

На правах рукописи

ГАЗИН АЛЕКСЕЙ АЛЕКСЕЕВИЧ

**КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОПУХОЛЕЙ
СЕМЕННИКОВ У СОБАК**

Специальность: 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология,
фармакология и токсикология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата ветеринарных наук

Москва 2023

Работа выполнена в департаменте ветеринарной медицины аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» (РУДН)

Научный руководитель:	Ватников Юрий Анатольевич - директор департамента ветеринарной медицины ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы», доктор ветеринарных наук, профессор (специальность 4.2.1.)
Официальный оппонент:	Стекольников Анатолий Александрович - профессор кафедры общей, частной и оперативной хирургии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», доктор ветеринарных наук, академик РАН, профессор (специальность 4.2.1.)
Официальный оппонент:	Сотникова Лариса Фёдоровна - заведующий кафедрой болезней мелких домашних, лабораторных и экзотических животных ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», доктор ветеринарных наук, профессор (специальность 4.2.1.)
Ведущая организация:	ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

Защита диссертации состоится « 20 » декабря 2023 г. в 14.00 часов, на заседании диссертационного совета ПДС 2021.003 при ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы» по адресу: 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8/2, зал №2.

С диссертацией можно ознакомиться в Учебно-научном информационно-библиографическом центре Российского университета дружбы народов имени Патриса Лумумбы по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

Автореферат диссертации размещен на сайтах: <https://vak.minobrnauki.gov.ru>, <https://www.rudn.ru/science/dissovet>

Автореферат диссертации разослан «__» ноября 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат ветеринарных наук,
доцент



Семёнова В. И.

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Клинико-морфологический анализ новообразований является основой своевременной постановки диагноза и лежит в основе эффективности отдельных клинических и морфологических методов, обеспечивающих верификацию опухоли семенников, и предоставляет объективный прогноз эффективности выбора метода лечения (Jubb K.V.F., Kennedy P.C. et al., 2012; Vail D.M., Thamm D.H. et al., 2019; Meuten D.J., 2020). Новообразования семенников занимают первое место по распространенности опухолей репродуктивной системы у самцов семейства *Canidae* и занимают до 90% всех новообразований в данной системе органов (Господинова А.И., 2020; Зотова Е.М., Марьин Е.М. с соавт., 2021; Гречко В.В., Овчинников Д.К., 2022; Baioni E., Scanziani E. et al., 2017; Peters M.A.J., de Jong F.H. et al., 2000). Кроме того, у данного вида животных неоплазия семенников занимают третье место по распространенности среди всех новообразований (Авдеенко В.С., 2022; Baioni E., Scanziani E. et al., 2017).

Причины опухолей разнообразны, большое количество научной литературы посвящено различным их проявлениям и породной предрасположенности (Смотренко Е.М., Бобрик Д.И., 2021; Меликова Ю.Н., Сотникова Л.Ф., 2022; Dobson J.M., Jane M. et al., 2011; Khan F.A., Gartley C.J. et al., 2018; Meuten D.J., 2020). Вместе с этим, остаются вопросы, связанные с классификацией новообразований, особенностями их морфологической диагностики и прогнозом исхода заболевания (Седегов С.В., 2014; Илиеш В.Д., Макарова И.А., 2022; Hohšteter M., Artuković B. et al., 2014; Meuten D.J., 2020).

Следует отметить, что несмотря на доброкачественное поведение опухолей семенников, такие опухоли как семиномы и сертолиомы метастазируют в 15% случаев (Якунина М.Н., 2012; Соколов С.А., Краснов А.А., 2014; Jubb K.V.F., Kennedy P.C. et al., 2012; Meuten D.J., 2020), что представляет собой важный прогностический аспект их верификации (Togni A., Rütten M. et al., 2015; Canadas A., Romão P. et al., 2016; Kudo T., Kamiie J. et al., 2019).

Таким образом, клинический опыт, сведения из научной литературы, говорят о необходимости совершенствования методов контроля опухолевых процессов в семенниках, а также скрупулезному анализу эпидемиологических данных, причин развития и исходов данного заболевания (Liao A.T., Chu P.Y. et al., 2009; Manuali E., Forte C. et al., 2020; Gazin A.A., Vatnikov Y.A. et al., 2022).

Степень разработанности. При поисковом запросе в системе национальной библиотеки медицины Национального центра биотехнологической информации PubMed по ключевым словам «canine testicular tumors» (перевод – «опухоль семенников собак») выявляется около 342 работ в период с 1945 по 2023 года. Кроме того, при поиске в научной электронной библиотеке по запросу «опухоль семенников у собак» представляется 19 научных работ с 2012 по 2023 года. Изучение опухолей семенников занимается ряд ученых, которые опубликовали ретроспективные исследования, основываясь на данных определенных лечебных заведений, расположенных на различных территориях, что позволило оценить распространенность различных типов опухолей семенников, а также оценить популяцию собак, подверженных данным патологиям. Так Grieco V. et al., в 2008 и Manuali E. et al. и Nascimento H.H.L., в 2020 годах провели независимые исследования в Италии и Бразилии соответственно, а Liao A.T. et al., в 2009 году в Таиланде. В Российской Федерации была проведена

единственное исследование Седеговым С.В., в 2014 году в г. Пермь. Клиническая презентация опухолей семенников описана в различных источниках, однако не было изучено их влияние на гематологические и биохимические показатели крови пораженных собак и не были выявлены статистически часто встречаемые морфологические признаки неоплазий (Dugat D.R., Medici E.L. 2015; Canadas A. Romão P., 2016; Khosravifarsani M., Bahadoram M., 2018; Marshall H., 2018; Kudo T., Kamiie J. et al., 2019; DeForge T.L., 2020; Nascimento H. N. L., dos Santos A. et al., 2020; Зотова Е.М. Марьин Е.М. с соавт., 2021; Перлецкая О.В., Конопельцев И.Г., 2021; Гречко В.В., Овчинников Д.К., 2022).

Наличие работ по данной тематике как в зарубежных, так и в российских базах данных говорит об активном исследовании данного вопроса, однако на данный момент нет исследований с большой выборкой животных из России, в том числе Московского региона, которые бы представили свои данные, кроме того, нет подробного описания различных морфологических особенностей гистологического строения опухолей семенников у собак, включая выявления характерных особенностей для каждого типа новообразования.

Цель исследования: на основе анализа характеристик опухолей семенников у собак, усовершенствовать методы их клинико-морфологической диагностики.

Задачи исследования:

1. Провести анализ распространения и первичной диагностики опухолей семенников, дать характеристику собакам, подверженной данной патологии;
2. Определить характерные морфологические признаки различных типов новообразований семенников;
3. Представить сравнительную патогистологическую характеристику;
4. Разработать рекомендации для ветеринарной патоморфологии по диагностике и микроскопическому описанию опухолевых поражений семенников.

Научная новизна. Впервые получены данные о распространении опухолей семенников у собак в Московском регионе, выявлен средний возраст - $10,39 \pm 2,27$ лет (диапазон 2 – 15 лет); распространенные породы: метисы (28,9%), йоркширские терьеры (22,2%), золотистые ретриверы (13,3%), лабрадоры ретриверы (15,6%) и чихуахуа (8,9%). Достоверно установлено, что новообразования семенников выявлялись случайно во время ультразвукографии (64,6%), реже их выявляли самостоятельно владельцы (24,7%) и редко при клиническом осмотре (11,5%). Впервые разработана схема отбора собак, которым рекомендовано ультразвукографическое исследование семенников для ранней диагностики опухолевого процесса, доказана необходимость ультразвукографического исследования семенников у самцов собак с 9-летнего возраста, а также предрасположенных к новообразованиям семенников и крипторхизму животных.

Впервые установлено, что лейдигомы (53,13%) являются самыми распространенными новообразованиями семенников, семиномы (27,5%) занимают второе место, третье место – сертолиомы (13,75%), а самыми редкими в исследовании были смешанные опухоли (5,63%). В крипторхических семенниках чаще встречались семиномы (60%), реже сертолиомы (35%) и самыми редкими были смешанные опухоли (5%); лейдигомы же не были выявлены в нескротальных семенниках. Уни- и билатеральные опухолевые поражения семенников встречаются в 6,65 раза чаще, чем два новообразования одновременно в левом или правом семеннике.

При биохимическом исследовании сыворотки крови у собак с опухолями семенников впервые было выявлено повышение сывороточных

аланинаминотрансферазы в 1,07 – 1,4 раза, щелочной фосфатазы в 1,6 – 3,19 раз у всех новообразований, а также аспартатаминострансферазы в 1,06 раза только у семинома.

Патогистологическая оценка выявила характерные морфологические признаки, свойственные различным типам новообразований. Лейдигомы достоверно в 2,5 раза чаще имеют умеренный анизоцитоз и анизокариоз, а также впервые описан «адипоцитоподобный» тип. Сертолиома в 10 раз чаще обладают низким количеством митозов. Семинома имеют в 6,3 раза чаще выраженный анизокариоз и в 21 раз чаще высокое количество митозов, а также в около половине случаев имели лимфоплазмочитарные инфильтраты. При сравнительном изучении опухолей семенников выявлено, что лейдигомы имеют геморрагии в 16 раз и кисты в 27 раз чаще, чем другие опухоли семенников; только семинома имеют лимфоцитарную инфильтрацию, а также в 1,73 раза чаще по сравнению с лейдигомами и в 19 раз чаще по сравнению с сертолиомами выраженный анизокариоз и в 21 раз чаще высокое количество митозов по сравнению с другими опухолями семенников.

