLUT1) показал следующие результаты:

1. наибольшую прогностическую ценность продемонстрировали системы Modified Healey ( $\rho=0,277$ ;  $p=0,035$ ) и AFIP ( $\rho=0,272$ ;  $p=0,039$ ). Данные системы, базирующиеся на оценке архитектуры (соотношение кист и солидных участков), косвенно учитывают объем пролиферативно активной клеточной массы, что подтверждается нашими молекулярными данными;

2. системы Brandwein и MSKCC показали слабую и статистически незначимую корреляцию с маркерами. Это объясняется тем, что балльная оценка в системе Brandwein часто приводит к завышению степени злокачественности (upgrading) за счет признаков, не всегда отражающих пролиферативный потенциал (например, инвазия), тогда как MSKCC, напротив, склонна к консервативной оценке.

### **Особенности полиморфной аденокарциномы**

Группа ПАК продемонстрировала промежуточный биологический профиль. Проллиферативная активность (Ki-67) находилась в диапазоне 5–10%, что достоверно выше, чем в плеоморфной аденоме, но ниже, чем в МЭК высокой степени злокачественности. Экспрессия GLUT1 была выявлена в 80% случаев, однако, в отличие от карцином высокой степени, она носила гетерогенный характер, часто локализуясь в зонах инвазивного роста и периневральных пространствах. Экспрессия TERT варьировала от слабой до умеренной, сильная реакция не встречалась. Эти данные подтверждают статус ПАК как опухоли с низким/промежуточным потенциалом злокачественности, но выраженной способностью к локальной инвазии (Рисунок 6).

