

В совет по защите диссертаций на соискание учёной степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 35.2.034.02, созданный на базе ФГБОУ ВО «Санкт- Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д. 5

## ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора ветеринарных наук, профессора, заведующего кафедрой терапии и фармакологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет» Оробца Владимира Александровича на диссертационную работу Гальцевой Арины Андреевны «Клиническо-экспериментальное изучение алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии («гаффской» болезни) на белых мышах», представленную к защите в диссертационный совет 35.2.034.02 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины» на соискание учёной степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.1. Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

### **Актуальность темы исследования.**

Актуальность диссертационного исследования А.А. Гальцевой является многофакторной и обоснована совокупностью научных, практических и социально-экономических причин, которые можно систематизировать по следующим ключевым направлениям. «Гаффская болезнь» (АТПМ) остается одним из самых загадочных заболеваний спустя почти 100 лет после первой документально зафиксированной вспышки. Несмотря на множество выдвинутых гипотез, ни одна из них не получила однозначного экспериментального подтверждения и не является универсальной для всех случаев. Отсутствие знаний о конкретном этиологическом агенте блокирует разработку эффективных мер специфической профилактики, методов детоксикации водоёмов и этиотропной терапии. Исследование А.А. Гальцевой направлено на восполнение этого критического пробела. В настоящее время единственным достоверным методом диагностики неблагополучия водоёма является биологическая пробы на лабораторных животных, регламентированная методиками 2003 года. Существующие методические указания содержат краткое и неполное описание клинической картины у животных, не учитывают интенсивность токсического процесса, что может приводить к ошибкам интерпретации и запоздалому реагированию. Работа направлена на усовершенствование и детализацию диагностического алгоритма. На момент проведения исследований на территории

Тюменской области действовала так называемая «Ачирская вспышка», затрагивающая несколько озёр (Андреевское, Ишменевское и др.), которые являются рыбохозяйственными. Это создавало непосредственную эпидемиологическую и ветеринарно-санитарную угрозу для местного населения. Изучение текущей вспышки «в режиме реального времени» предоставило уникальную возможность получить новые данные и апробировать разрабатываемые подходы.

Исследование не является простым повторением предыдущих работ. Его актуальность подкреплена принципиально новыми подходами: комплексное изучение роли водных и прибрежно-водных растений в условиях действующей вспышки с постановкой воспроизводимых экспериментов, динамический мониторинг интенсивности токсического процесса, позволяющий не только констатировать факт заражения, но и оценивать его динамику и прогнозировать развитие ситуации, разработка элементов системы мониторинга, включая критерии для установления и прогнозирования вспышек - это переводит проблему из плоскости констатации в плоскость управления рисками.

Таким образом, диссертационная работа Гальцевой А.А. является своевременным и высокоактуальным исследованием, направленным на решение фундаментальных и прикладных задач в области ветеринарной токсикологии, экологии и безопасности пищевых продуктов. Полученные результаты позволяют перейти от пассивной регистрации вспышек «гаффской» болезни к активному мониторингу, научно обоснованной профилактике и совершенствованию диагностики, что в конечном итоге способствует снижению рисков для здоровья населения и охране здоровья животных.

#### **Новизна исследований и ценность полученных результатов.**

Новизна работы А.А. Гальцевой носит комплексный характер и заключается в получении принципиально новых данных по ключевым аспектам «гаффской» болезни. Впервые в контролируемых экспериментальных условиях доказана причастность конкретных видов водной и прибрежно-водной флоры к возникновению вспышек болезни. Впервые предложены и научно обоснованы элементы системы, позволяющей не только констатировать, но и прогнозировать вспышки заболевания на основе мониторинга специфической растительности и сезонных факторов (прогревание воды). Усовершенствована методика биологической пробы за счет введения новых, более чувствительных и достоверных критериев оценки. Разработана оригинальная методика по определению источника токсических веществ в водных растениях, использующая модель искусственного выращивания рыбы в аквариумах с детритом исследуемых растений.

