



Hematološki i biohemijski profil kod pasa sa parvovirozom

Ivana Lakić^{a*}, Marko R. Cincović^a, Branislava Belić^a, Nikolina Novakov^a, Sandra Nikolić^b

^aUniverzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni Fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Laboratorija za patološku fiziologiju, Novi Sad, Srbija

^bVeterinarska stanica Novi Sad, Srbija

*Autor za kontakt: ivanalakicdvm@gmail.com

SAŽETAK

Parvoviroza je često, virusno oboljenje pasa. Pored dramatične kliničke slike koje se odlikuje dijarejom, javljaju se i određene promene u krvnoj slici i biohemijском profilu krvi pasa. Cilj ovog rada je da se prikažu hematološke i biohemijske karakteristike pasa obolelih od parvoviroze. U ogled je uključeno 7 pasa. Rezultati istraživanja pokazuju da se kod 6 (85,7%) pasa sa parvovirozom javila leukopenija, dok je kod 1 (14,3%) nađena leukocitoza. Histogram leukocita kod parvoviroze pokazuje izostanak karakterističnih pikova i predstavlja ravnu liniju, zbog opadanja frekvence svih vrsta leukocita. Krvni razmazi posmatrani na malom uveličanju mikroskopa ukazuju na odsustvo leukocita, a prisutni leukociti pokazuju znakove apoptoze i nekroze sa hipersegmentacijom jedra, propadanjem ćelijske membrane i razlivanjem citoplazme po razmazu. U razmazu gde se uočavao veći broj leukocita, veliki broj ćelija nije posedovao prepoznatljivu morfologiju. U biohemijском profilu su se javile povišene vrednosti jetrenih enzima i bilirubina (71,4%), snižene vrednosti proteina (57,2%) i izmenjene koncentracije holesterola (71,4%). Laboratorijske promene su u vezi sa akutnom fazom inflamacije koja postoji kod parvoviroze pasa. Pas sa izraženom leukocitozom se brže oporavljao u odnosu na životinje sa izraženom leukopenijom.

KLJUČNE REČI

Psi, parvoviroza, hematologija, krvni razmaz, biohemija seruma.

Uvod

Parvovirus koji izaziva parvovirozu kod pasa (eng.canine parvovirus, CPV) pripada familiji Parvoviridae, jednolančani je DNK virusa, a smatra se da je evoluirao od virusa mačije panleukopenije (FIP). Do sada su detektovana dva tipa virusa: CPV-1 i CPV-2. Kada se pojavio i tokom 1970-ih godina češći je bio CPV-1, dok je u novijim godinama dokazano sve češće prisustvo CPV-2, koji se javlja u dve varijante, CPV-2a i CPV-2b. Infekcija se najčešće javlja kod štenadi, od 6 nedelja do 6 meseci, što se može povezati sa odbijanjem štenadi od kuje (pad materanih antitela) i izostankom vakcinacije štenadi protiv parvoviroze. Izostanak vakcinacije dovodi do pada nivoa materinskih antitela te jedinka postaje prijemčljiva za datog uzročnika. Parvovirus (CPV), pored Coronavirusa (CCoV) i Paramyxovirusa (PV) predstavlja glavne uzročnike infektivnog akutnog gastroenteritisa. Nastanak infekcije zavisi od jedinke i njenog imunog sistema, kao i vakcinalnog statusa, ali i od faktora sredine i uslova držanja. Visoka prevalenca CPV i CCoV infekcije pasa je uočena u uzorcima fecesa pasa iz azila, što pokazuje da faktori sredine, način držanja i stepen higijene imaju značajan uticaj na pojavu i širenje infektivnih dijareja (Shuliz i sar., 2008; Stann i sar., 2008; Tannant i sar. 1993; Sokolow i sar., 2005; McCaw i sar., 2006; Tabor, 2011). CCoV je izolovan iz fecesa pasa koji nisu pokazivali nikakve simptome oboljenja, dok se, za razliku od ovog virusa, CPV izoluje iz fecesa manifestno obolelih pasa koji ispoljavaju kliničku sliku akutnog gastroenteritisa (Tannant i sar. 1993; Sokolow i sar., 2005). Schuliz i sar. (2008) su ispitali prevalencu gastrointestinalnih infektivnih agenasa kod zdravih i pasa koji ispoljavaju kliničku sliku gastroenteritisa. Rezultati su pokazali da se kod 36 od 200 zdravih pasa mogu naći virusne partikule, dok je ovaj broj kod klinički obolelih životinja značajno različit, te se od 936 klinički obolelih pasa, u fecesu 414 pasa, pokazalo prisustvo virusnog agensa. Pored navedenog, procenat zdravih pasa koji su u uzorku sadržali CCoV je bio 17,5%, dok je kod obolelih taj procenat bio 11,6%. Za razliku od CCoV, CPV je dokazan samo kod jednog, odnosno 0,5% zdravih pasa, dok je kod klinički obolelih pasa taj procenat 16,6%. Ovaj podatak, ukazuje na veliki značaj Parvovirusa kao primarnog uzročnika infektivnog gastroenteritisa kod pasa. Virus se najčešće širi feko-oralnim, ali i feko-nazalnim putem. Kada se unese u organizam, njegovo prvo razmnožavanje počinje u tonzilama, timusu i mezenterijalnim limfnim čvorovima i traje dva dana. Timus predstavlja centralni organ u kome se vrši maturacija T i B-limfocita, pa virus svojim umnožavanjem dovodi do destrukcije T i B ćelija

