



ДОНСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Ветеринарная патология Russian Journal of Veterinary Pathology

Рецензируемый научно-практический журнал

eISSN 2949-4826

Издается с 2002 года

Периодичность – 4 выпуска в год

DOI: 10.23947/2949-4826



Медаль Отделения ветеринарной
медицины РАСХН
«За достижения в области
ветеринарной науки». Вручена
редакции журнала в 2009 г.

Учредитель и издатель — Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Донской государственный технический университет» (ДГТУ), г. Ростов-на-Дону

«Ветеринарная патология» — рецензируемый научно-практический журнал, в котором публикуются результаты оригинальных исследований и обзорные статьи в области ветеринарной медицины. Освещаются вопросы паразитологии, физиологии, фармакологии, экологии, уделяется внимание инфекционным болезням и другим аспектам ветеринарии домашних, сельскохозяйственных и диких животных.

Цель журнала заключается в повышении профессионального уровня знаний профильной аудитории и распространении по всему миру высокоэффективных, тщательно проверенных ветеринарных научных исследований, используя только онлайн-формат открытого доступа для максимальной доступности.

Журнал включен в перечень рецензируемых научных изданий, в котором должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук (Перечень ВАК) по следующим научным специальностям:

- 1.5.17 – Паразитология (биологические науки, ветеринарные науки)
- 4.2.1 – Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология (биологические науки, ветеринарные науки)
- 4.2.2 – Санитария, гигиена, экология, ветеринарно-санитарная экспертиза и биобезопасность (биологические науки, ветеринарные науки)
- 4.2.3 – Инфекционные болезни и иммунология животных (ветеринарные науки, биологические науки)
- 4.2.4 – Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и производства продукции животноводства (биологические науки, сельскохозяйственные науки)
- 4.2.5 – Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных (биологические науки, сельскохозяйственные науки)

<i>Регистрация:</i>	Выписка из реестра зарегистрированных средств массовой информации ЭЛ № ФС 77-85552 от 27.06.2023 г., выдано Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций
<i>Индексация и архивация:</i>	РИНЦ, DOAJ, AGRIS, CyberLeninka, CrossRef, Internet Archive, Google Scholar
<i>Сайт:</i>	https://www.vetpat.ru/
<i>Адрес редакции:</i>	344003, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1
<i>E-mail:</i>	vetpat@donstu.ru
<i>Телефон:</i>	+7 (863) 273-85-08
<i>Дата выхода №2, 2026 в свет:</i>	30.06.2026





Russian Journal of Veterinary Pathology

Veterinarnaya Patologiya

Peer-reviewed scientific and practical journal

eISSN 2949-4826

Published since 2002

Periodicity – 4 issues per year

DOI: 10.23947/2949-4826



The medal “For Achievements
in the Field of Veterinary Science”
by the Veterinary Medicine
Department of the Russian
Academy of Agricultural Sciences.
Awarded to the editorial board
in 2009.

Founder and Publisher — Don State Technical University (DSTU), Rostov-on-Don, Russian Federation

The “Russian Journal of Veterinary Pathology” is a peer-reviewed scientific and practical journal that publishes the results of the original research and review articles in the field of veterinary medicine. It covers the issues of parasitology, physiology, pharmacology, ecology, and considers the aspects of infectious diseases and other matters of veterinary medicine of companion, farm and wild animals.

The journal aims at enhancing the level of professional knowledge of the target audience and to disseminate worldwide the highly efficient, thoroughly verified scientific research in the field of veterinary medicine using an online open access format for maximum accessibility.

The journal is included in the List of the leading peer-reviewed scientific publications (Higher Attestation Commission under the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation), where the main scientific results of dissertations for the degrees of Doctor and Candidate of Science in the following scientific specialties should be published.

- Parasitology
- Animal Pathology, Morphology, Physiology, Pharmacology and Toxicology
- Sanitation, Hygiene, Ecology, Veterinary and Sanitary Expertise and Biosafety
- Infectious Diseases and Animal Immunology
- Zootechnics, Feeding, Technologies of Feed Preparation and Livestock Products Production
- Breeding, Selection, Genetics and Animal Biotechnology

<i>Registration</i>	Extract from the Register of Registered Mass Media ЭЛ № ФС 77 – 85552 dated June 27, 2023, issued by the Federal Service for Supervision of Communications, Information Technology and Mass Media
<i>Indexing and Archiving</i>	RISC, DOAJ, AGRIS, CyberLeninka, CrossRef, Internet Archive, Google Scholar
<i>Website</i>	http://www.vetpat.ru/
<i>Address of the Editorial Office</i>	1, Gagarin Sq., Rostov-on-Don 344003, Russian Federation
<i>E-mail</i>	vetpat@donstu.ru
<i>Telephone</i>	+7 (863) 273-85-08
<i>Date of Publication No.2,2026</i>	30.06.2026



Редакционная коллегия

Главный редактор

Ермаков Алексей Михайлович, доктор биологических наук, профессор, Донской государственной технической университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

Заместитель главного редактора

Аксенова Полина Владимировна, доктор биологических наук, профессор, Донской государственной технической университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

Тодоров Святослав Димитров, Ph.D, Университет Сан-Паулу (Сан-Паулу, Бразилия)

Выпускающий редактор

Калошкина Инна Муратовна, кандидат ветеринарных наук, начальник отдела противопаразитарных, ветеринарно-санитарных мероприятий ГКУ КСББЖ «Краснодарская» (Краснодар, Российская Федерация)

Ответственный секретарь

Ламтева Алина Владимировна, Донской государственной технической университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

Алипер Тарас Иванович, доктор биологических наук, профессор, Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи (Москва, Российская Федерация)

Аммар Альгбури, Ph.D (биология), декан ветеринарного факультета, Университет Дияла (Баакуба, Ирак)

Алешукина Анна Валентиновна, доктор медицинских наук, Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

Ариунболд Жаргалсайхан, Ph.D, Монгольский государственный университет образования (Улан-Батор, Монголия)

Белова Лариса Михаловна, доктор биологических наук, профессор, Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины (Санкт-Петербург, Российская Федерация)

Бондарь Игорь Вечеславович, доктор биологических наук, Заведующий лабораторией физиологии сенсорных систем, Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН (Москва, Российская Федерация)

Брюя Жан-Франсуа, DVM, Ph.D, лауреат Университета Поля Сабатье, дипломант Европейского колледжа репродукции животных (ECAR), президент Французской ассоциации по изучению репродукции животных, член экзаменационной комиссии Европейского колледжа репродукции животных (ECAR), профессор териогенологии Национального колледжа ветеринарной медицины, пищевых наук и инженерии (Нант, Франция)

Ватников Юрий Анатольевич, доктор ветеринарных наук, профессор, Российский университет дружбы народов (Москва, Российская Федерация)

Верховский Олег Анатольевич, доктор биологических наук, профессор, Научно-исследовательский институт диагностики и профилактики болезней человека и животных (Москва, Российская Федерация)

Дерезина Татьяна Николаевна, доктор биологических наук, профессор, Донской государственной технической университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

Дилекова Ольга Владимировна, доктор биологических наук, доцент, Ставропольский государственный аграрный университет (Ставрополь, Российская Федерация)

Карташов Сергей Николаевич, доктор биологических наук, Донской государственной технической университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

Квочко Андрей Николаевич, доктор биологических наук, профессор, Ставропольский государственный аграрный университет (Ставрополь, Российская Федерация)

Клименко Александр Иванович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Донской государственной аграрный университет (пос. Персиановский, Ростовская область, Российская Федерация)

Коняев Сергей Владимирович, кандидат биологических наук, главный врач ветеринарной клиники «АС Вет» (Новосибирск, Российская Федерация)

Кун Венема, Ph.D (естественные науки), профессор, Маастрихтский университет (Маастрихт, Нидерланды);

Макаров Владимир Владимирович, доктор биологических наук, профессор, Российский университет дружбы народов (Москва, Российская Федерация)

Недосеков Виталий Владимирович, доктор ветеринарных наук, профессор, Институт ветеринарной медицины Национального аграрного университета (Киев, Украина)

Онорлагчаа Ганболд, Ph.D, Монгольский государственный университет образования (Улан-Батор, Монголия)

Паршин Павел Андреевич, доктор ветеринарных наук, профессор, Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии (Воронеж, Российская Федерация)

Сотникова Лариса Федоровна, доктор ветеринарных наук, профессор, Российский биотехнологический университет (Москва, Российская Федерация)

Стекольников Анатолий Александрович, доктор ветеринарных наук, профессор, ректор, Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины (Санкт-Петербург, Российская Федерация)

Степанова Марина Вячеславовна, доктор ветеринарных наук, доцент, Российский биотехнологический университет (Москва, Российская Федерация)

Твердохлебова Татьяна Ивановна, доктор медицинских наук, Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

Фернандо Саймон Мартин, профессор Университета Саламанки (Саламанка, Испания)

Чикиндас Михаил Леонидович, кандидат биологических наук, доцент, Рутгерский государственный университет штата Нью-Джерси (Нью-Брансвик, США)

Чистяков Владимир Анатольевич, доктор биологических наук, Академия биологии и биотехнологии, Южный федеральный университет (Ростов-на-Дону, Российская Федерация)

Урошевич Миливоје, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, член Академии ветеринарной медицины – Сербского ветеринарного общества, директор по научной работе, Центр сохранения аборигенных пород (Белград, Сербия)

Editorial Board

Editor-in-Chief

Alexey M. Ermakov, Dr.Sci. (Biology), Professor, Don State Technical University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

Deputy Chief Editor

Polina V. Aksenova, Dr.Sci. (Biology), Professor, Don State Technical University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

Svetoslav D. Todorov, Ph.D, University of São Paulo (São Paulo, Brazil)

Executive Editor

Inna M. Kaloshkina, Cand.Sci. (Veterinary Medicine), Head of the Antiparasitic, Veterinary and Sanitary Activities Department, State-Funded Institution of the Krasnodar Region “Krasnodar Regional Station for Combating Animal Diseases” (Krasnodar, Russian Federation)

Executive Secretary

Alina V. Lamteva, Don State Technical University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

Alexander I. Klimenko, Dr.Sci. (Agriculture), Professor, Don State Agrarian University (Persianovsky Settlement, Russian Federation)

Ammar Algburi, Ph.D. (Biology), Dean of the Veterinary Faculty, Diyala University (Baakuba, Iraq)

Anatoly A. Stekolnikov, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine (Saint Petersburg, Russian Federation)

Andrey N. Kvochko, Dr.Sci. (Biology), Professor, Stavropol State Agrarian University (Stavropol, Russian Federation)

Anna V. Aleshukina, Dr.Sci. (Medicine), Rostov Scientific Research Institute of Microbiology and Parasitology (Rostov-on-Don, Russian Federation)

Ariunbold Jargalsaikhan, Ph.D., Mongolian State University of Education (Ulaanbaatar, Mongolia)

Fernando Simón Martín, Professor, University of Salamanca (Salamanca, Spain)

Igor V. Bondar, Dr.Sci. (Biology), Head of the Physiology of Sensory Systems Laboratory, Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russian Federation)

Jean-François Bruyas, D.V.M, Ph.D., Laureate of the Paul Sabatier University, Diplomat of the European College of Animal Reproduction (ECAR), President of the French Association for the Study of Animal Reproduction, Member of the Exam Committee of the European College of Animal Reproduction (ECAR), Professor of theriogenology, National College of Veterinary Medicine, Food Science and Engineering (Nantes, France)

Koen Venema, Ph.D (Natural Sciences), Maastricht University (Maastricht, Netherlands)

Larisa F. Sotnikova, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Russian Biotechnological University (Moscow, Russian Federation)

Marina V. Stepanova, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Associate Professor, Russian Biotechnological University (Moscow, Russian Federation)

Michael L. Chikindas, Cand.Sci. (Biology), Associate Professor of Food Science Department, Rutgers University, the State University of New Jersey (New Brunswick, USA)

Oleg A. Verkhovsky, Dr.Sci. (Biology), Professor, Diagnostic and Prevention Research Institute for Human and Animal Diseases (Moscow, Russian Federation)

Olga V. Dilekova, Dr.Sci. (Biology), Associate Professor, Stavropol State Agrarian University (Stavropol, Russian Federation)

Onolragchaa Ganbold, Ph.D., Mongolian State University of Education (Ulaanbaatar, Mongolia)

Pavel A. Parshin, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor, All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy (Voronezh, Russian Federation)

Sergey N. Kartashov, Dr.Sci. (Biology), Professor of the Biology and General Pathology Department, Don State Technical University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

Sergey V. Konyaev, Cand.Sci. (Biology), Chief Medical Officer of the Veterinary Clinic “AS Vet” (Novosibirsk, Russian Federation)

Taras I. Aliper, Dr.Sci (Biology), Professor, National Research Center for Epidemiology and Microbiology Named after Honorary Academician N.F. Gamaleya (Moscow, Russian Federation)

Tatyana I. Tverdokhlebova, Dr.Sci. (Medicine), Rostov Scientific Research Institute of Microbiology and Parasitology (Rostov-on-Don, Russian Federation)

Tatyana N. Derezina, Dr.Sci. (Biology), Professor of the Biology and General Pathology Department, Don State Technical University (Rostov-on-Don, Russian Federation)

Vitalii V. Nedosekov, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor of the Institute of Veterinary Medicine, National Agrarian University (Kiev, Ukraine)

Vladimir A. Chistyakov, Dr.Sci. (Biology), Academy of Biology and Biotechnology of Southern Federal University, (Rostov-on-Don, Russian Federation)

Vladimir V. Makarov, Dr.Sci. (Biology), Professor, Honoured Scholar of the Russian Federation, Professor, Peoples’ Friendship University of Russia (Moscow, Russian Federation)

Yurii A. Vatnikov, Dr.Sci. (Veterinary Medicine), Professor, Peoples’ Friendship University of Russia (Moscow, Russian Federation)

Содержание

ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

Петрова И.М., Бытов М.В., Хацко С.Л., Зубарева В.Д., Дроздова Л.И., Шкуратова И.А.

Взаимосвязь экспрессии каспазы-3 и -6 с морфологическими изменениями в почках коров 7

Хакимов А.Р., Лебедева А.И., Мусина Л.А., Хисматуллина З.Р.

Модель крыс с нокаутом гена DAT: дофаминовая дисфункция, эпигенетические механизмы и подходы к генной терапии. Обзор научной литературы 14

Шебеко С.К.

Оптимизация методов контроля общей анестезии лабораторных животных при разработке и экспериментальном изучении ветеринарных препаратов 25

Кокуленко К.В., Гончарова А.В., Илларионова В.К., Костылев В.А.

Клинико-эхокардиографические и цитологические характеристики патологий перикарда собак, сопровождающихся перикардальным выпотом 34

Шмаренкова Ю.С., Акчурин С.В., Титов А.Д., Демичев В.В., Акчурина И.В.

Сравнение диагностической точности полуавтоматического и экспертного измерения кардиовертебрального индекса у собак и кошек: первый этап валидации «Десктопного приложения для автоматизации расчета VHS на основе рентгенограмм» 44

Дарбишева А.А., Дилекова О.В.

Экспрессия vimentin, α -SMA и CD34 в злокачественных типах опухолей молочной железы у собак 54

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ

Самойленко В.С.

*Комплексный анализ цитотоксичности генетически модифицированного штамма *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) с выявлением и оценкой факторов вирулентности* 61

Contents

ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY

Petrova IM, Bytov MV, Khatsko SL, Zubareva VD, Drozdova LI, Shkuratova IA.	
<i>The Relationship between Caspase-3, -6 Expression and Morphological Changes in Kidneys of Cows</i>	7
Khakimov AR, Lebedeva AI, Musina LA, Khismatullina ZR. DAT Knockout Rat Models:	
<i>Dopamine Dysfunction, Epigenetic Mechanisms, and Approaches to Gene Therapy: A Literature Review</i>	14
Shebeko SK.	
<i>Optimization of General Anesthesia Monitoring Methods Used in Laboratory Animals during De-velopment and Experimental Study of Veterinary Drugs</i>	25
Kokulenko KV, Goncharova AV, Illarionova VK, Kostylev VA.	
<i>Clinical, Echocardiographic and Cytological Characteristics of Pericardial Pathologies Accompanied by Pericardial Effusion in Dogs</i>	34
Shmarenkova YS, Akchurin SV, Titov AD, Demichev VV, Akchurina IV.	
<i>Comparison of the Diagnostic Accuracy of Semiautomated and Expert-Based Calculation of the Vertebral Heart Score in Cats and Dogs: First Stage Vali-dation of the “Desktop Application for Automation of the VHS Calculation Based on Radiographs”</i>	44
Darbisheva AA, Dilekova OV.	
<i>Expression of Vimentin, α-SMA, and CD34 in Malignant Mammary Tumors in Dogs</i>	54

ANIMAL INFECTIOUS DISEASES AND IMMUNOLOGY

Samoylenko VS.	
<i>A Comprehensive Analysis of Cytotoxicity of Genetically Modified <i>Lactobacillus plantarum</i> 8PA3 (B-11007) Strain Including Identification and Evaluation of Virulence Factors</i>	61

ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY









УДК 619:616:591.4:636.2:616.61

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-7-13>

Взаимосвязь экспрессии каспазы-3 и -6 с морфологическими изменениями в почках коров

И.М. Петрова , М.В. Бытов  ✉, С.Л. Хацко , В.Д. Зубарева , Л.И. Дроздова ,
И.А. Шкуратова 



EDN: YNAJ TZ

Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, г. Екатеринбург, Российская Федерация

✉ bytovmaks@mail.ru

Аннотация

Введение. Почки коров подвержены воздействию факторов промышленного содержания, что проявляется развитием различных нефропатий, оказывающих системное действие на организм. Почка — основной орган, обеспечивающий гомеостаз путем регуляции осмолярности, минерального и кислотно-основного состояния организма посредством экскреции воды и неорганических электролитов. Патология почек зачастую носит латентный характер и диагностируется постмортально. У лактирующих коров в связи с высокой метаболической нагрузкой часто выявляются значительные деструктивные изменения, проявляющиеся в том числе гибелью клеток. Одним из путей в сложном каскаде сигналинга апоптоза является каспазный. К сожалению, на сегодняшний день для крупного рогатого скота экспрессия ферментов-каспаз в почках не описана. Цель работы — описание взаимосвязи экспрессии каспазы-3 и каспазы-6 с патологическими изменениями в почках высокопродуктивных коров.

Материалы и методы. Морфологическое исследование образцов почек высокопродуктивных коров (4–6 лактаций, возраст 7–8 лет, n=4) проведено в ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН в период с 2023 по 2025 г. Используются стандартные методы гистотехники с окрашиванием препаратов гематоксилином и эозином, а также по Маллори. Проведено иммуногистохимическое исследование образцов с антителами к каспазе-3 и -6.

Результаты исследования. Выявлено, что у коров в возрасте 7–8 лет в почках развиваются деструктивные процессы в виде почечной недостаточности, воспалительных реакций, склеротических и микроциркуляторных изменений. Обнаруженные явления ассоциированы с высокой экспрессией каспазы-6 на уровне почечных канальцев, что подтверждает повреждение почечной паренхимы. Каспаза-3 экспрессируется преимущественно в канальцах почки, а также в элементах ее стромы, что указывает на интенсификацию апоптотических процессов по всему органу.

Обсуждение и заключение. Обнаруженные деструктивные процессы в почках высокопродуктивных коров ассоциированы, вероятно, не только с возрастом, но также с высокой метаболической нагрузкой на организм во время лактации. Полученные данные обосновывают дальнейшее изучение проапоптотических факторов в свете их влияния на развитие различных патологий у крупного рогатого скота.

Ключевые слова: каспаза-3, каспаза-6, апоптоз, коровы, нефросклероз, поликистоз, почки, морфологическое исследование

Декларация о соблюдении принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей: авторы заявляют, что все проведенные исследования соответствовали принципам конвенции и правилам надлежащей лабораторной практики.

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта Российского научного фонда 2023 г. «Пространственная характеристика транскриптомных и метаболомных особенностей преждевременной структурно-функциональной дегенерации тканей органов сельскохозяйственных животных и птицы» (№ 23-16-00117).

Для цитирования: Петрова И.М., Бытов М.В., Хацко С.Л., Зубарева В.Д., Дроздова Л.И., Шкуратова И.А. Взаимосвязь экспрессии каспазы-3 и -6 с морфологическими изменениями в почках коров. *Ветеринарная патология*. 2026;25(2):7–13. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-7-13>

Original Empirical Research

The Relationship between Caspase-3, -6 Expression and Morphological Changes in Kidneys of Cows

Irina M. Petrova , Maksim V. Bytov , Sergey L. Khatsko , Vladlena D. Zubareva , Lyudmila I. Drozdova ,
Irina A. Shkuratova 

Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russian Federation

✉ bytovmaks@mail.ru

Abstract

Introduction. Cow kidneys are exposed to the impact of industrial factors, which is manifested in development of the various nephropathies with systemic effects on organism. The kidneys are the main organs responsible for homeostasis by regulating osmolarity, mineral balance, and acid-base balance in organism through the excretion of water and inorganic electrolytes. Renal pathology often has latent character and is diagnosed postmortem. Significant destructive changes, including cell death, are often detected in lactating cows due to high metabolic load they undergo. Caspase pathway is one of the pathways in the complex apoptotic signaling cascade. Unfortunately, the expression of caspases in bovine kidneys has not been yet described in the literature. The aim of the study is to describe the relationship between the expression of caspase-3 and caspase-6 and the pathological changes in the kidneys of high-yielding cows.

Materials and Methods. A morphological study of renal samples from high-yielding cows (4–6 lactations, 7–8 years old, n=4) was conducted at the Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences in the period from 2023 to 2025. Standard histological techniques including hematoxylin and eosin staining and Mallory's trichrome staining were used. Immunohistochemical analysis of the samples using antibodies to caspase-3, and -6 was performed.

Results. It was found that in the kidneys of 7–8-year-old cows there develop the destructive processes including renal failure, inflammatory reactions, and sclerotic and microcirculatory disorders. The observed conditions are associated with high expression of caspase-6 at the level of the renal tubules, which confirms damage to the renal parenchyma. Caspase-3 is expressed primarily in the renal tubules and in renal stroma elements, which indicates intensification of apoptotic processes across the entire organ.

Discussion and Conclusion. The destructive processes revealed in the kidneys of high-yielding cows are likely to be associated not only with the age but also with the high metabolic load imposed on the organism during lactation. The research findings substantiate the need for further study of pro-apoptotic factors due to their influence on the development of various pathologies in cattle.

Keywords: caspase-3, caspase-6, apoptosis, cows, nephrosclerosis, polycystic kidney disease, morphological study

Declaration on Compliance with the Principles of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes: the authors declare that all the studies were conducted in compliance with the principles of Good Laboratory Practice.

Funding. The work was carried out in the frame of the Russian Science Foundation project No. 23-16-00117 of 2023 “Spatial characterization of transcriptomic and metabolomic features of premature structural and functional degeneration of tissues in farm animal and poultry organs”.

For Citation: Petrova IM, Bytov MV, Khatsko SL, Zubareva VD, Drozdova LI, Shkuratova IA. The Relationship between Caspase-3, -6 Expression and Morphological Changes in Kidneys of Cows. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2026;25(2):7–13. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-7-13>

Введение. Организм высокопродуктивных коров молочного направления подвержен метаболическому дисбалансу. Одним из последствий продуктивной нагрузки является развитие ацидозного синдрома, негативно влияющего на почки [1]. Кетоз, которому особо подвержены коровы при лактации, также может приво-

дить к различным нефропатиям [2]. Развитие патологических процессов в почках угнетает функции органа, что имеет системный эффект и сказывается на общем состоянии животного. Научное сообщество давно активно обсуждает роль апоптоза в патогенезе различных заболеваний почек [3]. Например, установлено, что за-

программированная гибель эпителиальных клеток канальцев является, наряду с некрозом, классическим признаком острой почечной недостаточности [4]. Кроме повреждения нефроцитов, важным фактором развития почечной дисфункции является повреждение сосудов почки и апоптоз эндотелиоцитов. Предполагается, что потеря эндотелиальных клеток посредством апоптоза играет важную роль в изменении микроциркуляторного русла, наблюдающегося при повреждении почек [5]. Апоптоз был описан также и в клетках интерстиция почки после ее ишемического повреждения [6].

Каспазы — это ферменты группы протеаз, которые участвуют в апоптозе клеток. Для людей и грызунов описано 12 каспаз, однако для крупного рогатого скота точное количество ферментов этой группы еще предстоит установить. Каспазы делятся на 3 группы: исполнители (executioners), инициаторы (initiators) и воспалительные каспазы (inflammatory caspases). Представителем исполнительных каспаз является каспаза-3, а инициаторных — каспаза-6. Исследования роли каспаз в развитии различных патологических состояний в органах крупного рогатого скота крайне ограничены. Например, сообщается о роли каспазы-3 в апоптозе клеток молочной железы коров в условиях питания концентрированными кормами [7]. Данные о роли каспаз в развитии патологий почек у крупного рогатого скота в литературе не представлены. В то же время известно, что у человека и грызунов каспазы участвуют в воспалительных реакциях, апоптозе, вазоконстрикции и тубулярном некрозе при различных заболеваниях почек [8]. Кроме того, важная роль каспаз в поражении почек делает их привлекательной мишенью для терапии. Так, на примере поликистозной болезни крыс показано, что ингибирование каспаз может снизить апоптоз в почечных канальцах и замедлить прогрессирование заболевания [9].

Таким образом, целью данного исследования является описание взаимосвязи экспрессии каспазы-3 и каспазы-6 с морфологическими изменениями в почках высокопродуктивных коров при патологиях.

Материалы и методы. Работа выполнена в ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН (г. Екатеринбург) в период с 2023 по 2025 г. Для изучения морфологических изменений в почках коров постмортально был отобран материал от животных в возрасте 7–8 лет, 4–6 лактаций ($n=4$). Для гистологических исследований кусочки тканей толщиной не более 0,5 см фиксировали в 10 % забуференном нейтральном формалине в соотношении 1:20. После фиксации образцы промывали в проточной воде, обезвоживали, затем пропитывали парафином и готовили парафиновые блоки. Изготавливали парафиновые срезы толщиной 3–4 мкм. Срезы депарафинизировали и окрашивали гематоксилином и эозином, а также по Маллори.

Проводили иммуногистохимическое окрашивание образцов с антителами к каспазе-3 и каспазе-6 для

оценки интенсивности апоптоза в органе. Для иммуногистохимического исследования срезы помещали на стекла с адгезивным покрытием (superfrost), далее — на сушильный столик (+60 °C) до визуального расплавления парафина. Иммуногистохимическое исследование проводили по следующему протоколу:

1. Срезы помещали в буферный раствор трис-ЭДТА, нагретый на водяной бане до 96 °C на 12 мин для проведения температурной демаскировки антигенов (NHER, pH=6; «ПраймБиоМед», Россия).
2. После 12-минутной инкубации на водяной бане срезы оставляли в буфере остывать до комнатной температуры, после чего промывали дистиллированной водой.
3. Срезы инкубировали в растворе H_2O_2 в течение 10 мин, после чего помещали в дистиллированную воду на 2 мин.
4. Срезы обсушивали, обводили гидрофобным маркером.
5. Срезы заливали буфером TBST на 1 мин.
6. На срезы наносили первичные антитела и инкубировали во влажной камере в течение 1 часа при 30 °C.
7. Срезы трижды промывали буфером TBST.
8. На срезы наносили вторичные антитела и инкубировали во влажной камере в течение 30 мин при 30 °C.
9. Срезы трижды промывали TBST.
10. На срезы наносили хромоген DAB и инкубировали до потемнения срезов примерно 30–60 сек.
11. Срезы промывали в дистиллированной воде, после чего докрашивали гематоксилином в течение 10 сек.
12. Срезы промывали в дистиллированной воде, осветляли и заключали в бальзам.

В качестве первичных антител использовали антитела к каспазе-3 (PAA626Bo01, Cloud-Clone, Китай) и каспазе-6 (PAC340Bo02, Cloud-Clone, Китай) в разведении 1:100. В качестве вторичных использовали антитела к иммуноглобулину IgG кролика (SAA544Rb19, Cloud-Clone, Китай) с использованием DAB (Bio-Rad, США) в качестве субстрата пероксидазы хрена в соответствии с рекомендациями производителя.

Проводили гистологическое описание препаратов и визуальную оценку интенсивности иммуногистохимического окрашивания.

Результаты исследования. При исследовании препаратов почек коров в органе прослеживаются значительные изменения. В корковом веществе, в почечных тельцах имеет место расширение пространства капсулы Боумена-Шумлянского. В гломерулярном аппарате видны процессы пролиферации эндотелия, что указывает на развитие интракапиллярного гломерулита (рис. 1.1). Повсеместно в корковой зоне обнаруживаются кистозные полости различных размеров, свидетельствующие о почечной недостаточности (рис. 1.2). В просвете проксимальных канальцев видно отложение белковых цилиндров, что говорит о нару-

шении белкового обмена. Нефроциты в состоянии дистрофии, ряд клеток с нарушением структуры. Канальцы тубулярного аппарата характеризуются уменьшением просвета, набуханием нефроцитов и изменением их структуры (рис. 1.1 и 1.2).

При окрашивании по Маллори отмечается усиление соединительнотканного рисунка в капсуле Боумена-Шумлянского, а также между извитыми канальцами первого порядка, что свидетельствует о продуктивном воспалении (рис. 1.3). В тубулярной зоне между канальцами обнаруживаются очаги нефросклероза (рис. 1.4). В области расположения кровеносных сосудов, особенно вблизи дуговых артерий, в периваскулярной зоне, наблюдаются выраженные склеротические процессы — целые поля разрастания соединительной ткани, окрашенные в разные оттенки синего цвета (рис. 1.5). В самих сосудах активно происходят процессы дезорганизации и пролиферации элементов сосудистой стенки, просвет артерий резко сужен (рис. 1.6).

Наряду с морфологическими изменениями, в почках исследуемых коров отмечается экспрессия проапоптотических белков — каспазы-3 и каспазы-6. Умеренная экспрессия каспазы-3 обнаруживается в нефроцитах канальцев коркового вещества (рис. 2.1), а также в клетках наружного листка капсулы Боумена-Шумлянского деформированных клубочков (рис. 2.2). В интерстиции, вокруг кистозных полостей, также определяется большое количество клеток, имеющих положительную реакцию на каспазу-3 (рис. 2.3). Нефроциты канальцев как коркового, так и мозгового вещества почки интенсивно окрашены в коричневый цвет, что говорит о высокой степени экспрессии в них каспазы-6 (рис. 2.4 и 2.5). При этом почечные тельца, сохранившие свою структуру, не экспрессируют каспазу-6, в отличие от деформированных клубочков (рис. 2.6). Стоит заметить, что не все канальцы имеют положительную реакцию на каспазы, что может быть связано с гибелью клеток не только путем апоптоза, но и некроза, и обсуждается в литературе [4].

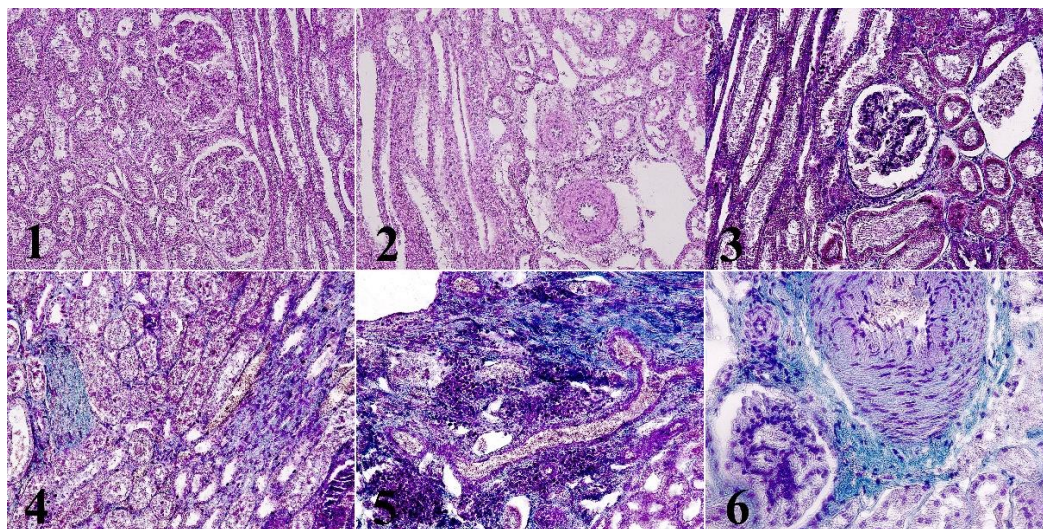


Рис. 1. Морфологическая структура почек высокопродуктивных коров в возрасте 7-8 лет: 1, 2 — окраска гематоксилином и эозином, ув. 200×; 3-5 — окраска по Маллори, ув. 200×; 6 — окраска по Маллори, ув. 400× (фото авторов)

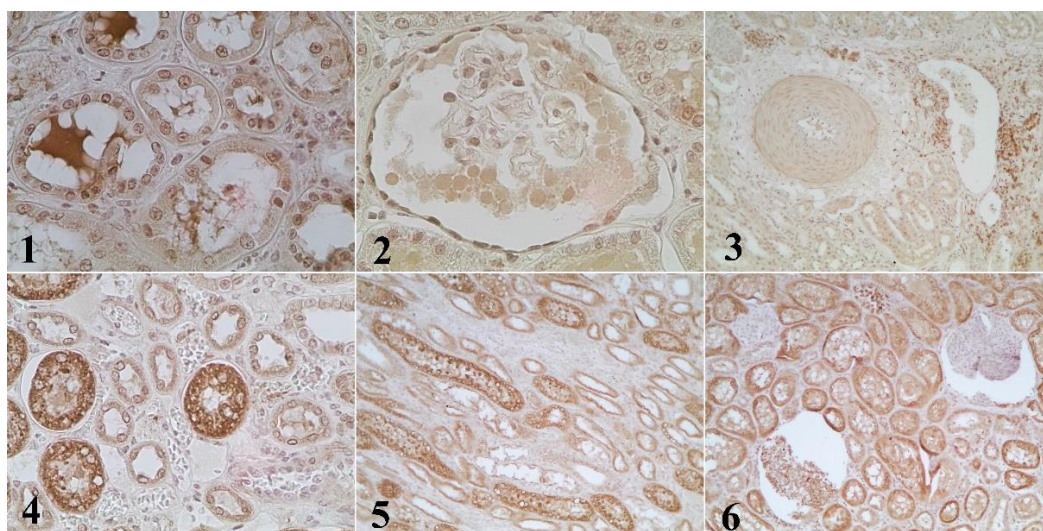


Рис. 2. Иммуногистохимическое выявление каспазы-3 (1-3) и каспазы-6 (4-6) в тканях почек высокопродуктивных коров в возрасте 7-8 лет, докраска гематоксилином: 1, 2, 4, 5 — ув. 400×; 3 и 6 — ув. 200× (фото авторов)

Обсуждение и заключение. Морфологическое исследование тканей почек коров в возрасте 7-8 лет свидетельствует о развитии деструктивных процессов в органе, которые ассоциированы, вероятно, не только с возрастом, но также с высокой метаболической нагрузкой на организм во время лактаций. Изменения касаются не только функциональной паренхимы органа, но и стромы с микроциркуляторным руслом. Формирование кистозных полостей, наличие деформированных клубочков и нарушения в структуре гломерулярного аппарата свидетельствуют о развитии почечной недостаточности. Отложение белковых цилиндров в тубулярном аппарате и гибель нефроцитов указывают на развитие дистрофических процессов. Очаги нефросклероза и значительные микроциркуляторные нарушения свидетельствуют в пользу наличия воспалительных реакций и фиброзных изменений органа.

