

УДК 619:576.895.122.21

DOI: 10.31016/1998-8435-2020-14-2-76-82

Гистологические и гистохимические методы исследования как критерии оценки эффективности действия антигельминтных препаратов на органы и ткани трематод

Оксана Ивановна Бибик¹, Иван Алексеевич Архипов²

¹ Кемеровский государственный медицинский университет Минздрава России, 650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а, e-mail: ok.bibik@yandex.ru

² Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: arkipovhelm@mail.ru

Поступила в редакцию: 31.03.2020; принята в печать: 20.04.2020

Аннотация

Цель исследований: оценить гистологические и гистохимические методы исследования как информативные критерии при выявлении действия химических препаратов на организм трематод.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили трематоды *Fasciola hepatica*, *F. gigantica*, *Paramphistomum cervi* и *Dicrocoelium lanceatum*, собранные при вскрытии спонтанно заражённых животных после лечения антигельминтиками (триклабендазолом, димезолом, политремом, антитремом, тетраксихолом, тегалидом, фаскоцидом) с использованием разных терапевтических доз с соответствующими схемами лечения. Контролем служили трематоды от животных, не подвергавшихся лечению. Фиксированный материал обрабатывали по общепринятой гистологической методике и заливали в парафин. Микропрепараты – срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гистологическими и гистохимическими методами; изучали в световом микроскопе.

Результаты и обсуждение. Морфологически при изучении микроструктуры органов и тканей трематод *F. hepatica*, *F. gigantica*, *P. cervi* и *D. lanceatum* после действия антигельминтиков (триклабендазола, димезола, политрема, антитрема, тетраксихола, тегалида, фаскоцида) в их организме отмечается отёк, наблюдаются вакуоли, лизис тканевых и клеточных структур, а также выраженная базофилия. Гистохимически регистрируется нарушение белкового обмена, извращённый синтез белка. В исходе патофизиологических процессов после действия антигельминтиков выявляемый некробиоз в организме трематод и развивающийся выраженный отёк приводят к колликационному некрозу, вызванному необратимыми дистрофическими процессами на уровне нарушения водного и белкового обмена. Извращённая гистохимическая реактивность тканей и органов трематод при окраске на белки подчёркивает дегенерацию ядерных структур, прекращение процессов синтеза молекул белка, несостоятельность белкового обмена.

Ключевые слова: трематоды, антигельминтики, морфология, гистохимия, органы, ткани.

Для цитирования: Бибик О. И., Архипов И. А. Гистологические и гистохимические методы исследования как критерии оценки эффективности действия антигельминтных препаратов на органы и ткани трематод // Российский паразитологический журнал. 2020. Т. 14. № 2. С. 76–82.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-2-76-82>

© Бибик О. И., Архипов И. А., 2020

Histological and Histochemical Research Methods as Criteria for Evaluation of Anthelmintic Effects on the Trematode Organs and Tissues

Oksana I. Bibik¹, Ivan A. Arkhipov²

¹ Kemerovo State Medical University of the Russian Ministry of Healthcare, 22a Voroshilova st., Kemerovo, 650029, e-mail: ok.bibik@yandex.ru

² All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – a branch of Federal State Budgetary Institution of Science "Federal Scientific Center – All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K. I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences", build. 28, B. Cheremushkinskaya street, Moscow, Russia, 117218, e-mail: arkhipovhelm@mail.ru

Received on: 31.03.2020; accepted for printing on: 20.04.2020

Abstract

The purpose of the research is evaluating histological and histochemical research methods as information criteria in identifying the effect of chemicals on trematodes.

Materials and methods. The study material was trematodes *Fasciola hepatica*, *F. gigantica*, *Paramphistomum cervi* and *Dicrocoelium lanceatum* collected during dissecting spontaneously infected animals after they had been treated with anthelmintics (Triclabendazole, Dimezole, Polytrem, Antitrem, Tetraxichol, Tegalid and Fascocid) using various therapeutic doses with appropriate regimens. Trematodes from untreated animals were used as control. The detected material was processed under the generally accepted histological procedure and embedded in paraffin. Microslides, namely, slices of 5–7 µm thick, were stained using histological and histochemical methods and studied under a light microscope.

