

Ploidia DNA w chłoniakach i rozrostach odczynowych węzłów chłonnych psów

JUSTYNA SOKOŁOWSKA, KATARZYNA CZUMIŃSKA, ELŻBIETA MALICKA

Katedra Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159b, 02-776 Warszawa

Sokołowska J., Czumińska K., Malicka E.

DNA ploidy in lymphoma and reactive hyperplastic canine lymph nodes

Summary

The aim of this study was to determine the DNA content in canine lymphoma cells compared with reactive hyperplastic lymph nodes. Among 40 analyzed lymph nodes, 31 were obtained from dogs suffering from multicentric lymphoma and the other 9 cases were classified as reactive hyperplasia. Formalin-fixed, paraffin embedded samples were analyzed using the Lucia v.4.21 program for image analysis. Eleven of 31 lymphoma cases were CD3 positive. Twenty-nine neoplastic samples expressed abnormal DNA contents. Most of them (23/29) indicated DNA aneuploidy with DI ranging from 1.27 to 2.5. Among the other 6 cases 4 were classified as DNA near-diploidal (DI range 1.14-1.18), while hypoploidy was found in 2 samples (DI 0.79 and 0.88). Abnormal DNA contents occurred in both CD3⁺ and CD3⁻ lymphomas, more frequently in the latter (95% and 90.9% respectively). Aneuploidy was more frequent in T cell lymphoma compared with CD3⁻ tumors (81.8% and 70% respectively). The percentage of near-diploidal cases was higher in CD3⁻ than in CD3⁺ lymphomas (15% vs. 9.1%). Both cases of DNA hypoploidy were observed in CD3⁻ tumors. DNA diploidy occurred in 7/9 cases in reactive hyperplastic lymph nodes, the DI ranged from 0.92 to 1.03. The other 2 cases were classified as near-diploidal (DI range 1.14 and 1.16). None of the cells from reactive hyperplastic lymph nodes had DI>2.

Keywords: DNA ploidy, lymphoma, dog

Powiększenie węzłów chłonnych stwierdzone w badaniu klinicznym u psów stanowi objaw różnych procesów chorobowych. Przyczyną tego stanu może być zapalenie, rozrost odczynowy lub nowotworowy. Rozrost odczynowy jest reakcją węzła na działanie antygenów i w znacznej części przypadków dotyczy równocześnie różnych obszarów węzła. Czasami zmiany rozrostowe przeważają w korze lub warstwie przykoryowej i w przypadku bardzo nasilonych reakcji powodują zatarcie prawidłowej struktury węzła. Taki obraz niejednokrotnie stwarza duże trudności w odróżnieniu od rozrostu nowotworowego tkanki limfatycznej.

Nowotwory wywodzące się z tkanki krwiotwórczej, a zwłaszcza limfatycznej – chłoniaki, są jednymi z częściej występujących nowotworów u psów. Liczba rocznie notowanych przypadków wynosi 24/100 000 osobników i jest wyższa niż u ludzi (9).

Pojęcie „chłoniak złośliwy” (*lymphoma malignum*) obejmuje rozrost nowotworowy wywodzący się z limfocytów, który może powstawać na każdym etapie ich dojrzewania i różnicowania, poczynając od komórek prekursorowych, a kończąc na komórkach efektorowych. Jest to bardzo niejednorodna grupa nowotworów, o różnej, nie zawsze poznanej etiologii, o różnym podłożu genetycznym, rozmaitej charakterystyce epidemiologicznej i różnym przebiegu (16).

W przypadku chłoniaków bardzo istotne jest dokładne rozpoznanie procesu nowotworowego, gdyż jest ono punktem wyjścia do zastosowania odpowiedniego sposobu leczenia. Rozpoznanie opiera się głównie na ocenie histopatologicznej nowotworu, z określeniem immunofenotypu komórek. Jednakże element rokowniczy zawarty w powyższej ocenie nie zawsze jest potwierdzony przebiegiem klinicznym (14). Dlatego dla oceny charakteru biologicznego nowotworu określa się aktywność proliferacyjną jego komórek poprzez badanie ekspresji białek zależnych od cyklu komórkowego (Ki67, PCNA), oznaczenie regionów organizatorów jąderkowych, a także ocenę ploiddii DNA.