Описанные изменения сопровождаются экспрессией апоптических факторов — каспазы-3 и каспазы-6.

При этом каспаза-6 преимущественно экспрессируются нефроцитами почечных канальцев, которые, согласно морфологическому описанию, претерпевают дистрофические процессы, связанные с нарушением белкового обмена. Таким образом, повышенный уровень экспрессии каспазы-6 является маркером повреждения клеток почек и их преапоптотического состояния с задействованием каспазного каскадного пути. Экспрессия каспазы-3 отмечена не только в функциональной паренхиме почки, но также и в компонентах стромы органа — в клетках интерстиция и сосудистых стенок. Таким образом, в связи с исполнительной ролью каспазы-3, можно сделать вывод о наличии обширных процессов апоптоза в различных тканях органа. Полученные данные являются веским основанием для дальнейшего углубленного изучения проапоптотических факторов в свете их влияния на развитие различных патологий у крупного рогатого скота.

Список литературы/References

1. Евглевский А.А., Евглевская Е.П., Михайлова И.И., Ванина Н.В., Ерыженская Н.Ф., Сулейманова Т.А. Нарушение кислотно-основного состояния в организме коров: причины, последствия, пути решения. *Ветеринарная патология*. 2017;(1(59)):53–58.

Evglevsky AA, Evglevskaya EP, Mikhaylova II, Vanina NV, Erigenskaya NF, Suleimanova TA. Disturbance of Acid-Base Balance in the Cow: Causes, Consequences and Treatment. *Veterinary Pathology*. 2017;(1(59)):53–58. (In Russ.).

2. İssi M, Gül Y, Başbuğ O. Evaluation of Renal and Hepatic Functions in Cattle with Subclinical and Clinical Ketosis. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2016;40:47–52. <https://doi.org/10.3906/vet-1505-16>

3. Пак Л.Б., Дубиков А.И., Кабанцева Т.А., Василюк А.А., Григорян О.М. Апоптоз и патология почек. *Нефрология*. 2013;17(4):36–43.

Pak LB, Dubikov AI, Kabanceva TA, Vasilyuk AA, Grigoryan OM. Apoptosis and Nephropathies. *Nephrology*. 2013;17(4):36–43. (In Russ.).

4. Yang B, Lan S, Dieudé M, Sabo-Vatasescu JP, Karakeussian-Rimbaud A, Turgeon J, et al. Caspase-3 is a Pivotal Regulator of Microvascular Rarefaction and Renal Fibrosis after Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2018;29(7):1900–1916. <http://doi.org/10.1681/ASN.2017050581>

5. Hörbelt M., Lee S.Y., Mang H.E., Knipe N.L., Sado Y., Kribben A., Sutton T.A. Acute and chronic microvascular alterations in a mouse model of ischemic acute kidney injury. *American Journal of Physiology*. 2007;293(3):688–695. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00452.2006>

6. Forbes JM, Hewitson TD, Becker GJ, Jones CL. Ischemic Acute Renal Failure: Long-Term Histology of Cell and Matrix Changes in the Rat. *Kidney International*. 2000;57(6):2375–2385. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00097.x>

7. Ul Aabdin Z, Cheng X, Dai H, Wang Y, Sahito B, Roy AC, et al. High-Concentrate Feeding to Dairy Cows Induces Apoptosis via the NOD1/Caspase-8 Pathway in Mammary Epithelial Cells. *Genes*. 2020;11(1):107. <https://doi.org/10.3390/genes11010107>

8. Homsy E, Janino P, de Faria JBL. Role of Caspases on Cell Death, Inflammation, and Cell Cycle in Glycerol-Induced Acute Renal Failure. *Kidney International*. 2006;69(8):1385–1392. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000315>

9. Tao Y, Zafar I, Kim J, Schrier RW, Edelstein CL. Caspase-3 Gene Deletion Prolongs Survival in Polycystic Kidney Disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2008;19(4):749–755. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006121378>

Об авторах:

Ирина Михайловна Петрова, лаборант Отдела геномных исследований и селекции животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, а/я 269, ул. Белинского, 112а), [ORCID](#), [Scopus ID](#), [SPIN-код](#), marygane6@mail.ru

Максим Владимирович Бытов, аспирант, младший научный сотрудник Отдела геномных исследований и селекции животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения

Российской академии наук (620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, а/я 269, ул. Белинского, 112а), , [ORCID](#), [Researcher ID](#), [Scopus ID](#), [SPIN-код](#), bytovmaks@mail.ru

Сергей Леонидович Хацко, лаборант Отдела геномных исследований и селекции животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, а/я 269, ул. Белинского, 112а), [ORCID](#), [Scopus ID](#), [SPIN-код](#), hardscore@mail.ru

Владлена Дмитриевна Зубарева, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник Отдела геномных исследований и селекции животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, а/я 269, ул. Белинского, 112а), [ORCID](#), [Scopus ID](#), [SPIN-код](#), zzub97@mail.ru

Людмила Ивановна Дроздова, доктор ветеринарных наук, профессор, ведущий научный сотрудник Отдела экологии и незаразной патологии животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, а/я 269, ул. Белинского, 112а), [ORCID](#), [SPIN-код](#), drozdova43@mail.ru

Ирина Алексеевна Шкуратова, член-корреспондент РАН, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник Отдела экологии и незаразной патологии животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук (620142, Российская Федерация, г. Екатеринбург, а/я 269, ул. Белинского, 112а), [ORCID](#), [Scopus ID](#), [SPIN-код](#), shkuratova@bk.ru

Заявленный вклад авторов:

И.М. Петрова: формирование основной концепции, поиск литературы, анализ результатов, формирование выводов.

М.В. Бытов: разработка методологии, формальный анализ; написание рукописи.

С.Л. Хацко: проведение экспериментов и сбор данных; подготовка первоначального варианта рукописи.

В.Д. Зубарева: редактирование и доработка рукописи.

Л.И. Дроздова: анализ полученных результатов, валидация, написание черновика рукописи.

И.А. Шкуратова: научное руководство, разработка концепции, разработка методологии, написание черновика рукописи.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

About the Authors:

Irina M. Petrova, Laboratory Technician of the Genomic Research and Animal Breeding Department, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (112a, Belinsky Str, P.O. Box 269, Ekaterinburg, 620142, Russian Federation), [ORCID](#), [Scopus ID](#), [SPIN-code](#), marygane6@mail.ru

Maksim V. Bytov, Postgraduate Student, Junior Research Associate of the Genomic Research and Animal Breeding Department, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (112a, Belinsky Str, P.O. Box 269, Ekaterinburg, 620142, Russian Federation), [ORCID](#), [Researcher ID](#), [Scopus ID](#), [SPIN-code](#), bytovmaks@mail.ru

Sergey L. Khatsko, Laboratory Technician of the Genomic Research and Animal Breeding Department, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (112a, Belinsky Str, P.O. Box 269, Ekaterinburg, 620142, Russian Federation), [ORCID](#), [Scopus ID](#), [SPIN-code](#), hardscore@mail.ru

Vladlena D. Zubareva, Cand.Sci. (Veterinary), Senior Research Associate of the Genomic Research and Animal Breeding Department, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (112a, Belinsky Str., P.O. Box 269, Ekaterinburg, 620142, Russian Federation), [ORCID](#), [Scopus ID](#), [SPIN-code](#), zzub97@mail.ru

Lyudmila I. Drozdova, Dr.Sci. (Veterinary), Professor, Lead Research Associate of the Ecology and Noncontagious Animal Pathology Department, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (112a, Belinsky Str., P.O. Box 269, Ekaterinburg, 620142, Russian Federation), [ORCID](#), [SPIN-code](#), drozdova43@mail.ru

Irina A. Shkuratova, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Dr.Sci. (Veterinary), Professor, Chief Research Associate of the Ecology and Noncontagious Animal Pathology Department, Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (112a, Belinsky Str., P.O. Box 269, Ekaterinburg, 620142, Russian Federation), [ORCID](#), [Scopus ID](#), [SPIN-code](#), shkuratova@bk.ru

Claimed Contributorship:

IM Petrova: formulating the main concept, search for publications, analysis of the research results, formulating the conclusions

MV Bytov: development of research methodology, formal analysis, writing the manuscript.

SL Khatsko: conducting experiments and collecting data; preparing the initial draft of the manuscript.

VD. Zubareva: editing and refining the manuscript.

LI Drozdova: analysis and validation of the obtained results, preparing a draft of the manuscript.

IA Shkuratova: scientific supervision, developing the concept and methodology of research, preparing a draft of the manuscript.

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

All authors have read and approved the final manuscript.

Поступила в редакцию / Received 15.04.2026

Поступила после рецензирования / Reviewed 13.05.2026

Принята к публикации / Accepted 24.05.2026

ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY



УДК 577.218:575.1:577.1

Обзор научной литературы

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-14-24>

Модель крыс с нокаутом гена DAT: дофаминовая дисфункция, эпигенетические механизмы и подходы к генной терапии. Обзор научной литературы

 А.Р. Хакимов¹  , А.И. Лебедева¹ , Л.А. Мусина¹ , З.Р. Хисматуллина² 
¹ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии», г. Уфа, Российская Федерация

²ФГБОУ ВО «Уфимский университет науки и технологий», г. Уфа, Российская Федерация

 shershakov2015a@mail.ru


EDN: TYPQWH

Аннотация

Введение. Модель животных с нокаутом кодирующего гена (DAT-KO) представляет собой ценный экспериментальный инструмент для изучения патофизиологии заболеваний, связанных с нарушением дофаминовой функции, таких как синдром дефицита внимания и гиперактивности, шизофрения, болезнь Паркинсона. Целью обзора является систематизация научных данных о дофаминергической дисфункции, эпигенетических механизмах и подходах к генной терапии на модели крыс с нокаутом гена DAT (DAT-KO).

Материалы и методы. Поиск литературных источников проводился в базах данных PubMed, Scopus, Web of Science и Google Scholar. В обзор включены оригинальные исследования только на английском языке (n=49), опубликованные в период с 1991 по 2025 гг. и посвященные структуре и функциям DAT, моделям нокаута, эпигенетическим механизмам и генной терапии. Результаты представлены в виде блок-схемы PRISMA и рисунков.

Результаты исследования. В моделях нокаута DAT у крыс наблюдается 5–7-кратное повышение внеклеточного уровня дофамина, гиперактивность и структурные изменения в базальных ганглиях, что отражает дофаминовую дисфункцию. Гомозиготные нокаутные животные полностью лишены функционального белка DAT, тогда как гетерозиготы сохраняют около половины его активности и демонстрируют промежуточные фенотипы. Эпигенетическая регуляция экспрессии гена *Slc6a3* осуществляется через метилирование ДНК, модификации гистонов (включая ацетилирование H3K9/K14 и метилирование H3K27) и микроРНК, причем в постнатальном онтогенезе крыс промотор DAT остается гипометилированным, что обеспечивает возрастное повышение его экспрессии. Генная терапия с использованием вирусных векторов демонстрирует потенциал восстановления функции DAT.

Обсуждение и заключение. Модель DAT-KO у крыс достоверно воспроизводит ключевые нейрохимические и морфологические особенности дофаминергической дисфункции. Полнота картины, однако, во многом ограничена фрагментарностью данных о динамике эпигенетической регуляции экспрессии дофаминового транспортера в ходе прогрессирования заболеваний и недостаточной доказательной базой по дозозависимым эффектам и долгосрочной безопасности генной терапии. Эпигенетические механизмы открывают новые направления для поиска биомаркеров и персонализированной терапии. Применение генной терапии с использованием аденоассоциированных и лентивирусных векторов демонстрирует потенциал восстановления функции DAT в доклинических моделях, однако требует дальнейшего уточнения дозозависимых эффектов и минимизации иммунного ответа. Перспективными направлениями остаются интеграция эпигенетических маркеров в клинические протоколы, разработка комбинированных стратегий и валидация модели DAT-KO при коморбидных состояниях.

Ключевые слова: обзор научной литературы, дофаминовая (дофаминергическая) дисфункция, дофаминовый транспортер, DAT, нокаут гена DAT, крысы, мыши, DAT-KO, *SLC6A3*, эпигенетическая регуляция, генная терапия, вирусные векторы

Для цитирования: Хакимов А.Р., Лебедева А.И., Мусина Л.А., Хисматуллина З.Р. Модель крыс с нокаутом гена DAT: дофаминовая дисфункция, эпигенетические механизмы и подходы к генной терапии. Обзор научной литературы. *Ветеринарная патология*. 2026;25(2):14–24. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-14-24>

DAT Knockout Rat Models: Dopamine Dysfunction, Epigenetic Mechanisms, and Approaches to Gene Therapy: A Literature Review

Albert R. Khakimov¹  ✉, Anna I. Lebedeva¹ , Lyalya A. Musina¹ , Zukhra R. Khismatullina² 

¹Russian Eye and Plastic Surgery Center of Bashkir State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Ufa, Russian Federation

²Ufa University of Science and Technology, Ufa, Russian Federation

✉ shershakov2015a@mail.ru

Abstract

Introduction. Dopamine transporter gene knockout (DAT-KO) animal model is a valuable experimental tool for studying the pathophysiology of diseases associated with dopamine dysfunction, such as attention-deficit/hyperactivity disorder, schizophrenia, and Parkinson's disease. The aim of the present review is to systematize the scientific data on using the DAT-KO rat models for studying dopaminergic dysfunction, epigenetic mechanisms, and gene therapy approaches.

Materials and Methods. Literary sources were searched for in PubMed, Scopus, Web of Science, and Google Scholar scientific citation databases. The original studies (n=49) on the structure and function of DAT, knockout models, epigenetic mechanisms, and gene therapy published from 1991 to 2025 in English language only were included into the review. The results have been presented in a PRISMA flow chart and in the illustrations.

Results. DAT knockout rat models exhibit a 5–7-fold increase of extracellular dopamine level, hyperactivity and structural changes in the basal ganglia, which indicates dopamine dysfunction. Homozygous knockout animals are found to completely lack functional DAT protein, whereas animals with heterozygous knockout retain approximately half of its function and exhibit intermediate phenotypes. Epigenetic regulation of SLC6A3 gene expression is mediated by DNA methylation, histone modifications (including H3K9/K14 acetylation and H3K27 methylation) and microRNA modifications. Moreover, the DAT promoter remains hypomethylated during postnatal ontogenesis in rats, resulting in its age-related expression increase. Gene therapy using viral vectors has demonstrated the potential to restore DAT function.

Discussion and Conclusion. The DAT-KO rat models reliably reproduce the key neurochemical and morphological features of dopaminergic dysfunction. However, the picture seems much incomplete due to the fragmentary character of data on the dynamics of epigenetic regulation of dopamine transporter expression during disease progression and insufficient evidence base on dose-dependent effects and long-term safety of gene therapy. The epigenetic mechanisms open the new tracks for biomarker search and personalization of therapy. Gene therapy using adeno-associated viral and lentiviral vectors demonstrates the potential to restore DAT function in the preclinical models, however, further clarification on dose-dependent effects and minimization of the immune response is required. The integration of epigenetic markers into the clinical protocols, development of combinatory strategies, and validation of the DAT-KO models for comorbid conditions continue to be the promising tracks for further research.

Keywords: literature review, dopamine (dopaminergic) dysfunction, dopamine transporter, DAT, DAT gene knockout, rats, mice, DAT-KO, SLC6A3, epigenetic regulation, gene therapy, viral vectors

For Citation: Khakimov AR, Lebedeva AI, Musina LA, Khismatullina ZR. DAT Knockout Rat Models: Dopamine Dysfunction, Epigenetic Mechanisms, and Approaches to Gene Therapy: A Literature Review. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2026;25(2):14–24. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-14-24>

Введение. Крысы и мыши с нокаутом гена *Slc6a3*, кодирующего белок-транспортёр дофамина (DAT), представляют собой ценную экспериментальную модель DAT-KO для изучения патофизиологии заболеваний, связанных с нарушением дофаминовой регуляции. Дофаминовый транспортёр играет ключевую роль в регуляции дофаминергической нейротрансдукции, обеспечивая обратный захват дофамина из синаптической щели в пресинаптические нейроны, что контролирует интенсивность и продолжительность сигналов на дофаминовых рецепторах [1, 2]. DAT экспрессируется преимущественно в дофаминергических нейронах черной субстанции и вентральной тегментальной области, с наибольшей плотностью в полосатом теле и прилежащем ядре, где он регулирует до 80 %

дофаминовой сигнализации [1]. В префронтальной коре, критической для высшего когнитивного контроля и социальных взаимодействий, DAT совместно с норадреналиновым транспортёром модулирует дофаминовую активность, влияя на социальное поведение [2, 3]. Нарушения гомеостаза дофамина, опосредованного DAT, связаны с депрессией, биполярным расстройством, синдромом дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ), шизофренией, болезнью Паркинсона. Так как DAT служит мишенью для психостимуляторов, таких как кокаин и метилфенидат, он связан с расстройствами, связанными с употреблением психоактивных веществ [1, 4].

Модель животных DAT-KO характеризуется полным отсутствием функционального белка, что вызывает гипердофаминергическое состояние с 5–7-кратным увеличением внеклеточного дофамина и снижением его пресинаптических запасов [5]. Это приводит к гиперактивности, моторным стереотипиям, когнитивным дефицитам и нарушениям мотивации, а также к нейроанатомическим изменениям, включая уменьшение объема полосатого тела, увеличение объема префронтальной коры и мозжечка, снижение плотности ГАМКергических интернейронов и нарушения в серотонинергической системе [2, 4, 6]. Физиологически у крыс DAT-KO наблюдаются снижение веса тела и нарушения моторной координации, что делает модель релевантной для изучения СДВГ и шизофрении [1, 2]. Гетерозиготные крысы DAT-KO с частичным снижением активности DAT также проявляют измененные формы поведения. Поэтому даже частичная утрата функции DAT способна вызывать значимые нейрхимические и поведенческие изменения [6].

Цель обзора — систематизация научных данных о дофаминовой дисрегуляции, эпигенетических механизмах и подходах к генной терапии на модели крыс с нокаутом гена DAT (DAT-KO).

Материалы и методы. Поиск литературы проводился в базах данных PubMed, Scopus, Web of Science и Google Scholar с использованием ключевых слов: dopamine transporter, DAT-KO, *SLC6A3*, dopamine dysregulation, epigenetic regulation, gene therapy, dopamine signaling, DAT knockout rats, DAT knockout mice, neurotransmitter transporters. Последний поиск выполнен 5 октября 2025 года. В анализ включались оригинальные исследования, обзоры и мета-анализы только на английском языке, опубликованные в период с 1991 по 2025 гг. В выборку вошли публикации (n=49), содержащие данные о: дофаминовой дисфункции (нейрхимические и поведенческие фенотипы) в моделях DAT-KO у крыс; эпигенетических механизмах регуляции дофаминового транспортера; подходах к генной терапии дефицита DAT с использованием вирусных векторов. Результаты систематизированы и представлены в виде блок-схемы PRISMA и рисунков.

Результаты исследования.

Отбор источников. В результате поиска, проведенного во всех базах данных и в других источниках, было выявлено 253 работы. После удаления 43 дубликатов для дальнейшего анализа отобрано 210 статей. По результатам проверки заголовков и аннотаций исключено 115 источников. Потенциально подходящие полные тексты (n=95) загружены в облачное хранилище и изучены всеми экспертами для оценки актуальности. На этом этапе исключены еще 46 публикаций,

не содержащих информации о методологии, результатах или их интерпретации в контексте дофаминергической дисфункции. Таким образом, для включения в обзор окончательно отобрано 49 статей. Краткое изложение процесса проверки представлено на блок-схеме PRISMA (рис. 1).

Ген *SLC6A3* и его роль в дофаминовой дисфункции. Ген *SLC6A3*, кодирующий DAT, относится к семейству Na⁺- и Cl⁻-зависимых переносчиков нейромедиаторов (рис. 2). У человека он локализован на хромосоме 5p15.33 и занимает около 52,5 тыс. п.н., включая 15 кодирующих экзонов [7, 8]. Белок DAT состоит из 620 аминокислот, имеет молекулярную массу около 69 кДа и включает 12 трансмембранных доменов. N- и C-концевые участки белка ориентированы в цитоплазму, а между третьим и четвертым доменами располагается крупная внеклеточная петля с сайтами N-гликозилирования [9].

У мыши ген *Slc6a3* локализован на хромосоме 13, его структура высококонсервативна: ген также состоит из 15 экзонов, а границы интрон-экзонных соединений в кодирующих областях полностью совпадают с человеческими [10]. Размер мышиного гена заметно меньше — около 24,5 тыс. п.н., а нуклеотидная идентичность кодирующих последовательностей с человеческим DAT составляет 85 % (93 % на уровне аминокислот). При этом у мыши отсутствует крупный VNTR-повтор в 3'-нетранслируемой области, характерный для человека, а полноразмерная мРНК короче на 10 % [10, 11].

Крысиный ген *Slc6a3* также содержит 15 экзонов, а его кДНК была клонирована и секвенирована еще в начале 1990-х гг. [12, 13]. Аминокислотная последовательность крысиного DAT демонстрирует 97 % идентичности с человеческим белком в пределах трансмембранных доменов и 87 % — во внеклеточных регионах [11]. Крысиный белок, как и мышиный, состоит из 619 аминокислот (на одну меньше, чем у человека, за счет отсутствия кодона CAG, кодирующего глицин в позиции 198) и имеет молекулярную массу около 69 кДа [11].

Основная функция DAT заключается в Na⁺- и Cl⁻-зависимом обратном захвате дофамина из синаптической щели в пресинаптическое окончание (рис. 3). С меньшей эффективностью он способен переносить норадреналин [15, 16]. Наибольшая экспрессия наблюдается в дофаминергических нейронах черной субстанции и вентральной области покрышки [1], при этом наибольшая плотность белка отмечается в аксональных терминалях полосатого тела и прилежащего ядра [17, 18]. В префронтальной коре количество DAT существенно ниже, и его функции частично компенсируются норадреналиновым переносчиком [19].

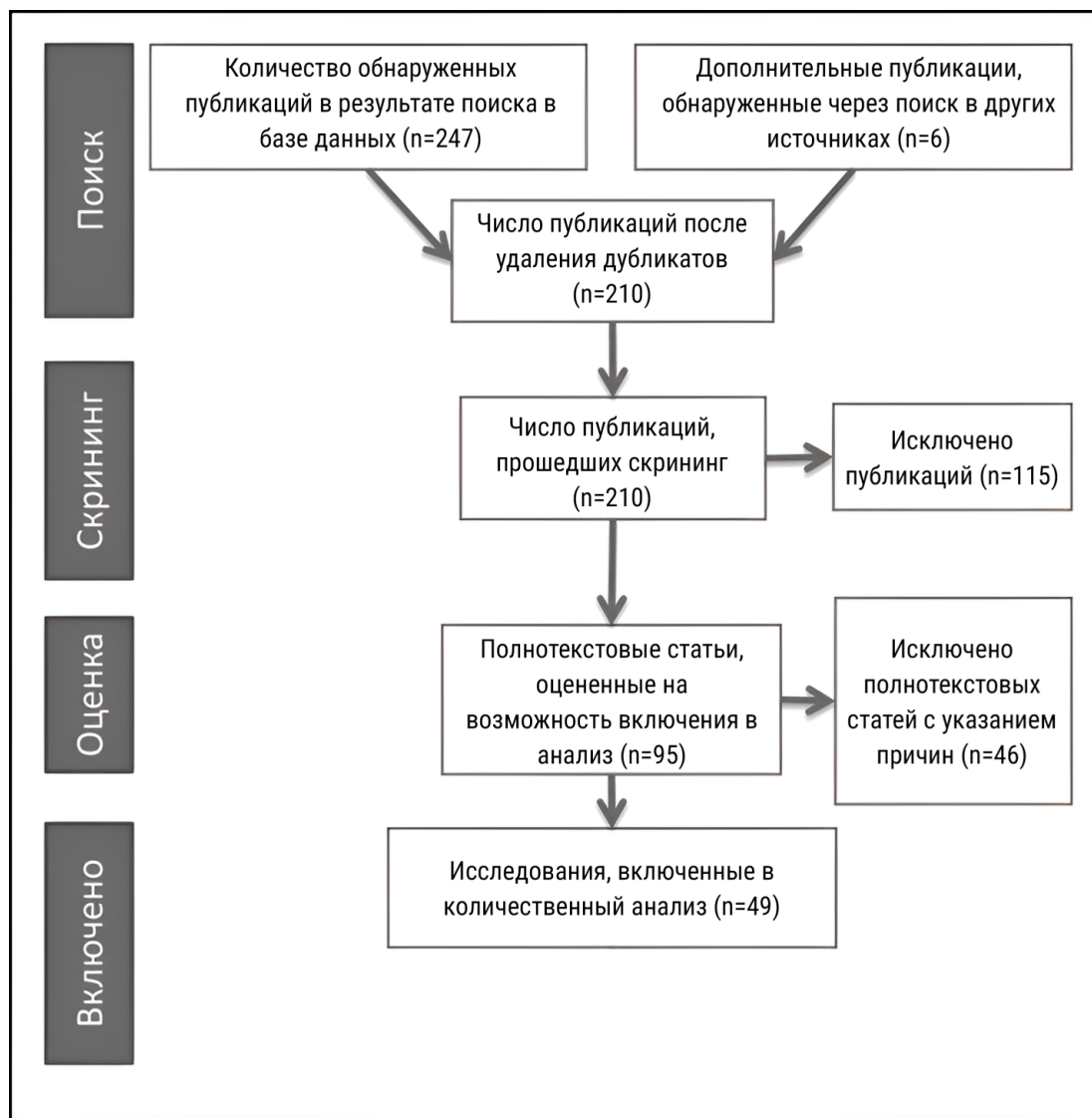


Рис. 1. Блок-схема отбора публикаций в соответствии с рекомендациями PRISMA

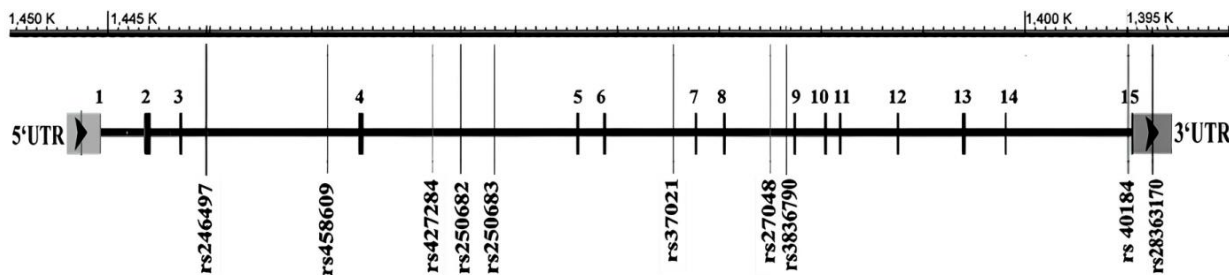


Рис. 2. Схематическое изображение структуры гена человека *SLC6A3*. Темные вертикальные блоки обозначают экзоны (1–15), между ними расположены интроны. Положение полиморфных маркеров (rs-номера) отмечено вдоль структуры гена. Серая стрелка указывает 5'-нетранслируемую область (5'UTR), черная стрелка — 3'-нетранслируемую область (3'UTR). Масштабная линейка сверху соответствует локализации гена на хромосоме [14]

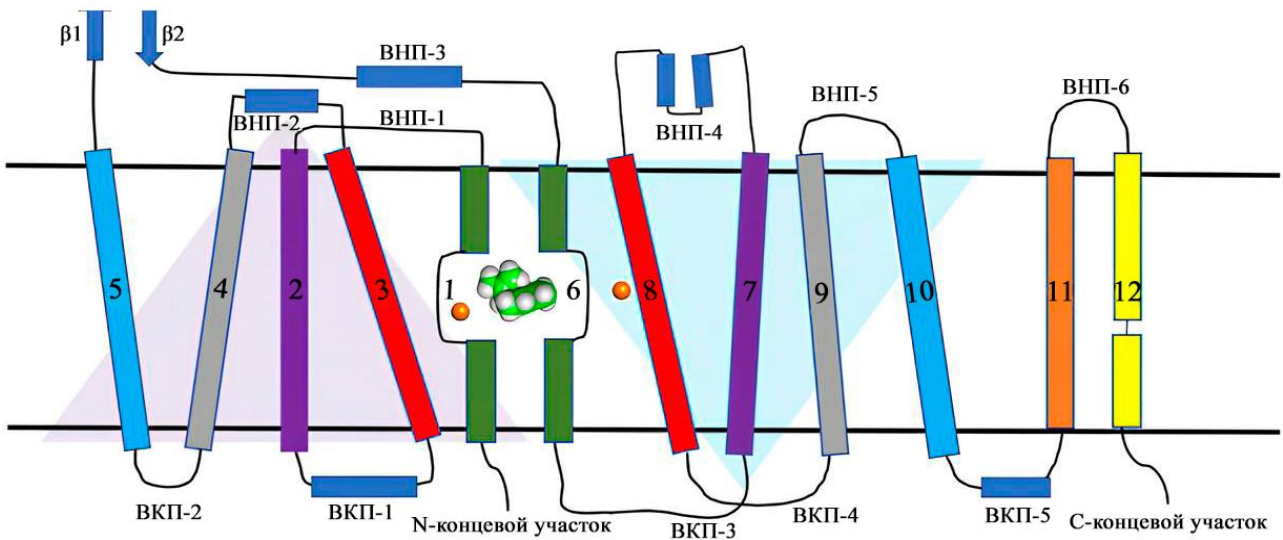


Рис. 3. Топологическая организация DAT. Прямоугольники обозначают трансмембранные домены (1–12), соединенные внутриклеточными (ВКП) и внеклеточными (ВНП) петлями. N- и C-концевые участки расположены в цитоплазме. Оранжевые сферы соответствуют ионам Na^+ , зелено-белая модель — молекуле субстрата в центре связывания. Два домена с инверсной осью симметрии формируют участок связывания субстрата [15]

Функциональная активность белка регулируется посттрансляционными модификациями. Фосфорилирование сериновых остатков в С-концевой области влияет на внутриклеточный транспорт и скорость обратного захвата дофамина [20]. Пальмитоилирование цистеинов во втором и пятом трансмембранных доменах способствует образованию олигомеров [21]. Убиквитинирование лизинов в С-конце определяет скорость деградации белка [22], а N-гликозилирование аспарагинов внеклеточной петли стабилизирует структуру DAT и регулирует его экспрессию на мембране [23].

Генетические варианты *SLC6A3* включают полиморфизм в виде 40 п.о. VNTR в 3'-нетранслируемой области. Число повторов может варьировать от трех до одиннадцати, при этом наиболее распространенной является аллель с десятью повторами, встречающаяся примерно у 70 % населения [24, 25]. Более короткие варианты, например аллель 9R, ассоциированы с повышенным риском шизофрении, а также с формированием зависимости от кокаина и алкоголя. Аллель 10R, напротив, чаще связывают с болезнью Паркинсона и СДВГ, а также меньшей предрасположенностью к никотиновой зависимости [8].

Наряду с этим описаны патогенные мутации, включая миссенс-замены (например, p.Leu368Gln) и нарушения сплайсинга (с.1269+1G→A), которые приводят к развитию синдрома дефицита DAT, также известного как детский паркинсонизм-дистония 1 [26]. Для этого состояния характерна полная утрата функции белка и выраженная гипердофаминергия [26, 27]. Оценка толерантности гена к повреждениям ($\text{GDI}=0,90$) указывает на его умеренную чувствительность к мутациям [28]. Среди известных белковых партнеров DAT описаны PRKCABP и TGFB11 [29], участвующие в регуляции фосфорилирования; SYNGR3, связывающийся с N-

концевым участком [30]; и TOR1A, влияющий на внутриклеточную локализацию [31].