Results and discussion. Morphologically, when the microstructure of organs and tissues of trematodes *F. hepatica*, *F. gigantica*, *P. cervi* and *D. lanceatum* treated with anthelmintics (Triclabendazole, Dimezole, Polytrem, Antitrem, Tetraxichol, Tegalid and Fascocid) was studied, edema, vacuoles, lysis of tissue and cell structures, and severe basophilia were observed in their body. Protein metabolism imbalance and distorted protein synthesis were recorded histochemically. As an outcome of pathophysiological processes after anthelmintic treatment, necrobiosis detected in trematodes and the developing severe edema lead to colliquative necrosis caused by irreversible dystrophic processes occurred at the level of water and protein metabolism imbalance. Misdirected histochemical reaction of trematodes' tissues and organs when stained for proteins marks nuclear degeneration, termination of protein molecule synthesis, and protein metabolism failure.

Keywords: trematodes, anthelmintics, morphology, histochemistry, organs, tissues.

For citation: Bibik O. I., Arkhipov I. A. Histological and Histochemical Research Methods as Criteria for Evaluation of Anthelmintic Effects on the Trematode Organs and Tissues. *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2020; 14 (2): 76–82.

<https://doi.org/10.31016/1998-8435-2020-14-2-76-82>

Введение

В настоящее время процесс поиска новых и совершенствования существующих антигельминтных препаратов активен и использует сочетание разных методов [13, 15, 21].

Интерес ветеринарии и медицины связан с изучением влияния антигельминтиков на организм паразита и является актуальным [1, 14, 16]. Это направление перспективно и при

химиотерапии (химиопрофилактики) трематодозов.

Для усовершенствования старых схем лечения, разработки новых наиболее рациональных методов терапии трематодозов, а также и других гельминтозов необходимы знания о механизмах действия препаратов на трематод и организм хозяина, их сравнительная характеристика [2]. Данная информация определя-

ет направление поисковых работ при синтезе препаратов и обеспечивает правильную оценку преимуществ новых соединений по отношению к существующим антигельминтикам.

Показательную информативность при изучении механизма действия препаратов на гельминта имеют гистологические и гистохимические методы исследования, которые рекомендовано использовать в качестве критериев оценки действия антигельминтиков на органы и ткани паразитов [5, 11, 12, 20]. Визуальные изменения тканевых и клеточных структур в организме гельминта как реакция на действие антигельминтика, позволяют выявить общие закономерности их повреждения. Такие методы наглядно дополняют копрологические данные по эффективности действия ветеринарных средств [9], а гистологические микропрепараты дают объективную экспертизу, которую в любое время можно повторно провести.

Химическая структура действующего вещества в основе препарата определяет степень действия антигельминтика на органы и ткани паразитов, вызывает процесс, сопровождаемый определенной морфологической перестройкой, в основе которой лежат тонкие изменения внутриклеточного метаболизма. Поэтому, изучение изменений микроструктуры органов и тканей трематод, а также процессов, происходящих в них, при дегельминтизации имеет первостепенное значение при выработке эффективных мер борьбы против гельминтозов, в частности, против трематодозов.

Цель исследования – оценить гистологические и гистохимические методы исследования как информативные критерии при выявлении действия химических препаратов на организм трематод.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили трематоды *Fasciola hepatica*, *F. gigantica*, *Paramphistomum cervi* и *Dicrocoelium lanceatum*, собранные при вскрытии спонтанно заражённых животных после лечения антигельминтиками (триклабендазолом, димезолом, политремом, антитремом, тетраксихолом, тегалидом, фаскоцидом) с использованием разных терапевтических доз с соответствующими схемами лечения. Контролем служили трематоды от животных, не подвергавшихся

лечению в соответствии с каждой экспериментальной группой. Фиксированный материал обрабатывали по общепринятой гистологической методике и заливали в парафин. Микропрепараты – срезы толщиной 5–7 мкм окрашивали гистологическими и гистохимическими методами, изучали в световом микроскопе.

