

Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych Zwierząt  
Akademii Rolniczej w Lublinie, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin  
e-mail: abram0@poczta.onet.pl

BEATA ABRAMOWICZ

## **Hemoliza i zmiany hematologiczne u psów z babeszjozą**

**Haemolysis and haematology changes in dog with babesiosis**

**Streszczenie.** Badania przeprowadzono na grupie 82 psów chorych na babeszjozę i 20 psach zdrowych – kontrolnych. Oznaczano: RBC, Ht, Hgb, Hgb w surowicy, WBC, Plt. Stwierdzono stosunkowo rzadkie w porównaniu z piśmiennictwem występowanie zaawansowanej niedokrwistości (12,20%). Natomiast stałymi zmianami była trombocytopenia (98,80%) oraz wysokie stężenie wolnej hemoglobiny w surowicy.

**Słowa kluczowe:** hemoliza, psy, babeszjoza

### WSTĘP

Liczba przypadków schorzeń z objawami hemolizy u psów systematycznie wzrasta. Jest ona istotą patogenezy i towarzyszy wielu stanom chorobowym, głównie chorobom pasożytniczym, zaburzeniom metabolicznym, chorobom wątroby i nowotworom. Prawie zawsze rozwija się w przebiegu babeszjozy, która stanowi poważny problem dla lekarzy weterynarii i właścicieli zwierząt w wielu częściach świata [Taboda 1992, Reyers 1998, Persing i Conrad 1995, Homer i in. 2000, Chandoga i in. 2001, Chandoga i in. 2002, Duh i in. 2004, Farkas i in. 2004].

U psów w prawidłowych warunkach dojrzałe krwinki czerwone żyją około 100-120 dni. W miarę starzenia się lub w przypadku uszkodzenia są niszczone przy udziale makrofagów śledziony, wątroby lub szpiku. Natomiast szybsza destrukcja krwinek czerwonych w organizmie może następować w wyniku wrodzonych defektów w ich strukturze i funkcji lub oddziaływania mechanizmów zewnątrzpochodnych [Ettinger i Feldman 2000, Gier 2001, Janicki 2001].

Dziedziczne defekty erytrocytów są autosomalnie recesywne i występują u psów stosunkowo rzadko. Jednakże zdarzają się przy rozmnażaniu wsobnym u niektórych ras i mogą doprowadzać do niedokrwistości hemolitycznej zagrażającej życiu. Wady wrodzone są różnego rodzaju, od zaburzeń w syntezie hemu i nieprawidłowej budowy hemoglo-

biny, poprzez zmniejszenie oporności osmotycznej błony komórkowej, do niedoboru enzymów, m.in. fosfofruktokinazy i kinazy pirogranianowej [Ettinger i Feldman 2000, Gier 2001].

Dość częstymi czynnikami hemolitycznymi są substancje chemiczne (naftalen, arsen, glikol propylenowy), niektóre leki (sulfonamidy, penicylina) i składniki pożywienia (cebula, czosnek). W niektórych przypadkach substancje chemiczne mogą zachowywać się jak związki utleniające i rodnikotwórcze, doprowadzając do uszkodzenia błony komórkowej erytrocytów [Ettinger i Feldman 2000, Łukaszewska i in. 2004].

Poważną przyczyną ostrej hemolizy u psów może być hipofosfatemia, którą spotyka się w cukrzycy, lipidozie wątrobowej i nadczynności przytarczyc. Hipofosfatemia jest najczęściej następstwem przemieszczenia fosforu z osocza do komórek, zwiększonej jego utraty przez nerki lub zmniejszonej absorpcji fosforu w jelitach. Patogeneza niedokrwistości wywołanej obniżeniem poziomu fosforu powiązana jest prawdopodobnie z naruszeniem erytrocytarnych ATP i GSH, co prowadzi do zmniejszenia oporności osmotycznej i nadwrażliwości na utlenianie [Ettinger i Feldman 2000, Gier 2001].

Hemoliza i niedokrwistość może też mieć podłoże immunologiczne. Niedokrwistość immunohemolityczna (IMHA) powstaje wówczas, gdy celem bezpośrednim lub pośrednim odpowiedzi immunologicznej są erytrocyty. Immunologiczna destrukcja krwinek czerwonych występuje w momencie wiązania na powierzchni erytrocytów przeciwciał IgG lub IgM i składników dopełniacza. Przeciwciała te skierowane są głównie przeciw antygenom błony normocytów, m.in. peptydowi glikoforynopodobnemu lub innym mniej znanym fosfolipidom czy też białkom wpływającym na cytoszkielet erytrocytów. W następstwie tych oddziaływań dochodzi do niedokrwistości hemolitycznej [Klag i Gier 1993, Ettinger i Feldman 2000, Gier 2001, Cotter 2004, Łukaszewska i in. 2004].