imunog sistema. Nakon toga, virus se putem krvi širi (nastaje viremija), dospeva do intestinalnih kripti gde se razmnožava i nastavlja da se izlučuje narednih 7-10 dana. Virus pogađa enterocite koji se nalaze na dnu Liberkinijevih kripti, sprečavajući njihovu maturaciju i izazivajući njihovu deskvamaciju. Ove pojave uzrokuju skraćenje vila, poremećaje sekrecije i resorpcije, usled čega se razvija dijareja, a barijera između lumena i krvi biva narušena, dopuštajući različitim infektivnim agensima da dospeju u krvotok (Tabor, 2011; McCaw i sar., 2006; Prittie, 2004). Pošto su krvni sudovi lamine proprije ogoljeni, ove su dijareje krvave i praćene veoma specifičnim mirisom. Pored enterocita, CPV ima afinitet za ćelije koštane srži. U koštanoj srži se nalaze pluripotentne matične ćelije hematopoeze, koje imaju ogroman proliferativni potencijal, ali nisu u potpunosti istražene. Pluripotentni progenitori se dele na mijeloidne i limfoidne progenitore. Mijeloidni progenitori daju elemente crvene krvne loze, megakariocite, granulocite i monocite, dok limfoidni progenitori predstavljaju prekusore T i B limfocita, kao i NK ćelija (Belić i Cincović, 2015). Razmnožavajući se u ćelijama koštane srži virus dovodi do poremećaja u sazrevanju kako eritrocitne loze, tako i ostalih elemenata krvi. Cilj ovog rada je da se prikažu hematološke i biohemijske karakteristike pasa obolelih od parvoviroze.

Material i metod rada

U ogleđ je uključeno 7 pasa sa parvovirozom. Psi su odabrani metodom slučajnog izbora. Parvoviroza je dijagnostikovana na osnovu karakteristične kliničke životinje, dijareje i opštih poremećaja. Krv je uzeta na prvom veterinarskom pregledu u vakutajneru sa EDTA za hematološki pregled i u vakutajneru sa heparinom za biohemijski pregled krvi. Hematološka analiza kompletne krvne slike je izvršena na hematološkom aparatu marke Nihon Kohden Celltac MEK6550. Biohemijska analiza krvnog seruma je uključila merenje sledećih parametara: ukupni protein, albumin, urea, kreatinin, trigliceridi, holesterol, AST, ALT i ukupni bilirubin. Primenjeni su reagensi proizvođača BioSystems i vršene analize na aparatu Rayto Chemray. Pored navedenog, izvršena je analiza krvnih razmaza obojenih Diff Quick metodom i ispitana je morfologija uobličjenih elemenata krvi. Dobijeni rezultati su predstavljeni u vidu deskriptivnih podataka, sa izmerenim vrednostima i fotografijama morfoloških formi krvnih ćelija.

Rezultati i diskusija

Rezultati istraživanja pokazuju da je kod 6 (85,7%) pasa sa parvovirozom postojala leukopenija, dok je kod 1 (14,3%) nađena leukocitoza. Histogram leukocita kod parvoviroze pokazuje izostanak karakterističnih pikova i predstavlja ravnu liniju, jer opadaju frekvence svih vrsta leukocita. Krvni razmazi na malom uvećanju mikroskopa ukazuju na odsustvo leukocita, a prisutni leukociti pokazuju znake apoptoze i nekroze sa hipersegmentacijom jedra, propadanja ćelijske membrane i razlivanja citoplazme po razmazu. U razmazu gde se uočavao veći broj leukocita veliki broj ćelija nije posedovao prepoznatljivu morfologiju. U biohemijskom profilu su se javile povišene vrednosti jetrenih enzima (71,4%), snižene vrednosti proteina (57,2%) i izmene pokazatelja statusa lipida, pre svega, izmenjenje vrednosti holesterola (71,4%). Kod jednog psa je nađena hiperglikemija (14,3%). Pas sa izraženom leukocitozom se brže oporavljao u odnosu na životinje sa izraženom leukopenijom. Ove laboratorijske promene su u vezi sa akutnom fazom inflamacije.

Goddard i sar. (2008) su pokazali da pored samog broja ovih ćelija, veliku ulogu u dijagnostici i u prognozi ima i morfologija ovih krvnih elemenata. Eksperiment ovih naučnika se zasnivao na hipotezi da se broj i morfologija leukocita značajno menja u i tokom parvovirusne infekcije, te da ove promene mogu biti značajni indikatori za prognozu bolesti. Njihova hipoteza je, na osnovu samog dejstva virusa, zasnovana na tome, da se procena leukopenije (kod prethodno potvrđene infekcije CPV-om) nakon 24 i 48 časova i promena u broju leukocita mogu uzeti kao značajni prediktori preživljavanja infekcije, da je povećavanje ukupnog broja leukocita bolji prognostički znak a izostanak ili malo smanjenje broja leukocita pozitivni prognostički znak i znatno su viši kod preživelih inficiranih jedinki. Od 62 pasa sa pozitivnim nalazom i manifestnom kliničkom slikom parvovirusnog gastroenteritisa, preživelo je 52 jedinke, dok su ostale uginule (3 eutanazirane zbog veoma lošeg stanja i prognoze). Poređenjem broja leukocita preživelih i uginulih pasa dobijene su statistički značajne razlike između ove dve grupe - kod preživelih nikada nije pao ispod donje referentne vrednosti i počeo je da se povećava već 24 časa nakon prijema u bolnicu. Uginuli su imali ukupan broj leukocita ispod donje referentne vrednosti i nakon 24 i 48 časova nije došlo do povećanja njegove vrednosti, kao što je to bio slučaj u grupi preživelih pasa. Neutropenija se javila u obe grupe, bez statistički značajne razlike. Primećeno je da grupa preživelih ima značajno veći broj zrelih neutrofila. Broj limfocita je bio značajno veći kod preživelih pasa, nego kod uginulih (kod kojih je sve vreme ispod donje referentne vrednosti).