Результаты и обсуждение

В организм трематод все антигельминтики поступают избирательно через покровные органы эктосоматического блока [17], в большем количестве через тегумент и в меньшем – через пищеварительную систему гельминта [22]. Патология в морфологии тканевых и клеточных структур организма трематод после действия препарата связана с изменением их химического состава и физико-химических свойств и является реакцией на действие антигельминтика. Изучение причин механизмов развития патологических процессов в организме гельминтов способствует выявлению общих закономерностей. Установлено, что действие антигельминтиков у трематод вызывает нарушение водного [3, 6, 8, 9] и белкового обменов [4, 7, 10, 18, 19], которые на уровне организма взаимосвязаны.

Морфологически при изучении микроструктуры органов и тканей *F. hepatica*, *F. gigantica*, *P. cervi* и *D. lanceatum* после действия антигельминтиков (триклабендазола, димезола, политрема, антитрема, тетраксихола, тегалида, фаскоцида) в них отмечается отёк, наблюдаются вакуоли, лизис тканевых и клеточных структур, а также выраженная базофилия (табл. 1). Гистохимически регистрируется нарушение белкового обмена, inverted синтез белка.

Лизис, набухание и вакуолизация – процессы, развивающиеся в результате гидрорической дистрофии (рис. 1). Отёк органов и тканевых структур трематод, как следствие процесса набухания биополимеров, подтверждает нарушение проницаемости их мембран. Повреждение мембран пограничных органов – тегумента и кишечника, а также структур мембранного типа внутри тела паразита нарушает активный транспорт натрия (Na^+) и калия (K^+), концентрация которых по обе стороны мембраны изменяется (выравнивается) и отклоняется от физиологических

Таблица 1

Степень воздействия антигельминтиков на тегумент, кишечник и паренхиму трематод

Орган	Антигельминтики											
	Бензимидазолы			Хлорированные углеводороды						Салициланилиды		
	Триклабендазол	Димезол	Полигрем	Антигрем		Тетраксихол		Тегалид		Фаскоцид		
				фасциолы	парафасциолы	парафасциолы	фасциолы	парафасциолы	парафасциолы			
Дистальная часть тегумента	++ О, Л	+++ В	++++ ±	+++ В, Л	++ Л	+++ В, Л	++++ В, Л	+++ В, Л	++ Л	+++ Л	+++ Л	
Проксимальная часть тегумента	++ О	+++ В	++++ В, Л	+++ Л	+++ Л	++++ Л	+++ Л	+++ В	+++ В, Л	+++ Л	+++ Л	
Базальная мембрана тегумента	+++ О	+++ О, Л	+++ Л	+++ Л	++ Л	++++ Л	+++ О	+++ Л	+++ О	+++ О, Л	+++ О, Л	
Апикальная часть кишечного эпителия	+++ Л	+++ Л	+++ Л	+++ Л	+++ Л	++++ Л	+++ Л	+++ Л	+++ Л	+++ Л	+++ Л	
Базальная часть кишечного эпителия	+++ Л	+++ Л	+++ Л	+++ Л	+++ Л	++++ Л	+++ Л	+++ Л	+++ Л	+++ Л	+++ Л	
Базальная мембрана кишечника	+++ О	+++ Л	+++ О	+++ Л	+++ О	++++ Л	+++ О	+++ Л	+++ О	+++ Л	+++ Л	
Паренхима кортикальной зоны	++++ О, Л	+++ О, Л	+++ О, Л	+++ О, Л	+++ О	++++ О, Л	+++ О	+++ В, О	+++ О	+++ О, Л	+++ О, Л	
Паренхима вокруг половых органов	+++ О, Л	+++ О, Л	+++ О, Л	+++ О, Л	+++ О, Л	++++ О, Л	+++ Л	+++ В, О	+++ О, Л	+++ О, Л	+++ О, Л	

Примечание: + – минимальный эффект степени действия антигельминтика на ткань; ++ – эффект средней силы действия; +++ – эффект сильного действия; ++++ – максимальный эффект действия антигельминтика; ± – местами разной силы действия (скачкообразно); В – вакуолизация; О – отёк; Л – лизис структур.

