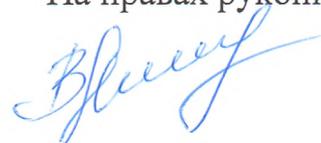


МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи



Митенко Василиса Васильевна

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ
ЗАКОНОМЕРНОСТИ РАЗВИТИЯ РАКА МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ
У ПЛОТОЯДНЫХ**

4.2.1. – «Патология животных, морфология, физиология,
фармакология и токсикология»

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор биологических наук,
доцент Дилекова О.В.

Ставрополь – 2023

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1. Канцерогенез и методы диагностики онкологических заболеваний.....	11
1.2. Общие анатомические особенности и клеточные популяции в молочной железе млекопитающих.....	12
1.3. Особенности канцерогенеза в опухолях молочных желез у плотоядных.....	17
1.4. Влияние микроокружения на развитие злокачественных новообразований молочных желез.....	19
1.5. Эпителиально-мезенхимальный переход в норме и патологии.....	27
1.6. Онкомаркеры в иммуногистохимических методах диагностики онкологических заболеваний.....	31
1.7. Молекулярные механизмы опухолевого роста.....	38
2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	41
2.1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	41
2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ.....	49
2.2.1. Количественная характеристика взаимосвязи развития новообразований между двумя видами плотоядных.....	49
2.2.2. Гистологическая характеристика опухолей молочных желез у плотоядных.....	56
2.2.3. Экспрессия нуклеолярных белков и промежуточных филаментов мезенхимального и эпителиального типов в клетках опухолей молочных желез у кошек.....	102
2.2.4. Экспрессия нуклеолярных белков и промежуточных филаментов мезенхимального и эпителиального типов в клетках опухолей молочных желез у собак.....	132
2.2.5. Рецептор фактора роста фибробластов (FGFR1) и основная его биологическая роль в управлении эпителиального компонента молочных желез у плотоядных.....	172
3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	177
4. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	181

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

РМЖ – рак молочной железы
ОМЖ – опухоль молочной железы
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения
EMT – epithelial-mesenchymal transition; эпителиально-мезенхимальный переход
ИГХ (ИНС) – Immunohistochemistry; иммуногистохимическое исследование
FISH – fluorescence in situ hybridization; флюоресцентная гибридизация in situ
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
РНК – рибонуклеиновая кислота
рРНК – рибосомная РНК
мРНК – матричная РНК
пре-рРНК – прерибосомальная РНК
МК – миоэпителиальные клетки
БМ – базальная мембрана
СМТ – canine mammary tumor; собачья опухоль молочной железы
FMT – feline mammary gland tumor; кошачья опухоль молочной железы
МДЖ – мелкие домашние животные
DCIS – ductal carcinoma in situ; протоковая карцинома in situ
LCIS – lobular carcinoma in situ; дольковая карцинома in situ
CAFs – cancer-associated fibroblasts; ассоциированные с раком фибробласты
TGF- β – трансформирующий фактора роста-бета
IF – intermediate filaments; промежуточные нити
NCL – нуклеолин
NPM1 – нуклеофозмин
FBL – фибрилларин
vimentin – виментин
 α -SMA – альфа-гладкомышечный актин
HMWCK – высокомолекулярный цитокератин
FGF – фактор роста фибробластов
FGFR1 – рецептор фактора роста фибробластов1

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность избранной темы и степень ее разработанности.

На сегодняшний день согласно отчету Европейской федерации производителей зоотоваров (FEDIAF) самая большая популяция животных-компаньонов зафиксирована в России и составляет 23 млн кошек и 17,5 млн собак, из которых более 20 млн занимают онкологические пациенты.

В структуре онкологической заболеваемости на первом месте стоит рак молочной железы (РМЖ), который является глобальной проблемой современного мира с высокой смертностью не только людей, но и животных. Ежегодно в мировой медицине регистрируется более 1 млн случаев онкологических заболеваний молочных желез у женщин, однако в ветеринарии нет точных статистических показателей по данной проблематике, в связи с трудным определением степени новообразования и тяжелым клиническим состоянием животного. Несмотря на многочисленные клинические, патофизиологические и патоморфологические исследования, до сих пор остается открытым вопрос канцерогенеза, его сигнатурных путей, инициирующих перепрограммирование клетки в раковую (Любченко Л. Н. и соавт., 2013; Ali H. R. et. al., 2020; Cassetta L. et. al., 2019; Wu S. Z., et. al., 2020).

Канцерогенез является многоступенчатым процессом, в основе которого происходит продукция новых белковых компонентов, нарушение межклеточных взаимодействий, передача разнообразной сигнальной информации между клеточными структурами, а также генетическая нестабильность на уровне отдельных генов, так и целых хромосом. Поэтому уточнение и детализация молекулярно-генетической идентификации опухолевых клеток способствуют пересмотру практических аспектов данного заболевания (Должиков А. А. и соавт., 2015; Лаптиев С. А. и соавт., 2017; Панченко И. С. и соавт., 2022; Lima Z. S. et al., 2019; Rios A. C. et al., 2019).

В настоящее время определено, что опухоли молочных желез являются гетерогенным заболеванием с различным молекулярным взаимодействием эпителиального и мезенхимального компонентов. Проводимые научные

изыскания по фундаментальным и прикладным исследованиям в области изучения роли канцерогенеза в медицине напрямую зависят от морфологической, иммуногистохимической и молекулярно-генетической диагностики, которые могут существенно влиять на интегральную оценку данного заболевания (Апанович Н. В. и соавт., 2011; Гришина К. А. и соавт., 2016; Nguyen K. H. et al., 2018).

Отсюда следует, что изучение взаимосвязи различных морфологических типов неоплазий с определением генетической структуры злокачественных клеток в опухолях молочных желез у собак и кошек имеет научную новизну не только в морфологии, онкологии, диагностике и терапии животных, но и в прикладной и фундаментальной биологии.

Цель исследования. Изучение морфологических и генетических закономерностей развития рака молочных желез у плотоядных (собака и кошка).

Задачи исследования:

1. Провести анализ возрастного, породного и гендерного различия у собак и кошек с опухолями молочных желез.
2. Выявить закономерности морфологической организации эпителиального и стромального компонентов при разных гистологических типах злокачественных неоплазий молочной железы у собак и кошек.
3. Определить локализацию и функциональные особенности нуклеолярных белков (нуклеолин/NCL, нуклеофозмин/NPM1, фибрилларин/FBL) и белков промежуточных филаментов мезенхимального (виментин/vimentin, альфа-гладкомышечный актин/ α -SMA) и эпителиального компонентов (высокомолекулярный цитокератин/HMWCK) при разных гистологических типах злокачественных неоплазий молочной железы у собак и кошек.
4. Установить молекулярно-генетические изменения в опухолевых клетках сигнатурного паттерна с помощью ДНК-зонда с меткой рецептора фактора роста фибробластов (FGFR1) у животных.

Объект исследований. Домашние кошки и собаки со злокачественными новообразованиями молочных желез.

Предмет исследований. Основные гистотипы злокачественных опухолей молочной железы у плотоядных (собака и кошка), активация программы эпителиально-мезенхимального перехода, эктопическая экспрессия сигнатурного паттерна в клетках фибробластического дифферона.

Научная новизна. Впервые в г. Ставрополе проведен анализ встречаемости опухолей молочных желез по возрастному, породному и гендерному показателям у кошек и собак.

Выявлены основные гистологические типы и морфологические особенности клеточного ландшафта в злокачественных опухолях молочных желез у плотоядных.

Впервые у домашних кошек и собак установлен процесс эпителиально-мезенхимального перехода, при котором происходит изменение цитоскелета эпителиальной клетки, потеря межклеточных контактов и обретение более пластичного и подвижного фибропластического типа. Установлено, что в опухолях молочных желез у собак происходит прозопластическая метаплазия миоэпителиальных клеток в сторону структурной организации в хрящевую или костную ткань.

Получены новые данные об экспрессии маркеров транскрипционного фактора нуклеолин/NCL, нуклеофозмин/NPM1, фибрилларин/FBL, участвующих в процессах биогенеза рибосом.

Впервые представлены сведения по белкам промежуточных филаментов мезенхимального типа (виментин/vimentin, альфа-гладкомышечный актин/ α -SMA), которые участвуют в пластичности, сократимости и мобильности клеток, а также белка эпителиального компонента (высокомолекулярный цитокератин/HMWCK), который участвует в поддержании основного цитоскелетного каркаса и межклеточной адгезии клеток.

Впервые проведено молекулярно-генетическое исследование с помощью флюоресцентной *in situ* гибридизации на рецептор фактора роста

фибробластов FGFR1, выполняющего паракринную регуляцию на эпителиальный компонент в мезенхимальный фенотип, посредством эктопической экспрессии рецептора.

Новизна исследований подтверждена 2 патентами на изобретения Российской Федерации (№ 2755392 от 15.09.2021; № 2777238 от 01.08.2022).

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные в результате научного исследования данные о морфологических и генетических закономерностях развития рака молочных желез у плотоядных обогащают и дополняют теоретические сведения о развитии канцерогенеза. Они могут быть использованы при чтении лекций и проведении практических занятий в высших учебных заведениях биологического профиля, при составлении учебных пособий и справочных руководств по онкологии в качестве фактического материала, а также необходимы ветеринарным специалистам для постановки верного диагноза в области онкологии и будут полезны для разработки тактики таргетного лечения данной патологии.

Научно-практическая значимость диссертационной работы заключается в совершенствовании молекулярного метода исследования опухолей молочных желез у собак и кошек, получены патенты РФ на изобретения: «Способ флюоресцентной гибридизации *in situ* при применении ДНК-зонда FGFR1 у разных видов млекопитающих на цитологических препаратах» (№ 2755392 от 15.09.2021); «Способ флюоресцентной гибридизации *in situ* при применении ДНК-зонда с меткой FGFR1 у разных видов млекопитающих на гистологических препаратах» (№ 2777238 от 01.08.2022).

Методология и методы исследования. Методологической основой проведенных исследований является необходимость изучения канцерогенеза в молочных железах у домашних плотоядных животных для научного прогнозирования и оценки злокачественного опухолевого процесса. Результаты исследований получены с использованием гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетического (FISH) методов исследований. Особенностью работы является получение новых данных по

морфологическим особенностям опухолей молочных желез, экспрессии маркеров транскрипционного фактора и промежуточных филаментов клеток с анализом сравнительно-видового, возрастного и гендерных аспектов, а также молекулярных изменений сигнатурного паттерна в опухолевых клетках.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Морфологическая характеристика пролиферативной активности и степени злокачественности клеток в опухолях молочных желез у собак и кошек обусловлена биосинтетической экспрессией нуклеолярных белков (NCL, NPM1, FBL).

2. В определённых гистотипах злокачественных опухолей молочных желез у собак и кошек происходит активация программы эпителиально-мезенхимального перехода, обусловленного экспрессией ключевых структурных белков, участвующих в поддержании цитоскелета клеток (vimentin, α -SMA, HMWCK).

3. Эктопическая экспрессия сигнатурного паттерна в геноме клеток фибробластического дифферона обуславливает изменения структурной организации эпителиального компонента в процессе эпителиально-мезенхимального перехода.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность проведенных исследований основана на том, что все гистологические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические данные получены с использованием современных методов на сертифицированном оборудовании.

Основные результаты научных исследований вошли в отчеты по научно-исследовательской работе ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет» за 2019-2023 годы. Основные положения диссертации были доложены, обсуждены и получили положительную оценку на научных конференциях профессорско-преподавательского состава ФГБОУ ВО «Ставропольский ГАУ» (2019-2023 гг.), Всероссийском конкурсе Минсельхоза России (Москва, 2019), Международном ветеринарном конгрессе «Серебряный микроскоп» (Москва, 2021), 24-ой Всероссийской

агропромышленной выставке «Золотая осень – 2022» (Москва, 2022), 30-ом международном ветеринарном конгрессе «Moscow Veterinary Congress» (Москва, 2022), Международной научно-практической конференции «Проблемы продовольственной безопасности» (EPFS 2023) (Минск, 2023).

Исследования выполнены в рамках гранта Всероссийского конкурса «УМНИК-2020» (договор №16027ГУ/2020 от 24.12.2020), тема «Разработка метода определения статуса генов FGFR1 при раке молочной железы с помощью флюоресцентной *in situ* гибридизации».

Материалы исследований используются в учебном процессе и научных исследованиях в ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Алтайский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Вятский государственный агротехнологический университет», ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет», ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет им. П. А. Столыпина», ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», ФГБОУ ВО «Уральский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова» а также в ветеринарных клиниках г. Ставрополя: ИП Шаламова Е.В. «Колибри», ИП Заиченко И.В. «Ветеринарный центр им. Пирогова».

Личный вклад соискателя. Постановка научной задачи, формулирование цели и задач, организация и проведение исследований выполнены лично автором. В ходе работы проведены гистологические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические методы исследования. Доля участия соискателя при выполнении диссертации составляет 90 %.

Публикация. По материалам исследований опубликовано 17 научных работ, в которых отражены основные положения и выводы по теме диссертации, в том числе 3 статьи в изданиях, включенных в «Перечень Российских рецензируемых научных журналов и изданий», рекомендованных

ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ («Иппология и ветеринария», «Известия Оренбургского государственного аграрного университета»), 1 научная работа, индексируемая в международных базах цитирования Scopus («Гены и клетки»). Получены 2 патента РФ.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 207 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, заключения и списка литературы. Работа иллюстрирована 8 таблицами и 136 рисунками. Список литературы содержит 245 источников, в том числе 202 зарубежных.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 КАНЦЕРОГЕНЕЗ И МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

На развитие канцерогенеза опухолей молочных желез влияют множество различных молекулярно-генетических факторов, которые воздействуют на эпителиальный компонент органа, что приводит к последующей потере тканевого гомеостаза. Главная роль в онкогенезе молочных желез сводится к субклональной экспансии и внутриопухолевой гетерогенности некоторых гистологических типов. Поэтому понимание биологии опухолевой ткани и присущей ей гетерогенности является важным шагом на пути к анализу механизмов канцерогенеза (Peters J. M. et al., 2018; Высоцкая И. В. и соавт., 2019; Wu H. J. et al., 2021).

Имеются множественные теории возникновения раковой прогрессии в опухолях молочных желез, однако в 1999 году была предложена теория поля организации тканей (TOFT). В ней указывается, что канцерогены (напрямую) и мутации в зародышевых клетках (косвенно) меняют нормальные взаимодействия между различными компонентами органа, такие как стромальные и эпителиальные ткани. Это приводит к затруднению взаимоотношений между двумя компонентами, подвергая клетки в состояние пролиферации и подвижности (Sonnenschein C. et al., 1999; 2016).

Эта теория открывает возможность в определении различных субпопуляций эпителия, но точного спектра гетерогенности и иерархии дифференцировки клеток в молочной железе пока остаются мало изученными. Решение данной проблемы осложняется тем, что клетки имеют выраженную гистопатологическую, транскриптомную и геномную гетерогенность, обусловленную сложными паттернами изменений числа копий и хромосомных перестроек, и целевых aberrаций драйверов. Выявление генетической нестабильности в клетках побуждает к внедрению специальных методов диагностики, основанных на биомаркерах (Fu N. Y. et al., 2020; Jackson H. W. et al., 2020; Pal B. et al., 2021).

Самым распространённым методом в современной медицине является иммуногистохимическое исследование (ИГХ), принцип которого заключается в определении белков, продуцируемых опухолью, с помощью созданных специфических антител. Для лучшей идентификации клеток, образовавшиеся соединения окрашиваются, что позволяет определить гетерогенность комплексных опухолей (Бейсенаева Р., 2015; Семенов В. М. и соавт., 2017).

Развитие молекулярной биологии способствовало открытию онкогенов и генов-супрессоров с помощью новых методов диагностики, основная цель которых заключалась в выявлении высокого уровня геномной нестабильности, мутационные нагрузки и целевые aberrации драйверов с применением ДНК и РНК-технологий. К основным методам относят разработанную в 1980-х годах флюоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH), которая способна определить специфические нуклеотидные последовательности в клетках с помощью комплементарным к этим участкам ДНК-зондов, меченных флюорохромом (Bayani J. et al., 2004; Chrzanowska N. M. et al., 2020).

Следовательно, современные методы диагностики позволяют определить отдельные субкластеры опухолевых клеток, вариабельно экспрессирующих канонические гены, которые возникают при эпителиально-мезенхимальном переходе (EMT).

1.2. ОБЩИЕ АНАТОМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ И КЛЕТОЧНЫЕ ПОПУЛЯЦИИ В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Молочные железы у млекопитающих являются производными потовыми (Banks, 1986). У кошек молочная железа состоит из четырех пар холмов: две грудные и две абдоминальные. В редких случаях присутствует дополнительная пара паховых молочных желез (Дюльгер Г. П., Седлецкая Е. С., 2018). Молочная железа у собак состоит чаще всего из 5 пар, в зависимости от расположения делится на две грудные, две абдоминальные и одну паховую (Barone, 1978).

По анатомическим составляющим каждому холму соответствует хорошо выраженный сосок, который имеет форму тупого конуса. Между кожей и паренхимой молочных желез с каждой стороны располагаются волокна поперечно-полосатых мышц, различия в анатомии мышц заключаются в том, что краниальная подкожная мышца у собак больше развита, чем у кошек. Кaudальная подкожная мышца у собак заканчивается посередине между вульвой и паховой молочной железой, а у кошек на уровне соска наиболее каудально лежащей молочной железы (Vollmerhaus B., Frewein J., 2003).

Кровоснабжения грудных холмов молочных желез у кошек и собак происходят от ветвей внутренней грудной артерии, латеральных кожных ветвей латеральной грудной артерии и каудально располагающихся дорсальных межреберных артерий, а также ветвей поверхностной краниальной надчревной артерии. Венозный дренаж отражает артериальный рисунок, но вены пересекают среднюю линию чаще, чем артерии, что дает возможность распространению злокачественных клеток молочной железы одной стороны на другую. Злокачественные клетки из брюшной пары желез могут метастазировать гематогенно через внутренние грудные или межреберные вены (Merigi A., 2005).

Лимфодренаж у кошек происходит из двух грудных молочных желез к подмышечному лимфоузлу, лимфа из двух брюшных пар – в поверхностные паховые узлы. В некоторых случаях, лимфа от краниальных брюшных пар может течь в двух направлениях – в поверхностные паховые и подмышечные лимфатические узлы, редко может стекать только в медиальные подвздошные лимфатические узлы. От каудальных брюшных пар – к вспомогательным паховым лимфатическим узлам, но очень редко в медиальные подвздошные лимфатические узлы (Paradopolou P. L. et al., 2009).

У собак от обеих грудных и передних пар абдоминальных молочных желез лимфа отходит к собственному подмышечному лимфоузлу или к добавочному подмышечному лимфоузлу. От каудальных абдоминальных и

паховых пар молочных желез – в поверхностный паховый лимфоузел. В области абдоминальных пар краниально и каудально идущие лимфатические сосуды часто соединяются друг с другом, что способствует току лимфы в любой участок (Patsikas M. N. et al., 2006; Bryan J. N., 2010).

Молочная железа всех млекопитающих представляет собой сложный орган с адаптивной пластичностью на протяжении всей жизни вследствие роста тела и циклической гормональной стимуляции (Vos J. H. et al., 1993). Морфогенез молочной железы в эмбриональный период происходит за счет видоизмененных апокриновых потовых желез. Закладка органа совершается с помощью образования полос (молочных линий) из многослойной эктодермы, которые начинаются от зачатка передней конечности до зачатка задней конечности на вентральной поверхности эмбриона. Далее они уменьшаются в длине, становятся прерывистыми и образуют серию эктодермальных утолщений (плакоды). Опускание плакод в нижележащую мезенхиму осуществляется с помощью эпителиально-мезенхимального взаимодействия и экспрессии рецепторов фактора роста фибробластов (FGFR1/2/10), способствующие образованию протоковой структуры железы. Мезенхима в дальнейшем трансформируется в соединительную и жировую ткани (Ofstedal O. T., 2002; Robinson G. W. et al., 1999; Ewald A. J. et al., 2008; Jolicher F., 2005; Slepicka P. F. et al., 2020; Biswas S. C. et al., 2022).

В ходе непростых морфологических преобразований формируется сложная тубулоальвеолярная железа, состоящая из многочисленных конечных протоковых дольчатых единиц, встроенных в соединительнотканый компонент. Система долек состоит из секреторных и выводных протоков. Секреторный компонент образован альвеолами и начальной частью внутридольковых протоков (Réchoux C. et al., 1999). Как альвеолы, так и протоки выстланы двумя клеточными слоями: внутренний слой представлен поляризованными люминальными эпителиальными клетками с апикальной стороной, обращенной к просвету, и наружный – базальный слой, состоящий

из миоэпителиальных клеток (Gudjonsson T. et al., 2005; Moumen M. et al., 2011).

Миоэпителиальные клетки (МК) имеют эктодермальное происхождение и представляют собой веретенообразные структуры, выстилающие параллельные непрерывные слои по отношению к длине протоков. Находящиеся вокруг альвеол МК образуют сеть, подобную корзинке, из прерывистых и звездчатых структур, что позволяет некоторым люминальным эпителиальным клеткам непосредственно контактировать с базальной мембраной (БМ) (Emerman J.T. et al., 1986).

МК являются специализированными клетками, сочетая в себе фенотипические особенности как эпителиальных, так и гладкомышечных клеток. Проявляется это за счет экспрессии маркеров гладкой мускулатуры – актиновых, миозиновых и виментиновых нитей, и за счет способности к сократительной активности. Эпителиальный фенотип демонстрируется экспрессией различных эпителиальных биомаркеров, главным образом цитокератинов (Lee S. et al., 2006).

Помимо промежуточных филаментов цитоскелета МК значимую роль играют компартменты плазматической мембраны, характеризующиеся наличием пиноцитарных везикул, которые сейчас классифицируются как кавеолы. Этот участок мембраны состоит из основного белка кавеолина-1 (Cav-1), который является главным модулятором сигнальной трансдукции. Cav-1 играет важнейшую роль в онкогенезе, являясь опухолевым-супрессором, подавляющим некоторые сигналы злокачественных клеток (Razani B. et al., 2002; Cohen A. W. et al., 2004; Sánchez-Céspedes R. et al., 2015).

Миоэпителиальные клетки находятся в непосредственном контакте с базальной мембраной, за счет адгезивных соединительных белков: винкулин, талин, киназа фокальной адгезии и α -актинин, которые ускоряют обмен через паракринные сигналы между БМ и эпителиоцитами. По локализации МК можно идентифицировать на просветные и базальные/миоэпителиальные клетки. Однако, особенно в мелких протоках и альвеолах, базальные клетки

плоские и удлиненные, поэтому их трудно различать (Pella L. et al., 1990; Barsky S. H. et al., 2005).

По своей функциональной активности МК могут контролировать транспорт и метаболизм молекул между люминальными эпителиальными клетками и БМ. Также они вносят значительный вклад в строение базальной структуры путем экспрессии и отложения фибронектина, коллагена IV, нидогена и биологически активных ламининов, морфогенов, различных факторов роста, десмосом, матриксных металлопротеиназ (ММПs), такие как ММП2 и ММП3. Обладают рецепторами БМ, включая интегрины, которые опосредуют прикрепление клеток к БМ и иногда взаимодействие клеток с клетками. В частности, $\beta 4$ и $\alpha 1$ интегрины экспрессируются в миоэпителиальных клетках (Muschler J. et al., 2010; Yazlovitskaya E. M. et al., 2019; Shams A., 2022).

Многие авторы исследовали специальные биомаркеры для идентификации МК от простых люминальных и стволовых клеток. Наиболее чувствительными биомаркерами МК являются: α -гладкомышечный актин (α -SMA), цитокератины (CKs), такие как CK5, CK14 и CK17, кальпонин, и белок p63. В миоэпителиальных клетках не было обнаружено реактивности десмина (Destexhe E. et al., 1993; Abd El-Rehim D. M. et al., 2004; Gudjonsson T. et al., 2005).

Таким образом, различное строение молочных желез у двух видов млекопитающих характеризуется эволюционно сложившимся комплексом признаков от количества приносимого потомства, продолжительности лактационного периода и размеров самого животного. Различия в лимфатической системе являются основополагающим моментом метастатического потенциала злокачественных клеток при канцерогенезе молочных желез. В клеточном строении молочной железы миоэпителиальные клетки являются не только основным структурным компонентом в морфогенезе ветвления эпителия, но и выполняют важнейшую биологическую роль между базальной мембранной и люминальными эпителиоцитами

посредством паракринной связи. С помощью паттерна экспрессии маркеров МК могут влиять на морфогенез эпителиального компартмента в тканях молочной железы.

1.3. ОСОБЕННОСТИ КАНЦЕРОГЕНЕЗА В ОПУХОЛЯХ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ У ПЛОТОЯДНЫХ

Опухоли молочных желез у собак (СМТ) и кошек (FMT) являются наиболее распространённой онкологической патологией. Свыше 50% у данных видов занимают злокачественные новообразования. К многочисленным факторам, способствующим развитию канцерогенеза молочных желез, относят гормоны, клеточные рецепторы, ожирение, облучение, химические вещества, генетические нестабильности (Misdorp W., 2002).

СМТ и FMT регистрируются у животных, достигших гериатрического возраста, в большинстве случаев у некастрированных самок, однако встречаются животные и более молодого возраста, кастрированные самки и некастрированные самцы (Якунина М. Н., 2011).

Породная предрасположенность у собак и кошек полностью не изучена, но по некоторым статистическим данным наиболее подвержены к развитию опухолей молочных желез мелкие и крупные породы собак: чихуахуа, такса, пудель, йоркширский терьер, бульдог, спаниель, немецкая овчарка, доберман, немецкий боксер. У кошек – сиамские, персидские и домашние короткошёрстные породы (Dobson J., 2017).

Оценивая гистологический тип опухолей у собак и кошек, врачипатоморфологи использовали классификацию, опубликованную Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) (Misdorp W., 1999). FMT менее гетерогенны и представлены в основном агрессивными монофазными карциномами, кроме данного типа выделяют сложные карциномы, состоящие из эпителиального и миоэпителиального компонентов. В 2013 году к классификации FMT было предложено дополнение к сложным опухолям

протоковых и внутрипротоковых папиллярных структур (Zappulli V. et al., 2013).

По данным A. Sammarco et al., (2020) наличие сложных карцином в молочной железе у кошек демонстрировало менее агрессивное поведение, чем распространённые виды простых карцином.

M. Goldschmidt et al., (2011) предложили модифицировать классификацию СМТs ВОЗ (1974, 1999). К данным гистологическим типам был добавлен термин – воспалительная карцинома, имеющая клинические признаки, характерные с воспалительными реакциями организма.

K.S. Im et al., (2014) дополнили классификацию 2011 г. с использованием иммуногистохимического исследования (ИНС) на маркеры p63, α -SMA и виментин, с последующей идентификации клеток, происходящих из миоэпителиальных.

Самый распространённый тип неоплазий у собак представлен смешанными опухолями, имеющих довольно сложный клеточный ландшафт, состоящий из эпителиального, миоэпителиального и мезенхимального компонентов. Гистологический вид у собак схожий с плеоморфными аденомами, диагностируемыми у человека. Однако, нет общего мнения как именно возникают эти опухоли, а лишь представлены три гипотезы. Первая относится к теории столкновения, когда у двух независимых опухолей происходит слияние клеточных компонентов, за счет близкого расположения друг с другом. Вторая – теория комбинации, для которой характерно происхождение тканей из стволовых, или мультипотентных клеток – предшественников. И последняя конверсионная (метапластическая), в которой происходит метаплазия и трансдифференцировка миоэпителиальных, или базальных клеток молочной железы (Sánchez-Céspedes R. et al., 2016).

Иммуногистохимическое исследование протеогликана версикана в СМТ доказывает молекулярные изменения в миоэпителиальных клетках, приводящие к трансформации в мезенхимальный компонент, являющегося

основой для образования хрящевого матрикса (Damasceno K. A. et al., 2012; Damasceno K. A. et al., 2014).

СМТ возникают спонтанно, не затрагивая иммунную систему, в обычных условиях проживания, имея основные патологические особенности и внутриопухолевую гетерогенность, что характерно для человека. Исследования с участием животных-компаньонов являются отличным примером для изучения канцерогенеза и прогрессирования РМЖ, в отличие от искусственно созданных генетических моделей (Pinho S. S. et al., 2012; Fenger J. M. et al., 2016; Vilhena H. et al., 2020).

Результаты исследований Т. М. Kim et al., (2020) указывают на аберрацию гена PIK3CA/PI3K-Akt, а также выявлению трех подтипов СМТ с характерной экспрессией активных генов, способствующих к эпителиально-мезенхимальному переходу (EMT). Таким образом, исследователи доказали молекулярную конвергенцию канцерогенеза между СМТ и РМЖ у человека.

Сопоставляя данные литературы, можно заключить, что мелкие домашние животные (МДЖ) служат хорошей моделью для понимания универсальных и контекстно-зависимых механизмов развития рака, имея межвидовые онкогенные признаки с человеком.

1.4. ВЛИЯНИЕ МИКРООКРУЖЕНИЯ НА РАЗВИТИЕ

ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ

Наибольшее внимание ученых привлекала люминальная эпителиальная клетка как особая мишень в процессе канцерогенеза. За последние десять лет миоэпителий стали рассматривать как особую субстанцию в удержании или прогрессировании от карциномы *in situ* (DCIS) до инвазивного рака (Sánchez-Céspedes R. et al., 2013; Sánchez-Céspedes R. et al., 2016).

МК клетки способны активному поддержанию правильной поляризации эпителиоцитов за счет продукции ламининов, а также разграничению люминальных клеток от стромы путем создания интегрированного барьера, обеспечивающего паракринный защитный механизм против инвазии рака и

метастазирования. Миоэпителий наиболее устойчив к трансформации и экспрессирует многочисленные ингибиторы протеиназ, антиангиогенные факторы и белки-супрессоры: p63, p73, 14-3-3 сигма, маспин, кавеолин-1, TIMP-1, коннексин 43, тяжелая цепь миозина мышц smooth (SM-MHC) (Barsky S. H. et al., 2005; Farhanji B. et al., 2015; Łopuszyński W. et al., 2019).

Кроме супрессорных функций МК проявляют эффекты, способствующие развитию рака, провоцирующие инвазию и распространение опухолевых клеток за счет выделения хемокинов. Высокий уровень экспрессии хемокинов CXCL14 и CXCL12 взаимодействует с эпителиальными рецепторами, способствуя росту опухоли, индуцируя агрессивный фенотип как по паракринному, так и по аутокринному образцу (Allinen M. et al. 2004).

Авторы утверждают, что МК могут выполнять двойную функцию как супрессоров опухоли, так и промоторов. Они предполагают, что миоэпителий ведет себя по-разному в зависимости от степени его дифференцировки и от типа рассматриваемой опухоли (Pandey P. R. et al., 2011; Sirka O. K. et al., 2018).

При возникновении опухолевой прогрессии МК редко трансформируются, однако, когда происходит трансформация, то образуется новый тип неоплазии. Гистологический тип опухолей молочных желез, состоящий из эпителия и миоэпителиального компонентов, относят к сложным карциномам. Опухоли у собак сильно различаются по морфологии и часто включают три вида клеток: эпителиальные, миоэпителиальные и мезенхимальные (Sánchez-Céspedes R. et al., 2011; Goldschmidt M. H. et al., 2011).

Для изучения морфологии миоэпителия рассматривают смешанные опухоли у собак. Клетки подразделяют на несколько типов: покоящиеся и пролиферирующие супрабазальные МК, веретенообразные и звездчатые подвижные интерстициальные МК. Супрабазальные клетки располагаются между базальной мембраной и эпителиоцитами. Уплощенную веретенообразную форму имеют покоящиеся клетки, а полигональную -

пролиферирующие. Другой тип представлен интерстициальными клетками, располагающимися в сплошных гнездах, рядом с эпителиальным компонентом, либо они могут находиться изолировано в строме. К ним относят веретенообразные и звездчатые МК, дифференцирующиеся в сторону более общего сократительного фенотипа (Beha G. et al., 2012).

Для идентификации в тканях МК используют специальные биомаркеры: α -SAM, кальпонин, цитокератины CKs 5, 14 и 17 базального типа, Р-кадгерин и высокие уровни p63 (Ramalho L. N. et al., 2006).

Интерстициальные МК, приобретая иммунореактивность к виментину (VIM), в конечном итоге становятся фибробластоподобными клетками. Данная дифференцировка миоэпителия приводит к образованию различных мезенхимальных тканей, включая хрящ и кость, в смешанных опухолях. Приобретение в клетках типичных мезенхимальных признаков происходит за счет EMT (Kalluri R., 2009).

Строма молочной железы представляет собой многообразие мезенхимальных компонентов, наиболее распространёнными из них являются фибробласты. Морфология данных клеток представляет собой классические веретенообразные формы, обладающие планарной полярностью и находящиеся в спящем режиме, а также имеющие незначительную активность в отношении метаболизма и транскрипции (Calluri R., 2016).

В процессе развития канцерогенеза происходит взаимодействие злокачественных клеток с нормальными, приводящее к образованию опухолевого микроокружения или десмопластической реакции, так как сама опухоль для организма вызывает воспаление и повреждение внеклеточного матрикса. Данные процессы активизируют покоящиеся фибробласты, которые в дальнейшем приводят к фиброзу стромы вокруг патологического очага, и новообразование приобретает феномен как «рана, которая никогда не заживает» (Dvorak H. F., 1986; Ronnov-Jessen L. et al., 1996).

Во время десмопластической реакции происходит трансформация клеток фибробластов в новый дифферон – ассоциированные с раком

фибробласты (CAFs). Клетки приобретают экспрессию α -SMA и становятся миофибробластами, которые начинают образовывать опухолевую строму. Также фибробласты принимают активное участие в ангиогенезе, метастазировании, поддержании стволовости рака, ремоделировании внеклеточного матрикса, метаболическом перепрограммировании и модуляции многих компонентов иммунной системы. Однако в некоторых случаях CAFs могут быть и супрессивными в отношении опухоли (Micallef L. et al., 2012; Олейникова Н. А. и соавт., 2020).

Морфологический тип CAFs обусловлен крупными видами клеток с неправильной формой ядра, имеющими большое количество отростков цитоплазмы за счет повышенной экспрессии мезенхимального белка VIM, который придает клеткам пластичность и мобильность. Клетки в отличие от своих предшественников, обладают повышенными пролиферативными и миграционными свойствами, способствуют реконструированию структуры внеклеточного матрикса, а также выработке многих факторов роста и провоспалительных цитокинов: трансформирующий фактор роста- β (TGF- β), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), интерлейкин-6 (IL-6) и лиганд СХС-хемокина (CXCL12). Все эти биологические вещества важны для стимулирования ангиогенеза и привлечения иммуносупрессивных клеток, что позволяет опухоли уклоняться от иммунного ответа (De Wever O. et al., 2008; Chen H. et al., 2019).

Согласно исследованиям S. Yotsu et al., 2011; E. M. Zeisberg et al., 2007; P. J. Barth et al., 2002; S. E. Weber et al., 2015; A. E. Karnoub, et al., 2007; R. Calluri et al., 2006, нет однозначного мнения о теории возникновения CAFs. По многочисленным данным они представляют собой гетерогенную популяцию клеток, которые могут образовываться не только из резидентных фибробластов и миоэпителиоцитов, но из эпителиальных и эндотелиальных клеток посредством EMT или эндотелиально-мезенхимального (EndMT) переходов, с помощью трансдифференцировки от перицитов, гладкомышечных клеток и адипоцитов. Также свой вклад в клеточный пул

вносят фиброциты, образующиеся из предшественников моноцитов. Последний тип клеток, обладающих стволовостью и трансформацией, относят к мезенхимальным стволовым клеткам костного мозга (BM-MSC) или к тканевым мезенхимальным стволовым клеткам (rMSCs). Данные структуры могут усиливать метастатическую активность клеток при раке молочной железы, желудка и поджелудочной железы.

Авторов интересует не только их происхождение, но и разновидности клеток CAFs. Источники свидетельствуют о том, что существует множественное происхождение гетерогенного пула клеток, но главная их особенность заключается в их влиянии на микроокружение опухоли и изменение злокачественных клеток (Chen H. et al., 2019; Biffi G. et al., 2021).

A. Costa et al., (2018) выявили четыре подтипа CAF-(S1-4) при раке молочной железы человека с помощью флюоресценции, и установили, что подтип CAF-S1 характеризуется повышенной экспрессией белка активации фибробластов (FAP) и модуляцией иммуносупрессивной среды путем накопления CD4⁺ CD25⁺ Т-лимфоцитов. При гиперэкспрессии FAP в клетках происходит ремоделирование стромального компонента за счет образования волокон фибронектина и коллагена I, которые создают параллельные дорожки, для направленности и миграции раковых клеток (Lee H. O. et al., 2011).

При исследовании онкогенеза в молочных железах выявляют многие подтипы фибробластов, расположенных во внеклеточном матриксе, выполняющих определенную функцию в зависимости от занимающей ниши и способствующие развитию опухолей (Su S. et al., 2018; Brechbuhl H. M. et al., 2017; Bartoschek M. et al., 2018; Friedman G. et al., 2020).

По мнению A. Costa et al., 2018; S. Z. Wu et al., 2020, установили, что в опухолевой ткани имеются иные виды клеток, характеризующиеся сократительными элементами (myCAF) и воспалительными сигналами (iCAF). Было выявлено, что myCAF имеют высокую экспрессию α -SMA при активации сигнального пути трансформирующего фактора роста-бета (TGF- β)

и тромбоцитарного фактора роста (PDGF). Данные сигналы позволяют сформировать сократительные микрофиламенты в клетках, что в последующем приводит к накоплению их вокруг патологического очага и формированию десмопластической реакции. В отличие от предыдущих клеток iCAF отмечаются в дистальных областях стромы с обильным лимфоцитарным инфильтратом, выделяющие высокие уровни воспалительных цитокинов как, интерлейкин-6 (IL-6) и интерлейкин-11 (IL-11), за счет которых происходит иммуносупрессия клеток организма.

Для идентификации CAFs в микроокружении опухолей применяют специальные маркеры, образованные по специальным молекулярным свойствам. Самыми распространёнными являются: α -SMA, виментин (vim), специфичный для фибробластов белок 1 (FSP1/S100A4), белок активации фибробластов (FAP), рецептор фактора роста- α тромбоцитов PDGFR α/β , тенаascin-C, нейроглиальный антиген (NG2), десмин, CD90/THY1 и подоплатин (PDPN) домен дискоидина, содержащих рецептор 2 (DDR2); мембранный белок, содержащий богатый лейцином повтор (LRRC15) и новый маркер кавеолин-1 (Cav-1) (Getz J. J., et al., 2011; Simpkins S. A. et al., 2012; Purcell J. W. et al., 2018; Nurmik M. et al., 2020).

Большое влияние на онкогенез молочных желез влияют фибробласты, которые путем выделения биомолекул стимулируют повышенную миграционную способность, активизируют сигналинг фактора-индуцируемого аутокринного роста с высоким уровнем молекулярной секреции. В конечном итоге производятся факторы роста, цитокины, хемокины и экзосомы, которые влияют на развитие опухоли и ремоделирование внеклеточного матрикса (Luga V. et al., 2012; Parsonage G. et al., 2005; Lebloux V. S. et al., 2018).

Генетический ландшафт CAFs настолько разнообразен, что создает перекрестные помехи с опухолевыми клетками, характеризующиеся сложной и запутанной сигнальной сетью. Среди многообразия сигнальных путей, выделяют: PI3K/АКТ/mTOR, Wnt, MAPK, JAK/STAT, EGFR, Hippo, NF- κ B.

Самый распространенный сигнальный путь, проявляющий множественную фенотипическую экспрессию, является TGF- β 1. Данный путь может изменять экспрессию генов в резидентных фибробластах, приводящий к дифференциальной экспрессии генов α -SMA и FAP, и преобразовывать их в CAFs (Lamprecht S. et al., 2018; Tan H. H., et al., 2019).

Путь TGF- β 1 влияет на транскрипцию генов белка цинкового пальца (Snail1) и связанный с твистом белок 1 (Twist1) для повышения сократительной силы клеток и дальнейшего ремоделирования внеклеточного матрикса. Опосредованный путь способствует секреции факторов роста: фибробластов 1/7 (FGF 1/7), эндотелия сосудов (VEGF), тромбоцитарный фактор (PDGF) и фактор гепатоцитов (HGF). За счет данных белковых соединений происходит пролиферация, миграция и инвазия злокачественных клеток, что ведет к прогрессированию рака. Однако, данный путь на ранней стадии канцерогенеза способен сдерживать инициацию опухоли, выполняя супрессивную роль по отношению к опухолевым клеткам (Wu F. et al., 2021; Flaberg E. et al., 2011; Lebloux V. S. et al., 2018; Erdogan B. et al., 2017).

Следует отметить, что метаболические процессы в опухоли для поддержания роста основываются на «эффекте Варбурга». Это открытие позволило понять, что раковые клетки в условиях отсутствия кислорода потребляют большое количество глюкозы с превращением ее в молочную кислоту (Warburg O., 1923; Warburg O., 1924).

В своем исследовании S. Pavlides et al., (2009) предложили новую теорию и назвали ее «обратный эффект Варбурга». В созданной авторами альтернативной модели генеза рака определили, что эпителиальные раковые клетки усиливают «эффект Варбурга», действие которого направлено на рядом расположенные стромальные клетки. За счет онкометаболизма и измененных сигнальных путей активированные фибробласты приобретают миофибробластический фенотип и производят лактат и пируват, которые идут на потребление раковых клеток и более высокой их пролиферативной активности. Следовательно, в опухолевой среде создается большая

концентрация энергии, что способствует быстрому росту злокачественных клеток и ангиогенезу.

CAFs участвуют в иммуносупрессии опухолевых клеток благодаря созданию стромального барьера, образованного утолщенными коллагеновыми волокнами. Это придает жесткость внеклеточного матрикса и большую силу сжатия интерстициального давления, что вызывает ингибирование поступающих лекарственных веществ из кровеносных сосудов. Кроме этого, они выделяют иммуносупрессивные лиганды, как TGF- β и CXCL12 (SDF-1 – хемокин), с помощью которых рекрутируют клетки миелоидного ряда, предотвращая их цитотоксическую активность (Lu P. et al., 2012; Straussman R. et al., 2012; Gajewski T. F. et al., 2013; Mantovani A. et al., 2017; Takahashi H. et al., 2017; Cohen N. et al., 2017; Powell D. R. et al., 2016; Varricci G. et al., 2017; Mariatasian S. et al., 2018).

В источниках указывается, что активированные фибробласты преобладают на границе опухоли, так они могут взаимодействовать напрямую с опухолевыми клетками с помощью измененного сигнального пути TGF- β для ЭМТ и инвазивности раковых клеток. Однако, микроокружение в центре опухоли намного отличается от периферии за счет находящихся клеток в состоянии гипоксии, что является движущей силой в изменении поведения клеток стромального компонента и агрессивного поведения раковых клеток (Chouaib S. et al., 2012; Perepel D. F. et al., 2013).

Таким образом, миоэпителиальные клетки играют важную роль в паракринной регуляции нормальных и опухолевых эпителиоцитов. При эктопической экспрессии маркеров в МК происходит влияние молекулярных механизмов на морфогенез эпителиального компонента и изменение микроокружения в тканях молочной железы. Кроме того, CAFs являются самой распространенной высокогетерогенной популяцией клеток в стромальном компоненте рака молочных желез. При экспрессии α -SMA данные клетки приобретают миофибробластический тип, который способствует образованию десмопластической реакции, а экспрессия *vim*

позволяет в клетках изменять свою морфологию и приобретать пластично-мобильную структуру. Данные образования напрямую взаимодействуют с опухолевыми клетками, изменяя сигнальные пути, что в конечном итоге приводит к процессу EMT.

1.5. ЭПИТЕЛИАЛЬНО-МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЙ ПРЕХОД В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ

Эпителиально-мезенхимальных переход (EMT) – является сложным процессом изменения эпителиальных клеток не только в начале развития организма, но и в метастазировании опухолей. Под этим явлением подразумевается обратимый переход эпителиальных клеток в мезенхимально-подобный тип под действием транскрипционных факторов и рецепторов сигнальных молекул. Разнообразные физиологические процессы, происходящие при EMT, привели к тому, что было выделено три различных подтипа (Kalluri R., 2009; Thierry J. et al., 2011; Русакова С. Э. и соавт., 2018; Гапонова А. В. и соавт., 2020).

Первый тип EMT был описан E. D. Nay (1968, 1989) по результатам исследования на курином эмбрионе, показывающий важное значение данного процесса в развитии зародыша, его главных признаков и механизмов регуляции. Сам переход в наибольшей степени характерен при гастрюляции и миграции клеток нервного гребня, который способен образовывать мезодерму и энтодерму из клеток эпибласта. Благодаря этому из зиготы образуется множество тканей и органов. Кроме того, каскадным сигналом для трансформации клеток является TGF- β и сигнальный путь Wnt (Acloque H. et al., 2009; Ahmed S. et al., 2007; Chen T. et al., 2017; Дворяшина И. А. и соавт., 2021).

Второй тип EMT встречается при заживлении ран и в тканях с хроническим воспалением, приводящему к фиброзу органа. Чаще всего это происходит в почках, печени и легких, интерстициальные клетки которых

превращаются в фибробласты и миофибробласты, образующие стромальный матрикс (Lee K. et al., 2012; Мнихович М. В. и соавт., 2018).

Третий тип ЕМТ участвует в опухолевой прогрессии. Эта тема остается до сих пор актуальной в отношении задействованного механизма приобретения раковой клетки подвижности и инвазивности. Перестройка происходит за счет хромосомной аберрации в генах, изменение синтеза белка, факторов роста и путей сигнальной трансдукции (Zhang Y. et al., 2018).

Как известно, эпителиальные клетки выполняют роль барьера между тканями и средой организма. Они имеют апикально-базальную полярность, взаимодействуют друг с другом через межклеточные контакты и располагаются на базальной мембране за счет взаимодействия с интегринами. Во время дестабилизации межклеточных контактов происходит снижение экспрессии E-кадгерина (белок клеточной адгезии) на плазматической мембране, что в дальнейшем приводит к его полному расщеплению, и β -катенин больше не сможет с ним связаться, чтобы поддерживать структуру клетки. Он подвергается также расщеплению, либо с помощью канонического пути Wnt переходит в ядро клетки и запускает некоторые транскрипционные факторы. В клетке подавляются экспрессии эпителиальных маркеров (десмоплакин, плакоглобин, клаудин, окклюдин, цитокератин) и продуцируются мезенхимальные: виментин, фибронектин, гладкомышечный актин и нейронный кадгерин (N-кадгерин), при действии которых изменяется цитоскелет и полярность эпителиоцита, что приводит его к пластичности. Далее клетки формируют мембранные выступы (ламеллиоподии, филоподии, инвадоподии) богатые филаментными структурами актина, которые способствуют подвижности клеточных структур и действуют как сенсорные расширения цитоскелета. Инвадоподии выполняют протеолитическую функцию в расщеплении внеклеточного матрикса, чтобы инвазия клеток была облегченной (Cowin P. et al., 2005; Huang R. et al., 2012; Niehrs C., 2012; McNiven M. A., 2013).

Перепрограммированная клетка разрушает базальную мембрану за счет повышенной экспрессии генов матриксных металлопротеиназ (ММП) и мигрирует в соединительную ткань, приобретая фибробластический фенотип. Затем эти клетки проникают в лимфатические и кровеносные сосуды, где создают метастатический потенциал в различных органах (Thompson E. W. et al., 2005).

В исследованиях карцином молочных желез было выявлено, что миграция опухолевых клеток происходит групповым методом. Этот тип компонентов теряет только часть молекул клеточной адгезии, при этом сохраняя небольшие межклеточные соединения, что позволяет им подходить на эпителиальный вид. В частности, такие изменения могут быть отнесены к частично обратимым видам EMT (Кузнецова В. В. и соавт., 2018).

Молекулярная программа EMT является пластичной и подвергается регрессу в отношении мезенхимально-эпителиального перехода (МЭП) с репрессией мезенхимальных генов и активации эпителиальных, кодирующих белки клеточной адгезии. В общем, данный процесс позволяет клеткам вернуться в эпителиальное состояние. Особенно это важно для клеток карцином, которые образуют очаги вторичной опухоли со сходным фенотипом первичной (Esteban M. A. et al., 2012; Tsai J. H. et al., 2013; Lambert A. V. et al., 2017).

Этапы EMT координируются с помощью трех концепций. Первая – это индукторы, сигнализирующие начало трансформации. К ним относятся факторы роста и рецепторы тирозинкиназных доменов таких как, фактор роста фибробластов (FGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF), эпителиальный фактор роста (EGF). Однако, самый важный фактор, участвующий как в эмбриональном периоде, так и в опухолевой прогрессии отводят TGF- β (Стеценко А., 2018; Gasior K. et al., 2019).

Второй тип относят к регуляторам факторам транскрипции – Snail (SNAIL1), SLUG (SNAIL2), TWIST1, ZIB1 (TCF8 и δ EF1), SIP1 (ZEB2 и ZFXH1B) и E47 (TCF3). Они способны не только регулировать межклеточную

адгезию и миграцию клеток, но и участвовать в клеточной пролиферации, апоптозе, стволовости и иммуносупрессии. Ключевую роль в подавлении транскрипции E-кадгеринов играют белки цинкового пальца SNAIL1/Slug. В свою очередь, Twist активизирует экспрессию мезенхимальных биомаркеров – фибронектин, виментин, α -SMA, N-кадгерин. Кроме того, белки Snail и Slug воздействуют на активацию TGF- β через связывающий домен Smad3 (Hajra K. M. et al., 2002; Pedersen K. B. et al., 2002; Yang M. H. et al., 2008; Brabletz T. et al., 2018; Lamouille S. et al., 2014; Fedele M. et al., 2022).

Третий тип – это белки, отвечающие за конечную форму клетки. Реорганизация белков на поверхности и внутри (промежуточные филаменты) структур эпителиального компонента (\downarrow кератин; \uparrow виментин) приводит к изменению подвижности и пластичности цитоскелета (Gonzalez D. M. et al., 2014).

По мнению S. A. Mani et al., 2008; E. Tomaskovich-Krook et al., 2009, существуют сигнальные каскады SNAIL/TWIST в эпителиоцитах молочной железы и стимулируют образование мезенхимально-подобных клеток, имеющих фенотип CD44^{hi} CD24^{low}, который схожий со стволовыми эпителиальными клетками. Кроме того, такую популяцию находили в раковых стволовых клетках молочных желез (CSCS), индуцируя маркеры EMT. Следовательно, CSCS могут производить онкогенные мутации, способствующие инвазии и диссеминации опухолевых клеток по организму.

Источником CAFs могут являться эпителиальные клетки, которые в процессе EMT приобрели мезенхимальные особенности, характеризующиеся повышенной миграционной способностью и инвазивностью (Speth E. L. et al., 2009).

Кроме EMT имеется процесс, называющийся эндотелиально-мезенхимальный переход (EndMT). Его внутриклеточные мессенджеры аналогичны предыдущему, только отличие состоит в том, что принимают участие в данном процессе клетки эндотелиальной выстилки, которые проходят такие же этапы трансдифференцировки (Medici D. et al., 2012).

Также высказано мнение, что программы EMT повышают устойчивость к разным факторам, в том числе к гибели клеток не только в эмбриогенезе, но и в онкогенезе. При этом клетки защищены от повреждающих стимулов с помощью сигнальных путей PI3K/AKT, NF-κB, Wnt/β-catenin и p53/p63. Однако, главным индуктором в подавлении иммунитета вокруг опухоли является TGF-β, который активизирует дифференцировку ассоциированных с раком макрофагов (TAM), что создает устойчивость к цитотоксичности. Следовательно, клеточная пластичность сопровождается изменением группы маркеров характерных для EMT, которые усиливают лекарственную устойчивость и блокировку иммунного контроля раковых клеток (Jing Y. et al., 2011; Sibue T. et al., 2017).

Таким образом, в процессе EMT клетки претерпевают изменения в программе передачи сигналов и экспрессии генов, которые изменяют цитоскелет эпителия в более пластичный и подвижный фибропластический тип. С помощью трансдифференцировки клетки приобретают оригинальный фенотип, позволяющий им не только диссеминировать по сосудам, но и обладать устойчивостью к цитотоксическим факторам.

1.6. ОНКОМАРКЕРЫ В ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ МЕТОДАХ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Для выявления раннего и точного онкологического заболевания используют клинично-лабораторные методы исследования. Важными составляющими диагностического профиля являются онкомаркеры, образующие биологические вещества злокачественно трансформированных клеток (Якупова К. И. и соавт., 2019).

В онкологии большое значение уделяют белкам областей ядрышковых организаторов, для которых специфичен высокий уровень экспрессии в пролиферирующих раковых клетках. К ним относят нуклеолин (NCL), нуклеофозмин (NPM1) и фибрилларин (FBL).

Нуклеолин/NCL

Ген, кодирующий данный белок локализуется на хромосоме 2q31.1 (14 экзонов; 13 интронов). NCL является составным звеном фибриллярного и гранулярного компартмента ядрышек. Также он может содержаться в нуклеоплазме, цитоплазме и на клеточной мембране, обеспечивая клеточный гомеостаз (Mongelard F., et al., 2007; Jia W. et al., 2017).

Фосфопротеин играет роль в качестве молекулярного шаперона, между ядром и цитоплазмой. Это связано со структурной организацией и способностью образовывать различные вещества, участвующие в клеточном сигнальном пути. На клеточной мембране белок представлен в виде кластеров, расположенных в билипидном слое, и взаимодействует с многообразными лигандами как факторы роста, а также с протеинами и другими макромолекулами. Эти комплексы проникают внутрь клетки с помощью эндоцитоза, следовательно, NCL является медиатором внеклеточных сигналов между средами (Зенит-Журавлева Е. Г. и соавт., 2012).

Функциональная значимость NCL заключается в биогенезе рибосом, репарации ДНК, ремоделировании и стабильности генома, делении клеток, а также он влияет на гистоновую активность шаперонов, стимулирует транскрипцию РНК через нуклеосомы. Все это способствует регуляции многих аспектов метаболизма и поддержки пролиферативной активности клеток. В обычных условиях NCL локализуется в нуклеолярной области, однако при воздействии генотоксического стресса белок мобилизуется в нуклеоплазматическую субстанцию. Эти данные показывают, что перемещение NCL сопровождается глобальной модуляцией метаболизма ДНК после стресса (Daniely Y. et al., 2000; Ugrinova I. et al., 2018; Liu X. et al., 2022).

Многие функции белка также могут влиять на онкогенез путем регуляции сигнальных путей, факторов роста, ангиогенеза и лимфангиогенеза, стволовости раковых клеток и при ЕМТ. При повышенной экспрессии NCL происходит высокая продукция рибосомной РНК (рРНК) за счет, чего увеличивается метаболизм и пролиферация опухолевых клеток (Robichaud N. et al., 2019; Zhang L. et al., 2022).

Шаперонная активность нуклеолина между цитоплазматической и ядерной структурами происходит посредством импорта белка с $\beta 1$ через сигнальный каскад TGF- β (Chandra M. et al., 2012).

Имеется пилотное исследование в области ветеринарии, Cruz C. et al. (2021) определяли экспрессию NCL в клетках крови при неоплазии у собак. Результаты исследований показали, что экспрессия NCL была мембранной и цитоплазматической в клетках крови при патологии.

Нуклеофозмин/NPM1

Нуклеофозмин принадлежит к нуклеоплазминовому ядерному шапероновому белку. Ген NPM1 находится на хромосоме 5q35 (12 экзонов; 11 интронов). Этот мультифункциональный протеин содержит в себе особые области, отвечающие за шаперонную активность и связывание с нуклеиновыми кислотами и белками. Белок участвует в процессинге мРНК (матричной РНК), ремоделировании хроматина, регуляции генетической стабильности и белков-супрессоров опухолей p53 и p14. Транспортная функция NPM1 заключается в обеспечении импорта и экспорта рибосомных белков между ядром и цитоплазмой (Зенит-Журавлева Е. Г. и соавт., 2012; Дейнеко Н. Л. и соавт., 2015; Kuramitsu U. et al., 2016).

При нарушении биосинтеза NPM1 происходит нарушение транспорта гистонов и регуляции сборки хромосом, что может повлиять на процесс митоза и индуцировать геномную нестабильность, приводящую к образованию опухолей. Однако, точная физиологическая функция NPM1 в онкогенезе остается противоречивой, поскольку считается, что он действует как онкогенный промотор и супрессор опухоли (Kuramitsu U. et al., 2010; Karhemo P. R. et al., 2010; Chen S. et al., 2018; Qin G., et al., 2020).

D. Zeng et al. (2018) определили, что высокая экспрессия NPM1 отмечалась в базальноподобном типе рака молочной железы и при нокдауне гена снижалась пролиферативная способность опухолевых клеток. Следовательно, NPM1 может являться потенциальным биомаркером в канцерогенезе.

Фибрилларин/FBL

Фибрилларин относится к семейству SAM-метилтрансфераз, проявляя свою активность становится источником метилирования сайтов ДНК, участвующих в первых этапах прерибосомального (пре-rРНК) процессинга и необходимых для структурной стабильности рибосом и сборке прерибосом. FBL участвует в метилировании гистона H2A в ядрышках и в других процессах таких как, вирусная прогрессия, клеточный стресс и прогрессирование клеточного цикла (Rodriguez-Corona U. et al., 2015; Shubina M. Y. et al., 2016; Guillen-Chable F. et al., 2020).

Ряд авторов приводят данные о наличии связи между FBL и онкогенезом. При сверхэкспрессии данного белка происходит активация онкогенов, усиливается пролиферация клеток, а также повышается резистентность к химиотерапии при раке молочных желез. Когда происходит нокаут гена FBL с помощью экспрессии p53, то нарушается паттерн метилирования рРНК с изменением трансляции ключевых генов, связанных с раком: IGF-1R, C-MYC, VEGF-A и FGF1/2. Таким образом, FBL может представлять собой значимый биомаркер биогенеза рибосом при раке молочной железы (Marcel V. et al., 2013; Shubina Y. et al., 2018).

Целостность клеток важна в архитектуре строения тканей и органов, этому способствует цитоскелет, который имеет решающее значение для формы, миграции и инвазии как нормальных, так и опухолевых клеток. Сам цитоскелет состоит из промежуточных нитей (виментин и кератин), микрофиламентов (актин) и микротрубочек (тубулин) (Nishimura Y. et al., 2019).

Для определения коэкспрессии маркеров эпителиального и мезенхимального компонентов при ЕМТ используют белки промежуточных филаментов. Самыми распространённым из них являются виментин, α -SMA, цитокератин.

Виментин/Vim

Ген виментина на хромосоме 10p12 кодирует белки промежуточных нитей (IF), которые выполняют роль специфического строительного каркаса для типа клеток. Vim представляет собой многофункциональный белок, состоящий из 466 аминокислот. Он придает пластичность мезенхимальным клеткам при регенерации, а также координирует опухолевые клетки для миграции, подвергнувшись в ходе EMT (Mayer J. et al., 2016; Battaglia R. A. et al., 2018; Paulin D. et al., 2022).

Самая ранняя активация данного гена происходит еще в эмбриогенезе, когда начинают мигрировать эктодермальные клетки с «выключенными» генами кератина (Franke W. W. et al., 1982).

Во время миграции клетки актиновые филаменты подвергаются реорганизации и собираются на переднем ее крае, образуя псевдоподии: ламеллиподии и филоподии. Затем в задней части клетки происходит разборка актиновых волокон, что приводит к сокращению. Виментин тесно связан с микротрубочками и взаимодействует с ними при помощи хвостового домена, что создает внутри клеток гиперэластичную сеть. Его роль состоит в сборке и сокращении актина путем подавления фосфорилирования GEF-H (путь RhoA), что способствует реорганизации волокон. При миграции клеток функция тубулина также зависит от виментина, который с помощью нитей направляет рост микротрубочек вдоль предыдущих, что обеспечивает память для других. За счёт этого происходит усиление полярности и подвижности клеток, что является направленной миграцией (Chang B. M. et al., 2013; Gan Z. et al., 2016; Caswell P. T. et al., 2018; Jiu Y. et al., 2017).

При использовании нового вычислительного метода для анализа нитей виментина выявлено, что зрелые волокна Vim ограничивают образование ламеллиподий и активацию актина для выравнивания силы тяги, а также контролируют расположение ядер и полярность клеток во время миграции (Costigliola N. et al., 2017).

При миграции эпителиальных клеток через базальную мембрану происходит усиление регуляция Vim, что определяет физическое изменение

формы клеток, потерю межклеточных контактов и увеличению подвижности. Кроме этого, Vim поддерживает эластичность и защищает от механического воздействия (сжатие) опухолевые клетки, которые испытывают значительный стресс при миграции и инвазии (Tse J. M. et al., 2012).

В исследовании Y. Messica et al. (2017) выяснили, что во время прогрессирования рака молочных желез клетки находятся в скученном положении и для них это является большой нагрузкой. При повышенной экспрессии Vim образуется жесткий каркас всей клетки, что способствует ее выживанию в экстремальных условиях и снижению стресса при прохождении через базальную мембрану.

В процессе EMT эпителиальные клетки теряют свои характеристики путём снижения E-кадгерина и активации N-кадгерина под действием сигнальных путей (FGF, EGF, TGF), что приводит к «подвижности структур». Также, иницируются мезенхимальные маркеры (виментин, α -SMA, фибронектин). Кроме раковых клеток данные маркеры экспрессируются в CAFs, которые влияют на изменения степени злокачественности опухолей молочных желез (Nomura S., 2019; Сеньчукова М. А. и соавт., 2020; Chen Z. et al., 2021; Naderi R. et al., 2022).

A. Laberandi et al. (2017) сообщают, что CAFs стимулируют коллективную инвазию опухолевых клеток с помощью межклеточной физической силы опосредованной за счет гетерофильного адгезивного соединения E-кадгерина на мембране раковых клеток и N-кадгерина на мембране CAFs. Данная адгезия обладает более высокой аффинностью связывания и запускает механизм механотрансдукции.

Таким образом, функция виментина в клетках важна как в условиях физиологического, так и патофизиологического стресса.

Высокомолекулярный цитокератин/НМWSC

Кератины выделяют в крупнейшее подмножество IF, включающее белки I типа – 28 генов (кислые) и белки II типа – 26 генов (основные). Цитокератины экспрессируются в эпителиальных клетках, где обеспечивают поддержку

межклеточной адгезии с помощью E-кадгерина. Функции кератина заключаются в поддержании целостности клеток, регуляции роста, миграции и защите от апоптоза. В связи с многообразием их свойств и обилием внутриклеточной организации сборка кератиновых нитей вносит значительный вклад в механическую устойчивость эпителиальных клеток (Seltmann K. et al., 2013; Jacob J. T. et al., 2018).

При EMT происходит разрушение кератинового цитоскелета за счет потери экспрессии белка (E-кадгерин), регулирующего межклеточные контакты. Неправильная локализация белка в базолатеральной мембране приводит к потере полярности клеток, что придает им хрупкость и способствует миграции и инвазии (Seltmann K. et al., 2013).

Высокомолекулярный кератин HMWCK и его клон 34 β E12 имеет молекулярную массу 120 кДа. Белок является в качестве прогностического маркера при раке молочной железы. В исследованиях с инвазивными карциномами обнаружили то, что иммунопозитивность HMWCK в базальных клетках и виментина коррелировали с неблагоприятными патологическими параметрами (Wang C. et al., 2021).

Исследования J. L. McFalin-Figeroa et al. (2019), S. Kreger et al. (2019) показали, что опухолевым клеткам не нужно полностью трансформироваться, проходя все этапы EMT. Эти клетки называются гибридными E/M, они экспрессируют как эпителиальные, так и мезенхимальные маркеры и являются более опухолеобразующими.

Альфа- гладкомышечный актин/ α -SMA

В клетках млекопитающих выявлены шесть изоформ актина, 2 цитоплазматические (бета-цитоплазматический и гамма-цитоплазматический) и 4 мышечные (альфа-скелетный, альфа-сердечный, альфа-гладкомышечный, гамма-гладкомышечный) (Vandekerkhove J., 1978).

Альфа- гладкомышечный актин (α -SMA), принадлежит к семейству актинов, высококонсервативной группы белков и его масса составляет 42 кДа. Сам актин представляет собой структурный белок, который полимеризуется

по спирали с образованием филаментов, что позволяет сформировать трехмерную сетку внутри клетки. α -SMA играет важную роль в механической поддержке и определении формы клеток, а также в стрессовой сборке волокон, сократимости микрофиламентов и напряжении волокон для увеличения подвижности. Данный белок экспрессирует в клетках с частичной гладкомышечной дифференцировкой: перициты, миофибробласты и миоэпителиальные клетки (Cherng S. et al., 2008; Tomaszek J. J. et al., 2013).

Кроме того, гиперэкспрессия α -SMA в активированных фибробластах позволяет клеткам приобрести новый сократительный фенотип, что способствует созданию сильной сократительной силы для создания фиброзной капсулы вокруг патологического очага, это в конечном итоге приводит к созданию десмопластической реакции в ответ на онкогенные стимулы, исходящие от раковых клеток (Arif S. et al., 2021; Muchlińska A. et al., 2022).

Таким образом, многочисленные исследования подтверждают роль описанных биомаркеров в различных физиологических и патологических процессах, а также не только в развитие самой опухоли, но и в модуляции эпителиально-мезенхимального перехода. Фосфопротеины областей ядрышковых организаторов способствуют большому синтезу белка, что очень важно для растущих опухолевых клеток, а маркеры, участвующие в видоизменении цитоскелета клеток, способствуют их трансформации и облегченной миграции в окружающие ткани.

1.7. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ОПУХОЛЕВОГО РОСТА

В настоящее время исследователи пытаются выделить основные механизмы, происходящие в клетке на субклеточном и молекулярном уровне, которые приводят к характерным отличительным свойствам опухолевой трансформации. Для активации компонентов сигнальной системы раковой клетки рассматривают факторы роста фибробластов, которые могут исходить из клеток опухолевого микроокружения.

Факторы роста фибробластов (FGFs) и их рецепторы (FGFRs) выполняют важную биологическую роль в контроле морфогенеза ветвления молочных желез и развития организма, а также физиологические функции, включая ангиогенез, нейрогенез, заживление ран и эндокринные функции (Turner N. et al., 2010; Hammer A. M. et al., 2017; Koledova Z. et al., 2017).

Семейство FGF образует лиганды (FGF1 – FGF23), но из них только 18 передают сигнал через четыре высокоаффинных рецептора FGFR (FGFR1 – FGFR4). Связь FGF с клетками осуществляется на клеточной мембране за счет гепарансульфатных гликозаминогликанов, либо во внеклеточном матриксе, действуя как паракринная или аутокринная регуляция (Benken A. et al., 2009; Sumbal J. et al., 2019).

FGF-1 представляет собой белок 16 кДа с длиной 140 АА. Он участвует в морфогенезе молочной железы и формирует сложный сигнальный путь. Его дерегуляция приводит к возникновению опухолей, способствуя пролиферации, выживанию, миграции клеток в процессе EMT (Turner N. et al., 2010; Wendt M. K. et al., 2014; Koledova Z., 2017; Avagliano A. et al., 2020).

Амплификация гена FGFR1 выявлена в хромосомной области 8p11-12. При эктопической экспрессии рецептора в клетках происходит активация мезенхимального фенотипа с интернализацией E-кадгерина и перемещением β -катенина из клеточной мембраны в цитоплазму и ядро (Jane W. C. et al., 2012).

