

Hiperaldosteronizm u psów z babeszjozą

Olga Gójska-Zygner^{1,2,3}, Wojciech Zygnier⁴

z Lecznicy Weterynaryjnej Teodor w Warszawie¹, Lecznicy Weterynaryjnej Morskie Oko w Warszawie², Całodobowej Kliniki Weterynaryjnej Elwet w Warszawie³ oraz Zakładu Parazytologii Katedry Nauk Przedklinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie⁴

Hyperaldosteronism in canine babesiosis

Gójska-Zygner O.^{1,2,3}, Zygnier W.⁴ Veterinary Surgery Teodor in Warsaw¹, Veterinary Surgery Morskie Oko in Warsaw², 24-hour Veterinary Clinic Elwet in Warsaw³, Division of Parasitology, Department of Preclinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW⁴

Hyperaldosteronism results from the excessive secretion of aldosterone, a mineralocorticoid hormone produced in zona glomerulosa of the adrenal glands. This leads to the abnormality of electrolyte metabolism. In dogs, cats and humans, aldosteronism may be primary or secondary. In primary hyperaldosteronism increased secretion of aldosterone is independent of the renin – angiotensin – aldosterone system, and the hormone is produced by endocrinologically active adrenal tumors (adenoma or adenocarcinoma). In secondary hyperaldosteronism, increased production and secretion of aldosterone is the result of stimulation of the renin – angiotensin – aldosterone system, which is activated by hypotension, hyponatremia or decreased renal perfusion. In canine babesiosis both hypotension and hyponatremia are observed. Moreover, histological renal changes typical for ischaemia and hypoxia were observed in dogs that did not survive babesiosis. In 2015 the authors of this article, as the first in the world, recognized hyperaldosteronism in canine babesiosis, and results of this study were published in *Veterinary Quarterly* (DOI: 10.1080/01652176.2014.981765). Here, we present physiology of the renin – angiotensin – aldosterone system, the proposed mechanism of hyperaldosteronism and resulted hypokalemia in canine babesiosis and diagnosis of hyperaldosteronism in diseased dogs. Important treatment indications were also made. According to these, aldosterone excess in canine babesiosis as a compensatory response to hypotension, should not be treated with drugs such as aldosterone antagonist (i.e. spironolactone), or angiotensin converting enzyme inhibitors (e.g. benazepril or enalapril). We strongly suggest that hypotension, as a factor of renin – angiotensin – aldosterone system activation, should be treated with intravenous fluids, and hypokalemia, as a consequence of hyperaldosteronism, requires potassium supplementation.

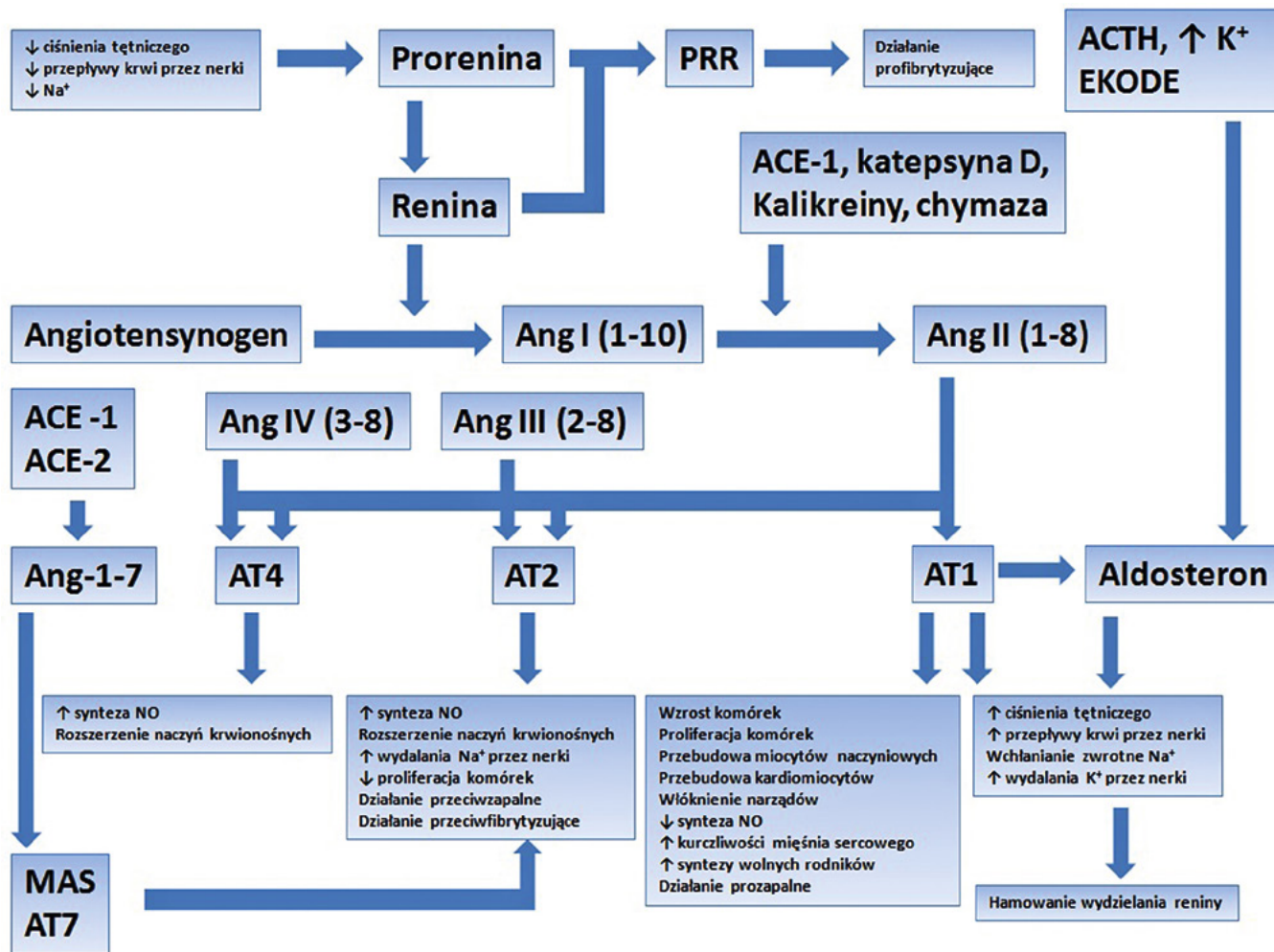
Keywords: aldosterone, angiotensin, canine babesiosis, hyperaldosteronism, hypokalemia, hypotension.

Babeszjoza jest przenoszona przez kleszcze pasożytniczą chorobą spowodowaną przez wewnątrzerytrocytarne pierwotniaki należące do rodzaju *Babesia*. Spośród zaliczanych do tego rodzaju ponad 100 gatunków u psów zarażenie powodować może co najmniej 6 z nich, takich jak: *B. canis*, *B. vogeli*, *B. rossi*, *B. gibsoni*, *B. conradae* i *B. vulpes* (1, 2, 3). Spośród tych gatunków w Polsce endemiczne inwazje u psów powoduje jedynie gatunek *B. canis*, którego wektorem i żywicielem ostatecznym jest kleszcz łąkowy *Dermacentor reticulatus* (4, 5, 6, 7, 8, 9). Przebieg inwazji u psów różni się może w zależności od gatunku pasożyta powodującego chorobę oraz statusu immunologicznego żywiciela. Występujący w Polsce gatunek pierwotniaka powoduje inwazje o umiarkowanym do ciężkiego

przebiegu. Główną rolę w patogenie babeszjozy odgrywa reakcja układu odpornościowego. W przebiegu choroby może dochodzić do rozwoju hemolizy zewnętrznej i wewnętrznej, zespołu uogólnionej reakcji zapalnej i zespołu niewydolności wielonarządowej, a choroba może się skończyć śmiercią zarażonego zwierzęcia (10, 11, 12). Ponadto u zarażonych psów na skutek postępującej choroby mogą rozwinąć się zaburzenia o podłożu endokrynologicznym, takie jak zespół niskiej T₃ spowodowany hamowaniem osi podwzgórze – przysadka – tarczyca, hiperkortyzolemia spowodowana aktywacją osi podwzgórze – przysadka – nadnercza oraz wtórny hiperaldosteronizm spowodowany aktywacją układu renina – angiotensyna – aldosteron (13, 14, 15, 16, 17, 18).

