

Aknu histopatoloģijas saistība ar aknu fermentu rādītājiem ūdelēm hepatīta gadījumā

Correlation between Liver Histopathology and Liver Enzyme Indicators in Mink with Hepatitis

Anda Valdovska

LLU Pārtikas un vides higiēnas institūts
Institute of Food and Environment Hygiene, LLU
e-mail: Anda.Valdovska@llu.lv

Māra Pilmane

Rīgas Stradiņa universitātes Anatomijas un antropoloģijas institūts
Institute of Anatomy and Anthropology, Riga Stradins University
e-mail: pilmane@latnet.lv

Abstract. The dystrophy of mink liver is widely distributed in mink farms of Latvia. However, clinical diagnostics of the liver dystrophy is quite difficult. The hypothesis of this study was to clarify indicators of ALAT (alanine aminotransferase) and SAP (alkaline phosphatase) as criteria in early diagnostics of mink liver injury. The goal of this study was to determine the potential correlation between the expressed functional indicators and histopathology of the liver. Blood samples were obtained from ten minks, seropositive against the Aleutian disease. Liver injury was assessed histologically. Through application of the biotin-streptavidine immunohistochemical method, the presence of hepatocyte growth factor, as well as the basal membrane components was established in the mink liver tissue, but liver apoptosis was determined by TUNEL reaction. For assessment of cytokines, a semi-quantitative counting method was used. The results showed apoptosis of the hepatocytes in the whole area of the liver parenchyma. We concluded that correlation between apoptosis and expression of inflammation cells in the mink liver was non-existent. In the same way, the results do not confirm a correlation between the expression of the ALAT and SAP activity and the level of the mink liver injury.

Key words: mink, liver, blood, histopathology, Aleutian disease.

Ievads

Aknas ir lielākais metabolisma centrs, un to funkcijas ir tik daudzveidīgas, ka bieži šo orgānu apzīmē par organisma bioķīmisko laboratoriju. Aknas ir orgāns, kurās tiek pārstrādātas no gremošanas trakta uzsūktās vielas un uzkrātas citu orgānu šūnu vajadzībām. Tās ir kā koordinators starp gremošanas sistēmu un asinīm (Kelly, 1993; Junqueira, Carneiro, Kelley, 1998) un tādēļ ir pakļautas dažādu toksisku faktoru un patogēnu mikroorganismu darbībai. Aknu slimības patoģenētiski veidojas kā hepatocelulārā patoloģija, holestāze un funkcionālie traucējumi jeb mazspēja (Jemeljanovs, Manevičs, Dūrītis, 2007). Vislielākā problēma, ar ko saskaras Latvijas zvērsaimniecības, ir ūdeļu Aleuta slimība, jo tās ierosinātājs (parvovīruss) ne tikai vairojas makrofāgos un, nomācot CD8⁺ šūnas (T supresorus), stimulē

plazmocitozi, bet arī ierosina glomerulonefrītu un hepatīta attīstību (Porter, Larsen, Porter, 1973; Hunter, Lemieux, 1996). Ganāmpulkos konstatēti vidēji 80% pret Aleuta slimību seropozitīvi dzīvnieki (Valdovska, 2008).

Veicot tiešu klīnisku izmeklēšanu, ūdeļu aknām ir grūti piekļūt, jo tās atrodas dzīvnieka vēdera dobuma priekšējā daļā pie diafragmas, tātad zem ribām. Turklāt ūdeles ir plēsēji, tādēļ to aknu klīniska izmeklēšana zvērsaimniecībās nav iespējama arī cilvēku pašaizsardzības nolūkā. Kaut gan veterinārmedicīnā pēdējo gadu laikā attīstās tā sauktā vizuālā diagnostika (rentgenogrāfija, ultrasonogrāfija utt.), tomēr aknu slimību diagnostikas praksē plaši tiek izmantota asiņu bioķīmiskā un urīna ķīmiskā izmeklēšana kā aknu patoloģijas agrīnas noteikšanas metode (Jemeljanovs, Manevičs, Dūrītis, 2007).