Hemoliza i niedokrwistość hemolityczna może rozwijać się także w przebiegu chorób bakteryjnych, wirusowych i pierwotniaczych, a z reguły towarzyszy babeszjozie psów [Gundlach i in., 1995, Bordeaux i Gualfi 1998, Ettinger i Feldman 2000, Sitarska i Kluciński 2003, Cotter 2004].

#### HEMOLIZA I NIEDOKRWISTOŚĆ W PRZEBIEGU BABESZJOZY

Patogeneza hemolizy i niedokrwistości wywołanej przez *Babesia canis* nie została dokładnie zdefiniowana. Ekspozycja na niedawną mechaniczną destrukcję błony komórkowej normocytów przez opuszczające je merozoity nie znajduje potwierdzenia. Ma ona prawdopodobnie znaczenie marginalne i jest odpowiedzialna za niszczenie około 1% krwinek [Kotomski 2002]. Utrwała się pogląd, że patogeneza hemolizy jest wieloczynnikowa, a nasiloną niedokrwistość często nie koreluje z liczbą pasożytów [Adachi i Makimura 1992, Adachi i in. 1994, Jacobson i Clark 1994, Otsuka i in. 2002].

Pasożyty mogą oddziaływać pośrednio poprzez zmniejszenie oporności osmotycznej normocytów, doprowadzając do tzw. kruchości mechanicznej [Makinade i Bobade 1994, Bordeaux i Gualfi 1998]. Makinde i Bobade [1994] badając krew z różnymi stężeniami NaCl wykazali, że w grupie psów chorych wystąpiła zwiększona podatność erytrocytów na hemolizę już od stężenia 0,75% NaCl. Mechanizm kruchości osmotycznej może być jedną z przyczyn hemolizy wewnątrznaczyniowej, jednakże teza ta jest nadal dyskusyjna [Bordeaux i Gualfi 1998, Mileczak 2003]. Ważnymi czynnikami biorącymi udział

w uszkodzaniu komórek w chorobach pasożytniczych są prawdopodobnie wolne rodniki tlenowe, powstające w nadmiarze w procesie namnażania pasożytów. Utleniające uszkodzenie krwinek czerwonych opisano u psów w inwazji wywołanej przez *Babesia gibsoni* [Jacobson i Clark 1994, Otsuka i in. 2002, Milczak 2003]. Przy czym erytrocyty były bardziej podatne na fagocytozę przez makrofagi szpiku kostnego, także te, które nie zostały zainfekowane pasożytem. Mechanizm oddziaływania wolnych rodników nie został do końca wyjaśniony. Oksydacywnemu uszkodzeniu erytrocytów u chorych zwierząt przez samego pasożyta towarzyszy prawdopodobnie zwiększona aktywność makrofagów [Murase i Maede 1990, Murase i in. 1996, Otsuka i in. 2001, 2002].

Czynniki immunologiczne w inwazji wywołanej przez *Babesia canis* odgrywają prawdopodobnie ważną rolę. Przeciwciała przeciwko antygenom *Babesia* stwierdza się już 5–8 dnia po zakażeniu – przeciw zainfekowanym erytrocytom, a także wolnym od pasożyta [Gundlach i in. 1995, Bordeau i Gualfi 1998]. Wzrost wiązania IgG przez błony komórkowe krwinek w krążeniu chorych psów doprowadza do dużego stopnia erytrofagocytozy, w wyniku której może dojść do ostrej niedokrwistości, mimo często niskiej parazytemii [Adachi i Makimura 1992, Adachi i in. 1994, Otsuka i in. 2001, 2002]. Czasem ostrą infekcję z *Babesia gibsoni* można błędnie zdiagnozować jako niedokrwistość autoimmunohemolityczną. Podobne objawy kliniczne, a także odporność pasożyta na dostępne leczenie mogą utrudniać rozpoznanie [Conrad i in. 1991].

Japońscy badacze [Onishi i in. 1990, Onishi i Suzuki 1994] zwracają uwagę na potrzebę oceny aktywności hemolitycznej w surowicy psów. Porównując aktywność hemolityczną w surowicy psów zarażonych naturalnie i doświadczalnie *B. gibsoni* i w surowicy psów wolnych od pierwotniaków wykazali wyższą aktywność w grupie psów zarażonych pasożytem. Zmiany w aktywności hemolitycznej surowicy były proporcjonalne do nasilenia niedokrwistości i parazytemii, a odwrotnie proporcjonalne do wartości hematokrytu. Onishi i in. [1993] udowodnili, że wzrost aktywności hemolitycznej surowicy towarzyszy niedokrwistości psów z *B. gibsoni*, natomiast nie stwierdzili zmian charakterystycznych dla niedokrwistości immunohemolitycznej w postępującej i ostrej infekcji wywołanej tym pierwotniakiem.

