

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Государственный аграрный университет Северного Зауралья»

На правах рукописи

ГАЛЬЦЕВА
Арина Андреевна

**Клинико-экспериментальное изучение алиментарно-
токсической пароксизмальной миоглобинурии
(«гаффской» болезни) на белых мышах**

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

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата ветеринарных наук

Санкт-Петербург – 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Государственный аграрный университет Северного Зауралья» (ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья)

Научный руководитель - Глазунова Лариса Александровна,
доктор ветеринарных наук, доцент.

Официальные оппоненты: Оробец Владимир Иванович,
доктор ветеринарных наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Ставропольский
государственный аграрный университет»,
кафедра терапии и фармакологии,
заведующий;

Берестов Дмитрий Сергеевич,
кандидат биологических наук, доцент,
ФГБОУ ВО «Удмуртский государственный
аграрный университет», кафедра анатомии и
физиологии, заведующий.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Южно-Уральский
государственный аграрный университет».

Защита диссертации состоится «23» декабря 2025 г. в 11-00 часов на заседании диссертационного совета 35.2.034.02 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5, тел: 8(812)388-36-31.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» по адресу: 196084, Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5, и на официальном сайте: <https://www.spbguvvm.ru>

Автореферат разослан «____» _____ 2025 года

Ученый секретарь
диссертационного совета

Хватов Виктор Александрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Пищевые и кормовые отравления широко распространены и представляют серьезную угрозу для здоровья человека и животных. Зачастую, клинические проявления токсикозов имеют схожую картину, что затрудняет постановку диагноза и назначение адекватного и своевременного лечения. Особую озабоченность вызывает применение диагностических критериев при выявлении отравления невыясненной этиологии (Жернов Ю.В., 2018). Одним из таких заболеваний является «гаффская» болезнь, которая периодически регистрируется в разных странах (Сивков, Г. С., 2004; Размашкин, Д. А., 2004; Бурундукова, Т. С., 2005; Качина, Е. А., 2009; Лудупова, Е. Ю. и др., 2009; Шантанова, Л. Н., 2010; Diaz, J. H., 2015; Аршаница, Н. М., 2016; Глазунова, Л. А. и др., 2021; Распопова, Ю. И. и др., 2022; Das, A. et al., 2022 и др.).

Алиментарно-токсическая пароксизмальная миоглобинурия (АТПМ), или «гаффская» болезнь, является малоизученным токсикозом, который за последние сто лет возникал 31 раз в разных уголках земного шара (Никитин, Ю. П., 1990; Сивков, Г. С., Сергушин, А. В., 2006; Huang, C., 2019; Glazunova, L. A., 2021 и др.). Длительность вспышек, в большинстве случаев, составляла около трех лет, и за это время не удавалось детально изучить причины возникновения, механизм развития, клинические и патоморфологические изменения, а лечение в основном было направлено на купирование симптомов (Сивков, Г. С., 2002; Гашев, С. Н., 2003; Качина, Е. А., Комарова, Е. В., 2009; Дугаржапова, Е. Д., 2014 и др.).

Для «гаффской» болезни у людей характерно развитие острой почечной и печеночной недостаточности, кардиомиопатий, гепатита и миокардита (Лебедева, Д. И., 2023). Смертность людей от токсикоза колеблется от 1 до 5%. Гибель наступает от острой сердечной, почечной недостаточности или от асфиксии в результате поражения дыхательной мускулатуры (Качина, Е. А., 2009; Распопова, Ю. И., 2022; Лебедева, Д. И. и др., 2023 и др.). Основным методом, позволяющим определить состояние водного объекта и наличие токсина АТПМ в рыбе, свидетельствующее о неблагополучии водоема по «гаффской» болезни, является биологическая проба (Марченко, А. М., 1987; Муковский, Л. А., 1989; Сивков, Г. С., 2004; Gao, X., 2020; Друзь, Е. А., 2022 и др.). Диагностические критерии, позволяющие достоверно определить наличие токсина в рыбе, варьируют в зависимости от вспышки и её длительности (Глазунова, Л. А. и др., 2022). В связи с этим необходим консолидированный подход к интерпретации данных результатов биологических проб на основании всей имеющейся информации.

Отсутствие знаний о факторах, которые приводят к накоплению токсина в водоемах, ограничивает возможности в проведении профилактических мероприятий (Размашкин, Д. А. и др., 2004; Бурундукова, Т. С., 2005; Сорокикова, Е. Г., 2014; Chan, T. Y. K., 2016; Козлов, М. В., 2017; Романь, Н. М., 2017; Кручинин, Е. В., 2019; Gao, X., 2020 и др.).

Происхождение и структура токсина, который проникает в тело промысловых рыб и по пищевой цепи вызывает развитие АТПМ у людей и животных, до настоящего времени неизвестно. Существующие предположения о его природе (сточные воды, цианобактерии, спорынья, пестициды, палитоксин, ядовитые растения и др.) не получили подтверждения или недостаточно изучены. Таким

образом, проблема этиологии «гаффской» болезни и предрасполагающих факторов до сих пор остается нерешенной.

Для определения факторов, способствующих образованию и накоплению токсина «гаффской» болезни в водоеме и рыбе, необходимо экспериментальное подтверждение в рамках биологической пробы и критический взгляд на полученные результаты.

В Тюменской области «гаффская» болезнь зарегистрирована во второй раз за последние двадцать лет (Сивков, Г. С., 2002; Размашкин, Д. А., 2004; Митрофанова, Т. С., 2004; Глазунова, Л. А., 2022). Известно, что причиной первой вспышки, произошедшей при употреблении карасей, выловленных из осушительных каналов и озер Тарманской группы, являлся хвощ речной (Бурундукова, Т. С., 2005). Данная гипотеза не подтвердилась при возникновении токсикоза в Бурятии (Шантанова, Л. Н., 2010) и других вспышках.