Stwierdzenie nieprawidłowej ilości DNA jest uważane za jedną z cech nowotworzenia. Aneuploidia DNA jest od dawna wykorzystywana w medycynie ludzkiej jako czynnik zarówno diagnostyczny, jak i prognostyczny w wielu różnych nowotworach, np. raku prostaty, sutka, czerniaku czy nowotworach pęcherza moczowego (17-19, 24). Również u psów stwierdzono obecność nieprawidłowej zawartości DNA w komórkach takich nowotworów, jak: guzy gruczołu mlekowego, pęcherza moczowego czy mastocytomie (2, 5, 10).

U ludzi aneuploidia występuje w 30-40% przypadków chłoniaka, z niższą częstotliwością niż ma to miejs-

ce w innych złośliwych guzach litych (15). Jest ona wykrywana w 10-20% chłoniaków o niskim stopniu złośliwości i w około 50-60% chłoniaków pośredniego i wysokiego stopnia złośliwości (4, 13, 14). Przyjmuje się, że w przypadku tej grupy nowotworów, aneuploidia jest bardziej użyteczna w diagnostyce niż w rokowaniu (4, 13, 23). Badania dotyczące zawartości DNA w komórkach chłoniaka u psów są nieliczne (22).

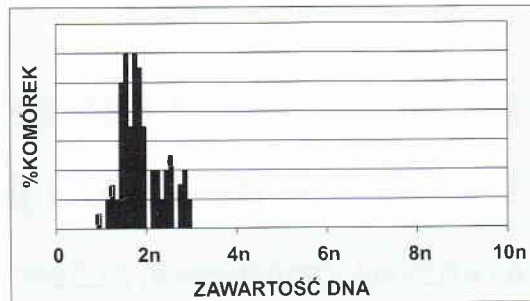
Celem badań było określenie zawartości DNA w komórkach chłoniaka w porównaniu z rozrostami odczynowymi węzłów chłonnych psów oraz porównanie występowania aneuploidii w chłoniakach wywodzących się z komórek B i T.

Materiał i metody

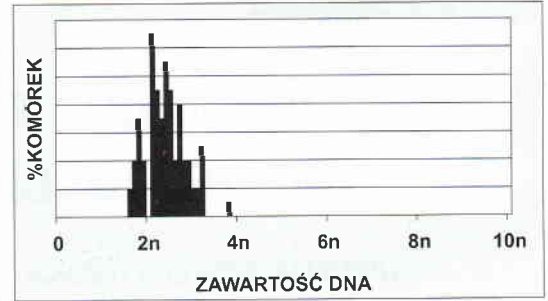
Badania przeprowadzono na węzłach chłonnych 40 psów, z których 31 pochodziło od zwierząt z wieloogniskową postacią chłoniaka, a pozostałe 9 węzłów chłonnych wykazywało cechy rozrostu odczynowego. Materiał pochodzący od psów z rozrostem nowotworowym układu limfatycznego został pobrany sekcyjnie (16 przypadków) lub operacyjnie w czasie diagnostycznej biopsji węzła chłonnego od psów nasuwających kliniczne podejrzenie chłoniaka (15 przypadków). Wszystkie węzły odczynowe zostały pobrane podczas wykonywania sekcji zwłok psów z różnych przypadków chorobowych.

Materiał utrwalono w 10% zbuforowanej formalinie, poddano rutynowej obróbce histopatologicznej i zatopiono w parafinie. W celu przeprowadzenia diagnostyki histopatologicznej preparaty barwiono metodą przeglądową hematoksylina-eozyna oraz metodami immunohistochemicznymi z wykorzystaniem przeciwciał CD3, stanowiącego marker limfocytów T i CD79 α - markera limfocytów B (obydwa firmy Dako). Reakcje immunohistochemiczne przeprowadzono wg przyjętych protokołów barwienia z wykorzystaniem systemu En Vision+single Reagents (Dako).