Теоретическая и практическая значимость работы. Представлен мониторинг опухолей семенников по Московскому региону, что позволяет оценивать риск развитие данного процесса у собак. Клинико-морфологическое исследование опухолей семенников позволит обосновать ультразвукографическое исследование семенников у собак, в частности пожилого возраста и предрасположенных к опухолям данного органа и крипторхизму животных; а также обращать внимание на повышение биохимических показателей аланинаминотрансферазы, аспартатаминострансферазы и щелочной фосфатазы и возможную их связь с опухолями семенников, а также включать новообразования семенников в списки дифференциальных диагнозов этиологических причин повышения описанных биохимических показателей. Представленные гистологические характеристики опухолей семенников позволят проводить более точную дифференциальную диагностику, в том числе предложенные критерии микроскопического описания создадут единую патогистологическую систему диагностики данных новообразований у собак. На основе полученных результатов исследований, разработаны методические рекомендации «Дифференциальная диагностика опухолей семенников у собак» и «Микроскопическое описание опухолей семенников у собак», утвержденные на заседании Ученого совета Аграрно-технологического института РУДН № 2021-08/4 от 18.11.2020.

Методология и методы исследования. В исследовании задействовали собак с новообразованиями семенников за период 2018 – 2023 года. Ультрасонографическое исследование, общеклинический анализ крови, биохимическое исследование сыворотки крови, а также все этапы патогистологической подготовки материала и микропрепаратов, включая микроскопическую оценку, были проведены на современном лабораторном оборудовании. При проведении исследований, включенных в диссертационную работу, использовались методы анализа, синтеза, учета классификации, дедукции, индукции, а также статистические методы анализа полученных данных.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Анализ подверженных опухолям семенников собак и биохимические изменения крови у собак с опухолями семенников;
2. Обоснование необходимости ультразвукографического исследования для диагностики опухолей семенников у кобелей;
3. Морфологические критерии для классификации и дифференциальной диагностики тестикулярных новообразований у собак.

Степень достоверности и апробации результатов исследования.

Достоверность представленных результатов проведенных исследований, основных положений работы, выводы, предложения и рекомендации обоснованы достаточным количеством животных, участвующих в диссертационной работе, изучение обильного объема отечественных и иностранных научных источников информации по темам исследования. Представленное заключение и рекомендации обоснованы данными, которые представлены в таблицах и приложениях диссертации. Оборудование, используемое в рамках научной работы, является современным и сертифицированным. Полученные данные были внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)». Материалы исследований внедрены в практическую деятельность отделения патоморфологической диагностики ветеринарного онкологического научного центра – ветеринарной клиники «Биоконтроль», г. Москва.

Материалы диссертации доложены и обсуждены на заседаниях Департамента ветеринарной медицины АТИ РУДН (2018 – 2023 года), на Национальной ветеринарной конференции на секции «Лабораторная диагностика + Патоморфология» (28 ноября 2020 года); на внутренней конференции ветеринарного онкологического научного центра – ветеринарной клиники «Биоконтроль», г. Москва (20 декабря 2020 года); на XVI Всероссийской конференции по онкологии мелких домашних животных (11 марта 2021 года); на Международных научно-практических конференциях: «Приоритетные направления научных исследований. Анализ, управление, перспективы» (21 февраля 2023 года); «Современные задачи и перспективные направления инновационного развития науки» (9 февраля 2023 года) и на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Интеллектуальный потенциал России» (6 февраля 2023 года).

Публикации. Основные положения диссертационной работы изложены в 8 научных работах: 3 рецензируемые в изданиях, рекомендованных перечнем ВАК и РУДН, 1 работа в журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа содержит 123 страницы компьютерного текста, содержит введение, обзор литературы, результаты и обсуждение исследования, заключение, практические предложения и перспективы дальнейшей разработки темы и приложение. Научная работа включает 9 таблиц, 28 рисунков, включающих 60 микрофотографий, 9 графиков и 1 схему. Список литературы содержит 142 источника, в том числе 115 от иностранных авторов.

2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1. Материалы и методы. Исследование проводили в период 2018 – 2023 года на базе департамента ветеринарной медицины Аграрно-технологического института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы». Клиническую часть выполняли в ООО ветеринарная клиника «Биоконтроль - ветеринарный онкологический научный центр» г. Москва.

В представленном исследовании отображены все случаи опухолей семенников у собак, поступивших в ветеринарную клинику – ветеринарный онкологический научный центр «Биоконтроль», г. Москва. Всего за данный период с подозрением на опухоль семенников поступило 98 животных, у которых по результатам гистологического исследования обнаружили 160 опухолей.

Все животные, поступившие на прием в ветеринарную клинику «Биоконтроль» проходили стандартные процедуры первичного приема: опрос владельцев, изучение анамнеза, взвешивание, а также обзорное ультразвукографическое исследование, которое в большинстве случаев проводилось в стенах клиник и на аппарате Philips Affiniti70. При выполнении измерения с помощью УЗИ в исследовании использовалось наибольшее значение размера опухолевого узла. Если у владельцев имелись жалобы при поступлении, то врач приема проводил необходимые манипуляции для оценки. Выявлением новообразования/ий владельцем считалось, если владелец поступал на прием с жалобой на новообразование семенников у питомца, которое он заметил сам; врачом, если новообразование выявилось во время приема без использования продвинутых методов диагностики; на УЗИ, если новообразования впервые выявилось во время ультразвукографии. У 98 собак, участвующих в исследовании, по результатам физикального осмотра и/или УЗИ были обнаружены показания к хирургическому вмешательству – скротуморхифуниколоэктомии или при крипторхизме – орхифуникулоэктомии.

По окончании оперативного вмешательства в течение 15 минут материал поступал в отделение патоморфологической диагностики для первичной фиксации. Послеоперационный материал помещали в 10% нейтрально-забуференный формалин на 24 часа, а если материал превышал размером более 1 см, то выполняли надрезы через каждые 0,5 – 1 см для лучшего проникновения фиксирующей жидкости. После суточной фиксации проводилась патологоанатомическая вырезка с изучением макроскопической картины, ее описанием и формированием гистологических кассет, которые содержали репрезентативные участки с патологиями в семенниках, выявленные при макроскопии. Оценка макроскопической картины производилась по общепринятым критериям (Jubb K.V.F., Kennedy P.C. et al., 2012; Southard T., McDonough S.P., 2016). Каждому пациенту присваивали свой порядковый номер, согласно внутреннему стандарту операционных процедур отделения патоморфологической диагностики. После этапа вырезки материал помещали в новую порцию 10% нейтрально-забуференного формалина для суточной фиксации. После второй фиксации материал передавали в гистотехнический отдел, где проходил гистотехнический процессинг согласно общепринятым протоколом и с использованием изопропилового спирта как дегидратанта. Затем материал вынимали из аппарата проводки и переносили на этап заливки в парафиновые блоки, после чего нарезался на микротоме Hospitex с получением срезов толщиной 4 мкм. После вертикальной сушки стекол при комнатной температуре выполняли процесс окраски препаратов гематоксилин-эозином, с использованием гематоксилина Эрлиха и водно-спиртового раствора эозина (реагенты и инструкция производства «Биовитрум», ООО «ЭргоПродакшн») с помощью автоматического аппарата окраски АФОМК-16-ПРО.

При гистологическом исследовании опухолей семенников использовали критерии и классификации, опубликованные в авторитетных работах (Jubb K.V.F., Kennedy P.C. et al., 2012; Meuten D.J., 2020). Микроскопическое исследование проводили на микроскопе Olympus CX41 с камерой для микроскопа ADF STD16, широкопольными окулярами FN20 с увеличением $\times 10$ и с использованием объективов с увеличениями $\times 4$, $\times 10$, $\times 20$, $\times 40$. Подсчет митозов производили в самых активноделящихся полях зрения суммарно на $2,37 \text{ мм}^2$ (на пересчет FN20 поле зрения размером $2,37 \text{ мм}^2$ равно 12 последовательным и не пересекающимся полям зрения при увеличении $\times 400$ или при FN22 – 10 полям зрения) (Meuten D.J., 2020). Полученные результаты количества митозов разделили на две группы: меньше 10 митозов и больше 10 митозов на 10 полях зрения при увеличении $\times 400$. Анизоцитоз и анизокариоз оценивали по трем категориям:

слабый – при незначительной вариации в размере цитоплазмы/ядра клетки; умеренный – при вариации в размере цитоплазмы/ядра клетки в менее, чем в 2 раза; выраженный – при вариации в размере цитоплазмы/ядра клетки в более, чем в 2 раза. Анизоцитоз и анизокариоз оценивали в 12 случайных полях зрения при увеличении $\times 400$.