Układ renina – angiotensyna – aldosteron

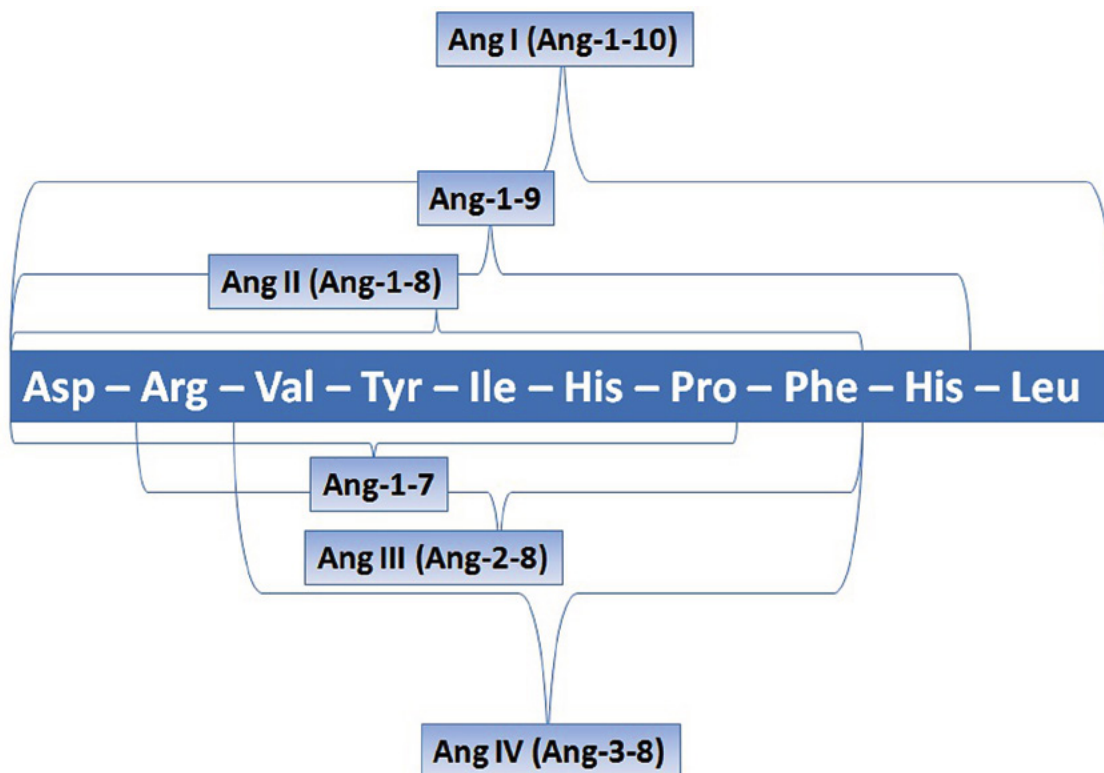
Hiperaldosteronizm jest chorobą, w przebiegu której dochodzi do nadmiernego uwalniania do krążenia aldosteronu, mineralokortykosteroidowego hormonu syntetyzowanego w warstwie kłębkowatej kory nadnerczy (19). Aldosteron powstaje z kortykosteronu (syntetyzowanego z deoksykortykosteronu) przy udziale enzymów 11 β -hydroksylazy i syntazy aldosteronu (18-hydroksylazy). Hormon ten może być również syntetyzowany w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych, komórkach śródbłonna naczyń oraz kardiomiocytach. Ponadto aldosteron najprawdopodobniej syntetyzowany jest również w nerkach i mózgu (zwłaszcza na terenie hipokampu i mózdzku), na co wskazuje wykrycie w tych narządach enzymów 11 β -hydroksylazy i syntazy aldosteronu (20, 21, 22). Produkcja i wydzielanie tego hormonu regulowane są głównie przez system renina – angiotensyna – aldosteron (RAA, głównego regulatora w organizmie ciśnienia tętniczego krwi i gospodarki wodno-elektrolitowej; ryc. 1), którego aktywatorem są: obniżenie ciśnienia tętniczego krwi i obniżenie przepływu krwi przez nerki oraz obniżenie stężenia jonów sodu w osoczu krwi. Ponadto, niezależnie od systemu RAA, produkcja i wydzielanie aldosteronu mogą być stymulowane: wzrostem stężenia jonów potasu w osoczu krwi, działaniem uwalnianego z przysadki hormonu adrenokortykotropowego (ACTH) oraz działaniem epoksy-keto pochodnej kwasu linolowego (kwasu 12,13-epoksy-9-keto-10(trans)-oktadekadienowego) będącej wytwarzanym w trzewnej tkance tłuszczowej hormonem określanym skrótem EKODE (20, 23, 24, 25). Wydzielanie reniny w aparacie przykłębuszkowym nefronu regulowane jest za pośrednictwem: baroreceptorów w tętniczkach doprowadzających krew do kłębuszków nerkowych, zmian w stężeniu jonów chlorkowych dostarczanych do komórek płamki gęstej w kanalikule



Ryc. 1. Układ renina – angiotensyna – aldosteron: PRR – receptor proreninowo-reninowy, ACTH – hormon adrenokortykotropowy, EKODE – kwas 12,13-epoksy-9-keto-10(trans)-oktadekadienowy, ACE-1 – konwertaza typu 1 angiotensyny, ACE-2 – konwertaza typu 2 angiotensyny, Ang I (1-10) – angiotensyna I, Ang II (1-8) – angiotensyna II, Ang III (Ang-2-8) – angiotensyna III, Ang IV (Ang-3-8) – angiotensyna IV, Ang-1-7 – angiotensyna-1-7, AT1 – receptor angiotensyny typu 1, AT2 – receptor angiotensyny typu 2, AT4 – receptor angiotensyny typu 4, AT7 – receptor angiotensyny typu 7, MAS – receptor MAS, NO – tlenek azotu (piśmiennictwo w tekście)

dalszym nefronu, układu współczulnego poprzez receptory β -1 adrenergiczne oraz działania angiotensyny II na komórki aparatu przykłębuszkowego (26, 27). Renina jest enzymem powstającym w komórkach aparatu przykłębuszkowego z proreniny na skutek odcięcia od strony N-końca tego proenzymu 43-aminokwasowego polipeptydu (aktywacja proteolityczna). Ponadto renina może być również aktywowana drogą nieproteolityczną przez: konformację proreniny prowadzącą do odsłonięcia centrum katalitycznego enzymu, obniżenie pH oraz w ograniczonym stopniu przez obniżenie temperatury (23, 26). Renina prawdopodobnie powstaje również w gonadach, mózgu, gałkach ocznych i nadnerczach, a według niektórych źródeł może powstawać także w trzewnej tkance tłuszczowej, mięśniu sercowym i naczyniach krwionośnych (26, 28). Według innych źródeł jedynym miejscem powstawania reniny są nerki, natomiast wymienione narządy są miejscem powstawania proreniny (29). Uwalniana do przestrzeni pozakomórkowej renina przekształca angiotensynogen (453-aminokwasowe glikozylowane białko) do peptydu angiotensyny I (ryc. 2). Głównym źródłem angiotensynogenu jest wątroba, skąd uwalniany on jest na stałym poziomie, jednakże jego synteza może być