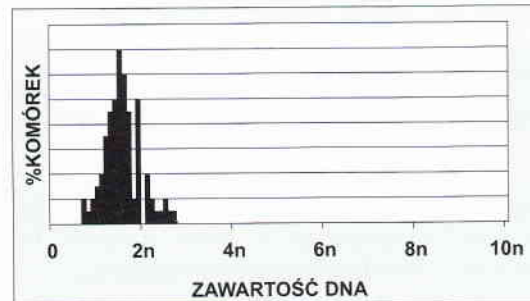
Ocenę ploidiu przeprowadzono w preparatach barwionych metodą Feuglena przy użyciu systemu komputerowej analizy obrazu mikroskopowego Lucia v.4.21. W każdym z badanych przypadków określono wielkość wskaźnika zintegrowanej gęstości optycznej (IOD) jąder limfocytów. Dokonano pomiarów IOD przynajmniej 100 wybranych losowo komórek. Układ pomiarowy kalibrowano wg wzorcowej ilości DNA jąder komórek kontrolnych (limfocytów



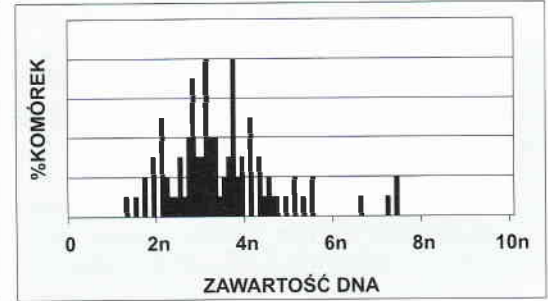
Rozkład diploidalny, przypadek rozrostu odczynowego



Rozkład okołodiploidalny, przypadek chłoniaka CD3⁺



Rozkład hipodiploidalny, przypadek chłoniaka CD3⁺



Rozkład aneuploidalny, przypadek chłoniaka CD3⁺

Ryc. 1. Zawartość DNA (histogram) w komórkach chłoniaka i limfocytach węzłów chłonnych odczynowych

strefy brzeżnej grudek węzłów chłonnych z rozrostem odczynowym).

Wskaźnikami charakteryzującymi rozkłady ploidalności były: indeks DNA (DI) i procentowy wskaźnik przekroczenia wartości 5n (5nER%) i 8n (8nER%). Rozkład ploidalności we wszystkich badanych przypadkach ustalano na podstawie wartości DI i uzyskanych na ich podstawie histogramów.

Histogramy z jednym pikiem i wartością DI w przedziale 0,9-1,1 klasyfikowano jako diploidalne, jeżeli natomiast DI przyjmowało wartości od 1,12 do 1,22 – histogramy klasyfikowano jako bliskie diploidalnym, a przy DI < 0,9 – jako hipodiploidalne. W przypadku rozkładu wielomodalnego z licznymi pikami na histogramie i DI > 1,22, uznawano je za aneuploidalne (ryc. 1).

Wyniki i omówienie

We wszystkich przypadkach chłoniaka stwierdzono obecność rozrostu nowotworowego niszczącego prawidłową strukturę narządów limfatycznych.

Pozytywny odczyn CD3 stwierdzono w 11/31 badanych przypadkach, co wskazuje, że chłoniaki te wywodzą się z limfocytów T, podczas gdy pozostałe rozrosty traktowano jako wywodzące się z linii limfocytów B. W 10/20 przypadkach chłoniaków CD3⁻, w których wykonano barwienie z CD79 α , uzyskano reakcję pozytywną.

W badanych rozrostach o charakterze nowotworowym rozkład ploidalności był różny, zdecydowanie przeważały przypadki o nieprawidłowej zawartości DNA (29/31), w pozostałych dwóch przypadkach stwierdzono rozkład diploidalny o DI 1,05 i 1,08. Wśród chłoniaków o nieprawidłowej zawartości DNA większość (23/29) charakteryzowała się rozkładem