Aknu funkciju tests ir bioķīmisko rādītāju grupa, ko lieto, lai identificētu pacientus ar aknu vai biliārā trakta sasilšanām (Mason, 2004). Lai gan aknās, to funkcionālai kapacitātei samazinoties par 70–80%, rodas klīniskas pārmaiņas, tām tomēr piemīt augstas reģenerācijas un funkciju atjaunošanās spējas (Aughey, Frye, 2001; Jemeljanovs, Manevičs, Dūrītis, 2007).

Ūdelēm patoloģiskās sekciju laikā 80% gadījumu tiek konstatēta aknu distrofijas aina, tādēļ svarīgi bija noskaidrot iespējamo marķieri asins serumā kā aknu morfoloģiskā stāvokļa agrīnu rādītāju, kas ļautu izvēlēties savlaicīgas ārstniecības metodes. Jāatzīmē, ka literatūrā šādi pētījumi ūdelēm nav aprakstīti. Mūsu darba hipotēzes pamatā ir pieņēmums, ka aknu patoloģiju agrīnai diagnostikai varētu izmantot seruma alaninaminotransferāzes (ALAT) un sārmainās fosfatāzes (SAP) rādītājus, kaut gan uzskata, ka aknu slimību diagnostikā ALAT ir specifisks tikai suņiem un kaķiem (Jemeljanovs, Manevičs, Dūrītis, 2007).

Darba mērķis bija noskaidrot, vai paaugstināti aknu funkciju testu rādītāji Aleuta vīrusa skartām ūdelēm korelē ar aknu histopatoloģiskām izmaiņām.

Materiāls un metodika

Dzīvnieki. Desmit 7 mēnešus vecas, tumši brūnas ūdeles tika izvēlētas kažokādu ieguves laikā Rīgas rajona zvērsaimniecībā; dzīvniekus atlasīja pēc nejaušības principa. Ar imūnelektroosmoforēzes reakcijas (IEOFR) palīdzību konstatēja, ka visas pētījumam izvēlētas ūdeles ir Aleuta slimības seropozitīvas (Hunter, Lemieux, 1996).

Asins paraugus ieguva, veicot dzīvnieka sirds punkciju (Jepsen, Poulsen, Jorgensen, 1981), bet pēc ūdeļu parenterālās eitanāzijas ar 10% ditilīna šķīdumu aknu audus fiksēja 12% formalīna šķīdumā. Iegūtos asins paraugus 2 h laikā nosūtīja uz Nacionālo diagnostikas centru, lai noteiktu aknu funkciju testa rādītājus.

Histopatoloģija. Formalīnā fiksētos aknu audus ieguldīja parafīnā un ar mikrotomu sagatavoja 6 μm plānus griezumus. Aknu audu vispārējai morfoloģiskai izpētei izmantoja plaši lietoto hematoksilīna/eozīna metodi (Aughey, Frye, 2001). Vispirms veica paraugu deparafinizāciju (ksilols, etilspirts), bet pēc tam tos krāsoja pēc shēmas: hematoksilīns, eozīns, atūdeņošana ar 70° un 96° etilspirtu, karbolksilols.

Krāsošanas rezultātā šūnas bazofilās daļas iekrāsojās zili violetos toņos, bet acidofilās daļas – no rozā līdz tumši sarkanam tonim.

Imūnhistokīmija. Hepatocītu augšanas faktora (HGF) klātbūtni ūdeļu aknu audos konstatēja ar biotīna–streptavidīna imūnhistokīmiskās metodes palīdzību (Hsu, Raine, Fanger, 1981), bet apoptotisko šūnu daudzumu noteica, izmantojot TUNEL reakciju (Negoescu, Guillermet et al., 1998).