Выделить токсин и разработать экспресс-метод выявления неблагополучия водоема по «гаффской» болезни до сегодняшнего дня не удалось. Определить состояние водного объекта на причастность к АТПМ возможно лишь при проведении биологической пробы, которая выполняется в соответствии с Методическими указаниями, утвержденными 23.10.2003 года Минсельхозом РФ. Описание клинических признаков в методике очень краткое, не учитывает токсическую нагрузку, в связи с чем не позволяет рационально и оперативно реагировать на возникновение вспышки. Именно поэтому необходимо более детальное изучение и подробное описание симптомов алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии, выявление длительности периодов болезни с учетом интенсивности токсического процесса.

Степень разработанности темы. В современной научной литературе представлены работы отечественных и зарубежных ученых, направленные на изучение отдельных вспышек «гаффской» болезни (Ласкин, В. Е., 1939, 1948; Шалаев, А. А., 1946; Хнюнин, И. Д., 1948; Лещенко, П. Д., 1965; Kloss, K. et al., 1998; Бурундукова, Т. С., 2005; Сивков, Г. С., 2002, 2006; Размашкин, Д. А., 2004, 2006; Langley, R. L., Bobbitt 3rd, W. H., 2007; Huang, X. et al., 2013; Cardoso, C. W. et al., 2022 и др.). Имеющиеся научные статьи в основном посвящены клиническому описанию данного токсикоза (Kloss, K. et al., 1998; Сивков, Г. С., 2006; Лудупова, Е. Ю. и др., 2009 и др.). Многие авторы пытались экспериментальным путем установить этиологию заболевания (Марченко, А. М., 1987; Муковский, Л. А., 1989; Сивков, Г. С., 2002, 2006; Размашкин, Д. А., 2004 и др.), а также внесли свой вклад в изучение патологоанатомических изменений при «гаффской» болезни (Пронин, Н. М., 2009-2014; Пронина, С. В., 2009-2014, Пантина, Е. В., 2010 и др.).

Цель и задачи исследований. Цель исследований – изучить влияние токсина, вызывающего «гаффскую» болезнь на лабораторных животных, определить интенсивность токсического процесса и роль водных и прибрежно-водных высших растений в возникновении вспышки «гаффской» болезни.

Для достижения цели были определены следующие задачи:

1. Изучить влияние токсина, вызывающего «гаффскую» болезнь на лабораторных животных.

2. Определить основные функциональные и морфологические изменения у белых мышей при «гаффской» болезни.

3. Установить интенсивность токсического процесса «гаффской» болезни методом биологической пробы на лабораторных животных.

4. Определить роль водных и прибрежно-водных высших растений в возникновении вспышки «гаффской» болезни.

Научная новизна. Впервые определено значение водных и прибрежно-водных высших растений в возникновении вспышки «гаффской» болезни. Разработаны элементы системы мониторинга «гаффской» болезни, включающие установление вспышки и её прогнозирование. Разработана методика по определению источника токсических веществ, вызывающих «гаффскую» болезнь в водных растениях. Усовершенствована методика по определению токсических веществ, вызывающих «гаффскую» болезнь в рыбе. Получены данные о морфофункциональном состоянии органов и тканей лабораторных животных при «гаффской» болезни. Выявлены особенности биологической пробы и интенсивность токсического процесса «гаффской» болезни на лабораторных животных. Дополнены критерии клинического проявления «гаффской» болезни у лабораторных животных.

Теоретическая и практическая значимость работы. Полученные данные позволяют выяснить причины «гаффской» болезни, в том числе роль водных и прибрежно-водных высших растений, которые способствуют накоплению токсина в рыбе. Изучены клинические критерии, позволяющие диагностировать «гаффскую» болезнь методом биологической пробы. Установлена интенсивность токсического процесса «гаффской» болезни в период текущей вспышки. Разработаны рекомендации по диагностике и профилактике «гаффской» болезни.

Результаты исследований внедрены в учебный процесс ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья и ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, используются в научной деятельности Тюменского филиала ФГБНУ «ВНИРО» (Госрыбцентр), а также используются в практической деятельности Тюменской областной ветеринарной лаборатории и Управления ветеринарии Тюменской области.

Методология и методы исследования. Методологические подходы и методы исследования были подобраны с учётом цели и задач исследования, а также с учетом используемых объектов. Результаты проведенных исследований получены при использовании теоретических (в том числе исторического) и эмпирических методов, включая эксперимент, наблюдение, измерение и сравнение полученных клинических, токсикологических, микроскопических, гистологических и статистических методов исследований.

Научные исследования выполняли в период с 2021 по 2025 гг. на базе кафедры морфологии, физиологии и общей патологии, ветеринарной клиники и лаборатории экологии и рыбохозяйственных исследований ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, а также в Тюменском филиале ФГБНУ «ВНИРО» (Госрыбцентр) и ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России при реализации государственных контрактов №002-1/21ЭК от 27.09.2021 года «Определение состояния поверхностного водного объекта (оз. Андреевское и оз. Ишменевское Тобольского района) и выявление возможных причин возникновения «гаффской»

болезни. Разработка рекомендаций по диагностике и профилактике «гаффской» болезни (АТПМ)» и №007-3/23ЭЗК от 18.09.2023 года по теме: «Изучение влияния физических факторов на токсин, вызывающий алиментарно-токсическую пароксизмальную миоглобинурию («гаффскую болезнь»))».

Объектом исследования являлись лабораторные животные (белые мыши *Mus albus officinarum*), рыба (*Carassius gibelio*), водные и прибрежно-водные высшие растения.

Предмет исследования – эксперимент, клинические и патоморфологические особенности, морфофункциональные показатели лабораторных животных при биологической пробе.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность проведенных исследований подтверждается использованием современных методов исследований, сертифицированного оборудования и применением статистической обработки данных. Обработка числовых данных производилась с использованием прикладных программ BIOSAT и «Microsoft Excel». Полученные результаты исследований были опубликованы в рецензируемых источниках и апробированы на научных конференциях.

Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на LVI научно-практической конференции «Успехи молодежной науки в агропромышленном комплексе» (Тюмень, 2021, 2022), Внутривузовском форуме «Неделя молодежной науки» (2022, 2023), Национальной научно-практической конференции «Интеграция науки и образования в аграрных вузах для обеспечения продовольственной безопасности России» (Тюмень, 2022, 2023), на Всероссийском конкурсе на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Министерства сельского хозяйства Российской Федерации (2022), XXIV Всероссийская агропромышленная выставка «Золотая осень 2022» (2022), Всероссийский конкурс на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых аграрных образовательных и научных организаций России (2023, 2025), XXXII Агропромышленной выставке «АГРОРУСЬ» (2023), XXV Российской агропромышленной выставке «Золотая осень 2023» (2023), Международной научно-практической конференции «Аграрная наука в АПК: от идей к внедрению» (2023), XVI Всероссийском Тимирязевском конкурсе научно-исследовательских, опытно-конструкторских, технологических и социальных проектов молодежи в сфере агропромышленного комплекса «АПК- Молодежь, наука, инновации» (2024). Результаты исследований доложены на заседаниях оперативного штаба по предупреждению распространения «гаффской» болезни (2021-2024 гг.).

Личный вклад соискателя. Представленная диссертация является результатом четырех лет научных исследований группы ученых, включая автора диссертационной работы. Разработка плана, подготовка и проведение экспериментов в лабораторных условиях, анализ и статистическая обработка полученных результатов проведены лично автором под руководством опытных ученых и практиков. Доля участия соискателя в выполненных работах составляет более 80%.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует паспорту научной специальности 4.2.1. Патология

животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология: пункты 6, 7, 22.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Определена частота встречаемости и сроки появления основных клинических признаков «гаффской» болезни: взъерошенность, загрязненность волосяного покрова, потеря аппетита, снижение двигательной активности, конъюнктивит, блефароптоз, прыгающая походка, тремор, принятие поз «лягушки» и «треугольника».

2. Длительность периодов «гаффской» болезни зависит от интенсивности токсического процесса в неблагополучных водоемах.

3. Установлена этиологическая роль хвоща речного, белокрыльника болотного, кубышки желтой, кувшинки чисто-белой, горца земноводного и камыша озерного в возникновении «гаффской» болезни.

Внедрение. Результаты исследований внедрены в учебный процесс в ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья и ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, в научно-исследовательскую деятельность Тюменского филиала ФГБНУ «ВНИРО» (Госрыбцентр), и в практическую деятельность Тюменской областной ветеринарной лабораторий и Управления ветеринарии Тюменской области.

Публикации результатов исследований. По материалам диссертации опубликовано 11 работ, в том числе 6 в изданиях, рекомендованных ВАК Министерством науки и высшего образования Российской Федерации, 1 база данных, охраняемая авторскими правами, и 1 рекомендация.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 168 страницах компьютерного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, результаты исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, практические предложения, список использованной литературы. Иллюстрационный материал диссертации включает 64 рисунков и 26 таблиц. Список использованной литературы включает 181 наименование, в том числе 60 иностранных авторов.

СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена в период с 2021 по 2025 гг. на кафедре морфологии, физиологии и общей патологии института биотехнологии и ветеринарной медицины, ветеринарной клиники и лаборатории экологии и рыбохозяйственных исследований ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья, Тюменского филиала ФГБНУ «ВНИРО» (Госрыбцентра), ФГБОУ ВО Тюменского государственного медицинского университета Минздрава России в рамках государственных контрактов № 002-1/21ЭК от 27.09.2021 года «Определение состояния поверхностного водного объекта (оз. Андреевское и оз. Ишменевское Тобольского района) и выявление возможных причин возникновения «гаффской» болезни. Разработка рекомендаций по диагностике и профилактике «гаффской» болезни (АТПМ)» и № 007-3/23ЭЗК от 18.09.2023 года по теме: «Изучение влияния физических факторов на токсин, вызывающий алиментарно-токсическую пароксизмальную миоглобинурию («гаффскую болезнь»)» по заказу Департамента агропромышленного комплекса Тюменской области.

Для выполнения поставленных целей использовались как специальные, так и общенаучные методы исследования. Из общенаучных методов применяли исторический, то есть изучение известных фактов о «гаффской» болезни, а также методы наблюдения и эксперимента. Из специальных методов исследования применяли как прижизненные (биологическая проба на лабораторных животных), так и посмертные методы (патоморфологические исследования, которые включают патологоанатомическое вскрытие животных и гистологические исследования).

Объектом исследования являлись лабораторные животные (белые мыши *Mus albus officinarum*), рыба (карась серебряный *Carassius gibelio* (Bloch)), водные и прибрежно-водные высшие растения (хвощ топяной, или речной – *Equisetum fluviatile* L. белокрыльник болотный – *Calla palustris* L. кубышка жёлтая – *Nuphar lutea* (L.) Smith и кувшинка чисто-белая – *Nymphaea candida* J. Presl et C. Presl, камыш озерный *Schoenoplectus lacustris* (L.) Palla и горец земноводный *Persicaria amphibia* (L.) Delarbre), а **предметом** – клинические и патоморфологические особенности, морфофункциональные показатели лабораторных животных при биологической пробе на «гаффскую» болезнь.

В качестве зоны для мониторинга «гаффской» болезни определены озера Андреевское и Ишменевское Тобольского района Тюменской области.

Для выявления и подтверждения токсичности озер, определения клинических признаков и периодов «гаффской» болезни, изучения влияния водных и прибрежно-водных высших растений на возникновение алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии проводили биологические пробы согласно МУ 13-5-2/2015 Методика определения в рыбе токсических веществ, вызывающих алиментарно-токсическую пароксизмальную миоглобинурию (АТПМ) у человека и животных на белых мышах, утвержденной Минсельхозом России от 23.10.2003 года.

