

Российская академия сельскохозяйственных наук
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
Северо-Кавказский зональный
научно-исследовательский ветеринарный институт

На правах рукописи

Кочеткова Анастасия Юрьевна

**БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ПРИ
ДИРОФИЛЯРИОЗЕ СОБАК, ВЫЗВАННОГО *DIROFILARIA*
*IMMITIS***

диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

06.02.01-диагностика болезней и терапия животных, патология, онкология и
морфология животных

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
Ермаков Алексей Михайлович

Новочеркасск, 2016

Оглавление Стр.

Введение.....	4
1. Обзор литературы	10
1.1 Патогенетические механизмы сердечной недостаточности у собак, инвазированных <i>D. Immitis</i>	10
1.2 Диагностика дирофиляриоза.....	26
1.3 Эндогенная интоксикация.....	30
Глава 2. Собственные исследования	40
2.1 Материалы и методы исследования	40
2.1.1 Диагностика дирофиляриоза.....	42
2.1.2 Методика исследования общего анализа крови, мочи и биохимические исследования.....	46
2.1.3 Методики оценки уровня эндогенной интоксикации	48
2.2 Статистический анализ.....	51
Глава 3. Результаты исследования	52
3.1 Результаты общеклинического обследования собак.....	54
3.2 Оценка гомеостаза организма собак, инвазированных <i>D. immitis</i>	56
3.2.1 Общий клинический анализ крови.....	57
3.2.2 Показатели функциональных печеночных проб собак, инвазированных <i>D. immitis</i>	67
3.2.3 Показатели белкового обмена у собак, инвазированных <i>D. immitis</i>	73
3.2.4 Показатели углеводного обмена у собак, инвазированных <i>D. immitis</i>	77
3.2.5 Показатели эндогенной интоксикации у собак, больных дирофиляриозом..	82
3.2.6 Исследование общего клинического анализа мочи и соотношения в моче протеин/креатинина у собак больных <i>D. immitis</i>	90
3.3 Расчет экономической эффективности	93
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.	96
Выводы	101
Практические рекомендации:	103
Список литературы:	105

Приложение 120

Введение

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности.

Данные ряда авторов об эпидемиологии дирофиляриоза свидетельствуют, о распространении этого заболевания в большинстве стран мира, включая и Россию. Так дирофиляриоз обнаружен в 39 субъектах РФ (М.В.Сухова, 2002; С.Н. Шинкаренко, 2005; С.А.Веденеев, 2005; А.Ю. Медведев, 2007; А.Ю. Аракельян, 2008; Ю.Г. Бескровная, 2009; А.С. Журавлев, 2009; В.Б. Ястреб, 2009; А.М. Ермаков, И.В. Колодий, 2010; Т.Н. Сивкова, 2010; Н.В. Ярошенко, 2010; В.М. Кравченко, 2013). Собаки представляют высокую эпидемическую опасность, поскольку они являются хозяевами гельминтов, опасных для человека (В.Г. Ястреб, 2009).

Условия южных регионов России: наличие инвазии в популяции собак, высокая плотность комаров, являющихся переносчиками личинок паразита - создают угрозу для распространения инвазии. (V. Kartashev, S. Kartashov, A. Ermakov, I. Kolodiy, 2011).

Современные исследователи регистрируют у собак два вида возбудителя: *Dirofilaria immitis* и *Dirofilaria repens*; среди них более опасным является *D. immitis*. Преимущественной локализацией взрослых нематод *D. immitis* и вызываемых ими повреждений являются легочные артерии, что приводит к нарушениям гемодинамики в малом круге кровообращения. Следовательно, дирофиляриоз необходимо рассматривать как легочное заболевание, которое лишь на последних стадиях приводит к поражениям правых отделов сердца (И.В. Колодий с соавт., 2009).

Традиционно оценка функции сердца в ветеринарии проводится с применением электрокардиографии, эхокардиографии и морфо - функциональной оценки (рентгенографии). Эти методы требуют наличия оборудования, узкого специалиста, некоторых затрат времени, и, следовательно, стоимость их достаточно высока. В последние 10 лет главным источником информации для мониторинга состояния сердца животных стали биомаркеры, в основном

сердечный тропонин и натрийуретические пептиды. Однако сердечный тропонин и креатинкиназа (КФК) малоинформативны при хронических процессах. Натрийуретические пептиды максимально точно отражают миокардиальное напряжение в стенке левого желудочка, а при дирофиляриозе, как известно, изменения происходят в правых камерах сердца. Тем самым диктуется необходимость поиска более специфических тестов, либо показателей, изменения которых при дирофиляриозе носят определенный характер, что позволит их отнести к биомаркерам

Биомаркер применим в клинической практике, когда его количество изменяется в зависимости от развития определенных процессов, характеризующих заболевание, и, таким образом, появляется возможность говорить о наличии, тяжести и прогнозе болезни. К числу требований, предъявляемых к биомаркерам, относится стабильность, доступность и простота определения, низкая стоимость (К. Рейнольдс, М. Ойяма, 2009).

Актуальность проблемы взаимодействия организма хозяина и паразита, трудности своевременной диагностики тяжести течения заболевания и прогноза осложнений, вследствие полиморфизма развивающихся клинических синдромов, позволило сформировать цель данной работы

Цель исследования: найти биологические маркеры изменения гомеостаза и клеточного метаболизма, определить их сезонный характер у собак с сердечно-сосудистой недостаточностью, вызванной инвазией *D. immitis*.

Задачи исследования:

1. Провести сравнительное изучение показателей гомеостаза в моче и крови собак, больных дирофиляриозом с бессимптомным течением и средней тяжестью течения болезни.
2. Сравнить особенности изменений метаболизма у собак, больных дирофиляриозом с разной тяжестью течения заболевания.

3. Найти показатели эндогенной интоксикации, отражающие тяжесть течения дирофиляриоза у собак.

4. Установить клинико-лабораторные показатели для дифференциальной диагностики тяжести течения дирофиляриоза у собак.

Научная новизна. Впервые проведено комплексное изучение показателей гомеостаза и клеточного метаболизма у собак, инвазированных *D. immitis* с разной тяжестью течения гельминтоза.

Установлено, что морфологический состав лейкоцитов изменяется независимо от тяжести течения заболевания. Присутствие дирофилярий в крови собак сопровождается повышением числа палочкоядерных лейкоцитов, снижением числа моноцитов на фоне повышения эозинофилов.

Установлено, что изменения свободнорадикального окисления (СРО) в крови собак отражают тяжесть течения заболевания: при бессимптомном течении гельминтоза повышается активность супероксиддисмутазы (СОД), при средней тяжести течения многократно повышается активность СОД и каталазы.

В крови собак, инвазированных *D. immitis*, снижается содержание МСМ.

Научная гипотеза: при инвазии *D.immitis*, возникают метаболические нарушения, которые могут быть диагностически значимы и использоваться в качестве дополнительных биомаркеров тяжести течения данной патологии.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные результаты позволяют углубить знания о механизмах формирования адаптации организма собак к паразитозу и объясняют длительность бессимптомного течения заболевания, а также трудности его ранней диагностики.

Предложенный комплекс гематологических и биохимических показателей, позволяет повысить эффективность ранней клинико-лабораторной диагностики инвазии *D. immitis*. Установленные биохимические маркеры тяжести течения

заболевания позволяют использовать индивидуальный подход к лечению больных собак.

Методология и методы исследования. Методологической основой данного исследования является полное клинико-морфологическое, биохимическое и иммуноферментное исследование образцов крови у собак, с целью выявления дирофиляриоза. С помощью клинических и лабораторных методов обследовано 175 собак, поступивших в ветеринарную клинику «Центр» г. Ростова-на-Дону. Объект исследования: собаки породы немецкая овчарка обоих полов, кровь, моча.

Предмет исследования: маркеры изменения гомеостаза и клеточного метаболизма.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту: Инвазия *D. immitis* приводит к формированию полиорганной патологии, которая развивается в зависимости от длительности заболевания и степени инвазии, и находит отражение в клинико-лабораторных показателях.

Показатели эндогенной интоксикации (СОД, каталаза) достоверно коррелируют с тяжестью течения дирофиляриоза.

В результате адаптации организма собак к *D. immitis* проявляется активация первичного звена антиоксидантной защиты, что отражается в снижении уровня МСМ, наиболее выражено при средней тяжести течения инвазии.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность научных результатов и выводов исследования основано на том, что исходные данные были получены на специальном оборудовании в аккредитованных лабораториях, с помощью современных методик сбора и обработки информации. Материалы работы достаточно полно в доступных рецензированных источниках.

Результаты исследования и основные положения работы были доложены и обсуждены на крупных специализированных научных конференциях: на Международной конференции «Дифференциальная диагностика, лечение и

профилактика инфекционных и паразитарных болезней, актуальных для юга России», г. Ростов-на-Дону, 2015 г; XIV Российской научно-практической конференции с международным участием «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону», г. Ростов-на-Дону, 2015 г; IV научно-практической конференции «Проблемные вопросы служебной кинологии на современном этапе», г. Ростов-на-Дону, 2015г. Основные результаты исследования были представлены на ежегодных заседаниях ученого совета ГНУ СКЗНИВИ Россельхозакадемии 2011-2014 г.

Реализация результатов исследования. Результаты диссертации используются в практической работе ветеринарных клиник «Центр» в г. Ростове-на-Дону, «Вита» г. Ростове-на-Дону, «Донское бюро ветеринарных услуг» г. Ростове-на-Дону, в ветеринарной клинике «Вита» г. Шахты; в ветеринарной клинике «Айболит» г. Белая Калитва; в ветеринарной клинике «Любимец» г. Батайска; в ветеринарной клинике «Феникс» г. Батайска.

Материалы кандидатской диссертации используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедрах паразитологии, эпизоотологии, ветсанэкспертизы, терапии и пропедевтики ФГБОУ ВО «Донской государственной аграрный университет», ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет», ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. Кокова», ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет», ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный аграрный университет».

Публикации. Результаты исследования изложены в 13 научных статьях, 5 из которых опубликованы в рецензируемых журналах, рекомендованы ВАК.

Личный вклад соискателя. Представленная работа является материалом исследований автора с 2010 по 2015 годы. Часть исследований были совместно проведены с кандидатом биологических наук Колодий И.В.

Автор лично провел большую часть исследований и экспериментов, а также собрал, проанализировал и систематизировал полученные результаты. При этом часть научных трудов опубликована в соавторстве с сотрудниками Ростовского государственного медицинского университета, ФГБНУ СКЗНИВИ и ветеринарными врачами клиники «Центр» г. Ростов-на-Дону и г. Москва.

Доктора наук Ермаков А.М., Колмакова Т.С.; кандидат биологических наук Кирой Р.И.; кандидаты биологических наук Ермакова И.А., Колодий И.В.; кандидат ветеринарных наук Середя С.В.; ветеринарные врачи Живая С.С., Дутова Ю.Ю. в справках, представленных в диссертационный совет не возражают о частичном использовании полученных совместных результатов исследований в работе.

Объем и структура диссертации. Текст диссертации изложен на 132 страницах и состоит введения, обзора литературы, описания материалов и методов, описания результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка использованной литературы и приложений. Иллюстративный материал включает 12 таблиц, 11 диаграмм. Список использованной литературы содержит 138 источников; из них 91 отечественных, 47 зарубежных, прилагается список используемых сокращений.

1. Обзор литературы

1.1 Патогенетические механизмы сердечной недостаточности у собак, инвазированных *D. Immitis*

Дирофиляриоз (в переводе с латинского слова *diro* и *filum* означают «злая нить») – это трансмиссивное паразитарное заболевание, которое вызывается кардионематодой рода *Dirofilaria* и характеризуется сердечными, печеночными и почечными осложнениями. Это заболевание людей и плотоядных животных, вызываемое личиночной стадией возбудителя. Выделяют две формы данного заболевания – легочный (сердечный) дирофиляриоз, вызываемый *Dirofilaria immitis* и подкожный дирофиляриоз, вызываемый *Dirofilaria repens* [89].

Дирофилярии относятся к биогельминтам. Промежуточными хозяевами, которых являются комары. Известно, что более 60-ти видов комаров могут являться промежуточными хозяевами дирофилярий [112]. В Ростовской области переносчиками паразитов являются три вида комаров - *Aedes* (поражены на 31%), *Culex* (17%) и *Anopheles* (2,5%) [47]. По мнению F.Simon (2001) различия в степени зараженности комаров разных родов определены различиями в механизмах защиты двукрылых от паразитов и связаны со строением глоточного устройства, времени коагуляции крови при кровососании. В мире отмечается высокий процент распространения дирофиляриоза. Поэтому на сегодняшний день эта инвазия является одной из актуальных проблем в современной ветеринарии [130]. В настоящее время отмечается рост заболеваемости животных данным гельминтозом [49]. Дирофиляриоз наносит существенный ущерб, как физический-здоровью собак, также является фактором риска для заражения человека. Масштабность распространения паразитоза отмечается в южных в регионах страны [7].

Особую проблему дирофиляриоза создают высокая численность собак в крупных городах и недостаточная информированность населения о способе и

пути передачи заболевания комарами; увеличение числа бродячих животных; неконтролируемое их перемещение в природе и городах; изменение климата, что приводит к росту инвазии [49]. Другая сторона данной проблемы связана с активным перемещением людей совместно с животными, что способствует распространению инвазии в другие регионы, где обитают переносчики заболевания – комары [78]. Сохраняется и основной механизм поддержания численности паразитов - дирофиляриоз диких животных, которые являются источником заражения комаров и распространению на антропогенные территории. Этот факт поставил перед необходимостью включения данного гельминтоза в СанПиН 3.2.1333-03 "Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации" (МЗ России, 2003; Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава РФ, 2005) [72].

Дирофиляриоз диагностирован у 30 видов млекопитающих, домашних и диких псовых, кошачьих, а так же у куниц, обезьян, морских млекопитающих, грызунов и копытных [119]. Отмечается, что собаки поражаются чаще других животных, с более тяжелой степенью инвазии [102]. Вопреки усилиям, направленным на контроль и профилактику за дирофиляриозом собак, заболевание распространяется на территориях, которые ранее были свободны от данного гельминтоза [103].

Экологическую нишу дирофилярий представляют, прежде всего, собаки. В целом, в высокоэндемичных по данному заболеванию районах не выявляется разницы между полами, породами, длиной шерсти и активностью собак, в то время, как размер, возраст и содержание (комнатное/выгульное) имеют критическое значение, так как риск заболевания значительно выше для собак больших размеров (они более привлекательны для москитов), для собак старше трех лет и для собак выгульного содержания [101, 102, 93].

Наиболее интенсивная миграция микрофилярий в периферические сосуды кожи больных животных наблюдается в утреннее и вечернее время, когда промежуточные хозяева наиболее активно нападают на прокормителей, в том числе собак и человека. В Ростовской области дирофиляриоз встречается

повсеместно и характеризуется природной очаговостью с разной степенью интенсивности инвазии у собак. Наименьший процент обнаружения инвазированных животных зафиксирован на территории г. Шахты (9%), а более высокий процент регистрировался в г. Новочеркасске (45,8%) [82]. В Ростове-на-Дону зараженность собак колеблется от 3,6 до 30,0% на отдельных территориях города [49, 87].

По данным за 2011 г. наиболее высокой частота обнаружения микрофилярий оказалась в Новочеркасске – 38,3%, почти в два раза реже удавалось обнаруживать микрофилярий в крови собак в Ростове-на-Дону – 18,5%. Частота выявления дирофиляриоза у собак была самой низкой в Таганроге (2,0%), несколько чаще он выявлялся у животных в Шахтах (5,1%). Подобная неравномерность распределения инвазии свидетельствует о многофакторном характере эпизоотического процесса [34, 111].

Высокий риск заражения человека и животных совпадает со временем активного лёта комаров весной – апрель, май, июнь и осенью – сентябрь, октябрь. То есть наблюдается характерная сезонность для дирофиляриоза [92].

По результатам многолетних исследований Левченко, Н.В. и Ермакова, А.М. (1999) географический ареал распространения дирофиляриоза значительно расширился за счет увеличения численности зараженных собак [49, 50]. Как следствие, увеличились случаи обращения владельцев животных с данным заболеванием, увеличилось число собак с тяжелым течением дирофиляриоза, отмечается высокая смертность при этой патологии [72].

Большинство ветеринарных специалистов считают, что основной локализацией взрослых дирофилярий является правый желудочек, потому что в нем при патологоанатомическом вскрытии часто находят взрослых нематод. Так же и само название паразита «сердечный гельминт» указывает на эту локализацию, однако по последним данным, дирофиляриоз собак вызывается нематодой *Dirofilaria immitis*, паразитирующей в правом желудочке сердца и легочной артерии [37].

Существует мнение, что паразитирование дирофилярий может проходить не только в артериях малого круга кровообращения, но и в других крупных кровеносных сосудах [132]. Вместе с тем, поскольку основной локализацией взрослых *D. immitis* являются легочные артерии, и по вызываемым дирофиляриями изменениям гельминтоз следует рассматривать как легочное заболевание, при котором изменения в правых отделах сердца возникают лишь на последней стадии заболевания [134, 114]. Что в дальнейшем ведет к развитию легочной гипертензии, увеличению нагрузки и к развитию симптома «легочного сердца». Появление взрослых особей паразита в правом желудочке является посмертным явлением [132]. Данный факт был установлен в экспериментах, в которых легочная артерия больного животного была зажата до эутаназии так, чтобы гельминты не могли попасть в правый желудочек после смерти. Результаты опыта показали, что дирофилярии были собраны только в легочной артерии и отсутствовали в правом желудочке [125, 134].

Цикл развития при дирофиляриозе следующий: дирофилярии рождают в большом количестве в крови личинок первой стадии (L1) – микрофилярии которые, морфологически не изменены, способны циркулировать до 2,5 лет. С током крови микрофилярии разносятся по всей кровеносной системе собаки. При укусе комар вместе с кровью заглатывает микрофилярий. В организме комара личинки L1 развиваются, проходят стадии развития L2 и L3. Время развития личинок в комаре, до инвазионной стадии L3, в среднем занимает 10-14 дней (при температуре окружающей среды выше 14С), но может варьировать, в зависимости от температуры воздуха и влажности. Во время укуса комара инвазионные личинки L3 проникают в организм собаки. После инокуляции 2-3 месяца они находятся в подкожной клетчатке и мышцах, где за данный промежуток времени дважды линяют, проходят стадии развития L4 и L5. Стадия L5 незрелые взрослые особи гельминтов, которые могут достигать в длину 1-2 см. Половой зрелости *D. immitis* достигают в течение 6-9 месяцев [6, 66].

D. immitis, возбудитель дирофиляриоза собак, служит хозяином для внутриклеточной бактерии *Wolbachia pipientis*. В действительности, в ходе ряда исследований было выяснено, что этот микроорганизм является симбионтом многих видов филярий (за исключением всего нескольких видов), и играет неотъемлемую роль в биологии и репродуктивных функциях своих хозяев. *Wolbachia*, грамнегативная бактерия играет важную роль в патогенезе и иммунном ответе организма дефинитивного хозяина на проникновение дирофилярий [52, 68, 130].

C.A.Rawlings et al (1980) описал 4 типа латентного дирофиляриоза, при котором микрофилярии в крови не обнаруживаются, что затрудняет диагностику данного паразитоза. 1-й тип характеризуется как прелатентная стадия гельминтоза, и чаще регистрируется впервые 6 месяцев после заражения. При 2-м типе латентного дирофиляриоза, происходит паразитирование в кровеносном русле однополыми особями паразита.

При исследовании общего клинического анализа крови микрофилярий не обнаруживают, а при патологоанатомическом вскрытии находят только взрослых нематод либо самцов, либо самок [123].

3-й тип латентного нематодоза является результатом во время лечения и воздействия антигельминтиков на репродуктивную способность дирофилярий, приводящее к их бесплодию, то есть стерилизации.

4-й тип латентного дирофиляриоза, также результат лечения больных животных и обусловлен действием иммуномодуляторов [89].

Установлено, что микрофилярии проходят через плацентарный барьер. Заражение щенков дирофиляриозом может происходить трансплацентарно от больной суки и уже при рождении у них можно обнаружить микрофилярий. Здоровые щенки, рожденные от суки с дирофиляриозом, будут иметь высокую чувствительность к микрофиляриям. При инокуляции микрофилярий через укус комара, заражение произойдет как обычно, однако, инвазионные личинки будут проходить все этапы развития, где будут улавливаться легкими и не смогут

циркулировать в крови, где должно проходить развитие взрослой особи. У таких собак также развивается латентный дирофиляриоз [6, 121].

По данным авторов Архипова И.А., Архиповой Д.Р. (2004) "Скрытый дирофиляриоз" (латентный) широко распространен и отмечается в 10-67% случаев у собак при установленном диагнозе. Клинические признаки дирофиляриоза могут отсутствовать на протяжении многих лет, при этом в крови могут находиться микрофилярии. При небольшой инвазии у собак клиника дирофиляриоза может длительно отсутствовать [6].

Дирофиляриоз не имеет специфических клинических признаков, а выявляемые симптомы схожи с таковыми при большинстве других гельминтозов: интоксикация, анемия, уменьшение массы тела [31, 127].

По общепризнанному мнению многих авторов одним из ведущих клинических симптомов является слабый сухой кашель и одышка. У собак отмечается высокая утомляемость, нарушение частоты и глубины дыхания, отеки конечностей, асцит, а затем может наступить коматозное состояние [126]. Литературные данные позволяют утверждать о том, дирофиляриоз у собак приводит к полиорганной патологии. Личинки, за счет своей миграции, приводят к повреждению различных органов и тканей в организме собаки, что может способствовать тромбозу и эмболии кровеносных сосудов [125].

Миграция юных гельминтов сопровождается значительным механическим повреждением органов и тканей. Личинки гельминта в процессе миграции синтезируют особые ферменты типа гиалуронидазы, с помощью которых им удается «прокладывать» путь движения.

По исследованиям С.А. Calvert (1986), С.А. Rawlings (1982) установлено, что клинические симптомы дирофиляриоза проявляются у собак при наличии не менее 25 особей паразита. При наличии взрослых особей *D.immitis* от 25 до 60 экземпляров происходит затрудненная циркуляция крови. Половозрелые особи гельминтов нарушают гемодинамику малого круга кровообращения, вследствие чего происходит повышение давления в правом желудочке сердца, что в дальнейшем приводит к развитию сердечной недостаточности [124,125].

Были выявлены некоторые признаки наличия дирофиляриоза у собак, указывающие на развитие защитной иммунной реакции в ответ на различные стадии развития *D. immitis*. Согласно исследованиям Yoshida и соавт. (2001), далеко не все личинки гельминта способны полностью пройти миграцию и превратиться в половозрелых особей. Данное исследование указывает на то, что иммунная система дефинитивного хозяина способна выявить мигрирующую личинку. В ходе исследований выяснено, что попытки иммунизации собак от дирофиляриоза достигли определенного успеха [105, 138, 116].

Mejia и Carlow (2007) сообщили о том, что у вакцинированных собак были обнаружены несколько антигенов личинок дирофилярий (14, 20, 30, 34, 39 kDa), антигены половозрелых особей (20 kDa) и антигены микрофилярий (36, 38, 71, 84 kDa) [104]. Frank и Grieve (1996) идентифицировали и охарактеризовали два специфических для личинок (L3-L4 стадии личинки) протеина. А также выявили их в сыворотке крови иммунизированных собак. Успех процесса разработки вакцины совершенно очевиден, но, так или иначе, он все еще находится на экспериментальной стадии. Идентификация иммунодоминантных антигенов также имеет большой диагностический потенциал [99,121].

Характерными признаками острого сосудистого повреждения после проникновения гельминтов в сосуды, являются разрушение эндотелиального слоя клеток и нарушение поверхности интимы сосудов. Очевидно, что повреждение эндотелия возникает непосредственно после появления паразита и не может возникать столь быстро в качестве иммунного ответа в конкретном месте без предварительной сенсibilизации.

Дирофиляриоз характеризуется грубыми нарушениями внутреннего слоя: интима утолщается, в результате отека, увеличивается проницаемость стенки и лейкоциты проникают в стенку сосуда, происходит изменение структуры гладкомышечных волокон [69,130].

Формирование ворсинок в артериях и на их внутренней поверхности происходит вследствие деления и миграции гладкомышечных клеток. Внутренний слой ворсинок состоит из коллагена и гладкомышечных клеток,

наружный слой выстлан клетками, похожими на эндотелиальные. Выраженная ворсинчатая пролиферация прямо пропорциональна продолжительности инвазии и количеству паразита. При массивном дирофиляриозе у собак наблюдаются изменения во внутреннем слое легочных артерий, они становятся неровным, приобретает бархатный вид. В результате происходит сужение просвета артерий и отмечается снижение их податливости [131, 67].

Изменения в сосудах происходят раньше, чем в легких, поэтому поражения легких вторичны. Сужение просвета и снижение податливости легочных артерий (при тромбоэмболии, либо выраженной ворсинчатой пролиферации) вызывает развитие легочной гипертензии и, в результате приводит к нарушению в малом круге кровообращения [131, 67, 52, 53, 62].

В результате механического воздействия дирофилярий и продуктов их метаболизма возникает эндокардит с вовлечением в воспалительный процесс клапанов сердца и пролиферативный легочной эндоартериит. На протяжении нескольких месяцев происходит компенсация легочной гипертензии за счёт гипертрофией правого желудочка, что в следствии приводит к застойным нарушениям сердечной деятельности, сопровождающимися отёками и асцитом [89].

Venco L. (2009) установил, что в результате самопроизвольной гибели паразита происходит тромбоэмболия, что ведет к тяжелым воспалительным реакциям в организме собак [134].

Закупорка и травмирование микрофиляриями сосудов печени приводит к развитию флебита печеночных вен, расширению центральной вены, некрозу гепатоцитов и увеличению лимфоузлов органа [89].

Паразитирующих взрослых гельминтов удалось обнаружить в крупных сосудах печени, почек, сердца и легких с помощью современные методов лучевой диагностики. При помощи ультрасонографии были обнаружены 8 взрослых *D. immitis* в брюшной аорте и ее ветвях у пятилетней собаки, поступившей с подозрением на кавальный синдром [105, 29,135].

Нематоды визуализировались в большом количестве в правом предсердии, и проникали в желудочек через предсердно-желудочковый клапан, занимая всю полость желудочка во время диастолы [37].

В результате развития сердечной недостаточности индуцируется ряд патофизиологических изменений в организме, которые ведут к почечной недостаточности, что в свою очередь приводит к нарушению гемодинамики, ухудшает клиническую картину крови, утяжеляют лечение и прогноз при этой инвазии [29, 38].

В медицине такое сочетание поражений сердца и почек называют «кардиоренальным синдромом», при котором дисфункция одного органа влечет за собой острую или хроническую дисфункцию другого [125]. Одним из часто диагностируемых функциональных изменений у собак при дирофиляриозе является кардиоренальный синдром.

На ранних стадиях нематодоза за счет тахикардии происходит увеличение нагрузки на левый желудочек и формируется гиперкинетический тип гемодинамики. Изучено, что если возрастает функциональная работа на правый желудочек, то отмечается снижение диастолической функции и миокардиальной сократимости, которая сокращает фракцию изгнания левого желудочка и развитие гипокинетического типа кровяного русла. В норме кровотока в почках составляет 15-20% сердечного выброса и чрезвычайно чувствителен к изменениям в общем кровообращении. Существенные изменения наблюдаются в почках при гипокинетическом типе кровообращения. Отмеченное уменьшение в минутном объеме сердца, вызывает перераспределение кровотока, приводя к возникновению почечной вазоконстрикции, которая проявляется констрикцией как пре-, так и постгломерулярных артериол и носит компенсаторный характер при хронической сердечной недостаточности (ХСН), сохраняя скорость клубочковой фильтрации на нормальном уровне и характеризуется возрастанием фракции фильтрации.

Возникновение и прогрессирование ХСН характеризуется увеличением активности вазоконстрикторных/антинатрийуретических систем, превышающей таковую у вазодилататорных/натрийуретических систем. Результатом этих

нейрогуморальных ответов является снижение почечного кровотока и скорости клубочковой фильтрации, экскреции соли и воды, продуктов метаболизма (увеличение уровня мочевины и креатинина в крови и др.). Эти изменения усугубляют процесс кардиальной дисфункции. Кроме гемодинамических эффектов, связанных с гипоперфузией почек, хроническая активация вазоконстрикторных систем может непосредственно вести к повреждению структур миокарда и ремоделированию сердца, в частности под влиянием ангиотензина II и альдостерона, способствующих сосудистому ремоделированию, тканевому фиброзу, оксидативному стрессу и воспалению. Системные и локальные адаптационные процессы вовлекают гормональные и гуморальные регуляторные системы, ведущим является симпато-адреналиновая система и ренин-ангиотензин-альдостероновая система, а также регуляторные пептиды, в том числе аргинин, вазопрессин, предсердные и нейральные натрийуретические пептиды, оксид азота и др. [29, 37,125].