Statistički značajna razlika je potvrđena i za vrednosti monocita, sa najvećom razlikom pri prijemu i nakon 24 časa. Eozinofili, takođe, pokazuju statistički značajnu razliku jer su preživeli psi imali značajno veći broj pri svakom merenju.

Tabela 1.

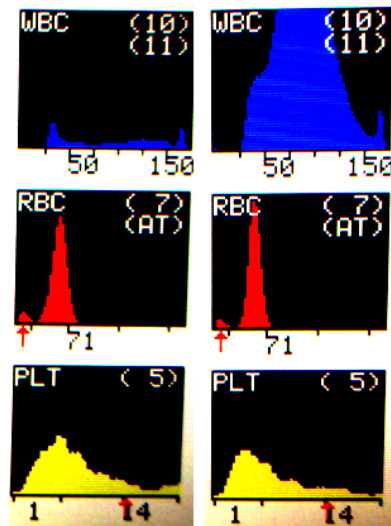
Hematološki i biohemijski profil pasa sa parvovirozom

Table 1.

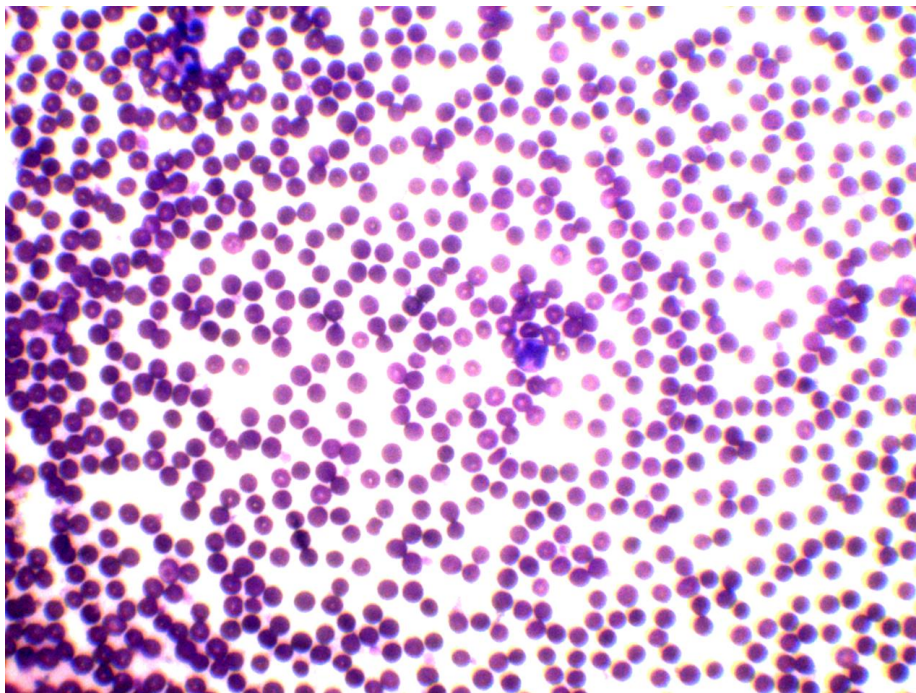
Hematological and biochemistry profile of dogs with parvovirus.

Parametri	Pas 1	Pas 2	Pas 3	Pas 4	Pas 5	Pas 6	Pas 7	Ref.vr.
Leukociti ($10^9/l$)	33.1 ^{*a}	1.7*	3.3*	2.5*	3.2*	4.5*	1.9*	5-14
Limfociti ($10^9/l$)	6.5*	0.24*	0.17*	0.25*	0.26*	0.22*	0.3*	0.4-3
Granulociti ($10^9/l$)	24.6*	1.3*	2.6*	2*	2.6*	3.6*	1.6*	3.5-12
Monociti ($10^9/l$)	1.7	~0.1	~0.1	~0.1	~0.1	~0.1	~0.1	0.1-1.4
Eritrociti ($10^{12}/l$)	6.39	6.54	8.33*	6.52	5.91	6.08	7.17	4.9-7.9
Hemoglobin (g/l)	141	148	179	152	145	139	144	119-189
Hematokrit (%)	41.6	43.8	55.5	41.5	43.4	48.1	43.2	35-57
Trombociti ($10^9/l$)	308	403	441	555	527	359	412	200-600
Glukoza (mmol/l)	4.8	5.8	7.1*	7.7*	5.2	3.8	4.5	3-6.6
Ukupni prot. (g/l)	37*	45*	61	52*	50.5*	58	62.4	54-75
Albumini (g/l)	18*	21.52*	30	23.2*	24*	26.6	30.2	25-44
Urea (mmol/l)	6.1	5.4	6.3	10.4*	11.7*	11.2*	13.3*	3.1-9.2
Kreatinin ($\mu\text{mol/l}$)	59	92	128*	111*	109*	108*	107*	35-106
Holesterol (mmol/l)	3.8	9.06*	6.94	2.92*	2.83*	2.46*	2.33*	3.1-6.5
Trigliceridi (mmol/l)	0.79	1.56	0.73	0.65	0.92	0.81	1.02	0.3-4.8
AST (U/l)	34	36	37	52.1*	55.5*	64.3*	50.6*	9-49
ALT (U/l)	20	27	35	62*	61*	64.8*	61.1*	8-57
Ukupni bilirubin ($\mu\text{mol/l}$)	3.1	9.1	9.9	10.5*	15.2*	16.6*	10.9*	1.7-10.3