условий. Это вызывает проникновение внутрь клеток низкомолекулярных анионов, а затем и катионов. Итог – повышение внутриклеточного осмотического давления и нарушение мембранного водно-электролитного транспорта. Происходит лизис, набухание ультраструктур и отёк тканей с последующим растворением в них биополимеров. Избыток межтканевой жидкости приводит к развитию водной интоксикации организма паразита.

При гистохимическом исследовании установлено, что после воздействия антигельминтиков в организме трематод происходят дистрофии белкового характера разного генеза. Декомпозиция биокomплексов приводит к их деструкции с высвобождением и накоплением белков. Развитие дистрофии количественного характера (инфильтрации) вызывает накопление белков в результате истощения ферментных систем их метаболизирующих. Гистохимические реакции подтверждают и дистрофию качественного характера (извращённый синтез), которая на уровне белков связана с нарушением ферментативных процессов (ферментопатия). Гидрофильные группы молекул белкового компонента связывают воду и, следовательно, задерживают её в организме паразита. Развитие процесса заканчивается растворением макромолекул

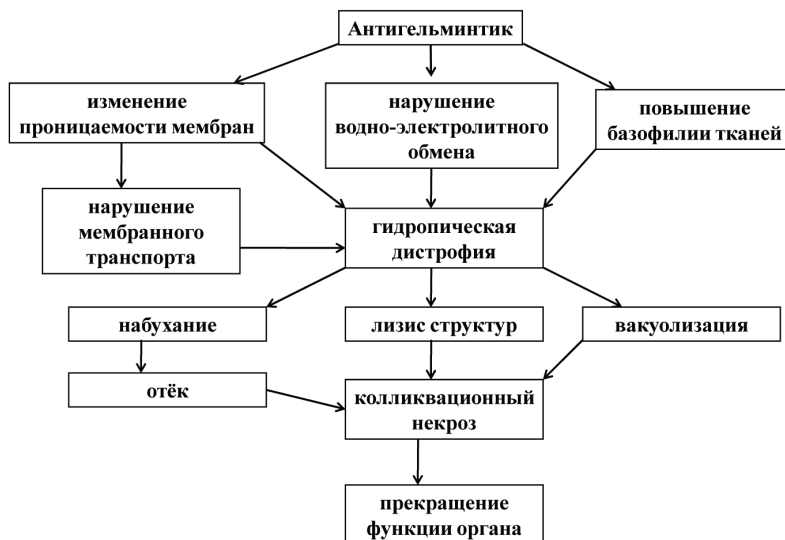


Рис. 1. Развитие патологических процессов и патогенеза в тканях трематод после воздействия антигельминтиков

биополимеров и образованием вакуолей с мутным цитоплазматическим содержимым.

Нарушение белкового обмена и функционального состояния тканей и органов трематод подтверждает высокая степень базофилии. Это вызвано перераспределением и накоплением белковых компонентов кислого характера, а значит смещения в сторону кислотности ткани внутренней среды в организме гельминта. Снижение рН среды и активация гидролитических ферментов повышает гидролиз высокомолекулярных соединений в тканях, способствуя разрушению полимерных комплексов. Происходит деструкция клеточных и тканевых структур. Наиболее вероятно, что при взаимодействии антигельминтика с биополимерами тканей гельминта изменяется число ионогенных групп биосубстрата, что приводит к смещению рН внутренней среды и при наличии избыточного количества воды набуханию структур организма трематод.

В исходе патофизиологических процессов после воздействия антигельминтиков выявляемый некробиоз в организме трематод и развивающийся выраженный отёк приводят к колликвационному некрозу, вызванному необратимыми дистрофическими процессами на уровне нарушения водного и белкового обменов (рис. 1). Извращённая гистохимическая реактивность тканей и органов трематод при окраске на белки подчёркивает дегенерацию

ядерных структур, прекращение процессов синтеза молекул белка, несостоятельность белкового обмена.

