

Zastosowanie cytomorfometrii w onkologii weterynaryjnej

Rafał Przeździecki¹, Rafał Sapierzyński²

z Gabinetu Weterynaryjnego Dogmed w Warszawie¹ oraz Zakładu Patomorfologii Zwierząt Katedry Patologii i Diagnostyki Weterynaryjnej Wydziału Medycyny Weterynaryjnej w Warszawie²

Patolodzy medycyjni i weterynaryjni stale poszukują metod zwiększających obiektywizm badania histopatologicznego (cytopatologicznego). Pojawia się coraz więcej prac na temat zastosowania cytomorfometrii wspomaganej komputerowo w diagnostyce guzów nowotworowych. Cytometria obrazowa jest metodą badawczą, której istotą jest ocena kształtu, wielkości oraz liczby i rozmieszczenia poszczególnych struktur w preparatach mikroskopowych. Analizie takiej podlegają poszczególne narządy, elementy struktury tkanek, pojedyncze komórki oraz organelle i struktury subkomórkowe.

Metody morfometryczne (morfometria, histomorfometria, cytomorfometria) polegają na obiektywnej analizie kształtu, wymiarów i struktury interesujących nas narządów, tkanek lub komórek (1, 2). Dzięki tej metodzie możliwe jest uzyskanie dużej ilości informacji odnośnie do badanych parametrów, takich jak liczebność komórek oraz pole ich powierzchni, obwód, długość i szerokość, a także średnica. Dzięki zastosowaniu działań matematycznych można obliczyć dalsze parametry, np. sumaryczne pole i współczynnik kształtu. Pośród metod morfometrycznych należy wymienić: – planimetrię – służącą wykonywaniu pomiarów na płaszczyźnie dwuwymiarowej, – stereologię – polegającą na matematycznym przekształceniu obrazu dwuwymiarowego w trójwymiarowy i obliczaniu dzięki temu np. objętości badanych komórek.

Badania wielkości i kształtu poszczególnych komórek i jąder komórkowych w preparatach cytologicznych nazywa się badaniem cytomorfometrycznym. Cytomorfometria wykorzystuje do badania mikroskopy sprzężone z urządzeniami do rejestracji obrazu mikroskopowego oraz z aplikacjami komputerowymi umożliwiającymi pomiary wybranych parametrów. Analiza jakościowa pozwala na obiektywną ocenę charakterystyki morfologicznej badanych struktur (średnica, obwód, kształt), z kolei analiza ilościowa danych liczbowych umożliwia określenie ilościowych cech badanych struktur (liczba komórek w danej tkance, średnia liczba jąder czy ziarnistości cytoplazmatycznych).

Badanie histologiczne i cytologiczne wizualne są zazwyczaj wykorzystywane do diagnostyki nowotworów i rokowania w onkologii zarówno medycznej, jak i weterynaryjnej. Jednak są to subiektywne oceny różnych cech komórek nowotworowych widoczne w mikroskopie świetlnym i z tego powodu nie zawsze są to badania odtwarzalne. Zatem komputerowo wspomagana analiza morfometryczna obrazu stanowi postęp w ilościowych i standaryzowanych metodach diagnostycznych. W tym kontekście morfometria jest głównie stosowana do oceny rokowania w przypadku niektórych raków, ale niektórzy badacze wykorzystują ją jako ilościową metodę do oceny inwazyjności guza i progresji nowotworowej.

Większość badań poświęconych morfometrii w onkologii weterynaryjnej skupia się na ocenie takich parametrów morfometrycznych, jak: średnia powierzchnia jąder (mean nuclear area – MNA), średni obwód jąder (mean nuclear perimeter – MNP), średnia średnica jąder (mean nuclear diameter – MND) i kulistość jąder (nuclear roundness – NR). Parametry te mogą być zastosowane jako obiektywne kryteria diagnostyczne w różnicowaniu pomiędzy guzami niezłośliwymi a złośliwymi, dodatkowo na podstawie zebranych wyników i obserwacji pacjentów stawiane są próby określenia czasu przeżycia pacjenta.