Описаны случаи обнаружения микрофилярий в крупных сосудах тазовых конечностей. Vurt с соавт. (1977) доложили о собаке, у которой наблюдалась хромота правой тазовой конечности. На ангиографии была установлена закупорка правой бедренной артерии, аорты и дистальных сосудов конечности. Собаке провели артериотомию, в результате которой в просвете сосуда обнаружили пять взрослых нематод *D.immitis* [95, 62]. В ходе дальнейшей диагностики были выполнены ангиокардиограмма и каудальная аортограмма. В результате установили расширение главной легочной артерии и ее ветвей. Дефектов межжелудочковой и межпредсердной перегородок не было выявлено. Взрослые нематоды у собаки в правом желудочке не обнаруживались, однако, в ходе проведения аортограммы было выявлено наличие нематод во внутренней и правой общей подвздошной артерии [95].

Kaewthamasorn M. с соавт. (2011) сделали доклад о 6-летней собаке, весом до 20 кг, которая поступила в клинику с гиперемией, респираторным дистрессом, рвотой, анорексией. От собаки были взяты образцы крови и мочи для рутинного анализа. Дополнительно провели рентгенографию грудной клетки, на которой

были характерные изменения для *D.immitis*. Клинико-гематологические и биохимические результаты также показали типичные изменения характерные для данной инвазии у собак, включая лейкоцитоз, тромбоцитопению, увеличение щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, и азотемию. По общему анализу мочи выявили: гематурию, пиурию, бактериурию, гемоглобинурию, протеинурию, которая указывает на инфекции нижних мочевых путей. Микрофилярии были обнаружены в осадке мочи при микроскопии. Они были идентифицированы морфологически как *D.immitis*. Наличие микрофилярий в моче ранее не были описаны как конкретные проявления у собак с дирофиляриозом. Однако найденные микрофилярии в осадке мочи, можно предположительно связать с воспалительным процессом или кровотечением из нижних мочевых путей и/или гломерулонефритом у этой конкретной собаки [111].

Ряд авторов, Silbermaug К. с соавт. (2014) провели исследования комаров, с целью обнаружения возбудителя *D. immitis*, с использованием прямой ПЦР. Фрагменты микрофилярий были успешно получены от комаров-переносчиков без предварительного выделения ДНК. Были обнаружены 3.11 личинок/100 мкл крови на ФТА-картах. То есть, прямой ПЦР можно обнаруживать непосредственно первые личиночные стадии инвазии в крови у собак, и L3 стадию у комаров. Данный анализ, по мнению авторов, является быстрым, чувствительным и экономически эффективной альтернативой стандартной ПЦР [129].

Carreton с соавт. (2012) провели исследование с целью выявления биомаркеров, таких как миоглобин и сердечный тропонин у собак, больных дирофиляриозом. Они предположили, что у собак больных дирофиляриозом могут быть повышены в плазме крови показатели миоглобина и сердечного тропонина I, двух маркеров мышечной/реперфузионного повреждения миокарда. Для того, чтобы определить, связано ли это увеличение с поражением миокарда правого желудочка, провели естественное заражение собак *D. Immitis*, затем было проведено рутинное исследование гистологии и иммуногистохимии с анти-

миоглобином и анти-сердечным тропонина I антител. Были обнаружены очаги включения микроскопического некроза и вакуолизация миоцитов, что было связано с потерей окрашивания для одного или обоих белков. Результаты подтверждают, что повышение уровня миоглобина и сердечного тропонина I не являются показателями повреждения миокарда у собак, больных дирофиляриозом [97].

Присутствие паразитов существенно отражается на клеточном и химическом составе крови. По данным гематологических исследований М.С.Sharma, S.P.Pachauri (1982) показали, что у собак инвазированных *D.immitis* отмечается снижение гемоглобина, ускорение реакции оседания эритроцитов (СОЭ), увеличение лимфоцитов, незначительный лейкоцитоз, эозинофилия у собак [128]. Были установлены изменения биохимического профиля крови: повышение количества билирубина, глобулина, хлоридов, фосфора при общем снижении содержания уровня альбумина, которые могут сопровождаться гемоглобинурией, протеинурией, гематурией [89].

R.V.Atwell, I.V.Vuoro (1983) установили существенную разницу в количестве ретикулоцитов у собак больных дирофиляриозом и группы контроля. Авторы обнаружили, что у собак при тяжелом латентном течении дирофиляриоза увеличивается число ретикулоцитов [92]. Уровень гемоглобина у собак с микрофиляремией был ниже, чем у собак, у которых микрофилярий в крови нет. При дирофиляриозе регенеративная анемия связана с разрушением циркулирующих форменных элементов крови [6].

Гематологические изменения при сердечном дирофиляриозе собак зачастую носят неспецифический характер, на ранних стадиях данной инвазии наблюдается базофилия и эозинофилия, на поздних стадиях – нормоцитарную нормохромную анемию, снижение концентрации гемоглобина и гематокрита [108]. Так же у больных дирофиляриозом собак развивается лейкоцитоз, нейтрофилия, эозинофилия, моноцитоз [131, 84].

Перечисленные изменения в картине крови отражают степень течения реакций гельминтов в организме животного, сопровождающих нарушения

функции печени, нарушение белкового обмена с нарушением синтеза белка в печени, воспалительных процессов в кишечнике и поджелудочной железе [23].

В своих исследованиях Rawlingsc соавт. (1982) обнаружили другую особенность дирофиляриоза – это так называемая «оккультная инфекция» - характеризующаяся наличием половозрелых особей в легких/сердце при отсутствии микрофиляремии в крови собак [124].

Существует несколько определенных типов оккультной инфекции, включая случаи дирофиляриоза, когда в организме дефинитивного хозяина находятся половозрелые гельминты только одного пола, случаи амикрофиляремии, возникающей на фоне антибиотикотерапии или иммунообусловленной амикрофиляремии. Иммунообусловленная оккультная инфекция возникает в результате специфического гуморального ответа на антигены микрофилярий. Микроскопия световым и электронным микроскопами ткани легких собак с иммунообусловленной оккультной инфекцией обнаруживает картину массивной атаки микрофилярий эозинофилами, нейтрофилами и лимфоцитами, указывая на то, что клеточный иммунитет может играть важную роль в уничтожении микрофилярий [109].

Morchon с соавт. (2007) сообщил о том, что у собак с микрофиляремией регистрируется более высокий уровень интерлейкина IL-4 и IL-10 относительно собак с выявленной оккультной инфекцией [117]. Это указывает на то, что наличие циркулирующих микрофилярий связано с иммунной толерантностью по отношению к инфекции [118]. Особи с микрофиляремией проявляют иммуносупрессию к антигенам паразита, которая, в свою очередь, проявляется неспособностью мононуклеарных клеток периферической крови вырабатывать интерферон-гамма (IFN-g).

Аллергическая реакция организма хозяина – ведущий патогенетический фактор дирофиляриоза. Гельминты – это не только антигены, но и аллергены [89]. В процессе аллергии идет выработка гомоцитотропных антител в организме собак, а также активное образование тучных и других клеток. При этом антитела связываются с тучными клетками, базофилами и тромбоцитами. При

последующем поступлении аллергена происходит деструкция отмеченных клеток с выделением большого количества веществ медиаторного действия – гистамина, серотонина, гепарина, ацетилхолина и др. Эти аллергические реакции наиболее выражены в острый период заболевания. Основным показателем аллергической реакции эозинофильно-тучноклеточная реакция. Отмечается, что при хроническом течении дирофиляриоза количество эозинофилов снижается к норме или отмечается незначительное повышение (IgG, IgA аллергены). Основным источником гистамина являются тучные клетки, то есть происходит «взрыв» этих клеток и выделение большого количества гистамина [89].

За счет гистамина происходит спазм гладкой мускулатуры, увеличение порозности капилляров и как следствие отек тканей и снижение артериального давления [89].

В мозговой части надпочечников под действием гистамина увеличивается секреция адреналина. Адреналин приводит к тахикардии и сужению артериол. Происходит снижение свёртываемости крови под действием гепарина, за счёт высвобождения из тучных клеток. Ацетилхолин продуцируется всеми тканями, он способствует сокращению гладкую мускулатуру, повышению давления [113].

Иммунодепрессия дирофиляриями выражается в избирательном подавлении защитных сил организма хозяина, при этом гельминты выделяют вещества - иммунодепрессанты, действующие на клеточные системы, ведающие отторжением чужеродных тканей. Естественно, гельминт представляет чужеродное для хозяина тело. Однако он не отторгается организмом хозяина благодаря синтезу иммунодепрессантов, подавляющих действие тимусзависимых клеток, с которыми связано отторжение чужеродных тканей.

У гельминтов выделены ингибиторы протеолитических ферментов хозяина, с помощью которых они, подавляя активность последних, обеспечивают свое существование. Естественно, это снижает усвоение хозяином питательных веществ. У собак наступает истощение организма. Питание гельминтов кровью хозяина, является также одним из патогенетических факторов. Помимо механических повреждений, паразит вызывает кровопотери [116].

В зависимости от степени инвазии под действием гельминтов, оказывается токсическое воздействие на организм больных собак.

При гибели нематод в организме собаки выделяются продукты распада гельминтов, за счет всасывания происходит токсикоз [91].

Паразиты играют роль стрессоров. Стресс возникает, когда действие стрессора превышает пределы физиологической приспособленности организма. Стресс возникает в результате прямого воздействия гельминта, но, в основном, сенсibilизации, аллергии и прочих факторов патогенеза [91].

В организме человека, при укусе зараженным комаром, проходит цикл развития личинки до имагинальной стадии паразита и может достигать размера до 30 см в длину. Спаривание взрослых паразитов в организме человека не происходит, и в результате чего в крови микрофилярии не обнаруживаются. Зачастую у людей паразит локализуется в подкожной клетчатке или в камере глаза, где может свободно мигрировать. В редких случаях дирофилярии обнаруживают в легких. Обычно у человека выявляется одна половозрелая или неполовозрелая самка, но зарегистрированы единичные случаи обнаружения и самцов. Инкубационный период у человека длится от 1 месяца до 2 лет. Наиболее характерным симптомом является миграция гельминта – перемещение уплотнения (опухоли) под кожей. Скорость перемещения гельминта до 30 см за сутки. Другими частыми симптомами служат лихорадка, зуд, эритема, отеки [91].

Взрослые нематоды оказывают свое патогенное действие на организм собак. Локализуясь в правой и левой ветвях легочной артерии паразиты служат препятствием для кровотока из правого желудочка в легочные артерии. Что ведет к повышению давления в правом желудочке и развитию сердечной недостаточности, что сопровождается развитием отеков конечностей и асцита. Скопление большого количества нематод в задней полой вене ведет к возникновению синдрома острой полой вены, что клинически проявляется гемоглобинурией, желтухой, анорексией и хроническими дегенеративными изменениями в печени. Взрослые нематоды обуславливают возникновение тромбоза небольших легочных артерий, что впоследствии ведет к гипоксии

легких. Тромбоэмболия сосудов возникает в результате закупорки мертвыми нематодами просвета сосудов [125].

Таким образом, при легочной форме дирофиляриоза проблемы редко ограничиваются одной системой. При хронической сердечной недостаточности нарушается функция почек, что, в свою очередь, ведет к усугублению ХСН и дальнейшему ухудшению почечной функции, а, следовательно, к прогрессированию почечной недостаточности, то есть происходит полиорганный патология [37].

Несмотря на значительные изменения в организме больных собак длительный период бессимптомного течения заболевания делают необходимым дальнейшее изучение взаимодействия организма хозяина и паразита, а также способов дифференциальной диагностики тяжести заболевания и прогноза лечения животных.

1.2 Диагностика дирофиляриоза

Ряд авторов считают, что при диагностике и постановке диагноза дирофиляриоз следует обратить внимание на ряд важных критериев: анамнез — нахождение или прибытие из эндемической зоны; характерные клинические симптомы данной инвазии; обнаружение микрофилярий в крови собаки; использование дополнительных методов исследования.

Учитывая, что клинические симптомы при дирофиляриозе собак являются неспецифичными, главным моментом в постановке окончательного диагноза служат специфические лабораторные исследования с целью выявления микрофилярий [82, 49]. Диагноз на дирофиляриоз у собак может быть поставлен при обнаружении в циркулирующей крови микрофилярий или антигенов взрослых особей, а дальнейшие диагностические процедуры обычно необходимы, чтобы определить тяжесть инвазии и подобрать наилучшее лечение [130].

Микрофилярий в крови можно обнаружить следующими лабораторными методами:

1. Прямая микроскопия свежей капли крови (К.И. Скрябин, 1964) под малым ($\times 10$) увеличением микроскопа. Данная методика проста в исполнении врачами на приёме, не требует дополнительных затрат, доступна и является экспресс-методом диагностики дирофиляриоза [75].

Установлено, что локализацией большей части личинок дирофилярий являются периферические сосуды, и поэтому для исследования необходима капиллярная кровь (из сосудов ушной раковины). Личинки нематод заметны в крови между эритроцитами по их хаотичному движению. Данный метод эффективен только при высокой интенсивности инвазии. К недостаткам данного метода относят: исследование образцов крови необходимо проводить сразу после взятия крови, при низкой инвазии микрофилярии трудно обнаружить [6].

2. Исследование цельной сыворотки крови — для выполнения исследования требуется венозная кровь от собаки. Кровь сворачивается, и нематоды перемещаются в сыворотку. Сыворотка с эритроцитарным сгустком должна

постоять в пробирке в теплом помещении в течение нескольких часов. Затем автоматическим пипеточным дозатором берут несколько капель сыворотки из нижнего слоя, прилегающего к сгустку. Микроскопирование проводят при малом увеличении на наличие подвижных личинок – микрофилярий. Исследуемый образец должен иметь комнатную температуру, предварительное охлаждение снижает двигательную активность филярий, поэтому охлажденные образцы следует микроскопировать по мере их согревания. Главным недостатком данного метода является невозможность провести экспресс-исследование, т.к. требуется время для разделения сыворотки и сгустка. Преимуществом метода является возможность отставленного исследования, т.к. личинки сохраняют жизнеспособность длительное время.

3. Метод Куликова – основан на разделении клеток крови на фракции в растворе цитрата натрия. К 20 мл венозной крови приливают 2 мл 3,8% водного раствора цитрата натрия и отстаивают в течение 30 мин при комнатной температуре. Микрофилярии оседают с фракцией лейкоцитов. В конце этого времени в пробирке образуется 3 слоя: внизу эритроцитарная масса, в середине – лейкоциты и микрофилярии, вверху – плазма.

4. Исследование с раствором уксусной кислоты. Добавление раствора уксусной кислоты приводит к гемолизу крови, что позволяет упростить и ускорить диагностику данной инвазии. Данный метод относится к экспресс-методам и выполняется сразу после взятия крови. Одну каплю исследуемого образца крови помещают на предметное стекло, затем добавляют две капли дистиллированной воды или 1%-ного водного раствора уксусной кислоты, накрывают покровным и исследуют под малым ($\times 10$, $\times 20$) увеличением микроскопа.

5. Количественная методика прижизненной диагностики дирофиляриоза собак [8]. Ход метода: в меланжер для количественного подсчета лейкоцитов заполняют образцом крови до метки I и до метки II раствором, состоящим из ледяной уксусной кислоты, раствора фуксина и дистиллированной воды в соотношении 3:4:93. Далее для равномерного смешивания меланжер с кровью и

раствором кладут в центрифугу на 2-3 минуты. Затем притирают покрывное стекло к камере Фукса-Розенталя. Готовую смесь в меланжере встряхивают, и вторую каплю приготовленного раствора наносят на среднюю часть камеры и проводят микроскопию образца на 100 увеличении микроскопа. Далее считаем количество филярий во всех квадратах. Подсчитанное количество личинок умножаем на 6,23, так как 20 мм³ раствора потребовалось бы 6,23 объема камеры. Затем для определения количественного числа микрофилярий в 1 мл крови подсчитанное число микрофилярий в 20 мм³ требуется умножить на 50.

6. Метод Руже-Мюленса – к полученному образцу венозной крови необходимо добавить пятикратный объем раствора 5%-ного формалина 95 мл, уксусной кислоты – 5 мл и концентрированного спиртового раствора генцианвиолета – 2 мл. Полученный раствор центрифугируют, затем надосадочную жидкость сливают. Далее требуется повторное центрифугирование осадка с водой и только потом проводят микроскопию материала.

7. Поживіл А.І., Горжеев В.М. [68]; Дахно І.С., Немешкало Ю.П. [26] Метод «обогащенного мазка» крови. В данном методе используется уксусная кислота. Ход метода: к 1 мл свежего забранного образца венозной крови добавляют 5 мл 2%-ного раствора уксусной кислоты. Получившуюся смесь центрифугируют в течение 3-5 минут при 1000 об/мин. Надосадочную жидкость сливают и осадок микроскопируют. В ходе данного метода личинки погибают, и их бывает трудно найти в исследуемом материале.

8. Метод Шуффнера – ход метода: к 10 мл физиологического раствора добавить несколько капель раствора сапонина и 10 капель исследуемой крови. В полученном образце происходит гемолиз, далее проводят центрифугирование исследуемого образца. При микроскопии в осадке обнаруживают живых и подвижных личинок филярии.

9. Модифицированный метод Кнотта [33,4]. Методика: к 1 мл венозной крови добавляют 2% раствор формалина в объеме 10 мл. Полученный раствор тщательно перемешивают, с последующим центрифугированием в течение 5 минут при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость удаляют из полученной смеси, а

к осадку добавляют метиленовый синий в разведении 1:1000 и затем окрашивают в течение 5 минут. После проводят микроскопию окрашенного образца на наличие микрофилярий.

Ряд авторов Hoskinsetal J.D. [110], Нагорный С.А. [57], Карвовський О. с соавт. [33] считают, что лучшие и доступные результаты для быстрой диагностики на дирофиляриоз можно получить, используя методику Кнотта. Метод: к 1 мл исследуемой крови добавить 2% раствора формалина в объеме 10 мл и центрифугировать в течение 5 минут при 1500 об/мин. Надосадочную жидкость удаляют, а к осадку добавляют метиленовый синий (1:100). При микроскопии образца обнаруживают окрашенных и зафиксированных личинок филярий. Существует мнение о том, что метод Кнотта, обладает более высокой разрешающей способностью при диагностике дирофиляриоза у собак [67, 76].

Ряд авторов [26, 48, 67, 104] предлагают использовать непрямой метод ИФА для обнаружения антител к микрофиляриям. Так как считают, что этот метод оказался высокоспецифичным при диагностике инвазии дирофиляриоза, когда в крови больных собак дирофиляриозом микрофилярии отсутствуют в результате иммунного разрушения. На сегодняшний день для экспресс - диагностики на дирофиляриоз разработан метод иммуноферментного анализа (ИФА) ELISA. Выявление антигенов взрослых дирофилярий с помощью иммунострипа считается высокоспецифичным, так как не дает других перекрестных реакций с *D. repens* [40, 43]

1.3 Эндогенная интоксикация

Известно, что многие заболевания сопровождаются развитием интоксикации, отягощающей клиническую картину заболевания. Для паразитарных инвазий интоксикация является одним из ведущих звеньев патогенеза гельминтозов. Причиной этому является выделение в организм хозяина продуктов жизнедеятельности паразита, которые, с одной стороны, обладают токсическим действием сами, а с другой стороны они могут вызывать иммунный ответ организма, который может также сопровождаться признаками эндоинтоксикации [15].

Патофизиолог Д.Е. Альперин с соавт. [2] дали определение «эндотоксикозу», как «самоотравление организма токсическими продуктами обмена веществ, образующимися как в самом макроорганизме, так и продуцируемыми бактериями». Синдром эндогенной интоксикации (ЭИ), сопутствует любому процессу, происходящему в организме (инфекционному, хирургическому и другим) [28, 12, 77]. В 1994 г. было дано более точное определение ЭИ как «синдрома с проявлениями клинических симптомов интоксикации при патологических состояниях, неоднородных по этиологии и в результате накопления в биологических жидкостях и тканях организма продуктов патологического обмена веществ, метаболитов, нарушения клеточных и тканевых структур, разрушения белковых молекул и т.д.» [85, 83].

К числу последних важнейших биохимических механизмов развития ЭИ следует отнести активацию тканевого протеолиза с накоплением токсичных молекул средней массы [114], активацию свободнорадикального окисления липидов биологических мембран, а также действие бактериальных токсинов [94, 108].

Диагностическое значение этих веществ велико как при воспалениях разного характера, так и при токсикозах разного происхождения. Таким образом, интоксикация является одним из определяющих критериев, течения и тяжести состояния организма человека и животных [1].

Хозяин и гельминты, паразитирующие в его организме, находятся в сложных антагонистических отношениях, в результате этого воздействия изменяются жизнедеятельность и биологические свойства каждого из них. Поселяясь в организме хозяина, одни питаются кровью и тканевыми соками, другие частично поглощают питательные вещества, необходимые для питания организма хозяина. В процессе своей жизнедеятельности гельминты выделяют токсические вещества, которые всасываются в кровь хозяина, воздействуя на его нервную систему, кроветворные и другие органы. Механическое воздействие гельминтов обусловлено с миграцией личинок по лимфатической, кровеносной системам и внутренним органам животного сопровождается разрывом капилляров и патологическими изменениями в органах, тканях (слизистой кишечника, лимфоузлах, коже), их развитием и ростом, давлением в местах локализации. Гельминты могут скапливаться в сердечной мышце, вызвать закупорку кишечника, желчных протоков, бронхов, мочеиспускательного канала. Зачастую паразитические черви способствуют заносу в органы и ткани своего хозяина патогенных микроорганизмов. При осложнении секундарной инфекцией в патогенезе отмечают признаки, характерные для бактериальных или грибковых поражений. Аллергические реакции при гельминтозах проявляются гиперемией и отеком кожи, сыпью, повышением местной и общей температуры тела, одышкой, ознобом и могут закончиться шоковыми состояниями [23, 86].

В результате нарушения обмена веществ у больных животных отмечается токсикоз: ухудшается общее состояние, снижается аппетит, тошнота, диарея, изменяется картина крови.

Даже при слабой глистной инвазии картина крови претерпевает значительные изменения. По общему анализу крови отмечают лейкоцитоз (увеличение лейкоцитарного индекса интоксикации) увеличивается количество гранулоцитов в отношении к агранулоцитам, вследствие присутствия паразитов и нарушения обмена веществ. Эритропения (анемия) вследствие недостатка железа, витамина В12, фолиевой кислоты. Гемоглобин находится либо на нижней границе физиологической нормы или понижен, вследствие дефицита железа при

неправильном питании, нарушении усвоения питательных веществ в кишечнике, при кровопотери. В лейкоцитарной формуле повышение количества эозинофильных гранулоцитов встречается редко [71].

Dimri с соавт [98] опубликовали исследование, направленное на изучение перекисей липидов, антиоксиданты, цинк, медь, железо панелей и апоптоза в периферической крови у собак с дирофиляриозом. В сравнении с контрольной группой собак, эритроцитарный уровень перекисей липидов и активности супероксиддисмутазы, были достоверно ($p < 0,01$) выше у больных собак. Тем не менее, уровень восстановленного глутатиона и деятельность глутатионпероксидазы, глутатион-s-трансферазы и каталазы были достоверно ($p < 0,01$) ниже у больных собак. В крови показатели цинка, меди и железа у собак с дирофиляриозом были достоверно ($p < 0,01$) ниже, чем у группы контроля. Процент апоптоза периферических лейкоцитов были значительно выше у собак с дирофиляриозом в сравнении с контрольной группой. Таким образом установлено, что существенных изменений в оксидант/антиоксидантного баланса, минерального статуса и скорость апоптоза в периферической крови могут быть вовлечены в патогенез собак больных дирофиляриозом. Доказано, что при стрессе и патологических изменениях происходит накопление эндотоксинов, в результате активации процессов свободнорадикального окисления (СРО) [5].

СРО очень активны и обладают коротким временем полужизни, а так же встречаются в очень низкой концентрации в устойчивом состоянии. Внимание исследователей привлекают свободные радикалы (СР) кислорода или активные формы кислорода, к которым относят синглетный кислород, супероксид-анионрадикал, перекись водорода, гидроксильный радикал и т.д. Присутствие СР может быть очень благоприятно для клеток. Изучено, что СР постоянно образуются в организме и необходимы для определённых биологических реакций. Но, в случае ослабления защитных систем организма и гиперпродукции СР могут сложиться причины для клеточного повреждения. К экзогенным источникам свободных радикалов относят: различные лекарственные препараты и пищевые

консерванты, табачный дым, ионизирующая радиация, химикаты (пестициды), различные примеси в воздухе, выхлопные газы, отходы предприятий и т.д. [5].

Повышенное содержание в сыворотке крови продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также увеличение активности ферментов детоксикации активных форм кислорода являются неспецифическими тестами эндотоксикоза. К эндопатогенам относятся продукты распада липидов, которые вызывают повреждение различных клеток, белков, нуклеиновых кислоты. К продуктам распада липидов относят альдегиды, диальдегиды, эпоксиды [1].

Сложности патогенеза и вариации клинического течения дирофиляриоза обосновывают поиск новых, информативных биохимических тестов, отражающих особенности гомеостаза, реактивности и патологического процесса. Важным фактором нарушения гомеостаза является ЭИ [1]. Суть ЭИ состоит в накоплении в крови биологически активных компонентов в результате активации катаболических процессов при снижении эндогенной детоксикации. Наиболее перспективно в качестве маркеров ЭИ определять накопление в крови токсинов, представляющих собой вещества пептидной природы со средней молекулярной массой (СМП) [20, 80]. Они обладают высокой биологической активностью, меняют тонус сосудов, проницаемость клеточных мембран, оказывают прямое влияние на биоэлектрическую активность сердца [39]. К СМП относят вазопрессин, окситоцин, ангиотензин, адренкортикотропный гормон (АКТГ), глюкагон, кальцитонин, липофусцин (внутриклеточные комплексы липидов и белков), атерогенно окисленные липопротеины и многие другие [58].

Аксенова В.М. [1] считает, что среди метаболитов, оказывающих эндотоксическое действие, обращает на себя внимание группа веществ, образующихся в кишечнике при распаде белков под действием патогенной микрофлоры, а именно, фенолы, индолы, аммиак и др. Также к ним относят эндотоксины продуктов распада гельминтов, токсины, микробы. Эндотоксины способны оказывать двойственные эффекты на организм, такой как токсический и аллергический.

При заболевании ССС основной частью патогенеза является свободнорадикальная патология, которая возникает в ряде несоответствия интенсивности свободнорадикальных реакций и в качестве компенсаторных факторов антиокислительной защиты организма. СР, вступая в реакцию с фосфолипидами мембран клеток, вызывают перекисное окисление липидов в мембранах, в результате происходит нарушение их структурной целостности, повышается гидрофильность, изменяется их функции, наблюдается ослабление связи фосфолипидов со структурными и рецепторными белками, в результате происходит разделение функций на дыхание и фосфорилирования [51].

Активация ПОЛ ведёт к развитию метаболического ацидоза и гипоксии. Миокард очень чувствителен к гипоксии из-за высокого уровня обмена веществ. При этом нарушается нормальное соотношение между аэробным и анаэробным обменом в миокарде с преобладанием анаэробного, реакция миокарда сдвигается в сторону ацидоза.

К СМП относятся эндогенные компоненты, у которых молекулярная масса составляет 500-2000 дальтон (Д), образующихся в процессе протеолиза в поврежденных тканях и в плазме. При многих патологических процессах происходит нарушение функции протеазной и антипротеазной систем, в результате активации протеолиза и как следствие происходит накопление большого количества продуктов деградации белков с молекулярной массой 300-5000 Д. Класс среднемолекулярных продуктов протеолиза относят к молекулам средней массы – МСМ.

МСМ – класс соединений с молекулярной массой до 5000Д. МСМ подразделяют на 2 группы – вещества средней молекулярной массы (ВНСММ) и олигопептиды (ОП). К ВНСММ относят небелковые производные различной природы: креатинин, мочевины, мочевая кислота, глюкоза и органические кислоты, аминокислоты, жирные кислоты и др., накапливающиеся в организме и превышающие нормальные концентрации. Олигопептиды представлены веществами пептидной природы, выполняющими различные функции, в том числе и регуляторные [28].