S. Mori et al. (2015) изучали взаимодействие интегрина $\alpha\beta3$ в усилении эффекта FGF1 при TGF- β 1-индуцированной EMT в клетках карцином молочных желез, доказали, что имеется прямое взаимодействие FGF1 с интегрином $\alpha\beta3$, которое усиливает сигнатуру онкогенной передачи сигналов TGF- β 1 и приводит к трансдифференцировке клеток при EMT.

Таким образом, с помощью FGF происходит управление и контроль над ветвлением эпителиального древа молочной железы, однако при aberrантной его перестройке и усилении действия рецептора FGF1 происходит изменение сигнатурного паттерна клеток, что приводит к их трансформации,

индуцированию, пролиферации и миграции. Данные маркеры в комплексе позволяют изучить отдельные аспекты механизма канцерогенеза опухолей молочных желез у плотоядных.

Анализ литературы свидетельствует о том, что данные по канцерогенезу молочных желез достаточно обширны у человека, но в ветеринарной медицине отсутствуют комплексные исследования, позволяющие глубже понять многоструктурные образы гетерогенности субпопуляций клеточных элементов, состоящих в нишах микроокружения опухоли, и экспрессии канонических генов, которые вносят вклад в формирование и проявление отличительных признаков новообразований у животных.

Понимание контекстно-зависимых механизмов канцерогенеза можно рассматривать на животных, у которых хорошо формируются монофазные и смешанные опухоли, сравнимые с человеком. Это способствует определению взаимоотношений клеточного ландшафта внутри опухолей, эктопическую экспрессию биомаркеров и рецепторов генов, способствующих активной пролиферативной способности, видоизменению цитоскелета раковых клеток для активизации этапов ЕМТ и метастатического потенциала.

2. СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

При выполнении диссертационной работы проведен анализ встречаемости опухолей молочных желез по возрастному, породному и гендерному показателям у собак и кошек. Выявлены основные гистологические типы, морфологические и генетические особенности клеточного ландшафта в злокачественных опухолях молочных желез с помощью гистологических, иммуногистохимических и молекулярно-генетических методов исследований. Разработаны методы диагностики опухолей молочных желез у собак и кошек, защищенные патентами Российской Федерации (№ 2755392 от 15.09.2021; № 2777238 от 01.08.2022).

2.1. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Научные исследования по диссертационной работе проведены на кафедре паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. профессора С.Н. Никольского, в Научно-диагностическом и лечебно-ветеринарном центре ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», а также на базе ветеринарных клиник ИП Шаламова Е.В. «Колибри», ИП Заиченко И.В. «Ветеринарный центр им. Пирогова» с 2019 по 2023 годы.

Объектами при выполнении диссертационного исследования служили собаки (n=100) и кошки (n=100) разных пород и возрастных групп со спонтанно возникшими новообразованиями молочных желез. Для анализа заболеваемости онкологической патологией собак и кошек были использованы данные электронных амбулаторных журналов «VetAIS» и «VetDesk» ветеринарных клиник г. Ставрополя.

Материалом для настоящей работы являлась молочная железа. У каждого животного была проведена унилатеральная или билатеральная мастэктомия, после чего из видоизменённых участков молочных желез был отобран биопсионный материал не позднее 20 минут до фиксации. Далее из изучаемого биоптата вырезались области патологической ткани с участками здоровой кожи размером 1см³. Кусочки фиксировали в течение 48 часов в 10%

забуференном растворе формалина (БиоВитрум, Россия) для гистологических и иммуногистохимических исследований.

После пройденной фиксации кусочки проводили через спирты возрастающей концентрации (50°, 60°, 70°, 80° и 96°) и ксилол, которые заливали в гистологическую среду «Гистомикс Экстра» (БиоВитрум, Россия), с использованием гистологического процессора замкнутого типа Tissue-Tek VIP™ 5 Jr и станции парафиновой заливки Tissue-Tek® TEC™ 5 (Sakura, Япония). Из полученных блоков при помощи ротационного микротом (Accu-Cut® SRM™ 200, Япония) и стола для подготовки гистологических срезов (Bio-Optica, Италия) делали срезы толщиной 3-4 мкм, которые окрашивали красителями (БиоВитрум, Россия) на автоматическом мультистейнере Prisma™ (Sakura, Япония).

Для обзорных целей срезы молочной железы окрашивали гематоксилином и эозином и по методике Маллори, согласно рекомендациям, В. В. Семченко, С. А. Барашковой, В. Н. Ноздрина и В. Н. Артемьева (2006).

При патогистологическом исследовании определяли критерии злокачественности новообразований с помощью классификации Elston & Ellis (1991) и L. Peña et. al. (2010) (таблица 1).

1. Потеря клеточного структурирования, выражающаяся в формировании или утрате железистых и тубулярных структур.
2. Преобладание выраженного ядерного и клеточного полиморфизма (анизокариоз, анизоцитоз).
3. Проявление повышенной митотической активности на 1 мм² и более.
4. Образование некрозов на участке опухолей, старых кровоизлияний и периферической инфильтрации иммунозащитными клетками.
5. Периферическая инвазия опухолевых клеток в окружающую строму, сосудистая инвазия (лимфатические сосуды).
6. Метастазы в регионарный лимфатический узел.

Таблица 1 - Гистологическая градация рака молочной железы Elston & Ellis (1991) и L. Peña et. al. (2010)

Критерий	Оценка
<i>Структурообразование</i>	
Железистые/тубулярные структуры занимают более 75% площади опухоли	1 балл
Железистые/тубулярные структуры занимают 10-75% площади опухоли	2 балла
Железистые/тубулярные структуры занимают менее 10% площади опухоли	3 балла
<i>Ядерный полиморфизм</i>	
Мономорфные мелкие ядра с четким контуром равномерным хроматином сходные с ядрами нормальных эпителиальных клеток	1 балл
Укрупненные умеренно полиморфные везикулярные ядра с заметными ядрышками	2 балла
Полиморфные переменные по размеру везикулярные ядра с заметными ядрышками нередко причудливой формы	3 балла
<i>Митозы</i>	
0-9 митозов/ 10 ГПФ G2	1 балл
10-19 митозов/10 ГПФ	2 балла
> 20 митозов/10 HPF	3 балла
G1	3-5 баллов
G2	6-7 баллов
G3	8-9 баллов

Иммуногистохимические исследования были направлены на выявление нуклеолярных белков (нуклеолин/NCL, нуклеофозмин/NPM1, фибрилларин/FBL) и белков промежуточных филаментов мезенхимального (виментин/Vimentin, альфа-гладкомышечный актин/ α - Actin Smooth Muscle) и эпителиального происхождения (высокомолекулярный цитокератин/HMWCK) (таблица 2).

Для иммуногистохимической реакции использовали поликлональные кроличьи антитела к Anti-Nucleolin antibody, Anti-Nucleophosmin antibody (SP236), Anti-Fibrillarlin [28F2] antibody (Abcam plc, Великобритания). И моноклональные кроличьи антитела к Vimentin (SP20), моноклональные

мышинные антитела к Actin-Smooth Muscle (1A4) и HMWCK (Keratin, HMW Ab-3) (Richard-Allan ScientificCo, США).

Негативным контролем служили реакции с заменой первых антител раствором для разведения (TermoSceintific, США).

Таблица 2 - Характеристика первичных антител

Антитела	Клон	Антиген	Клетки, экспрессирующие антиген
NCL		нуклеолин	В ядрышке клеток
NPM1	SP236	нуклеофозмин	В ядрышке клеток
FBL	28F2	фибрилларин	В ядрышке клеток
Vimentin	SP20	виментин	Гладкомышечные клетки сосудов, фибробласты
α -SMA	1A4	α -гладкомышечный актин	Гладкомышечные клетки сосудов, перициты, миоэпителиальные клетки, миофибробласты
HMWCK	Ab-3	высокомолекулярный цитокератин	Эпителиальные клетки

При проведении иммуногистохимических реакций по методике Е. Г. Сухорукова с соавт. (2012), депарафинизацию и дегидратацию проводили классическим методом. Демаскировку антигенов выполняли высокотемпературной обработкой в пароварке в течение 20 минут путем погружения гистологических срезов в 5% раствор Trilogy™ (CELL MARQUE, Нидерланды). После этого стекла со срезами ополаскивали в 5% буфере TBS IHC Wash Buffer+Tween 20 (TBS (Tween 20x) (CELL MARQUE, Нидерланды), затем смывали буфер в течение 10 секунд в дистиллированной воде. После этого стекла обрабатывали в 3% растворе аптечной H₂O₂ с добавлением 1 мл Peroxide Block (CELL MARQUE, Нидерланды) в течение 10 минут с целью блокировки эндогенной пероксидазы, после чего стекла со срезами ополаскивали в дистиллированной воде в течение 10 секунд, помещали в 5% буфер TBS (Tween 20x) на 5 минут. После буфера вокруг срезов делали гидрофобный слой гидрофобным барьерным карандашом-маркером pen-pen (SpringBioScience, США). На срезы наносили

блокировочный раствор Background Block TM (CELL MARQUE, Нидерланды) на 10 минут, после чего со срезов удаляли излишки раствора, путем их промакивания бумажным фильтром и наносили первичные антитела Anti-Nucleolin, Nucleophosmin, Fibrillarin, Vim, α -SMA, HMWCK - antibody. Далее выполняли инкубацию срезов во влажной камере при температуре 27°C в термостате в течение 24 часов, смывали первичные антитела путем погружения стекол со срезами в 5% буфер TBS (Tween 20x) на 5 минут. Наносили раствор № 1 полимерной системы детекции HiDef DetectionTM Amplifier (Mouse and Rabbit) (CELL MARQUE, Нидерланды) и инкубировали в течение 60 минут во влажной камере в термостате при температуре 27°C. Смывали раствор № 1, помещая в 5% буфер TBS (Tween 20x) на 5 минут, наносили раствор № 2 полимерной системы детекции HiDef DetectionTM HRP Polymer Detector (CELL MARQUE, Нидерланды), инкубировали в течение 60 минут во влажной камере при температуре 27°C. После инкубации раствор № 2 смывали в 5% буфером TBS (Tween 20x) в течение 5 минут. После буфера на срезы наносили хромоген DAB Substrate Kit (CELL MARQUE, Нидерланды) на 3-5 минут. Интенсивность связи хромогена с исследуемым антителом в каждом препарате контролировали под микроскопом. По достижению интенсивного коричневого окрашивания срезы промывали в 2-х сменах дистиллированной воды по 5 минут в каждой. Далее проводили докраску ядер гематоксилином Майера в течение 3 минут, после чего их снова промывали в буфере и погружали в дистиллированную воду, в которую для получения щелочной среды добавляли 1 мл аммиака на 100 мл воды. После того, как срезы приобретали голубой оттенок, стекла извлекали, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и ксилоле по стандартной схеме и заключали в монтирующую среду (БиоВитрум, Россия).

Оценку интенсивности экспрессии иммунореактивного материала проводили визуально, с учетом процента активных клеток, суммы площади иммунопозитивных структур согласно рекомендациям Американского

общества клинической онкологии/Колледжа американских патологов (ASCO/CAP, 2018г).

1. Положительная иммунореактивность (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.

При проведении молекулярно-генетического исследования с помощью флюоресцентной гибридизации *in situ* на цитологическом и гистологическом материале руководствовались универсальный протоколом S. O. Richardson et al. (2019) и патентами О. В. Дилековой, В. В. Митенко (2021, 2022).

Цитологический материал отбирали с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии (ТИАБ) с опухолевого очага и наносили клеточный субстрат на предметное стекло, с последующей его фиксацией в 96% спирте.

Для проведения FISH гибридизации гистологический материал обрабатывали по стандартному протоколу. На каждый материал наносили 200 мкл раствора пепсина (Kreatech, США) и инкубировали 15 минут, затем промывали в дистиллированной воде и помещали в раствор 2×SSC (Kreatech, США) на 5 минут, после дегидратировали препараты в 70% спирте – 1 минута, в 1 порции 96% спирта – 1 минута, во 2 порции 96% спирта – 1 минута и высушивали на воздухе в течение 20 минут. После этого на каждый гистологический/цитологический материал наносили по 1,5 мкл гибридизационной смеси FGFR1 (CytoCell, США) при помощи 1-канальной

автоматической пипетки (Eppendorf, Германия) и накрывали покровным стеклом 24×24 мм². Для полной герметизации по краям стекла наносили универсальный резиновый клей Момент «Кристалл» (LAB Industries, Россия). Далее материал переносили на пластину в автоматическую FISH-гибридизационную систему «ThermoBrite» (StatSpin, США) и устанавливали программу «Денатурация и Гибридизация». Денатурацию материала проводили при 80°C в течение 5 минут, гибридизация в течение 18 часов при температуре 37°C. После этого доставали стекла и удаляли клей с краев, затем отмывали, в предварительно нагретом отмывочном буфере Prewarm Wash Buffer 1 (Kreatech, США) до 72°C вносили стекла на 2 минуты. После чего стекла быстро (чтобы не высохли клетки) промакивали вокруг исследуемых зон одноразовыми фильтровальной бумагой для создания сухого поля вокруг материала и наносили гидрофобный слой восковым маркером (для предотвращения растекания реактивов), при помощи 1-канальной автоматической пипетки наносили 20 мкм буфера Wash Buffer 2 (Kreatech, США) на 1 минуту. Промакивали препараты фильтровальной бумагой и наносили 15 мкл контрастирующего красителя DAPI Counterstain (Leica Biosystems, США) 1 мл, содержащего флюорохромом, после чего материал накрывали покровным стеклом и оставляли в термостате при температуре 25°C на 15 минут.

Оценку амплификации гена FGFR1 проводили визуально, с учетом количества активных клеток согласно рекомендациям Американского общества клинической онкологии/Колледжа американских патологов (ASCO/CAP, 2018г).

1. Амплификация FGFR1 положительная – среднее количество копий рецептора FGFR1 на клетку ≥ 6 .
2. Амплификация FGFR1 неопределенная – среднее количество копий рецептора FGFR1 на клетку ≥ 4 и < 6 .
3. Амплификация FGFR1 неопределенная – среднее количество копий рецептора FGFR1 на клетку < 4 .

Все гистологические и иммуногистохимические исследования выполнены с помощью флюоресцентного микроскопа OLYMPUS BX53 со встроенным фотоаппаратом SC50 (Япония), с применением окуляра $\times 10$, $\times 15$ и объективов $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$, $\times 100$ с использованием флюоресцентных фильтров – FITC/DAPI/Texas Red.

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ АНАЛИЗ

В данном разделе изложены результаты научных исследований, опубликованные в научных статьях и патентах: Митенко В. В. (2020, 2021), Митенко В. В., Дилекова О. В. (2019), Митенко В. В., Дилекова О. В., Павлова К. С. (2019), Митенко В. В., Дилекова О. В. (2020), Митенко В. В., Дилекова О. В. (2021), Митенко В. В., Дилекова О. В. (2022) Митенко В. В., Галустян Д. Б. (2023), Митенко В. В., Дилекова О. В. Галустян Д. Б. (2023), которые содержат уточненные, расширенные и новые сведения.

2.2.1 КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВЗАИМОСВЯЗИ РАЗВИТИЯ НОВООБРАЗОВАНИЙ МЕЖДУ ДВУМЯ ВИДАМИ ПЛОТОЯДНЫХ

В результате исследований было установлено, что с новообразованиями молочных желез от общего количества кошек регистрировали 96% самок и 4% самцов. Из общего количества собак кастрированных самок составляло – 27%, а у кошек – 33% (таблица 3).

Таблица 3 - Количественные показатели исследованных животных

Количество животных	
<i>Собаки</i>	<i>Кошки</i>
♀ n=100	96 ♀ 4 ♂
Кастрированные животные	
n=27	n=33

По породным и возрастным показателям у кошек было выявлено, что частота встречаемости опухолей регистрировалась в возрасте от 9-ти до 13-ти лет. По породной принадлежности наиболее подвержены к возникновению новообразований: британская короткошёрстная – 12%, персидская – 10%, сиамская – 7%, скоттиш-фолд – 5%. Выявлено, что самый большой процент приходился у беспородных животных – 29% и метисов – 20% (таблица 4).

При патогистологическом исследовании были определены самые распространенные гистологические типы опухолей молочных желез у кошек,

из них занимают: протоковая карцинома *in situ* – 10%, тубулярная аденокарцинома – 9%, тубулярная карцинома – 16%, инвазивный рак – 15%, недифференцированный рак – 7%. По степени злокачественности были определены следующие типы: высокодифференцированные (G1) – 14%, умереннодифференцированные (G2) – 24%, низкодифференцированные (G3) – 62% (таблица 5).

Таблица 4 – Породные и возрастные показатели исследованных кошек

Количество животных	Порода	Возраст
Кошки, (n=100)	Британская короткошёрстная – 12%	7 лет - 2%
	Персидская – 10%	
	Сиамская – 7%	8 лет- 3%
	Скоттиш-фолд – 5%	
	Скоттиш-страйт – 3%	9 лет - 10%
	Сфинкс – 3%	
	Мейн-кун – 2%	10 лет - 23%
	Абиссинская – 1%	
	Бенгальская – 1%	12 лет- 29♀ (29%); 1♂ (1%)
	Европейская короткошёрстная – 1%	
	Корниш-рекс – 1%	13 лет- 15%
	Невская маскарадная – 1%	
	Ориентальная – 1%	14 лет- 2♀ (3%); 1♂ (1%)
	Русская голубая – 1%	
	Сибирская кошка – 1%	15 лет - 4%
	Турецкая ангора – 1%	
Метис – 20%	16 лет- 2♀ (3%); 1♂ (1%)	
Беспородные – 26%♀; 3%♂		
		19 лет- 1%

Гистотипы опухолей были сопоставлены с породными группами животных в результате чего было выявлено, что протоковая карцинома *in situ* преобладала у британских короткошерстных (2%) и беспородных (3%), тубулярная аденокарцинома – у сиамских (3%) и беспородных (3%), тубулярная карцинома – у беспородных (5%) и метисов (2%), инвазивный рак – у персидских (2%) и беспородных (3%), недифференцированный рак – у беспородных (3%) и метисов (2%).

При исследовании тканей молочных желез были отмечены опухолевые эмболы в кровеносных или лимфатических сосудах при тубулярной

карциноме (G3) – 5% и инвазивном раке неспецифического типа (G3) – 3%. Наличие опухолевых метастазов в тканях лимфатических узлов отмечалось при таких новообразованиях, как папиллярная карцинома (G3) – 3% и медуллярная карцинома (G3) – 3% (таблица 8).

Таблица 5 – Гистологический тип опухолей у кошек

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ ТИП	СТЕПЕНЬ ЗЛОКАЧ-ТИ %		
	G1	G2	G3
Карцинома in situ DCIS/ LCIS			
Протоковая карцинома in situ (DCIS)	6	1	3
Дольковая карцинома in situ (LCIS)		1	2
Аденокарцинома			
Аденокарцинома		2	3
Тубулярная аденокарцинома	1	6	2
Карцинома простого типа			
Солидная карцинома	1	2	2
Тубулярная карцинома	1	2	13
Папиллярная карцинома		3	4
Микропапиллярная карцинома	1		
Медуллярная карцинома			4
Анапластическая карцинома			2
Карцинома смешанного типа			
Карцинома смешанного типа			1
Инвазивный рак			
Инвазивный рак	2	5	8
Инвазивный папиллярный рак		1	2
Инвазивный (инфильтративный) неспецифического типа			
Инвазивный (инфильтративный) неспецифического типа	2	1	5
- с апокриновой дифференцировкой			3
Плоскоклеточный рак			
Плоскоклеточный рак			1
Недифференцированный рак			
Недифференцированный рак			7

По породным и возрастным показателям у собак было выявлено, частота встречаемости опухолей регистрировалась в возрастном аспекте от 7-ми до 11-ти лет, однако наблюдали более ранний возраст 3-4 года, что составляет 2% от общего количества животных. При постановке диагноза у собак ведущее место в породной принадлежности занимали: йоркширский терьер – 18%, такса – 7%, немецкая овчарка – 7%, американский стаффордширский терьер – 7% и беспородные – 13% (таблица 6).

Таблица 6 – Породные и возрастные показатели исследованных собак

Количество животных	Порода	Возраст
Собаки, (n=100)	Йоркширский терьер –18%	3 года - 1%
	Американский стаффордширский терьер –7%	
	Немецкая овчарка –7%	
	Такса –7%	4 года- 1%
	Померанский шпиц – 4%	
	Русский спаниель – 4%	
	Русский той-терьер – 4%	5 лет - 3%
	Джек-рассел-терьер –3%	
	Бишон-фризе – 2%	
	Доберман – 2%	6 лет - 2%
	Золотистый ретривер – 2%	
	Китайская хохлатая – 2%	
	Лабрадор ретривер – 2%	7 лет – 11%
	Ротвейлер – 2%	
	Хаски – 2%	
	Цвергпинчер – 2%	8 лет – 19%
	Чихуахуа – 2%	
	Шарпей – 2%	
	Алабай - 1%	9 лет – 23%
	Английский коккер-спаниель - 1%	
	Бивер йоркширский терьер- 1%	
	Вест-хайленд-уайт-терьер - 1%	10 лет – 18%
	Восточная европейская овчарка - 1%	
	Далматинец- 1%	
	Кане-корсо - 1%	11 лет – 10%
	Левретка - 1%	
	Мопс - 1%	
	Немецкий боксёр - 1%	12 лет – 7%
	Пудель - 1%	
	Соба-ину - 1%	
Французский бульдог -1%	13 лет – 4%	
Беспородные – 13%		
	14 лет – 1%	

При патогистологическом исследовании у собак были определены следующие гистологические типы опухолей молочных желез: протоковая карцинома *in situ* – 15%, папиллярная карцинома – 14%, смешанная опухоль с хрящевой метаплазией – 22%. По степени злокачественности были определены следующие типы: высокодифференцированные (G1) – 47%,

умереннодифференцированные (G2) – 26%, низкодифференцированные (G3) – 27% (таблица 7).

Таблица 7 – Гистологический тип опухолей у собак

ГИСТОЛОГИЧЕСКИЙ ТИП	СТЕПЕНЬ ЗЛОКАЧ-ТИ %		
	G1	G2	G3
Карцинома in situ DCIS/ LCIS			
Протоковая карцинома in situ (DCIS)	11	3	1
Аденокарцинома			
Аденокарцинома		3	
Тубулярная аденокарцинома	2		
Карцинома простого типа			
Тубулярная карцинома	2	1	1
Папиллярная карцинома		7	7
Микропапиллярная карцинома	1		
Медулярная карцинома с перстневидноклеточной диф.			1
Анапластическая карцинома			2
Карцинома смешанного типа			
Карцинома смешанного типа	1	5	3
Инвазивный (инфильтративный) неспецифического типа			
Инвазивный (инфильтративный) неспецифического типа	6	1	3
- с апокриновой дифференцировкой			2
- с медулярными признаками			1
Плоскоклеточный рак			
Плоскоклеточный рак		1	3
Смешанная опухоль			
- с хрящевой метаплазией	18	4	
- с костной метаплазией	6	1	
Недифференцированный рак			
Недифференцированный рак			3

При исследовании тканей молочных желез были отмечены опухолевые эмболы в кровеносных или лимфатических сосудах при микропапиллярном раке (G1) – 1% и анапластической карциноме (G3) – 2%. Наличие опухолевых метастазов в тканях лимфатических узлов отмечалось в медулярном раке с перстневидноклеточной дифференцировкой (G3) – 1% и в инфильтративном неспецифическом раке с апокриновой дифференцировкой (G3) – 1% (таблица 8).

Таблица 8 – Метастатический потенциал опухолей у кошек и собак

Тип опухоли с метастазированием в сосуды	%	Тип опухоли с метастазом в лимфатическом узле	%
Кошки			
Тубулярная аденокарцинома G2	1	Аденокарцинома G3	2
Солидная карцинома G3	2	Тубулярная аденокарцинома G3	1
Тубулярная карцинома G3	5	Папиллярная карцинома G3	3
Анапластическая карцинома G3	2	Медуллярная карцинома G3	3
Инвазивный рак неспецифического типа G3	3	Инвазивный папиллярный рак G3	1
Собаки			
Микропапиллярная карцинома G1	1	Медуллярная карцинома с перстневидноклеточной диф. G3	1
Анапластическая карцинома G3	2	Инfiltrативный неспецифический рак с апокриновой диф. G3	1

Таким образом, развитие новообразований молочных желез преимущественно возникает у животных склонных к гериатрическому возрасту, однако имеются исключения более молодого возраста у кошек в 7-летнем периоде, у собак в 3–4 года.

Помимо особей женского пола опухоли могут в редких случаях встречаться и у самцов (некастрированные коты), причиной этому могут вероятно служить приемы препаратов для подавления половой активности, либо возникающие опухоли семенников, которые вызывают гормональный дисбаланс в организме животного. Полученные нами данные согласуются со сведениями М. Н. Якуниной (2011).

Отмечается склонность некоторых пород кошек к развитию неоплазий: сиамская, персидская и британская короткошерстная. У собак – такса, йоркширский терьер, немецкая овчарка, американский стаффордширский терьер. Наши данные по породной принадлежности согласуются со сведениями J. Dobson (2017), так как многие породы появляются в зависимости от их популярности в ареале разведения.

Сравнивая морфологическую характеристику опухолей молочных желез, определили, что самый высокий процент занимают протоковая карцинома *in situ*, тубулярная и папиллярная карциномы, инвазивный рак, смешанная опухоль с хрящевой метаплазией. Анализируя классификацию М.

Goldschmidt (2011) у собак и принятой ВОЗ (2017) у кошек, выявили расхождения в отношении отдельных типов опухолей, а также в обеих систематиках не отображаются инвазивные и специфические типы рака. Однако, в нашем исследовании была установлена некоторая тенденция к распространённости инвазивного рака, неспецифического типа с определенными дифференцировками и медуллярного рака. В отношении опухолей у кошек нами были установлены единичные случаи развития карцином смешанного типа, характерных как утверждалось ранее только для собак.

2.2.2. ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ У ПЛОТОЯДНЫХ

Протоковая карцинома in situ (DCIS). Как известно, данный тип опухоли у животных представлен изменением нормальной клеточной архитектуры, с наслоением и пролиферацией клеток внутри протоков без инвазии через соединительнотканную капсулу.

Для высокодифференцированного типа отмечалось формирование плотно упакованных клеток в виде многочисленных криброзных и солидных строений, внутри которых могли формироваться микроацинарные структуры. Эпителиальный компонент преимущественно мономорфный, округлого или кубического строения, ядра гиперхромные, визуализировалось одно ядрышко. Скудное строение цитоплазмы, без включений. В центре этих образований отмечались некротические массы комедо-некрозы (рисунок 1).

Стромальный компонент формировал толстое коллагеновое кольцо, состоящие из пяти – шести слоев. По периферии от него отмечалась воспалительная инфильтрация лимфоцитарного типа.

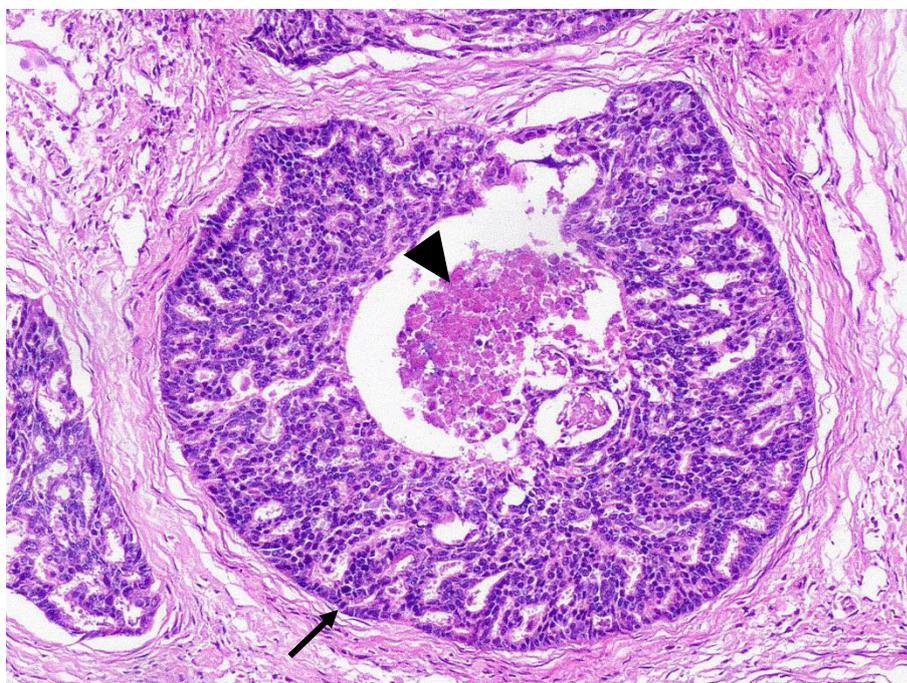


Рисунок 1 – Протоковая карцинома in situ (G1). Комедо-некроз (▲), соединительная капсула (↑). Кошка, беспородная, 13 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×100.

При умереннодифференцированном типе отмечались расширенные протоки, в полость которых отходили многочисленные папиллярные выпячивания разного размера и высоты с формированием двух – трех слоев клеточных рядов, не содержащих кровеносных сосудов. Эти образования выстланы умеренно варьируемыми клетками по размеру и форме, в которых наблюдалось незначительное нарушение полярности. Отмечался высокий анизокариоз, хроматин расположен глыбками на поверхности ядра, одно ядрышко. Цитоплазма широкая, без включений. Регистрировались фигуры митоза и комедо-некрозы. Стромальный компонент вокруг патологического очага был хорошо развит с лимфоцитарной инфильтрацией на периферии (рисунок 2).

Для низкодифференцированного типа характерно также образование солидных, криброзных и папиллярных структур. Выстилающий его эпителий был представлен выраженным атипизмом с отчетливым нарушением полярности клеток. Ядра плеоморфной конфигурации, хорошо были выражены ядрышки от одного до двух, хроматин грубозернистый. Цитоплазма широкая, без включений секрета. Отмечалось наличие атипических фигур митозов: триполярные, с полярной асимметрией, кольцевые.

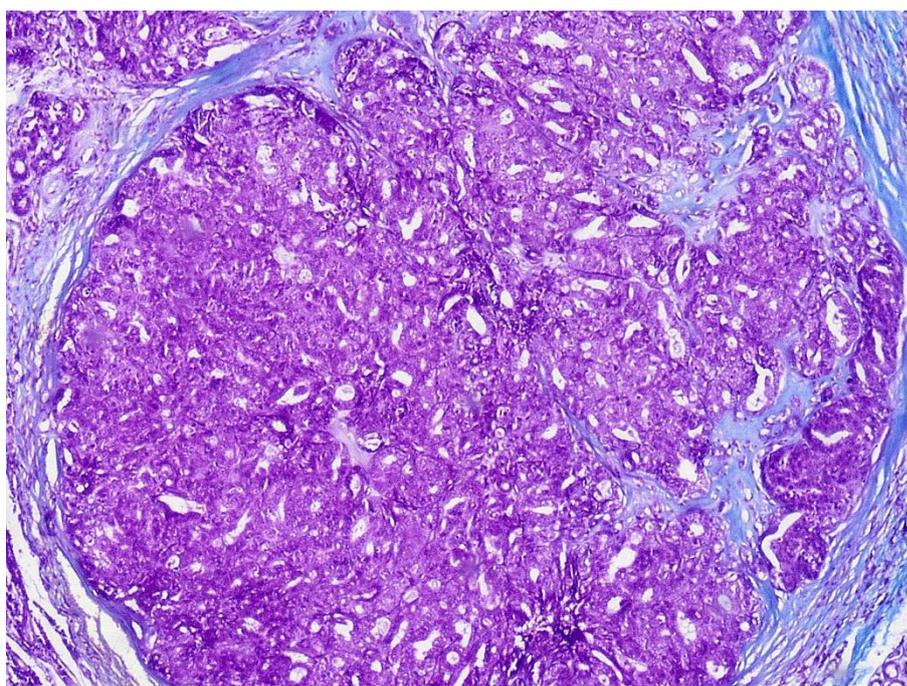


Рисунок 2 – Протоковая карцинома in situ (G2). Собака, порода чихуахуа, 8 лет. Окраска по Маллори, ув. ×40.

Стромальный компонент был хорошо развит, инвазия опухолевых клеток в него не наблюдалась. Наличие комедо-некрозов не всегда характерно. На отдельных центральных участках опухоли регистрировался тотальный некроз всех компонентов.

Дольковая карцинома in situ (LCIS). Данный тип новообразований регистрировался только у 3-х кошек (n=2 ♀; n=1 ♂). Морфологический состав представленной опухоли характеризовался четко очерченными узелками опухолевых клеток в плотной соединительнотканной капсуле и отсутствием инвазии через нее. Эпителиальный компонент состоял из плотно расположенных клеток, формирующих неправильной формы ячеистые, криброзные и солидные структуры. Клетки, выстилающие данные образования, имели мономорфный тип с везикулярными ядрами, хроматин частично глыбчатый, цитоплазма клеток скудная, слабо просматривалась. Возле стромального компонента отмечалась активная лимфоцитарная инфильтрация, некрозы не регистрировались.

Низкодифференцированный тип опухоли был образован многочисленными криброзными, трабекулярными и тубулярными структурами. Клетки умеренно плеоморфны, отмечался высокий анизокариоз, были замечены крупные ядрышки в количестве от одного до двух, хроматин был расположен грубодисперсно. Цитоплазма по отношению к ядру слабо просматривалась, отмечались «голые ядра», без включений. Повсеместно присутствовали фигуры митоза атипического вида. Центральная часть опухоли в двух долях была некротизирована со скоплением клеточного дендрита (рисунок 3).

Аденокарцинома. При умереннодифференцированном типе рака у кошек дольки молочной железы были представлены многочисленными видоизменёнными альвеолами, которые окружены хорошо сформированной соединительной тканью. Эпителиальный компонент формировал расширенные тубулярные и папиллярные структуры, имеющие различную длину, и состоящие от пяти до десяти слоев.

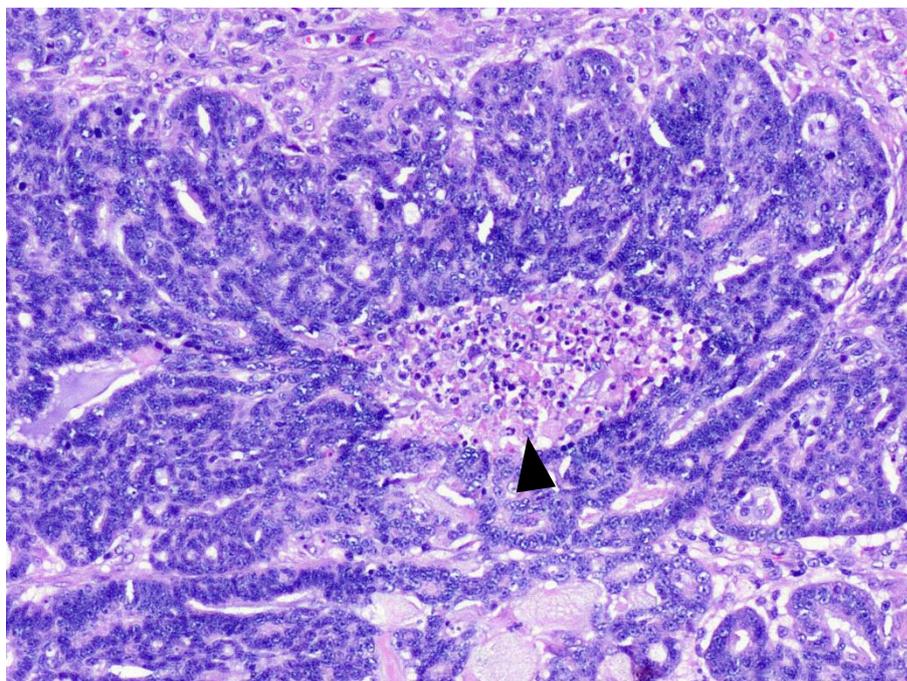


Рисунок 3 – Дольковая карцинома in situ (G3). Комедо-некроз (▲). Кошка, беспородная, 13 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×100.

Клетки плеоморфные от кубической до призматической формы, умеренный анизокариоз, одно ядрышко, хроматин был распределен равномерно глыбчатого строения. Цитоплазма широкая, оксифильная, в ней содержались включения, поэтому в просвете альвеол виден гомогенный оксифильный секрет. В отдельных участках отмечалась метаплазия эпителия в плоскоклеточный тип, клетки были представлены скоплениями с широкой оксифильной цитоплазмой, неправильной формы с округлым ядром, хроматин мелкозернистый, одно ядрышко. На периферии ткани были видны очаги некроза с клеточным детритом (рисунок 4).

У собак эпителиальная структура соответствовала описанию как у кошек, но без трансформации в плоскоклеточный вид. Отмечались строения под эпителиальным компонентом в виде закручивающейся спирали в светло-базофильном аморфном веществе. Представленные клетки являлись миоэпителиальными, имели веретенообразную форму, нормохромное овально-вытянутое ядро, визуализировалось одно центральное ядрышко. Цитоплазма имела несколько отростков, оксифильная, без включений (рисунок 5).

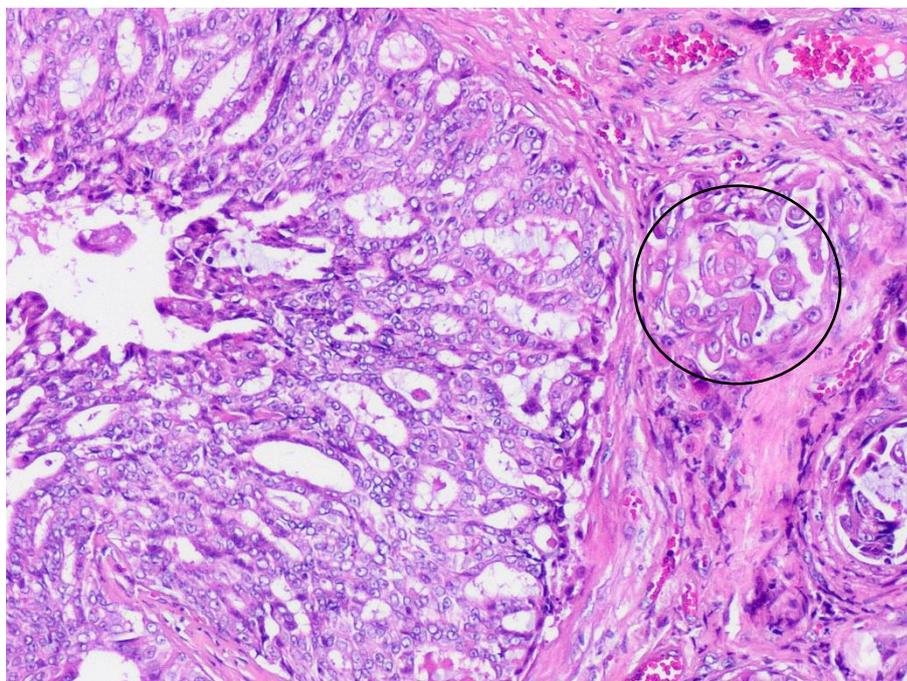


Рисунок 4 – Аденокарцинома (G2). Клетки плоскоклеточного типа (○). Кошка, порода британская короткошерстная, 10 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×100.

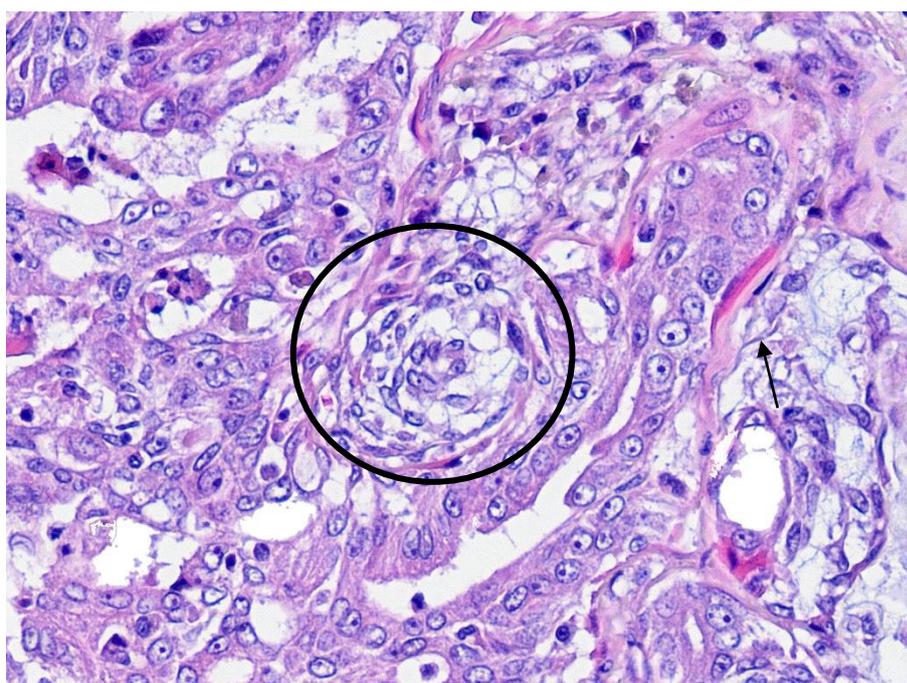


Рисунок 5 – Аденокарцинома (G2). Миоэпителиальные клетки (○). Собака, порода йоркширский терьер, 8 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×200.

Стромальный компонент был хорошо развит, характеризовался активным процессом пролиферации клеток фибробластического дифферона с отсутствием клеточной атипии. В центральной части новообразований

отмечался крупный фокус кровоизлияния с большим количеством пигмента гемосидерина.

При низкодифференцированной аденокарциноме отмечались многочисленные тубуло-ацинарные структуры из плеоморфного эпителия, расположенного от пяти до шести слоев. В клетках высокий анизокариоз, центрально были расположены от двух до трех ядрышек, цитоплазма оксифильная, присутствовали гранулы оксифильного секрета. Регистрировались атипичные митозы, чаще всего кольцевые. Площадь некротической ткани в материале составляла до 70% от общей площади среза ($\times 40$). Васкуляризация опухоли активная, повсеместно визуализировалась гиперемия сосудов, отмечались очаги кровоизлияний (рисунок 6).

В тканях поверхностного пахового лимфатического узла в корковом веществе располагался макрофокус участка железистой опухолевой паренхимы, вокруг которого была сформирована соединительнотканная капсула с активной лимфоцитарной инфильтрацией.

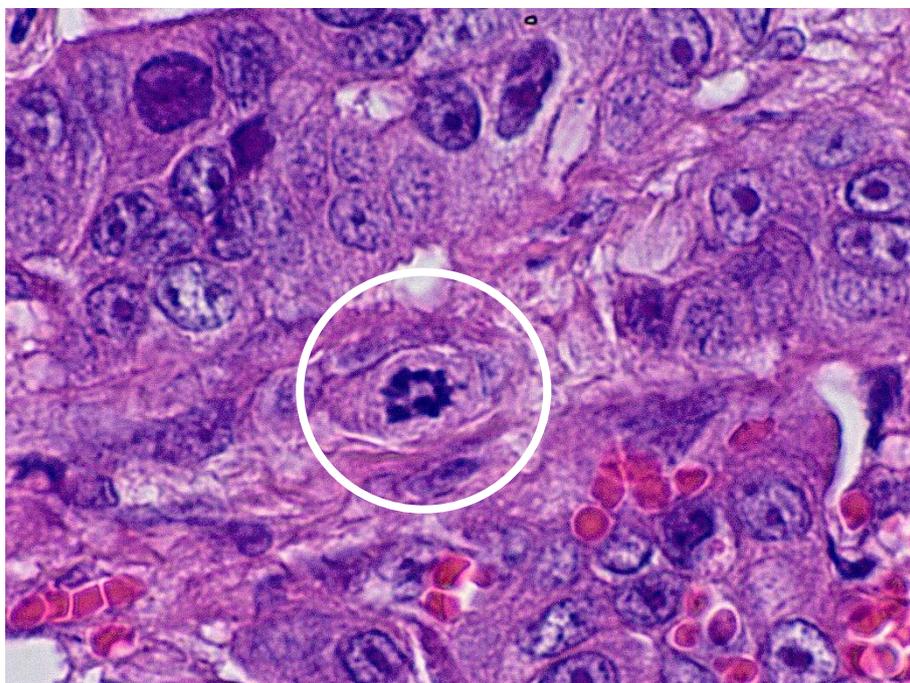


Рисунок 6 – Аденокарцинома (G3). Атипичный кольцевой митоз (○). Кошка, метис, 13 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$.

Тубулярная аденокарцинома. Высокодифференцированный тип опухолевой ткани у собак и кошек имел нодулярное строение с

сформированной соединительнотканной капсулой. Под капсулой локализовалась опухолевая ткань, структурированная в многочисленные тубулярные строения, имеющие вытянутую продолговатую форму. Железистый эпителий мономорфный, был выстлан в один – два слоя, имел низкий анизокариоз, ядрышко одно центрально расположенное, хроматин грубозернистый. Местами в цитоплазме отмечались гранулы оксифильного секрета, что являлось признаком секреции эпителиоцитов.

Стромальный компонент был представлен редкими коллагеновыми волокнами, которые в центральной части опухоли подвергались склерозу. Васкуляризация скудная, воспалительный лимфоцитарный инфильтрат регистрировался на периферии опухоли (рисунок 7).

При умереннодифференцированном типе эпителиальный компонент формировал многочисленные расширенные тубулярные строения, линейные ацинусы и слепые трубочки. Клетки имели плеоморфную структуру с высоким анизокариозом, визуализировались ядрышки от одного до двух, ядерный хроматин был распределен неравномерно глыбчатого строения (рисунок 8).

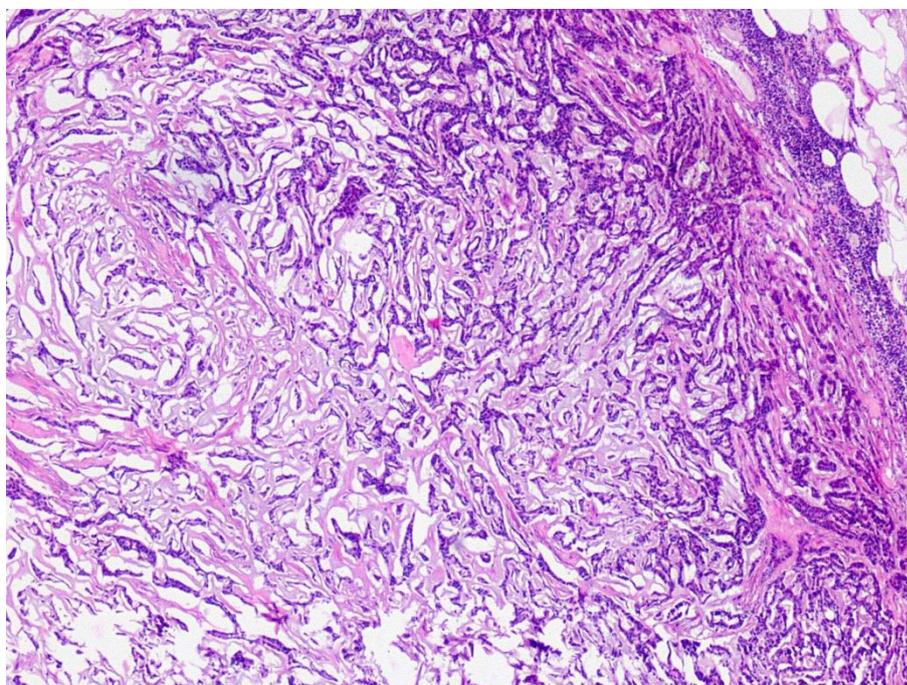


Рисунок 7 – Тубулярная аденокарцинома (G1). Собака, порода йоркширский терьер, 9 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

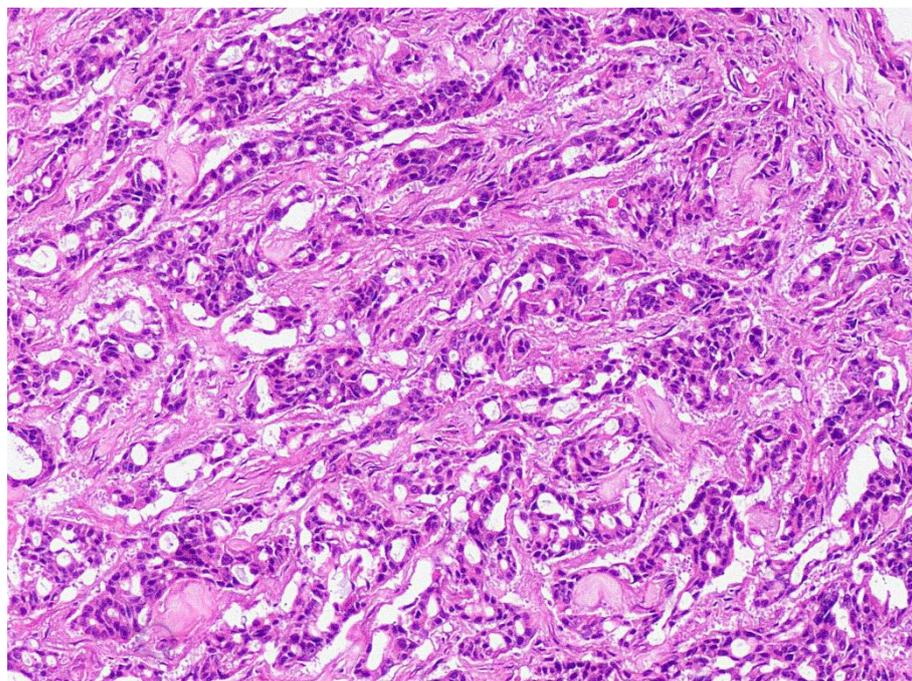


Рисунок 8 – Тубулярная аденокарцинома (G2). Кошка, беспородная, 7 лет.
Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

Стромальный компонент преобладал, отмечалось склерозирование ткани. Повсеместно регистрировались макрофокусы некрозов с рядом расположенными кровоизлияниями, вокруг соединительнотканной капсулы визуализировался лимфоцитарный инфильтрат.

В одном материале (кошка) на периферии опухоли в артериальном сосуде регистрировался фрагмент опухолевого эмбола. В другом образце (кошка) поверхностного пахового лимфатического узла отмечалось наличие метастаза, макроочаг был представлен тубулярными и линейными эпителиальными структурами, окруженных соединительной капсулой с выраженной инфильтрацией лимфоцитов.

При низкодифференцированном типе эпителиальные структуры формировали неправильной изогнутой тубулярной и трабекулярной формы тяжи. Клетки плеоморфной и вытянутой формы, с высоким анизокариозом, с одним ядрышком, хроматин грубозернистый. В фенестрах тяжей отмечался оксифильный секрет. Сильно развит стромальный компонент, визуализировались участки фиброза стромы. Зонально регистрировались

микрофокусы некрозов. На периферии опухолевой ткани наблюдалась активная лимфоцитарная инфильтрация.

В тканях поверхностного пахового лимфатического узла в корковом веществе отмечался макроочаг метастаза, представляющий плеоморфные структуры железистой паренхимы молочной железы.

Карцинома простого типа

Солидная карцинома. Высокодифференцированный тип опухоли у животных был представлен неправильными вытянутыми формами альвеолярных структур, эпителиальная выстилка которых создавала мономорфные двухслойные ряды. Клетки без выраженного атипизма, просматривались одиночно расположенные ядрышки. Сама опухоль была ограничена от соседних тканей с помощью соединительнотканной капсулой. Васкуляризация скудная, воспалительная инфильтрация и некрозы отсутствовали.

Для умереннодифференцированного типа опухоль формировала узловой вид, по краям которого отмечалась тонкая соединительная прослойка из коллагеновых волокон, между ними лежали миофибробласты. На периферии отмечался активный лимфоцитарный инфильтрат. Опухолевая ткань имела вид сплошных клеточных масс, лежащих на тонкой прослойке соединительной ткани. Эпителий характеризовался умеренным анизокариозом клеток, ядра гиперхромные с грубым хроматином, центрально расположенное одно ядрышко. В центральной части опухолевого материала отмечались участки некроза с клеточным детритом.

При низкодифференцированном типе опухолевая ткань имела вид узла, в котором паренхима была расположена в виде сплошных клеточных масс, пересекающих тонкие прослойки коллагеновых волокон. Клетки имели полиморфные структуры с высоким анизокариозом и анизоцитозом, от одного до двух ядрышек, хроматин был расположен неравномерно в виде глыбок (рисунок 9).

На периферии новообразования отмечалась сформированная соединительнотканная капсула. Присутствовали участки некротической массы. Регистрировалась повсеместно активная васкуляризация опухолевой ткани с гиперемией сосудов.

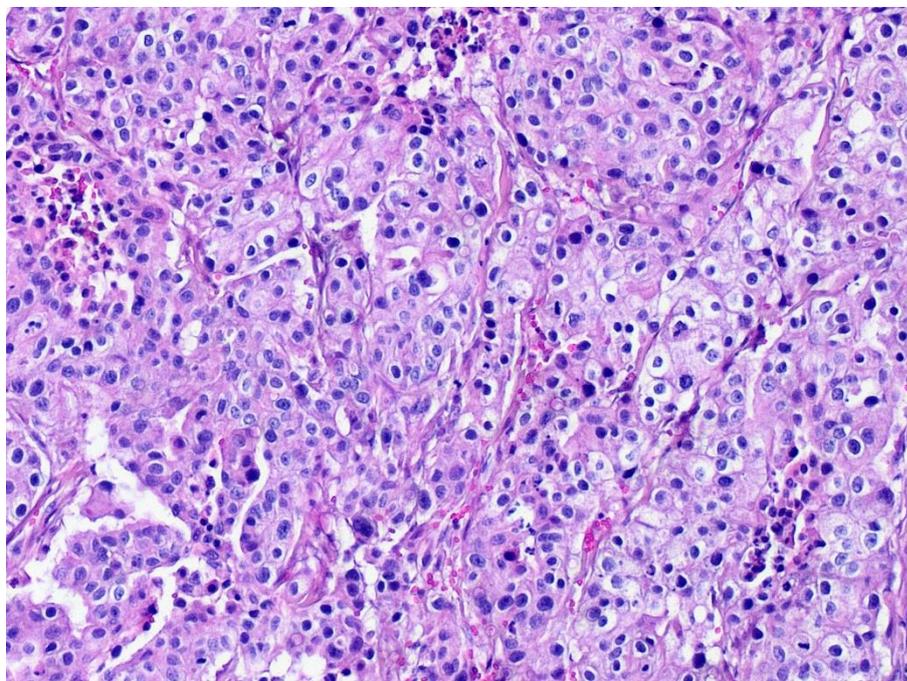


Рисунок 9 – Солидная карцинома (G3). Кошка, порода сиамская, 15 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

В единичных случаях отмечалась тромбоэмболия в крупных кровеносных сосудах. Внутрисосудистый субстрат был представлен крупным участком соединительной ткани с инвазией в гладкомышечную стенку кровеносного сосуда, в центре которого были расположены идентичные видоизменённые клетки молочной железы (рисунок 10).

Тубулярная карцинома. Для высокодифференцированного типа у кошек отмечалось многофокальное образование тубулярных структур в виде расширенных трубочек извитой формы, занимающие более 75% от общей площади опухолевой ткани ($\times 40$). Эпителиальный компонент имел вид мономорфных вытянутых клеток в виде столбиков, образующих от одного до двух рядов. В эпителиоцитах отмечался умеренный анизоцитоз и анизокариоз, ядра округлые, некоторые смещены на апикальную сторону. Насчитывалось

по одному ядрышку, хроматин мелкозернистый. Цитоплазма вытянутой формы, оксифильно окрашена, без включений.

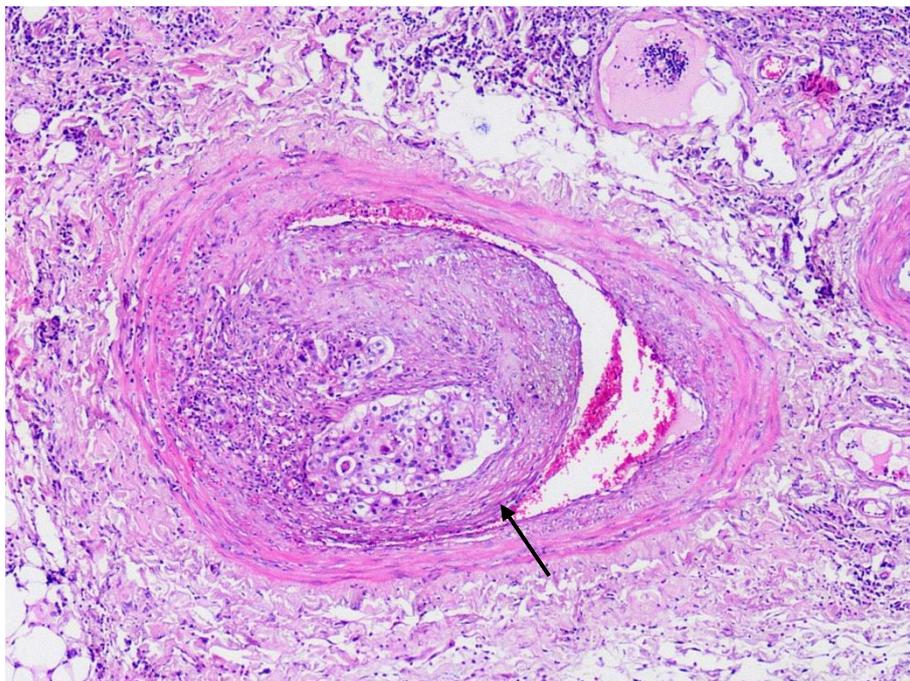


Рисунок 10 – Солидная карцинома (G3). Тромбоэмболия в кровеносном сосуде (↑). Кошка, порода сиамская, 15 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×40.

Между тубулярными структурами проходила строма из тяжелой склеротизированных волокон, в которых были распложены фибробласты и начинали формироваться кровеносные сосуды. Также отмечался активный, лимфоцитарный инфильтрат, который локализовался между тубулярными строениями, в виде клеточных тяжей или островками вокруг сосудов.

Стромальный компонент вокруг опухолевой ткани был хорошо развит, имел от пяти до шести рядов коллагеновых волокон, между ними располагались цепочками клетки воспалительного типа. Васкуляризация активная, отмечались сосуды в стадии гиперемии. Зоны некрозов и кровоизлияний не регистрировались.

Однако, в одном материале (собака), было замечено скопление клеток возле эпителиальных структур. Эти клетки имели веретенообразную форму, овально-продолговатое нормохромное ядро с одним ядрышком, расположенным по центру. Хроматин выделялся в виде мелких зерен, равномерно рассыпанных по ядерному компартменту. Цитоплазма имела

множественные отростки оксифильно окрашенные, без включений. Эти клетки располагались под эпителиальной выстилкой в светло-базофильном миксоматозном веществе. По нашему мнению, данные образования являлись скоплениями из миоэпителиальных клеток (рисунок 11).

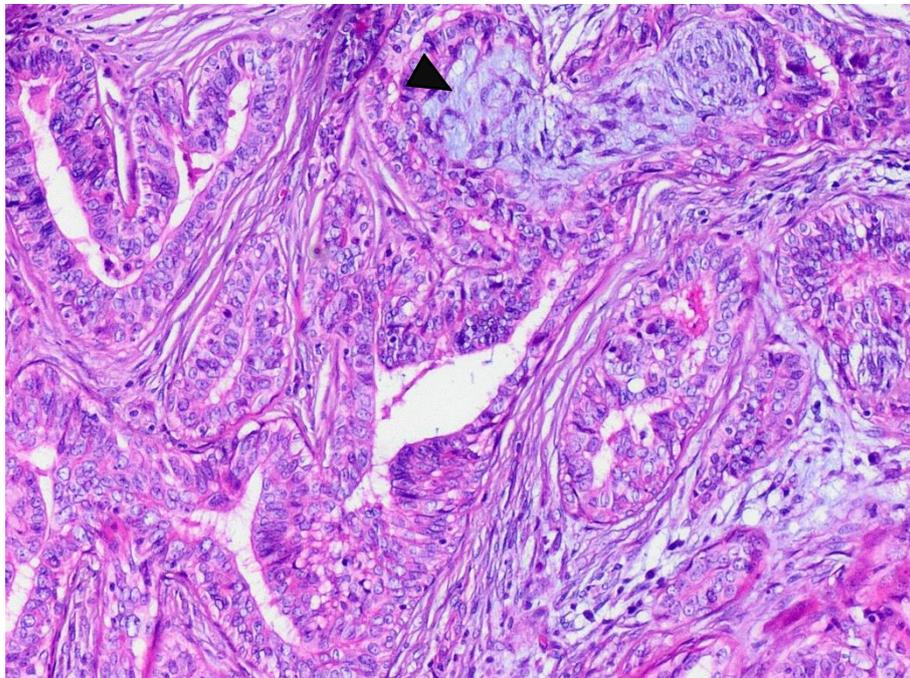


Рисунок 11 – Тубулярная карцинома (G1). Скопление миоэпителиальных клеток (▲). Собака, порода английский коккер-спаниель, 8 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

Для умереннодифференцированного типа было также характерно формирование тубулярных структур с образованием в центре расширенных фенестр. Эпителиоциты в некоторых полях визуализировались с умеренно выраженным плеоморфизмом, клетки имели форму от кубической до вытянутой призматической, визуализировалось округлое гиперхромное ядро, количество ядрышек насчитывалось от одного до двух. Хроматин был расположен неравномерно в виде темных зерен. Цитоплазма от умеренной до широкой, гранулы секрета были не обнаружены. Визуализировались фигуры митозов (рисунок 12).

Стромальный компонент был представлен кольцевыми тяжами коллагеновых волокон, в которых были запутаны фибробласты. Присутствовали единичные цепочки из лейкоцитов и лимфоцитов.

Васкуляризация была активная, местами присутствовали диапедезные кровоизлияния. Некрозы не обнаруживались.

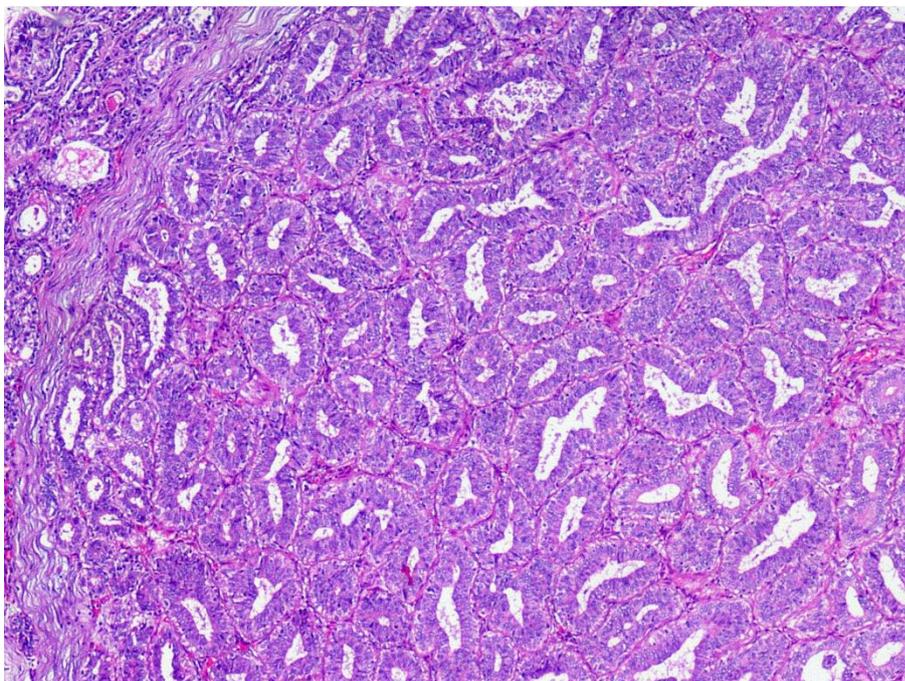


Рисунок 12 – Тубулярная карцинома (G2). Кошка, беспородная, 10 лет.
Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×40.

Для низкодифференцированного типа было характерно разрозненное образование тубулярных цепочек, эпителиальный компонент которых был представлен выраженными варибельными формами и размерами. Клетки имели высокий анизокариоз и анизоцитоз, присутствовали различного размера и форм от одного до двух эксцентрично расположенных ядрышек. Хроматин был неравномерно распределен в форме глыбок. Цитоплазма была скудная, без включений. Регистрировалось большое количество митозов с атипическими формами (рисунок 13).

В некоторых опухолях фиксировалось истончение и разрыв базальной мембраны с инвазией опухолевых клеток в стромальный компонент. Особенно было характерно близкое расположение в данных областях плеоморфных клеток фибробластического дифферона с неправильной конфигурацией ядер (рисунок 14).

Стромальный компонент был представлен редко расположенными склеротизированными коллагеновыми волокнами, между которыми

отмечались клетки воспалительного инфильтрата из плазмоцитов и лимфоцитов с инвазией их на границы резекции биоптата. Регистрировались фокусы некрозов.

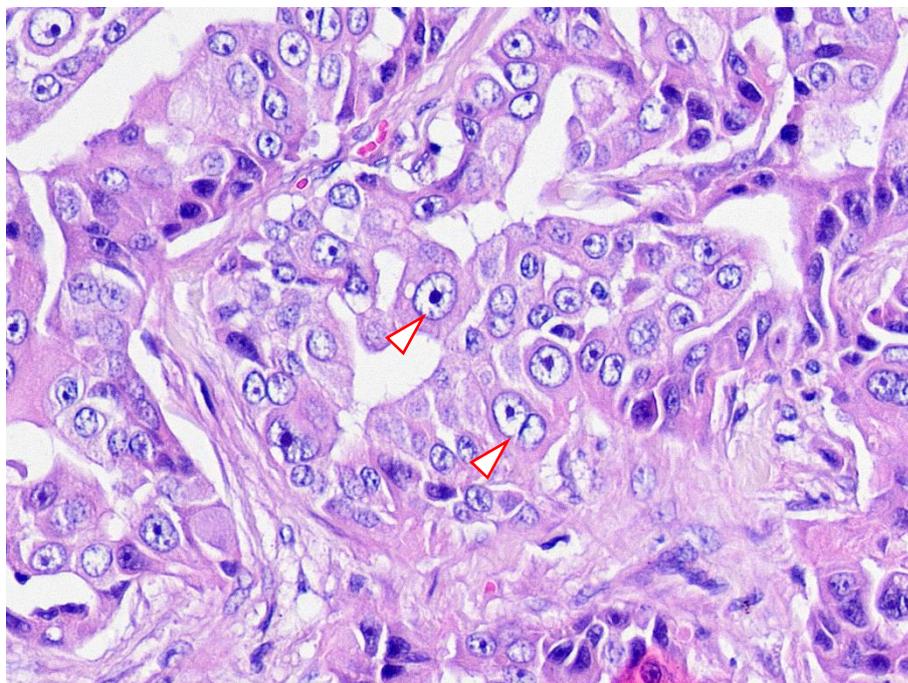


Рисунок 13 – Тубулярная карцинома (G3). Клеточный атипизм (▲). Собака, порода йоркширский терьер, 11 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$.