Модели животных с нокаутом кодирующего гена DAT. Гомология между человеческим *SLC6A3* и его крысиным ортологом высока. Кодирующая последовательность совпадает примерно на 85 % по нуклеотидам, а аминокислотная последовательность DAT — на 92 % [32]. Такая близость обеспечивает сохранение ключевых структурных и функциональных свойств белка у разных видов. Благодаря этому нокаут гена у крыс воспроизводит основные проявления дефицита DAT, характерные для человека, включая гипердофаминергию и нарушения моторного поведения. Следовательно, линия крыс DAT-KO представляет собой надежную модель для изучения патогенетических механизмов, связанных с дисфункцией DAT.

Изучение физиологической роли DAT началось с создания первых моделей животных с выключением соответствующего гена. Одной из первых подобных моделей стали мыши с нокаутом DAT, полученные методом гомологичной рекомбинации *in vivo*. Для построения таргетирующего вектора использовали кДНК DAT: участок длиной 2,0 кб, включающий экзоны 6–8, заменили кассетой PGK-Neo. Вектор вводили в эмбриональные стволовые клетки методом электропорации, а гомологичные рекомбинанты отбирали двойной селекцией и подтверждали саузерн-блоттингом. Эмбриональные клетки с корректной интеграцией использовали для получения химерных особей, от которых выведены линии гетерозиготных $\text{DAT}^{+/-}$ и гомозиготных $\text{DAT}^{-/-}$ мышей — первой экспериментальной модели дефицита DAT [33].

Нокаут крысиного *Slc6a3* был реализован с помощью целевого мутагенеза. Впервые такую модель получили в 2018 г., используя линию Wistar-Han и метод «цинковых

пальцев». Удаление пяти пар нуклеотидов во втором экзоне вызвало преждевременное образование стоп-кодона и отсутствие мРНК DAT в полосатом теле [5].

В 2022 г. была создана альтернативная линия Sprague-Dawley с идентичной мутацией, полученной методом CRISPR/Cas9. У гомозиготных животных белок полностью отсутствует, внеклеточный уровень дофамина увеличен в 5–7 раз, а в черной субстанции отмечено повышение экспрессии тирозингидроксилазы при сохранении нормальной регуляции других генов дофаминовой системы [34]. Гетерозиготные животные сохраняют около половины активности DAT и демонстрируют промежуточные поведенческие фенотипы [35].

Эпигенетические механизмы регуляции гена дофаминового транспортера. Экспрессия регулируется эпигенетическими механизмами, к которым относятся метилирование ДНК, модификации гистонов и действие некодирующих РНК [36]. Эти процессы определяют уровень транскрипции в дофаминергических нейронах и тем самым влияют на обратный захват дофамина и эндоцитоз DAT. Нарушения таких механизмов, вероятно, являются одним из факторов патогенеза нейродегенеративных и психических заболеваний.

Метилирование ДНК осуществляется ферментами ДНК-метилтрансферазами и обычно снижает активность промотора за счет включения 5-метилцитозина в CpG-острова [37]. В мозге пациентов с болезнью Паркинсона отмечено гиперметилирование промотора гена *SLC6A3*, что ведет к уменьшению экспрессии DAT и снижению эффективности его эндоцитоза, усиливая дефицит дофамина. Использование деметилирующих агентов, например 5-аза-2'-дезоксцитидина, способствует восстановлению экспрессии и стимулирует дифференцировку дофаминергических нейронов [36]. В норме у крыс промотор DAT в раннем постнатальном развитии остается гипометилированным, что обеспечивает возрастное повышение уровня мРНК в среднем мозге и отражает динамику созревания дофаминергической системы [38].

Модификации гистонов также регулируют доступность ДНК для транскрипционных факторов. Ацетилирование остатков H3K9/K14 значительно усиливается к 56-му постнатальному дню, что сопровождается ростом уровня мРНК DAT в среднем мозге и полосатом теле. Снижение экспрессии *Dnmt1* на 71,3 % и *Dnmt3a* на 84,3 % к 56-му постнатальному дню сопровождается увеличением уровня DAT. В этот же период транскрипционные факторы *Nurr1* и *Pitx3* усиливают связывание с промоторной областью гена, причем активность возрастает в 6 и 8 раз соответственно. Эти взаимодействия с эпигенетическими маркерами обеспечивают возрастную регуляцию экспрессии DAT [38]. Гистондеацетилазы HDAC1 и HDAC2 подавляют транскрипцию, тогда как их ингибиторы, например вориностат, увеличивают степень ацетилирования и усиливают эндоцитоз белка

[36]. Метилирование H3K27 под действием фермента EZH2 ингибирует экспрессию DAT в условиях болезни Паркинсона и снижает уровень генов, участвующих в эндоцитозе, таких как клатрин и динамин. Изменения в уровнях метилирования гистонов H3K4 и H3K27 при этом заболевании связаны с активацией нейровоспаления и гибелью нейронов [39].

МикроРНК и длинные некодирующие РНК посттранскрипционно регулируют экспрессию DAT. Дополнительным уровнем контроля служат модификации мРНК, такие как N6-метиладенин. Эти модификации определяют стабильность и эффективность трансляции мРНК, а также влияют на эндоцитоз через сигнальные пути, опосредованные протеинкиназой C и дофаминовыми рецепторами D2-типа [36, 40]. Деметилазы снижают экспрессию DAT и способствуют накоплению α -синуклеина при болезни Паркинсона. Кроме того, редактирование РНК ферментами ADAR и псевдоуридилирование влияют на работу белков эндоцитоза и, как следствие, на процессы обратного захвата дофамина [36].

Нарушение данных механизмов, вероятно, связано с СДВГ, шизофренией и болезнью Паркинсона. При этом эпигенетические ингибиторы, например GSK126 и STM2457, по некоторым данным [36, 41, 42], могут рассматриваться как потенциальные терапевтические средства.

Методы генной терапии дефицита DAT. Исследования методов генной терапии дефицита DAT начались относительно недавно. Терапия основана на введении функциональной копии гена *SLC6A3* с использованием вирусных векторов — в большинстве, аденоассоциированных вирусов (AAV) и лентивирусов (LV) [26].

Введение AAV2 или AAV9 с промотором синапсина в область черной субстанции или интравентрикулярно обеспечивает экспрессию человеческого DAT в дофаминергических нейронах с последующим транспортом белка в полосатое тело. В экспериментах на мышах DAT-KO терапия демонстрировала четкую дозозависимость: введение 2×10^{10} vg на мышцу обеспечивало полное восстановление двигательных функций, нормализацию времени спуска по вертикальному шесту и других показателей двигательной активности, а также 100 % выживаемости к 12-й неделе. Подобные результаты были получены и после введения AAV9 на нулевой постнатальный день. Однако превышение терапевтической дозы на порядок вызывало токсичность с тремором и брадикинезией у половины животных [43].

У взрослых мышей применение AAV2 или AAV2/10 с различными конструкциями (*hSyn1-hDAT*, *TH-iCre/CMV-DIO-mDAT*) также приводило к дозозависимому восстановлению: наблюдалась нормализация дистанции перемещения и времени в центральной зоне в открытом поле, улучшение моторных навыков в

тесте вертикального шеста, восстановление параметров походки и снижение гиперлокомоции [44].

Комбинированные подходы генной терапии дефицита DAT предполагают использование нескольких векторов для обеспечения селективной экспрессии в дофаминергических нейронах или сочетание вирусной доставки с фармакологическими средствами. В модели мышей DAT-KO использовали комбинированную доставку двух AAV-векторов: в черную субстанцию вводили AAV2/10 с Cre-рекомбиназой под промотором тирозингидроксилазы и AAV2/10 с Cre-зависимой каскадой экспрессии для крысиного DAT. Такой подход обеспечивал экспрессию DAT только в TH-позитивных нейронах. К 48-му дню после инъекции отмечалось снижение гиперлокомоции в тесте открытого поля, нормализация показателей в тесте вертикального шеста, а также восстановление параметров походки. Биохимический анализ показал частичное восстановление захвата дофамина и нормализацию соотношения метаболитов дофаминергической и серотонинергической систем [44].

Аналогичная терапия с двухвекторной AAV-системой, проведенной взрослым мышам, подтвердил устойчивость эффекта. При этом экспрессия тирозингидроксилазы сохранялась без нежелательной активации в других структурах, таких как голубое пятно [44, 45].

LV-векторы применяются в генной терапии дефицита DAT преимущественно в *in vitro* моделях, основанных на iPSC, дифференцированных в дофаминергические нейроны среднего мозга. В таких системах LV используют для коррекции мутаций в целевом гене, вызывающих потерю функции DAT. Трансдукция LV-векторов восстанавливает захват дофамина, снижает апоптоз и повышает выживаемость TH-позитивных клеток. Комбинация LV с ингибитором белка Hsp70 усиливает эффект, повышая захват дофамина на 50–100 % и снижая уровень апоптоза до 20–30 % от контрольного. Однако при некоторых мутациях эффект определяется преимущественно вирусной трансдукцией [43]. В *in vivo* моделях, включая мышей DAT-KO, LV применяются реже, но демонстрируют потенциал для селективной экспрессии в дофаминергических нейронах и восстановления двигательных функций [45].

По сравнению с AAV-системами LV-векторы обеспечивают более стабильную интеграцию в геном хозяина, но связаны с риском инсерционного мутагенеза, что ограничивает их клиническое применение [46]. При этом анализ доступных данных показывает, что основные направления исследований сосредоточены на AAV благодаря их низкой иммуногенности и высокой эффективности в ЦНС отдельных серотипов (AAV2, AAV5, AAV8, AAV9) [47, 48]. Исследования с применением других вирусных платформ (в частности, аденовирусных или герпесвирусных) для коррекции

дефицита DAT пока отсутствуют, что подчеркивает ограниченность текущей экспериментальной базы.

Обсуждение и заключение. В литературе накоплен значительный объем данных о дофаминовой дисфункции, эпигенетических механизмах и подходах к генной терапии на модели DAT-KO у крыс, которые удалось систематизировать. Вместе с тем полнота картины ограничена несколькими факторами: гомозиготные модели используются в исследованиях значительно чаще, чем гетерозиготные, что ограничивает понимание всего спектра последствий частичной дисфункции DAT. Данные о динамике эпигенетической регуляции дофаминового транспортера остаются фрагментарными [32, 34], а доклинические исследования генной терапии не подкреплены достаточным числом работ по долгосрочной безопасности [39, 42].

Проведенный обзор показал, что гомозиготные модели с нокаутом гена DAT позволяют воспроизводить отдельные аспекты нарушений дофаминергической передачи [1, 5]. В то же время полное отсутствие функционального транспортера отражает крайний вариант патологии, тогда как гетерозиготные особи демонстрируют промежуточные фенотипические проявления, что повышает ценность их параллельного изучения.

Кроме того, нейроанатомические и поведенческие изменения у нокаутов могут отражать как прямые последствия дефицита DAT, так и вторичные компенсации в других нейромедиаторных сетях [49]. Следовательно, для разделения первичных и вторичных эффектов необходимы мультимодальные подходы: высокопольная МРТ для количественной морфометрии, целевые транскриптомные и протеомные анализы для выявления каскадов компенсаторных изменений, а также временная оценка фенотипов в разном возрасте. Эпигенетические данные по регуляции *SLC6A3* вносят важное, но пока фрагментарное дополнение к пониманию дофаминергической дисфункции. Отдельные исследования указывают на гиперметилирование промотора *SLC6A3* при болезни Паркинсона и на возрастозависимые изменения метилирования и модификаций гистонов в моделях на грызунах [38, 39]. Однако эти разрозненные данные не позволяют выстроить единую картину, поскольку для этого необходимо установить точное соответствие между эпигенетическими маркерами, экспрессией DAT и клинической картиной.

В свою очередь, перспективы терапевтической коррекции дефицита DAT выглядят обнадеживающе. AAV-опосредованная доставка *Slc6a3* показала дозозависимое восстановление двигательных параметров в моделях животных [43, 44, 45]. Однако применение AAV-векторов имеет некоторые трудности в виде узкого терапевтического окна по времени и дозе [46], что требует точной оптимизации параметров введения и пространственно-временного контроля экспрессии трансгена.

Параллельно двухвекторные подходы для обеспечения селективной экспрессии в TH-нейронах и LV-стратегии для *in vitro* коррекции у iPSC демонстрируют функциональную эффективность [43]. Но LV-векторы априори менее безопасны относительно AAV [48]. В связи с этим приоритет исследований должен быть направлен на оптимизацию таргетинга, контроля уровня экспрессии и длительного мониторинга побочных эффектов.

Таким образом, модель крыс с нокаутом гена *Slc6a3* представляет собой ценную экспериментальную модель для изучения патофизиологии дофаминергических нарушений. Ее высокая степень гомологии с человеческим геном *SLC6A3* обеспечивает воспроизводимость ключевых фенотипов, включая гипердофаминергию,

моторные и когнитивные нарушения, что делает ее релевантной для исследования СДВГ, шизофрении, болезни Паркинсона и синдрома дефицита DAT.

Перспективные стратегии генной терапии, основанные на применении AAV- и LV-векторов, демонстрируют высокую эффективность в восстановлении функций DAT и коррекции двигательных и поведенческих нарушений в экспериментальных моделях. Однако специфика генной терапии с использованием вирусных векторов, в частности, сохранение узкого терапевтического диапазона доз и необходимость предотвращения побочных эффектов, а также ограниченность имеющихся данных указывает на важность дальнейших исследований.

Список литературы / References

1. Savchenko A, Targa G, Fesenko Z, Leo D, Gainetdinov RR, Sukhanov I. Dopamine Transporter Deficient Rodents: Perspectives and Limitations for Neuroscience. *Biomolecules*. 2023;13(5):806. <https://doi.org/10.3390/biom13050806>
2. Puzzo C, Festucci F, Curcio G, Gigantesco A, Adriani W. Exploring Transgenerational Inheritance in Epigenotypes of DAT Heterozygous Rats: Circadian Anomalies and Attentional Vulnerability. *Behavioural Brain Research*. 2024;464:114921. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2024.114921>
3. Petrelli F, Dall'érac G, Pucci L, Cali C, Zehnder T, Sultan S, et al. Dysfunction of Homeostatic Control of Dopamine by Astrocytes in the Developing Prefrontal Cortex Leads to Cognitive Impairments. *Molecular Psychiatry*. 2020;25(4):732–749. <https://doi.org/10.1038/s41380-018-0226-y>
4. Adinolfi A, Zelli S, Leo D, Carbone C, Mus L, Illiano P, et al. Behavioral Characterization of DAT-KO Rats and Evidence of Asocial-Like Phenotypes in DAT-HET Rats: The Potential Involvement of Norepinephrine System. *Behavioural Brain Research*. 2019;359:516–527. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.11.028>
5. Leo D, Sukhanov I, Zoratto F, Illiano P, Caffino L, Sanna F, et al. Pronounced Hyperactivity, Cognitive Dysfunctions, and BDNF Dysregulation in Dopamine Transporter Knock-out Rats. *Journal of Neuroscience*. 2018;38(8):1959–1972. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1931-17.2018>
6. Cinque S, Zoratto F, Poleggi A, Leo D, Cerniglia L, Cimino S, et al. Behavioral Phenotyping of Dopamine Transporter Knockout Rats: Compulsive Traits, Motor Stereotypies, and Anhedonia. *Frontiers in Psychiatry*. 2018;9:43. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2018.00043>
7. Apsley AT, Domico ER, Verbiest MA, Brogan CA, Buck ER, Burich AJ, et al. A Novel Hypervariable Variable Number Tandem Repeat in the Dopamine Transporter Gene (SLC6A3). *Life Science Alliance*. 2023;6(4):e202201677. <https://doi.org/10.26508/lsa.202201677>
8. Reith MEA, Kortagere S, Wiers CE, Sun Hui, Kurian MA, Galli A, et al. The Dopamine Transporter Gene SLC6A3: Multidisease Risks. *Molecular Psychiatry*. 2022;27(2):1031–1046. <https://doi.org/10.1038/s41380-021-01341-5>
9. Nguyen H, Cheng MH, Lee JY, Aggarwal S, Mortensen OV, Bahar I. Allosteric Modulation of Serotonin and Dopamine Transporters: New Insights from Computations and Experiments. *Current Research in Physiology*. 2024;7:100125. <https://doi.org/10.1016/j.crphys.2024.100125>
10. Donovan DM, Vandenberg DJ, Perry MP, Bird GS, Ingersoll R, Nanthakumar E, et al. Human and Mouse Dopamine Transporter Genes: Conservation of 5'-Flanking Sequence Elements and Gene Structures. *Molecular Brain Research*. 1995;30(2):327–335. [https://doi.org/10.1016/0169-328x\(95\)00018-n](https://doi.org/10.1016/0169-328x(95)00018-n)
11. Vandenberg DJ, Persico AM, Uhl GR. A Human Dopamine Transporter cDNA Predicts Reduced Glycosylation, Displays a Novel Repetitive Element and Provides Racially-Dimorphic TaqI RFLPs. *Molecular Brain Research*. 1992;15(1–2):161–166. [https://doi.org/10.1016/0169-328x\(92\)90165-8](https://doi.org/10.1016/0169-328x(92)90165-8)
12. Shimada S, Kitayama S, Lin CL, Patel A, Nanthakumar E, Gregor P, et al. Cloning and Expression of a Cocaine-Sensitive Dopamine Transporter Complementary DNA. *Science*. 1991;254(5031):576–578. <https://doi.org/10.1126/science.1948034>
13. Kilty JE, Lorang D, Amara SG. Cloning and Expression of a Cocaine-Sensitive Rat Dopamine Transporter. *Science*. 1991;254(5031):578–579. <https://doi.org/10.1126/science.1948035>

14. Kojiam AS, Hijam AC, Singh AS, Jaiswal P, Mukhopadhyay K, Rajamma U, et al. Association of Dopamine Transporter Gene with Heroin Dependence in an Indian Subpopulation from Manipur. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2021;71(1):122–136. <https://doi.org/10.1007/s12031-020-01633-5>
15. Nepal B, Das S, Reith ME, Kortagere S. Overview of the Structure and Function of the Dopamine Transporter and Its Protein Interactions. *Frontiers in Physiology*. 2023;14:1150355. <https://doi.org/10.3389/fphys.2023.1150355>
16. Pidathala S, Mallela AK, Joseph D, Penmatsa A. Structural Basis of Norepinephrine Recognition and Transport Inhibition in Neurotransmitter Transporters. *Nature Communications*. 2021;12(1):2199. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22385-9>
17. Nirenberg MJ, Chan J, Pohorille A, Vaughan RA, Uhl GR, Kuhar MJ, et al. The Dopamine Transporter: Comparative Ultrastructure of Dopaminergic Axons in Limbic and Motor Compartments of the Nucleus Accumbens. *Journal of Neuroscience*. 1997;17(18):6899–6907. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-18-06899.1997>
18. Basso V, Döbrössy MD, Thompson LH, Kirik D, Fuller HR, Gates MA. State of the Art in Sub-Phenotyping Midbrain Dopamine Neurons. *Biology*. 2024;13(9):690. <https://doi.org/10.3390/biology13090690>
19. Sugimoto A, Suzuki Y, Yoshinaga K, Orime N, Hayashi T, Egawa J, et al. Influence of Atomoxetine on Relationship Between ADHD Symptoms and Prefrontal Cortex Activity During Task Execution in Adult Patients. *Frontiers in Human Neuroscience*. 2021;15:755025. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2021.755025>
20. Granas C, Ferrer J, Loland CJ, Javitch JA, Gether U. N-Terminal Truncation of the Dopamine Transporter Abolishes Phorbol Ester- and Substance P Receptor-Stimulated Phosphorylation without Impairing Transporter Internalization. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(7):4990–5000. <https://doi.org/10.1074/jbc.M205058200>
21. Zeppelin T, Pedersen KB, Berglund NA, Periolo X, Schjøtt B. Effect of Palmitoylation on the Dimer Formation of the Human Dopamine Transporter. *Scientific Reports*. 2021;11(1):4164. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83374-y>
22. Daniels GM, Amara SG. Regulated Trafficking of the Human Dopamine Transporter: Clathrin-Mediated Internalization and Lysosomal Degradation in Response to Phorbol Esters. *Journal of Biological Chemistry*. 1999;274(50):35794–35801. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.50.35794>
23. Afonso-Oramas D, Cruz-Muros I, de la Rosa DA, Abreu P, Giraldez T, Castro-Hernández J, et al. Dopamine Transporter Glycosylation Correlates with the Vulnerability of Midbrain Dopaminergic Cells in Parkinson's Disease. *Neurobiology of Disease*. 2009;36(3):494–508. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2009.09.002>
24. Olasore HS, Osuntoki AA, Magbagbeola OA, Awesu AB, Olashore AA. Association of Dopamine Transporter Gene (DAT1) 40 bp 3' UTR VNTR Polymorphism (rs28363170) and Cannabis Use Disorder. *Substance Use: Research and Treatment*. 2023;17:1–7. <https://doi.org/10.1177/11782218231163696>
25. Zeng Q, Ning F, Gu S, Zeng Q, Chen R, Peng L, et al. The 10-Repeat 3'-UTR VNTR Polymorphism in the SLC6A3 Gene May Confer Protection against Parkinson's Disease: A Meta-Analysis. *Frontiers in Genetics*. 2021;12:789112. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.789112>
26. Ng J, Barral S, Waddington SN, Kurian MA. Dopamine Transporter Deficiency Syndrome (DTDS): Expanding the Clinical Phenotype and Precision Medicine Approaches. *Cells*. 2023;12(13):1737. <https://doi.org/10.3390/cells12131737>
27. Madduluri B, Garapati D, Yareeda S. Dopamine Transporter Deficiency Syndrome: A Rare Case of Infantile-Onset Dystonia-Parkinsonism. *Journal of Movement Disorders*. 2025;18(3):280–282. <https://doi.org/10.14802/jmd.25057>
28. Itan Yuval, Shang Lei, Boisson B, Patin E, Bolze A, Moncada-Vélez M, et al. The Human Gene Damage Index as a Gene-Level Approach to Prioritizing Exome Variants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015;112(44):13615–13620. <https://doi.org/10.1073/pnas.1518646112>
29. Torres GE, Yao WD, Mohn AR, Quan H, Kim KM, Levey AI, et al. Functional Interaction between Monoamine Plasma Membrane Transporters and the Synaptic PDZ Domain-Containing Protein PICK1. *Neuron*. 2001;30(1):121–34. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(01\)00267-7](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(01)00267-7)
30. Egaña LA, Cuevas RA, Baust TB, Parra LA, Leak RK, Hochendoner S, et al. Physical and Functional Interaction between the Dopamine Transporter and the Synaptic Vesicle Protein Synaptogyrin-3. *Journal of Neuroscience*. 2009;29(14):4592–4604. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4559-08.2009>
31. Torres GE, Sweeney AL, Beaulieu JM, Shashidharan P, Caron MG. Effect of TorsinA on Membrane Proteins Reveals a Loss of Function and a Dominant-Negative Phenotype of the Dystonia-Associated DeltaE-TorsinA Mutant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2004;101(44):15650–15655. <https://doi.org/10.1073/pnas.0308088101>
32. Giros B, el Mestikawy S, Godinot N, Zheng K, Han H, Yang-Feng T, et al. Cloning, Pharmacological Characterization, and Chromosome Assignment of the Human Dopamine Transporter. *Molecular Pharmacology*. 1992;42(3):383–390. [https://doi.org/10.1016/S0026-895X\(25\)08925-4](https://doi.org/10.1016/S0026-895X(25)08925-4)
33. Kurzina NP, Volnova AB, Aristova IY, Gainetdinov RR. A New Paradigm for Training Hyperactive Dopamine Transporter Knockout Rats: Influence of Novel Stimuli on Object Recognition. *Frontier in Behavioral Neuroscience*. 2021;15:654469. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2021.654469>

34. Lloyd JT, Yee AG, Kalligappa PK, Javed A, Cheung PY, Todd KL, et al. Dopamine Dysregulation and Altered Responses to Drugs Affecting Dopaminergic Transmission in a New Dopamine Transporter Knockout (DAT-KO) Rat Model. *Neuroscience*. 2022;491:43–64. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2022.03.019>
35. Vaganova AN, Fesenko ZS, Volnova AB, Gainetdinov RR. Stable Dopamine-Signaling mRNA Co-Expression in the Substantia Nigra is Deregulated in Pathological Conditions, but Not in Dopamine Transporter Knockout Rats. *Bio-molecules*. 2025;15(8):1117. <https://doi.org/10.3390/biom15081117>
36. Liang Z, Liu W, Cao M, Cui J, Lan J, Ding Y, et al. Epigenetic Regulation-Mediated Disorders in Dopamine Transporter Endocytosis: A Novel Mechanism for the Pathogenesis of Parkinson's Disease. *Theranostics*. 2025;15(6):2250–2278. <https://doi.org/10.7150/thno.107436>
37. Moore LD, Le T, Fan G. DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology*. 2013;38(1):23–38. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>
38. Green AL, Eid A, Zhan L, Zarbl H, Guo GL, Richardson JR. Epigenetic Regulation of the Ontogenic Expression of the Dopamine Transporter. *Frontiers in Genetics*. 2019;10:1099. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.01099>
39. Song H, Chen J, Huang J, Sun P, Liu Y, Xu L, et al. Epigenetic Modification in Parkinson's Disease. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2023;11:1123621. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1123621>
40. Jiang X, Liu B, Nie Z, Duan L, Xiong Q, Jin Z, et al. The Role of M6a Modification in the Biological Functions and Diseases. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021;6(1):74. <https://doi.org/10.1038/s41392-020-00450-x>
41. Yankova E, Blackaby W, Albertella M, Rak J, De Braekeleer E, Tsagkogeorga G, et al. Small-Molecule Inhibition of METTL3 as a Strategy against Myeloid Leukaemia. *Nature*. 2021;593:597–601. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03536-w>
42. Li Y, Gan Y, Liu J, Li J, Zhou Z, Tian R, et al. Downregulation of MEIS1 Mediated by ELFN1-AS1/EZH2/DNMT3a Axis Promotes Tumorigenesis and Oxaliplatin Resistance in Colorectal Cancer. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2022;7(1):87. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-00902-6>
43. Ng J, Barral S, De La Fuente Barrigon C, Lignani G, Erdem FA, Wallings R, et al. Gene Therapy Restores Dopamine Transporter Expression and Ameliorates Pathology in iPSC and Mouse Models of Infantile Parkinsonism. *Science Translational Medicine*. 2021;13(594):eaaw1564. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaw1564>
44. Illiano P, Bass CE, Fichera L, Mus L, Budygin EA, Sotnikova TD, et al. Recombinant Adeno-Associated Virus-Mediated Rescue of Function in a Mouse Model of Dopamine Transporter Deficiency Syndrome. *Scientific Reports*. 2017;7:46280. <https://doi.org/10.1038/srep46280>
45. Ng J, Barral S, Waddington SN, Kurian MA. Gene Therapy for Dopamine Dyshomeostasis: From Parkinson's to Primary Neurotransmitter Diseases. *Movement Disorders*. 2023;38(6):924–936. <https://doi.org/10.1002/mds.29416>
46. Escors D, Breckpot K. Lentiviral Vectors in Gene Therapy: Their Current Status and Future Potential. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*. 2010;58(2):107–119. <https://doi.org/10.1007/s00005-010-0063-4>
47. Xu L, Yao S, Ding YE, Xie M, Feng D, Sha P. Designing and Optimizing AAV-Mediated Gene Therapy for Neurodegenerative Diseases: From Bench to Bedside. *Journal of Translational Medicine*. 2024;22(1):866. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-05661-2>
48. Wang Y, Mu S, Liu F. Viral Vectors in Neurodegenerative Diseases: Immune Responses and Therapeutic Applications. *Frontiers in Neurology*. 2025;16:1603125. <https://doi.org/10.3389/fneur.2025.1603125>
49. Belskaya A, Kurzina N, Savchenko A, Sukhanov I, Gromova A, Gainetdinov RR. Rats Lacking the Dopamine Transporter Display Inflexibility in Innate and Learned Behavior. *Biomedicines*. 2024;12(6):1270. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12061270>

Об авторах:

Альберт Рузилевич Хакимов, младший научный сотрудник научно-исследовательского отдела морфологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» (450075, Российская Федерация, г. Уфа, ул. Р. Зорге, д. 67/1), [SPIN-код](#), [ORCID](#), shershakov2015a@mail.ru

Анна Ивановна Лебедева, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий научно-исследовательского отдела морфологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии» (450075, Российская Федерация, г. Уфа, ул. Р. Зорге, д. 67/1), [SPIN-код](#), [ORCID](#), jeol02@mail.ru

Ляля Ахияровна Мусина, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского отдела морфологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России «Всероссийский центр глазной и пластической хирургии», (450075, Российская Федерация, г. Уфа, ул. Р. Зорге, д. 67/1), [SPIN-код](#), [ORCID](#), morphoplant@mail.ru

Зухра Рашидовна Хисматуллина, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии, биотехнологии и физиологии Уфимского университета науки и технологий (450008, российская Федерация, г. Уфа, ул. Заки Валиди, д. 32) , [SPIN-код](#), [ORCID](#), hismatullinazr@mail.ru

Заявленный вклад авторов:

А.Р. Хакимов: сбор и анализ данных литературы, написание текста рукописи.

А.И. Лебедева: редактирование текста рукописи, утверждение окончательного варианта статьи.

Л.А. Мусина: анализ полученных данных, редактирование текста рукописи.

З.Р. Хисматуллина: идея, редактирование текста рукописи.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

About the Authors:

Albert R. Khakimov, Junior Research Associate of the Morphology Research Department, Russian Eye and Plastic Surgery Center of Bashkir State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (67/1, R. Zorge Str., Ufa, 450075, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), shershakov2015a@mail.ru

Anna I. Lebedeva, Dr.Sci. (Biology), Lead Research Associate, Head of the Morphology Research Department, Russian Eye and Plastic Surgery Center of Bashkir State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (67/1, R. Zorge Str., Ufa, 450075, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), jeol02@mail.ru

Lyalya A. Musina, Dr.Sci. (Biology), Lead Research Associate of the Morphology Research Department, Russian Eye and Plastic Surgery Center of Bashkir State Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation (67/1, R. Zorge Str., Ufa, 450075, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), morphoplant@mail.ru

Zukhra R. Khismatullina, Dr.Sci.(Biology), Professor of the Department of Biochemistry, Biotechnology and Physiology, Ufa University of Science and Technology (32, Zaki Validi Str., Ufa, 450008, Russian Federation), [SPIN-code](#), [ORCID](#), hismatullinazr@mail.ru

Claimed Contributorship:

AR Khakimov: collecting and analyzing data from literary sources, writing the manuscript

AI Lebedeva: editing the manuscript, validating the final version of the article.

LA Musina: analysis of the obtained data, editing the manuscript.

ZR Khismatullina: formulating the idea of the article, editing the manuscript.

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

All authors have read and approved the final manuscript.

Поступила в редакцию / Received 10.02.2026

Поступила после рецензирования / Reviewed 03.03.2026

Принята к публикации / Accepted 09.03.2026

ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY



УДК 619:616-089.5-092.4

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-25-33>


Оптимизация методов контроля общей анестезии лабораторных животных при разработке и экспериментальном изучении ветеринарных препаратов

С.К. Шебеко  

Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

✉ shebeko_sk@mail.ru

EDN: RCHCEF

Аннотация

Введение. Общая анестезия животных является важным элементом экспериментальных исследований при разработке и изучении новых ветеринарных препаратов. В силу своей специфики, необходимости применения сильнотойствующих седативных и гипнотических средств, анестезия всегда представляет собой риск для лабораторных животных. В настоящее время в ветеринарных исследованиях остро стоит проблема грамотного анестезиологического сопровождения, особенно при работе с лабораторными грызунами. Цель данного исследования — разработка и оптимизация методов лабораторного контроля общей анестезии животных при проведении экспериментальных исследований новых ветеринарных препаратов.

Материалы и методы. Исследование проведено на базе научно-исследовательской лаборатории Института живых систем ДГТУ в период с января по май 2024 г. В эксперименте участвовало 20 крыс линии Wistar обоих полов массой 300–400 г, которых подвергали общей ингаляционной анестезии с использованием изофлурана и наркозного аппарата RWD R520. Протоколы лабораторного контроля разрабатывали на основе показателей электроэнцефалографии, электрокардиографии, частоты дыхания, артериального давления и температуры тела. Оценку состояния органов и систем животных проводили с помощью биохимических исследований крови, мочи и показателей выделительной функции животных.

Результаты исследования. В ходе исследований была сконструирована ингаляционная камера для крыс, подключаемая к наркозному аппарату, позволяющая проводить лабораторный контроль электрофизиологическими и функциональными методами в условиях ингаляционной анестезии. Апробация камеры при режиме подачи газа с концентрацией изофлурана 2,0 %, скоростью подачи 2,0 л/мин и отбора 8,0 л/мин, показала, что это оптимальный протокол осуществления общей анестезии у лабораторных крыс. Данные электрофизиологических, биохимических и функциональных параметров свидетельствовали о хорошей переносимости использованного анестезиологического протокола.

Обсуждение и заключение. Предложенная авторская разработка оптимизирует лабораторный контроль животных при проведении общей анестезии, способствует повышению качества результатов экспериментальных исследований, облегчает работу ученых-исследователей и может быть использована при разработке новых ветеринарных препаратов.