Rola morfometrii jako metody diagnostycznej w różnicowaniu guzów niezłośliwych i złośliwych była badana głównie w oparciu o preparaty histologiczne. W dobie popularyzacji biopsji cienkoigłowej i szybkiej diagnostyki cytopatologicznej potrzebne są badania opracowane w preparatach cytologicznych określające parametry morfometryczne tkanek fizjologicznych, tkanek reaktywnych oraz guzów niezłośliwych i złośliwych. Wspomagana komputerowo morfometria może być zastosowana zarówno do preparatów cytologicznych i histologicznych, ale zastosowanie cytologiczne jest praktyczniejsze (2, 3), bo może być wykonane przed operacją, ułatwiając lekarzowi i właścicielowi podjęcie właściwych decyzji dotyczących pacjenta (4). Po za szybkością badania cytopatologicznego i małą inwazyjnością pobierania próbek do badania, analiza

Application of cytomorphometry in veterinary oncology

Przeździecki R.¹, Sapierzyński R.², Veterinary Surgery Dogmed in Warsaw¹, Department of Pathology and Veterinary Diagnostics, Faculty of Veterinary Medicine, Warsaw University of Life Sciences – SGGW²

The aim of this paper was to present a novel approach to the diagnostics of neoplastic diseases in veterinary medicine. Routine histology and cytology are usually employed for cancer diagnosis and prognosis in both human and animal oncology. The accuracy of these procedures is dependent on subjective assessment of different neoplastic cell features so the results are not always reproducible/reliable. Computer-assisted measurement of cellular and nuclear parameters (morphometry, cytomorphometry), has several advantages over conventional visual assessment and offers objectivity and reproducibility in detecting changes not immediately apparent during routine examination. Computer-assisted morphometry could be applied both in cytology and histology, but cytological application is more convenient for practical purposes. The benefits were demonstrated when morphometry has been used in pathological studies and for improving conventional diagnostic methods. Several studies have considered nuclear morphometric analysis in the diagnosis and prognosis of various types of cancer in veterinary medicine. Measurement is easier on cytological than on histological specimens because of the more homogeneous background allowing faster evaluation and interpretation. Moreover, cells in cytological smears are arranged in one plane, thus facilitating morphometric evaluation.

Keywords: cytomorphometry, cytopathology, morphometry, veterinary oncology.

ilościowa preparatów cytologicznych posiada dodatkową przewagę nad morfometrią preparatów histologicznych. Mianowicie komórki w rozmazach cytologicznych rozmieszczone są na jednej płaszczyźnie i są bardziej rozproszone, zatem badanie morfometryczne jest łatwiejsze, w przeciwieństwie do skrawków histologicznych, gdzie granice komórek często nakładają się na granice innych komórek. W badaniach histologicznych tkanki podlegają bardzo licznym reakcjom chemicznym, które mogą zdeformować zarówno jądra, jak i morfologię cytoplazmy i wpłynąć na wyniki morfometryczne, w przeciwieństwie do badania cytopatologicznego, gdzie taki wpływ jest mniejszy.

Jest kilka zalet zastosowania morfometrii w patologii:

- jeżeli zostanie ona zastosowana ściśle zgodnie z ustalonymi zasadami, pomiary są obiektywne i odtwarzalne (powtarzalne);

- można wykryć różnice, które nie są oczywiste dla ludzkiego oka;
- ponieważ pomiar jest wartością liczbową, otrzymane informacje mogą być poddane analizie statystycznej.

Takie podejście jest potencjalnie ważne do rozwoju klasyfikacji choroby i dla decyzji o leczeniu, innym ważnym zastosowaniem jest ocena rokowania (1, 3, 5).