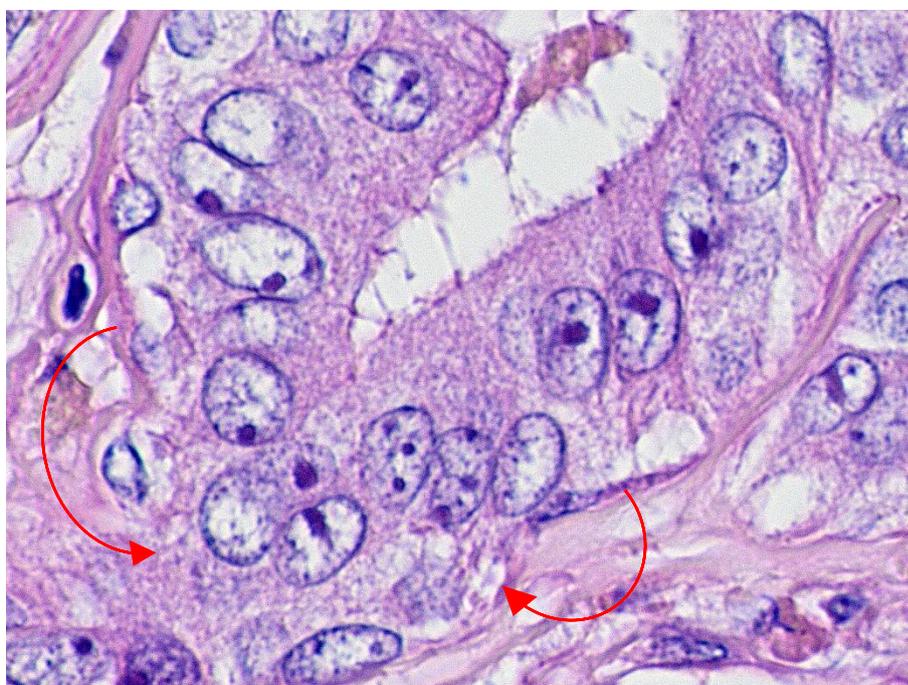


Рисунок 14 – Тубулярная карцинома (G3). Инвазия опухолевых клеток (↑). Кошка, беспородная, 14 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$.

Лимфатические сосуды были сильно расширены, в них отмечались скопления лимфоцитов. Вокруг сосудов наблюдался отек с деструкцией волокон соединительной ткани. В них отмечались опухолевые эмболы, состоящие от нескольких опухолевых клеток, до целого скопления с архитектурой данного типа опухоли (рисунок 15).

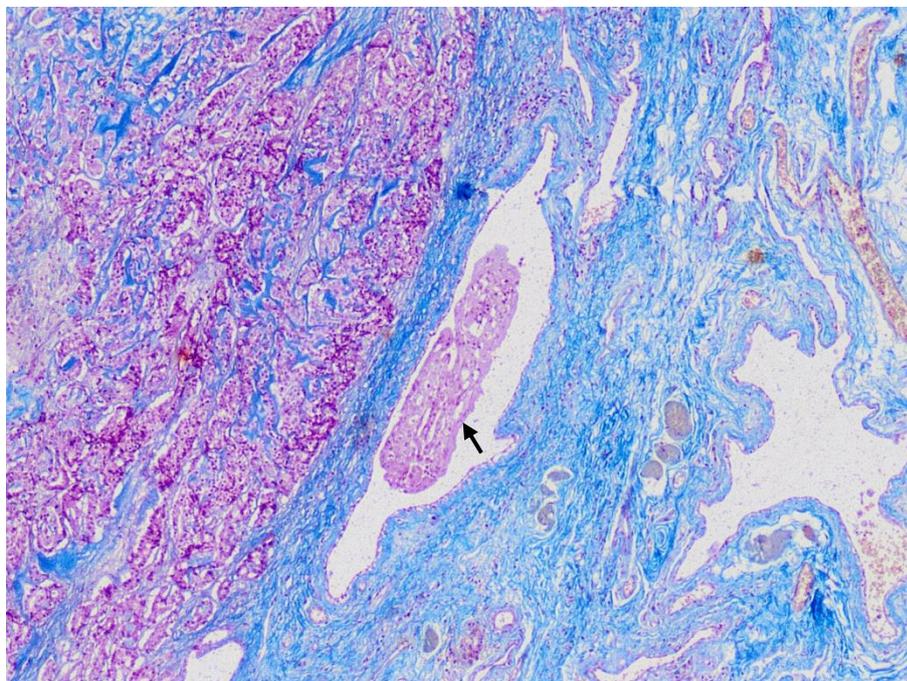


Рисунок 15 – Тубулярная карцинома (G3). Опухолевый эмбол (↑) в лимфатическом сосуде. Кошка, беспородная, 11 лет. Окраска по Маллори, ув. ×40.

Папиллярная карцинома. При умереннодифференцированном типе у кошек опухоль была окружена соединительнотканной капсулой, от которой в центральную часть отходили многочисленные ветвящиеся, анастомозирующие между собой фиброваскулярные ножки, формирующие сосочковое строение. Эпителиальные клетки кубической или столбчатой формы, с умеренным количеством апикальной цитоплазмы и базально расположенным округлым или удлинённым ядром. В эпителиоцитах отмечался умеренный анизокариоз и анизоцитоз, просматривалось одно центрально расположенное ядрышко, хроматин был диффузно расположен по всему компартменту ядра. Эпителиальный компонент формировал тяжи от трех до девяти слоев (рисунок 16).

Стромальный компонент был сильно развит и отмечался в виде толстой соединительнотканной оболочки, окружающей опухоль. В опухолевой ткани визуализировались макро и микро-фокусы некрозов с клеточным детритом, на периферии была активная лимфоцитарная инфильтрация.

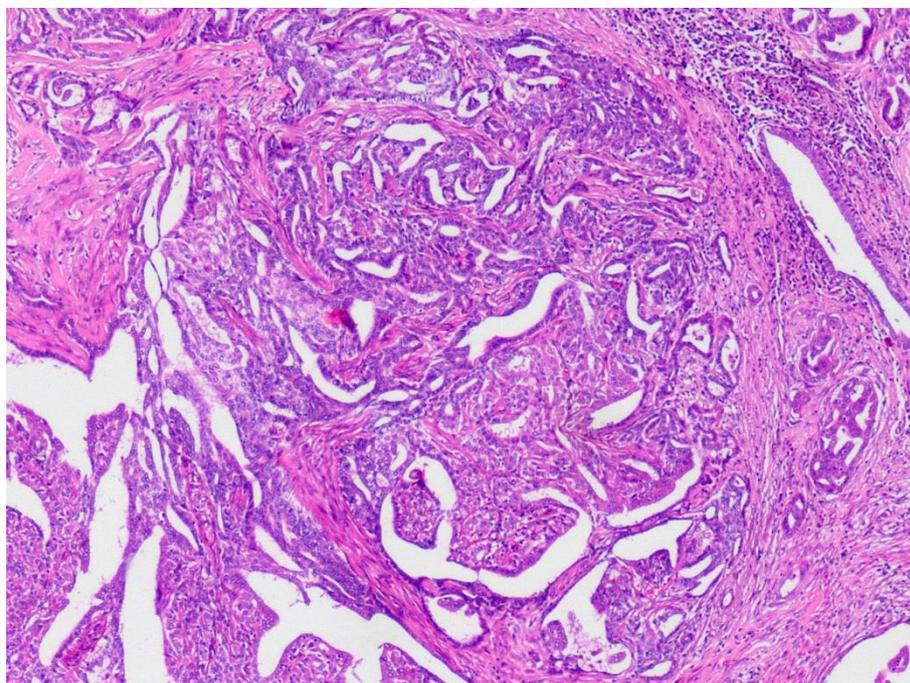


Рисунок 16 – Папиллярная карцинома (G2). Кошка, метис, 12 лет.
Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

У собак строение умереннодифференцированной папиллярной карциномы имело некоторые отличия от опухолей кошек. В эпителиальном компоненте наблюдались плеоморфные вытянутые структуры, достигающие его просвета. Сами фиброваскулярные ножки контактировали между собой, формируя кривозные структуры, в просвете которых обнаруживался слизеподобный секрет (рисунок 17).

Также, характерной особенностью являлось сильное развитие соединительнотканной оболочки вокруг опухоли, между коллагеновыми волокнами лежали клетки фибробластического дифферона, без клеточной атипии. В интерстициальной ткани отмечалось образование нодулярных структур, лежащих под эпителием. Данные структуры предположительно являлись миоэпителиальными клетками веретенообразной формы с вытянутым овальным ядром, визуализировалось одно ядрышко, мелкозернистый хроматин. Цитоплазма имела множество оксифильных

отростков, которые соединяясь с другими и образовали матриксную сетчатую структуру (рисунок 18). Воспалительный инфильтрат был умеренный, диффузный, лимфоцитарно-макрофагальный. Макрофаги содержали, вероятно, пигмент цероид.

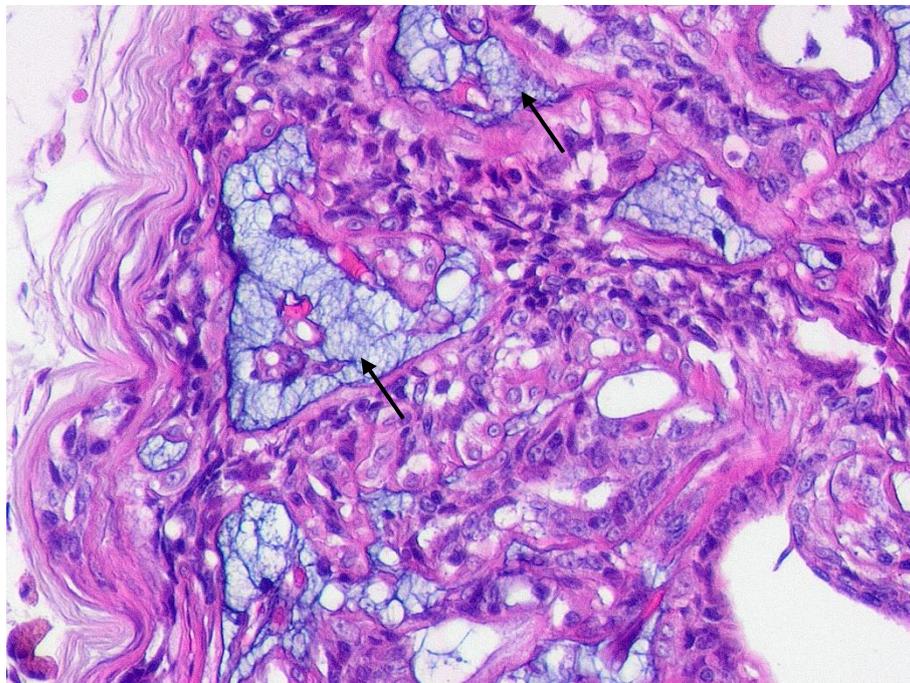


Рисунок 17 – Папиллярная карцинома (G2). Слизеподобный секрет в просвете (↑). Собака, порода американский стаффордширский терьер, 10 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$.

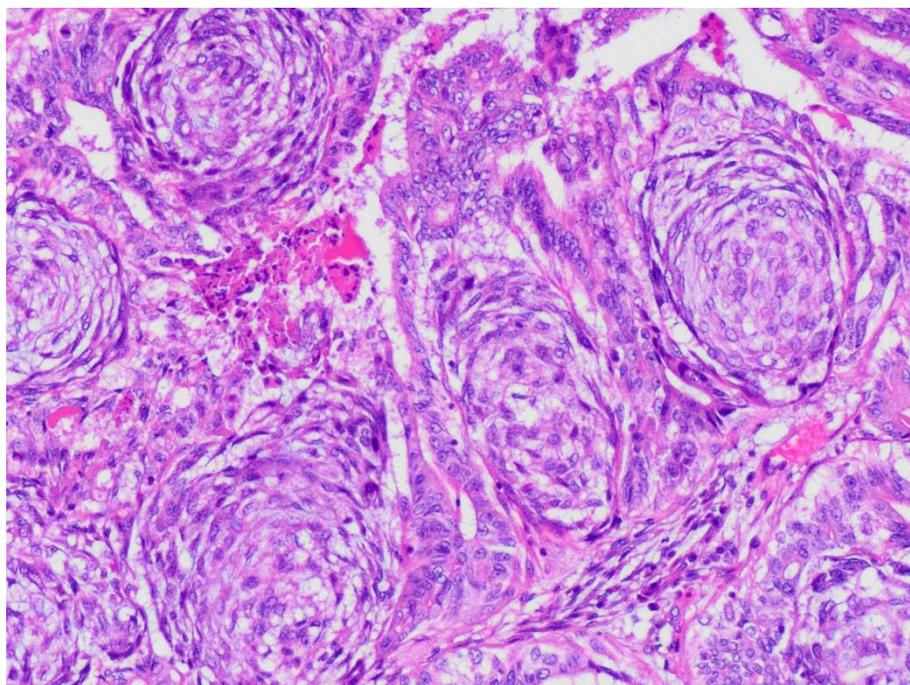


Рисунок 18 – Папиллярная карцинома (G2). Нодулярные структуры миоэпителиальных клеток. Собака, порода русский спаниель, 4 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

При низкодифференцированном типе у кошек опухолевая ткань была представлена формирующимися эпителиальными сосочками с фиброваскулярной основой, занимающей около 10% от общей площади среза ($\times 40$). Эпителий плеоморфный, имел высокий анизоцитоз и анизокариоз, ядрышко одно, расположено эксцентрично, цитоплазма обильная, без включений.

Большую часть ткани занимали макроочаги некрозов с клеточным детритом. Рядом с ними обнаруживались кровеносные сосуды с областями кровоизлияний. Вокруг узла была сформирована рыхлая соединительнотканная капсула с активной инфильтрацией ее лимфоцитами (рисунок 19).

В тканях поверхностного пахового лимфатического узла в мозговом веществе регистрировался макрофокус метастаза, представляющий железистую паренхиму молочной железы, в центральной части которой отмечался участок некротической массы.

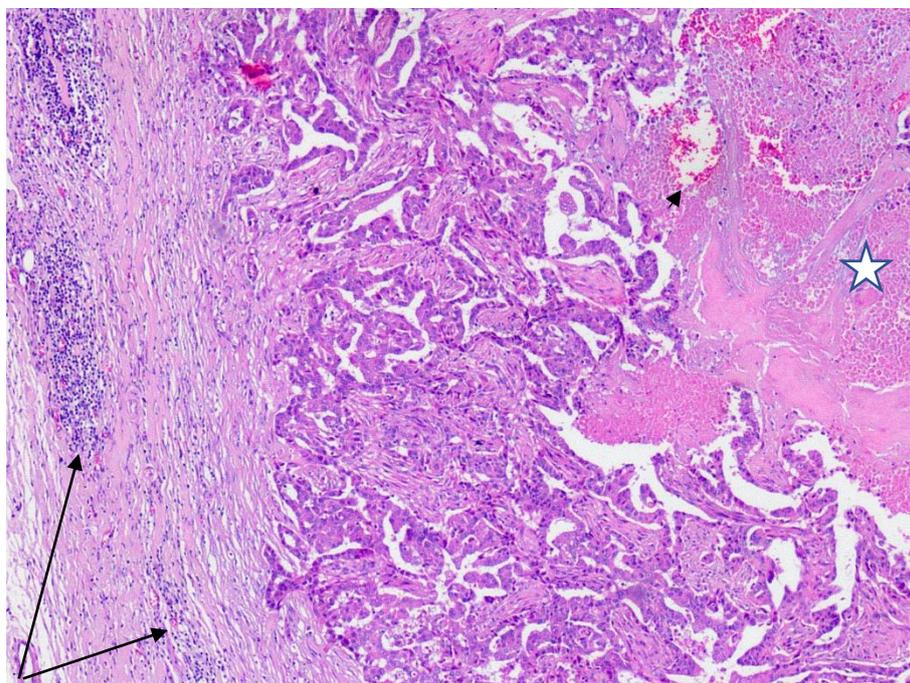


Рисунок 19 – Папиллярная карцинома (G3). Некроз (☆), кровоизлияние (▲), лимфатическая инфильтрация (↑). Кошка, метис, 11 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 40$.

У собак низкодифференцированная папиллярная карцинома была представлена фиброваскулярными ножками, эпителий которых образовывал

от пяти до шести слоев. Морфология клеток имела выраженный полиморфизм и переменные по размеру ядра с ядрышками, хроматин грубодисперсный. Отмечались некоторые участки тканей с метаплазией клеток в плоскоклеточную дифференцировку, клетки имели выраженный плеоморфизм, ядро гиперхромное, ядрышко одно, цитоплазма широкая, оксифильная (рисунок 20).

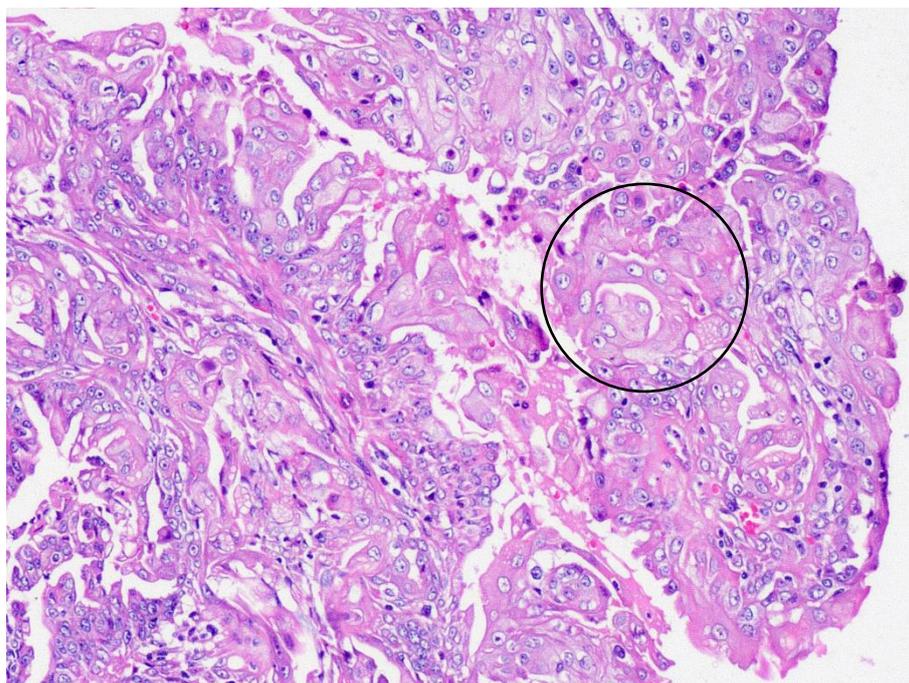


Рисунок 20 – Папиллярная карцинома с плоскоклеточной дифференцировкой (G3) (○). Собака, порода померанский шпиц, 13 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

Воспалительный инфильтрат был активным с инвазией в окружающие ткани. Васкуляризация была активная, отмечались многочисленные старые и свежие крупные очаги кровоизлияний.

Микропапиллярная карцинома. У животных в опухолевой ткани визуализировались расширенные протоки, в них формировалось множество папиллярных выпячиваний в их просвет. Для них было характерно отсутствие фиброваскулярной основы. Эпителиоциты имели плеоморфные структуры, умеренный анизокариоз, четко просматривалось одно ядрышко, хроматин грубозернистый. Цитоплазма клеток широкая, без содержимого. Часть микропапиллярных структур анастомозировали между собой (рисунок 21). Стромальный компонент был сильно развит, отмечался фиброз стромы. На

периферии опухоли регистрировалась воспалительная лимфоцитарная инфильтрация. В двух сосудах микроциркуляторного русла было обнаружено два опухолевых эмбола.

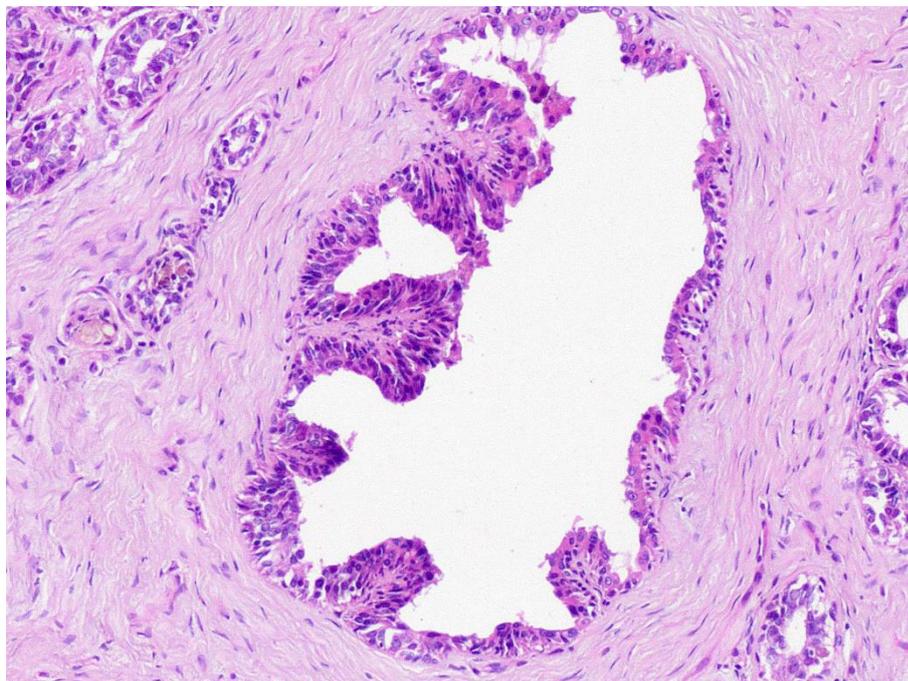


Рисунок 21 – Микропапиллярная карцинома (G1). Собака, беспородная, 12 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

Медуллярная карцинома. Опухоль у кошек была представлена солидным ростом клеток, имела чётко ограниченный край на периферии от остальных тканей. Эпителиальный компонент имел выраженный плеоморфизм, клетки от округлых до овальных форм с высоким анизоцитозом и анизокариозом. Ядра гиперхромные, из-за глыбчатого хроматина, расположенного по всей поверхности ядра, было трудно визуализировать ядрышки. Цитоплазма скудная, иногда не просматривалась из-за плотного расположения клеток, что придавало им вид «голых ядер». В плотном клеточном потоке выделялись некоторые структуры, имеющие более округлой формы светлое ядро с одним ядрышком и широкую светлую цитоплазму. Отмечалось наличие многоядерных клеток и большое количество митозов (рисунок 22).

Характерной чертой этой патологии являлось наличие диффузной лимфоплазмацитарной инфильтрации стромы. Фиксировались участки с некротическими массами. Отмечалось наличие опухолевых эмболов в лимфатических сосудах. В одном поверхностном паховом лимфатическом

узле около 90% паренхимы коркового вещества было замещено метастазом из опухолевого эпителия молочной железы с участком некроза. В одном из приносящих лимфатических сосудов был обнаружен опухолевый эмбол (рисунок 23).

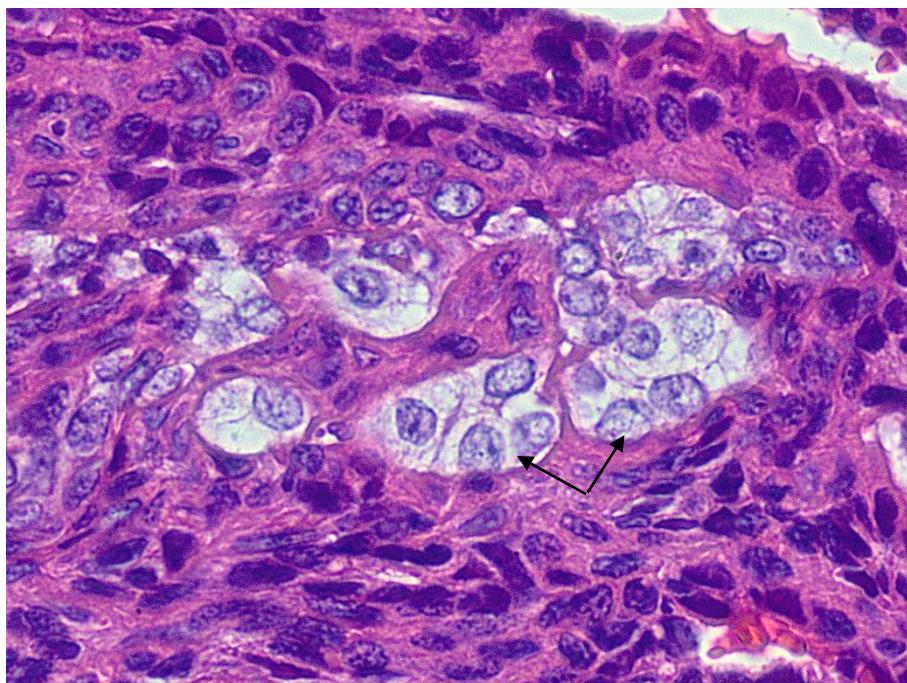


Рисунок 22 – Медуллярная карцинома (G3). Многоядерные клетки (↑). Кошка, порода персидская, 11 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×400.

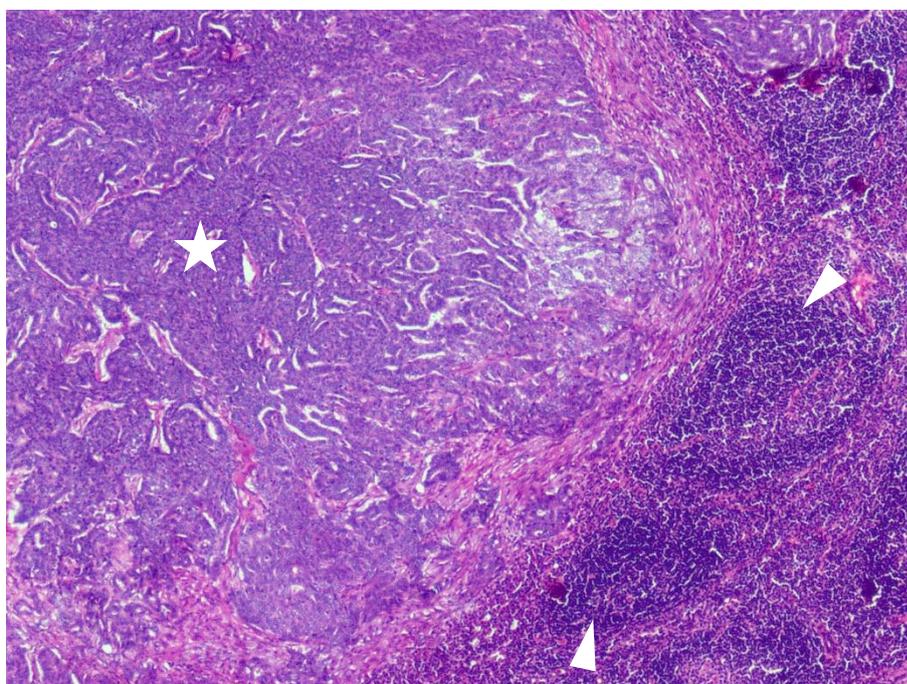


Рисунок 23 – Медуллярная карцинома (G3). Макрометастаз (☆), клетки лимфатического узла (▲). Кошка, порода невская маскарадная, 13 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×40.

Медуллярная карцинома с перстневидноклеточной дифференцировкой. Данный вид опухоли относят к редким типам рака, для него характерна чаще всего фокальная дифференцировка клеток в совместных опухолях. Опухолевый компонент у собак был представлен солидным ростом клеток, периферический край ее имел четкие края за счет окружающей толстой соединительнотканной прослойки. Клетки округлой формы со значительным плеоморфизмом, имеющие крупные плеоморфные везикулярные ядра. Количество ядрышек от двух до трех, хроматин грубозернистый, расположен неравномерно. В солидных структурах регистрировались клетки с обширной цитоплазмой и сдвинутым изогнутым ядром на периферию. Цитоплазма была заполнена крупной прозрачной каплей или имела зернистое содержимое (рисунок 24).

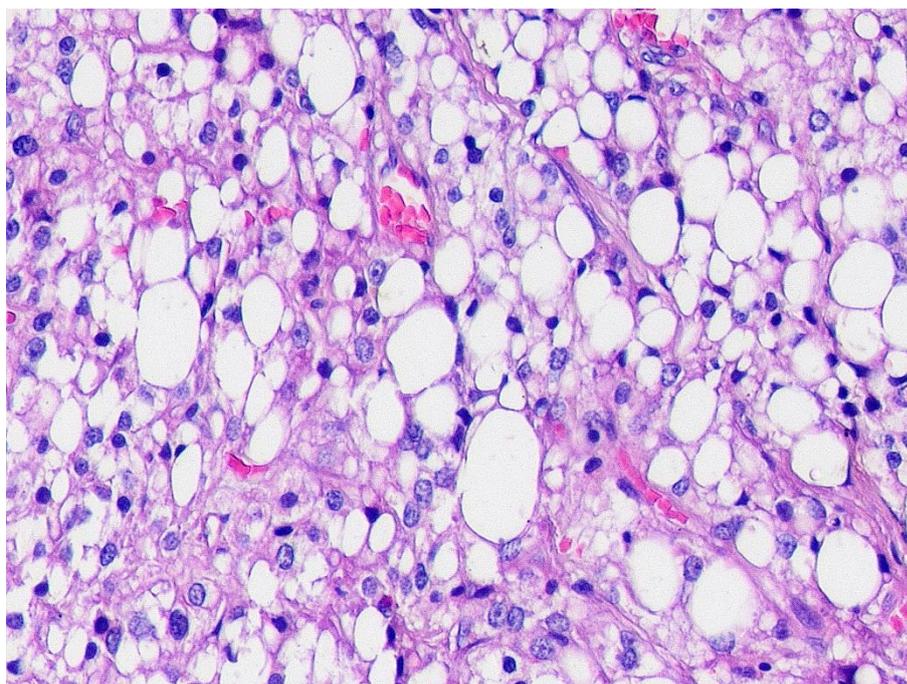


Рисунок 24 – Медуллярная карцинома с перстневидноклеточной дифференцировкой (G3). Собака, порода йоркширский терьер, 7 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$.

Стромальный компонент был слабо развит. На периферии края опухоли отмечались свежие и старые кровоизлияния с выпадением пигмента гемосидерина. Здесь также были расположены макрофокусы некрозов. Опухолевая ткань была представлена активным лимфоцитарно-

макрофагальным воспалительным инфильтратом в виде клеточных тяжей между плеоморфным эпителием, макрофаги содержали пигмент липофусцин.

В тканях поверхностного пахового лимфатического узла, зонально, в подкапсулярном синусе и в двух фолликулах находились метастазы, представленные опухолевым инфильтратом из плеоморфного эпителия.

Анапластическая карцинома. Как известно, этот тип опухоли у животных является злокачественной формой с неблагоприятным прогнозом.

На гистологическом препарате отмечалось характерное изменение ткани молочной железы за счет обильной инфильтрации лимфоцитами в виде иммунных комплексов. Сами опухолевые клетки располагались в фиброэластической клеточной строме диффузно по одиночке, либо были сгруппированы в небольшие гнезда. Эпителиоциты имели полиморфные формы: округлые, овальные, многоугольные. Анизокариоз и анизоцитоз был высоко выражен, форма ядер от круглой до овальной, могут быть с углублениями, ядрышки просматривались в количестве от одного до трех, различного размера. Цитоплазма могла быть в виде узкого ободка, либо широкая оксифильная, без включений. Отмечались клетки с неправильными многоядерными структурами. Регистрировалось большое количество митозов и атипические формы – четырехполярные, мультиполярные, кольцевые, с полярной асимметрией (рисунок 25).

Стромальный компонент был отёчный, местами с гомогенизацией волокон, между которыми пронизывались клетки – лимфоциты, нейтрофилы, плазмоциты. На периферии опухолевой ткани в лимфатических сосудах дермы регистрировались опухолевые эмболы, состоящие из одиночных клеток, либо крупными скоплениями.

Во всех образцах в поверхностных паховых лимфатических узлах отмечалось наличие в приносящих сосудах фрагментов опухолевой ткани, а также были образования в корковом веществе макрометастазов с замещением тканей узла.

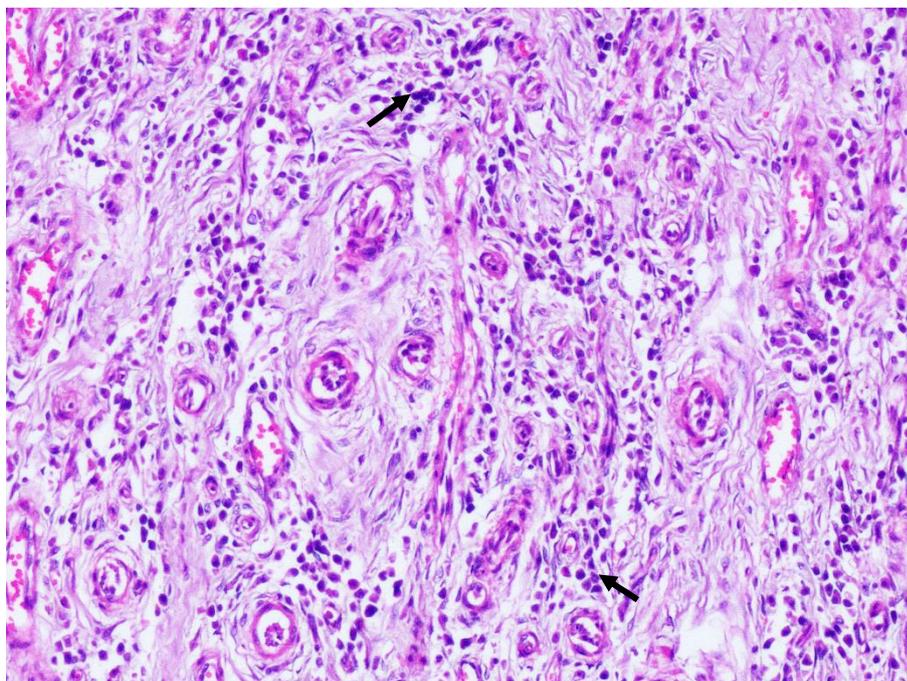


Рисунок 25 – Анапластическая карцинома (G3). Иммуные комплексы (↑) в ткани молочной железы. Собака, беспородная, 11 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×200.

Карцинома смешанного типа. Этот тип опухоли встречался у собак и характеризовался наличием трех компонентов: злокачественного эпителиального, доброкачественного миоэпителиального и мезенхимального с метаплазией в хрящевую или костную ткани.

Эпителиальная ткань формировала вытянутые, удлинённые папиллярные и тубулярные структуры, выстланные двумя – тремя слоями клеток. При умеренно дифференцированной степени злокачественности эпителиоциты имели плеоморфную вытянутую форму, умеренный анизокариоз и анизоцитоз. Отмечалось наличие одного ядрышка, расположенного в центре. Цитоплазма имела вытянутую форму, оксифильная, без включений. Миоэпителиальные клетки располагались на базальной мембране в виде вытянутых и уплощённых клеток с гиперхромным ядром и оксифильной цитоплазмой.

Мезенхимальный компонент от площади ткани занимает 60% (×40), он полностью окружал эпителиальные структуры и придавал им вид островков. Отмечались отдельные участки трансформации клеток в гиалиновую хрящевую ткань с активной пролиферацией внутри лакун хряща

хондробластов. На периферии данных структур регистрировались многоядерные клетки – остеокласты с ярко оксифильной цитоплазмой, которая местами имела пенистый вид (рисунок 26).

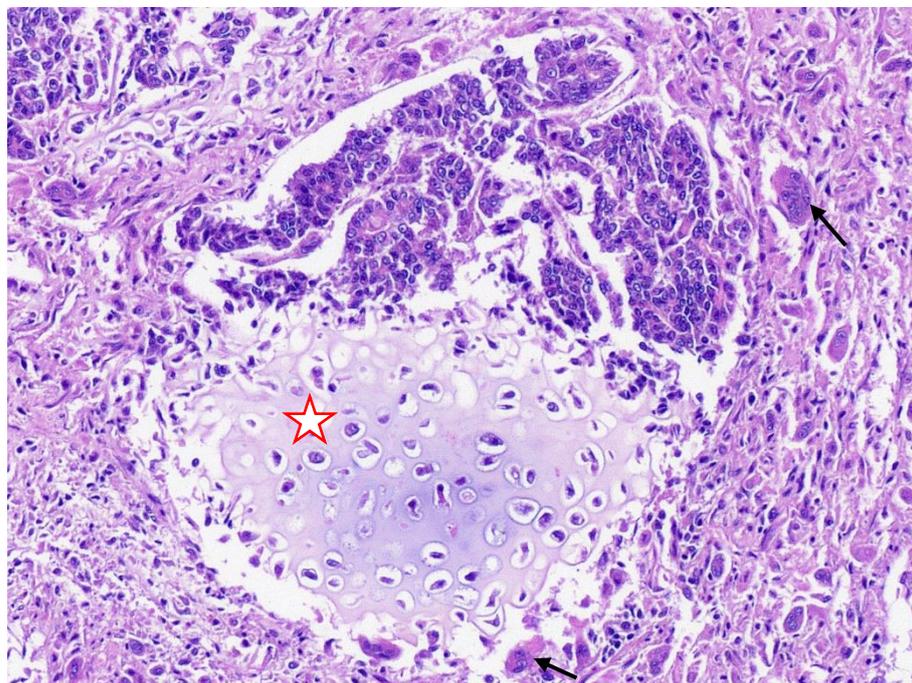


Рисунок 26 – Карцинома смешанного типа (G2). Участок гиалинового хряща (☆), остеокласты (↑). Собака, порода йоркширский терьер, 13 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×100.

Стромальный компонент хорошо был развит с преобладанием клеток фибробластического дифферона в стадии активной пролиферации, без клеточной атипии.

При низкой степени злокачественности эпителиальный компонент образовал неправильной формы папиллярные и тубулярные структуры, анастомозирующие между собой. Эпителиоциты имели выраженный полиморфизм с кубической, призматической и неправильного овала формы клеток, с резко выраженным атипизмом клеток, гиперхромными ядрами, наличием ядрышек в количестве от одного до двух, расположенных эксцентрично. Цитоплазма имела вытянутую форму, оксифильная, в некоторых клетках отмечались гранулы оксифильного секрета (рисунок 27).

Миоэпителиальные клетки располагались на базальной мембране в виде вытянутых клеток с овально-уплощенным ядром и оксифильной цитоплазмой. Мезенхимальный компонент был представлен несколькими крупными

очагами из молодого гиалинового хряща с активной пролиферацией клеток без атипии. Воспалительный инфильтрат отсутствует имелись повсеместно микрофокусы некрозов, содержащие клеточный детрит, макрофаги с липофусцином (рисунок 27).

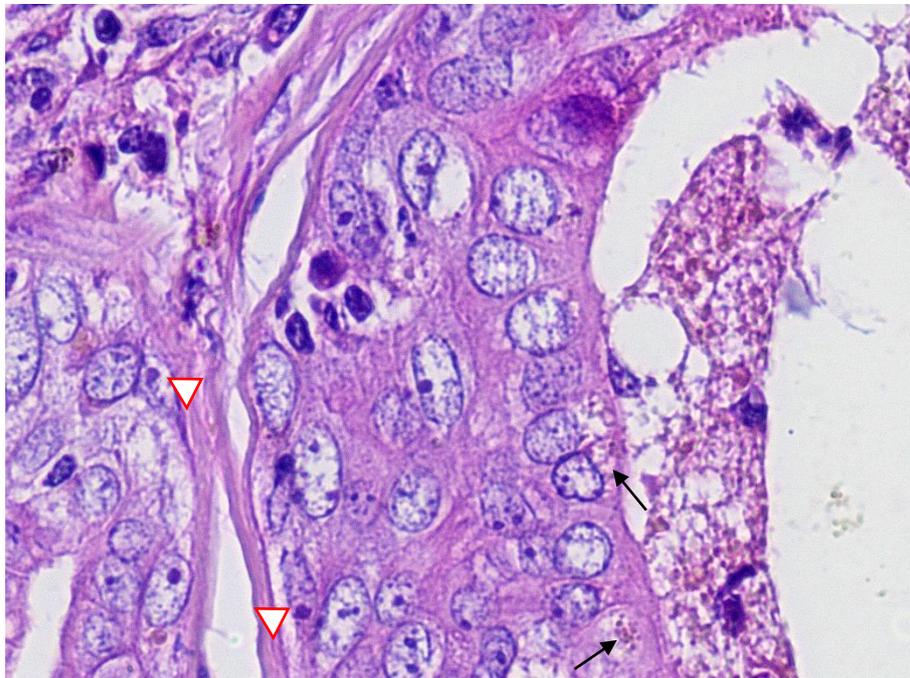


Рисунок 27 – Карцинома смешанного типа (G3). Супрабазальные миоэпителиальные клетки (▲); гранулы секрета в эпителиоцитах (↑). Собака, порода мопс, 7 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×400.

Как известно, наличие такого типа опухолей молочных желез у кошек отмечался крайне редко. Морфология опухолевых клеток полностью похожа у собак (рисунок 28). В фиброэластической клеточной строме отмечалось формирование клеточных гнезд в миксоматозном веществе, прикрепленных к эпителиальной выстилке, либо отдельно расположенных в тканях. Данные клетки представляли собой интерстициальные миоэпителиоциты, с уплощенными вытянутыми гиперхромными ядрами. Цитоплазма оксифильная имела длинные отростки, которые часто переплетаются между собой, образуя трехмерную сеть (рисунок 29).

Инвазивный рак. Как известно, гистологический тип опухолей у животных видоизменяет дольковую и протоковую системы молочной железы,

превращая их в инвазивные клеточные структуры, без четко выраженных границ.

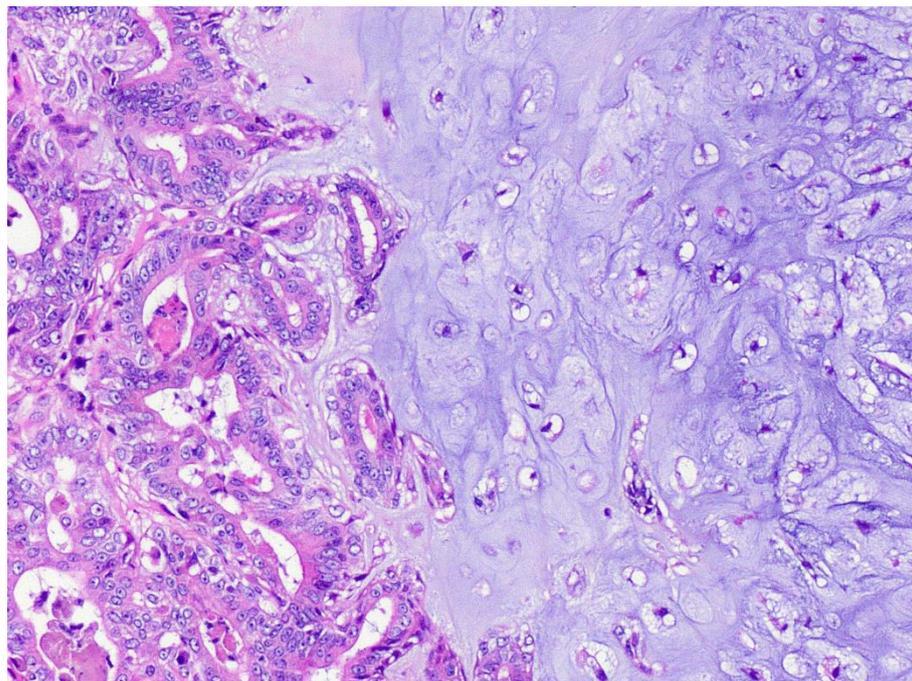


Рисунок 28 – Карцинома смешанного типа (G2). Кошка, порода персидская, 12 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

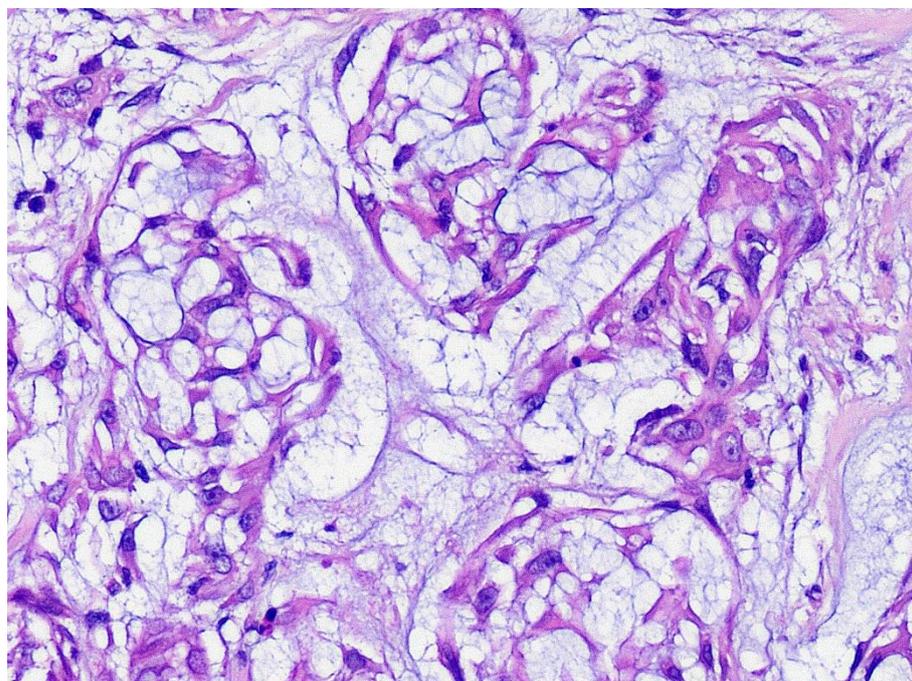


Рисунок 29 – Карцинома смешанного типа (G2). Интерстициальные миоэпителиальные клетки. Кошка, порода персидская, 12 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$.

На гистологическом препарате опухолевая ткань формировала трабекулярные цепочки, скопление отдельных клеток в виде кластеров,

окруженных тонкими прослойками фиброзной стромы. Клетки мономорфны, низкий анизокариоз и анизоцитоз, ядра идентичные, ядрышки несильно выделялись, хроматин мелкозернистый диффузно был распределён. Цитоплазма оксифильная, без включений.

При умереннодифференцированном типе опухолевые клетки формировали цепочки либо кластеры неправильной формы. Отмечалось наличие плеоморфизма в клетках, умеренный анизокариоз и анизоцитоз, ядра гиперхромные, одно ядрышко, хроматин был неравномерно расположен в виде плотных глыбок. Цитоплазма обильная, без включений. Фиксировались формы митозов.

Стромальный компонент был развит слабо в виде тонких коллагеновых тяжей, проходящих между опухолевой структурой. В центральной части видоизмененной ткани регистрировались макрофокусы некрозов. На периферии активный воспалительный инфильтрат был представлен лимфоцитарными и плазматическими клетками, инвазирующих опухолевую ткань.

При низкодифференцированном типе опухолевые клетки формировали цепочки, кластеры неправильной формы, тубулярные структуры, в центре которых отмечался некротический процесс. В клетках четко был выражен плеоморфизм, значительное увеличение ядра и цитоплазмы с остальными клетками. Ядра гиперхромные, присутствует одно ядрышко, расположенное эксцентрично. Цитоплазма широкая, обильная, оксифильная. Часто отмечались фигуры атипических кольцевых митозов (рисунок 30).

Между опухолевыми инфильтратами были расположены тонкие соединительнотканые прослойки в состоянии очаговой деструкции и склероза. В центральной части отмечались крупные очаги некроза. По

периферии железистой паренхимы был активный лимфоцитарный воспалительный инфильтрат и активная инвазия опухолевых клеток в здоровые ткани.

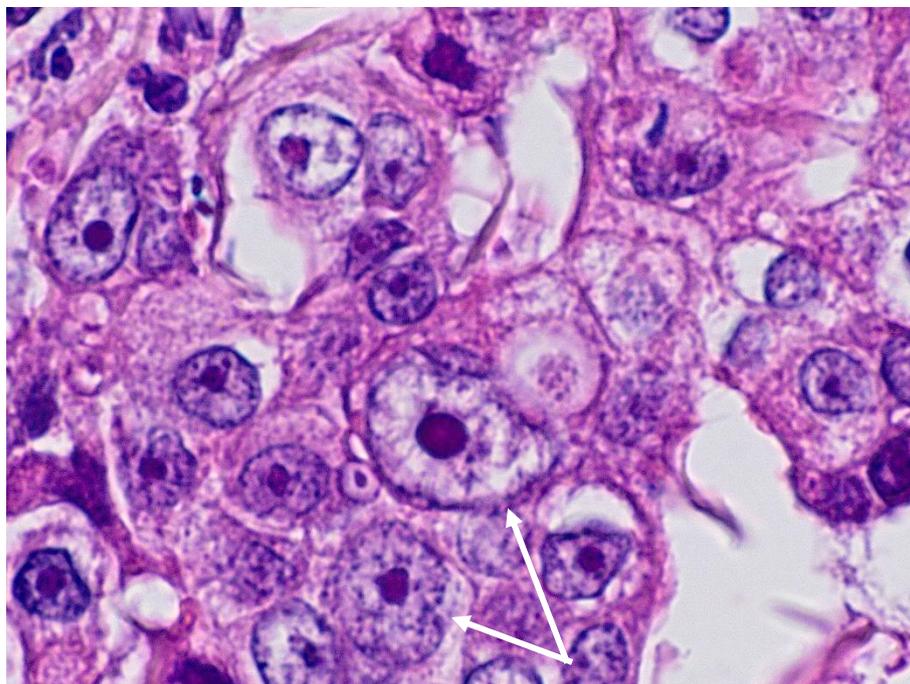


Рисунок 30 – Инвазивный рак (G3). Клеточный атипизм (↑). Кошка, порода персидская, 12 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×600.

Инвазивный папиллярный рак. Как известно, отличие от папиллярной протоковой карциномы состоит в том, что клетки не имеют соединительнотканную оболочку и сразу пронизывают здоровый тканевой компонент молочной железы.

На гистологическом материале опухолевая ткань у кошек состояла из крупных папиллярных структур различной формы и размера, имеющих хорошо выраженную фиброваскулярную основу. Наблюдались ветвящиеся сосочки. Эпителиальный компонент, выстилающий данные структуры, был представлен плеоморфными вытянутыми клетками, расположенными в несколько рядов. Ядра крупные плеоморфные, четко выделялось одно ядрышко, хроматин грубозернистый. Цитоплазма широкая, оксифильная. Местами отмечались фокусы некрозов. Воспалительный лимфоцитарный инфильтрат инвазировал коллагеновые волокна фиброваскулярной основы (рисунок 31).

В поверхностных паховых лимфатических узлах регистрировались макроочаги метастазов опухолевой ткани, заполняющих тотально мозговое вещество и на 80% корковое вещество. Метастазы имели соединительнотканную капсулу и были представлены многочисленными разделенными соединительной тканью папиллярными железистыми структурами на фиброваскулярной ножке с плеоморфным эпителием, в центре которых наблюдались зоны некрозов.

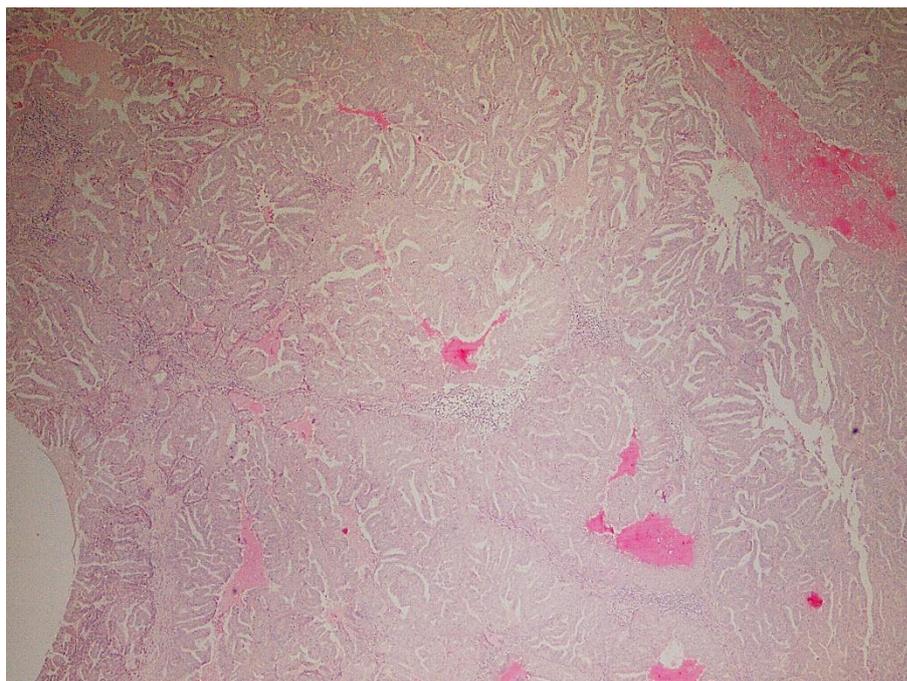


Рисунок 31 – Инвазивный папиллярный рак (G3). Кошка, порода британская короткошерстная, 12 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

Инвазивный рак неспецифического типа. Как известно, инвазивный рак неспецифического типа выделяют в отдельную группу, так как у него слабо выражены или отсутствуют характерные признаки в отличие от других типов, а также трудно диагностировать из какой части эпителия он происходит.

При высокодифференцированном типе у животных отмечались формирование гнезд, кластеров и трабекул фенестрированного типа. Регистрировалась инвазия тканей молочной железы тяжами опухолевых клеток. Морфологически клетки имели единый размер, четко просматривалось ядро, с одним ядрышком и рассыпчатым мелкозернистым

хроматином. Цитоплазма умеренная, оксифильная, без включений (рисунок 32).

При низкодифференцированном типе отмечалось формирование тяжей и ациноподобных структур, инфильтрирующих ткани молочной железы. Между опухолевыми клетками располагалась широкая строма в состоянии отека и деструкции волокон. Между стромальным компонентом визуализировались зоны с активной лимфоцитарной инфильтрацией. Эпителиальный компонент был представлен клетками со значительным плеоморфизмом, увеличенным гиперхромным ядром. Ядрышек насчитывалось от одного до двух, хроматин имел структуру глыбок рассыпанных по всему компартменту ядра, цитоплазма визуализировалась в виде узкого ободка, либо широкой с включениями (рисунок 33).

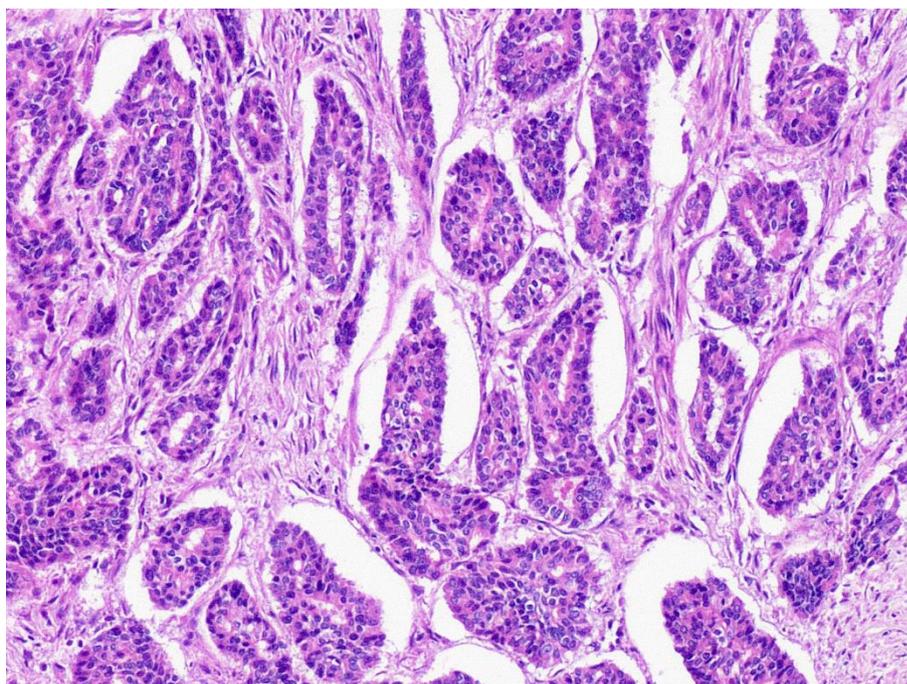


Рисунок 32 – Инвазивный рак неспецифического типа (G1). Собака, порода немецкая овчарка, 11 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$.

В центральной части опухоли отмечались фокусы некрозов, занимающих большую половину опухолевой ткани. На периферии опухолевого очага визуализировалась активная воспалительная инфильтрация. В единичных случаях наблюдались одиночные опухолевые эмболы.

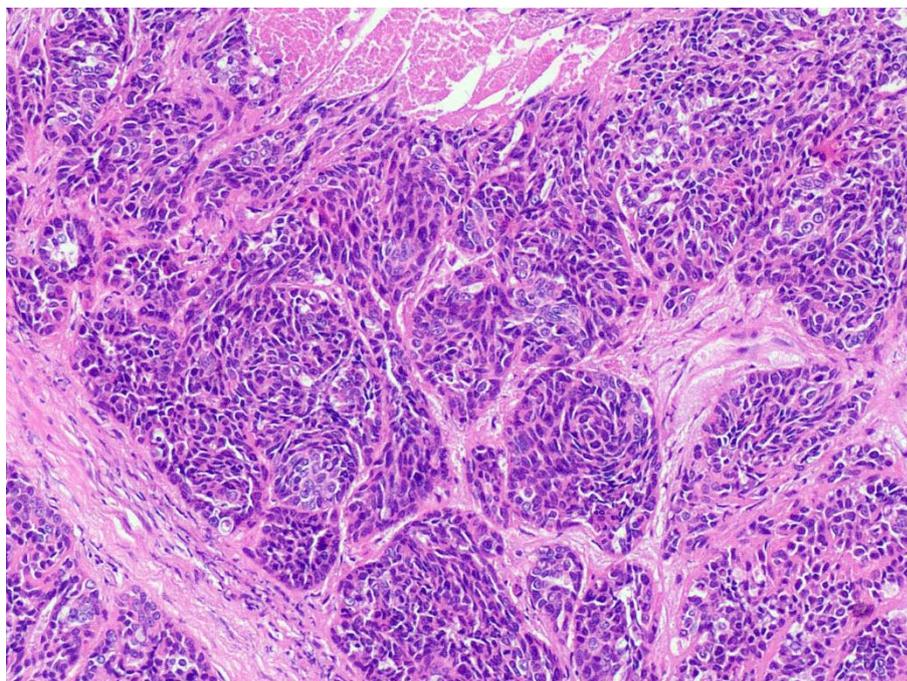


Рисунок 33 – Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Кошка, порода персидская, 10 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

Инвазивный рак неспецифического типа с апокриновой дифференцировкой. В единичном случае у собак наблюдался такой вид опухоли, архитектура которой представляла собой солидное строение многочисленных узлов и тяжей раковых клеток, которые инфильтрировали ткань молочной железы. В отдельных участках отмечалось формирование тубулярных структур с просветом в центре. Эпителиальный компонент имел резко плеоморфные формы, крупных размеров ядра с четко просматриваемым одним ядрышком. Цитоплазма широкая, оксифильная, содержала в некоторых клетках зернистый оксифильный секрет. Отмечалась дифференцировка эпителия не только в апокриновые структуры, но и в плоскоклеточный вид. Воспалительный лимфоцитарный инфильтрат был скудным. Наличие фокусов некрозов минимально (рисунок 34).

В представленном материале поверхностного пахового лимфатического узла отмечалось наличие в приносящем лимфатическом сосуде опухолевого эмбола. В самом лимфатическом узле, в зоне коркового вещества, регистрировались четыре макрометастаза, имеющих строение опухолевой ткани молочной железы (рисунок 35).

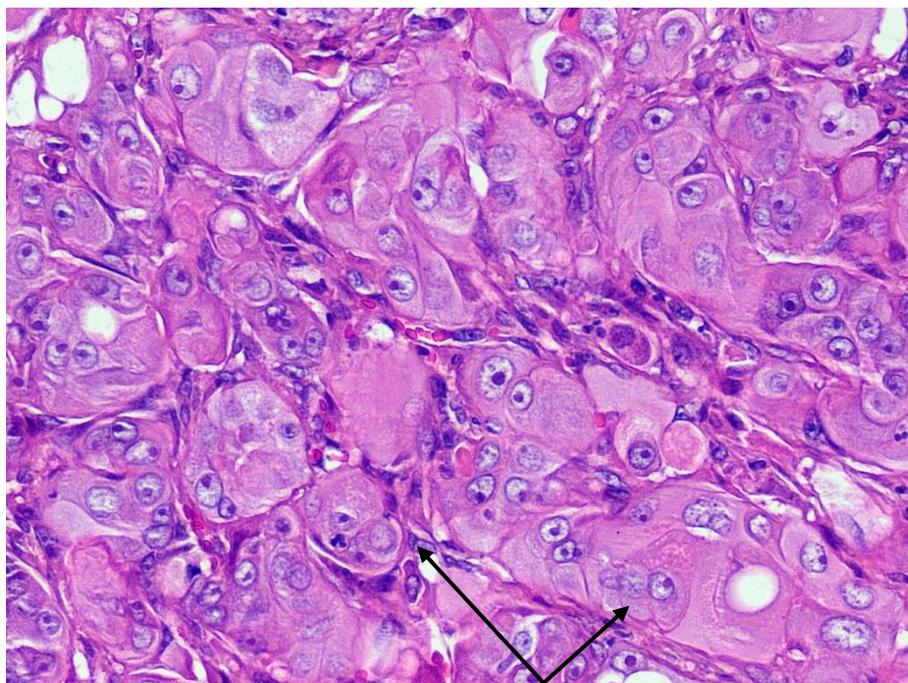


Рисунок 34 – Инвазивный рак с апокриновой дифференцировкой (G3). Зернистые включения в цитоплазме (↑). Собака, беспородная, 12 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×200.

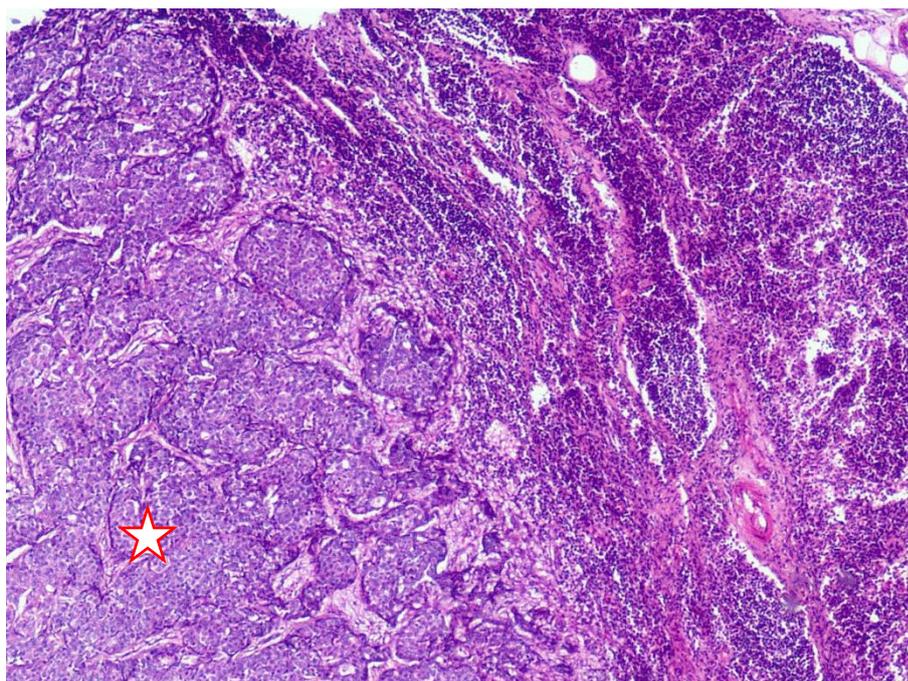


Рисунок 35 – Инвазивный рак с апокриновой дифференцировкой (G3). Макрометастаз (☆) в лимфатическом узле. Собака, беспородная, 9 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×100.

Инвазивный рак неспецифического типа с медуллярными признаками. Этот тип рака присутствовал в 1% случаев (собака). Опухолевая картина была представлена солидным строением видоизмененных клеток, формирующих переменных размеров и форм клеточные кластеры и гнезда.

Эпителиальный компонент состоял из округлых клеток с плеоморфными везикулярными ядрами. Ядрышки хорошо просматривались от одного до двух, в некоторых наблюдался анисонуклеоз. Цитоплазма имела переменные размеры, оксифильная, без включений (рисунок 36).

Стромальный компонент был хорошо развит, присутствовали фибробласты в состоянии пролиферации, без клеточной атипии. На периферии и вокруг опухолевых очагов отмечался воспалительный лимфоплазмочитарный инфильтрат. Фиксировались микроочаги некрозов в центральной части опухолевой ткани.

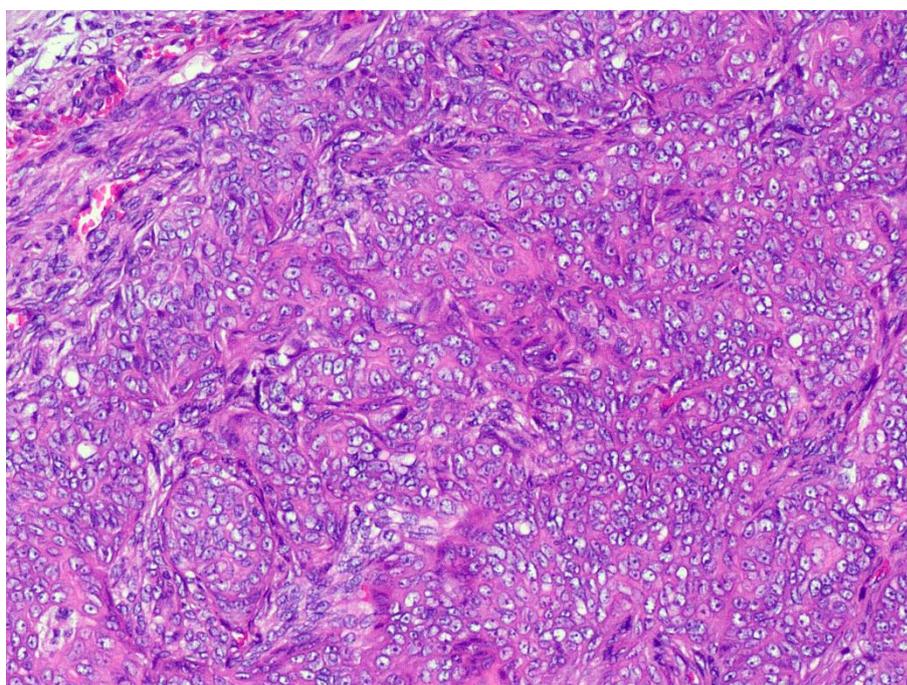


Рисунок 36 – Инвазивный рак неспецифического типа с медуллярными признаками (G3). Собака, порода йоркширский терьер, 7 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$.

Плоскоклеточный рак. Как известно, гистоархитектура при этом типе рака определяется как метаплазия эпителиальных клеток в плоскоклеточную дифференцировку.

На гистологических препаратах при умереннодифференцированном типе эпителиальные клетки формировали островки и тяжи, с четко ограниченной окружностью из миоэпителиальных клеток. При увеличении ($\times 600$) в данных структурах отмечалось образование гранул кератогиалина и обнаружение межклеточных мостиков. Эпителиальный компонент состоял из

плеоморфных структур с высоким анизоцитозом и анизокариозом, ядра неправильной округлой либо овальной формы, одно ядрышко, хроматин был расположен мелкозернистыми включениями. Цитоплазма обильная, оксифильная. В центре некоторых структур отмечалось формирование закрученных участков ороговевшего эпителия, называемого «раковыми жемчужинами» (рисунок 37).