Tab. 1. Analiza ploidi DNA i immunofenotypu badanych chłoniaków

Lp.	Rozkład DNA	DI	5nER%	8nER%	CD3
1.	Diploidalny	1,05	-	-	+
2.	Diploidalny	1,08	-	-	-
3.	Okołodiploidalny	1,14	-	-	-
4.	Okołodiploidalny	1,15	-	-	+
5.	Okołodiploidalny	1,18	1	-	-
6.	Okołodiploidalny	1,18	-	-	-
7.	Aneuploidalny	1,27	-	-	-
8.	Aneuploidalny	1,30	-	-	-
9.	Aneuploidalny	1,31	-	-	+
10.	Aneuploidalny	1,38	2	-	-
11.	Aneuploidalny	1,39	1	-	-
12.	Aneuploidalny	1,42	2	-	-
13.	Aneuploidalny	1,51	5	-	-
14.	Aneuploidalny	1,52	2	-	-
15.	Aneuploidalny	1,52	4	-	-
16.	Aneuploidalny	1,58	4	-	+
17.	Aneuploidalny	1,59	4	-	+
18.	Aneuploidalny	1,67	7	1	-
19.	Aneuploidalny	1,69	8	-	+
20.	Aneuploidalny	1,70	10	-	+
21.	Aneuploidalny	1,76	8,4	-	-
22.	Aneuploidalny	1,83	16,0	-	-
23.	Aneuploidalny	1,86	16,0	-	+
24.	Aneuploidalny	1,88	20,8	1,6	+
25.	Aneuploidalny	1,95	13,0	1,0	-
26.	Aneuploidalny	2,02	27,0	-	-
27.	Aneuploidalny	2,24	34,4	0,8	-
28.	Aneuploidalny	2,40	42,2	5,0	+
29.	Aneuploidalny	2,50	43,0	2,0	+
30.	Hipoploidalny	0,79	-	-	-
31.	Hipoploidalny	0,88	-	-	-

aneuploidalnym o DI od 1,27 do 2,5, średnie DI dla tych przypadków wynosiło 1,71. W 4/29 chłoniaków rozkład był bliski diploidalnemu, DI od 1,14 do 1,18, a w pozostałych dwóch przypadkach stwierdzono hipoploidię (DI 0,79 i 0,88).

Oba przypadki hipoploidalne były CD3⁻, wśród chłoniaków diploidalnych jeden był CD3⁻ i jeden CD3⁺. Wśród chłoniaków o rozkładzie DNA bliskim diploidalnemu trzy były CD3⁻, a jeden CD3⁺, natomiast aneuploidię stwierdzono w 14 chłoniakach CD3⁻ i 9 CD3⁺. Wyniki zawarte są w tab.1 i 2.

Do oceny rozkładu ploidalności komórek nowotworowych wykorzystano również wskaźniki przekroczenia wartości (ER%) 5n i 8n. Przekroczenie wskaźnika

Tab. 2. Wyniki badań ploidi DNA w chłoniakach i rozrostach odczynowych

Rozkład DNA	Chłoniaki CD3 ⁻ (%)	Chłoniaki CD3 ⁺ (%)	Chłoniaki ogółem (%)	Rozrost odczynowy (%)
Diploidalny	5	9,1	6,4	77,8
Okołodiploidalny	15	9,1	12,9	22,2
Aneuploidalny	70	81,8	74,2	0
Hipoploidalny	10	0	6,4	0

5nER% stwierdzono w 21/31 przypadkach, gdzie przyjmował on wartości od 1% do 43%, a w 6 z nich również 8nER%, zakres od 0,8% do 5%. Wskaźnik 5nER% był przekroczony w 65% chłoniaków CD3⁺ i 72,7% chłoniaków CD3⁻. Średnia wartość wskaźnika 5nER% była wyższa dla rozrostów CD3⁺ niż CD3⁻ (wartości te wynosiły odpowiednio 18,5 i 9,4). Wyższa była również średnia wartość wskaźnika 8nER% dla chłoniaków z komórek T. W chłoniakach CD3⁺ średnia wartość wskaźnika 8nER% wynosiła 2,9, a dla chłoniaków CD3⁻ 0,9 (tab. 1).

Indeks DNA dla większości jąder limfocytów węzłów chłonnych z rozrostem odczynowym mieścił się w granicach odpowiadających jądom komórek diploidalnych. W 7/9 węzłów z rozrostem odczynowym stwierdzono rozkład diploidalny o DI od 0,92 do 1,03; w pozostałych dwóch przypadkach rozkład był bliski diploidalnemu (DI 1,14 i 1,16). W żadnym z badanych przypadków reakcji odczynowej nie stwierdzono komórek o zawartości DNA przekraczającej 4n (DI = 2). Wyniki ilustruje tab. 2 i ryc. 1.