Większość badań poświęconych cytomorfometrii w onkologii weterynaryjnej skupia się na ocenie, czy parametry morfometryczne, takie jak: średnia powierzchnia jąder, średni obwód jąder, średnia średnica jąder i kulistość jąder mogą być zastosowane jako obiektywne kryteria diagnostyczne w różnicowaniu pomiędzy guzami niezłośliwymi a złośliwymi. Na podstawie tych wyników i obserwacji pacjentów stawiane są próby określenia czasu przeżycia. W ostatnich latach rozwój komputerowej, ilościowej i jakościowej analizy obrazu w onkologii weterynaryjnej dowiódł użyteczności oceny morfometrycznej jąder komórkowych w diagnostyce: raków płaskonabłonkowych u psów (6), guzów gruczołu sutkowego u psów i kotów (7, 8, 9, 10), guzów gruczołów apokrynowych u psów (11), guzów gruczołów okolicy odbytu u psów (12, 13), guzów podstawonabłonkowych u psów (14) oraz guzów z komórek tucznych u psów (15, 16, 17).

Nowotwory skóry

Raki płaskonabłonkowe u psów stanowią około 4–5% wszystkich nowotworów skóry. W przypadku tych zmian nawroty i przerzuty związane są ze stopniem zróżnicowania komórek nowotworowych i są bardziej prawdopodobne dla raków słabo zróżnicowanych. Ważnym czynnikiem diagnostycznym i prognostycznym jest określenie stopnia zróżnicowania komórek nowotworowych, biorąc pod uwagę: rozmiar guza, powiększenie jąder, zmiany w kształcie jąder, zmiany w wyglądzie chromatyny jądrowej oraz jąderek komórkowych, a także wartością indeksów mitotycznych. Jednak niektóre z tych parametrów są określane na podstawie subiektywnej oceny dokonywanej przez patologa, co nie zawsze zapewnia powtarzalność wyników. W badaniach cytomorfometrycznych, a więc ocenie zobiektywizowanej, wykazano statystycznie istotne różnice w wartościach średniej powierzchni jąder komórkowych oraz średniego obwodu jąder komórkowych w zależności od stopnia złośliwości raków płaskonabłonkowych u psów (6). Autorzy tej pracy konkludują, że analiza morfometryczna jąder jest prostą i odtwarzalną metodą, która może być stosowana jako obiektywne kryterium diagnostyczne i może dostarczać dodatkowych informacji na temat biologicznego

zachowania się skórnych guzów płaskonabłonkowych u psów (6).

W 2007 r. Simeonov i Simeonova (11) zaprezentowali wyniki pracy nad zastosowaniem analizy cytomorfometrycznej jako metody różnicującej gruczolaki od raków apokrynowych u psów (11). Dokonując oceny komórek w preparatach cytologicznych autorzy stwierdzili, że średnia powierzchnia jąder, średni obwód jąder, średnia średnica jąder i kulistość jąder różnią się statystycznie pomiędzy guzami niezłośliwymi i złośliwymi. Średnie wartości tych wskaźników w guzach złośliwych były wyższe niż w guzach łagodnych. Ponadto dające przerzuty raki apokrynowe wykazały istotnie wyższe wartości średniej powierzchni jąder, średniego obwodu jąder i średniej średnicy jąder niż te obserwowane w innych zmianach złośliwych (1). W 2008 r. ci sami autorzy przedstawili uzupełniające badania dotyczące analizy ilościowej jąder komórkowych guzów wywodzących się z gruczołów okolicy okołodbytowej u psów (12, 13). Celem pierwszego badania było zbadanie wartości prognostycznej komputerowo wspomaganą morfometrią jąder komórkowych w rozpoznawaniu i rokowaniu dla gruczolakoraków gruczołów okołodbytowych u psów. W drugim podjęto próbę oceny możliwości wykorzystania cytomorfometrii jąder komórkowych jako pomocniczej metody diagnostycznej do różnicowania gruczolaków i raków gruczołów zatok przyodbytowych u psów oraz wartości prognostycznych morfometrii jąder w przypadkach rozpoznania zmian złośliwych. W obu doniesieniach wyniki były jednoznaczne, oceniane parametry cytomorfometryczne charakteryzowały się wysoką przydatnością odnośnie do założonych w obu pracach celów. Analizowane parametry okazały się przydatne zarówno w diagnostyce różnicowej zmian złośliwych, jak i niezłośliwych oraz jako wskaźniki prognostyczne w przypadku zmian złośliwych (12, 13). Wykazano mianowicie, że rozmiar jąder komórek nowotworowych pobranych z gruczolakoraków gruczołów okołodbytowych u psów jest dodatnio skorelowany z obecnością przerzutów w węzłach chłonnych (13).