Griezumus deparafinizēja un rehidratēja. Sālsskābā nātrija citrāta buferšķīdumā (Solutio Natrii Citrici 4%, pH 10) ievietotus preparātus uz 20 min ielika mikroviļņu krāsnī. Uz katra griezuma endogēnās peroksidāzes aktivitātes bloķēšanai uz 10 min uzklāja 150 μl 3% H₂O₂, bet pēc tam preparātus divas reizes skaloja ar PBS (fosfātu bufera šķīdums, pH 7.4). Nespecifisko antivielu saistīšanai 10 min lietoja serumu (100 ml destilēta H₂O un 0.03 g vērša sausā seruma), un pēc tam paraugus 2 h inkubēja ar primārajām antivielām (HGF kods AF294NA, 1:300, R&D System, Vācija).

Imūnreakcijas vizualizācijai tika lietotas arī citas antivielas – LSAB+KIT (streptavidīns, kas saistīts ar enzīmu peroksidāzi) (kods K1015, DakoCytomation, Dānija) un substrāta homogēnā sistēma DAB (diaminobenzidīns) (kods K3468, Dako, Dānija), bet preparātu kontrastkrāsošanai – hematoksilīns.

Pozitīvas reakcijas gadījumā vēlamās struktūras nokrāsojās brūnas.

Statistiskā analīze. Kvantitatīvā metode tika izmantota iekaisuma šūnu skaitīšanai trijos brīvi izvēlētos redzes laukos ap centrālo aknu vēnu 400× palielinājumā.

Citokīnu producēšanas novērtējumam tika izmantota puskvantitatīvā skaitīšanas metode (Pilmane, Rumba et al., 1998). Imūnpozitīvās šūnas tika aranzētas: (+) – maz, (++) – vidēji, un (+++) – daudz pozitīvo šūnu.

Datu apstrāde tika veikta, izmantojot statistikas metodes vidējā lieluma un standartnovirzes aprēķināšanai.

Rezultāti un diskusija

Iekaisuma šūnu infiltrācija aknās

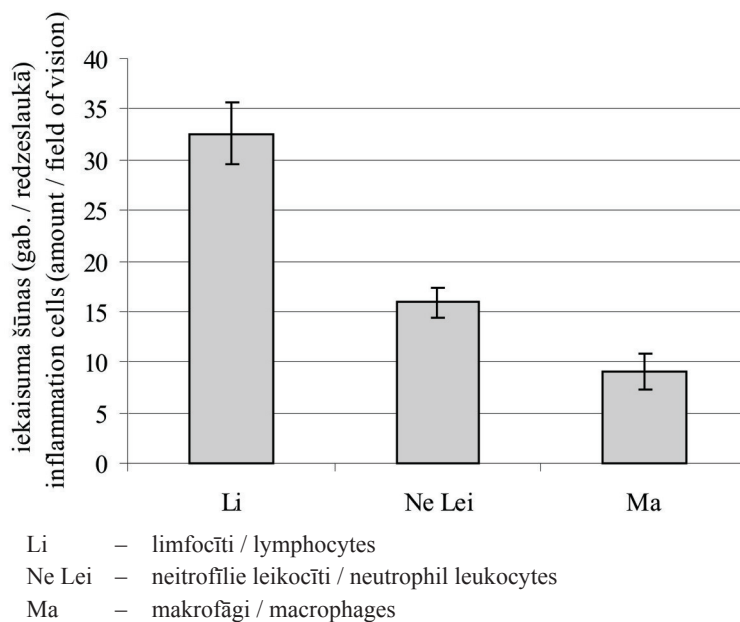
Celulārais, bioķīmiskais un molekulārais mehānisms, kas rada traucējumus hepatocītos, ir svarīgs gandrīz visu aknu slimību gadījumos (Sokol, 2002). Ūdeļu aknu paraugos novērojām, ka daiviņu arhitektūra ir saglabāta, bet iekaisuma infiltrāts, kas bagāts ar limfocītiem, plešas virzienā no portālā trakta uz blakus esošo parenhīmu. Iekaisuma infiltrācija bija redzama visās parenhīmas daļās, izņemot tikai portālās vai periportālās daļas. Šādu

ainu autori (Macswen, Anthony, Scheuer, 1979) raksturo kā hronisku hepatītu ar noslieci uz aknu nekrozi.