Анализ картотеки пациентов проводился самостоятельно с формированием сборной таблицы с необходимой для анализа информацией. Все гистологические заключения перечитывались, а также пересматривались все без исключений гистологические стекла для оценки необходимых морфологических критериев. Результаты также заносились по форме в таблицы для подсчета. Все данные оценивали на нормальность распределения с использованием критерия Шапиро-Уилка. Для данных, которые имели ненормальное распределение, использовали непараметрические статистические методы обработки. При оценке количественных независимых данных, если сравнивали две группы, использовался критерий Манна-Уитни и Колгоморова-Смирнова, а при сравнении более двух групп использовали критерий Крускала-Уоллиса. При оценке качественных данных при сравнении двух несвязанных выборок использовали критерий хи-квадрат, а при необходимости сравнение более двух групп использовали также критерий ХИ-квадрат, но при выявлении достоверных различий оценка производилась попарно. При необходимости формировалась описательная статистика, в которой оценивались среднее арифметическое, стандартное отклонение, минимум и максимум. Достоверность различных показателей и параметров считали значимой при $p < 0,05$. Весь статистический анализ проводили на персональном компьютере с использованием программы BioStat (AnalystSoft Inc., California, United States).

2.2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

2.2.1. Общая характеристика популяции собак в выборке и опухолей семенников. Всего в исследовании приняли участие 98 животных, у которых было выявлено 160 новообразований. Возраст животных варьировался от 2 до 15 лет, средний возраст составил $10,39 \pm 2,27$ лет (рисунок 1). Данный результат схож с теми, что были получены у Liao A.T, Chu P.Y.. et al., (2009), Grieco V., Riccardi E. et al. (2008), Manuali E., Forte C. et al. (2020), Nascimento H.H.L., Santos A. et al. (2020) и Седегов С.В. (2014). Полученные данные могут говорить о том, что средний возраст собак, подверженных опухолям семенников, является схожим не зависимо от зоны проживания. Данные о породе были доступны у всех животных, по результату чего, было выявлено 45 различных пород, участвующих в исследовании. Самыми распространенными породами являлись метисы (28,9%, 13/45), йоркширские терьеры (22,2%, 10/45), золотистые ретриверы (15,6%, 7/45), лабрадоры-ретриверы (13,3%, 6/45) и чихуахуа (8,9%, 4/45). Также встретились 25 пород, которые представлены единичными животными в нашей выборке.

Информация о выявление новообразования семенника/ов владельцем, врачом на приеме или при УЗИ была доступна для 96 животных. Владельцы выявляли новообразование семенников у своего животного в 24,7% случаях (23/96), врачи на приеме в 11,5% (11/96) и при УЗИ в 64,6% (62/96). При выполнении статистического попарного анализа с помощью таблицы сопряженности и критерия хи-квадрата Пирсона показали, что достоверно чаще новообразования семенников выявляются при ультрасонографическом исследовании, чем самими владельцами или ветеринарными

врачами на приме ($p < 0,05$). Это может быть связано с тем, что не все владельцы проводят пальпацию семенников для ранней диагностики опухолей данной локализации, а ориентируются только на зрительную оценку. Кроме того, стоит учитывать, что, возможно, некоторые ветеринарные специалисты не проводят рутинную пальпацию семенников у кобелей, а также не всегда данный метод приводит к выявлению опухолевых узлов в паренхиме семенников. Из-за чего следует вывод, что при первичном приеме и профилактических осмотрах целесообразно выполнять ультразвуковое исследование и включать в ультрасонографии брюшной полости у интактных самцов исследование семенников для ранней диагностики новообразований.

При изучении распространенности опухолей семенников выявили, что в 10,2% (10/98) случаев выявилось сразу два новообразования в левом семеннике, когда как в 4,1% (4/98) были представлены два новообразования в правом семеннике. Унилатеральное поражение представлено в 45,9% (45/98), а билатеральное в 49% (48/98) случаях. При выполнении статистического анализа с помощью таблицы сопряженности и критерия хи-квадрата Пирсона показали, что унилатеральное и билатеральное поражение семенников встречается чаще в 6,65 раз, чем два новообразования в левом или правом семенниках ($p < 0,05$). Также не было выявлено статистически достоверной разницы между частотой встречаемости унилатерального и билатерального поражения ($p > 0,05$). Данный результат позволяет констатировать, что опухоли семенников в равной степени могут возникать как в одном, так сразу в двух семенниках, что необходимо учитывать при проведении диагностически и хирургических мероприятий. Кроме того, редкими вариантами опухолевых поражений являются одномоментная презентация более одного опухолевого процесса в левом или правом семеннике.

Ультрасонографическое исследование выполнялось 94 из 98 животным. По результатам данного визуального метода исследования новообразования обнаружили в 86,6% случаях, когда как в 0,8% случаях был ложно предположен неопухольный процесс, а в 12,6% новообразования не были выявлены. Данные расхождения могли возникнуть из-за того, что размеры новообразования варьировались в большом диапазоне (по УЗИ: 3 – 84 мм; при патологоанатомическом исследовании: 1 – 95 мм) и, более вероятно, связано с тем, что мелкие новообразования сложнее визуализировать и интерпретировать при ультрасонографии. Несмотря на наличие ложно положительных и ложно отрицательных случаев диагностики новообразований семенников у собак методом УЗИ, данное исследование является хорошим методом для первичной диагностики и выявления патологических процессов, что обосновывает его рутинное применение в практической ветеринарной деятельности при исследовании патологий мужских гонад у собак.

При измерении размеров новообразованием ультразвуковым методом выявили среднее значение $17,5 \pm 14,84$ мм (диапазон 3 – 84 мм). При оценивании новообразований, локализовавшихся в левом семеннике: среднее значение составило $16,48 \pm 16,11$ мм (диапазон 3 – 84 мм); в правом – $18,55 \pm 13,48$ мм (диапазон 5 – 65 мм). По результату статистического исследования не были выявлены достоверные различия между размерами новообразований в левом и в правом семенниках ($p \geq 0,05$). Полученные данные говорят о том, что при ультрасонографии выявляется значительная вариация в размере опухолей семенников у собак. Исследование средних значений, стандартных отклонений, минимальных и максимальных значений общего клинического анализа крови у всех собак с опухолями семенников, участвующих в исследовании, выявило, что изучаемые неопластические патологии достоверно значительно не влияют на гематологические показатели, в том числе не нарушают гематопоетические функции

красного костного мозга. По результату биохимического исследования были выявлены отклонения показателей за референсные значения ALP в 2,73 раза, а также ALT в 1,3 раза.

Согласно литературным источникам, увеличение данных показателей в 2 – 3 раза является клинически значимым и является руководством к дальнейшему проведению диагностики для поиска причины повышения данных ферментов в сыворотке (Latimer K.S., 2011; Scott M.A., Stockham S.L., 2013; Villiers E., Ristić J., 2016). В нашем случае под данное определение подходит показатель щелочной фосфатазы, что может объясняться тем, что в структурах семенника содержится изофермент, который был исследован у людей, собак и крыс, в том числе было изучено повышение данного фермента в тканях семенника и его придатка при различных патологических (Koshida K., Nishino A. et al., 1991; Ghosh P.K., York J.P., 1994; Khosravifarsani M., Bahadoram M. et al., 2018). Однако не были обнаружены исследования, которые бы включали в себя изучение повышения сывороточной щелочной фосфатазы у собак с новообразованиями семенников, что говорит о новизне данного открытия. Представленная информация говорит о том, что показатель сывороточной щелочной фосфатазы может значительно повышаться у собак с опухолями семенников, поэтому это необходимо принимать во внимание при составлении списка дифференциальных этиологических причин повышения данного показателя у собак.

При патологоанатомической вырезке производилось измерение максимального размера новообразований, по результату которого среднее значение составило $14,97 \pm 14,82$ мм (диапазон 1 – 95 мм). В левом семеннике средний размер опухолей составил $13,9 \pm 15,44$ мм (диапазон 1 – 95 мм), когда как в правом – $16,17 \pm 14,08$ мм (диапазон 1 – 75 мм). Данные результаты говорят о значительном варьировании размеров новообразований семенников, при могут наблюдаться как маленькие новообразования, которые клинически могут не выявляться, в том числе при пальпации, так и совсем крупные опухоли, которые могут быть обнаружены визуально. Для анализа выживаемости была доступна информация от 48 (49%) собак. 30/48 (60,42%) собак пережили более 364 дней, когда как 19/48 (39,58%) погибли в течение данного времени. 13/19 (68,42%) собак были эутаназированы, когда как остальные погибли в результате прогрессирования патологического процесса. 10/19 (52,63%) собак погибли от заболевания, не связанного с опухолевым процессом в семенниках.

2.2.2. Клиническая характеристика групп опухолей семенников. Всего у 98 собак было выявлено 160 опухолей. Самой часто встречаемой опухолью являлась лейдигома (53,13%, 85/160; $p < 0,05$), на втором месте по частоте встречаемости была семинома (27,5%, 44/160), на третьем – сертолиома (13,75%, 22/160), а самыми редкими оказались смешанные опухоли (5,63%, 9/160). Тенденция частоты встречаемости представленных опухолей семенников сохраняется в левом и в правом семенниках. На рисунке 1 указано подробное распределение опухолей семенников в различных семенниках. Данная картина распространенности различных типов опухолей семенников позволяет составлять верный список дифференциальных диагнозов, начиная его с самого вероятного диагноза, заканчивая самым менее вероятным. Полученная нами статистика позволяет при опухолях семенников у собак в первую очередь думать о лейдигоме, после чего о семиноме, сертолиоме и в меньшей степени о смешанной опухоли.