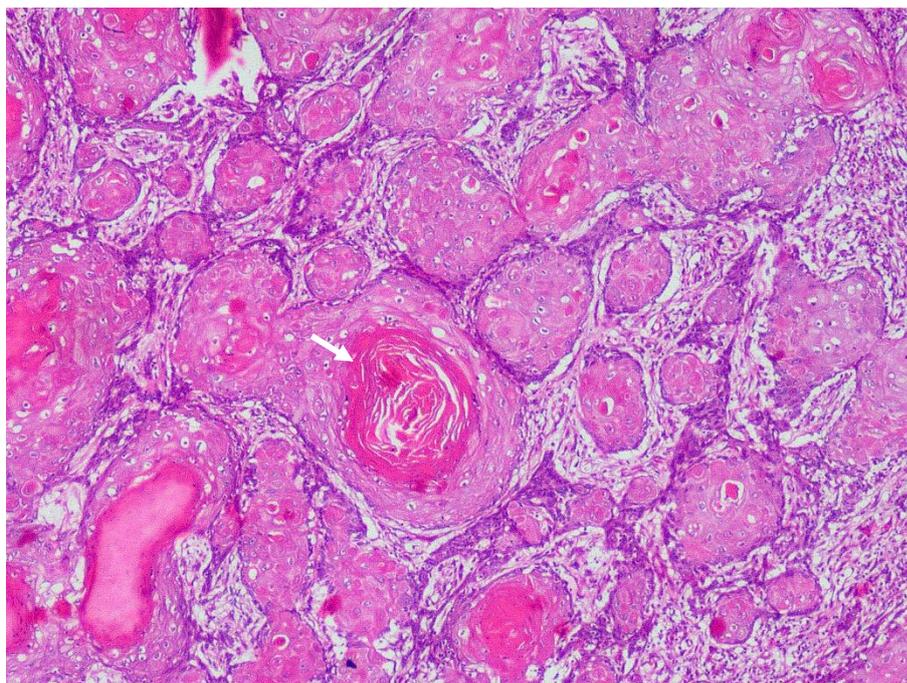


Рисунок 37 – Плоскоклеточный рак (G2). Раковая жемчужина (↑). Собака, порода русский той-терьер, 10 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×40.

Стромальный компонент был хорошо развит, отмечались фокусы склеротизированных коллагеновых волокон. Воспалительный инфильтрат был представлен тяжами лимфоцитов не только в строме, но и на периферии опухоли.

При низкодифференцированном типе характерно тотальное перерождение долей молочных желез, представляющее собой солидное строение клеток протокового эпителия. Данные образования формировали структуры в виде цепочек, кластеров и тяжей эпителия с метаплазией в плоскоклеточную дифференцировку. Отмечались единичные образования «раковых жемчужин». Эпителиальный компонент был представлен

плеоморфными формами с высоким анизоцитозом и анизокариозом, ядра округлой формы, расположены центрально. Визуализировались от одного до двух ядрышек, хроматин был представлен в виде рассыпчатых глыбок. Цитоплазма отмечалась от умеренной до широкой, оксифильной, с включениями гранул кератогиалина. Регистрировались фигуры митозов, также часто отмечались атипические кольцевые формы (рисунок 38).

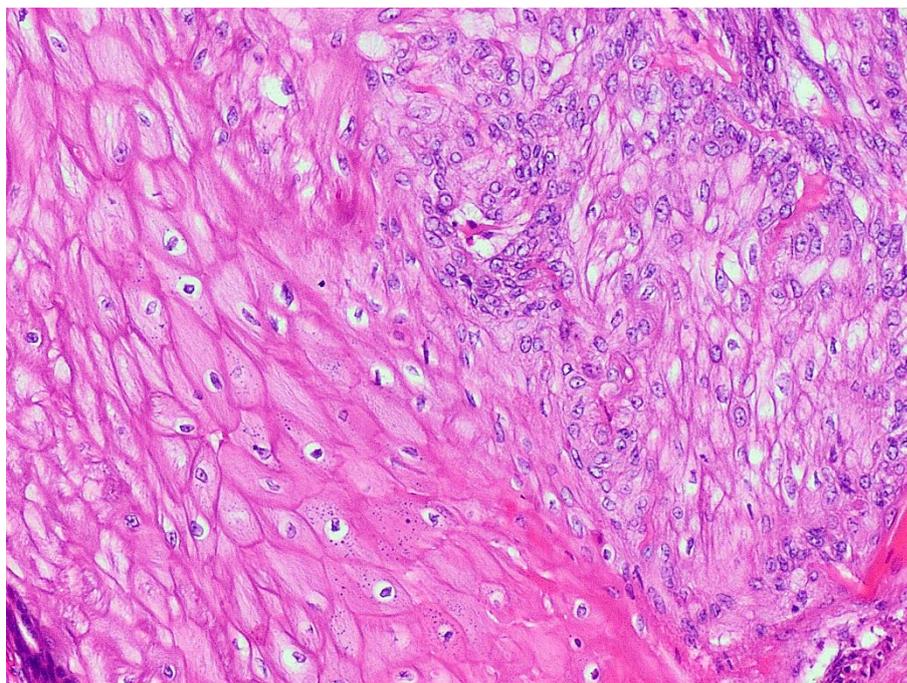


Рисунок 38 – Плоскоклеточный рак (G3). Метаплазия в плоскоклеточный тип. Кошка, метис, 10 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

Стромальный компонент умеренно был развит, присутствовали очаги склероза. Воспалительный инфильтрат был представлен плазмочитарно-макрофагальными клетками, внутри макрофагов отмечался предположительно пигмент цероид. В некоторых образцах регистрировался центральный некроз опухолевой ткани, состоящий из клеточного детрита, лимфоцитов и эритроцитов.

Смешанные опухоли. Самый распространённый вид новообразований молочных желез у собак занимали смешанные опухоли. Гистологический ландшафт данного типа был представлен тремя видами клеточных компонентов: эпителиальные, миоэпителиальные и мезенхимальные с хрящевой и костной метаплазией.

Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией. Эпителиальный компонент представлял собой вид расширенных протоков с сосочковой пролиферацией, либо трабекулярные цепочки, выстланные плеоморфным эпителием от одного до трех рядов. Ядра клеток округлые мономорфные, визуализировалось одно ядрышко в основном центрально расположенное, хроматин мелкозернистый. Цитоплазма скудная, без включений. Регистрировалось незначительное количество митозов.

Миоэпителиальный компонент в интерстициальной ткани располагался комплексно в виде переплетающихся пучков. Эти пучки начинали формировать гнезда, находящиеся в аморфном миксоидном веществе светло-базофильного оттенка. Клетки, находящиеся в стромальном компоненте, имели полигональную форму с округлено-овальным ядром, ядрышко одно расположено центрально, хроматин мелкозернистый. Характерной особенностью являлись множественные ответвления цитоплазмы, с помощью которых создавалось впечатление образования трехмерной модели (рисунок 39).

Некоторые из этих структур распространялись между эпителиальным и стромальным компонентами, образуя вторичные завихрения клеток, которые способны синтезировать миксоматозную матричную среду для формирования хрящевой ткани.

Рядом с эпителиальным компонентом миоэпителиальные клетки образовывали отдельные пучки, которые имели вид закрученной спирали с минимальным количеством аморфного вещества. Сами клетки имели веретенообразную форму, гиперхромное, вытянутое, уплощенное ядро. Цитоплазма скудная, без включений (рисунок 40).

Мезенхимальный компонент обнаруживался в тех участках, где было сформировано нодулярное строение миоэпителиальных клеток с большим количеством миксоидного вещества, здесь происходила трансформация в более высокодифференцированный тип – хрящевой матрикс.

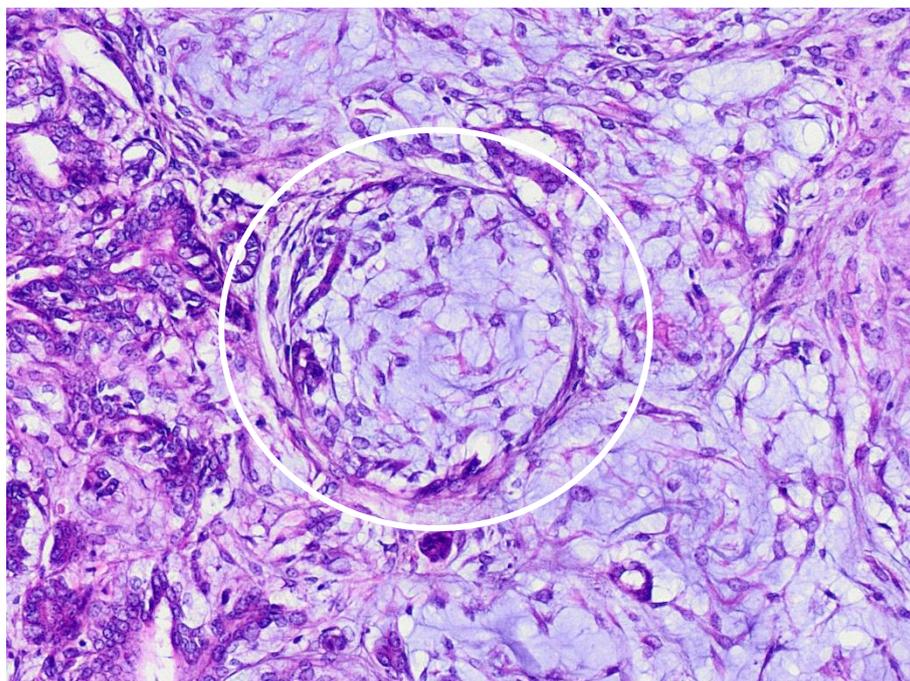


Рисунок 39 – Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией (G1). Звездчатые миоэпителиальные клетки в миксоидном веществе (○). Собака, беспородная, 4 года. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×100.

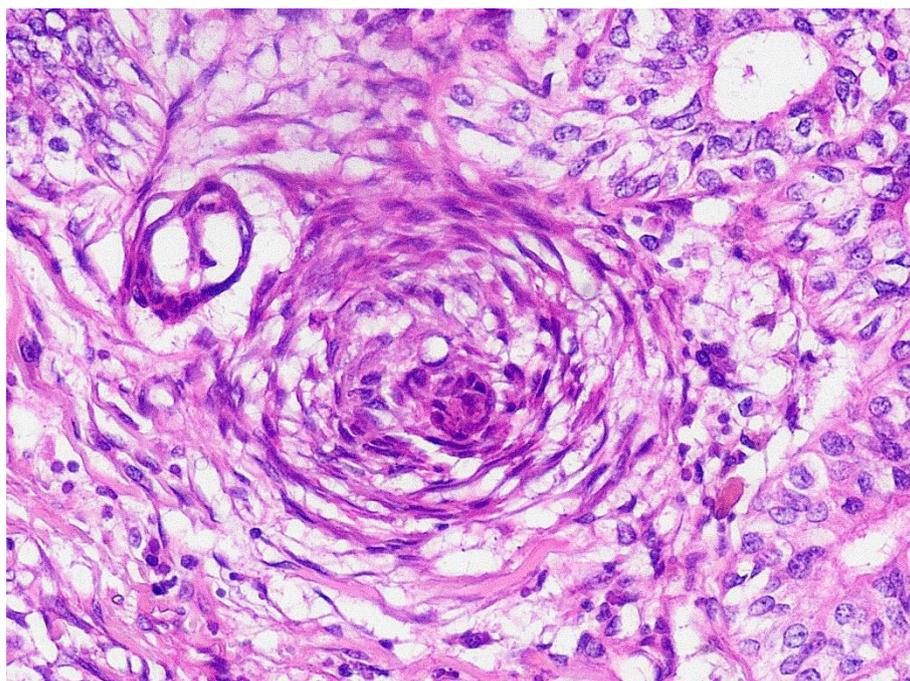


Рисунок 40 – Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией (G1). Веретеновидные миоэпителиальные клетки. Стадия формирования нодулярного строения. Собака, беспородная, 8 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×100.

Формирование хрящевого компонента происходила постепенно, это наблюдалось по отдельным участкам в опухолевой ткани. Одни участки формировали молодые хондроциты, которые располагались поодиночке в лакунах. В других участках уже были сформированы изогенные группы в

количестве от двух до четырех хондроцитов, локализованных в обильном матриксе, имеющим светло-базофильную окраску (рисунок 41). В-третьих, участках был представлен более зрелой степенью хрящевой основы, характеризующейся темно-базофильным оттенком, а также отмечался рост коллагеновых волокон в миксоидном веществе (рисунок 42).

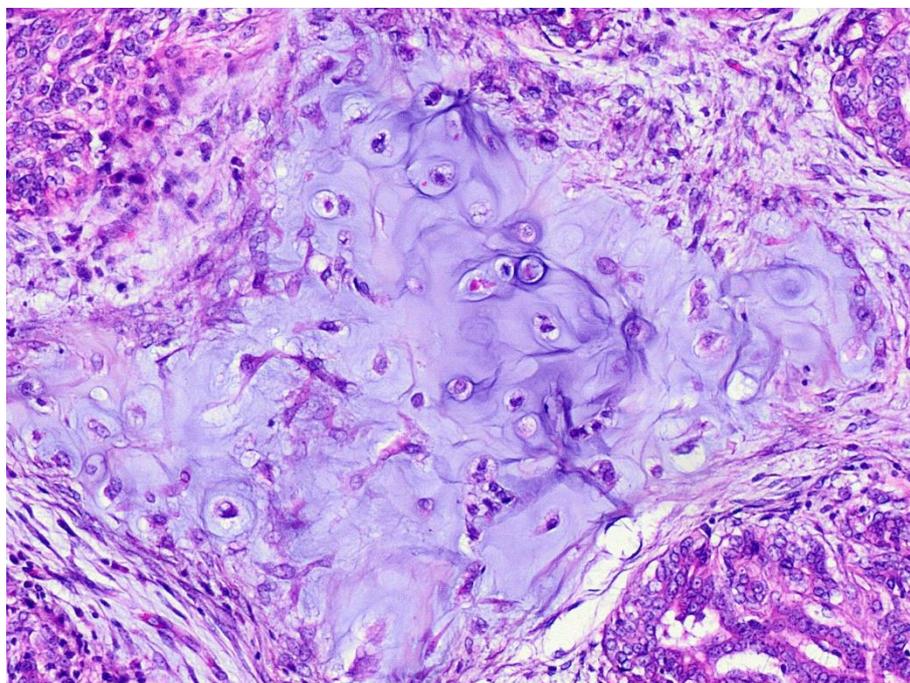


Рисунок 41 – Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией (G1). Стадия формирования хрящевого матрикса. Собака, порода далматинец, 10 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 100$.

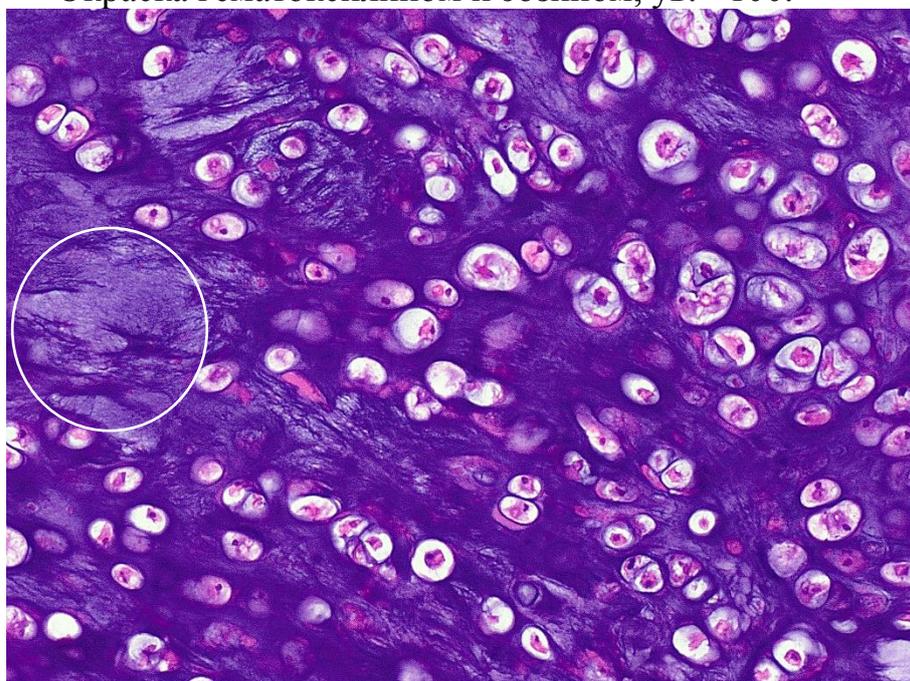


Рисунок 42 – Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией (G1). Изогенные формы хондроцитов. Рост коллагеновых волокон (\circ). Собака, порода бивер йоркширский терьер, 9 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$

Стромальный компонент опухолевой ткани был развит хорошо, капсула сформирована тремя – четырьмя слоями соединительнотканых волокон, инфильтрированных цепочками лимфоцитов и макрофагов с пигментом предположительно цероидом.

Смешанная опухоль с костной метаплазией. Данный тип опухоли был представлен крупными очагами плеоморфного эпителиального и мезенхимального компонентов. Происходили значительные перемены хрящевого матрикса в участки высокодифференцированной костной структуры. Эта перестройка происходила за счет процесса энхондрального окостенения, при котором совершалась вакуолизация хондроцитов и их ядра находились в состоянии пикноза. Наблюдалось появление остеокластов в состоянии фагоцитоза структур хряща, что привело его к резорбции. В костной перестройке участвовали также остеобласты с пролиферативной способностью, которые создавали на отдельных участках хряща костные трабекулы (рисунок 43).

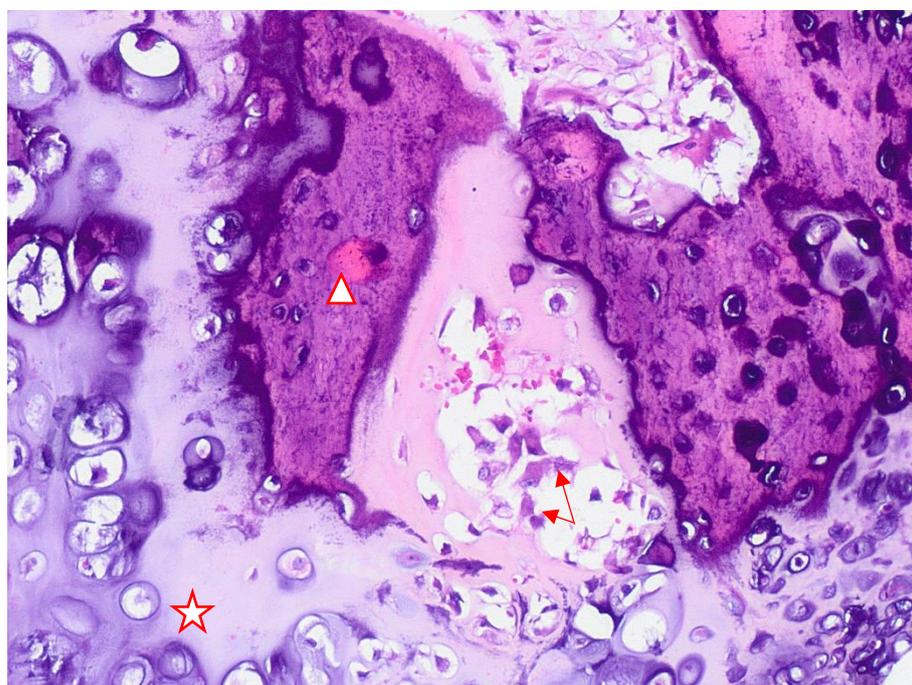


Рисунок 43 – Смешанная опухоль с костной метаплазией (G1). Хрящ (☆), костная структура (▲), остеобласты (↑). Собака, порода лабрадор ретривер, 12 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×200.

Вновь созданных трабекулах зрелой кости формировались тонкие прослойки светло-окислительного цвета ретикулофиброзной ткани, которые в

пространстве создавали матрикс для прикрепления образовавшихся клеток миелоидного ряда (рисунок 44).

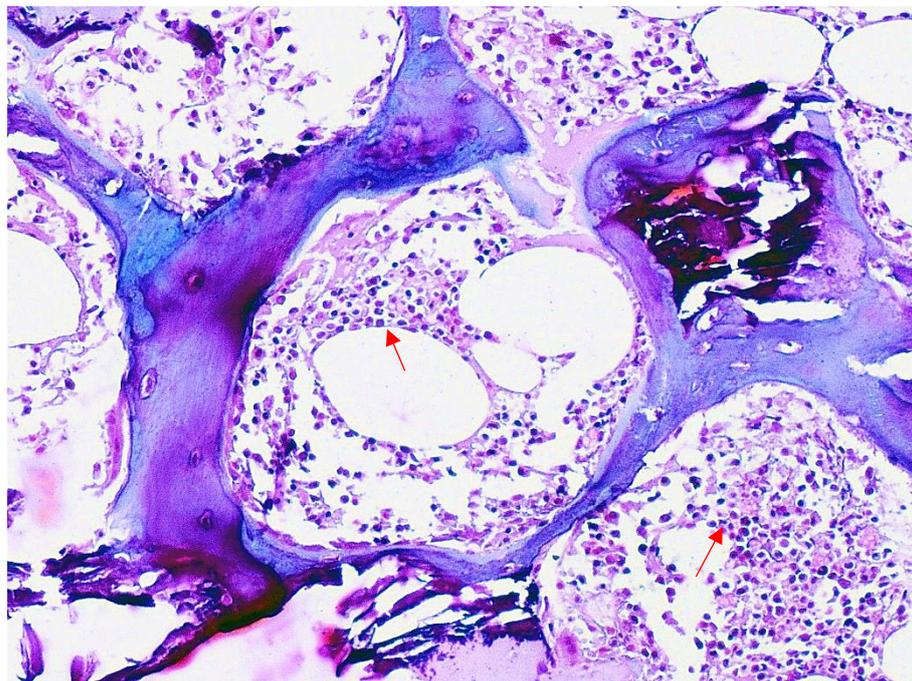


Рисунок 44 – Смешанная опухоль с костной метаплазией (G1). Клетки миелоидного ряда (↑). Собака, порода американский стаффордширский терьер, 10 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. ×100.

Недифференцированный рак. Опухолевая ткань у кошек не имела четко определённых структур, в ней формировались трабекулы, сосочки, с начинающей фиброваскулярной основой, отмечались единичные участки с трансформации эпителия в плоскоклеточную дифференцировку. Но большую часть площади опухоли занимали клетки солидного строения, диффузно расположенные в виде цепочек, инвазирующие в стромальный компонент. Эпителиальный компонент имел форму от низко-кубической до высоко-призматической, высокий анизокариоз и анизоцитоз, хроматин в ядре был расположен в виде рассыпчатых средних гранул, ядрышек насчитывается от одного до трех, они эксцентрично расположены. Цитоплазма слабо выражена, оксифильная, без включений. Присутствовали многочисленные фигуры митозов (рисунок 45).

Стромальный компонент был слабо выражен, в основном на периферии опухоли в виде параллельно расположенных коллагеновых волокон, среди

которых просматривались клетки фибробластического дифферона. В самой опухоли обнаруживались отдельные пучки коллагенового строения.

Из вторичных изменений в опухоли наблюдались очаги некроза, занимающие общую площадь 50% ($\times 40$). Визуализировались кровоизлияния с выходом в окружающую ткань эритроцитов, отмечались старые очаги кровоизлияний, с последующим выпадением гранул гемосидерина.

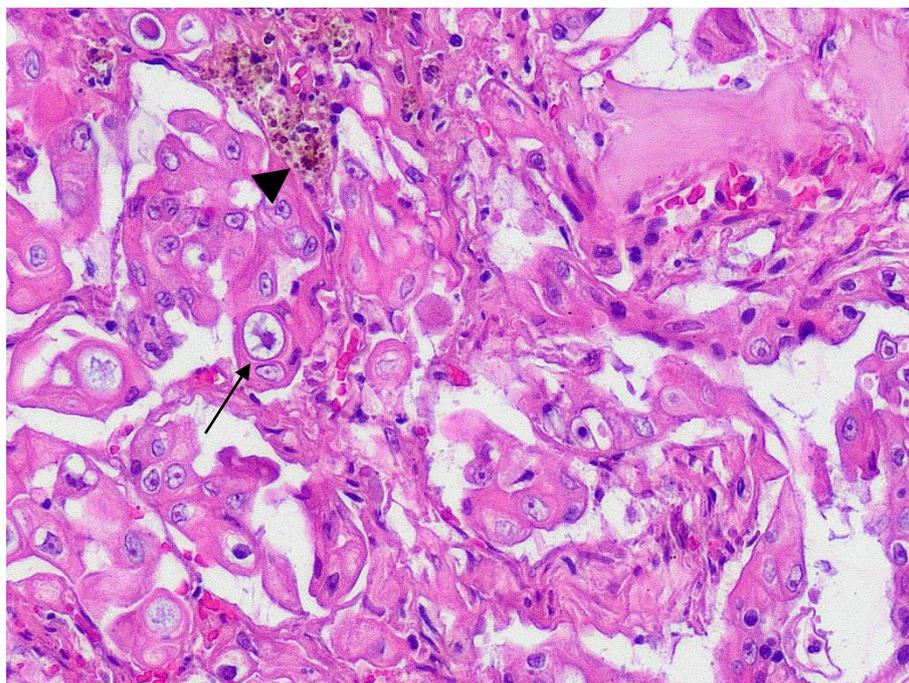


Рисунок 45 – Недифференцированный рак (G3). Плоскоклеточная дифференцировка, анизокариоз (\uparrow), гранулы гемосидерина (\blacktriangle). Кошка, беспородная, 16 лет. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$.

У собак эпителиальный компонент опухоли был представлен аналогичными структурами, как и у кошек. В участках с плоскоклеточной дифференцировкой отмечалось формирование гранул кератогиалина. В отличие от кошек состоит в том, что хорошо был развит стромальный компонент с выраженными коллагеновыми волокнами и большим количеством клеток фибробластического дифферона. Также в опухолевой ткани отмечались другие виды клеток как миоэпителиального, так и мезенхимального происхождения. Миоэпителий хорошо был развит и расположен на базальной мембране, имел вытянутую веретенообразную форму, овальное ядро и вытянутую цитоплазму. Мезенхимальный компонент был представлен формированием костной структуры, повсеместно

визуализировались многоядерные клетки с широкой оксифильной цитоплазмой – остеокласты (рисунок 46).

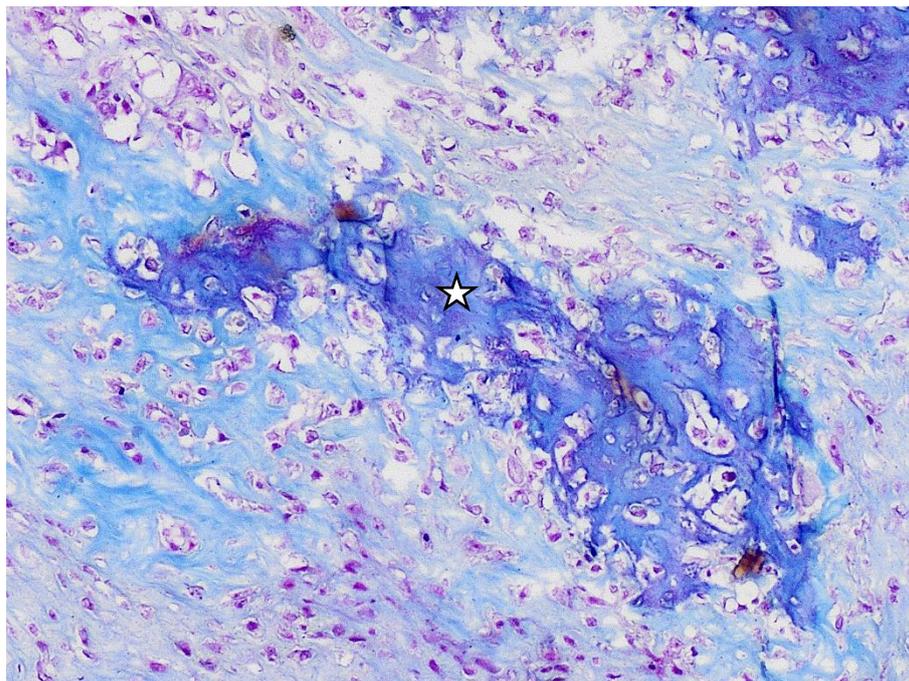


Рисунок 46 – Недифференцированный рак (G3). Костная метаплазия (☆). Собака, беспородная, 7 лет. Окраска по Маллори, ув. ×100.

Таким образом, проанализировав опухолевую картину молочных желез у собак и кошек по степеням дифференцировки и злокачественности, были определены следующие характерные признаки.

У собак преобладали в большинстве случаев карциномы «in situ», с высокой степенью дифференцировки, по сравнению с кошками, у которых отмечалась высокая степень злокачественности, с преобладанием комедо-некрозов.

Для тех и других животных морфологическая картина аденокарцином состояла из плеоморфного многослойного эпителия, но у кошек присутствовала метаплазия эпителиального компонента в плоскоклеточный тип, а у собак в интерстициальной ткани хорошо развивались миоэпителиальные клетки, формирующие спиралевидные структуры.

Тубулярные аденокарциномы и карциномы у кошек имели превалирующий метастатический потенциал над остальными опухолями, чаще всего регистрировались макрометастазы, занимающие почти все

пространство лимфатического узла. В низкодифференцированных типах наблюдался инвазивный характер эпителиальных клеток с разрушением базальной основы, что доказывает проявление процесса ЕМТ. Однако, у собак в тубулярных и папиллярных карциномах образовывались скопления миоэпителиальных клеток под эпителиальной выстилкой, продуцирующих миксоматозное вещество, чем характеризовалось супрессивным свойством по отношению к опухолевым клеткам. Также эпителиальные клетки начинали сформировывать криброзные структуры, в просвете которых отмечалось слизеподобное вещество, что, на наш взгляд, является остатками клеточного материала от опухолевого компонента.

Медуллярная карцинома морфологически имела черты агрессивной опухоли у кошек с высокой прогрессией к метастазированию и полностью замещением тканей лимфатического узла макрометастазом. У собак обнаружили редкий тип данной опухоли с перстневидноклеточной дифференцировкой. Характерной особенностью для нее являлись плеоморфные клетки с обширной цитоплазмой, заполненной прозрачной каплей, за счет которой ядро сдвинуто на периферию, что создавало иллюзию кольца.

Анапластическая карцинома у животных являлась высоко агрессивной опухолью, клетки которой кардинально отличались от рядом расположенных клеток с активной воспалительной инфильтрацией всех компонентов. Также характерной особенностью являлась окклюзия опухолевыми клетками лимфатических сосудов, расположенных в субэпидермальном пространстве.

Карцинома смешанного типа часто присутствовала в опухолях у собак, однако нами была обнаружена одна опухоль с таким же гистологическим типом у кошки. Для них характерно было наличие видоизменённого эпителиального компонента, а также присутствие интерстициальных миоэпителиальных клеток, создавая в аморфном матриксе вид переплетающихся структур. С дальнейшей их прозопластической метаплазией в зрелый гиалиновый хрящевой матрикс.

Инвазивные раки по своим критериям делились на специфические типы и неспецифические. Все клетки варибельны по формам и размерам, главная их особенность в инвазивности здоровых тканей молочных желез. Также, к неспецифическому типу относили рак с апокриновой дифференцировкой, характерной особенностью которого являлось высоко-плеоморфные клетки с обширной цитоплазмой, обладающей зернистыми оксифильными включениями. И отдельный тип относили с медуллярными признаками, когда в инвазивном компоненте опухолевой ткани присутствовали отличительные клетки медуллярного типа.

Плоскоклеточная карцинома обуславливалась метаплазией эпителия в плоскоклеточный вид. Клетки имели широкую оксифильную цитоплазму с включениями гранул кератогиалина. Соединялись между собой при помощи межклеточных контактов, и формируя ороговевающие структуры в центре, придавая им вид «раковых жемчужин».

Смешанные опухоли преимущественно развивались в молочных железах у собак. Эпителиальный компонент состоял из плеоморфных структур без озлокачествления, под ними лежали миоэпителиальные клетки в стадии формирования спиральных образований в миксоидном веществе. Эти образования служили зачатком для формирования хондроцитов, с последующей дифференцировкой в гиалиновый матрикс. После чего, по нашему мнению, происходило энхондральное окостенение, в процессе которого начиналось создание костных трабекул с зарождающимися внутри клетками красного костного мозга.

Последний тип был представлен недифференцированными высокой степени злокачественности опухолями. В данных структурах могли обнаруживаться клетки от двух до четырех генераций с разной степени дифференцировки. По нашим данным, выявлено, что у кошек преобладал эпителиальный компонент с метаплазией в плоскоклеточный тип, у собак наоборот больше выражен был мезенхимальный компонент с образованием костной ткани.

Результаты исследований опухолей молочных желез у плотоядных выявили образование десмопластической реакции и наличие признаков EMT с метастатическим потенциалом, а также демонстрировали то, что в тубулярных карциномах происходила миграция опухолевых клеток с помощью группового метода. Все это согласуется с данными L. Ronnov-Jessen et al. (1996), K. A. Damasceno et al. (2014), R. Kalluri, (2009), J. Thierry et al. (2011), С. Э. Русакова и соавт. (2018), А. В. Гапоновой и соавт. (2020), Y. Zhang et al. (2018), E. W. Thompson et al. (2005), M. A. Esteban et al. (2012), J. H. Tsai et al. (2013), A.V. Lambert et al. (2017), В. В. Кузнецовой и соавт. (2018).

2.2.3. ЭКСПРЕССИЯ НУКЛЕОЛЯРНЫХ БЕЛКОВ И ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ФИЛАМЕНТОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО И ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ТИПОВ В КЛЕТКАХ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ У КОШЕК

В результате исследований многофункциональных белков областей ядрышковых организаторов было установлено, что экспрессия маркера NCL наблюдалась в клетках эпителия аденокарциномы молочной железы у кошек. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Тип локализации отмечался в ядерной зоне в виде грубозернистого темно-коричневого окрашивания по всему компартменту. В некоторых клетках визуализировалась ядрышковая локализация по количеству самих структур в ядре от одного до двух фрагментов округлой формы плотного темно-коричневого оттенка. Иммунопозитивный материал также отмечался в клетках фибробластического дифферона стромального компонента ядерного типа (рисунок 47).

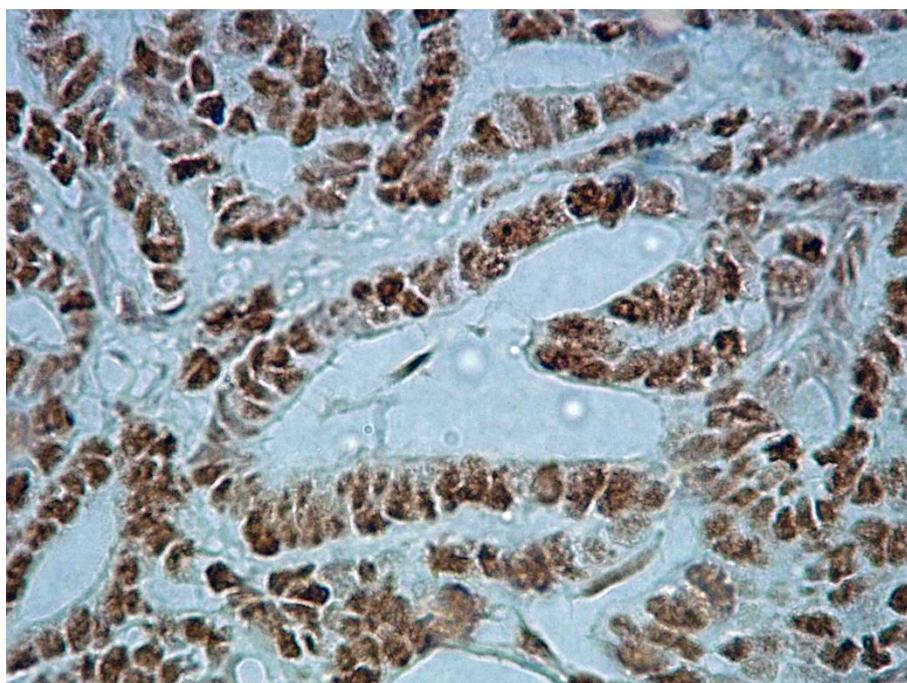


Рисунок 47 – NCL⁺ маркер в эпителиоцитах. Аденокарцинома (G2). Кошка, порода британская короткошерстная, 10 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Экспрессия маркера NCL в тубулярных аденокарциномах наблюдалась в эпителии опухолевой ткани. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Тип

локализации отмечался в ядерной зоне, имел вид пылевидных зернистых наложений, равномерно распределённых по кариоплазме, либо плотное наложение конгломерата интенсивного темно-коричневого цвета. Из-за такой высокой плотности структур сложно визуализировались ядрышки в клетках (рисунок 48).

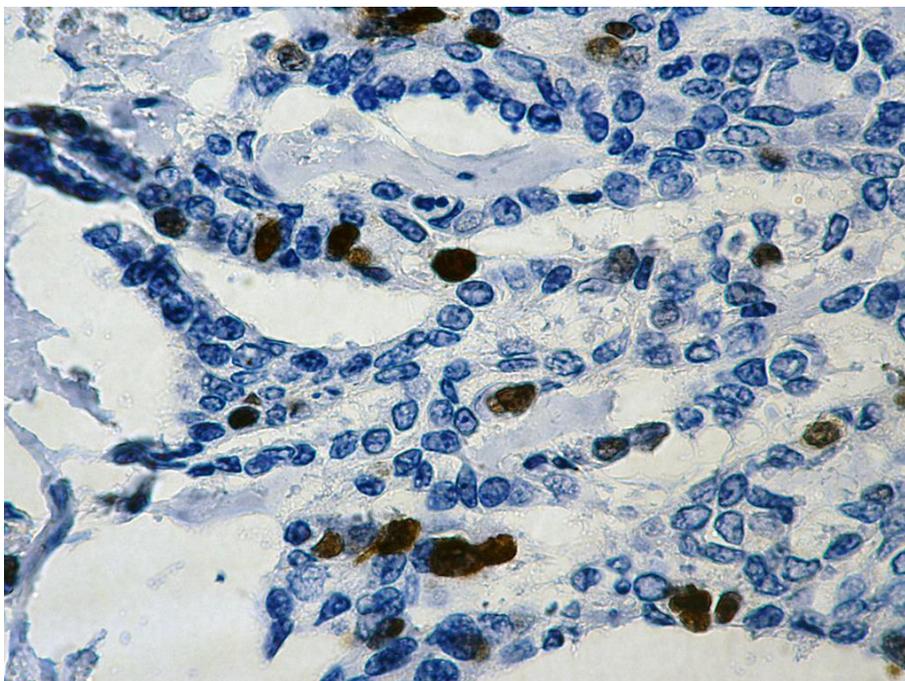


Рисунок 48 – NCL⁺ маркер в эпителиоцитах. Тубулярная аденокарцинома (G2). Кошка, беспородная, 7 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NCL в тубулярных карциномах наблюдалась в эпителиальном компоненте молочной железы, представляющий собой неправильное формирование трабекул. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Ядрышковый тип маркера локализовался по всему ядерному компартменту в виде четких округлых структур. Паттерн имел цвет от светло-коричневого до темного, расположенного в ядре от одиночных крупных фрагментов до трех мелких, в основном эксцентрично.

В ядерной зоне паттерн располагался равномерно в кариоплазме в виде светло-коричневых зерен, с четкой визуализацией ядрышек. Во многих клетках фиксировалось выпадение плотных гранул возле кариолемы. Некоторые клетки имели настолько выраженную экспрессию маркера,

способствующую окрашиванию структуры ядра в виде плотного выпадения гранул темно-коричневого цвета, что было трудно определить четкую визуализацию ядрышек.

Цитоплазматическая локализация маркера была в основном околоядерного пространства, ограниченная область имела окрашивание в виде мелкозернистых структур светло-коричневого цвета (рисунок 49).

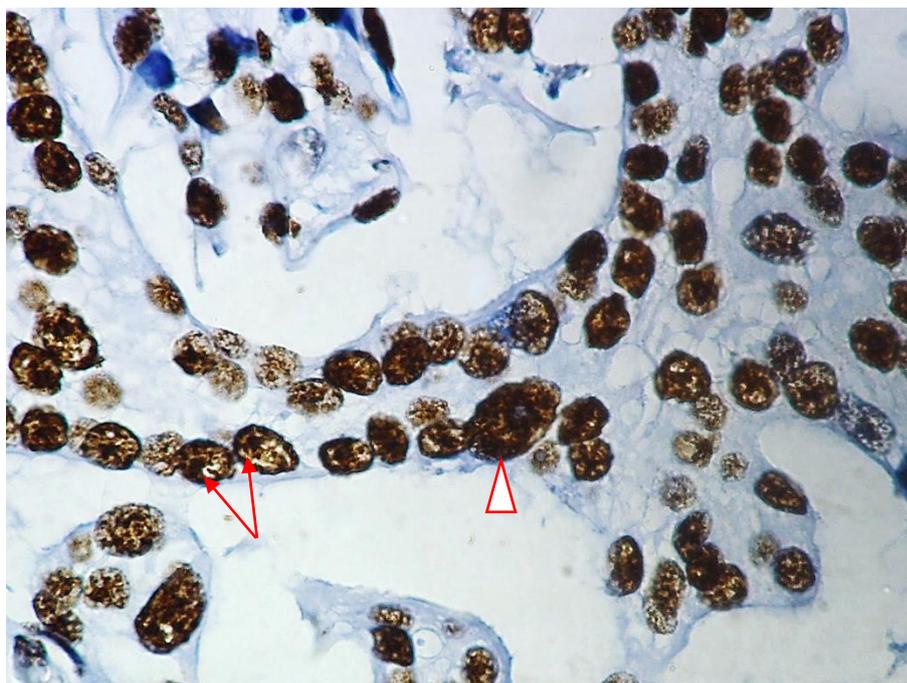


Рисунок 49 – NCL⁺ маркер в ядрышках (↑), ядрах стрелки (▲). Тубулярная карцинома (G2). Кошка, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NCL в папиллярных карциномах отмечалась в эпителиальной выстилке молочной железы, представляющая собой переменные папиллярные структуры. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Тип локализации биомаркера имел высокую ядерную экспрессию, локализуя конгломератом по кариоплазме, в виде темно-коричневого цвета. Ядрышки визуализировались плохо.

Цитоплазматическая локализация маркера отмечалась в виде неравномерно распределённых коричневых зерен по всей ее площади (рисунок 50).

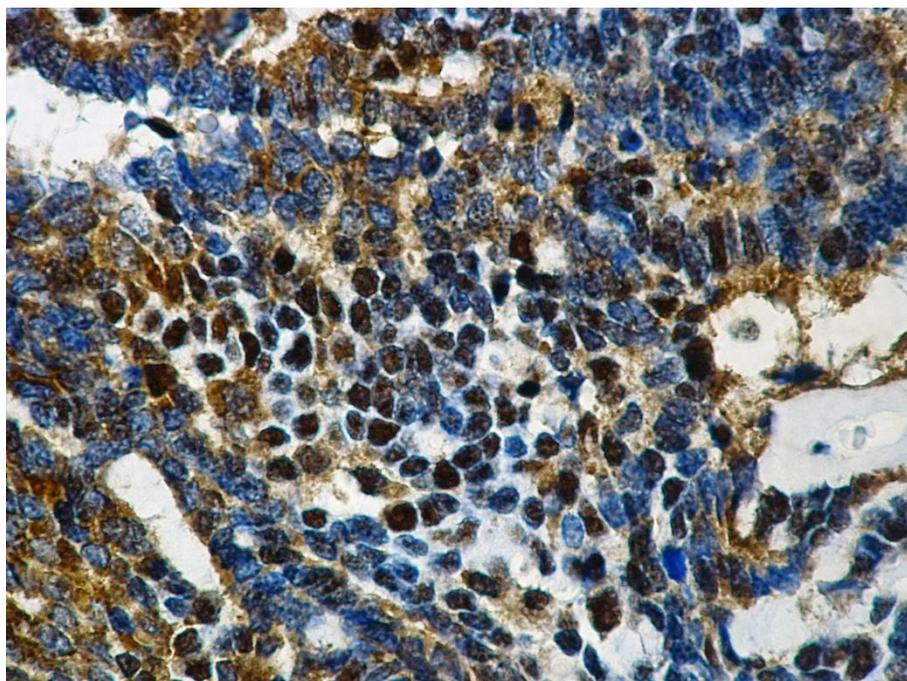


Рисунок 50 – NCL⁺ маркер в эпителиоцитах. Папиллярная карцинома (G2). Кошка, метис, 12 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NCL в инвазивном раке неспецифического типа отмечалась в плеоморфной эпителиальной выстилке молочной железы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Тип экспрессии паттерна имел три локализации. Ядрышковая характеризовалась плотным коричневым окрашиванием компартмента с четкими контурами. В клетке наблюдались два маленьких ядрышка либо одно крупное, что определяло степень выраженного анизонуклеоза.

Ядерный тип экспрессии отмечался в виде рассыпчатых коричневых зерен по всей кариоплазме, либо выпадением крупных гранул с плотным окрашиванием, что ослабляло визуализацию границ ядрышек.

Цитоплазматическая локализация маркера отмечалась в виде равномерно распределённых комплексных светло-коричневых зерен в основном возле околядерного пространства (рисунок 51).

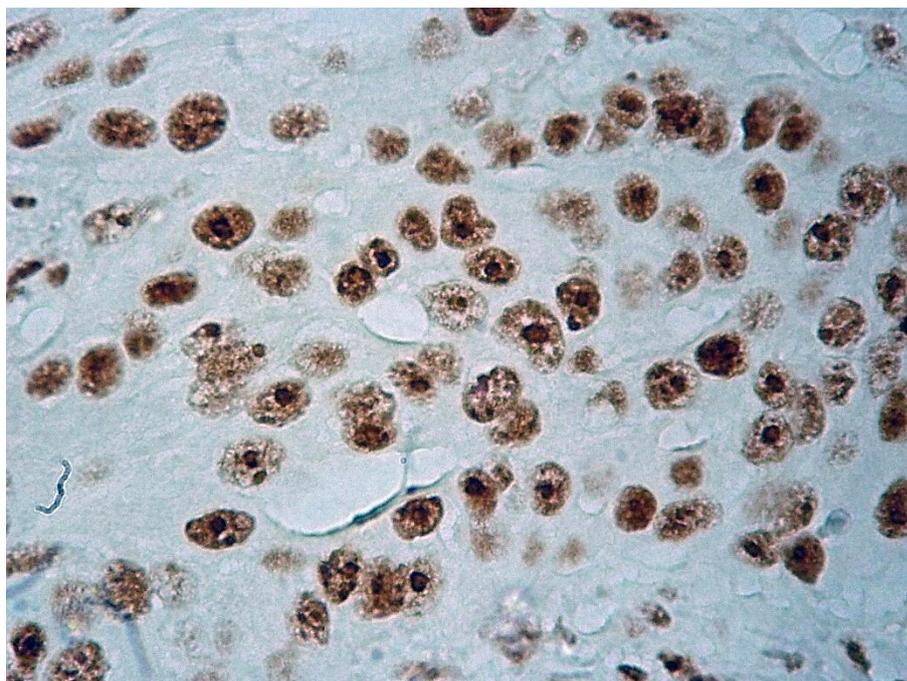


Рисунок 51 – NCL⁺ маркер в эпителиоцитах. Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Кошка, порода британская короткошерстная, 12 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NCL в медуллярном раке отмечалась как в эпителиальном, так и клетках фибробластического дифферона стромального компонента. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Тип экспрессии паттерна имел три локализации. Ядерный тип экспрессии наблюдался в виде светло-коричневых гранул, заполняющих равномерно весь компонент, либо в виде выпадения плотного глыбчато-комковатого окрашивания паттерна без четкой визуализации ядрышек. Отмечались клетки с мелкозернистыми включениями маркера хаотично уложенных в ядре. Ядрышковый тип характеризовался выпадением паттерна темно-коричневого цвета, представляющего собой саму структуру компартмента. Цитоплазматический тип маркера отмечался в виде комплексно распределённых светло-коричневых зерен возле оклядерного пространства (рисунок 52).

Экспрессия маркера NCL в плоскоклеточном раке отмечалась в трех локализациях. Ядрышковый тип характеризовался окрашиванием в виде чётких округлых структур плотного темно-коричневого цвета. Ядерный тип отмечался громоздким расположением гранул черно-коричневого цвета в кариоплазме, с трудной визуализацией ядрышкового компартмента.

Цитоплазматический тип визуализировался от мелкозернистых включений до темно-коричневого цвета гранул, расположенных по всей площади клетки (рисунок 53).

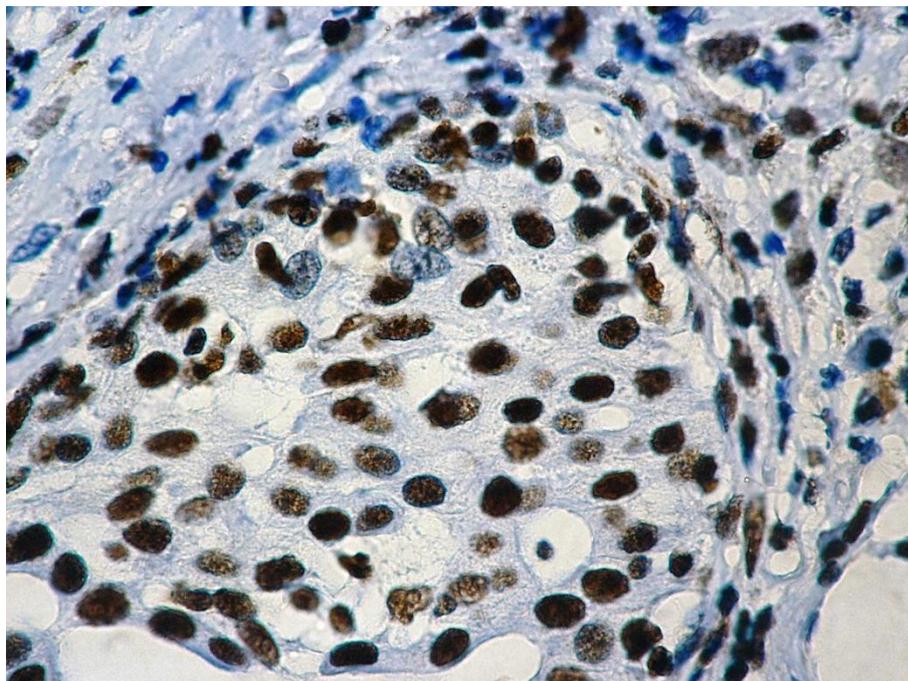


Рисунок 52 – NCL⁺ маркера в эпителиоцитах. Медуллярный рак (G3). Кошка, порода персидская, 11 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

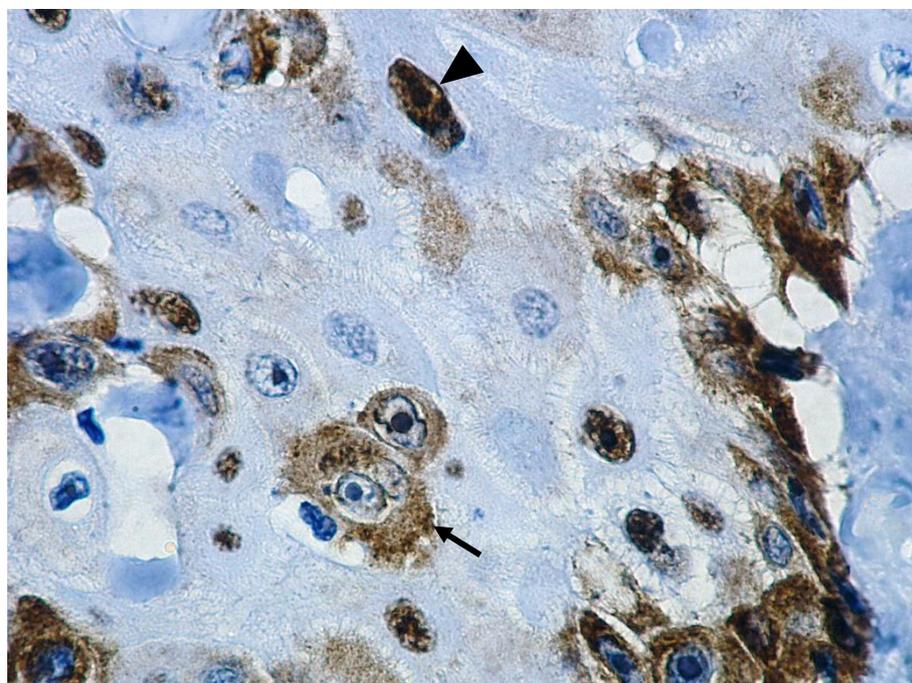


Рисунок 53 – NCL⁺ маркер в цитоплазме (↑), в ядре (▲) клетках плоского эпителия. Плоскоклеточная карцинома (G3). Кошка, порода сиамская, 10 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

При исследовании паттерна экспрессии NPM1 было установлено, что маркер наблюдался тотально в железистой паренхиме тканей аденокарциномы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Тип локализации отмечался в ядрышковой зоне, материал проявлял интенсивное плотное, гомогенное окрашивание темно-коричневого цвета, описывая форму самого компартмента. В клетках регистрировался анизонуклеоз, от одиночного фрагмента крупной формы, либо структуры до двух крупных ядрышек и одного маленького (рисунок 54).

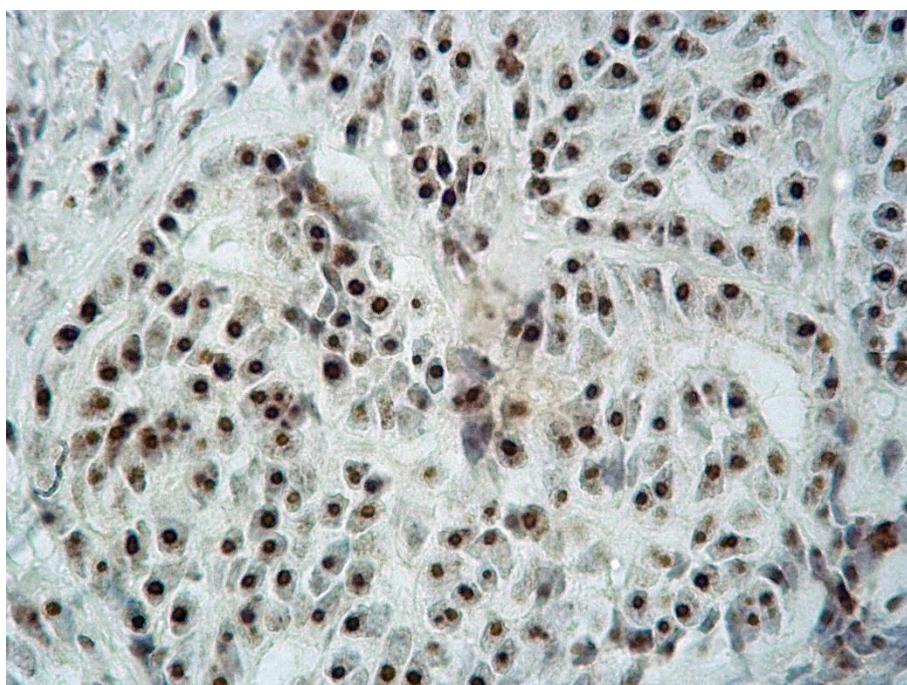


Рисунок 54 – NPM1⁺ маркер в эпителиоцитах. Аденокарцинома (G3). Кошка, метис, 13 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Экспрессия маркера NPM1 наблюдалась в эпителиальном компоненте тубулярной аденокарциномы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). При ядрышковом типе паттерн проявлял собой интенсивное окрашивание темно-коричневого цвета чётких округлых компартментов. В клетках был выражен анизонуклеоз, что характеризуется присутствием одного большого ядрышка, либо двух маленьких (рисунок 55).

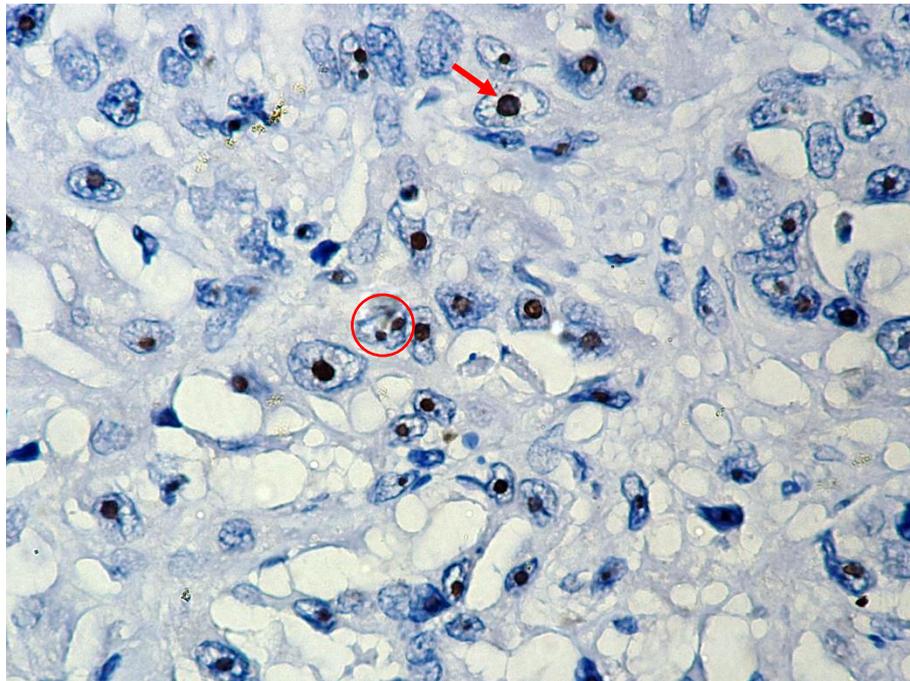


Рисунок 55 – NPM1⁺ маркер анизонуклеоз (↑;○) в клетках эпителия. Тубулярная аденокарцинома (G2). Кошка, порода сиамская, 12 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NPM1 наблюдалась в эпителиальном компоненте тубулярной карциномы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Тип локализации ядрышковая, паттерн проявлял интенсивное окрашивание темно-коричневого цвета округлых компартментов. В клетках отмечались от одного большого ядрышка до трех маленьких (рисунок 56).

Экспрессия маркера NPM1 отмечалась в эпителиоцитах молочной железы при папиллярной карциноме. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Паттерн экспрессии локализовался в ядрышке интенсивным окрашиванием его нуклеоплазмы темно-коричневого цвета. В клетках регистрировался анизонуклеоз, от одиночного фрагмента большого размера, до двух – трех структур, имея по отношению друг к другу отличительные размеры (рисунок 57).

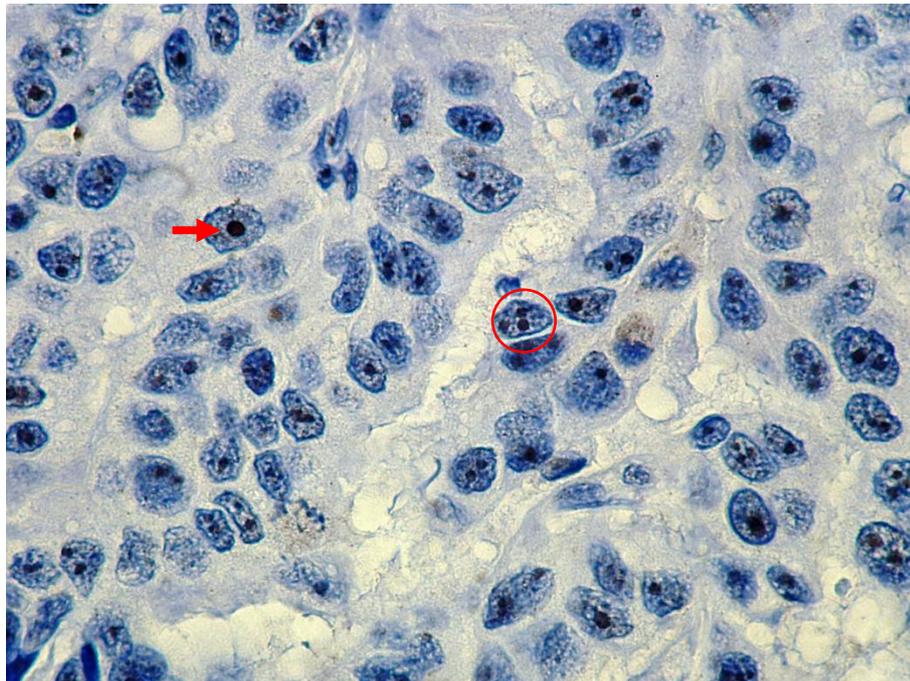


Рисунок 56 – NPM1⁺ маркер в эпителии. Анизонуклеоз (↑; ○). Тубулярная карцинома (G2). Кошка, метис, 12 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

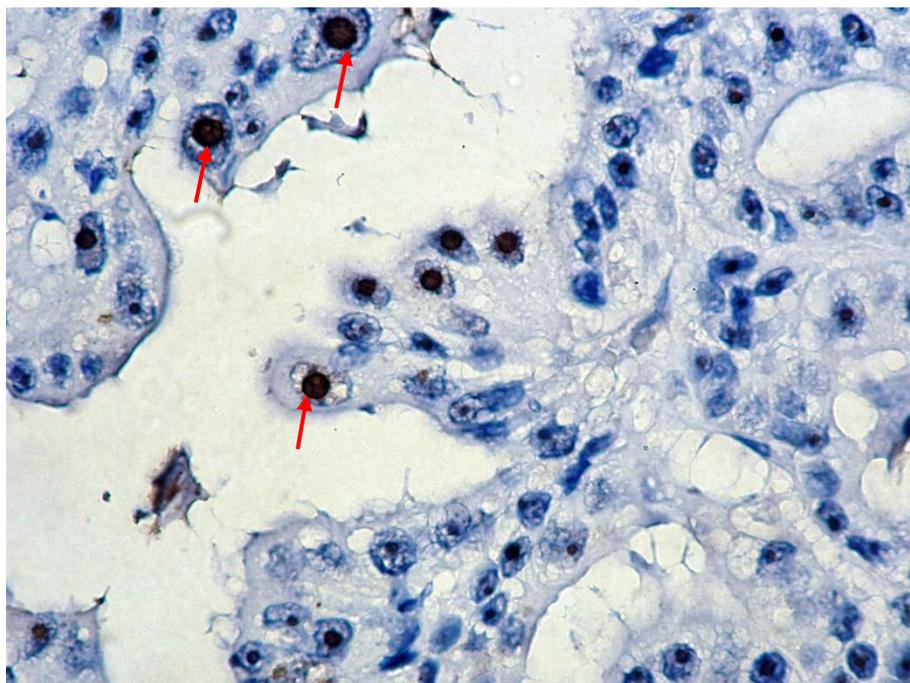


Рисунок 57 – NPM1⁺ маркер в эпителиальных клетках. Анизонуклеоз (↑). Папиллярная карцинома (G3). Кошка, метис, 11 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NPM1 отмечалась тотально в эпителиоцитах молочной железы при инвазивном раке неспецифического типа. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Локализация паттерна

наблюдалась в ядрышковой структуре плотным окрашиванием темно-коричневого цвета. В клетках регистрировались микро- и макроядрышки, а также в виде спутника, либо отмечались слияния ядрышковых структур, с формированием неправильных округло-угловатых форм (рисунок 58).

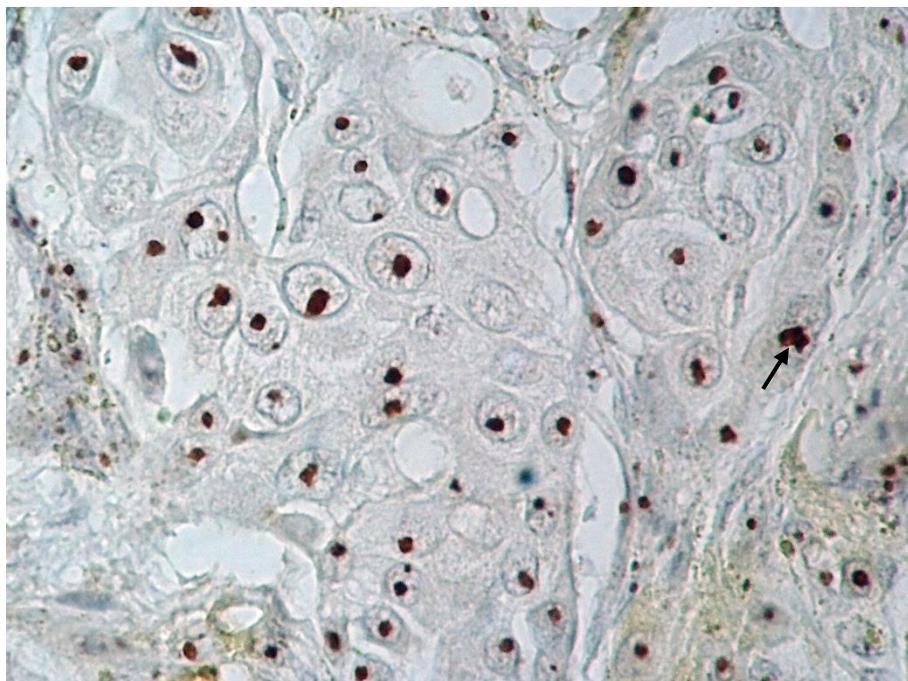


Рисунок 58 – NPM1⁺ маркер в ядрышках клеток эпителия. Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Кошка, порода британская короткошерстная, 12 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NPM1 регистрировалась в эпителиоцитах медуллярного рака. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Локализация паттерна наблюдалась в ядрышковом компартменте с плотным окрашиванием нуклеоплазмы в темно-коричневый цвет. Ярко был выражен анизонуклеоз, от микроядрышек до неправильной округлой либо вытянутой формы гигантских ядрышек (рисунок 59).

Экспрессия маркера NPM1 в плоскоклеточном раке отмечалась в эпителиальном компоненте. Первая локализация регистрировалась в ядрышковом компоненте в виде плотного темно-коричневого окрашивания нуклеоплазмы. Ядрышки имели переменные формы и размеры, начиная от одного макроядрышка до трех неправильной вытянутой формы. Цитоплазматический тип характеризовался грубозернистым фрагментами

темно-коричневого цвета, разбросанных по всей площади ее структуры (рисунок 60).