Iekaisums ir sarežģīta reakcija, kurā pakāpeniski iesaistās vairāku veidu šūnas. Desmit dzīvnieku histoloģiskajos paraugos ap aknu centrālo

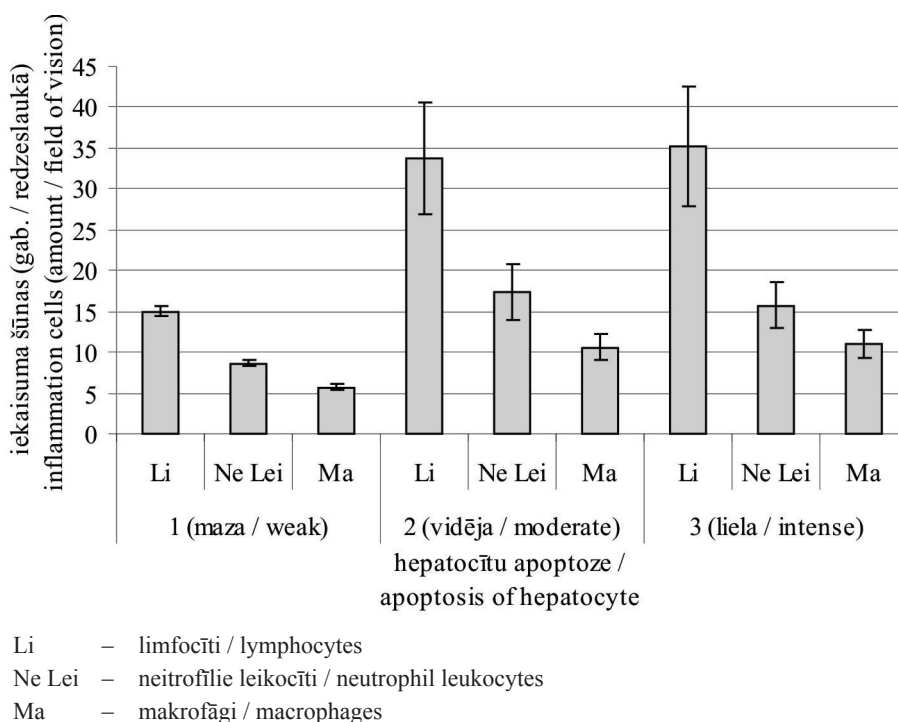
vēnu atradām ļoti izteiktu audu infiltrāciju ar makrofāgiem (Ma), neitrofīliem leikocītiem (Ne Lei) un limfocītiem (Li), kas liecina par patoloģiska procesa klātbūtni ūdeļu aknās (1. att.).

Iekaisuma šūnu izplatība būtiski atšķīrās – vislielāko skaitu konstatējām limfocītiem. Limfocītu



1. att. Iekaisuma šūnu daudzuma salīdzinājums ūdeļu aknās.

Fig. 1. Comparison of the amount of inflammation cells in mink liver.



2. att. Iekaisuma šūnas un apoptoze.

Fig. 2. Inflammation cells and apoptosis.

infiltrācija liecina par iekaisuma procesu perēklī un raksturo reakciju, ko izraisījusi bakteriāla vai vīrusu infekcija (Willard, Tvedten, Turnwald, 1994). Lai gan mūsu pētījumā aknu parenhīmā neitrofilo leukocītu bija par 27.8% mazāk nekā limfocītu, tomēr to var uzskatīt par nozīmīgu aknu funkcionālā stāvokļa rādītāju. Šo šūnu infiltrāts veidojas septiska iekaisuma procesa laikā, to novēro hepatīta gadījumā, un tas liecina par aknu parenhīmas infekciju (Klatskin, Conn, 1993).