nasiloną na skutek działania glikokortykosteroidów, estrogenów, hormonów tarczycy oraz cytokin prozapalnych takich jak interleukina 1 (IL-1) i czynnik martwicy nowotworu alfa (TNF- α). Angiotensyna I jest nieaktywnym biologicznie deka-peptydem (angiotensyna-1-10), który następnie jest przekształcany do aktywnego oktapeptydu angiotensyny II (angiotensyna-1-8) za pośrednictwem obecnego na powierzchni komórek śródbłonka naczyń enzymu konwertującego angiotensynę typu 1 (konwertaza typu 1 angiotensyny; ACE-1) przez odcięcie dipeptydu od strony C-końca (23, 26). Narządami zawierającymi największe ilości tego enzymu są płuca, jądra i nerki. Ponadto enzym ten w niewielkiej ilości obecny jest również we krwi krążącej. Efektem działania tego enzymu jest wzrost ciśnienia tętniczego krwi (30). Powstająca na skutek działania ACE-1 angiotensyna II działa na receptory dla angiotensyny typu 1 (AT1), które obecne są w naczyniach krwionośnych, nerkach, korze nadnerczy i współczulnym układzie nerwowym. Aktywacja receptorów AT1 powoduje skurcz tętnic oraz wchłanianie zwrotne sodu w kanalikach bliższych nefronu, w efekcie czego wzrasta ciśnienie tętnicze krwi, w tym również zwiększony jest przepływ krwi przez nerki.



Ryc. 2. Angiotensyny: Ang I (Ang-1-10) – angiotensyna I, Ang-1-9 – angiotensyna-1-9, Ang II (Ang-1-8) – angiotensyna II, Ang-1-7 – angiotensyna-1-7, Ang III (Ang-2-8) – angiotensyna III, Ang IV (Ang-3-8) – angiotensyna IV, Asp – kwas asparaginowy, Arg – arginina, Val – walina, Tyr – tyrozyna, Ile – izoleucyna, His – histydyna, Pro – prolina, Phe – fenyloalanina, Leu – leucyna. Według Chappell (34)

Efekt ten jest zwiększony przez działanie angiotensyny II na receptory AT₁ w korze nadnerczy, która stymuluje produkcję i wydzielanie aldosteronu. Poprawa przepływu krwi przez nerki działa z kolei hamująco na wydzielanie reniny. Ponadto działanie angiotensyny II na receptory AT₁ stymuluje wzrost komórek i ich proliferację poprzez stymulację czynników wzrostowych (np. transformujący czynnik wzrostowy beta 1; TGF- β 1), które pobudzają syntezę macierzy pozakomórkowej, przebudowę miocytów naczyniowych i kardiomiocytów oraz prowadzą do włóknienia narządów. Aktywacja receptora AT₁ powoduje również obniżenie syntezy tlenu azotu, stymulację kurczliwości mięśnia sercowego oraz w stanach zapalnych zwiększenie syntezy wolnych rodników tlenowych (23, 26, 27, 28).

Rolą aldosteronu jest utrzymanie właściwych stężeń sodu i potasu w przestrzeni pozakomórkowej, a poprzez to utrzymanie prawidłowej objętości płynów pozakomórkowych. Aldosteron działa poprzez wewnątrzkomórkowy receptor mineralokortykosteroidowy obecny w komórkach kanalików dalszych nefronu, mózgu, okrężnicy, ślinianek i mięśnia sercowego (20, 22). Efektem działania aldosteronu w kanalikach nerkowych jest wchłanianie zwrotne sodu i wody oraz zwiększone wydalanie jonów potasu i wodorowych wraz z moczem (19, 22, 26). Wydzielanie aldosteronu regulowane jest przez sprzężenia zwrotne ujemne: wspomniane wcześniej hamowanie wydzielania reniny na skutek poprawy przepływu krwi przez nerki oraz obniżenie stężenia potasu w przestrzeni pozakomórkowej (31). Ponadto wydzielanie aldosteronu hamowane jest przez dopaminę oraz przedsionkowy peptyd natriuretyczny (32).

Angiotensyny i receptory dla angiotensyn

Angiotensyna II oprócz działania na receptory AT₁ działa również na receptory AT₂ i AT₃. Rola receptora AT₃ nie jest znana. Działanie natomiast angiotensyny II na receptor AT₂ stymuluje syntezę tlenu azotu, prowadzi do rozszerzenia naczyń krwionośnych, zwiększa wydalanie sodu przez nerki oraz hamuje proliferację komórek. W ten sposób receptory AT₂ stanowią pewien element równowagi w układzie RAA, który ma zapobiegać negatywnym skutkom aktywacji tego układu (26, 27, 33).

Nieaktywna angiotensyna I (angiotensyna-1-10) może być również przekształcona do angiotensyny-1-9 na skutek działania konwertazy typu 2 angiotensyny (ACE-2; enzymu obecnego w błonach komórkowych miocytów, śródbłonna naczyń nerkowych, jądrach oraz komórkach kanalików nerkowych), natomiast angiotensyna-1-9 na skutek działania ACE-1 przekształcana jest do angiotensyny-1-7, która może również powstawać za pośrednictwem ACE-2 z angiotensyny II. Ponadto angiotensyna-1-7 może powstawać przy udziale wytwarzanej w rąbku szczoteczkowym kanalików bliższych nefronu endopeptydazy neprylizyny. Angiotensyna-1-7 działa na receptory MAS oraz receptory AT₇, za pośrednictwem których prowadzi do rozszerzenia naczyń krwionośnych i zwiększenia wydalania sodu wraz z moczem, a zatem jest to działanie odwrotne do działania angiotensyny II na receptory AT₁, natomiast zgodne z działaniem angiotensyny II na receptory AT₂ (23, 26, 27, 34). Oprócz wymienionych wyżej typów angiotensyn (1-10, 1-8, 1-9 i 1-7) w organizmie mogą powstawać również: angiotensyna III (angiotensyna-2-8), angiotensyna IV (angiotensyna-3-8) oraz

Tabela 1. Lokalizacja receptorów dla angiotensyny w organizmie. Według Kuśmirowska i wsp. (36) oraz Chappell (34)

Receptor dla angiotensyny	Angiotensyna wiążąca się z receptorem	Lokalizacja w organizmie
AT1	Ang II, Ang IV	Komórki śródbłonka naczyń krwionośnych, mięśni gładkich, fibroblasty, monocyty, mózg, kora nadnerczy
AT2	Ang II, Ang III	Nerki, nadnercza, mózg, tkanki płodowe
AT4 (IRAP)	Ang IV	Serce, nerki, naczynia krwionośne, kora nadnerczy, mózg
AT7	Ang-1-7	Nerki (kanaliki bliższe nefronu, grube ramię wstępujące pętli Henlego)
MAS	Ang-1-7	Nerki (kanaliki bliższe nefronu, kanaliki zbiorcze), mózg, komórki śródbłonka naczyń krwionośnych

