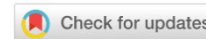


ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY



УДК 619:616-006:636.7

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-54-60>

Экспрессия vimentin, α -SMA и CD34 в злокачественных типах опухолей молочной железы у собак

А.А. Дарбишева , О.В. Дилекова

Ставропольский государственный аграрный университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

✉ darbisevaalina@gmail.com



EDN: GIVVOK

Аннотация

Введение. На данном этапе изучения опухолей молочной железы микроокружение рассматривается как ключевой элемент, способствующий формированию и метастазированию неоплазий. В связи с этим наибольшее внимание уделяется клеточному составу микроокружения опухоли молочной железы, в котором наиболее распространены стромальные фибробласты CAFs. Однако в ветеринарной онкологии маркеры стромы злокачественных опухолей молочной железы изучены недостаточно. Цель исследования — изучить экспрессию онкомаркерных белков vimentin, α -SMA, CD34 в стромальном компоненте микроокружения злокачественных опухолей молочной железы у собак.

Материалы и методы. Объектом исследования, проведенного в 2022–2024 гг., являлись самки собак разных пород и возраста ($n=26$). Материал исследования — опухоль молочной железы. Комплекс гистологических и иммуногистохимических исследований проведен по общепринятым методикам.

Результаты исследования. Установлено, что при разных гистологических типах и степени злокачественности опухолей молочной железы у собак клетки фибробластического дифферона обладают высокой экспрессией виментина и α -SMA и низкой экспрессией CD34, что указывает на их дифференцировку в CAFs.

Обсуждение и заключение. Полученные результаты можно использовать в качестве базовых прикладных данных при изучении канцерогенеза в ветеринарной онкологии.

Ключевые слова: молочная железа, злокачественная опухоль, иммуногистохимия, собаки, экспрессия, виментин, vimentin, α -SMA, CD34

Для цитирования: Дарбишева А.А., Дилекова О.В. Экспрессия vimentin, α -SMA и CD34 в злокачественных типах опухолей молочной железы у собак. *Ветеринарная патология*. 2026;25(2):54–60. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-54-60>

Original Empirical Research

Expression of Vimentin, α -SMA, and CD34 in Malignant Mammary Tumors in Dogs

Alina A. Darbisheva , Olga V. Dilekova

Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russian Federation

✉ darbisevaalina@gmail.com

Abstract

Introduction. At the contemporary stage of mammary tumor studies, the microenvironment is considered a key factor contributing to neoplasia formation and metastasis. Therefore, the greatest attention is paid to the cellular composition of the mammary tumor microenvironment, in which the most widespread elements are the stromal cancer-associated fibroblasts (CAF). However, in veterinary oncology, stromal markers of malignant mammary tumors are insufficiently studied. The aim of the present study is to investigate the expression of tumor marker proteins, i.e. vimentin, α -SMA, and CD34, in the stroma of the malignant mammary tumor microenvironments in dogs.

Materials and Methods. The objects of the study that was conducted in the period from 2022 to 2024 were the female dogs of various breeds and ages (n=26). The materials studied were the mammary tumors. A comprehensive range of histological and immunohistochemical studies was conducted in compliance with the standard techniques.

Results. It has been established that in different histological types and degrees of canine mammary tumor malignancy, the fibroblastic differentiation lineage cells demonstrate a high expression of vimentin and α -SMA and a low expression of CD34, which indicates their differentiation into CAFs.

Discussion and Conclusion. The obtained results can be used as basic applied data in the study of carcinogenesis in veterinary oncology.

Keywords: mammary gland, malignant tumor, immunohistochemistry, dogs, expression, vimentin, α -SMA, CD34.

For Citation: Darbisheva AA, Dilekova OV. Expression of Vimentin, α -SMA, and CD34 in Malignant Mammary Tumors in Dogs. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2026;25(2):54–60. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-54-60>

Введение. В современной онкологии микроокружение опухоли молочной железы считается важным фактором, влияющим на формирование преметастатической ниши в метастазировании и реакции на недостаток питательных веществ, кислорода или терапевтические препараты [1, 2]. В исследованиях [3–5] было установлено, что преобладающим компонентом стромы опухолей молочной железы являются CAFs — гетерогенная группа клеток, которая участвует в ряде процессов микроокружения, способствуя ремоделированию внеклеточного матрикса, отложению компонентов базальной мембраны, а также стимулирует ангиогенез, развитие, прогрессирование, инвазию и метастазирование рака. Данный пул клеток происходит из резидентных фибробластов, мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток, а также из эндотелиальных клеток (эндотелиально-мезенхимальный переход) и эпителиальных клеток (эпителиально-мезенхимальный переход) [3, 4]. Было установлено, что виментин, α -SMA и CD34 являются потенциальными маркерами клеток фибробластического ряда (в т. ч. CAFs), с помощью которых можно определить наличие и локализацию данных клеток в опухоли молочной железы.

