

ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОЛОГИЯ МИТОЗА ПРИ ИЗУЧЕНИИ КИНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РОСТА НОВООБРАЗОВАНИЙ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Зотова Екатерина Максимовна, аспирант кафедры «Хирургия, акушерство, фармакология и терапия»

Марьин Евгений Михайлович, доктор ветеринарных наук, доцент кафедры «Хирургия, акушерство, фармакология и терапия»

Марьина Оксана Николаевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры «Хирургия, акушерство, фармакология и терапия»

ФБГОУ ВО Ульяновский ГАУ

432017, г. Ульяновск, бульвар Венец, 1; тел.: (8422) 55-95-98; e-mail: orangehorse@yandex.ru

Ключевые слова: патоморфология, гистология, пролиферативная активность, митотический индекс, количество митозов, патологический митоз, апоптотический индекс, аденокарцинома, молочная железа, кошка.

В данной статье представлены результаты исследования пролиферативной активности умеренно дифференцированной тубулопапиллярной аденокарциномы в области молочной железы у кошек. Исследования проведены на базе Межкафедрального научного центра ветеринарной медицины Ульяновского ГАУ. Патологический материал получали путем эксцизионной биопсии в соответствии с правилами взятия биоматериала для проведения гистологических исследований. Биопсийный материал освобождался от формалина путем промывки в водопроводной воде в течение 12...24 часов. Срезы толщиной 20...30 мкм получены с помощью замораживающего микротомы МЗ-2. Препараты окрашивались гематоксилином и эозином по стандартной методике. Показатель митотической активности опухолевой ткани, митотический индекс рассчитывался как количество митозов на 1000 клеток опухолевой паренхимы, измеренных в участках с наибольшей пролиферативной активностью новообразования на периферии опухолевого узла. Ядра клеток, находящиеся в состоянии физиологического покоя, а также на стадиях митоза и апоптоза, четко видимые на фотографиях полей зрения микроскопа, отмечались в графическом редакторе и подсчитывались с помощью программы *Imagel*. По данным гистологической диагностики срезов биопсийного материала изучены такие кинетические показатели опухолевого роста, как митотическая активность – подсчитан митотический индекс, количество митозов в поле зрения, доля и разновидности патологий клеточного деления, и фактор клеточных потерь, численно измеренный в виде апоптотического индекса. На основании полученных данных была дана характеристика скорости роста и инвазивности данного новообразования эпителиального происхождения, а также составлен прогноз метастатической активности, риска возникновения рецидивов и вероятности полной морфологической регрессии опухолевой ткани после лучевой и химиотерапии.

Введение

Прролиферативная активность опухолевой ткани имеет определяющее значение при оценке злокачественности новообразования, выборе эффективной онкотерапии, назначении химиотерапевтических препаратов, прогнозировании рецидивов, метастазирования и продолжительности жизни животного. К кинетическим параметрам опухолевого роста, доступным для измерения с помощью гистологической диагностики, относится митотическая активность опухоли и фактор клеточных потерь - показатель, отражающий убыль клеток вследствие процессов апоптоза, некроза, миграции клеток в кровеносное и лимфатическое русло [1].

Основным показателем митотической активности является митотический индекс – процентное отношение клеток, находящихся на раз-

ных фазах митоза, к 1000 клеткам опухолевой паренхимы [2, 3]. Однако определение митотического индекса редко выполняется в рутинной гистологической практике в связи с затратами времени, которое уходит на подсчет большого количества клеток в гистосрезе. Поэтому в диагностике чаще всего используют такой показатель, как количество митозов в поле зрения, при измерении которого подсчитывается количество фигур деления в 10 полях зрения увеличением $\times 400$ (окуляр $\times 10$, объектив $\times 40$, диаметр окуляра 22 мм), площадью 2.37 мм². При наличии других параметров окуляра и объектива требуется стандартизация поля зрения для конкретного оборудования [4].