Ang II – angiotensyna II, Ang III – angiotensyna III, Ang IV – angiotensyna IV, Ang-1-7 – angiotensyna-1-7.

angiotensyna-1-12. Angiotensyna III jest głównym agonistą receptorów AT₂, powstaje z angiotensyny II przy udziale enzymu aminopeptydazy A, natomiast angiotensyna IV łączy się z receptorami AT₄, stymulując syntezę tlenu azotu i prowadząc w ten sposób do rozszerzenia naczyń krwionośnych (26, 35). Angiotensyna IV może powstawać dwiema drogami: bezpośrednio z angiotensyny II na skutek działania enzymu dipeptydylo-peptydazy 4 lub z angiotensyny III na skutek działania enzymu aminopeptydazy N (34). Wspomniany receptor AT₄ nie jest typowym receptorem, lecz jest to błonowy enzym – aminopeptydaza regulowana insuliną (IRAP, insulin-regulated aminopeptidase), dla którego ligandami są wazopresyna, oksytocyna oraz niektóre neuropeptydy takie jak dynorfina A, met-enkefalina, neurokinina A oraz neuromedina. Związanie angiotensyny IV z enzymatycznym receptorem AT₄ powoduje jego dezaktywację, co z kolei prowadzi do przedłużenia działania wymienionych ligandów dla tego receptora (26, 27, 33, 36). Niektóre badania wskazują, że angiotensyna IV może również reagować z receptorami AT₁, dając podobny efekt jak angiotensyna II (34). Wyizolowana w 2006 r. angiotensyna-1-12 powstaje najprawdopodobniej niezależnie od reniny. Pomimo wykrycia tego peptydu głównie w tkankach zawierających angiotensynę II badania wskazują, że angiotensyna-1-12 może być przekształcana nie tylko do angiotensyny II, ale również do angiotensyny-1-7 (34). Lokalizację receptorów dla angiotensyn przedstawiono w tabeli 1.

Alternatywna droga aktywacji angiotensyny II oraz receptor (pro)reninowy

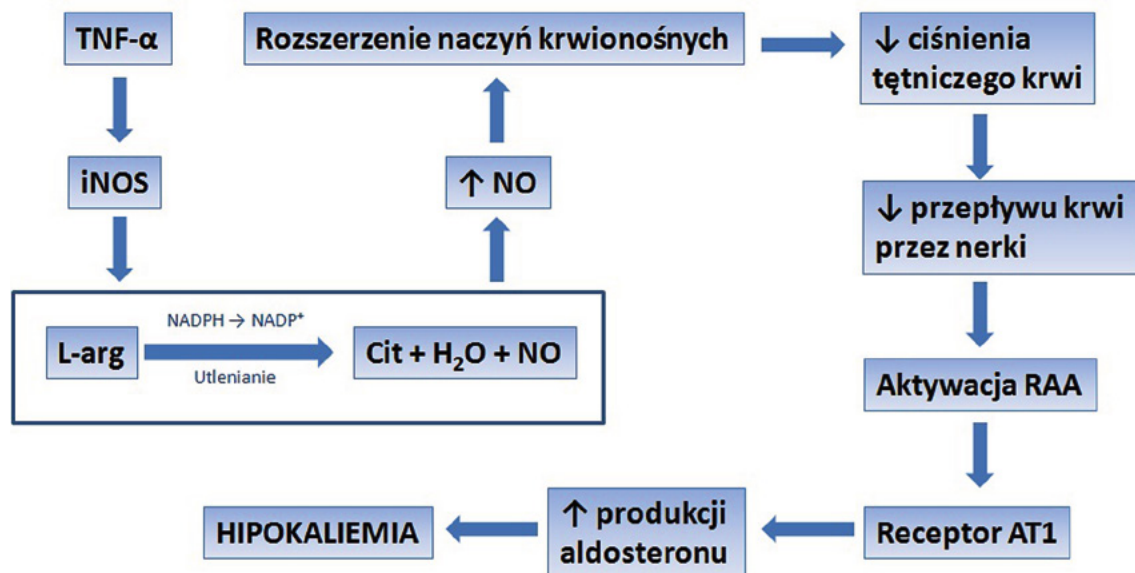
Omawiając układ RAA, należy również wspomnieć o alternatywnej drodze powstawania angiotensyny II oraz o receptorach komórkowych dla reniny i proreniny. Angiotensyna II może powstawać nie tylko na skutek działania ACE-1, ale również za pośrednictwem innych enzymów proteolitycznych (chymaza, katepsyna D oraz kalikreiny), spośród których na szczególną uwagę zasługuje chymaza z powodu wysokiej swoistości względem substratu reakcji (angiotensyny I). Enzym ten należy do grupy proteaz serynowych, a produkowany jest w ścianach naczyń krwionośnych oraz przez komórki tuczne. Chymaza podobnie jak ACE-1 prowadzi do przekształcenia angiotensyny I w angiotensynę II, prowadząc w ten sposób do wystąpienia wszystkich konsekwencji aktywacji układu RAA (37).

Istnienie receptora dla reniny postulowano już 30 lat temu, sklonowanie jednak receptora dla proreniny/

reniny PRR ((pro)renin receptor) udało się dopiero w 2002 r. (38). Z receptorem tym wiąże się zarówno renina, jak i prorenina, a do komórki przekazywany jest sygnał. Wykazano obecność tego receptora w komórkach kanalików dalszych nefronu. Nie jest do końca jasne, jaką rolę odgrywa PRR. Najprawdopodobniej receptor ten ma swój udział w patogenezie chorób nerek i serca. Aktywacja PRR, powodując aktywację szlaku sygnalizacyjnego MAK (mitogen activated kinases) niezależnie od angiotensyny II, prowadzi do wzrostu produkcji TGF- β , PAI-1 (inhibitora tkankowego aktywatora plazminogenu typu 1), fibronektyny i kolagenu, wykazując w ten sposób działanie sprzyjające włóknieniu (23, 34, 38). Wiadomo również o istnieniu innego białka komórkowego, dla którego ligandem są prorenina i renina. Białko to określane jest jako receptor mannozo-6-fosforanowy i insulinopodobnego czynnika wzrostu 2 (MG-P/IGF2R), który po związaniu ligandu ulega biodegradacji, dlatego też nazywany jest receptorem klirensującym reninę i proreninę (23). Uznając zatem, że hormonem jest substancja chemiczna wydzielana do krwi i transportowana wraz z krwią do innych tkanek, w których wykazuje swoje działanie w niskich stężeniach poprzez przekazywanie sygnału za pośrednictwem receptorów, można ostrożnie przyjąć za Perssonem (39), że renina i prorenina to nie tylko enzym i proenzym, ale być może również hormony (40).