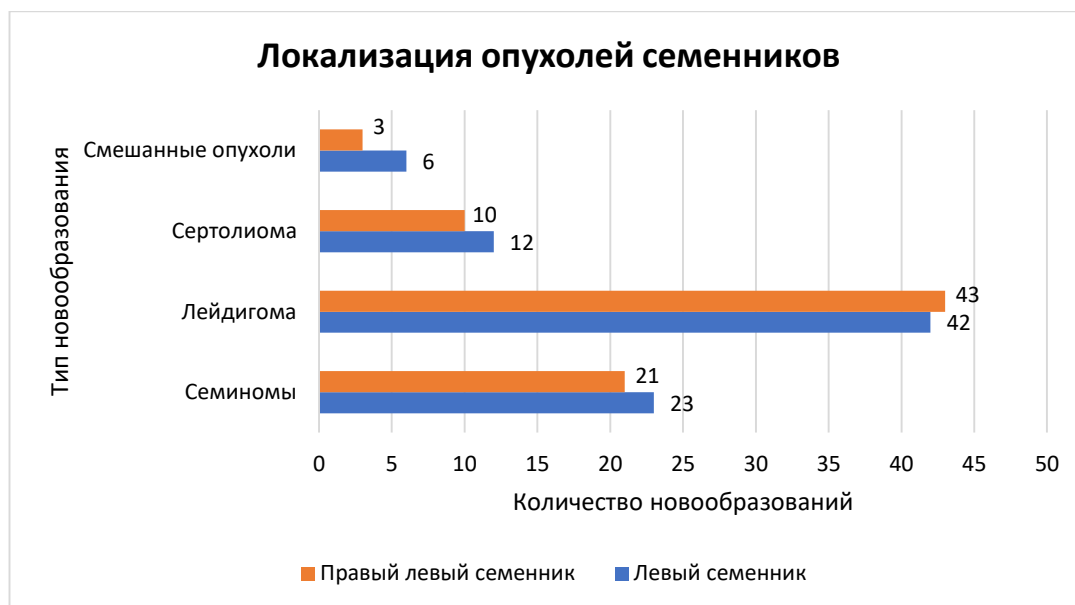


Рисунок 1. Тип и количество опухолей выявляемые в левом и правом семенниках.

В таблице 1, представлена визуализация результатов различных исследований, которые показывают распространенность новообразований семенников в различных исследованиях и регионах (Grieco V., Riccardi E. et al., 2008; Liao A.T., Chu P.Y. et al., 2009; Седегов С.В., 2014; Manuali E., Forte C. et al., 2020; Gazin A.A., Vatnikov Y.A. et al., 2022). Полученные результаты позволяют констатировать, что лейдигомы, сертолиомы, семиномы и смешанные опухоли являются часто встречаемыми новообразованиями семенников у собак.

Таблица 1. Количество различных новообразований семенников

Новообразования	Количество новообразований семенников у собак в различных исследованиях						
	<i>Grieco V., Riccardi E. et al., 2008</i>	<i>Liao A.T., Chu P.Y. et al., 2009</i>	<i>Manuali E., Forte C. et al., 2020</i>	<i>Nascimento H.H.L., Santos A. et al., 2020</i>	<i>Седегов С.В., 2014</i>	<i>Gazin A.A., Vatnikov Y.A. et al., 2022</i>	Данные исследования
Лейдигомы	55*	25	194*	46	4	227*	85*
Сертолиомы	9	16	68	47	5	80	22
Семиномы	46	33*	113	60*	24*	107	44
Смешанные опухоли	19	22	13	7	0	33	9
Всего новообразований	129	96	388	160	33	447	160

Примечания. Исследования (Grieco V., Riccardi E. et al., 2008; Liao A.T., Chu P.Y. et al., 2009; Седегов С.В., 2014; Manuali E., Forte C. et al., 2020; Nascimento H.H.L., Santos A. et al., 2020; Gazin A.A., Vatnikov Y.A. et al., 2022). (*) отмечено значение количества новообразования, которое преобладала в исследовании.

По результату данной информации можно сделать вывод, что распространенность определенных пород в различных регионах и странах значительно влияют на результаты распространенности определенных новообразований семенников, поэтому ветеринарным врачам необходимо брать во внимание данную особенность при составлении списка дифференциальных диагнозов, а также консультирования владельцев собак с новообразованиями семенников. Из 98 животных только 20 семенников с новообразованиями располагались крипторхически. Самой частой опухолью в крипторхических семенниках являлась семинома (60%, 12/20). Сертолиома встречались в 35% (7/20), смешанные опухоли в 5%, когда как лейдигомы не встречались в нашем исследовании в крипторхических семенниках. Анализ крипторхических семенников показал, что семиномы встречались одинаково как в левом, так и в правом семенниках (50%, 6/12 и 50%, 6/12 соответственно), сертолиомы чаще встречались в правом семеннике (85,71%, 6/7), чем в левом (14,29%, 1/7), а единственная смешанная опухоль была выявлена только в правом крипторхическом семеннике.

При изучении возраста собак по различным новообразований было выявлено, что средний возраст собак с лейдигомами составил $10,53 \pm 2,16$ лет (диапазон 4 – 15 лет); с семиномами – $10,52 \pm 2,2$ лет (диапазон 5 – 13 лет); с сертолиомами – $9,88 \pm 2,93$ лет (диапазон 2 – 13 лет); со смешанными опухолями составил $10,38 \pm 2,2$ лет (диапазон 6 – 12 лет). При статистическом сравнении данных возраста по разным патологиям семенникам (возраст собак с лейдигомами имеет нормальное распределение, когда как со сертолиомами, семиномами и смешанными опухолями – ненормальное) с помощью критерия Крускала-Уолисса были выявлены незначительные различия ($p > 0,05$).

Исследование пород и опухолей семенников в нашей выборке показало, что лейдигомы встречались чаще всего у метисов (15,29%, 13/85), йоркширский терьеров (10,59%, 9/85), лабрадоров-ретриверов (8,24%, 7/85), а также стаффордширских терьеров, кане-корсо, американских питбультерьеров и миттельшнауцеров (по 4,7%, 4/85 на каждую породу). Семиномы часто у метисов (13,64%, 6/44), золотистых ретриверов (13,36%, 5/44), брюссельских гриффонов и чихуахуа (по 6,82%, 3/44 на каждую породу). Сертолиомы чаще встречались у метисов, йоркширских терьеров и бриаров (по 13,64%, 3/23 на каждую породу). Смешанные опухоли часто выявлялись у метисов и антарктических хаски (по 22,22%, 2/9 на каждую породу). В одном исследовании также изучали связь пород с определенными новообразованиями у собак, в частности сертолиомы чаще выявлялись у немецких овчарок, а лейдигомы у метисов (Grieco V., Riccardi E. et al., 2008).

Ультразвуковому исследованию подверглось 96,25% опухолей (154/160), а при патологоанатомическом исследовании были оценены все 100% опухолей (160/160). При сравнении измерений методом УЗИ и при патологоанатомической вырезки было выявлено значимое различие показателей у лейдигом ($p < 0,05$), когда как у остальных опухолей значимые различия не были зарегистрированы ($p > 0,05$). Ранее в нашем исследовании собак с лейдигомами, поступившие на лечение за 2020 год, мы не обнаруживали достоверных различий в вариации размеров при измерении на УЗИ и при патологоанатомической вырезке (Газин А.А., Ватников Ю.А. с соавт., 2022). Данный результат может говорить о том, что патологоанатомическое измерение является более точным методом для оценки размеров новообразования, чем УЗИ, однако данные значимые отличия выявляются при сравнении больших выборок и нельзя исключать, что при изучении данного вопроса на большем количестве новообразований семенников различия будут обнаружены с семиномами, сертолиомами и смешанными опухолями.

При изучении средних значений показателей общего анализа крови собак по отдельным группам новообразований семенников не было обнаружено значимых изменений, которые могли бы клинически дифференцировать опухолевые процессы не только между собой, но и с другими патологическими процессами. Биохимические показатели собак, распределенных в группы по новообразованиям (таблица 2), выявили показатели, средние значений которых выходили за пределы референсных интервалов.