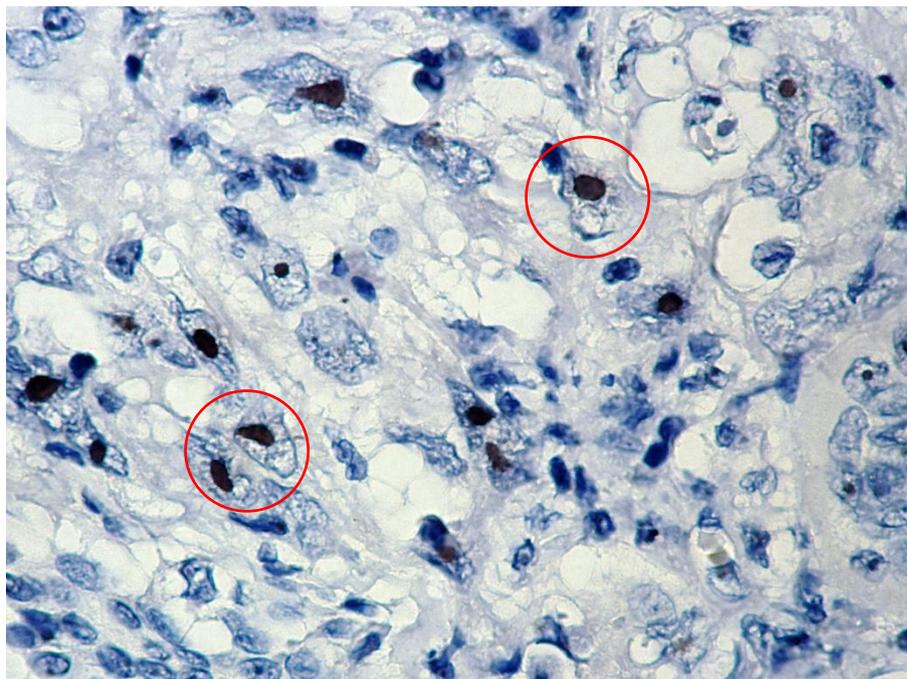


Рисунок 59 – NPM1⁺ маркер в ядрышках (○). Медуллярный рак (G3). Кошка, порода скоттиш-фолд, 11 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

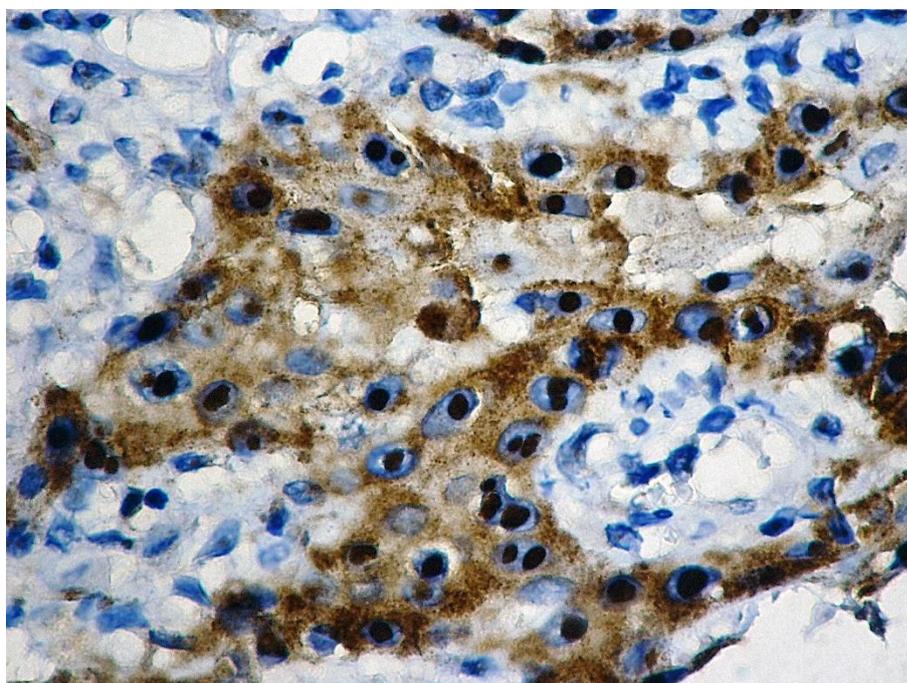


Рисунок 60 – NPM1⁺ маркер в цитоплазме и в ядрышках. Плоскоклеточная карцинома (G3). Кошка, порода сиамская, 10 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

При исследовании паттерна экспрессии FBL было установлено, что экспрессия маркера наблюдалась в эпителиальной выстилке аденокарцином.

Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Локализация материала была ядерной в виде глыбок темно-коричневого цвета, собранных комплексно, или хаотично в виде распылённых зерен светло-коричневого оттенка, занимающих всю кариоплазму. А также паттерн регистрировался в цитоплазме, имея вид мелкозернистых субстанций песчаного цвета, распыленных по все ее площади (рисунок 61). В стромальном компоненте молочной железы также отмечалась экспрессия в клетках фибропластического дифферона.

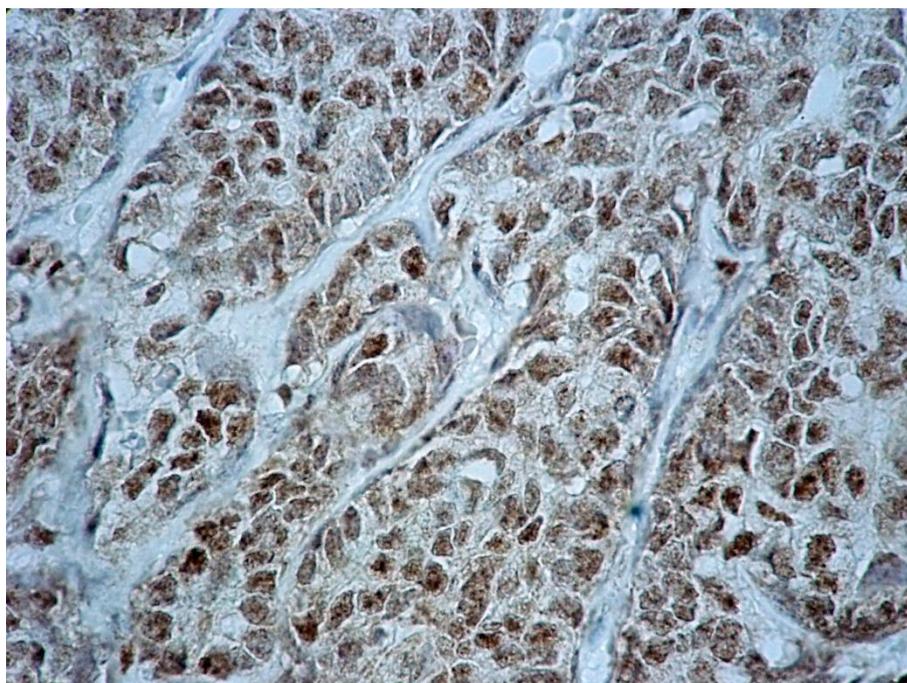


Рисунок 61 – FBL⁺ маркер в эпителиоцитах. Аденокарцинома (G2). Кошка, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Паттерн экспрессии FBL в тубулярных аденокарциномах регистрировался в эпителиальном компоненте. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал локализовался в ядерной зоне, образуя темно-коричневые гранулы, расположенные местами хаотично по кариоплазме. Структуры ядрышек были плохо различимы из-за выпавшего материала. В отдельных клетках наблюдалось скопление мелких зерен светло-коричневого цвета вблизи структуры ядра (рисунок 62).

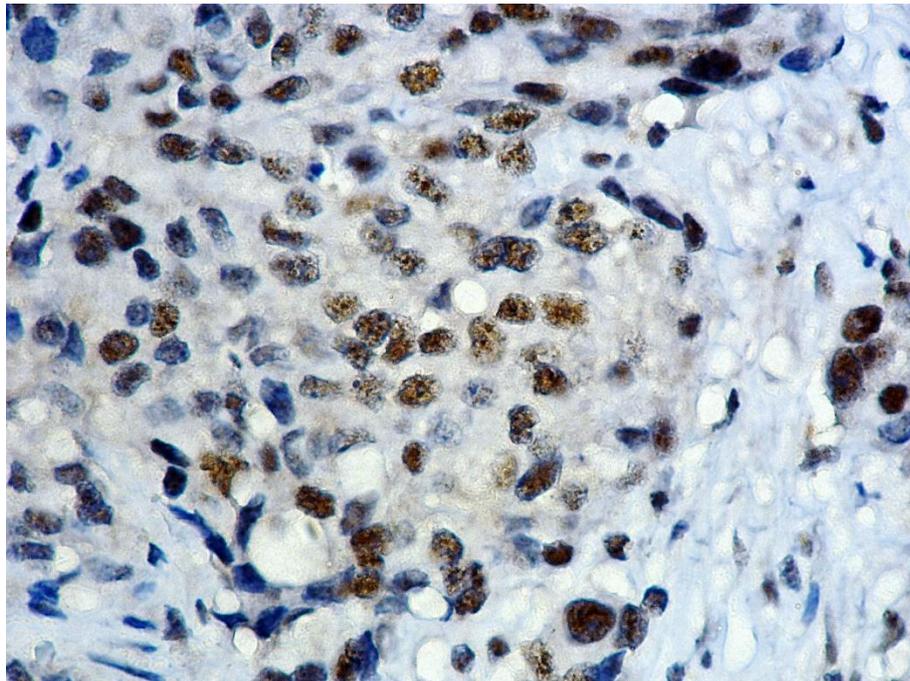


Рисунок 62 – FBL⁺ маркер. Тубулярная аденокарцинома (G2). Кошка, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на FBL. Ув. ×600.

Экспрессия маркера FBL в тубулярных карциномах фиксировалась в эпителиальном компоненте. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал выпадал в ядерной области в виде темно-коричневого плотного конгломерата, без визуализации строений ядрышек. В некоторых клетках просматривались очертания ядрышка синего оттенка. Другой тип паттерна имел вид рассыпчатых темно-коричневых зерен. Также, локализация отмечается в цитоплазматической области в виде рассыпанных мелкозернистых структур светло-коричневого цвета (рисунок 63).

Паттерн экспрессии FBL в папиллярных карциномах регистрировался в эпителиальном компоненте. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал в большей степени локализовался в цитоплазматической зоне, окружая структуры ядра. Паттерн был представлен в виде мелкозернистых гранул, расположенных равномерно по всей площади клетки (рисунок 64).

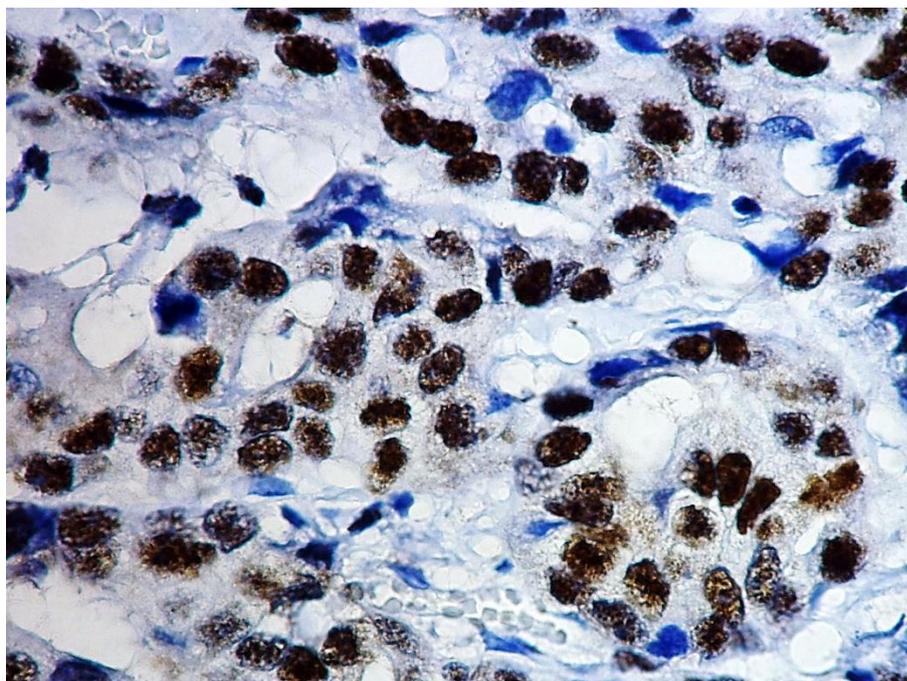


Рисунок 63 – FBL⁺ маркер в эпителиоцитах. Тубулярная карцинома (G3). Кошка, порода бенгальская, 12 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

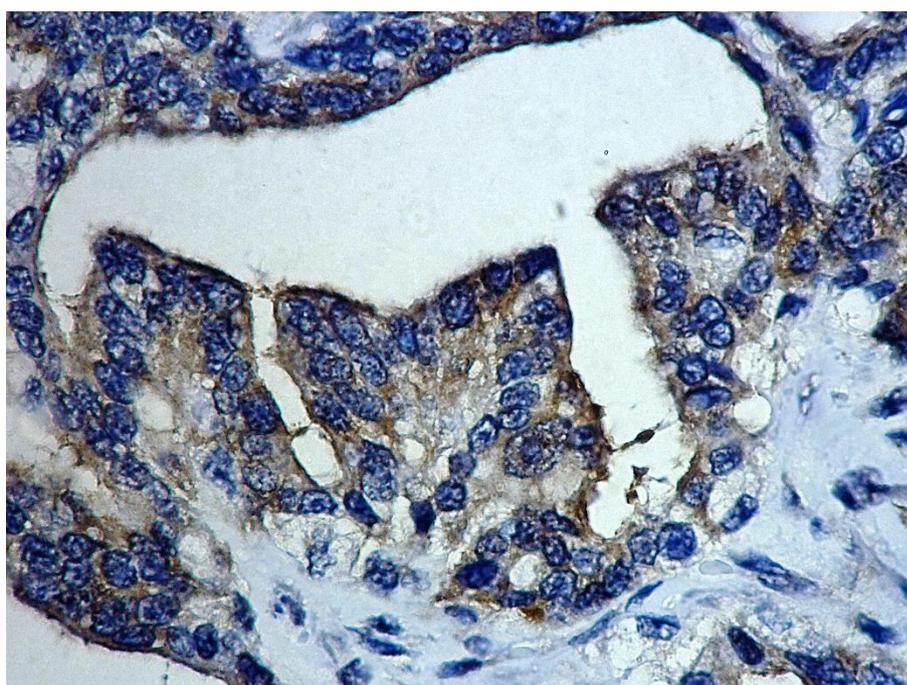


Рисунок 64 – FBL⁺ маркер в эпителиоцитах. Папиллярная карцинома (G3). Кошка, метис, 11 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера FBL регистрировалась в эпителиальном компоненте в инвазивных раках неспецифического типа. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера

была сильная (+++). Иммунореактивный материал отмечался в структуре ядра в виде мелкозернистых скоплений коричневого цвета. Визуализировалось выпадение маркера в клетках в виде округлых структур в количестве от трех до пяти, соединённых друг с другом нуклеолярными мостиками. Цитоплазматическая локализация отмечалась в виде мелкозернистых включений, равномерно распределённых по всей структуре (рисунок 65).

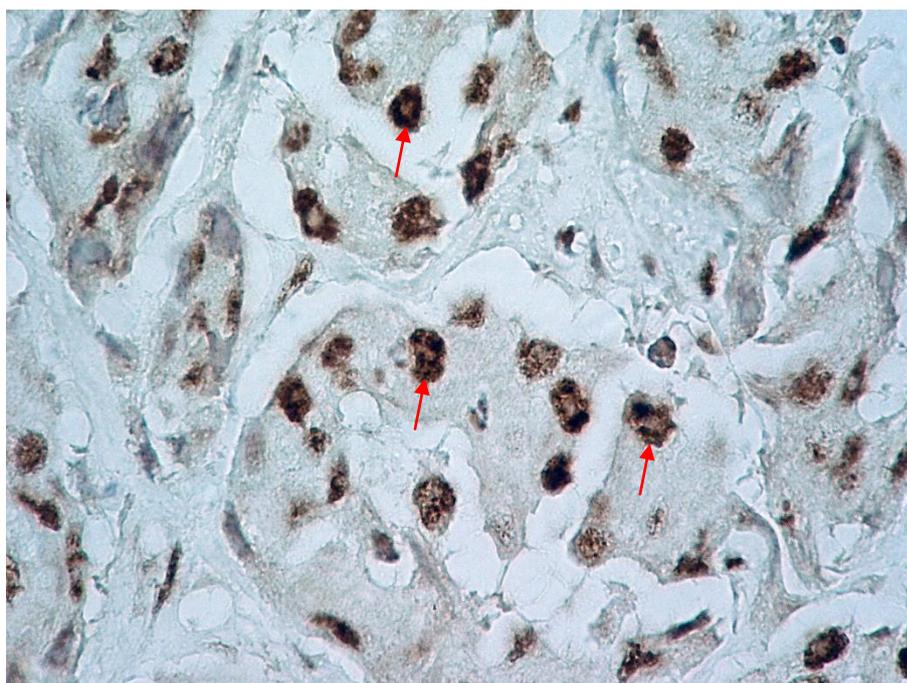


Рисунок 65 – FBL⁺ маркер. Нуклеолярные мостики (↑). Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Кошка, беспородная 9 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера FBL регистрировалась в эпителиальном компоненте медуллярного рака. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал отмечался в структуре ядра в виде редко расположенных зернистых скоплений темно-коричневого цвета. В некоторых клетках просматривались участки плотного конгломерата темно-коричневого цвета. Иногда наблюдался цитоплазматический тип, характеризующийся мелкозернистым напылением светло-коричневого цвета по всей поверхности клеток (рисунок 66).

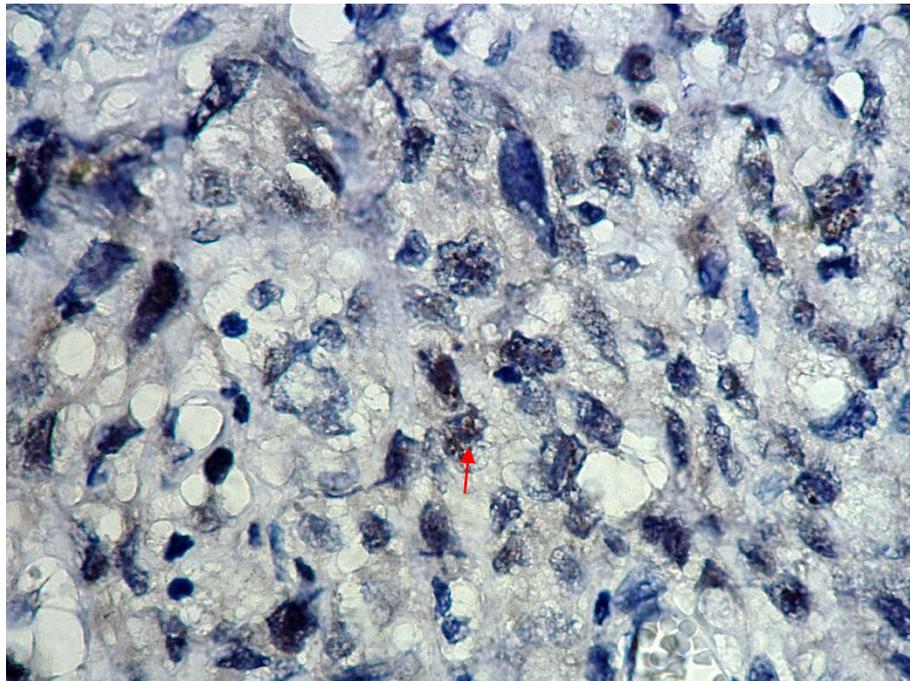


Рисунок 68 – FBL⁺ маркер в ядре (↑). Медуллярный рак (G3). Кошка, порода скоттиш-страйт, 10 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

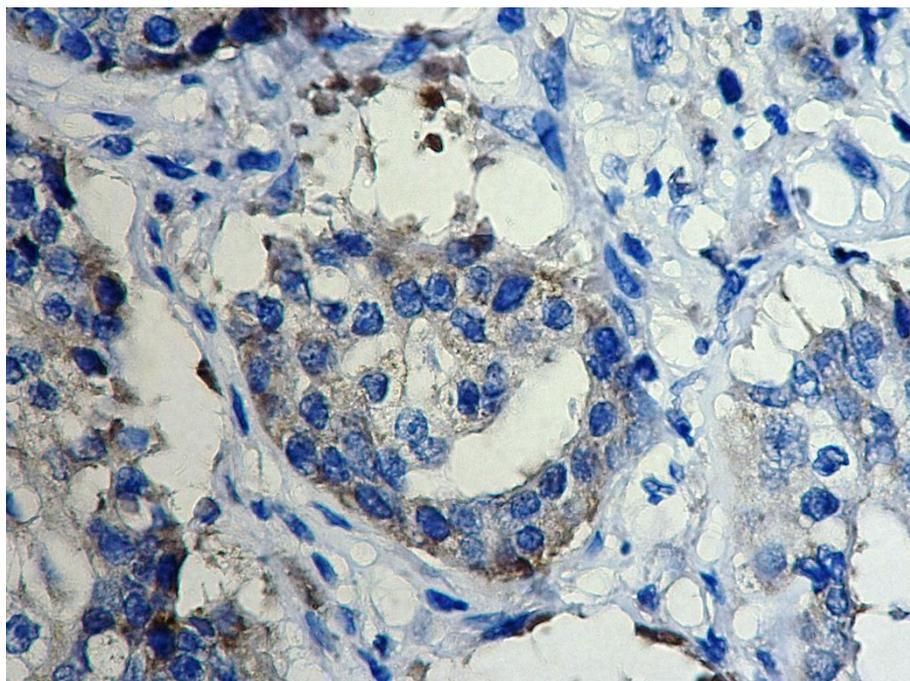


Рисунок 69 – FBL⁺ маркер в цитоплазме. Плоскоклеточная карцинома (G3). Кошка, порода сиамская, 10 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера FBL отмечалась в плоскоклеточном раке в эпителиальных клетках. Локализация паттерна наблюдалась только цитоплазматическая в виде выпадения мелких зерен светло-коричневого цвета

в кариоплазме, а также визуализировались глыбки насыщенного коричневого цвета, находящиеся в области перинкулеарного пространства (рисунок 67).

В результате исследований белков мезенхимального и эпителиального происхождения было установлено, что экспрессия маркера VIM в аденокарциномах молочной железы у кошек наблюдалась в клетках фибробластического дифферона стромального компонента – фибробластах и миофибробластах. Отмечались отдельные клетки в эпителиальном кластере. Иммунореактивный материал локализовался в цитоплазме данных компонентов в виде мелкозернистых распылений светло-коричневого цвета (рисунок 68).

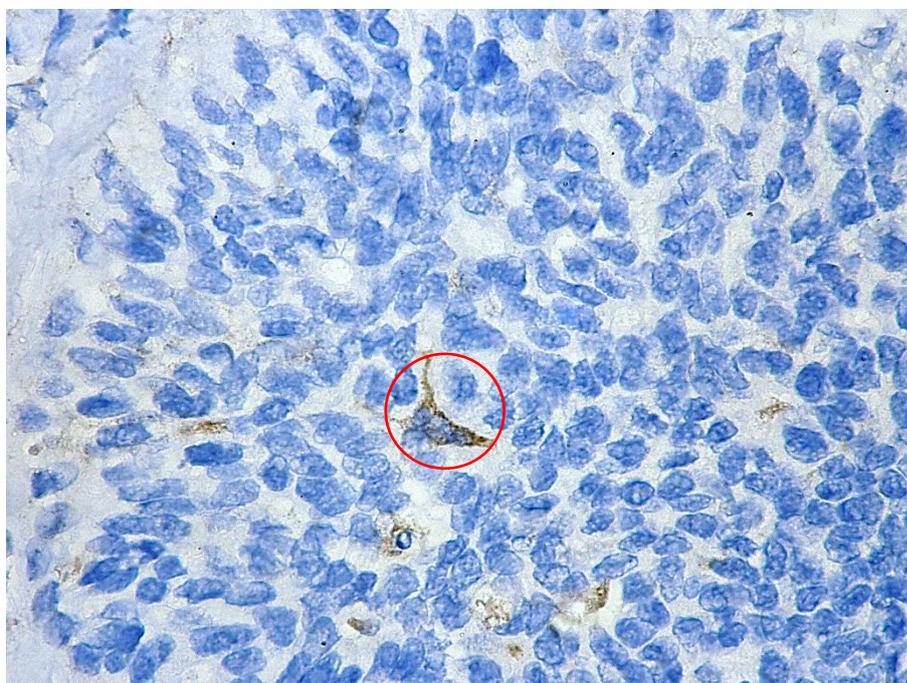


Рисунок 68 – VIM⁺ маркер в эпителиальной клетке (○). Аденокарцинома (G2). Кошка, порода сиамская, 13 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

В исследовании паттерна экспрессии VIM в клетках тубулярных аденокарцином было выявлено, что иммунопозитивный материал экспрессировал только в клетках фибробластического дифферона и в эндотелиальной выстилке сосудов. Характер материала был цитоплазматический в виде зерен светло-коричневого цвета или, как в эндотелиальной клетке, плотный конгломерат темно-коричневого цвета с трудной визуализацией ядра (рисунок 69).

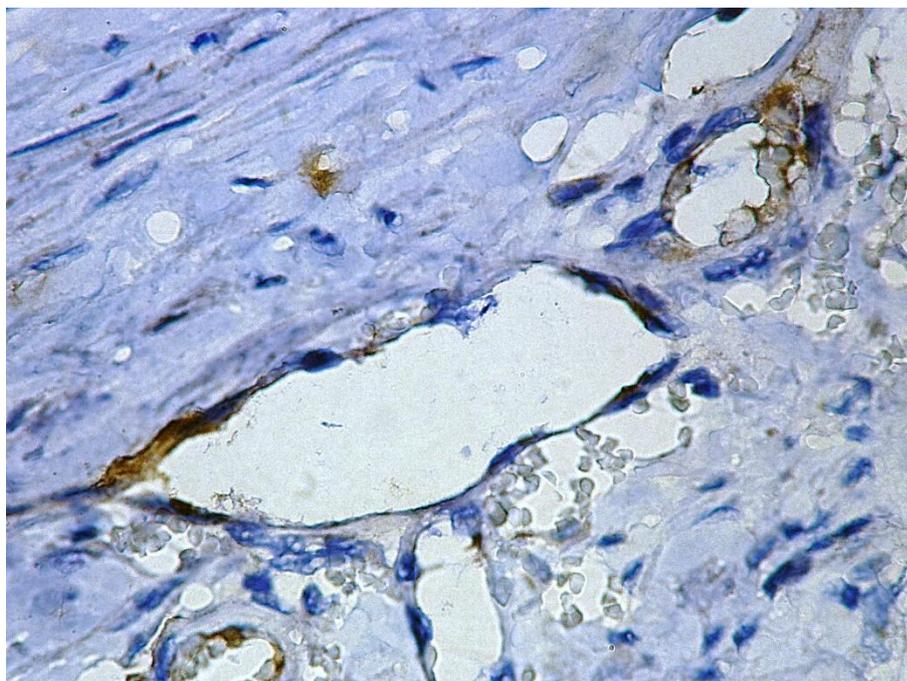


Рисунок 69 – VIM⁺ маркер в эндотелиальной клетке. Тубулярная аденокарцинома (G3). Кошка, порода британская короткошерстная, 12 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

При выявлении паттерна экспрессии VIM в клетках тубулярных карцином было обнаружено, что иммунопозитивный материал экспрессировал в клетках фибробластического дифферона и в эндотелиальной выстилке сосудов. Отмечались плеоморфные эпителиальные структуры, в цитоплазме которых локализовался мезенхимальный биомаркер. Иммунореактивность сопровождалась выпадением мелкозернистых гранул в цитоплазме клеток светло-коричневого цвета. Следует отметить, что данные структуры образовались рядом с соединительнотканной капсулой, в центре эпителиального компонента экспрессия маркера не наблюдалась (рисунок 70).

При обнаружении паттерна экспрессии VIM в клетках папиллярных карцином было установлено, что иммунореактивный материал находился в клетках фибробластического дифферона и в эндотелиальной выстилке сосудов. В единичных эпителиальных клетках визуализировалась цитоплазматическая локализация биомаркера в виде мелкозернистых гранул светло-коричневого цвета (рисунок 71).

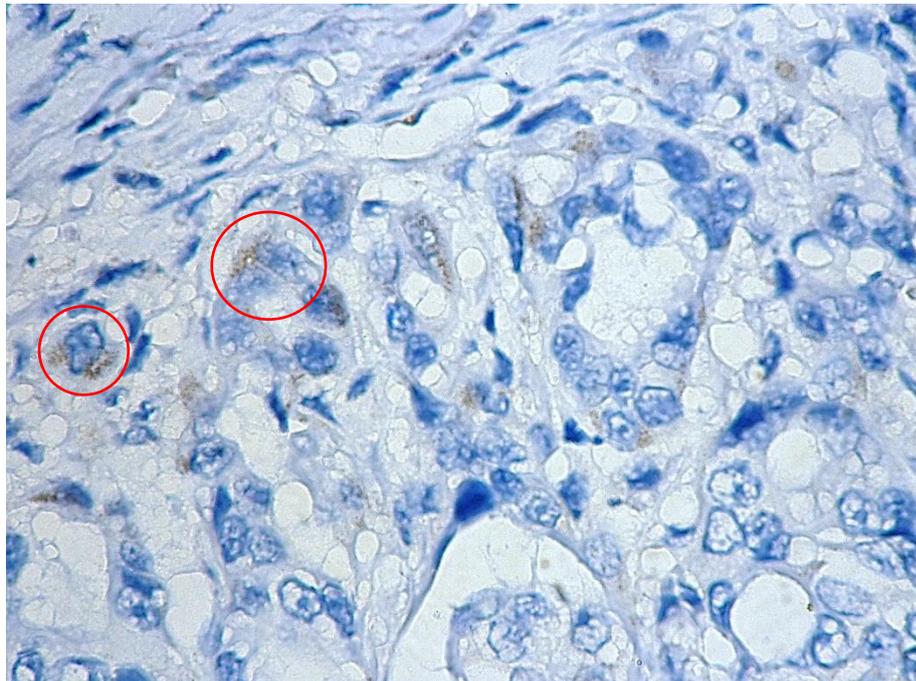


Рисунок 70 – VIM⁺ маркер в эпителии (○). Тубулярная карцинома (G3). Кошка, беспородная, 13 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.



Рисунок 73 – VIM⁺ маркер в эпителии (○). Папиллярная карцинома (G3). Кошка, метис, 12 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия VIM присутствовала в эпителиальных клетках инвазивного рака неспецифического типа. Паттерн экспрессии локализовался в цитоплазме клеток в виде разрозненных мелких частиц светло-коричневого цвета.

Иммунореактивный материал отмечался также в клетках фибробластического дифферона и в эндотелиальной выстилке сосудов (рисунок 72).

Экспрессия VIM в медуллярном раке наблюдалась в эндотелиальных клетках, в клетках фибробластического дифферона, а также отмечалась его локализация в миоэпителиальных и эпителиальных клетках. Иммунореактивный материал был представлен в виде мелкозернистых фрагментов светло-коричневого цвета, заполняющего равномерно цитоплазму. В миоэпителиальных компонентах маркер заполнял цитоплазматическую структуру равномерно с двух сторон, а в самих эпителиальных только с одной стороны, где более вытянутая цитоплазматическая ее часть (рисунок 73).

Экспрессия VIM в плоскоклеточном раке отмечалась только в миофибробластах и эндотелиальных клетках. Паттерн экспрессии локализовался в цитоплазме клеток в виде разрозненных мелких частиц светло-коричневого цвета.



Рисунок 72 – VIM⁺ маркер в эпителиоцитах (○). Инвазивный рак (G3). Кошка, порода сибирская, 12 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

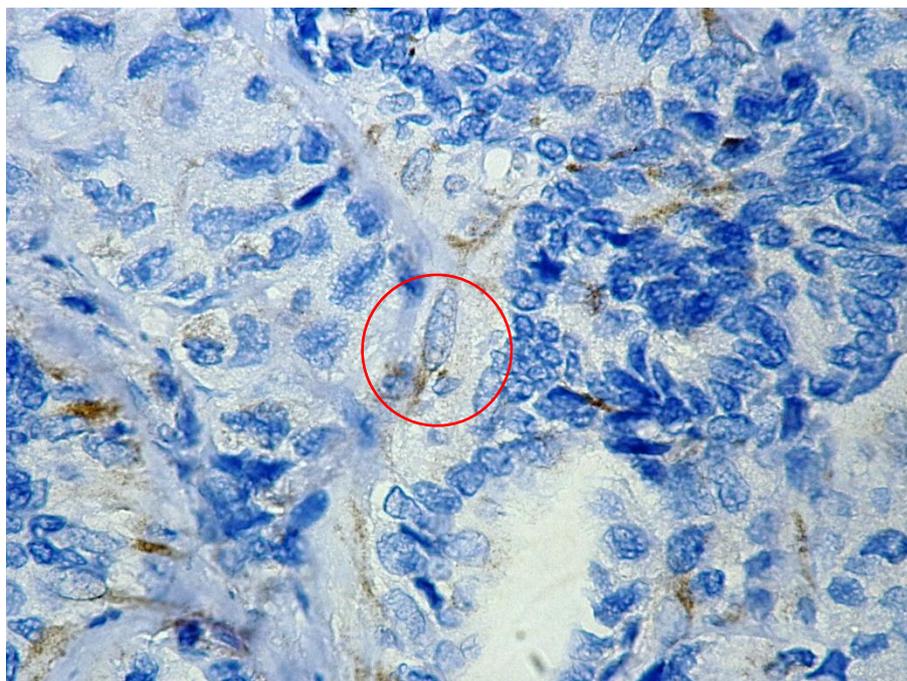


Рисунок 73 – VIM⁺ маркер в миоэпителиальной клетке (○). Медуллярный рак (G3). Кошка, порода нельская маскарадная, 13 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

При определении паттерна экспрессии α -SMA в клетках аденокарцином было выявлено, что иммунопозитивный материал экспрессировал в миофибробластах, находящихся в соединительнотканной оболочке. В эндотелиоцитах маркер имел цитоплазматическую локализацию, представляя собой вид мелкозернистых структур светло-коричневого цвета, а также происходило выпадение паттерна в виде глыбок темно-коричневого цвета. Помимо данных структур биомаркер наблюдался в миоэпителиальных клетках в цитоплазматической зоне в виде темно-коричневых гранул (рисунок 74).

Экспрессия маркера α -SMA в клетках тубулярной аденокарциномы обнаруживалась в эндотелиальной выстилке сосудов, а также в миофибробластах. Локализация биомаркера имела цитоплазматическую зону в виде мелко рассыпанных зерен светло-коричневого цвета (рисунок 75).

Экспрессия маркера α -SMA в клетках тубулярной карциномы находилась в эндотелиальной выстилке сосудов, в миофибробластах, а также в миоэпителиальных клетках и базальном слое эпителиальных. Паттерн имел цитоплазматическую локализацию в виде мелко рассыпанных зерен светло-

коричневого цвета. В миоэпителиальных клетках они располагались по двум сторонам от ядра, в эпителиальных клетках располагаются в базальной ее части (рисунок 76).

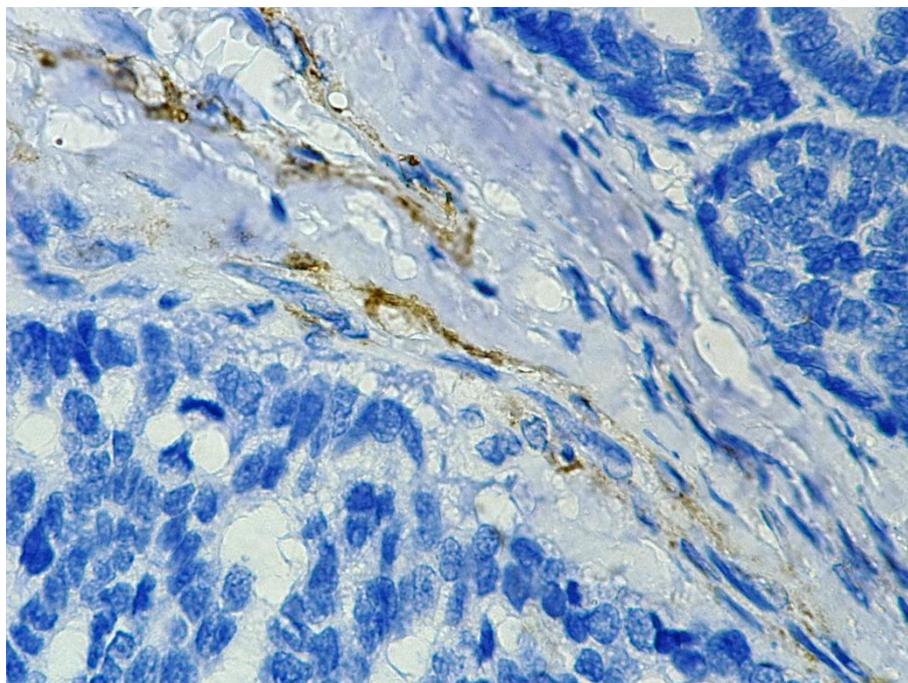


Рисунок 74 – α -SMA⁺ маркер. Эндотелиоциты. Аденокарцинома (G2). Кошка, метис, 13 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

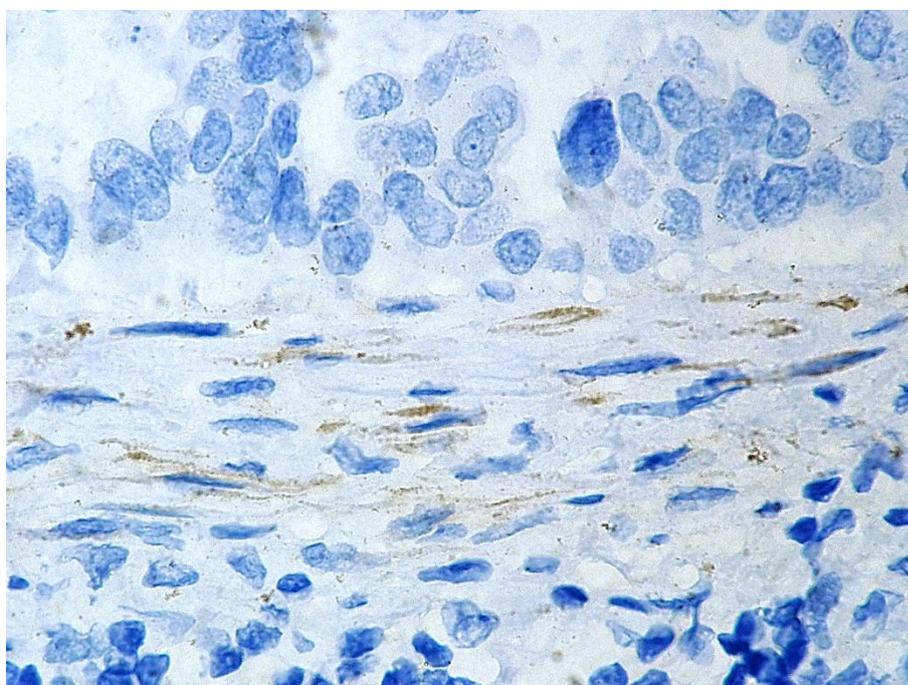


Рисунок 75 – α -SMA⁺ маркер в миофибробластах. Тубулярная аденокарцинома (G2). Кошка, метис, 13 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

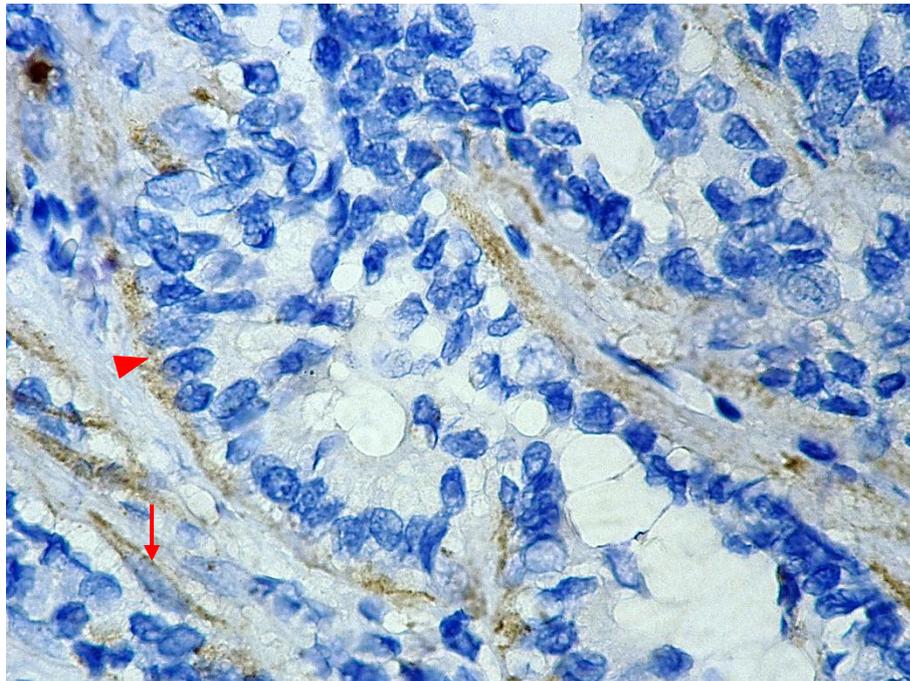


Рисунок 76 – α -SMA⁺ маркер в миоэпителиальных (\uparrow) и эпителиальных (\blacktriangle) клетках. Тубулярная карцинома (G2). Кошка, метис, 16 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Экспрессия маркера α -SMA в клетках папиллярной карциномы визуализировалась в эндотелиоцитах, миофибробластах. Отмечались также фибробластоподобные типы клеток, имеющих вид закручивающихся фигур, в центре которых наблюдался эпителиальный компонент. Локализация паттерна находилась в цитоплазме в виде умеренно выраженных зерен светло-коричневого цвета (рисунок 77).

Экспрессия маркера α -SMA в клетках инвазивного рака неспецифического типа отмечалась в клетках эндотелиоцитах и миофибробластах, а также в фибробластоподобных клетках. Локализация паттерна визуализировалась в цитоплазме клеток в виде мелко распылённых зерен от светло- до темно-коричневого цвета (рисунок 78).

Паттерн экспрессии маркера α -SMA в клетках медуллярной и плоскоклеточной карциномах отмечался в эндотелиальных и миофибробластических клетках. Локализация маркера визуализировалась в клетках, расположенных вблизи плоскоклеточного типа. Экспрессия выражалась в мелкозернистых гранулах светло-коричневого цвета, размещенных хаотично по цитоплазматической структуре (рисунок 79).

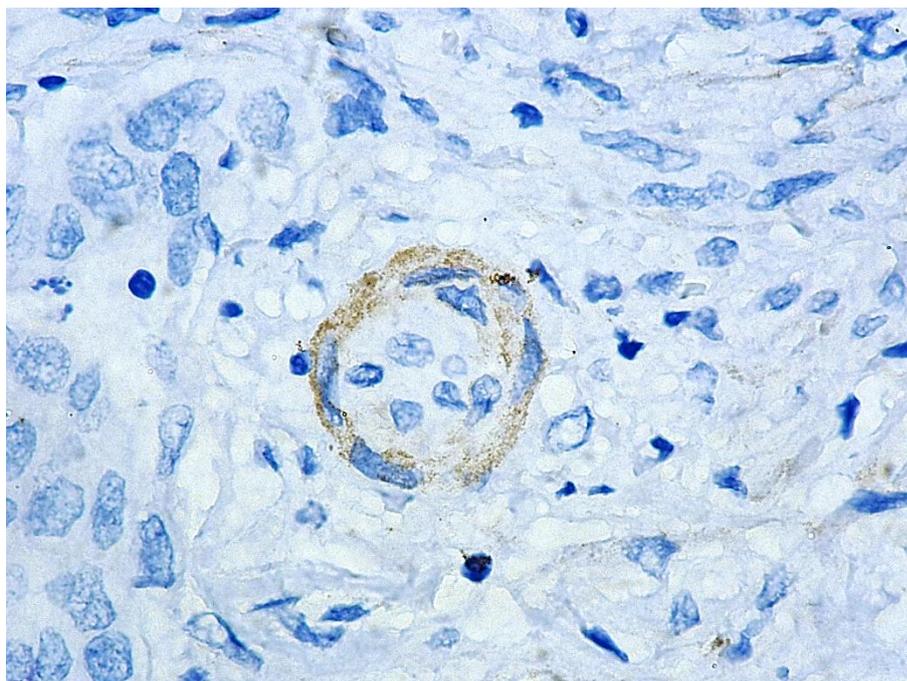


Рисунок 77 – α -SMA⁺ маркер в фибробластах. Папиллярная карцинома (G3). Кошка, порода британская короткошерстная, 14 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

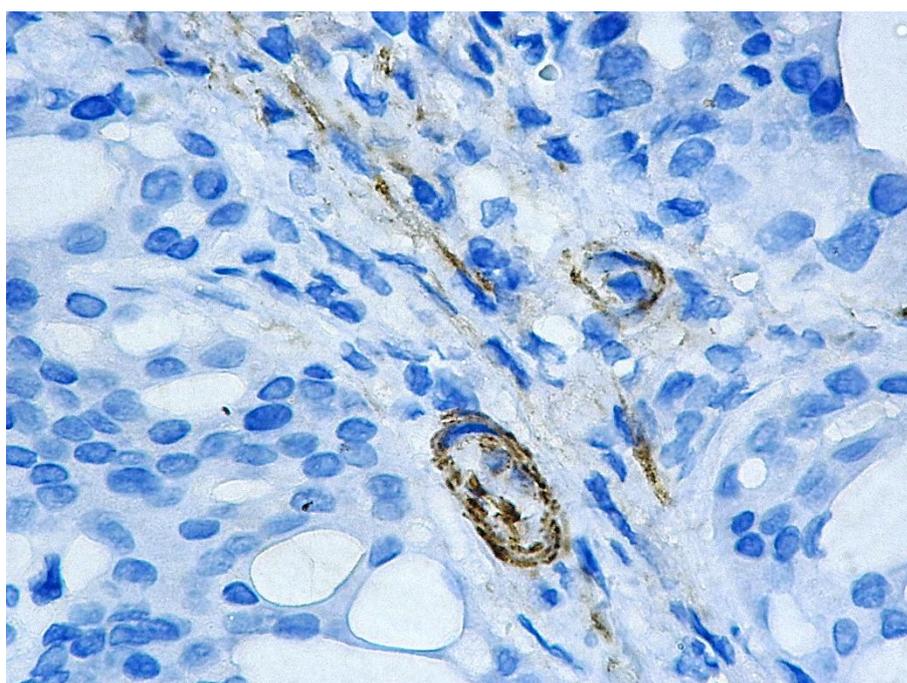


Рисунок 78 – α -SMA⁺ маркер в эпителиальных и миофибробластах. Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Кошка, беспородная, 9 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

При исследовании паттерна экспрессии HMWCK в клетках аденокарцином было установлено, что маркер локализовался в эпителиальном компоненте. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади

материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++). Иммунореактивный материал отмечался в цитоплазматической зоне в виде пылевидно рассеянных мелких зерен светло-коричневого цвета, в основном в апикальной части клеток. Иногда наблюдалось выпадение белка в виде крупных зерен темно-коричневого цвета (рисунок 80).

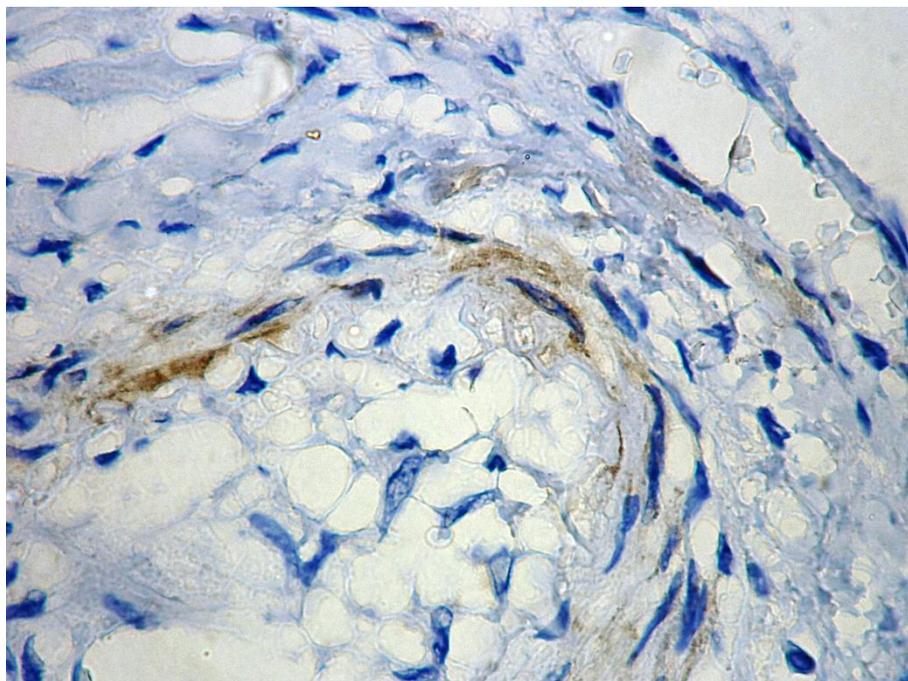


Рисунок 79 – α -SMA⁺ маркер в миофибробластах. Плоскоклеточная карцинома (G3). Кошка, порода сиамская, 10 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Экспрессия маркера HMWCK в клетках тубулярных аденокарцином фиксировалась в эпителиальной выстилке. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++). Локализация паттерна имела цитоплазматический тип в виде мелкозернистых включений светло-коричневого цвета, расположенных неравномерно по всей ее площади. Также визуализировалось скопление мелких гранул около клеточной мембраны, выстроенных друг за другом (рисунок 81).

Экспрессия маркера HMWCK в клетках тубулярных карцином регистрировалась в эпителиоцитах. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++). Паттерн локализовался в цитоплазме клеток в виде мелких гранул

песчаного цвета, расположенных неравномерно по всей ее структуре, либо вокруг ядра скоплениями (рисунок 82).

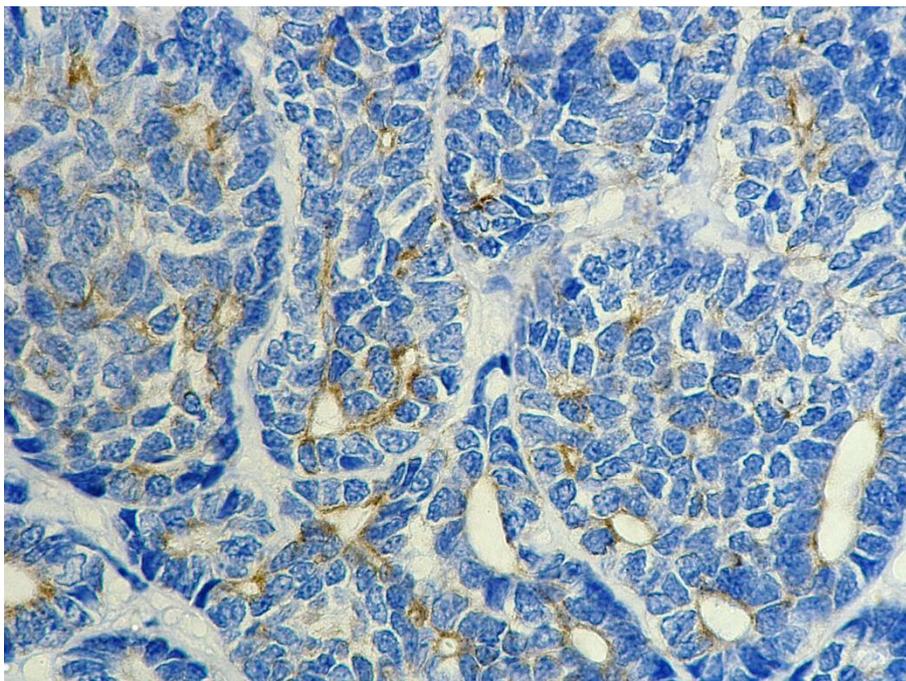


Рисунок 80 – HMWCK⁺ маркер. Аденокарцинома (G3). Кошка, порода сиамская, 13 лет. ИГХ реакция на HMWCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

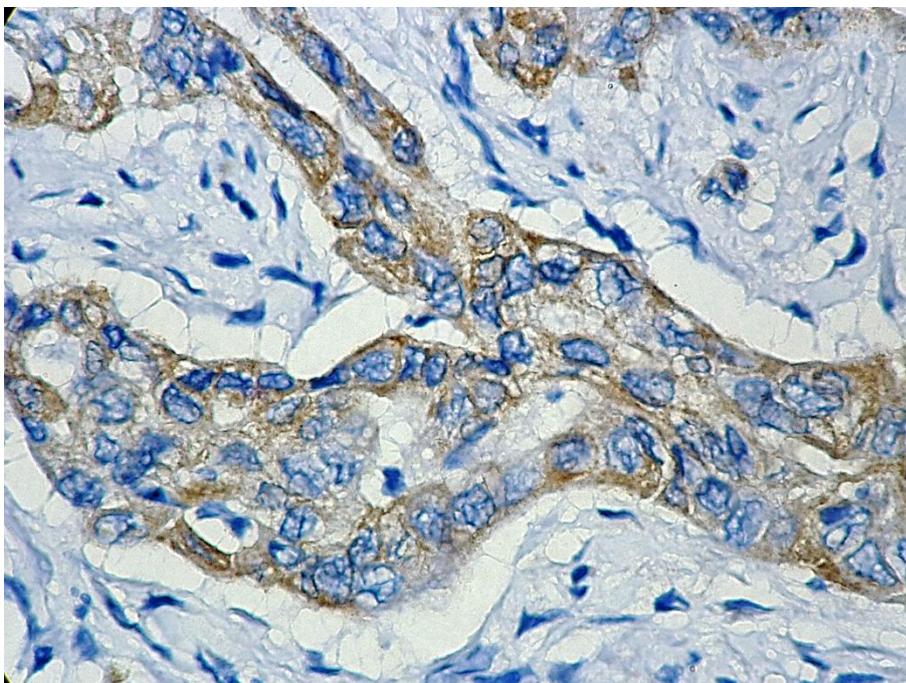


Рисунок 81 – HMWCK⁺ маркер. Тубулярная аденокарцинома (G3). Кошка, беспородная, 9 лет. ИГХ реакция на HMWCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

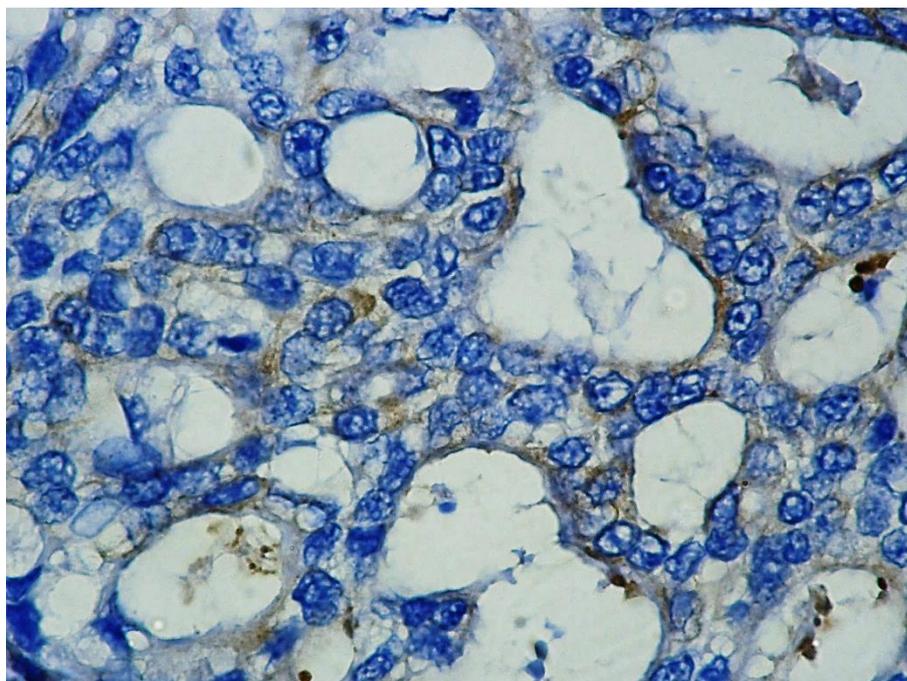


Рисунок 82 – HMWCK⁺ маркер. Тубулярная карцинома (G2). Кошка, беспородная, 13 лет. ИГХ реакция на HMWCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Исследование экспрессия биомаркера HMWCK в клетках папиллярных карцином установило, что паттерн белка находился не только в эпителиальных клетках, но и регистрировался в фибробластоподобных. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) , однако отмечалась в отдельных клетках сильная экспрессия (+++). Паттерн выпадал преимущественно в цитоплазматической зоне, имея вид расплывённых мелких гранул светло-коричневого цвета. В видоизмененных клетках, расположенных в эпителиальном слое, экспрессия маркера была такая сильная, что гранулы наслаивались друг на друга и покрывали всю площадь вытянутой цитоплазмы (рисунок 83).

Экспрессия маркера HMWCK в клетках инвазивного рака неспецифического типа локализовалась в эпителиальном компоненте. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Тип локализации цитоплазматический, был представлен в виде мелкозернистой структуры светло-коричневого цвета, распределенной по всей ее площади. Отмечались отдельные клетки вытянутой формы, в которых гранулы больше всего

располагались возле клеточной мембраны, придавая вид полосы темно-коричневого цвета (рисунок 84).

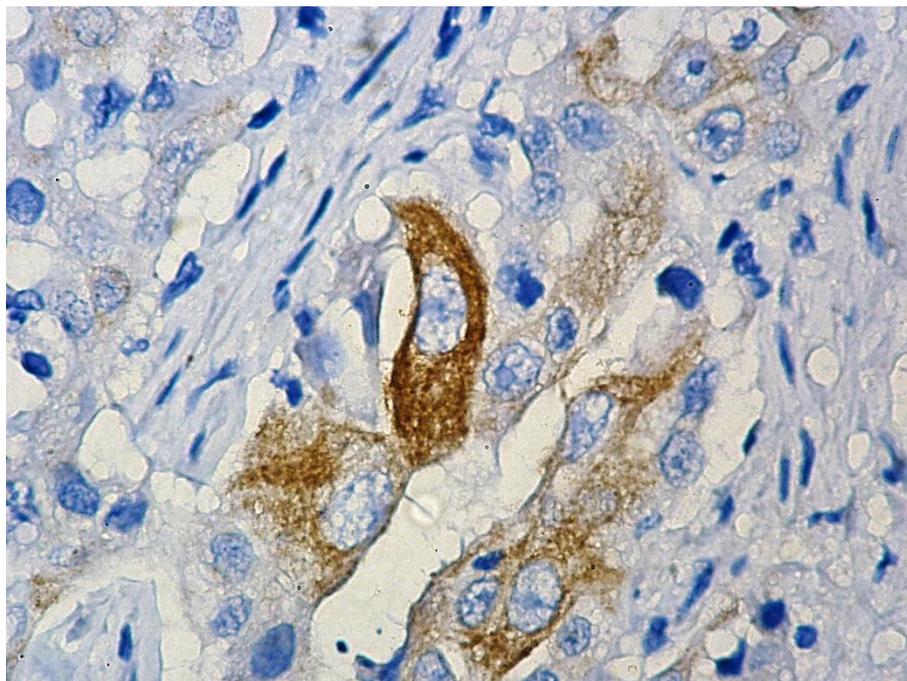


Рисунок 83 – HMWCK⁺ маркер в фибробластоподобных клетках. Папиллярная карцинома (G3). Кошка, метис, 11 лет. ИГХ реакция на HMWCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

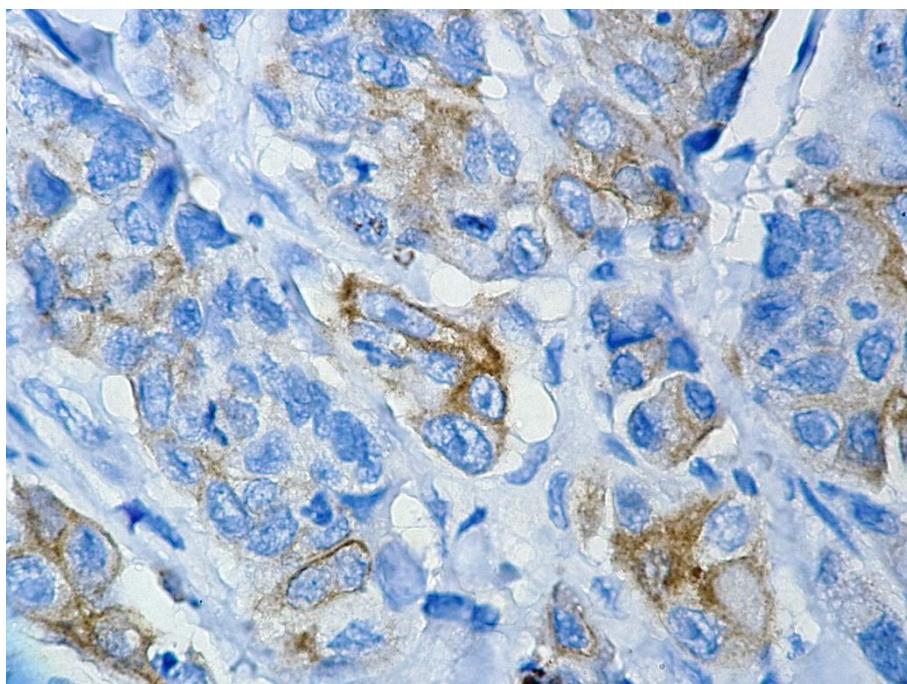


Рисунок 84 – HMWCK⁺ маркер. Инвазивный рак неспецифического типа (G2). Кошка, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на HMWCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера HMWCK в клетках медуллярного рака отмечалась в эпителиоцитах. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей

площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Паттерн локализовался в цитоплазме клеток в виде мелко рассыпанных гранул светло-коричневого цвета, неравномерно распределённых по всей ее структуре (рисунок 85).

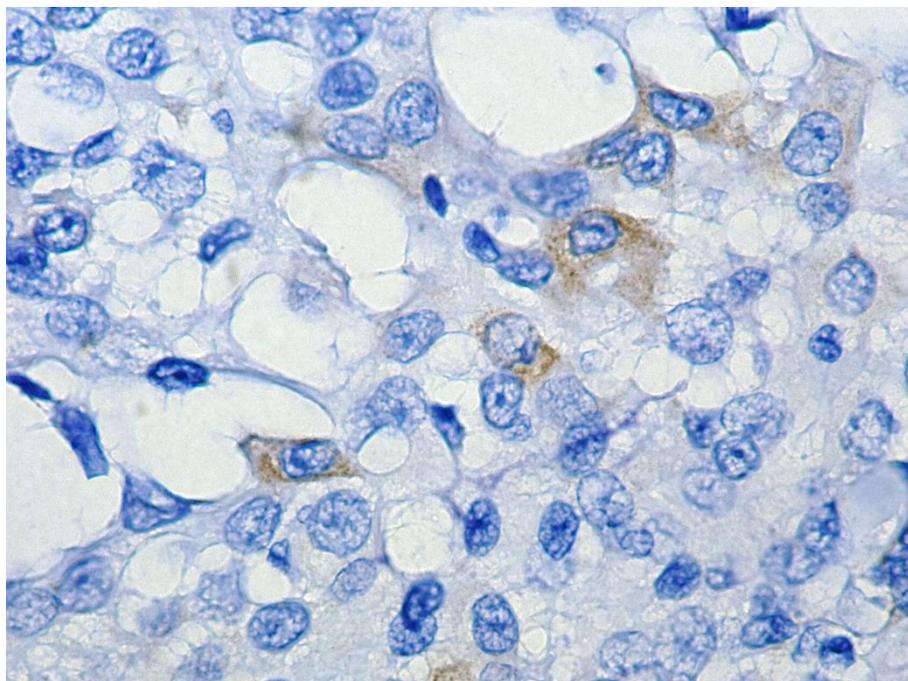


Рисунок 85 – HMWCK⁺ маркер. Медуллярный рак (G2). Кошка, порода скоттиш-фолд, 11 лет. ИГХ реакция на HMWCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Таким образом, исследование локализации маркера NCL областей ядрышковых организаторов показало, что иммунореактивный материал присутствовал тотально в эпителиальном компоненте. Некоторые типы рака, такие как – тубулярная и папиллярная карциномы, инвазивный рак неспецифического типа, медуллярная карцинома и плоскоклеточный рак имели три типа расположения паттерна: ядрышковый, ядерный и цитоплазматический. По нашему мнению, NCL выступает в качестве молекулярного шаперона между структурами ядра и цитоплазмы, что способствует высокой скорости передаче информации и транспорта белка. В этих типах опухолей, по нашему мнению, происходит активная транскрипционная функция и продукция рРНК, за счет которой усиливается пролиферативный эффект в злокачественных клетках.

Экспрессия NPM1 в опухолевых клетках регистрировалась преимущественно в ядрышковом аппарате, где наблюдали структуры с выраженным анизонуклеозом, присутствие макро- и микроядрышек. В плоскоклеточном раке отмечался цитоплазматический тип паттерна, который обеспечивает транспорт рибосомных белков между ядром и цитоплазмой, и по результатам активности опухолевых клеток данный маркер является для них стимулирующим.

При исследовании экспрессии паттерна FBL в эпителиальных клетках было выявлено, что большинство опухолей имело его локализацию в ядерном типе, однако в папиллярной карциноме, медуллярном, инвазивном и плоскоклеточном раке отмечалась цитоплазматическая экспрессия белка, что свидетельствовало об активной продукции рРНК в клетках. В инвазивном раке отмечалось структурирование ядрышек в виде нуклеолярных мостиков, что характеризовало, по нашему мнению, нарушение процессинга рРНК со сдвигом от фибриллярных центров к конденсированному околоядрышковому хроматину, который обнаруживался на периферии ядра.

Определение экспрессии маркера VIM отмечалось в клетках фибробластического дифферона и в эндотелиальной выстилке сосудов. В тубулярных и папиллярных карциномах фиксировался паттерн в цитоплазме эпителиальных клеток с видоизмененными структурами. При медуллярном раке регистрировались экспрессирующие миоэпителиальные компоненты. Это свидетельствует об изменении молекулярной особенности промежуточных филаментов в данных клетках и приобретении ими стимулов к изменению цитоскелета в более фибробластоподобный вид.

Паттерн экспрессии α -SMA в опухолевой ткани локализовался в клетках фибробластического дифферона, миоэпителиоцитах и в эндотелиальной выстилке сосудов. В папиллярных карциномах и в инвазивном раке регистрировались фибробластоподобные клетки, формировавшие закручивающиеся структуры внутри которых находились эпителиоциты. Как известно, это клетки myCAFs, которые приобрели сократительные свойства и

воздействовали с помощью паракринной связи на эпителиальный компонент, изменяя его структуры.

При изучении экспрессии маркера HMWCK было установлено, что в основном паттерн локализовался в цитоплазме эпителиальных клеток, но умеренная его экспрессия характеризовала ослабление функции цитоскелетного белка. Отмечалась сильная экспрессия в фибробластоподобных и в эпителиальных клетках вытянутой формы, которые, как известно, являлись гибридными формами, экспрессирующие как эпителиальные, так и мезенхимальные маркеры, и способствующие перестройке цитоскелета в более пластичный и инвазивный тип.

Следовательно, повышенная экспрессия маркеров областей ядрышковых организаторов, способствовала образованию новых белковых компонентов, приводящих к ремоделированию и нестабильности генома, что в последующем приводило к онкогенезу. А коэкспрессия эпителиальных и мезенхимальных маркеров свидетельствовала о выраженной гетерогенности клеток и развитию эпителиально-мезенхимальной трансформации в представленных опухолях молочных желез у кошек.

Результаты исследований по экспрессии представленных белков в опухолевых клетках молочных желез у кошек согласуются с данными W. Jia et al. (2017), Е. Г. Зенит-Журавлевой и соавт. (2012), I. Ugrinova et al. (2018), X. Liu et al. (2022), N. Robichaud et al. (2019), L. Zhang et al. (2022), N. Robichaud et al. (2019), L. Zhang et al. (2022), S. Chen et al. (2018), G. Qin, et al. (2020), F. Guillen-Chable et al. (2020), R. A. Battaglia et al. (2018), D. Paulin et al. (2022), .L. McFalin-Figeroa et al. (2019), S. Kreger et al. (2019).