Hiperaldosteronizm u psów

U psów, podobnie jak u ludzi, występować może hiperaldosteronizm pierwotny lub wtórny (19, 41). Pierwotny hiperaldosteronizm, określane również jako zespół Conna lub gruczolak Conna, opisany został po raz pierwszy w literaturze międzynarodowej w 1955 r. przez amerykańskiego lekarza Jerome'a W. Conna (1907–1994). Natomiast pierwsze dwa przypadki pierwotnego hiperaldosteronizmu na świecie zostały opublikowane po polsku przez polskiego lekarza Michała Lityńskiego w Polskim Tygodniku Lekarskim w 1953 r. Zaproponowana przez polskich lekarzy na forum międzynarodowym nazwa zespół Lityńskiego-Conna jednak nie weszła do powszechnego obiegu (42, 43, 44). Pierwotny hiperaldosteronizm spowodowany jest aktywnym hormonalnie guzem nadnerczy (gruczolak lub gruczolakorak) wydzielającym aldosteron niezależnie od działania układu RAA, co skutkuje wystąpieniem wszystkich konsekwencji zwiększonego wydzielania tego hormonu (19). Zarówno u psów, jak i ludzi opisano również pojedyncze przypadki aktywnych hormonalnie



Ryc. 3. Proponowany przez autorów niniejszego artykułu mechanizm rozwoju wtórnego hiperaldosteronizmu u psów z babeszjozą: TNF- α – czynnik martwicy nowotworu alfa, iNOS – indukowalna syntaza tlenku azotu, L-arg – aminokwas L-arginina, NADPH/NADP⁺ – fosforan dinukleotydu nikotynamidoadeninowego (forma zredukowana i utleniona), Cit – aminokwas cytrulina, NO – tlenek azotu, RAA – układ renina – angiotensyna – aldosteron, AT1 – receptor typu 1 dla angiotensyny II (piśmiennictwo w tekście)

guzów nadnerczy wydzielających deoksykortykosteron będący prekursorem aldosteronu, wykazujących również działanie mineralokortykosteroidowe (45, 46, 47).

Z kolei wtórny hiperaldosteronizm rozwija się w wyniku stymulacji układu RAA na skutek obniżenia ciśnienia tętniczego krwi, zmniejszenia przepływu krwi przez nerki, odwodnienia oraz hiponatremii (19). Hiponatremia najczęściej związana jest z obniżeniem osmolalności osocza krwi i wystąpić może zarówno w przypadku hiponatrēmii, normonatrēmii, jak i hiperwolemii na skutek m.in. zaawansowanej niewydolności nerek, ciężkich chorób wątroby, zespołu Schwartz-Barttera, zapalenia trzustki, zapalenia otrzewnej czy choroby Addisona (32).

Hiperaldosteronizm u psów może prowadzić do wystąpienia: hipokaliemii (w skrajnych przypadkach, gdy stężenie K⁺ w surowicy <2 mEq/L, może wystąpić rądomioliza), hiperantremii, wzrostu ciśnienia tętniczego krwi, słabości mięśniowej, zasadowicy metabolicznej, arytmii, poliurii i polidypsji (19, 48, 49, 50).

Hiperaldosteronizm u psów z babeszjozą

U psów zarażonych pierwotniakami z rodzaju *Babesia* stwierdzono występowanie hipokaliemii u ponad 30% badanych zwierząt (51, 52, 53). W kolejnych badaniach autorzy niniejszego artykułu wykazali natomiast, że obniżenie stężenia jonów potasu w surowicy zarażonych psów wynika ze zwiększonego frakcyjnego wydalania potasu wraz z moczem (54). Wyniki te wskazywały na udział aldosteronu w rozwoju hipokaliemii u psów z babeszjozą. Ponadto brak wzrostu średnich wartości frakcyjnego wydalania sodu u psów zarażonych *B. canis* i *B. rossi*, pomimo uszkodzenia nerek u części z tych zwierząt, również wskazywał na wpływ aldosteronu na obniżenie wydalania sodu (54, 55). Kolejnym laboratoryjnym parametrem wskazującym na zwiększone wydzielanie aldosteronu u psów z babeszjozą był wzrost u zarażonych zwierząt stosunku ilorazu

stężeń sodu w surowicy i moczu do ilorazu kwadratu stężeń potasu w surowicy i stężeń potasu w moczu, określane w skrócie jako SUSPPUP (54).

Dalsze badania wykazały, że przyczyną prawdopodobnego hiperaldosteronizmu u psów z babeszjozą może być obniżenie ciśnienia tętniczego krwi, które obserwowano u psów zarażonych pierwotniakami z rodzaju *Babesia* (12, 56, 57). W 2014 r. autorzy niniejszego artykułu wraz ze współpracownikami opublikowali pracę, w której wykazali po raz pierwszy na świecie, że za obniżenie ciśnienia tętniczego krwi u psów zarażonych pierwotniakami z rodzaju *Babesia* odpowiada zwiększona produkcja cytokiny prozapalnej TNF- α (58). W oparciu o wyniki tych badań oraz wcześniejsze prace, w których wykazano wzrost stężenia metabolitów tlenku azotu we krwi psów zarażonych *B. rossi* oraz zmiany histopatologiczne w kanalikach bliższych nefronu wskazujących na niedokrwienie i niedotlenienie nerek u psów zarażonych *B. canis* (59, 60), autorzy niniejszego artykułu zaproponowali hipotezę (18, 58), według której u zarażonych psów cytokina TNF- α , aktywując śródbłonkowy enzym, indukowalną syntazę tlenku azotu, prowadzi do nadprodukcji tlenku azotu (61, 62, 63), który z kolei, powodując rozszerzenie naczyń krwionośnych, przyczynia się do obniżenia ciśnienia tętniczego krwi i obniżenia przepływu krwi przez nerki (ryc. 3). W konsekwencji tych zmian dochodzi do aktywacji układu renina – angiotensyna – aldosteron i dalszych konsekwencji wtórnego hiperaldosteronizmu (18). Ponadto w aktywacji układu RAA i w konsekwencji rozwoju wtórnego hiperaldosteronizmu u zarażonych psów może brać również udział obserwowana u 25 do 60% zarażonych psów hiponatremia (51, 52, 53).

W 2015 r. autorzy niniejszego artykułu jako pierwsi na świecie wykazali występowanie wtórnego hiperaldosteronizmu u psów z babeszjozą (18). Ponadto w tych badaniach wykazano u psów zarażonych *B. canis* związek pomiędzy wzrostem stężenia aldosteronu a obniżeniem

ciśnienia tętniczego krwi oraz rozwojem azotemii i hipokaliemii (18). Wyniki te potwierdziły zaproponowaną przez autorów hipotezę rozwoju hiperaldosteronizmu u zarażonych zwierząt oraz wyjaśniły przyczynę hipokaliemii i braku średniego wzrostu frakcyjnego wydalania sodu u psów z babeszjozą pomimo rozwoju niewydolności nerek w przebiegu tej choroby.

Rozpoznanie hiperaldosteronizmu u psów z babeszjozą

Według autorów wystąpienie hiperaldosteronizmu u psów z babeszjozą należy podejrzewać we wszystkich przypadkach rozwoju hipokaliemii u zarażonych zwierząt. Oznaczenie stężenia aldosteronu w surowicy pozwala na potwierdzenie hiperaldosteronizmu u psów. Jednakże aldosteron w surowicy psów oznaczany jest za pomocą metody radioimmunologicznej, co powoduje, że badanie to jest kosztowne, choć dostępne w diagnostyce komercyjnej w Polsce (18). Ze względu jednak na koszty oraz co najmniej kilkudniowy czas oczekiwania na wynik badania (materiał wysyłany przez pośrednika za granicę) oznaczenie to rzadko jest wykonywane.

W przypadku ograniczeń finansowych właściciela psa wpływających na decyzję o rezygnacji z badania stężenia aldosteronu można określić inne, znacznie tańsze i łatwo dostępne parametry. Pierwszym z nich jest pomiar ciśnienia tętniczego krwi, który i tak w wielu przypadkach jest wykonywany. Obniżenie tego ciśnienia wskazywać może na stymulację układu RAA. Jednakże u zarażonych psów na skutek działania układu RAA ciśnienie tętnicze krwi może być prawidłowe lub nawet podwyższone. Ponadto inne czynniki powodujące stres u zwierzęcia również mogą wpływać na wynik pomiaru. W związku z tym w diagnostyce hiperaldosteronizmu u psów z babeszjozą należy również uwzględnić parametry laboratoryjne, takie jak stężenie mocznika, kreatyniny i potasu w surowicy, frakcyjne wydalanie potasu oraz SUSPPUP (18, 54, 58).