Химический состав МСМ неоднороден и объединяет гетерогенную группу веществ. Он состоит из пептидов, гликопептидов, нуклеопептидов, эндорфинов, аминокислот, полиаминов, многоатомных спиртов, а также некоторых гормонов, таких как: инсулин, глюкагон; витаминов, нуклеотидов [28, 59]. МСМ играют роль неспецифических маркеров интоксикации при: шоке [100], острой ожоговой токсемии, инфаркте миокарда [80], абсцессах и воспалительных болезнях легких [24, 11, 51], онкологических заболеваниях [25].

Уровень МСМ можно измерить в биологических жидкостях организма таких как: моча, слюна, плазма, сыворотка крови, реже – в эритроцитах, тромбоцитах [56]. Ряд исследователей Ковалевский А.И., Нифантьева О.Е. [35] считают, что определение МСМ лучше проводить в цельной крови.

Затруднения в оценке токсического действия МСМ связаны с тем, что каждый из них, в отдельности, не проявляет токсические свойства. Токсический эффект проявляется суммарным влиянием всех компонентов МСМ вследствие развития эффектов потенцирования и синергизма. Совместное действие мочевины, креатинина, метилгуанидина и гуанидинсукцината приводит к уменьшению ударного объема и снижению потребления кислорода сердцем. В отдельности эти вещества не оказывают подобного эффекта в тех же концентрациях [80].

В.В. Николайчик [58] выделяет четыре механизма, объясняющих токсические свойства пептидов группы МСМ:

1. Суммарное действие высокоспецифических естественных пептидных биорегуляторов, присутствующих в аномально высоких количествах.
2. Блокирование рецепторов естественных пептидных биорегуляторов пептидами из группы МСМ, имеющими схожее строение.
3. Неспецифическая модификация пептидами МСМ структурно-функциональных свойств клеточных мембран - мембранотропное действие.
4. Связывание пептидов группы МСМ с транспортными белками с вытеснением переносимых метаболитов.

Биологические последствия действия МСМ весьма драматичны - нарушение микроциркуляции и гемолиз эритроцитов, угнетение эритропоэза, развитие вторичной иммунодепрессии, угнетение синтеза белка, замедление тканевого дыхания и синтеза аденозинтрифосфорная кислота (АТФ), сопровождающееся нарушениями активного транспорта ионов, исчезновением ионных градиентов на клеточных мембранах и активацией процессов деструкции клеток [16]. Среди МСМ особый интерес представляют пептиды - продукты деградации фибрина. Высокий уровень МСМ часто обусловлен интенсивными процессами тромбообразования и тромболизиса. Образующиеся при этом фибринопептиды А и Б ингибируют действие тромбина на фибриноген, оказывают сильный вазоконстрикторный эффект. В составе МСМ обнаружен аналог энкефалина - пентапептид из бета-цепи фибриногена. В протромбине найден фрагмент, эквивалентный молекуле ангиотензина [22].

В физиологических условиях 95% МСМ удаляется почками путем гломерулярной фильтрации. Внутри проксимальных тубул почек основная масса пептидов полностью или частично разрушается и освободившиеся аминокислоты реабсорбируются [22]. В условиях патологии накопление МСМ в крови развивается на фоне повышенной активности тканевых протеаз и не связано с нарушением экскреции МСМ почками. При этом активность экзопептидаз, осуществляющих расщепление пептидов в крови, оказывается недостаточной для их оперативного удаления [80].

Основная роль в удалении из кровообращения МСМ принадлежит легким, легкие выполняют детоксицирующую функцию, особенно важна эта функция в условиях эндотоксемии [11].

Существенная особенность МСМ заключается в их ярко выраженной высокой биологической активности. Накопление МСМ является не только маркером ЭИ, что усугубляет течение патологического процесса, превращаясь во вторичные токсины, оказывает влияние на жизнедеятельность всех систем и органов, то есть на организм в целом. Уровень МСМ считают основным

биохимическим маркером, который показывает уровень патологического белкового метаболизма.

ПОЛ - это фундаментальный универсальный молекулярный механизм. В его основе лежит устойчивость и адаптационные способности организма. При интоксикации ПОЛ запускает механизм патобиохимических изменений, а в норме обеспечивает нормальное функционирование клеток.

Волкова Л.И., Бондаренко М.И. [19] считают, что при проникновении кислорода в молекулы окисленного субстрата приводит к образованию реакционно-способных промежуточных продуктов- свободных радикалов, гидроперекисей, которые вызывают повреждение белков, нуклеиновых кислот, углеводов. При развитии в ПОЛ в мембранах происходит снижение содержания легкоокисляемых полиненасыщенных жирных кислот и изменяются физико-химические свойства, такие как вязкость, текучесть, потенциал и полярность. Что в результате приводит к изменению транспортных свойств мембраны и активности ферментов [19].

Свободнорадикальное окисление обеспечивается в клетке системой антиоксидантной защиты. Изучение свободнорадикальных процессов в биологических системах началось с предложения Gershman и Gilbert в 1954 году о том, что известные токсичные эффекты кислорода обусловлены образованием его свободных радикалов. Эта идея не была принята, до тех пор, пока не был изучен фермент СОД [5].

СОД – семейство металлоферментов с различной внутриклеточной локализацией и гетерогенностью. Арутюнян А.В. с соавт. [5] изучили, что эти ферменты катализируют реакцию дисмутации супероксидного радикала с образованием перекиси водорода и молекулярного кислорода со скоростью в 10000 раз выше, чем спонтанная дисмутация в физиологических условиях. Каталаза при высокой концентрации удаляет из клетки перекись водорода.

Митохондриальная каталаза участвует в оксидазном пути окисления, с запасом энергии в виде АТФ. При патологических процессах, связанных с нарушением энергических процессов, каталаза пероксисом может выходить из

них и участвовать в окислении на мембранах эндоплазматического ретикулаума [10].

Бенина Н.Ф., Чеганова М.И. [13] считают, что, обезвреживание перекиси водорода накапливающаяся в процессе ПОЛ, происходит за счёт каталазы, которая находится во всех тканях организма. На сегодняшний день изучение в области биохимии позволяют говорить о важной роли свободнорадикальных процессов в патогенезе многих заболеваний и патсостояний, а также о важных физиологических функциях свободных радикалов кислорода [5].

Клеточная защита от свободных радикалов представляет собой многоуровневую систему биоантиоксидантов. Первичная защита – ослабляет реакции инициации свободнорадикального окисления и тем самым уменьшая концентрацию СР. К антиоксидантному звену первичной защиты относятся ферменты, низкомолекулярные соединения и неферментативные белки. Вторая защита направлена на устранение уже образовавшихся радикалов, тормозя их вредный эффект на ранних стадиях. К антиоксидантам вторичной защиты относят глутатион-S-трансферазу, которая проявляет пероксидазную активность и защищают клетки от липидной пероксидации [5, 81].

СРО – один из фундаментальных биологических процессов, обеспечивающих нормальную жизнедеятельности организма. СРО участвует в обмене веществ, обеспечивающих защитные реакции, разрушение чужеродных соединений как поступающих извне, так и образующихся в организме. Действие многих неблагоприятных факторов, таких как облучение, введение лекарственных средств, стресс, физические нагрузки изменяют скорость СРО и количество СР в организме. Образовавшиеся в большом количестве СР взаимодействуют с органическими соединениями, в результате чего снижается биологическая активность белков, ферментов, нуклеиновых кислот и т.д.

Кроме того, продукты ПОЛ токсичны, сдерживают пролиферацию и созревание клеток, обладают канцерогенными свойствами. В настоящее время интерес к исследованию клинического аспекта процесса цепного перекисного окисления липидов связан с тем, что усиление или ослабление активности

реакций в указанном звене метаболизма способно существенно снизить резистентность организма к воздействию на него неблагоприятных факторов внешней и внутренней среды, а также создать предпосылки к ускоренному развитию и утяжелению течения патологического процесса. Характерной особенностью реакций ПОЛ является их высокая степень мембранной специфичности, в связи с чем этот процесс часто характеризуют как мембранную патологию.

При накоплении патогенов в крови недоокисленных продуктов метаболизма, происходит нарушение целостности клеток хозяина, в крови появляются антигены и в организме начинается выработка антител, которые являются факторами формирования эндогенных патогенов, аутоиммунных комплексов. Эти комплексы из кровотока исчезают за счёт фагоцитоза. Накопление МСМ не только является маркером эндоинтоксикации, в дальнейшем они усугубляют течение патологического процесса, приобретая роль вторичных токсинов, тем самым оказывая влияние на жизнедеятельность всех систем и органов. Однако, несмотря на большое количество работ, окончательно пул СМП не идентифицирован, но точно установлено, что состав МСМ включает в себя компоненты пептидной природы, а также производные олигоспиртов и глюкуроновой кислоты [5, 1, 58, 59, 81].

В связи с изложенным выше, изучение показателей интоксикации как своеобразных маркеров тяжести течения заболевания и эффективности лечения представляет интерес при глистных инвазиях.

Глава 2. Собственные исследования

2.1 Материалы и методы исследования

Настоящая работа выполнена в 2010-2015 гг. на базе лаборатории визуальной диагностики и патологии молодняка Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского ветеринарного института. Основные этапы, апробация и практическое применение разработанных методик проведены в ветеринарной клинике «Центр» г. Ростов-на-Дону. В процессе работы в период 2010-2015 гг. был выполнен объем исследований приведенный в таблице 1.

Таблица 1 - Объем проведенных исследований

№ п./п.	Вид проведенного исследования	Всего проведено исследований
1	Обследовано всего животных	175
2	Общий анализ крови	175
3	Исследование по Кнотту	175
4	Иммуноферментные тесты	175
5	Биохимический анализ крови	60
6	Общий клинический анализ мочи	60
7	Эхокардиографические исследования, в т.ч.	60
	Эхокардиография здоровых собак	20
	Эхокардиография больных собак	40
8	Рентгенографические исследования, в т.ч.	60
	Рентгенография здоровых собак	20
	Рентгенография больных собак	40

Обследованию подверглись собаки породы немецкая овчарка в возрасте от 12 месяцев до 10 лет. Животных для обследования отбирали по мере поступления в ветеринарную клинику. Общее количество обследованных животных составило 175 голов. Клиническое обследование здоровых и больных животных проводили по общепринятой методике с последующим занесением результатов в

соответствующие протоколы и истории болезни. Заполняли карточку, где указывалась фамилия, имя и отчество хозяина, адрес, порода, пол, возраст собаки. Выясняли дату заболевания, регион постоянного проживания животного, выезд из этого региона. При сборе анамнестических данных обращали внимание на потерю массы тела, активность, утомляемость, бледность слизистых оболочек, скорость наполнения капилляров, наличие сухого кашля, одышки, асцита, желтухи, диареи, рвоты, нервных явлений. Обязательно оценивали состояние кожи и работоспособность.

У всех животных из подкожной вены предплечья утром натощак брали кровь в пробирку с антикоагулянтом, которую затем исследовали на наличие микрофилярий по Кнотту и иммуноферментным методом для качественного выявления специфических антигенов *Dirofilaria immitis*.

2.1.1 Диагностика дирофиляриоза

Для исследования по Кнотту к 1 мл венозной крови из пробирки для морфологического исследования добавляли 10 мл 2% раствора формалина, далее центрифугировали при 1500 оборотах в течение 5 минут. Из осадка готовили мазки, которые окрашивали по Романовскому-Гимзе и микроскопировали под малым увеличением микроскопа (x10). При исследовании крови 175 собак данным методом, микрофилярии были выявлены у 25 собак (14,28%).

Для выполнения иммуноферментного теста использовали тест систему фирмы IDEXX (laboratories, USA). Тест система рассчитана на определение *D. immitis* и трансмиссивных заболеваний таких как анаплазмоз, эрлихиоз, болезнь Лайма [64, 65].

Инструкция по проведению экспресс-теста с помощью системы

IDEXX 4DX SNAP

Образцы крови для анализа:

1. Для анализа можно использовать: сыворотку, плазму или цельную кровь (с антикоагулянтом EDTA или гепарин), свежие образцы можно хранить в холодильнике при +2+8С 7 дней до исследования, если требуется длительное хранение сыворотку или плазму можно заморозить и хранить до исследования.
2. Перед началом исследования все образцы должны быть выдержаны 30 минут при комнатной температуре (15-25С).
3. Гемолизированные и липимические образцы использовать нельзя.

Проведение исследования:

1. Перед началом исследования все компоненты набора выдержать при комнатной температуре 30 минут.

- Используя приложенную пипетку (которая находится в пакетике с тест-системой) внести 3 капли образца (сыворотки, плазмы, крови) в чистую пробирку (прилагается к набору).



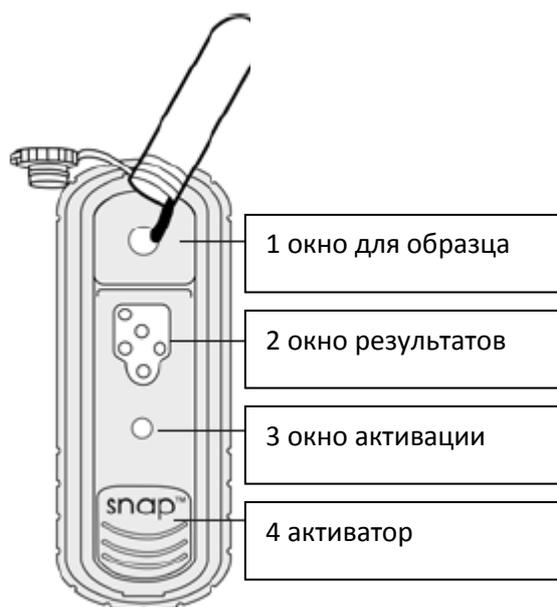
- В пробирку с образцом добавить из пластикового пузырька с конъюгатом (голубой раствор в отдельном пузырьке) 4 капли конъюгата, путем нажатия на пузырек.



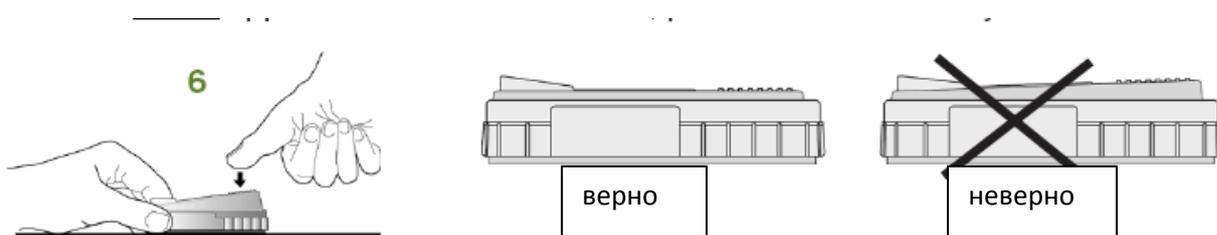
- Закрывать пробирку и содержимое перемешать.



- Положить тест-систему на горизонтальную поверхность, внести содержимое пробирки в окошко 1.

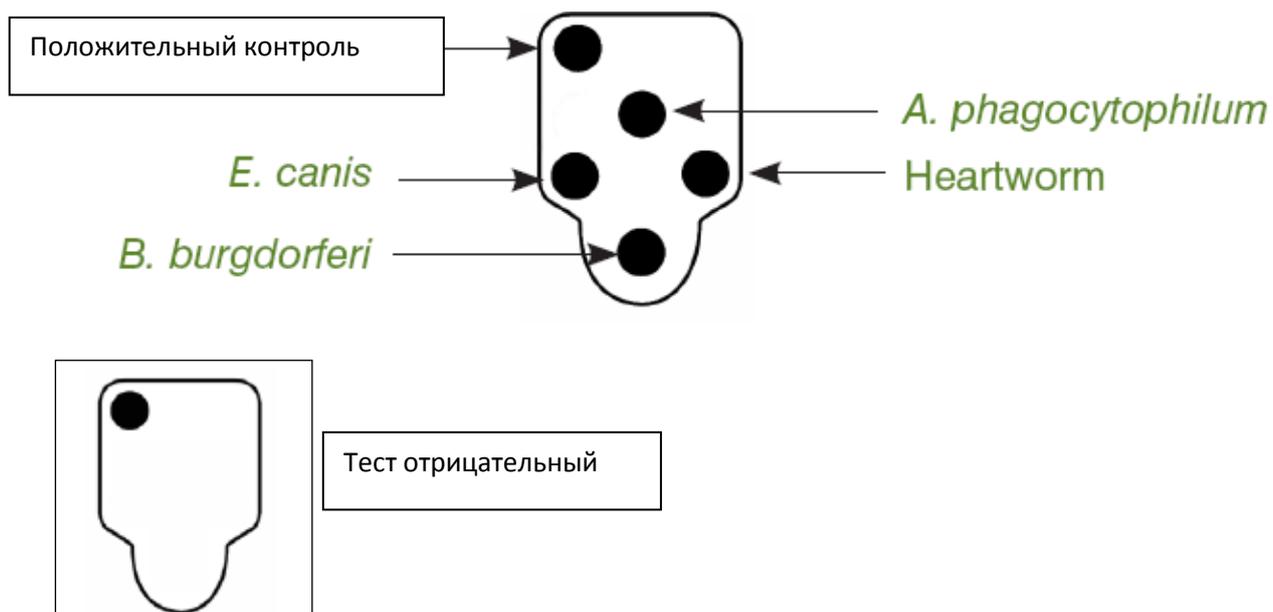


Подождать пока жидкость протечет через окно результатов 2 и покажется в окне активации 3 (это займет 30-60 секунд), после чего нажать активатор 4 так, чтобы крышка тест системы заняла горизонтальное положение.



Примечание: некоторые образцы могут не достичь окна активации через 60 секунд, тогда нажать активатор через 60 секунд, при условии, что жидкость протекла через окно результатов 2.

5. Подождать 10 минут.
6. Результат учитывать через 10 минут после нажатия активатора.



Если не окрасилось пятно положительного контроля – система испорчена.

Из 175 обследованных животных положительно отреагировали 44 собаки (25,14%). Выявление антигенов взрослых дирофилярий с помощью иммунострипа считается высокоспецифичным, так как не дает других перекрестных реакций с *D. repens* [39, 61].

2.1.2 Методика исследования общего анализа крови, мочи и биохимические исследования

Для оценки гомеостаза организма собак проводили:

Общий клинический анализ крови (гематологические исследования) в пробах крови собак морфологический состав крови определяли по количественному содержанию на приборе PCE-90Vet (США) и качественному, подсчитанному в окрашенном мазке экспресс-краской Дифф Квик [61].

Оценку клеточного метаболизма собак, больных дирофиляриозом, проводили по биохимическим показателям крови. Определение биохимических показателей – общий белок, фракцию альбуминов, мочевины, креатинин, билирубин, активность ферментов трансаминирования АсАТ и АлАТ, щелочная фосфатаза (ЩФ) проводили на приборе Humalyzer Junior с использованием тест-систем производства «HUMAN» (Германия).

Выделительную и фильтрационную функцию почек оценивали по общему клиническому анализу мочи. Для исследования применяли утреннюю порцию мочи, собранную естественным путём. Проводили исследование химических и физических свойств мочи с помощью индикаторных тест-полосок ДекаФан Лейко (DekaPhanLeuco) фирмы «LACHEMA». Далее центрифугировали мочу в течение 5 минут при 1500 об/ мин с последующей микроскопией осадка. Определение соотношения белка в моче и креатинина проводили на аппарате IDEXX VetTest[®], с использованием реактивов IDEXX VetTest[®]. С целью изучения раннего показателя повреждения нефронов провели исследование протеин/креатинин мочи, при отсутствии сопутствующих изменений уровня мочевины и креатинина в крови. Данное исследование применялось для определения тяжести протеинурии и рассчитывалось по формуле:

$$\text{PROT/CREA в моче} = \text{белок мочи (г/л)} / \text{креатинин мочи (г/л)} = \text{UPC}$$

Тест отношение Urine P:C Ratio состоит из двух специально откалиброванных тестов–белок в моче (UPRO) и креатинин в моче (UCRE). Процедура проведения теста Urine P:C Ratio на анализаторе VetTest состояла из:

1. Отбора и центрифугирования образца.
2. Выполнение теста на содержание белка в моче (UPRO) на анализаторе
3. Подготовка образец для теста на креатинина в моче при помощи IDEXX Urine Protein:Creatinine Sample Preparation Kit.
4. Выполнение анализа креатинина в моче (UCRE) на анализаторе. Анализатор VetTest самостоятельно вычислял коэффициент путем деления результата UPRO на результат UCRE (UPRO / UCRE = соотношение UPC).

2.1.3 Методики оценки уровня эндогенной интоксикации

Уровень эндогенной интоксикации оценивали по содержанию в крови собак МСМ, активности ферментов антиоксидантной защиты СОД и каталазы [5].

Определение СОД, каталазы, МСМ проводили в аккредитованной лаборатории НИИ биологии Южного федерального университета на фотоколориметре КФК -3-01 (г.Ростов-на-Дону).

Определение активности каталазы (М.А.Королюк, 1988) [5].

Метод основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс.

Ход определения: Реакция запускается добавлением 0,1 мл сыворотки крови к 2 мл 0,03 % раствора перекиси водорода. В холостую пробу вместо сыворотки вносят 0,1 мл дистиллированной воды. Реакцию останавливают через 10 минут добавлением 1 мл 4% молибдата аммония. Интенсивность окраски измеряют на спектрофотометре при длине волны 410 нм против контрольной пробы, в которую вместо перекиси водорода вносят 2 мл воды.

Расчет: $[pic]$ (мкат/л), где

E – активность каталазы в мкат/л;

A – оптическая плотность холостой и опытной проб;

V – объем вносимой пробы, 0,1 мл;

t – время инкубации, 600 сек;

K – коэффициент миллимолярной экстинкции перекиси водорода, равный $[pic]$

За единицу активности каталазы принимают то количество фермента, которое участвует в превращении 1 мкат перекиси водорода за 1 секунду при заданных условиях. Расчет активности каталазы ведут на 1л сыворотки крови [5].

Определение уровня МСМ в крови (Н.И. Габриэлян, 1984)

Метод основан на осаждении белков из исследуемой жидкости 10% раствором ТХУ с последующим центрифугированием и определением абсорбции света супернатантом в 10 раз разведенным дистиллированной водой.

Ход работы: 0,6 мл сыворотки крови + 0,3 мл ТХУ 10% центрифугировали при 3000об/мин в течение 30 минут. К 0,3 мл надосадочной жидкости приливали 2,7 мл дистиллированной воды и определяли экстинцию проб на спектрофотометре при следующих длинах волн: $\lambda 210$ – определение фракции, содержащей остатки нуклеиновых кислот, $\lambda 254$ – анаболическая фракции обмена белков, в которой содержатся молекулы, обладающие цитолитической и мембранотоксической активностью, фракция $\lambda 280$ содержит олигопептиды, регуляторные молекулы, ароматические аминокислоты. В качестве контроля использовали раствор 10% ТХУ в 30 раз разведенный дистиллированной водой. Оптическая плотность его против воды составляет 0,123(0,012 усл. ед. на волне 254 нм при 23-25[$^{\circ}$ C]. Уровень МСМ выражают в единицах, количественно равных показателям экстинции [20].

Определение СОД (Т.В.Сирота, 1999)

Для измерения активности СОД необходимы реактивы - раствор 0,1% адреналина и 0,2М бикарбонатный буфер, рН 10,65.

Активность этого фермента в плазме исследуется с целью выяснения состояния антиоксидантной системы защиты организма в условиях патологического процесса. Повышение активности СОД рассматривается как фактор, увеличивающий общую антиоксидантную защиту клетки и препятствующий развитию патологии. В настоящее время интерес к ферментам защиты от окислительного стресса и, в частности, к СОД, очень велик [20].

Ход определения: в кювету спектрофотометра вносят 1 мл 0,2 М бикарбонатного буфера с ЭДТА, 0,4 мл раствора адренохрома и 1,2 мл дистиллированной воды. Устанавливают кювету в термостатированную приставку (25 С) и проверяют наличие стабильных показателей при длине волны 480 нм. Запускают реакцию добавлением 0,4 мл кислого раствора адреналина,

быстро перемешивают и снимают показатели оптической плотности за короткие интервалы времени (10 с) в течение 2-3 минут, что соответствует линейному участку скорости реакции.

Изменения рН при добавлении кислого раствора адреналина не наблюдается. Определяют скорость возрастания оптической плотности при длине волны 480 нм (E/t). Варьируя концентрацию вносимого адреналина, добиваются установленной величины контрольной скорости реакции, равной $(E/t)_{\text{контроль}} = 0,025/\text{мин}$. Одновременно проводят определение активности СОД. С этой целью в кювету вносят 1 мл Na-карбонатного буфера с ЭДТА (рН 10,2), 0,5 мл источника фермента, 0,4 мл раствора адренохрома и 0,7 мл дистиллированной воды. Проверяют исходный уровень адренохрома и определяют степень ингибирования СОД реакции аутоокисления адреналина, рассчитывая так же, как и в контрольной пробе, величину E/t.

Расчет активности фермента проводят следующим образом. Вначале определяют процент ингибирования реакции за счет СОД по отношению к контрольной пробе по формуле:

$$T \% = (E/t)_{\text{контроль}} - (E/t)_{\text{опыт}} / (E/t)_{\text{контроль}} * 100 \%$$

Колебания ингибирования ферментной реакции должны находиться в пределах от 30 до 70%. Если процент ингибирования за счет СОД выходит за указанные ограничения, необходимо изменять количество вносимого в инкубационную смесь фермента.

На следующей стадии расчета активности определяют количество условных единиц СОД, внесенных в инкубационную смесь:

$$A (\text{условные единицы}) = E\% / 100\% - T\%.$$

Затем производят расчет удельной активности фермента, учитывая разведение биологического материала, содержащего СОД, его количество, внесенное в инкубационную смесь, и рассчитывают на 1 мг белка или на 1 мг гемоглобина, либо на 1 мл биологического материала.

Общее клиническое обследование проводили по общепринятой методике – осмотр животного, перкуссия грудной клетки и сердечной области, аускультация легких и сердца, с последующим занесением результатов в соответствующие протоколы и истории болезни.

Эхокардиографическое исследование. Исследования были проведены на ультразвуковом сканере Honda HS-1500 (конвексный мультисекторный датчик 3,5-5,0-7,0 МГц) и на современном ультразвуковом сканере высокого класса для общих исследований и кардиологии Mindray DC-N6 (высокочастотный секторный датчик).

Рентгенографическое исследование было проведено на передвижном рентгеновском диагностическом аппарате BASIC. Грудную клетку исследовали в латеральной и прямой вентро-дорсальной проекциях. Для выполнения правой боковой проекции животное укладывали на правый бок, передние конечности вытягивали вперед. Для выполнения прямой проекции собаку укладывали на грудь, лапы вытягивали вперед. Добивались симметричного положения, при котором грудина и позвоночник на снимке совпадали [35, 38].

При анализе рентгенограмм определяли анатомо-топографические особенности сердца, крупных сосудов, дыхательных путей и легких [35].

2.2 Статистический анализ

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0. Количественные данные представляли в виде Mm , где M – среднее, m – стандартная ошибка среднего. При оценке достоверности изменений между группами использовали парный t критерий Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при значении $p < 0,05$.

Глава 3. Результаты исследования

С подозрением на дирофиляриоз было обследовано 175 собак. Из них положительные пробы по методу Кнотта были установлены у 25 собак, иммуноферментный анализ был положительным у 44 собак. Таким образом у 14,28 % собак был установлен диагноз *D. immitis* легкой степени, 25,14% диагноз *D. immitis* средней тяжести, у 60,6% собак предполагаемый диагноз не подтвердился. В исследовании приняли участие 60 собак, из них 20 здоровых животных, составивших контрольную группу (1 группа), 20 собак с бессимптомным течением *D. immitis* (2 группа) и 20 собак со средней тяжестью течения *D. immitis* (3 группа) [42, 45, 46].

На основании клинического обследования, лабораторной и инструментальной диагностики были сформированы 3 группы животных. Все собаки были привиты и обработаны от экто- и эндопаразитов. Изучение нормальных клинических и биохимических показателей крови, сердечно-сосудистой системы (ССС), рентгенографических и эхокардиографических (ЭхоКГ) параметров были проведены на контрольной группе собак, практически здоровых животных – первая группа (n=20).