2.2.4. ЭКСПРЕССИЯ НУКЛЕОЛЯРНЫХ БЕЛКОВ И ПРОМЕЖУТОЧНЫХ ФИЛАМЕНТОВ МЕЗЕНХИМАЛЬНОГО И ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ТИПОВ В КЛЕТКАХ ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ У СОБАК

В результате исследований белков областей ядрышковых организаторов было установлено, что у собак экспрессия маркера NCL наблюдалась в клетках

эпителия аденокарцином молочных желез. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Тип локализации отмечался в ядерной зоне в виде крупных комковатых гранул с нечеткими границами светло-коричневого цвета, расположенных ближе к границам ядерного компартмента или в виде плотного выпадения глыбчатых фрагментов неправильной формы темно-коричневого цвета, тотально заполняющих кариоплазму. Иммунопозитивный материал отмечался в стромальном компоненте в клетках фибробластического дифферона, тип локализации был такой же ядерный, как и в эпителии (рисунок 86).

Экспрессия маркера NCL в тубулярных аденокарциномах отмечалась в эпителиальном компоненте молочной железы. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал регистрировался в виде мелких гранул с нечеткими округлыми границами светло-коричневого цвета, с четкой визуализацией ядрышка, расположенного эксцентрично. Отдельные клетки проявляли высокую ядерную степень экспрессии, характеризующимися плотным окрашиванием темно-коричневого цвета комковатых структур, с трудно различимыми ядрышками (рисунок 87).

Экспрессия маркера NCL в тубулярных карциномах отмечалась в эпителиальном компоненте молочной железы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал распределялся в трех локализациях. При ядерном типе распределения просматривались мелкие округлые фрагменты светло-коричневого цвета, собранные хаотично в основном на периферии кариолеммы. При ядрышковом типе отмечались крупные гранулы неправильной формы насыщенного темно-коричневого цвета, заполняющих тотально нуклеоплазму. При цитоплазматическом типе визуализировался маркер в виде пылевидно-гомогенного выпадения

фрагментов светло-коричневого цвета, тотально заполняющих всю поверхность клетки (рисунок 88).

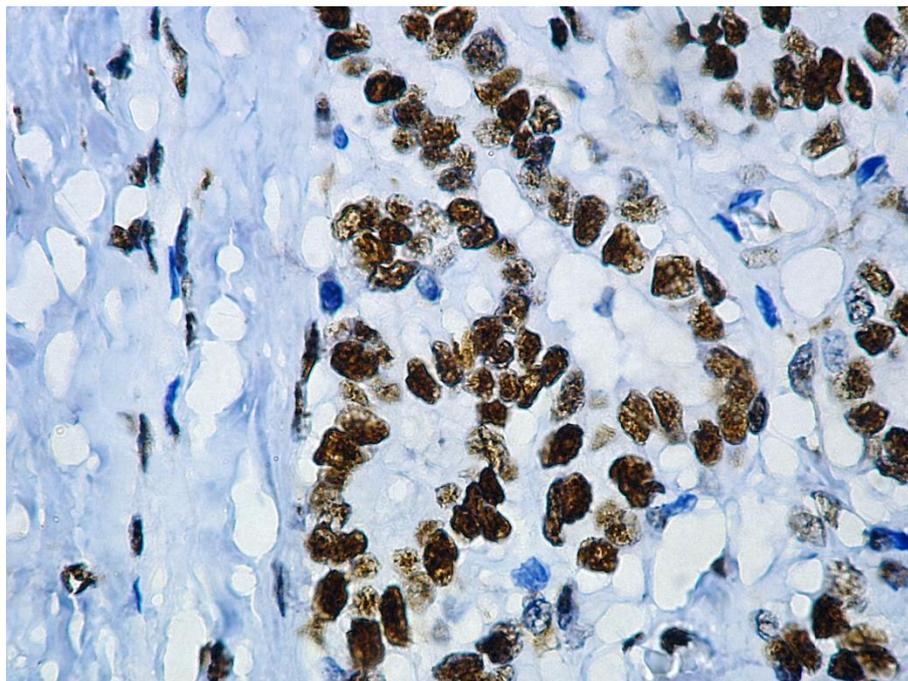


Рисунок 86 – NCL⁺ маркер в эпителии. Аденокарцинома (G2). Собака, порода китайская хохлатая, 8 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

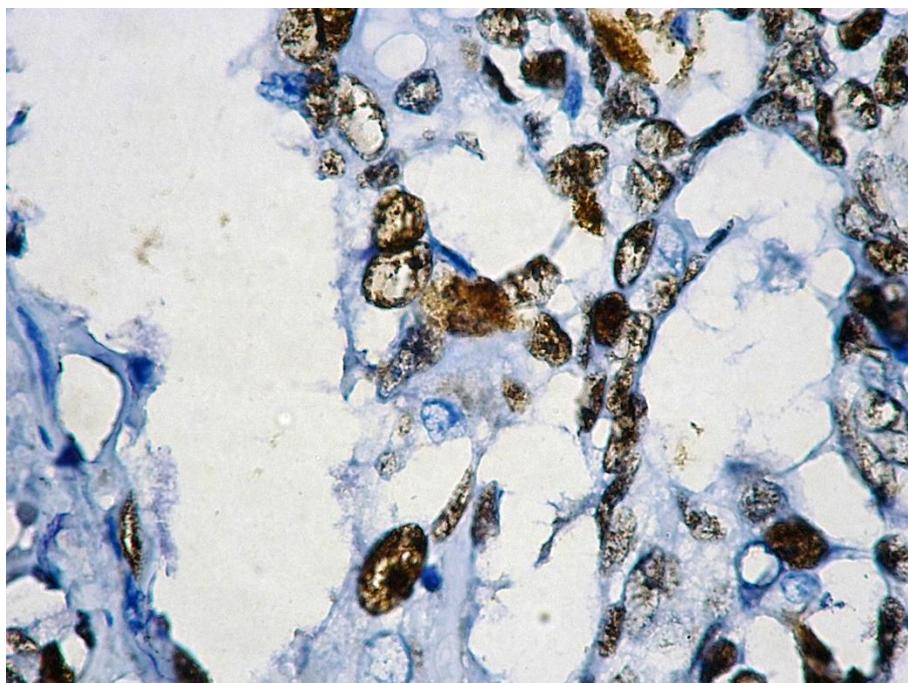


Рисунок 87 – NCL⁺ маркер. Тубулярная аденокарцинома (G2). Собака, порода йоркширский терьер, 9 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

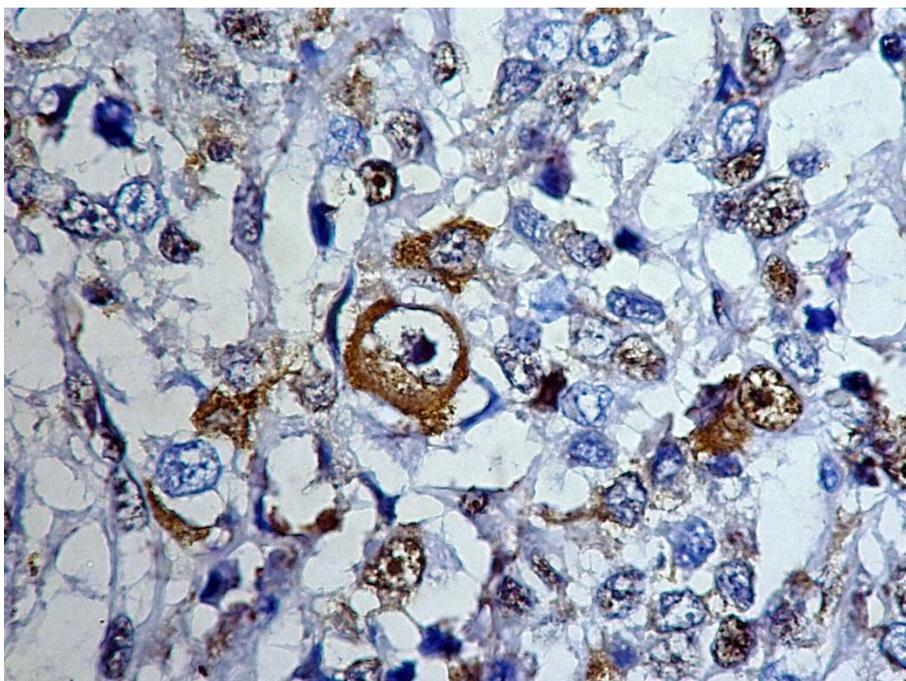


Рисунок 88 – NCL⁺ маркер в эпителиоцитах. Тубулярная карцинома (G3). Собака, порода йоркширский терьер, 9 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NCL в папиллярных карциномах регистрировалась в эпителиальной выстилке молочной железы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал распределялся в трех локализациях. Ядерный тип был представлен мелкими комковатыми гранулами неправильной формы темно-коричневого цвета, расположенными хаотично по кариоплазме. Ядрышковая локализация отмечалась выпадением паттерна плотной массой темно-коричневого цвета с округлыми краями, по его окрашиванию можно было регистрировать ядерный компартмент в количестве двух – трех структур. Цитоплазматический тип распределялся в виде выпадения мелкозернистых гранул светло-коричневого цвета, тотально заполняющих всю ее площадь (рисунок 89).

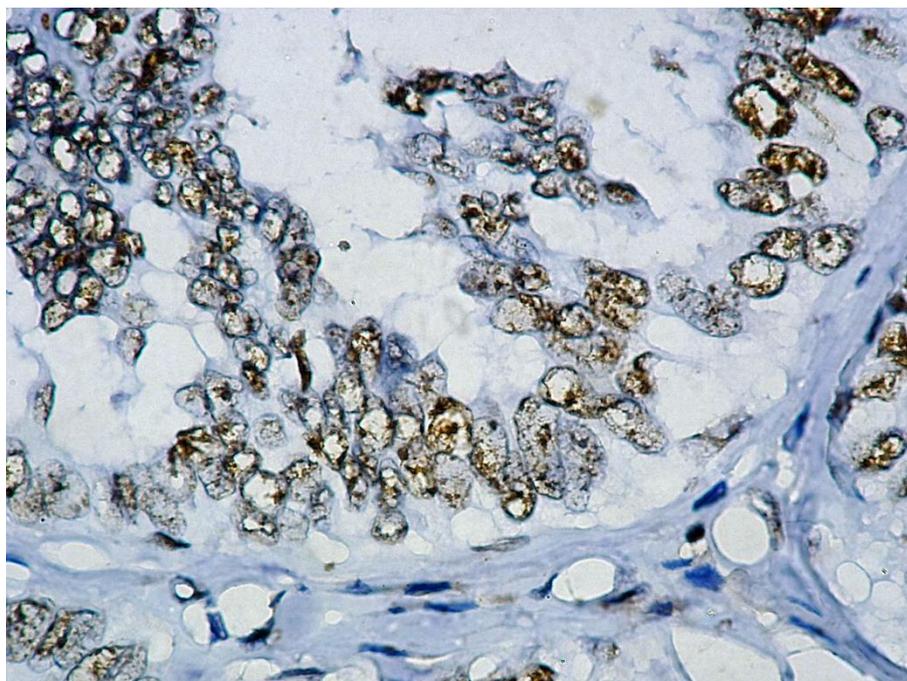


Рисунок 89 – NCL⁺ маркер. Папиллярная карцинома (G2). Собака, порода американский стаффордширский терьер, 7 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NCL в инвазивном раке неспецифического типа отмечалась в эпителиоцитах молочной железы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал в большинстве клеток визуализировался при ядерном типе, в виде переменных по размеру с угловатыми формами глыбчато-комковатых фрагментов темно-коричневого цвета, которые тотально заполняют кариоплазму с нечетким контуром ядрышкового компартмента и напоминают форму звезды. В отдельных клетках ядерный тип выражался в виде пылевидно-гомогенных структур светло-коричневого оттенка, тотально заполняющих кариоплазму с четкой визуализацией ядрышка округлой формы темно-коричневого цвета. Цитоплазматический тип характеризовался мелкозернистыми фрагментами, заполняющими околоядерную зону (рисунок 90).

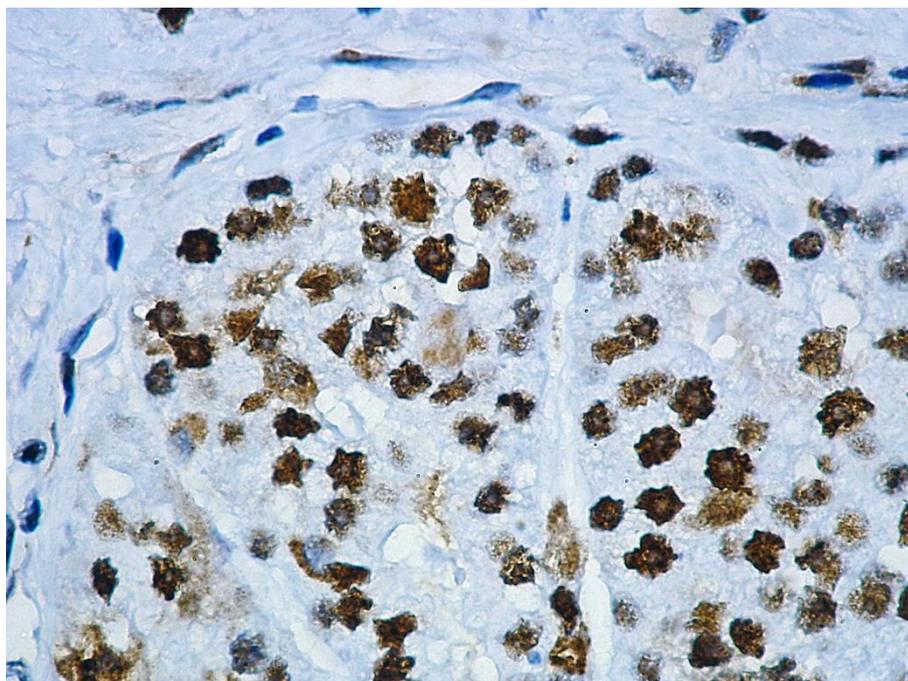


Рисунок 90 – NCL⁺ маркер. Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Собака, порода йоркширский терьер, 12 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NCL в плоскоклеточном раке визуализировалась в эпителиальной выстилке молочной железы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал распределялся в ядерном типе в виде мелко гранулярных включений округлой формы от светло- до темно-коричневого цвета, тотально заполняющих кариоплазму без четкой визуализации ядрышка (рисунок 91).

Экспрессия маркера NCL в карциноме смешанного типа визуализировалась в эпителиоцитах молочной железы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия материала была от умеренной (++) до сильной (+++). Иммунореактивный материал распределялся в виде мелких гранул с нечеткой формой коричневого цвета, они расположены хаотично, либо образовывал мелкие скопления в кариоплазме. Отмечалось более плотное окрашивание ядра в виде глыбчатых фрагментов переменной формы, заполняющих тотально всю его структуру (рисунок 92).

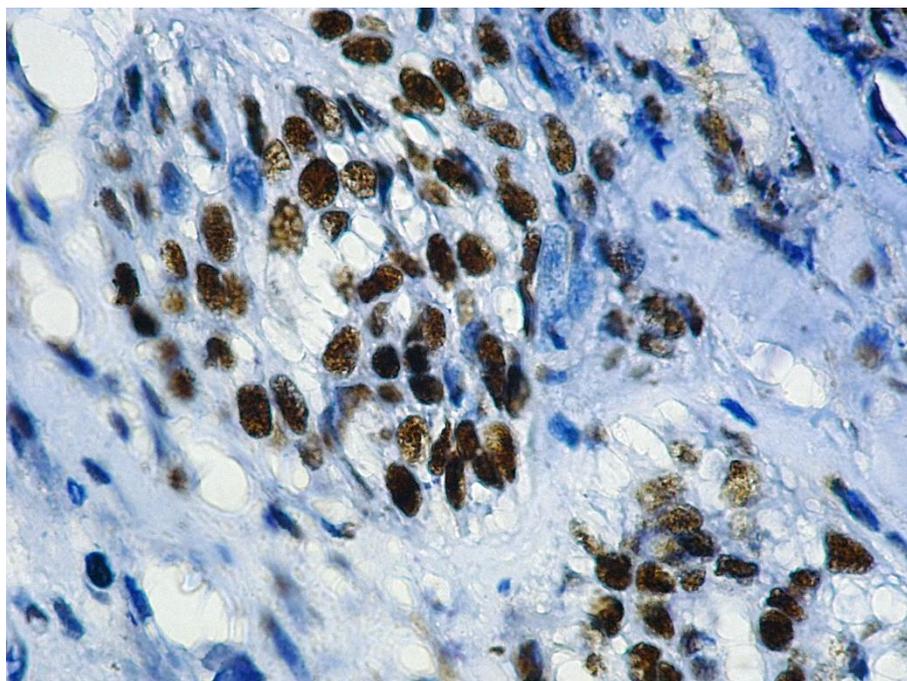


Рисунок 91 – NCL⁺ маркер в эпителии. Плоскоклеточный рак (G2). Собака, порода йоркширский терьер, 5 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

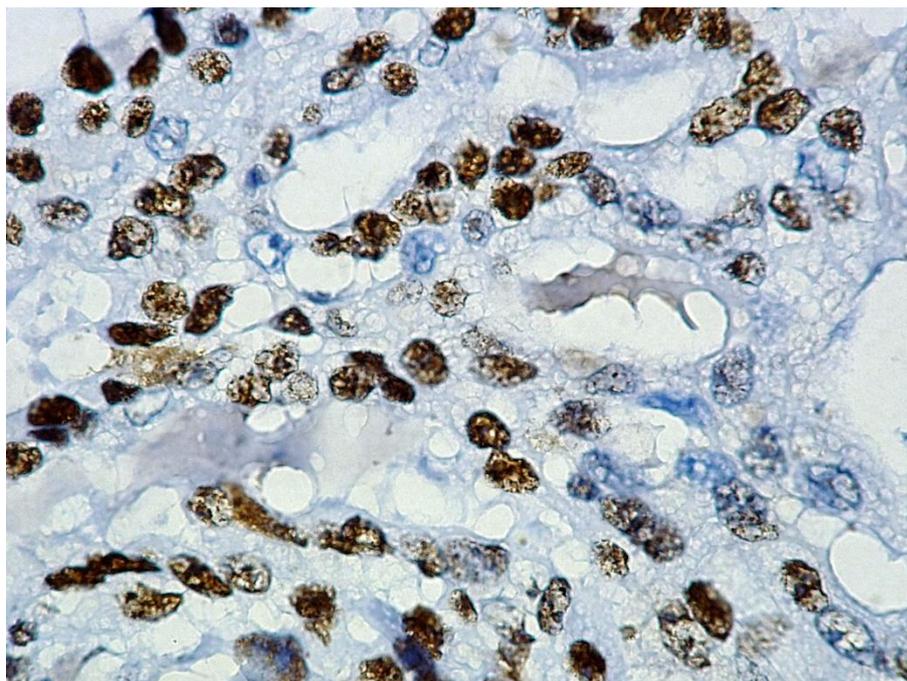


Рисунок 92 – NCL⁺ маркер. Карцинома смешанного типа (G2). Собака, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

В опухолях смешанного типа с хрящевой метаплазией экспрессия маркера NCL отмечалась в эпителиоцитах, клетках фибробластического дифферона молочной железы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была от умеренной (++) до

сильной (+++). Иммунореактивный материал распределялся в виде неправильных мелких гранул с нечеткими границами светло-коричневого цвета, расположенных хаотично в кариоплазме. Сильная экспрессия характеризовалась наличием глыбчатых фрагментов плотного гомогенного окрашивания темно-коричневого цвета, занимающих тотально всю структуру. Ядрышковый тип отмечался в виде плотного гомогенного окрашивания коричневого цвета с четкими округлыми границами (рисунок 93).

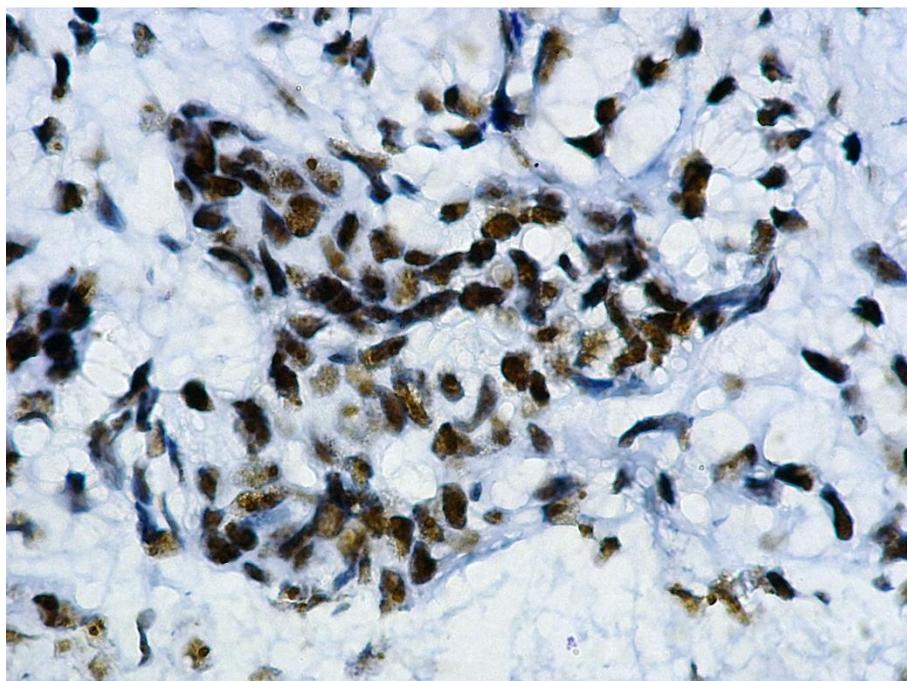


Рисунок 93 – NCL⁺ маркер. Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией (G1). Собака, такса, 12 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

В опухолях смешанного типа с костной метаплазией экспрессия маркера NCL отмечалась в эпителиоцитах, миоэпителиальных и клетках фибробластического дифферона. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была от умеренной (++) до сильной (+++). Иммунореактивный материал распределялся в виде пылевидно-гомогенных округлых частиц светло-коричневого цвета, равномерно заполняющих кариоплазму. В данных клетках хорошо визуализировались ядрышки от одного до двух однородного коричневого цвета с четкими округлыми краями, расположенных в основном эксцентрично. В некоторых клетках отмечалась сильная экспрессия,

определяющая наличие неправильной формы глыбчатых фрагментов гомогенного темно-коричневого окрашивания, занимающих тотально всю структуру (рисунок 94).

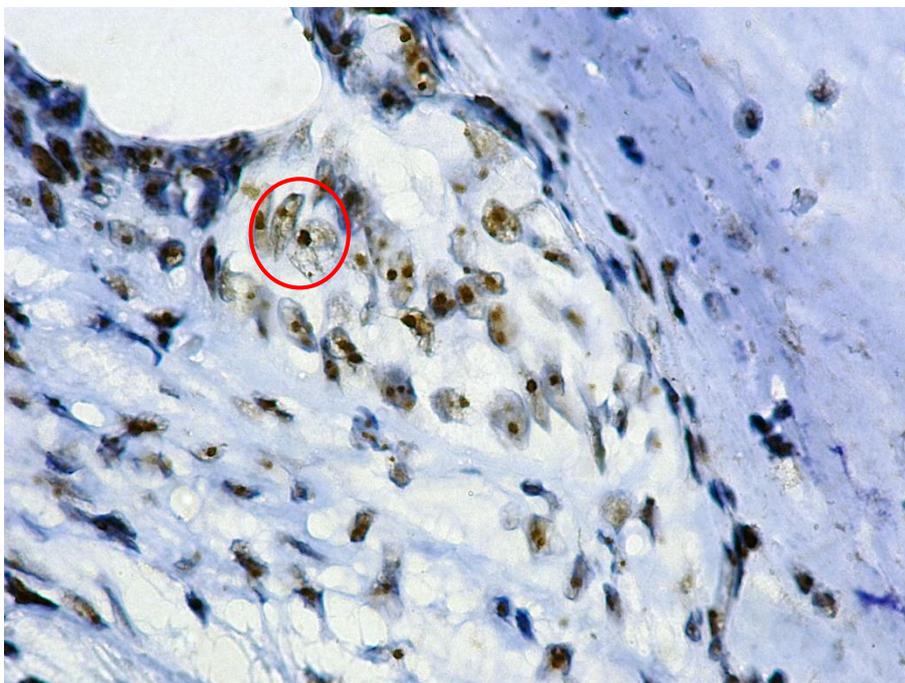


Рисунок 94 – NCL⁺ маркер в ядрышке (○). Смешанная опухоль с костной метаплазией (G1). Собака, порода лабрадор ретривер, 12 лет. ИГХ реакция на NCL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

При исследовании паттерна экспрессии NPM1 в аденокарциномах молочных желез было установлено, что этот маркер распределен в эпителиальном компоненте органа. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . При ядрышковом типе иммунореактивный материал распределялся в виде неровных округлых фрагментов бледно-коричневого цвета. В ядре визуализировались в количестве от одного до двух компартментов, располагавшихся в основном эксцентрично (рисунок 95).

Экспрессия маркера NPM1 в тубулярных аденокарциномах наблюдалась в эпителиальных клетках. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал распределялся в ядрышковых структурах в виде неровных округлых фрагментов плотного наложения белка от светло- до

темно-коричневого цвета. В ядре визуализировались одно – два ядрышка, размещенных в основном эксцентрично (рисунок 96).

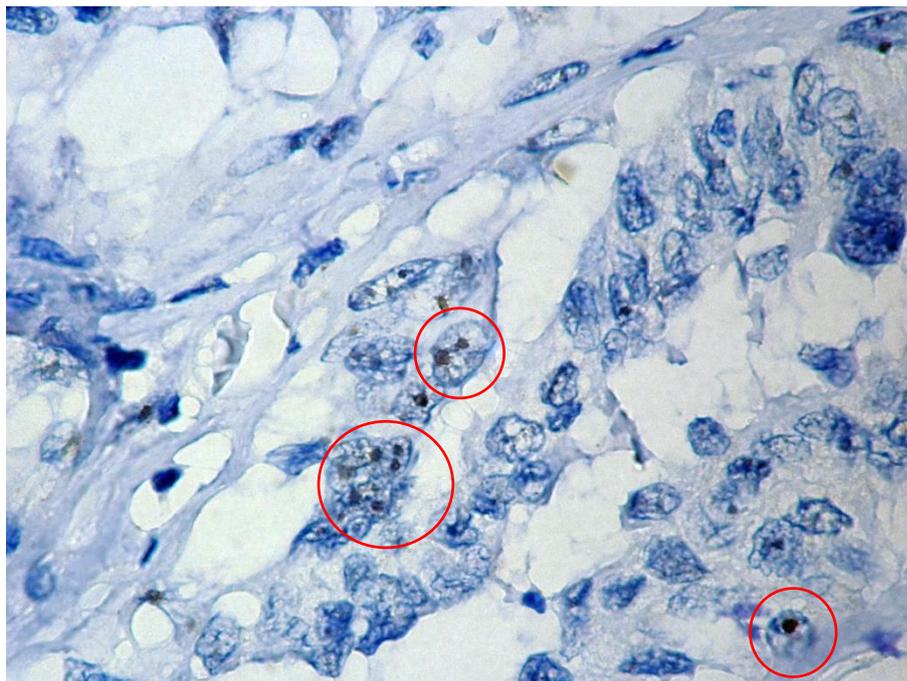


Рисунок 95 – NPM1⁺ маркер в ядрышках (○). Аденокарцинома (G1). Собака, порода ротвейлер, 12 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NPM1 в тубулярных карциномах наблюдалась в эпителиоцитах. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 10\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была слабая (+). Иммунореактивный материал имел ядрышковый тип распределения, был представлен микроструктурами с нечетко округлыми границами коричневого цвета. В ядре визуализировалось одно сдвинутое на периферию ядрышко (рисунок 97).

Экспрессия маркера NPM1 в папиллярных карциномах отмечалась в эпителиальном компоненте. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++). Иммунореактивный материал распределялся в ядрышковом компартменте и представлял собой неровные округлые фрагменты, гомогенно окрашенные в коричневый цвет. В ядре визуализировалось одно эксцентрично расположенное ядрышко (рисунок 98).

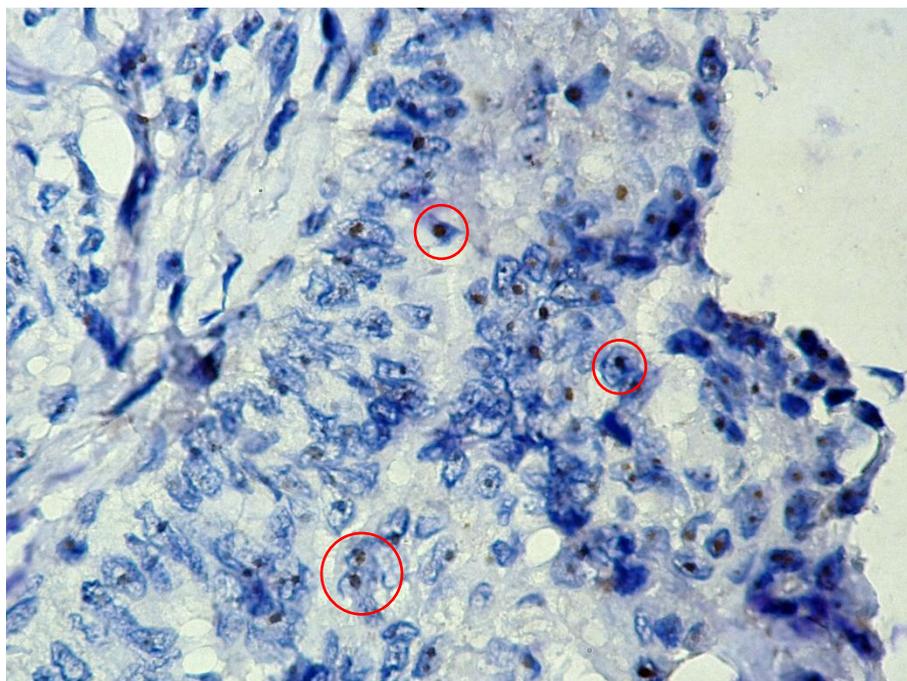


Рисунок 96 – NPM1⁺ маркер в ядрышках (○). Тубулярная аденокарцинома (G1). Собака, порода йоркширский терьер, 9 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

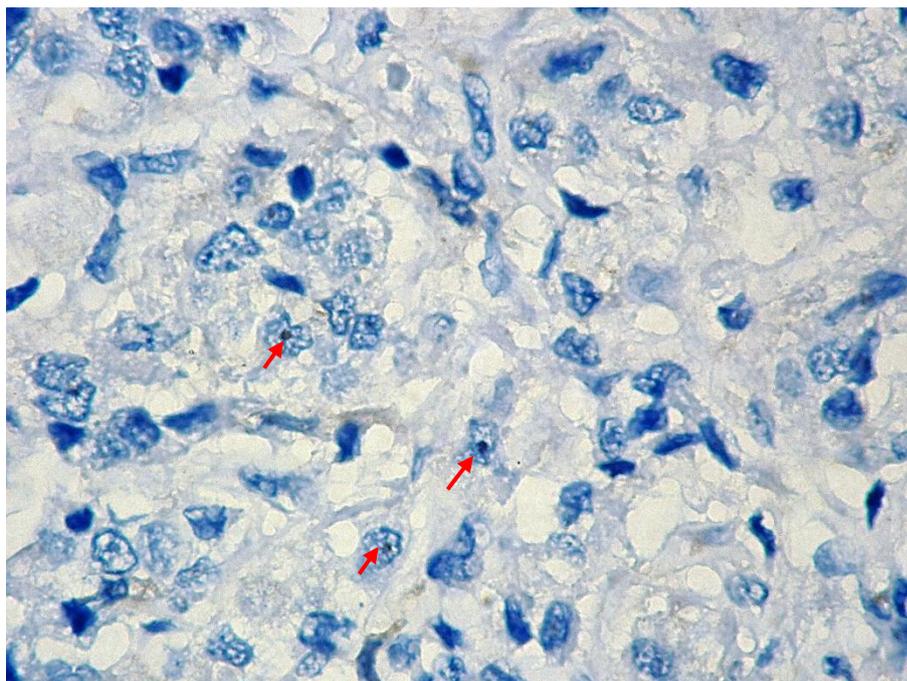


Рисунок 97 – NPM1⁺ маркер в ядрышках (↑). Тубулярная карцинома (G2). Собака, хаски, 9 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NPM1 в инвазивном раке неспецифического типа регистрировалась в эпителиальной выстилке. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была от

умеренной (++) до сильной (+++). Иммунореактивный материал отмечался в ядрышковом типе и представлял собой глыбчато-комковатые фрагменты с угловато округлой формой темно-коричневого цвета. В ядре визуализировались макроядрышки различного количества, размеров и расположения. Часто встречалось, что одно – два ядрышка были расположены в центральной части ядра, если первое имело крупный размер, то второе было маленькое. Реже отмечалось три – четыре ядрышка, близко расположенных друг к другу (рисунок 99).

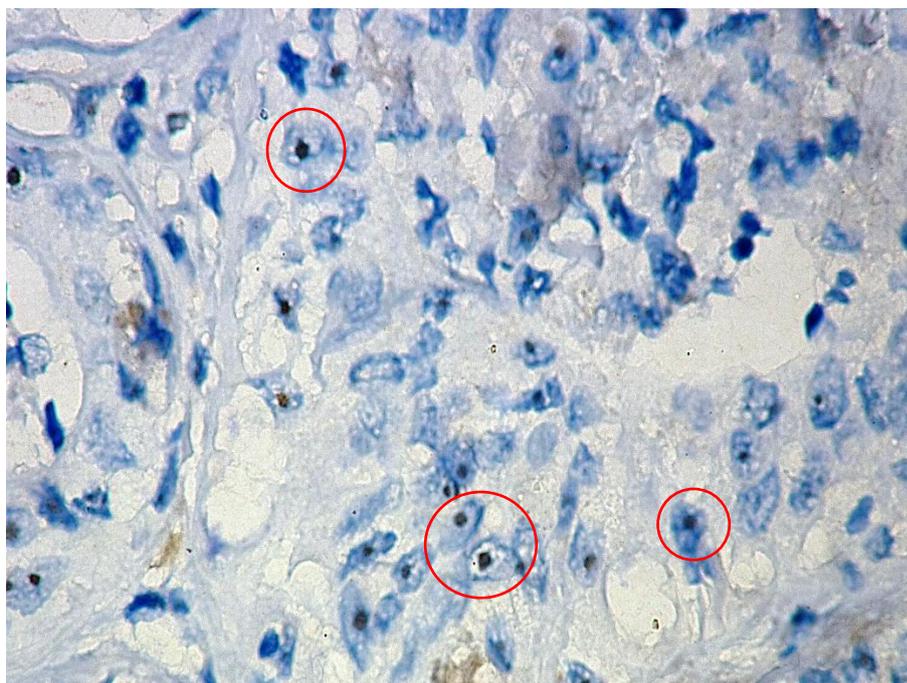


Рисунок 98 – NPM1⁺ маркер в ядрышках (○). Папиллярная карцинома (G2). Собака, порода померанский шпиц, 13 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия биомаркера NPM1 в плоскоклеточном раке отмечалась в эпителиальном компоненте. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессии маркера была от умеренной (++) до сильной (+++). Иммунореактивный материал локализовался в ядрышковом компартменте в виде округлых структур, гомогенно окрашенных в темно-коричневый цвет. В ядре отмечались одиночные крупные фрагменты, центрально расположенные. В некоторых клетках присутствовали округлые мелкие фрагменты в количестве от одного до двух, неупорядоченно расположенных по отношению друг к другу (рисунок 100).

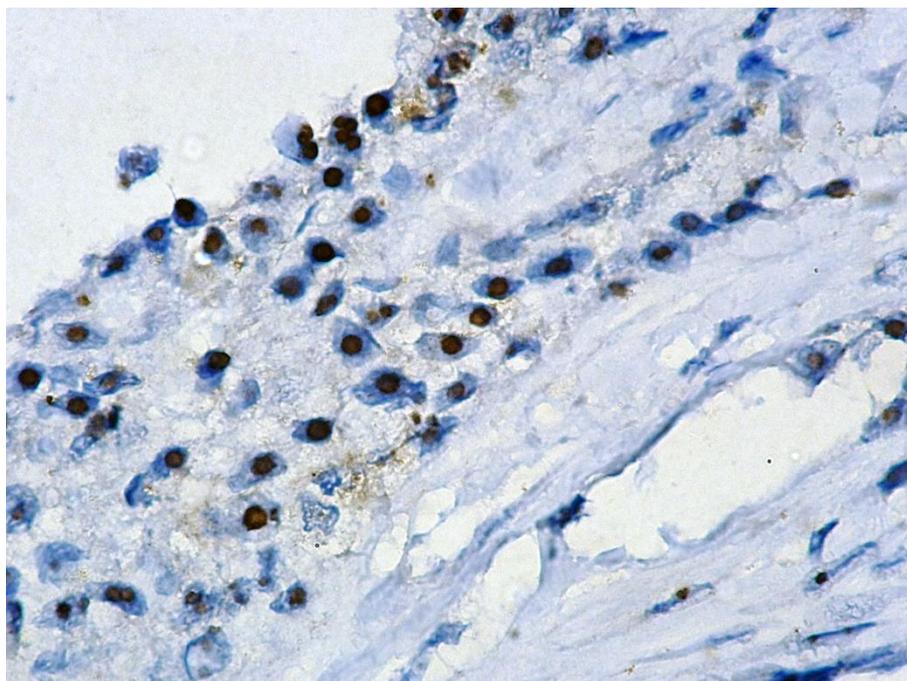


Рисунок 99 – NPM1⁺ маркер в ядрышках. Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Собака, порода йоркширский терьер, 12 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

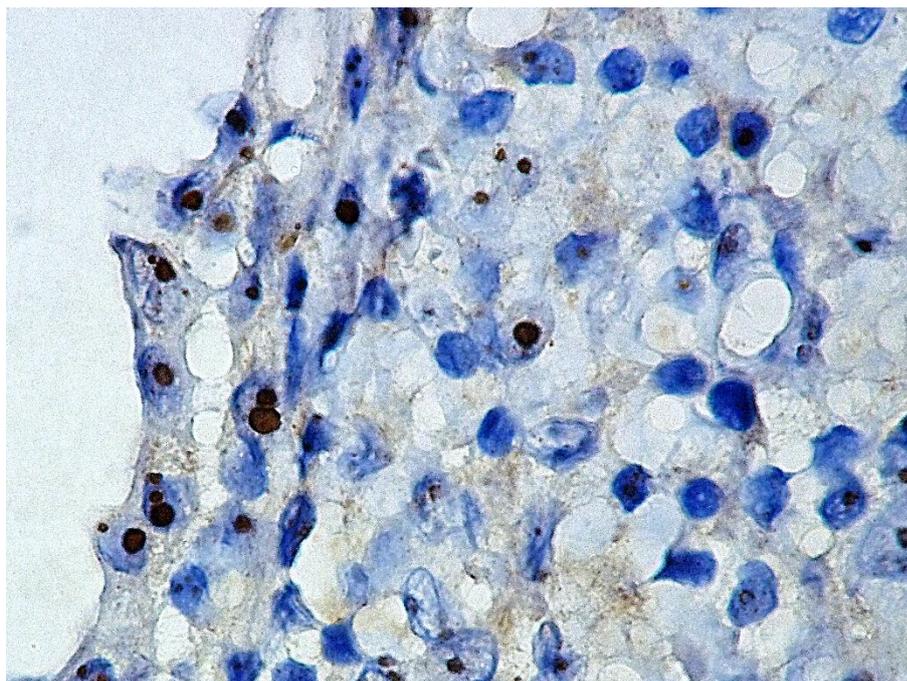


Рисунок 100 – NPM1⁺ маркер в ядрышках. Плоскоклеточный рак (G2). Собака, порода йоркширский терьер, 5 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NPM1 в карциноме смешанного типа регистрировалась в эпителиоцитах. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия маркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал имел ядрышковую локализацию с

неправильной округлой формой фрагментов, с четкими границами и плотным окрашиванием темно-коричневого цвета. В клетках отмечались переменные формы от одного крупного в центре, до мелких округлых частиц, хаотично расположенных по ядру. В единичных ядрах визуализировались мелкозернистые рассыпчатые структуры в перинуклеарной зоне, или по всей кариоплазме (рисунок 101).

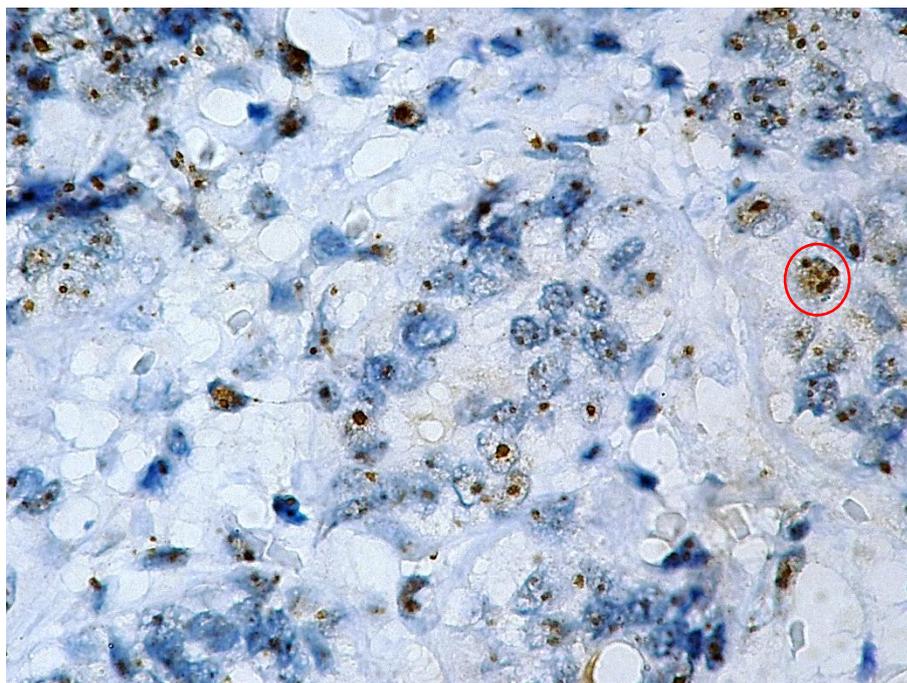


Рисунок 101 – NPM1⁺ маркер в кариоплазме (○). Карцинома смешанного типа (G2). Собака, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера NPM1 в смешанных опухолях с хрящевой и костной метаплазией отмечалась в эпителиоцитах, миоэпителиальных клетках и клетках фибробластического типа. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал локализовался в ядрышковой зоне в виде глыбчато-комковатых фрагментов с округло-угловатой формой от светло- до темно-коричневого окрашивания. В ядрах наблюдались от одной крупной структуры, размещенной по периферии, до мелких от трех до четырёх включений, расположенных неупорядоченно. Обычно, если присутствовало одно макроядрышко, то два других обязательно были мелкими.

В миоэпителиальных клетках по центру визуализировались гомогенные один – два гомогенных фрагмента комковато-округлой структуры.

В клетках фибробластического дифферона фрагменты были представлены в виде округлых комковатых структур темно-коричневого цвета, в количестве одного – двух, расположенных в центральной части, либо на периферии вытянутого ядра (рисунок 102).

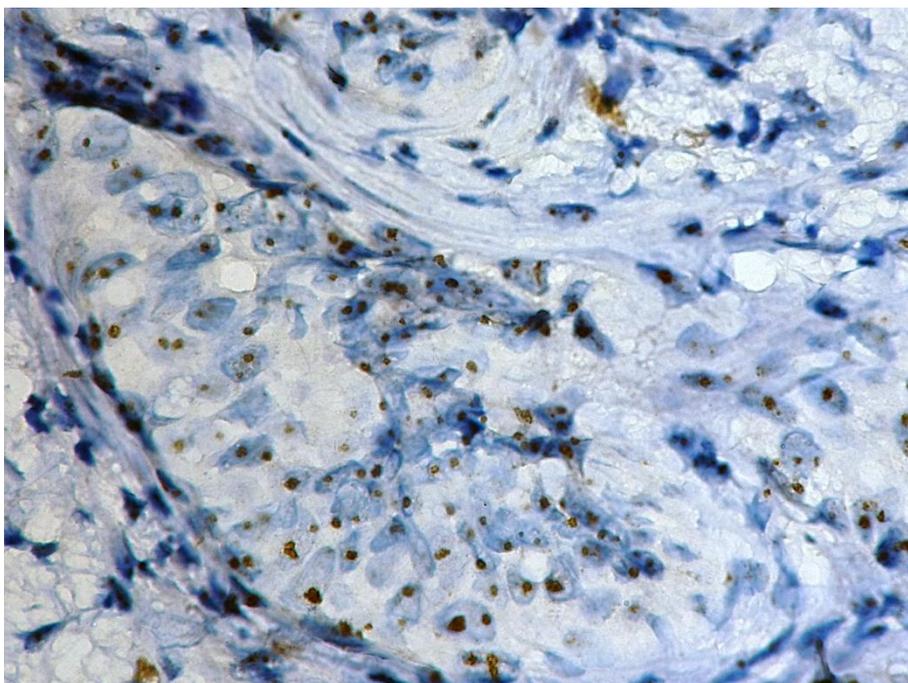


Рисунок 102 – NPM1⁺ маркер в ядрышках. Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией (G1). Собака, порода такса, 12 лет. ИГХ реакция на NPM1. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

При исследовании паттерна экспрессии FBL в аденокарциномах молочных желез было установлено, что маркер отмечался в эпителиальном компоненте. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал распределялся в цитоплазматической зоне в виде мелкозернистых включений светло-коричневого цвета, он равномерно заполнял всю площадь клетки (рисунок 103).

Экспрессии маркера FBL в тубулярных аденокарциномах отмечался в эпителиальном и миоэпителиальном компоненте. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал в миоэпителиальных клетках

распределялся в ядерной зоне неравномерно в кариоплазме в виде мелкогранулярных структур с нечетко округлой формой коричневого цвета. В эпителиоцитах отмечался цитоплазматический тип, характеризующийся мелкозернистыми включениями светло-коричневого цвета, занимающих тотально всю ее площадь (рисунок 104).

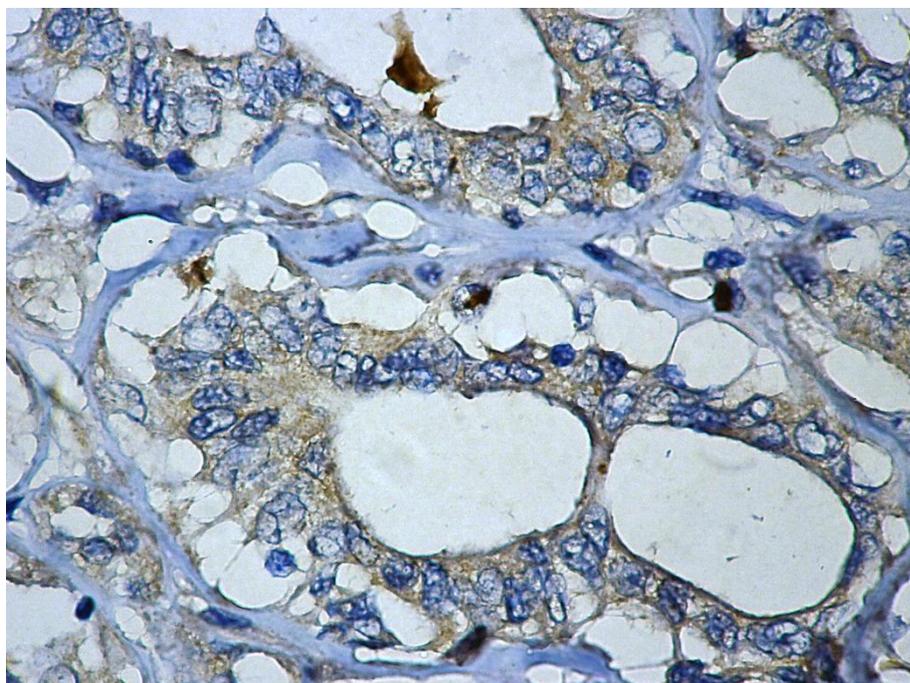


Рисунок 103 – FBL⁺ маркер в цитоплазме. Аденокарцинома (G1). Собака, порода китайская хохлатая, 8 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

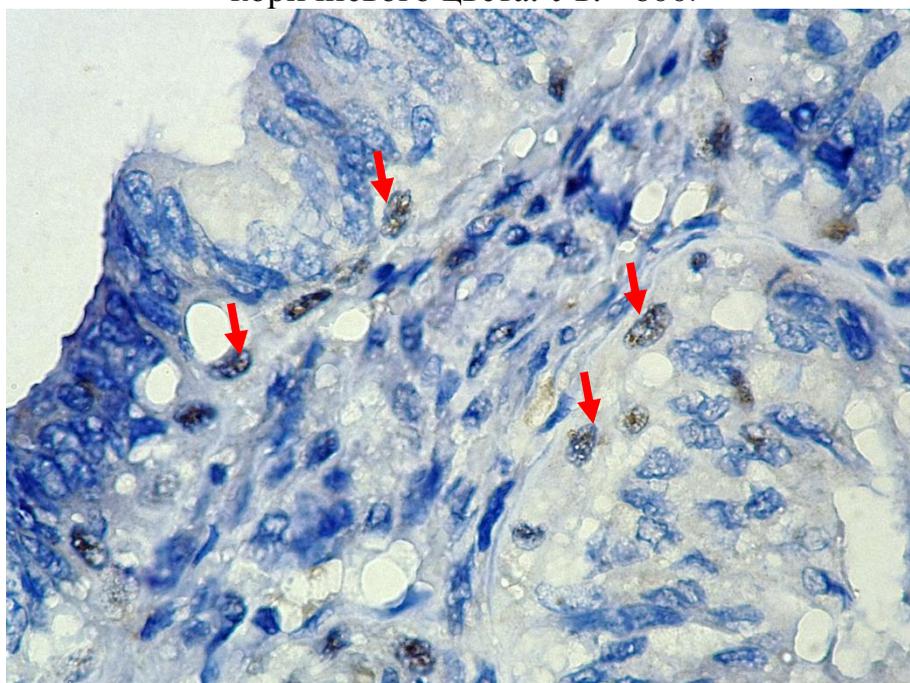


Рисунок 104 – FBL⁺ маркер в миоэпителиальных клетках (↑). Тубулярная аденокарцинома (G1). Собака, порода английский кокер спаниель, 8 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера FBL в тубулярных карциномах распределялась в эпителиальной выстилке молочной железы. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была высокая (+++). Иммунореактивный материал отмечался в цитоплазматической зоне в виде мелкоглыбчатых включений с нечеткими границами, повсеместно заполняющими, или образующими скопления темно-коричневого оттенка в ее структурах (рисунок 105).

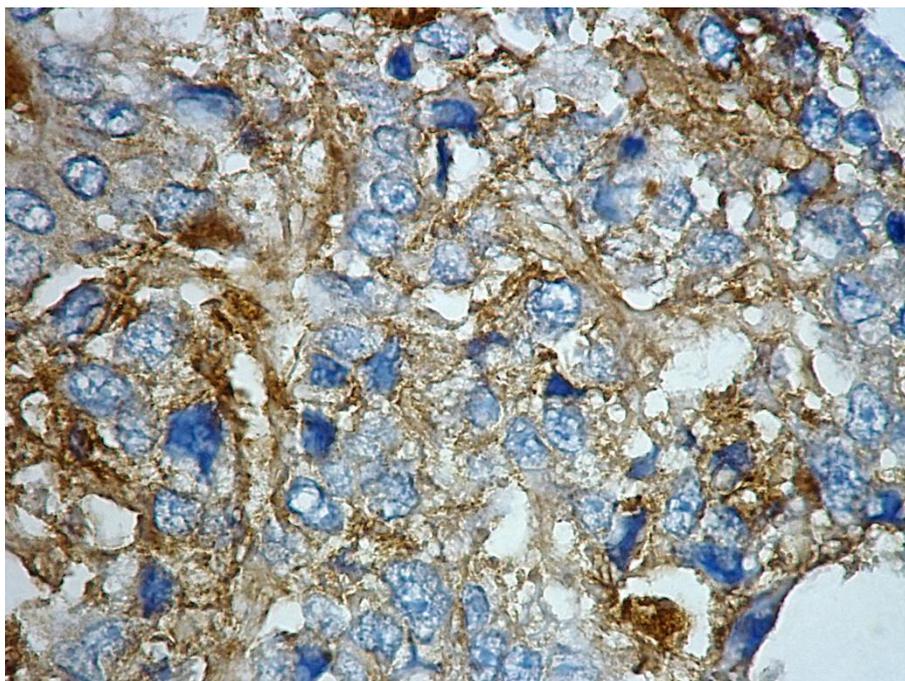


Рисунок 105 – FBL⁺ маркер. Тубулярная карцинома (G2). Собака, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Паттерн экспрессии маркера FBL в папиллярных карциномах обнаруживался в эпителиальных и миоэпителиальных клетках. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++). Иммунореактивный материал в эпителиальных клетках распределялся в цитоплазматическом пространстве в виде пылевидно-гомогенных включений, тотально заполняющих всю ее площадь. В миоэпителиальных клетках паттерн имел интенсивное окрашивание коричневого цвета в виде мелкогранулярных фрагментов с переменными формами и четкими границами, расположенными хаотично по

кариоплазме, либо сконцентрированными на ядерной мембране, с четкой визуализацией одного ядрышка коричневого цвета (рисунок 106).

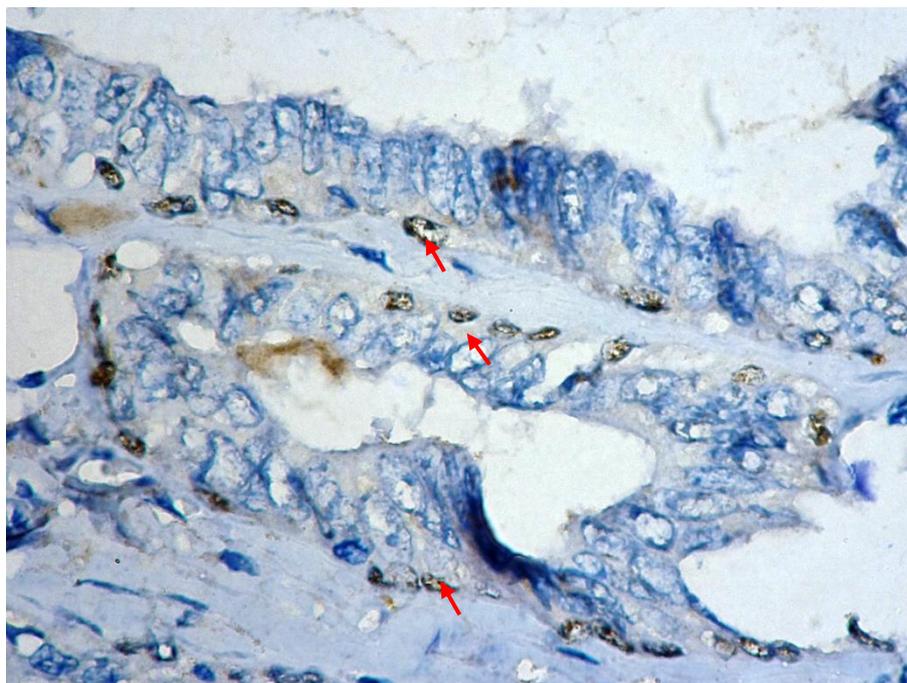


Рисунок 106 – FBL⁺ маркер в миоэпителиальных клетках (↑). Папиллярная карцинома (G2). Собака, порода русский спаниель, 4 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера FBL в инвазивном раке неспецифического типа отмечалась в эпителиальных клетках молочной железы. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал распределялся в ядерной зоне в виде мелко-глыбчатых фрагментов темно-коричневого цвета округло-угловатой формы, расположенных тотально в кариоплазме, окружая ядрышко голубого оттенка (рисунок 107).

Паттерн экспрессии маркера FBL в плоскоклеточном раке отмечался в эпителиальных и в клетках фибробластического дифферона. Иммунопозитивные участки занимали $\leq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была от умеренной (++) до сильной (+++). Иммунореактивный материал имел цитоплазматический и ядерный тип локализации. В эпителиальных клетках первый тип визуализировался пылевидно-гомогенными фрагментами, равномерно распределенными по клеточному субстрату. В миофибробластах экспрессия маркера была

интенсивная, что выражалось выпадением темно-коричневых мелкозернистых гранул в цитоплазму клеток. Ядерный тип характеризовался наличием глыбчатых структур вариательной формы темно-коричневого цвета, располагавшихся хаотичным образом по кариоплазме (рисунок 108).

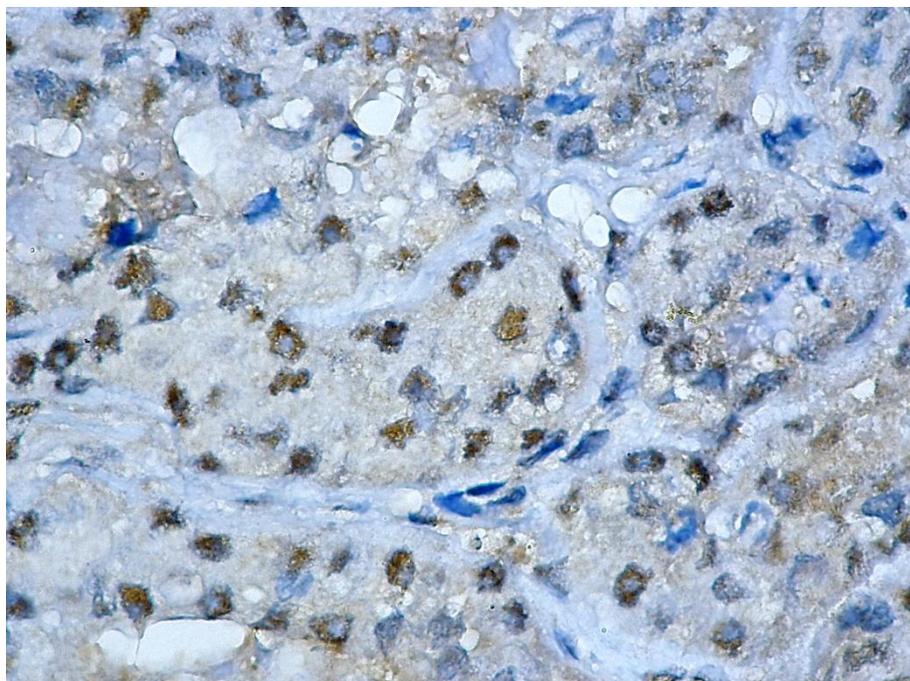


Рисунок 107 – FBL⁺ маркер. Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Собака, порода немецкая овчарка, 13 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

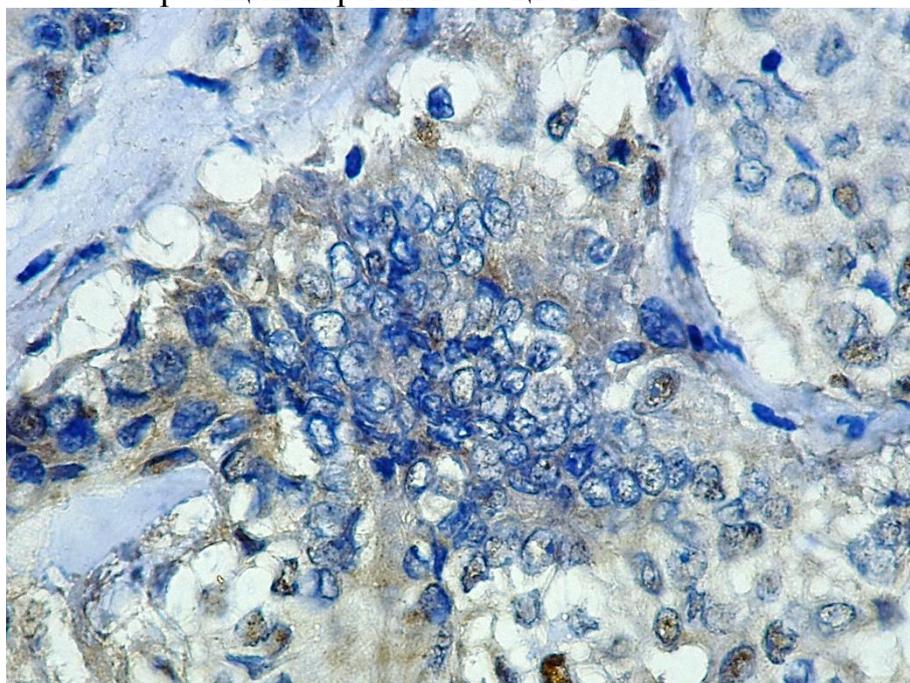


Рисунок 108 – FBL⁺ маркер. Плоскоклеточный рак (G2). Собака, порода йоркширский терьер, 5 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера FBL в карциномах смешанного типа регистрировалась в эпителиальных клетках и в клетках фибробластического дифферона. Иммунопозитивные участки занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была от умеренной (++) до сильной (+++). Иммунореактивный материал имел цитоплазматический и ядерный тип локализации. В эпителиальных клетках визуализировалась цитоплазматическая реакция в виде пылевидно-гомогенных фрагментов, тотально заполняющих всю площадь клетки.

В клетках фибробластического дифферона также просматривался цитоплазматический тип распределения в виде выпадения мелкозернистых гранул с четкими округлыми границами темно-коричневого цвета. В отдельных клетках присутствовал ядерный тип, характеризующийся наложением белка в виде плотно-комковатых фрагментов темно-коричневого цвета без четкой визуализации ядрышка (рисунок 109).

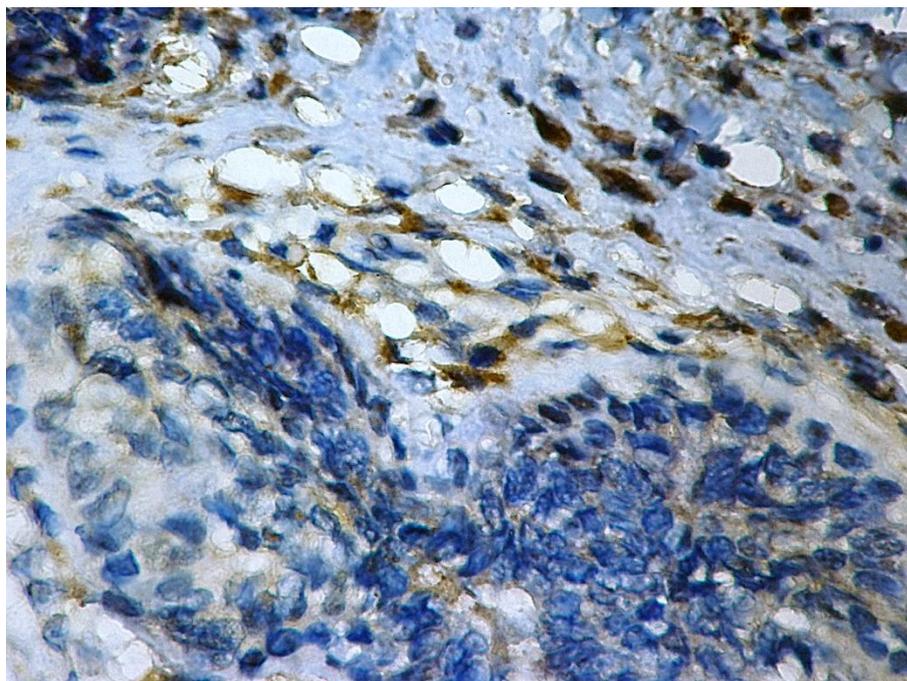


Рисунок 109 – FBL⁺ маркер. Карцинома смешанного типа (G2). Собака, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Экспрессия маркера FBL в смешанных опухолях с хрящевой и костной метаплазией отмечалась в плеоморфном эпителиальном компоненте и в клетках фибробластического дифферона. Иммунопозитивные участки

занимали $\geq 50\%$ от общей площади материала, экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал распределялся в цитоплазматической зоне в виде пылевидно-гомогенных фрагментов, тотально заполняющих всю площадь клетки. В отдельных клетках отмечался ядрышковый тип локализации в виде глыбчатых включений неправильной округлой формы темно-коричневого цвета (рисунок 110).

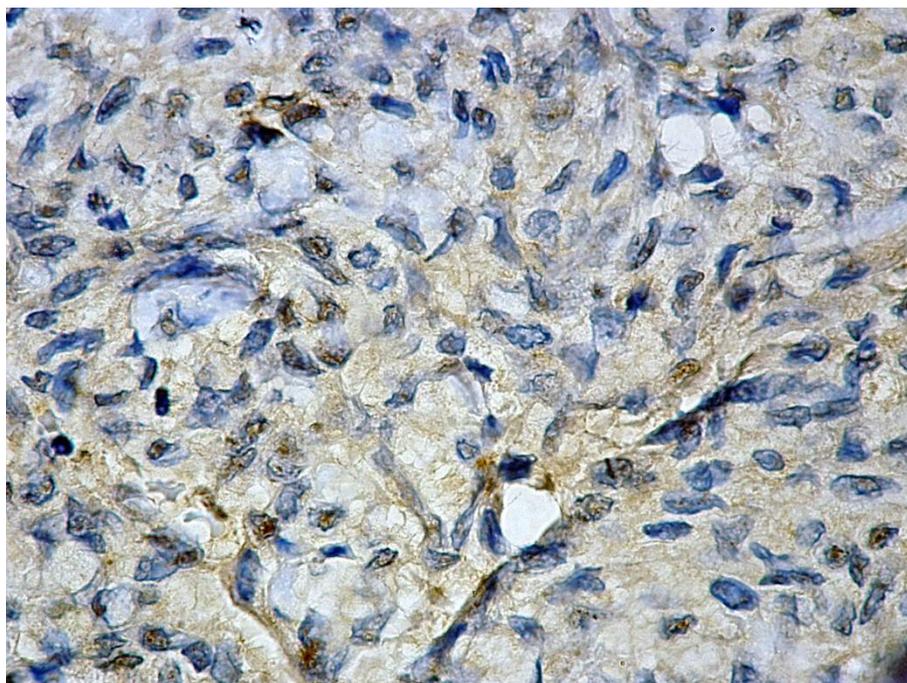


Рисунок 110 – FBL⁺ маркер. Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией. Собака, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на FBL. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

При исследовании паттерна экспрессии VIM в аденокарциномах молочных желез было установлено, что маркер отмечался в миоэпителиальных, фибробластоподобных и в клетках эндотелиальной выстилке сосудов. Экспрессия этого биомаркера была от умеренной (++) до высокой (+++). Иммунореактивный материал распределялся в цитоплазматической зоне в виде мелко гранулярных структур четкой округлой формы от светло-коричневого до темного оттенка, заполняющих тотально всю ее площадь. В отдельных эпителиальных клетках отмечалось наличие паттерна в виде мелкозернистых включений, равномерно распределенных по цитоплазматическому субстрату (рисунок 111).



Рисунок 111 – VIM⁺ маркер в миоэпителиальной клетке (○). Аденокарцинома (G2). Собака, беспородная, 12 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера VIM в тубулярных аденокарциномах молочных желез отмечалась в клетках фибробластического дифферона и в эндотелиальной выстилке сосудов. Экспрессия биомаркера была высокой степени (+++). Иммунореактивный материал визуализировался в вытянутой цитоплазматической зоне в виде мелко глыбчатых структур с округло-угловатой формой темно-коричневого цвета, тотально заполняющих ее структуру (рисунок 112).

Паттерн экспрессии маркера VIM в тубулярных карциномах регистрировался в отдельных клетках фибробластического дифферона и в эндотелиальной выстилке сосудов. Экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал имел цитоплазматическую локализацию в виде пылевидно-рассеянных мелкозернистых структур песчаного цвета.