Badania aktywności hemolitycznej surowicy przeprowadzono także na bydło w ostrej infekcji wywołanej przez *Babesia bovis* [Mahoney i in. 1980]. Wykazano, że przyczyną zmian w okresie ustępowania ostrych objawów choroby były kompleksy antygen–przeciwciała i uwolniona hemoglobina.

#### BADANIA WŁASNE

W badaniach przeprowadzonych na grupie 82 psów chorych na babeszjozę zaobserwowano zmiany we wskaźnikach hematologicznych (tab. 1 i 2), częściowo różniące się od prezentowanych przez innych autorów.

Badania te były fragmentarycznym rozwinięciem wcześniejszych obserwacji [Abramowicz 2006]. Wykorzystano tu tę samą metodykę badań laboratoryjnych i podobne były cechy zwierząt. W prezentacji wyników użyto tzw. własnych norm oszacowanych ( $X \pm SD$ ) wyliczonych z danych grupy kontrolnej.

Tabela 1. Wartości wskaźników hematologicznych u psów zdrowych (n = 20)  
i u psów z babeszjozą (n = 82)

Table 1. Values of haematology indexes in healthy dogs (n = 20)  
and in dogs with babesiosis (n = 82)

Badany wskaźnik Investigated index	Psy zdrowe Healthy dogs		Psy chore Sick dogs	
	Średnia Average	SD	Średnia Average	SD
RBC, 10 <sup>12</sup> /l	7,58	±0,77	5,74*	±1,28
Ht, %	43,70	±4,17	37,91	±7,91
Hgb, g/dl	14,03	±1,78	13,27	±2,70
Hgb sur., mg/dl	19,17	±8,07	316,69**	±260,39
WBC, 10 <sup>9</sup> /l	8,96	±2,40	8,24	±7,48
Plt, 10 <sup>9</sup> /l	257,90	±93,19	21,21**	±16,02

\* p ≤ 0,05, \*\* p ≤ 0,01

Tabela 2. Częstotliwość i stopień nasilenia zmian we wskaźnikach hematologicznych  
u psów z babeszjozą (n = 82)

Table 2. Frequency and degree of intensification of changes in haematology indexes  
in dogs with babesiosis (n = 82)

Badany wskaźnik Investigated index	Własne normy oszacowane Own assessed norms	W granicach norm oszacowanych Within assessed norms, %	Umiarkowany* Moderate		Duży (%)** Big (%)	
			spadek decrease	wzrost increase	spadek decrease	wzrost increase
RBC 10 <sup>12</sup> /l	6,04–9,12	48,78	35,36	-	15,85	-
Ht, %	35,36–52,04	63,41	26,83	-	9,76	-
Hgb, g/dl	10,47–17,59	87,80	9,76	-	2,44	-
Hgb sur., mg/dl	3,03–35,31	-	-	7,32	-	92,68
WBC, 10 <sup>9</sup> /l	4,16–12,99	73,17	17,07	3,66	-	6,10
Plt, 10 <sup>9</sup> /l	71,52–444,28	-	98,78	-	-	1,22

\* do wartości ±2SD własnych norm oszacowanych/to values of ± 2SD own assessed norms; \*\* ponad wartości ±2SD własnych norm oszacowanych/over values of ± 2SD own assessed norms

Z badań własnych wynika, że objawy niedokrwistości wyrażające się spadkiem wartości bezpośrednich wskaźników erytrocytarnych (erytrocyty, Ht, Hgb) były ogólnie słabo zaznaczone (tab. 2). Tylko u 12,20% badanych psów odnotowano spadek hemoglobiny krwi poniżej dolnej granicy własnej normy i wystąpienie typowych dla anemii objawów klinicznych. Wprawdzie liczba erytrocytów i wartość hematokrytu były w większym stopniu poza normą (odpowiednio 51,22 i 36,59%), ale był to spadek najczęściej umiarkowany. Podobne nasilenie zmian obserwował Milczak [2003] u psów z babeszjozą pochodzących z tego samego rejonu, a także inni autorzy [Gundlach i in. 1995, Chandoga i in. 2001]. Niezbyt duże zmiany w bezpośrednich wskaźnikach erytrocytarnych, mimo zaawansowanej hemolizy, mogą się łączyć z ogólnym odwodnieniem i zagęszczeniem krwi w następstwie podwyższonej temperatury wewnętrznej ciała, a często