Azotemia u psów z babeszjozą wskazywać może na obniżenie przepływu krwi przez nerki, co jest czynnikiem aktywującym układ RAA. Z kolei wzrost frakcyjnego wydalania potasu związany jest z hipokaliemią i wskazuje na straty tego jonu wraz z moczem.

$$FE(K^+) = U(K^+)/S(K^+) \times S(Cr)/U(Cr) \times 100 \%$$

$$SUSPPUP = S(Na^+)/U(Na^+) \div S(K^+)^2/U(K^+)$$

Ryc. 4. Wzory obliczania frakcyjnego wydalania potasu i parametru SUSPPUP.

FE(K⁺) – frakcyjne wydalanie potasu, U(K⁺) – stężenie potasu w moczu, S(K⁺) – stężenie potasu w surowicy, S(Cr) – stężenie kreatyniny w surowicy, U(Cr) – stężenie kreatyniny w moczu, SUSPPUP – stosunek ilorazu stężeń sodu w surowicy i moczu do ilorazu kwadratu stężenia potasu w surowicy i stężenia potasu w moczu, S(Na⁺) – stężenie sodu w surowicy, U(Na⁺) – stężenie sodu w moczu. Według Waldrop (64) oraz Willenberg i wsp. (65)

Frakcyjne wydalanie potasu obliczane jest ze stężeń potasu i kreatyniny w moczu i surowicy, a wartości u zdrowych psów mieściły się w przedziale 2,0–8,48% (54, 64) (ryc. 4). Z kolei SUSPPUP jest obok SUSPUP (stosunek ilorazu stężeń sodu w surowicy i moczu do ilorazu stężeń potasu w surowicy i moczu) parametrem użytecznym we wstępnej diagnostyce zwiększonej produkcji i wydzielania mineralokortykosteroidów u ludzi (65). Parametr SUSPPUP obliczano również u psów z babeszjozą i stwierdzono jego wzrost w porównaniu ze zdrowymi psami, u których mieścił się w przedziale 2,69–4,42 (mEq/L)⁻¹ (54). Do obliczenia tego parametru należy oznaczyć stężenia sodu i potasu w surowicy i moczu (ryc. 4).

Leczenie

Rozwijający się u psów z babeszjozą hiperaldosteronizm stanowi mechanizm obronny przed konsekwencjami nadprodukcji cytokiny prozapalnej TNF-α w postaci spadku ciśnienia tętniczego krwi i obniżenia przepływu krwi przez nerki. Dotychczasowe badania nad hiperaldosteronizmem u psów zarażonych pierwotniakami z rodzaju *Babesia* wskazują jednak, że mechanizm ten jest (przynajmniej w części przypadków) niewystarczający (18). Nie można wykluczyć, że mają w tym swój udział mechanizmy kompensujące działanie układu RAA takie jak działanie angiotensyny III, IV i 1–7 poprzez receptory AT₂, AT₄, AT₇ i MAS stymulujące uwalnianie tlenu azotu, co prowadzi do redukcji oporu naczyniowego i w konsekwencji do obniżenia ciśnienia tętniczego krwi (tabela 2).

Tabela 2. Mechanizmy redukujące działanie reniny i prereniny na receptor PRR, angiotensyn na receptor AT1 oraz aldosteronu na receptor mineralokortykosteroidowy (piśmiennictwo w tekście)

Mechanizm	Efekt działania
Sprężenie zwrotne ujemne układu RAA	Obniżenie wydzielania reniny
MG-P/IGF2R	Związanie i dezaktywacja reniny
AT4 (IRAP)	Wzrost syntezy NO, rozszerzenie naczyń krwionośnych
AT2	Wzrost syntezy NO, rozszerzenie naczyń krwionośnych, wzrost wydalania Na ⁺ przez nerki, hamowanie proliferacji komórek, działanie przeciwzapalne, działanie przeciwfibrtyzujące
AT7	
MAS	
Enzymy ACE-2, NEP, APA, DAP4, APN	Synteza angiotensyn: 1-7, 2-8, 3-8*

MG-P/IGF2R – receptor mannozo-6-fosforanowy i insulinopodobnego czynnika wzrostu 2, AT₂ – receptor angiotensyny typu 2, AT₄ (IRAP) – receptor angiotensyny typu 4 (aminopeptydaza regulowana insuliną), AT₇ – receptor angiotensyny typu 7, MAS – receptor MAS dla angiotensyny-1-7, ACE-2 – konwertaza typu 2 angiotensyny, NEP – neprylizyna, APA – aminopeptydaza A, DAP4 – dipeptydylopeptydaza 4, APN – aminopeptydaza N; *Angiotensyna IV (3-8) działa również na receptory AT1.

Według autorów u zarażonych psów nie jest wskazane leczenie hiperaldosteronizmu jako mechanizmu obronnego przez stosowanie takich leków jak spironolakton (antagonista aldosteronu) czy inhibitory ACE. Właściwym postępowaniem powinna być przede wszystkim próba usunięcia przyczyny aktywacji układu RAA (obniżone ciśnienie tętnicze krwi) oraz leczenie konsekwencji hiperaldosteronizmu w postaci hipokaliemii. W terapii zatem należy uwzględnić zastosowanie płynów zawierających potas podawanych drogą dożylną celem podniesienia ciśnienia krwi i suplementacji potasu oraz należy prowadzić stały monitoring stężenia tego elektrolitu w surowicy chorego psa. Obserwowana u zarażonych psów hipokaliemia była łagodna lub umiarkowana (18, 52, 53). Można zatem stosować niską dawkę potasu dodawanego do stosowanych w powolnych wlewach dożylnych płynów wynoszącą 5 mEq KCl na 250 mL płynu infuzyjnego (48). Ponadto w trakcie stosowania płynoterapii należy również kontrolować poziom glukozy we krwi, by nie pogłębić występującej u psów z babeszjozą hipoglikemii (66, 67). Należy też pamiętać, że niektóre leki stosowane w leczeniu wspomagającym części przypadków babeszjozy u psów, takie jak glikokortykosteroidy oraz diuretyki, również mogą wpływać na stężenie potasu we krwi (48, 68, 69, 70, 71).