W 2010 r. Simeonov i Simeonova opublikowali też wstępne wyniki badań, które dotyczyły porównawczej analizy morfometrycznej raków podstawonabłonkowych u psów (basal cell carcinoma – BCC; 14). Celem badania było porównanie ilościowych parametrów jąder w przypadku raków podstawonabłonkowych u psów (średniej powierzchni jąder, średniego obwodu jąder i średniej średnicy jąder), które nie dały wznowy w ciągu 60 tygodni po usunięciu, oraz przypadków, w których wznowa nastąpiła. Wyniki badań wskazują że morfometria jąder komórkowych

może być wykorzystywana jako dodatkowe narzędzie do przewidywania wznowy raka podstawonabłonkowego u psów. Wyniki wartości badanych parametrów dla guzów, które dały wznowy były istotnie wyższe niż dla guzów bez nawrotu miejscowego. Autorzy podkreślają, że wyniki w prezentowanym badaniu są zgodne z doniesieniami na temat raków podstawonabłonkowych u ludzi, u których długość i szerokość jąder oraz ich kulistość istotnie różniły się w zależności od biologicznej agresywności guzów. Autorzy dodają również, iż rezultaty przedstawione w tym wstępnym badaniu są obiecujące, ale ze względu na ilość zbadanych guzów (n=11) konieczne są kolejne analizy do potwierdzenia praktycznej wartości zarówno dla patologów, jak klinicystów (14).

Nowotwory gruczołu sutkowego

Simeonov i G. Simeonova (7, 8, 10) opublikowali też serię artykułów dotyczących możliwości zastosowania cytomorfometrii jąder komórkowych jako pomocniczej metody diagnostycznej do różnicowania niezłośliwych i złośliwych guzów gruczołu sutkowego u psów i kotów (7, 8, 10). Wykazali oni, że zarówno u psów, jak i kotów powierzchnia, obwód i średnia średnica jąder komórkowych oceniane w preparatach cytologicznych są przydatnymi parametrami morfometrycznymi w różnicowaniu pomiędzy niezłośliwymi i złośliwymi guzami gruczołu sutkowego. Określono, że u kota badane parametry różnią się w zależności od typu histologicznego guza; średnie wartości powierzchni, obwodu i średniej średnicy jąder komórkowych stopniowo są coraz większe dla następująco uszeregowanych nowotworów gruczołu sutkowego: gruczolak, rak cewkowo-brodawkowaty, rak sitowaty i rak lity (10). Podobne wyniki były stwierdzane dla wartości powierzchni, obwodu i średniej średnicy jąder komórkowych w przypadku guzów gruczołu sutkowego u psów (7, 8).

Ciekawym uzupełnieniem powyższych badań jest praca opublikowana przez De Vico i wsp. (9), którzy poddali analizie 40 nowotworów gruczołu mlekowego u psów. W analizie morfometrycznej oceniali pole powierzchni jąder komórkowych i ich kształt w nawiązaniu do występowania przerzutów do regionalnych węzłów chłonnych. Guzy zostały podzielone na dwie grupy: guzy, które dały przerzuty do węzłów chłonnych (n=20; tzw. guzy węzło-dodatnie) oraz zmiany, w przebiegu których nie obserwowano przerzutów do węzłów chłonnych (n=20; tzw. guzy węzło-ujemne). Wyniki uzyskane w prezentowanym badaniu wskazują że podwyższenie wartości średniej powierzchni jąder komórkowych i odchylenie standardowe dla