także wymiotów, biegunki i wzmożonej diurezy. Stosunkowo mały spadek stężenia hemoglobiny krwi mógł dodatkowo wynikać z pomiaru nie tylko hemoglobiny zawartej w erytrocytach, ale także w surowicy. Porównawczo duże stężenie hemoglobiny w surowicy u wszystkich chorych psów świadczy o powolnym i w dużej części nasilonym procesie hemolizy w przebiegu babeszjozy. Znaczny był jednak rozrzut wielkości stężenia, o czym świadczy duża wartość odchylenia standardowego. Nie obserwowano prostej zależności między stężeniem hemoglobiny w surowicy a nasileniem objawów chorobowych, co wskazuje na złożoną patogenezę choroby.

Tendencja do spadku liczby leukocytów, obserwowana także przez innych autorów [Gundlach i in. 1995, Chandoga i in. 2001, Kotomski 2002, Milczak 2003], sugeruje dysfunkcję szpiku powodowaną metabolitami pasożyta i uwolnionej hemoglobiny.

Wyniki badań własnych potwierdzają również dane z piśmiennictwa [Gundlach i in. 1995, Bordeau i Gualfi 1998, Milczak 2003] o występowaniu zaawansowanej trombocytopenii. Jest to zmiana dość charakterystyczna, której przyczyna nadal nie jest jednoznacznie wyjaśniona. Może to być następstwo dysfunkcji szpiku lub immunologicznej destrukcji i nadmiernego zużycia, co w jakimś stopniu sugerują wyniki badań Milczaka [2003].

#### PIŚMIENNICTWO

- Abramowicz B. 2006. Udział hemolizy w rozwoju zaburzeń funkcji nerek i wątroby u psów z babeszjozą. Rozpr. dokt., Wydział Med. Wet. AR, Lublin.
- Adachi K., Makimura S. 1992. Changes in anti-erythrocyte membrane antibody level of dogs experimentally infected with *Babesia gibsoni*. J. Vet. Med. Sci. 54(6), 1221–1223.
- Adachi K., Tateishi M., Nagatomo H., Shimizu T. Makimura S. 1998. Elevated erythrocyte-bound IgG value in dogs with clinical *Babesia gibsoni* infection. J. Vet. Med. Sci. 56(4), 757–759, 1994.
- Bordeau P., Gualfi J.F.; Babeszjoza psów. Mag. Wet. 1, 35–47,
- Chandoga P., Baranová D., Goldová M., Kozák M., Pálenik L., Skalka J. Jr. 2001. *Babesia canis* (apicomplexa: piroplasmida), in a siberian husky – a case report. Folia Vet. 45(1), 47–50.
- Chandoga P., Goldová M., Baranová D., Kozák M. 2002. First cases of canine babesiosis in the Slovak Republic. Vet. Rec. 150, 82–84.
- Conrad P., Thomford J., Yamane I., Whiting J., Bosma L., Uno T., Holshuh H.J., Shelly S. 1991. Hemolytic anemia caused by *Babesia gibsoni* infection in dogs. J. Am. Med. Assoc. 199(5), 601–605.
- Cotter S.M. 2004. Rozpoznawanie przyczyn niedokrwistości u psów i kotów. Wet. po Dyplomie 5(1), 13–22.
- Duh D., Petrovec M., Strasem K., Avsic-Zupanc T. 2004. Canine babesiosis in Slovenia: molecular evidence of *Babesia canis canis* and *Babesia canis vogeli*. Vet. Res. 35(3), 363–368.
- Ettinger S.J., Feldman E.C. 2000. Textbook of Veterinary Internal Medicine Diseases of the dog and cat. 5<sup>th</sup> ed., Saunders Comp. Philadelphia.
- Farkas R., Földvari G., Fenyves B., Kotae I., Szelagyi A., Hegedüs G.T. 2004. First deflection of small babesie in two dogs in Hungary. Vet. Rec. 154, 176–178.
- Giger U. 2001. Diagnosis of hemolytic anemias. World Small Animal Veterinary Association Congress, Vancouver.
- Gundlach J.L., Sadzikowski A.B., Tomczuk K. 1995. Babeszjoza psów. Medycyna Wet. 51(10), 584–588.