Во вторую группу (n=20) вошли собаки с бессимптомным течением, у которых установлена инвазия *D.immitis* по положительному результату в тест системе IDDEX, на основании исследований ЭхоКГ выявлены признаки незначительной легочной гипертензии, на рентгенограмме органов грудной клетки выявлен дефект обрезки периферических сосудов в каудальных долях легких. Основными жалобами, с которыми наиболее часто обращались владельцы собак данной группы, являлись повышенная утомляемость и снижение активности.

В третью группу (n=20) вошли собаки, у которых была установлена инвазия *D.immitis* по тест системе IDDEX, по результатам ЭхоКГ выявлены признаки умеренной легочной гипертензии, на рентгенограмме органов грудной клетки выявлены дефект обрезки периферических сосудов в каудальных долях легких,

незначительное выбухание сегмента легочной артерии, незначительное увеличение правых отделов сердца. При клиническом обследовании у животных 3-й группы наблюдались выраженное снижение физической активности, утомляемость, кашель, одышка, у некоторых собак кратковременная потеря сознания [42, 45, 46].

3.1 Результаты общеклинического обследования собак

Результаты общеклинического обследования показали, что, несмотря на признаки легкого течения заболевания, у собак 2 группы есть отклонения от здоровых животных по некоторым общеклиническим показателям. В первую очередь следует отметить повышение ЧСС в покое до 110- 140 уд/мин, повышение скорости наполнения капилляров и ЧДД. У собак 3 группы. Эти изменения носили более выраженный характер в соответствии с таблицей № 2.

Таблица 2 - Результаты общеклинического обследования собак

ПОКАЗАТЕЛЬ	1 группа (n=20)	2 группа (n=20)	3 группа (n=20)
Жалобы	Отсутствуют	Повышенная утомляемость, снижение физической активности	Выраженное снижение физической активности, утомляемость, кашель, одышка, у некоторых собак кратковременная потеря сознания
ЧСС, уд/мин	60-110	110-140	140-180
ЧДД, дд/мин	10-20	19-22	23-29
Скорость наполнения капилляров, сек	1-2	3-3,5	3,5-4
Астения	нет	умеренная	умеренная
Слизистые оболочки	Бледно-розовые, умеренно увлажнены	Бледно-розовые, умеренно увлажнены	Бледно-розовые, умеренно увлажнены
Рентгенограмм а сердца и легких		Выявлен дефект обрезки периферических сосудов в каудальных долях легких	Выявлены дефект обрезки периферических сосудов в каудальных долях легких, незначительное выбухание сегмента легочной артерии,

			незначительное увеличение правых отделов сердца
ЭХО КГ	ЭХО КГ патологии не выявлено	Наличие незначительной гипертрофии стенки правого желудочка, легочная гипертензия, трикуспидальная регургитация	Умеренная или значительная легочная гипертензия, гипертрофия правого желудочка, умеренная делятация
Тест система IDDEX	Не выявлено	Положительный результат	Положительный результат

Таким образом, повышение ЧСС, ЧДД, скорости наполнения капилляров могут быть характерны для собак инвазированных *D. immitis* и должны использоваться в комплексном исследовании собак при подозрении на гельминтоз. [45, 46].

3.2 Оценка гомеостаза организма собак, инвазированных *D. immitis*

Явление гомеостаза представляет собой эволюционно выработавшееся наследственно - закрепленное адаптационное свойство организма к обычным условиям окружающей среды. Однако эти условия могут кратковременно или длительно выходить за пределы нормы. В таких случаях явления адаптации характеризуются не только восстановлением обычных свойств внутренней среды, но устранением или ограничением действия повреждающих факторов. Регуляторные гомеостатические механизмы функционируют на клеточном, органном, организменном и надорганизменном уровнях. В связи с этим, нами проведено исследований показателей, отражающих ответ организма собак на инвазию *D. immitis*.

3.2.1 Общий клинический анализ крови

Лабораторная диагностика основана на комплексной оценке общего анализа крови и биохимических исследованиях. У собак 2 и 3 группы оценка гемостаза проводилась на основании определения комплекса показателей, включающих общий анализ крови и соотношение лейкоцитов. Морфологические и биохимические изменения показателей крови не позволяют поставить диагноз диروفилариоз, но помогают определить патологические изменения в органах и тканях, которые могут быть связаны с инвазией.

Таблица 3 - Гематологические показатели крови у собак, контрольной группы и больных диروفилариозом в зимнее и летнее время

Показатели	зима			лето			Норма
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	
Эритроциты, $\cdot 10^{12}$ /л	7,38± 0,19	6,98± 0,091*	8,18± 0,072* **	6,73± 0,159	6,38± 0,018*	6,31± 0,021**	5,4-7,8
Гемоглобин, г/л	156,1± 1,87	148,7± 0,82*	178,3± 2,59** *	141,8± 4,74	134,7± 0,98*	130,4± 1,68** *	130- 190
СОЭ, мм/ч	1,6±0	1,0±0*	1,0±0* **	1,0±0	1,0±0*	1,0±0* **	5-6

Примечание: *обозначены изменения, достоверные по сравнению с 1 группой, ** обозначены изменения 2 группы, достоверные по сравнению с 3 группой

Основной и главной функцией эритроцитов является перенос кислорода от легких к тканям организма и углекислого газа от тканей в легкие. Также они выполняют питательную, защитную функции и поддерживают кислотно-щелочное равновесие в крови [45].

При исследовании красной крови у собак с инвазией *D. immitis*, было установлено, что все показатели находились в пределах физиологической нормы, установленной для собак. Однако, при сравнении содержания эритроцитов, гемоглобина и показателя СОЭ у собак контрольной и клинических групп наблюдались некоторые отличия, в соответствии с таблицей № 3.

У собак с бессимптомным течением дирофиляриоза (2 группа) показатели красной крови зимой и летом не выходили за пределы референтных значений в соответствии с рисунком 1. Однако, у животных этой группы в зимний период года количество эритроцитов и гемоглобина было снижено на 5,4% и на 4,6% соответственно по сравнению с контролем. В летний период года у собак этой группы количество эритроцитов и гемоглобина было также ниже контроля на 5,1% и на 5% соответственно. При этом отмечалась весьма существенная разница содержания гемоглобина в зимнее и летнее время в крови собак с бессимптомным течением дирофиляриоза. В летний период года у этих животных уровень гемоглобина был ниже на 9,42%, в сравнении с зимой и приблизился к нижней границе нормы. Достоверные различия в количестве эритроцитов и гемоглобина у собак с бессимптомным течением было установлено.

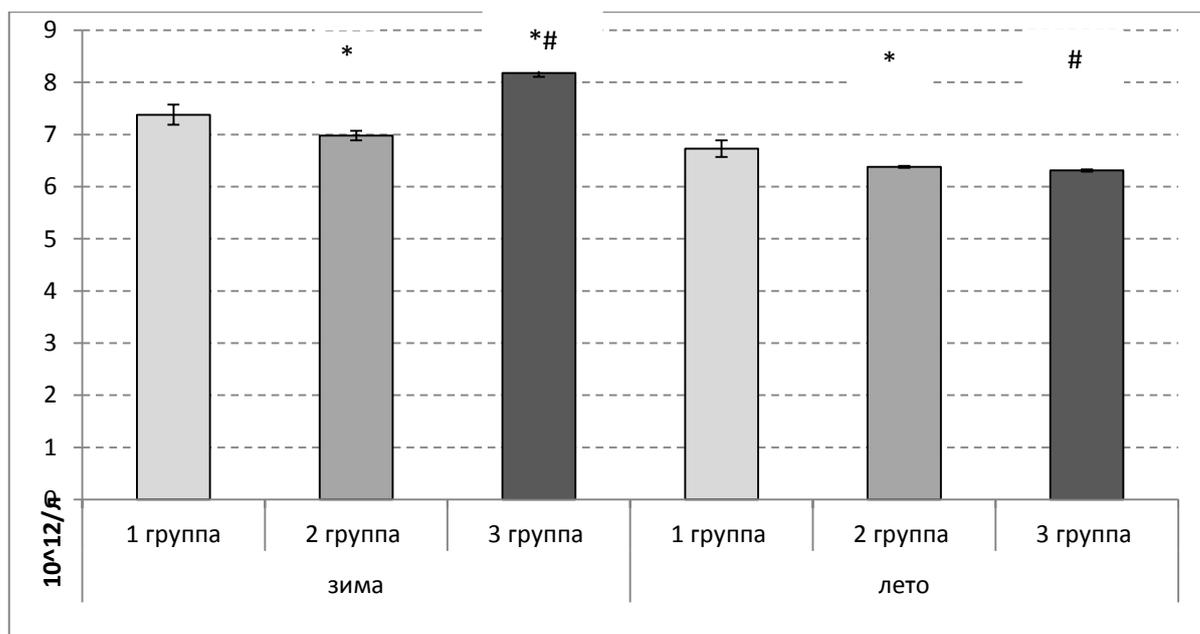


Рисунок 1 - Количество эритроцитов у собак 1-3 групп в зимний и летний период года, ($10^{12}/л$)

Другой характер носили изменения изучаемых показателей у собак со средней тяжестью течения дирофиляриоза (3 группа). В зимний период года количество эритроцитов и уровень гемоглобина были повышены на 10,8% и на 14,4%, соответственно в сравнении с контрольной группой собак. В летний период отмечались противоположные изменения данных показателей: количество эритроцитов и уровень гемоглобина были снижены на 6,2% и на 8%, в сравнении с контрольной группой собак. Отмечается существенная межсезонная разница этих показателей. В летний период в сравнении с зимним периодом года, у собак 3 группы количество эритроцитов и уровень гемоглобина были снижены на 22,86% и на 26,84%, по сравнению с зимним периодом. Особенно заметно снижение гемоглобина, которое приблизилось к нижним границам нормы в соответствии с рисунком 2. Достоверных различий в количестве эритроцитов у собак со средней тяжестью течения не установлено. Достоверные различия в уровне гемоглобина у собак данной группы были установлены.

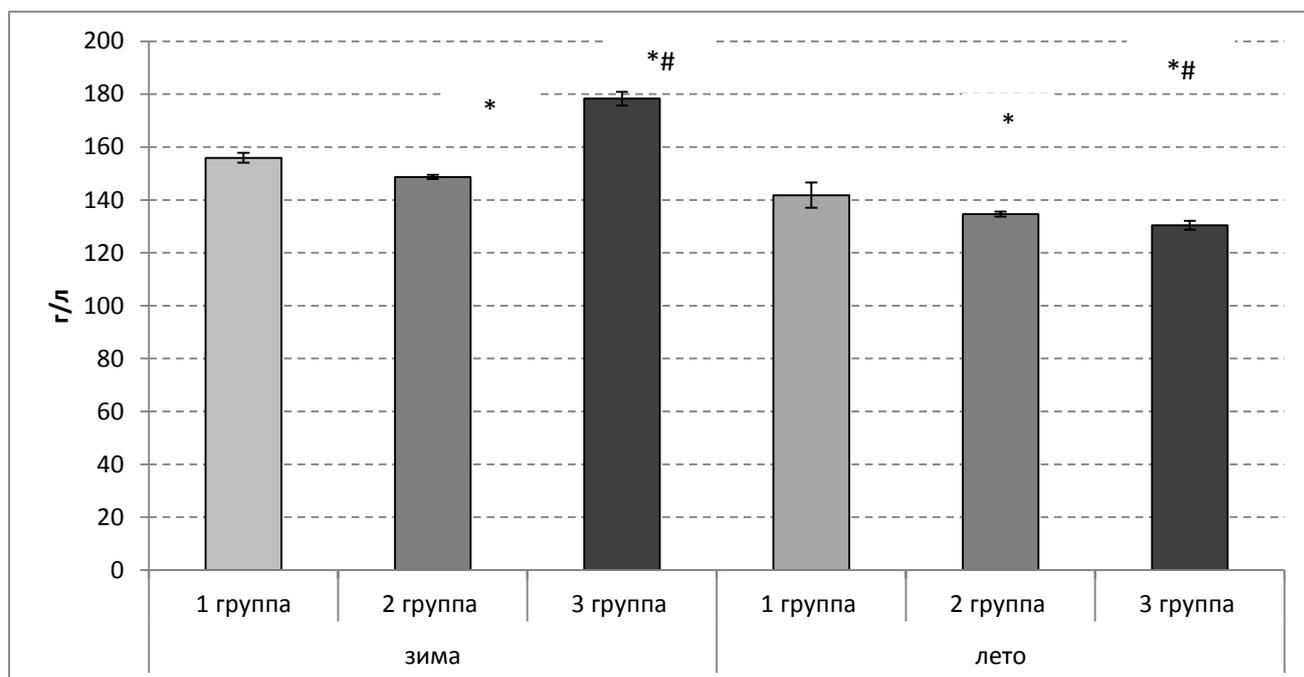


Рисунок 2 - Содержание гемоглобина в крови собак 1-3 групп в зимний и летний период года, (г/л)

СОЭ – неспецифический показатель диспротеинемии, сопровождающей процесс болезни. СОЭ в зимние и летние периоды находится в пределах физиологической нормы и не опускается ниже единицы.

Таблица 4- Морфологический состав лейкоцитов в крови у собак контрольной группы и больных дирофиляриозом в зимнее и летнее время

Показатели	зима			лето			норма
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	
Лейкоциты, $10^9/л$	8,3± 0,29	11,26± 0,14*	10,2± 0,34***	7,56± 0,15	9,31± 0,07*	11,4± 0,12***	9-12
Эозинофилы, %	5,3± 0,34	13,33± 0,58*	8,67± 0,29***	6,7± 2,17	14,67± 0,29*	9,0± 0,32	0-5
Юные, %	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0
Палочкоядерные нейтрофилы, %	5,2± 0,52	6,4± 0,96	10,67± 0,915	3,6± 0,79	7,3± 0,43*	8,7± 0,27**	4-6

Сегментоядерные нейтрофилы, %	61,1± 0,94	55,67± 0,98*	63,5± 0,61***	66,8± 0,82	53,5± 0,94*	64,4± 0,99**	50-72
Лимфоциты, %	22,9± 0,72	22,2± 0,65	17,67± 0,74**	15,4± 0,97	18,1± 0,74*	20,42± 0,81***	15-20
Моноциты, %	3,2± 0,46	3,17± 0,47	3,3± 0,53	2,29± 0,44	2,2± 0,14	1,7± 0,17	0-3

Примечание. * обозначены изменения, достоверные по сравнению с 1 группой, ** обозначены изменения во 2 группе, достоверные по сравнению с 3 группой

При исследовании лейкограмм у собак с инвазией *D. immitis* нами было установлено, что общее количество лейкоцитов находится в пределах физиологической нормы, однако заметна тенденция к повышению их содержания по сравнению с контролем в соответствии с рисунком 3. У собак 2 и 3 группы в зимний период года количество лейкоцитов было повышено: у 2 группы на 36,8%, у 3 группы на 23,9%, в сравнении с 1 группой собак, в соответствии с таблицей 4.

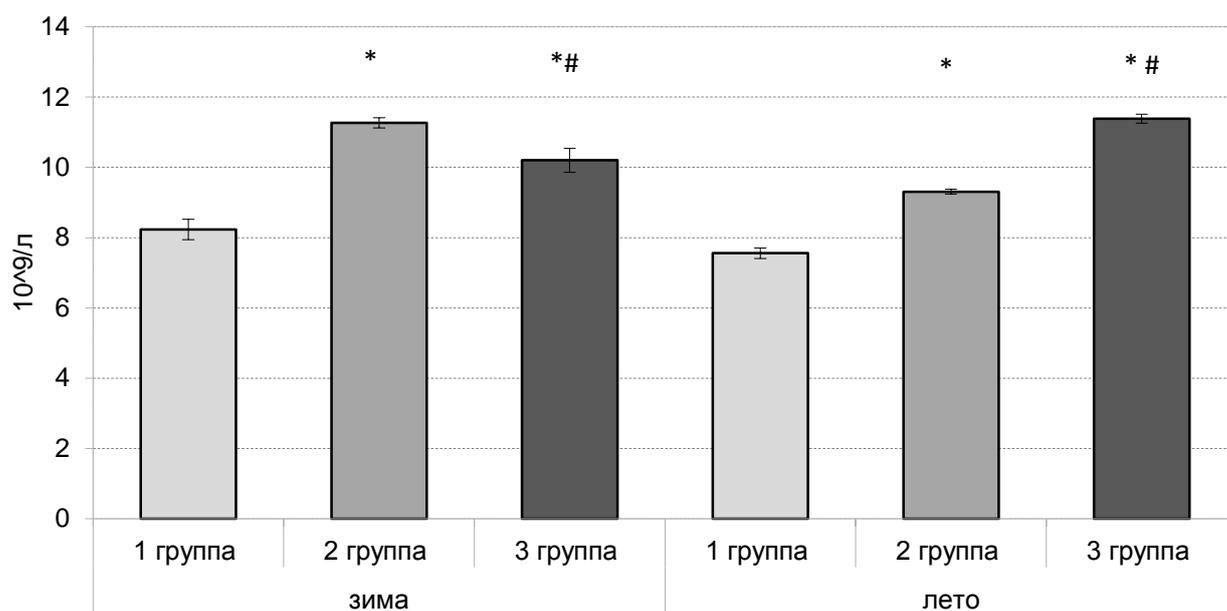


Рисунок 3 - Количество лейкоцитов в крови у собак 1-3 групп в зимний и летний период года, (10⁹/л)

В летний период года количество лейкоцитов у собак 2 и 3 групп также было выше контрольных значений - у 2 группы на 23,2%, у 3 группы – на 50,7%.

Межсезонные различия внутри групп: в летний период года у собак 2 группы было снижено количество лейкоцитов на 17,38%, у собак 3 группы было повышено количество лейкоцитов на 11,62%, по сравнению с зимним периодом года. Достоверные различия в количестве лейкоцитов у собак 2 групп было установлено.

Количество эозинофилов относительно контрольных величин было повышено у собак в обеих группах, однако следует отметить, что у собак 2 группы изменения были более выраженными. Отмечалась эозинофилия у собак 2 группы относительно контрольных групп, в зимний период составило 151,6% и летнее время - 118,9%. У собак 3 группы также отмечалась эозинофилия в зимний и в летний периоды в сравнении с контрольной группой собак, но менее выражено, чем во 2 группе и составило: в зимний период - на 63,5%, в летний - на 34,3%. Кроме того, следует отметить, что в зимнее время года у собак, больных дирофиляриозом обеих групп изменения данного показателя были более значительны, чем в летнее время. Межсезонные изменения количества эозинофилов у собак 2 и 3 групп были однонаправленными, у 2 группы - на 10,0%, у 3 группы зимой содержание эозинофилов в крови собак было ниже, чем летом на 3,85%, однако эти отличия носят не достоверный характер. Достоверных различий в количестве эозинофилов между группами собак в разное время года, инвазированных дирофиляриями не установлено. Таким образом, характер изменения числа эозинофилов в крови собак адекватно отражает наличие инвазии. И обращает на себя внимание при появлении личиночной формы филярий.

Количество палочкоядерных нейтрофилов в крови собак, инвазированных *D. immitis* 2 и 3 групп были выше контрольных значений. При этом у собак 2 группы зимой повышение этого показателя было менее значительно и составило 23,1%, тогда как летом данный показатель был выше контрольных значений на 78,9%. У собак 3 группы количество палочкоядерных нейтрофилов в зимний и летний периоды также превышало контрольные значения, зимой на 105,1%, а летом на 112,5%. Следует отметить, что в содержании палочкоядерных нейтрофилов

установлены межсезонные различия: у собак 2 группы этот показатель был выше летом, у собак 3 группы – зимой. Достоверных различий в количестве палочкоядерных нейтрофилов между группами собак, инвазированных дирофиляриями в течение года не установлено.

Достоверных различий в количестве сегментоядерных нейтрофилов между группами собак, инвазированных дирофиляриями не установлено. Направленность изменений числа сегментоядерных нейтрофилов была несколько иной, так у собак 2 группы этот показатель был ниже контроля, как в зимнее время на 10,2% , так и в летнее время на 30,2%, значения показатели приближались к нижним границам нормы. У собак 3 группы в содержании сегментоядерных нейтрофилов межсезонных различий не было и соответствовало средним значениям клинической нормы: в зимний период было повышено на 2,4%, а в летний период понижено на 16,0%, в сравнении с контрольными группами собак. Межсезонные изменения количества сегментоядерных нейтрофилов в летне-зимний период у собак 2 группы были незначительными.

Изменение содержания лимфоцитов в крови собак, больных дирофиляриозом 2 и 3 групп имели одинаковую направленность в летний и зимний периоды. Однако степень изменения зависит от тяжести течения болезни. Количество лимфоцитов у собак 2 группы в зимний период было снижено на 3,1%, а в летний период было повышено на 18,0%, в сравнении с контрольными группами собак. У собак 3 группы количество лимфоцитов в зимний период было снижено на 22,9%, а в летний период было повышено на 32,7%, в сравнении с контрольными группами собак. Межсезонные изменения: у собак 2 группы число лимфоцитов было снижено в летний период на 18,17%, в сравнении с зимним периодом года. У собак 3 группы число лимфоцитов было повышено на 15,63%, относительно зимнего периода. Достоверных различий в количестве лимфоцитов у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года не установлено.

У собак 2 группы отмечалось незначительное снижение числа моноцитов: в зимний - на 1,0%, в летний - на 5,2%, в сравнении с контролем. У собак 3 группы

отмечалось повышение числа моноцитов в зимний период на 4,2%, а в летний период число моноцитов было снижено на 25,0%, в сравнении с контрольными группами собак. Межсезонные изменения количества моноцитов в летний период у собак двух групп было снижено: у 2 группы на 31,58% ,у 3 группы – на 48,57% по сравнению с зимним периодом.

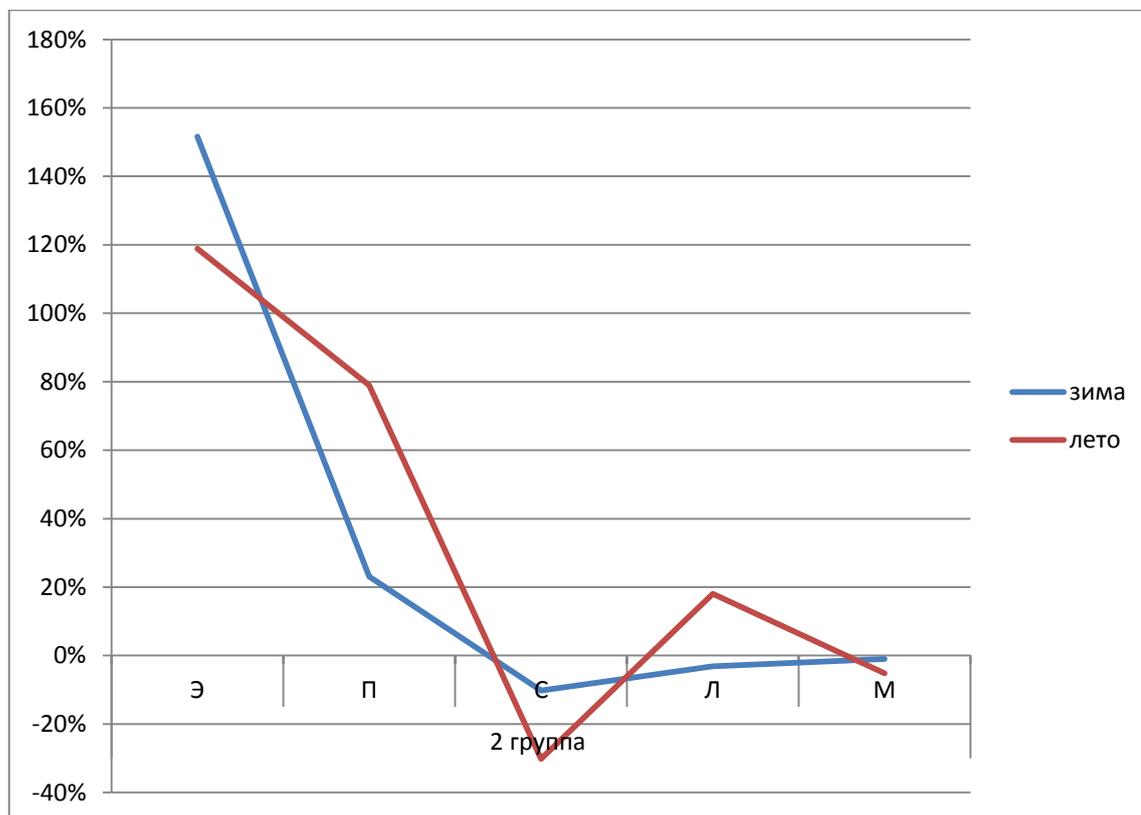


Рисунок 4 - Морфологический состав лейкоцитов у собак 2 группы в зимний и летний периоды года, (в % к контролю)

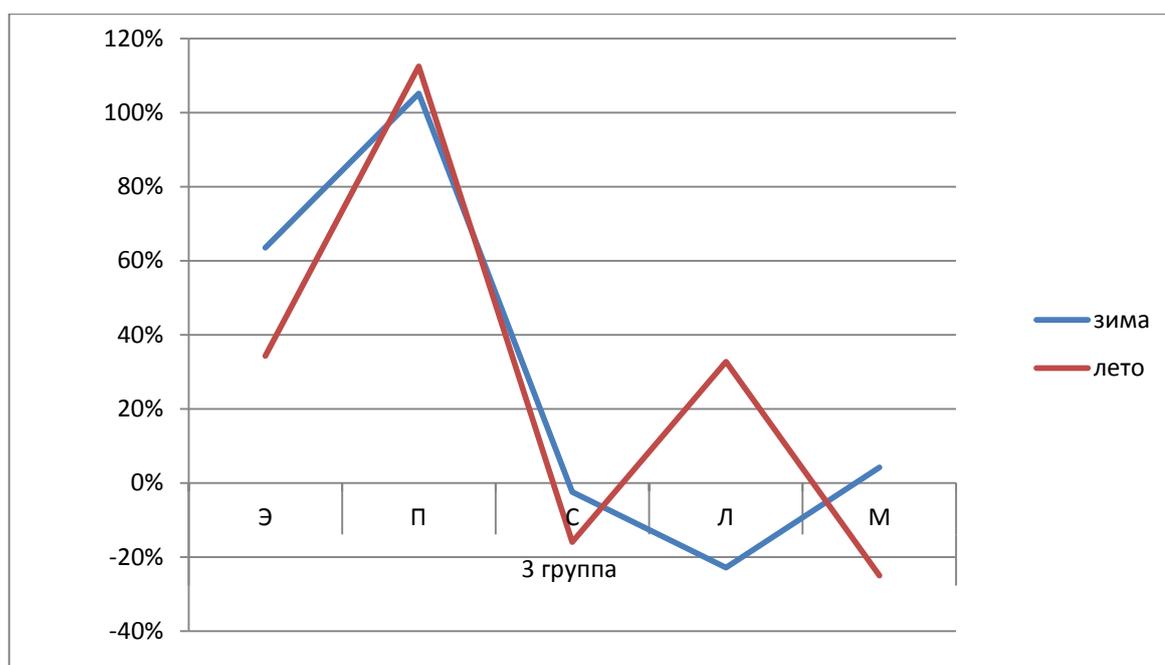


Рисунок 5 - Морфологический состав лейкоцитов у собак 3 группы в зимний и летний период года, (в % к контролю)

В целом гематологические и морфологические изменения носят неспецифический характер и отображают вторичные изменения в организме. При этом видно, что сезонные изменения показателей крови отражают особенности взаимодействия организма собак и гельминтов, в соответствии с рисунками 4 и 5. Появление в крови личиночных форм приводит к более заметным изменениям некоторых нормальных показателей. Так следует отметить, что повышено число эозинофилов. Проявляется тенденция к снижению числа лимфоцитов и моноцитов. Так, снижение уровня лимфоцитов и моноцитов происходит более значительно по мере утяжеления клинических проявлений дирофиляриоза.

Микрофиляриемия повышается в летние месяцы и снижается в зимние, т.е. наибольшее количество филярий в периферической крови отмечается в теплые месяцы, когда максимальна численность комаров, являющихся промежуточными хозяевами дирофилярий, что позволяет в природе осуществить передачу и дальнейшее распространение инвазии.

Таким образом, результаты исследований показали, что более выраженные изменения в составе лейкоцитов происходят в летнее время, когда в крови собак появляются микрофилярии. Установлены различия показателей крови у собак с разной степенью тяжести заболевания.

3.2.2 Показатели функциональных печеночных проб собак, инвазированных *D. immitis*.