Уровень митотической активности определяет интенсивность пролиферации новообразования: низкая - < 10 %, умеренная - 10–20

%, высокая - > 20 % [5]. Исключение составляют индолентные разновидности опухолей, которые не обладают склонностью к экспансивному или инфильтративному росту и практически не пролиферируют, в течение многих лет оставаясь макроскопически одного и того же размера [6]. Опухоли с низкой пролиферативной активностью имеют более благоприятный прогноз ввиду меньшей агрессивности, однако они хуже реагируют на химиотерапию ввиду того, что цитостатические препараты действуют только на клетки в состоянии деления.

Еще одним показателем скорости опухолевого роста, а также проявлением клеточного атипизма злокачественных новообразований является патологический митоз. Из-за нарушений в аппарате клеточного деления клетки в таком состоянии являются более чувствительными к цитостатикам, поэтому высокая доля патологического митоза в опухолевой ткани является фактором, определяющим более благоприятный прогноз эффективности назначенной химиотерапии [4].

Разные виды патологий клеточного деления неравноценны по влиянию на характеристику злокачественности новообразования и скорость опухолевого роста. Так, например, итогом трехполюсного и асимметричного митоза являются жизнеспособные анеуплоидные клетки, способные к дальнейшему делению. Моноцентрический митоз приводит к появлению одной многоядерной клетки, что не оказывает влияния на скорость роста опухоли. А pulverизация и выраженная фрагментация хромосом вызывают апоптоз клетки, в результате чего снижается скорость роста опухоли [4, 7].

Существуют исследования, показывающие, что после лучевой и химиотерапии, наряду с признаками дистрофических и некротических процессов, апоптоза клеток, фиброза опухолевых узлов и другими параметрами лечебного патоморфоза в опухолевой ткани резко возрастает доля патологических митозов [3,8].

Основная цель данной работы состояла в сравнении кинетических параметров роста злокачественных новообразований эпителиального происхождения.

Материалы и методы исследований

Сбор необходимых данных для работы проводился в Межкафедральном научном центре ветеринарной медицины ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ. Патологический материал получали путем эксцизионной биопсии в соответствии с правилами взятия биоматериала для прове-

дения гистологических исследований. Биопсийный материал отбирался из патологически измененного очага из центра и на границе с неизменными тканями. Биопсия проводилась острым инструментом, во избежание повреждения тканей и возникновения артефактов. После забора материал помещался в емкость с фиксатором, 10% нейтральным забуференным формалином. Соотношение объема взятого материала и объема фиксатора сохранялось 1:10 для полноценной фиксации. Иссеченные фрагменты тканей для последующей нарезки на замораживающем микротоме были небольшого размера, плоской формы и толщиной не более 3...5 мм. Полученный материал был соответствующим образом промаркирован и сопровождался информацией о поступившем на прием и прооперированном животном, его анамнезе, клинике, результатах лабораторных и инструментальных исследований. Для гистологического исследования были отобраны кусочки ткани размером приблизительно 1*1*0,5 см. Биопсийный материал освобождался от формалина путем промывки в водопроводной воде в течение 12...24 часов. Срезы толщиной 20...30 мкм получены с помощью замораживающего микротомы МЗ-2.

Препараты окрашены гематоксилином и эозином по стандартной методике. Для микроскопического исследования применялся световой микроскоп Leica DME Ок. WF16X; Об. x4/0,10, x8, x40/0,65. В процессе изучения микропрепаратов проводилось подробное описание морфологического строения, на основании которого формировалось гистопатологическое заключение в соответствии с действующими классификациями новообразований молочной железы [5, 9, 10].

Показатель митотической активности опухолевой ткани, митотический индекс рассчитывался как количество митозов на 1000 клеток опухолевой паренхимы, измеренных в участках с наибольшей пролиферативной активностью новообразования на периферии опухолевого узла [10, 14, 16]. Ядра клеток, находящиеся в состоянии физиологического покоя, а также на стадиях митоза и апоптоза, четко видимые на фотографиях полей зрения микроскопа, отмечались в графическом редакторе и подсчитывались с помощью программы ImageJ. Апоптотический индекс определялся как процентное отношение количества клеток, находящихся в состоянии апоптоза, на 1000 клеток опухолевой ткани [11, 12, 13, 14, 15]. Статистическая обработка полученных данных выполнялась с помощью про-