Ценность полученных результатов заключается в том, что диссертация вносит решающий вклад в понимание причин болезни, предоставляет инструменты

для её диагностики и прогнозирования и закладывает основу для разработки эффективных профилактических мероприятий. Это исследование – яркий пример того, как фундаментальные изыскания напрямую служат решению актуальных практических задач по обеспечению безопасности продовольствия и охране здоровья населения.

### **Значимость результатов диссертационного исследования для науки и практики.**

Диссертационное исследование А.А. Гальцевой обладает высокой и многоплановой значимостью, внося существенный вклад как в развитие фундаментальных знаний, так и в решение острых практических проблем.

Теоретическая значимость диссертации А.А. Гальцевой заключается в переходе от разрозненных наблюдений и гипотез о «гаффской» болезни к систематизированной, доказательной научной концепции. Работа вносит существенный вклад в такие фундаментальные дисциплины, как ветеринарная токсикология, патологическая физиология и анатомия, и экология болезней, предоставляя новые знания об этиологии, патогенезе и диагностике этого опасного заболевания. Эти новые знания являются основой для дальнейшего развития как теоретической, так и прикладной науки в данной области.

Практический результат выполненного диссертационного исследования заключается в разработке системы диагностики и мониторинга «гаффской» болезни. Усовершенствованная методика с четкими клиническими критериями и временными рамками позволяет ветеринарным лабораториям быстрее, точнее и объективнее ставить диагноз, оперативно реагируя на угрозу. Практические рекомендации по мониторингу конкретных видов растений и учету сезонных факторов позволяют региональным ветеринарным службам и органам Росрыболовства перейти от пассивной регистрации вспышек к активному прогнозированию и профилактике. Результаты работы напрямую внедрены в практическую деятельность Тюменской областной ветеринарной лаборатории и Управления ветеринарии Тюменской области. Разработка подходов к оздоровлению неблагополучных водоемов направлена на сохранение и восстановление рыбопродуктивности, что имеет прямое экономическое значение для рыболовецких хозяйств и региона в целом. Материалы диссертации внедрены в учебные программы аграрного университета и медицинского ВУЗа, что способствует подготовке высококвалифицированных кадров ветеринарных врачей, ихтиопатологов и токсикологов, вооруженных современными знаниями о заболевании.

### **Достоверность и обоснованность результатов диссертационного исследования.**

Достоверность и обоснованность научных результатов в диссертации обеспечивается комплексом методологических подходов. Все применённые

методы (биологическая проба, патоморфология, гистология, гематология, статистический анализ) были адекватны и целенаправленно подобраны для решения конкретных задач исследования. Основной метод – биологическая проба на белых мышах – проводился в строгом соответствии с официально утверждёнными «Методическими указаниями...» (МУ 13-5-2/2015), что гарантирует стандартизацию и воспроизводимость экспериментов. Работа с лабораторными животными регламентирована Директивой EU 2010/63, а патологоанатомические исследования – ГОСТом Р 57547-2017, что исключает артефакты, связанные с некорректным обращением с биологическим материалом. В экспериментах было задействовано 119 белых мышей, что является достаточным для получения статистически значимых результатов в исследованиях такого типа. Проведено 5 серий классических биологических проб для изучения клиники и интенсивности токсического процесса и 6 серий проб для изучения роли растений. Для исследований применялась современная аппаратура: гематологический анализатор Mindray BC-2800Vet, микротомы, микроскопы Levenhuk с цифровой фиксацией. Сочетание прижизненных (клиническое наблюдение, гематология) и посмертных (патологоанатомия, гистология) методов позволило всесторонне оценить воздействие токсина и получить взаимодополняющие данные. Достоверность различий между опытными и контрольными группами определялась при уровне значимости  $p < 0,05$ , что является общепринятым стандартом в биомедицинских исследованиях.