Виментин (vimentin) — это белок промежуточных филаментов, который имеет экспрессию в фибробластах, эндотелиальных клетках и является белком промежуточных филаментов. Белок регулирует миграцию, дифференцировку, пролиферацию, адгезию и инвазию клеток, а также модулирует эпителиально-мезенхимальный переход, который связан с возникновением и развитием опухолей [6].

α -SMA — одна из изоформ актина, стимулирует подвижность клеток, а также участвует в поддержании их формы, полярности и регулирует транскрипцию. Его экспрессия характерна для миофибробластов, известных как CAFs [7, 8, 9].

CD34 — это биомаркер гемопоэтических и негемопоэтических стволовых клеток, включающий

сосудистые эндотелиальные клетки-предшественники, эмбриональные фибробласты, а также мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки [10, 11].

В настоящее время экспрессия онкомаркерных белков стромы злокачественных опухолей молочной железы у животных изучена недостаточно. Однако некоторые исследования указывают на то, что в строме многих злокачественных инвазивных опухолей с низкой степенью дифференцировки CD34+ не обнаруживаются. Это связано с тем, что под воздействием растворимых факторов (особенно TGF- β), секретируемых опухолевыми клетками [12], они дифференцируются в α -SMA-миофибробласты, ассоциированные с раком [13, 14].

Цель данного исследования — изучить экспрессию биомаркеров фибробластического

дифферона vimentin, α -SMA, CD34 в стромальном компоненте микроокружения злокачественных опухолей молочной железы у собак, чтобы определить их дифференцировку в CAFs.

Материалы и методы. Исследование проводилось в течение 2022–2024 гг. на базе Научно-диагностического и лечебно-ветеринарного центра, на кафедре паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора С.Н. Никольского ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» и ветеринарных клиник г. Ставрополя (ИП Шаламова Е.В. «Колибри», ИП Заиченко И.В. «Ветеринарный центр им. Пирогова»). Были проанализированы амбулаторные карты онкологических пациентов ветеринарных аналитических систем VetAIS, VetDesk и «Ветменеджер». Учитывали следующие аспекты нозологического профиля: пол, возраст, порода, ранняя проведенная кастрация, пораженная грудь молочных пакетов, рецидивы, а также инструментальные и лабораторные исследования на наличие патологических состояний, указывающих на наличие отдаленных метастазов.

Материал для настоящего исследования отбирали при унилатеральной/регионарной мастэктомии и биопсии опухолей молочной железы у самок собак (n=26). Для исследования были взяты кусочки

размером 1 см³ на границе изменённых участков молочной железы и здоровой ткани и кожи, согласно рекомендациям руководства врачей-патологоанатомов «Макроскопическое исследование биопсийного и операционного материала». После фиксации в 10 %-ном забуференном формалине («БиоВитрум», Россия) в течение 48 ч была произведена проводка и заливка материала с получением парафиновых блоков и далее срезов толщиной 5 мкм с последующим монтированием их на предметное стекло с адгезивным покрытием PCI, со шлифованной кромкой, с колорированным краем (CITOTEST, Китай). Для определения локализации виментина применяли моноклональные кроличьи антитела Vimentin (SP20) 1:25-1:50 (Richard-Allan Scientific Co., США), α -SMA антитела моноклональные мышинные (Actin, Smooth Muscle Ab-1 (1A4) 1:25-1:50 (Richard-Allan Scientific Co., США), CD34 антитела моноклональные мышинные (13A4 1:50-1:200 (Cell Marque, США).

Иммуногистохимическое исследование проводили с использованием пероксидазы-полимерной системы визуализации по стандартному протоколу фирмы-производителя (Dako, США) с помощью демаскировки антител кипячением срезов при 100 °C в цитратном буфере (pH=6,0) в течение 10 мин с докрасиванием ядер клеток гематоксилином Майера («Биовитрум», Россия). Для негативного контроля использовали замену первых антител раствором для разведения (Spring Bioscience, США).