Заключение

Гистологические исследования органов и тканей трематод после воздействия антигельминтиков и гистохимический анализ изменения компонентов биополимеров в организме являются высокоинформативными критериями, демонстрирующими влияние препарата на организм паразита при оценке его гельминтоцидных свойств.

Литература

1. Арисов М. В. Паразитозы крупного рогатого скота в среднем, нижнем Поволжье и новые химические средства в борьбе с ними: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Нижний Новгород, 2008. 41 с.
2. Архипов И. А. Антигельминтики: фармакология и применение. М., 2009. 405 с.
3. Бибик О. И. Микроморфология органов и тканей *Fasciola hepatica* после лечения тегалидом // Труды Всероссийского ин-та гельминтологии. 2006. Т. 42. С. 84–87.
4. Бибик О. И. Оценка влияния триклабендазола на микроморфологические параметры органов и тканей *Fasciola hepatica* // Труды Всероссийского ин-та гельминтологии. 2007. Т. 45. С. 46–52.
5. Бибик О. И. Морфофункциональная характеристика органов и тканей паразита и хозяина при трематодозах после химиотерапии антигельминтиками // Российский паразитологический журнал. 2008. № 1. С. 99–106.
6. Бибик О. И. Патоморфологический контроль изменений в органах и тканях половой системы трематоды *Dicrocoelium lanceatum* после воздействия антигельминтика фаскоцида // Российский паразитологический журнал. 2010. № 4. С. 41–44.
7. Бибик О. И., Начева Л. В. Патоморфологическая оценка эффективности действия триклабендазола на органы и ткани фасциолы печеночной // Медицина в Кузбассе. 2007. № 3. С. 19–22.

8. Бибик О. И., Начева Л. В. Гексозаминогликаны в органах и тканях половозрелых *Fasciola hepatica* после воздействия триклабендазола // Российский паразитологический журнал. 2008. № 3. С. 72–76.
9. Бибик О. И., Начева Л. В. Морфофункциональные особенности изменения органов *Fasciola hepatica* после лечения овец триклабендазолом при фасциолезе // Российский паразитологический журнал. 2019. Т. 13. Вып. 2. С. 64–72. DOI: 10.31016/1998-8435-2019-13-2-64-72
10. Бибик О. И., Начева Л. В., Архипов И. А. Патоморфология органов и тканей *Fasciola hepatica* и *Paramphistomum cervi* после воздействия антитрема // Российский паразитологический журнал. 2012. № 1. С. 13–20.
11. Бибик О. И., Начева Л. В., Нестерок Ю. А. Микроморфологические исследования органов и тканей *Opisthorchis felinus* после сочетанного действия мебендазола и празиквантела в эксперименте // Матер. трудов участников 17-й междунар. телеконф. «Актуальные проблемы современной науки». Томск, 2016. Т. 5, № 1. С. 18–20.
12. Бибик О. И., Штернис Т. А., Начева Л. В. *Fasciola hepatica*: морфометрический анализ яиц фасциол после действия триклабендазола // Фундаментальная и клиническая медицина. 2018. Т. 3, № 2. С. 28–33. DOI 10.23946/2500-0764-2018-3-2-28-33
13. Галкина И. В., Лутфуллин М. Х., Егорова С. Н., Мавлиханов Р. Ф., Лутфуллина Н. А., Идрисов А. М., Воробьева Н. В., Хамидуллин Р. И., Юсупова Л. М., Спатлова Л. В., Галкин В. И. Синтез и апробация новых антигельминтиков // Российский паразитологический журнал. 2010. № 2. С. 99–105.
14. Кармалиев Р. С. Гельминтозы крупного рогатого скота Западного Казахстана и меры борьбы с ними (эпизоотология, терапия, резистентность к антигельминтикам): автореф. дис. ... д-ра вет. наук. М., 2011. 51 с.
15. Михайлицин Ф. С., Коваленко Ф. П., Репина Е. А., Пивоварова Д. М., Болотов А. С. Новый антигельминтик алинат и оценка его терапевтической активности (экспериментальное исследование) // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. 2006. № 3. С. 31–34.
16. Муромцев А. Б. Основные гельминтозы жвачных животных в Калининградской области (эпизоотология, патогенез, лечебно-профилактические мероприятия): автореф. дис. ... д-ра вет. наук. Санкт-Петербург, 2008. 53 с.
17. Начева Л. В. Морфоэкологический анализ и эволюционная динамика тканевых систем трематод, реактивность их органов и тканей при действии антигельминтиков: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 1993. 57 с.
18. Начева Л. В., Бибик О. И. Микроморфологические исследования органов и тканей разных видов трематод до и после воздействия антигельминтиками // Труды Всероссийского ин-та гельминтологии. 2006. Т. 44. С. 162–169.
19. Начева Л. В., Бибик О. И. Гистохимические исследования базальных мембран органов и тканей гельминтов до и после воздействия антигельминтиками // Российский паразитологический журнал. 2007. № 1. С. 63–66.
20. Начева Л. В., Бибик О. И., Гребенищikov В. М. Антигельминтики, эффективность их действия на органы и ткани *Opisthorchis felinus* (гистологические и гистохимические исследования). Кемерово, 2000. 93 с.
21. Халиков С. С., Архипов И. А., Варламова А. И., Халиков М. С., Чистяченко Ю. С., Душкин А. В. Экологически безопасные антигельминтные препараты в ряду бензимидазолов: синтез, свойства, применение // Юг России: экология, развитие. 2016. Т.11, № 1. С. 178–192. DOI: 10.18470/1992-1098-2016-1-178-192
22. Ханбегаев Р. А. Поиск фасциолоцидов преиминального действия и некоторые стороны их антигельминтного механизма и фармакодинамики: автореф. дис. ... д-ра вет. наук. М., 1977. 45 с.