АлАТ и АсАТ – очень быстро проявляющиеся, яркие показатели повреждения гепатоцитов, в частности, их значения резко повышаются при остром гепатите, в том числе и при безжелтушных формах. Значение АлАТ повышается быстрее, чем АсАТ, так как АлАТ содержится в цитоплазме клеток, а АсАТ содержится и в цитоплазме, и в митохондриях и повышение ее значений свидетельствует о более тяжелом поражении печени. АлАТ и АсАТ являются стандартизированными маркерами цитолиза [39, 46,67].

В диагностическом плане гамма-глутамилтранспептидаза (g-ГТ) является более специфическим тестом при диагностике холецистопатий у собак, чем щелочная фосфатаза (ЩФ) вследствие отсутствия корреляции её повышения с остеобластической активностью. Повышение g-ГТ, при близких к норме АлАТ и АсАТ, говорит о хронических процессах в печени (гепатиты, холестаз, холецистит, цирроз печени). Из-за преимущественного сосредоточения в митохондриях гепатоцитов, повышение g-ГТ позволяет говорить о поражении печени и судить о степени тяжести патологического процесса.

Повышение показателей ЩФ отмечается при различных гельминтозах, заболеваниях печени, застое желчном пузыре и нарушении минерального обмена.

Альбумин является основным белком крови, вырабатываемым в печени. Определение альбумина используется для диагностики заболеваний печени и почек, ревматических проблемах, онкологических заболеваниях. Альбумин выполняет ряд функции в организме: а) связывает ионы кальция, регулируя тем самым уровень свободного и ионизированного кальция в крови, что необходимо для процессов свертывания крови, возбудимости нервной системы, проницаемости сосудов; б) связывает многие катионы и анионы, участвует в регуляции кислотно-основного состояния, осуществляет защитную функцию; в)

связывает билирубин, образующийся при распаде эритроцитов, и транспортирует его в печень; г) транспортирует тироксин, стероидные гормоны, свободные жирные кислоты, глюкокортикоиды; д) связывает вещества в клетках, разобщающие окислительное фосфорилирование (в том числе, тироксин) [68].

Таблица 5 - Некоторые показатели функциональных проб собак, контрольной группы и больных дирофиляриозом в зимнее и летнее время

Показатели	зима			лето			норма
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	
Альбумин, г/л	30,85± 0,39	32,1± 0,35*	40,5± 0,46***	32,5± 0,61	35,83± 0,6*	38,14± 0,67***	26-39
Общий билирубин, мкмоль/л	3,0± 0,33	4,25 ± 0,25*	3,20± 0,22	3,0± 0,23	3,00± 0,2	3,43 ± 0,19	3-13
Прямой билирубин, мкмоль/л	0,14± 0,19	0±0	0±0	0,14± 0,19	0±0	0±0	0
g -ГТ, МЕ/л	6,9 ± 0,52	7,9± 0,37*	8,68± 0,38***	6,87± 0,02	8,4± 0,08*	8,4± 0,11***	0-6,9
ЩФ, МЕ/л	65,5± 0,57	64,6± 0,76	75,6± 0,75***	65± 0,83	71± 0,63*	75,14± 1,2***	18-75
АлАТ, МЕ/л	31,7± 0,58	37,8± 0,54*	36,86± 0,61***	31,5± 0,63	35,4± 0,76*	36,14± 0,79***	9-55
АсАТ, МЕ/л	34,1± 0,76	41,2± 0,82*	43,7± 0,84***	36,4± 0,48	39,67± 0,26*	39,4± 0,64***	11-40

Примечание: *обозначены изменения, достоверные по сравнению с 1 группой, ** обозначены изменения 2 группы, достоверные по сравнению с 3 группой

При исследовании основных показателей, характеризующих функциональное состояние печени собак с инвазией *D. immitis*, нами было установлено, что все они находятся в допустимых пределах физиологической нормы, в соответствии с таблицей № 5. Тем не менее, при сравнении активности ферментов и уровня

билирубина у собак опытных и контрольной групп наблюдались некоторые отличия.

Изменение содержания альбумина в сыворотке крови собак, больных дирофиляриозом 2 и 3 групп имели одинаковую направленность в летний и зимний периоды. Однако степень изменения зависит от тяжести течения болезни. Количество альбумина у собак 2 и 3 групп в зимний период было повышено: у 2 группы на 4,0%, у 3 группы на 31,3%, в сравнении с контрольными группами собак. У собак 2 и 3 группы количество альбумина также было повышено в летний периода года: у 2 группы на 10,3%, у 3 группы на 17,4%, в сравнении с контрольными группами собак. Отмечалась разница: у собак 2 группы содержание альбумина было повышено в летний период на 11,72 %, в сравнении с зимним периодом года. У собак 3 группы уровень альбумина напротив, был снижен в летний период на 5,82% относительно зимнего. Достоверные различия в уровне альбумина у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года было установлено.

У собак 2 группы общий билирубин в зимний период был повышен на 28,8%, в летний период снижен на 6,3%, в сравнении с контрольными группами собак. У собак 3 группы общий билирубин в зимний период был снижен на 3,0%, в летний период был повышен на 7,2%, в сравнении с контрольными группами собак. Межсезонные изменения общего билирубина: в летний период у собак 2 группы данный показатель был снижен на 29,41%, а у собак 3 группы был повышен на 7,19%, в сравнении с зимним периодом года. Достоверных различий в уровне общего билирубина у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года не установлено. Показатели прямого билирубина у собак 2 и 3 группы в летний и зимний периоды года находились в пределах нормы, по отношению к контрольным группам, в соответствии с рисунком 6.

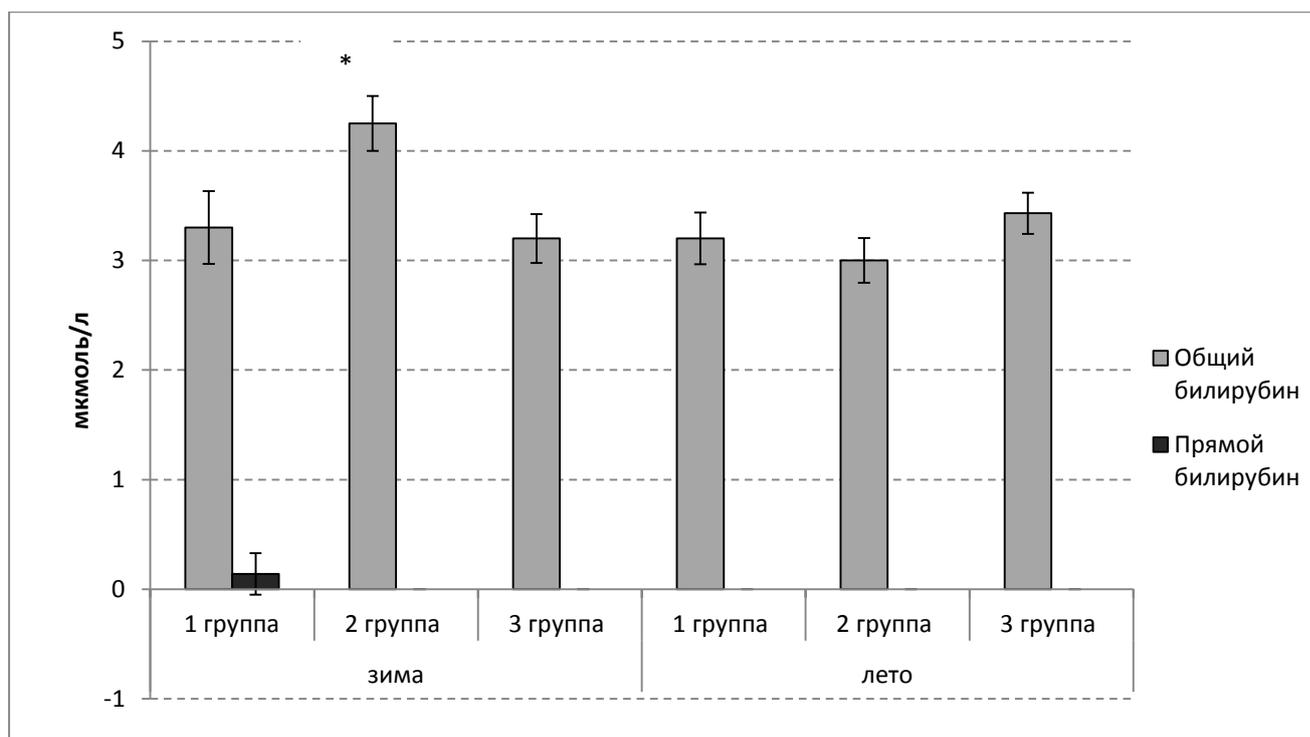


Рисунок 6 - Показатели общего и прямого билирубинов у собак 1-3 групп в зимне -летний периоды года, (мкмоль/л).

В зимний период года активность гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) у собак 2 и 3 групп было выше контрольных значений - у 2 группы на 14,5%, у 3 группы – на 25,8%, в сравнении с 1 группой собак. В летний период года активность ГГТ также у собак 2 и 3 групп был выше контрольных значений - у 2 группы на 22,1%, у 3 группы – на 22,3%, в сравнении с 1 группой собак. Межсезонная разница внутри групп: в летний период года у собак 2 группы было повышено содержание ГГТ на 6,33% ,а у собак 3 группы было снижено на 3,1%, по сравнению с зимним периодом года. Достоверные различия в уровне ГГТ у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в течение года было установлено.

В зимний период года показатели ЩФ у собак 2 и 3 групп было выше контрольных значений - у 2 группы на 12%, у 3 группы – на 15,4%, в сравнении с контрольной группой собак. В летний период года показатель ЩФ также у собак 2 и 3 групп был выше контрольных значений - у 2 группы на 9,2%, у 3 группы – на 15,6%, в сравнении с группой контроля. Достоверных различий ЩФ у собак с

бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года не установлено.

При исследовании функциональных печеночных проб у собак с инвазией *D. immitis*, нами было установлено, что показатели АлАТ и АсАТ находятся в пределах физиологической нормы, однако заметна тенденция к повышению их содержания по сравнению с контролем. В зимний период активность АлАТ повысилась на 19,2% у собак 2 группы и на 16,3%, у 3 группы в сравнении с контрольной группой собак. В летний период года активность фермента у собак 2 и 3 групп также была выше контрольных значений - у 2 группы на 12,4%, у 3 группы – на 14,7%. Достоверных различий в активности АлАТ у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года не установлено.

Активность АсАТ у собак 2 и 3 групп в зимний период было повышено: у 2 группы - на 20,8%, у 3 группы – на 27,9%, в сравнении с контрольными группами собак. Достоверных различий в летний период у собак 2 и 3 группы в активности АсАТ не установлены. Межсезонные изменения активности АсАТ в летний период у собак 2 и 3 групп был снижен: у 2 группы на 3,72%, у 3 - на 9,57%, в сравнении с зимним периодом. Достоверных различий в уровне АсАТ у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года не установлено. Зимой у собак со средней тяжестью течения повышение активности АсАТ, что может является следствием гипоксического воздействия на клеточные и субклеточные мембраны.

Биохимические показатели коррелируют с тяжестью течения дирофиляриоза и могут быть ее объективным показателем. В целом биохимические изменения носят неспецифический характер и отображают вторичные изменения в организме. Ни один из вышеперечисленных показателей не может служить специфическим биомаркером для постановки диагноза на дирофиляриоз, однако, одновременное повышение активности ферментов ГГТ, АСТ и АЛТ отмечается при более тяжелом течении заболевания и, следовательно, может использоваться

для оценки эффективности лечения и прогноза течения болезни, в соответствии с рисунком 7. [44, 45, 46].

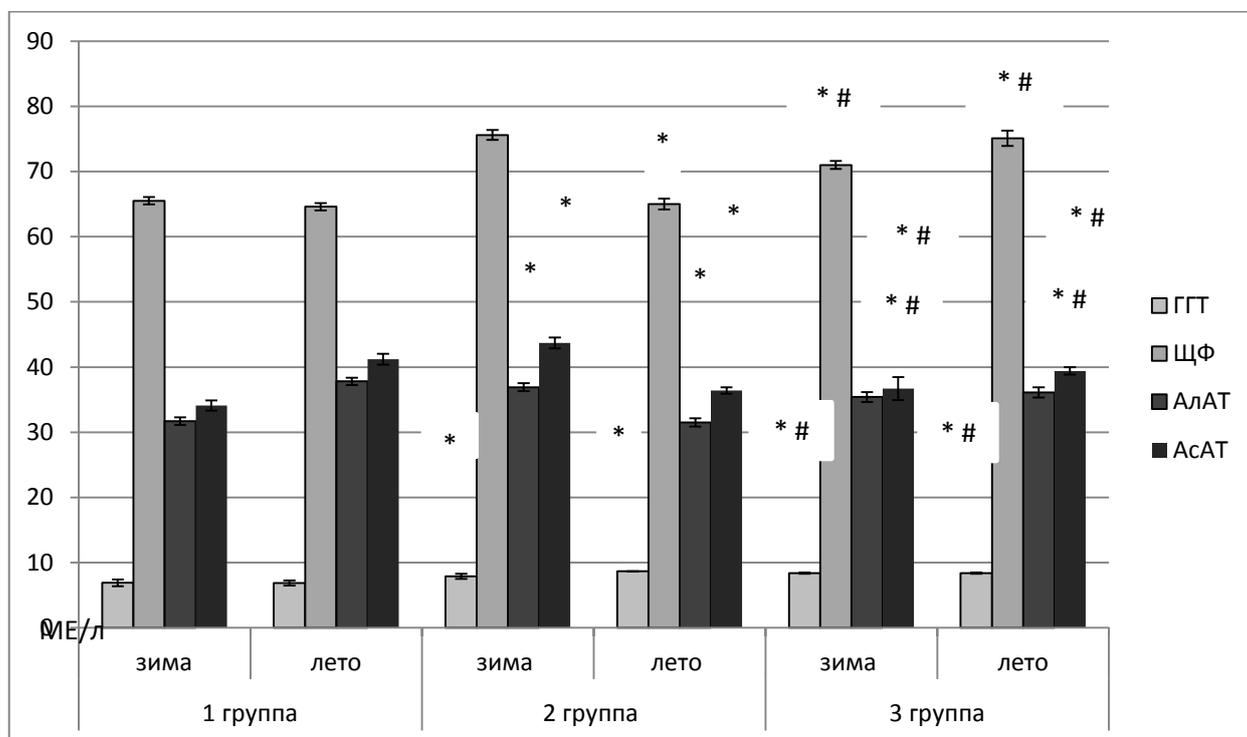


Рисунок 7 - Соотношение показателей ГГТ, ЩФ, АлАТ, АсАТ у собак 3 групп в летне-зимний периоды года(МЕ/л)

3.2.3 Показатели белкового обмена у собак, инвазированных *D. immitis*

Мочевина – образуется в печени в результате обезвреживания высокотоксичного аммиака. Синтезируясь в печени, она переносится с кровью в почки, откуда выводится с мочой. Мочевина не несет метаболической функции и как вторичный метаболит, должна элиминироваться из организма. Креатинин – азотсодержащее соединение, из которого в мышечной ткани образуется креатинфосфат – источник энергии мышечного сокращения. Креатинин представляет собой конечный продукт метаболизма креатина, синтезируемого в почках и печени из трех аминокислот (аргинина, глицина, метионина). Креатинин полностью выделяется из организма почками путём клубочковой фильтрации, не всасываясь в почечных канальцах. Оба этих теста используются для оценки работы почек. Клиренс креатинина не входит в число рутинных тестов, но он также определяет функцию почек. Для определения клиренса креатинина измеряют его концентрацию в суточной порции мочи и концентрацию в плазме крови. Если функциональная способность почек нарушается, то мочевина и креатинин начинают накапливаться в крови, в результате чего сывороточные концентрации двух метаболитов увеличиваются. Количество мочевины и креатинина, экскретируемые с мочой, зависят от скорости клубочковой фильтрации. То есть, когда она снижается, уменьшается и экскреция мочевины и креатинина, а значит, повышается их уровень в крови.

Таблица 6 - Показатели функциональных проб у собак, больных дирофиляриозом и группы контроля в зимнее и летнее время

Показатель	зима			лето			норма
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	
Общий белок, г/л	65,45± 0,3	61,46± 0,68*	67,2± 0,46***	66,3± 0,48	66,2± 0,38	69,2± 0,27***	60-72
Альбумин, г/л	30,85± 0,39	32,1± 0,35*	40,5± 0,46***	32,5± 0,61	35,83± 0,6	38,14± 0,67***	26-39
Мочевина, ммоль/л	8,15± 0,31	12,4± 0,85*	10,4± 0,61***	5,67± 0,63	7,89± 0,17*	10,5± 0,49*	3,1-8,5

Примечание. *обозначены изменения, достоверные по сравнению с 1 группой, ** обозначены изменения 2 группы, достоверные по сравнению с 3 группой

При исследовании показателей, характеризующих белковый обмен у собак с инвазией *D. immitis*, нами было установлено, что близкими к физиологической норме остаются уровень протеина и альбумина, в соответствии с таблицей № 6.

Показатели протеина у собак 2 и 3 группы в летний и зимний периоды года находились в пределах нормы, по отношению к контрольным группам. Межсезонные изменения протеина в летний период у собак 2 и 3 групп было повышено: у 2 группы на 7,74%, у 3 группы – на 2,98%, в сравнении с зимним периодом года. Достоверных различий в уровне протеина у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза установлено не было, что соответствует рисунку 8.

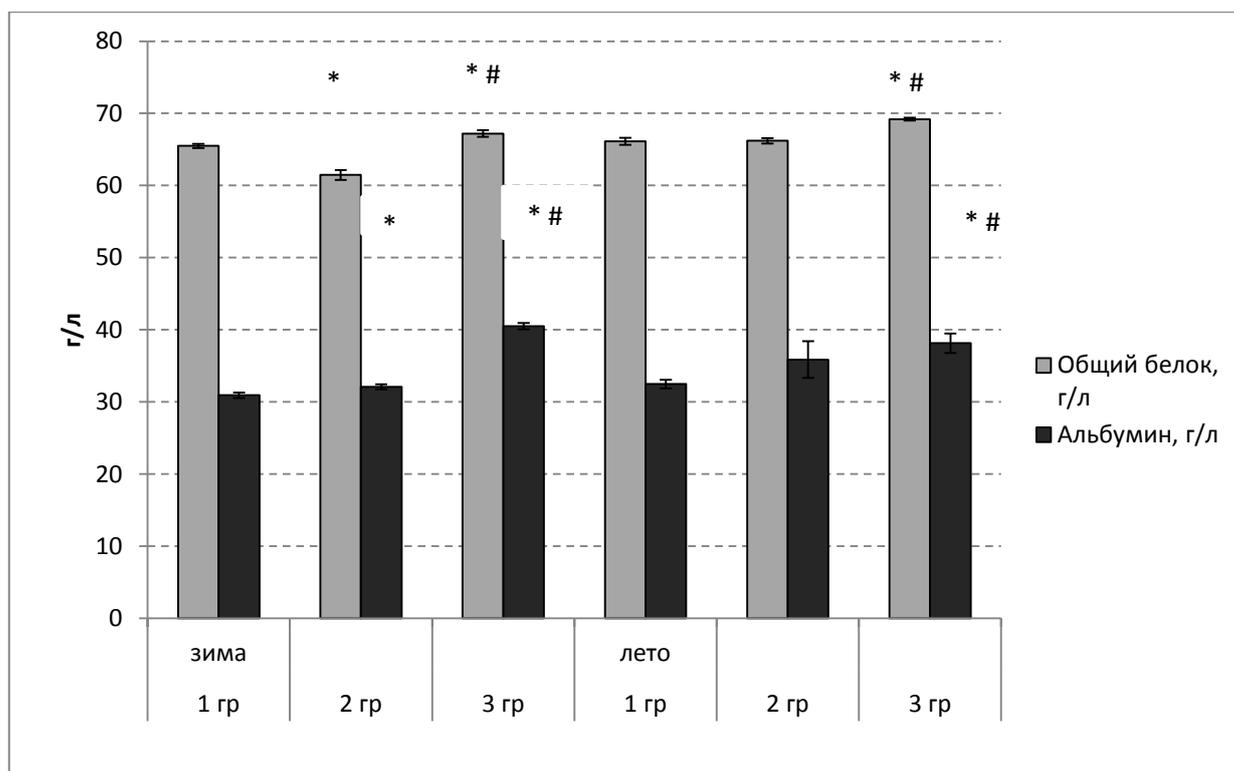


Рисунок 8 - Показатели общего белка и альбумина у собак 1-3 групп в зимний и летний периоды года, (г/л)

Изменение уровня мочевины в крови собак, больных дирофиляриозом 2 и 3 групп имели одинаковую направленность в летний и зимний периоды. Однако степень изменения зависит от тяжести течения болезни. Количество мочевины у собак 2 и 3 групп в зимний период было повышено: у 2 группы на 52,6%, у 3 группы на 27,1%, в сравнении с контрольными группами собак. У собак 2 и 3 группы количество мочевины в летний период года также было повышено: у 2 группы на 39,2%, у 3 группы на 85,7%, в сравнении с контрольными группами собак. Межсезонные изменения: у собак 2 группы содержание мочевины было снижено в летний период на 36,53%, в сравнении с зимним периодом года. У собак 3 группы уровень мочевины в летний период был повышен на 1,66% относительно зимнего периода. Достоверных различий в уровне мочевины у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года установлены.

Таким образом, клиническое значение белков крови крайне важно для диагностики дирофиляриоза. Так как концентрация белка плазмы определяется состоянием питания, функции печени, почек, гидратацией организма и различными патологическими процессами. Повышенное содержание общего белка в сыворотке указывает на сгущение крови и увеличение онкотического давления, а следовательно отмечается гиповолемия. Альбумин имеет несколько функций, основной из которых является роль «сборщика» свободных радикалов и связывание медиатора воспалительных процессов, представляющих опасность для тканей и органов тела животного [79].

3.2.4 Показатели углеводного обмена у собак, инвазированных *D. immitis*

Основная роль углеводов определяется их энергетической функцией. Углеводы, входящие в состав корма, поставляют 60% требуемой энергии. В желудочно-кишечном тракте происходит расщепление сложных углеводов корма до простых молекул, которые всасываются в кровь - моносахариды (глюкоза, фруктоза и галактоза). Из них более информативна глюкоза, так как все поступающие с кормом углеводы фактически метаболизируются до глюкозы. Уровень глюкозы в крови является важнейшей гомеостатической константой организма. Центральная нервная система (ЦНС) является наиболее чувствительной к низкому содержанию глюкозы в крови (гипогликемия). При снижении уровня глюкозы до 2 ммоль/л отмечаются судороги, потеря сознания, то есть наступает «гипогликемическая кома».

Глюкоза, поступающая в кровь из кишечника, поступает в печень, где из неё синтезируется гликоген. Гликоген печени представляет собой резервный углевод. Образование гликогена при относительно медленном поступлении глюкозы в кровь происходит быстро, поэтому по мере введения небольшого количества углеводов повышения содержания глюкозы в крови (гипергликемия) не наблюдается. При полном отсутствии углеводов в рационе они образуются из продуктов распада жиров и белков в организме. По мере уменьшения уровня глюкозы в крови происходит расщепление гликогена в печени и поступление глюкозы в кровь – мобилизация гликогена. В результате сохраняется относительное постоянство содержания глюкозы в крови. Распад углеводов в организме животных происходит как бескислородным путём до молочной кислоты – анаэробный гликолиз, так и путём окисления продуктов распада до CO₂ и H₂O.

Амилаза – один из ферментов пищеварительного сока, также она содержится в слюне. В норме небольшое количество амилазы циркулирует в плазме крови. Большая её часть происходит из поджелудочной железы, незначительная – из

слюнных желез. Слюнная и панкреатическая амилаза функционируют только в желудочно-кишечном тракте, где расщепляют крахмал, основную форму пищевых углеводов. Глюкоза, образовавшаяся в результате расщепления крахмала амилазой, всасывается в кровь через клетки слизистой оболочки кишечника. Переваривание крахмала начинается в ротовой полости в процессе жевания под действием амилазы слюны. По мере поступления пищи до желудка, действие амилазы слюны прекращается.

Креатинин – конечный продукт распада креатина, играющего важную роль в энергетическом обмене мышечной и других тканей. Концентрация креатинина в сыворотке крови зависит от его образования и выведения путём клубочковой фильтрации.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – этот фермент катализирует дегидрирование молочной кислоты – лактата. Продуктом реакции является пируват. Это ключевая реакция анаэробного гликолиза, может происходить в любой клетке. ЛДГ значительно распространена в тканях организма. Наивысшая активность этого фермента наблюдается в скелетных мышцах, печени и сердечной мышце, также он имеется в почках, поджелудочной железе, эритроцитах и лёгких. Различают пять органоспецифичных изофермента: ЛДГ1, ЛДГ2 и т.д. ЛДГ1 преобладает в сердечной мышце, ЛДГ5 – в печени и скелетных мышцах.

Таблица 7 - Показатели функциональных проб углеводного обмена у собак, контрольной группы и больных дирофиляриозом в зимнее и летнее время

Показатель	зима			лето			норма
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа	
Креатинин, мкмоль/л	94,7±0,94	116±0,5*	97,2±0,42***	72,4±0,79	74,7±0,41	90,6±0,49***	55-106
Глюкоза, ммоль/л	4,85±0,19	4,02±0,2*	4,27±0,23***	4,69±0,24	4,57±0,53*	4,6±0,12	4,4-6,5
Амилаза, МЕ/л	1971,9±96	2529,8±77*	2756,6±65***	1796,1±62	1986,7±75*	2673,6±33***	235-1800
ЛДГ, МЕ/л	333±22	451,2±10*	407,1±15***	307,1±23	405,7±15*	473,8±16***	23-350

Примечание: *обозначены изменения, достоверные по сравнению с 1 группой, ** обозначены изменения 2 группы, достоверные по сравнению с 3 группой

Изменение уровня креатинина в крови собак, больных дирофиляриозом 2 и 3 групп имели одинаковую направленность в летний и зимний периоды, в соответствии с таблице № 7. Однако степень изменения зависит от тяжести течения болезни. Количество креатинина у собак 2 и 3 групп в зимний период было повышено: у 2 группы на 22,5%, у 3 группы на 2,6%, в сравнении с контрольными группами собак. У собак 2 и 3 группы количество креатинина также было повышено в летний периода года: у 2 группы на 3,1%, у 3 группы на 25,1%, в сравнении с контрольными группами собак. Межсезонные изменения: у собак 2 и 3 групп в летний период содержание креатинина было снижено: у 2 группы на 35,63%, у 3 группы на 6,82%, в сравнении с зимним периодом года.

Достоверные различия в уровне креатинина у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года были установлены.

У собак 2 и 3 групп в зимний период года уровень глюкозы, по сравнению с контрольными группами был снижен: у 2 группы на 17,1%, у 3 группы на 12%. В летний период года достоверных различий у собак 2 и 3 групп не выявлено. Межсезонные изменения глюкозы: отмечалось повышение в летний период у собак 2 и 3 групп: у 2 группы на 13,76%, у 3 группы – на 8,06%, по сравнению с зимним периодом года. Достоверных различий в уровне сахара у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года не установлены.

Показатели амилазы в зимний период года у собак 2 и 3 групп были повышены: у 2 группы на 28,3%, у 3 группы на 39,8%, в сравнении с контрольными группами собак. У собак 2 и 3 групп в летний период года уровень амилазы также был повышен, в сравнении с контролем: у 2 группы на 10,6%, у 3 группы на 48,9%. Межсезонные изменения уровня амилазы в летний период у собак 2 и 3 групп было снижено: у 2 группы на 21,47%, у 3 группы – на 3,01%, в сравнении с зимним периодом. Достоверные различия в уровне амилазы у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года были установлены в соответствии с рисунком 9.

У собак 2 и 3 групп в зимний период года уровень ЛДГ, по сравнению с контрольными группами был повышен: у 2 группы на 35,5%, у 3 группы на 49,1%. Уровень ЛДГ в летний период года у собак 2 и 3 групп также был повышен: у 2 группы на 32,1%, у 3 группы на 54,3%, в сравнении с группами контроля. Межсезонные изменения уровня ЛДГ: отмечалось снижение в летний период у собак 2 и 3 групп: у 2 группы на 10,08% , у 3 группы – на 4,57%, по сравнению с зимним периодом года. Достоверные различия уровня ЛДГ у собак с бессимптомным течением и средней тяжести течения дирофиляриоза в разное время года были установлены, в соответствии с рисунком 9.