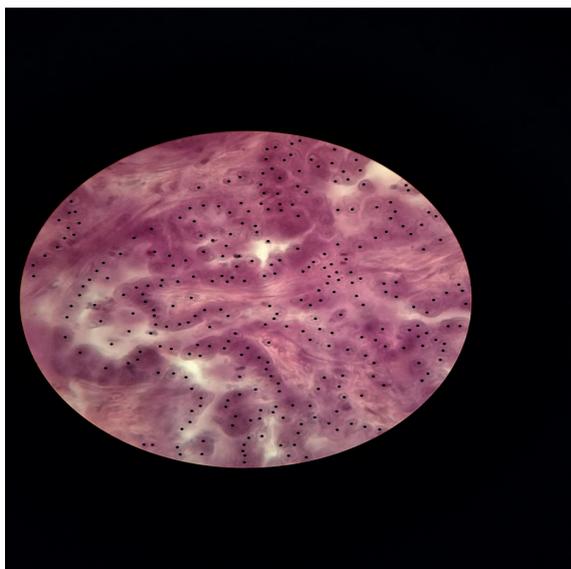


Рис. 1 – Подсчет количества опухолевых клеток в тубулопапиллярной аденокарциноме молочной железы

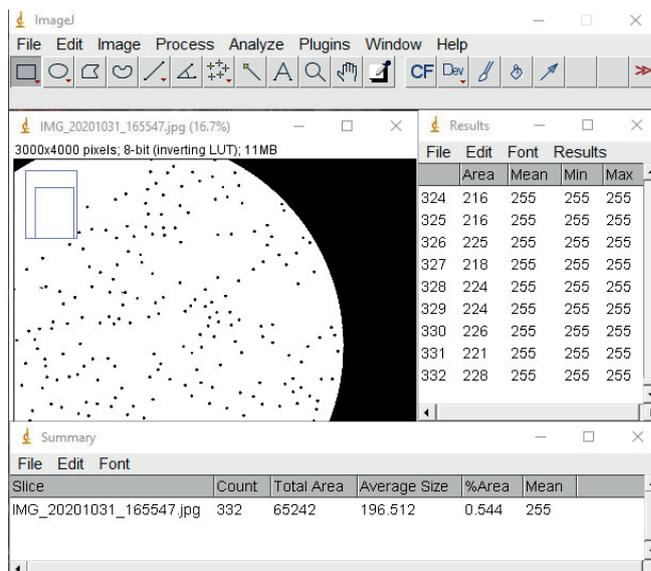


Рис. 2 – Процесс подсчета количества митозов в программе ImageJ

граммы Microsoft Excel.

Результаты исследований

В ходе проводимых гистологических исследований новообразований в области молочной железы регистрировали фрагменты опухолевых разрастаний, состоящих из полиморфных, несостоятельных протоковых структур с выстилкой из опухолевых железистых клеток (Рис. 3 а, 7 а). Рыхловолокнистая соединительнотканная строма формирует папиллярные выступы в просвет протоков (Рис. 5 а, 6 а), внутри которых присутствуют скопления опухолевых клеток и слабоокрашенный эозинофильный гомогенный секрет (Рис. 3 а, 5 б, 7 б, 8 а).

Эпителий преимущественно многорядный за счет беспорядочного расположения клеток (Рис. 3 а, 7 а), встречается однослойный. Этажность эпителиальных клеток нарушена, клетки наслаиваются друг на друга. Базальная мембрана в большинстве участков не сохранена, опухолевые клетки инфильтрируют соединительнотканную строму. Клетки полиморфные: призматической, округлой формы. Цитоплазма эозинофильная с нечеткими клеточными границами. Ядерно-цитоплазматическое отношение смещено в сторону ядра. Ядра находятся ближе к центру клетки, крупные, полиморфные, с интенсивной базофильной окраской и с четко очерченными 1...2 ядрышками. Многие клетки находятся в состоянии апоптоза, наблюдается конденсация хроматина, образование апоптотических телец при фрагментации ядра и цитоплазмы (Рис. 8 г).