Для проведения биологической пробы производили лов рыбы на акваториях озер Андреевское и Ишменевское по разрешениям выданным Тюменскому филиалу ФГБНУ «ВНИРО» Нижнеобским территориальным управлением Росрыболовства на добычу (вылов) водных биологических ресурсов № 72202103013905, № 72202203006805 и № 7220230324742, (оз. Андреевское) и № 72202103014005, № 72202203006705 и № 7220230324741 (оз. Ишменевское). Сбор ихтиологического материала осуществляли сотрудники Тюменского филиала ФГБНУ «ВНИРО» («Госрыбцентр»). Для исследований отбирали самый массовый вид промысловых рыб, обитающий в неблагополучных водоемах - карась серебряный *Carassius gibelio*, Bloch, 1782.

Для выяснения причин возникновения «гаффской» болезни проводили изучение влияния водных и прибрежно-водных высших растений, произрастающих в озерах Андреевское и Ишменевское Тобольского района. Изучены токсические свойства хвоща топяного, или речного – *E. fluviatile* L., белокрыльника болотного – *C. palustris*, кубышки жёлтой – *N. lutea*, кувшинки чисто-белой – *N. candida*, горца земноводного - *P. amphibia* и камыша озерного - *Scirpus lacustris* L.

Для изучения влияния водных и прибрежно-водных высших растений на возникновение вспышек «гаффской» болезни часть рыбы была искусственно

выращена в аквариумах, содержащих детрит ядовитых растений. Растения отобраны из неблагополучных по «гаффской» болезни водоёмов. Для проведения биологических проб на рыбе (работы проведены в аквариальной лаборатории экологии и рыбохозяйственных исследований Литвиненко, А.И., Литвиненко, Л.И. и Зенкович, П.А.) образцы растений, отобранные в неблагополучных по «гаффской» болезни озерах, измельчали, гомогенизировали и ежедневно, в течение 15 суток, вводили в аквариумы. Для биологической пробы использовали полевую культуру карася серебряного (*C. gibelio*), выловленного из благополучного водоема. В аквариумы ежедневно вводили по одной части детрита (каждого вида растений отдельно), постепенно увеличивая его концентрацию. После введения 1125 г детрита из рыбы готовили корм для лабораторных животных. Ежедневно мышам скармливали по 12 грамм мышц и внутренних органов рыбы, полученных при биологической пробе с детритом изучаемых растений. Всего проведено шесть серий биологических проб по изучению влияния водных и прибрежно-водных высших растений.

Для изучения клинических проявлений «гаффской» болезни у лабораторных животных в период вспышки проведено пять серий классических биологических проб на белых мышах, дальнейший анализ и обобщение полученных результатов. При проведении биологических проб использовали 119 белых лабораторных мышей (нелинейных).

После завершения биологической пробы животных передавали на патологоанатомическое и патогистологическое исследование (n=97).

Манипуляции с животными выполняли в соответствии с Директивой № 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза «О защите животных, использующихся для научных целей».

2. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Особенности клинического проявления «гаффской» болезни у белых мышей

В период проведения биологических проб определены следующие симптомы токсикоза: взъерошенность и загрязненность волосяного покрова, потеря аппетита, снижение двигательной активности, прыгающая походка, тремор, судороги, принятие поз «лягушки» и «треугольника». За время экспериментального изучения «гаффской» болезни клиническая картина дополнена новыми симптомами – конъюнктивит и блефароптоз.

Появление перечисленных симптомов происходило при изучении обоих неблагополучных озёр Андреевское и Ишменевское.

Все животные в опытах теряли аппетит, что приводило к уменьшению массы тела. Вес животных подопытных групп за весь период эксперимента снизился на $25,86 \pm 0,83\%$. Вес контрольных животных снижался на $19,32 \pm 2,39\%$. Так, взъерошенность и загрязненность волосяного покрова наблюдали в 92,85% случаев со 2-х суток эксперимента. Конъюнктивит и блефароптоз появлялся у 78,57% подопытных животных с 4-6 суток эксперимента. Поза «лягушки» (рис. 1), проявлялась с 6-7 суток после скармливания токсичной рыбы и зарегистрирована у 66,67% подопытных животных. Позу «треугольника» (рис. 2) животные принимали в 64,28% случаев с 7-х суток эксперимента.



Рисунок 1 – Проявление позы «лягушки» у мыши из подопытной группы.



Рисунок 2 – Поза «треугольника» у мыши из подопытной группы.

Гибель животных в опытных группах происходила в течении 48-96 часов после принятия позы «треугольника». Время гибели животных подопытных групп варьировало от 7 до 18 суток.

2.1.1 Функциональные и морфологические изменения при «гаффской» болезни у белых мышей

Отмечено, что у мышей, которым скармливали рыбу из озера Андреевское, фиксировали выраженную лейкопению и моноцитопению, из озера Ишменевское отмечали лимфоцитопению, моноцитоз и гранулоцитоз. У белых мышей всех групп (включая контрольную) отмечали значительные изменения количества эритроцитов и гемоглобина в них. У всех животных в эксперименте фиксировали выраженную эритропению и гипогемоглобинемию. Также у лабораторных животных отмечено снижение количества тромбоцитов, что может указывать на угнетение костного мозга.

Основные макроскопические изменения обнаружены в скелетной мускулатуре, желудке и печени подопытных животных. При гистологическом исследовании скелетной мускулатуры подопытных мышей отмечали частичную разволокненность, волнообразность, также фиксировали во всей мускулатуре участки некротизированной ткани (оз. Андреевское). У животных, питавшихся внутренними органами рыбы, выловленной из озера Ишменевское встречаются участки волнообразности и некроза ткани, также ее набухание. Исчерченность симпласта в местах некроза отсутствовала, у единичных особей отмечали микроскопические кровоизлияния в межмышечном пространстве.