komórek nowotworowych jest blisko skorelowane z obecnością przerzutów w węzłach chłonnych. Jednak średnia powierzchnia jąder komórkowych wydaje się lepszym morfometrycznym parametrem różnicującym niż odchylenie standardowe w odniesieniu do statusu węzłów chłonnych – 19 z 20 „guzów węzło-dodatnich” w badaniu zostało poprawnie sklasyfikowanych na podstawie wartości średniej powierzchni jąder komórkowych, w przeciwieństwie do klasyfikacji na podstawie odchylenia standardowego, gdzie jedynie 12 na 20 „guzów węzło-dodatnich” zostało rozpoznanych poprawnie. Dane dla odchylenia standardowego pokrywały się często z danymi dla „guzów węzło-ujemnych”. Autorzy uznali, iż te dane potwierdzają diagnostyczną wartość komputerowo ocenianych cech jąder komórkowych komórek nowotworowych do stopniowania raków gruczołu sutkowego u psów i popierają hipotezę, że morfometria jąder może być wykorzystana w ocenie statusu węzłów chłonnych w rakach gruczołu sutkowego u psów (9).

Guzy z komórek tucznych

Jak wykazały liczne badania odnośnie do rozpoznawania guzów z komórek tucznych (*mastocytoma* – MCT) u psów, istnieją pewne rozbieżności co do określania histologicznego stopnia złośliwości mastocytom przez różnych patologów, sięgające niekiedy 40% rozpoznania. Celem, jaki postawili sobie Strefezzi i wsp. (15), było określenie czy guzy z komórek tucznych różnych stopni histologicznych wykazują różnice morfometryczne dotyczące jąder komórek tego nowotworu, innymi słowy, czy podstawowe badanie histopatologiczne może uzyskać większą obiektywność dzięki komputerowej analizie jakościowej. Badane parametry obejmowały: powierzchnię jąder, średnią średnicę, obwód, współczynnik regularności i współczynnik elipsoidalności. Analizowane guzy podzielono na MCT I stopnia (dobrze zróżnicowane), MCT II stopnia (średnio zróżnicowane) i MCT III stopnia (słabo zróżnicowane), zgodnie z akceptowanymi powszechnie kryteriami. Wyniki analizy morfometrycznej jąder komórek nowotworowych zostały porównane z histopatologicznymi stopniami złośliwości. Wartości powierzchni jąder, średniej średnicy i obwodu wzrastały wraz ze wzrostem stopnia histopatologicznego; analiza statystyczna ujawniła istotne różnice pomiędzy stopniem II i III oraz pomiędzy stopniem I i III. Wyniki określające współczynniki elipsoidalności i regularności nie ujawniły istotnych różnic pomiędzy stopniami histopatologicznymi. Dane kliniczne uzyskane w badaniu wskazują, że analiza morfometryczna w połączeniu z szybką i niedrogą techniką cytopatologiczną mogą

być pomocne w obiektywnym stopniowaniu guzów z komórek tucznych, a więc przyczyniają się do ustalenia bardziej precyzyjnych rokowań i leczenia (9).

Wstępne wyniki na temat morfometrycznego podejścia do przewidywania występowania mikroprzerzutów w regionalnych węzłach chłonnych w przypadku guzów z komórek tucznych u psów opublikowali Marconato i wsp. (16). Skórne mastocytomy u psów mają skrajnie różne zachowanie biologiczne, zaczynając od zmian klinicznie niezłośliwych do ciężkiej w przebiegu rozsianej choroby nowotworowej. W przypadku mastocytomy u psów zajęcie węzłów chłonnych jest wymieniane jako istotny czynnik prognostyczny w wielu badaniach, zatem konsekwentnie oceną regionalnych węzłów chłonnych jest ważną częścią procedury klasyfikacji pacjenta z tym nowotworem. Jeżeli guz daje przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych, mastocytomy rokują źle i powinny być traktowane jako bardzo agresywne klinicznie. Dlatego dokładne przedoperacyjne badanie regionalnych węzłów chłonnych może pomóc w identyfikacji pacjentów dodatnich pod względem przerzutów do węzłów chłonnych. Negatywne wyniki badania cytologicznego regionalnych węzłów chłonnych mogą ochronić psy przed niepotrzebnym wycinaniem węzłów chłonnych i związanymi z tym komplikacjami, z kolei rozpoznanie pozytywnych cytologicznie węzłów chłonnych (wykrycie komórek nowotworowych w zajętej węźle) sugeruje ich wycięcie i wdrożenie chemioterapii adiuwantowej.