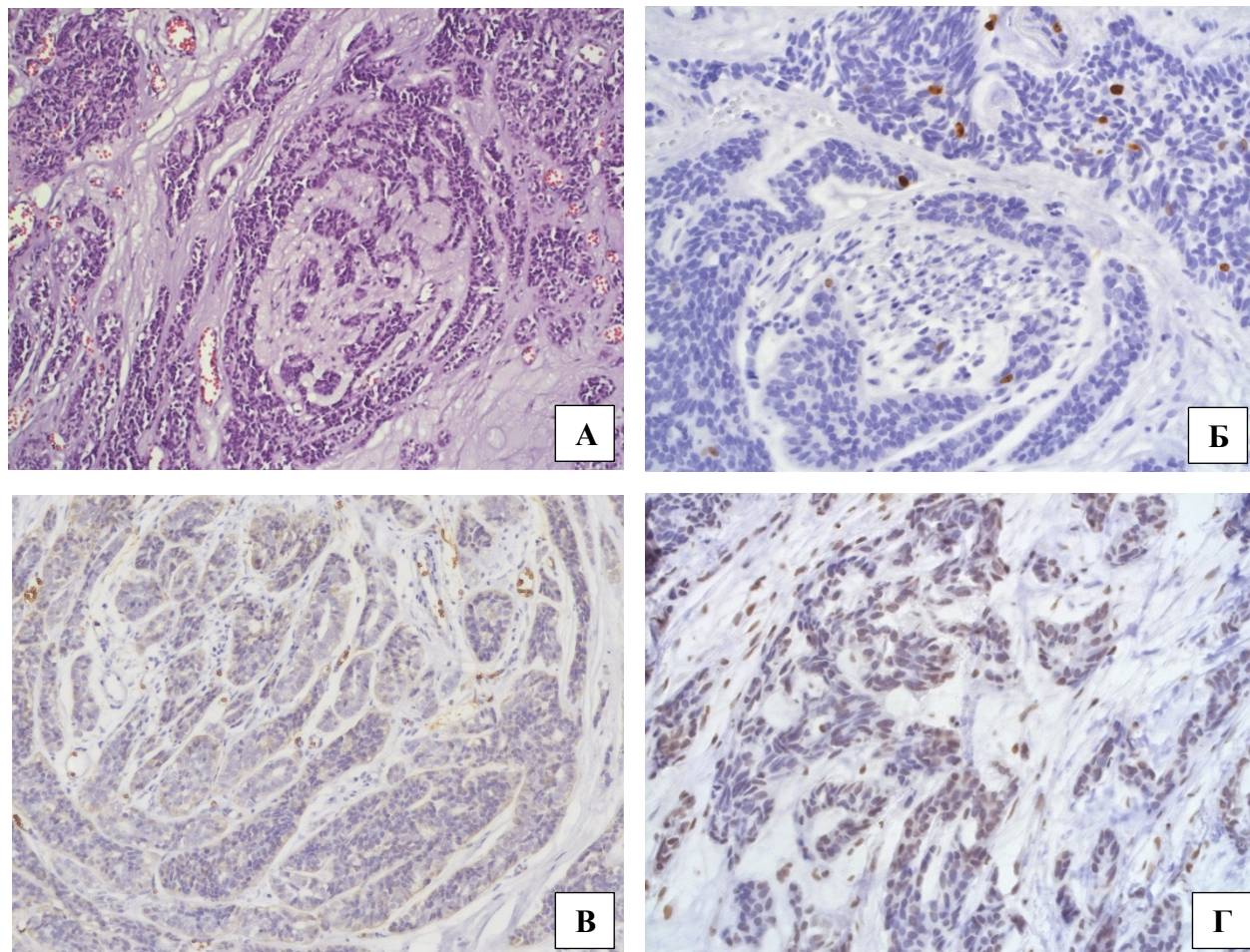


Рисунок 6 – А – ПАК  $\times 100$ , окрашивание гематоксилин-эозин; Б – ПАК  $\times 200$  ИГХ реакция с антителами к белку Ki-67; В – ПАК  $\times 100$  ИГХ реакция с антителами к белку GLUT1; Г – ПАК  $\times 200$  ядерная реакция к обратной транскриптазе TERT.  
Окр. ДАБ-гематоксилином Майера

### Молекулярно-генетический профиль (FISH-анализ)

Анализ амплификации гена *TERC* позволил четко разграничить доброкачественные и злокачественные процессы.

1. В плеоморфной аденоме амплификация полностью отсутствовала (сигналы 2:2) (Рисунок 7А).

2. В злокачественных опухолях (МЭК и ПАК) выявлено увеличение числа копий гена *TERC*. Частота и степень амплификации коррелировали со степенью анаплазии: от низкого уровня (gain, сигналы 2:3) в МЭК G1 и ПАК до образования кластеров (amplification, сигналы  $> 4$ ) в МЭК G3 (Рисунок 7 В – 6Д).