Ключевые слова: общая анестезия, лабораторный контроль, экспериментальные исследования, лабораторные крысы, ингаляционный наркоз, ингаляционная камера, электрофизиологические параметры

Для цитирования. Шебеко С.К. Оптимизация методов контроля общей анестезии лабораторных животных при разработке и экспериментальном изучении ветеринарных препаратов. *Ветеринарная патология.* 2026;25(2):25–33. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-25-33>

Optimization of General Anesthesia Monitoring Methods Used in Laboratory Animals during Development and Experimental Study of Veterinary Drugs

Sergei K. Shebeko  

Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

 shebeko_sk@mail.ru

Abstract

Introduction. Giving general anesthesia to animals is an important element of experimental research during the development and study of new veterinary drugs. Due to specific nature of general anesthesia and the need to use the potent sedatives and hypnotics, it has always been posing a risk to laboratory animals. In the frame of present-day veterinary research, the problem of proficient monitoring of anesthesia is extremely relevant, especially with regard to research involving laboratory rodents. The aim of the study is to develop and optimize laboratory monitoring methods of general anesthesia in animals during experimental studies of new veterinary drugs.

Materials and Methods. The study was conducted at the research laboratory of the Institute of Living Systems, DSTU, from January to May 2024. The experiment involved 20 Wistar rats of both sexes weighing 300–400 g that were subjected to inhalation anesthesia with isoflurane, using an RWD R520 anesthesia machine. The laboratory monitoring protocols were developed based on the electroencephalography (EEG), electrocardiography (ECG), respiratory rate, blood pressure, and body temperature parameters. The condition of animal organs and systems was assessed by means of biochemical blood and urine tests, as well as excretory function tests.

Results. An inhalation chamber connected to an anesthesia machine was designed for the study in rats. It allowed laboratory monitoring of animals' condition during inhalation anesthesia by electrophysiological and functional methods. A trial mode of the chamber using 2.0% isoflurane gas supply, at a flow rate of 2.0 l/min, and a withdrawal rate of 8.0 l/min had proved to be the optimal protocol for administering general anesthesia to laboratory rats. Electrophysiological, biochemical, and functional parameters demonstrated high tolerability of the anesthesia protocol used.

Discussion and Conclusion. The development proposed by the authors optimizes laboratory monitoring in animals during general anesthesia, contributes to improvement of quality of experimental research results, facilitates the work of researchers, and can be used during the development of new veterinary drugs.

Key words: general anesthesia, laboratory monitoring, experimental studies, laboratory rats, inhalation anesthesia, inhalation chamber, electrophysiological parameters

For Citation. Shebeko SK. Optimization of General Anesthesia Monitoring Methods Used in Laboratory Animals during Development and Experimental Study of Veterinary Drugs. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2026;25(2):25–33. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-25-33>

Введение. Общая анестезия животных является неотъемлемым элементом не только ветеринарной практики, но и экспериментальных исследований лекарственных препаратов для ветеринарного применения. Лабораторный контроль в процессе осуществления анестезии является важным фактором ее успешного проведения [1]. Очевидно, что в силу своей специфики, необходимости применения сильнодействующих седативных и гипнотических средств, анестезия всегда представляет собой риск для лабораторных животных, особенно молодых, пожилых особей и животных с моделированными патологиями [2, 3, 4]. Осложнения в результате общей анестезии проявляются не только в виде ухудшения физиологических функций животного, состояния всех систем жизнеобеспечения, но и обострения патологического процесса, вплоть до летального исхода [5].

Согласно статистическим данным, плохая переносимость наркоза — весьма распространенное явление

в ветеринарной практике [6]. Низкое качество выздоровления после общей анестезии у собак наблюдается в 29,1 % случаев, при этом 55,5 % из них необходима седация для контроля поведения [7]. Смертность больных животных в результате анестезии превосходит в 3,6 раза данный показатель в общей популяции животных (4,80 % против 1,35 %) [2], при этом у больных собак вероятность остановки сердца в результате анестезии в 23 раза выше, а вероятность смерти — в 24,5 раза больше, чем у здоровых [8]. Особое значение у больных животных имеет послеоперационная смертность, которая, по некоторым данным, достигает 47 % у собак, 61 % у кошек и 64 % у кроликов. В общей популяции животных летальности после анестезии и седации в наибольшей степени подвержены именно кролики, у которых риск смерти больше в 8 раз, чем у собак (1,39 % против 0,17 %) [9].

В настоящее время остро стоит проблема грамотного анестезиологического сопровождения при работе с

животными, надлежащего обследования и выполнения рекомендаций, как в экспериментальных исследованиях, так и в ветеринарной медицине [10, 11]. Особенно значима эта проблема при работе с мелкими грызунами, являющимися основными тест-системами в медико-биологических исследованиях, из-за их небольшого размера и особенностей метаболизма [12]. Возможности отечественных ученых в области экспериментальных ветеринарных исследований имеют существенные ограничения, связанные с доступом к современным технологиям, лекарственным препаратам и оборудованию, особенно при проведении контроля общей анестезии лабораторных грызунов. Таким образом, научный интерес представляет совершенствование подходов к осуществлению общей анестезии и лабораторному контролю ее проведения в экспериментальной практике для повышения безопасности животных.

Цель исследования — разработка и оптимизация методов контроля общей анестезии лабораторных животных для повышения эффективности и безопасности экспериментальных исследований новых ветеринарных препаратов.

Материалы и методы. Исследование проведено на базе научно-исследовательской лаборатории «Фармакология и экспериментальная патология» Института живых систем ДГТУ (г. Ростов-на-Дону) в период с января по май 2024 г. В эксперименте было задействовано 20 крыс линии Wistar обоих полов массой 300–400 г. Все животные содержались на стандартном рационе при свободном доступе к воде согласно действующим санитарным нормам [13].

При выполнении исследований придерживались общих принципов биоэтики [14] и Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета ЕС «О защите животных, используемых в научных целях» (Брюссель, 2010) [15]. Все манипуляции, вызывающие боль и страдания, и выведение животных из опыта проводились с использованием адекватной анестезии и анальгезии [16]. Протокол исследования был рассмотрен Локальным независимым этическим комитетом ДГТУ (заключение № 4 от 09.10.2023 г.).

Общую анестезию животных осуществляли с помощью наркозного аппарата для животных RWD R520 (RWD Life Science, США) и изофлурана (Laboratories Karizoo, S.A., Испания).

С помощью кардиореспираторного комплекса для мелких лабораторных животных «КОКС-2» (Medical Computer Systems Ltd., РФ) проводили электрокардиографию (ЭКГ) миокарда, оценивали частоту сердечных сокращений (ЧСС) и частоту дыхания (ЧД) [17, 18]. Уровень артериального давления (АД) оценивали неинвазивным петизмометрическим методом [19] с помощью системы неинвазивного измерения кровяного давления грызунов «Систола» с подогревающей платфор-

мой «Флогистон» (ООО «Нейробиотикс», РФ). Интенсивность мозговой деятельности оценивали методом электроэнцефалографии (ЭЭГ) [20] с помощью компьютерного электроэнцефалографа для ветеринарии «Нейрон-Спектр-1В» (ООО «Нейрософт», РФ). Температуру (Т) тела животных оценивали с помощью ветеринарного ректального цифрового термометра Замер-1 в исполнении 2-ректальный (ООО «Замер», РФ). В ходе лабораторных наблюдений оценивали также pedalный, глотательный и зрачковый рефлексы у животных.

Для оценки функционального состояния органов и систем животных до и после анестезии проводили ряд биохимических исследований крови и мочи. Кровь получали из хвостовой вены в количестве до 0,5 мл за одно взятие. В нативной крови определяли концентрацию глюкозы с помощью глюкометра OneTouch Verio Reflect (LifeScan Europe GmbH, Швейцария). В сыворотке крови с помощью наборов «Диакон-ДС» и спектрофотометра SPECTROstar Nano (BMG Labtech, Германия) определяли содержание креатинина, активность аспаратаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ) [21]. Мочу получали с помощью обменных клеток («Открытая Наука», РФ) при длительности сбора 2 ч. В ней также определяли содержание креатинина, после чего рассчитывали скорость клубочковой фильтрации (СКФ) по клиренсу эндогенного креатинина [22].

Полученные результаты обрабатывали методами описательной статистики, проверяли на нормальность по критерию Шапиро-Уилка и представляли, как среднее арифметическое \pm стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Статистический анализ межгрупповых различий проводили методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки [23]. Вычисления производили с помощью программ IBM SPSS Statistics v. 22 (IBM Corp., США) и MS Excel 2016 (Microsoft Corp., США). Различия показателей считали статистически значимыми при уровне вероятности $p < 0,05$.

Результаты исследования. Общая ингаляционная анестезия по показателям эффективности и безопасности является наиболее предпочтительным подходом для экспериментальных исследований, поскольку позволяет полностью контролировать состояние животного с помощью сочетания двух основных параметров: концентрации ингаляционного анестетика и скорости подачи газовой смеси. Данный метод позволяет не только быстро ввести животное в гипнотическое состояние, но и мгновенно вывести, прекратив подачу газа, практически без негативных последствий. В связи с этим в представленной работе предложено усовершенствование методов лабораторного контроля именно для этого подхода.

Известно, что ингаляционные анестетики, особенно изофлуран, несут опасность для специалистов, постоянно контактирующих с ними в процессе работы [24]. Стандартные маски, входящие в комплектацию наркозного аппарата для животных RWD R520, не предполагают герметичности и характеризуются неизбежной утечкой газа. Для решения данной проблемы была сконструирована герметичная ингаляционная камера для крыс, которая позволяла использовать методы лабораторного контроля на основе съема электрофизиологических параметров. Объем камеры был рассчитан таким образом, чтобы обеспечить возможность установки ЭЭГ-электродов на поверхность головы животного и дыхательный датчик кардиореспираторного комплекса при минимальном рабочем объеме газовой смеси. При этом также сохранялась возможность установки ЭКГ-датчиков на туловище, манжеты для измерения артериального давления на хвост и ректального термометра в анальное отверстие животного. Реализация всех вышеперечисленных элементов контроля возможна только при использовании камеры, в которую помещается голова животного и свободной остается остальная часть тела, применение стандартных индукционных камер для ингаляционной анестезии с этой целью невозможно.

Камера была выполнена из прозрачного поликарбоната с наружными размерами 100×100×60 мм и внутренним объемом 500 см³ (рис. 1). Для подачи газовой смеси в камеру был использован штуцер стандарта DIN с внутренним диаметром 6 мм, а для отбора отработанного газа — штуцер стандарта 22М с внутренним диаметром 18 мм, которые располагались друг напротив друга, чтобы обеспечить однонаправленность газового потока, так чтобы в нем находились входные отверстия дыхательных органов животного. Соотношение сечения входящего и выходящего штуцеров 1:3

обеспечивало поток газовой смеси от точки ввода к точке отбора газа. На этапе конструирования и сборки ингаляционной камеры были использованы 6 особей.

Решением данной задачи также послужила не только сама конструкция камеры, способа ввода в нее верхней части тела животного, но и применение принудительного отбора газа из неё с помощью аппарата эвакуации газов и сменных газовых фильтров, входящих в комплектацию наркозного аппарата. Данные приспособления предназначены для поглощения и связывания излишков ингаляционного анестетика, тем самым обеспечивая безопасность работы. В текущем эксперименте применяли два эвакуационных аппарата RWD Life Science, имеющих функцию взвешивания газового фильтра: R546-Pro с принудительным отбором газа и R548 без него, с соответствующими газовыми фильтрами R510-31-6 и R510-31S-6.

В ходе общей анестезии животное подвергали воздействию изофлурана в индукционной камере, после чего укладывали на подогреваемый экспериментальный столик, фиксировали, помещали голову в ингаляционную камеру, накладывали ЭЭГ-электроды, устанавливали датчик дыхания, далее фиксировали ЭКГ-электроды, закрывали ингаляционную камеру и начинали подачу в нее газовой смеси (рис. 2). После этого хвост животного помещали на подогреваемый столик Флогистон, накладывали манжету для измерения АД и устанавливали ректальный термометр. В таком состоянии животное находилось в течение всей процедуры общей анестезии для осуществления лабораторного контроля, отработки данной методики и съема соответствующих физиологических показателей. Полученные данные подвергались анализу на предмет эффективности предложенных методов контроля и безопасности апробированного протокола общей анестезии.

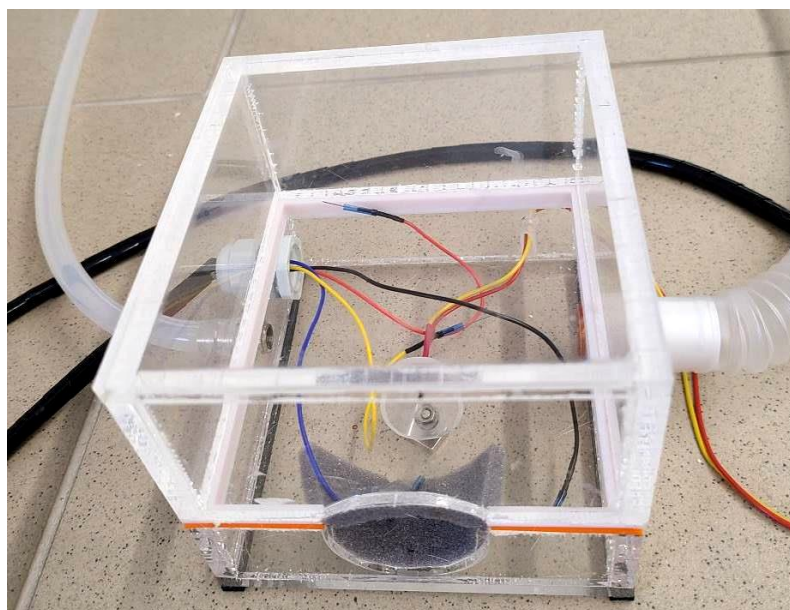


Рис. 1 Опытный образец ингаляционной камеры для проведения общей анестезии у крыс

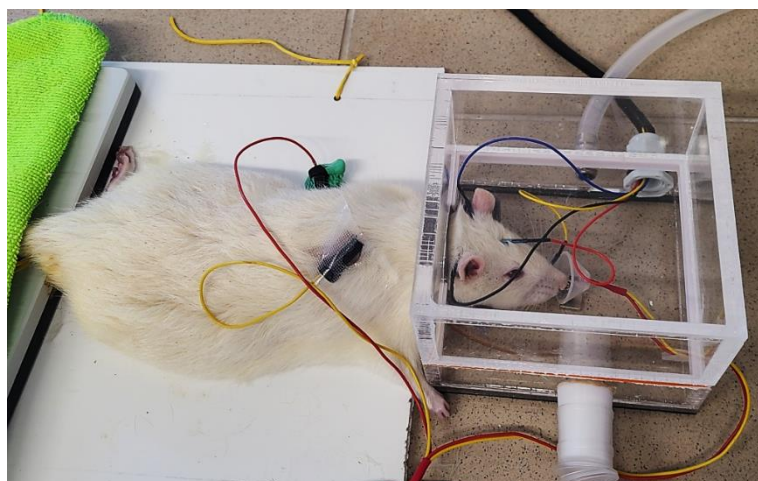


Рис. 2. Крыса Wistar под ингаляционным наркозом с применением разработанной ингаляционной камеры в контролируемом состоянии

В ходе выполнения исследования было применено два режима подачи наркоза — с использованием активного и пассивного отбора газов, при этом показатели концентрации и скорость подачи подбирались так, чтобы воздействие на животное было минимальным. В процессе подбора ориентировались на глубину наркоза крысы, определяя его стадии по состоянию животного, уровню рефлексов и физиологическим параметрам.

В результате было использовано два режима подачи газа:

1-й режим: концентрация изофлурана 2,0 %, скорость подачи 2,0 л/мин, скорость отбора 8,0 л/мин;

2-й режим: концентрация изофлурана 1,5 %, скорость подачи 2,0 л/мин, без принудительного отбора газа.

В соответствии с этими режимами было сформировано 2 группы животных по 7 голов, которые были подвергнуты воздействию общей анестезии с оценкой методов лабораторного контроля на основании снятых физиологических параметров.

В ходе исследования у животных, находящихся под ингаляционным наркозом, постоянно фиксировали электроэнцефалограмму (рис. 3) и с помощью программного обеспечения рассчитывали показатели ЭЭГ (таблица 1).



Рис. 3 Пример электроэнцефалограммы крысы, находящейся в состоянии общей анестезии

Таблица 1

Показатели электроэнцефалограммы крысы в состоянии общей анестезии через 30 мин после индукции

Показатели ЭЭГ	1-я группа (n=7)	2-я группа (n=7)
Максимальная амплитуда, мкВ	130,2±13,7	112,7±11,0
Средняя амплитуда, мкВ	19,3±2,2	15,8±1,6
Дельта-ритм, мкВ	45,6±4,5	58,7±5,5
Тета-ритм, мкВ	33,5±3,5	37,2±4,0
Альфа-ритм, мкВ	31,4±3,2	20,3±2,7*
Бета-НЧ-ритм, мкВ	11,7±1,5	10,2±1,3
Бета-ВЧ-ритм, мкВ	10,7±1,2	5,9±1,0*

Примечание: * — отличия достоверны относительно животных 1-й группы (p<0,05).

Для анализа ЭЭГ использовали общие показатели максимальной и средней амплитуд, а также показатели средних амплитуд пяти основных ритмов: дельта-ритма с частотой 0,5-3,0 Гц, тета-ритма (4,0-6,0 Гц), альфа-ритма (8,0-13,0 Гц), низких частот бета-диапазона (13,0-18,0 Гц) и высоких частот бета-диапазона (18,0-32,0 Гц) [20]. Анализ амплитуд спектров позволяет определить превалирующий тип ритма ЭЭГ и на основании этого сделать вывод о степени погружения животного в наркоз, ослаблении гипнотического действия анестетиков, или наоборот, избыточной глубине анестезии с опасностью летального исхода, а также зафиксировать момент развития агонального состояния или клинической смерти.

Результаты, представленные в таблице 1, свидетельствуют о большей глубине наркоза у крыс, получавших анестезию при 2-м режиме подачи газовой смеси, по сравнению с первой группой. Это подтверждается недостоверным снижением максимальной и средней амплитуд ЭЭГ, повышением превалирования дельта-ритма ($p > 0,05$) и достоверным снижением амплитуд альфа- и бета-ритма высоких частот ($p < 0,05$).

Кроме того, при проведении общей анестезии у крыс снимали кардиореспираторные параметры (рис. 4), а также

показатели АД и температуры тела через 10 мин после индукции анестезии и через 30 мин — перед завершением эксперимента. Данные представлены в таблице 2.

Полученные результаты свидетельствуют, что при воздействии на животных общей анестезии при 2-м исследуемом режиме наблюдается достоверное снижение ЧСС на 18,5 %, вольтажа зубца R в 1,6 раза, а также частоты дыхания на 20,7 % ($p < 0,05$). Данная картина говорит об угнетении функций сердечно-сосудистой и дыхательной систем, которое было более выраженным, чем в первой группе (таблица 2).

При этом во второй группе также наблюдалось достоверное снижение у животных систолического и среднего показателей АД на 16,7 % и 14,3 % соответственно ($p < 0,05$). К концу эксперимента у крыс в этой группе показатель температуры тела достоверно снижался до 33,1 °С, что было статистически меньше, чем у животных первой группы ($p < 0,05$). Это также свидетельствует о снижении функционального состояния сердечно-сосудистой системы, общем угнетении функций организма, что было более характерно для животных под 2-м режимом общей анестезии, и коррелирует с предыдущими показателями.

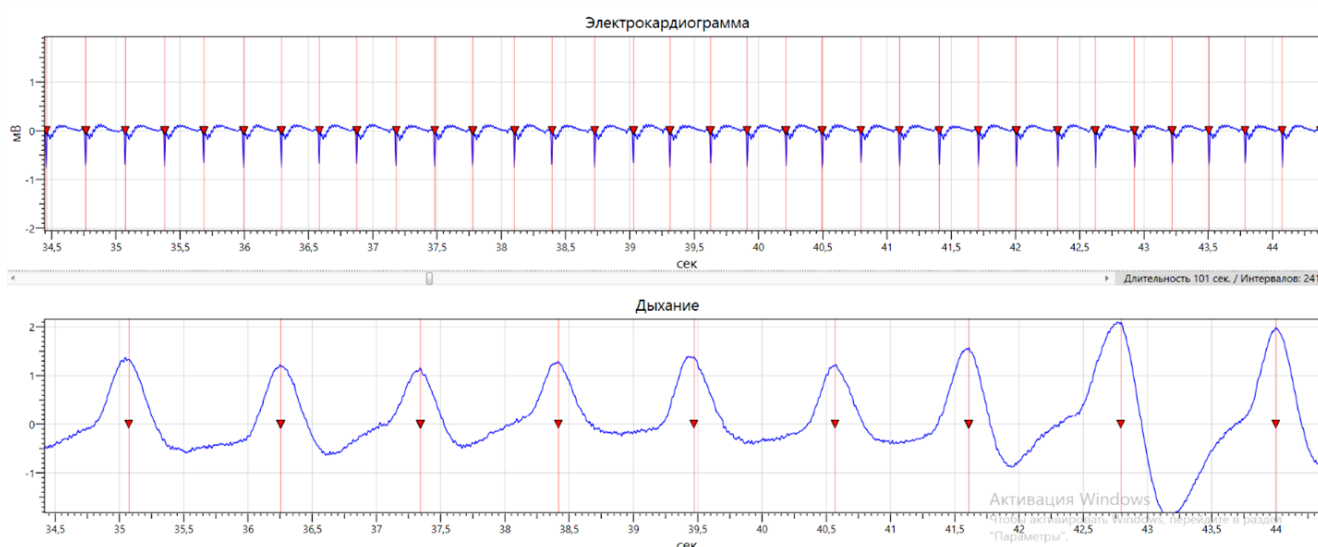


Рис. 4. Пример записи кардиореспираторных данных крысы, находящейся в состоянии общей анестезии

Таблица 2

Влияние исследуемых режимов ингаляционной анестезии на кардиореспираторные параметры и температуру крыс

Исследуемый показатель	1-я группа (n=7)		2-я группа (n=7)		
	10 мин	30 мин	10 мин	30 мин	
ЧСС, уд/мин	225±12	215±10	222±13	181±11*/**	
Вольтаж зубца R, мВ	0,85±0,03	0,78±0,05	0,80±0,05	0,52±0,07*/**	
ЧД, дв./мин	55±3	50±4	53±5	42±3*	
АД, мм рт. ст.	систолическое	121,2±4,4	115,1±3,5	119,7±3,8	99,4±2,3*/**
	диастолическое	78,1±2,8	75,6±2,5	79,2±3,0	71,3±3,3
	среднее	99,6±3,5	95,3±3,1	98,1±4,2	84,9±3,1*/**
T, °С	37,8±0,2	35,2±0,2*	37,5±0,3	33,1±0,5*/**	

Примечания: * — отличия достоверны относительно исходных данных ($p < 0,05$);

** — отличия достоверны относительно животных 1-й группы ($p < 0,05$).

Помимо этого, перед началом и после проведения анестезии у животных определяли ряд биохимических

параметров с оценкой функционального состояния почек, которые представлены в таблице 3.

Таблица 3

Биохимические параметры и функциональные показатели почек крыс под воздействием общей анестезии

Исследуемый показатель	1-я группа (n=7)		2-я группа (n=7)	
	до анестезии	после анестезии	до анестезии	после анестезии
Глюкоза крови, ммоль/л	4,61±0,18	4,24±0,17	4,80±0,19	3,76±0,19*/**
Креатинин крови, мкмоль/л	45,65±3,17	39,04±2,68	42,15±2,89	55,56±3,86*/**
АсАТ, мккат/л	0,75±0,02	0,71±0,02	0,69±0,07	0,78±0,05
АлАТ, мккат/л	0,36±0,02	0,38±0,01	0,40±0,03	0,66±0,02*/**
Креатинин мочи, ммоль/л	2,64±0,37	2,11±0,18	2,26±0,18	3,54±0,32*
СКФ, мл/сут	410,4±28,5	380,5±18,6	389,4±14,3	315,6±8,2*/**

Примечания: * — отличия достоверны относительно исходных данных ($p < 0,05$);

** — отличия достоверны относительно животных 1-й группы ($p < 0,05$).

Полученные данные показывают, что под воздействием общей анестезии при 1-м режиме подачи газовой смеси у животных не наблюдается статистически достоверной динамики основных биохимических показателей крови и функциональных показателей почек. Наблюдаются только отдельные тенденционные изменения. Это говорит о хорошем состоянии органов и систем, таких как печень, сердце и мочевыделительная система, после перенесенной общей анестезии. Данная картина свидетельствует о хорошей переносимости использованного анестезиологического протокола.

В то же время, при использовании 2-го режима введения газовой смеси наблюдалось достоверное снижение уровня гликемии на 21,7 % ($p < 0,05$), повышение активности АлАТ в 1,7 раза ($p < 0,05$), увеличение креатинина крови на 31,8 % ($p < 0,05$), мочи — в 1,6 раза ($p < 0,05$) и соответствующее падение уровня СКФ на 18,8 % ($p < 0,05$). Все вышеизложенное говорит о поражении ряда органов и систем животных в результате проведения общей анестезии. Прежде всего, стоит отметить угнетение почечной функции, о чем свидетельствует показатель СКФ. А также активацию процессов цитолиза, что может возникнуть вследствие поражения печени под воздействием ингаляционного анестетика. Падение гликемии также укладывается в общую картину и свидетельствует об истощении животных в процессе проведения наркоза.

Данная картина коррелирует с результатами лабораторных наблюдений. Животные находились в очень глубокой стадии наркоза (ориентировочно 3-4), наблюдалось выраженное угнетение дыхания, которое становилось редким и глубоким, и сердечно-сосудистой функции. Показатели ЭЭГ также находились в угнетенном состоянии. В целом это свидетельствует о

плохой переносимости 2-го режима наркоза при выбранной длительности его применения. Такое воздействие изофлурана может быть объяснено застоем газовой смеси в ингаляционной камере вследствие отсутствия принудительного отбора газа, снижением в ней содержания воздуха и, как следствие, парциального давления кислорода, что в итоге привело к глубокой гипоксии животных и, как следствие, к ухудшению резистентности органов и тканей к условиям данного анестезиологического режима.

Обсуждение и заключение. Полученные результаты демонстрируют высокую эффективность разработанного приспособления — ингаляционной камеры для крыс, подключаемой к наркозному аппарату, — для лабораторного контроля животных в процессе проведения общей анестезии ингаляционным методом. Анализ результатов говорит о выраженной корреляции электрофизиологических, функциональных и биохимических показателей животных, которые в комплексе дают возможность осуществить разностороннюю оценку безопасности анестезиологического протокола.

Таким образом, предложенная ингаляционная камера позволяет осуществлять контроль проведения общей анестезии с помощью электрофизиологических методов, которые являются объективными, чувствительными, высокоинформативными и хорошо коррелируют с результатами биохимических и функциональных исследований животных. Данный подход перспективен для внедрения в практику экспериментального изучения лекарственных препаратов для ветеринарного применения, может способствовать повышению качества результатов научно-исследовательской работы и облегчению задач исследователей.

Список литературы / References

1. Бетшарт-Вольфенсбергер Р., Стекольников А.А., Племяшов К.В., Нечаев А.Ю. *Общая анестезия и эвтаназия в ветеринарии: учебное пособие*. Санкт Петербург: Проспект Науки, 2024. 376 с.
Betshart-Wolfensberger R, Stekolnikov AA, Plemyashov KV, Nechaev AYU. *General Anesthesia and Euthanasia In Veterinary Medicine: A Textbook*. Saint Petersburg: Prospect Nauki; 2024. 376 p. (In Russ.).
2. Bille C, Auvigne V, Bomassi E, Durieux P, Libermann S, Rattiez E. An Evidence-Based Medicine Approach to Small Animal Anaesthetic Mortality in a Referral Practice: The Influence of Initiating three Recommendations on Subsequent Anaesthetic Deaths. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 2014;41(3):249–258. <https://doi.org/10.1111/vaa.12116>
3. Baetge CL, Matthews NS. Anesthesia and Analgesia for Geriatric Veterinary Patients. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 2012;42(4):643–653. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2012.05.001>
4. Bille C, Auvigne V, Libermann S, Bomassi E, Durieux P, Rattiez E. Risk of Anaesthetic Mortality in Dogs and Cats: An Observational Cohort Study of 3546 Cases. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 2012;39(1):59–68. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2995.2011.00686.x>
5. Grubb T, Sager J, Gaynor JS, Montgomery E, Parker JA, Shafford H, Tearney C. 2020 AAHA Anesthesia and Monitoring Guidelines for Dogs and Cats. *Journal of American Animal Hospital Association*. 2020;56(2):59–82. <https://doi.org/10.5326/jaaha-ms-7055>
6. Pinho RH, Nasr-Esfahani M, Pang DSJ. Medication Errors in Veterinary Anesthesia: A Literature Review. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 2024;51(3):203–226. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2024.01.003>
7. Jones H, Robson K, Maddox T, Alderson B. Incidence of and Risk Factors for Poor Recovery Quality in Dogs Recovering from General Anaesthesia-A Prospective Case Control Study. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 2024;51(3):227–234. <https://doi.org/10.1016/j.vaa.2023.12.002>
8. Varkoulis K, Savvas I, Anagnostou T, Kazakos G, Pavlidou K. A Retrospective Study on Canine and Feline Mortality during Anaesthesia at a University Clinic in Greece. *Animals*. 2023;13(15):2486. <https://doi.org/10.3390/ani13152486>
9. Brodbelt DC, Blissitt KJ, Hammond RA, Neath PJ, Young LE, Pfeiffer DU, Pfeiffer DU. The Risk of Death: The Confidential Enquiry into Perioperative Small Animal Fatalities. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*. 2008;35(5):365–373. <https://doi.org/10.1111/j.1467-2995.2008.00397.x>
10. Reiser K, Schroers M, Reese S, Meyer-Lindenberg A. Gängige veterinärmedizinische Praxis in der Kleintieranästhesie – eine Onlineumfrage unter Kleintierpraktikern in Europa [Common Veterinary Practice in Small Animal Anesthesia — An Online Survey among Small Animal Practitioners in Europe]. *Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere Heimtiere*. 2021;49(5):325–334. <https://doi.org/10.1055/a-1543-5167>
11. Truchetti G, Otis C, Brisville AC, Beauchamp G, Pang D, Troncy E. Management of Veterinary Anesthesia in Small Animals: A Survey of Current Practice in Quebec. *PLoS One*. 2020;15(1):e0227204. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227204>
12. Bennett K, Lewis K. Sedation and Anesthesia in Rodents. *Veterinary Clinics of North America Exotic Animal Practice*. 2022;25(1):211–255. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2021.08.013>
13. ГОСТ 33216-2014. *Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами*. Издание официальное. Москва: Стандартинформ; 2016. 16 с.
GOST 33216-2014. *Guidelines for the Care and Maintenance of Laboratory Animals. Rules for the Care and Maintenance of Laboratory Rodents and Rabbits*. Official Edition. Moscow: Standartinform; 2016. 16 p. (In Russ.).
14. Kalkan KK, Kekecoglu M. Ethical Principles and Rules in Experimental Animal Studies: A Comprehensive Review. *Duzce Medical Journal*. 2024;26(S1):1–13. <https://doi.org/10.18678/dtfd.1497730>
15. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the Protection of Animals Used for Scientific Purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010; Document 32010L0063. URL: <https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>
16. Flecknell P. *Laboratory Animal Anesthesia*. 4th Ed. London: Academic Press, 2015. 350p.
17. Лычева Н.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Рыбакова А.В. Влияние различных видов анестезии на параметры электрокардиограммы у крыс. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2018;2:16–23. <https://10.29296/2618723X-2018-02-02>
- Lycheva NA, Makarova MN, Makarov VG, Rybakova AV. Effect of Different Species of Anesthesia on Electrocardiogram Parameters in Rats. *Laboratory Animals for Science*. 2018;2:16–23. (In Russ.). <https://10.29296/2618723X-2018-02-02>
18. Caracciolo SF, Bertran GC, Arini PD. Electrocardiography in Wistar Rat Experimental Model: Analysis and Characterization. *Sistema Nacional de Repositorios Digitales*. 2018. URL: https://repositoriosdigitales.mincyt.gov.ar/vufind/Record/CONICETDig_3359662e317b0cc411c85e6d4108a7da

19. Allen PS, Dell'Italia LJ, Esvelt M, Conte ML, Cadillac JM, Myers DD. Cardiovascular Research. In: Suckow MA, Hankenson FC, Wilson RP, Foley PL (Eds). *The Laboratory Rat*. 3rd Ed: Elsevier; 2020. P. 927–965. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814338-4.00025-8>
20. Каркищенко Н.Н., Грачев С.В. *Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях*. Москва; 2010. 344 с.
Karkischenko NN, Grachev SV. *Handbook on Laboratory Animals and Alternative Models in Biomedical Technologies*. Moscow; 2010. 344 p. (In Russ.).
21. Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 8th Ed. St. Louis: Elsevier Health Science; 2019. 1062 p.
22. Koeppen BM, Stanton BA. *Renal Physiology*. 6th Ed. Philadelphia: Elsevier; 2019. 248 p.
23. Islam MA, Al-Shiha A. *Foundations of Biostatistics*. Singapore: Springer; 2018. 474 p.
24. Pokhrel LR, Grady KD. Risk Assessment of Occupational Exposure to Anesthesia Isoflurane in the Hospital and Veterinary Settings. *Science of the Total Environment*. 2021;783:146894. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146894>

Об авторе:

Сергей Константинович Шебеко, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой «Биотехнические и медицинские системы и технологии» Донского государственного технического университета (344003, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1), [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9142-1000), shebeko_sk@mail.ru

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор прочитал и одобрил окончательный вариант рукописи.