Экспрессия маркера VIM в папиллярных карциномах визуализировалась в большинстве клеток фибробластического дифферона и в эндотелиальной выстилке сосудов. Экспрессия биомаркера была высокой (+++). Иммунореактивный материал имел цитоплазматический тип, характеризующийся выпадением белка в виде мелко гранулярных структур

чёткой округлой формы коричневого цвета, тотально занимающих всю ее площадь (рисунок 113).

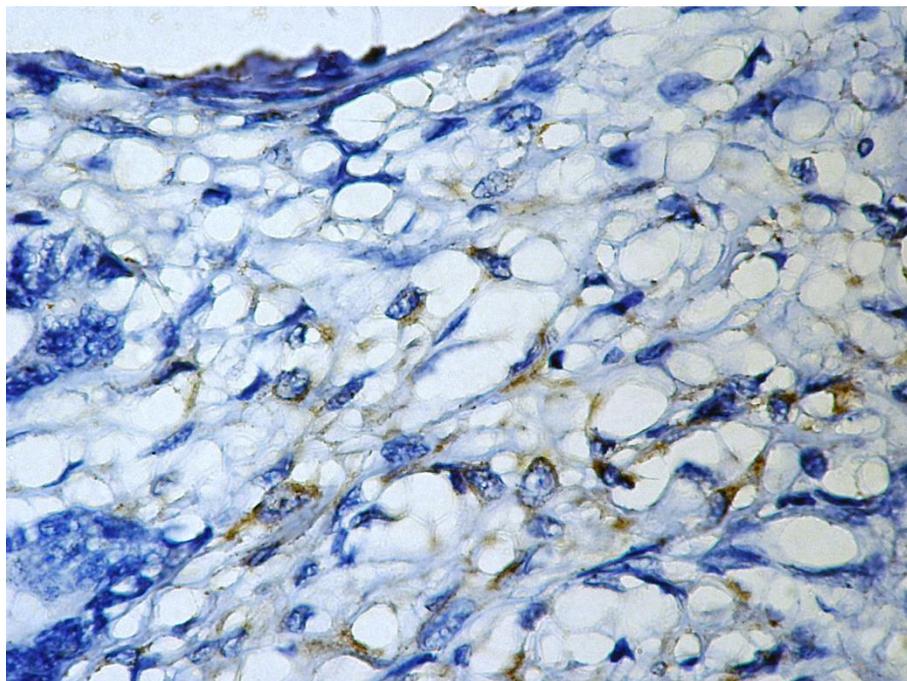


Рисунок 112 – VIM⁺ маркер в фибробластах. Тубулярная аденокарцинома (G2). Собака, беспородная, 9 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

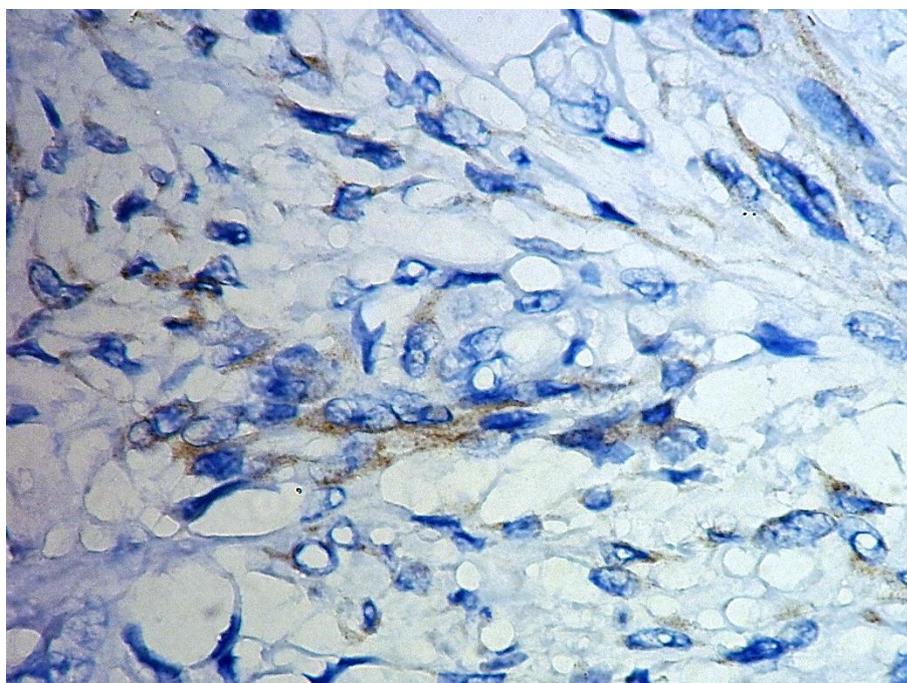


Рисунок 113 – VIM⁺ маркер в фибробластах. Папиллярная карцинома (G2). Собака, порода русский спаниель, 4 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Паттерн экспрессии маркера VIM в инвазивном раке неспецифического типа отмечался в клетках фибробластического дифферона и эндотелиальных клетках. Экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал в фибробластах отмечался в цитоплазматической зоне в виде мелкозернистых светло-коричневых фрагментов, пылевидно распределённых в веретенообразных структурах клеток (рисунок 114).

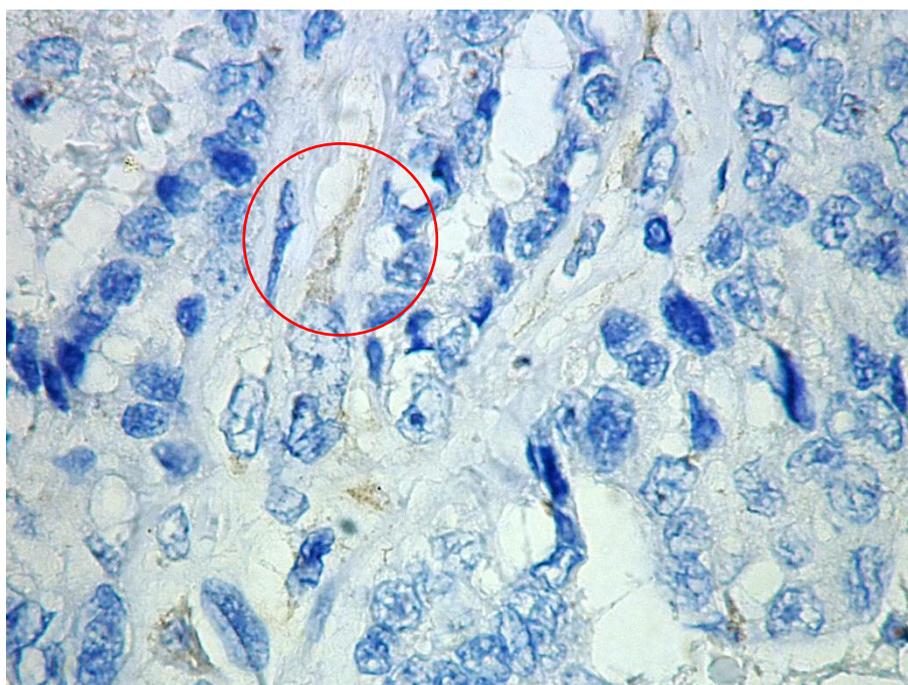


Рисунок 114 – VIM⁺ маркер в фибробластах (○). Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Собака, порода немецкая овчарка, 13 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера VIM в плоскоклеточном раке визуализировалась в клетках фибробластического дифферона, в эндотелиальных и некоторых эпителиальных. Экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал в эпителиальных клетках имел цитоплазматический тип в виде гомогенно-пылевидных частиц, местами обнаруживаются мелкозернистые округлые включения коричневого цвета, тотально заполняющих всю площадь клетки (рисунок 115).

Экспрессия маркера VIM в карциномах смешанного типа отмечалась в клетках фибробластического дифферона, в эндотелиальных и миоэпителиальных клетках. Экспрессия биомаркера была от умеренной (++) до высокой (+++) степени. Иммунореактивный материал визуализировался в цитоплазматической зоне в виде распыленных светло-коричневых округлых

гранул, тотально заполняющих всю ее структуру. В отдельных клетках отмечалась интенсивная экспрессия в виде глыбчато-комковатых фрагментов черно-коричневого цвета, перекрывающих структуры ядра (рисунок 116).

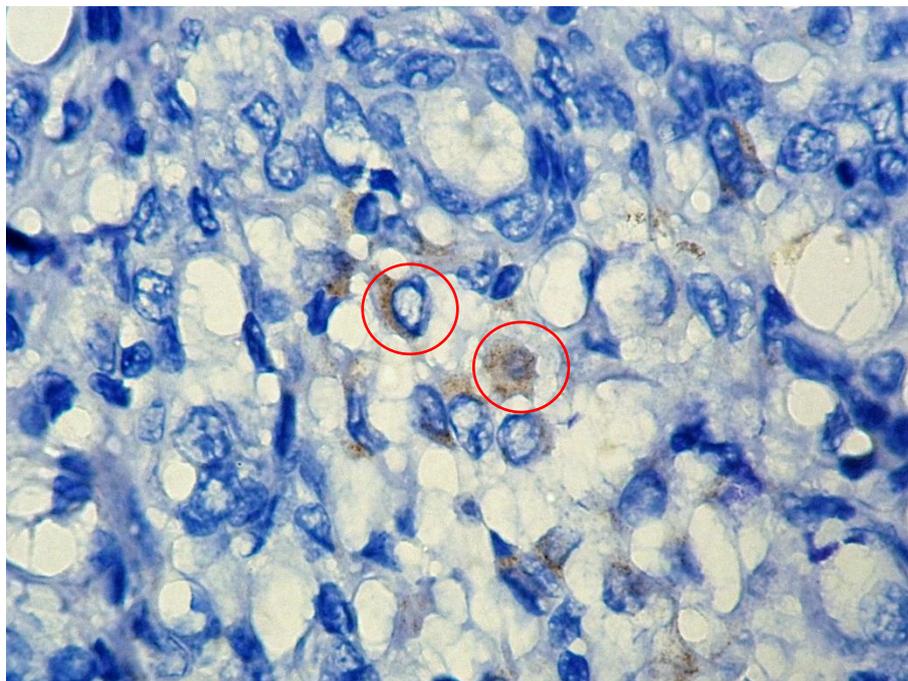


Рисунок 115 – VIM⁺ маркер в эпителиальных клетках (○). Плоскоклеточный рак (G1). Собака, порода бишон фризе, 6 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

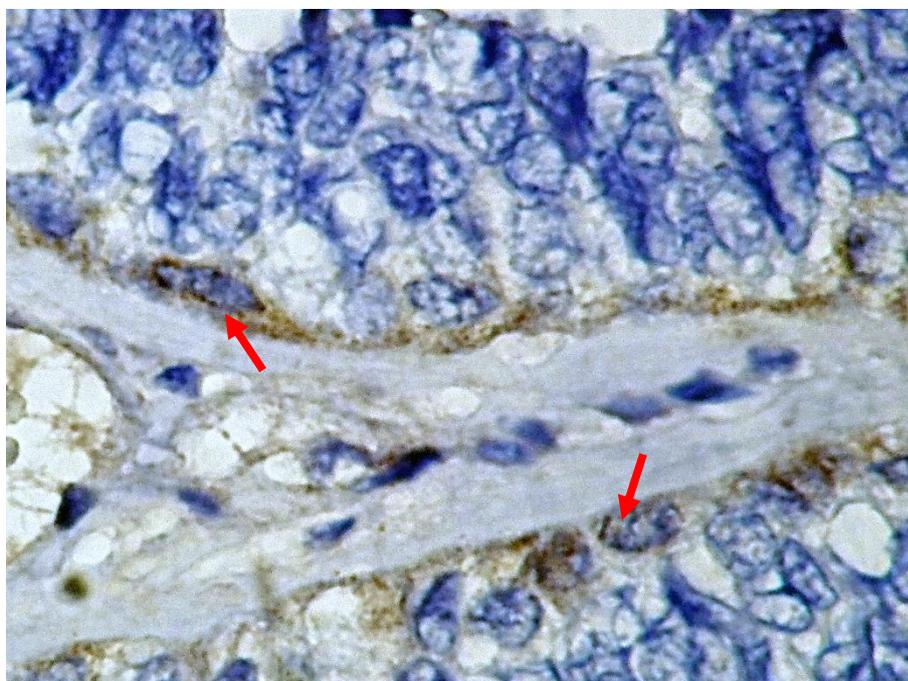


Рисунок 116 – VIM⁺ маркер в миоэпителиальных клетках (↑). Карцинома смешанного типа (G2). Собака, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Паттерн экспрессии маркера VIM в смешанных опухолях с хрящевой метаплазией наблюдался в клетках фибробластического дифферона, в эндотелиальных и миоэпителиальных клетках. Экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал в интерстициальных миоэпителиальных клетках распределялся в цитоплазматической зоне в виде громоздких глыбчатых гранул темно-коричневого цвета, плотно наложенных друг на друга и заполняющих все ее пространство (рисунок 117).

Экспрессия маркера VIM в смешанных опухолях с костной метаплазией наблюдалась в клетках фибробластического дифферона, в эндотелиальных и миоэпителиальных клетках. Экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал в фибробластах был расположен в цитоплазматической зоне в виде глыбчатых гранул вариабельной формы черно-коричневого цвета, спрессованных между собой. Фрагменты покрывали всю площадь цитоплазмы, выделяя ее множественные отростки, что создает впечатление звездчатой формы (рисунок 118).

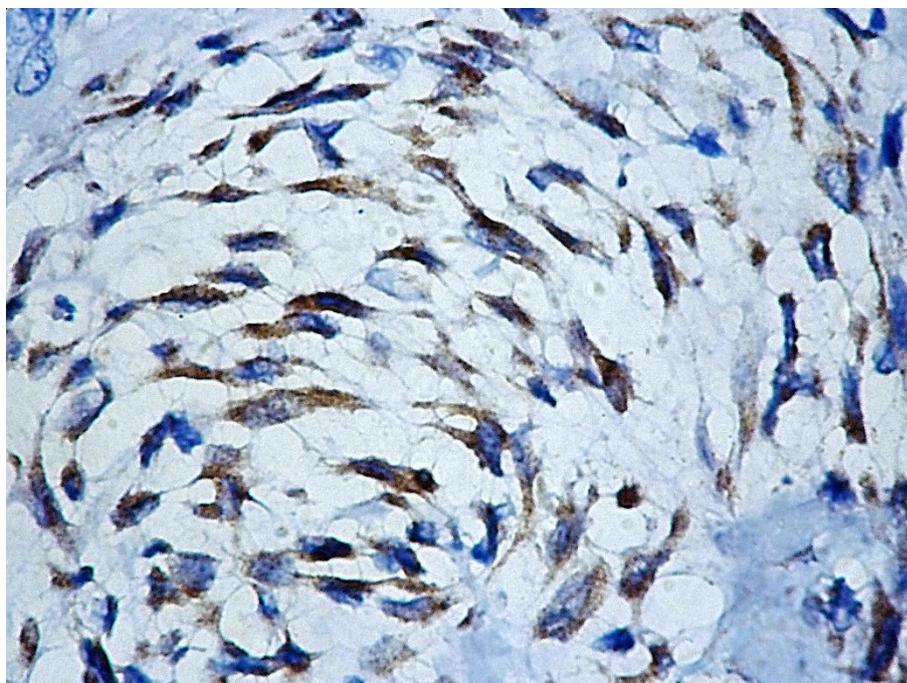


Рисунок 117 – VIM⁺ маркер в веретенообразных миоэпителиальных клетках. Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией (G1). Собака, порода такса, 12 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

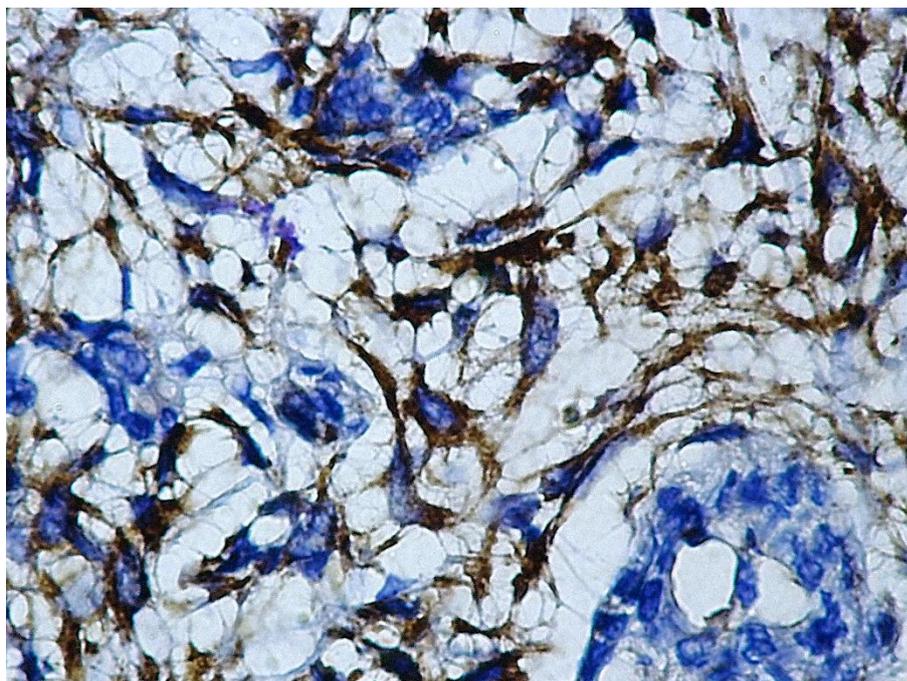


Рисунок 118 – VIM⁺ маркер в звездчатых миоэпителиальных клетках. Смешанная опухоль с костной метаплазией (G1). Собака, порода лабрадор ретривер, 12 лет. ИГХ реакция на VIM. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

При исследовании паттерна экспрессии α -SMA в аденокарциномах и тубулярных аденокарциномах молочных желез установили, что маркер локализовался в миофибробластах, миоэпителиальных и эндотелиальных клетках. Экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал в миоэпителиальных клетках распределялся в виде мелкозернистых структур светло-коричневого цвета, распыленных по всей ее структуре (рисунок 119).

Экспрессии маркера α -SMA в тубулярных карциномах отмечалась в клетках эндотелиальной выстилки сосудов. Регистрируется сильная (+++) экспрессия биомаркера. Иммунореактивный материал в эндотелиальных клетках визуализируется в виде крупных гранул округлой формы темно-коричневого цвета, плотно расположенных по всей ее структуре (рисунок 120).

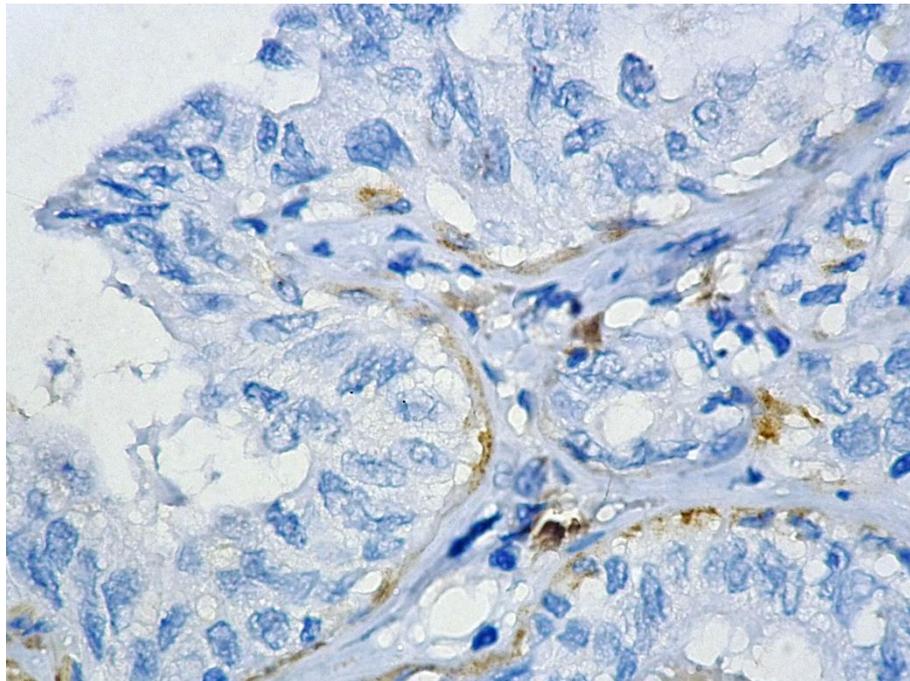


Рисунок 119 – α -SMA⁺ маркер в миоэпителиальных клетках. Аденокарцинома (G2). Собака, беспородная, 8 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Экспрессии маркера α -SMA в тубулярных карциномах отмечается в клетках эндотелиальной выстилке сосудов. Экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал в эндотелиальных клетках распределялся в виде крупных гранул округлой формы темно-коричневого цвета, плотно расположенных по всей ее структуре (рисунок 120).

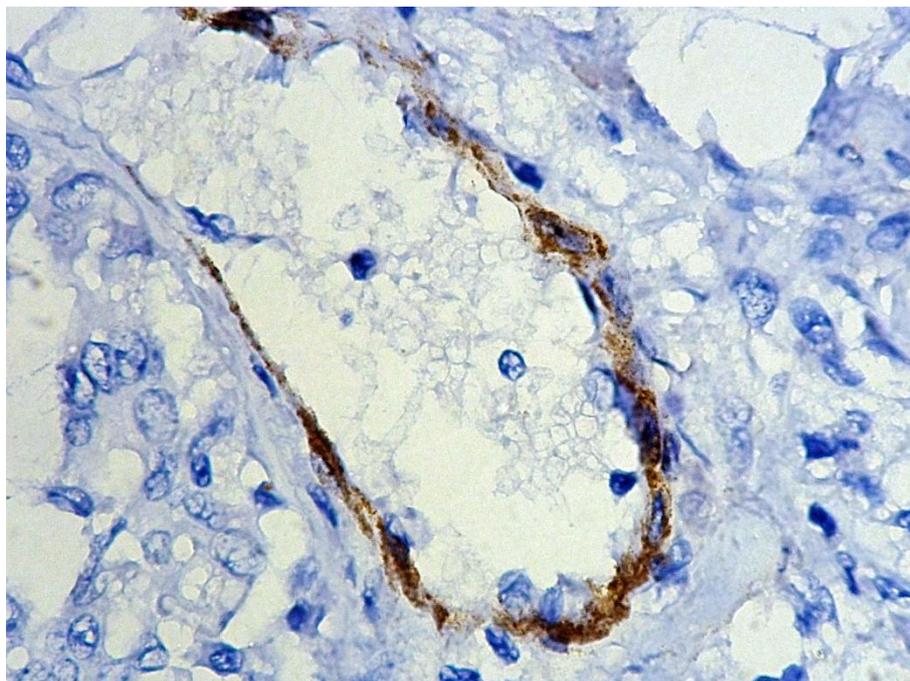


Рисунок 120 – α -SMA⁺ маркер в эндотелиальных клетках. Тубулярная карцинома (G2). Собака, порода хаски, 9 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Паттерн экспрессии маркера α -SMA в папиллярных карциномах отмечался в клетках эндотелиальной выстилке сосудов, миофибробластах и миоэпителиальных клетках. Экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал в миоэпителиальных клетках распределялся в виде мелкозернистых фрагментов с четкой округлой формой светло-коричневого цвета, равномерно расположенных в ее структуре (рисунок 121).

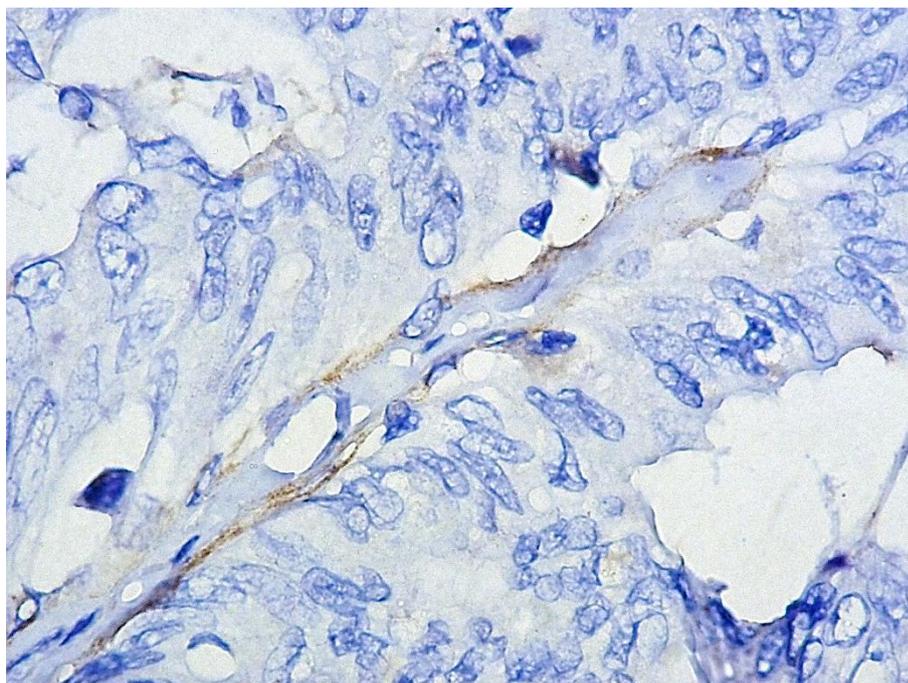


Рисунок 121 – α -SMA⁺ маркер в миоэпителиальных клетках. Папиллярная карцинома (G2). Собака, порода русский спаниель, 4 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Экспрессии маркера α -SMA в инвазивном раке неспецифического типа наблюдалась в миофибробластах, эндотелиальных и миоэпителиальных клетках. Экспрессия биомаркера была от умеренной (++) до сильной (+++). Иммунореактивный материал в миоэпителиальных клетках распределялся в виде крупнозернистых фрагментов с четкой округлой формой темно-коричневого цвета, равномерно расположенных в цитоплазматической субстанции (рисунок 122).

Паттерн экспрессии маркера α -SMA в плоскоклеточном раке отмечался в эндотелиальных клетках. Экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал в эндотелиальных клетках распределялся в виде

мелкозернистых фрагментов с четкой округлой формой светло-коричневого цвета, пылевидно расположенных в цитоплазме.

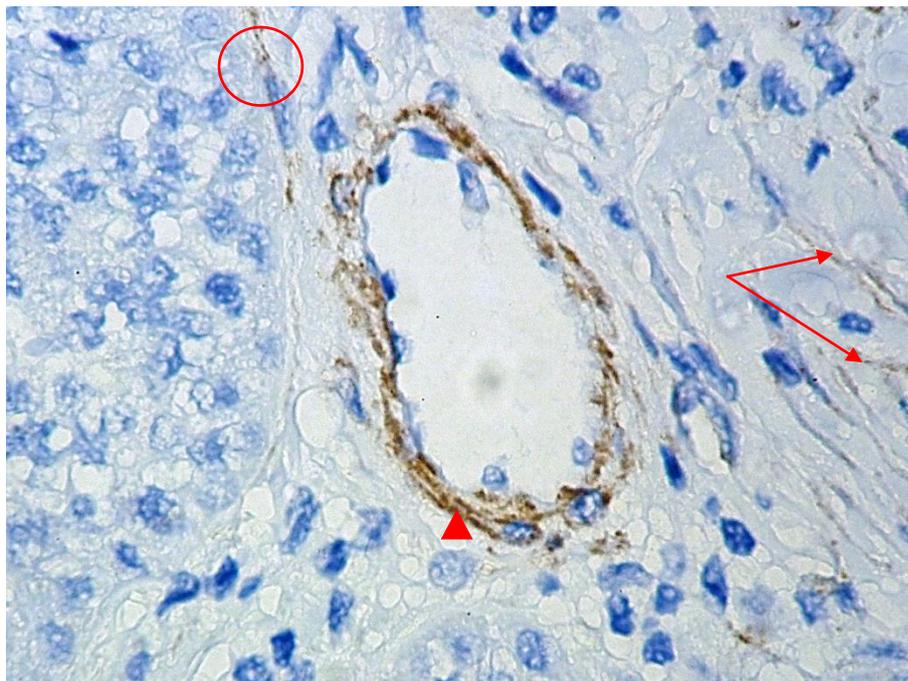


Рисунок 122 – α -SMA⁺ маркер в миофибробластах (\uparrow), эндотелиальных (\blacktriangle) и миоэпителиальных (\circ) клетках. Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Собака, порода джек-рассел-терьер, 8 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$.

Экспрессии маркера α -SMA в карциномах смешанного типа отмечалась в миофибробластах, эндотелиальных и миоэпителиальных клетках. Экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал в клетках распределялся в виде мелкозернистых фрагментов округлой формы светло-коричневого цвета, равномерно расположенных в цитоплазме (рисунок 123).

Паттерн экспрессии маркера α -SMA в смешанных опухолях с хрящевой и костной метаплазией наблюдался в миофибробластах, эндотелиальных, миоэпителиальных клетках. Экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал миоэпителиальных клетках распределялся в виде гранулярных фрагментов четкой округлой формы темно-коричневого цвета, тотально расположенных по вытянутой цитоплазме (рисунок 124).

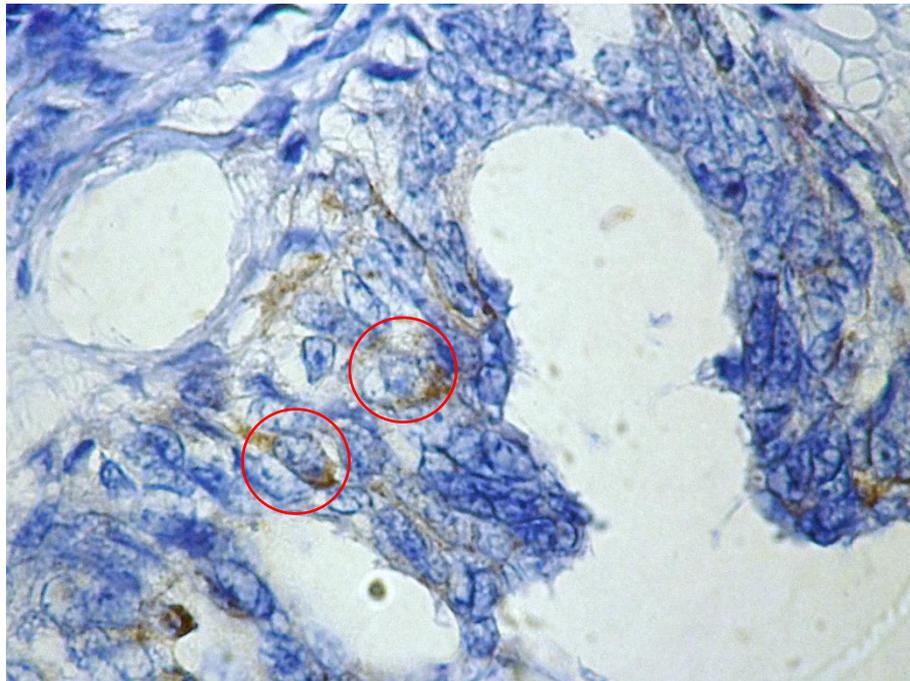


Рисунок 123 – α -SMA⁺ маркер в миоэпителиоцитах (○). Карциномах смешанного типа (G2). Собака, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$

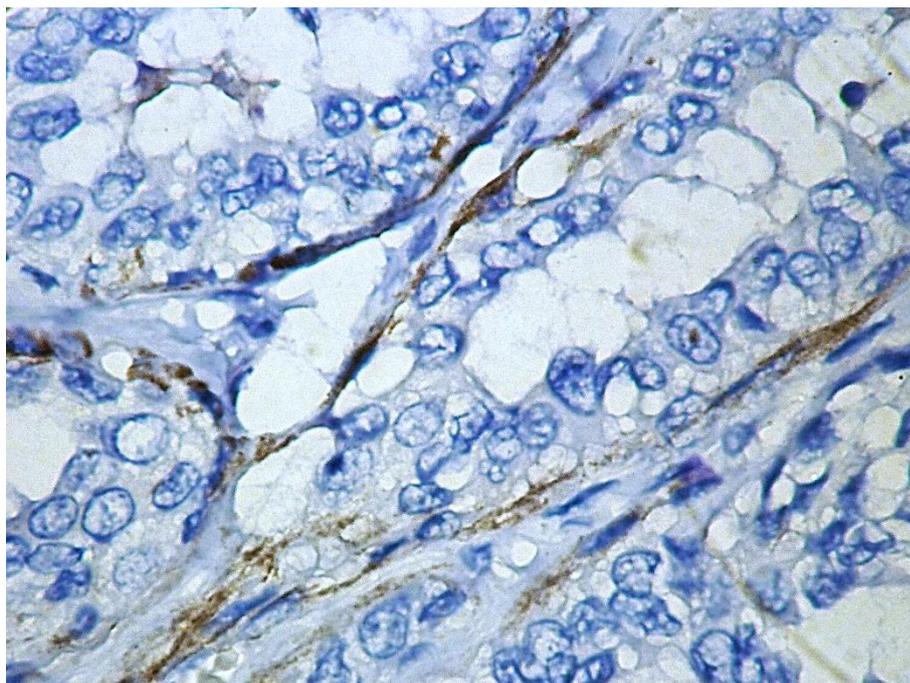


Рисунок 124 – α -SMA⁺ маркер в миоэпителиальных клетках. Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией (G1). Собака, порода такса, 12 лет. ИГХ реакция на α -SMA. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. $\times 600$

При исследовании экспрессии маркера HMWCK в аденокарциномах и тубулярных аденокарциномах установили, что паттерн локализовался в базальных эпителиоцитах и миоэпителиальных клетках. Экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал в клетках

распределялся в цитоплазматической зоне, визуализировался в виде мелкогранулярных фрагментов с четкой округлой формой горчичного цвета, расположенных тотально по всей площади клетки (рисунок 125).

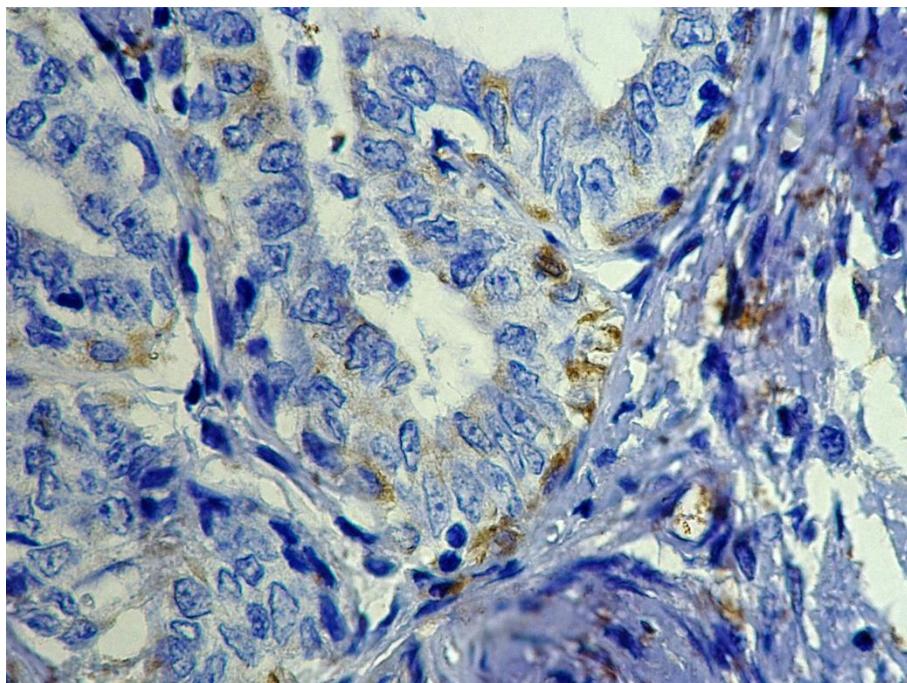


Рисунок 125 – НМWСК + маркер. Тубулярная аденокарцинома (G2). Собака, беспородная, 12 лет. ИГХ реакция на НWMCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Паттерн НМWСК в тубулярных карциномах отмечался в эпителиальных клетках, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал в видоизмененных эпителиальных клетках распределялся в виде гранулярных включений четкой округлой формы темно-коричневого цвета, хаотично расположенных в цитоплазме, особенно отчетливо выражалось их скопление рядом с клеточной мембраной (рисунок 126).

Паттерн НМWСК в папиллярных карциномах наблюдался в эпителиальных и миоэпителиальных клетках, экспрессия биомаркера была слабая (+). Иммунореактивный материал распределялся в виде пылевидно рассыпчатых мелкозернистых вкраплений светло-коричневого цвета, тотально расположенных по всей структуре клетки (рисунок 127).

Паттерн экспрессии маркера НМWСК в инвазивном раке неспецифического типа отмечался в эпителиальных клетках, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Иммунореактивный материал распределялся

в цитоплазматическом типе в виде гранулярных фрагментов с округлой формой темно-коричневого цвета, расположенных по всей ее площади. Однако, замечались небольшие скопления рядом с ядерной мембраной (рисунок 128).

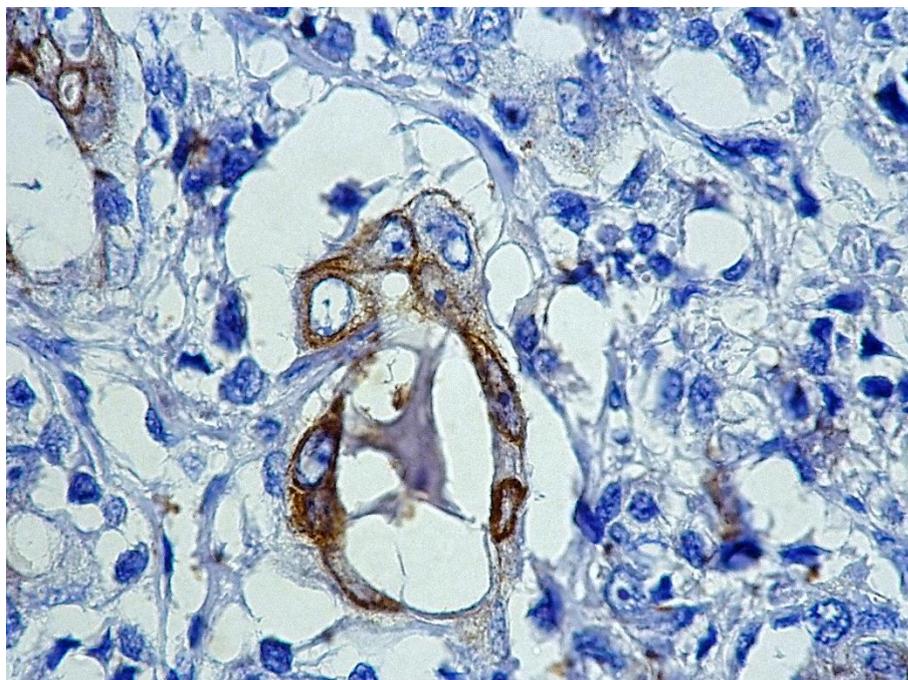


Рисунок 126 – HMWCK⁺ маркер в фибробластоподобных клетках. Тубулярная карцинома (G3). Собака, порода йоркширский терьер, 13 лет. ИГХ реакция на НWMCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

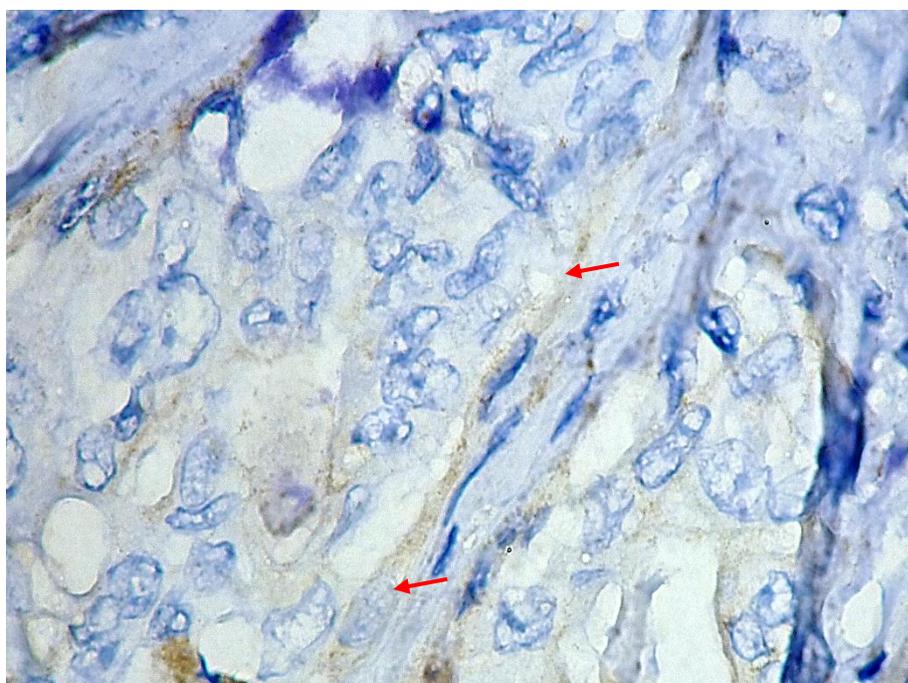


Рисунок 127 – HMWCK⁺ маркер в миоэпителиальных клетках (↑). Папиллярная карцинома (G3). Собака, померанский шпиц, 13 лет. ИГХ реакция на НWMCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Экспрессия маркера НМWСК в плоскоклеточном раке отмечалась в эпителиальных клетках рядом с метаплазией в плоскоклеточный фенотип. Экспрессия биомаркера была умеренная (++) . Иммунореактивный материал находился в цитоплазматической зоне в виде мелкозернистых включений четкой округлой формы светло-коричневого цвета, равномерно расположенных по всей площади клеток (рисунок 129).

Экспрессия биомаркера НМWСК в карциномах смешанного типа отмечалась в эпителиальных и миоэпителиальных клетках. Регистрировалась сильная (+++) экспрессия паттерна. Иммунореактивный материал располагался в цитоплазматической зоне в виде крупнозернистых структур округлой формы темно-коричневого цвета, равномерно расположенных по всей ее площади. Однако, хорошо наблюдались скопления включений вблизи клеточной мембраны (рисунок 130).

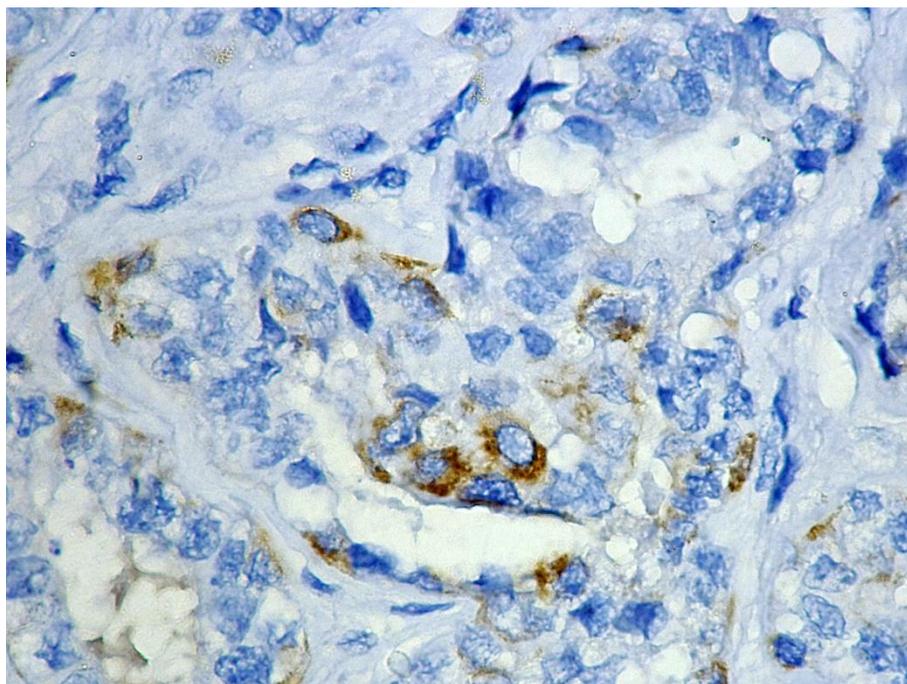


Рисунок 128 – НМWСК⁺ маркер. Инвазивный рак неспецифического типа (G3). Собака, беспородная, 11 лет. ИГХ реакция на НМWСК. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

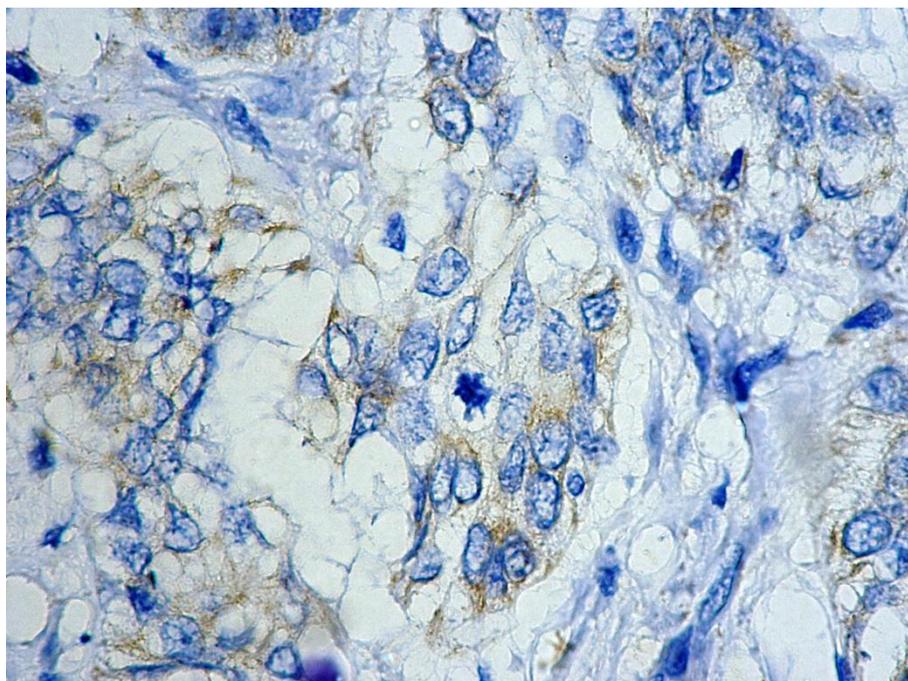


Рисунок 129 – HMWCK⁺ маркер. Плоскоклеточная карцинома (G1). Собака, порода бишон фризе, 6 лет. ИГХ реакция на НWMCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

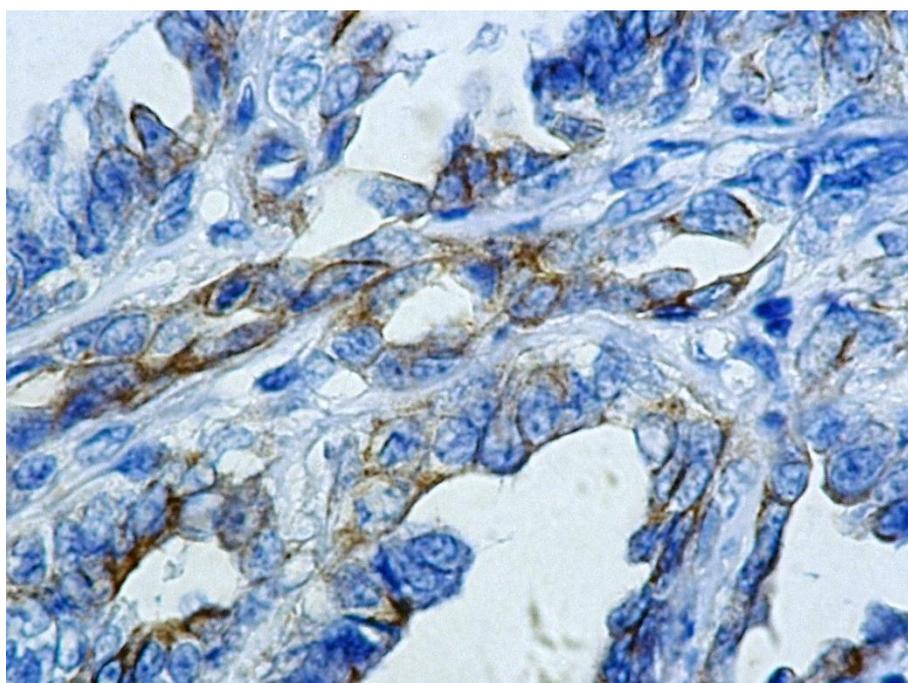


Рисунок 130 – HMWCK⁺ маркер. Карцинома смешанного типа (G2). Собака, беспородная, 10 лет. ИГХ реакция на НWMCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Паттерн экспрессии биомаркера HMWCK в опухолях смешанного типа с хрящевой метаплазией отмечался в клетках, имеющих эпителиальное происхождение, включая миоэпителиальные клетки. Иммунореактивный

материал имел различную интенсивность от сильной (+++) до умеренной (++)
Паттерн отмечался в цитоплазматической зоне от разрозненно расположенных пылевидных частиц светло-коричного цвета до более крупных зерен, окружающих ядро клетки. Умеренная экспрессия маркера сопровождалась в тех клетках, которые близко расположены к хрящевой структуре (рисунок 131).

Экспрессия маркера НМWSC в опухолях смешанного типа с костной метаплазией отмечался в эпителиальных и миоэпителиальных клетках. Иммунореактивный материал имел различную интенсивность – от сильной (+++) до умеренной (++)
Паттерн отмечался в цитоплазматической зоне, при сильном окрашивании белок визуализировался в виде темно-коричневых гранул, тотально перекрывающих ядро, вследствие плотного расположения. При слабой окраске отмечались пылевидно расположенные мелкие частицы, скудно рассеянные по цитоплазме. Следует отметить, что клетки со слабой экспрессией локализовались непосредственно рядом с костной тканью (рисунок 132).

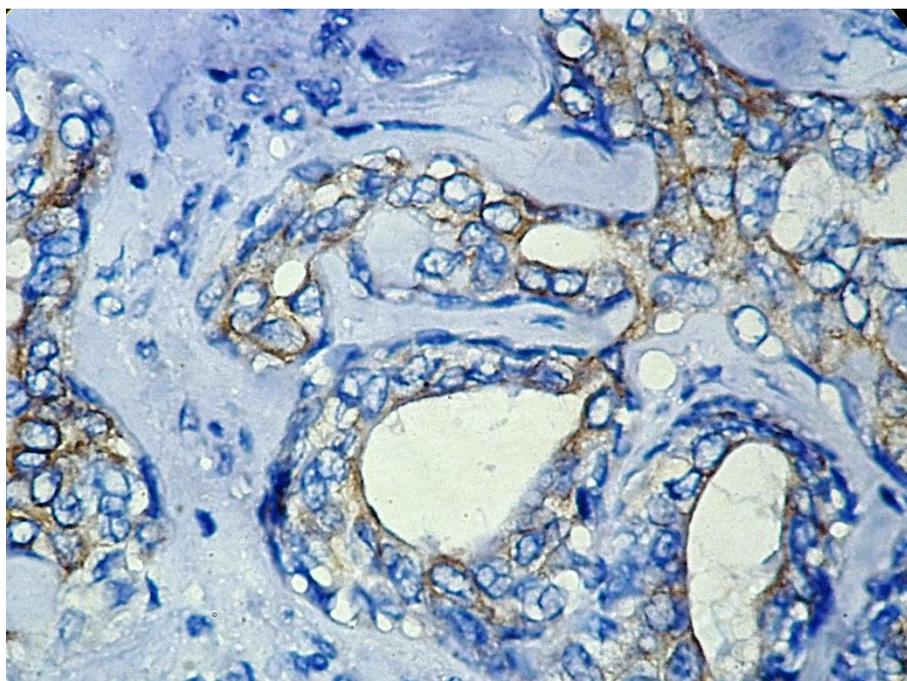


Рисунок 131 – НМWSC⁺ маркер. Смешанная опухоль с хрящевой метаплазией (G2). Собака, порода такса, 12 лет. ИГХ реакция на НМWSC. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

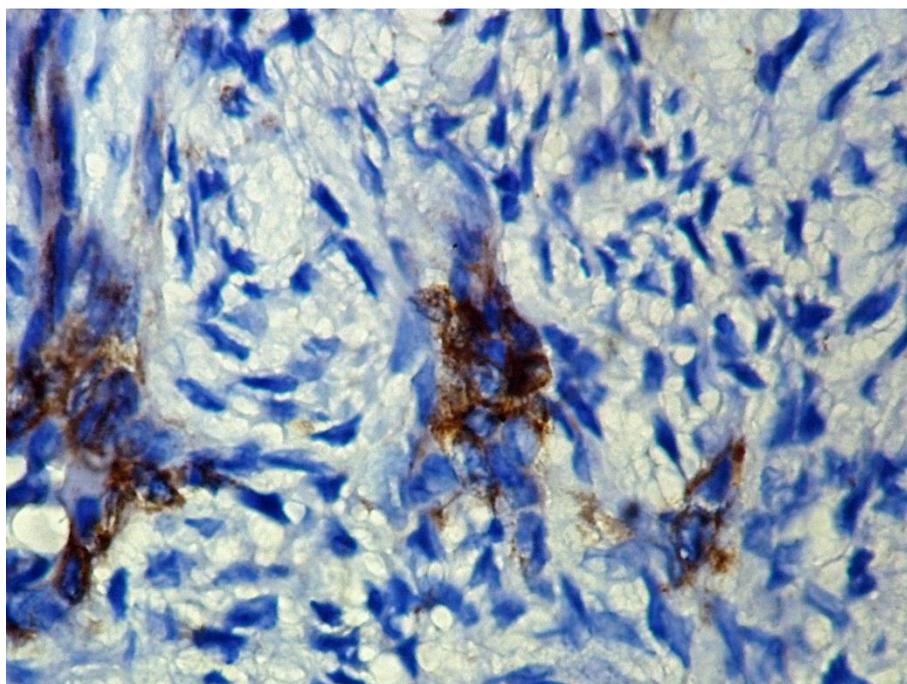


Рисунок 132 – HMWCK⁺ маркер. Смешанная опухоль с костной метаплазией (G1). Собака, порода лабрадор ретривер, 12 лет. ИГХ реакция на HWMCK. Продукт реакции коричневого цвета. Ув. ×600.

Таким образом, исследование локализации маркера NCL областей ядрышковых организаторов показало, что иммунореактивный материал присутствовал тотально в эпителиальном компоненте. В тубулярных и папиллярных карциномах, в инвазивном раке наблюдалось три типа локализации паттерна: ядрышковый, ядерный и цитоплазматический. По нашему мнению, расположение биомаркера NCL зависело от функциональной нагрузки в клетке, которая способствовала передаче информации между структурами ядра и цитоплазмы, а также его локализации в определенной позиции для осуществления биосинтеза рибосом.

Экспрессия NPM1 у собак имело одинаковую локализацию паттерна в сравнении с кошками, однако были выявлены некоторые отличия. В основном экспрессия данного маркера была слабой на примере тубулярной карциномы, но в плоскоклеточном и инвазивном раке наблюдали интенсивное действие паттерна в ядрышковом аппарате, что означало проявление высокой шаперонной активности для трансформации в другой тип опухолевых клеток. В карциномах смешанного типа и смешанных опухолях отмечалась

высокая степень экспрессии не только в эпителиальном компоненте, но в миоэпителиальных и фибробластических клетках, находящихся вокруг опухолевого очага в интерстициальной ткани, что, по нашему мнению, способствовало активному синтезу белков для дальнейшего навигационного стимула и мобильности опухолевых клеток.

При исследовании экспрессии паттерна FBL у собак было выявлено, что она обнаруживалась в большинстве типов опухолей в эпителиальном компоненте, в отличие у кошек. Локализация данного маркера наблюдалась в цитоплазматической зоне, что, на наш взгляд, являлось активным процессом экспорта субъединиц рибосом для дальнейшей их сборки и увеличению синтеза белка. В карциномах смешанного типа и в смешанных опухолях регистрировалась цитоплазматическая и ядерная локализация биомаркера не только в эпителиальных клетках, но отмечалась в миоэпителиальных и фибробластических клетках, окружающих опухолевые очаги, что свидетельствовало о сильной синтетической активности и дальнейшей перестройке морфологического типа опухолей.

При определении экспрессии маркера VIM установили, что иммунореактивный материал в большинстве типов опухолей наблюдался в эндотелиальных и активированных фибробластах, расположенных рядом с эпителиальным компонентом. В плоскоклеточном раке отмечалась экспрессия биомаркера в видоизмененных эпителиальных клетках, что, на наш взгляд, являлось началом трансформации структурной конфигурации клеток в более пластичный тип. В карциномах смешанного типа и смешанных опухолях отмечался маркер в миоэпителиальных и рядом расположенных фибробластических клетках, что свидетельствовало об усилении эластичности и подвижности клеток.

Паттерн экспрессии α -SMA в большинстве типах опухолей локализовался в клетках фибробластического дифферона, миоэпителиоцитах и в эндотелиальной выстилке сосудов, что свидетельствовало о приобретении

клетками сократительных свойств и изменении структурной организации в более подвижный тип.

При изучении экспрессии маркера HMWCK было установлено, что в основном паттерн локализовался в цитоплазме эпителиальных клеток, но слабая экспрессия свидетельствовала об ослаблении функций цитоскелетного белка, особенно это проявлялось в папиллярных карциномах. Это указывало о влиянии на эпителиальный компонент клеток фибробластического дифферона, находящихся в фиброваскулярной основе и действующих с помощью паракринной передачи сигналов. В плоскоклеточном раке, наоборот, наблюдалось усиление маркера в области, где происходила метаплазия клеток в плоскоклеточный дифферон. В карциномах смешанного типа и смешанных опухолях регистрировалось ослабление экспрессии биомаркера в эпителиальных клетках, рядом расположенных с хрящевой либо костной тканью.

Следовательно, при сравнении экспрессии маркеров областей ядрышковых организаторов между опухолями кошек и собак установлена разница в экспрессии белкового материала. У собак она менее интенсивная, но достаточная для пролиферации опухолевых клеток. Однако, экспрессия эпителиальных и мезенхимальных маркеров у собак более интенсивная по сравнению с кошачьими. Коэкспрессия данных белков подтверждает выраженную гетерогенность клеток, приводящих к развитию эпителиально-мезенхимальной трансформации в опухолях молочных желез. Гиперэкспрессия *vimentin* в миоэпителиальных клетках приводила к их трансформации в мезенхимальный фенотип, с последующим образованием хрящевого матрикса.

Результаты исследований по экспрессии, представленных белков в опухолевых клетках молочных желез у собак, согласуются с данными K. A. Damasceno et al. (2012), K. A. Damasceno et al. (2014), W. Jia et al. (2017), I. Ugrinova et al. (2018), X. Liu et al. (2022), N. Robichaud et al. (2019), L. Zhang et al. (2022), N. Robichaud et al. (2019), L. Zhang et al. (2022), G. Qin, et al. (2020),

F. Guillen-Chable et al. (2020), R. A. Battaglia et al. (2018), D. Paulin et al. (2022),
L. McFalin-Figeroa et al. (2019), S. Kreger et al. (2019), A. Muchlińska et al. (2022),
C. Wang et al. (2021).

2.2.5. РЕЦЕПТОР ФАКТОРА РОСТА ФИБРОБЛАСТОВ (FGFR1) И ОСНОВНАЯ ЕГО БИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ В УПРАВЛЕНИИ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО КОМПОНЕНТА МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ У ПЛОТОЯДНЫХ

FISH с меткой FGFR1 на образцах опухолей молочных желез у кошек

При исследовании статуса гена FGFR1 на цитологическом материале опухолей у кошек под фильтрами Texas Red (красного) и FITC (зеленого) было обнаружено, что в тубулярных и папиллярных карциномах, инвазивном и медуллярном раках отмечались флюоресцирующие метки в клетках фибробластического дифферона, что свидетельствовало об активизации рецептора к гену FGF. В аденокарциномах и плоскоклеточном раке флюоресцирующие сигналы не регистрировались (рисунок 133).

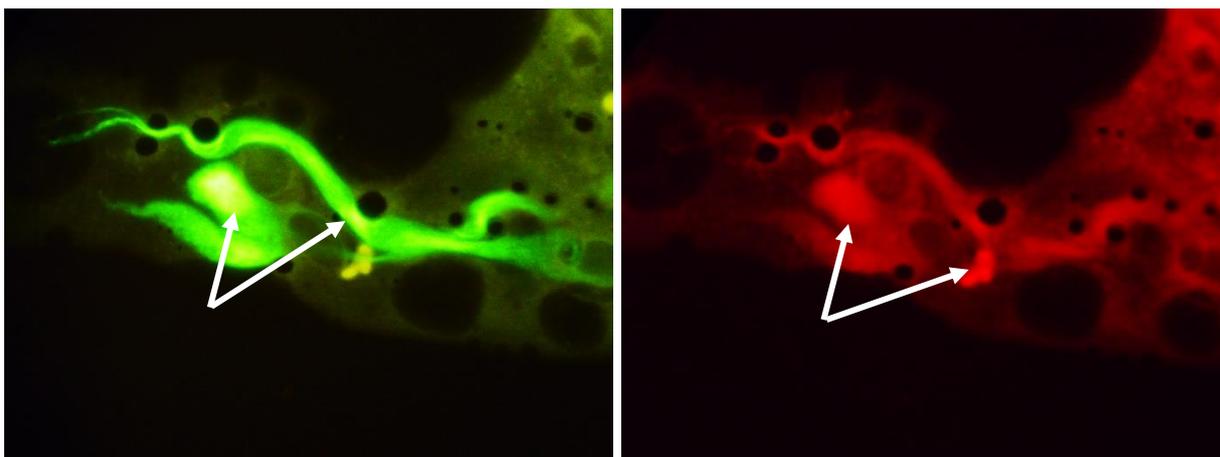


Рисунок 133 – Флюоресцентная *in situ* гибридизация FGFR1 на цитологическом препарате. Экспрессия сигнала в клетках фибробластического дифферона (↑). Папиллярная карцинома. Кошка, беспородная, 12 лет. FISH, фильтры FITC/Texas Red. Ув. ×1500.

Исследование статуса рецептора FGFR1 на гистологическом материале опухолей у кошек под фильтрами Texas Red/FITC показало, что в тубулярных и папиллярных карциномах отмечались флюоресцирующие метки в клетках фибробластического дифферона, расположенные рядом с эпителиальным компонентом. Экспрессия сигналов имело интенсивное свечение, находилась она преимущественно в цитоплазме клеток мезенхимального фенотипа.

Среднее количество копий гена на клетку регистрировалось ≥ 6 , что свидетельствовало о выраженной амплификации гена FGF (рисунок 134).

В инвазивном и медуллярном раках регистрировались флюоресцирующие метки в клетках фибробластического дифферона, расположенные рядом с эпителиальным компонентом. Паттерн экспрессии локализовался в цитоплазме мезенхимальных клеток, сигнал имел интенсивное свечение. Среднее количество копий гена на клетку регистрировалось ≥ 6 , что свидетельствовало о положительной амплификации гена FGF.

При исследовании паттерна экспрессии рецептора FGFR1 в клетках аденокарцином и плоскоклеточного рака было выявлено, что флюоресцирующие сигналы слабо визуализировались в клетках мезенхимального типа, среднее количество копий гена на клетку регистрировалось ≥ 4 . Поэтому степень амплификации гена являлась неопределенной.

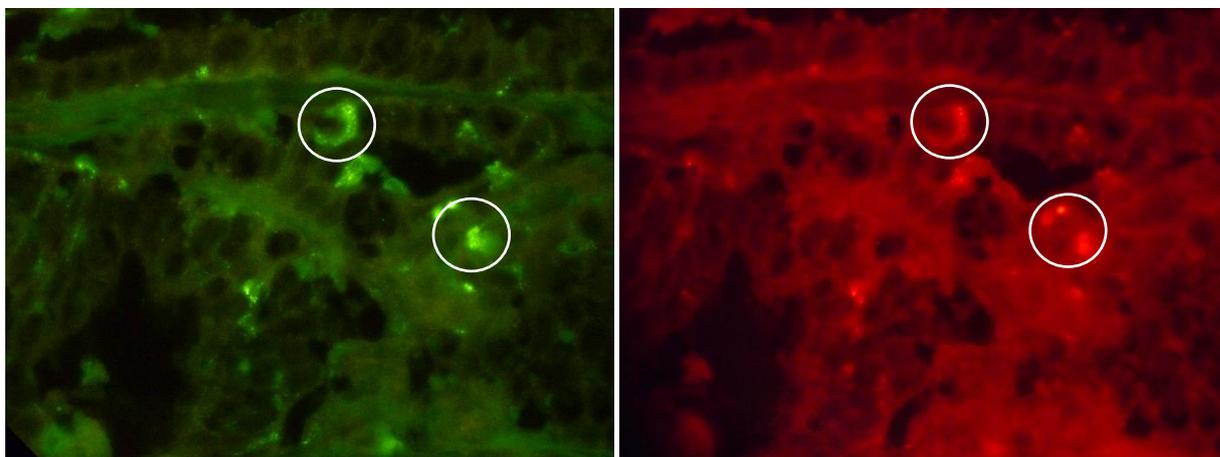


Рисунок 134 – Флюоресцентная *in situ* гибридизация FGFR1 на гистологическом материале. Экспрессия сигнала в клетках фибробластического дифферона (○). Тубулярная карцинома. Кошка, порода бенгальская, 12 лет. FISH, фильтры FITC/Texas Red. Ув. $\times 1500$.

FISH с меткой FGFR1 на образцах опухолей молочных желез у собак

При исследовании статуса гена FGFR1 на цитологическом материале опухолей у собак под фильтрами Texas Red/FITC было обнаружено, что в

тубулярных и папиллярных карциномах, в инвазивном раке и в карциноме смешанного типа отмечались флюоресцирующие метки в клетках фибробластического дифферона, что указывало на активизацию рецептора к гену FGF. В аденокарциномах, плоскоклеточном раке и смешанных опухолях флюоресцирующие сигналы в мезенхимальных клетках не визуализировались (рисунок 135).

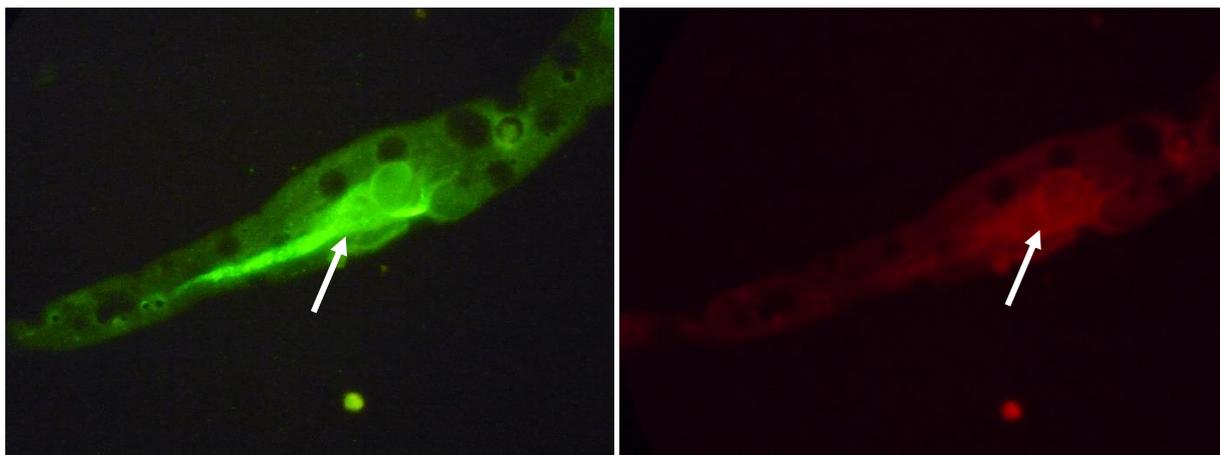


Рисунок 135 – Флюоресцентная *in situ* гибридизация FGFR1 на цитологическом материале. Экспрессия сигнала в клетках фибробластического дифферона (↑). Тубулярная карцинома. Собака, порода йоркширский терьер, 9 лет. FISH, фильтры FITC/Texas Red. Ув. $\times 1500$.