Наблюдаются фигуры физиологического

митоза: профазы (Рис. 3 в, 8 в), метафазы (Рис. 4 а, 5 в), анафазы (Рис. 4 б), телофазы (Рис. 4 в, 6 г). Наряду с этим обнаруживаются патологии деления клеток: трехполосный митоз (Рис. 4 г, 5 г), фрагментация хромосом при расхождении к полюсам деления (Рис. 4 д). Митотический индекс составляет $3,70 \pm 1,48$ %. Доля патологических митозов – 11,11 % от общего количества делений. Относительный апоптотический индекс – $3,96 \pm 0,76$ %.

Обнаруживается диффузная лимфоцитарная инфильтрация, макрофагальные клетки присутствуют в строме и в просвете протоков (Рис. 6 б).

Обсуждение

При гистологическом определении степени злокачественности опухоли учитывается и митотический индекс, и количество митозов в поле зрения. Тем не менее, в связи с гетерогенностью структуры новообразования – атипичным соотношением опухолевой стромы и паренхимы, неравномерным распределением очагов интенсивного роста, разным размером самих клеток при таком методе количество фигур митоза в поле зрения может сильно различаться в пределах одного и того же опухолевого узла. Так, при аденокарциноме молочной железы количество опухолевых клеток в поле зрения составляло от 284 до 338 клеток, а количество клеточных делений насчитывало от 8 до 17 фигур митоза в поле зрения. При таких значительных колебаниях показателей, даже с учетом подсчета 10 полей зрения и их стандартизации, есть вероятность либо недооценить митотиче-

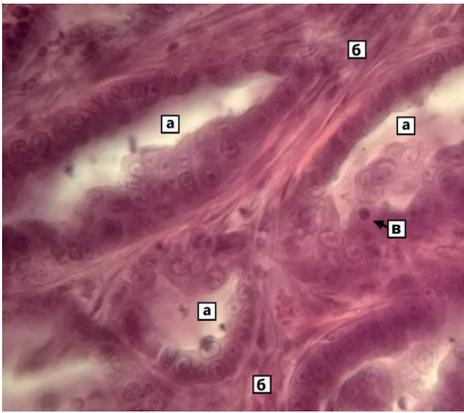


Рис. 3 – Гистокартина аденокарциномы (Окраска гематоксилином и эозином, Об. 40/0,65 х Ок. WF16X)

*а – протоки с многорядностью опухолевого эпителия и скоплением клеток в просвете
б – соединительнотканная строма
в – профаза митоза*

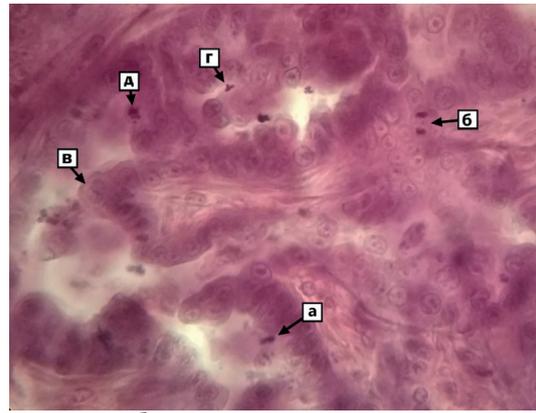


Рис. 4 – Тубулопапиллярная аденокарцинома (Окраска гематоксилином и эозином, Об. 40/0,65 х Ок. WF16X)

*а – метафаза
б – анафаза
в – телофаза митоза
г – трехполюсный митоз
д – фрагментация хромосом в митозе*

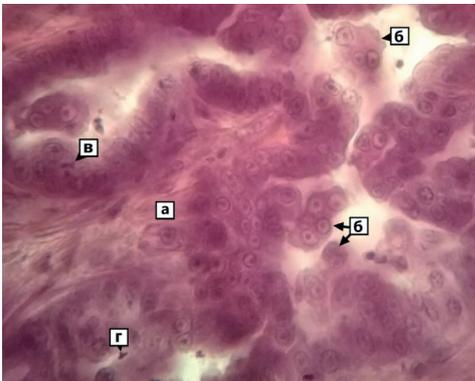


Рис. 5 – Тубулопапиллярная аденокарцинома молочной железы (Окраска гематоксилином и эозином, Об. 40/0,65 х Ок. WF16X)