Таблица 2. Результаты биохимического анализа крови собак с различными новообразованиями семенников

Показатели	Единицы измерения	Референсное значение	Среднее значение и стандартное отклонение			
			Л	СЕРТ	СЕМ	СМЕШ
ТВ (Общий билирубин)	μmol/L	0,0 - 10,3	2,88 ± 1,74	2,16 ± 0,96	4,65 ± 9,33	2,64 ± 0,95
ALT	U/L	8,20 - 57,30	80,4 ± 56,78	61,99 ± 49,84	73,61 ± 58,77	61,16 ± 37,41
AST	U/L	8,90 - 48,50	31,94 ± 18,93	27,65 ± 10,08	51,50 ± 84,81	35,11 ± 22,49
UREA (Мочевина)	mmol/L	3,10 - 8,50	8,72 ± 10,76	5,58 ± 2,12	7,19 ± 5,48	6,09 ± 1,59
GLU (Глюкоза)	mmol/L	3,80 - 7,00	5,75 ± 1,09	5,49 ± 1,95	5,49 ± 1,20	5,41 ± 1,22
ALP	U/L	0,00 - 75,00	238,99 ± 468,09	121,81 ± 63,25	204,47 ± 209,44	163,22 ± 117,46
CRE (Креатинин)	μmol/L	44,00 - 141,00	93,57 ± 42,5	87,25 ± 21,01	98,14 ± 32,6	89,01 ± 19,63
TP (Общей белок)	g/L	55,00 - 75,00	71,16 ± 5,93	72,35 ± 8,25	71,39 ± 7,01	66,73 ± 2,58
ALB (Альбумин)	g/L	28,00 - 40,00	35,09 ± 4,36	35,55 ± 5,43	35,14 ± 6,28	32,79 ± 4,09

Примечание. Л – лейдигомы; СЕРТ – сертолиома; СЕМ – семинома; СМЕШ – смешанные опухоли.

В данном случае были выявлено повышение ALT и ALP у всех новообразований, а AST только у семинома. Аланинаминотрансфераза (ALT), аспартатаминотрансфераза (AST) и щелочная фосфатаза (ALP) являются ферментами, участвующие в биохимических реакциях в организмах, и их концентрация измеряется в сыворотке крови при биохимическом анализе крови. Кроме того, данные ферменты имеют различные изоформы, которые связаны с изменением структуры фермента, диктуемой пространственной модификацией. В случае с новообразованиями семенников в представленной выборке у всех новообразований повышение ALT составило в 1,07 – 1,4 раз, ALP в 1,6 – 3,19 раз, когда как AST у семинома повышение составило в 1,06 раза.

Полученные данные по активности трансферазных ферментов и щелочной фосфатазы, в первую очередь, можно связать с пожилым возрастом большинства животных в выборке (средний возраст $10,39 \pm 2,27$ лет), однако при сравнении биохимических показателей собак данной возрастной группы в других исследованиях

обнаруживается отсутствие значимого повышение данных показателей за пределы референсных значений (Lee S.H., Kim J.W. et al., 2020). Данный факт позволяет констатировать, что ALT, AST и ALP могут в той или иной степени повышаться при опухолях семенников у собак, однако использование оценки данных показателей в клинической практике для постановки или подозрению на опухоли семенников является спорным. Однако при повышении данных биохимических показателей и отсутствии признаков поражение костей, мышечного аппарата и печени, патология и в том числе опухоли семенников могут быть включены в список возможных причин.

2.2.3. Патогистологическая оценка опухолей семенников

2.2.3.1. Патоморфологическая характеристика лейдигом. При патогистологической оценке архитектоники лейдигом, в первую очередь, выявлялся интерстициальный рост без значимого вовлечения семенных канальцев в патологический процесс, т.е. без инвазивного роста в их просвет. У некоторых опухолевых единиц выявлялась компрессия канальцев вплоть до их атрофии, что создает микроскопическую картину замещения паренхимы семенника опухолевым узлом. В некоторых случаях лейдигомы имели исключительно интерстициальный рост, при этом оставшиеся канальца внутри новообразования сохраняли свою морфологию, а в некоторых выявлялись дегенеративные изменения герминогенного эпителия, в том числе с наличием дегенеративных многоядерные клеток. Лейдигомы имели рост, который характеризуется формированием пластов или корды из опухолевых клеток, разделенные нежной фиброваскулярной стромой (рисунок 2). Представленный паттерн роста является характерным для лейдигом. Строма характеризуется ярко выраженными мелкими кровеносными сосудами, сформированные вытянутыми эндотелиоцитами с округлыми или овальными ядрами.

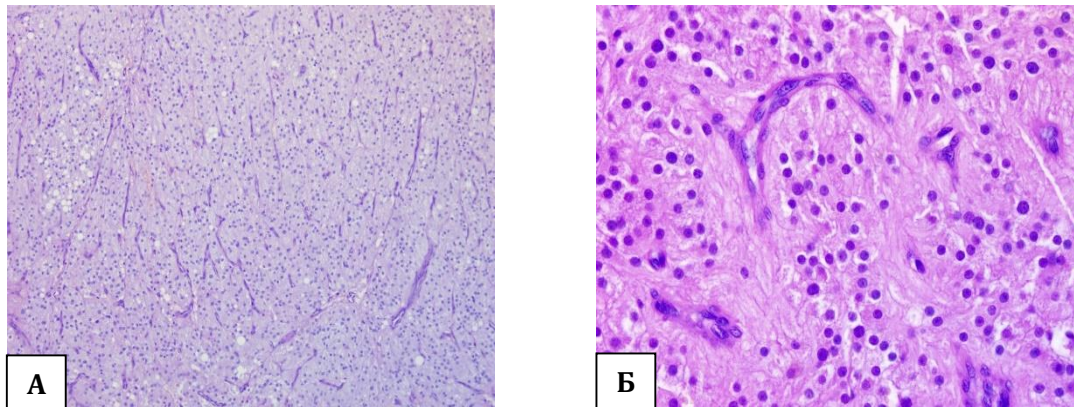


Рисунок 2. Стандартная морфологическая картина лейдигом. Окраска гематоксилин – эозин. Увеличение от x40 до x400. А – На увеличении x100 лучше выявляются кровеносные сосуды, с которыми ассоциированы пласты опухолевых клеток; Б – на увеличении x400 становится возможно детально изучить клеточное строение опухолевых клеток, представлены умеренные ядра, хорошо видны единичные нуклеолы, а также представлена умеренная – выраженная зернистая эозинофильная цитоплазма; кроме того, выявляются вытянутые клетки эндотелия сосудов, которые формируют ветвящиеся структуры, характерные для стромы лейдигомы.

Нередко просветы данных сосудов не визуализируются или выявляются мелкие щелевидные пространства. Кровеносные сосуды имеют линейную или ветвящуюся форму, разделяя пласты и корды опухолевых клеток. В некоторых опухолях визуализировались эктазированные сосуды, заполненные форменными элементами крови, чаще всего эритроцитами. На малом увеличении также могут визуализироваться участки геморрагий, как острых, так и хронических, а также формирование кистозных полостей, сформированных опухолевыми клетками, а сами полости заполнены либо геморрагическим содержимом, либо эозинофильными и некротическими массами. Сходная морфологическая картина геморрагических полостей была обнаружена также в другом исследовании в данной типе новообразований (Grieco V., Riccardi E. et al., 2008). Острые геморрагии характеризовались наличием эритроцитов и других форменных элементов непосредственно в опухолевой ткани или ее структур, например, кистозных полостях, когда как хронические – наличием гемосидерофагов, расположенные как интратуморально, так и на периферии опухолевых узлов. Доказать наличие именно гемосидерофагов в представленной ткани возможно с помощью дополнительного гистохимического окрашивания по Перлсу (Kim S., 2019).

Клетки лейдигомы обычно имеют полигональную цитоплазму, которая нередко имеет четкие цитоплазматические границы. У части клеток цитоплазматические границы стерты, тем самым затрудняет точную дифференцировку отдельных клеток между собой. Анизотитоз среди опухолевых клеток чаще всего умеренно выражен ($p < 0,05$), реже слабо и исключительно редко встречаются опухоли, имеющие выраженную вариацию в размере цитоплазме. Цитоплазма эозинофильного цвета, имеет зернистую структуру, нередко представлены вспененность и оптически пустые вакуоли. В 12,94% случаях в цитоплазме опухолевых клеток визуализировался желтоватый пигмент, который морфологически соотносился с липофусцином. Данный пигмент выявлялся исключительно в лейдигомах. Ядра у опухолевых клеток обычно округлой или овальной формы, иногда слегка вытянутые, занимают нередко центральное положение в цитоплазме. Ядро визуализируется четко, кариолемма иногда имеет зазубренный контур, что создает картину угловатости ядер. Хроматином часто имеет зернистый паттерн, иногда визуализируются глыбчатые участки. Нуклеолы чаще от 1 до 2, могут иметь слабый анизонуклеолиз. Анизокариоз в клетках лейдигом часто умеренно выражен ($p < 0,05$). Митотическая активность низкая, что соответствует менее 10 митозов в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$. В 8,24% случаях в ядрах выявлялись внутриядерные включения, которые характеризовались выявление слабо эозинофильный включений, зачастую непосредственно в центре ядра. Данные включения визуализировались исключительно в лейдигомах.

В 10,59% случаях в лейдигомах выявлялись клетки, чья цитоплазма заполнена средними и крупными оптически прозрачными вакуолями, которые могли сливаться в одну гигантскую вакуоль, оттесняющую содержимое цитоплазмы, включая ядро, на периферию, что создает морфологическую схожесть опухолевых клеток с адипоцитами (рисунок 3). Из-за описанной схожести данная морфология была названа нами «адипоцитарной», которая также была описана нами в ранее проведенном исследовании (Газин А.А., Ватников Ю.А. с соавт., 2022).