About the Author:

Sergei K. Shebeko, Dr.Sci.(Pharmacy), Professor, Head of the Department of Biotechnical and Medical Systems and Technologies, Don State Technical University (1, Gagarin Square, Rostov-on-Don, 344003, Russian Federation), [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9142-1000), shebeko_sk@mail.ru

Conflict of Interest Statement: the author declares no conflict of interest.

The author has read and approved the final manuscript.

Поступила в редакцию / Received 28.04.2026

Поступила после рецензирования / Reviewed 25.05.2026

Принята к публикации / Accepted 28.05.2026

ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY



УДК 619:616.11:636.7

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-34-43>

Клинико-эхокардиографические и цитологические характеристики патологий перикарда собак, сопровождающихся перикардальным выпотом

 К.В. Кокуленко¹✉, А.В. Гончарова² , В.К. Илларионова^{1,2} , В.А. Костылев² 
¹Ветеринарный онкологический научный центр «Биоконтроль», г. Москва, Российская Федерация²Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина, г. Москва, Российская Федерация✉ magnet.ru@mail.ru

EDN: OWJQGS

Аннотация

Введение. Большинство болезней перикарда сопровождаются патологическим скоплением жидкости в перикардальной полости (выпот), а также тампонадой сердца. Для диагностики подобных состояний широко используют методы физикального обследования в сочетании с трансторакальной эхокардиографией. Важной задачей ветеринарных специалистов является определение характерных симптомов, а также специфических эхокардиографических признаков тампонады сердца как состояния, угрожающего жизни. Цитологическое исследование перикардальной жидкости является неотъемлемой частью диагностического поиска причин выпота. Комплексный подход к диагностике определяет эффективную тактику лечения пациента. В существующих исследованиях остаются мало раскрытыми клинико-эхокардиографические взаимосвязи, позволяющие диагностировать тяжесть течения и прогноз заболевания, а также недостаточно освещены цитологические характеристики выпотов, определяющие их причины. Цель исследования — установить клинико-эхокардиографические и цитологические взаимосвязи у собак с патологиями перикарда, сопровождающимися перикардальным выпотом.

Материалы и методы. Исследование проведено на кафедре ветеринарной хирургии ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», а также на базе ветеринарного научного центра «Биоконтроль» в период с 2018 по 2023 г. Объектом исследования послужили собаки различных пород, возраста и пола (n=200). Методика обследования включала: сбор анамнеза, клинический осмотр, эхокардиографию, электрокардиографию, рентгенографию грудной клетки, ультразвуковую визуализацию свободной жидкости в грудной и брюшной полостях, перикардиоцентез, цитологическое исследование выпота, гистологическое исследование патологического материала, полученного в ходе хирургического вмешательства.

Результаты исследования. У всех исследуемых собак с перикардальным выпотом на эхокардиографии выявлено кольцевидное анэхогенное пространство (ободок) разного диаметра вокруг сердца. Из 200 пациентов у 64 животных (32,0 %) зарегистрирована тампонада сердца и выполнен перикардиоцентез. Цитологическое исследование полученной жидкости для дальнейшей диагностики причины перикардального выпота выполнено у 61 пациента. По цитоморфологическому характеру выявлены следующие виды выпота: транссудат (1,6 %), модифицированный транссудат (4,9 %), септический экссудат (1,6 %), геморрагический (который, в свою очередь, разделялся на выпот, соответствующий: острому кровотечению (4,9 %), хроническому кровотечению (77,0 %), геморрагический выпот с цитологическими признаками опухоли (9,8 %)).

Обсуждение и заключение. При наличии перикардального выпота важное клиническое значение имеет распознавание синдрома тампонады сердца. Нами установлены самые распространённые эхокардиографические признаки тампонады: расширение и снижение амплитуды спадения каудальной полой вены менее 50 % и коллапс стенки правого предсердия. Выявлена взаимосвязь между клиническими симптомами (увеличение объема живота в результате накопления асцитной жидкости, прогрессирующая слабость и снижение переносимости нагрузок) и эхокардиографическими признаками тампонады сердца. По результатам цитологического исследования

самым распространенным видом перикардального выпота явился геморрагический, сопровождавший опухоли сердца и перикарда у собак старшей возрастной группы средних и крупных пород.

Ключевые слова: собаки, перикардальный выпот, тампонада сердца, перикардальная полость, эхокардиография, цитологическое исследование жидкости

Для цитирования: Кокуленко К.В., Гончарова А.В., Илларионова В.К., Костылев В.А. Клинико-эхокардиографические и цитологические характеристики патологий перикарда собак, сопровождающихся перикардальным выпотом. *Ветеринарная патология*. 2026;25(2):34–43. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-34-43>

Original Empirical Research

Clinical, Echocardiographic and Cytological Characteristics of Pericardial Pathologies Accompanied by Pericardial Effusion in Dogs

Kira V. Kokulenko¹ ✉, Anna V. Goncharova² , Vladislava K. Illarionova^{1,2} , Vladislav A. Kostylev² 

¹Veterinary Oncological Research Center “Biocontrol”, Moscow, Russian Federation

²Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA Named after K. I. Skryabin, Moscow, Russian Federation

✉ magnet.ru@mail.ru

Abstract

Introduction. The majority of pericardial diseases are accompanied by pathological accumulation of fluid in the pericardial cavity (effusion), as well as cardiac tamponade. Physical examination methods combined with transthoracic echocardiography are widely used to diagnose these conditions. An important task for veterinary specialists is to determine characteristic symptoms and specific echocardiographic signs of cardiac tamponade, which is considered to be a life-threatening condition. Cytological examination of pericardial fluid is an integral part in diagnosing the cause of the effusion. A comprehensive approach to diagnosis underpins the efficiency of treatment strategies. The existing studies poorly reveal the relationships between the clinical symptoms and echocardiographic signs, which could enable the diagnosis of disease severity and its prognosis, neither do they fully elucidate the cytological characteristics of effusions that could indicate the causes of effusion occurrence. The aim of the study is to establish the clinical, echocardiographic, and cytological relationships in dogs with pericardial pathologies accompanied by pericardial effusion.

Materials and Methods. The study was conducted at the Department of Veterinary Surgery of Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named after K. I. Skryabin and at the Veterinary Research Center “Biocontrol” in the period from 2018 to 2023. The objects under study were dogs of various breeds, ages, and sexes (n=200). The examination methodology included: collection of patient’s medical history, clinical examination, echocardiography, electrocardiography, chest radiography, ultrasonographic visualization of free fluid in the thoracic and abdominal cavities, pericardiocentesis, cytological examination of effusion, and histological examination of pathological material obtained during surgery.

Results. During the echocardiography, a ring-shaped anechoic space of varying diameter was revealed around the heart in all the studied dogs with pericardial effusion. Of 200 patients, cardiac tamponade was registered in 64 animals (32.0%), to whom pericardiocentesis was performed. For further determination of the causes of pericardial effusion, cytological examination of the obtained fluid was performed in 61 patients. According to cytomorphological characteristics, the following types of effusion were identified: transudate (1.6%), modified transudate (4.9%), septic exudate (1.6%), hemorrhagic effusion (which, in turn, was divided into effusion corresponding to: acute hemorrhage (4.9%), chronic hemorrhage (77.0%), hemorrhagic effusion with cytological signs of a tumor (9.8%)).

Discussion and Conclusion. In the presence of pericardial effusion, detection of the cardiac tamponade syndrome is of great clinical importance. We have established the most common echocardiographic signs of tamponade: caudal vena cava dilation and reduction of its collapsibility amplitude to less than 50%, as well as right atrial collapse. A relationship between the clinical symptoms (abdomen volume increase due to accumulation of ascitic fluid, progressing weakness, and exercise tolerance decrease) and echocardiographic signs of cardiac tamponade was revealed. Based on cytological examination results, the hemorrhagic type of pericardial effusion was identified as the most common one, concomitant to cardiac and pericardial tumors in older dogs of medium and large breeds.

Keywords: dogs, pericardial effusion, cardiac tamponade, pericardial cavity, echocardiography, cytological examination of fluid

For Citation: Kokulenko KV, Goncharova AV, Illarionova VK, Kostylev VA. Clinical, Echocardiographic and Cytological Characteristics of Pericardial Pathologies Accompanied by Pericardial Effusion in Dogs. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2026;25(2):34–43. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-34-43>

Введение. Совершенствование диагностики заболеваний сердца у животных приобретает особую актуальность в связи с возросшим числом инцидентности патологий перикарда у собак разных пород и размеров. В последние годы достигнут значительный прогресс в диагностике заболеваний сердца у животных, в том числе сопровождающихся перикардальным выпотом, вызывающим компрессию камер сердца и нарушение гемодинамики. Такое состояние вызывает снижение наполнения и опорожнения сердца, провоцирует венозный застой и может привести к кардиогенному шоку и гибели пациента [1–3].

Среди диагностических исследований патологий перикарда, сопровождающихся перикардальным выпотом, выделяют такие как эхокардиография, электрокардиография, рентгенография, компьютерная томография, цитоморфологическое исследование выпота, гистологическое исследование перикарда и новообразований сердца и перикарда. Каждый из методов имеет свои преимущества и ограничения, но приоритетным исследованием первой линии диагностики является эхокардиография (ЭхоКГ) [2]. Данный метод визуальной диагностики характеризуется высокой информативностью, так как позволяет установить размеры и оценить функции сердца, наличие и объем перикардального выпота, присутствие внутрисердечных тромбов и кардиальных и перикардальных опухолей [3, 5, 6]. ЭхоКГ является ведущим методом динамического наблюдения за перикардальным выпотом в ходе консервативной терапии [7]. Важным преимуществом ЭхоКГ является неинвазивность и отсутствие необходимости седации животного.

Необходимым диагностическим методом, определяющим этиологию патологического процесса и тактику лечения пациента, является цитологический анализ перикардального выпота. В ряде случаев данное исследование является ключевым и уменьшает объем диагностических манипуляций у пациента.

В доступной отечественной и зарубежной литературе определен ряд ультразвуковых критериев для диагностики заболеваний перикарда собак, сопровождающихся выпотами, при этом остаются мало раскрытыми клинико-эхокардиографические взаимосвязи, позволяющие диагностировать тяжесть течения и прогноз заболевания, а также связь патологических находок с массой тела и возрастом пациента. Кроме того, недостаточно освещены цитологические характеристики выпотов, определяющие их причины. Цель данного исследования — установить клинико-эхокардиографические и цитологические взаимосвязи у собак с патологиями перикарда, сопровождающимися перикардальными выпотами.

Материалы и методы. Исследование проведено на кафедре ветеринарной хирургии ФГБОУ ВО «Москов-

ская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», а также на базе ветеринарного научного центра «Биоконтроль» в период с 2018 по 2023 г. Объектом исследования послужили половозрелые собаки (n=200) различных пород, возраста и пола. Так, среди пород встречались следующие: метисы (n=38), французские бульдоги (n=19), лабрадоры-ретриверы (n=12), чихуахуа (n=11), йоркширские терьеры (n=10), золотистые ретриверы (n=8), гладкошерстные таксы (n=6), американские стаффордширские терьеры (n=5), джек-рассел-терьеры (n=5), кане-корсо (n=5), немецкие овчарки (n=4), бульмастифы (n=4), бордосские доги (n=4), сибирские хаски (n=4), немецкие шпицы (n=3), стаффордширские бультерьеры (n=3), сиба-ину (n=2), среднеазиатские овчарки (n=2), русские спаниели (n=2), померанские шпицы (n=2), немецкие боксеры (n=2), китайские хохлатые (n=2), ка-де-бо (n=2), кавказские овчарки (n=2), доберманы (n=2), восточноевропейские овчарки (n=2), веймаранеры (n=2), бурбули (n=2), бернские зенненхунды (n=2), американские питбультерьеры (n=2), английские бульдоги (n=2), бивер-йоркширские терьеры (n=2). По одному животному встречались следующие породы: английский коккер-спаниель, аляскинский маламут, аргентинский дог, босерон, вест-хайленд-уайт терьер, далматин, ирландский сеттер, кеесхонд, маремма-абруцкая овчарка, миниатюрный пудель, московский той-терьер, мопс, неаполитанский мастиф, пойнтер, пти-брабансон, родезийский риджбек, русская гончая, русский той-терьер, самоедская лайка, скайтерьер, скотч-терьер, староанглийский бульдог, уиппет, фокстерьер, цвергпинчер, шарпей, ши-тцу, энтлебухер зенненхунд, японский хин (рис. 1).

Распределение животных по возрастным группам было следующим: 1 группа — от 1 до 5 лет (n=14), 2 группа — от 6 до 9 лет (n=71), 3 группа — от 10 до 15 лет (n=107), 4 группа — от 16 до 17 лет (n=8). Распределение животных по полу — 134 самца и 66 самок (таблица 1).

Для достоверной оценки структур сердца животных разделили на группы в зависимости от массы тела: 1 группа — до 10 кг (n=54), 2 группа — 10-25 кг (n=58), 3 группа — 26-45 кг (n=62), 4 группа — свыше 45 кг (n=26) (таблица 2).

Общее клиническое обследование собак выполняли по стандартной методике, включающей сбор анамнеза жизни, болезни и физикальное обследование. ЭхоКГ выполняли на ультразвуковых диагностических системах Philips Epiq 5 и Philips HD15 («Philips», США) с использованием фазированных датчиков частотой 1-5 МГц, 2-9 МГц и 4-12 МГц. Животных располагали в правом и левом латеральном положениях, для создания непосредственного контакта между датчиком и кожей выбривали шерсть, наносили 30 % изопропиловый

спирт и ультразвуковой гель. При обследовании проводили оценку структурно-функциональных характеристик сердца, наличие тромбов в сердечных камерах,

опухолей сердца, перикарда и грудной полости, утолщение перикарда и наличие свободной жидкости в перикардиальной полости.

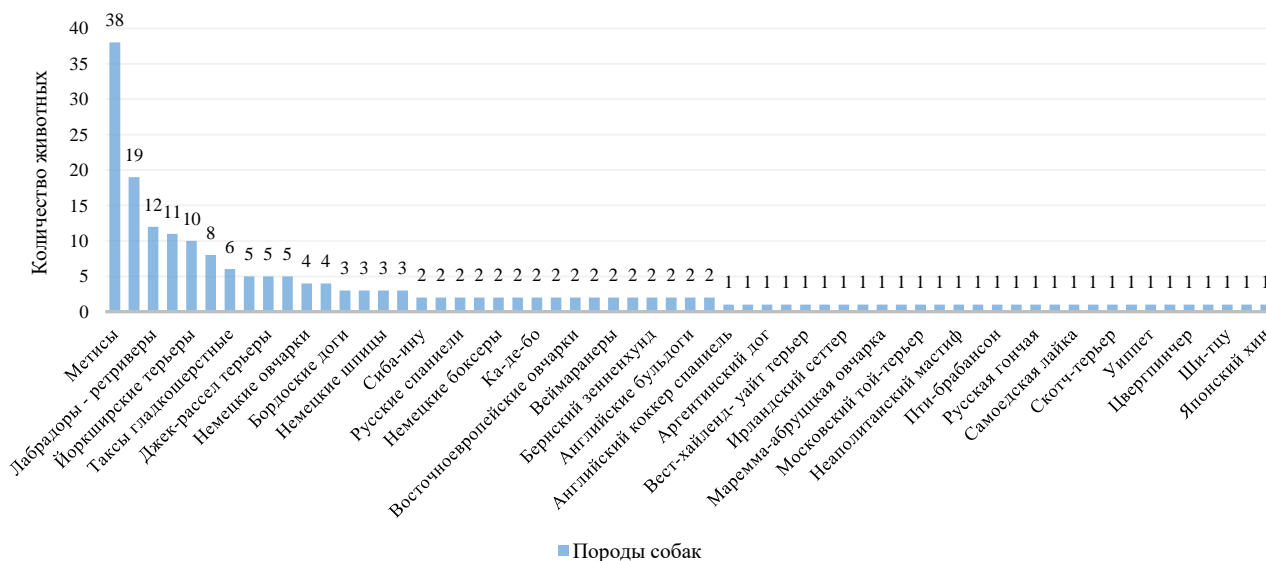


Рис. 1. Распределение собак с перикардиальным выпотом по породам

Таблица 1

Распределение собак с перикардиальным выпотом по возрасту и полу

Группа/возраст, годы	Абсолютное число, n	Относительное кол-во, %	Половая принадлежность			
			Самцы		Самки	
Группа 1 (1–5)	14	7,0				
Группа 2 (6–9)	71	35,5	n	%	n	%
			134	67	66	33
Группа 3 (10–15)	107	53,5				
Группа 4 (16–17)	8	4,0				
Всего	200	100	200	100	200	100

Таблица 2

Распределение собак с перикардиальным выпотом по массе тела

Группа/масса тела, кг	Абсолютное число, n	Относительное кол-во, %
Группа 1 (до 10)	54	27,0
Группа 2 (10–25)	58	29,0
Группа 3 (26–45)	62	31,0
Группа 4 (свыше 45)	26	13,0
Всего	200	100

С целью получения материала для цитологического исследования выполняли перикардиоцентез под ультразвуковым контролем в области 3–5 межреберья справа. Пациенту проводили общую анестезию (в/в пропофол в дозе 4–8 мг/кг) и располагали в положении лежа на левом боку. Для подготовки поля для манипуляции выбривали шерсть и обрабатывали кожу в области введения иглы 70 % раствором этилового спирта.

Цитологическое исследование перикардиального выпота проводили у 61 собаки. Для этого перикардиальную жидкость, полученную методом перикардиоцентеза, вводили в пробирку с ЭДТА. Для подсчета цитоза в камеру Горяева из пробирки отбирали 20 мкл

жидкости и смешивали с 380 мкл 3–5 % раствором уксусной кислоты, подкрашенным метиленовым синим. После этого пробирку с ЭДТА центрифугировали в течение 5 мин при скорости 2000 об/мин. Из осадка изготавливали прямые мазки с щеточным краем. Мазки окрашивали в течение 20–30 мин красителем по Романовскому. Готовые мазки исследовали при увеличении 100×, 200×, 1000× на микроскопе Olympus CX43 («Olympus», Япония).

Гистологическое исследование было выполнено у 23 пациентов. Собаки были с рецидивами тампонады сердца и накоплением перикардиального выпота два и более раз. Пациентам проводилась перикардэктомия с

последующим гистологическим исследованием образца перикарда и опухоли сердца, либо патологическое вскрытие с гистологическим исследованием в связи с эвтаназией. Из полученного биоптата, фиксированного в 10 % забуференном формалине, вырезали исследуемый участок (срез толщиной 3-5 мм). Полученный образец дегидратировали и пропитывали парафином в гистопротессоре Histo-Tek VP1 («Sakura Seiki Co., Ltd.», Япония). Далее подготавливали парафиновые блоки, из которых изготавливали серии срезов (толщиной 2-4 мкм) с помощью микротомы HistoCore Biocut (ротационный) («Leica Biosystems», Германия). Далее полученные препараты окрашивали для визуализации тканевых компонентов гематоксилином и эозином. Предварительно препараты подвергали депарафинизации (проводили последовательно через растворитель парафина (ксилол) и спирты нисходящей концентрации). После окрашивания готовые препараты просветляли в ксилоле и заключали под покровные стекла, используя монтирующую среду. Готовые гистологические препараты микроскопировали на Olympus CX43 при ув. 100×, 200×, 400×, 1000×.

Результаты исследования. По результатам сбора анамнеза и клинического обследования 200 пациентов с перикардиальным выпотом у 64 животных (32,0 %) была диагностирована тампонада сердца. В этой группе животных были определены один или несколько ведущих клинических признаков: увеличение объема живота в результате накопления асцитной жидкости (50,0 %), внезапная слабость/обморок (37,5 %), прогрессирующая слабость/снижение активности (62,5 %), одышка на фоне гидроторакса (32,8 %). Остальные пациенты имели неспецифические симптомы (таблица 3).

При физикальном обследовании собак с тампонадой сердца определен ряд характерных клинических признаков: бледность слизистых оболочек (15,6 %),

приглушение сердечных тонов (75,0 %), слабое наполнение пульсовой волны (35,9 %), аритмичный пульс (21,8 %), парадоксальный пульс (7,8 %) (таблица 4). Одна или несколько составляющих триады Бека — отеки шеи, подгрудка и периферические отеки — были зарегистрированы у 3 собак (1,5 %). Набухание яремных вен не было выявлено, что может быть связано со сложностью определения характерных признаков в связи с густым шерстным покровом пациентов. Из 64 пациентов с тампонадой сердца у 27 собак данные тонометрии были определены до проведения перикардиоцентеза. У 12 собак (42,0 %) выявили гипотензию со средним систолическим АД 80 мм рт. ст. и ниже.

У всех собак (n=200) с перикардиальным выпотом на ЭхоКГ было выявлено кольцевидное анэхогенное пространство (ободок) разного диаметра вокруг сердца. ЭхоКГ признаками тампонады сердца явились: коллапс стенки правого предсердия — у 42 собак (65,6 %), компрессия/коллабирование стенки правого желудочка в конце диастолы — у 20 собак (31,2 %), уменьшенные камеры сердца вследствие недостаточного заполнения их кровью — у 5 собак (7,8 %), парадоксальное движение межжелудочковой перегородки (МЖП) при дыхании — у 8 собак (12,5 %), дилатация и уменьшение амплитуды спадения каудальной полой вены (КПВ) менее 50 % на вдохе у 34 животных (53,1 %) (таблица 5).

Анализ данных позволил установить взаимосвязь между клиническими симптомами и структурно-функциональными параметрами сердца: из 34 собак с признаками дилатации и снижения амплитуды спадения КПВ менее чем на 50,0 % на вдохе по результатам ЭхоКГ у 29 пациентов был выявлен асцит, у 15 собак — прогрессирующая слабость, у 13 собак — одышка. Из 42 пациентов с коллапсом стенки правого предсердия у 22 собак наблюдался асцит, у 23 — прогрессирующая слабость, у 19 собак — одышка (таблица 6).

Таблица 3

Ведущие клинические признаки, сопровождающие тампонаду сердца

Симптомы	Абсолютное число, n	Относительное кол-во, %
Одышка на фоне гидроторакса	21	32,8
Резкая слабость/обморок/вынужденная поза	24	37,5
Нарастающая вялость/слабость/снижение активности	40	62,5
Увеличение объема живота (асцитная жидкость)	32	50,0

Таблица 4

Ведущие симптомы тампонады сердца, выявленные при физикальном осмотре (n=64)

Симптомы	Абсолютное число, n	Относительное кол-во, %
Бледность слизистых оболочек	10	15,6
Приглушение сердечных тонов	48	75,0
Слабое наполнение пульсовой волны	23	35,9
Парадоксальный пульс	5	7,8
Аритмичный пульс	14	21,8

Таблица 5

Эхокардиографические признаки тампонады сердца у исследуемых собак (n=64)

Эхокардиографический признак	Абсолютное число, n	Относительное кол-во, %
Коллапс стенки правого предсердия	42	65,6
Коллабирование стенки правого желудочка	20	31,2
Парадоксальное движение межжелудочковой перегородки	8	12,5
Уменьшенные левые камеры сердца (визуальная оценка)	5	7,8
Дилатация и слабое спадение КПВ (менее 50 %)	34	53,1

Перикардиоцентез был выполнен у 64 собак с тампонадой сердца, при этом цитологическое исследование полученной жидкости для дальнейшей диагностики было выполнено у 61 пациента. По цитоморфологическому характеру были выявлены следующие виды выпота: трансудат (1,6 %), модифицированный

трансудат (4,9 %), септический экссудат (1,6 %), геморрагический выпот, который в свою очередь разделялся на выпот, соответствующий: острому кровотечению (4,9 %), хроническому кровотечению (77 %) и геморрагический выпот с цитологическими признаками опухоли (9,8 %) (таблица 7).

Таблица 6

Связь клинических признаков и данных ЭхоКГ (n=64)

Симптомы	ЭхоКГ-признак				
	Дилатация/слабое спадение КПВ	Коллапс стенки правого предсердия	Коллабирование стенки правого желудочка	Маленькие левые камеры сердца	Парадоксальное движение МЖП
Асцит	29	22	10	-	4
Гидроторакс	10	7	1	1	2
Резкая слабость/обморок	9	14	8	2	5
Гипотензия	2	5	5	5	9
Прогрессирующая вялость/слабость/снижение активности	15	23	10	-	4
Отеки периферические	2	1	1	-	
Одышка	13	19	10	-	4

Таблица 7

Ассоциация причин возникновения и цитологических характеристик перикардиального выпота (n=61)

Причины выпота	Абсолютное число, n	Относительное кол-во, %	Характер выпота					
			Трансудат	Модифицированный трансудат	Септический экссудат	Геморрагический хронический	Геморрагический острый	Геморрагический с цитологическими признаками опухоли
Новообразования сердца/перикарда	34	55,7		1		26	1	4-лимфома
								1-карцинома
								1-мезотелиома
Идиопатическая/неизвестная причина	18	29,5		1		16	1	
Застойная сердечная недостаточность	2	3,3		1		1		
Перикардит	5	8,2			1	4		
Разрыв левого предсердия	1	1,6					1	
Энтеропатия с потерей белка	1	1,6	1					

Гистологическое исследование перикарда было выполнено у 23 пациентов с рецидивирующей тампонадой сердца. У 16 собак новообразование сердца или перикарда

было диагностировано эхокардиографически и 2 пациента были подозрительны в отношении неоплазии перикарда (таблица 8).

Таблица 8

Гистологическое исследование причин перикардального выпота (n=23)

Причины выпота	Абсолютное число, n	Относительное кол-во, %
Лимфоплазмоцитарный перикардит	1	4,3
Нейтрофильный перикардит	2	8,7
Смешанный перикардит (лимфоплазмоцитарный и нейтрофильный)	6	26
Хемотектома	6	26
Гемангиосаркома	5	22
Мезотелиома	1	4,3
Карцинома	1	4,3
Без патологических изменений	1	4,3

Обсуждение и заключение. Трансторакальная ЭхоКГ является надежным способом определения патологий перикарда и наличия свободной жидкости в перикардальной полости. Свободная жидкость в полости перикарда на ультрасонограмме определяется в качестве эконегативного ободка вокруг сердца. При скоплении большого объема жидкости возникает характерная картина «плавающего» или «качающегося» сердца, за счет его маятникообразных движений [8].

При наличии перикардального выпота важное клиническое значение имеет распознавание синдрома тампонады сердца, который диагностируют при сопоставлении характерной клинической картины и эхокардиографических признаков [9]. Из 200 пациентов, участвовавших в исследовании, у 64 животных (32,0 %) была диагностирована тампонада сердца. Полученные нами диагностические критерии тампонады соответствуют данным, опубликованным в других исследованиях [10]. Самыми частыми ЭхоКГ-признаками тампонады сердца были: коллабирование стенки правого предсердия — выявлено у 65,6 % (n=42), дилатация и уменьшение амплитуды спадения каудальной полой вены (менее 50 % на вдохе) — выявлено у 53,1 % (n=34), коллабирование стенки правого желудочка в конце диастолы — выявлено у 31,2 % (n=20).

При сопоставлении данных физикального обследования и ЭхоКГ-признаков было выявлено, что такие признаки, как увеличение объема живота в результате накопления асцитной жидкости, прогрессирующая слабость и снижение переносимости нагрузок диагностируют у пациентов с эхокардиографическими признаками расширения и спадения КПВ менее 50 % и коллапсом стенки правого предсердия. Это связано с нарушением венозного оттока большого круга кровообращения на фоне повышения конечно-диастолического давления в правом желудочке в результате давления перикардальной жидкости. При наличии всех перечисленных ЭхоКГ- признаков тампонады сердца

(таблица 5), в том числе парадоксального движения межжелудочковой перегородки и уменьшения размеров камер сердца вследствие снижения притока венозной крови, у животных наблюдалась стойкая артериальная гипотензия (со средним систолическим АД 80 мм рт. ст. и ниже). Первичная диагностика тампонады сердца основывается на совокупности симптомов и физикального обследования пациента. Эхокардиография является подтверждающим и экспертным методом, позволяющим визуализировать перикардальный выпот, оценить его объем, выявить признаки компрессии сердца и в ряде случаев дифференцировать причины выпота.

При оценке выпота наиболее часто диагностировали геморрагический характер жидкости (91,8 %), что соответствует литературным данным [11, 12], при этом признаки острой геморрагии выявили только у 4,9 % пациентов. Самой частой причиной геморрагического выпота у собак была неоплазия сердца — 55,7 % случаев, из которых в 22 % была гистологически диагностирована гемангиосаркома сердца, которая, в свою очередь, считается одной из частых неопластических причин перикардальных выпотов [13, 14]. В 26 % случаев было получено гистологическое подтверждение опухоли основания сердца — хемотектомы. По данным ЭхоКГ, из 200 пациентов у 86 собак были выявлены опухоли сердца, из которых 32,5 % были опухоли правых отделов сердца без гистологического подтверждения, а в 53,5 % случаев определяли новообразования основания сердца. Неизвестная причина выпота оказалась на втором месте по распространенности, сюда же могут входить пациенты с идиопатическим перикардальным выпотом, что соответствует ранее проведенным исследованиям [11, 15]. Модифицированный трансудат регистрировали в 4,9 % случаев, в том числе и на фоне застойной сердечной недостаточности. Трансудат на фоне энтеропатии с потерей белка и септический экссудат на фоне септического

миоперикардита стали самыми редкими видами перикардальных выпотов. Считается, что цитологическое исследование перикардальной жидкости малоинформативно и зависит от типа опухоли и гематокрита выпота [12, 16]. Геморрагический выпот с цитологическими признаками опухоли встречался в 9,8 % случаев, где самой диагностируемой опухолью стала крупноклеточная лимфома, что соотносится с данными зарубежной литературы [17, 18]. В данном исследовании из 64 собак с сердечной тампонадой у 55,7 % были диагностированы новообразования сердца по ЭхоКГ. Развитие тампонады у таких пациентов может быть связано не только с механическим сдавливанием сосудов опухолью, но и с кровотечением из них, что может вызывать резкое повышение внутриперикардального давления, острое расширение перикардальной полости и, как следствие, тампонаду сердца.

Гистологическое исследование опухолей сердца и перикарда, иссеченных в ходе оперативного вмешательства, является «золотым стандартом» для верификации онкологического процесса. По результатам нашего исследования, из 16 собак с новообразованиями сердца и перикарда, определенными по ЭхоКГ, у 12 животных гистологически подтвердилась неоплазия сердца: в 26 % случаев — хемодектома, в 22 % — гемангиосаркома. Данные виды опухолей сердца встречаются наиболее часто, как было описано выше. У одного пациента, подозрительного в отношении неоплазии перикарда, была выявлена мезотелиома перикарда. У 3-х собак гистологическое исследование опухоли сердца или перикарда было неинформативно, у одной собаки биопсия опухоли не была взята. Перикардит как гистологический диагноз встречался в 39 % случаев.

Большинство собак с перикардальным выпотом были самцами, средних и крупных пород, массой тела от 26 и до 45 кг: метисы (19 %), лабрадоры-ретриверы (6 %), золотистые ретриверы (4 %), кане-корсо (2,5 %), американские стаффордширские терьеры (2,5 %), немецкие овчарки (2 %) — эти породы ранее упоминались и в других исследованиях [11, 15, 19]. Из мелких собак фигурировали следующие породы: французский бульдог (9,5 %), чихуахуа (5,5 %) и йоркширский терьер (5 %). В этом исследовании с тампонадой сердца чаще всего поступали метисы (15,6 %), французские

бульдоги (14 %), золотистые ретриверы (7,8 %), йоркширские терьеры (6,25 %), сибирские хаски (4,6 %), джек-рассел-терьеры (4,6 %). Хотелось бы отметить, что у всех французских бульдогов с тампонадой сердца были выявлены новообразования основания сердца по эхокардиографии. У золотистых ретриверов, сибирских хаски и йоркширских терьеров частой причиной тампонады было новообразование правых отделов сердца. Золотистые ретриверы часто встречаются в исследованиях с диагнозом гемангиосаркома правых отделов сердца [20–22]. У лабрадоров-ретриверов и джек-рассел-терьеров неизвестная причина встречалась чаще всего.

Таким образом, в результате анализа данных установлены самые распространенные клинические, физикальные и эхокардиографические признаки тампонады сердца: увеличение объема живота (50 %), внезапная слабость/обморок (37,5 %), прогрессирующая слабость/снижение активности (62,5 %), одышка (32,8 %), бледность слизистых оболочек (15,6 %), приглушение сердечных тонов (75 %), слабое наполнение пульсовой волны (35,9 %), аритмичный пульс (21,8 %), парадоксальный пульс (7,8 %), коллапс стенки правого предсердия (65,6 %), компрессия/коллабирование стенки правого желудочка в конце диастолы (31,2 %), дилатация и уменьшение амплитуды спадения каудальной полой вены менее, чем на 50 % на вдохе (53,1 %). Выявлена взаимосвязь между такими клиническими симптомами, как увеличение объема живота в результате накопления асцитной жидкости, прогрессирующая слабость и снижение переносимости нагрузок, и эхокардиографическими признаками тампонады сердца — расширением и снижением амплитуды спадения КПВ менее 50 % и коллапсом стенки правого предсердия. Тяжелое состояние пациента с развившимися артериальной гипотензией и кардиогенным шоком будет сопровождаться всеми ЭхоКГ-признаками тампонады сердца, в том числе парадоксальным движением межжелудочковой перегородки и слабым наполнением левых камер сердца. По результатам цитологического исследования самым распространенным видом перикардального выпота явился геморрагический, сопровождавший опухоли сердца и перикарда у собак старшей возрастной группы средних и крупных пород.