*а – папиллярные выступы стромы
б – скопления опухолевых клеток в просвете протоков
в – метафаза митоза
г – трехполюсный митоз*



Рис. 6 – Тубулопапиллярная аденокарцинома (Окраска гематоксилином и эозином, Об. 40/0,65 х Ок. WF16X)

*а – выступы опухолевой стромы
б – скопление лейкоцитов
в – анафаза митоза
г – телофаза митоза*

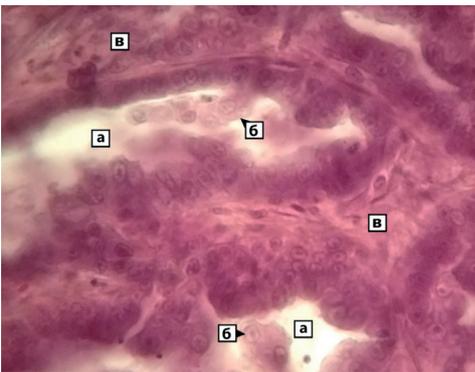


Рис. 7 – Гистокартина аденокарциномы (Окраска гематоксилином и эозином, Об. 40/0,65 х Ок. WF16X)

*а – протоки с многорядностью опухолевого эпителия
б – скопление опухолевых клеток в просвете протоков
в – соединительнотканная строма*

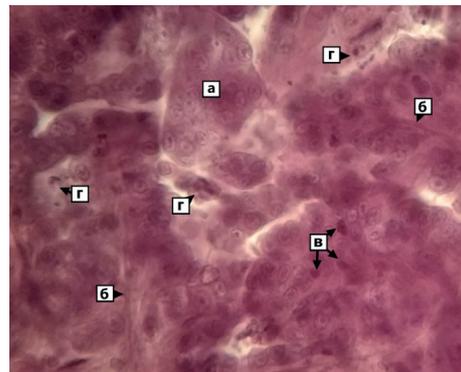


Рис. 8 – Участки солидного расположения опухолевых клеток в тубулопапиллярной аденокарциноме (Окраска гематоксилином и эозином, Об. 40/0,65 х Ок. WF16X)

*а – скопление опухолевых клеток
б – коллагеновые волокна стромы
в – профаза митоза
г – апоптоз опухолевых клеток*

Таблица 1

Характеристика пролиферативной активности тубулопапиллярной аденокарциномой молочной железы

Показатель	Значение
Митотический индекс	3,70±1,48%
Количество митозов в поле зрения	8-17
Фазы физиологического митоза	
- Профаза	>72,5%
- Метафаза	>5,0%
- Анафаза	>15,0%
- Телофаза	>7,5%
Патологический митоз	>11,11%
Преобладающие виды патологий митоза	Трехполюсный, асимметричный, хроматидные мостики в анафазе, фрагментация хромосом
Апоптотический индекс	3,96±0,76%
Тканевый атипизм	>75% занимают полиморфные, несостоятельные протоковые структуры с выстилкой из опухолевых железистых клеток и папиллярными выступами стромы в просвет протоков со скоплениями опухолевых клеток
Клеточный атипизм	Ядра везикулярные, с определяемыми ядрышками, значительно различающиеся по форме и размеру. ЯЦО изменено

скую активность, либо переоценить ее. Поэтому, несмотря на трудоемкость и длительность подсчета, митотический индекс все же является более точным и объективным показателем пролиферативной активности опухоли.

Патологический митоз является значимым показателем, который помогает определить степень дифференциации опухолевой ткани и злокачественность новообразования. В числе прочих кинетических параметров роста опухоли он позволяет прогнозировать скорость пролиферации новообразования – причем в зависимости от типа дефекта аппарата клеточного деления, относится либо к показателям, увеличивающим скорость опухолевого роста, либо к фактору клеточных потерь, приводящим к его снижению. Патологии клеточного деления помогают предсказать эффективность противоопухолевой терапии, а также могут служить гистологическим подтверждением лечебного патоморфоза после ее применения. В связи с этим разновидность и долю патологического митоза целесообразно

указывать при патогистологической диагностике злокачественных новообразований.