References

1. Arisov M. V. Bovine parasitosis in the Middle and Lower Volga Region and new chemical agents to control them: thesis... by Dr. of Vet. Sci. Nizhny Novgorod, 2008; 41. (In Russ.)
2. Arkhipov I. A. Anthelmintics: Pharmacology and Application. M., 2009; 405. (In Russ.)
3. Bibik O. I. Micromorphology of *Fasciola hepatica* organs and tissues after Tegalid treatment. *Trudy Vserossiyskogo in-ta gel'mintologii = Proceedings of the All-Russian Institute of Helminthology*. 2006; 42: 84–87. (In Russ.)
4. Bibik O. I. Evaluation of triclabendazole effects on micromorphological parameters of *Fasciola hepatica* organs and tissues. *Trudy Vserossiyskogo in-ta gel'mintologii = Proceedings of the All-Russian Institute of Helminthology*. 2007. 45: 46–52. (In Russ.)
5. Bibik O. I. Morphofunctional characteristics of organs and tissues of the parasite and host at trematodosis after anthelmintic chemotherapy.

- Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2008; 1: 99–106. (In Russ.)
6. Bibik O. I. Pathomorphological control of changes in organs and tissues of the trematode *Dicrocoelium lanceatum* reproductive system after Fascicid treatment. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2010; 4: 41–44. (In Russ.)
 7. Bibik O. I., Nacheva L. V. Pathomorphological evaluation of Triclabendazole effects on *Fasciola hepatica* organs and tissues. *Meditsina v Kuzbasse = Medicine in Kuzbass*. 2007; 3: 19–22. (In Russ.)
 8. Bibik O. I., Nacheva L. V. Hexosaminoglycans in mature *Fasciola hepatica* organs and tissues after Triclabendazole treatment. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2008; 3: 72–76. (In Russ.)
 9. Bibik O. I., Nacheva L. V. Morphofunctional features of changes in *Fasciola hepatica* organs after treatment of sheep with Triclabendazole at fasciolosis. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2019; 13 (2): 64–72. DOI: 10.31016/1998-8435-2019-13-2-64-72 (In Russ.)
 10. Bibik O. I., Nacheva L. V., Arkhipov I. A. Pathomorphology of organs and tissues of *Fasciola hepatica* and *Paramphistomum cervi* after Antitrem treatment. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2012; 1: 13–20. (In Russ.)
 11. Bibik O. I., Nacheva L. V., Nesterok Yu. A. Micromorphological studies of *Opisthorchis felinus* organs and tissues after combined treatment with Mebendazole and Praziquantel in the experiment. *Materialy trudov uchastnikov 17-y mezhdunarodnoy telekonferentsii "Aktual'nyye problemy sovremennoy nauki" = Materials of the publications by the 17th International Video Conference "Current issues of modern science"*. Tomsk, 2016; 5 (1): 18–20. (In Russ.)