Полученные данные логически взаимосвязаны. Например, клинические признаки (паралич, позы) подтверждаются патоморфологическими данными (рабдомиолиз, некроз мышц), а гематологические изменения (анемия, тромбоцитопения) коррелируют с поражением почек и печени, выявленным гистологически. Схожая клиническая и патоморфологическая картина, воспроизведённая как при скармливании рыбы из природных очагов, так и при использовании рыбы, выращенной с детритом определённых растений (хвощ, белокрыльник), убедительно доказывает причинно-следственную связь.

Таким образом, достоверность и обоснованность результатов диссертационного исследования Гальцевой А.А. являются высокими и не вызывают сомнений. Они обеспечены корректной методологией, значительным и репрезентативным объёмом экспериментального материала, строгим контролем условий проведения опытов, применением современных инструментальных методов, статистической доказательностью, широкой апробацией и успешным внедрением.

#### **Апробация результатов исследования.**

Апробация результатов исследования А.А. Гальцевой является комплексной, многоуровневой и высокоэффективной. Она не только формально удовлетворяет требованиям ВАК, но и отражает реальный вклад соискателя в научную дискуссию

и практическую деятельность. Результаты работы прошли успешную проверку и получили признание как в академической среде (на конференциях и конкурсах), так и среди практиков (в оперативном штабе). Это является весомым доказательством актуальности, новизны и практической значимости выполненной диссертационной работы.

### **Личный вклад соискателя в разработку научной проблемы.**

Личный вклад А.А. Гальцевой в проведенное исследование является ведущим, комплексным и охватывает все ключевые этапы научной работы – от постановки проблемы до интерпретации результатов и внедрения выводов. Указанная доля участия - более 80% является полностью обоснованной. А.А. Гальцева не являлась рядовым исполнителем, а выступала как основной движущий центр исследовательского процесса на этапах планирования экспериментов, их непосредственного проведения, клинического наблюдения, анализа, интерпретации и представления научному сообществу. Ее вклад является определяющим для получения всех ключевых научных результатов, изложенных в диссертации.

### **Структура и содержание диссертации.**

Диссертация изложена на 168 страницах компьютерного текста и оформлена в строгом соответствии с требованиями ВАК. Структура работы логична и включает все необходимые разделы: введение, обзор литературы, собственные исследования, результаты исследований, обсуждение полученных результатов, выводы, практические предложения, список использованной литературы. Работа иллюстрирована 26 таблицами и 64 рисунками. Список литературы включает 181 источник, в том числе 60 иностранных авторов.

Во «Введении» диссидентом рассматриваются актуальность и целесообразность изучаемого вопроса, степень разработанности темы исследования, приводятся поставленные на разрешение цели и задачи исследований, показана научная новизна, теоретическая и практическая ценность работы, методология и методы исследования, основные положения, выносимые на защиту, степень достоверности и апробация результатов, публикации по результатам исследований.

Раздел «Обзор литературы» диссертации Гальцевой А.А. показывает его как фундаментальный, систематизированный и критически осмысленный анализ существующих знаний по проблеме «гаффской» болезни. Этот раздел не является формальным пересказом источников, не только демонстрирует эрудицию автора и умение работать с большими массивами информации, но и выполняет главную задачу – служит прочной теоретической базой для обоснования актуальности и планирования собственного исследования. Критический анализ литературы позволил автору точно определить «узкие места» в проблеме и сформулировать цели своей работы, направленные на их преодоление, в частности – на

экспериментальную проверку роли водных растений в этиологии «гаффской» болезни.

Глава «Собственные исследования» состоит из двух разделов: «Материалы и методы проведения исследований» и «Результаты собственных исследований». Анализ раздела «Материалы и методы исследований» диссертации Гальцевой А.А. показывает его высокую проработанность и соответствие стандартам экспериментальной биологии.