Piśmiennictwo

- Irwin P.J.: Canine babesiosis. *Vet. Clin. North Am.: Small Anim. Pract.* 2010, **40**, 1141–1156.
- Kjemtrup A.M., Wainwright K., Miller M., Penzhorn B.L., Carreno R.A.: *Babesia conradae*, sp. Nov., a small canine *Babesia* identified in California. *Vet. Parasitol.* 2006, **138**, 103–111.
- Baneth G., Florin-Christensen M., Cardoso L., Schnitger L.: Reclassification of *Theileria annae* as *Babesia vulpes* sp. nov. *Parasite Vector* 2015, **8**, 207, DOI: 10.1186/s13071-015-0830-5.
- Sobczyk A.S., Kotowski G., Górski P., Wędrychowicz H.: Usefulness of touch-down PCR assay for the diagnosis of atypical cases of *Babesia canis canis* infections in dogs. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 2005, **49**, 407–410.
- Mierzejewska E.J., Pawelczyk A., Radkowski M., Welc-Fałęciak R., Bajer A.: Pathogens vectored by the tick, *Dermacentor reticulatus*, in endemic regions and zones of expansion in Poland. *Parasit Vector* 2015, **8**, 490, DOI: 10.1186/s13071-015-1099-4.
- Adaszek Ł., Martinez A.C., Winiarczyk S.: The factors affecting the distribution of babesiosis in dogs in Poland. *Vet. Parasitol.* 2011, **181**, 160–165.
- Adaszek Ł., Winiarczyk S.: Molecular characterization of *Babesia canis canis* isolates from naturally infected dogs in Poland. *Vet. Parasitol.* 2008, **152**, 235–241.
- Zygner W., Jaros S., Wędrychowicz H.: Prevalence of *Babesia canis*, *Borrelia afzelii*, and *Anaplasma phagocytophilum* infection in hard ticks removed from dogs in Warsaw (central Poland). *Vet. Parasitol.* 2008, **153**, 139–142.
- Zygner W., Górski P., Wędrychowicz H.: Detection of the DNA of *Borrelia afzelii*, *Anaplasma phagocytophilum* and *Babesia canis* in blood samples from dogs in Warsaw. *Vet. Rec.* 2009, **164**, 465–467.
- Irwin P.J.: Canine babesiosis: from molecular taxonomy to control. *Parasit. Vector* 2009, **2** (Suppl. 1), S4, DOI: 10.1186/1756-3305-2-S1-S4.
- Chauvin A., Moreau E., Bonnet S., Plantard O., Malandrin L.: *Babesia* and its hosts: adaptation to long-lasting interactions as a way to achieve efficient transmission. *Vet. Res.* 2009, **40**, 37, DOI: 10.1051/vetres/2009020.
- Matijatko V., Kiš I., Torti M., Brkljačić M., Kučer N., Barić Rafaj R., Grden D., Živičnjak T., Mrljak V.: Septic shock in canine babesiosis. *Vet. Parasitol.* 2009, **162**, 263–270.
- Schoeman J.P., Rees P., Herrtage M.E.: Endocrine predictors of mortality in canine babesiosis caused by *Babesia canis rossii*. *Vet. Parasitol.* 2007, **148**, 75–82.
- Schoeman J.P., Herrtage M.E.: The response of the pituitary-adrenal and pituitary-thyroidal axes to the plasma glucose perturbations in *Babesia canis rossii* babesiosis. *J. South Afr. Vet. Assoc.* 2007, **78**, 215–220.
- Schoeman J.P., Herrtage M.E.: Adrenal response to the low dose ACTH stimulation test and the cortisol-to-adrenocorticotrophic hormone ratio in canine babesiosis. *Vet. Parasitol.* 2008, **154**, 205–213.
- Zygner W., Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H.: Euthyroid sick syndrome in canine babesiosis caused by *Babesia canis*. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 2012, **56**, 525–527.
- Zygner W., Gójska-Zygner O., Bąska P., Długosz E.: Low T3 syndrome in canine babesiosis associated with increased serum IL-6 concentration and azotaemia. *Vet. Parasitol.* 2015, **211**, 23–27.
- Gójska-Zygner O., Zygner W.: Hyperaldosteronism and its association with hypotension and azotaemia in canine babesiosis. *Vet. Q.* 2015, **35**, 37–42.
- Harvey A.M., Refsal K.R.: Primary hiperaldosteronizm. W: Rand J.: *Clinical endocrinology of companion animals*. Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, 2013, 115–127.
- Hyla-Klekot L., Pulcer B., Kokot F.: Układ renina-angiotensyna-aldosteron – nowe aspekty patogenetyczne i lecznicze. Część 2. Aldosteron – ważny induktor szlaków patogenetycznych uszkażdających układ sercowo-naczyniowy i nerki. *Nadciśnienie Tętnicze*, 2007, **11**, 357–363.
- MacKenzie S.M., Clark C.J., Fraser R., Gómez-Sánchez C.E., Connell J.M., Davies E.: Expression of 11 β -hydroxylase and aldosterone synthase genes in the rat brain. *J. Mol. Endocrinol.* 2000, **24**, 321–328.
- Tan L.B., Schlosshan D., Barker D.: Fiftieth anniversary of aldosterone: from discovery to cardiovascular therapy. *Int. J. Cardiol.* 2004, **96**, 321–333.
- Hyla-Klekot L., Pulcer B., Kokot F.: Układ renina-angiotensyna-aldosteron – nowe aspekty patogenetyczne i lecznicze. Część 1. Prorenina-renina i jej receptory, konwertaza 2 angiotensyny-1-10, angiotensyna-1-7 i jej receptor, trzewna tkanka tłuszczowa jako źródło syntezy ogniw układu RAA. *Nadciśnienie Tętnicze*, 2007, **11**, 242–247.
- Goodfriend T.L., Ball D.L., Egan B.M., Campbell W.B., Nithipatikom K.: Epoxy-keto derivative of linoleic acid stimulates aldosterone secretion. *Hypertension*, 2004, **43**, 358–363.
- Greco D.S., Stabenfeldt G.H.: Endocrine glands and their function. W: Cunningham J.G., Klein B.G.: *Textbook of veterinary physiology*. 4th ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, 2007, 428–464.
- Atlas S.A.: The renin-angiotensin aldosterone system: Pathophysiological role and pharmacologic inhibition. *J. Manag. Care Pharm.*, 2007, **13** (8 Suppl. B), S9–S20.
- Chaszczewska-Markowska M., Sagan M., Bogunia-Kubik K.: Układ renina-angiotensyna-aldosteron (RAA) – fizjologia i molekularne mechanizmy funkcjonowania. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2016, **70**, 917–927.
- Kokot F., Hyla-Klekot L.: Układ reninowo-angiotensynowo-aldosteronowy (RAA) wczoraj i dziś. *Nefrologia i Dializoterapia Polska*, 2008, **12**, 181–185.
- Danser A.H.J.: The role of the (pro)renin receptor in hypertensive disease. *Am. J. Hypertens.* 2015, **28**, 1187–1196.
- Gonzalez-Villalobos R.A., Shen X.Z., Bernstein E.A., Janjulia T., Taylor B., Giani J.F., Blackwell W.L., Shah K.H., Shi P.D., Fuchs S., Bernstein K.E.: Rediscovering ACE: novel insights into the many roles of the angiotensin-converting enzyme. *J. Mol. Med.* 2013, **91**, 1143–1154.
- Fuller P.J.: Adrenal diagnostics: an endocrinologist's perspective focused on hyperaldosteronism. *Clin. Biochem. Rev.* 2013, **34**, 111–116.
- DiBartola S.P.: Disorders of sodium and water: hyponatremia and hyponatremia. W: DiBartola S.P. (ed.): *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice*. 3rd ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, 2006, 47–79.
- Carey R.M.: Update on angiotensin AT₂ receptors. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2017, **26**, 91–96.
- Chappell M.C.: Nonclassical renin-angiotensin system and renal function. *Compreh. Physiol.* 2012, **2**, 2733–2752.
- Padia S.H., Kemp B.A., Howell N.L., Fournie-Zaluski M.C., Roques B.P., Carey R.M.: Conversion of renal angiotensin II to angiotensin III is critical for AT₂ receptor-mediated natriuresis in rats. *Hypertension*, 2008, **51**, 460–465.
- Kuśmirowska K., Kowalski A., Rębas E.: Angiotensyny jako neuro-modulatory. *Post. Bioch.* 2012, **58**, 478–484.
- Paul M., Poyan Mehr A., Kreutz R.: Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiol. Rev.* 2006, **86**, 747–803.
- Nguyen G., Muller D.N.: The biology of the (pro)renin receptor. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2010, **21**, 18–23.
- Persson P.B.: Renin: origin, secretion and synthesis. *J. Physiol.* 2003, **552**, 667–671.
- Reimers T.J.: Introduction. W: Pineda M.H., Dooley M.P.: *McDonald's veterinary endocrinology and reproduction*. 5th ed. Blackwell Publishing, Ames, Iowa, 2003, 1–15.