Представленная морфология потенциально может вызывать трудности в диагностике, в том числе при диффузной «адипоцитарной» форме, связанной с неправильной диагностикой липомы. Несмотря на высокую частоту доброкачественного биологического поведения лейдигом, в редких случаях они могут

метастазировать, в отличие от липом (Togni A., Rütten M. et al., 2015; Canadas A., Romão P. et al., 2016; Kudo T., Kamiie J. et al., 2019).

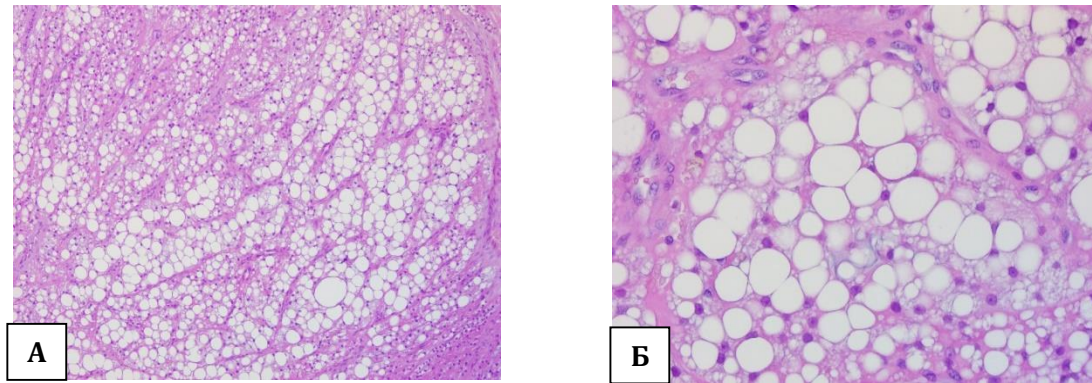


Рисунок 3. Адипоцитарная морфология лейдигом. Окраска гематоксилин – эозин. Увеличение от $\times 40$ до $\times 400$. А – при увеличении $\times 100$ участки с оптически прозрачными вакуолями представлены именно опухолевыми клетками, между которыми в некоторых участках выявляются типичные клетки лейдигоммы; Б – при увеличении $\times 400$ можно визуализировать то, что оптически прозрачные вакуоли сильно растягивают цитоплазму клетки, отодвигая ее содержимое на периферию, предавая морфологическую картину, подобную адипоцитам.

2.2.3.2. Патоморфологическая характеристика сертолиома. В нашем исследовании при изучении архитектоники роста сертолиома в 100% выявлялся диффузный рост. Данный тип роста характеризуется замещением паренхимы семенника множественными «псевдоканальцами», сформированные гнездами или островками опухолевых клеток, которые окружены умеренной или обильной соединительнотканной стромой. Данные структуры имеют различные размеры и формы, тем самым создавая хаотический паттерн, который не встречается в нормальных семенниках (Eurell J.A., Frappier B.L., 2013). Иногда островки и гнезда опухолевых клеток сливаются, тем самым создавая крупные и солидные участки, внутри которых выявляется небольшое количества фиброзных септ. Клетки внутри гнезд и островков могут располагаться как на периферии с базальным расположением ядер (палисадником), так и хаотично заполняя образованные структуры (рисунок 4). Островки и гнезда, а также формирование соединительнотканной стромы и фиброзных септ являются характерным для сертолиома паттерном. В 4,55% сертолиома выявлялась секреция малинового вещества, которое располагалось в центре розеток из опухолевых клеток (Колл-Эстреновские тельца). Данная структура была также выявлена исключительно в сертолиома. В единственном (4,55%) случае выявлялись кистозные полости в сертолиома, однако представленная структура не является характерной для данного типа опухоли у собак. В другом исследовании же кистозные полости выявлялись достаточно часто, однако в нем не изучалась частота встречаемости среди сертолиома, а также среди других новообразований семенников (Nascimento H.H.L., Santos A. et al., 2020). Следует отметить, что в научной литературе описан интратубулярный (интраканикулярный) тип роста сертолиома, в нашем исследовании представленный паттерн не выявлялся (Jubb K.V.F., Kennedy P.C. et al., 2012; 2019; Meuten D.J., 2020). Цитоплазма опухолевых клеток обычно имеет обильный объем и полигональную или цилиндрическую форму, однако не имеет четких границ, из-за чего невозможно разграничить отдельные клеточные элементы. Представленная морфологическая

картина в некоторой степени затрудняет оценить количество клеток в отдельных «псевдоканальцах». В части опухолевых клетках Сертоли, цитоплазма имеет вспененную структуру, а иногда в ней выявляется средние и крупные оптически пустые вакуоли. Данные оптические прозрачные вакуоли зачастую имеют четкие границы, расположение в цитоплазме опухолевых клеток оценить затруднительно из-за ее особенностей.

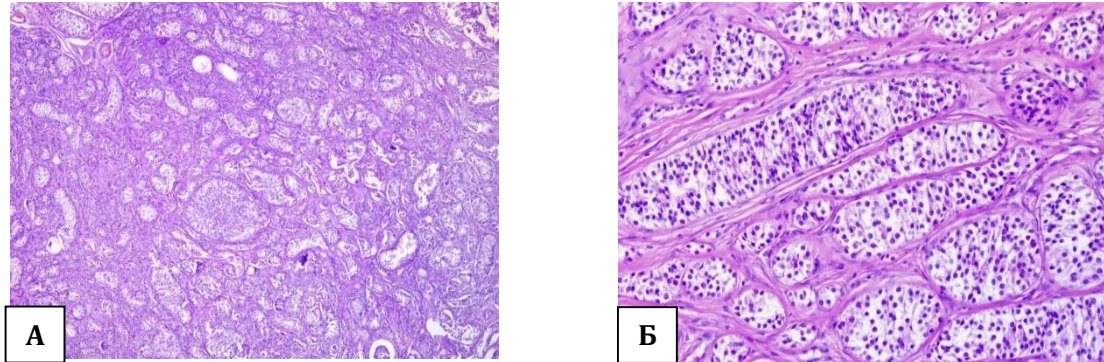


Рисунок 4. Стандартная морфологическая картина сертолиом. Окраска гематоксилин – эозин. Увеличение от $\times 40$ до $\times 400$. А – при увеличении $\times 40$ выявляются атипичные канальца, которые сформированные опухолевыми клетками, заполняющие данные структуры; Б – опухолевые клетки полностью заполняют опухолевые канальца, разделенные умеренной фиброзной стромой; опухолевые клетки могут располагать пластами, так и формируя палисадники в базальной области.

Анизоцитоз, в представленных случаях выявлялся слабой и умеренной выраженности в равной степени. Ядра в опухолевых клетках имеют округлую и иногда вытянутую форму. Кариолемма четкая и редко имеет зазубрены, хроматин в ядрах чаще характеризуется зернистостью, а количество нуклеол варьирует от 1 до 2. Митотическая активность в 90,91% случаях низкая ($p < 0,05$), не превышая 10 митозов в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$.

2.2.3.3. Патоморфологическая характеристика семином. В исследованной выборке животных с семиномами в 19,51% случаев выявлялся интратубулярный рост, когда как в остальных 80,49% диффузный. При интратубулярном типе роста опухолевые клетки замещают здоровый герминогенный эпителий канальцев, а также клетки Сертоли, тем самым создавая морфологическую картину мономорфной популяции опухолевых клеток. Данное свойство создает морфологическую картину «переполненности» канальцев, что на контрасте с нормальными и нетронутыми опухолевым ростом канальцами делает явным патологический процесс уже на малом увеличении. Семиномы с диффузным ростом характеризуются выходом опухолевых клеток за базальную мембрану канальцев и инфильтрацией интерстиция семенника. Некоторые исследования говорят о том, что интратубулярная форма семиномы зачастую является случайно находкой при микроскопии и зачастую не имеет макроскопических изменений (Grieco V., Riccardi E. et al., 2008; Nascimento H.N.L., Santos A. et al., 2020). В данном случае ключевым моментом является переход из тубулярных структур семенника в интрестициальную строму. Для семином характерно формирование пластов клеток, т.е. опухолевая ткань состоит из отдельных клеток, которые замещают предсуществующие ткани, формируя солидные участки (рисунок 5). Многочагово в 50% случаях интратуморально выявлялись лимфоцитарные агрегаты, которые состояли

исключительно из малых лимфоидных клеток. Данные лимфоидные структуры могут располагаться как интратуморально, периваскулярно, так и перитуморально, кроме того, они были выявлены исключительно в семиномах. Также, чаще в семиноме выявляли участки некроза опухолевой ткани (в 20,45%), что определяется чаще в данном типе опухоли при сравнении с другими новообразованиями семенников ($p < 0,05$). Клетки семиномы имеют округлую форму цитоплазмы эозинофильного или слегка базофильного цвета.