Prawidłowa komórka somatyczna zawiera diploidalną ilość DNA (2n). Wszelkie odstępstwa od tej wartości były przez lata uważane za jedno z bezwzględnych kryteriów nowotworzenia. Zakładano również, że stopień zaburzenia zawartości DNA koreluje ze stopniem złośliwości nowotworu – im wyższy poziom aneuploidii, tym guz jest bardziej złośliwy. Dalsze badania wykazały jednak, że ta zależność nie jest do końca prawdziwa. Wykryto przypadki łagodnych rozrostów nowotworowych, zwłaszcza w obrębie gruczolaków narządów dokrewnych (11), o nieprawidłowej zawartości materiału genetycznego, np. aneuploidię stwierdzono w gruczolaku pęcherzykowym tarczycy (12). Dlatego nie należy traktować tej cechy jako jedyne kryterium złośliwości.

W przeprowadzonych badaniach, w zdecydowanej większości przypadków limfocyty pochodzące z węzłów z rozrostem odczynowym (77,8%) były diploidalne. Jednakże dwa przypadki charakteryzowały się okołodiploidalną zawartością DNA. Jest to zgodne z danymi pochodzącymi z medycyny ludzkiej, gdzie analiza zawartości DNA tkanki limfatycznej wykazała możliwość występowania nieprawidłowej zawartości DNA w przebiegu zapaleń i rozrostu odczynowego węzłów chłonnych (1), nawet do 50% przypadków (7). Analiza cytogenetyczna tych limfocytów wykazała

strukturalne i numeryczne zmiany chromosomalne w komórkach zarówno T, jak i B, po ich stymulacji mitogenami. Wszystkie stwierdzone nieprawidłowości chromosomów były przypadkowe (7).

Alanen i wsp. (1) stwierdzili, że wszystkie przypadki nienowotworowych rozrostów węzłów chłonnych o nieprawidłowej zawartości DNA wykazywały nieznaczne odstępstwa od wartości DI charakterystycznej dla komórki diploidalnej, nie przekraczając $DI = 1,15$. Podobnie, w obu naszych okołodiploidalnych przypadkach rozrostów węzłów chłonnych psów DI również osiągnęło podobną wartość (1,14 i 1,16). Wyniki badań wskazują, że wysokie wartości DI, przekraczające znacznie wartość 1,15 występują jedynie w rozrostach nowotworowych układu limfatycznego (1).

W badaniach dotyczących chłoniaków u ludzi procent nowotworów, w których stwierdzono nieprawidłową zawartość DNA waha się od 19% (15) do około 60% (8, 14). Przyjmuje się, że zjawisko to dotyczy około 30-40% przypadków tych guzów (15). Wśród chłoniaków o nieprawidłowej zawartości DNA przeważają przypadki, w których większość pików na histogramie jest ulokowana w niskich regionach hiperploidalnych, o DI od 1 do 1,3 (4). Większość z nich charakteryzuje się obecnością pojedynczych pików, podczas gdy przypadki o rozkładzie wielomodalnym są nieliczne (4), np. Lakkala i wsp. (15) na 9 guzów o nieprawidłowej zawartości DNA wykryli tylko dwa chłoniaki o typowym rozkładzie aneuploidalnym, a z 63,3% aneuploidalnych chłoniaków o niskim stopniu złośliwości, badanych przez Krygier-Stojałowską i wsp. (14) jedynie 5,1% cechowało się rozkładem wielomodalnym. Istnieje też znaczny odsetek chłoniaków o diploidalnym rozkładzie DNA, niezależnie od stopnia złośliwości (1, 13-15).