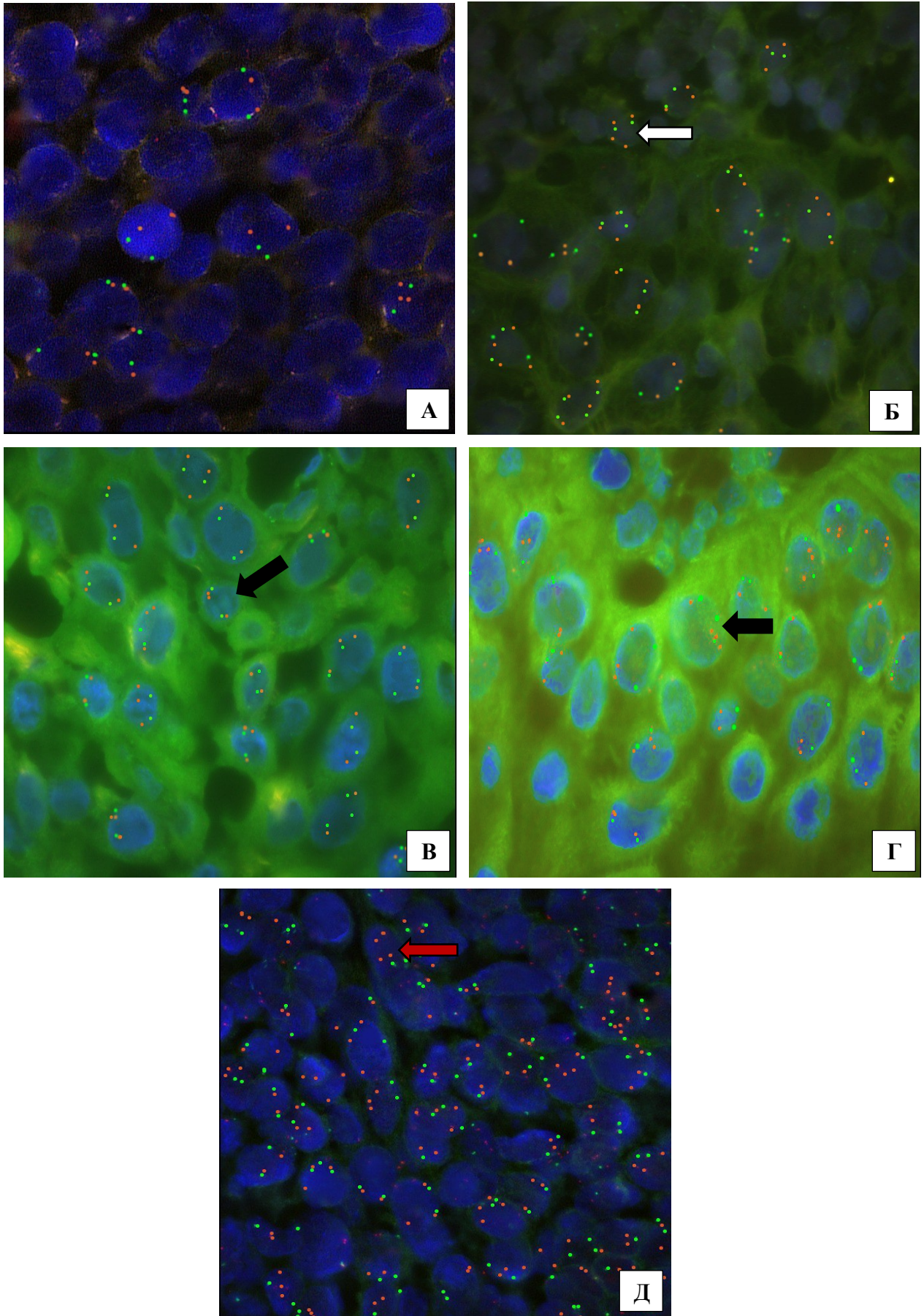


Рисунок 7 – А – ПА; Б – ПАК; В – МЭК G1; Г – МЭК G2; Д – МЭК G3, FISH амплификация гена *TERC*  $\times 1000$

Таким образом, амплификация *TERC* является поздним событием в канцерогенезе слюнных желез и высокоспецифичным маркером злокачественности.

Полученные результаты позволяют предложить модель патогенеза ОСЖ, основанную на интеграции метаболических и пролиферативных параметров. Доброкачественные опухоли (ПА) характеризуются «метаболическим покоем» и отсутствием репликативного бессмертия. Появление слабой экспрессии TERT в части ПА может служить ранним маркером клональной эволюции. Злокачественная трансформация сопряжена с синхронной активацией аэробного гликолиза (GLUT1+) и клеточного цикла (Ki-67+). В гетерогенных опухолях, таких как МЭК, этот процесс происходит не диффузно, а избирательно – в популяциях эпидермоидных и промежуточных клеток. Мукоциты, вероятно, представляют собой «тупиковую» ветвь дифференцировки, сохраняющую метаболический профиль нормальной ткани.

На основании выявленной топографической сопряженности маркеров разработан алгоритм объективизации градации МЭК:

1. иммуногистохимическое окрашивание на GLUT1 для выявления метаболически активных «горячих зон»;
2. прицельный подсчет индекса Ki-67 именно в зонах гиперэкспрессии GLUT1;
3. использование полученных данных для уточнения степени злокачественности в спорных случаях (особенно при дифференциальной диагностике G2 vs G3), где морфологические критерии субъективны.

Комплексный анализ позволил сформировать модель прогрессии опухолей ОСЖ. Ранние этапы (ПА с подозрением на злокачественную трансформацию, МЭК G1) характеризуются низкой активностью Ki-67, отсутствием GLUT1 и стабильным геномом. Промежуточный этап (МЭК G2) сопровождается резким увеличением пролиферации и метаболической активности. Поздний этап прогрессии (МЭК G3) характеризуется полной активацией теломеразной системы (амплификация *TERC*, экспрессия TERT) и агрессивным метаболизмом. Внедрение

пошагового алгоритма диагностики (определение зон экспрессии GLUT1 с последующим подсчетом Ki-67 в этих зонах) обеспечивает биологически обоснованную оценку злокачественного потенциала (Рисунок 7).