Микроскопические исследования полученных гистологических препаратов проводили на прямом световом микроскопе Olympus BX45 (Япония) со встроенной камерой фото- и видеофиксации C300 и программным обеспечением для микроскопической съёмки CellSensEntry (Япония). С каждого препарата делали по 10 цифровых снимков с учетом гистоархитектоники тканей для анализа гистологических структур при увеличении $\times 400$, охватывающем HPF=0,44 мм² исследуемой ткани.

Для оценки экспрессии виментина, α -SMA и CD34 и прогностического значения данных маркеров использовали метод, предложенный Л.Е. Гуревич (2003):

— мембранный или нормальный тип экспрессии — равномерное распределение иммунореактивности по всей клеточной мембране;

— мембранно-редуцированный тип экспрессии — распределение иммунореактивности только на отдельных участках клеточной мембраны;

— смешанный мембранно-цитоплазматический тип экспрессии — равномерная цитоплазматическая экспрессия в сочетании с мембранной;

— мелко- и крупногранулярный цитоплазматический — экспрессия в виде гранул, рассеянных в цитоплазме клеток;

— комковатый — экспрессия в цитоплазме клеток виде хаотично локализованных крупных комочков и конгломератов иммунореактивного материала;

— отсутствие иммунореактивности.

Для оценки прогностического значения описанных типов экспрессии в клетках была проведена оценка иммунореактивности по Л.Е. Гуревич (2003):

— 0 баллов;

— мембранный тип — 1 балл;

— сочетание мембранного с гранулярно-цитоплазматическим — 2 балла;

— крупногранулярный — 3 балла.

Дополнительно проводили оценку интенсивности экспрессии иммунореактивного материала визуально, с учетом процента активных клеток, суммы площади иммунопозитивных структур согласно рекомендациям Американского общества клинической онкологии/Колледжа американских патологов (ASCO/CAP, 2018 г.):

1. Иммунореактивность положительная (ИГХ 3+), если наблюдается периферическое мембранное полное интенсивное окрашивание более 10 % опухолевых клеток.

2. Иммунореактивность неопределенная (ИГХ 2+), если наблюдается от слабой до умеренной интенсивности, полное мембранное окрашивание более 10 % опухолевых клеток.

3. Иммунореактивность отрицательная (ИГХ 1+), если наблюдается неполное, слабое/едва заметное мембранное окрашивание более 10 % опухолевых клеток.

4. Иммунореактивность отрицательная (ИГХ 0), если не наблюдается окрашивание или отмечается неполное, слабое/едва заметное мембранное окрашивание 10 % или менее опухолевых клеток.

Результаты исследования. Предварительно было проведено рутинное патогистологическое исследование на 26 образцах опухолей молочной железы, согласно которому основным гистологическим типом является солидная карцинома G3 (таблица 1). Данные по возрасту представлены в таблице 2. Весь материал поступил от самок, две из которых были кастрированы. Анализ выявил, что наибольшая распространенность новообразований наблюдалась у собак мелких пород — 42,31 % от всех случаев; средних и беспородных — по 15,385 % соответственно; крупных — 26,92 %. Опухоль молочной железы поражала как левую грудь (2-й молочный пакет — 3,16 % от общего количества; 5-й молочный пакет — 15,79 %), так и правую грудь (3-й и 5-й молочные пакеты — по 13,16 % соответственно, 4-й пакет — 21,05 %). Метастазирование в паховые лимфатические узлы зафиксировано в 30,77 % от всех случаев. Среди 26 пациентов был выявлен один случай рецидива.

Экспрессия виментина в опухолях молочной железы у собак показана на рис. 1. Иммунореактивный материал расположен в цитоплазме равномерно в виде крупных темно-коричневых зерен (3 балла), однако в некоторых

клетках встречался перинуклеарно в виде отдельных крупных фокусов возле ядра. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Клетки, экспрессирующие виментин, имели фибробластический тип — отросчатой формы с вытянутым ядром. В опухолях

молочной железы они визуализировались в виде густой сети как в междольковом, так и во внутридольковом компоненте стромы, окружая в большом количестве паренхиму, что отражает, по нашему мнению, их паракринное влияние, направленное на развитие опухоли молочной железы.