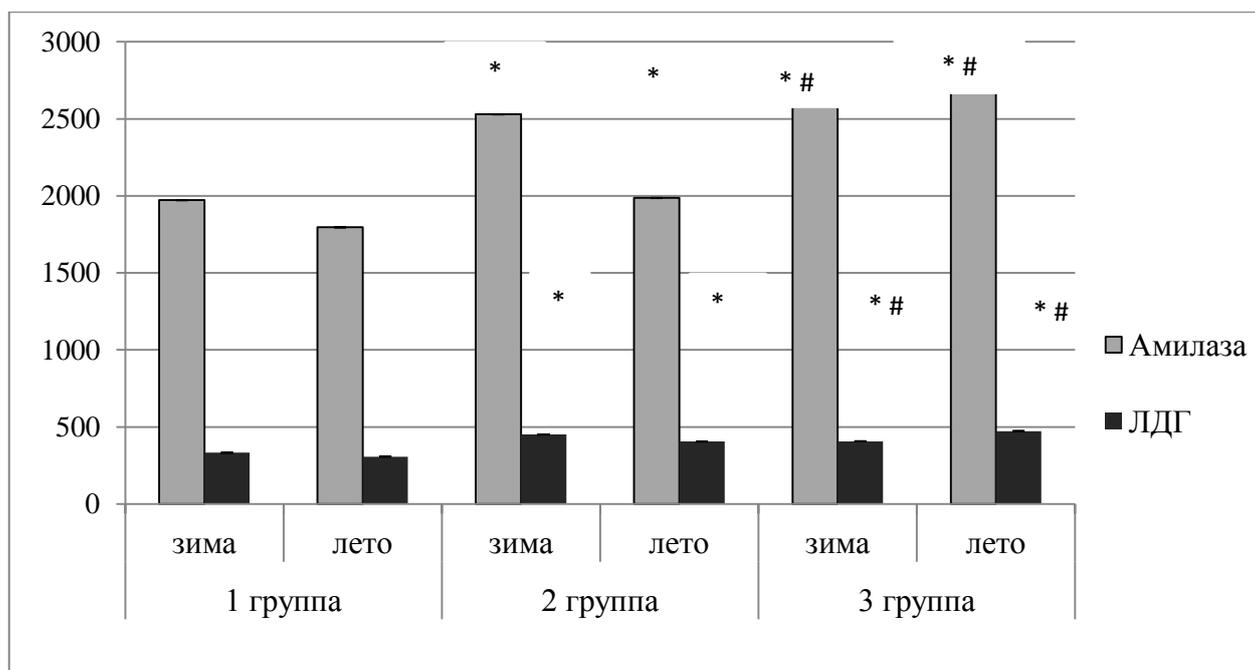


Рисунок 9 - Некоторые показатели углеводного обмена у собак 3 групп, (МЕ/л)

Биохимические показатели коррелируют с тяжестью течения дирофиляриоза, и могут быть ее объективным показателем. В целом биохимические изменения носят неспецифический характер и отображают вторичные изменения в организме. Ни один из вышеперечисленных показателей не может служить специфическим биомаркером для постановки диагноза на дирофиляриоз. Однако, одновременное повышение креатинина, глюкозы, амилазы и ЛДГ отмечается при более тяжелом течении заболевания и, следовательно, может использоваться для оценки эффективности лечения и прогноза течения болезни.

3.2.5 Показатели эндогенной интоксикации у собак, больных дирофиляриозом

В патогенезе эндогенной интоксикации одними из ведущих являются мембранодеструктивные процессы. Нарушение структурно-функциональной организации клеточных мембран, в том числе под влиянием активизации процессов свободно-радикального окисления, определяет основные патофизиологические и клинические проявления эндотоксикоза. В связи с этим прогностически значим для оценки эндотоксикоза клинико-биохимический мониторинг параметров антиоксидантной системы, в частности активности ферментов СОД и каталазы.

Отмечено, что для оценки исходного состояния тяжести больного и прогнозирования развития эндогенной интоксикации организма показательно сопоставление активности ферментов антиоксидантного звена в сыворотке крови и концентрации тиобарбитуратовой кислоты активных продуктов (ТБКАП), с концентрацией гемоглобина, уровнем гематокрита, количеством форменных элементов крови, общей концентрацией и транспортной функцией альбумина.

Супероксиддисмутаза активизирует трансформацию супероксидных анионов в кислород и перекись водорода, которые не так опасны для организма. Супероксид является одним из основных прооксидантов в клетке, поэтому СОД играет одну из ключевых ролей в антиоксидантной защите организма. Супероксиддисмутаза катализирует дисмутацию супероксида в кислород и пероксид водорода. В нормальных условиях обмена СОД поддерживает стационарную концентрацию супероксидных радикалов на определенном уровне, защищая тем самым клеточные структуры от повреждающего действия как самих радикалов O⁻, так и от появления гидроксильных радикалов, которые могут образовываться из O⁻ и НО.

Вместе с каталазой и другими антиоксидантными ферментами СОД защищает организм от постоянно образующихся высокотоксичных кислородных радикалов.

Каталаза — это фермент, являющийся катализатором в реакции разложения перекиси водорода, в результате которой образуются вода и молекулярный кислород: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 = \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$. Каталаза находится в тканях растений, животных и человека, а также в микроорганизмах (у ряда анаэробных микроорганизмов этот фермент может отсутствовать). В клетках каталаза содержится в специальных органеллах- пероксисомах.

Биологическое значение каталазы заключается в разложении перекиси водорода, чем обеспечивается действенная защита клеточных структур от разрушения перекисью водорода.

Таблица 8 - Активность ферментов антиоксидантной защиты в сыворотке крови собак, контрольной группы и больных дирофиляриозом в зимнее и летнее время

Показатель	Зима			лето		
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа
СОД, у.е./г белка* мин.	14,06±0,98	15,76±0,93 *	20,24±0,13 ***	10,86±0,3 3	6,2±0,13*	15±0,23 ***
Каталаза, МЕ/г белка	0,06±0,01	0,085±0,00 1	0,23±0,01*	0,07±0,01	0,034±0,00 1*	0,32±0,0 1*

Примечание: *обозначены изменения, достоверные по сравнению с 1 группой, ** обозначены изменения 2 группы, достоверные по сравнению с 3 группой

Результаты исследования показали, что в крови у собак 2 и 3 групп в зимнее время активность СОД повышается, особенно у животных со средней тяжестью

течения дирофиляриоза, в соответствии с таблицей № 8. Так, в 3 группе активность фермента была выше контроля на 44%. В летнее время так же отмечалось повышение активности фермента у собак 3 группы, этот показатель стал выше контрольного на 38,1% . Активности фермента СОД у собак 2 группы было снижено на 42,9%.

Направленность изменений активности другого фермента антиоксидантной защиты каталазы носила иной характер. Так в зимнее время в крови животных 2 группы активность фермента практически не отличалась от контроля, тогда как в 3 группе была выше контроля более чем в 3 раза – 265%.

В летнее время у собак 2 группы активность каталазы становится ниже и отличается от контроля на 46,7%, а в крови собак со средней тяжестью течения дирофиляриоза, напротив, становится еще выше - 399%.

Результаты исследования показали, что активность СОД у собак больных дирофиляриозом несколько выше, чем у здоровых животных в зимнее время. При этом в 3 клинической группе этот показатель выше контрольного достоверно на 44%, а во 2 группе повышение было незначительным и составило 12,1%, Активность каталазы в зимнее время у больных собак изменяет свою активность синергично СОД - во 2 группе активность фермента выше контроля на 35,6% и носит лишь характер тенденции, тогда как в 3 группе превышает контрольные величины в 3 раза, в соответствии с рисунком 10 [42, 45, 46, 60].

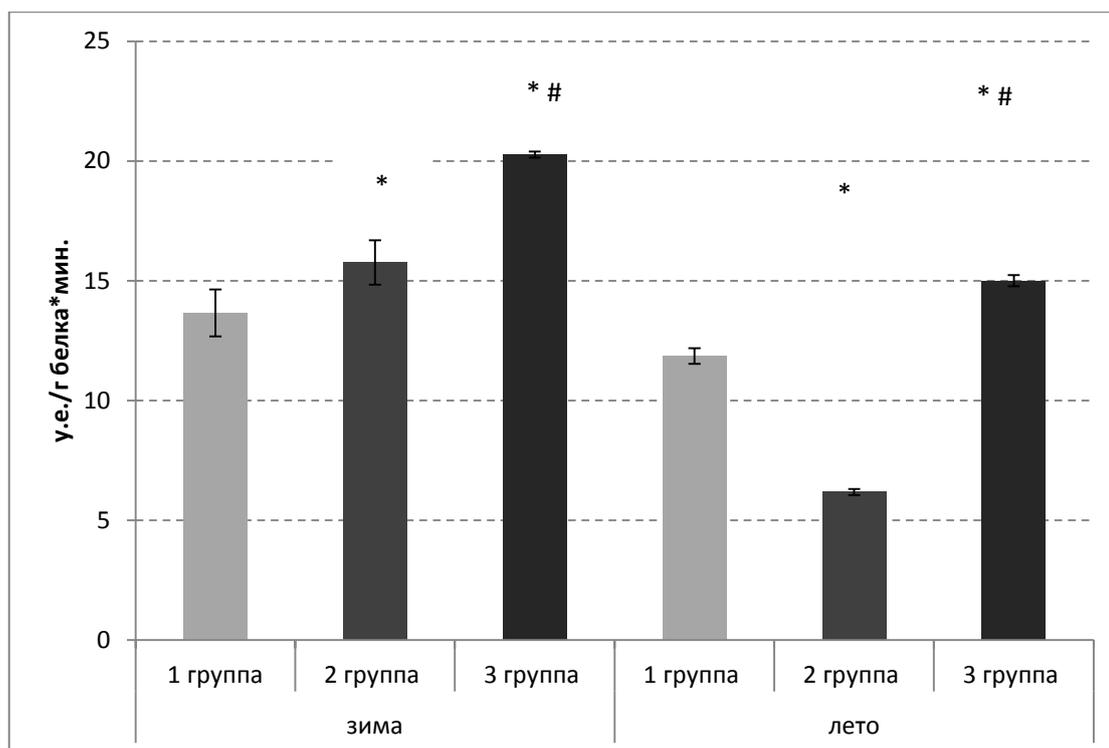


Рисунок 10 - АКТИВНОСТЬ СОД в крови (сыворотке, эритроцитах) собак 1-3 групп в зимний и летний период года, (у.е./г белка*мин.)

Примечание: * обозначены изменения, достоверные по сравнению с 1 группой

В летнее время изменения активности ферментов антиоксидантной защиты у собак 2 и 3 группы носит разнонаправленный характер. Так у собак с легким течением паразитоза отмечается угнетение активности обоих ферментов: СОД на 42,9%, каталазы на 46,7 % по сравнению с контролем. У собак средней тяжести течения активность СОД превышала контрольную величину на 38,1%, а каталазы на 399%, в соответствии с рисунком 11.

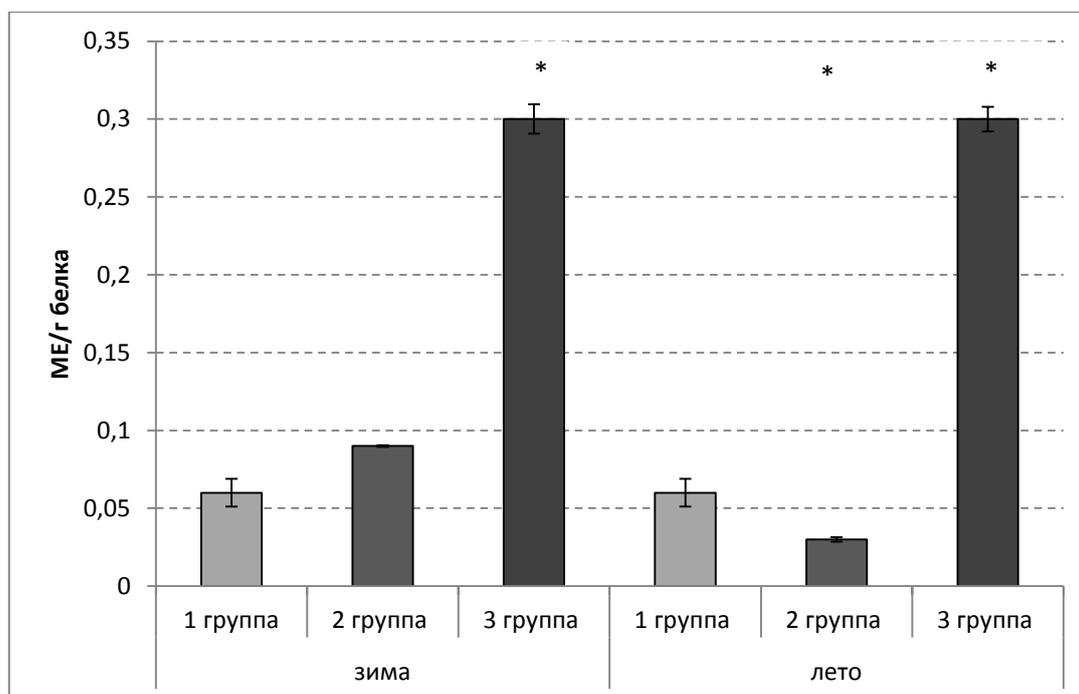


Рисунок 11 - Активность каталазы в крови собак 1-3 групп в зимний и летний период года, (МЕ/г белка)

Примечание: * обозначены изменения, достоверные по сравнению с 1 группой

Таким образом, присутствие взрослых паразитов в крови собак вызывает адекватную реакцию со стороны антиоксидантной системы организма на появление токсинов и метаболитов, разрушающих клетки хозяина. В летнее появление личинных форм паразита в крови приводит к угнетению антиоксидантной системы у животных 2 группы, что позволяет говорить о развитии окислительного стресса и возможности формирования новых механизмов защиты от паразита. Вероятно, у животных 3 группы возможность переключения на другие механизмы ограничена, поэтому идет избыточная активация первого звена антиоксидантной защиты, что может привести к истощению этой системы в дальнейшем и нарушению регуляции гомеостаза.

В настоящее время все больше уделяют внимание МСМ, как возможным биорегуляторам, поскольку пул этих соединений разнообразен и широк по химическому составу.

Образование МСМ является обязательным процессом, отражающим эффективность катаболических реакций, протекающих в клетках организма как в норме, так и при патологии. Так, как МСМ -это собирательная группа веществ, то биологические эффекты их зависят от составляющих. В норме в пул МСМ входят регуляторные молекулы, которые образуются при гидролизе белков, например, нейропептиды вазопрессин, окситоцин. Однако, МСМ получили известность как важные универсальные факторы интоксикации. Показатель уровня МСМ считают одним из биохимических маркеров патологии белкового обмена, т.к. в их число входят продукты белкового обмена, такие как мочевины, мочевая кислота, аминокислоты. Многочисленными исследованиями показано, что повышение уровня МСМ в крови наблюдается при патологических состояниях различной этиологии, и их количественное содержание отражает тяжесть течения заболевания. Кроме того, существует мнение, что повышение уровня МСМ может быть как вследствие их образования, так и в результате нарушения их элиминации из организма. При этом, наиболее токсичная фракция МСМ, определяемая при $\lambda 254$ выводится преимущественно через почки, следовательно, накопление этой фракции может свидетельствовать о состоянии фильтрующей функции нефронов. Детоксикация фракции МСМ, определяемых при $\lambda 280$ проходит в печени и отражает ее функциональный потенциал. Фракция МСМ, определяемых при $\lambda 210-230$ отражает сохранность ядерного аппарата клеток и связана с остатками нуклеиновых кислот.

Таким образом, по современным представлениям, появление и накопление молекул средней массы в крови при разных видах патологии является прогностически значимым показателем.

Результаты нашего исследования оказались не предполагаемыми для нас и представлены в таблице №10. Вместо ожидаемого повышения содержания МСМ в крови больных животных мы получили достоверное снижение фракции $\lambda 210$ у собак и второй и третьей группы. При этом, как и исследовании других показателей, была установлена межсезонная разница. Так в зимнее время

отмечалось снижение содержания МСМ λ 210 почти в 6 раз, а летом в 3 раза относительно контрольных величин.

Таблица 9 - Показатели МСМ у собак, контрольной группы и больных дирофиляриозом в зимнее и летнее время (ед.экстинции)

Длина волны измерения МСМ	зима			лето		
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа
210 нм	0,61±0,15	0,1±0,001 *	0,1±0,006*	0,61±0,15	0,2±0,001	0,2 ±0,005
254 нм	0,13±0,014	0,12±0,003	0,11±0,006	0,13±0,014	0,12±0,003	0,2±0,001
280 нм	0,15±0,01	0,10±0,003	0,14±0,007	0,15±0,01	0,2±0,003	0,2±0,003

Примечание: * обозначены изменения, достоверные по сравнению с 1 группой.

Содержание фракций МСМ λ 254 и λ 280 практически не отличалось от контрольных значений у собак, больных дирофиляриозом обеих групп в зимнее время. Незначительное повышение содержание МСМ отмечалось у собак со средней тяжестью течения болезни в летнее время. По нашему мнению, это служит еще одним подтверждением тому, что присутствие личиночных форм паразита в крови собак приводит к большему повреждению клеток хозяина.

Полученные нами изменения содержания МСМ нельзя рассматривать, как противоречащие современному пониманию их роли в регуляции гомеостаза организма при патологии. Наше исследование отличается от тем, что посвящено паразитизму, эволюционно отшлифованному взаимодействию организмов паразита и хозяина, когда адаптации первого к среде обитания минимизирует повреждения второго. Известно, что укрывание от иммунной системы организма хозяина является одним из эволюционно отобранных механизмов для выживания паразитов в крови. Мы полагаем, что МСМ, попадающие в русло крови при разрушении клеток больных собак, сорбируются поверхностью взрослых

дирофилярий, что снижает иммунный ответ организма хозяина на присутствие паразита. Резкое ограничение количественного представления фракции $\lambda 210$, появление которой ассоциируют с появлением аутоантител к ядерному аппарату клеток, в определенной мере объясняет повышение активности каталазы, фермента, наиболее эффективно ограничивающего распространение СРО на мембранные структуры клеток. Таким образом, можно допускать, что усиление уровня антиоксидантной защиты и ограничение накопления МСМ отражает степень взаимоадаптации паразита и хозяина и может быть использовано для прогноза течения заболевания и дополнительного диагностического критерия при постановке диагноза.

3.2.6 Исследование общего клинического анализа мочи и соотношения в моче протеин/креатинина у собак больных *D. immitis*

Моча – это биологическая жидкость, вырабатываемая почками. Она служит для удаления конечных продуктов обмена веществ, избытка воды и солей. Общий анализ мочи даёт представление о функции почек, позволяет обнаружить воспалительный процесс в мочевом пузыре и мочевыводящих путях. Однако при рассмотрении результатов можно получить информацию и о состоянии других органов. Выявление патологических компонентов мочи в настоящее время чаще всего проводится с помощью диагностических индикаторных полосок, позволяющих быстро получить ориентировочный ответ.

Общий анализ мочи включает оценку физико-химических характеристик мочи и микроскопию осадка. Данное исследование позволяет оценить функцию почек и других внутренних органов, а также выявить воспалительный процесс в мочевых путях. Вместе с общим клиническим анализом крови результаты этого исследования способны довольно много рассказать о процессах, происходящих в организме и, главное, указать направление дальнейшего диагностического поиска. Моча здоровых животных не содержит глюкозы, белка, желчных пигментов и кетоновых тел в определяемых с помощью индикаторных полосок.

Патологическими индикаторами мочи являются белок и кровь. В норме моча содержит очень незначительное количество их, которое не обнаруживается обычными качественными реакциями.

Появление белка в моче является предвестником почечной недостаточности. Данное явление также называется протеинурия. Поступление белка с более высокой молекулярной массой в мочу обуславливается повреждением базальной мембраны почек. Одновременно с этим низкомолекулярные соединения (в том числе и креатинин) фильтруются по-прежнему, и их концентрация в моче и крови не меняется.

При исследовании физических свойств мочи у собак 1-3 группы в зимний и летний периоды года показатели были в пределах физиологической нормы.

Таблица 10 - Исследование мочи у собак 1-3 групп в зимний и летний периоды года

Показатель		зима			лето		
		1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа
Физические свойства	Цвет	желтый			желтый		
	Плотность	1,020		1,025	1,015	1,020	1,025
	Прозрачность	сохранена	сохранена	неполная	сохранена	неполная	неполная
	pH	6,0	6,0	7,0	6,0	7,0	7,0
Химические свойства	Белок, г/л	0,3	0,3	1,0	0,3	0,3	1,0
	Глюкоза, ммоль/л	-	-	-	-	-	-
	Билирубин	-	-	-	-	-	-
	Уробилиноген, ммоль/л	-	-	следы	-	-	-
	Лейкоциты	-	-	-	-	-	следы
	Эритроциты	-	-	следы	-	следы	следы
	Кетоны	отсутствует			отсутствует		
	Нитриты	отсутствует			отсутствует		
Микроскопия осадка	Соли	-	-	-	-	-	-
	Плоский эпителий	0-2-3 в х	1-2 в х	1-3 в х	0-2 в х	2-3 в х	2-3 в х
	Переходный эпителий	1-2 в х	1 в х	1-3 в х	0-2 в х	1-2 в х	1-2 в х
	Почечный эпителий	-	-	0-1-2 в х	-	0-0-1 в х	0-1 в х
	Лейкоциты	-	-	1-2 в х	-	1-2 в х	1-2 в х
	Эритроциты	-	-	1-3 в х	-	-	1 в х
	Цилиндры	-	-	-	-	-	-
	Бактерии	-	ед	ед	-	-	ед

С целью изучения раннего показателя повреждения нефронов провели исследование протеин/креатинин мочи, при отсутствии сопутствующих изменений уровня мочевины и креатинина в крови. Данное исследование применимо для определения тяжести протеинурии и рассчитывается по формуле:

PROT/CREA в моче = белок мочи (г/л) /креатинин мочи (г/л)= UPC

Данное исследование проводилось на биохимическом анализаторе IDEXX VetTest[®], для более точного определения белка в моче, чем при использовании тест-полосок.

Таблица 11 - Протеин/креатинин в моче у собак 1-3 групп в зимний и летний периоды года

Показатель	зима			лето		
	1 группа	2 группа	3 группа	1 группа	2 группа	3 группа
Протеин/креатинин в моче, г/л	0,18±0,023	0,23±0,033 *	0,29±0,00 4***	0,19±0,02 5	0,22±0,0 3*	0,32±0,02 4***

Примечание: *обозначены изменения, достоверные по сравнению с 1 группой, ** обозначены изменения 2 группы, достоверные по сравнению с 3 группой

Наличие белка в моче в норме считается при соотношении белок/креатинин у собак $< 0,3$, таким образом, острой почечной недостаточности у исследуемых собак нет. Однако, при сравнении показателей UPC у собак контрольной группы и собак 2 и 3 групп отмечается заметная разница, которая проявляется повышением показателя. Так в зимнее время UPC у собак 2 группы выше контроля на 18%, летом на 17,9%. Еще значительнее отличия установлены для собак со средней тяжестью течения заболевания. Показатель UPC в летнее время превышал контрольные значения на 72,3% в зимнее время 17,9%. Следовательно, можно говорить о снижении фильтрационной функции почек у собак, инвазированных *D. immitis*, которая усиливается по мере утяжеления клинического состояния животных [41].

3.3 Расчет экономической эффективности

Для оценки рентабельности использования лабораторных анализов для оценки эндогенной интоксикации, таких как СОД, МСМ и каталаза необходимо рассчитать их экономическую эффективность [63].

Расчет рентабельности сделан согласно фотоколориметра КФК -3-01, средняя стоимость которого составляет 50 тысяч рублей.

1. Затраты аппаратом за 1 рабочий день:

$$C1 = A / 100 Ч(p\%+g\%+r\%) / N, \text{ где}$$

A — затраты на приобретение аппарата, руб;

p% - процентная годовая стоимость списания (примерный показатель 20%);

g% - годовые процентные затраты на техническое обслуживание;

r% - затраты на страхование в процентах за год (примерный показатель 0,5%);

N – количество рабочих дней в году (примерный показатель 220 дн.)

$$C1 = 50.000/100 Ч (20\%+10\%+0,5\%)/220 = 69,3$$

2. Затраты на реагенты, расходные материалы и стоимость простоя:

$$C2 = R_{\text{вкл.}} + R_{\text{выкл.}}, \text{ где}$$

$R_{\text{вкл.}} + R_{\text{выкл.}}$ - затраты на реагенты и расходные материалы при включении-выключении аппарата, руб. для СОД, МСМ и каталазы:

$$C2 = 5 + 10 = 15$$

3. Оплата работы персонала по включению-выключению аппарата:

$$C3 = (ZЧР) / N Ч (t_{\text{вкл.}} + t_{\text{выкл.}}) / T, \text{ где}$$

ZЧР — затрата на оплату работы персонала, включая побочные расходы за год (примерный показатель 120.000 руб)

$t_{\text{вкл.}} + t_{\text{выкл}}$ — рабочее время при включении-выключении аппарата, мин.;

T — количество рабочих минут в дне (примерный показатель 8Ч 60)

$$C3 = 120.000 / 220 \text{ Ч } (10+1) / (8\text{Ч } 60) = 10,9$$

4. Затраты на реагенты и расходные материалы:

$$C4 = S \text{ Ч } K, \text{ где}$$

S — реагенты и расходные материалы на 1 пробу, руб. для СОД, МСМ, каталазы:

K — 1 проба крови, шт.

$$C4 = 10 \text{ Ч } 1 = 10$$

5. Оплата труда персонала за одну пробу:

$$C5 = (ZЧР) / N \text{ Ч } t1 / T \text{ Ч } K, \text{ где}$$

t1 — время измерения для одной пробы, мин. (примерный показатель 10 мин.)

$$C5 = 120.000 / 220 \text{ Ч } 10 / (8\text{Ч } 60) \cdot 1 = 10,3$$

Совокупные затраты на одну пробу составляют:

$$C = (C1 + C2 + C3 + C4 + C5) / K$$

$$C = (69,3 + 15 + 10,9 + 10 + 10,3) / 1 = 115,5 \text{ руб.}$$

Стоимость одной пробы СОД, МСМ и каталазы составляет 120 руб.

Затраты на стандартную диагностику дирофиляриоза одной собаки в среднем составил 4950 рублей и включали в себя: лабораторно-диагностические исследования ОАК + метод Кнотта 300 руб., биохимический анализ крови 1500

руб., иммуноферментный тест IDDEX 800 руб., ЭхоКГ 1500 руб., рентгенограмма в 2 проекциях 850 руб.

Затраты на диагностику эндогенной интоксикации одной собаки больной дирофиляриозом в среднем составил 2960 рублей и включали в себя: лабораторные исследования ОАК + метод Кнотта 300 руб., биохимический анализ крови 1500 руб., иммуноферментный тест IDDEX 800 руб., исследование каталазы 120 руб., исследование МСМ 120 руб., исследование СОД 120 руб. Предложенные расчеты позволяют установить стадию течения инвазии, провести исследование на 40% ниже стандартной диагностики, и рекомендовано в тех клиниках, где отсутствует рентгендиагностика и УЗИ-диагностика.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.

В различных регионах мира, по данным ряда авторов (М.В. Сухова, 2002; С.Н. Шинкаренко, 2005; С.А. Веденеев, 2005; А.Ю. Медведев, 2007; А.Ю. Аракельян, 2008; Ю.Г. Бескровная, 2009; А.С. Журавлев, 2009; В.Б. Ястреб, 2009; А.М. Ермаков, И.В. Колодий, 2010; Т.Н. Сивкова, 2010; Н.В. Ярошенко, 2010; В.М. Кравченко, 2013; А.С. Лысенкова, 2013) отмечается рост у животных трансмиссивных инвазий, в том числе и дирофиляриоза.

Высокую летальность собак при этом заболевании объясняют необратимыми изменениями, возникающими, в результате наличия паразитов, в тканях и органах организма-носителя. Однако, диагностика данных изменений затруднена в результате полиморфизма развивающихся клинических симптомов.

Несмотря на значительные изменения в организме больных собак, длительный период бессимптомного течения дирофиляриоза делает необходимым дальнейшее изучение взаимодействия организма хозяина и паразита, а также способов дифференциальной диагностики тяжести заболевания и прогноза лечения животных.

Целью настоящего исследования было найти биологические маркеры изменения гомеостаза и клеточного метаболизма, определить их сезонный характер у собак с сердечно-сосудистой недостаточностью, вызванной инвазией *D. immitis*.