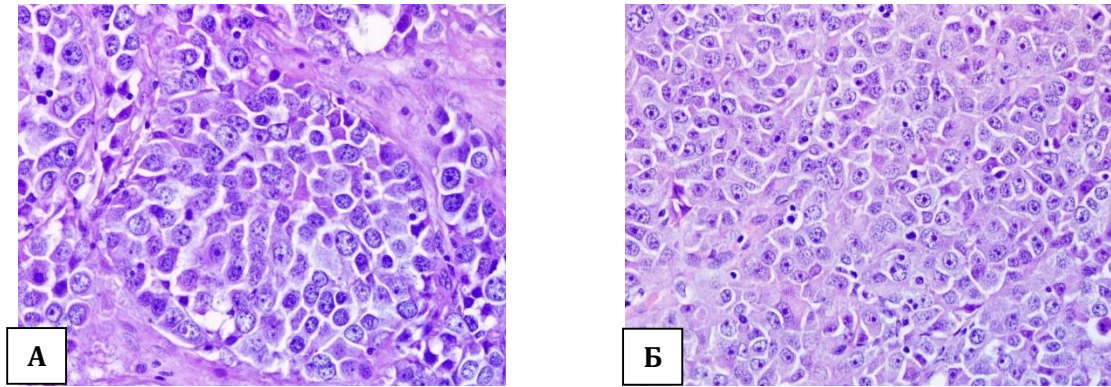


Рисунок 5. Клеточная и ядерная морфология опухолевых клеток семиномы. Окраска гематоксилин – эозин. Увеличение $\times 400$. А – канальца заполнены мономорфной популяцией плеоморфных клеток, имеющих небольшую цитоплазму и крупное округлое ядро с зернистым хроматином и 1 – 4 нуклеолами; Б – выявляется пласт опухолевых клеток, имеющих небольшую цитоплазму, крупные ядра с выраженными нуклеолами.

Количество цитоплазмы небольшое, при этом ядерно-цитоплазматическое соотношение высокое. В нашем случае анизоцитоз у семиномы являлся выраженным в 45,45% случаях, а умеренным в 43,18%. Ядра в клетках имеют четкую кариолемму, занимают большой объем, в том числе из-за того, что имеют зачастую крупный размер. Хроматин обычно имеет нежный зернистый паттерн, либо нежный сетчатый. Внутри ядер часто выявляются нуклеолы, при этом их количество может быть больше 4. Иногда визуализируются крупные клетки, имеющие множественные ядра. Выраженный анизокариоз в опухолях, участвующих в выборке, выявлялся в 86,36% случаях ($p < 0,05$), что говорит о достаточно часто встречающейся значительной вариации в размере ядер. Достоверно чаще митотическая активность в 95,45% была высокая ($p < 0,05$) и составляла более 10 митозов в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$. Сходная митотическая активность была также описана в другом исследовании (Grieco V., Riccardi E. et al., 2008).

2.2.3.4. Патоморфологическая характеристика смешанных опухолей. В нашем исследовании были выявлены следующие комбинации: семинома и лейдигома (4/9), семинома и сертолиома (4/9), лейдигома и сертолиома (1/9). То есть 88,89% случаев (8/9) выявляются комбинации из герминогенных опухолей с опухолями полового тяжа, когда как в 11,11% случаях (1/9) комбинация была представлена двумя опухолями полового тяжа. В данном случае можно говорить о том, что чаще смешанные опухоли имеют компоненты, имеющие разный гистогенез (опухоль полового тяжа и герминогенные опухоли), чем одного. Стоит акцентировать внимание, что в нашем исследовании не были выявлены смешанные опухоли, которые состояли бы из комбинации опухолей из герминогенного эпителия. Это может быть связано с тем, что герминогенные опухоли, исключая семиномы, являются исключительно редко, при этом

настолько редко, что нет крупных исследований по собакам, которые бы изучали особенности их морфологии, биологического поведения, а также частоты встречаемости (Spugnini E.P., 2000; Васильев Ю.Г., 2022).

При оценке морфологической картины смешанных опухолей было выявлено, что отдельные компоненты опухоли имеют сходную патогистологическую картину с моноопухолями, которая подробно описана ранее. Несмотря на наличие данного термина в классификации опухолей семенников, нам кажется целесообразным классифицировать при диагнозе данный патологический процесс комбинацией названий новообразований, т. к. термин «смешанная опухоль» не несет информацию о возможных рисках течения новообразования, в том числе паранеопластических процессах и шанса развития метастазирования.

2.2.3.5. Сравнительная структурная характеристика опухолей семенников у собак с учетом дифференциальной диагностики.

В нашем исследовании, для лейдигом было характерное формирование корд и пластов, как и у семиномы было обнаружено формированием опухолевыми клетками диффузных пластов. Структурное различие у данных новообразований, в первую очередь, состоит в присутствии специфической архитектоники у лейдигом, а именно в выраженной васкуляризации стромы, что не встречается в семиномах, в которых обычно представлена преобладающая строма и при которых не было морфологически отмечено нашим исследованием формирование какой-либо специфической стромы. Кроме того, клеточная морфология данных новообразований кардинальна различна: для лейдигом характерно умеренное – обильное количество цитоплазмы с умеренно выраженным анизоцитозом и анизокариозом, когда как для клеток семиномы – небольшая цитоплазма с выраженным анизокариозом. Стоит упомянуть, что для семиномы возможен интратубулярный рост, когда как лейдигомы растут интерстициально, что связано с их нормальной локализацией в семенниках. Также в некоторых случаях «адипоцитарная» морфология лейдигом может пересекаться морфологическими признаками сертолиомы, когда в клетках последней выявляются выраженные крупные оптически прозрачные вакуоли. Несмотря на такое сходство в вакуолярности, дифференцировать данные процессы возможно за счет характерной разной стромы для двух этих новообразований (лейдигомы – фиброваскулярная; сертолиома – выраженная соединительнотканная); а также при «адипоцитарной» форме лейдигомы морфологическая картина напоминает адипоциты с унилокулярным типом ожирения и такая картина создается за счет достаточно явной клеточной мембраны, когда как в сертолиомах между клетками выявляются остатки цитоплазмы с нечеткими границами, поэтому схожесть с адипоцитами минимальна.

В лейдигомах достоверно чаще встречались кистозные полости и геморрагии, по сравнению с другими новообразованиями ($p < 0,05$). Нет точных объяснений данной закономерности, однако можно предположить, что геморрагии возникают из-за явной способности лейдигом к васкулогенезу, могут возникнуть сложности в дифференциальной диагностике интратубулярных форм семиномы и сертолиомы ввиду того, что данные новообразования существуют в нормальных семенных канальцах. Дифференцировка данных новообразований должна основываться на морфологии клеток. Так для семиномы характерна округлая форма и небольшое количество цитоплазмы, кроме того, опухолевые клетки формируют пласты. Клетки сертолиомы будут представлены полигональными или цилиндрическими клетками с нечеткими границами, которые заполняют просвет канальцев, а также нередко будет палисадниковое расположение ядер по периферии просвета.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Итоги выполненного исследования

1. Установлены клинико-морфологические характеристики опухолей семенников у собак, совершенствующие методы их диагностики: для лейдигом - наличие фиброваскулярной стромы, формирование корд и пластов из опухолевых клеток, имеющих полигональную или цилиндрическую форму с умеренным или выраженным количеством цитоплазмы. Семиномы - наличие предрасположенной стромы, формирование пластов клеток, имеющие округлую форму с небольшим количеством цитоплазмы. Сертолиомы имели выраженную соединительнотканную строму с формированием гнезд и островков из клеток, имеющих полигональную или цилиндрическую форму с умеренным – выраженным количеством цитоплазмы.

2. В 160 опухолях семенников от 98 собак, самыми частыми опухолями определены: лейдигома 85/160 (53,1%; $p < 0,05$); второе место по частоте встречаемости занимали – семиномы 44/160 (27,5%), третье – сертолиомы 22/160 (13,8%), и последнее – смешанные опухоли 9/160 (5,6%).

3. При сравнении структурных характеристик новообразований, установлено: лейдигомы имели геморрагии в 16 раз и кисты в 27 раз чаще, чем в других опухолях семенников ($p < 0,05$); только семиномы имели лимфоцитарные инфильтрации, а также в них чаще визуализировался выраженный анизокариоз (в сравнении с лейдигомами в 1,73 раза, с сертолиомами в 19 раз) и митозов более 10 (в 21 раз), по сравнению с лейдигомами и сертолиомами ($p < 0,05$); а также в 9 раз чаще встречались некрозы, в сравнении с лейдигомами ($p < 0,05$).

4. Среди лейдигом в 2,5 раза чаще наблюдали умеренный анизоцитоз и анизокариоз ($p < 0,05$), также в данном новообразовании выявлялась «адипоцитарная» структура, внутриядерные включения и накопление липофусцина. В 10 раз чаще выявляли сертолиомы, у которых количество митозов менее 10 в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$ ($p < 0,05$), также у них редко обнаруживали колл-экснеровские тельца. Семиномы в 6,3 раза чаще имели выраженный анизокариоз и в 21 раз чаще количество митозов равное или более 10 в 10 полях зрения при увеличении $\times 400$, также в 55,6% имели лимфоцитарные инфильтраты ($p < 0,05$). Компоненты смешанных опухолей имели характерную морфологическую картину мононовообразований.