Список литературы/ References

1. Enders M, Sarani N, Malik A. Isolated Left Ventricular Cardiac Tamponade Diagnosed on Point-of-Care Ultrasound in the Emergency Department: A Case Report and Brief Literature Review. *Journal of the American College of Emergency Physicians Open*. 2023;4(4):e12990. <https://doi.org/10.1002/emp2.12990>
2. Hanson M, Chan B. The Role of Point-of-Care Ultrasound in the Diagnosis of Pericardial Effusion: A Single Academic Center Retrospective Study. *Ultrasound Journal*. 2021;13:2. <https://doi.org/10.1186/s13089-021-00205-x>
3. Кокуленко К.В., Костылев В.А., Гончарова А.В. Эхокардиографическая характеристика перикардитов у мелких домашних животных. В: *Сборник научных трудов 12-й международной межвузовской конференции по*

клинической ветеринарии в формате *Partners: материалы конференции, Москва, 17-18 ноября 2022 года*. Москва: Сельскохозяйственные технологии; 2022. С. 589–593.

Kokulenko KV, Kostylev VA, Goncharova AV. Echocardiographic Characteristics of Pericarditis in Small Domestic Animals. In: *Proceedings of the 12th International Interuniversity Conference on Clinical Veterinary Medicine in the Partners Format. Moscow, November 17–18, 2022*. Moscow: Selskokhozyaistvennyye tekhnologii Publ.; 2022. P. 589–593. (In Russ.).

4. Klein A, Chair, Abbara S., MD, Agler D., Appleton CP, Asher CR, Hoit B, et al. American Society of Echocardiography Clinical Recommendations for Multimodality Cardiovascular Imaging of Patients with Pericardial Disease: Endorsed by the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance and Society of Cardiovascular Computed Tomography. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2013;26:965–1012.e15. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2013.06.023>

5. Арутюнов Г.П., Палеев Ф.Н., Тарловская Е.И., Моисеева О.М., Арутюнов А.Г., Козиолова Н.А. и др. Перикардиты. Клинические рекомендации 2022. *Российский кардиологический журнал*. 2023;28(3):5398. <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2023-5398>

Arutyunov GP, Paleev FN, Tarlovskaya EI, Moiseeva OM, Arutyunov AG, Koziolova NA, et al. Pericarditis. Clinical Guidelines 2022. *Russian Journal of Cardiology*. 2023;28(3):5398. (In Russ.). <https://doi.org/10.15829/1560-4071-2023-5398>

6. Adler Y, Charron P, Imazio M, Badano L, Barón-Esquivias G, Bogaert J, et al. 2015 ESC Guidelines for the Diagnosis and Management of Pericardial Diseases: The Task Force for the Diagnosis and Management of Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology (ESC) Endorsed by: The European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *European Heart Journal*. 2015;36(42):2921–2964. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv318>

7. Chiabrando JG, Bonaventura A, Vecchié A, Wohlford GF, Mauro AG, Jordan JH, et al. Management of Acute and Recurrent Pericarditis: JACC State-of-the-Art Review. *Journal of the American College of Cardiology*. 2020;75(1):76–92. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.11.021>

8. Ming Wang TK, Klein A. Multi-Modality Cardiac Imaging for Pericardial Diseases: A Contemporary Review. *Reviews in Cardiovascular Medicine*. 2022;23(10):336. <https://doi.org/10.31083/j.rem2310336>

9. Alerhand S, Adrian RJ, Long B, Avila J. Pericardial Tamponade: A Comprehensive Emergency Medicine and Echocardiography Review. *American Journal of Emergency Medicine*. 2022;58:159–174. <https://doi.org/10.1016/j.ajem.2022.05.001>

10. Кокуленко К.В., Гончарова А.В., Костылев В.А. Клиническая характеристика собак с заболеваниями перикарда, сопровождающимися перикардальными выпотами. *Нормативно-правовое регулирование в ветеринарии*. 2024;(3):63–66. <https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2024.3.63>

Kokulenko KV, Goncharova AV, Kostylev VA. Clinical Characteristics of Dogs with Pericardial Pathologies Accompanied by Pericardial Effusions. *Legal Regulation in Veterinary Medicine*. 2024;(3):63–66. (In Russ.). <https://doi.org/10.52419/issn2782-6252.2024.3.63>

11. MacDonald KA, Cagney O, Magne ML. Echocardiographic and Clinicopathologic Characterization of Pericardial Effusion in Dogs: 107 Cases (1985–2006). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2009;235(12):1456–1460. <https://doi.org/10.2460/javma.235.12.1456>

12. Cagle LA, Epstein SE, Owens SD, Mellema MS, Hopper K, Burton AG. Diagnostic Yield of Cytologic Analysis of Pericardial Effusion in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2014;28(1):66–71. <https://doi.org/10.1111/jvim.12253>

13. Scheuermann L, Gordon-Evans W, Nault A. Systematic Review of the Treatment Options for Pericardial Effusions in Dogs. *Veterinary Surgery*. 2021;50(1):20–28. <https://doi.org/10.1111/vsu.13475>

14. Gunasekaran T, Oliviv N, Smedley R, Sanders R. Pericardial Effusion in a Dog with Pericardial Hemangiosarcoma. *Journal of Veterinary Cardiology*. 2019;23:81–87. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2019.01.008>

15. Кокуленко К.В., Гончарова А.В., Костылев В.А. Факторы риска возникновения и развития перикардальных выпотов у собак. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2023;(8):35–41. <https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202308004>

Kokulenko KV, Goncharova AV, Kostylev VA. Risk Factors for the Occurrence and Development of Pericardial Effusions in Dogs. *Veterinary, Zootechnics and Biotechnology*. 2023;(8):35–41. <https://doi.org/10.36871/vet.zoo.bio.202308004>

16. Köster L, Newkirk K, Krawec P. A Case Report: Null-Cell Cardiac Lymphoma in An English Bulldog. *Frontiers in Veterinary Science*. 2024;11:1256442. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1256442>

17. Treggiari E, Pedro B, Dukes-McEwan J, Gelzer AR, Blackwood L. A Descriptive Review of Cardiac Tumours in Dogs and Cats. *Veterinary and Comparative Oncology*. 2017;15(2):273–288. <https://doi.org/10.1111/vco.12167>

18. MacGregor JM, Faria ML, Moore AS, Tobias AH, Brown DJ, de Moraes HS. Cardiac Lymphoma and Pericardial Effusion in Dogs: 12 Cases (1994–2004). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2005;227:1449–1453. <https://doi.org/10.2460/javma.2005.227.1449>

19. Stafford Johnson M, Martin M, Binns S, Day MJ. A Retrospective Study of Clinical Findings, Treatment and Outcome in 143 Dogs with Pericardial Effusion. *Journal of Small Animal Practice*. 2004;45:546–552. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2004.tb00202.x>

20. Yamamoto S, Hoshi K, Hirakawa A, Chimura S, Kobayashi M, Machidaet. Epidemiological, Clinical and Pathological Features of Primary Cardiac Hemangiosarcoma in Dogs: A Review of 51 Cases. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2013;75(11):1433–1441. <https://doi.org/10.1292/jvms.13-0064>

21. Griffin M, Culp WTN, Rebhun RB. Canine and Feline Haemangiosarcoma. *Veterinary Record*. 2021;189(9):e585. <https://doi.org/10.1002/vetr.585>

22. Wakamatsu CN, Potter BM, Leary D, Boss M, Martin TW. Retrospective Study Evaluating Outcomes Following Palliative Radiotherapy with or without Chemotherapy for Dogs with Presumed Cardiac Hemangiosarcoma. *Veterinary and Comparative Oncology*. 2025;23(3):432–441. <https://doi.org/10.1111/vco.13068>

Об авторах:

Кира Владимировна Кокуленко, ветеринарный врач кардиолог ветеринарного онкологического научного центра «Биоконтроль» (115522, Российская Федерация, Москва, Каширское шоссе, дом 24, стр. 10), magnet.ru@mail.ru

Анна Витальевна Гончарова, доктор ветеринарных наук, доцент, доцент кафедры ветеринарной хирургии Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина (109472, Российская Федерация, Москва, ул. Академика Скрябина 23), [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9152-1000), annatrukhan@mail.ru

Владислава Константиновна Илларионова, кандидат биологических наук, доцент кафедры физиологии, фармакологии и токсикологии ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К. И. Скрябина (109472, Российская Федерация, Москва, ул. Академика Скрябина 23), руководитель отделения кардиологии ветеринарного онкологического научного центра «Биоконтроль» (115522, Российская Федерация, Москва, Каширское шоссе, дом 24, стр. 10), [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9152-1000), illarionovapq@gmail.com

Владислав Алексеевич Костылев, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной хирургии Московской государственной академии ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К. И. Скрябина (109472, Российская Федерация, Москва, ул. Академика Скрябина 23), [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9152-1000), vkstylev@rambler.ru

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

About the Authors:

Kira V. Kokulenko, Veterinary Cardiologist at the Veterinary Oncological Research Center “Biocontrol” (24, building 10, Kashirskoe shosse, Moscow, 115522, Russian Federation), magnet.ru@mail.ru

Anna V. Goncharova, Dr.Sci. (Veterinary), Associate Professor of the Department of Veterinary Surgery, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named after K. I. Skryabin (23, Akademik Skryabin Str., Moscow, 109472, Russian Federation), [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9152-1000), annatrukhan@mail.ru

Vladislava K. Illarionova, Cand.Sci.(Biology), Associate Professor of the Department of Physiology, Pharmacology, and Toxicology, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named after K. I. Skryabin, Head of the Cardiology Department, Veterinary Oncology Research Center “Biocontrol” (24, building 10, Kashirskoe shosse, Moscow, 115522, Russian Federation), [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9152-1000), illarionovapq@gmail.com

Vladislav A. Kostylev, Cand.Sci. (Veterinary), Associate Professor of the Department of Veterinary Surgery, Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – MVA named after K. I. Skryabin (23, Academician Skryabin Str., Moscow, 109472, Russian Federation), [ORCID](https://orcid.org/0000-0001-9152-1000), vkstylev@rambler.ru

Claimed Contributorship: all authors made an equally relevant contribution to the preparation of the publication.

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

All authors have read and approved the final manuscript.

Поступила в редакцию / Received 11.03.2026

Поступила после рецензирования / Reviewed 07.04.2026

Принята к публикации / Accepted 17.04.2026

ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY



УДК 636.09:616.12: 636.7:636.8:619:616–073.7

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-44-53>

Пилотное исследование



EDN: HBFYFA

Сравнение диагностической точности полуавтоматического и экспертного измерения кардиовертебрального индекса у кошек и собак: первый этап валидации «Десктопного приложения для автоматизации расчета VHS на основе рентгенограмм»

Ю.С. Шмаренкова¹  , С.В. Акчурин² , А.Д. Титов² , В.В. Демичев² , И.В. Акчурина² ¹ Калужский филиал Российского государственного аграрного университета – МСХА им. К.А. Тимирязева, г. Калуга, Российская Федерация² Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, г. Москва, Российская Федерация✉ lshmarenkova_11@mail.ru

Аннотация

Введение. Болезни сердца являются одной из основных причин смертности мелких домашних животных. Расчет кардиовертебрального индекса (КВИ, VHS) — метод оценки увеличения силуэта сердца на рентгенограммах и прогнозирования развития застойной сердечной недостаточности. Однако традиционное ручное измерение КВИ сопряжено с высокой межнаблюдательной вариабельностью, субъективностью и значительными временными затратами. Для повышения доступности объективного кардиологического скрининга в рутинной клинической практике авторами было разработано десктопное приложение для автоматизации расчета КВИ на основе технологий искусственного интеллекта (ИИ), позволяющее стандартизировать оценку, минимизировать человеческий фактор и ускорить обработку рентгенограмм. Цель данного пилотного исследования — провести первый этап валидации приложения и сравнить диагностическую точность двух способов измерения КВИ — полуавтоматического и экспертного.

Материалы и методы. Для анализа сформирована сбалансированная выборка — по 30 рентгенограмм грудной клетки собак и кошек в правой боковой проекции, отобранных методом простой случайной выборки. Предварительная ручная аннотация изображений выполнена по методике Buchanan & Bücheler: два ветеринарных врача визуальной диагностики по рентгенограммам определяли короткую и длинную оси сердца и далее сопоставляли их относительно позвоночного столба. Для полуавтоматического расчёта КВИ использовали авторское «Десктопное приложение для автоматизации расчета кардиовертебрального индекса (VHS) на основе рентгенограмм», разработанное на основе свёрточной нейронной сети. Валидация включала сравнение результатов двух способов расчета КВИ с учетом коэффициента внутрикласовой корреляции (ICC).

Результаты исследования. Установлено, что «Десктопное приложение для автоматизации расчета кардиовертебрального индекса (VHS) на основе рентгенограмм» обеспечивает высокоточное и воспроизводимое автоматическое измерение КВИ на боковых рентгенограммах грудной клетки у собак и кошек. При этом оно имеет статистически высокое соответствие с измерением, полученным ветеринарными врачами визуальной диагностики ($ICC \geq 0,97$), причем на расчет затрачено меньше времени.

Обсуждение и заключение. Первый этап валидации приложения продемонстрировал отличную степень согласия между ИИ и двумя специалистами, поэтому предложенный подход представляет собой перспективный вспомогательный инструмент для врачей общей практики. Текущее пилотное исследование имеет несколько ограничений, в частности, выполнено на относительно небольшой выборке животных и может быть недостаточным для оценки его работы в узких подгруппах (например, при специфических породах или выраженной кардиомегалии). Для подтверждения клинической значимости требуются дальнейшие исследования на более крупных и гетерогенных когортах, включая пациентов с выраженной кардиомегалией и анатомическими аномалиями.

Ключевые слова: пилотное исследование, рентгенодиагностика, рентгенограмма, грудная клетка, собаки, кошки, кардиовертебральный индекс, КВИ, VHS, кардиомегалия, искусственный интеллект, десктопное приложение, валидация

Для цитирования. Шмаренкова Ю.С., Акчурин С.В., Титов А.Д., Демичев В.В., Акчурина И.В. Сравнение диагностической точности полуавтоматического и экспертного измерения кардиовертебрального индекса у собак и кошек: первый этап валидации «Десктопного приложения для автоматизации расчета VHS на основе рентгенограмм». *Ветеринарная патология*. 2026;25(2):44–53. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-44-53>

Pilot Research

Comparison of the Diagnostic Accuracy of Semiautomated and Expert-Based Calculation of the Vertebral Heart Score in Cats and Dogs: First Stage Validation of the “Desktop Application for Automation of the VHS Calculation Based on Radiographs”

Yulia S. Shmarenkova¹  , Sergey V. Akchurin² , Artem D. Titov² , Vadim V. Demichev² ,

Irina V. Akchurina² 

¹Kaluga Branch of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Kaluga, Russian Federation

²Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russian Federation

 ishmarenkova_11@mail.ru

Abstract

Introduction. Cardiac diseases are considered to be among the main causes of mortality in small domestic animals. Calculation of the vertebral heart score (VHS) is a method used to assess the cardiac silhouette enlargement on radiographs and predict the development of congestive heart failure. However, traditional manual procedure of VHS calculation is characterized by high inter-observer variability, subjectivity, and significant time-consumption. To improve the access to objective cardiac screening in every-day clinical practice, the authors has developed a desktop application for automating VHS calculation using the artificial intelligence (AI) technologies that unifies the assessment standard, minimizes human error, and accelerates processing of radiographs. The aim of the present pilot research is to conduct the first stage validation of the application and compare the diagnostic accuracy of two VHS calculation methods — semiautomated and expert-based.

Materials and Methods. A balanced sample of 30 right lateral chest radiographs of dogs and cats was selected for analysis as a result of simple random sampling. Preliminary VHS was calculated by manual measurements on the radiographs by the Buchanan & Bücheler method: two veterinarians specializing in visual diagnostics measured the short and long axes of the heart on the radiographs and then compared their dimensions against the spinal vertebrae. The semi-automated calculation of VHS was performed by the author-developed “Desktop application for automation of the vertebral heart score (VHS) calculation based on radiographs” using a convolutional neural network. App validation implied a comparison of the results of the two methods of VHS calculation, taking into account the intraclass correlation coefficient (ICC).

Results. The “Desktop application for automation of the vertebral heart score (VHS) calculation based on radiographs” has proved to perform a highly accurate and replicable automated calculation of VHS on lateral chest radiographs of dogs and cats. It also has demonstrated statistically high agreement with the calculations obtained by veterinarians specializing in visual diagnostics ($ICC \geq 0.97$), along with less time required for calculation.

Discussion and Conclusion. The first stage of app validation has demonstrated an excellent agreement between the AI and two specialists’ results, therefore, the proposed approach can be deemed a future-oriented tool for general practitioners. The present pilot research has several limitations, i.e. it was conducted on a relatively small sample of animals, which may be insufficient for evaluation of app performance in narrow subgroups (e.g., in specific breeds or in severe cardiomegaly cases). Further studies in larger, more heterogeneous cohorts, including patients with severe cardiomegaly and anatomical abnormalities, are required to confirm clinical significance of the results.

Keywords: pilot research, X-ray diagnostics, radiograph, chest, dogs, cats, vertebral heart score, VHS, cardiomegaly, artificial intelligence, desktop application, validation

For Citation. Shmarenkova YS, Akchurin SV, Titov AD, Demichev VV, Akchurina IV. Comparison of the Diagnostic Accuracy of Semiautomated and Expert-Based Calculation of the Vertebral Heart Score in Cats and Dogs: First Stage Validation of the “Desktop Application for Automation of the VHS Calculation Based on Radiographs”. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2026;25(2):44–53. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-44-53>

Введение. Болезни сердца находятся в числе основных причин смерти возрастных кошек и собак [1]. Хотя эхокардиография является основным методом визуальной диагностики для оценки морфологического и функционального статуса сердца, рентгенодиагностика также играет важную роль в выявлении патологий. Поскольку заболевания сердца часто связаны с увеличением сердечного силуэта на рентгенограммах, этот недорогой и широкодоступный метод исследования можно использовать, в первую очередь, в качестве метода скрининга, когда у пациентов наблюдаются неоднозначные клинические признаки (кашель, утомляемость, появление одышки и т. п.) [2].

Чтобы достоверно оценить размер сердца на рентгенограммах, Buchanan J.W. и Bücheler J. разработали метод определения размера сердечного силуэта в зависимости от размера тел позвонков, известный как кардиовертебральный индекс (КВИ или VHS, Vertebral Heart Scale) [3]. В оригинальном исследовании, опубликованном в 1995 г., длинная ось сердца измерялась от вентральной границы главного левого бронха до наиболее удаленной точки верхушки сердца. Короткая ось измерялась по линии, перпендикулярной длинной оси, в самой широкой части сердечного силуэта. Длины двух осей сравнивались с длиной позвонков, начиная с краниального края T4.

Альтернативный метод, описанный Poad M.H. с коллегами [4], предлагает использовать вентральный край полой вены в качестве ориентира для измерения по короткой оси, однако, насколько известно, не существует исследований, оценивающих влияние этой модификации на ценность измерения КВИ.

Основная польза измерения КВИ заключается в том, чтобы предоставить ветеринарному врачу общей практики объективные измерения для выявления кардиомегалии. Этот метод на данный момент рекомендован Американским колледжем ветеринарной медицины (ACVIM) для классификации собак с пороком митрального клапана [5]. Измерение КВИ также полезно для мониторинга размеров сердца пациентов с течением времени в целях скрининга, особенно среди пород, склонных к приобретенным заболеваниям сердца [6]. Более того, современное программное обеспечение в ветеринарной рентгенодиагностике включает в себя специализированные инструменты для его измерения на цифровых рентгенограммах, что повышает удобство применения метода.

Прогресс в области визуальной диагностики предоставил доступ к мощным системам компьютерного анализа (CAD), которые недавно появились в ветеринарной медицине. Проще говоря, CAD-системы могут использоваться для идентификации ключевых точек и прогнозирования их координат на изображениях. Это, например, можно применить при определении тяжести

течения остеоартроза по рентгенограммам тазобедренных суставов и составления дальнейшего прогноза [7]. Изначально значимые результаты были показаны в обнаружении ключевых точек для приложений распознавания лиц, но теперь эта технология применяется и в медицинской визуализации изображений, поскольку она позволяет автоматизировать вычисление ключевых точек изображений на основе обнаружения анатомических ориентиров [8].

Прежние методы машинного обучения позволяли оценивать эти индексы, однако на данный момент глубокое обучение и сверточные нейронные сети (CNN) способны превзойти человеческие способности. Например, алгоритмы глубокого обучения были разработаны для расчета кардиоторакального коэффициента (CTR) на рентгенограммах грудной клетки человека и оказались более надежными, эффективными и менее трудозатратными, чем расчеты вручную [9].

Широкому внедрению КВИ в рутинную клиническую практику препятствуют вариабельность и субъективность ручного измерения. Исследования показывают, что различия в значениях КВИ между наблюдателями могут достигать 0,8-1,2 позвонка, что эквивалентно переходу из «нормы» в «патологию» [10, 11]. Даже при строгом соблюдении методики Buchanan & Bücheler (фиксация ориентиров: вентральная граница левого бронха/трахео-лёгочного угла, верхушка сердца, максимальная ширина перпендикулярно длинной оси), точность измерения зависит от опыта, физического состояния (степень утомления) и когнитивных искажений оператора.

В этой связи автоматизация расчёта КВИ с использованием алгоритмов искусственного интеллекта (ИИ), в частности сверточных нейронных сетей, приобретает особую актуальность. Современные ИИ-системы способны не только детектировать анатомические ориентиры, но и минимизировать человеческий фактор, обеспечивая стандартизированные, воспроизводимые измерения [7]. Внедрение таких инструментов в ветеринарную практику позволит:

- повысить чувствительность и специфичность ранней диагностики кардиомегалии;
- обеспечить объективный мониторинг динамики заболевания при повторных исследованиях;
- расширить доступ к качественной кардиологической оценке в условиях общей ветеринарной практики, где отсутствует специалист-кардиолог.

Таким образом, разработка и валидация алгоритмов автоматического вычисления КВИ у мелких домашних животных представляют собой насущную научную и практическую задачу, направленную на повышение качества диагностики сердечной патологии, улучшение прогноза и оптимизацию ресурсов ветеринарной медицины. С этой целью авторами недавно было разработано «Десктопное

приложение для автоматизации расчета кардиовертебрального индекса (VHS) на основе рентгенограмм» [12], обученное автоматически и независимо устанавливать ключевые точки для измерений КВИ у кошек и собак. Целью данного исследования является пилотная валидация разработанного алгоритма, а также сравнение эффективности и диагностической точности двух способов измерения кардиовертебрального индекса — полуавтоматического и экспертного — у кошек и собак.

Материалы и методы. В исследование, проведенное в период с ноября по декабрь 2025 г., включены правые боковые рентгенограммы грудной клетки собак и кошек, полученные в ветеринарных клиниках г. Калуги и г. Москвы на цифровых DR-панелях (wikiVET, Китай). После анонимизации изображения конвертированы в формат JPEG. Критериями исключения служили значительная ротация грудной клетки, плевральный выпот, новообразования и другие артефакты, искажающие контур сердца.

Методом простой случайной выборки сформирована сбалансированная группа: по 30 снимков собак и кошек (всего $n=60$). Выборка животных была определена на основе: 1) рекомендаций по минимальному объёму выборки для расчёта коэффициента внутриклассовой корреляции (ICC), где при ожидаемом значении $ICC > 0,9$ и доверительном интервале 95 % выборка из 30–50 наблюдений обеспечивает достаточную статистическую мощность для оценки согласованности [8]; 2) практики аналогичных исследований по валидации ИИ-

алгоритмов в ветеринарной радиологии, где выборки объёмом 25–40 снимков на группу признаются репрезентативными для первичной оценки диагностической точности [7, 9]; 3) принципа сбалансированности групп для минимизации систематической ошибки при сравнении методов. Формальный априорный расчёт мощности (power analysis) не проводился ввиду отсутствия предварительных данных о вариабельности измерений, получаемых именно данным алгоритмом, что является стандартной практикой для исследований первого этапа валидации новых ИИ-инструментов.

Для оценки применялась оригинальная методика Buchanan & Bücheler [3]: длинная ось сердца измерялась от вентральной границы главного левого бронха до верхушки сердца, короткая ось проводилась перпендикулярно ей в наиболее широкой части силуэта (рис. 1). Измерения выполняли два независимых ветеринарных врача-радиолога (стаж работы в визуальной диагностике 4–5 лет, общий клинический опыт >8 лет).

Данный подход соответствует общепринятой практике первичной валидации ИИ-алгоритмов в ветеринарной визуализации, где фокус смещён на оценку систематического смещения и воспроизводимости, а не на многоцентровый консенсус. Для нивелирования индивидуальной субъективности в качестве эталонного значения принималось среднее арифметическое показателей обоих специалистов, что обеспечивает стабильную базу для сравнения с автоматизированным алгоритмом.

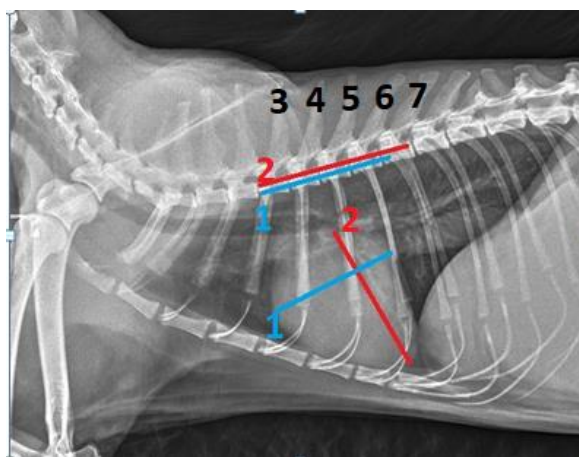


Рис. 1. Принцип расчета кардиовертебрального индекса: 1 — короткая ось сердца; 2 — длинная ось сердца; 3–7 — грудные позвонки, начиная от T4

Автоматизированный расчет КВИ осуществлялся с помощью авторского десктопного приложения на основе модифицированной архитектуры YOLOv8-seg, обеспечивающей сегментацию сердечного силуэта, детекцию позвонков и определение ключевых точек. Обучение модели проводилось на предварительно размеченных авторами рентгенограммах. Интерфейс программы реализует полуавтоматический расчет с возможностью ручной корректировки положения осей для повышения точности (рис. 2).

Статистический анализ выполнялся в программном пакете MedCalc v.20 (MedCalc Software Ltd., Бельгия). Перед проведением основного анализа была выполнена проверка статистических допущений для применения параметрических методов. Нормальность распределения количественных признаков (длинная и короткая оси сердца, КВИ) оценивалась с помощью теста Шапиро-Уилка. Гомогенность дисперсий между группами измерений (два эксперта и алгоритм ИИ) прове-

рялась тестом Брауна-Форсайта, устойчивым к отклонениям от нормальности. Поскольку нарушения допущений не были обнаружены ($p > 0,05$ для всех тестов),

применение коэффициента внутриклассовой корреляции с моделью абсолютного согласия признано методологически обоснованным.

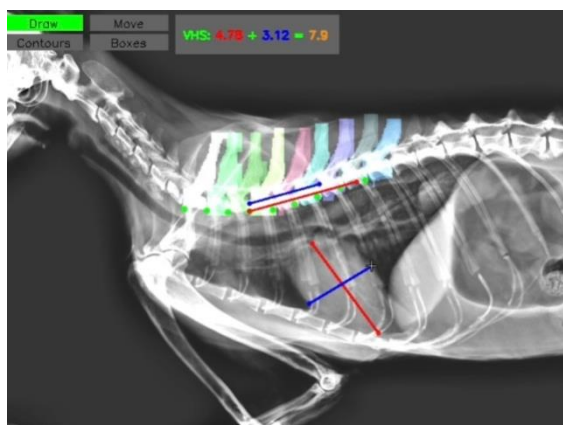


Рис. 2. Скриншот работы приложения в режиме «Рисование» (фото авторов)

Для оценки согласованности результатов между экспертами и алгоритмом ИИ рассчитывался коэффициент внутриклассовой корреляции (ICC, модель абсолютного согласия) с 95 % доверительными интервалами на основе F-распределения, что позволяет оценить устойчивость полученных показателей согласованности. Согласно общепринятой классификации [8], значения $ICC < 0,5$ интерпретировались как низкие, $0,5–0,75$ — умеренные, $0,75–0,9$ — хорошие, $> 0,9$ — отличные.

Дополнительно для визуализации и количественной оценки систематического смещения между методами измерения (эксперты vs. алгоритм ИИ) строились графики Бланда-Альтмана. На данных графиках по оси абсцисс откладывалось среднее значение двух сравниваемых измерений, по оси ординат — разность между ними (bias). Рассчитывались среднее смещение (mean bias) и пределы согласия (limits of agreement, LoA) как среднее $\pm 1,96$ стандартных отклонений разностей. Клинически приемлемым считалось смещение, не превышающее 5 % от среднего значения показателя, а также отсутствие систематической зависимости разности от величины измерения.

Для оценки производительности обученной модели YOLOv8-seg на отложенной выборке были рассчитаны стандартные метрики детекции и сегментации. Для задачи детекции анатомических ориентиров (границы сердца, тела позвонков) использовались: точность (Precision), полнота (Recall), F1-мера и средний показатель точности при пороге IoU=0,5 (mAP@50). Для оценки качества сегментации сердечного силуэта применялись: коэффициент сходства Дайса (Dice coefficient) и метрика mAP@50 для масок. Все метрики рассчитывались при пороговом значении уверенности модели 0,5. Дополнительно фиксировалось среднее время инференса на одно изображение.

Результаты исследования. В ходе проведения статистического анализа было установлено, что значения

длинной оси сердца, короткой оси сердца и кардиовертебрального индекса, полученные с использованием разработанного алгоритма ИИ и двумя независимыми специалистами в области ветеринарной визуальной диагностики, демонстрируют высокую степень согласованности как в группе собак ($n=30$), так и в группе кошек ($n=30$). Перед расчётом коэффициента внутриклассовой корреляции (ICC) была выполнена проверка статистических допущений. Нормальность распределения количественных признаков оценивалась с помощью теста Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий между методами измерения (два эксперта и алгоритм ИИ) — тестом Брауна-Форсайта. Как показано в таблице 1, для всех анализируемых параметров (длинная ось, короткая ось, КВИ) в обеих группах животных значения p превышали порог значимости 0,05, что не даёт оснований отвергнуть нулевую гипотезу о нормальности распределения и равенстве дисперсий. Таким образом, применение параметрического ICC с моделью абсолютного согласия является методологически обоснованным.

Для всех тестов уровень значимости $\alpha=0,05$. Значения $p > 0,05$ указывают на отсутствие оснований отвергнуть нулевую гипотезу (нормальность распределения / гомогенность дисперсий).

Согласно общепринятой интерпретационной шкале, значения $ICC \geq 0,90$ классифицируются как отличная согласованность [8], что и было зафиксировано для всех измеряемых параметров (таблица 2).

Данные таблицы 2 свидетельствуют об отличных показателях ICC в расчетах ключевых параметрах КВИ между двумя ветеринарными врачами визуальной диагностики и десктопным приложением. Кроме того, расчет, выполняемый с помощью приложения, занимает меньше времени: в среднем, ветеринарному врачу, знакомому с методом расчета КВИ, требуется от 3 до 5 минут, чтобы установить значение. Использование приложения сокращает время исследования в 2 раза.

Таблица 1

Результаты проверки статистических допущений для применения коэффициента внутриклассовой корреляции

Показатель	Тест Шапиро–Уилка (W/p)	Тест Брауна–Форсайта (F/p)	Вывод
Длинная ось сердца у собак	0,972 / 0,681	1,24 / 0,298	Допущения выполнены
Короткая ось сердца у собак	0,965 / 0,412	0,89 / 0,419	Допущения выполнены
КВИ у собак	0,981 / 0,893	1,05 / 0,357	Допущения выполнены
Длинная ось сердца у кошек	0,968 / 0,524	1,41 / 0,253	Допущения выполнены
Короткая ось сердца у кошек	0,975 / 0,738	0,76 / 0,474	Допущения выполнены
КВИ у кошек	0,963 / 0,387	1,18 / 0,315	Допущения выполнены

Таблица 2

Сводная таблица результатов ИСС для выполненных измерений и их классификация

Показатель	ИСС между операторами и ИИ	Классификация
Длинная ось сердца у собак	0,9950	Отлично
Короткая ось сердца у собак	0,9921	Отлично
КВИ у собак	0,9841	Отлично
Длинная ось сердца у кошек	0,9904	Отлично
Короткая ось сердца у кошек	0,9953	Отлично
КВИ у кошек	0,9707	Отлично

Для дальнейшей верификации отсутствия клинически значимого смещения были построены графики Бланда-Альтмана, на которых анализировалась разность (bias) между измерениями ИИ и средним значением, полученным двумя врачами. Среднее смещение (mean bias) для КВИ составило от -0,34 до +0,15 позвонка у собак и от -0,17 до +0,23 позвонка у кошек, что соответствовало допустимым значениям. Пределы интервалов согласия на графике Бланда-Альтмана считались приемлемыми, если стандартное отклонение смещения находилось в пределах 5 % от среднего значения (рис. 3).

Для оценки технической производительности разработанного алгоритма были проанализированы стандартные метрики качества детекции и сегментации на тестовой выборке. Как показано в таблице 3, модель продемонстрировала высокие показатели по всем параметрам: F1-мера превысила 0,93 для обеих групп животных, а коэффициент Дайса для сегментации сердечного силуэта составил 0,92-0,94, что свидетельствует о точном выделении анатомических структур. Среднее время обработки одного изображения составило ~1,4 с, что согласуется с заявленным сокращением временных затрат по сравнению с ручным расчётом.