Анализ раздела «Результаты собственных исследований» диссертации Гальцевой А.А. показывает его как систематизированную, методически проработанную и содержательную часть работы, которая является ядром всего исследования. Раздел логически выстроен и полностью соответствует поставленным целям и задачам. В п. 2.3.1. приведены выявленные новые симптомы, систематизированные с классическими, дан количественный анализ частоты и сроков появления симптомов, что ценно для диагностики. Впервые полученные данные об изменениях крови у мышей при «гаффской» болезни изложены в п. 2.3.2. В п.2.3.3. детально описаны и проиллюстрированы макро- и микроскопические изменения. Чётко показаны органы-мишени: скелетные мышцы (рабдомиолиз), печень, почки, желудок. В п. 2.3.4. изложены результаты динамического мониторинга токсичности двух озёр за 2 года. Установлена сезонная динамика (усиление токсичности летом) и общая тенденция к снижению интенсивности процесса, что имеет практическое значение для прогнозирования. Экспериментально доказанная роль хвоща речного и белокрыльника болотного в возникновении симптомокомплекса, идентичного «гаффской» болезни и меньшая роль или её отсутствие для других растений, подкрепленная не только клиникой, но и патоморфологией приведена в п. 2.3.5. В 2.3.6. показана практическая реализация результатов: разработка элементов мониторинга и рекомендаций.

Раздел «Собственные исследования» является завершённым, научно обоснованным и логически стройным. Он полностью решает поставленные задачи и служит прочным фундаментом для выводов и практических рекомендаций диссертации.

Проведенное обсуждение результатов является логическим завершением диссертационного исследования, в котором эмпирические данные трансформируются в научные выводы и практические рекомендации. Раздел "Обсуждение результатов" не только качественно обобщает проведенную работу, но и выводит исследование на новый концептуальный уровень, задавая направления как для практической деятельности, так и для дальнейших научных изысканий в области изучения алиментарно-токсических заболеваний.

Заключение является логическим завершением работы, отражает решение всех поставленных задач. Выводы соответствуют результатам, отсутствуют неподтвержденные утверждения.

Раздел «Практические предложения» является завершающей и неотъемлемой частью диссертации, подтверждающей её высокую практическую значимость. Разработанный автором комплекс мер представляет собой готовый алгоритм для органов власти и надзора по снижению рисков, связанных с «гаффской болезнью», на территории Тюменской области и других регионов, сталкивающихся с данной проблемой. Раздел «Перспективы дальнейшей разработки темы» показывает понимание автором стратегии развития выбранного научного направления.

Рассматриваемая работа представляет собой системное изложение, анализ и обобщение объективно достоверных экспериментальных результатов и сведений. Для описания изучаемых процессов, автором обоснованно предложена адекватная терминология. Термины определены четко и однозначно, а их совокупность представляет собой взаимосвязанную систему.

#### **Соответствие диссертации и автореферата критериям «Положения о порядке присуждения ученых степеней».**

Диссертационная работа Гальцевой Арины Андреевны на тему «Клинико-экспериментальное изучение алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии («гаффской» болезни) на белых мышах» изложена в соответствии с критериями «Положения о порядке присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации 24.09.2013 г. № 842 и соответствует формуле научной специальности 4.2.1 Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

Автореферат в объеме 20 страниц компьютерного текста включает в себя основные разделы диссертации и их научное содержание. Заключение и практические предложения, представленные в автореферате и диссертации, не имеют отличий в контексте.

#### **Оценка содержания диссертации, ее завершенность в целом.**

Диссертация Гальцевой А.А. представляет собой законченное самостоятельное научное исследование, в работе представлен большой объем результатов, внедренных в производство. Результаты собственных исследований изложены последовательно и в соответствии с поставленными задачами, имеется достаточно подробное описание экспериментального материала, документированное таблицами, рисунками, а также гистологическими снимками с описанием.

#### **Подтверждение основных результатов диссертации в печати.**

Диссертационная работа соответствует требованиям, предъявляемым к кандидатским диссертациям, материалы диссертации достаточно освещены в печати, автором опубликовано 10 печатных работ, в том числе 6 в изданиях, включенных в перечень ВАК Российской Федерации; в статьях, написанных в соавторстве, доля материала автора составляет более 80%.