Uzyskane w badaniach własnych dane wskazują na zdecydowanie częstsze występowanie zmian w zawartości DNA w komórkach chłoniaka u psów. Stwierdzono je w 93,6% przypadków, z czego aż 74,2% z nich wykazywało typowy rozkład aneuploidalny, a tylko 12,9% rozkład okołodiploidalny. Odmienne wyniki uzyskiwał w badaniach Teske (22), który w chłoniakach u psów stwierdzał zdecydowanie wyższy odsetek przypadków diploidalnych (70,2%), a aneuploidię obserwował jedynie w 21,3% przypadków. Chłoniaki o okołodiploidalnej zawartości DNA stanowiły 8,5%, co jest porównywalne z wynikami uzyskanymi w niniejszych badaniach (12,9%).

W zdecydowanej większości badanych przypadków, podobnie jak to ma miejsce u ludzi, piki lokalizowały się na histogramie w niskim regionie hiperploidalnym ($2n-4n$). Jedynie w 4 przypadkach DI przekroczyło wartość 2,00 (zakres 2,02-2,5). Wszystkie badane przypadki o $DI > 2$ charakteryzowały się rozkładem wielomodalnym, podczas gdy u ludzi znaczny odsetek chłoniaków o wysokiej wartości DI ma rozkłady okołotraploidalne, z DI w zakresie 1,8-2,3 (3, 4, 21). Również Teske (22) obserwował lokalizację pików aneu-

ploidalnych w niskim regionie hiperploidalnym. Średnie wartości DI dla chłoniaków aneuploidalnych u psów, zarówno w niniejszych badaniach ($DI = 1,71$) jak i w pracy Teske (22) ($DI = 1,11$), są zbliżone, aczkolwiek w przedstawionych tu przypadkach wyższe. W badaniach własnych, jak również w pracy Teske (22) nie stwierdzono w żadnym z przypadków rozkładów o charakterze poliploidalnym, które, choć niezbyt często, są spotykane w przypadkach ludzkich chłoniaków (1, 3, 8, 14, 21).

Różnice w rozkładzie DNA między chłoniakami psów i ludzi może tłumaczyć m.in. fakt, że większość chłoniaków psów jest, przy zastosowaniu ludzkich schematów, klasyfikowana jako rozrosty o dużym lub pośrednim stopniu złośliwości (9). Wyniki badań ploidi chłoniaków ludzi wskazują na zdecydowanie częstsze występowanie nieprawidłowej zawartości DNA w chłoniakach o pośrednim i wysokim stopniu złośliwości (1, 4, 6, 8, 13, 21), aczkolwiek tu także istnieje bardzo duży rozrzut pomiędzy danymi uzyskanymi przez różnych autorów, od 0% (15) do 90% (6). Wskazuje się także na częstsze występowanie aneuploidii o rozkładzie wielomodalnym w chłoniakach o wysokim, w porównaniu z tymi o niskim stopniu złośliwości (14).

Hipoploidię w badaniach własnych stwierdzano rzadko, co zgodne jest z wynikami badań innych autorów dotyczących chłoniaków psów (22) czy też ludzi (4, 21).

W przeprowadzonych badaniach nieprawidłową zawartość DNA stwierdzono w 95% chłoniaków $CD3^-$ i 90,9% chłoniaków $CD3^+$, co jest zgodne z danymi medycyny ludzkiej, które wskazują na częstszy udział aneuploidii w chłoniakach B niż T, choć różnice te nie są znaczne (4). Uzyskane wyniki wskazują również na częstsze występowanie przypadków aneuploidalnych z licznymi pikami na histogramie w chłoniakach $CD3^+$, natomiast chłoniaki o rozkładzie okołodiploidalnym były częstsze w rozrostach $CD3^-$. Guzy $CD3^-$ miały bardziej urozmaicone rozkłady DNA, bo do tej grupy, oprócz przypadków aneuploidalnych i okołodiploidalnych, należą obydwie przypadki hipoploidalne. Podobne wyniki uzyskał również Teske (22), który częściej obserwował aneuploidię w chłoniakach wywodzących się z komórek T niż B.