Veselos audos neitrofilo leukocītu praktiski nav – tie atrodas asinsritē (Kellers, 1991; McGee, Isaacson, Wright, 1992), tādēļ svarīgi bija noskaidrot asinsvadu caurlaidību, t.i., bazālās membrānas komponentus. Ūdeļu aknās laminīnu, IV tipa kolagēnu un fibronektīnu konstatējām fragmentāri (asinsvadu sienas atsevišķos posmos) un galvenokārt tikai mazajos asinsvados. Tas norāda uz bazālās membrānas caurlaidības palielināšanos un samazinātu asinsvadu aizsargbarjeru, kas nodrošina pazeminātus imūnās aizsardzības apstākļus (Brown, Lindberg, Reing, 2006). Asinsvadu caurlaidības palielināšanās nozīmīgs veicinātājs ir Aleuta slimības ierosinātājs, kura darbībai nav raksturīgi tieši audu bojājumi – vīrusa patogēneses pamatā ir spēja veidot asinīs imūnkompleksus (vīruss–antiviela–komplements), kuri piestiprinās pie asinsvadu sienām, veidojot sakopojumus un tādējādi izraisot arterītus un arī bazālās membrānas izžušanu (Porter, Larsen, Porter, 1973; Hunter, Lemieux, 1996).

Hepatocītu apoptoze

Izvērtējot sakarību starp hepatocītu bojāeju un iekaisuma procesu (2. att.), konstatējām, ka ļoti lielas (3) vai vidējas (2) apoptozes gadījumā iekaisuma šūnu ekspresija būtiski neatšķīrās, turpretim mazas apoptozes (1) gadījumā to daudzums bija būtiski mazāks. Novērotais rāda, ka apoptozei nav būtiskas sakarības ar iekaisuma šūnu ekspresiju, kas sakrīt arī ar citu pētnieku (Green, Ree, 1998; Rubin, Farber, 1999) secināto, – tātad apoptozes process var notikt arī bez iekaisuma reakcijas attīstības.

Iekaisuma procesa attīstība un iekaisuma šūnu (neitrofilo leukocītu un makrofāgu darbība un to hidrolītiskie enzīmi) aktivitāte var izraisīt hepatocītu apoptozi (Kelly, 1993; Klatskin, Conn, 1993) jeb programmēto šūnu bojāeju, kas savukārt var radīt šūnu citoplazmā esošo fermentu (aknu funkciju testa rādītāju) izplūšanu asinīs (Jemeljanovs, Manevičs, Dūrītis, 2007).

Pētījumā izmantoto ūdeļu aknu paraugos hepatocītu apoptozi novērojām visās parenhīmas daļās, kas liecina par sistēmisku infekciju, kaut gan

fizioloģiski apoptozes process galvenokārt notiek centrālās vēnas apvidū. Tas nozīmē, ka hepatocīti rodas aknu acinusa 1. (periportālajā) zonā un lēnām migrē uz 3. (centrolobulāro) zonu, kur tie deģenerējas (Klatskin, Conn, 1993; Rubin, Farber, 1999).

Aknu funkciju testa rādītāji

Ūdeļu asins bioķīmisko rādītāju rezultāti apkopoti 1. tabulā.

Aknu funkciju traucējumu diagnostikā nepieciešams veikt asins analīzi un noteikt ALAT un SAP rādītājus. ALAT daudzumu jo īpaši nepieciešams noteikt dzīvniekiem ar hronisku hepatītu (Уиллард, Тведтен, Торнвальд, 2004), kādu novērojām arī eksperimentālajām ūdelēm, analizējot iekaisuma šūnu infiltrāciju. Ziņojumi par seruma ķīmiskajiem rādītājiem veselām ūdelēm ir ļoti ierobežoti (Weiss, Wustenberg et al., 1994), pie tam tie ir atšķirīgi.