Заключение

1. При установлении тубулопапиллярной аденокарциномой молочной железы у кошек отмечали следующие изменения: протоковые структуры занимают >75% площади опухоли, количество митозов 8...17 в поле зрения, вариабельность и размер ядер выражены средне, следовательно, это умеренно дифференцированный вариант тубулопапиллярной аденокарциномы, степени G2 по полуколичественному методу оценки гистологической дифференцировки рака молочной железы (Elston&Ellis).

2. Кинетические показатели роста тубулопапиллярной аденокарциномы молочной железы, полученные в нашей работе, указывают на низкую митотическую активность новообразования: митотический индекс составляет 3,70±1,48%, количество митозов насчитывает от 8 до 17 в поле зрения. Наибольшее количество опухолевых клеток в состоянии физиологического деления (72,5%) зафиксировано в профазе митоза. Индекс апоптоза, отражающий величину клеточных потерь, находится в пределах 3,96±0,76%.

Обнаруженные при гистологическом исследовании данной опухоли разновидности патологического деления не вызывают апоптоз, а приводят к образованию микроклеток и гигантских клеток с гипо- и гиперплоидными ядрами. Такие клетки способны к дальнейшему делению, поэтому их наличие относится к показателям, увеличивающим скорость роста опухолевой ткани.

3. Исследованные кинетические показатели скорости роста опухоли позволяют сделать вывод, тубулопапиллярная аденокарцинома молочной железы обладает низкой пролиферативной активностью и малой скоростью роста. Прогноз по отношению к метастазам и рецидивам осторожный, так как опухоль относится к инвазивному варианту рака молочной железы. При назначении медикаментозной или лучевой онкотерапии предполагается низкая вероятность полной морфологической регрессии в связи с низкой митотической активностью опухолевой ткани и небольшой долей патологических митозов.

Библиографический список

1. Терентьев, И. Г. Исследование кинетических параметров роста опухолей в аспекте прогнозирования течения рецидивных и метаста-

тических новообразований / И. Г. Терентьев, С. С. Кузнецов, К. В. Базанов // *Фундаментальные исследования*. – 2015. – № 1-6. – С. 1235-1239.

2. Deep learning algorithms out-perform veterinary pathologists in detecting the mitotically most active tumor region / M. Aubreville, C. A. Bertram, C. Marzahl [et al.] // *Sci Rep*. - 2020. – 10. – P. 16447. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73246-2>.

3. Multivariate prognostic evaluation of the mitotic activity index and fibrotic focus in node-negative invasive breast cancers / J. Baak [et al.] // *European journal of cancer*. - 2005. - 41(14). – P. 2093-101.

4. Базанов, К. В. Моделирование кинетики роста рецидивного и метастатического колоректального рака с целью оценки эффективности химиотерапевтического лечения / К. В. Базанов, С. С. Кузнецов, И. Г. Терентьев // *Современные технологии в медицине*. - 2014. – Т. 6. – С. 85-91.

5. Meuten, Donald J. Tumors in Domestic Animals, Fifth Edition / Donald J. Meuten // John Wiley & Sons, Inc. - 2016. - P. 1008.

6. Индолентное течение аденокарциномы желудка: клинико-морфологическая характеристика 7 больных / В. Ю. Бохян, А. И. Павловская, А. А. Коломейцева, В. Е. Бугаёв, И. С. Стилиди // *Эндокринная хирургия*. – 2016. – Т. 10, № 4. – С. 13–19.

7. Струков, А. И. Патологическая анатомия : учебник / А. И. Струков, В. В. Серов ; под редакцией В. С. Паукова. - 6-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР - Медиа, 2015. - 880 с. – ISBN 978-5-9704-6138-9.

8. Лечебный патоморфоз злокачественных опухолей: клинические и морфологические критерии. Классификации. Прогностическое значение лечебного патоморфоза при раке молочной железы и других опухолях / А. А. Лисаева, Я. В. Вишневская, Е. М. Рощин, Д. В. Комов,

И. В. Колядина // *Опухоли женской репродуктивной системы*. - 2011. - № 4. – С. 19-23.