Badanie miało na celu ocenę procentowego udziału komórek tucznych w populacji komórek w węzłach chłonnych klinicznie zdrowych psów, u psów ze stanem zapalnym lub zakażeniem oraz u psów ze skórną mastocytomą. Ponadto dokonano analizy morfometrycznej parametrów jąder komórkowych komórek nowotworowych, pod kątem zastosowania ich jako czynnika służącego do przewidywania obecności mikroprzerzutów w regionalnych węzłach chłonnych. Analiza ilościowa wykazała statystycznie istotne różnice pomiędzy liczbą zidentyfikowanych komórek tucznych w zależności od statusu węzłów chłonnych (węzły bez przerzutów i węzły z mikroprzerzutami i przerzutami masywnymi). Analiza jakościowa wykazała z kolei różnice w wielkości jąder komórkowych zidentyfikowanych mastocytów, mianowicie wartość pola powierzchni oraz długości obwodu jąder komórkowych mastocytów nowotworowych były istotnie większe w porównaniu do tych samych parametrów w mastocytach niebędących nowotworowymi. Jak podkreślają autorzy, wyniki badania pokazują, że komputerowa morfometria jąder komórkowych przyczynia

się do wzrostu prawidłowości rozpoznania i wydaje się być praktyczna, ponieważ jest obiektywna i możliwa do powszechnego zastosowania w patologii klinicznej do oceny węzłów chłonnych, nawet przez niedoświadczonych patologów. Poza tym technika ta umożliwia identyfikację zwierząt, dla których rokowania są niekorzystne i dlatego korzystne jest dla nich zastosowanie dodatkowo chemioterapii i wycięcie regionalnych węzłów chłonnych (16).

W kolejnym badaniu Strefezzi i wsp. (17) chcieli wykazać wartość parametrów cytometrycznych jąder komórek mastocytomy w badaniach cytologicznych, jako niezależnego wskaźnika prognostycznego czasu przeżycia, śmiertelności oraz potwierdzić, że morfometria jako prosta i szybka, jest także bardziej obiektywną metodą w stopniowaniu złośliwości guzów z komórek tucznych u psów. Wyniki prezentowanej pracy wskazują na powiązanie pomiędzy średnią powierzchnią jądra komórkowego a czasem przeżycia pacjentów. Na podstawie wartości średniej powierzchni jąder komórkowych guzy podzielono na dwa stopnie złośliwości, ze statystycznie istotną różnicą odnośnie do czasu przeżycia psów w zależności od stopnia złośliwości. Przykładowo, w preparatach barwionych barwnikiem Giemsa (powszechnie stosowana metoda barwienia w cytopatologii onkologicznej) w przypadku zmian o niskiej złośliwości (mniejsza wartość średniej powierzchni jąder komórkowych) wszystkie zbadane psy przeżyły co najmniej 2334 dni, z kolei spośród psów ze zmianami uznanymi jako wysoko złośliwe (większa wartość średniej powierzchni jąder komórkowych) żadne ze zwierząt nie przeżyło dłużej niż 751 dni. Dodatkowo potwierdzono przydatność cytometrii w określaniu stopnia histologicznej złośliwości. Stąd wniosek, że techniki cytometryczne mogą dostarczać prognostycznych informacji na temat czasu przeżycia psów ze skórnymi guzami z komórek tucznych, poza tym techniki te są szybkie, dokładne, powtarzalne i niedrogie (17).

Podsumowanie

Postęp nauki w dziedzinach, takich jak automatyka i robotyka oraz informatyka stwarza ogromne możliwości rozwoju medycznych systemów diagnostyki. Jednym z działów medycyny, w którym coraz częściej wykorzystuje się osiągnięcia współczesnych technologii jest patologia. Morfometria wspomaganą komputerowo to obiektywna metoda diagnostyczna wykorzystywana do oceny wybranych parametrów każdej indywidualnej komórki, która pozwala na kwalifikację zmian komórkowych w różnych tkankach. Jest stosowana do ilościowego i jakościowego określania

zmian patologicznych, które poprzednio opisywane były w subiektywny sposób. W morfometrii, jaka stosowana jest w cytologii onkologicznej, najbardziej przydatne okazały się takie parametry morfometryczne dotyczące jąder komórkowych, jak: pole powierzchni, obwód i średnica, dodatkowo dzięki prostym obliczeniom matematycznym można określić dodatkowy parametr – kulistość jąder, których określenie może podnosić wartość obiektywnego rozpoznania i ocenę rokowania.