Pētījumā iekļautos dzīvniekus negrupējām atsevišķi pēc dzimuma, jo ir noskaidrots, ka starp ūdeļu tēviņu un mātīšu asins hematoloģiskajiem un bioķīmiskajiem rādītājiem nepastāv statistiski būtiskas atšķirības (Weiss, Wustenberg et al., 1994). Salīdzinot ar Hunter un Lemieux (1996) ieteikto ALAT rādītāju, mūsu eksperimentā izvēlētajām ūdelēm 40% gadījumu tas pārsniedza vesela dzīvnieka indikatoru, taču nevienā gadījumā nebija augstāks par normu vairāk kā divas reizes. Arī salīdzinot ar Veisa un kolēģu (Weiss, Wustenberg et al., 1994) konstatēto ALAT diapazonu veselām, pieaugušām tumši brūnām ūdelēm, visi mūsu iegūtie rezultāti bija paaugstināti, bet nevienā gadījumā ieteikto normu nepārsniedza vairāk kā trīs reizes. Tātad šī fermenta līmeņa paaugstināšanās pētītajos dzīvniekos vērtējama kā neliela (2–3 reizes lielāka par normu) (Уиллард, Тведтен, Торнвальд, 2004), kam par cēloni varēja būt gan bakterioloģiski neatbilstoša dzīvnieku barība (Juokslahti, 1980), gan hronisks process, piemēram, tādas aknu saslimšanas kā ciroze vai aknu neoplāzija (Уиллард, Тведтен, Торнвальд, 2004). Visu ūdeļu aknu paraugos novērojām taukaino distrofiju, taču šīs patoloģijas smagumam nebija savstarpējas sakarības (skat. 1. tabula) ar ALAT rādītāja palielināšanos. Līdzīgu secinājumu izteikuši arī citi pētnieki (Уиллард, Тведтен, Торнвальд, 2004).

ALAT atrodas šūnas citoplazmā, tātad tā nokļūšana asinīs liecina par aknu šūnu membrānu bojājumu. Izvērtējot apoptozes procesa sakarību ar ALAT, konstatējām, ka vidējas (++) apoptozes gadījumā fermenta līmenis ir palielināts, bet ja apoptoze ir liela (+++) vai neliela (+), šis rādītājs ir normas robežās. Tas ļauj secināt, ka ALAT līmenis palielinās akūtu

Ūdeļu aknu imūnhistoķīmiskie un asins bioķīmiskie rādītāji
Mink liver immunohistochemical and blood biochemical parameters

Nr. p.k. / No.	Iekaisuma šūnu infiltrācija / Infiltration of inflammation cells	Taukainā distrofija / Fatty dystrophy	Hepatocītu apoptoze / Apoptosis of hepatocytes	HGF	ALAT (U/L)	SAP (U/L)
1.	xxx	x	xx	xxx	194.6	165.2
2.	xxx	xx	xx	xxx	87.4	119.4
3.	xx	x	xxx	x	116.2	194.1
4.	xx	x	xx	xx	182.6	188.5
5.	x	xx	xx	xxx	260.6	265.9
6.	x	xx	x	x	157.6	279.2
7.	x	xxx	x	xx	89.9	139.6
8.	xx	x	xxx	x	117.8	197.1
9.	xxx	xx	x	x	90.4	178.6
10.	x	xx	xx	xxx	200.8	498.7
			Norma / Standard	Hunter, Lemieux, 1996	līdz / up to 158.0	37–67
				Weiss et al., 1994	71.6–80.0	

HGF – hepatocītu augšanas faktors / hepatocyte growth factor; ALAT – alanīnaminotransferāze / alanine aminotransferase; SAP – sārmainā fosfatāze / alkaline phosphatase; x – maz / weak; xx – vidēji / moderate; xxx – daudz / intense.

aknu šūnu bojājumu gadījumos, kas sakrīt ar citu pētnieku konstatēto (Mason, 2004). Fermenta līmeņa izmaiņas var konstatēt arī pie organisma pirmējām saslimšanām, kas nav saistītas ar aknām, piemēram, zarnu trakta saslimšanas gadījumā (Jemeljanovs, Manevičs, Dūrītis, 2007) un, iespējams, arī ja Aleuta vīruss skāris citus orgānus, piemēram, nieres.