При исследовании желудка регистрировали атрофию слизистой оболочки желудка и истончение мышечного слоя желудка (оз. Андреевское), а в группе озеро Ишменевское на слизистых оболочках желудка визуализируется слизь, отмечена лимфоидная инфильтрация, отечность и атрофия ворсинок железистой части желудка.

При патоморфологическом исследовании печени у подопытных животных обеих групп в паренхиме отмечали большие участки некроза и некробиоза, частичную белковую дистрофию.

Микроскопически в почках выявлены некротический нефроз, лимфоидная инфильтрация и зернистая дистрофия канальцев.

2.2 Изменение интенсивности токсического процесса алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии (2021-2023 гг.)

Интенсивность токсического процесса определяли по скорости развития клинических признаков, их тяжести и переходу от латентного, продромального периода к разгару болезни и ее исходу. При определении интенсивности токсического процесса обращали внимание на время появления общих и характерных клинических симптомов, первой гибели лабораторных животных. На интенсивность токсического процесса влияет количество, агрегатное состояние, способ проникновения и скорость всасывания токсического вещества. Путь проникновения токсиканта во всех группах алиментарный.

Проведенные биологические пробы разделены на две группы, по месту вылова рыбы из неблагополучных водоемов – озеро Андреевское и озеро Ишменевское. Сравнение биологических проб производили по следующим критериям: длительность, время проявления первых общих и характерных клинических признаков, скорость гибели подопытных.

К общим клиническим симптомам отнесли: потерю аппетита, общую вялость и апатию, снижение двигательной активности. Наиболее значимыми при постановке биологических проб для подтверждения диагноза по «гаффской» болезни являются следующие симптомы: конъюнктивит, блефароптоз, оцепенение в позе «треугольника» и поза «лягушки».

2.2.1 Озеро Андреевское

Озеро Андреевское Тобольского района неблагополучно по «гаффской» болезни с октября 2019 года. Наблюдениями установлено, что токсический процесс в озере Андреевское в период с октября 2021 по октябрь 2023 гг. происходил интенсивно. Средняя продолжительность биологической пробы составила $15,0 \pm 2,02$ суток, с амплитудой колебания от 7 до 17 суток.

Три из проведенных биологических проб закончились досрочно, а часть животных доживали до конца эксперимента. Наименее продолжительным опытом длительностью семь суток стал эксперимент с рыбой, выловленной в августе 2022 года. Отмечено, что латентный период до момента проявления неспецифических клинических признаков «гаффской» болезни, указывающих на положительную биологическую пробу зарегистрирован в течение $5,0 \pm 1,38$ суток, с вариацией от двух до девяти суток. Самое быстрое их развитие наблюдали в марте и августе 2022 года – двое суток. Наиболее длительный латентный период зафиксирован в эксперименте, который проводили в июне 2022 года в этом опыте латентный период длился девять суток. Анализируя длительность латентного периода установлено, что за два года исследований (за исключением биопробы, проведенной в августе 2022 года) происходит увеличение латентного периода.

Рыба, с которой проводили эксперименты, была выловлена в октябре, феврале, июне и августе. Две биологические пробы, проведенные в октябре, отличаются по продолжительности латентного периода. Отмечено, что более поздняя биопроба характеризуется удлинением латентного периода, что вероятно свидетельствует об ослаблении токсического процесса.

Продромальный период продолжался в течение $12,0 \pm 1,38$ суток, с диапазоном от 7 до 15 суток. Гибель подопытных животных наблюдали на

14,95±0,82 сутки. Интенсивное течение биопробы в августе можно объяснить токсичностью рыбы, вызванной действием факторов, способствующих образованию и накоплению токсина «гаффской» болезни. Среди таких факторов максимальное прогревание водоема в июле и развитие токсичных сине-зеленых водорослей (цианобактерий), которые вызывают цветение воды и разрастание растений с ядовитыми свойствами.

При сопоставлении симптомов, полученных при проведении биологических проб со скормливанием подопытным животным рыбы, выловленной в разное время года, можно сказать, что прослеживается стойкое замедление проявления симптомов, что свидетельствует об уменьшении концентрации токсина в рыбе.

2.2.2 Озеро Ишменевское

Озеро Ишменевское Тобольского района неблагополучно по «гаффской» болезни с февраля 2021 года. Наблюдениями установлено, что токсический процесс в период с октября 2021 по октябрь 2023 гг. в озере Ишменевское происходит интенсивно. Средняя продолжительность биологической пробы составила 16,60±0,40 суток, с амплитудой колебания от 16 до 18 суток.

Латентный период в проведенных биопробах длился 4,40±0,93 суток, с вариацией от двух до семи суток. Более раннее проявление клинических признаков совпадает с таковыми при биологической пробе с рыбой, выловленной из озера Андреевское. Самое быстрое их развитие наблюдается в августе 2022 года – двое суток. Продромальный период продолжался в течение 11,4±1,44 суток, с диапазоном от 7 до 15 суток. Гибель первых подопытных животных наблюдали на 15,67±0,50 суток.

Отмечено, что тяжесть проявления специфических симптомов уменьшалась. Увеличился период появления конъюнктивита и изменился характер истечений, они становились менее выраженными. Свойственные «гаффской» болезни позы «треугольника» и «лягушки» - в эксперименте, проведенном в октябре 2023 года не успевали появиться за период эксперимента, у мышей наблюдалась лишь небольшая горбатость в последние сутки опыта.

Незначительное отличие в сроках проявления общих и специфических симптомов вероятно связано с нарастанием концентрации токсина в озере Ишменевское, так как токсический процесс в нем начался позже, чем в озере Андреевское.