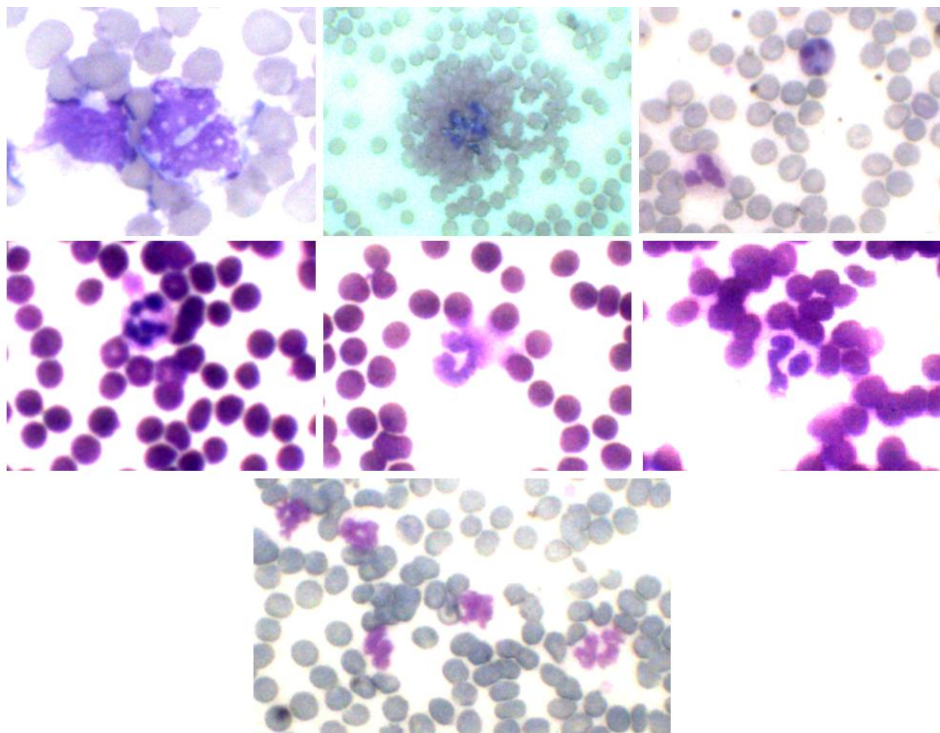
*-izvan referente vrednosti; ^a -pas sa leukocitozom, ostali imaju leukopeniju



Slika 1. Histogram leukocita (WBC), eritrocita (RBC) i trombocita (PLT) kod pasa sa leukopenijom (levo) i leukocitozom (desno)
Figure 1. WBC, RBC and PLT histograms in dogs with leukopenia (left) and in dog with leukocytosis (right)



Slika 2. Leukopenija kod pasa sa parvovirozom, pregled razmaza na uveličanju 400x
Figure 2. Leukopenia in dogs with parvovirus, blood smear at magnification 400x



Slika 3. Leukociti izmenjene morfologije u razmazu, apoptoza i nekroza, gubitak ćelijskog integriteta, neprepoznatljivi oblici leukocita, aglutinacija eritrocita oko oštećenog leukocita (400x i 1000x)

Figure 3. WBC with changed morphology in blood smear – apoptosis and necrosis, lost of cellular integrity, RBC agglutination around destroyed leukocyte (400x and 1000x)

Hematološka ispitivanja koja su radili Showkat i sar. (2013) u kod pasa kod kojih je ELISA testom potvrđeno prisustvo Parvovirusa, pored leukopenije, pokazala je da kod ove infekcije postoji i ozbiljna, mikrocitno-hipohromna anemija. Pored toga, smanjen je i broj trombocita-trombocitopenija. Identični rezultati su primećeni i u eksperimentu Salema (2014). Hematološkom analizom je potvrđeno smanjenje broja eritrocita i sadržaja hemoglobina, leukopenija-neutropenija i limfocitopenija.

Woods i sar. (1980), Potgieter i sar. (1981) i O'Sullivan i sar. (1984) su se složili da leukopenija predstavlja negativan prognostički znak i zahteva mnogo agresivniju terapiju. Potgieter je zaključio da je leukopenija u najvećem broju posledica obimne neutropenije, pa je monitoring ove vrste leukocita od najvećeg značaja. Međutim, suprotno od ovoga su naveli Mason i sar. (1986), kao i McCaw i sar. (1997) koji su pronašli da neutropenija i leukopenija ne predstavljaju značajni prognostički znak. Na ove kontradiktorne zaključke može da utiče to što je danas rasprostranjeno dva tipa CPV-a (CPV-2a i CPV-2b), pa postoji mogućnost da svaki od njih drugačije utiče na vrednosti leukocita. Ni u jednom istraživanju nije utvrđen tip kojim je pas zaražen, već samo znamo da se radi o CPV-u.