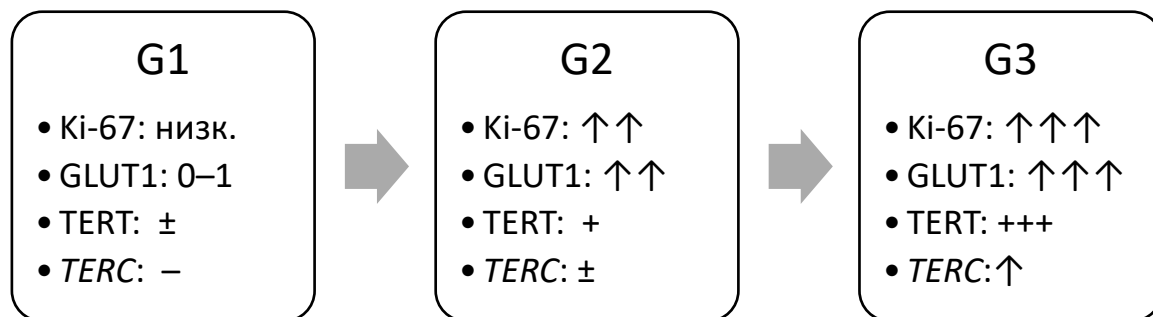


Рисунок 7 – Схема взаимосвязи пролиферации, метаболической активности и гистологической градации МЭК

Таким образом, сопоставление экспрессии Ki-67, GLUT1, TERT и *TERC* с морфологическими признаками и системами градации позволяет предложить интегрированный подход, в котором учитывается не только уровень экспрессии, но и распределение маркеров по различным клеточным компонентам опухоли. Такой анализ нивелирует влияние гистологической гетерогенности и повышает точность стратификации опухолей.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. В доброкачественных опухолях слюнных желез (ПА) наблюдается низкая пролиферативная активность эпителиальных клеток (Ki-67 – Me 3,2% [1,3;6,7]), отсутствие значимой экспрессии TERT и переносчика глюкозы GLUT1, отсутствие амплификации гена *TERC*, что отражает их индолентное биологическое поведение.

2. В злокачественных опухолях (МЭК, ПАК) выявлена достоверно более высокая пролиферативная активность по данным Ki-67 – Me 22,1 [17,65; 32,97], высокая экспрессия маркеров метаболической адаптации GLUT1 – Me 2 [0; 3] и иммортализации TERT – Me 2 [0; 3], уровень экспрессии которых коррелирует со степенью злокачественности опухоли.

3. Установлена выраженная внутриопухолевая гетерогенность мукоэпидермоидной карциномы: пролиферативная активность (Ki-67) и экспрессия GLUT1 максимальны в эпидермоидных клетках (Ki-67: Me 13,3 [9,3;

18,35]; GLUT1: Me 2 [1; 3]) и промежуточных клетках (Ki-67: Me 7,5 [5,3; 10,7]; GLUT1: Me 1 [1; 2]), тогда как мукоциты характеризуются пролиферативной и метаболической инертностью (Ki-67: Me 2,35 [0,0; 3,85]; GLUT1: Me 0 [0; 1]).

4. Сравнительный анализ систем градации МЭК показал, что система AFIP обладает наибольшей корреляцией с объективными биомаркерами агрессивности (Ki-67, GLUT1), что делает её предпочтительной для клинического использования. Система Modified Healey также показала высокую биологическую валидность.

5. Амплификация гена *TERC* является специфическим признаком злокачественности в изученной группе. Она выявлена в клетках мукоэпидермоидной и полиморфной аденокарциномы, коррелирует с гистологическим грейдом, но полностью отсутствует в плеоморфной аденоме.

### **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Для дифференциальной диагностики сложных случаев ОСЖ рекомендуется использование ИГХ-панели Ki-67 + GLUT1. Сочетание низкого Ki-67 (<5%) и отсутствия GLUT1 с высокой вероятностью указывает на доброкачественный процесс.

2. При гистологической градации мукоэпидермоидной карциномы рекомендуется применять прицельную оценку пролиферативной активности в солидных (эпидермоидных/промежуточных) участках опухоли, игнорируя зоны скопления мукоцитов, для исключения ложно заниженных результатов.

3. В патологоанатомической практике для градации МЭК целесообразно отдавать приоритет системам AFIP или Modified Healey как наиболее биологически обоснованным.