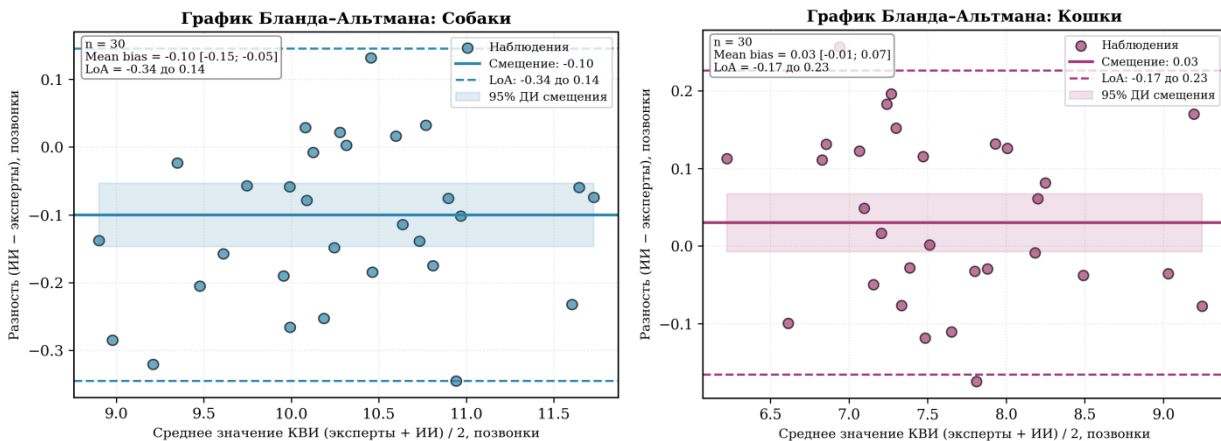


Рис. 3. Графики Бланда-Альтмана для оценки согласованности измерений кардиовертебрального индекса между алгоритмом ИИ и средним значением двух экспертов. По оси абсцисс — среднее значение КВИ (эксперты + ИИ)/2, по оси ординат — разность (ИИ — эксперты). Сплошная горизонтальная линия — среднее смещение (mean bias), пунктирные линии — пределы согласия (limits of agreement, LoA: mean ± 1,96 SD). Заштрихованная область — 95 % доверительный интервал для mean bias

Метрики производительности модели YOLOv8-seg на тестовой выборке (n=60)

Метрика	Собаки (n=30)	Кошки (n=30)	Интерпретация
Детекция объектов			
Precision	0,96	0,94	Доля верно детектированных объектов среди всех предсказанных
Recall	0,95	0,93	Доля верно детектированных объектов среди всех истинных
F1-мера	0,95	0,93	Гармоническое среднее Precision и Recall
mAP@50	0,97	0,95	Средний показатель точности при IoU \geq 0,5
Сегментация сердечного силуэта			
Dice coefficient	0,94	0,92	Мера перекрытия предсказанной и истинной маски
mAP@50 (mask)	0,93	0,91	Точность сегментации при пороге IoU \geq 0,5
Практические показатели			
Время инференса, с	1,4 \pm 0,3	1,3 \pm 0,2	Среднее время обработки одного снимка на стандартном ПК

Ограничения исследования и направления следующих этапов валидации. Текущее исследование имеет несколько ограничений. Во-первых, оно было выполнено на относительно небольшой выборке из 60 рентгенограмм грудной клетки животных. Данный объём является достаточным для пилотной оценки согласованности ИСС и выявления грубых систематических смещений алгоритма, однако может быть недостаточным для оценки его работы в узких подгруппах (например, при специфических породах, выраженной кардиомегалии или артефактах изображения). Репрезентативность выборки для генеральной популяции пациентов требует подтверждения в дальнейших многоцентровых исследованиях. Для следующих этапов валидации планируется проведение априорного расчёта минимального размера выборки на основе дисперсии, полученной в данном пилотном исследовании, что позволит обеспечить заданную мощность ($\geq 80\%$) для обнаружения клинически значимых различий.

Во-вторых, в формировании референсных измерений участвовали только два специалиста, несмотря на известную высокую межнаблюдательную вариабельность КВИ. Выбор обусловлен задачами этапа пилотной валидации: целью работы являлась первичная оценка согласованности алгоритма с клинической практикой, а не масштабное межлабораторное сравнение. Высокая вариабельность ручного измерения компенсировалась использованием коэффициента внутриклассовой корреляции с моделью абсолютного согласия и анализом Бланда-Альтмана, которые позволяют объективно определить расхождения и подтвердить их клиническую незначимость. Для дальнейшей внешней валидации планируется привлечение мультидисциплинарной панели специалистов из независимых клиник, включая врачей с разным уровнем опыта, что позволит

оценить устойчивость алгоритма в условиях реальной практики с выраженным субъективным фактором.

В-третьих, разработанный алгоритм валидировался на изображениях без выраженных артефактов и анатомических аномалий. В реальных клинических условиях наличие плеврального выпота, выраженной ротации грудной клетки или спондилёза может влиять на точность детекции контуров сердца и позвонков. Аналогичные ограничения описываются в исследованиях по валидации ветеринарных ИИ-моделей, где производительность алгоритмов часто снижается на гетерогенных выборках [13, 14, 15]. Для преодоления этого барьера необходимы дальнейшие исследования на мультицентровых когортах с включением пациентов с различной степенью кардиомегалии, сопутствующими патологиями и рентгенограммами разного качества. Было бы интересно оценить поведение ИИ в таких случаях.

Наконец, в-четвертых, текущее исследование не оценивало диагностическую чувствительность и специфичность алгоритма в прогнозировании конкретных кардиологических заболеваний. Как и традиционный КВИ, ИИ-инструмент предназначен исключительно для объективного измерения размеров сердечного силуэта, а не для постановки этиологического диагноза. В соответствии с современными рекомендациями по отчётности в области медицинского ИИ (например, CLAIM guidelines [16]), следующим этапом должна стать проспективная клиническая валидация с оценкой влияния автоматизированного расчёта КВИ на принятие врачебных решений и исходы лечения пациентов.

Обсуждение и заключение. Полученные в настоящем пилотном исследовании результаты демонстрируют отличную согласованность ($ICC \geq 0,97$) между измерениями КВИ на базе модели YOLOv8-seg и оценками двух

ветеринарных врачей-радиологов. Эти данные согласуются с современными тенденциями внедрения алгоритмов глубокого обучения в ветеринарную визуальную диагностику, где ИИ-системы успешно применяются для количественного анализа рентгенограмм и минимизации субъективного фактора [7, 10, 13, 14].

Высокая межнаблюдательная вариабельность при ручном расчёте КВИ остаётся одной из главных проблем метода. Как показано в работе [11], разница в оценках между опытными специалистами может достигать более одного позвонка, что способно привести к ошибочной классификации состояния пациента. Аналогичные ограничения отмечаются и в других исследованиях, посвящённых количественным радиометрическим методам, где субъективность выбора анатомических ориентиров напрямую влияет на воспроизводимость результатов [1, 4]. Внедрение алгоритмов компьютерного зрения позволяет стандартизировать процесс измерения,

фиксируя ключевые точки с высокой точностью и исключая когнитивные искажения оператора [7, 14].

Таким образом, данное приложение может стать отличным помощником при диагностике кардиологического статуса пациентов даже для врачей общей практики, не имеющих знаний и опыта в расчёте индекса. Кроме того, сокращение времени расчёта КВИ с 3-5 до ~1,5 минут, продемонстрированное в нашей работе, имеет прямое клиническое значение. В условиях высокой нагрузки специалистов общей практики автоматизация рутинных измерений способствует более быстрому принятию диагностических решений и оптимизации рабочего процесса [6, 7]. Помимо этого, стандартизированные ИИ-оценки создают надёжную основу для динамического мониторинга пациентов, что особенно важно при контроле прогрессирования заболеваний митрального клапана, где даже небольшие изменения силуэта сердца имеют прогностическую ценность [5, 6].

Список литературы / References

1. Ward JM, Youssef SA, Treuting PM. Why Animals Die: An Introduction to the Pathology of Aging. *Veterinary Pathology*. 2016;53(2):229–232. <https://doi.org/10.1177/0300985815612151>
2. Baisan A, Ciocan M, Birsan O, Vulpe V. Objective Assessment of the Radiographic Cardiac Size in Dogs – A Review of the Heart Size Measurements. *Lucrari Stiintifice - Universitatea de Stiinte Agricole a Banatului Timisoara, Medicina Veterinara*. 2017;50(2):16–23.
3. Buchanan JW, Bücheler J. Vertebral Scale System to Measure Canine Heart Size in Radiographs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1995;206(2):194–199.
4. Poad MH, Manzi TJ, Oyama MA, Gelzer AR. Utility of Radiographic Measurements to Predict Echocardiographic Left Heart Enlargement in Dogs with Preclinical Myxomatous Mitral Valve Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2020;34(5):1728–1733. <https://doi.org/10.1111/jvim.15854>
5. Keene BW, Atkins CE, Bonagura JD, Fox PR, Häggström J, Fuentes VL, et al. ACVIM Consensus Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Myxomatous Mitral Valve Disease in Dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2019;33(3):1127–1140. <https://doi.org/10.1111/jvim.15488>
6. Lord P, Hansson K, Kvarn C, Häggström J. Rate of Change of Heart Size before Congestive Heart Failure in Dogs with Mitral Regurgitation. *Journal of Small Animal Practice*. 2010;51(4):210–218. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2010.00910.x>
7. Boissady E, de La Comble A, Zhu X, Hespel AM. Artificial Intelligence Evaluating Primary Thoracic Lesions Has an Overall Lower Error Rate Compared to Veterinarians or Veterinarians in Conjunction with the Artificial Intelligence. *Veterinary Radiology and Ultrasound*. 2020;61(6):619–627. <https://doi.org/10.1111/vru.12912>
8. Koo TK, Li MY. A Guideline of Selecting and Reporting Intraclass Correlation Coefficients for Reliability Research. *Journal of Chiropractic Medicine*. 2016;15(2):155–163. <https://doi.org/10.1016/j.jcm.2016.02.012>. Erratum in: *Journal of Chiropractic Medicine*. 2017;16(4):346. <https://doi.org/10.1016/j.jcm.2017.10.001>
9. Sun Y, Wang X, Tang X. Deep Convolutional Network Cascade for Facial Point Detection. In: *Proceedings of 2013 IEEE Conference on Computer Vision and Pattern Recognition*. Portland, OR, USA: IEEE; 2013. P. 3476–3483. <https://doi.org/10.1109/CVPR.2013.446>
10. Li Z, Hou Z, Chen C, Hao Z, An Y, Liang S, et al. Automatic Cardiothoracic Ratio Calculation with Deep Learning. *IEEE Access*. 2019;7:37749–37756. <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2019.2900053>
11. Hansson K, Häggström J, Kvarn C, Lord P. Interobserver Variability of Vertebral Heart Size Measurements in Dogs with Normal and Enlarged Hearts. *Veterinary Radiology and Ultrasound*. 2005;46(2):122–130. <https://doi.org/10.1111/j.1740-8261.2005.00024.x>
12. Титов А.Д., Демичев В.В., Акчурин С.В., Шмаренкова Ю.С. Формирование и разметка специализированного датасета для задач компьютерного зрения в ветеринарной рентгенологии. *Вестник Российского нового университета. Серия: Сложные системы: модели, анализ, управление*. 2025;4:129–140. URL: <https://vestnik-rosnou.ru/item/2025/4/129>
- Titov AD, Demichev VV, Akchurin SV, Shmarenkova YuS. Formation and Markup of a Specialized Dataset for Computer Vision Tasks in Veterinary Radiography. *Vestnik of Russian New University (Vestnik of RosNOU)*. Series:

Complex Systems: Models, Analysis and Management. 2025;4:129–140. (In Russ.). URL: <https://vestnik-rosnou.ru/item/2025/4/129>

13. Васильев М.Е., Шалимов А.С., Савина О.А. Обзор версий YOLO: одноэтапная модель сверточной нейронной сети. *Universum: технические науки*. 2025;6(135):36–46. URL: <https://7universum.com/ru/tech/archive/item/20293>

Vasilev ME, Shalimov AS, Savina OA. Overview of Yolo Versions: Single-Stage Convolutional Neural Network Model. *Universum: Technical Sciences*. 2025;6(135):36–45. (In Russ.). URL: <https://7universum.com/ru/tech/archive/item/20293>

14. Hennessey E, DiFazio M, Hennessey R, Cassel N. Artificial Intelligence in Veterinary Diagnostic Imaging: A literature Review. *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 2022;63(Suppl. 1):851–870. <https://doi.org/10.1111/vru.13163>

15. Levicar C, Nolte I, Granados-Soler JL, Freise F, Raue JF, Bach JP. Methods of Radiographic Measurements of Heart and Left Atrial Size in Dogs with and without Muxomatous Mitral Valve Disease: Intra- and Interobserver Agreement and Practicability of Different Methods. *Animals*. 2022;12(19):2531. <https://doi.org/10.3390/ani12192531>. Correction in: *Animals*. 2025;15(8):1082. <https://doi.org/10.3390/ani15081082>

16. Cruz Rivera S, Liu X, Chan AW, Denniston AK, Calvert MJ; SPIRIT-AI and CONSORT-AI Working Group. Guidelines for Clinical Trial Protocols for Interventions Involving Artificial Intelligence: the SPIRIT-AI Extension. *Lancet Digital Health*. 2020;2(10):e549–e560. doi: [https://doi.org/10.1016/S2589-7500\(20\)30219-3](https://doi.org/10.1016/S2589-7500(20)30219-3)

Об авторах:

Юлия Сергеевна Шмаренкова, старший преподаватель кафедры ветеринарии и физиологии животных факультета ветеринарной медицины и зоотехнии Калужского филиала РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева (248007, РФ, г. Калуга, ул. Вишневого, д. 27) [ORCID](https://orcid.org/11111111111111111111), ishmarenkova_11@mail.ru

Сергей Владимирович Акчурин, доктор ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарной медицины института зоотехнии и биологии РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева (127434, РФ, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49) [ORCID](https://orcid.org/11111111111111111111), sakchurin@rgau-msha.ru

Артем Денисович Титов, ассистент кафедры статистики и кибернетики института экономики и управления АПК РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева (127434, РФ, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49) [ORCID](https://orcid.org/11111111111111111111), a.titov@rgau-msha.ru

Вадим Владимирович Демичев, доцент, кандидат экономических наук, доцент кафедры статистики и кибернетики института экономики и управления РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева (127434, РФ, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49) [ORCID](https://orcid.org/11111111111111111111), demichev_v@rgau-msha.ru

Ирина Владимировна Акчурина, кандидат ветеринарных наук, доцент кафедры ветеринарной медицины института зоотехнии и биологии РГАУ–МСХА им. К.А. Тимирязева (127434, РФ, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49) [ORCID](https://orcid.org/11111111111111111111), akchurinaiv@rgau-msha.ru

Заявленный вклад авторов:

Ю.С. Шмаренкова: сбор материала, подготовка текста, формирование выводов.

С.В. Акчурин: научное руководство, формирование основной концепции и цели исследования.

А.Д. Титов: подготовка размеченного датасета, разработка модифицированной модели компьютерного зрения, разработка прототипа графического интерфейса.

В.В. Демичев: планирование, руководство и техническая поддержка в разработке модели компьютерного зрения и прототипа графического интерфейса.

И.В. Акчурина: редактирование текста и выводов.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

About the Authors:

Yulia S. Shmarenkova, Senior Lecturer of the Veterinary Medicine and Animal Physiology Department, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Kaluga Branch of Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (27, Vishnevsky Str., Kaluga, 248007, Russian Federation) [ORCID](https://orcid.org/11111111111111111111), ishmarenkova_11@mail.ru

Sergey V. Akchurin, Dr.Sci. (Veterinary), Professor of the Veterinary Medicine Department, Institute of Animal Science and Biology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation) [ORCID](https://orcid.org/11111111111111111111), sakchurin@rgau-msha.ru

Artem D. Titov, Assistant at the Statistics and Cybernetics Department, Institute of Economics and Management of Agroindustrial Complex, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, Russian Federation), [ORCID](https://orcid.org/11111111111111111111), a.titov@rgau-msha.ru

Vadim V. Demichev, Cand.Sci. (Economics), Associate Professor of the Statistics and Cybernetics Department, Institute of Economics and Management of Agroindustrial Complex, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, RF) [ORCID](#), demichev_v@rgau-msha.ru

Irina V. Akchurina, Cand.Sci. (Veterinary), Associate Professor of the Veterinary Medicine Department, Institute of Animal Science and Biology, Russian State Agrarian University – Moscow Timiryazev Agricultural Academy (49, Timiryazevskaya Str., Moscow, 127434, RF) [ORCID](#), akchurinaiv@rgau-msha.ru

Claimed Contributorship:

YS Shmarenkova: collecting the materials, preparing the draft, formulating the conclusions.

SV Akchurin: scientific supervision, formulating the main concept and objectives of the research.

AD Titov: preparing a labeled dataset, developing a modified computer vision model, developing a graphical user interface prototype.

VV Demichev: planning, supervision, and technical support in the development of the computer vision model and the graphical user interface prototype.

IV Akchurina: editing the text and conclusions.

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

All authors have read and approved the final manuscript.

Поступила в редакцию / Received 24.04.2026

Поступила после рецензирования / Reviewed 21.05.2026

Принята к публикации / Accepted 01.06.2026

ПАТОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, ФАРМАКОЛОГИЯ И ТОКСИКОЛОГИЯ

ANIMAL PATHOLOGY, MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY, PHARMACOLOGY AND TOXICOLOGY



УДК 619:616-006:636.7

Оригинальное эмпирическое исследование

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


EDN: GIVVOK

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

А.А. Дарбишева , О.В. Дилекова

Ставропольский государственный аграрный университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

✉ darbisevaalina@gmail.com

Аннотация

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

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

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

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

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

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

Original Empirical Research

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

Alina A. Darbiseva , Olga V. Dilekova

Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russian Federation

✉ darbisevaalina@gmail.com

Abstract

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

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

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

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

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

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

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

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

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

CD34 — это биомаркер гемопоэтических и негемопоэтических стволовых клеток, включающий сосудистые эндотелиальные клетки-предшественники, эмбриональные фибробласты, а также мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки [10, 11].

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

Цель данного исследования — изучить экспрессию биомаркеров фибробластического

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

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

Материал для настоящего исследования отбирали при унилатеральной/регионарной мастэктомии и биопсии опухолей молочной железы у самок собак ($n=26$). Для исследования были взяты кусочки размером 1 см³ на границе изменённых участков молочной железы и здоровой ткани и кожи, согласно рекомендациям руководства врачей-патологоанатомов «Макроскопическое исследование биопсийного и операционного материала». После фиксации в 10 %-ном забуференном формалине («БиоВитрум», Россия) в течение 48 ч была

произведена проводка и заливка материала с получением парафиновых блоков и далее срезов толщиной 5 мкм с последующим монтированием их на предметное стекло с адгезивным покрытием PCI, со шлифованной кромкой, с колорированным краем (CITOTEST, Китай). Для определения локализации виментина применяли моноклональные кроличьи антитела Vimentin (SP20) 1:25-1:50 (Richard-Allan Scientific Co., США), α -SMA антитела моноклональные мышечные (Actin, Smooth Muscle Ab-1 (1A4) 1:25-1:50 (Richard-Allan Scientific Co., США), CD34 антитела моноклональные мышечные (134M 15) 1:50-1:200 (Cell Marque, США).

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

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

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

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

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

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

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

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

– отсутствие иммунореактивности.

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

– 0 баллов;

– мембранный тип — 1 балл;

– сочетание мембранного с гранулярно-цитоплазматическим — 2 балла;

– крупногранулярный — 3 балла.

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

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

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

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

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

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

Экспрессия виментина в опухолях молочной железы у собак показана на рис. 1. Иммунореактивный материал расположен в цитоплазме равномерно в виде крупных темно-коричневых зерен (3 балла), однако в некоторых клетках встречался перинуклеарно в виде отдельных крупных фокусов возле ядра. Иммунопозитивные участки занимали ≥ 50 % от общей площади материала, экспрессия биомаркера была сильная (+++). Клетки, экспрессирующие виментин, имели фибробластический тип — отростчатой формы с вытянутым ядром. В опухолях молочной железы они визуализировались в виде густой сети как в междольковом, так и во внутридольковом компоненте стромы, окружая в большом количестве паренхиму, что отражает, по нашему мнению, их паракаринное влияние, направленное на развитие опухоли молочной железы.

Таблица 1

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

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

Таблица 2

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

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

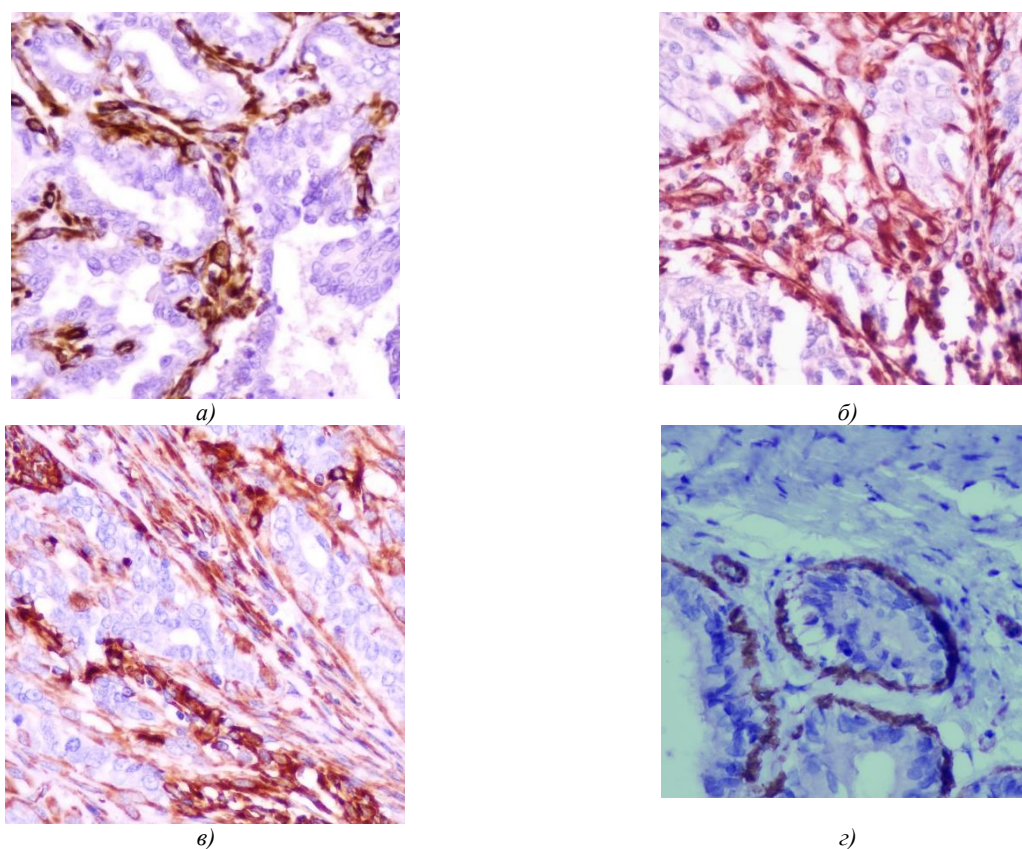


Рис. 1. Экспрессия vimentin+: а — протоковая папиллярная карцинома *in situ* G1 (той-терьер, 11 лет); б — тубулярно-папиллярная умеренно-дифференцированная карцинома G2 (дратхаар, 6,7 лет); в — солидная карцинома G1 (йоркширский терьер, 12,7 лет); г — дольковая тубулярная карцинома G1 (той-терьер, 7,6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

Высокая экспрессия альфа-гладкомышечного актина α -SMA в опухолях молочной железы у собак показана на рис. 2. Темно-коричневый иммунореактивный материал в папиллярных, солидных и тубулярных карциномах имел перинуклеарное расположение, в смешанных опухолях — равномерное по всей цитоплазме клетки (3 балла). Иммунопозитивные участки занимали ≥ 50 % от общей площади материала, экспрессия биомаркера сильная (+++). Клетки с фибробластическим фенотипом — отростчатой формы с вытянутым ядром, находились в виде тяжей в междольковом и во внутريدольковом компоненте стромы. Экспрессия маркера CD34 в опухолях молочной железы у собак

показана на рис. 3. Иммунопозитивные клетки в небольшом количестве были локализованы по рассыпному типу, регистрировались в междольковом компоненте стромы опухоли. Экспрессия их участков неполная, едва заметная, цитоплазматическое окрашивание более 10 % опухолевых клеток, отрицательное (+). Клетки имели округлую или вытянутую форму, ядро повторяло форму клетки. Иммунореактивный материал был равномерно расположен в цитоплазме, имел мелко- и крупногранулярную темно-коричневую структуру (3 балла). Чаще клетки визуализировались в тех местах, где стромальный компонент подвергался фиброзу и склерозу.

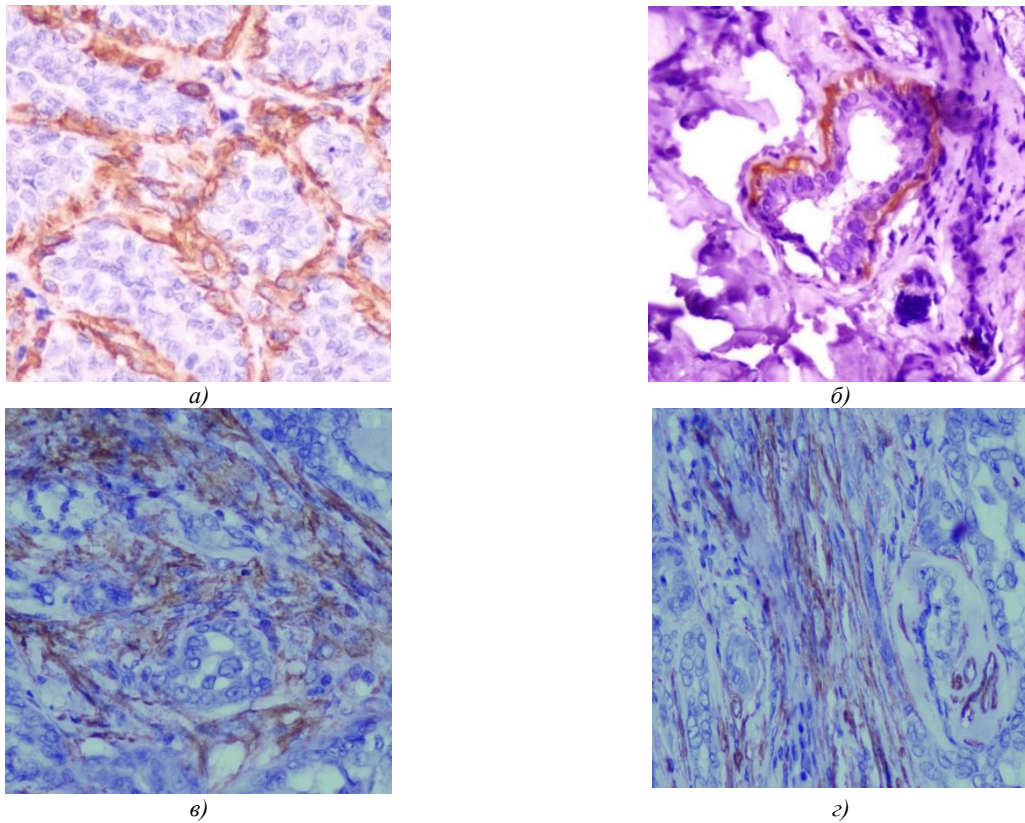


Рис. 2. Экспрессия α -SMA+: *a* — протоковая папиллярная карцинома *in situ* G1 (той-терьер, 11 лет); *б* — тубулярно-папиллярная умеренно-дифференцированная карцинома G2 (дратхаар, 6,7 лет); *в* — солидная карцинома G1 (йоркширский терьер, 12,7 лет); *з* — дольковая тубулярная карцинома G1 (той-терьер,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

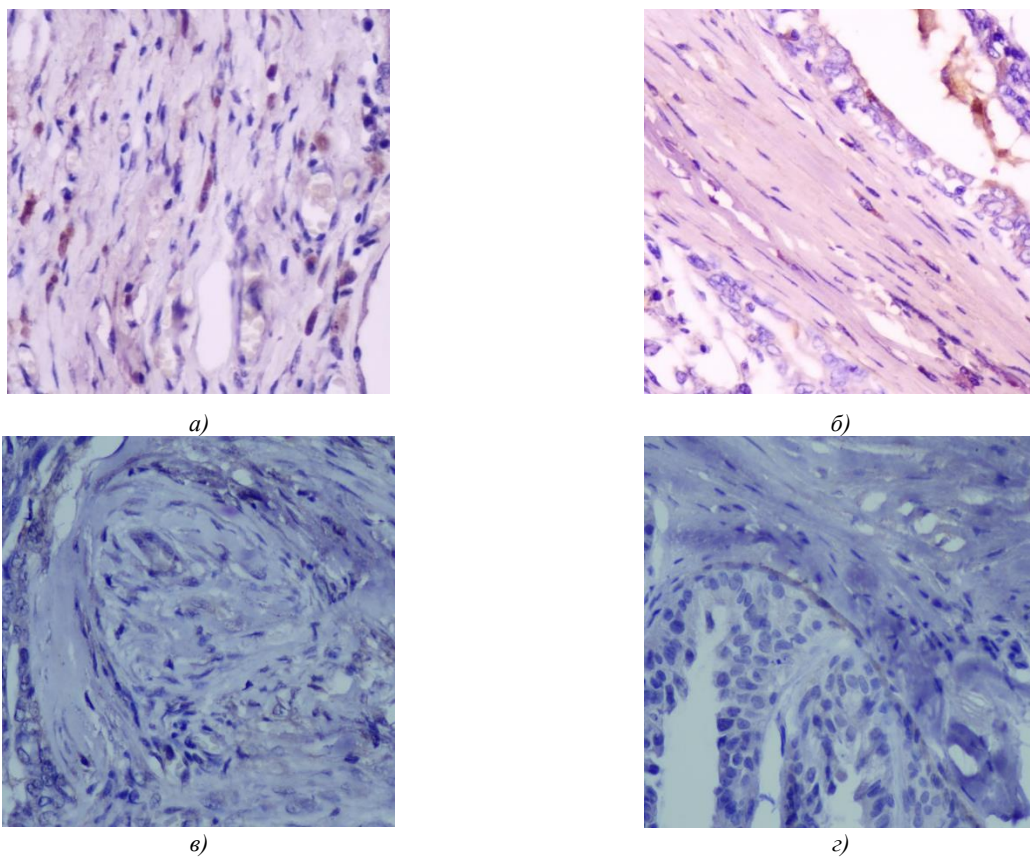


Рис. 3. Экспрессия CD34+: *a* — протоковая папиллярная карцинома *in situ* G1 (той-терьер, 11 лет); *б* — тубулярно-папиллярная умеренно-дифференцированная карцинома G2 (дратхаар, 6,7 лет); *в* — солидная карцинома G1 (йоркширский терьер, 12,7 лет); *з* — дольковая тубулярная карцинома G1 (той-терьер,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

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

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

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

Список литературы / References

1. Place AE, Huh SJ, Polyak K. The Microenvironment in Breast Cancer Progression: Biology and Implications for Treatment. *Breast Cancer Research*. 2011;13:227. <https://doi.org/10.1186/bcr2912>
2. Mehraj U, Dar AH, Wani NA, Mir MA. Tumor Microenvironment Promotes Breast Cancer Chemoresistance. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2021;87:147–158. <https://doi.org/10.1007/s00280-020-04222-w>
3. Yu T, Di G. Role of Tumor Microenvironment in Triple-Negative Breast Cancer and Its Prognostic Significance. *Chinese Journal of Cancer Research*. 2017;29(3):237–252. <https://doi.org/10.21147/j.issn.1000-9604.2017.03.10>
4. Li JJ, Tsang JY, Tse MG. Tumor Microenvironment in Breast Cancer—Updates on Therapeutic Implications and Pathologic Assessment. *Cancers*. 2021;13(16):4233. <https://doi.org/10.3390/cancers13164233>
5. Giorello MB, Borzone FR, Labovsky V, Piccioni FV, Chasseing NA. Cancer-Associated Fibroblasts in the Breast Tumor Microenvironment. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. 2021;26:135–155. <https://doi.org/10.1007/s10911-020-09475-y>
6. Chen Z, Fang Z, Ma J. Regulatory Mechanisms and Clinical Significance of Vimentin in Breast Cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021;133:111068. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.111068>
7. Han C, Liu T, Yin R. Biomarkers for Cancer-Associated Fibroblasts. *Biomarker Research*. 2020;8:64. <https://doi.org/10.1186/s40364-020-00245-w>
8. Dominguez R, Holmes KC. Actin structure and function. *Annual Review of Biophysics*. 2011;40:169–186. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-042910-155359>
9. Yoshimura H, Michishita M, Ohkusu-Tsukada K, Takahashi K. Increased Presence of Stromal Myofibroblasts and Tenascin-C with Malignant Progression in Canine Mammary Tumors. *Veterinary Pathology*. 2010;48(1):313–321. <https://doi.org/10.1177/0300985810369901>
10. Radu P, Zurzu M, Paic V, Bratucu M, Garofil D, Tigora A, et al. CD34—Structure, Functions and Relationship with Cancer Stem Cells. *Medicina*. 2023;59(5):938. <https://doi.org/10.3390/medicina59050938>
11. Sidney LE, Branch MJ, Dunphy SE, Dua HS, Hopkinson A. Concise Review: Evidence for CD34 as a Common Marker for Diverse Progenitors. *Stem Cells*. 2014;32(6):1380–1389. <https://doi.org/10.1002/stem.1661>
12. Catteau X, Simon P, Noël JC. Myofibroblastic Stromal Reaction and Lymph Node Status in Invasive Breast Carcinoma: Possible Role of the TGF- β 1/TGF- β R1 Pathway. *BMC Cancer*. 2014;14:499. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-14-499>
13. Díaz-Flores L, Gutiérrez R, González-Gómez M, García MP, Díaz-Flores L, Carrasco JL, et al. CD34+ Stromal Cells/Telocytes as a Source of Cancer-Associated Fibroblasts (CAFs) in Invasive Lobular Carcinoma of the Breast. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(7):3686. <https://doi.org/10.3390/ijms22073686>
14. Khan AA, Alam K, Harris H. A Clinicopathological Study of CD34 Antigen Expression in Benign and Malignant Breast Lesions. *Journal of Clinical and Experimental Pathology*. 2017;07(04). <https://doi.org/10.4172/2161-0681.1000321>

Об авторах:

Алина Андреевна Дарбишева, аспирант кафедры паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. С.Н. Никольского института ветеринарии и биотехнологий Ставропольского аграрного государственного университета (355017, РФ, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, д. 12), [ORCID](https://orcid.org/0009-0001-9122-1000), darbisevaalina@gmail.com

Ольга Владимировна Дилекова, доктор биологических наук, доцент кафедры паразитологии и ветсанэкспертизы, анатомии и патанатомии им. С.Н. Никольского института ветеринарии и биотехнологий Ставропольского аграрного государственного университета (355017, РФ, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, д. 12), [ORCID](https://orcid.org/0009-0001-9122-1000), dilekova2009@yandex.ru

Заявленный вклад авторов:

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

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

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

About the Authors:

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

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

Claimed Contributorship:

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

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

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

All authors have read and approved the final manuscript.