Izvērtējot aknu šūnu reģenerācijas marķiera ekspresiju ūdeļu aknās (skat. 1. tabulu), konstatējām, ka ALAT līmenis ir paaugstināts, ja dzīvnieka organismā HGF izdalās pastiprināti, bet tas ir normas robežās, ja HGF izdale ir vidēja (++) vai maza (+). Arī citi pētnieki (Уиллард, Тведтен, Торнвальд, 2004) apstiprina, ka ALAT fermenta daudzums aknu reģenerācijas laikā saglabājas palielināts. Pētījuma rezultātā secinājām, ka Aleuta vīrusa skartām ūdelēm hepatīta gadījumā ALAT līmenis var būt gan normas robežās, gan arī paaugstināts.

Sārmainā fosfatāze jeb SAP ir ferments, kas saistīts ar aknu šūnu membrānu struktūrām. No iegūtajiem asins rezultātiem (skat. 1. tabula) redzams,

ka SAP līmenis visām ūdelēm bija palielināts – vienā gadījumā (jeb 10%) pat vairāk nekā piecas reizes. Šāds ļoti paaugstināts fermenta daudzums vērojams akūtas hepatocītu nekrozes gadījumā, taču kopumā tā nelielu paaugstināšanos var konstatēt akūta hepatīta gadījumā (Mason, 2004). Savukārt fosfatāzes aktivitātes palielināšanās trīs un vairāk reizi liecina par aknu lipidozi (Уиллард, Тведтен, Торнвальд, 2004). Literatūrā (Juokslahti, 1980) atrodami dati, ka fermenta aktivitāte serumā būtiski augstāka ir ūdelēm, kuras saņēmušas bakterioloģiski neatbilstošu barību. Lai gan mūsu pētījumā taukaino distrofiju aknās konstatējām visām ūdelēm, tomēr kopumā sakarību starp distrofijas smaguma pakāpi un SAP līmeņa paaugstināšanos nenovērojām. Tātad fermenta daudzuma palielināšanās asinīs varētu liecināt arī par sistēmisku saslimšanu.

Aknu histopatoloģija un aknu fermentu aktivitāte asinīs arī pēfīta suņiem bez aknu saslimšanu klīniskām pazīmēm un pēc fenobarbitālu saņemšanas. Līdzīgi mūsu iegūtajiem rezultātiem arī citi pētnieki (Gaskill,

Miller et al., 2005) konstatējuši, ka aknu enzīmu ALAT un SAP palielināta aktivitāte nekorelē ar histopatoloģiskajām anormālībām.

Secinājums

Ar Aleuta vīrusu skartām ūdelēm hepatīta gadījumā netiek novērota sakarība starp ALAT un SAP fermentu paaugstinātu līmeni asinīs un aknu slimību smagumu, un tāpat šie rādītāji nav lietojami kā prognostiska pazīme.