4. Пациентам с плеоморфной аденомой, в образцах которой выявлена экспрессия TERT (даже при доброкачественной опухоли), рекомендуется более тщательное динамическое наблюдение, ввиду потенциального риска накопления генетических нарушений.

5. FISH-анализ амплификации *TERC* может быть рекомендован как дополнительный метод стратификации риска при карциномах средней степени злокачественности для уточнения прогноза.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Оценка пролиферативной активности и метаболизма глюкозы в клетках мукоэпидермоидной карциномы слюнных желез при различных системах градации / Д. Р. Фамилья Фриас, З. Ю. Висаитова, Ю. О. Тигай, А. А. Ивина, И. И. Бабиченко // Вестник РГМУ. – 2025. – № 2. – С. 4–10. **(Scopus)**

2. Фамилья Фриас, Д. Р. Показатели транспорта глюкозы и пролиферативной активности в различных клеточных компонентах мукоэпидермоидной карциномы слюнной железы / Д. Р. Фамилья Фриас, В. З. Висаитова, Ю. О. Тигай // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2025. – Т. 14, № 4. – С. 49–54. **(Scopus)**

3. Молекулярно-генетические исследования полиморфной аденокарциномы слюнной железы: обзор литературы и описание клинического случая / Д. Р. Фамилья Фриас, М. Н. Большаков, И. И. Бабиченко // Стоматология. – 2023. – Т. 102, № 4. – С. 59–63. **(Scopus)**

4. Familia Frias, D. R. Comparative study of immunohistochemistry markers used in the diagnosis and grading of mucoperidermoid carcinoma based on literature review / D. R. Familia Frias, I. I. Babichenko // Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования. – 2022. – № 4. – С. 35–38. **(Перечень ВАК по спец. 3.3.2. Патологическая анатомия (медицинские науки))**

5. Ravoori, P. L. Gland Mucoperidermoid Carcinoma – Comparative Study of Immunohistochemistry and Postsurgical Radiation Therapy / P. L Ravoori, D. R. Familia Frias // FIRMST International Conference on Applied Anatomy, 11–12 February 2022. – P. 2. **(Конференция)**

6. Familia Frias, D. R., Molecular and genetic studies of polymorphic adenocarcinoma of the salivary gland: description of a clinical case / D. R. Familia Frias, M. N. Bolshakov, I. I. Babichenko // Ежегодная медицинская конференция, Баку, 2023. – С. 46–47. **(Конференция)**

7. Фамилия Фриас, Д. Р. Метаболизм глюкозы основных клеточных компонентов мукоэпидермоидной карциномы слюнных желез / Д. Р. Фамилия

Фриас, Ю. О. Тигай, И. И. Бабиченко // VII Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием, Москва, РУДН им. П. Лумумба, 22 декабря 2023 г. – С. 359–361. **(Конференция)**

8. Фамилья Фриас, Д. Р. Корреляция GLUT-1 и Ki-67 с различными системами градации мукоэпидермоидной карциномы слюнных желез / Д. Р. Фамилья Фриас, Ю. О. Тигай // XX Международная (XXIX Всероссийская) Пироговская научная медицинская конференция студентов и молодых ученых (Москва, 20 марта 2025 г.). Сборник тезисов / РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Пироговский Университет) / Студенческое научное общество Пироговского Университета. – Москва: ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет), 2025. – 226 с. – С. 189. **(Конференция)**

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АКК – аденокистозная карцинома

АциКК – ацинарно-клеточная карцинома

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

МЭК – мукоэпидермоидная карцинома

ОСЖ – опухоли слюнных желез

ПА – плеоморфная аденома

ПАК – полиморфная аденокарцинома

СЖ – слюнные железы

AFIP – Armed Forces Institute of Pathology (Институт патологии Вооруженных сил)

ALT – Alternative Lengthening of Telomeres (Альтернативное удлинение теломер)

CCP3 – Chromosome 3 Centromere Probe (Зонд к центромере хромосомы 3)

CDK – Cyclin-Dependent Kinase (Циклин-зависимая киназа)

CKI – CDK inhibitor (Ингибитор циклин-зависимых киназ)

FISH – Fluorescence *in situ* Hybridization (Флуоресцентная гибридизация *in situ*)

GLUT1 – Glucose Transporter 1 (Транспортер глюкозы 1)

HER2 – Human Epidermal growth factor Receptor 2 (Рецептор эпидермального фактора роста человека 2)