Pošto su neutrofili najbrojniji leukociti u krvi pasa, njihov broj najviše utiče na vrednost ukupnog broja leukocita, te svaka promena u njihovom broju uzrokuje i promenu broja leukocita. Kod CPV infekcije nije samo destrukcija koštane srži odgovorna za smanjenje broja neutrofila. Ova infekcija često progredira u endotoksičan šok i sepsu, te je moguće da dolazi do marginacije leukocita i obimnog gubitka preko oštećenog intestinalnog zida (Latimer, 1995; Hoskins 1997). Iako u istraživanju Goddarda i sar. (2010) nije bilo statistički značajne razlike među brojem neutrofila, ipak su oni iz grupe preživelih pokazali postepeno povećavanje broja i degenerativno levo skretanje u odnosu na uginule, što može da govori u prilog tome da kod preživelih koštana srž nije u toj meri pogođena virusom, kao kod uginulih.

Po brojnosti u krvi pasa sledeći su limfociti. U eksperimentu koji je vršio Goddard i sar. (2010) limfopenija kod uginulih je bila značajno ozbiljnija nego kod preživelih (koji su nakon 24 časa već počeli da pokazuju povećanje broja limfocita). Broj limfocita je kod preživelih kod svakog merenja značajno viši kod grupe preživelih pasa, pa je stoga, baš ovaj parameter od najveće prognostičke važnosti. Mehanizam koji uzrokuje limfopeniju kod CPV infekcije uključuje i endogeno lučenje kortizola, koji dovodi do redistribucije ovih ćelija u limfne čvorove; kao i direktno dejstvo virusa što dovodi do atrofije i destrukcije limfoidnog tkiva i gubitak preko gastrointestinalnog trakta (Woods i sar., 1980; Black i sar., 1979; Decaro i sar., 2002).

Monociti i neutrofilni nastaju od iste progenitorne ćelije, ali monocit sazreva 6 dana, a neutrophil 3 dana. Samim tim je period povećanja i regeneracije broja neutrofila znatno kraći od onog potrebnog da se ponovo uspostavi normalan broj monocita. Ovo se posebno može uočiti baš kod infekcije CPV-om, gde se neutrofilni mnogo brže „oporavljaju“ od monocita. Tako da je praćenje broja monocita u krvi obolelih pasa od izuzetnog značaja za prognozu bolesti kod enteritisa izazvanog ovim virusom (Latimer, 1995; Schultze, 2000). Monocitopenija kod uginulih je bila značajno niža kod pasa koji su preživeli infekciju (i pri prijemu i nakon 24 i 48 časova), pokazao je eksperiment Goddarda i sar. (2010). Decaro i sar. (2002) su pokazali da, ne samo da je snižen broj monocita, već je i njihova fagocitna sposobnost znatno oslabljena kod pasa obolelih od CPV-a. Ovo stanje, dovodi do stvaranja predispozicije da životinja bude izložena sekundarnim bakterijskim infekcijama i razvoju endotoksičnog šoka i sepse.

Kod ove infekcije zapažena je i eozinopenija. Pošto je sazrevanje eozinofila pod kontrolom T-limfocita, eozinopenija kod parvoviroze nastaje usled kombinacije mijelosupresije, nedostatka T-limfocita i endogenog lučenja kortizola. Ove pojave utiču na pad broja eozinofila pri akutnoj infekciji (Goddard i sar., 2010).

Istraživanje koje su sprovedli Bastan i sar. (2013) je pokazalo, kao i prethodna, da je broj leukocita i broj limfocita značajno snižen kod pasa obolelih od CPV-a, a srednje vrednosti WBC-a, limfocita, monocita i granulocita su značajno niže kod štenadi, koja su uginula od parvoviroze u poređenju sa preživelim i zdravim psima (kontrola).

Trombociti vode poreklo od pluripotentne stem ćelije koštane srži, pa su zabeležene i promene u broju trombocita kod infekcije CPV-om. Showkat i sar. (2013) su pokazali da se kod parvoviroze javlja trombocitopenija kao posledica smanjenja njihove produkcije ili kao rezultat direktnog delovanja virusa i/ili imunoloških komponenata na trombocite i endotel krvnih sudova. Trombocitopenija može da utiče na permeabilitet krvnih sudova uzrokujući povećanu diseminaciju virusa po organizmu. Trombocitopeniju kod parvoviroze su potvrdili i Castro i sar. (2013), Salem (2014) i Bastan i sar. (2013).

Parvovirusna infekcija je praćena i određenim promenama u biohemijskom profile krvi pasa. Bastan i sar. (2013) su pokazali da se u krvi uginulih pasa nalaze značajno veće koncentracije uree i kreatinina, kada se uporede sa koncentracijama kod pasa koji su preživeli infekciju ili nisu uopšte oboleli. Preživeli psi su imali promenu u ovim vrednostima, ali je ona primenom terapije vraćena u referentne vrednosti. Nasuprot tome, psi koji su uginuli nisu pokazali smanjenje koncentracije uree i kreatinina ni tokom terapije, već su se vrednosti povećavale sve do uginuća. Isto povećanje kreatinina i uree zabeležili su i Showkat i sar. (2013) i Salem (2014). Pored povećanja ovih parametara, Showkat i sar. (2013) su pokazali da se javlja i povećanje enzima jetre (AST, ALT i ALP), koji su bili povećani kod 75% pasa inficiranih parvovirusom. Iste rezultate je dobio i Salem (2013). Kada se radi o proteinskom profilu, znamo da ovaj virus uzrokuje inflamaciju intestinalnog trakta, kao i deskvamaciju enterocita. Ovim putem velike količine proteina se eliminišu iz organizma-enteropatija sa gubitkom proteina. Iz tog razloga koncentracija ukupnih proteina i albumina je smanjena (Schuliz i sar., 2008; Showkat i sar., 2013; Salem, 2014).