Поступила в редакцию / Received 23.04.2026

Поступила после рецензирования / Reviewed 17.05.2026

Принята к публикации / Accepted 22.05.2026

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ И ИММУНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ

ANIMAL INFECTIOUS DISEASES AND IMMUNOLOGY



УДК 579.6:60:577.21

Оригинальное эмпирическое исследование

<https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-61-67>

Комплексный анализ цитотоксичности генетически модифицированного штамма *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) с выявлением и оценкой факторов вирулентности



EDN: EUJXUX

В.С. Самойленко

Северо-Кавказский федеральный университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

viktor_samoylenko_26@mail.ru

Аннотация

Введение. Активное развитие биотехнологий и методов геномной инженерии открывает широкие перспективы для создания пробиотических штаммов с заданными функциональными свойствами, в том числе на основе бактерий рода *Lactobacillus*, традиционно считающихся безопасными микроорганизмами. Генетическая модификация позволяет усиливать их антагонистическую активность, устойчивость к неблагоприятным факторам среды и метаболическую эффективность. Однако вмешательство в бактериальный геном может сопровождаться риском появления нежелательных свойств, включая цитотоксичность и экспрессию факторов вирулентности. Проблема безопасности особенно актуальна в ветеринарной практике, где пробиотики широко применяются для коррекции микробиоценоза желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных и повышения их продуктивности. Цель исследования — провести комплексный анализ цитотоксичности генетически модифицированного штамма *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) с выявлением и оценкой факторов вирулентности, отвечающих за индуцирование клеточной гибели и нарушение клеточных функций.

Материалы и методы. Объектом исследования, проведенного в период с января по февраль 2026 г., являлся генетически модифицированный штамм *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007). Комплексный анализ его цитотоксичности с использованием методов *in vitro* включал: оценку цитопатического эффекта на органной культуре кишечника, влияние на жизнеспособность и метаболическую активность энтероцитов, а также состояние барьерной функции кишечного эпителия. Дополнительно выполнялся анализ потенциальных факторов вирулентности и изучались механизмы клеточной гибели, включая признаки апоптоза и некроза.



Результаты исследования. Рекомбинантный штамм *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) продемонстрировал высокий профиль биологической безопасности и выраженную биологическую активность, увеличивая барьерную функцию кишечного эпителия на 15,2 %, метаболическую активность клеток на 8,7 % и одновременно снижая ранний апоптоз энтероцитов на 31,1% ($p < 0,05$), без признаков цитотоксического действия и активации каспаз-зависимой гибели клеток.

Обсуждение и заключение. Проведенный комплексный анализ позволяет сделать однозначный вывод о том, что генетически модифицированный штамм *L. plantarum* 8PA3 (B-11007) не обладает цитотоксическим действием в условиях *in vitro*. Более того, по ряду параметров (метаболическая активность клеток, барьерная функция) он превосходит исходный нативный штамм, что делает его перспективным кандидатом для дальнейших доклинических и клинических исследований в качестве потенциального пробиотического средства.

Ключевые слова: комплексный анализ, *Lactobacillus*, *L. plantarum* 8PA3 (B-11007), пробиотики, геномная инженерия, цитотоксичность, органная культура кишечника, энтероциты, факторы вирулентности

Для цитирования. Самойленко В.С. Комплексный анализ цитотоксичности генетически модифицированного штамма *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) с выявлением и оценкой факторов вирулентности. *Ветеринарная патология*. 2026;25(2):61–67. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-61-67>

A Comprehensive Analysis of Cytotoxicity of Genetically Modified *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) Strain Including Identification and Evaluation of Virulence Factors

Viktor S. Samoylenko  

North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russian Federation

 viktor_samoylenko_26@mail.ru

Abstract

Introduction. Active development of biotechnologies and genetic engineering techniques broadens the horizons for engineering the probiotic bacterial strains with tailored functional properties, including the strains based on bacteria of the genus *Lactobacillus* that are traditionally considered safe microorganisms. Genetic modification enhances their antagonist activity, resistance to adverse environmental factors, and boosts metabolic efficiency. However, bacterial genome editing may entail risk of introducing the undesirable traits, including cytotoxicity and expression of virulence factors. Safety concerns are particularly relevant in the frame of veterinary practice, where probiotics are widely used to correct the gastrointestinal microbiocenosis in agricultural animals and improve their productivity. The aim of the study is to conduct a comprehensive analysis of cytotoxicity of the genetically modified *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) strain including identification and evaluation of the virulence factors responsible for inducing cell death and disruption of cellular functions.

Materials and Methods. A genetically modified *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) strain was the object of the study conducted in the period from January to February 2026. A comprehensive *in vitro* analysis of its cytotoxicity included: assessment of the cytopathic effect in intestinal cell culture, the effect on the viability and metabolic activity of enterocytes, and the state of intestinal epithelial barrier function. Additionally, the analysis of potential virulence factors was performed, along with the study of the mechanisms of cell death, including signs of apoptosis and necrosis.

Results. The recombinant *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) strain has demonstrated a high biological safety and pronounced biological activity, which enhanced the intestinal epithelial barrier function by 15.2%, the metabolic activity of cells by 8.7% and simultaneously reduced early apoptosis of enterocytes by 31.1% ($p < 0.05$), showing no signs of cytotoxic action or activation of caspase-dependent cell death.

Discussion and Conclusion. The conducted comprehensive analysis allows making the unequivocal conclusion about genetically modified *L. plantarum* 8PA3 (B-11007) strain exhibiting no cytotoxic activity *in vitro*. Moreover, by certain properties (cellular metabolic activity, barrier function), it exceeds the original native strain, which makes it a promising candidate for further preclinical and clinical trials as a potential probiotic agent.

Keywords: comprehensive analysis, *Lactobacillus*, *L. plantarum* 8PA3 (B-11007), probiotics, genetic engineering, cytotoxicity, intestinal cell culture, enterocytes, virulence factors

For Citation. Samoylenko VS. A Comprehensive Analysis of Cytotoxicity of Genetically Modified *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) Strain Including Identification and Evaluation of Virulence Factors. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2026;25(2):61–67. <https://doi.org/10.23947/2949-4826-2026-25-2-61-67>

Введение. Активное развитие биотехнологий и методов геной инженерии расширяет возможности конструирования пробиотических штаммов с заданными функциональными характеристиками, при этом идентификация и аннотирование потенциальных факторов вирулентности осуществляется с использованием специализированных баз данных и классификационных схем [1]. Современные представления о роли пробиотиков в поддержании здоровья человека и регуляции метаболических процессов подтверждают перспективность направленной модификации бактерий с целью усиления их полезных свойств [2]. В то же время результаты фенотипического и геномного анализа штаммов *Lactobacillus reuteri* демонстрируют необходимость комплексной оценки безопасности даже для традици-

онно используемых пробиотиков [3]. Аналогичные данные о важности сопоставления геномных маркеров и фенотипических характеристик при оценке безопасности данного штамма приведены в [3]. Обобщающие обзоры подчеркивают, что расширение спектра пробиотических продуктов требует строгого контроля их биологической безопасности и отсутствия патогенного потенциала [4].

Комплексный подход к оценке безопасности пробиотических культур, включающий генотипический и фенотипический анализ, реализован при исследовании *Lactocaseibacillus paracasei* NTU 101, что демонстрирует актуальность многоуровневой проверки новых штаммов [5]. Сходные методологические принципы применяются при анализе *Lactobacillus bulgaricus* IDCC 3601, где оцениваются потенциальные риски для

человека [6]. Детальная характеристика фенотипических и генотипических свойств *Levilactobacillus brevis* KU15006 также подтверждает необходимость исключения факторов вирулентности и антибиотикорезистентности [7]. Известно, что молекулярные сигнальные пути, регулирующие пролиферацию и выживание клеток в условиях воспалительного стресса, могут модифицироваться под воздействием микробных факторов, что подчеркивает значимость изучения клеточных механизмов ответа хозяина [8].

Проблема безопасности генетически модифицированных микроорганизмов особенно актуальна для ветеринарной практики, где пробиотики используются для нормализации микробиоценоза и повышения устойчивости животных к инфекциям, что подтверждается исследованиями *Lactococcus lactis* IDCC 2301 [9]. Оценка четырех штаммов лактобацилл с пробиотическими свойствами показала, что даже близкородственные микроорганизмы требуют индивидуального анализа генетической стабильности и отсутствия нежелательных детерминант [10]. Существенное значение имеет активность ферментов, таких как гидролазы желчных солей, которые находятся на пересечении взаимодействия микробиоты и организма хозяина [11]. Исследования штамма *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* SKDB001 подтверждают необходимость оценки не только безопасности, но и функциональных метаболических эффектов [12].

Экспериментальные модели *in vitro* широко применяются для оценки цитотоксичности и безопасности инкапсулированных пробиотических культур, что продемонстрировано для *Lactiplantibacillus plantarum* CRD7 и *Lacticaseibacillus rhamnosus* CRD11 [13]. Изменения кишечной микробиоты и метаболических показателей после введения *Lacticaseibacillus paracasei* AO356 подтверждают важность изучения системного эффекта пробиотиков [14]. Анализ фенотипических и генотипических свойств *Weissellacibaria* JW15 также свидетельствует о необходимости всесторонней оценки безопасности новых культур [15]. Дополнительным этапом предклинической проверки является *in silico*-анализ потенциальных генов вирулентности и резистентности, как показано для представителей рода *Bacillus*, выделенных из пчелиной продукции [16].

Отдельное внимание уделяется способности штаммов продуцировать биогенные амины, которые могут оказывать токсическое действие при накоплении в пищевых продуктах, что продемонстрировано для молочнокислых бактерий, выделенных из рыбной продукции [17]. Геномное секвенирование и оценка пробиотического потенциала штаммов *Lacticaseibacillus paracasei* LC86 и *Lacticaseibacillus casei* LC89 подтвер-

ждают значимость комплексного анализа их безопасности [18]. Обзоры, посвященные биогенным аминам в ферментированных продуктах, подчеркивают возможные риски для здоровья при неконтролируемой микробной активности [19]. Современные данные о микробиоме ротовой полости и его влиянии на системное здоровье также указывают на необходимость строгой оценки пробиотических вмешательств [20].

Экспериментальные исследования на модели инфекции *Clostridioides difficile* демонстрируют, что пробиотические штаммы могут снижать выраженность воспаления и восстанавливать барьерную функцию кишечника, что подтверждает их терапевтический потенциал при условии доказанной безопасности [21]. Однако даже условно-патогенные штаммы лактобацилл при определенных условиях способны проявлять цитопатическое действие на кишечный эпителий. В этой связи комплексный анализ цитотоксичности представляет собой необходимый этап доклинических исследований новых штаммов-пробиотиков.

Цель работы — провести комплексный анализ цитотоксических свойств генетически модифицированного штамма *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007), направленный на идентификацию и характеристику факторов вирулентности, детерминирующих индукцию клеточной смерти и дисфункцию клеточных механизмов.

Материалы и методы. Экспериментальная часть работы выполнена в условиях Геномного центра Северо-Кавказского Федерального университета (г. Ставрополь) и бактериологической лаборатории базовой кафедры эпизоотологии и микробиологии Ставропольского государственного аграрного университета в период с 23 января по 17 февраля 2026 г.

В рамках настоящей работы штамм *Lactobacillus plantarum* 8PA3 (B-11007) был генетически модифицирован путём введения рекомбинантной плазмиды, включающей функционально независимые экспрессионные кассеты, кодирующие гетерологичные белки под контролем конститутивных промоторов.¹ Оценку цитотоксичности генетически модифицированного штамма *L. plantarum* 8PA3 (B-11007) проводили в соответствии с авторской методикой А.В. Фролова «Способ определения цитотоксичности бактерий»².

Для проведения исследования использовали генетически-модифицированный штамм *L. plantarum* 8PA3 (B-11007) и его нативный аналог в качестве контроля. Такой подход позволяет не только выявить различия в цитопатическом эффекте между ГМ-формой и контролем, но и оценить сохранение или усиление полезных свойств штамма, что критически важно для объективной оценки безопасности модифицированного штамма и функциональной активности.

¹На момент написания статьи патент проходит стадию патентной регистрации (входящий № W 25039202 Российская Федерация. Регистрационный № 2025116719).

²Патент СССР SU №1747483 A1.

Бактериальные штаммы культивировали на стандартной питательной среде MRS (Difco™) в анаэробных условиях при температуре 37 °С с использованием газопакетов AnaeroGen (Oxoid, Великобритания). Приготовление бактериальной суспензии проводили в стерильном фосфатно-солевом буфере (PBS), оптическую плотность доводили до 0,5 по стандарту МакФарланда, что соответствовало концентрации приблизительно $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл, с последующим разведением до рабочей концентрации 1×10^9 КОЕ/мл.

Оценку цитотоксичности проводили с использованием двух параллельных подходов. На первом этапе органную культуру тощей кишки клинически здоровых 10-суточных телят (n=10) помещали в стерильные контейнеры над покровным стеклом с жидкой питательной средой (RPMI-1640), содержащей суспензию исследуемого штамма *Lactobacillus* в конечной концентрации 1×10^9 КОЕ/мл. Инкубацию с бактериальной суспензией проводили в течение 30 мин при 37 °С в атмосфере 5 % CO₂ и 95 % влажности с использованием CO₂-инкубатора (Binder GmbH, Германия). После воздействия контейнеры центрифугировали на скорости 10 000 об/мин в течение 10 мин для седиментации, отслоившихся в результате цитопатического эффекта клеток. Каждый эксперимент был выполнен в 5-ти биологических повторностях.

Параллельно проводили оценку цитотоксичности на первичной культуре энтероцитов, выделенных из тощей кишки 10-суточных телят. Клетки высевали в 96-луночные планшеты, покрытые коллагеном I типа, плотностью 3×10^4 клеток на лунку и культивировали в среде RPMI-1640 с 10 % эмбриональной сывороткой телят до формирования монослоя. Для оценки цитотоксичности использовали МТТ-тест с инкубацией в течение 24 ч и последующим измерением оптической плотности при 570 нм. Целостность кишечного барьера оценивали путем измерения трансэпителиального электрического сопротивления с помощью вольт/омметра EVOM2, регистрируя показания каждые 4 ч в течение 24 ч.

Для определения механизмов цитотоксичности проводили флуоресцентную микроскопию с окрашиванием аннексином V-FITC и пропидиум йодидом для дифференциации апоптоза и некроза. Дополнительно оценивали активность каспаз 3/7 с использованием набора Caspase-Glo 3/7 Assay.

Количественную оценку цитотоксичности (С) проводили по формуле:

$$C = N/t(1 - g1/g0), \quad (1)$$

где N — количество отслоившихся при центрифугировании клеток, подсчитанных на $1,96 \text{ мм}^2$ по диагоналям покровного стекла;

g0 — ускорение центробежной силы отслоения клеток, не обработанных цитотоксической суспензией бактерий;

g1 — ускорение центробежной силы отслоения клеток, обработанных цитотоксической суспензией бактерий;

t — время воздействия цитотоксической суспензии бактерий, ч.

Для более детальной оценки влияния на клеточные функции был применен МТТ-тест на монослое первичных энтероцитов в течение 24 ч. Тест основан на восстановлении тетразолиевого красителя МТТ митохондриальными дегидрогеназами живых клеток. Процент жизнеспособности клеток (VC, Viability Cell) рассчитывали по формуле:

$$VC (\%) = (OD570 \text{ опыта} / OD570 \text{ контроля}) \times 100 \%, \quad (2)$$

где OD570 опыта — оптическая плотность раствора формазана в лунках с клетками, обработанными бактериями;

OD570 контроля — оптическая плотность в лунках с клетками, культивируемыми в чистой питательной среде.

Все полученные численные данные были подвергнуты статистической обработке. Результаты выражены как среднее арифметическое (M) ± стандартное отклонение (SD) или стандартная ошибка среднего (SEM). Для проверки нормальности распределения данных использовали критерий Шапиро-Уилка. Сравнение средних значений между экспериментальной и контрольными группами проводили с использованием t-критерия Стьюдента для независимых выборок в программе Primer of Biostatistics 4.03 (McGraw-Hill, США). Различия считались статистически значимыми при уровне $p \leq 0,05$.

Результаты исследования. Первичная оценка потенциального цитотоксического действия генетически модифицированного штамма *L. plantarum* 8PA3 (B-11007), проведенная в соответствии с методикой А.В. Фролова на органной культуре тощей кишки, выявила отсутствие статистически значимого увеличения цитотоксичности между воздействием ГМ-штамма и его нативного аналога (таблица 1).

Таблица 1

Индекс цитотоксичности (ИЦ) нативной и ГМ форм штамма *L. plantarum* 8PA3 (B-11007) на органной культуре кишечника (M ± SD, n=5)

Группа исследования	Индекс цитотоксичности (ИЦ), у. е.	Уровень значимости (p)
Нативный (контрольный) штамм	0,08 ± 0,02	-
Генетически модифицированный штамм	0,09 ± 0,03	>0,05

Как следует из данных таблицы 1, индекс цитотоксичности ГМ-штамма не имел статистически значимых отличий ($p > 0,05$) от показателя контрольного нативного штамма. Количество отслоившихся клеток в обеих группах (соответствующее индексу цитотоксичности в диапазоне 0,06–0,12 у. е.) находилось в пределах референсных значений, установленных для данной органной культуры в условиях отсутствия патогенного воздействия (0,05–0,15 у. е.). Это свидетельствует об отсутствии цитопатического действия и нарушения адгезивных свойств ткани под воздействием генетически модифицированного штамма даже в условиях экстремального стресс-теста. Важно подчеркнуть, что методика основана на кратковременном (30 мин) воздействии чрезвычайно высокой концентрации бактерий (1×10^9 КОЕ/мл) с последующим применением центробежной силы, что моделирует предел устойчивости ткани. Данные условия являются стрессовыми и экстремальными, моделирующими не стандартное взаимодействие, а скорее «предел устойчивости» ткани. В контексте оценки безопасности выявление эффекта в таких условиях является ценным индикатором для дальнейших, более глубоких исследований, но не может быть прямым свидетельством патогенности *in vivo*, где концентрации бактерий и условия взаимодействия существенно мягче.

Визуальная оценка органных культур после проведения эксперимента подтвердила полученные количественные данные. Слизистая оболочка тощей кишки в обеих опытных группах (как при воздействии нативного, так и ГМ-штамма) сохраняла характерные морфо-

логические признаки, соответствующие норме. Поверхность образцов имела равномерный бледно-розовый цвет, что свидетельствует о сохраненной микроциркуляции и отсутствии признаков ишемии или геморрагических поражений. При макроскопическом исследовании отмечалась гладкая, влажная поверхность слизистой, характерная для здоровой ткани. Отсутствие участков помутнения, очаговой гиперемии, отека или массивного слущивания эпителия дополнительно свидетельствует об отсутствии деструктивного воздействия со стороны ГМ-штамма.

Результаты МТТ-теста на монослое первичных энтероцитов показали, что через 24 ч инкубации метаболическая активность клеток, обработанных ГМ-штаммом, статистически значимо превышала таковую в группе контроля (таблица 2).

Полученные данные из таблицы 2 свидетельствуют о том, что ГМ-штамм обладает умеренным стимулирующим действием на метаболическую активность энтероцитов, статистически значимо ($p < 0,05$) повышая её на 8,7 % по сравнению с контрольным штаммом. Этот эффект может быть связан с направленным изменением метаболизма бактерии в результате генетической модификации, например с усиленной выработкой специфических метаболитов (короткоцепочечных жирных кислот, витаминов группы В), оказывающих трофическое действие на клетки кишечного эпителия.

Для оценки безопасности на уровне регуляции клеточной гибели был проведен анализ апоптоза и активности исполнительных каспаз 3/7 (таблица 3).

Таблица 2

Влияние нативной и ГМ форм штамма *L. plantarum* 8PA3 (B-11007) на метаболическую активность первичных энтероцитов ($M \pm SD$, $n=5$)

Группа исследования	Метаболическая активность, % от контроля	Уровень значимости (p)
Нативный (контрольный) штамм	$100,0 \pm 3,5$	-
Генетически модифицированный штамм	$108,7 \pm 4,1$	$<0,05$

Таблица 3

Влияние нативной и ГМ форм штамма *L. plantarum* 8PA3 (B-11007) на апоптоз и активность каспаз 3/7 в первичных энтероцитах ($M \pm SD$, $n=5$)

Группа исследования	Клетки в раннем апоптозе, %	Активность каспаз 3/7, у. е.	Уровень значимости (p)
Нативный (контрольный штамм)	$4,5 \pm 0,6$	$1,00 \pm 0,12$	-
Генетически модифицированный штамм	$3,1 \pm 0,4$	$0,95 \pm 0,10$	$<0,05$ (для апоптоза)

Как следует из данных таблицы 3, ГМ-штамм достоверно ($p < 0,05$) снижает долю клеток в раннем апоптозе на 31 % по сравнению с контролем, при этом не влияя на активность каспаз 3/7 ($p > 0,05$). Это указывает на антиапоптотический эффект, не связанный с

классическим каспаз-зависимым путем, и подтверждает безопасность штамма.

Все полученные количественные данные, демонстрирующие баланс между безопасностью и полезными свойствами ГМ-штамма, сведены в таблице 4.

Сводная характеристика влияния ГМ-штамма *L. plantarum* 8PA3 (B-11007) на органокультуру и первичные энтероциты

Параметр	Нативный штамм (контроль)	ГМ-штамм	Изменение, %	Стат. значимость (p)
Индекс цитотоксичности	0,08 ± 0,02 у. е.	0,09 ± 0,03 у. е.	+12,5	>0,05
Метаболическая активность	100,0 ± 3,5 %	108,7 ± 4,1 %	+8,7	<0,05
Барьерная функция (ТЭС)	100 %	115,2 % (к 24 часу)	+15,2	<0,05
Ранний апоптоз	4,5 ± 0,6 %	3,1 ± 0,4 %	-31,1	<0,05

Обсуждение и заключение. На основании проведенного комплекса исследований установлено, что генетически модифицированный штамм *L. plantarum* 8PA3 (B-11007) не проявляет цитотоксического действия на органокультуру кишечника телят. Индекс цитотоксичности ГМ-штамма (0,09±0,03 у. е.) статистически значимо не отличался ($p>0,05$) от показателя нативного штамма-предшественника (0,08±0,02 у. е.) и находился в пределах физиологической нормы, что свидетельствует о сохранении клеточной адгезии и целостности гистологической структуры ткани. Макроскопическая оценка слизистой оболочки показала сохранение нормальных характеристик — бледно-розового цвета и типичного рельефа поверхности с физиологическими шероховатостями, что дополнительно подтверждает отсутствие патологических изменений тканей.

Показано, что ГМ-штамм обладает положительным влиянием на функциональную активность энтероцитов. Выявлено статистически значимое ($p<0,05$) повышение метаболической активности клеток на 8,7 % по сравнению с контролем, а также достоверное усиление барьерной функции, выражающееся в увеличении трансэпителиального электрического сопротивления на 15,2 % к 24 часу ко-инкубации. Подтверждено, что механизм взаимодействия ГМ-штамма с клетками хозяина не связан с индукцией апоптоза или некроза. В

опытной группе зафиксировано статистически значимое снижение доли клеток в раннем апоптозе (3,1 % против 4,5 % в контроле; $p<0,05$) при фоновом уровне активности каспаз 3/7, что указывает на безопасность штамма на уровне регуляции клеточной гибели.

Проведенные исследования позволяют заключить, что генетическая модификация штамма *L. plantarum* 8PA3 (B-11007) не привела к приобретению им цитопатических свойств или факторов вирулентности. Сохранение нормальных макроскопических характеристик слизистой оболочки кишечника в сочетании с положительным влиянием на клеточные функции свидетельствуют о наличии у ГМ-штамма позитивных эффектов, выражающихся в стимуляции метаболизма энтероцитов и укреплении кишечного эпителиального барьера. Выявленные свойства делают данный штамм перспективным кандидатом для разработки на его основе новых пробиотических препаратов. Для полного понимания механизмов наблюдаемого положительного действия и идентификации конкретных бактериальных метаболитов, ответственных за выявленные эффекты, целесообразно проведение дальнейших протеомных и метаболомных исследований. Полученные результаты являются основанием для перехода к следующему этапу доклинических испытаний на лабораторных животных.

Список литературы / References

- Liu B, Zheng D, Zhou S, Chen L, Yang J. VFDB 2022: A General Classification Scheme for Bacterial Virulence Factors. *Nucleic Acids Research*. 2022;50(D1):D912–D917. <http://doi.org/10.1093/nar/gkab1107>
- Barrea L, Verde L, Auriemma RS, Vetrani C, Cataldi M, Frias-Toral E, et al. Probiotics and Prebiotics: Any Role in Menopause-Related Diseases? *Current Nutrition Reports*. 2023;12:83–97. <https://doi.org/10.1007/s13668-023-00462-3>
- Lee BS, Ban OH, Bang WY, Chae SA, Oh S, Park C, et al. Safety Assessment of *Lactobacillus Reuteri* IDCC 3701 Based on Phenotypic and Genomic Analysis. *Annals of Microbiology*. 2021;71:10. <https://doi.org/10.1186/s13213-021-01622-y>
- Sarita B, Samadhan D, Hassan MZ, Kovaleva EG. A Comprehensive Review Of Probiotics and Human Health — Current Perspective and Applications. *Frontiers in Microbiology*. 2025;15:1487641. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1487641>
- Chen CT, Chao WY, Lin CH, Shih TW, Pan TM. Comprehensive Safety Assessment of *Lactocaseibacillus Paracasei* Subsp. *Paracasei* NTU 101 through Integrated Genotypic and Phenotypic Analysis. *Current Issues in Molecular Biology*. 2024;46(11):12354–12374. <https://doi.org/10.3390/cimb46110734>
- Lee M, Bang WY, Lee HB, Yang SY, Lee KS, Kang HJ, et al. Safety Assessment and Evaluation of Probiotic Potential of *Lactobacillus Bulgaricus* IDCC 3601 for Human Use. *Microorganisms*. 2024;12(10):2063. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12102063>
- Lee MG, Kang MJ, Kim S, Jeong H, Kang DK, Paik HD, et al. Safety Assessment of *Levilactobacillus Brevis* KU15006: A Comprehensive Analysis of Its Phenotypic and Genotypic Properties. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2025;17(3):1117–1131. <https://doi.org/10.1007/s12602-024-10237-z>

8. Tail M, Zhang H, Zheng G, Hatami M, Skutella T, Unterberg A, et al. The Sonic Hedgehog Pathway Modulates Survival, Proliferation, and Differentiation of Neural Progenitor Cells under Inflammatory Stress in Vitro. *Cells*. 2022;11(4):736. <https://doi.org/10.3390/cells11040736>
9. Kim T, Mondal SC, Jeong CR, Kim SR, Ban OH, Jung YH, et al. Safety Evaluation of *Lactococcus lactis* IDCC 2301 Isolated from Homemade Cheese. *Food Science and Nutrition*. 2022;10(1):67–74. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2648>
10. Lee YR, Bang WY, Baek KR, Kim GH, Kang MJ, Yang J, et al. Safety Evaluation by Phenotypic and Genomic Characterization of Four *Lactobacilli* Strains with Probiotic Properties. *Microorganisms*. 2022;10(11):2218. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112218>
11. Bourgin M, Kriaa A, Mkaouer H, Mariaule V, Jablaoui A, Maguin E, et al. Bile Salt Hydrolases: at the Crossroads of Microbiota and Human Health. *Microorganisms*. 2021;9(6):1122. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061122>
12. Joung H, Chu J, Kwon YJ, Kim KH, Shin CH, Ha JH. Assessment of the Safety and Hepatic Lipid-Lowering Effects of *Lactobacillus Delbrueckii Subsp. Lactis* CKDB001. *Applied Biological Chemistry*. 2024;67:101. <https://doi.org/10.1186/s13765-024-00949-9>
13. Varada VV, Panneerselvam D, Pushpadass HA, Mallapa RH, Ram C, Kumar S. In Vitro Safety Assessment of Electrohydrodynamically Encapsulated *Lactiplantibacillus Plantarum* CRD7 and *Lacticaseibacillus Rhamnosus* CRD11 for Probiotics Use. *Current Research in Food Science*. 2023;6:100507. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100507>
14. Song EJ, Lee ES, Kim YI, Shin DU, Eom JE, Shin HS, et al. Gut Microbial Change after Administration of *Lacticaseibacillus Paracasei* AO356 Is Associated with Anti-Obesity in a Mouse Model. *Frontiers in Endocrinology*. 2023;14:1224636. <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1224636>
15. Jang YJ, Gwon HM, Jeong WS, Yeo SH, Kim SY. Safety Evaluation of *Weissella Cibaria* JW15 by Phenotypic and Genotypic Property Analysis. *Microorganisms*. 2021;9(12):2450. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9122450>
16. Bin Hafeez A, Peřka K, Worobo R, Szweda P. In Silico Safety Assessment of Bacillus Isolated from Polish Bee Pollen and Bee Bread as Novel Probiotic Candidates. *International Journal of Molecular Sciences*. 2024;25(1):666. <https://doi.org/10.3390/ijms25010666>
17. Yilmaz N. Quantitative Analysis of Biogenic Amine Production of Different Lactic Acid Bacteria Isolated from Ready-to-Eat Packaged Fish Products. *Veterinary Research Forum*. 2024;15:537–543. <https://doi.org/10.30466/vrf.2024.2024103.4193>
18. Chen T, Zhao Y, Fan Y, Dong Y, Gai Z. Genome Sequence and Evaluation of Safety and Probiotic Potential of *Lacticaseibacillus Paracasei* LC86 and *Lacticaseibacillus Casei* LC89. *Frontiers in Microbiology*. 2025;15:1501502. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1501502>
19. Turna NS, Chung R, McIntyre L. A Review of Biogenic Amines in Fermented Foods: Occurrence and Health Effects. *Heliyon*. 2024;10(2):e24501. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24501>
20. Rajasekaran JJ, Krishnamurthy HK, Bosco J, Jayaraman V, Krishna K, Wang T, et al. Oral Microbiome: A Review of Its Impact on Oral and Systemic Health. *Microorganisms*. 2024;12(9):1797. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12091797>
21. Panpetch W, Phuengmaung P, Cheibchalard T, Somboonna N, Leelahavanichkul A, Tumwasorn S. *Lacticaseibacillus Casei* Strain T21 Attenuates Clostridioides Difficile Infection in a Murine Model through Reduction of Inflammation and Gut Dysbiosis with Decreased Toxin Lethality and Enhanced Mucin Production. *Frontiers in Microbiology*. 2021;12:745299. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.745299>

Об авторе:

Виктор Сергеевич Самойленко, кандидат ветеринарных наук, заведующий кафедрой зоологии и паразитологии, Северо-Кавказский федеральный университет (355017, Российская Федерация, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1) [ORCID](https://orcid.org/), [SPIN-код](https://spiner.kpfu.ru/), viktor_samoilenko_26@mail.ru

Конфликт интересов: автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Автор прочитал и одобрил окончательный вариант рукописи.

About the Author:

Viktor S. Samoilenko, Cand.Sci. (Veterinary), Head of the Department of Zoology and Parasitology, North-Caucasus Federal University (1, Pushkin Str., Stavropol, 355017, Russian Federation), [ORCID](https://orcid.org/), [SPIN-code](https://spiner.kpfu.ru/), viktor_samoilenko_26@mail.ru

Conflict of Interest Statement: the author declares no conflict of interest.

The author has read and approved the final manuscript.

Поступила в редакцию / Received 24.04.2026

Поступила после рецензирования / Reviewed 26.05.2026

Принята к публикации / Accepted 03.06.2026