Jak dotąd przeprowadzono olbrzymią ilość badań, których zadaniem było określenie jakościowych i ilościowych cech komórek w celu poprawy możliwości rokowania i odpowiedzi na leczenie choroby nowotworowej, jednakże większością czynników prognostycznych jest wciąż oceniana subiektywnie na podstawie obserwacji rodzaju, kształtu, rozmiaru, struktury i innych informacji. Takie podejście zawsze może prowadzić do nieakceptowanych zmiennych zależnych i niezależnych od oceniającego, ponieważ ludzki mózg i oko są lepiej przystosowane do jakościowego, a mniej do ilościowego odbierania informacji. Rozwój morfometrii wspomaganą komputerowo może pomóc

w minimalizacji subiektywnych, zależnych od badacza zmiennych i pomóc w postawieniu prawidłowego rozpoznania.

Piśmiennictwo

- Piotrowska E.: *Analiza parametrów morfometrycznych komórek dla komputerowego wspomaganie diagnostyki medycznej*. Praca doktorska. Politechnika Opolska, 2012.
- Roels S., van Diest P., Belien J., Ducatelle R.: Computerized image analysis in diagnostic veterinary pathology—is the era of descriptive veterinary pathology coming to an end? *Eur. J. Vet. Pathol.* 1998, **4**, 21–27.
- De Vico G., Sfacteria A., Maiolino P., Mazzullo G.: Comparison of nuclear morphometric parameters on cytologic smears and histologic sections of spontaneous canine tumors. *Vet. Clin. Pathol.* 2002, **1**, 16–18.
- Eich C., Whitehair J., Mongoff S., Heeb L.: The accuracy of intraoperative cytopathological diagnosis. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 2000, **36**, 16–18.
- Baak J., Tosi P.: Historical background of quantitative pathology. W: *Manual of Quantitative Pathology in Cancer Diagnosis and Prognosis*. Springer-Verlag, Berlin, 1991, s. 3–6.
- Maiolino P., Restucci B., Papparella S. and De Vico G.: Nuclear morphometry in squamous cell carcinomas of canine skin. *J. Comp. Path.* 2002, **127**, 114–117.
- Simeonov R., Simeonova G.: Computerized morphometry of mean nuclear diameter and nuclear roundness in canine mammary gland tumors on cytologic smears. *Vet. Clin. Pathol.* 2006, **35**, 88–90.
- Simeonov R., Simeonova G.: Computerized cytometric analysis of nuclear area, nuclear perimeter and mean nuclear diameter in spontaneous canine mammary gland tumours. *Vet. Res. Comm.* 2007, **31**, 553–558.
- De Vico G., Maiolino P., Cataldi M., Mazzullo G., Restucci B.: Nuclear morphometry in relation to lymph node status in canine mammary carcinomas. *Vet. Res. Commun.* 2007, **31**, 1005–1011.
- Simeonov R., Simeonova G.: Nuclear cytometry in feline mammary gland epithelial tumours. *Vet. J.* 2009, **179**, 296–300.
- Simeonov R., Simeonova G.: Use of quantitative analysis as a method for differentiation between canine cutaneous apocrine adenomas and apocrine carcinomas on cytological smears. *J. Vet. Med. A* 2007, **54**, 542–544.
- Simeonov R., Simeonova G.: Quantitative analysis in spontaneous canine anal sac gland adenomas and carcinomas. *Res. Vet. Sci.* 2008, **85**, 559–562.
- Simeonov R., Simeonova G.: Computer-assisted nuclear morphometry in the cytological evaluation of canine perianal adenocarcinomas. *J. Comp. Pathol.* 2008, **139**, 226–230.
- Simeonov R., Simeonova G.: Comparative morphometric analysis of recurrent and nonrecurrent canine basal cell carcinomas: a preliminary report. *Vet. Clin. Pathol.* 2010, **39**, 96–98.
- Strefezzi R. F., Xavier J.G., Catao-Dias J.L.: Morphometry of canine cutaneous mast cell tumors. *Vet. Pathol.* 2003, **40**, 268–275.
- Marconato L., Marchetti V., Francione D., Masserdotti C., Gregori M., Leotta R., Abramo F.: Morphometrical approach for predicting regional lymph node micrometastatic load in canine mast cell tumours: preliminary results. *Vet. Comp. Oncol.* 2008, **6**, 162–170.
- Strefezzi R.F., Xavier J., Kleeb S., Catao-Dias L. Nuclear morphometry in cytopathology: a prognostic indicator for canine cutaneous mast cell tumors. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2009, **21**, 821–825.