Dla badanych przypadków określono również wskaźniki przekroczenia wartości $5n$ ($5nER\%$) i $8n$ ($8nER\%$). Są one uznawane za wartości graniczne dla rozrostów o mniejszej i większej złośliwości, a dla pewnych nowotworów, tj. raka jajnika, wskaźnik $5nER\%$ jest ważny pod względem prognostycznym (20). Jednak w przypadku chłoniaków nie wydaje się, aby jego określenie dawało dodatkowe informacje odnośnie rokowania i przebiegu choroby. Stwierdzono jedynie, że u człowieka przypadki chłoniaka z zajęciem szpiku kostnego miały niższą wartość wskaźnika $5nER\%$ (8). W przeprowadzonym badaniu stwierdzono wyższe wartości wskaźników $5nER\%$ i $8nER\%$, jak i częstsze ich występowanie w chłoniakach $CD3^+$.

Wyniki badań zawartości DNA jąder limfocytów węzłów z rozrostem odczynowym wykazywały diploidalne i okołodiploidalne wartości. Tak więc badanie ploidy DNA w rozrostach odczynowych w porównaniu z rozrostami nowotworowymi, może stanowić wskazówkę diagnostyczną. Przeprowadzone badania wskazują na częstsze nieprawidłowości zawartości DNA w chłoniakach z komórek T, co koreluje z obserwowanym klinicznie ich bardziej złośliwym charakterem. Dla wyciągnięcia ostatecznych wniosków odnośnie przydatności tego badania dla rokowania i prognozy w chłoniakach psów wymagane są dalsze badania, zwłaszcza w zestawieniu z innymi cechami komórek tych nowotworów.