Исследование статуса гена FGFR1 на гистологическом материале опухолей у собак под фильтрами Texas Red/FITC показало, что в тубулярных и папиллярных карциномах, инвазивном раке и в карциноме смешанного типа отмечались флюоресцирующие метки в клетках фибробластического дифферона, расположенные рядом с эпителиальным компонентом. Экспрессия сигналов имело интенсивное свечение, она находилась преимущественно в цитоплазме клеток мезенхимального фенотипа. Среднее количество копий гена на клетку регистрировалось ≥ 6 , что указывало о выраженной амплификации гена FGF (рисунок 136).

В исследовании паттерна экспрессии рецептора FGFR1 в клетках мезенхимального типа аденокарцином, плоскоклеточного рака и смешанных опухолях слабо визуализировались флюоресцирующие метки. Среднее

количество копий гена на клетку регистрировалось < 4 , что свидетельствовало о неопределенной амплификации гена FGF.

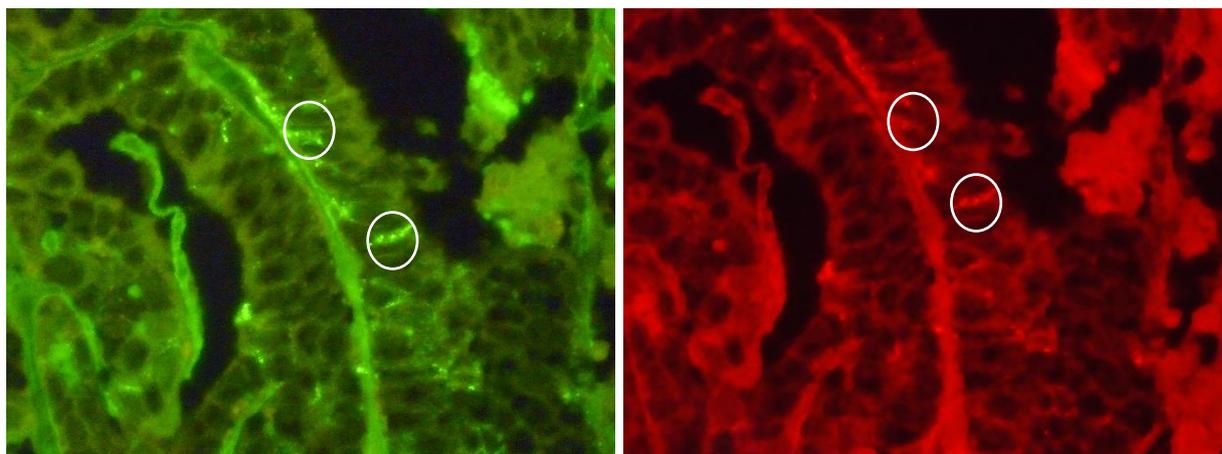


Рисунок 136 – Флюоресцентная *in situ* гибридизация FGFR1 на гистологическом материале. Экспрессия сигнала в клетках фибробластического дифферона (○). Папиллярная карцинома. Собака, беспородная, 10 лет. FISH, фильтры FITC/Texas Red. Ув. $\times 1500$.

Таким образом, при исследовании рецептора FGFR1 в клетках фибробластического дифферона у кошек было установлено, что амплификация гена обнаруживалась в тубулярных и папиллярных карциномах, инвазивном и медуллярном раках. Повышенная активация паттерна в структуре мезенхимальных клеток способствовало изменению передачи сигнальной системы в эпителиальный компонент, что приводило к эпителиально-мезенхимальному переходу и повышенному метастатическому потенциалу.

Исследовании рецептора FGFR1 в клетках фибробластического дифферона у собак было установлено, что амплификация гена обнаруживалась в тубулярных и папиллярных карциномах, инвазивном раке и в карциномах смешанного типа. За счет повышенной активации паттерна в структуре мезенхимальных клеток происходило изменение передачи сигнальной системы в эпителиальный компонент. Однако, в смешанных опухолях экспрессия в клетках фибробластического дифферона слабо отмечалась, это связано с образованием новых высококодифференцированных

гистологических структур, которые не проявляли клеточного атипизма и аберрантного влияния на эпителиальный компонент.

Следовательно, клетки, которые имели признак амплификации гена, влияли на эпителиальный компонент через сложную передачу сигнала с помощью FGF. При его аберрантной перестройке происходило изменение сигнатурного паттерна клеток, что приводило к изменению цитоскелета эпителия в более пластичный и подвижный фибропластический тип. Также способствовало к трансдифференцировке эпителия в процессах эпителиально-мезенхимального перехода, позволяющий приобрести миграционные свойства.

Результаты исследований по амплификации FGFR1 в клетках фибробластического дифферона в опухолевых тканях молочных желез у плотоядных согласуются с данными J. Sumbal et al. (2019), N. Turner et al. (2010), M. K. Wendt et al. (2014), Z. Koledova (2017), A. Avagliano et al. (2020), S. Mori et al. (2015), F. Wu et al. (2021).

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенных комплексных исследований изучены морфологические особенности клеточного ландшафта злокачественных опухолей у домашних плотоядных.

Исследованиями уточнены данные о пролиферативной активности и степени злокачественности клеточных элементов в опухолях молочных желез у собак и кошек, обусловленных биосинтетической экспрессией нуклеолярных белков.

В процессе выполнения диссертационной работы впервые изучена взаимосвязь эпителиальных и мезенхимальных клеточных элементов, которые изменяют свой цитоскелет, приобретают фибробластоподобный тип в процессах эпителиально-мезенхимального перехода и усиливают метастатический потенциал опухолей.

В результате гистологического и иммуногистохимического анализа было установлено, что в опухолях молочных желез у собак происходит прозопластическая метаплазия миоэпителиальных клеток в сторону структурной организации в хрящевую или костную ткани.

В результате молекулярно-генетического исследования было установлено, что активные фибробласты, находящиеся рядом с эпителиальным компонентом, усиливают онкогенную передачу сигналов через эктопическую экспрессию сигнатурного паттерна рецептора фактора роста фибробластов (FGFR1), это обуславливает изменения в генетической структурной организации эпителиального компонента в процессе эпителиально-мезенхимального перехода.

Проведенные исследования позволяют определить основные морфологические, иммуногистохимические и молекулярно-генетические особенности в процессе изучения канцерогенеза опухолей молочных желез у млекопитающих.

Проведенные исследования позволили сделать следующие выводы и представить рекомендации по их практическим предложениям и дальнейшим перспективам разработки темы.

Выводы:

1. У кошек новообразования молочных желез злокачественного типа регистрируются в возрастном периоде от 9 до 13 лет, у собак с 7 до 11 лет, что является признаком возрастной периодизации от зрелости животного к геронтологическому возрасту.

2. Наиболее подвержены к развитию опухолей такие породы кошек, как британская короткошерстная – 12%, персидская – 10%, сиамская – 7%, скоттиш-фолд – 5%, беспородные животные – 29% и метисы – 20%. У собак: йоркширский терьер – 18%, такса – 7%, немецкая овчарка – 7%, американский стаффордширский терьер – 7%, беспородные – 13%. Распространенность пород в ареале обитания обусловлена с популяризацией видов животных.

3. Согласно патогистологическим исследованиям опухолей молочных желез у кошек наибольший процент занимают: протоковая карцинома *in situ* – 10%, тубулярная аденокарцинома – 9%, тубулярная карцинома – 16%, инвазивный рак – 13%, недифференцированный рак – 7%. По степени злокачественности ОМЖ установили следующие типы: высокодифференцированные (G1) – 14%, умереннодифференцированные (G2) – 24%, низкодифференцированные (G3) – 62%.

4. При патогистологическом исследовании опухолей молочных желез у собак установили, что наибольший процент занимают: протоковая карцинома *in situ* – 15%, папиллярная карцинома – 14%, смешанная опухоль с хрящевой дифференцировкой – 22%. По степени злокачественности ОМЖ были определены следующие типы: высокодифференцированные (G1) – 47%, умереннодифференцированные (G2) – 26%, низкодифференцированные (G3) – 27%.

5. У плотоядных гиперэкспрессия биомаркеров областей ядрышковых организаторов стимулирует синтез новых белковых

компонентов, которые приводят к ремоделированию и нестабильности генома, что влияет на высокий уровень метастатического потенциала опухолевых клеток.

6. Экспрессия промежуточных филаментов эпителиального и мезенхимального происхождения в клетках опухолевой ткани молочных желез у собак и кошек обусловлена гетерогенными клетками, которые стимулируют развитие эпителиально-мезенхимальной трансформации.

7. У кошек злокачественные опухоли подвергаются процессам эпителиально-мезенхимального перехода, что приводит к высокому метастатическому потенциалу за счет инвазии опухолевых клеток групповым методом. У собак опухолевый канцерогенез эпителиально-мезенхимального перехода направлен на трансформацию миоэпителиальных клеток в мезенхимальных тип, что обуславливает низкий метастатический потенциал

8. Паракринная передача сигнала от клеток фибробластического дифферона на эпителиальный компонент связана с эктопической экспрессией и амплификацией гена *FGFR1*, что приводит к изменению сигнатурного паттерна клеток и изменению цитоскелета эпителия в фибропластический тип при эпителиально-мезенхимальном переходе.

Практические предложения

1. Представленные новые данные о взаимодействии эпителиального и стромального компонента, а также развитии микроокружения опухолей молочных желез у разных видов животных рекомендуется использовать для разработки новых типов классификаций в ветеринарной онкологии.

2. Результаты исследований экспрессии маркеров областей ядрышковых организаторов (*NCL*, *NPM1*, *FBL*), а также белков промежуточных филаментов мезенхимального (*vimentin*, α -*SMA*) и эпителиального (*HMWCK*) компонентов в опухолевых клетках позволят разработать новые методы диагностики и лечения с использованием клеточных технологий.

3. Результаты исследований по амплификации гена FGFR1 в клетках фибробластического дифферона в опухолевых клетках молочных желез у млекопитающих позволят определить точные молекулярно-генетические механизмы канцерогенеза и создать более эффективные методы таргетной терапии, направленные на точечные мишени.

4. Результаты исследований могут быть использованы при проведении научных исследований, в учебном процессе вузов и колледжей биологического профиля, а также при составлении монографий, учебных и справочных пособий возрастной, видовой, морфофункциональной и молекулярной морфологии различных видов животных.

Рекомендации и перспективы дальнейшей разработки темы

Проведенные исследования позволили получить новые данные по гистологическим типам и морфологическим особенностям клеточного ландшафта в злокачественных опухолях молочных желез у собак и кошек, процессу эпителиально-мезенхимального перехода, паракринной регуляции мезенхимальных клеток на эпителиальный компонент посредством эктопической экспрессии рецептор фактора роста фибробластов FGFR1. Дальнейшие исследования могут быть направлены на изучение канцерогенеза опухолей молочных желез для постановки верного диагноза в области онкологии, а также для разработки тактики таргетного лечения данной патологии.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Актуальные вопросы канцерогенеза / И. В. Высоцкая, В. П. Летягин, М. А. Шабанов, [и др.] // Клиническая онкогематология. – 2019. – №1. – С. 45–56.
2. Анализ особенностей экспрессии иммуногистохимических маркеров молекулярно-генетических подтипов рака молочной железы / А. А. Должиков, Н. В. Павлова, [и др.] // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2015. – С. 34.
3. Бейсенаева, Р. Роль иммуногистохимического исследования в онкологии / Р. Бейсенаева // Медицина и экология. – 2015. – №2 (75). – С.123.
4. Взаимосвязь метрических показателей с гистологическими типами опухолей молочных желез у животных-компаньонов / В. В. Митенко, О. В. Дилекова, Д. Б. Галустян // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. –2023. –Т.100. –№2. – С. 210-216.
5. Выявление микроглии в препаратах головного мозга, длительное время хранившихся в растворе формалина / Е. Г. Сухорукова, М. С. Захряпин, Н. М. Аничков, Д. Э. Коржевский. // Морфология. – 2012. – Т. 142. – № 5. – С. 68–70.
6. Гистологическая техника / В. В. Семченко, С. А. Барашкова, В. Н. Ноздрин, В. Н. Артемьев // Учебное пособие. – 3-е изд., доп. и перераб. – Омск – Орел: Омская областная типография, 2006. – 290 с.
7. Дюльгер, Г. П. Акушерство, гинекология и биотехника размножения кошек: учебное пособие / Г.П. Дюльгер, Е.С. Седлецкая. – Москва: Изд-во Лань, 2018. – 196с.
8. Зооинформ : [сайт]. URL: <https://zooinform.ru/business/fediaf-opublikoval-ocherednoj-otchjot-o-evropejskom-zoorynke/>.
9. Иммуногистохимические и молекулярно-генетические методы диагностики онкологических заболеваний / В. М. Семенов, Е. С. Пашинская, В. В. Побяржин, [и др.] // Вестник ВГМУ. – 2017. – №2. – С. 56–67.

10. Клинико-морфологические особенности молекулярно-генетических кластеров трижды негативного рака молочной железы // И. С. Панченко, В. В. Родионов, О. В. Бурменская, [и др.] // Поволжский онкологический вестник. – 2022. – №1 (49). – С. 34–47.

11. Кузнецова, В.В., Понятие эпителиально-мезенхимального перехода, его роль в метастазировании опухолей / В. В. Кузнецова, Н. А. Игушева // Международный студенческий научный вестник. – 2018. – № 4 (2). – С. 34–38.

12. Лаптиев, С.А. Молекулярно-генетический "портрет" рака молочной железы / С. А. Лаптиев, М. А. Корженевская, Е. Н. Имянитов // Ученые записки СПбГМУ им. И. П. Павлова. – 2017. – №2. – С. 67–71.

13. Митенко, В. В. Дилекова, О. В. Способ флюоресцентной гибридизации *in situ* при применении ДНК-зонда FGFR1 у разных видов млекопитающих на цитологических препаратах Патент на изобретение № 2755392, 15.09.2021. Заявка № 2021105108 от 25.02.2021.

14. Митенко, В. В. Дилекова, О. В. Способ флюоресцентной гибридизации *in situ* при применении ДНК-зонда FGFR1 у разных видов млекопитающих на гистологических препаратах Патент на изобретение № 2777238, 01.08.2022. Заявка № 2021137753 от 20.12.2021.

15. Митенко, В. В. Исследование статуса амплификации FGFR1 при раке молочной железы у кошек и собак с помощью флюоресцентной *in situ* гибридизации на цитологических препаратах / В.В. Митенко // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки : материалы научно-практической конференции. – Владикавказ : Веста, 2021. – С. 173–176.

16. Митенко, В. В. Клинические показатели при новообразованиях молочной железы у кошек / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : материалы научно-практической конференции. – 2020.– С. 71–76.

17. Митенко, В. В. Мониторинг опухолей молочных желез у плотоядных в условиях г. Ставрополя и результаты химиотерапевтического

метода лечения / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве – основа модернизации агропромышленного комплекса России : материалы научно-практической конференции. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2019. – С. 352–356.

18. Митенко, В. В. Морфологическая характеристика рака молочной железы у кошек / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Инновационные технологии в сельском хозяйстве, ветеринарии и пищевой промышленности : материалы научно-практической конференции. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2019. – С. 421–426.

19. Митенко, В. В. Патогистология опухолевых новообразований молочной железы у собак / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве – основа модернизации агропромышленного комплекса России : материалы научно-практической конференции. – Ставрополь : АГРУС Ставропольского гос. аграрного ун-та, 2019. – С. 348–351.

20. Митенко, В. В. Патоморфологическая оценка новообразований молочных желез у собак / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Аграрная наука – Северо-Кавказскому федеральному округу : материалы научно-практической конференции. – Уфа : Башкирский гос. аграрный ун-т, 2020. – С. 293–296.

21. Митенко, В. В. Патоморфология эпителиальных опухолей молочных желез кошек / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Актуальные вопросы патологии, морфологии и терапии животных : материалы научно-практической конференции. – Кокино : Брянский гос. аграрный ун-т, 2020. – С. 78–83.

22. Митенко, В. В. Предикторы паранеопластического синдрома опухолей молочных желез у плотоядных / В. В. Митенко // Материалы научно-практической конференции : сборник научных работ победителей и призеров Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Минсельхоза

России. – Москва : Российский научно-исследовательский институт информации и технико-экономических исследований по инженерно-техническому обеспечению агропромышленного комплекса (Правдинский), 2020. – С. 55–58.

23. Митенко, В. В. Принцип организации фибробластов при развитии эпителиально-мезенхимальной трансформации рака молочных желез у собак / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Научно-производственный журнал «Иппология и ветеринария». – Санкт-Петербург, 2022. – № 4 (46). – С. 205–217.

24. Митенко, В. В. Протоковая карцинома *in situ* у кошек / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Морфология в XXI веке: теория, методология, практика : материалы научно-практической конференции. – Москва : ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина», 2021. – С. 137–140.

25. Митенко, В. В. Ретроспективный анализ распространения новообразований молочной железы домашних плотоядных в условиях городской урбанизированной территории / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки : материалы научно-практической конференции. – Владикавказ : Веста, 2019. – С. 214–216.

26. Митенко, В. В. Статистико-клинические данные новообразований молочной железы у плотоядных / В. В. Митенко, О. В. Дилекова // Морфология. – 2020. – т. 157. № 2–3. – С. 69.

27. Митенко, В. В. Экспрессия ядрышковых организаторов в опухолевых клетках молочных желез у кошек / В. В. Митенко, Д. Б. Галустьян // Научно-производственный журнал «Иппология и ветеринария». – Санкт-Петербург, 2023. – № 1 (47). – С. 70–76.

28. Молекулярно-генетические маркеры рака молочной железы / К. А. Гришина, Т. А. Музаффарова, В. А. Хайленко, А. В. Карпухин // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2016. – №3. – С. 34–45.

29. Молочная железа. Морфология, физиология и биохимические аспекты лактогенеза: Научно-методические рекомендации / К. В. Племяшов, Ю. В. Конопатов, В. И. Соколов // – СПб.: Издательство СПбГАВМ, 2007. – С. 30.
30. Наследственный рак молочной железы и яичников / Л. Н. Любченко, Е. И. Батенева, И. С. Абрамов, [и др.] // Злокачественные опухоли. – 2013. – №2 (6). – С. 56–69.
31. Нуклеофозмин и нуклеолин: кодирующие гены и экспрессия в различных тканях животных и человека / Е. Г. Зенит-Журавлева, Е. М. Полковниченко, А. А. Лушникова, [и др.] // Молекулярная медицина. – 2012. – №4. – С. 37–41.
32. Опухоль-ассоциированные фибробласты и их значение в прогрессии злокачественных новообразований / Н. А. Олейникова, Н. В. Данилова, И. А. Михайлов, [и др.] // Архив патологии. – 2020 – 82 (1) – С. 68–77.
33. Особенности патогистологического строения злокачественных новообразований молочной железы кошек / В. В. Митенко, О. В. Дилекова, К. С. Павлова // Достижения молодых учёных в АПК : материалы научно-практической конференции. – Махачкала : ИП «Магомедалиева С. А.», 2019. – С. 263–270.
34. Русакова, С. Э. Мезенхима, эпителии и «эпителиально-мезенхимальные переходы» / С. Э. Русакова, В. В. Бирина, Е. В. Камардин // Сборник научных трудов по материалам. – Санкт-Петербург. – 2018. – С. 40–46.
35. Сеньчукова М.А. Особенности экспрессии виментина в строме опухоли и их взаимосвязь с различными типами опухолевых сосудов, клиноморфологическими и молекулярнобиологическими особенностями рака молочной железы / М.А. Сеньчукова, Н.В. Никитенко, Е.Ю. Зубарева // Поволжский онкологический вестник. – 2020. – №1 (41). – С. 76–89.

36. Современные молекулярно-генетические маркеры рака молочной железы / Н. В. Апанович, В. П. Шубин, А. А. Коротаева, [и др.] // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2011. – №1. – С. 34–45.
37. Стеценко, А. Молекулярные основы эпителиально-мезенхимального перехода и его роль в развитии и метастазировании опухоли (перевод с англ.). А. Стеценко / [Электронный ресурс]. – Режим доступа. – URL: <https://medach.pro/post/1445> (дата обращения 13.02.2023).
38. Экспрессия онкомаркерного белка V23/нуклеофозмина в различных опухолевых клетках / Н. Л. Дейнеко, Т. И. Булычева, А. А. Григорьев, [и др.] // Иммунология. – 2015. – №3. – С. 23–34.
39. Эпителиально-мезенхимальный переход как важный биологический процесс в эмбриогенезе / И. А. Дворяшина, Ю.И. Великородная, А.В. Терентьев, В.Л. Загребин // Вестник ВолГМУ. – 2021. – №2 (78). – С. 56–67.
40. Эпителиально-мезенхимальный переход, трансдифференциация, репрограммирование и метаплазия: современный взгляд на проблему / М. В. Мнихович, С. В. Вернигородский, К. В. Буньков, Е. С. Мишина // Вестник Национального медико-хирургического Центра им. Н. И. Пирогова. – 2018. – №2. – С. 145–152.
41. Эпителиально-мезенхимальный переход: злокачественная прогрессия и перспективы противоопухолевой терапии / А. В. Гапонова, С. Родин, А. А. Мазина, П. В. Волчков // Acta Naturae. – 2020. – №3 (46). – С. 102–105.
42. Якунина, М. Н. Рак молочной железы у собак и кошек / М. В. Якунина // Журнал VetFarma. – 2011. – № 2. – С. 60–65.
43. Якупова, К.И. Онкомаркеры в диагностике онкологических заболеваний / К. И. Якупова, О. –А. Князева // Научное обозрение. Педагогические науки. – 2019. – № 5(3). – С. 126–129.

44. 34βe12 expression may be an independent predictor of survival in breast cancer / C. Wang, J. Wei, L. Huang, C. Xu // *J Int Med Res.* – 2021. – Vol. 49 (10). – P. 34–45.
45. A versatile pretreatment protocol to facilitate In Situ fluorescence hybridization on formalin-fixed paraffin, fresh-frozen and cytology slides / S. O. Richardson, M. H. Hybers, R.A. de Weger, et al. // *Mol Cytogenet.* – 2019. – Vol.12. – P. 27.
46. Abdominal tumors Cancer Treatment in Small Animal / P. Leslie, E. Fox, J. N. Bryan // – 2010. – P. 249–298.
47. Abundant networks: intermediate filaments and cell migration / B. M. Chang, J. D. Rotti, P. A. Coulombe // *Curr Opin Cell Biol.* – 2013. – Vol.25(5). – P. 600–612.
48. Acquisition of the hybrid E/M state is important for oncogenicity of basal breast cancer cells / S. Kreger, A. Afeyan, J. Mraz, E.N. Eaton, et al. // *Natl Acad Sci U S A* protocol. – 2019. – Vol.116 (15). – P. 7353–7362.
49. Adipose tissue-derived stem cells differentiate into fibroblast-like cells associated with cancer under the influence of tumor factors / S. Yotsu, E. Alt, G. Welte, et al. // *Cell Oncol (Dordr).* – 2011. – Vol.34. – P. 55–67.
50. Ahmed, S. Complexity in interpretation of embryonic epithelial-mesenchymal transition in response to transforming growth factor-β signaling / S. Ahmed, A. Nawshad // *Cells Tissues Organs.* – 2007. – Vol. 185. – P. 131–145.
51. Alpha smooth muscle actin-positive cancer-associated fibroblasts secreting osteopontin contribute to breast cancer growth in the lumen / A. Muchlińska, A. Nagel, M. Popęda, et al. // *Cell Mol Biol Lett.* – 2022. – Vol.27(1). – P.45.
52. Alpha-smooth muscle actin (α-SMA) / S. Cherng, J. Young, H. Ma, // *J Am Sci.* – 2008. – Vol. 4. – P.56–67.
53. An atlas of single-cell RNA expression of normal, preneoplastic, and tumorigenic conditions in the human mammary gland / B. Pal, Y. Chen, F. Vaillant, et al. // *J.E. EMBO J.* – 2021. – Vol. 40 (11). – P. 456–478.

54. Analysis of a new histological and molecular classification of mammary neoplasia in dogs / K.S. Im, N.H. Kim, H. Lim, et al. // *Veterinary Pathology*. – 2014. – Vol. 51(3). – P.549–559.
55. Anatomy of dogs and cats / B. Folmerhaus, J. Frewein, W. Amzelgruber, et al. // Translated from German. E. Boldyrev, I. Kravets. -M.: "AQUARIUM BOOK". – 2003. – P.580.
56. Are mast cells hosts of cancer? / G. Varricci, M. R. Galdiero, S. Loffredo, et al. // *Front Immunol*. – 2017. – Vol. 8. – P. 424.
57. Banks, W. J. *Applied veterinary histology*, Williams & Wilkins, Baltimore / W. J. Banks, // – 1986. – pp 348-378, 489-504, 506–523.
58. Barone, R. Mammelles – Particularités spécifiques: mammeles de la chate, *Anatomie Comparé des Mammifères Domestiques – Fascicule II, Tome troisième* / R. Barone //–1978. – P. 500.
59. Barsky, S. H. Myoepithelial cells: autocrine and paracrine suppressors of breast cancer progression / S. H. Barsky, N. J. Karlin // *J. Mammary Gland Biol Neoplasia*. – 2005. – Vol.10 (3). – P.249–260.
60. Barth, P. J. Ebrahimsadeh S, Ramaswamy A, Moll R. CD34 + fibrocytes in invasive ductal carcinoma, ductal carcinoma in situ and benign breast lesions. / P. J. Barth // *Virchow's Arc*. – 2002. – Vol. 440. – P.298–303.
61. Bayani, J. Fluorescent in situ hybridization (FISH) / J. Bayani, J. Squire // *Curr Protocol Cell Biol*. – 2004. – Vol.22 (4). – P. 345–367.
62. Benken, A. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy / A. Benken, M. Mohammadi // *Nat Rev Drug Discov*. – 2009. –Vol.8. –P. 235–253.
63. Biffi, G. Diversity and Biology of Cancer-Associated Fibroblasts / G. Biffi, D. A. Tuveson // *Physiol Rev*. – 2021. – Vol.101(1). – P.147–176.
64. Biomechanical remodeling of the microenvironment by stromal caveolin-1 promotes tumor invasion and metastasis / J. J. Getz, et al. // *Cell*. -2011. – Vol.146. – P. 148–163.

65. Biphasic Feline Mammary Carcinomas Including Carcinoma and Malignant Myoepithelioma / A. Sammarco, G. Finesso, R. Zanetti, et al. // *Veterinary Pathology*. – 2020. – Vol. 57(3). – P.377–387.
66. Breast stem cells and their application in breast cancer / X. Yang, X. Wang, B. Jiao // *Oncotarget*. – 2017. –Vol.8(6). – P. 10675-10691.
67. Brieher, W. M. Cadherin compounds and their cytoskeleton (s) Curr / W. M. Brieher, A. S. Yap // *Opinion. Cell Biology*. – 2013 – Vol. 25. – P.39–46.
68. Cadherins and catenins in breast cancer / P. Cowin, T. M. Rowlands, S. J. Hatsell, // *Curr Opin Cell Biol*. – 2005. – Vol.17 (5). – P. 499– 508.
69. Calluri, R. Fibroblast biology and function in cancer / R. Calluri // *Nat Rev Cancer*. – 2016. – Vol.16. – P. 582–598.
70. Calluri, R. Fibroblasts in cancer / R. Calluri, M. Zeisberg // *Nat Rev Cancer*. – 2006. – Vol.6. – P. 392–401.
71. Cancer-associated fibroblast composition changes with breast cancer progression, linking the ratio of S100A4+ and PDPN+ CAFs to clinical outcome / G. Friedman et al. // *Nat. Cancer* 1. – 2020. – Vol. 1. – P. 692–708.
72. Cancer-associated fibroblasts contribute to immunosuppressive microenvironment through induction and accumulation of prototumor macrophages / H. Takahashi, K. Sakakura, T. Kudo, et al. // *Oncotarget*. – 2017. – Vol.8(5). – P. 8633–8647.
73. Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis / S. S. Pinho, S. Carvalho, J. Cabral, et al. // *Transl Res*. – 2012. –Vol. 159(3). – P. 165–172.
74. Caswell, P. T. Actin-based cell protrusion in a 3D matrix Trends / P. T. Caswell, T. Zech // *Cell Biol*. – 2018. –Vol.28. – P. 823–834.
75. Caveolae: From Cell Biology to Animal Physiology / B. Razani, S.E. Woodman, M. P. Lisanti. // *Pharmacol Rev*. – 2002. – Vol.54. – P. 431–467.
76. CD10+GPR77+ cancer-associated fibroblasts promote cancer formation and chemoresistance by sustaining cancer stemness / S. Su, Chen J, H. Yao, J. Liu, et al. // *Cell*. – 2018. –Vol.172. – P, 841–856.

77. Cellular changes involved in conversion of normal to malignant breast: importance of the stromal reaction / L. Ronnov-Jessen, O. W. Petersen, M. J. Bissell // *Physiol. Rev.* – 1996. – Vol.76. – P. 69–125.
78. Chen, H. Turning enemies into friends: targeting cancer-associated fibroblasts / H. Chen, E. Song // *Nat Rev Drug Discov.* –2019. –Vol.18. – P. 99–115.
79. Chen, Z. Regulatory mechanisms and clinical significance of vimentin in breast cancer / Z. Chen, Z. Fang, // *J. Biomed Pharmacother.* – 2021. – Vol. 133. – P. 111–168.
80. Classification and grading of canine mammary tumors // M. H. Goldschmidt, L. Peña, R. Rasotto, V. Zappulli / *Veterinary Pathology.* – 2011.- Vol. 48 (1). – P. 117–131.
81. Clinical and functional significance of loss of caveolin-1 expression in fibroblasts associated with breast cancer / S. A. Simpkins, A. M. Hanby, D. L. Holliday, et al. // *J. Pathol.* – 2012. –Vol.227. – P. 490–498.
82. Collective epithelial migration and cell rearrangements drive mammary branching morphogenesis / A. J. Ewald, A. Brenot, M. Duong, et al. // *Dev Cell.* – 2008. –Vol.14(4). – P.570–581.
83. Contribution of nucleophosmin overexpression to multidrug resistance in breast cancer / S. Chen, T. Meng, X. Zheng, et al. // *J Drug Target.* – 2018. – Vol.26(1). – P. 27–35.
84. Cross-species oncogenic signatures of breast cancer in canine mammary tumors / T. M. Kim, I. S. Yang, B. J. Seung, et al. // *Nat Commun.* -2020. – Vol.11(1). – P. 3616.
85. Development of a novel PROTAC using the nucleic acid aptamer as a targeting ligand for tumor selective degradation of nucleolin / L. Zhang, L. Li, X. Wang, H. Liu, et al. // *Mol Ther Nucleic Acids.* – 2022. – Vol. 30. – P.66–79.
86. Discovery of endothelial-to-mesenchymal transition as a source of fibroblast-associated carcinoma / E. M. Zeisberg, S. Potenta, L. Xie, M. Zeisberg, R. Calluri // *Cancer Res.* – 2007. –Vol. 67. – P.123–128.

87. Dog models of natural cancer. An animated Hum cancer model / J. M. Fenger, J. L. Rowell, I. Zapata, et al. – 2016. –Vol. 1. – P. 153–221.
88. Dvorak, H. F. Tumors: wounds that don't heal. Similarities between tumor stroma formation and wound healing / H. F. Dvorak, // N. Engl. J. Med. - 1986. – Vol. 315. –P.1650v1659.
89. Early cell adhesion and polarity events during the epithelial-mesenchymal transition / R. Huang, P. Guilford, J. P. Thiery // J. Cell Sci. – 2012. – Vol.12(5). – P, 4417– 4422.
90. Effect of fibroblasts on breast development, breast cancer microenvironment remodeling and cancer cell spread / A. Avagliano, G. Fiume, M. R. Ruocco // Cancer (Basel). – 2020. – Vol.12(6). – P.1697.
91. Elston, K. W. Pathologic prognostic factors in breast cancer. I. The value of histologic evaluation in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up / K. W. Elston, E. O. Ellis // Histopathology. –1991. –Vol.19 (5). – P.403–410.
92. Emerman, J. T. Cell size and shape changes in the myoepithelium of the mammary gland during differentiation / J. T. Emerman, A. W. Vogl // Anat Rec. – 1986. – Vol.216 (3). – P.405–415.
93. EMT in cancer / T. Brabletz, R. Calluri, M. A. Nieto, R. A. Weinberg // Nat Rev Cancer. – 2018. –Vol.18. – P.128–134.
94. Endothelial-mesenchymal transition and its contribution to the stem cell phenotype / D. Medici, R. Calluri // Cancer Biol. – 2012. – Vol.22. – P.379–384.
95. Enhanced expression of TGF- β -induced $\alpha\beta 3$ integrin is required to enhance the effect of fibroblast growth factor 1 (FGF1) in TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) in breast epithelial cells / S. Mori, M. Kodaira, A. Ito, et al. // PLoS One. – 2015. – Vol. 10(9). – P. 34.
96. Epithelial-mesenchymal plasticity in carcinoma metastasis / Tsai JH, Yang J. // Genes Dev. – 2013. – Vol. 27 (20). – P. 2192–2206.

97. Epithelial-mesenchymal transition (EMT): a biological process in development, stem cell differentiation and oncogenesis / T. Chen, W. Yu, X. Jiang, J. Wang // *J-cell physiology*. – 2017. – Vol.232 (12). – P. 3261– 3272.
98. Epithelial-mesenchymal transition as a mechanism of breast cancer progression / J. Thierry, W. Sim, K. Chua, et al. // *Breast Cancer Res* 13. – 2011. – P.34.
99. Epithelial-mesenchymal transition at the crossroads between metabolism and tumor progression / M. Fedele, R. Sgarra, S. Battista, L. Cerchia, G. Manfioletti // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol.23 (2). – P.800.
100. Epithelial-mesenchymal transition generates cells with stem cell properties / S. A. Mani, W. Guo, M. J. Liao, et al. // *Cell*. – 2008. – Vol.16 (4). – P. 704–715.
101. Epithelial-mesenchymal transition in the tumor microenvironment / Y. Jing, Z. Han, S. Zhang, et al. // *Cell Biosci*. – 2011. – Vol.1. – P. 29.
102. Epithelial-mesenchymal transitions: the importance of changing cell state in development and disease / H. Acloque, M. S. Adams, K. Fishwick, M. Bronner-Fraser, M. A. Nieto // *J. Clin. Invest*. – 2009. – Vol.119. – P. 1438–1449.
103. Erdogan, B. Cancer-associated fibroblasts modulate growth factor signaling and extracellular matrix remodeling to regulate tumor metastasis / B. Erdogan, D. Webb // *J. Biochemistry. Soc. Trans*. – 2017. – Vol. 45. – P. 229–236.
104. Evaluation of the effects of alantolactone on the expression of N-cadherin and vimentin genes involved in epithelial-mesenchymal transition (EMT) in breast cancer cell line (MDA-MB-231) / R. Naderi, S. Golizadeh-Galeh Aziz, A. S. Haghi-Asl // *Annals of Medicine and Surgery*. – 2022. – Vol. 73. – P.103–140.
105. Exosomes Mediate Stromal Mobilization of Autocrine Wnt-PCP Signaling in Breast Cancer Cell Migration / V. Luga, L. Zhang, A. M. Vilorio-Petit, et al. // *Cell*. – 2012. – Vol.151. – P. 1542–1556.
106. Expression of p63 and cytokeratin 5 in mixed canine mammary tumors provides new insights into the histogenesis of these neoplasms / L. N. Ramalho, A.

Ribeiro-Silva, G. D. Cassali, S. Zucoloto // *Veterinary Pathologist*. –2006. –Vol. 43. – P. 424–429.

107. Expression of S100A4, E-cadherin, alpha and beta-catenin in breast cancer biopsies / K. B. Pedersen, D. M. Nesland, O. Fodstad, G. M. Meilandsmo // *Br J Cancer*. – 2002. – Vol. 87 (11). – P. 1281–1286.

108. Extensive array analysis of tumors confirms the overwhelming role of nucleophosmin in breast cancer / P. R. Karhemo, A. Rivinoja, J. Lundin, et al. // *Am J Pathol*. – 2011. – Vol. 179(2). –1004–1014.

109. Extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression / P. Lu, V. M. Weaver, Z. Werb // *J Cell Biol*. – 2012. – Vol. 196(4). – P. 395–406.

110. FAP overexpressing fibroblasts produce an extracellular matrix that increases the invasion rate and targeting of pancreatic cancer cells / H. O. Lee, Sr. Mullins, J. Franco-Barraza, et. al. // *BMC Cancer*. – 2011. – Vol.11. – P. 245.

111. FGFR1 amplification leads to resistance to endocrine therapy and is a therapeutic target of breast cancer / N. Turner, A. Pearson, R. Sharp, et. al // *Cancer Res*. – 2010. – Vol.70. – P. 2085–2090.

112. Fibrillarin from archaea to man / U. Rodriguez-Corona, M. Sobol, L. K. Rodriguez-Sapata, et .al // *Biol Cell*. – 2015. – Vol.107(6). – P.159–174.

113. Fibrillarin nucleotide methyltransferase: evolution of structure and function / M. Y. Shubina, U. R. Musinova, E. V. Sheval // *Biochemistry Moscow*. – 2016. –Vol. 81. – P. 941–950.

114. Fibrillarin ribonuclease activity depends on the GAR domain and is modulated by phospholipids / F. Guillen-Chable, U. R. Corona, A. Pereira-Santana, et. al // *Cells*. – 2020. – Vol.9 (5). – P. 1143–1156.

115. Fibroblast growth factor receptor splicing variants are stable markers of oncogenic transforming growth factor β 1 signaling in metastatic breast cancer / M. K. Wendt, M. A. Taylor, B. J. Sheemann, et al. // *Breast Cancer Res*. – 2014. –Vol. 16. – P. 24.

116. Fibroblast Subtypes Regulate Responsiveness of Luminal Breast Cancer to Estrogen / H. M. Brechbuhl, J. Finlay-Schultz, T. M. Yamamoto, et. al // *Clin Cancer Res.* – 2017. – Vol. 23 (7). – P. 1710–1721.
117. Fibroblast-determined stromal address code / G. Parsonage, A. D. Filer, O. Haworth, et. al // *Trends Immunol.* – 2005. – Vol.26 (3). – P. 150–156.
118. Fibroblasts control immunosuppressive and growth-promoting microenvironment in breast cancer through chitinase 3-like 1 secretion / N. Cohen, O. Shani, W. Raz, et al. // *Oncogene.* – 2017. – Vol. 36 (31). – P. 4457–4468.
119. Formation of cytoskeletal elements during mouse embryogenesis. III. Primary mesenchymal cells and the first appearance of vimentin filaments / W. W. Franke, C. Grund, C. Kuhn, et al. – 1982. – Vol.23 (1). – P. 43–59.
120. Gonzalez, D. M. Signal mechanisms of epithelial-mesenchymal transition / D. M. Gonzalez, D. Medici // *Sci Signal.* – 2014. – Vol.23 (7). –P.34–40.
121. Hay, E. D. Theory for epithelial-mesenchymal transformation based on the «fixed cortex» cell motility model / E. D. Hay // *Cell Motil. Cytoskeleton.* –1989. – Vol. 14 (4). –P. 455–457.
122. Heterogeneity of fibroblasts and immunosuppressive environment in human breast cancer / A. Costa, J. Kieffer, A. Scholer-Dahirel, et. al // *Cancer Cell.* – 2018. – Vol.33 (3). – P. 463–479.
123. High-throughput live cell imaging reveals differential inhibition of tumor cell proliferation by human fibroblasts / E. Flaberg, L. Markasz, G. Petranyi, et al. // *Cancer Int J.* – 2011. – Vol.128 (12). – P. 2793–2802.
124. Histological, immunological and ultrastructural description of vasculogenic mimicry in canine breast cancer / M. Clemente, M. J. Perez-Alenza, J. K. Hilaire, L. Peña // *Veterinary Pathologist.* – 2010. – Vol. 47. – P. 265–274.
125. Hypoxia promotes tumor growth by linking angiogenesis to immune escape / S. Chouaib, Y. Messai, S. Couve, et al. // *Front Immunol.* – 2012. – Vol. 3. – P. 21–35.

126. Immunohistochemical expression of p63 protein and calponin in canine mammary tumours / W. Łopuszyński, M. Szczubiał, Y. Millán, et. al // *Research in Veterinary Science.* – 2019. – Vol.123. – P. 232–238.

127. Immunohistochemical identification of myoepithelial, epithelial, and connective tissue cells in canine mammary tumors / E. Destexhe, M. Degeiter, R. Heimann, F. Coignoul // *Veterinary Pathology.* –1993. – Vol 30. – P. 97–211.

128. In search of definitions: cancer-associated fibroblasts and their markers / M. Nurmik, P. Ullmann, F. Rodriguez, et. al // *Int J Cancer.* – 2020. – Vol.15 (4). – P. 895–905.

129. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment / T. F. Gajewski, H. Schreiber, Y. X. Fu. // *Nat Immunol.* – 2013. – Vol.14(10). – P. 1014–1022.

130. Intermediate filaments and IF-associated proteins: from cell architecture to cell proliferation / Y. Nishimura, K. Kasahara, M. Inagaki // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* – 2019. – Vol. 95. – P. 479–493.

131. Intermediate filaments inDMBA-induced mammary adenocarcinomas in rats / L. Pella, J. M. Flores, M. Castailo, M. J. Gonzalez // *VetMed A.* – 1990. – Vol. 37. – P. 614–621.

132. Intermediate filaments of vimentin form microtubule networks to enhance cell polarity persistence and directional migration / Z. Gan, L. Ding, C. J. Burckhardt, et al. // *Cell Syst.* – 2016. – Vol. 3 (3). – P. 252–263.

133. Intraclonal plasticity in breast tumors revealed by large-scale 3D single-cell resolution imaging / A. C. Rios, B. D. Capaldo, F. Vaillant, et al. // *Cancer Cell.* – 2019. – Vol.35. – P. 618–632.

134. Isolation, purification, culture and characterisation of myoepithelial cells from normal and neoplastic canine mammary glands using a magnetic-activated cell sorting separation system / R. Sánchez-Céspedes, L. Maniscalco, S. Iussich, et al. // *The Veterinary Journal.* – 2013. – Vol. 197. – P. 474–482.

135. Jane, W.C. Challenges and opportunities in targeting fibroblast growth factor receptors in breast cancer / W.C. Jane // *Breast Cancer Research*. – 2012. – Vol. 14(3). – P. 208.
136. Jolicher, F. Intrauterine breast development and the myoepithelial mammary gland lineage / F. Jolicher // *J Neoplasia Breast Biol*. – 2005. – Vol.10. – P. 199–210.
137. Kalluri, R. The basics of epithelial-mesenchymal transition / R. Kalluri, R. A. Weinberg // *Journal of Clinical Investigation*. – 2009. – Vol. 119 (6). – P. 1420–1428.
138. Keratin intermediate filaments types I and II / J. T. Jacob, P. A. Coulombe, R. Kwan, M. B. Omari // *Cold Spring Harb Perspect Biol*. – 2018. – Vol.10(4). – P. 275–290.
139. Keratins contribute significantly to cell stiffness and influence invasive behavior / K. Seltsmann, A. W. Fritsch, J. A. Kas // *TM Natl Acad Sci Protocol*. – 2013. – Vol. 10. – P. 18507–18512.
140. Koledova, Z. 3D coculture of mammary organoids with fibrospheres: a model for studying epithelial-stromal interactions during mammary branching morphogenesis / Z. Koledova // *Methods Mol. Biol*. – 2017. – Vol.1612. – P. 107–124.
141. Koledova, Z. A 3D fibroblast-epithelium co-culture model for understanding microenvironmental role in branching morphogenesis of the mammary gland / Z. Koledova, P. Lu // *Methods Mol. Biol*. – 2017. – Vol.1501. – P. 217–231.
142. Lebloux, V.S. A look at cancer-associated fibroblasts: origin, function, and translational effects / V.S. Lebloux, R. Calluri // *Model Dis Mech*. –2018. – Vol.11(4). – P. 2945–2978.
143. Lee, K. New insights into the regulation of epithelial-mesenchymal transition and tissue fibrosis / K. Lee, C. M. Nelson // *Int. Rev. Cell Mol. Biol*. – 2012. – Vol. 294. – P. 171–221.

144. LRRC15 is a novel mesenchymal protein and stromal target for antibody-drug conjugates / J. W. Purcell, S. G. Tanlimko, J. Hixon, et al. // *Cancer Res.* – 2018. – Vol.78 (14). – P. 4059–4072.
145. Lymphatic drainage of tumorous mammary glands in the bitch: a lymphographic study / M. N. Patsikas, M. Karayanopoulou, E. Kaldrimidoi, et al. // *Anat Histol Embryol.* – 2006. – Vol. 35. – P. 228–234.
146. Macias, H. Mammary gland development / H. Macias, L. Hinck // *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol.* – 2012. –Vol.1 (4). – P. 533–557.
147. Mammary gland: basic structure and molecular signaling during development / S. C. Biswas, S. Banerjee, G.W. Baker, et al. // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2022 – Vol.23 (7). – P.3883.
148. McNiven, M. A. Detachment: matrix remodeling from the leading edge / M. A. McNiven // *Trends in Cell Biology.* – 2013. – Vol.23. – P.16–21.
149. Mechanical compression leads cancer cells to an invasive phenotype / J. M. Tse, G. Cheng, J. A. Tyrrell, et al. // *Proc Natl Acad Sci U S A.* – 2012. – Vol. 109 (3). – P. 911–916.
150. Mechanically active heterotypic E-cadherin / N-cadherin adhesion allows fibroblasts to promote cancer cell invasion / A. Laberandi, T. Cato, A. Bruges, // *Nat Cell Biol.* – 2017. –Vol.19 (3). – P. 224–237.
151. Merighi, A. Anatomy applicative and topography regional veterinary medicine / A. Merighi // 1st ed. Padua: Piccin Nuova Vesa. – 2005. – P. 118.
152. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis / A. E. Karnoub, et al. // *Nature.* – 2007. –Vol. 449. – P. 557–563.
153. Mesenchymal to epithelial transition in somatic cell reprogramming / M. A. Esteban et al. // *Curr. Opin. Genetics.* – 2012. – Vol.22. – P. 423–428.
154. Misdorp, W. Mammary Tumors / W. Misdorp, D. J. Meuten // ed. *Tumors in Pets.* 4th ed. Ames: Iowa State Press. – 2002. – P. 575–588.
155. Molecular characterization of the tumor microenvironment in breast cancer / M. Allinen et al. // *Cancer Cell.* – 2004. – Vol.6 (1). – P.17–32.

156. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition / S. Lamouille, J. Xu, R. Derink // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2014. –Vol.15(3). – P.178–196.
157. Mongelard, F. Nucleolin: a multifaceted protein / F. Mongelard, P. Bouvet // *Trends in cell biology.* –2007. – Vol.17(2). – P. 80–86.
158. Morphology of the Myoepithelial Cell: Immunohistochemical Characterization from Resting to Motile Phase / G. Beha, G. Sarli, B. Brunetti, et al. // *The Scientific World Journal.* – 2012. – Vol. 5. – P. 34–56.
159. Multifaceted nucleolin protein and its molecular partners in oncogenesis / I. Ugrinova, M. Petrova, M. Chalabi-Dchar, P. Bouvet // *Adv Protein Chem Struct Biol.* – 2018. –Vol.111. – P. 133–164.
160. Muschler, J. Cell-matrix interactions in breast development and breast cancer / J. Muschler, C. H. Streuli // *Cold Spring Harb Perspective Biol.* – 2010. – Vol. 2(10). – P.456–467.
161. Myocardin-associated transcription factor requirement for mammary myoepithelial cell development / S. Lee, S. Chang, X. Qi, et al. // *Mol Cell Biol.* – 2006. – Vol. 26(15). – P.5797–5808.
162. Myoepithelial cell layer integrity in canine mammary carcinoma / R. Sánchez-Céspedes, Y. Millán, S. Guil-Luna, et al. // *J Comp Pathol.* – 2011. – Vol. 145(1). – P. 25–30.
163. Myoepithelial cell of the breast / M. Moumen, A. Chiche, C. Cannet, et al. // *Int J Dev Biol.* – 2011. – Vol.55(7). – P. 763–771.
164. Myoepithelial cells are a dynamic barrier to epithelial dissemination / O. K. Sirka, E. R. Shamir, A. J. Ewald // *J Cell Biol.* – 2018. –Vol. 217(10). – P. 3368–3381.
165. Myoepithelial cells in canine mammary tumours / R. Sánchez-Céspedes, Y. Millán, S. Guil-Luna, et al. // *The Veterinary Journal.* – 2016. – Vol. 207. – P. 45–52.

166. Myoepithelial cells: their origin and function in breast morphogenesis and neoplasia / T. Gudjonsson, M. C. Adriance, M. D. Sternlicht, et al. // *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. – 2005. – Vol.10 (3). – P. 261–272.
167. Myofibroblasts of granulation tissue in normal and pathological skin healing: interaction between their secretome and microenvironment / S. Arif, E. Attiogbe, W. J. Moulin // *Regeneration of wound healing*. – 2021. – Vol. 29(4). – P. 563–572.
168. New biological principles of metastasis / A. V. Lambert, Ph. D. Pattabiraman, R. A. Weinberg // *Cell*. – 2017. – Vol.168 (4). – P. 670–691.
169. New perspectives of physiological and pathological functions of nucleolin (NCL) / W. Jia, Y. Zhenyu, Z. Jiajun, et al. // *Life Sciences*. – 2017. – Vol.186. – P.1–10.
170. Nicholson RI, Ellis EO. Expression of luminal and basal cytokeratins in human breast cancer / D. M. Abd El-Rehim, S. E. Pinder, S. E. Peisch, et al. // *J Pathol*. – 2004. – Vol. 203 №2. – P. 661–671.
171. Niehrs, C. The complex world of WNT receptor signaling / C. Niehrs // *Nature Rev. Mol. Cell Biology*. –2012. – Vol.13. – P. 757–779.
172. Nomura, S. Identity, friend or foe: vimentin and α -smooth muscle actin in cancer-associated fibroblasts / S. Nomura // *Ann Surg Oncol*. – 2019. – Vol. 26. – P. 4191–4192.
173. NPM1 enhances PD-L1 transcription and suppresses T-cell activity in triple-negative breast cancer / G. Qin, H. Wang, et al. // *Nat Commun*. – 2020. – Vol. 11. – P. 1669.
174. Nuclear translocation of the β transforming growth factor type I receptor has a novel function in RNA processing / M. Chandra, S. Zang, H. Li, et al. // *Mol Cell Biol*. – 2012. – Vol.32(12). – P. 2183–2195.
175. Nucleolin as a potential biomarker of malignant neoplasia in dogs / S. Cruz, A. C. Pedro, J. Carvalho, et al. // *Res Vet Sci*. –2021. –Vol.13(5). –P. 297–303.

176. Nucleophosmin 1 knockdown suppresses proliferation of triple negative breast cancer cells through activation of CDH1/Skp2/ p27kip1 pathway / D. Zeng, W. Xiao, J. Zhu, et al. // *Cancer Manag Res.* – 2018. – Vol. 21. – P.143–156.
177. Oftedal O. T. The mammary gland and its origin during synapsid evolution / O. T. Oftedal // *J Mammary Gland Biol Neoplasia.* –2002. –Vol.7(3). – P. 225–252.
178. *Oncology of dogs and cats: transl. from English* / J. Dobson, Lascelles. - 3rd ed. - M.: Aquarium, 2017 - 447 p.: ill, photo. - (The practice of the veterinarian). - Rev. ed.: a guide to canine and feline oncology / J. M. Dobson, B. Duncan X. Laskelles.
179. Organization and fine structure of epithelium and mesenchyme in the developing chick embryo. In: Fleischmajer R., Billingham R.E., eds. *Epithelial-mesenchymal interactions.* Hay E.D. Baltimore, Maryland, USA: Williams and Wilkins. – 1968. – P. 31—55.
180. Osteopontin mediates MZF1-TGF-beta1-dependent transformation of mesenchymal stem cells into cancer-associated fibroblasts in breast cancer / S. E. Weber, A. N. Kothari, P. I. Wai, et al. // *Oncogene.* – 2015. – Vol.34. – P. 4821–4833.
181. P53 acts as a guarantee of translational control by regulating fibrillarin and rRNA methylation in cancer / V. Marcel, S. E. Gaillard, G. Therizols, et al. // *Cancer Cell.* – 2013. – Vol.24. – P. 318–330.
182. Perepel, D. F. Microenvironmental regulation of tumor progression and metastasis / D. F. Perepel, J. A. Joyce // *Nat Med.* – 2013. – Vol.19(11). – P. 1423–1437.
183. Peters, J. M. Evolution of carcinogenesis / J. M. Peters, F. J. Gonzalez // *Toxicol Sci.* – 2018. –Vol.165 (2). – P. 272–276.
184. Powell, D. R. Neutrophils in the tumor microenvironment / D. R. Powell, A. Hattenloher // *Trends Immunol.* – 2016. – Vol. 37(1). – P. 41–52.

185. Profiling of human breast epithelial cells using single-cell RNA sequencing reveals cell diversity / K. H. Nguyen, N. Pervolarakis, K. Blake, et al. // *Nat Commun.* –2018. –Vol. 9(1). –P. 20–28.
186. Proliferation, cancer and aging - new functions of fibrillarin nucleus methyltransferase? / M. Y. Shubina, Yu. R. Musinova, E. V. Sheval // *Cell Biol Int.* –2018. –Vol. 42(11). – P.1463–1466.
187. Prometastatic tRNA fragment stimulates nucleolin oligomerization and stabilization of related metabolic mRNAs / X. Liu, W. Mei, V. Padmanaban, et al. // *Mol Cell.* –2022. – Vol. 82(14). – P. 2604–2617.
188. Proposed classification of feline "complex" mammary tumors as ductal and intraductal papillary mammary tumors / V. Zappulli, D. Caliari, R. Rasotto, et al. // *Veterinary Pathology.* –2013. –Vol.50(6). – P.1070–1077.
189. Proteomic analysis of nuclear proteins associated with malignant tumor progression: a comparative proteomic study of malignant progressing cells and regressive cells / U. Kuramitsu, E. Hayashi, F. Okada, et al. // *Anticancer Res.* – 2010. – Vol. 30 (6). –P. 2093–2099.
190. Proteomic analysis of nuclear proteins associated with malignant tumor progression: a comparative proteomic study of malignant progressing cells and regressive cells / U. Kuramitsu, E. Hayashi, F. Okada, et al. // *Anticancer Res.* – 2010. – Vol. 30 (6). – P. 2093–2099.
191. Recent advances of therapeutic targets based on the molecular signature in breast cancer: genetic mutations and implications for current treatment paradigms / Z. S. Lima, M. Ghadamzadeh, F. T. Arashloo, et al. // *J Hematol Oncol.* –2019. – Vol.12. – P. 38.
192. Regulation of mammary gland development by tissue interaction / G. W. Robinson, A. B. Karpf, K. J. Kratochwil // *Mammary Gland Biol Neoplasia.* – 1999. – Vol.4(1). – P. 9–19.
193. Role of Caveolae and Caveolins in Health and Disease / A. W. Cohen, R. Hnasko, W. Schubert, M. P. Lisanti // *Physiol Rev.* – 2004. – Vol.84. – P.1341–1379.

194. Role of cell contacts and TGF-beta signaling in epithelial-mesenchymal transition (EMT) activation / K. Gasior, N. J. Wagner, J. Kearns, et al. // Cellular migration Adh. –2019. – Vol.13(1). – P. 63–75.
195. Role of myoepithelial cells in breast tumor progression / P. R. Pandey, J. Saidou, K. Watabe // Frontiers in bioscience (Landmark edition). –2011. – Vol.15. – P. 226–236.
196. Role of vimentin in the regulation of invasive cell migration in dense cultures of breast carcinoma cells / Y. Messica, A. Laser-Azogui, T. Volberg, et al. // Nano-Latex. –2017. –Vol.17(11). – P. 6941–6948.
197. Shams, A. Re-evaluation of the myoepithelial cells roles in the breast cancer progression / A. Shams // Cancer Cell International. – 2022. – Vol.22. – P. 456.
198. Sibue, T. EMT, CSC, and drug resistance: mechanistic relationship and clinical implications / T. Sibue, R. A. Weinberg // Nat Rev Clin Oncol. –2017. –Vol. 14 (10). – P. 611–629.
199. Signaling pathways in cancer-associated fibroblasts and cancer targeting therapy / F. Wu, J. Yang, J. Liu, et al.// Sig Transduct targets Ther. – 2021. – Vol.6. – P. 218.
200. Sonnenschein, C. Carcinogenesis explained in the context of organism theory / C. Sonnenschein, A. M. Soto // Prog Biophys Mol Biol. – 2016. – Vol.122(1). – P.70–76.
201. Sonnenschein, C. The Cell Society: Cancer and the Control of Cell Proliferation / C. Sonnenschein, A. M. Soto //Springer Verlag – 1999. – Vol. 2(1). – P.340– 356.
202. Spatially and functionally distinct subclasses of breast cancer-associated fibroblasts revealed by single cell RNA sequencing / M. Bartoschek et al. // Nat. Commun. – 2018. – Vol. 9. – P. 5150.
203. Spontaneous canine and feline breast tumors as a model for human breast cancer / H. Vilhena, A. C. Figueira, F. Schmitt, et al.// – 2020.

204. Stem cells and the hierarchy of differentiation in mammary gland development / N. Y. Fu, E. Nolan, G. J. Lindeman, D. E. Wiswader // *Physiol Rev.* –2020.– Vol.100. –P. 489–523.

205. Stromal cell diversity associated with immune evasion in triple-negative human breast cancer / S. Z. Wu, D. L. Roden, K. Wang, et al. // *EMBO J.* –2020. –Vol. 39. – P.63.

206. Stromal myofibroblasts are drivers of invasive cancer growth / O. De Wever, P. Demetter, M. Mariel, M. Braque // *Int J Cancer.* – 2008.- Vol.123. – P. 2229–2238.

207. Stromal PDGFR- α activation enhances matrix stiffness, impedes mammary ductal development, and accelerates tumor growth / A. M. Hammer, G. M. Sizemore, V. C. Shukla, et al. // *Neoplasia* 19. –2017. –Vol. 3. –P. 496–508.

208. Sumbal, J. FGF signaling in mammary fibroblasts regulates multiple fibroblast functions and breast epithelial morphogenesis / J. Sumbal, Z. Koledova // *Development.* – 2019. –Vol.146 (23). – P. 203.

209. Teaming up to solve problems: cancer cells, transforming growth factor- β 1 signaling, and epigenetic damage to stromal naive fibroblasts / S. Lamprecht et al. // *Cancer.* –2018. –Vol.10. – P. 61.

210. TGF β attenuates tumor response to PD-L1 blockade by promoting T cell exclusion / S. Mariatasian, S. J. Turley, D. Nickles, et al. // *Nature.* –2018. – Vol.55. – P. 544–548.

211. TGF β 1 is essential for the differentiation of MSC-CAFs and promotes HCT116 cell migration and invasion via JAK / STAT3 signaling / H. H. Tan, et al. // *OncoTargets Ther.* –2019. –Vol.12. – P. 5323–5334.

212. The formation of a complex between nucleolin and replication protein a after cellular stress prevents initiation of DNA replication / D. Yaron, J. A. Borowiec // *J Cell Biol.* –2000. – Vol.149 (4). – P. 799–810.

213. The laminin binding α 3 and α 6 integrins cooperate to promote epithelial cell adhesion and growth / E. M. Yazlovitskaya, O. M. Viquez, T. Tu, et al. // *Matrix Biol.* – 2019. – Vol.77. – P.101–116.

214. The lymph drainage pattern of the mammary glands in the cat: a lymphographic and computed tomographic lymphographic study / P. L. Papadopoulou., M. N. Patsikas, A. Charitanti, et al. // *Anat Histol Embryol.* –2009. –Vol. 38(4). – P. 292–299.

215. The molecular basis of mammary gland development and epithelial differentiation Author links open overlay panel / P. F. Slepicka, A. V. Somasundarab, C. O. dos Santos // *Seminars in Cell & Developmental Biology.* – 2021. –Vol. 114. – P. 93–112.

216. The myofibroblast, multiple origins for major roles in normal and pathological tissue repair / L. Micallef, et al. // *Fibrogenesis Tissue Repair* 5. –2012. – Vol.10 (3). – P. 41–69.

217. The reverse effect of Warburg: aerobic glycolysis in cancer-associated fibroblasts and tumor stroma / S. Pavlides, D. Whitaker-Menezes, R. Castello-Cros, et al. // *The cell cycles.* – 2009. –Vol.8(23). –P. 3984–4001.

218. The single-cell pathology landscape of breast cancer / H. W. Jackson, Jr. Fisher, W. R. Zanutelli, et al. // *Nature.* –2020. –Vol. 578. –P. 615–620.

219. The SLUG zinc-finger protein represses E-cadherin in breast cancer / K. M. Hajra, D. Y.Chen, E. R. Fearon // *Cancer Res.* –2002. – Vol.62 (6). –P. 1613–1618.

220. The transition from epithelium to mesenchyme and breast cancer / E. Tomaskovich-Krook, E. W. Thompson, J. P. Thiery // *Breast Cancer Research.* – 2009. – Vol.11 (6). – P. 213.

221. Thompson, E. W. Carcinoma invasion and metastasis: a role for epithelial-mesenchymal transition? / E. W. Thompson, D. F. Newgreen // *Cancer Res.* – 2005. – Vol. 65. – P. 5991–5995.

222. Transcriptional landscapes of human tumor-associated macrophages and monocytes reveal cancer-specific reprogramming, biomarkers, and therapeutic targets / L. Cassetta, S. Fragkogianni, A. H. Sims, et al. // *Cancer Cell.* – 2019. – Vol.35. – P.588–602.

223. Transition of mesenchymal stem cells to tumor-associated fibroblasts promotes fibrovascular network expansion and tumor progression / E. L. Speth, J. L. Dembinski, A. K. Sasser, et al. // *PLoS One*. – 2009. – Vol.122(1). – P.70–76.
224. Translational control in cancer / N. Robichaud, N. Sonenberg, D. Ruggiero, R. J. Schneider // *Prospective Biol.* –2019. –Vol.11 (7). – P. 45–56.
225. Tumor suppression effects of myoepithelial cells on mice breast cancer / B. Farhanji, M. Latifpour, A. Mohammad Alizadeh, et al. // *European Journal of Pharmacology*. – 2015. – Vol. 765. – P. 171–178.
226. Tumor-associated macrophages as treatment targets in oncology / A. Mantovani, F. Marchesi, A. Maleschi, et al. // *Nat Rev Clin Oncol*. – 2017. – Vol.14(7). – P. 399–416.
227. Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion / R. Straussman, T. Morikawa, K. Shee, et al. // – 2012. – P. 487–500.
228. Turner, N. Fibroblast growth factor signaling: from development to cancer / N. Turner, R. Grose // *Nat Rev Cancer*. – 2010. – Vol. 10. – P. 116–129.
229. Unified single-cell genetic screening identifies regulatory checkpoints in the epithelial-to-mesenchyme transition continuum / J. L. McFalin-Figeroa, A. J. Hill, X. Qiu, et al. // *Nat Genet*. –2019. –Vol. 51(9). – P.1389–1398.
230. Use of fluorescence in situ hybridization (FISH) in diagnosis and individual therapy of solid tumors / N. M. Chrzanowska, J. Kowalewski, M. A. Lewandowska // *Molecules*. –2020. –Vol. 25(8). – P. 45–64.
231. Vandekerkhove, J. At least six different actins are expressed in higher mammals: an analysis based on the amino acid sequence of an amino-terminal tryptic peptide / J. Vandekerkhove, K. Weber // *Journal of Molecular Biology*. – 1978. – Vol. 8(4). – P. 783–802.
232. Versican expression in canine carcinomas of benign mixed tumors: is there a relationship with clinical pathological factors, invasion and overall survival? / K. A. Damasceno, A. S. Bertagnolli, A. Estrella-Lima et al. // *BMC Vet Res*. – 2012. – Vol. 8. –P. 195–212.

233. Versican expression in myoepithelial cells from carcinomas in canine mixed mammary tumors / K. A. Damasceno, A. C. Bertagnolli, A. Estrela-Lima, et al. // *The Veterinary Journal*. –2014. –Vol. 200 (1). – P. 146–151.
234. Vimentin fibers orient traction stress / N. Costigliola, L. Ding, K. J. Burkhardt, et al. // *Proc Natl Acad Sci U S A*. –2017. – Vol.114 (20). – P. 5195–5200.
235. Vimentin in motion: new developments in cell migration / R. A. Battaglia, S. Delick, H. Herrmann, N. T. Snyder. // *F1000Res*. –2018. –Vol.15(7) – P.1796.
236. Vimentin intermediate filaments control actin stress fiber assembly through GEF-H1 and RhoA / J. Y. Jiu, et al. // *Cell. Sci*. –2017. –Vol.30. – P. 892–902.
237. Vimentin: regulation and pathogenesis / D. Paulin, A. Lilienbaum, S. Karjian, et al. // *Biochemistry*. –2022. – Vol. 197. –P. 96–112.
238. Visualization of epithelial-mesenchymal transition using Chromobody technology / J. Mayer, B. Trainle, W. Rothbauer // *Cancer Res*. –2016. – Vol.76(19). – P. 5592–5596.
239. Visualizing mass cytometry and multiplatform genomics define the phenogenomic landscape of breast cancer / H. R. Ali, H. W. Jackson, W. R. Zanotelli, et al. // *Nature of Cancer*. – 2020. – Vol.1. – P. 163–175
240. Warburg, O. Über den stoffwechsel der carcinomzelle / O. Warburg, // *Naturwissenschaften*. –1924. – Vol. 12. – P. 1131–1137.
241. Warburg, O. Versuche an überlebendem carcinom-gewebe. / O. Warburg // *Clin. Wochenschr*. –1923. –Vol. 2. – P. 776–777.
242. Whole animal smooth muscle alpha actin knockout has no effect on excisional wound healing or fibroblast-to-myofibroblast transition / J. J. Tomaszek, K. J. Huxma, R. J. Schwartz, E. W. Howard // *Restoration of wound healing*. –2013. –Vol. 21 (1). – P. 166–176.

243. Wu, H. J. Epigenetic regulation of breast cancer stem cells contributing to carcinogenesis and therapeutic consequences / H. J. Wu, P. Y. Chu. // *Int J Mol Sci.* -2021.- Vol.22(15). – P. 8113.

244. Yang, M. H. TWIST activation by hypoxia inducible factor-1 (HIF-1): implications in metastasis and development / M. H. Yang, K. J. Wu, // *Cell Cycle.* – 2008. –Vol.7 (14). – P. 2090–2096.

245. Zhang, Y. Epithelial-to-mesenchymal transition in cancer: complexity and opportunities / Y. Zhang, R. A. Weinberg. // *Front Med.* – 2018. – Vol.12 (4). – P. 361– 373.