9. Outcomes after high-dose radiation in the management of neuroendocrine neoplasms / K. S. Chen, C. Lawhn-Heath, S. Behr, R. Juarez, J. Whitman, A. Paciorek [et al.] // *PLoS ONE*. – 2021. - 16(6). – P. e0252574. - URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252574>

10. Meuten, D. J. Mitotic Count and the Field of View Area: Time to Standardize / D. J. Meuten, F. M. Moore, J. W. George // *Veterinary Pathology*. – 2016. - Vol. 53(1). – P. 7-9.

11. Левицкая, А. Б. Современные методы определения апоптоза / А. Б. Левицкая, Д. Б. Никитюк // *Вестник новых медицинских технологий*. – 2005. – Т. XII, № 3-4. – С. 33.

12. Тышко, Н. В. Определение активности апоптоза в органах крыс на модели токсического воздействия CCl₄ / Н. В. Тышко, К. Е. Селяскин, В. А. Тутельян // *Фундаментальные исследования*. – 2014. – № 10-5. – С. 993-998.

13. Введение в методологию исследования апоптоза при онкологических заболеваниях / В. Н. Цыган, А. М. Иванов, В. А. Бубнов [и др.]. – Санкт-Петербург : ВмедА, 2010. – 64 с. – ISBN 978-5-98825-009-2.

14. Wong, R. S. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment / R. S. Wong // *J Exp Clin Cancer Res*. - 2011. – 30(1). – P. 87. – URL: <https://doi.org/10.1186/1756-9966-30-87>

15. Калиниченко, С. Г. Морфологическая характеристика апоптоза и его значение в нейrogenезе / С. Г. Калиниченко, Н. Ю. Матвеева // *Морфология*. – 2007. – Т. 131, № 2. – С. 16–28.

16. Mitko, V. Assessment of algorithms for mitosis detection in breast cancer histopathology images / V. Mitko, P. J. van Diest, S. M. Willems // *Med Image Anal*. – 2015. – 20(1). – P. 237-248.

MITOSIS PHYSIOLOGY AND PATHOLOGY DURING STUDY OF KINETIC PARAMETERS OF GROWTH OF EPITELIAL ORIGIN

Zotova E.M., Maryin E.M., Maryina O.N.
e-mail: oksa-marina@mail.ru

FSBEI HE Ulyanovsk SAU, 432017, Ulyanovsk, Novyi Venets boulevard, 1; tel. : (8422) 55-95-98, e-mail: orangehorse@yandex.ru

Keywords: pathomorphology, histology, proliferative activity, mitotic index, number of mitoses, pathological mitosis, apoptotic index, adenocarcinoma, mammary gland, cat.

This article presents results of a study of proliferative activity of moderately differentiated tubulopapillary adenocarcinoma in the mammary gland of cats. The studies were carried out on the basis of Interdepartment Scientific Center of Veterinary Medicine of Ulyanovsk State Agrarian University. Pathological material was obtained by excisional biopsy in accordance with the rules for taking biomaterial for histological studies. The biopsy material was freed from formalin by rinsing in tap water for 12 ... 24 hours. Slices of 20 ... 30 μ m thick were obtained using a freezing microtome MZ-2. The preparations were stained with hematoxylin and eosin according to the standard technique. The parameter of mitotic activity of tumor tissue, the mitotic index, was calculated as the number of mitoses per 1000 cells of the tumor parenchyma, measured in the areas with the highest proliferative activity of the neoplasm on the periphery of the tumor node. Cell nuclei in a state of physiological rest, as well as at the stages of mitosis and apoptosis, clearly visible on photographs of the microscope visual fields, were marked in a graphic editor and counted using the ImageJ program. Based on the data of histological diagnostics of biopsy material slices, such kinetic parameters of tumor growth as mitotic activity were studied - the mitotic index, the number of mitoses in the field of view, the proportion and types of pathologies of cell division, and the cell loss factor, numerically measured in the form of the apoptotic index were calculated. Based on the obtained data, a characteristic was given of the growth rate and invasiveness of this neoplasm of epithelial origin, as well as a prognosis of metastatic activity, the risk of recurrence and the likelihood of complete morphological regression of tumor tissue after radiation and chemotherapy.