IQR – Interquartile Range (Интерквартильный размах)

MSKCC – Memorial Sloan Kettering Cancer Center

pRb – Retinoblastoma protein (Белок ретинобластомы)

SMA – Smooth Muscle Actin (Гладкомышечный актин)

*TERC* – Telomerase RNA Component (РНК-компонент теломеразы)

TERT – Telomerase Reverse Transcriptase (Теломеразная обратная транскриптаза)

TMA – Tissue Microarray (Тканевые матрицы)

**Фамилья Фриас Д. Р.**

**«Особенности метаболизма глюкозы и пролиферативной активности опухолей слюнных желез»**

Диссертация представляет собой исследование биологических маркеров опухолей слюнных желез, отражающих молекулярно-генетические механизмы пролиферации, метаболической адаптации и клеточной иммортализации (индекс Ki-67, экспрессия транспортера глюкозы GLUT1, экспрессия белка TERT и амплификация гена *TERC*).

В доброкачественных опухолях слюнных желез (плеоморфная аденома) наблюдается низкая пролиферативная активность эпителиальных клеток, отсутствие значимой экспрессии переносчика глюкозы GLUT1 и отсутствие амплификации гена *TERC*, что отражает их индолентное биологическое поведение.

В злокачественных опухолях (мукоэпидермоидная карцинома, полиморфная аденокарцинома) выявлена достоверно более высокая пролиферативная активность по данным Ki-67, а также высокая экспрессия GLUT1 и TERT, уровень которых коррелирует со степенью злокачественности опухоли.

Выявлены и описаны зависимости между исследуемыми биологическими маркерами и степенью злокачественности, а также клеточным составом новообразований, что позволило разработать пошаговый алгоритм морфофункциональной градации мукоэпидермоидной карциномы для повышения точности диагностики. В ходе исследования было обнаружено, что для мукоэпидермоидной карциномы характерно наличие выраженной внутриопухолевой гетерогенности: основной вклад в пролиферативный и метаболический потенциал вносят эпидермоидные и промежуточные клетки, тогда как мукоциты остаются функционально инертными; доказано, что системы градации AFIP и Modified Healey демонстрируют наиболее высокую корреляцию с молекулярно-генетическим профилем опухоли; установлено, что амплификация гена *TERC* является высокоспецифичным маркером злокачественности опухоли, выявляемым в карциномах, но отсутствующим в доброкачественных плеоморфных аденомах; выявлено, что ключевой биологический сдвиг в сторону агрессивности происходит при переходе от низкой к средней степени злокачественности.

**Familia Frias Diana Rosina**

**“Features of Glucose Metabolism and Proliferative Activity in Salivary Gland Tumors”**

This thesis presents a study of biological markers of salivary gland tumors that reflect the molecular-genetic mechanisms of proliferation, metabolic adaptation, and cellular immortalization (Ki-67 index, expression of the glucose transporter GLUT1, expression of the TERT protein, and amplification of the *TERC* gene).

In benign salivary gland tumors, such as pleomorphic adenomas, epithelial cells exhibit low proliferative activity, lack significant expression of the glucose transporter GLUT1, and show no amplification of the *TERC* gene-features that reflect their indolent biological behavior.

In contrast, malignant tumors like mucoepidermoid carcinoma and polymorphous adenocarcinoma demonstrate significantly higher proliferative activity based on Ki-67

expression, along with elevated levels of GLUT1 and TERT, which correlate with tumor grade.

The study identified and described clear relationships between the analyzed biological markers, tumor grade, and cellular composition. These findings enabled the development of a step-by-step morphofunctional grading algorithm for mucoepidermoid carcinoma to improve diagnostic accuracy. Notably, the research revealed pronounced intratumoral heterogeneity in mucoepidermoid carcinoma. Epidermoid and intermediate cells were shown to be the primary contributors to the tumor's proliferative and metabolic potential, whereas mucous cells remained functionally inactive. It was also demonstrated that the AFIP and Modified Healey grading systems show the highest correlation with the tumor's molecular-genetic profile. Moreover, *TERC* gene amplification emerged as a highly specific marker of malignancy, present in carcinomas but absent in benign pleomorphic adenomas. Finally, the study established that the critical biological shift toward aggressiveness occurs during the transition from low- to intermediate-grade malignancy.