- Homer M.J., Aguilar-Delfin I., Telford S.R., Krause P.J., Persing D.H. 2000. Babesiosis. Clin. Microbiol. Rev. 13(3), 451–469.
- Jacobson L.S., Clark I.A. 1994. The pathophysiology of canine babesiosis: new approaches to an old puzzle. J. S. Afr. Vet. Assoc. 65(3), 134–145.
- Janicki K. 2001. Hematologia. Wyd. PZWL, Warszawa.
- Klag A.R., Gier U., Shofer F.S. 1993. Idiopathic immune mediated hemolytic anemia in dogs; 42 cases (1986–1990). JAVMA, 202(5), 783–788.
- Kotomski G. 2002. Babeszjoza psów. Mag. Wet. 11(70), 5–9.
- Łukaszewska J., Łukaszewski Z., Stefaniak T. 2004. Niedokrwistości autoimmunologiczne u psów – przypadki własne. Mag. Wet. 13(96), 29–33.
- Łukaszewska J., Winnicka A., Popek-Jeż J., Popiel J. 2004. Niedokrwistość hemolityczna u zwierząt – przypadek zatrucia cebulą u psa. Mag. Wet. 13(89), 35–37.
- Mahoney D.F., Wright I.G., Goodger B.V. 1980. Changes in the haemolytic activity of serum complement during acute *Babesia bovis* infection in cattle. Parasitol. Res. 62(1), 39–45.
- Makinde M.O., Bobade P.A. 1994. Osmotic fragility of erythrocytes in clinically normal dogs and dogs infected with parasites. Res. Vet. Sci. 57(3), 343–348.
- Milczak A. 2003. Zaburzenia układu hemostazy w przebiegu babeszjozy psów. Rozpr. dokt., Wydział Med. Wet. AR Lublin.
- Murase T., Maede Y. 1990. Increased erythrophagocytic activity of macrophages in dog with *Babesia gibsoni* infection. Nipp. Juigaku Zasshi 52(2), 321–327.
- Murase T., Ueda T., Yamato Y., Tajima M., Maede Y. 1996. Oxidative damage and enhanced erythrophagocytosis in canine erythrocytes infected with *Babesia gibsoni*. J. Vet. Med. Sci. 58(3), 259–261.
- Onishi T., Suzuki S. 1994. Changes of serum hemolytic activity and the number of reticulocytes in canine *Babesia gibsoni* – infection. J. Vet. Med. Sci. 56(3), 611–612.
- Onishi T., Suzuki S., Horie M., Kajikawa M., Ohishi I., Ejima H. 1993. Serum hemolytic activity of *Babesia gibsoni* – infected dogs: the difference in activity between self and nonself red blood cells. J. Vet. Med. Sci. 55(2), 203–206.
- Onishi T., Ueda K., Horie M., Kajikawa T., Ohishi I. 1990. Serum hemolytic activity In dogs infected with *Babesia gibsoni*. J. Parasitol. 76(4), 564–567.
- Otsuka Y., Yamasaki M., Yamato O., Maede Y. 2002. The effect of macrophages on the erythrocyte oxidative damage and the pathogenesis of anemia in *Babesia gibsoni* – infected dogs with low parasitemia. J. Vet. Med. Sci. 64(3), 221–226.
- Otsuka Y., Yamasaki M., Yamato O., Maede Y. 2001. Increased generation of superoxide in erythrocytes infected with *Babesia gibsoni*. J. Vet. Sci. 63(10), 1077–1081.
- Persing D.H., Conrad P.A. 1995. Babesiosis: new insights from phylogenetic analysis. Infect Agents Dis. 4(4), 182–195.
- Reyers F., Leisewitz A., Lobetti R.G., Milner R.J., Jacobson L.S., van Zyl M. 1998. Canine babesiosis in South Africa: more than one disease. Does this serve as a model for falciparum malaria? Ann. Trop. Med. Parasitol. 92(4), 503–511.
- Sitarska E., Kluciński W., Cetnarowicz A. 2003. Różnicowanie niedokrwistości. Mag. Wet. 12(82), 35–36
- Taboada J., Harvey J.W., Levy M.G., Breitschwerdt E.B. 1992. Seroprevalence of babesiosis in greyhounds in Florida. JAVMA, 200(1), 47–50.

**Summary.** The study was carried out on 82 dogs with babesiosis and 20 healthy dogs – control group. The following elements were determined: RBC, Ht, Hgb, Hgb in serum, WBC, Plt. In comparison with literature, relatively seldom appearance of advanced anemia (12.20%) was found. However, constant changes were thrombocytopenia (98.80%) and the concentration of high hemoglobin in serum.

**Key words:** haemolysis, dogs, babesiosis