Таблица 1

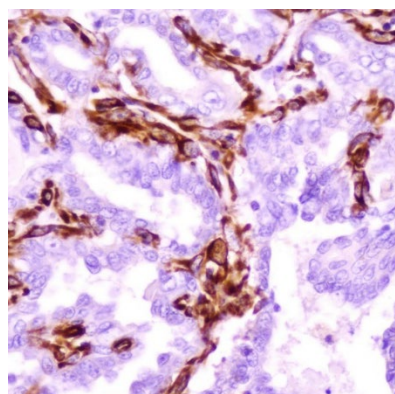
Результаты патогистологического исследования опухолей молочной железы разной степени злокачественности (Grade) у собак (n=26)

Вид опухоли	G1, кол-во	G2, кол-во	G3, кол-во
Тубулярная	3	2	-
Папиллярная	-	4	-
Солидная	1	2	5
Смешанная	2	4	3

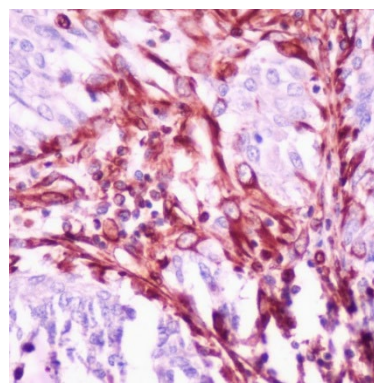
Таблица 2

Возрастная характеристика опухолей молочной железы у собак (n=26)

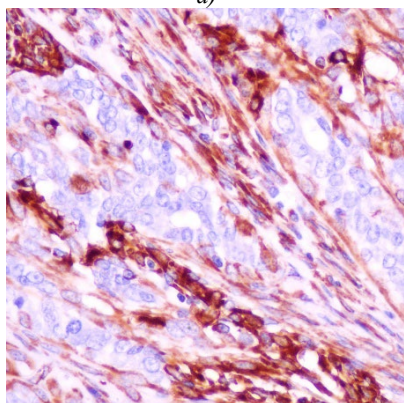
Возраст, лет	Тубулярная, %	Папиллярная, %	Солидная, %	Тубулярно-папиллярная, %
2-2,5	-	-	-	-
6-10	23,08	15,38	11,54	15,38
11-14	-	19,23	7,69	7,69



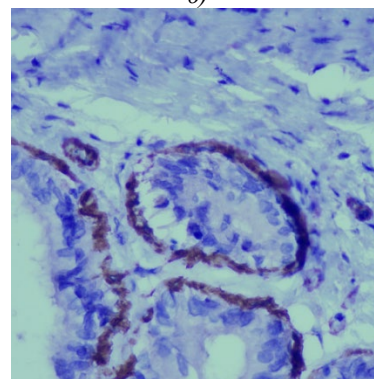
а)



б)



в)



г)

Рис. 1. Экспрессия vimentin+: а) протоковая папиллярная карцинома *in situ* G1 (той-терьер, 11 лет); б) тубулярно-папиллярная умеренно-дифференцированная карцинома G2 (дратхаар, 6,7 лет); в) солидная карцинома G1 (йоркширский терьер, 12,7 лет); г) дольковая тубулярная карцинома G1 (той-терьер, 7,6 лет), ув. $\times 400$ (здесь и далее фото авторов)

Высокая экспрессия альфа-гладкомышечного актина α -SMA в опухолях молочной железы у собак показана на рис. 2. Темно-коричневый иммунореактивный материал в папиллярных, солидных и тубулярных карциномах имел перинуклеарное расположение, в смешанных опухолях — равномерное по всей цитоплазме клетки (3 балла).

Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера сильная (+++). Клетки с фибробластическим фенотипом — отросчатой формы с вытянутым ядром, находились в виде тяжей в междольковом и во внутридольковом компоненте стромы. Экспрессия маркера CD34 в опухолях молочной

железы у собак показана на рис. 3. Иммунопозитивные клетки в небольшом количестве были локализованы по рассыпному типу, регистрировались в междольковом компоненте стромы опухоли. Экспрессия их участков неполная, едва заметная, цитоплазматическое окрашивание более 10 % опухолевых клеток, отрицательное (+). Клетки имели округлую или

вытянутую форму, ядро повторяло форму клетки. Иммунореактивный материал был равномерно расположен в цитоплазме, имел мелко- и крупногранулярную темно-коричневую структуру (3 балла). Чаще клетки визуализировались в тех местах, где стромальный компонент подвергался фиброзу и склерозу.