Lipidni profil kod ove infekcije se znatno menja, pa je i ova stavka bitna pri proceni statusa životinje. Ovaj profil je veoma bitan pri proceni pacijenta kod koga se posle infekcije Parvovirusom razvila sekundarna bakterijska infekcija, endotoksemija i sepsa. Lipoproteini plazme pored omogućavanja transporta holesterola i lipida, kontrolišu i mehanizam odgovora na LPS (lipopodlisaharid-endotoksin koji se nalazi u membrani gram negativnih bakterija). Lipoproteini vezuju bioaktivni lipid A koji je sastavni deo ćelijske membrane gram negativnih bakterija i na taj način sprečavaju stimulaciju monocita, makrofaga i drugih ćelija koje reaguju na LPS (Hudgins i sar., 2003; Kitchens i sar., 2003; Sprong i sar., 2004). LPS i LPS vezujući protein ili lipoproteinski kompleks na ćelijama pokreću kaskadu otpuštanja citokina (Wu i sar., 2006). Faktor nekroze tumora alfa (TNF- α) ima ključnu ulogu tokom infekcije CPV-om i endotoksemiji pasa (Otto i sar., 1997; Mantione i Otto, 2005). U eksperimentalnim modelima povećanje lipoproteina plazme smanjuje stimulatorne efekte LPS-a i povećava stopu preživljavanja pacijenta tokom endotoksemije ili infekcije gram negativnim bakterijama. Snižavanje nivoa lipoproteina utiče na veći letalitet kod životinja u endotoksemiji (Feingold i sar., 1995). Nekoliko istraživanja je pokazalo statistički značajnu vezu između stope smrtnosti i niskog nivoa holesterola u plazmi. Pored toga, dokazano je da rekonstruisani ljudski HDL lipoprotein ima uticaja na preživljavanje, endotoksemiju, produkciju citokina i metabolizam životinja u septičnom šoku. On smanjuje koncentraciju cirkulišućeg TNF-a i endotoksina. U ovim istraživanjima je pokazano i da je endotoksemija povezana sa smanjenim nivoima serumskog holesterola i HDL frakcije. Do danas, informacije o lipidnom profilu pasa u endotoksemiji su veoma ograničene (Quezado i sar., 1995; Crook i sar., 1999). Yilmaz i Senturk (2007) su pokazali da se kod pasa koji su inficirani CPV-

om i podlegli endotoksičnom šoku i sepsi, lipidni profil u velikoj meri razlikuje od onog kod zdravih pasa. Srednja vrednost ukupnog serumskog holesterola (HDL-C i LDL-C) je smanjena, ali je srednja vrednost triglicerida u serumu povećana kod pasa obolelih od Parvovirusa, kada se uporedi sa zdravom kontrolom. VLDL nivo nije bio znatno promenjen između grupa. Pored toga, pokazali su negativnu korelaciju između serumske koncentracije TNF-a i ukupnog holesterola, a pozitivnu korelaciju između koncentracije TNF-a i koncentracije triglicerida.

Interesantno je da su Crook i sar. (1999) koristili lipidni profil kao prognostički pokazatelj stanja životinja u sepsi. Ukupni holesterol (LDL-C i HDL-C) su pokazali tendenciju opadanja kao deo odgovora akutne faze u toku infekcije. Iako su Crook i sar. (1999) pokazali da je nivo holesterola prediktivni pokazatelj, Kitchens i sar. (2003) su u svom radu dobili drugačije rezultate po kojima je holesterol slab pokazatelj kapaciteta lipoproteina za vezivanje LPS-a. Međutim, u oba rada je pokazano da je koncentracija ukupnog holesterola smanjena kod septičnih pacijenata u odnosu na zdravu kontrolnu grupu. U *in vitro* studijama je pokazano da lipoproteini imaju sposobnost vezivanja LPS-a i neutralizacije njegovih toksičnih efekata (Kitchens i sar., 2003). Kod septičnih pacijenata, koncentracije lipoproteina, pogotovo HDL frakcije su smanjene, a ova promena je veoma povezana sa težinom infekcije (Hudgins i sar., 2003). Pored toga, u studiji koju su sproveli Yilmaz i Senturk (2007) HDL nivoi su bili značajno niži kod pacijenata koji su uginuli (sepsa kao posledica CPV-a) nego kod pacijenata koji su preživeli parvovirozu ili kod zdravih pacijenata. Pokazano je da infuzija R-HDL lipoproteina inhibira efekte TNF-a nastalog kao posledica delovanja LPS-a (Levine i sar., 1993). Trigliceridi imaju drugačije tendencije u poređenju sa ostalim lipidima tokom akutne faze bolesti. U ovom periodu se tipično javlja hipertrigliceridemija (Berbee i sar., 2005). Odgovor akutne faze je praćen promenama u lipidnom metabolizmu, koje uključuju povećanje serumskih triglicerida i smanjenje HDL lipoproteina (Bastan i sar., 2013). U studiji Yilmaza i Senturka (2007) psi inficirani CPV-om su pokazali značajne razlike u koncentraciji triglicerida od zdravih pasa. Između grupe zdravih i obolelih nije bilo statistički značajne razlike (Yilmaz i Senturk, 2007). Porast triglicerida se povezuje sa delovanjem TNF-a i ostalih citokina, koji stimulišu sintezu masnih kiselina u jetri i inhibišu njihovu beta-oksidaciju (Krauss i sar., 1990). Moguć razlog povećanja triglicerida u krvi pasa obolelih od CPV infekcije može biti smanjenje koncentracija lipoprotein lipase u masnom tkivu i smanjenje eliminacije triglicerida kao odgovor na prisustvo endotoksina (Hudgins i sar., 2003; Berbee i sar., 2005).