5. Лейдигомы чаще встречали у метисов (15,29%, 13/85), йоркширский терьеров (10,59%), лабрадоров-ретриверов (8,24%); семиномы у метисов (13,64%), золотистых ретриверов (13,36%), брюссельских грифонов и чихуахуа (по 6,82% каждую породу); сертолиомы у метисов, йоркширских терьеров и бриаров (по 13,64% на каждую породу); смешанные опухоли у метисов и антарктических хаски (по 22,22% на каждую породу). В крипторхических семенниках были выявлены семиномы (60%, 12/20), сертолиомы (35%, 7/20) и смешанные опухоли (5%, 1/20), лейдигомы не выявлены в семенниках крипторхов.

6. Новообразования семенников у собак выявляли в одинаковой степени как унилатерально, так и билатерально, но значительно реже (в 6,65 раз) выявляли сразу несколько новообразований в отдельных (правом или левом) семенниках ($p < 0,05$), не обнаружено достоверного различия частоты встречаемости уни- и билатерального поражения опухолями семенников у собак, при этом, средний их возраст составил - $10,39 \pm 2,27$ лет (диапазон 2–15 лет); распространенные породы: метисы (28,9%),

йоркширские терьеры (22,2%), золотистые ретриверы (13,3%), лабрадоры ретриверы (15,6%) и чихуахуа (8,9%).

7. Новообразования семенников чаще выявляли случайно во время ультразвукографии (64,6%; $p < 0,05$), реже их выявляли самостоятельно владельцы (24,7%) и совсем редко ветеринарные врачи при клиническом осмотре (11,5%), что доказывает необходимость рутинного ультразвукографического исследования семенников у самцов собак, в особенности пожилого возраста, а также предрасположенных к новообразованиям семенников и крипторхизму животных

8. При биохимическом исследовании сыворотки крови у собак с опухолями семенников было выявлено повышение ALP в 2,73 раза; а по отдельным новообразованиям были выявлены повышения ALT в 1,07 – 1,4 раза, ALP в 1,6 – 3,19 раз у всех групп, а также AST в 1,06 раз только у семинома. Повышение в более 3 раз отмечено только у показателя ALP, что говорит об необходимости включения опухолей семенников в список дифференциальных этиологических причин возникновения повышения сывороточной щелочной фосфатазы наряду с патологиями печени, мышечного и костного аппаратов.

РЕКОМЕНДАЦИИ, ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

1. Рекомендовать полученные данные при формировании списка дифференциальных диагнозов, а также при оценке рисков у собак с опухолями семенников;

2. В профилактический осмотр некастрированных самцов собак, в особенности пожилого возраста, а также предрасположенных к новообразованиям семенников и крипторхизму животных включать ультразвукографический метод исследования гонад;

3. Включать в список возможных этиологических причин повышения сывороточной щелочной фосфатазы у самцов собак опухоли семенников;

4. Использовать полученные морфологические данные в практической деятельности для диагностики и дифференцировки опухолей семенников у собак, а также для формирования микроскопического описания;

5. Полученные результаты могут быть использованы в дальнейшем для научных исследований, в том числе сравнительных с другими регионами и странами, в учебном процессе при подготовке студентов по специальности «Ветеринария», в том числе в дополнительных профессиональных образовательных программах по диагностике и патоморфологии новообразований у собак, кроме того, представленные данные могут быть использованы для формирования учебных и справочных пособий по ветеринарной патологической анатомии и онкологии.

Дальнейшая разработка темы может включать в себя изучение инцидентности опухолей семенников у собак, предрасположенности пород и также предрасполагающих к развитию данных неопластических процессов факторов. С клинической точки зрения интересны вопросы неинвазивной диагностики, в частности изучение разновидностей ультразвукового метода исследования, рентгенографии, компьютерной и магнитно-резонансной томографии. Помимо визуальных методов диагностики также возможно изучение биохимических маркеров опухолевого процесса в семенниках у собак, в том числе изучение их чувствительности и специфичности. С патологоанатомической

стороны может быть изучено макроскопическая дифференциальная диагностика опухолей семенников у кобелей, а также изучить вопрос возможной ассоциации каких-либо морфологических критериев новообразований с биологическим поведением.

Перспективным выглядят иммуногистохимическое исследование новообразований семенников у собак и не только со стороны первичной диагностики, в том числе сложных или метастатических случаев, но и с точки зрения назначения таргетной терапии.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Научные работы, опубликованные в рецензируемых научных журналах, входящих в Перечень изданий, рекомендованных РУДН

1. Газин, А.А. Морфологическая характеристика лейдигом у собак / А.А. Газин, Ю. А. Ватников, Е. В. Абрамова // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Агрономия и животноводство. – 2022. – Т. 17, № 4. – С. 527-535.
2. Газин, А.А. Инцидентность и дифференциальная диагностика опухолей семенников у собак / А.А. Газин, К.В. Лисицкая, Ю.А. Ватников, Е.А. Корнюшенков // Вестник КрасГАУ. – 2021. – № 7(172). – С. 152-157.
3. Газин, А.А. Клинико-морфологическая характеристика смешанных опухолей семенников у собак / А.А. Газин, Е.В. Абрамова, Ю.А. Ватников, И.Е. Прозоровский // Ветеринария. – 2023. – № 3. – С. 41-45.

Научные работы, опубликованные в научных журналах, индексируемых в БД Web of Science и(или) Scopus

1. Gazin, A.A. Canine testicular tumors: An 11-year retrospective study of 358 cases in Moscow Region, Russia / A.A. Gazin, Y.A. Vatnikov et al. // Veterinary world. – 2022. – Т. 15. – №. 2. – С. 483.

Научные работы, опубликованные в региональных изданиях, материалах симпозиумов и конференций

1. Газин, А.А. Неопухолевые патологии семенников / А.А. Газин, Ю.А. Ватников // Приоритетные направления научных исследований. Анализ, управление, перспективы : Сборник статей по результатам Международной научно-практической конференции, Калуга, 21 февраля 2023 года. – Стерлитамак: Общество с ограниченной ответственностью «Агентство международных исследований», 2023. – С. 5-8.
2. Газин, А.А. Распространенность опухолей семенников у собак / А.А. Газин, Ю.А. Ватников // Интеллектуальный потенциал России 2023: сборник статей по итогам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, Уфа, 06 февраля 2023 года. – Стерлитамак: Общество с ограниченной ответственностью «Агентство международных исследований», 2023. – С. 5-8.
3. Газин, А.А. Опухоли семенников у собак / А.А. Газин, Ю.А. Ватников // Современные задачи и перспективные направления инновационного развития науки : Сборник статей по итогам Международной научно-практической конференции, Иркутск, 09 февраля 2023 года. – Стерлитамак: Общество с ограниченной ответственностью «Агентство международных исследований», 2023. – С. 5-8.

Газин А.А., Россия

Клинико-морфологическая характеристика опухолей семенников у собак

Аннотация. В диссертационной работе были усовершенствован патогистологический метод исследования и клинико-диагностический подход к исследованию опухолей семенников у собак. Исследованиями были выявлены критерии для точной морфологической диагностики часто встречающихся опухолей семенников у кобелей, а также их дифференциальной диагностики. На основе полученных результатов, впервые была разработана практическая схема для выбора собак, которая упростит и повысит частоту диагностики опухолей семенников у кобелей, включающая значимость ультрасонографического метода исследования, а также селекцию собак по породам и возрасту. Уточнены часто встречаемые опухоли в описываемой популяции собак, а также биохимические находки, которые позволят расширить список дифференциальных диагнозов при повышении сывороточной щелочной фосфатазы. Патогистологическая оценка выявила характерные морфологические признаки, свойственные различным типам новообразований, в частности у лейдигом впервые описан «адипоцитоподобный» тип, а впервые были выявлены статистически часто встречаемые характеристики лейдигом, семинома и сертолиома, по результатам которых были сформулированы рекомендации для практикующих ветеринарных патологоанатомов для дифференциальной диагностики и микроскопического описания опухолей семенников.

Ключевые слова: опухоли семенников, морфологическая диагностика, лейдигома, сертолиома, семинома, смешанные опухоли, щелочная фосфатаза, адипоцитоподобный, собаки

Gazin A.A., Russia

Clinical and morphological characterization of canine testicular tumors

Abstract. In the dissertation work, the pathohistological method of research and the clinical diagnostic approach to the study of testicular tumors in dogs were improved. Studies have identified criteria for accurate morphological diagnosis of common testicular tumors in males, as well as their differential diagnosis. Based on the results obtained, for the first time, a practical scheme was developed for the selection of dogs, which will simplify and increase the frequency of diagnosis of testicular tumors in males, including the significance of the ultrasonographic method of examination, as well as the selection of dogs by breed and age. Common tumors in the described population of dogs are clarified, as well as biochemical findings that will expand the list of differential diagnoses with an increase in serum alkaline phosphatase. Histopathological assessment revealed characteristic morphological features characteristic of various types of neoplasms, the "adipocyte-like" type was described for the first time in interstitial cell tumor, and for the first time statistically common characteristics of interstitial cell tumor, seminoma and Sertoli cell tumor were identified, as a result of which recommendations were formed for practicing veterinary pathologists for differential diagnosis and microscopic description of testicular tumors.

Key words: testicular tumors, morphological diagnosis, interstitial cell tumor, Sertoli cell tumor, seminoma, testicular mixed tumors, alkaline phosphatase, adipocyte-like, dogs