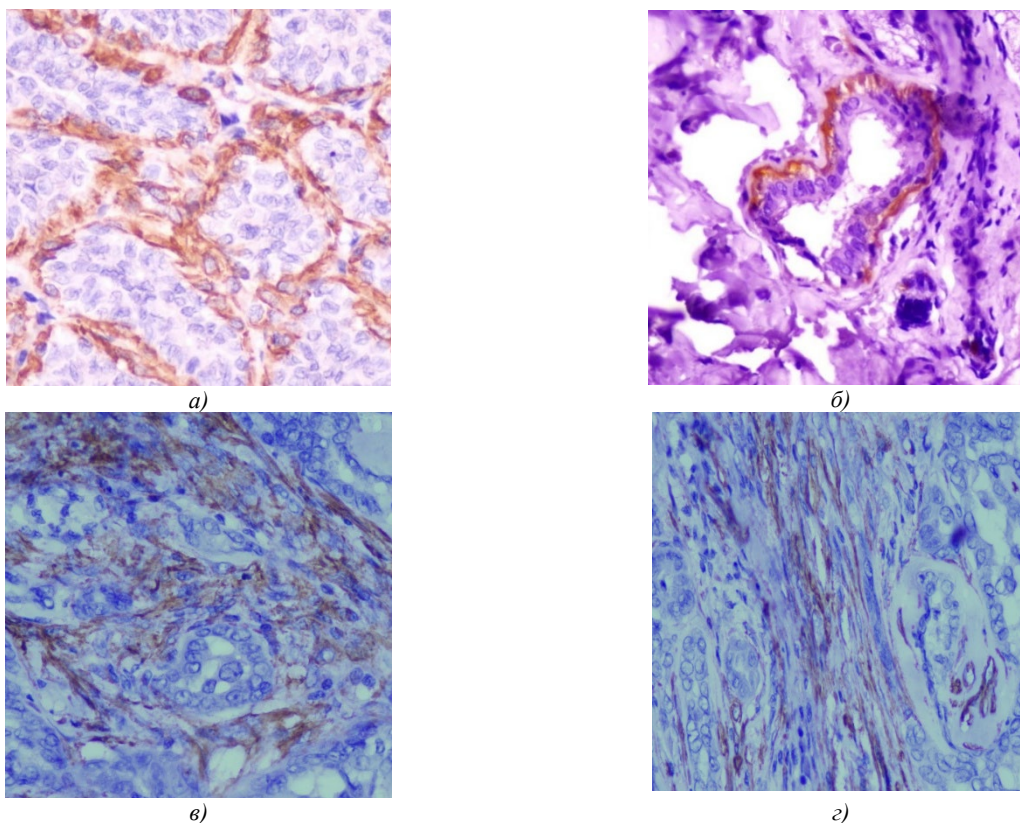
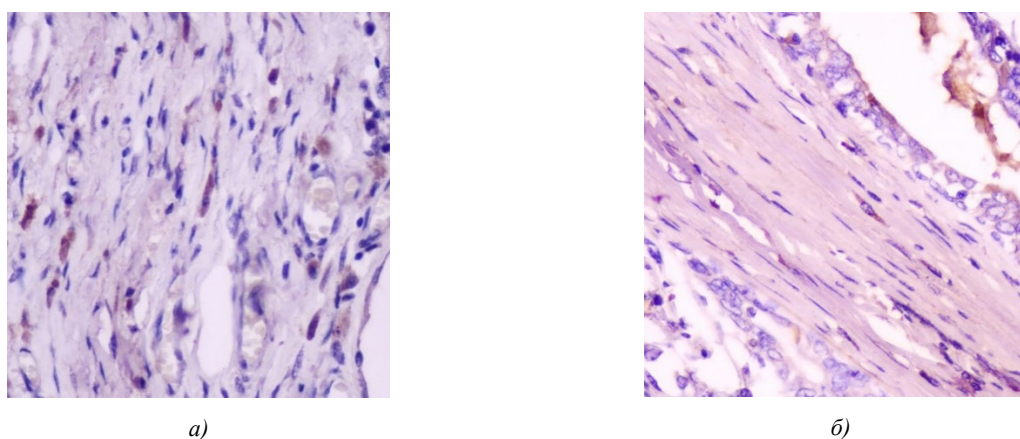