2.3 Определение роли водных и прибрежно-водных высших растений в возникновении алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии

При действующей вспышке в Тюменской области большое внимание уделяли произрастающим на озерах ядовитым растениям. Установлено, что в озере Андреевское произрастает 36 видов растений, а в Ишменевском – 40 (Глазунова, Л. А. и соавт., 2024). При сравнении флоры озер Андреевское и Ишменевское, был выделен ряд растений, обладающих токсичными свойствами - хвощ речной, белокрыльник болотный, кубышка желтая и кувшинка чисто-белая, а также растения, произрастающие на них в большом количестве - горец земноводный и камыш озерный. Белокрыльник и хвощ встречается на озерах в

составе растительных группировок, но не образуют моновидных сообществ (Глазунова, Л. А. и соавт., 2024). Кубышка желтая образует моновидные прерывистые заросли по берегу озера Ишменевского; а кувшинка чисто-белая встречается только на озере Андреевском в виде обособленного фитоценоза у южного берега. С использованием данных растений были проведены биологические пробы на лабораторных белых мышах.

2.3.1 Определение роли горца земноводного *Persicaria amphibia* (L.) в возникновении алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии

При скормливанием лабораторным мышам рыбы, содержащейся в аквариумах с детритом горца земноводного, были зафиксированы пугливость (n-1) и незначительная взъерошенность волосяного покрова (n-1), что является единственным схожим симптомом с таковыми при «гаффской» болезни. Потеря массы тела подопытных животных в течении эксперимента, составила $30,59 \pm 1,50\%$ Других клинических признаков и гибели мышей в эксперименте не наблюдали.

Исходя из полученных данных, можно судить об отсутствии токсичности горца земноводного, и вследствие этого, о его непричастности к образованию токсина «гаффской» болезни.

2.3.2. Определение роли камыша озерного *Schoenoplectus lacustris* (L.) в возникновении алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии

Первым и единственным клиническим признаком, полученным в данной опытной группе, были незначительные взъерошенность волосяного покрова и горбатость на семнадцатый день опыта. Снижение массы тела у животных подопытной группы составило $43,38 \pm 2,32\%$.

Несмотря на то, что оба этих симптома являются характерными для «гаффской» болезни, нет основания предполагать причастность камыша озерного к образованию токсина в водоемах в виду позднего развития этих признаков, отсутствия других симптомов, а также гибели подопытных животных.

2.3.3 Определение роли хвоща топяного, или речного *Equisetum fluviatile* L. в возникновении алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии

Первые признаки – взъерошенность и загрязненность волосяного покрова, пугливость замечены на седьмой день опыта. Перечисленные признаки были отмечены у всех животных опытной группы. Одно и двусторонний конъюнктивит регистрировали у 40% подопытных животных.

Начиная с девятого дня у животных опытной группы началось быстрое развитие клинической картины. Животные стали более пугливы, снизилась их двигательная активность. Часть животных начала принимать позу «треугольника», которая является одним из основных признаков «гаффской» болезни, в это же день одна мышь погибла. Всего за период эксперимента пало 60% мышей. Все павшие животные за несколько часов до гибели принимали позу «лягушки». Вес подопытных животных снизился в среднем на $23,53 \pm 5,42\%$.

Отличным от «гаффской» болезни признаком, стало наличие иктеричности кожных покровов, которая ярко выражалась в желтушности кожи ушей и хвоста. Также у части животных наблюдалось выделения ярко-желтой мочи.

При проведении вскрытия было обнаружено потемнение скелетной мускулатуры, по сравнению с группой контроля, что указывает на повреждение мышечной ткани. При патоморфологическом исследовании мускулатуры обнаружены отеки и закрученность миосимпласта, то есть признаки рабдомиолиза, характерные для «гаффской» болезни. На микроскопическом уровне у всех животных опытной группы выявили некротический нефроз, сопровождающий «гаффскую» болезнь.

Исходя из представленных фактов, предполагаем, что токсин хвоща речного может влиять на образование токсина «гаффской» болезни, однако не является единственной причиной его возникновения.

2.3.4. Определение роли белокрыльника болотного *Calla palustris* L. в возникновении алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии

Симптомы токсикоза в этой группе развивались быстрее и проявлялись ярче. Первые клинические признаки появились на пятые сутки опыта - у большинства животных опытной группы зафиксированы признаки взъерошенности и загрязненности волосяного покрова, а также тремор и малоподвижность. В дальнейшем, взъерошенность и загрязненность волосяного покрова наблюдали у всех животных опытной группы.

Развитие симптомов в этой группе происходило стремительно и на шестой день опыта была зафиксирована первая гибель мыши в этой группе, а к четырнадцатым суткам погибли все подопытные животные. При этом классических предвестников скорой гибели - позы «треугольника» и «лягушки», которые регистрируются при «гаффской» болезни, отмечено не было. Однако тремор и шаткость походки, вероятно связанные с рабдомиолизом, присутствовали. У остальных животных за несколько дней до гибели регистрировали позу «лягушки» и позу «треугольника». У 40% животных был отмечен гнойный конъюнктивит и блефароптоз. Вес животных опытной группы за период эксперимента снизился на $23,06 \pm 4,27\%$.

Патологоанатомическая и патоморфологическая картина была представлена изменениями в печени. Она представлялась более упругой по консистенции, красно- или светло-коричневого цвета, также отмечали уменьшение ее относительной массы по сравнению с контрольными группами. Микроскопически был выявлен некротический нефроз в одном случае.

Исходя из сходства клинического проявления, можно предположить, что токсин белокрыльника болотного может быть связан с образованием токсина, который вызывает возникновение «гаффской» болезни.

2.3.5. Определение роли кувшинки чисто-белой *Nymphaea candida* J. Presl et C. Presl в возникновении алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии

Первые клинические признаки, схожие с проявлением «гаффской» болезни появились на шестой день эксперимента, когда у 20% подопытных животных

отметился признак взъерошенности волосяного покрова. У остальных животных группы данный признак зафиксировали на десятый день опыта. Двухсторонний конъюнктивит зарегистрирован на десятый день эксперимента у 20% животных.