Bibliography:

1. Terentiev, I. G. Research of kinetic parameters of tumor growth in the aspect of predicting the course of recurrent and metastatic neoplasms / I. G. Terentiev, S. S. Kuznetsov, K. V. Bazanov // *Fundamental research*. - 2015. - № 1-6. - P. 1235-1239.
2. Deep learning algorithms out-perform veterinary pathologists in detecting the mitotically most active tumor region / M. Aubreville, C. A. Bertram, C. Marzahl [et al.] // *Sci Rep*. - 2020. - 10. - P. 16447. - URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73246-2>.
3. Multivariate prognostic evaluation of the mitotic activity index and fibrotic focus in node-negative invasive breast cancers / J. Baak [et al.] // *European journal of cancer*. 2005. 41 (14). - P. 2093-101.
4. Bazanov, K. V. Modeling growth kinetics of recurrent and metastatic colorectal cancer in order to assess the effectiveness of chemotherapeutic treatment / K. V. Bazanov, S. S. Kuznetsov, I. G. Terentiev // *Modern technologies in medicine*. - 2014. - V. 6. - P. 85-91.
5. Meuten, Donald J. Tumors in Domestic Animals, Fifth Edition / Donald J. Meuten // John Wiley & Sons, Inc. - 2016. - P. 1008.
6. Indolent course of adrenocortical cancer: clinical and morphological characteristics of 7 patients / V. Yu. Bokhyan, A. I. Pavlovskaya, A. A. Kolomeitseva, V. E. Bugaev, I. S. Stilidi // *Endocrine surgery*. - 2016. - V. 10, № 4. - P. 13-19.
7. Strukov, A. I. Pathological anatomy: textbook / A. I. Strukov, V. V. Serov; edited by V. S. Paukov. - 6th ed., Rev. and add. - Moscow: GEOTAR - Media, 2015. - 880 p. - ISBN 978-5-9704-6138-9.
8. Therapeutic pathomorphosis of malignant tumors: clinical and morphological criteria. Classifications. The prognostic value of therapeutic pathomorphosis in breast cancer and other tumors / A. A. Lisaeva, Ya. V. Vishnevskaya, E. M. Roshchin, D. V. Komov, I. V. Kolyadina // *Tumors of the female reproductive system*. - 2011. - № 4. - P. 19-23.
9. Outcomes after high-dose radiation in the management of neuroendocrine neoplasms / K. S. Chen, C. Lawhn-Heath, S. Behr, R. Juarez, J. Whitman, A. Paciorenk [et al.] // *PLoS ONE*. - 2021. - 16 (6). - R. e0252574. - URL: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0252574>
10. Meuten, D. J. Mitotic Count and the Field of View Area: Time to Standardize / D. J. Meuten, F. M. Moore, J. W. George // *Veterinary Pathology*. - 2016. - Vol. 53 (1). - P. 7-9.
11. Levitskaya, A.B. Modern methods for apoptosis specification / A.B. Levitskaya, D.B. Nikityuk // *Vestnik of new medical technologies*. - 2005. - V. XII, № 3-4. - P. 33.
12. Tyshko, N. V. Specification of apoptosis activity in the organs of rats on the model of CCl4 toxic impact / N. V. Tyshko, K. E. Selyaskin, V. A. Tuteliyan // *Fundamental research*. - 2014. - № 10-5. - P. 993-998.
13. Introduction to methodology of apoptosis research in oncological diseases / V.N. Tsygan, A.M. Ivanov, V.A. Bubnov [and others]. - St. Petersburg: VmedA, 2010. - 64 p. - ISBN 978-5-98825-009-2.
14. Wong, R. S. Apoptosis in cancer: from pathogenesis to treatment / R. S. Wong // *J Exp Clin Cancer Res*. - 2011. -- 30 (1). - P. 87. — URL: <https://doi.org/10.1186/1756-9966-30-87>
15. Kalinichenko, S. G. Morphological characteristics of apoptosis and its significance in neurogenesis / S. G. Kalinichenko, N. Yu. Matveeva // *Morphology*. - 2007. - V. 131, № 2. - P. 16-28.
16. Mitko, V. Assessment of algorithms for mitosis detection in breast cancer histopathology images / V. Mitko, P. J. van Diest, S. M. Willems // *Med Image Anal*. - 2015. — 20 (1). - P. 237-248.