41. Słowińska-Srzednicka J., Kruszyńska A.: Wpływ hiperaldosteronizmu na układ sercowo-naczyniowy. *Post. Nauk. Med.* 2012, **25**, 872–875.
42. Marcinkowski T.: Conn's syndrome or Lityński-Conn syndrome? *Materia Medica Polona*, 1992, **24**, 126–127.
43. Kucharz E.J.: Michał Lityński, a forgotten author of the first description of primary hyperaldosteronism. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2007, **117**, 1–2.
44. Kuzior A., Niveló-Rivadeneira M., Santana-Suarez A.D., Arnas-Leon C., Acosta-Calero C., Quintana-Arroyo S., Martín-Perez M., Martínez-Martin F.J.: Short-term contralateral recurrence of a Lityński-Conn adenoma. *Endocrine Abstracts* 2017, **49**, EP193, DOI: 10.1530/endoabs.49.EP193.
45. Gójska-Zygner O., Lechowski R., Zygnier W.: Functioning unilateral adrenocortical carcinoma in a dog. *Can. Vet. J.* 2012, **53**, 623–625.
46. Kondo K., Saruta T., Saito I., Yoshida R., Maruyama H., Matsuki S.: Benign desoxycorticosterone-producing adrenal tumor. *J. Am. Med. Assoc* 1976, **236**, 1042–1044.
47. Reine N.J., Hohenhaus A.E., Peterson M.E., Patnaik A.K.: Deoxycorticosterone secreting adrenocortical carcinoma in a dog. *J. Vet. Intern. Med.* 1999, **13**, 386–390.
48. DiBartola S.P., de Morais H.A.: Disorders of potassium: hypokalemia and hyperkalemia. W: DiBartola S.P. (ed.): *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice*. 3rd ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, 2006, 91–121.
49. De Morais H.A., Constable P.D.: Strong ion approach to acid-base disorders. W: DiBartola S.P. (ed.): *Fluid, electrolyte, and acid-base disorders in small animal practice*. 3rd ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri, 2006, 310–321.
50. Gójska-Zygner O., Lechowski R.: Zespól Conna u psów. *Życie Wet.* 2013, **88**, 1019–1023.
51. Leisewitz A.L., Jacobson L.S., De Morais H.S.A., Reyers F.: The mixed acid–base disturbances of severe canine babesiosis. *J. Vet. Intern. Med.* 2001, **15**, 445–452.
52. Adaszek Ł., Górna M., Winiarczyk S.: Electrolyte level and blood pH in dogs infected by various 18S RNA strains of *Babesia canis canis* on the early stage of babesiosis. *Berl. Münch Tierärztl Wochenschr* 2012, **125**, 45–51.
53. Zygnier W., Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H.: Strong monovalent electrolyte imbalances in serum of dogs infected with *Babesia canis*. *Ticks Tick-borne Dis.* 2012, **3**, 107–113.
54. Zygnier W., Gójska-Zygner O., Wędrychowicz H.: Changes in the SUSPPUP ratio and fractional excretion of strong monovalent electrolytes in hospitalized dogs with canine babesiosis. *Pol. J. Vet. Sci.* 2012, **15**, 791–792.
55. Lobetti R.G., Jacobson L.S.: Renal involvement in dogs with babesiosis. *J. South Afr. Vet. Assoc.* 2001, **72**, 23–28.
56. Jacobson L.S., Lobetti R.G., Vaughan-Scott T.: Blood pressure changes in dogs with babesiosis. *J. South Afr. Vet. Assoc.* 2000, **71**, 14–20.
57. Zygnier W., Gójska-Zygner O.: Association between decreased blood pressure and azotaemia in canine babesiosis. *Pol. J. Vet. Sci.* 2014, **17**, 173–175.
58. Zygnier W., Gójska-Zygner O., Bąska P., Długosz E.: Increased concentration of serum TNF alpha and its correlations with arterial blood pressure and indices of renal damage in dogs infected with *Babesia canis*. *Parasitol. Res.* 2014, **113**, 1499–1503.
59. Jacobson L.S., Lobetti R.G., Becker P., Reyers F., Vaughan-Scott T.: Nitric oxide metabolites in naturally occurring canine babesiosis. *Vet. Parasitol.* 2002, **104**, 27–41.
60. Máthé A., Dobos-Kovács M., Vörös K.: Histological and ultrastructural studies of renal lesions in *Babesia canis* infected dogs treated with imidocarb. *Acta Vet. Hung.* 2007, **55**, 511–523.
61. Wang H., Czura C.J., Tracey K.J.: Tumor necrosis factor. W: Thomson A.W., Lotze M.T. (eds): *The Cytokine handbook*. Vol. 2. 4th ed. Academic Press, An Imprint of Elsevier Science, London, 2003, 837–860.
62. Lowenstein C.J., Padalko E.: iNOS (NOS2) at a glance. *J. Cell. Sci.* 2004, **117**, 2865–2867.
63. Andrew P.J., Mayer B.: Enzymatic function of nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res.* 1999, **43**, 521–531.
64. Waldrop J.E.: Urinary electrolytes, solutes, and osmolality. *Vet. Clin., North Am., Small Anim. Pract.* 2008, **38**, 503–512.
65. Willenberg H.S., Kolentini C., Quinkler M., Cupisti K., Krausch M., Schott M., Scherbaum W.A.: The serum sodium to urinary sodium to (serum potassium)² to urinary potassium (SUSPPUP) ratio in patients with primary aldosteronism. *Eur. J. Clin. Invest.* 2009, **39**, 43–50.
66. Keller N., Jacobson L.S., Nel M., de Clerq M., Thompson P.N., Schoeman J.P.: Prevalence and risk factors of hypoglycemia in virulent canine babesiosis. *J. Vet. Intern. Med.* 2004, **18**, 265–270.
67. Zygnier W., Rapacka G., Gójska-Zygner O., Długosz E., Wędrychowicz H.: Biochemical abnormalities observed in serum of dogs infected with large *Babesia* in Warsaw (Poland). *Pol. J. Vet. Sci.* 2007, **10**, 245–253.
68. Adaszek Ł., Winiarczyk S., Skrzypczak M.: The clinical course of babesiosis in 76 dogs infected with protozoan parasites *Babesia canis canis*. *Pol. J. Vet. Sci.* 2009, **12**, 81–87.
69. Irwin P.: Babesiosis and cytauxzoonosis. W: Shaw S.E., Day M.J. (eds): *Arthropod-borne infectious diseases of the dog and cat*. Manson Publishing Ltd, London 2005, 63–77.
70. Plumb D.C.: *Plumb's veterinary drug handbook*. Blackwell Publishing, Ames 2008.
71. Taboada J., Lobetti R.: Babesiosis. W: Greene C.E.: *Infectious diseases of the dog and cat*. 3rd ed. Saunders Elsevier, St. Louis 2006, 722–736.