Рис. 2. Экспрессия α -SMA+: а) протоковая папиллярная карцинома *in situ* G1 (той-терьер, 11 лет); б) тубулярно-папиллярная умеренно-дифференцированная карцинома G2 (дратхаар, 6,7 лет); в) солидная карцинома G1 (йоркширский терьер, 12,7 лет); г) дольковая тубулярная карцинома G1 (той-терьер, 7,6 лет), ув. $\times 400$



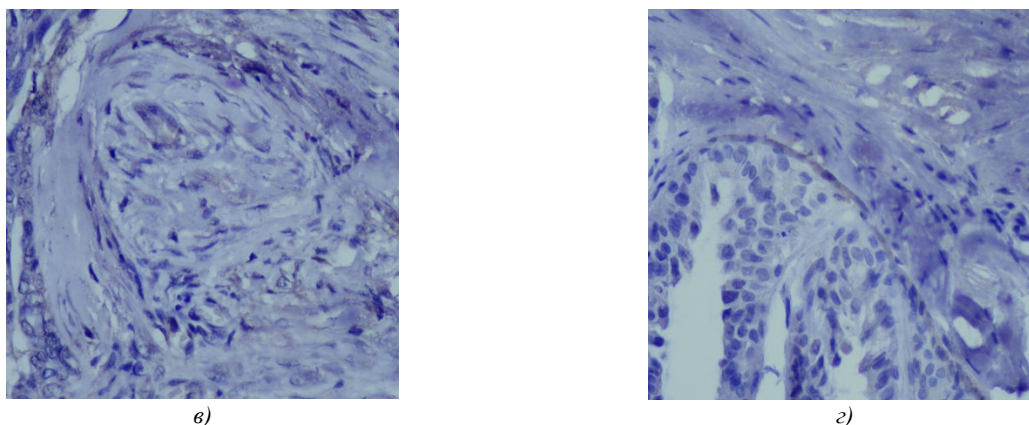


Рис. 3. Экспрессия CD34+: а) протоковая папиллярная карцинома *in situ* G1 (той-терьер, 11 лет); б) тубулярно-папиллярная умеренно-дифференцированная карцинома G2 (дратхаар, 6,7 лет); в) солидная карцинома G1 (йоркширский терьер, 12,7 лет); г) дольковая тубулярная карцинома G1 (той-терьер, 7,6 лет), ув. $\times 400$

Обсуждение и заключение. Согласно проведенному исследованию, во всех новообразованиях отмечалась высокая экспрессия виментина и α -SMA. Что касается маркера CD34, то его экспрессия в высокодифференцированных опухолях (G1) была низкая, а в низкодифференцированных неоплазиях (G3) — вообще отсутствовала. Потеря экспрессии данного маркера произошла вследствие дифференцировки клеток в миофибробласты стромальной ниши опухоли молочной железы у собак. Наши данные подтверждают результаты исследований [12, 13, 14], свидетельствующие о том, что в ходе развития и

дифференцировки злокачественных опухолей молочной железы происходит потеря экспрессии CD34 и усиление экспрессии α -SMA.

Таким образом, иммуногистохимическое исследование показало, что при различных типах новообразований молочной железы у собак имеется клеточная линия с определенным биомаркерным фенотипом, указывающим на их принадлежность к CAFs. Полученные нами данные можно использовать в качестве фундаментальных прикладных данных при изучении канцерогенеза в ветеринарной онкологии.