Literatūra

1. Aughey, E., Frye, F.L. (2001) *Comparative veterinary histology with clinical correlates*. Manson Pub. Ltd, London, 14–127.
2. Brown, B., Lindberg, K., Reing, J., Stolz, D.B., Badylak, S.F. (2006) The Basement membrane component of Biologic Scaffolds derived from extracellular matrix. *Tissue engineering*, 12 (3), 519–526.
3. Gaskill, C.L., Miller, L.M., Mattoon, J.S., Hoffmann, W.E., Burton, S.A., Gelens, H.C.J., Ihle, S.L., Miller, J.B., Shaw, D.H., Cribb, A.E. (2005) Liver Histopathology and Liver and Serum Alanine Aminotransferase and Alkaline Phosphatase Activities in Epileptic Dogs Receiving Phenobarbital. *Veterinary Pathology*, 42, 147–160.
4. Green, D.R., Ree, J.C. (1998) Mitochondria and apoptosis. *Science*, 281, 1309–1312;
5. Hsu, S.M., Raine, L., Fanger, H. (1981) The use of antiavidin antibody and biotin-streptavidin peroxidase complex in immunoperoxidase techniques. *American Journal of clinical pathology*, 75(6), 816–821.
6. Hunter, D.B., Lemieux, N. (1996) Aleutian disease. *Mink biology, health and disease*. University of Guelph, Ontario, 61–69.
7. Jemeljanovs, Ļ., Manevičs, Z., Dūrītis, I. (2007) Gremošanas sistēmas izmeklēšana. *Dzīvnieku iekšējgo slimību klīniskā diagnostika*. LLU, Jelgava, 116.–122.
8. Jepsen, O.R., Poulsen, F.S., Jorgensen, G. (1981) Collection of blood, sedation and anaesthesia in mink. *Nordisk veterinaermedicin*, 1, 9–13.
9. Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. (1998) Glands associated with the digestive tract. *Basic histology*. 9th ed. McGraw-Hill Publishing Co, Stamford, 304–326.
10. Juokslahti, T. (1980) Bacteriological quality of mink feed and its effect on the health of mink, as monitored by some clinical and blood parameters. *Acta Vet. Scand.*, 75, 1–38.
11. Kellers, R. (1991) *Ievads imunoloģijā un imūnpatoloģijā*. Zvaigzne, Rīga, 260 lpp.
12. Kelly, W.R. (1993) The liver and biliary system. *Pathology of Domestic animals*. Vol. 2. 4th ed. Jubb, K.V.F., Kennedy, P.C., Palmer, N. (eds). Academic Press, London, 319–350.
13. Klatskin, G., Conn, H.O. (1993) *Histopathology of the liver*. Vol. 1. Oxford University Press, USA, 327 pp.
14. Macsween, R.N.M., Anthony, P.P., Scheuer, P.J. (1979) *Pathology of the liver*. Churchill Livingstone, New York, 23–205.
15. Mason, P. (2004) Blood tests used to investigate liver, thyroid or kidney function and disease. *The Pharmaceutical Journal*, 272, 446–449.
16. McGee, J.O'D., Isaacson, P.G., Wright, N.A. (1992) Principles of pathology. *Oxford textbook of pathology*. Vol. 1. Oxford University Press, USA, 321–491.
17. Negoescu, A., Guillermet, C., Lorimer, P., Robert, C., Lantuejoul, S., Brambilla, E., Labat-Moleur, F. (1998) TUNEL apoptotic cell detection in archived paraffin-embedded tissues. *Biochemica*, 3, 36–41.
18. Pilmane, M., Rumba, I., Sundler, F., Luts, A. (1998) Patterns of occurrence and distribution of neuroendocrine elements in lungs of humans with chronic lung diseases. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences*, 52, (596/597), 144–152.
19. Porter, D.D., Larsen, A.E., Porter, H.G. (1973) The pathogenesis of Aleutian disease of mink. *American Journal of pathology*, 71, 331–344.
20. Rubin, E., Farber, J.L. (1999) Inflammation. *Pathology*. 3rd ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, 25–27.
21. Sokol, R.L. (2002) Liver Cell Injury and Fibrosis. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 35, S7–S10.
22. Valdovska, A. (2008) Pelējuma sēņu skartu ūdeļu parenhimatozo orgānu izpēte uz Aleuta slimības fona. LLU, Jelgava, 120 lpp.: llufb.llu.lv/.../Kopsavilkums-promoc-2008-LLU-VMF-Anda-Valdovska.pdf – Resurss aprakstīts 2010. gada 7. septembrī.
23. Weiss, D.J., Wustenberg, W., Bucci, J.T., Perman, V. (1994) Hematological and serum

- chemistry reference values for adult brown mink. *Journal of Wildlife Diseases*, 30, 599–602.
24. Willard, M.D., Tvedten, H., Turnwald, G.H. (1994) Liver. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. 2nd ed. W.B. Saunders comp., Philadelphia, 56–57.
25. Уиллард, М.Д., Тведтен, Г., Торнвальд, Г.Г. (2004) Нарушение аккумуляции жидкости в организме. *Лабораторная диагностика в клинике мелких домашних животных*. Москва, Аквариум Бук, 217–228.