Zaključci

Parvoviroza je često oboljenje pasa infektivne etiologije. Odlikuje se leukopenijom. Zbog sklonosti virusa da napada elemente bele krvne loze, leukopenija se brzo razvija i vidljiva je na prvom veterinarskom pregledu. Na razmazu prisutni leukociti često pokazuju znakove apoptoze i nekroze sa hipersegmentacijom jedra, propadanja ćelijske membrane i razlivanja citoplazme po razmazu, a u razmazu gde je postojao veliki broj leukocita veliki broj ćelija je bio neprepoznatljive morfologije. U biohemijском profilu dominira hipoproteinemija i hipoholesterolemija. Dobijene promene su u vezi sa akutnom fazom inflamacije kod vidrusnih infekcija.

Literatura

- Bastan, I., Kurtdele, A., Ozen, D. 2013. Prognostic usefulness of some parameters in dogs with canine parvovirus, Ankara Univ Vet Fak Derg, 60, 53-58.
- Belić, B., Cincović, M. 2015. Patološka fiziologija, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad.
- Berbee, J. F., Havakes, L. M., Rensen, P. C. 2005. Apolipoproteins modulate the inflammatory response to lipopolysaccharide, Journal of Endotoxin research, 11, 97-103.
- Black, J. W., Holscher, M. A., Powell, H. S., Byerly, C. S. 1979. Parvoviral enteritis and panleukopenia in dogs, Small Anim Clin, 74:47-50.
- Castro, T. X., Cubel Garcia, R. C. N., Goncalves, L. P. C., Costa, E. M., Marcello, M. C. G., Labarthe, N. V., Mendes-de-Almeida, F. 2013. Brief Communication-Clinical, hematological and biochemical findings in puppies with Coronavirus and Parvovirus enteritis, Can Vet J, 54:885-888.
- Cohn, L. A., Rewerts, J. W., McCaw, D., Boon, G. D., Wagner-Mann, C., Lothrop, C. D. Jr. 1999. Plasma granulocyte colony-stimulating factor concentrations in neutropenic, parvoviral enteritis-infected puppies, Journal of Veterinary Internal Medicine, 13, 581-586.
- Decaro, N., Altamura, M., Pratelli, A., Pepe, M., Tinelli, A., Castle, D., Martella, V., Tafaro, A., Camero, A., Elia, G., Tempesta, M., Jirillo, E., Buonavogila, G. 2002. Evaluation of the innate immune response in pups during canine parvovirus type 1 infection, New Microbiol, 25:291-298.
- Feingold, K. R., Funk, J. L., Moser, A. H., Shigenaga, J. K., Rapp, J. H., Grunfeld, C. 1995. Role of circulating lipoproteins in protection from endotoxin toxicity, Infection and Immunity 63, 2041-2046.