Список литературы / References

1. Place AE, Huh SJ, Polyak K. The Microenvironment in Breast Cancer Progression: Biology and Implications for Treatment. *Breast Cancer Research*. 2011;13:227. <https://doi.org/10.1186/bcr2912>
2. Mehraj U, Dar AH, Wani NA, Mir MA. Tumor Microenvironment Promotes Breast Cancer Chemoresistance. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2021;87:147–158. <https://doi.org/10.1007/s00280-020-04222-w>
3. Yu T, Di G. Role of Tumor Microenvironment in Triple-Negative Breast Cancer and Its Prognostic Significance. *Chinese Journal of Cancer Research*. 2017;29(3):237–252. <https://doi.org/10.21147/j.issn.1000-9604.2017.03.10>
4. Li JJ, Tsang JY, Tse MG. Tumor Microenvironment in Breast Cancer—Updates on Therapeutic Implications and Pathologic Assessment. *Cancers*. 2021;13(16):4233. <https://doi.org/10.3390/cancers13164233>
5. Giorello MB, Borzone FR, Labovsky V, Piccioni FV, Chasseing NA. Cancer-Associated Fibroblasts in the Breast Tumor Microenvironment. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2021;26:135–155. <https://doi.org/10.1007/s10911-020-09475-y>
6. Chen Z, Fang Z, Ma J. Regulatory Mechanisms and Clinical Significance of Vimentin in Breast Cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021;133:111068. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111068>
7. Han C, Liu T, Yin R. Biomarkers for Cancer-Associated Fibroblasts. *Biomarker Research*. 2020;8:64. <https://doi.org/10.1186/s40364-020-00245-w>
8. Dominguez R, Holmes KC. Actin structure and function. *Annual Review of Biophysics*. 2011;40:169–186. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-042910-155359>
9. Yoshimura H, Michishita M, Ohkusu-Tsukada K, Takahashi K. Increased Presence of Stromal Myofibroblasts and Tenascin-C with Malignant Progression in Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology*. 2010;48(1):313–321. <https://doi.org/10.1177/0300985810369901>
10. Radu P, Zurzu M, Paic V, Bratucu M, Garofil D, Tigora A, et al. CD34—Structure, Functions and Relationship with Cancer Stem Cells. *Medicina*. 2023;59(5):938. <https://doi.org/10.3390/medicina59050938>
11. Sidney LE, Branch MJ, Dunphy SE, Dua HS, Hopkinson A. Concise Review: Evidence for CD34 as a Common Marker for Diverse Progenitors. *Stem Cells*. 2014;32(6):1380–1389. <https://doi.org/10.1002/stem.1661>

12. Catteau X, Simon P, Noël JC. Myofibroblastic Stromal Reaction and Lymph Node Status in Invasive Breast Carcinoma: Possible Role of the TGF- β 1/TGF- β R1 Pathway. *BMC Cancer*. 2014;14:499. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-499>
13. Díaz-Flores L, Gutiérrez R, González-Gómez M, García MP, Díaz-Flores L, Carrasco JL, et al. CD34+ Stromal Cells/Telocytes as a Source of Cancer-Associated Fibroblasts (CAFs) in Invasive Lobular Carcinoma of the Breast. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(7):3686. <https://doi.org/10.3390/ijms22073686>
14. Khan AA, Alam K, Harris H. A Clinicopathological Study of CD34 Antigen Expression in Benign and Malignant Breast Lesions. *Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2017;07(04). <https://doi.org/10.4172/2161-0681.1000321>

Об авторах:

Дарбишева Алина Андреевна, аспирант кафедры паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. С.Н. Никольского института ветеринарии и биотехнологий Ставропольского аграрного государственного университета (355017, РФ, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, д. 12), [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9148-1000), darbisevaalina@gmail.com

Дилекова Ольга Владимировна, доктор биологических наук, доцент кафедры паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. С.Н. Никольского института ветеринарии и биотехнологий Ставропольского аграрного государственного университета (355017, РФ, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, д. 12), [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9148-1000), dilekova2009@yandex.ru

Заявленный вклад авторов:

О.В. Дилекова: научное руководство, разработка концепции, разработка методологии.

А.А. Дарбишева: проведение исследования, валидация результатов, редактирование

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

About the Authors:

Alina A. Darbisheva, Post Graduate Degree Student of the Parasitology and Veterinary-Sanitary Inspection, Anatomy and Pathoanatomy Department Named after S.N. Nikolsky, Stavropol State Agrarian University (12, Zootechnicheskoy Lane, Stavropol, 355017, Russian Federation), [ORCID](#), darbisevaalina@gmail.com

Olga V. Dilekova, Dr.Sci. (Biology), Associate Professor of the Parasitology and Veterinary-Sanitary Inspection, Anatomy and Pathoanatomy Department Named after S.N. Nikolsky, Stavropol State Agrarian University (12, Zootechnicheskoy Lane, Stavropol, 355017, Russian Federation), [ORCID](#), dilekova2009@yandex.ru

Claimed Contributorship:

OV Dilekova: scientific supervision, developing the concept and methodology of research.

AA Darbisheva: conducting the research, validating the results, editing the text

Conflict of Interest Statement: the authors declare no conflict of interest.

All authors have read and approved the final manuscript.

Поступила в редакцию / Received 23.01.2026

Поступила после рецензирования / Reviewed 07.05.2026

Принята к публикации / Accepted 22.05.2026