Dr hab. Rafał Sapierzyński,
e-mail: sapieh@wp.pl

The gill examination in diagnosis of infectious and parasitic diseases and poisoning of trout and other fish species

Antychowicz J.

The purpose of this paper was to present and describe clinical symptoms and pathological lesions of the gills, appearing in trout and other fish species. They may significantly facilitate preliminary diagnostic approach during infectious diseases and water pollution. Various histopathological changes are present in the gills during viral, bacterial, parasitic diseases and also due to the contact with toxic substances which result from water environment degradation. These changes are identified and analyzed as important measurement of fish well-being and survival. It was concluded that deteriorated function of the gill system caused by infectious and non-infectious agents and the impairment of the structure and function of other fish organs which followed may produce severe fish mortality.

Keywords: fish pathology, gills lesion, diagnostics.

Patologiczne zmiany w skrzelach stanowią najpoważniejszy problem w hodowli ryb (1, 2, 3). Nienaturalny wygląd skrzeli i histopatologiczne zmiany w tym narzędzie są dowodem złego stanu zdrowia

Zastosowanie badania skrzeli do diagnostyki chorób zakaźnych i pasożytniczych oraz zatruc u pstrągów i innych gatunków ryb

Jerzy Antychowicz

ryby lub zanieczyszczenia środowiska wodnego. Wobec priorytetu diagnostyki wirusowych chorób ryb, z zastosowaniem metod molekularnych i serologicznych, w Polsce w rutynowej diagnostyce nie stosuje się histopatologicznych badań skrzeli; nieliczne są również prace przeglądowe w tym zakresie (2, 3). Informacje przedstawione w tym artykule będą przydatne dla lekarzy weterynarii sprawujących nadzór nad gospodarstwami rybackimi przy stawianiu wstępnego rozpoznania przyczyn zaburzeń w hodowli ryb, jak również pomogą w podejmowaniu decyzji co do dalszych badań. Przedstawione dane mogą być wykorzystane oprócz tego przez pracowników specjalistycznych laboratoriów zajmujących się chorobami ryb w prowadzeniu badań diagnostycznych i naukowych. Z przedstawionego piśmiennictwa,

zawierającego najnowsze publikacje obok doniesień naukowych z zeszłego wieku, wynika, że badanie skrzeli ryb nie straciło obecnie na znaczeniu.

Przez skrzela ryb (ryc. 1, 2) stale przepływa woda, w przypadku obecności w niej drobnoustrojów chorobotwórczych, pasożytów czy też substancji toksycznych skrzela narażone są na uszkodzenie i wiążące się z tym upośledzenie ich funkcji. Patologiczne zmiany w skrzelach pstrągów i karpia powstające w wyniku zakażeń, inwazji lub zatruc są podobne, natomiast czynniki wywołujące te zmiany są zwykle odmienne. Wiąże się to z odmiennością chorób występujących u ryb należących do tych gatunków i z różnym typem środowiska wodnego, w którym hodoje się te ryby (4, 5, 6, 7). U pstrągów, podobnie jak u karpia, uszkodzenie skrzeli prowadzi