 12. Bibik O. I., Shternis T. A., Nacheva L. V. *Fasciola hepatica*: morphometric analysis of *Fasciola* eggs after Triclabendazole treatment. *Fundamental'naya i klinicheskaya meditsina = Fundamental and Clinical Medicine*. 2018; 3 (2): 28–33. DOI 10.23946/2500-0764-2018-3-2-28-33 (In Russ.)
 13. Galkina I. V., Lutfullin M. Kh., Egorova S. N., Mavlikhanov R. F., Lutfullina N. A., Idrisov A. M., Vorobyova N. V., Khamidullin R. I., Yusupova L. M., Spatlova L. V., Galkin V. I. Synthesis and trials of new anthelmintics. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2010; 2: 99–105. (In Russ.)
 14. Karmaliev R. S. Bovine helminthoses in Western Kazakhstan and measures to control them (epizootology, therapy, anthelmintic resistance): thesis ... by Dr. of Vet. Science. M., 2011; 51. (In Russ.)
 15. Mikhaylitsyn F. S., Kovalenko F. P., Repina E. A., Pivovarova D. M., Bolotov A. S. New anthelmintic Alinat and evaluation of its therapeutic activity (experimental study). *Meditsinskaya parazitologiya i parazitarnyye bolezni = Medical parasitology and parasitic diseases*. 2006; 3: 31–34. (In Russ.)
 16. Muromtsev A. B. The main ruminant helminthoses in the Kaliningrad Region (epizootology, pathogenesis, medical-preventive activities): thesis ... by Dr. of Vet. Science. St. Petersburg, 2008; 53. (In Russ.)
 17. Nacheva L.V. Morphological and ecological analysis and evolutionary dynamics of the trematode tissue systems, reaction of its organs and tissues under anthelmintic effects: thesis ... by Dr. of Biological Science. M., 1993; 57. (In Russ.)
 18. Nacheva L. V., Bibik O. I. Micromorphological studies of organs and tissues of different types of trematodes before and after anthelmintic treatment. *Trudy Vserossiyskogo in-ta gel'mintologii = Proceedings of the All-Russian Institute of Helminthology*. 2006; 44: 162–169. (In Russ.)
 19. Nacheva L. V., Bibik O. I. Histochemical studies of basal membranes of the helminth organs and tissues before and after anthelmintic treatment. *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2007; 1: 63–66. (In Russ.)
 20. Nacheva L. V., Bibik O. I., Grebenshchikov V. M. Anthelmintics and their effects on organs and tissues of *Opisthorchis felinus* (histological and histochemical studies). Kemerovo, 2000; 93. (In Russ.)
 21. Khalikov S. S., Arkhipov I. A., Varlamova A. I., Khalikov M. S., Chistyachenko Yu. S., Dushkin A. V. Ecologically safe benzimidazole-based anthelmintic drugs: synthesis, properties, medication. *Yug Rossii: ekologiya, razvitiye = South of Russia: ecology and development*. 2016; 11 (1): 178–192. DOI: 10.18470/1992-1098-2016-1-178-192 (In Russ.)
 22. Khanbegyan R. A. Search for fasciolocides with preimaginal effect and some aspects of their anthelmintic mechanism and pharmacodynamics: thesis ... by Dr. of Vet. Science. M., 1977; 45. (In Russ.)