На шестнадцатый день опыта у 20% животных зарегистрированы характерные позы – «треугольника» и «лягушки», и снижение реакции на внешние раздражители, гибель зарегистрирована на 17 сутки. Остальные животные не погибли. Снижение массы тела подопытных животных составило $26,06 \pm 2,09\%$

При проведении патоморфологического исследования трупов подопытных животных не было выявлено значимых изменений.

Учитывая, что кувшинка чисто белая произрастает только в озере Ишмневское, симптомы, схожие с признаками «гаффской» болезни, были выявлены лишь в единичных случаях и не обнаружено патоморфологических изменений, роль кувшинки чисто белой в возникновении АТПМ не определена.

2.3.6. Определение роли кубышки желтой *Nuphar lutea* (L.) в возникновении алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии

На девятый день эксперимента у одного подопытного животного был обнаружен первый типичный для «гаффской» болезни признак – взъерошенность волосяного покрова, всего этот признак выявляли у 60% животных этой группы. На одиннадцатые сутки эксперимента у 20% мышей зафиксировали блефароптоз, к которому в дальнейшем присоединился конъюнктивит. Вес животных этой группы снизился на $15,13 \pm 1,84\%$. Гибели животных в эксперименте не отмечали.

При патологоанатомическом исследовании мышей, участвовавших в эксперименте по определению роли кубышки желтой в развитии «гаффской» болезни, были выявлены горбатость (n-1) и конъюнктивит (n-1). При микроскопическом исследовании в почках выявили зернистую дистрофию, однако внешних изменений обнаружено не было.

Учитывая, что кубышка желтая произрастает только в озере Андреевское, симптомы, схожие с признаками «гаффской» болезни, были выявлены лишь в единичных случаях и выявлена зернистая дистрофия нефрогенной ткани, роль кубышки желтой в возникновении АТПМ не определена.

ВЫВОДЫ

1. При проведении биологических проб при диагностике «гаффской» болезни определены следующие клинические признаки: взъерошенность и загрязненность волосяного покрова, конъюнктивит и блефароптоз, поза «лягушки» и поза «треугольника». Время гибели животных подопытных групп варьировало от 7 до 18 суток. Снижение массы тела у подопытных животных составило $25,86 \pm 0,83\%$, контрольных животных - $19,32 \pm 2,39\%$.

2. Средняя продолжительность биологической пробы с рыбой, выловленной из озера Андреевское Тобольского района Тюменской области, составила $15,0 \pm 2,02$ суток, с амплитудой колебания от 7 до 17 суток. Латентный период составил $5,0 \pm 1,38$ суток, продромальный период $12,0 \pm 1,38$ суток. Гибель первых подопытных животных наблюдали на $14,95 \pm 0,82$ сутки. Средняя продолжительность биологической пробы с рыбой, выловленной из озера Ишмневское Тобольского района Тюменской области, составила $16,60 \pm 0,40$

суток. Латентный период составил $4,40 \pm 0,93$ суток, продромальный период продолжался в течение $11,4 \pm 1,44$ суток. Гибель первых подопытных животных наблюдали на $15,67 \pm 0,50$ сутки.

3. Функциональные изменения у белых мышей при биологической пробе на «гаффскую» болезнь характеризовались выраженной лейкопенией и моноцитопенией (озеро Андреевское), лимфоцитопенией, моноцитозом и гранулоцитозом (озеро Ишменевское). У всех животных в эксперименте фиксировали выраженную эритропению, гипогемоглобинемию и тромбоцитопению.

4. Основными органами, поражающимися токсином «гаффской» болезни, являются скелетная мускулатура, печень, желудок и почки. Гистологически выявлены некротические изменения в тканях и органах и лимфоидная инфильтрация пораженных органов.

5. За два года исследований отмечено увеличение длительности биологических проб, проявление клинических признаков стало менее выраженным, что свидетельствует о снижении токсической нагрузки на водные биоресурсы и самоочищение водоемов.

6. Интенсивность токсического процесса увеличивается после максимального прогревания воды в неблагополучных водоемах и активизации процессов токсинообразования: развития токсичных сине-зеленых водорослей (цианобактерий) и разрастания растений с ядовитыми свойствами.

7. Установлено, что горец земноводный и камыш озерный не способны вызывать симптомы «гаффской» болезни. Сомнительный результат получен при изучении влияния кубышки желтой и кувшинки чисто-белой. Зарегистрированы признаки взъерошенности волосяного покрова, снижение двигательной активности, конъюнктивит и блефароптоз у отдельных животных. Характерные признаки АТПМ - позу «лягушки» и позу «треугольника», и гибель наблюдали у одного животного при скармливании рыбы, выращенной с детритом кувшинки чисто-белой. Патоморфологические исследования не выявили подтверждения причастности этих растений к образованию токсина «гаффской» болезни.

8. Клиническую картину «гаффской» болезни фиксировали при биологических пробах с белокрыльником болотным и хвощом речным, топяным. У подопытных животных регистрировали конъюнктивит, взъерошенность и загрязненность волосяного покрова, снижение двигательной активности, тремор и характерные для «гаффской» болезни позы «лягушки» и «треугольника». Патоморфологические исследования подтвердили признаки рабдомиолиза и некротический нефроз при скармливании рыбы, выращенной с детритом хвоща речного, и гепатотоксическое и нефротоксическое действие белокрыльника болотного.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

При диагностике «гаффской» болезни учитывать клинические признаки: взъерошенность и загрязненность волосяного покрова, конъюнктивит и блефароптоз, поза «лягушки» и поза «треугольника». Гибель животных наблюдается в течение 7 до 18 суток. Латентный период АТПМ у белых мышей составляет 4,4-5,0 суток, продромальный период 11,4-12,0 суток. С течением времени от момента регистрации вспышки интенсивность клинических признаков

снижается, сроки периодов болезни удлиняются, что связано со снижением токсической нагрузки на водные биоресурсы и самоочищением водоемов.