## **Замечания и вопросы.**

К диссертационной работе и автореферату принципиальных замечаний нет. При рецензировании работы возникло несколько вопросов, на которые хотелось бы услышать пояснения диссертанта:

1. Каким образом определяли интенсивность токсического процесса, происходящего в неблагополучных водоемах, и можно ли считать использованный набор критериев достаточным для построения сравнительной шкалы токсичности между разными водоемами и временными периодами?

2. По какому принципу были отобраны озера Андреевское и Ишменевское, и не взяты для изучения озера Иземетское и Эйхлыкуль, которые также были неблагополучны по «гаффской» болезни в период исследований? Были ли выбранные озера репрезентативной моделью для всей проблемы в регионе, или их отбор был обусловлен иными факторами

3. Какую роль в трансформации растительных субстратов и образовании токсина играет микробиом водоема и микробиом желудочно-кишечного тракта рыбы? Не является ли токсин продуктом не растения, а консорциума микроорганизмов, ассоцииированного с этим растением?

4. В исследованиях изучали токсичность тканей карася серебряного (*Carassius gibelio*), поскольку он является самым массовым видом. Обитают ли в данных неблагополучных водоемах другие виды рыб, и если да, то проводилась ли их оценка на предмет накопления токсина?

5. Отмечали ли Вы непосредственно миоглобинурию у лабораторных белых мышей при биотестировании, как это следует из названия болезни – алиментарно-токсическая пароксизмальная миоглобинурия? Если да, то какими методами это подтверждалось (визуально, лабораторно)? Если нет, то на основании каких именно патоморфологических изменений (рабдомиолиз, некротический нефроз) был сделан вывод о соответствии экспериментальной модели именно этому заболеванию?

В качестве пожелания хотелось бы увидеть в дальнейших работах моделирование возможности возникновения новых вспышек с учетом имеющихся данных.

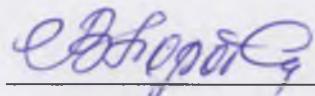
Указанные выше вопросы и замечания не снижают научной и практической ценности диссертации и не влияют на ее положительную оценку.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Диссертационная работа Гальцевой Арины Андреевны на соискание ученой степени кандидата ветеринарных наук на тему: «Клинико-экспериментальное изучение алиментарно-токсической пароксизмальной миоглобинурии («гаффской» болезни) на белых мышах» является законченной научно-квалификационной работой, в которой решена фундаментальная задача — установление и экспериментальное обоснование роли высшей водной растительности как

ключевого звена в этиологии «гаффской болезни», а также разработан комплекс практических инструментов для ее диагностики и мониторинга. По актуальности, научной новизне и практической значимости диссертация имеет существенное значения для ветеринарной науки, соответствует критериям, установленным п.9 «Положения о порядке присуждении ученых степеней», утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации 24.09.2013 г. № 842, а её автор Гальцева Арина Андреевна заслуживает присуждения искомой степени кандидата ветеринарных наук по специальности 4.2.1 Патология животных, морфология, физиология, фармакология и токсикология.

Заведующий кафедрой терапии и фармакологии Института ветеринарии и биотехнологий ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный аграрный университет», доктор ветеринарных наук (1.5.17.), профессор



Оробец Владимир Александрович

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный аграрный университет». 355017, Ставропольский к рай, Ставрополь, Зоотехническая, 12,  
Телефон: +7 (8652) 28-67-38;  
E-mail: [orobets@yandex.ru](mailto:orobets@yandex.ru)

Подпись Оробца В.А. заверяю:  
Проректор по научной работе и  
стратегическому развитию ФГБОУ ВО  
«Ставропольский ГАУ», профессор

«20» ноября 2023 года



Бобрышев Алексей Николаевич