- Goddard A. i sar.: Prognostic Usefulness of Blood Leukocyte Changes in Canine Parvoviral Enteritis, *J Vet Intern Med*, 22:309-316, 2008.
- Hoskins J. D. 1997. Update on canine parvoviral enteritis, *Vet Med*, 92:694-709.
- Hudgins, L. C., Parker, T. S., Levine, D. M., Gordon, B. R., Saal, S. D., Jiang, S. C., Seidman C. E., Tremaroli, J.D., Lai, J., Rubin, A. L. 2003. A single intravenous dose of endotoxin rapidly alters serum lipoproteins and lipid transfer proteins in normal volunteers, *Journal of Lipid Research*, 44. 489-498.
- Kitchens, R. L., Thompson, P. A., Munford, R. S., O'Keefe, G.E. 2003. Acute inflammation and infection maintain circulating phospholipid levels and enhance lipopolysaccharide binding to plasma lipoproteins, *Journal of Lipid Research*, 44. 2338-2348.
- Krauss, R. M., Grunfeld, C., Doerrler, W. T., Feingold, K. R. 1990. Tumor necrosis factor acutely increases plasma levels of very low density lipoproteins of normal size and composition, *Endocrinology*, 127, 1016-1021.
- Latimer K. S.: Leukocytes in health and disease, *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 4th edition Philadelphia, 1995:1892-1929
- Levine D. M., Parker, T. S., Donnelly, T. M., Ealsh, A., Rubin, A. L. 1993. In vivo protection against endotoxin by plasma high density lipoprotein, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 90, 12040-12044, December 15, USA.
- Mantione, N. L., Otto C. M. 2005. Characterization of the use of antiemetic agents in dogs with parvoviral enteritis treated in veterinary teaching hospital: 77 cases (1997-2000), *Journal of the American Veterinary Medicine Association* 23, 183-192.
- Mason, M. J., Gillet, N. A., Muggenburg, B. A. 1987. Clinical, pathological, and epidemiological aspects of canine parvoviral enteritis in unvaccinated closed beagle colony, *J Am Anim Hosp Assoc*, 23:183-192.
- McCaw, D. L., Harrington, L. D., Jones, B. D. 1996. A retrospective study of canine parvovirus gastroenteritis: 89 cases, *J Vet Int Med*, 10:157.
- McCaw, D. L., Hoskins, J. Canine viral enteritis, *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 3rd ed. St Louis: Elsevier, 2006:63-71.
- O'Sullivan, G., Durham, P. J., Smith J. R., Campbell, R. S. 1984. Experimentally induced severe canine parvoviral enteritis, *Aus Vet J*, 61:1-4.
- Otto, C. M., Drobatz, K. J., Soter, C. 1997. Endotoxemia and tumor necrosis factor activity in dogs with naturally occurring parvoviral enteritis, *Journal of Veterinary Internal Medicine* 11, 65-70.
- Potgieter, L. N. D., Jones, J. B., Patton, C. S., Webb-Martin, T. A. 1981. Experimental parvovirus infection in dogs, *Can J Comp Med*, 45:212-216.
- Quezado, Z. M., Natanson, C., Banks, S. M., Alling, D. W., Koev, C. A., Danner, R. L., Elin, R. J., Hosseini, J. M., Parker, T. S., Levine, D. M. 1995. Therapeutic trial of reconstituted human high-density lipoprotein in a canine model of gram-negative septic shock, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 272. 604-611.
- Read, T. E., Harris, H. W., Grunfeld C., Feingold, K. R., Kane, J. P., Rapp, J. H. 1993. The protective effect of serum lipoproteins against bacterial lipopolysaccharide, *European Heart Journal* 14, 125-129.
- Salem, N. Y., 2014. Canine Viral Diarrhea: Clinical, Hematologic and Biochemical Alterations with Particular Reference to In-Clinic rapid diagnosis, *Global Veterinaria*, 13 (3):302-307.
- Schultze A. E. 2004. Interpretation of canine leukocyte responses, *Shalm's Veterinary Hematology* 5th ed, Philadelphia.
- Showkat, A., Sood, N. K., Najimana, W., Kuldip, G., Amarjit, S. 2013. Hemato-biochemical changes in canine parvoviral infection, *Indian J Vet Pathol.*, 37(2):131-133.
- Sokolow, S. H, Rand, C., Marks, S. L., Drazenovich, N. L., Kather, E. J., Foley, J. E. 2005. Epidemiologic evaluation of diarrhea in dogs in an animal shelter, *American Journal of Veterinary Research*, 66, 1018-1024.
- Sprong, T., Netea, M. G., Van der Ley, P., Verver-Jansen, T. J. G., Jacobs, L. E. H., Stalenhoef, A., Van der Meer, J. W. M., Van Deuren, M. 2004. Human lipoproteins have divergent neutralizing effects on E. Coli LPS, N. meningitidis LPS and complete Gram-negative bacteria, *Journal of Lipid Research* 45. 742-749.
- Stann, S. E., DiGiacomo, R. F., Giddens, W. E., Evermann, J. F. 1984. Clinical and pathologic features of parvoviral diarrhea in pound-source dogs, *Journal of the American Veterinary Association*, 185, 651-655.
- Tabor B. 2011. Canine Parvovirus, *Veterinary Technician*.
- Tennant, B. J., Gaskell, R. M., Jones, R. C., Gaskell, C. J. 1993. Studies on the epizootiology of canine Coronavirus, *Veterinary Record*, 132. 7-11.
- Woods, C. B., Pollock, R. V. H., Carmichael, L. E. 1980. Canine parvoviral enteritis, *J Am Anim Hosp Assoc*, 16:171-176.
- Wu, T., McCandlish, A. C., Gronenberg, L. S., Chng, S. S., Silhavy, T. J., Kahne, D. 2006. Identification of a protein complex that assembles lipopolysaccharide in the outer membrane of E. Coli, *Proceedings of the National Academy of Scientists of the United States of America*, USA.
- Yilmaz, Z., Senturk, S. 2007. Characterization of lipid profiles in dogs with parvoviral enteritis, *Journal of Small Animal Practice*, 48, 643-650.

Hematology and biochemistry profile and blood smear in dogs with parvovirus

Ivana Lakić^{a*}, Marko R. Cincović^a, Branislava Belić^a, Nikolina Novakov^a, Sandra Nikolić^b

^aUniversity of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of veterinary medicine, Laboratory of Pathophysiology, Novi Sad, Srbija

^bVeterinary clinic Novi Sad, Srbija

*Corresponding author: ivanalakicdvm@gmail.com

ABSTRACT

Parvovirus is very common, viral disease of dogs. Most common clinical sign is diarrhea followed by changes in hematologic and biochemical parameters. The aim of this examination is to show biochemical and hematologic changes in dogs with Parvovirus. Experiment included 7 dogs. Results have showed that in 6 (85,7%) dogs with Parvovirus severe leucopenia existed, while in 1 (14,3%) leucocytosis was founded. Leukocyte histogram in Parvovirus has showed lack of characteristic spikes and it is represented with flat line because of reduction of all leukocyte families. Blood smears on a small magnification have showed leucocyte depletion, with leucocytes that show signs of apoptosis and necrosis with hypersegmentation of nucleus, degeneration of cells membranes with overflowing cytoplasmic content. In spots where groups of leukocytes were founded great number of cells were unrecognizable. Biochemical profile have showed increased levels of hepatic enzymes and total bilirubin (71,4%), reduced levels of proteins (57,2%), and reduced levels of cholesterol, HDL and LDL lipoproteins (71,4%). Dog that showed leucocytosis healed faster compared the ones with leucopenia. Laboratory findings are related to acute phase of inflammation in dogs with Parvovirus.

KEY WORDS

dog, parvovirus, hematology, blood smear, serum biochemistry.

Primljen: 04.05.2017.

Prihvaćen: 20.06.2017.