С учетом биологических особенностей развития паразита в организме собак, одной из задач исследования явилось поиск маркеров глистной инвазии в зимнее и летнее время. С подозрением на дирофиляриоз было обследовано 175 собак. В исследовании приняли участие 60 собак, из них 20 здоровых животных, составивших контрольную группу (1 группа), 20 собак с бессимптомным течением *D. immitis* (2 группа) и 20 собак со средней тяжестью течения *D. immitis* (3 группа).

На основании клинического обследования, лабораторной и инструментальной диагностики были сформированы 3 группы животных. Все

собаки были привиты и обработаны от экто- и эндопаразитов. Изучение нормальных клинических и биохимических показателей крови, сердечно-сосудистой системы (ССС), рентгенографических и эхокардиографических (ЭхоКГ) параметров были проведены на контрольной группе собак, практически здоровых животных – первая группа (n=20).

Во вторую группу (n=20) вошли собаки с бессимптомным течением, у которых установлена инвазия *D.immitis* по положительному результату в тест системе IDDEX, на основании исследований ЭхоКГ выявлены признаки незначительной легочной гипертензии, на рентгенограмме органов грудной клетки выявлен дефект обрезки периферических сосудов в каудальных долях легких. Основными жалобами, с которыми наиболее часто обращались владельцы собак данной группы, являлись повышенная утомляемость и снижение активности.

В третью группу (n=20) вошли собаки, у которых была установлена инвазия *D.immitis* по тест системе IDDEX, по результатам ЭхоКГ выявлены признаки умеренной легочной гипертензии, на рентгенограмме органов грудной клетки выявлены дефект обрезки периферических сосудов в каудальных долях легких, незначительное выбухание сегмента легочной артерии, незначительное увеличение правых отделов сердца. При клиническом обследовании у животных 3-й группы наблюдались выраженное снижение физической активности, утомляемость, кашель, одышка, у некоторых собак кратковременная потеря сознания.

Одной из наиболее заметной тенденцией явилось повышение до верхней физиологической нормы общего числа лейкоцитов, а также эозинофилов и палочкоядерных нейтрофилов на фоне снижения сегментоядерных нейтрофилов, лимфоцитов и моноцитов в крови собак, больных дирофиляриозом, по сравнению со здоровыми животными. У собак с бессимптомным течением количество Э зима до 151,6%, Э лето до 118,9%; П зима до 23,1%; П лето до 78,9%. У собак со средней тяжестью течения Э зима до 63,5%, Э лето до 34,3%; П зима до 105,1%; П лето до 112,5. Достоверных различий межсезонных показателей выявлено не было.

Кроме того есть основание говорить о повышении белкового метаболизма, как на уровне аминокислотного обмена, так и распада. На это указывает повышение содержания мочевины-основного метаболита белкового обмена, а также повышение активности трансаминаз- внутриклеточных ферментов, обеспечивающих переаминирование аминокислот и поддержание их основного пластического пула. Представляют интерес и изменения показателей клеточного метаболизма. Так в белковом обмене заметно повышение содержания альбумина у больных собак, что может быть связано с усилением транспортной функции альбуминов при гельминтозе. Повышение активности этих ферментов в крови традиционно используется в качестве индикаторов целостности клеток печени и сердца и отражает степень эндогенной интоксикации при патологических процессах. Повышение мочевины и креатинина отмечалось у собак двух групп, но более выражено у собак с бессимптомным течением в зимний период года. У собак с бессимптомным альбумин зима до 3,8%, альбумин лето до 10,5%; мочевины зима до 52,6%, мочевины лето до 39,2%; креатинин зима до 22,5%, креатинин лето до 3,1%. У собак со средней тяжестью гельминтоза так же в течение года отмечается повышение показателей белкового обмена - альбумин зима до 30,9%, альбумин лето до 17,4%; мочевины зима до 27,1%, мочевины лето до 85,7%; креатинин зима до 2,6%, креатинин лето до 25,1%. Гиперальбуминемия наиболее заметна у собак со средней тяжестью течения паразитоза в зимний и летний периоды года.

К числу показателей, позволяющих оценить эндогенную интоксикацию, относятся молекулы средней массы (МСМ), которые образуются в результате разрушения высокомолекулярных соединений в клетках, а также активность свободнорадикальных процессов, нерегулируемая инициация которых приводит к развитию окислительного стресса и повреждению клеточных мембран.

Изучение активности каталазы - фермента первого уровня защиты от окислительного повреждения клеточных структур показало адекватность изменения системы свободно-радикального окисления на появление повреждающего фактора. Активность каталазы повышается у собак, больных

дирофиляриозом, что снижает уровень интоксикации и отражает взаимоадаптацию организма хозяина и паразита. Направленность изменений активности другого фермента антиоксидантной защиты каталазы носила иной характер. Так в зимнее время в крови животных второй группы активность фермента практически не отличалась от контроля, тогда как в третьей группе была выше контроля более чем в 3 раза

Вместо ожидаемого повышения содержания МСМ в крови больных животных мы получили достоверное снижение фракции λ_{210} у собак и второй и третьей группы. При этом, как и в исследовании других показателей, была установлена межсезонная разница. Так в зимнее время отмечалось снижение содержания МСМ λ_{210} почти в 6 раз, а летом в 3 раза относительно контрольных величин.

Подобных изменений и объяснений данному факту в литературе мы не встретили, поэтому взяли на себя смелость выдвинуть два предположения. Первое допускает сорбцию МСМ поверхностью тела дирофилярий, что позволяет им не только снизить уровень эндогенной интоксикации, но и маскироваться от иммунной системы хозяина. Второе предположение допускает усиление выведения токсического пула почками и усиление использования пула катаболического гепатоцитами, что косвенно подтверждается повышением уровня альбумина и активности трансаминаз.

Таким образом, по результатам исследования, нам удалось выделить группу клинико-лабораторных показателей, которые отражают закономерности взаимоадаптаций паразита и организма собак в зимнее и летнее время. Установленные изменения можно использовать в качестве дополнительных клинико-лабораторных критериев для диагностики, оценки тяжести и прогноза течения заболевания.

Таблица 12 – Сводные показатели эндогенной интоксикации.

Показатель	Тяжесть течения		Нормы
	Бессимптомное	Средней тяжести	
СОД, у.е./г белка*мин.	5-15	15-20	5-14
Каталаза, МЕ/г белка	0,03-0,15	0,2-0,35	0,01-0,1
МСМ	0,18-0,23	0,25-0,35	0,4-0,6
УРС	0,18-0,23	0,25-0,35	0,1-0,15

Выводы

1. При инвазии *D. immitis* изменяется соотношение лейкоцитов крови в течение года: повышается до верхних границ физиологической нормы содержание лейкоцитов - эозинофилов и палочкоядерных нейтрофилов, снижается содержание моноцитов. У собак с бессимптомным (2 группа) течением количество Э зима до 151,6%, Э лето до 118,9%; П зима до 23,1%; П лето до 78,9%. У собак со средней тяжестью (3 группа) Э зима до 63,5%, Э лето до 34,3%; П зима до 105,1%; П лето до 112,5. Достоверных различий межсезонных показателей выявлено не было.
2. При диروفилляриозе в зимний период года у собак со средней тяжестью течения (3 группа) отмечается увеличение количества эритроцитов $8,18 \cdot 10^{12}$ и гемоглобина 178,3 г/л, в сравнении с контрольной группой. В летний период года у собак этой группы отмечается тенденция к снижению красной крови - эритроциты $6,31 \cdot 10^{12}$ и гемоглобин 130,4 г/л, в сравнении с контрольной группой собак. У собак с бессимптомным течением в течение года показатели красной крови находились в пределах физиологической нормы эритроциты зима $6,98 \cdot 10^{12}$, гемоглобин зима 148,7 г/л; эритроциты лето $6,38 \cdot 10^{12}$ и гемоглобин лето 134,7 г/л, по сравнению с группой контроля.
3. При исследовании показателя протеин/креатинин (UPC) в моче у собак с *D. immitis* отмечена тенденция к его повышению в зависимости от стадии течения инвазии. У собак с бессимптомным течением (2 группа) UPC 0,18-0,23 г/л; у собак со средней тяжестью течения диروفилляриоза (3 группа) UPC 0,25-0,35 г/л.
4. При диروفилляриозе у собак усиливается белковый метаболизм, что проявляется повышением содержания в крови альбумина, мочевины, креатинина. Так у собак с бессимптомным течением (2 группа) альбумин зима до 3,8%, альбумин лето до 10,5%; мочевины зима до 52,6%, мочевины лето до 39,2%; креатинин зима до 22,5%, креатинин лето до 3,1%. У собак со средней тяжестью (3 группа) гельминтоза так же в течение года отмечается повышение показателей белкового обмена - альбумин зима до 30,9%, альбумин лето до 17,4%; мочевины

зима до 27,1%, мочевины лето до 85,7%; креатинин зима до 2,6%, креатинин лето до 25,1%.

Повышение мочевины и креатинина отмечалось у собак двух групп, но более выражено у собак с бессимптомным течением в зимний период года. Гиперальбуминемия наиболее заметна у собак со средней тяжестью течения паразитоза в зимний и летний периоды года.

5. У собак с бессимптомным течением (2 группа) отмечается напряжение аминокислотного и углеводного метаболизма гепатоцитов, на что указывает повышение активности ферментов: ГГТ зима до 14,5%, ГГТ лето до 22,1%; АлАТ зима до 19,2%, АлАТ лето до 12,4%; АсАТ зима до 20,8%, АсАТ лето до 3,72%; ЩФ зима на 12%, ЩФ лето на 9,2%. Углеводные субстраты Амилаза зима на 28,3%, Амилаза лето на 10,6%; ЛДГ зима на 35,5%, ЛДГ лето на 32,1%.

У собак со средней тяжестью (3 группа) гельминтоза так же в течение года отмечается повышение активности ферментов аминокислотного и углеводного метаболизма – ГГТ зима до 25,8%, ГГТ лето до 22,3%; АлАТ зима до 16,3%, АлАТ лето до 14,7%; АсАТ зима до 27,9%, АсАТ лето до 9,57%; ЩФ зима на 15,4%, ЩФ лето на 15,6%. Углеводные субстраты Амилаза зима на 39,8%, Амилаза лето на 48,9%; ЛДГ зима на 49,1%, ЛДГ лето на 54,3%.

6. Появление личиночной стадии гельминта в летний период года приводит к снижению адаптации организма собак и утяжелению течения дирофиляриоза, что проявляется в снижении гемоглобина до нижней границы физиологической нормы, значительным повышением активности СОД и каталазы, содержанием мочевины и креатинина выше физиологической нормы в крови и показателя UРС в моче.
7. Инвазия приводит к усилению систем противотоксического действия гельминтов за счет активации фермента 1 уровня антиоксидантной защиты СОД, а также путем снижения содержания в крови мембранотоксичной фракции МСМλ210.

Практические рекомендации:

1. Предложены маркеры эндогенной интоксикации, которые позволяют определить стадию течения инвазии и, следовательно, повысить эффективность клинико-лабораторной диагностики и выбрать правильную тактику лечения инвазии *D. immitis*.
2. При дирофиляриозе у собак отмечается одновременное усиление активности ферментов белкового и углеводного и аминокислотного обменов, таких как АсАТ, АлАТ, ЩФ, ГГТ, амилазы и ЛДГ. Активность данных ферментов свидетельствует о дирофиляриозе как о полиорганной патологии, преимущественно угнетающих функцию печени.
3. При исследовании в моче показателя протеин/креатинин (УРС) выявлена тенденция к его повышению, что может служить критерием ранней диагностики почечной недостаточности и должно приниматься к сведению лечащим врачом.
4. Данные по количественному содержанию СОД, МСМ, каталазы у собак с *D.immitis* разной стадией течения болезни и здоровых собак рекомендуется использовать в качестве нормативных показателей.

Список условных сокращений

Dirofilaria immitis – D.immitis;

АКТГ – адренокортикотропный гормон

АлАТ – аланинаминотрансфераза

АсАТ – аспартатаминотрансфераза

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

ГГТ – гамма-глутамилтрансфераза

КФК – креатинкиназа

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛК – лейкоцитарный коэффициент

МСМ – молекулы средней массы

ПОЛ – перекисного окисления липидов

СМП – средняя молекулярной массой

СОД – супероксиддисмутаза

СОЭ – скорость (реакция) оседания эритроцитов

СР – свободные радикалы

СРО – свободнорадикальное окисление

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

ЦНС – центральная нервная система

ЩФ – щелочная фосфатаза

ЭИ – эндогенная интоксикация

ЭКГ – электрокардиография

УРС – соотношение протеин/креатинина в моче

Список литературы:

1. Аксенова, В.М. Диагностическая ценность определения уровня веществ средней молекулярной массы в плазме новорожденных детей, перенесших внутриутробную гипоксию / В.М. Аксенова, А.В. Старкова //Пермский медицинский журнал. – 1998. –Т. 15, № 1. – С.25–28.
2. Альперин, Д.Е. Дирофиляриозы / Д.Е. Альперин, Ю.Б. Кудряшов // Большая медицинская энциклопедия / под ред. Б.В. Петровского. – Изд. 3-е.– Москва: Сов. энциклопедия, 1975. – Т. 2.– С. 379–381.
3. Аракельян, Р.С. Эпидемиолого-эпизотологические особенности дирофиляриоза на территории Астраханской области: дис. ... канд. биол. наук / Р.С. Аракельян. – Москва, 2008. –140 с.
4. Артамонова, А.А. Дирофиляриозы у людей и собак в Ростовской области / А.А. Артамонова [и др.]// Тез. докл. VII Всесоюзного съезда общества эпидемиологов, микробиологов, паразитологов.– Москва, 1997.– Т. 1.–С. 326–327.
5. Арутюнян, А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. рекомендации/ А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина. – Санкт-Петербург: ИКФ «Фолиант», 2000. – 104 с.
6. Архипов, И.А. Дирофиляриоз /И.А. Архипов, Д.Р. Архипова.– Москва, 2004.–194 с.
7. Архипов, И.А. Распространение паразитозов собак и кошек в России / И.А. Архипов, Й.Ц. Борзунов, В.И. Шайкин // Актуальные вопросы ветеринарной медицины мелких домашних животных: материалы межрегион. науч.-практ. конф. – Новосибирск, 2002.– С. 81–89.
8. Архипова, Д.Р. Биология дирофилярий и эпизоотология дирофиляриоза собак в степной зоне юга России: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Д.Р. Архипова. – Нижний Новгород, 2003.– 26 с.
9. Архипова, Д.Р. Периодичность микрофилярий в крови собак при дирофиляриозе / Д.Р. Архипова, И.А. Архипов // Ветеринария.– 2004.–№1.–С.38–39.

10. Ахмедов, Д.Р. Клинико-патогенетическое значение антиоксидантной системы при инфекционных заболеваниях / Д.Р. Ахмедов // Иммунология. – 1994. – №2. – С. 25–27.
11. Бельских, А.Н. Детоксицирующая функция легочной паренхимы у больных с острыми инфекционными деструкциями легких / А.Н. Бельских[и др.] // Анестезиология и реаниматология. – 1994. – №2. – С. 18–19.
12. Беляков, Н.А. Верификация эндотоксикоза у больных с разлитым перитонитом / Н.А. Беляков [и др.]//Эфферентная терапия. – 1995. – Т. 1, №2. – С. 14–19.
13. Бенина, Н.Ф. Активность окислительно-восстановительных ферментов у больных с хроническими воспалительными заболеваниями / Н.Ф.Бенина, М.И. Чеганова// Клиническая медицина. – 1989. – №1. – С.17–22.
14. Бескровная, Ю.Г. Дирофиляриоз на юге России: распространение и диагностика: дис. ... канд. биол. наук / Ю.Г. Бескровная. – Ростов-на-Дону, 2009. – 140 с.
15. Бородин, Е.А. Биохимия эндотоксикоза. Механизмы развития и оценка степени тяжести при воспалительных заболеваниях легких Текст. / Е.А.Бородин, Е.В.Егоршина, В.П.Самсонов. Благовещенск: АГМА, 2003. -129 с.
16. Вальдман, Б.М. Среднемолекулярные пептиды крови как эндогенные регуляторы перекисного окисления липидов в норме и при термических ожогах / Б.М. Вальдман[и др.] // Вопросы медицинской химии. – 1991. –Т. 37, № 1. – С. 23–26.
17. Веденеев, С.А. Основные паразитозы плотоядных в условиях Нижнего Поволжья (эпизоотологическое районирование, система мер борьбы) / С.А. Веденеев // Автореф. дис. на соиск. учен. степ. доктора ветеринар. наук. – Н.Новгород, 2005. – 40 с.
18. Величко, С.В. К диагностике дирофиляриоза собак в Украине / С.В. Величко[и др.] // PetsInform.– 2003.–№3.–С. 5.

19. Волкова, Л.И. Перекисное окисление липидов и механизм антиоксидантного действия / Л.И. Волкова, М.И. Бондаренко // *Врачебное дело.* – 1991. - №12. – С. 35–38.
20. Габриэлян, Н.И. Диагностическая ценность определения средних молекул в плазме крови нефрологических больных / Габриэлян Н.И. [и др.] // *Клиническая медицина.* – 1981. – №10. – С. 38 – 43.
21. Габриэлян, Н.И. Опыт использования показателя средних молекул в крови для диагностики нефрологических заболеваний у детей / Н.И. Габриэлян, В.И. Липанова // *Лабораторное дело.* – 1984. – №3. – С. 138–140.
22. Галактионов, С.Г. Пептиды группы "средних молекул" / С.Г. Галактионов[и др.] // *Биоорганическая химия.* – 1984. – Т. 10, №1. – С. 5–18.
23. Гармаш, С.И. Аспекты биохимических параметров крови при гельминтозах собак / С.И. Гармаш, И.Г. Гламаздин // *Webmvc.com. Московский ветеринарный веб-центр [Электронный ресурс].* – Москва, 2009. – Режим доступа: <http://webmvc.com/show/show.php?sec=10&art=60> (21.11.2014).
24. Гисак, С.Р. Модификация метода определения среднемолекулярных пептидов и его использование в детской хирургии / С.Р. Гисак[и др.]// *Хирургия.* – 1998. –№12. – С. 53–54.
25. Глинский, Г.В. Средние молекулы как маркеры злокачественных новообразований / Г.В. Глинский[и др.] // *Экспериментальная онкология.* – 1980. – Т. 2, N1. – С. 68–71.
26. Дахно, І.С. Дирофиляриоз собак у Північно-Східній частині України / І.С. Дахно[и др.] // *Зб. матер. III Міжнар. наук.-практ. конф. 8-9 жовтня 1998 р., м. Київ: «Проблеми ветеринарного обслуговування дрібних домашніх тварин».* – Київ, 1998.– С. 97–99.
27. Денисенко, В.Н. Диагностика и лечение болезней печени у собак / В.Н. Денисенко, Е.А. Кесарева. – М.: КолосС, 2006. – 63 с.
28. Дорохин, К.М. Патологические аспекты синдрома эндогенной интоксикации / К.М. Дорохин, В.В. Спас // *Анестезиол. И реаниматол.* -1994. - № 1. – С. 60.

29. Дядык А.И. Кардиоренальные и ренокардиальные синдромы / А.И. Дядык // Серцева недостатність. – 2009. – №2. – С.10–19.
30. Ермаков, А.М. Новые аспекты патогенеза дирофиляриоза / А.М. Ермаков [и др.]//Ветеринарная патология. – 2010. – №3. – С.79–81.
31. Ершов, В.С. Аллергия при аскаридозе свиней /В.С. Ершов, М.И. Наумычева // Сб. докл. Советских ученых к XVII междунар. ветерин. конгрессу.– Москва,1963.–С.95–97.
32. Журавлев, А.С. Фауна гельминтов собак Кабардино-Балкарской Республики и усовершенствование мер борьбы с опасными зоонозами: дис. ... канд. ветеринар.наук: 03.00.19 / Журавлев Александр Сергеевич.– Ставрополь, 2009. – 118 с.
33. Карвовський, О. Дірофіляріоз собак у Криму / О. Карвовський[и др.]// Вет. медицина України.– 1997.– №5. –С. 26.
34. Карташев, В.В. Распространенность дирофиляриоза животных и риск инвазии у человека в Ростовской области /В.В. Карташев[и др.]// Актуальные аспекты паразитарных заболеваний в современный период: тез.докл.всерос.конф., Ростов-на-Дону, 28-29 сент. 2011г. –Ростов-на-Дону: Ростиздат, 2011. – С. 175–177.
35. Ковалевский, А.Н.Замечания по скрининговому методу определения молекул средней массы / А.Н. Ковалевский, О.Е. Нифантьев// Лабораторное дело. – 1989. – № 10. – С. 35–37.
36. Колодий, И.В. Интерпретация рентгеновских снимков грудной клетки собак при дирофиляриозе/ И.В. Колодий [и др.]// Через инновации в науке и образовании к экономическому росту АПК: материалы междунар. науч.-практ. конф., 5-8 февр. 2008 г.–Персиановский, 2008. – Т. 3. – С. 22–25.
37. Колодий, И.В. Кардиоренальный синдром при дирофиляриозе у собак/ И.В. Колодий, Я.Г. Варлюзель// Актуальные проблемы ветеринарного обеспечения Российского животноводства: материалы всерос. науч.-практ. конф., 16-17 июня 2010 г.–Новочеркасск, 2010. –С.106–107.

38. Колодий, И.В. Особенности ремоделирования правого желудочка собак при дирофиляриозе, вызванном *D.immitis*: автореф.дис. ... канд.биол.наук.– Ставрополь, 2009.– 19 с.
39. Корочкин, И.М. Определение содержания среднемолекулярных пептидов в крови больных острым инфарктом миокарда / И.М. Корочкин[и др.]// Лабораторное дело. – 1988. –№9. – С. 15-18.
40. Кочеткова, А.Ю. Изменение картины крови у собак при гельминтозах в городской популяции / А.Ю. Кочеткова, И.В. Колодий, Ю.Ю. Дутова, С.С. Живая // Материалы Всероссийской научно-практической конференции 20-21 июня 2013г. «Научные проблемы и современные тенденции развития отечественного животноводства в условиях ВТО», Новочеркасск, 2013.- С.112-114.
41. Кочеткова, А.Ю. Исследование протеин/креатинин мочи у собак с инвазией *Dirofilaria immitis*//«Ветеринарная патология». – 2015. - №2(52). – С.41-43.
42. Кочеткова, А.Ю. Клинико-лабораторные параллели у собак, инвазированных *Dirofilaria immitis* / А.Ю. Кочеткова, Т.С. Колмакова, И.В. Колодий // «Ветеринарная патология» . – 2015. - №2(52). – С.44-48.
43. Кочеткова, А.Ю. Клинико-лабораторные показатели дифференциальной диагностики дирофиляриоза, вызванного *Dirofilaria immitis* / А.Ю. Кочеткова, Т.С. Колмакова, Р.И. Кировой // Обмен веществ при адаптации и повреждении (Дни молекулярной медицины на Дону): материалы XIV Российской научно-практической конференции с международным участием (Ростов-на-Дону, 15-16 мая 2014 г.) / под ред. З.И. Микашинович. – Ростов-на-Дону: ГБОУ ВПО РостГМУ. – 2015. – С.66-68.
44. Кочеткова, А.Ю. Некоторые показатели состояния функциональных проб печени у собак при *DIROFILARIA IMMITIS* (LEYDI, 1856) /А.М. Ермаков, Т.С. Колмакова, И.В. Колодий // «Ветеринарная патология». – 2012. - №4. – С.52-54.

45. Кочеткова, А.Ю. Клинико-лабораторные изменения показателей крови у собак, инвазированных *Dirofilaria immitis* / А.Ю. Кочеткова, Т.С. Колмакова // Материалы IV научно-практической конференции «Проблемные вопросы служебной кинологии на современном этапе» (21 мая 2015 г., Ростов-на-Дону).-Ростов-на-Дону: ФГКУ ДПО РШ СРС МВД России, 2015.-С.3-6.
46. Кочеткова, А.Ю. Особенности изменений показателей крови у собак, инвазированных *Dirofilaria immitis* / А.Ю. Кочеткова, Т.С. Колмакова // Дифференциальная диагностика, лечение и профилактика актуальных инфекционных и паразитарных болезней: сб. материалов науч.-практич. межрегиональной конф. с международным участием, 14 мая 2015, г. Ростов-на-Дону / сост.: Л.А. Ермакова. – Ростов н/Д: Изд-во РостГМУ, 2015.- С. 48-52.
47. Кравченко, В.М. Патоморфологическая диагностика дирофиляриоза собак и кошек/ В.М. Кравченко, Г.А. Кравченко/ Рекомендация ГУВ Краснодарского края. – Краснодар, 2013. – 10 с.
48. Кристиан, Ф. Шрей Дирофиляриоз сердца у кошек и собак – диагностика и терапия / Кристиан Ф. Шрей, Эберхард Траутветтер // Фокус- 1998. –№3.–С. 23–30.
49. Левченко, Н.В. Дирофиляриоз у собак / Н.В. Левченко[и др.]// Актуальные проблемы ветеринарной медицины мелких домашних животных на Северном Кавказе: материалы 2–й регион. конф. – Персиановский: ДонГАУ, 1999.– С. 19–20.
50. Левченко, Н.В. Эпизоотология, диагностика и лечение дирофиляриоза у собак / Н.В. Левченко[и др.] // Тез. докл. 7-й международной конф. по проблемам вет. мед. мелких домашних животных. – Москва, 1999. – С. 148–150.
51. Лихолат, Е.А. Активность катепсинов при легочных заболеваниях / Е.А. Лихолат [и др.]// 8 Национальный конгресс по болезням органов дыхания. – Москва, 1998. – N XLI. 8. – С. 343.
52. Лысенкова, А.С. Функционально-морфологическая характеристика гистогематического барьера легких у собак с дирофиляриозом: автореф. дис....канд. биолог. наук/ А.С. Лысенкова.- Ставрополь, 2013. – 24 с.

53. Мазур, Н.А. Практическая кардиология / Н.А. Мазур. –Москва: ИД «Медпрактика-М», 2007. – 400 с.
54. Медведев, А.Ю. Распространение дирофиляриоза собак в Краснодарском крае и разработка его диагностики иммуноферментной реакцией: дис. ... канд. ветеринар.наук: 03.00.19/ Медведев Андрей Юрьевич. – Москва, 2007.– 141с.
55. Медведева, М.А. Клиническая ветеринарная лабораторная диагностика: справочник для ветеринарных врачей / М.А. Медведева. – Москва:ООО «Аквариум-Принт», 2008. – 416 с.
56. Нагорная, Г.Ю.Некоторые показатели метаболических процессов у подростков с первичной артериальной гипертензией / Г.Ю. Нагорная, З.И. Мишканович// Обмен веществ при адаптации и повреждении (Дни медицинской лабораторной диагностики): материалы X межвузовской конф. с междунар. участием (г. Ростов-на-Дону, 20-21 мая 2011г.) / под ред.проф. З.И. Микашинович. – Ростов-на- Дону: ГОУ РостГМУ.– 2011.–207 с.
57. Нагорный, С.А. Дирофиляриоз в г. Ростове-на-Дону / С.А. Нагорный, А.А. Артамонова // Актуальные проблемы ветеринарной медицины мелких домашних животных на Северном Кавказе: тез. 1-й регион.конф. – Персиановский:ДонГАУ, 1998.–С. 16–17.
58. Николайчик, В.В. Молекулярные механизмы развития эндогенной интоксикации и совершенствование путей детоксикации: автореф. дис. ... д-ра мед.наук. – Москва, 1984. – 43 с.
59. Никольская, В. А. Биохимический аспект рассмотрения роли молекул средней массы в организме / В.А. Никольская, Ю.Д. Данильченко, З.Н. Меметова //Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Серия «Биология, химия».- 2013. – Т. 26 (65), № 1. - С .139-145
60. Никулина, А.Ю. Диагностическая ценность лабораторных методов оценки эндогенной интоксикации / А.Ю. Никулина, А.М. Ермаков, Т.С. Колмакова, И.В. Колодий // Материалы всероссийской научно-практической

конференции, 16-17 июня 2010 г., «Актуальные проблемы ветеринарного обеспечения Российского животноводства», г. Новочеркасск, 2010. – С.181-183.

61. Никулина, А.Ю. Изыскание биомаркеров осложнений дирофиляриоза / А.Ю. Никулина, Т.С. Колмакова, И.В. Колодий, Ю.Ю. Дутова, С.С. Живая // Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины: Материалы IV Международной научно-практической конференции, Ростов-на-Дону, 22-25 сентября 2011 г. – Ростов-на-Дону: Изд-во СКНЦ ВШ ЮФУ, 2011. - С.125.