Стремительное течение и яркие симптомы «гаффской» болезни регистрируются после прогревания воды в неблагополучных водоемах и активизации процессов токсинообразования: развитие токсичных сине-зеленых водорослей (цианобактерий) и разрастание растений с ядовитыми свойствами.

При мониторинге «гаффской» болезни и обследовании водоемов обращать особое внимание на наличие в составе водной и прибрежно-водной растительности белокрыльника болотного – *Calla palustris* L., хвоща топяного, или речного – *Equisetum fluviatile* L., кубышки жёлтой – *Nuphar lutea* (L.) Smith и кувшинки чисто-белой – *Nymphaea candida*.

РЕКОМЕНДАЦИИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для выяснения этиологических факторов образования токсина «гаффской» болезни необходимо проводить дальнейшие исследования токсичности водных растений, произрастающих в неблагополучных водоемах. Для разработки специфических мер терапии «гаффской» болезни необходимо детальное изучение патоморфологических изменений. Для сохранения рыбопродуктивности водоемов, длительно являющихся неблагополучными по «гаффской» болезни и из-за отсутствия вылова, необходим способ нейтрализации токсина в рыбе, и разработка рекомендации по оздоровлению неблагополучных по АТПМ водоемов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ АВТОРОМ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. Радиологические исследования водоемов, неблагополучных по «гаффской» болезни / Глазунова, Л. А., Шаруха, Г. В., Распопова, Ю. И., Глазунов, Ю. В., **Гальцева, А. А.**, Денисов, П. М., Юрченко, А. А. // АПК: инновационные технологии. – 2022. – № 2. – С. 20-29. – DOI 10.35524/2687-0436_2022_02_20.

2. Клиническое проявление гаффской болезни у лабораторных животных / Глазунова, Л. А., Столбова, О. А., Глазунов, Ю. В., Никонов, А. А., Зырянова, Н. А., Калугина, Е. Г., Юрченко, А. А., Устюгова, Д. А., Михайлов, М. В., **Гальцева, А. А.** // Ветеринария. – 2022. – № 11. – С. 55-60. – DOI 10.30896/0042-4846.2022.25.11.55-60.

3. Ретроспективный анализ случаев вспышек «гаффской» болезни (обзор литературы) / **Гальцева, А. А.**, Савченко, А. А., Глазунова, Л. А., Распопова, Ю. И. // АПК: инновационные технологии. – 2024. – № 3(66). – С. 6-22. – DOI 10.35524/2687-0436_2024_03_06.

4. Экспериментальное изучение роли белокрыльника болотного *Calla palustris* L. при ачирской вспышке гаффской болезни / Глазунова, Л. А., Литвиненко, А. И., Бабушкин, А. А., Столбова, О. А., Глазунов, Ю. В., Литвиненко, Л. И., Никонов, А. А., **Гальцева, А. А.**, Зенкович, П. А., Михайлов, М. В. // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. – 2024. – № 4(52). – С. 622-629. – DOI 10.36871/vet.san.hyг.ecol.202404019.

5. Экспериментальное изучение роли хвоща *Equisetum fluviatile* L. При ачирской вспышке «гаффской» болезни / Глазунова, Л. А., Литвиненко, А. И., Бабушкин, А. А., Столбова, О. А., Глазунов, Ю. В., Литвиненко, Л. И., Никонов, А. А., Гальцева, А. А., Зенкович, П. А., Савченко, А. А. // Вестник КрасГАУ. – 2024. – № 3(204). – С. 90-98. – DOI 10.36718/1819-4036-2024-3-90-98.

6. Глазунова, Л. А., Столбова, О. А., Веремеева, С. А., Гальцева, А. А., Михайлов, М. В. Значение белокрыльника болотного *Calla palustris* L. в возникновении ачирской вспышки «гаффской» болезни // Вестник КрасГАУ. 2025. № 3. С. 97–105.

Материалы, опубликованные в других журналах и сборниках конференций

7. Гальцева, А. А. К вопросу об этиологии «гаффской» болезни (обзор литературы) / Гальцева, А. А., Глазунова, Л. А. // Сборник трудов LVI Студенческой научно-практической конференции «Успехи молодежной науки в агропромышленном комплексе», Тюмень, 12 октября 2021 года. Том Часть 2. – Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2021. – С. 23-29.

8. Гальцева, А. А. О гипотезах патогенеза «гаффской» болезни / Гальцева, А. А. // Интеграция науки и образования в аграрных вузах для обеспечения продовольственной безопасности России: сборник трудов национальной научно-практической конференции, Тюмень, 01–03 ноября 2022 года. – Тюмень: Государственный аграрный университет Северного Зауралья, 2022. – С. 18-24.

9. Гальцева, А. А. Влияние физических факторов на токсин, вызывающий «гаффскую» болезнь (обзор литературы) / Гальцева, А. А. // Мир Инноваций. – 2023. – № 3(26). – С. 7-12.

Объекты интеллектуальной собственности

10. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2023624847 Российская Федерация. «Влияние физических факторов на токсин, вызывающий алиментарно-токсическую пароксизмальную миоглобинурию («гаффскую болезнь»): № 2023624209: заявл. 24.11.2023: опубл. 21.12.2023 / Глазунова, Л. А., Никонов, А. А., Михайлов, М. В., Глазунов, Ю. В., Гальцева, А. А., Петрова, М. В., Скорик, О. В.; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Государственный аграрный университет Северного Зауралья».

Рекомендации

11. Рекомендации по диагностике и профилактике «гаффской» болезни / Л.А. Глазунова, А.И. Литвиненко, О.А. Столбова и др. – Рассмотрено и утверждено на заседании научно-технического совета при Департаменте агропромышленного комплекса Тюменской области, протокол №8 от 14.12.2022 – Тюмень, 2022. – 126 с.