Piśmiennictwo

1. Alanen K. A., Joensuu H., Klemi P. J.: DNA content analysis of fine needle aspirates obtained from lymphatic tissue. *Analyt. Quant. Cytol. Histol.* 1993, 15, 259-264.
2. Ayl R. D., Couto C. G., Hammer A. S., Weisbrode S., Ericson J. G., Mathes L.: Correlations of DNA ploidy to tumor histologic grade, clinical variables, and survival in dogs with mast cell tumors. *Vet. Pathol.* 1992, 29, 386-390.
3. Billiet J., Criel A., van Vuchelen J., Hidajat M., Van Hoof A., Louwagie A., Michielssen P.: Relationship between nuclear morphology and DNA content in large cell lymphomas. *Analyt. Quant. Cytol. Histol.* 1994, 16, 339-343.
4. Braylan R. C.: Flow-cytometric DNA analysis in the diagnosis and prognosis of lymphoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 1993, 99, 374-380.
5. Clemo F. A. S., DeNicola D. B., Carlton W. W., Morrison W. B., Walker E.: Flow cytometric DNA ploidy analysis in canine transitional cell carcinoma of urinary bladders. *Vet. Pathol.* 1994, 31, 207-215.
6. Costa A., Mazzini G., Del Bianco G., Silvestrini R.: DNA content and kinetic characteristics of non-Hodgkin's lymphoma determined by flow cytometry and autoradiography. *Cytometry* 1981, 2, 185-188.
7. Grace J., Hall B. E., Lew M., Singh S., Pittman S., Palmer A. A., Zbroja R., Wüss J., Vincent P. C.: Cytogenetic abnormalities in benign lymphoid hyperplasia: A dual-parameter study using chromosome analysis and flow cytometry. *Int. J. Cancer* 1989, 44, 959-964.
8. Grace J., Stankovic R., Gupta L.: Detection of aneuploidy and polyploidy in non-Hodgkin's lymphoma by computer video image analysis. *Analyt. Quant. Cytol. Histol.* 1993, 15, 265-273.
9. Greenlee P. G., Filippa D. A., Quimby F. W., Patnaik A. K., Calvano S. E., Matus R. E., Kimmel M., Hurvitz A. I., Lieberman P. H.: Lymphomas in dogs. A morphologic, immunologic and clinical study. *Cancer* 1990, 66, 480-490.
10. Hellmen E., Lindgren A., Linell F., Matsson P., Nilsson A.: Comparison of histology and clinical variables to DNA ploidy in canine mammary tumors. *Vet. Pathol.* 1988, 25, 219-226.
11. Joensuu H., Klemi P. J.: DNA aneuploidy in adenomas of the endocrine organs. *Am. J. Pathol.* 1988, 132, 145-151.
12. Joensuu H., Klemi P., Eerola E.: DNA aneuploidy in follicular adenomas of the thyroid gland. *Am. J. Pathol.* 1986, 123, 373-376.
13. Joensuu H., Klemi P. J., Eerola E.: Diagnostic value of DNA flow cytometry combined with fine needle aspiration biopsy in lymphomas. *J. Pathol.* 1988, 154, 237-245.
14. Krygier-Stojalowska A., Urasiński I., Kuchnio M., Gapski Z.: DNA-ploidia w chłoniakach niezłaziowych o niskiej złośliwości. *Acta Haem. Pol.* 1993, 24, 153-160.
15. Lakkala T., Laasonen A., Franssila K. A., Teerenhovi L., Knuutila S.: Comparison of DNA and karyotype aneuploidy in malignant lymphomas. *Am. J. Clin. Pathol.* 1990, 94, 600-605.
16. Mioduszevska O.: Patologia chłoniaków i ziarnicy złośliwej. *Pol. J. Path.* 1998, 49, supplement.
17. Pilch H., Guzel S., Schaffer U., Tanner B., Heine M.: Evaluation of DNA ploidy and degree of DNA abnormality in benign and malignant melanocytic lesions of the skin using video imaging. *Cancer* 2000, 88, 1370-1377.
18. Pinto A. E., Andre S., Mendonca E., Silva G., Soares J.: Overall survival in advanced breast cancer: relevance of progesterone receptor expression and DNA ploidy in fine-needle aspirates of 392 patients. *Int. J. Biol. Markers* 2003, 18, 7-12.
19. Pollack A., Grignon D. J., Heydon K. H., Hammond E. H., Lawton C. A., Mesic J. B., Fu K. K., Porter A. T., Abrams R. A., Shipley W. U.: Prostate cancer DNA ploidy and response to salvage hormone therapy after radiotherapy with or without short-term total androgen blockade: An analysis of RTOG 8610. *J. Clin. Oncol.* 2003, 21, 1238-1248.
20. Rodenburg C. J., Ploem-Zaaijer J. J., Cornelisse C. J., Mesker W. E., Hermans J., Heintz P. A., Ploem J. S., Fleuren G. J.: Use of DNA image cytometry in addition to flow cytometry for the study of patients with advanced ovarian cancer. *Cancer Res.* 1987, 47, 3938-3941.
21. Saikia U. N., Dey P., Vohra H., Gupta S. K.: DNA flow cytometry of non-Hodgkin's lymphomas: Correlations with cytologic grade and clinical relapse. *Diagn. Cytopathol.* 2000, 22, 152-156.
22. Teske E., Rutteman G. R., Kuipers-Dijkshoorn N. J., van Dierendonck J. H., van Heerde P., Cornelisse C. J.: DNA ploidy and cell kinetic characteristics in canine non-Hodgkin's lymphoma. *Exp. Hematol.* 1993, 21, 579-584.
23. Winter J. N., Andersen J., Variakojis D., Gordon L. I., Fisher R. I., Oken M. M., Neiman R. S., Jiang S., Bauer K. D.: Prognostic implications of ploidy and proliferative activity in the diffuse aggressive non-Hodgkin's lymphomas. *Blood* 1996, 88, 3919-3925.
24. Wu L., Lochhead A., Yang J., Ow K. T., Russell P. J.: DNA-flow cytometric analysis of bladder TCC using paraffin-embedded tissues. *Urol. Int.* 1998, 60, 208-215.

Adres autora: lek. wet. Justyna Sokolowska, ul Nowoursynowska 159b, 02-776 Warszawa; e-mail: justynasok@interia.pl

**Komitet Nauk Weterynaryjnych PAN
oraz**

**Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego
Katedra Kształtowania Bezpieczeństwa Żywności
Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie**

organizują konferencję naukową nt.

WETERYNARYJNA OCHRONA ZDROWIA KONSUMENTA

która odbędzie się 25 listopada 2004 r. w Olsztynie

Informacje:

prof. dr hab. Jan Uradziński, Katedra Weterynaryjnej Ochrony Zdrowia Publicznego
Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego
ul. M. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn
tel./fax (89) 532-39-95, e-mail: jan.uradzinski@uwm.edu.pl