62. Никулина, А.Ю. Новые аспекты патогенеза дирофиляриоза / А.Ю. Никулина, А.М. Ермаков, И.В. Колодий, С.С. Живая // «Ветеринария патология». – 2010. - №3. – С.79-81.

63. Никулина, А.Ю. Экономическое обоснование создания клинических ветеринарных лабораторий / А.Ю. Никулина, С.В. Середина, А.М. Ермаков// Труды Кубанского государственного аграрного университета, 2009, №1 (ч.1). -С. 242-244.

64. Никулина, А.Ю. Мониторинг распространения трансмиссивных заболеваний у собак с использованием иммунострипов / А.Ю. Никулина, И.В. Колодий // Актуальные проблемы ветеринарного обеспечения Российского животноводства: материалы Всерос. науч.-практ. конф., 16-17 июня 2011 г. – Новочеркасск, 2011. – С. 202-204.

65. Никулина, А.Ю. Опыт использования иммунострипов в клинической ветеринарной лаборатории / А.Ю. Никулина, И.В. Колодий, С.В. Середина, И.А. Ермакова // Труды Московского международного ветеринарного конгресса, XVII. -М., 2009. -С. 201.

66. Парамонов, В.В. Патоморфология, патогенез, диагностика и лечение дирофиляриоза собак: дис. канд. биол. наук: 03.00.19, 16.00.03 / Парамонов Виталий Владимирович.- Уфа, 2014. – 176 с.

67. Поживил, А.И. Диагностика и лечение дирофиляриоза собак / А.И. Поживил[и др.]// Зб. матер. IV Міжн. наук.-практ. конф. 14-15 жовтня 1999 р., м. Київ: Проблеми ветеринарного обслуговування дрібних домашніх тварин. –Київ, 1999.– С. 78–81.

68. Поживіл, А.І. Дірофіляріоз собак / А.І. Поживіл, В.М. Горжеев // Вет. медицина України. – 1999. – №3. – С. 38–40.
69. Пьянова, А.М. Особенности патогенеза при дирофиляриозе собак / А.М. Пьянова, Ф.И. Василевич // Материалы 16 Московского Международного конгресса по болезням мелких домашних животных, 26-28 апр. 2008 г.– Москва, 2008. –С.27.
70. Рейнольдс, К. Биомаркеры в диагностике сердечных заболеваний у собак / Карин Рейнольдс, Марк Ойяма // Фокус. – 2009. – № 18. – С. 3.
71. Рослый, И.М. Сравнительные подходы в оценке состояния человека и животных: Биохимические особенности экспериментально-клинического состояния животных / И.М. Рослый, М.Г. Водолажская // Вестник ветеринарии. – 2009.–Вып. 50, № 3 – С. 63–72.
72. Серебрякова, Н.В. Динамика заболеваемости служебных собак в Ростовской области / Н.В. Серебрякова, И.В. Колодий, А.М. Ермаков // Ветеринария Кубани. –2008. – №1-2. – С.27–28.
73. Серебрякова, Н.В. Научное обоснование комплекса мероприятий при дирофиляриозе служебных собак: дис. канд. ветеринарных наук: 16.00.03, 03.00.19 / Серебрякова Наталья Валерьевна.- Новочеркасск, 2009.- 146 с.
74. Сивкова, Т.Н. Кариопатические и патоморфологические изменения под действием продуктов метаболизма паразитов и влияние на репродуктивную функцию домашних плотоядных: дис. ... д-ра биол. наук / Т.Н. Сивкова. – Москва, 2010.– 251 с.
75. Скрябин, К.И. Основы ветеринарной нематодологии / К.И. Скрябин, А.М. Петров. –Москва: Колос, 1964.– 523 с.
76. Смирнова, Е.А. Дирофиляриоз / Е.А. Смирнова // Нижегородский медицинский журнал.– 1999.–№4.–С. 67–68.
77. Спасс В.В. Оценка тяжести эндотоксикоза и эффективности детоксикационной терапии / В.В. Спасс, С.А. Павлович, К.М.Дорохин// Клиническая лабораторная диагностика.– 1994. –№ 7. – С. 7–9.

78. Сухова, М.В. Эпизоотологический надзор при дирофиляриозе плотоядных в условиях Среднего и Нижнего Поволжья: автореф. дис. ... канд. вет. наук. / М.В. Сухова. –Нижний Новгород, 2002.–С. 22.
79. Тупикова, З.А. Антиоксидантная активность различных фракций средних молекул и их элиминация при гемосорбцииу обожженных / З.А. Тупикова//Эфферентная терапия. – 1997. – Т. 3, №1. – С. 53–56.
80. Тупикова, З.А. Среднемолекулярные уремические токсины (обзор литературы) / З.А. Тупикова// Вопросы медицинской химии. – 1983. – №1. – С. 2-10.
81. Федоровский, Н.М. Связывающая способность альбумина в оценке эндотоксемии/ Н.М. Федоровский [и др.]// Вестник интенсивной терапии. – 1998. –№4. – С. 21–23.
82. Фисько, М.А., Диагностика дирофиляриоза / М.А. Фисько, Е.В. Фисько // Ветеринарная медицина домашних животных: сб. статей. –Казань: Печатный двор, 2006. –Вып. 3. – С. 121–125.
83. Харьков, А.Л. Эндогенные токсины в хирургии: современные исследования в биологии и медицине. Сообщение II. Диагностика // Клиническая хирургия. – 1997. –№11–12. – С. 90–93.
84. Хиггинс, К. Расшифровка клинических лабораторных анализов/К. Хиггинс; пер. с англ.; под ред. проф. В.Л. Эмануэля. – Москва: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2004. – 376 с.
85. Цыбульский, Э.К. Современные подходы к оценке тяжести состояния и модели предсказания прогноза у больных в педиатрическом отделении интенсивной терапии / Э.К. Цыбульский, М.Д. Иванеев // Международные медицинские обзоры. – 1994. – Т. 2, №5. – С. 312–318.
86. Чаленко, В.В. Классификация острых нарушений функций органов и систем при синдроме полиорганной недостаточности / В.В. Чаленко // Анестезиология и реаниматология. – 1998. –№2. – С. 25–30.

87. Черникова, Е.А. Биологические особенности возбудителя дирофиляриоза у собак в Ростовской области/ Е.А. Черникова [и др.] // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2009.– №3.–С.7–10.
88. Шинкаренко, А.Н. Экология паразитов собак и меры борьбы с вызываемыми ими заболеваниями в Нижнем Поволжье: автореф. дис. док. вет. наук/Шинкаренко Александр Николаевич. —Иваново, 2005. -53с.
89. Шуляк, Б.Ф. Нематодозы собак: (зоонозы и зооантропонозы) / Б.Ф. Шуляк, И.А. Архипов. – Москва: КонсоМед,2010. –С.223-225.
90. Ярошенко, Н.В. Морфофункциональные особенности ассоциативного течения пироплазмоза и дирофиляриоза у собак: дис. ... канд. ветеринар. наук / Н.В. Ярошенко. – Новочеркасск, 2010.–155 с.
91. Ястреб, В.Б. Некоторые аспекты эпизоотологии дирофиляриоза собак в Московском регионе / В.Б. Ястреб // Ветеринарный консультант. – 2005. – №7. – С.4.
92. Atwell, R.B. Clinical presentations of canine dirofilariasis with relation to their haematological and microfilarial status / R.B. Atwell, I.B. Buoro // Res. Vet. Sci. – 1983. – Vol. 35. – P. 364–366.
93. Bolio-Gonzalez, M.E. Prevalence of *Dirofilaria immitis* infection in dogs from Meridia, Yucatan, Mexico / M.E. Bolio-Gonzalez [et al.]// Veterinary Parasitology.– 2007.– Vol.148.– P. 166–169.
94. Brun-Buisson C. Septic shock. Etiology, physiopathology, diagnosis, treatment / C. Brun-Buisson, E.Roupie// Rev. Prat. – 1995. – Vol.45, N14. – P.1797-1803.
95. Burt J.K. Femoral artery occlusion by *Dirofilaria immitis* in a dog / J.K. Burt, A.J. Lipowitz// J.Am. Vet. Radiol. Soc. –1977. – Vol. 18. – P. 166–169.
96. Calvert, C.A. Therapy of canine heartworm disease / C.A. Calvert, C.A. Rawlings // Current Vet. Therapy Small Anim. Pract. – 1986. – Vol. 9. –P. 406–419.
97. Carreton, E. Myocardial damage in dogs affected by heartworm disease (*Dirofilaria immitis*): immunohistochemical study of cardiac myoglobin and troponin I

in naturally infected dogs/ E. Carreton[et al.]// *Vet Parasitol.* – 2012. – Oct. – P. 189(2-4)–390-3. doi: 10.1016/j.vetpar.

98. Dimri, U. Oxidant/antioxidant balance, minerals status and apoptosis in peripheral blood of dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*/ U. Dimri[et al.]// *Res Vet Sci.* – 2012. – Aug. – P. 93(1) –296-9 doi: 10.1016/j.rvsc

99. Frank, G.R., Grieve, R.B. Purification and characterization of three larval excretory-secretory proteins of *Dirofilaria immitis* / G.R. Frank, R.B. Grieve// *Mol Biochem Parasitol.* 1996 Jan; 75(2):221-9.

100. Galanos, C. Mechanisms of endotoxin shock and endotoxin hypersensitivity / C. Galanos, M.A. Freudenberg // *Immunobiology.* – 1993. – Vol. 187. – P. 346–356.

101. Genchi, C. Aggiornamento epidemiologico sulla filariosi del cane e del gatto/ C. Genchi[et al.] // *Veterinaria.*– 1993.– N7, Suppl. 2.– P. 5–11.

102. Genchi, C. Epidemiological aspects of canine heartworm disease in Italy / Genchi C. [et al.] // *Attidel IV Seminario.–Filariosi, Cremona, Italy: SCIVAC, 1988.– P. 53–64.*

103. Genchi, C. Is heartworm really spreading in Europe? / C. Genchi[et al.]// *Veterinary Parasitology.*–2005.–Vol. 133.–P. 137–148.

104. Glickman, L.T. Serologic pattern of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection / L.T. Glickman [et al.]// *Amer. J. Vet. Res.* – 1984. – Vol. 45, N4. – P. 403–405.

105. Goggin, J.M. Ultrasonographic identification of *Dirofilaria immitis* in the aorta and liver of a dog / J.M. Goggin[et al.]// *J. Am. Vet. Med. Assoc.* –1997. – Vol. 210.–P.1635–1637.

106. Grandi, G., Pathogenesis of *Dirofilaria* spp. Infections / G. Grandi, T. Zivcicnjak, R. Beck // *Mappe Parasitologiche 8.– Italy, 2007. –P.59–67.*

107. Hanasawa, K. Sepsis and organ failure--its pathogenesis and treatment / K. Hanasawa, M. Kodama // *Nippon. Geka. Gakkai. Zasshi.* – 1998. – Vol.99, N8. – P.523–527.

108. Harvey, J.W. Myeloproliferative disease with megakaryocytic predominance in a dog with occult dirofilariasis /J.W. Harvey [et al.] // Vet.Clin. Pathol. – 1982. – Vol. 11. – P. 5–11.
109. Hayasaki, M. Immunological analysis of agglutination in *Dirofilaria immitis* / M. Hayasaki// Jap. Vet. Med. Science.–2001.–Vol.63.–P. 903–907.
110. Hoskins, J.D. Heartworm disease in dogs from Louisiana: Pretreatment clinical and laboratory evaluation / J.D. Hoskins[et al.]// J. Amer. Anim. Hosp. Assoc. – 1984. – Vol. 20, N2. – P. 205–210.
111. Kaewthamasorn, M. Microfilaruria caused by canine dirofilariasis (*Dirofilaria immitis*): an unusual clinical presence/ M. Kaewthamasorn[et al.]//Comparative Clinical Pathology. – 2008. – Feb. – P. 61– 65. doi: 10.1007/s00580-007-0675-1.
112. Kartashev, V. Canine and human dirofilariosis in the Stavropol region (southern Russia) /V. Kartashev[et al.]// Vet. Med. Int. – 2011. – Jan. – P. 685–713. doi: 10.4061/2011/685713.
113. Kos, J. Cysteine proteinases and their endogenous inhibitors: target proteins for prognosis, diagnosis and therapy in cancer (review) / J. Kos, T.T. Lah// Oncol. Rep. - 1998. – Vol.5, N6. – P.1349–61.
114. Kramer, L.H. Pathogenesis of *Dirofilaria* spp. infections / L.H. Kramer // Second European *Dirofilaria* Days. –Salamanca, 2009.–P.116–123.
115. Ludlam, K.W. Potential vectors of *Dirofilaria immitis* / K.W. Ludlam, L.A. Jachowski Jr, G.F. Otto//J. Am. Vet. Med. Assoc. – 1970. – Vol. 157, N 10. – P. 1354–1359.
116. Mejia, J.S., Carlow, C.K. An analysis of the humoral immune response of dogs following vaccination with irradiated infective larvae of *Dirofilaria immitis*/ J.S. Mejia C.K. Carlow//Parasite Immunol. 1994 Mar; 16(3):157-64.
117. Morchón, R. Dogs with patent *Dirofilaria immitis* infection have higher expression of circulating IL-4, IL-10 and iNOS mRNA than those with occult infection /R. Morchón[et al.]// Vet. Immun. Immunopathology.–2007.–Vol. 115.– P. 184–188.

118. O'Connor, R.A. An enduring association? Microfilariae and immunosuppression in lymphatic filariasis/ R.A. O'Connor[et al.]// Trends in Parasitology.– 2003.– Vol. 19.– P. 565–570.
119. Otto, G.F. Occurrence of the heartworm in unusual locations and unusual hosts / G.F. Otto // Proceedings of the Heartworm Symposium '74 / ed. H.C. Morgan. – Bonner Springs, KS: VM Publishing Inc., 1975.–P. 6–13.
120. Pampiglione, S. Dirofilariasis due to *Dirofilaria repens* in Italy, an emergent zoonosis: report of 60 new cases / S. Pampiglione[et al.] // Histopathology.– 2001. – Vol.38, N 4. – P. 344–354
121. Prieto, G. Feline dirofilariosis: antibody response to antigenic fractions containing specific 20 to 30 kDa polypeptides from the adult *Dirofilaria immitis* somatic antigen / Prieto G. [et al.] // Veterinary Parasitology.– 2002.– Vol.103.– P. 341–53.
122. Raccurt, C.P. Dirofilariasis, an underestimated emerging zoonosis in France / C.P. Raccurt// Med. Trop.–1999. – Vol. 59, N4. – P.389–400.
123. Rawlings, C.A. Eosinophilia and basophilia in *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* infections / C.A. Rawlings, A.K.Prestwood, B.B. Beck//J. Amer. Anim. Hosp. Assoc.– 1980. – Vol. 16. – P. 699–704.
124. Rawlings, C.A. Four types of occult *Dirofilaria immitis* infection in dogs / C.A. Rawlings [et al.]// J. Amer. Vet. Med Assoc. – 1982. – Vol. 180, N11. – P. 1323–1326.
125. Ronco C. Cardiorenal syndrome / C. Ronco[et al.] // J.Am.Coll.Cariol. – 2008. – Vol. 52. – P. 1527–1539.
126. Schaub, R.G. Platelet adhesion and myointimal proliferation in canine pulmonary arteries / R.G. Schaub, C.A. Rawlings, J.C. Keith // Am. J. Pathology.– 1981.– Vol. 104.– P.13–22.
127. Segedy, A.K. Cerebral vascular accident caused by *Dirofilaria immitis* in a dog / A.K. Segedy, D.W. Hayden // J. Am. An. Hosp. Assoc. –1978. – Vol. 14. – P.752–756.

128. Sharma, M.C. Blood cellular and biochemical studies in canine dirofilariasis / M.C. Sharma, S.P.Pachauri //Vet. Res.Comm. -1982 . – Vol. 5, N3. – P. 295–300.
129. Silbermayr, K. The detection of different *Dirofilaria* species using direct PCR technique / K.Silbermayr[et al.]// Parasitology Research. – 2014. – Feb. – P.513-516. doi: 10.1007/s00436-013-3682-y.
130. Simon, F. Heartworm infection in humans and animals / Fernando Simon, Claudio Genhi. – Salamanca: Ediciones Universidad de Salamanca, 2001. – 220 p.
131. Sodikoff, C.H. Laboratory profiles of small animal diseases. A guide to laboratory diagnosis, 2ndEdn. –NY: Mosby,1995.
132. Theis, J.H. Public health aspects of dirofilariasis in the United States / J.H. Theis// Vet. Parasitology. –2005. – Vol. 133. – P.157–180.
133. Venco, L. Heartworm (+-Dirofilaria immitis) diseases in dogs / L. Venco // Mappe Parasitologiche 8.– Italy, 2007. –P.117–125
134. Venco, L. New insight into HW disease management: from old legends to the present looking to the future / L. Venco// Second European Dirofilaria Days. – Salamanca, 2009.–P.107–115.
135. Wilcox, H.S. Pulmonary arteriotomy for removal of *Dirofilaria immitis* in the dog / H.S. Wilcox // J. Am. Vet. Med. Assoc. – 1960. – Vol. 136.–P. 328–338.
136. Willard, M.D. Gastrointestinal, pancreatic, and hepatic disorders / M.D. Willard, D.C. Twedt // Small animal clinical diagnosis by laboratory methods, 2nd ed / Ed by M.D. Willard, H.Tvedten, G.H.Turnwald.– Saunders, Philadelphia, 1994. – P. 179–218.
137. Yoshida, M. Immunologic protection against canine heartworm infection / Yoshida M.[et al.] // J. Vet. Med. Science.– 1997.– Vol. 59.– P. 1115–1121.
138. Yoshida, M. Surfactant Protein D Regulates NF-κB and Matrix Metalloproteinase Production in Alveolar Macrophages via Oxidant-Sensitive Pathways / M. Yoshida[et al.] // J. Immunol. – 2001 – Vol. 166. – P. 7514–7519.

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ИП «Карташова Е.В.»



Бутенков А.И.

2015 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Наименование материалов, предложенных для внедрения

Материалы кандидатской диссертации Кочетковой А.Ю. на тему: «Биохимические аспекты патогенеза при дирофиляриозе собак, вызванного *Dirofilaria immitis*»

Кем предложено: соискателем ФГБНУ СКЗНИВИ Кочетковой Анастасией Юрьевной

Где внедрено: В практической деятельности ветеринарной клиники «Вита», г. Ростов-на-Дону

Результаты применения: Внедрены новые данные по сезонной диагностике и профилактике дирофиляриоза у собак.

Эффективность внедрения: Улучшилась эффективность диагностики дирофиляриоза у собак, появилась возможность дифференцированного подхода к тяжести течения дирофиляриоза.

Ответственные за внедрение,
кандидат ветеринарных наук

А.Г.Ключников

ветеринарный врач

А.В. Макрицкая

Утверждаю:

проректор по научной работе

ФГБОУ ВПО «Кубанский

государственный

аграрный университет»,

доктор биологических наук,

профессор А.Г. Кошаев

2015г.



АКТ

внедрения материалов диссертации в учебный процесс

Материалы кандидатской диссертации соискателя ФГБНУ СКЗНИВИ Кочетковой А.Ю. на тему «Биохимические аспекты патогенеза при дирофиляриозе собак, вызванного *Dirofilaria immitis*» используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедрах анатомии, ветеринарного акушерства и хирургии и паразитологии, ветсанэкспертизы и зооигиены ФГБОУ ВПО «Кубанский государственный аграрный университет», по курсам «Патологическая анатомия», «Паразитология», «Ветеринарная экология» и «Биология».

Председатель методической комиссии

факультета ветеринарной медицины,

профессор кафедры анатомии, ветеринарного

акушерства и хирургии

А.Ю. Шантыз

Утверждаю:
 Проректор по учебной работе
 ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский
 государственный аграрный
 университет»,
 доктор сельскохозяйственных наук,
 профессор Р.Х. Кудаяв
 2015г.



АКТ

внедрения материалов диссертации в учебный процесс

Материалы кандидатской диссертации соискателя ФГБНУ СКЗНИВИ Кочетковой А.Ю. на тему «Биохимические аспекты патогенеза при дирофиляриозе собак, вызванного *Dirofilaria immitis*» используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедре «Ветеринарная медицина» ФГБОУ ВО «Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В.М. Кокова», по курсам «Паразитология» и «Клиническая биохимия».

Председатель методической комиссии
 факультета «Ветеринарная медицина и биотехнология»,
 зав. кафедрой «Ветеринарная медицина»,
 доктор биологических наук, профессор

А.М. Биттиров
 А.М. Биттиров

А.М. Биттиров
 ЗАВЕРИЮ
 в соответствии с приказом ректора
 от 10.01.2015 № 15
 10.01.2015



«УТВЕРЖДАЮ»
 Проректор по научной работе
 ФГБОУ ВО «МГТУ»
 Д.ф.н., профессор
 Т.А.Овсянникова
 _____ 2015г.



АКТ

внедрения материалов диссертации в учебный процесс

Материалы кандидатской диссертации соискателя ФГБНУ СКЗНИВИ Кочетковой А.Ю. на тему «Биохимические аспекты патогенеза при дирофиляриозе собак, вызванного *Dirofilaria immitis*» используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедрах морфологических и терапевтических дисциплин ФГБОУ ВО «Майкопский государственный технологический университет», по курсам «Паразитология», «Клиническая биохимия», «инфекционные болезни», «эпидемиология».

Декан лечебного факультета
 ФГБОУ ВО МГТУ, доцент кафедры
 терапевтических дисциплин



Намитоков Х.А.

Утверждаю:

Проректор по учебной работе

ФГБОУ ВО «Донской
государственный

аграрный университет»,

доктор сельскохозяйственных наук,

профессор _____

АКТ

внедрения материалов диссертации в учебный процесс

Материалы кандидатской диссертации соискателя ФГБОУ СКЗПИВБ Кочетковой А.Ю. на тему «Биохимические аспекты патогенеза при дирофиляриозе собак, вызванного *Dirofilaria immitis*» используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедрах паразитологии, эпизоотологии, ветеринарной экспертизы, терапии и пропедевтики ФГБОУ ВО «Донской государственный аграрный университет», по курсам «Паразитология», «Клиническая биохимия».

Зав. кафедрой терапии и пропедевтики
профессор _____

Дерезина Т.П.

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор

Ветеринарной клиники

«Любимец»

Калингер В.Ю.

«57»

2016 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ**Наименование материалов, предложенных для внедрения**

Материалы кандидатской диссертации Кочетковой А.Ю. на тему: «Биохимические аспекты патогенеза при дирофиляриозе собак, вызванного *Dirofilaria immitis*»

Кем предложено: соискателем ФГБНУ СКЗНИВИ Кочетковой Анастасией Юрьевной

Где внедрено: В практической деятельности ветеринарной клиники «Любимец» г. Батайск.

Результаты применения: Внедрены новые данные по сезонной диагностике и профилактике дирофиляриоза у собак.

Эффективность внедрения: Улучшилась эффективность диагностики дирофиляриоза у собак, появилась возможность дифференцированного подхода к тяжести течения дирофиляриоза.

Ответственные за внедрение,

ветеринарный врач

ветеринарный врач

Артемов А.Н.

Королев Н.Н.

«УТВЕРЖДАЮ»

«02» 02 2016г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Наименование материалов, предложенных для внедрения

Материалы кандидатской диссертации Кочетковой А.Ю. на тему: «Биохимические аспекты патогенеза при дирофиляриозе собак, вызванного *Dirofilaria immitis*»

Кем предложено: соискателем ФГБНУ СКЗНИВИ Кочетковой Анастасией Юрьевной

Где внедрено: В практической деятельности ветеринарной клиники «Донское Бюро Ветеринарных Услуг» г. Ростов-на-Дону

Результаты применения: Внедрены новые данные по сезонной диагностике и профилактике дирофиляриоза у собак.

Эффективность внедрения: Улучшилась эффективность диагностики дирофиляриоза у собак, появилась возможность дифференцированного подхода к тяжести течения дирофиляриоза.

Ответственные за внедрение,
ветеринарный врач

Смус И.В.

«УТВЕРЖДАЮ»

ИП Миронова Евгения
Николаевна

Ветеринарная клиника

Айболит

г.Белая Калитва ул.Карла
Маркса 47.

«1» февраля 2016г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Наименование материалов, предложенных для внедрения

Материалы кандидатской диссертации Кочетковой А.Ю. на тему:
«Биохимические аспекты патогенеза при дирофиляриозе собак, вызванного
Dirofilaria immitis»

Кем предложено: соискателем ФГБНУ СКЗНИВИ Кочетковой
Анастасией Юрьевной

Где внедрено: В практической деятельности ветеринарной клиники " Айболит" г. Белая- Калитва ул. Карла Маркса 47

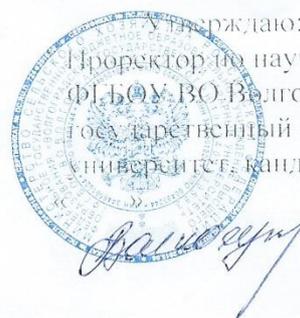
Результаты применения: Внедрены новые данные по сезонной
диагностике и профилактике дирофиляриоза у собак.

Эффективность внедрения: Улучшилась эффективность диагностики
дирофиляриоза у собак, появилась возможность дифференцированного
подхода к тяжести течения дирофиляриоза.

Ответственные за внедрение,
ветеринарный врач ФИО
Миронова Евгения Николаевна



Утверждаю:
 Проректор по научной работе
 ФГБОУ ВО Волгоградский
 государственный аграрный
 университет, канд. с.-х. наук
 Г.В. Волколупов



АКТ

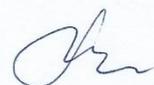
внедрения материалов диссертации в учебный процесс

Материалы кандидатской диссертации соискателя ФГНУ СКЗНИВИ Кочетковой А.Ю. на тему «Биохимические аспекты патогенеза при лирофиляриозе собак, вызванного *Dirofilaria immitis*» используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий на кафедрах «Инфекционная патология, ветеринарно-санитарная и судебная экспертиза», «Анатомия и физиология животных» ФГБОУ ВО Волгоградский государственный аграрный университет, по курсам «Патологическая анатомия и секционный курс», «Паразитология и инвазионные болезни», «Патологическая физиология».

Зав. кафедрой инфекционной патологии
 и ветеринарно-санитарной экспертизы,
 доктор ветеринарных наук, профессор

 А.Н. Шинкаренко

Председатель методической комиссии
 факультета биотехнологий и
 ветеринарной медицины, канд. с.-х. наук

 Е.А. Морозова



ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
 ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
 «РОСТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
 МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
 КЛИНИКО-БИОХИМИЧЕСКИЙ УЧЕБНО-НАУЧНО-
 ПРАКТИЧЕСКИЙ КОМПЛЕКС



СЕРТИФИКАТ УЧАСТНИКА

XIV Российской научно-практической конференции с международным участием
 «Обмен веществ при адаптации и повреждении. Дни молекулярной медицины на Дону»
 Ростов-на-Дону, 15-16 мая 2015 г.

Кочеткова А.Ю., Колмакова Т.С., Кирой Р.И., представившие доклад: «Клинико-
 лабораторные показатели дифференциальной диагностики диروفилляриоза,
 вызванного *Dirofilimia immitis* у собак».



Председатель Оргкомитета, ректор ГБОУ ВПО
 РостГМУ Минздрава России, д.м.н., профессор

Шлык

С.В. Шлык



«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ООО «ВИТАВЕТ»

Бутенков А.И.

« 10 »

2015 г.

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

Наименование материалов, предложенных для внедрения

Материалы кандидатской диссертации Кочетковой А.Ю. на тему: «Биохимические аспекты патогенеза при дирофиляриозе собак, вызванного *Dirofilaria immitis*»

Кем предложено: соискателем ФГБНУ СКЗНИВИ Кочетковой Анастасией Юрьевной

Где внедрено: В практической деятельности ветеринарной клиники «Вита», г. Шахты

Результаты применения: Внедрены новые данные по сезонной диагностике и профилактике дирофиляриоза у собак.

Эффективность внедрения: Улучшилась эффективность диагностики дирофиляриоза у собак, появилась возможность дифференцированного подхода к тяжести течения дирофиляриоза.

Ответственные за внедрение,
кандидат ветеринарных наук

А.Г.Ключников

ветеринарный врач

А.В. Макрицкая