

Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.

Серія: Ветеринарні науки

Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet10021
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 619:616-091:619:089,87:616-066:637.7

Nuclear morphometry of mammary tumors of dogs and histopathological diagnosis

O. M. Fedets, O. I. Zayats, O. O. Zaitsev, M. V. Zakrevska, I. M. Kurlyak, S. V. Midyanuy

Stepan Gzhytskyi National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies Lviv, Lviv, Ukraine

Article info

Received 16.10.2020
Received in revised form
19.11.2020
Accepted 20.11.2020

Stepan Gzhytskyi National
University of Veterinary Medicine
and Biotechnologies Lviv,
Pekarska Str., 50, Lviv,
79010, Ukraine.
Tel.: +38-067-411-14-46
E-mail: fedets@lvet.edu.ua

Fedets, O. M., Zayats, O. I., Zaitsev, O. O., Zakrevska, M. V., Kurlyak, I. M., & Midyanuy, S. V. (2020). Nuclear morphometry of mammary tumors of dogs and histopathological diagnosis. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(100), 123–128. doi: 10.32718/nvlvet10021

For dog's mammary tumors diagnostics scientists need researches, which can adopt and use methods developed for humans. The aim of this research paper is to set the inter relation between the parameters of nuclear morphometry (nuclear area, diameter, perimeter) and histopathological type of mammary tumors of dogs. Animals aged from 6 to 12 (medium meaning 9.2 ± 1.6 years). According to histopathological research 3 tumors were benign and 25 were malignant, 18 of them – malignant epithelial neoplasms (3 tubular carcinomas, 13 tubulopapillary carcinomas, 1 cystic-papillary carcinoma, 3 colid carcinomas, 1 micropapillary carcinoma), 3 malignant epithelial neoplasms of special type (mucinous, lipid-rich, spindle cell carcinomas) and 4 malignant mesenchymal neoplasms (chondrosarcoma). Nuclear morphometry parameters (nuclear area, perimeter and diameter) of benign tumours (20.48 ± 1.22 , $19.13-21.50 \mu\text{m}^2$; 19.27 ± 0.10 , $19.17-19.36 \mu\text{m}$ and 5.09 ± 0.16 , $4.92-5.22 \mu\text{m}$) were probably smaller than in malignant tumours, for example in simple carcinoma (38.61 ± 5.61 , $29.26-46.16 \mu\text{m}^2$; 26.42 ± 2.32 , $22.10-29.60 \mu\text{m}$ and 6.96 ± 0.52 , $6.03-7.62 \mu\text{m}$), tubular (37.89 ± 7.30 , $29.94-46.16 \mu\text{m}^2$; 26.34 ± 2.83 , $22.98-29.60 \mu\text{m}$ and 6.90 ± 0.70 , $6.16-7.62 \mu\text{m}$), tubulopapillary (40.22 ± 3.48 , $34.38-44.75 \mu\text{m}^2$; 27.02 ± 1.49 , $24.41-28.97 \mu\text{m}$ and 7.12 ± 0.31 , $6.58-7.52 \mu\text{m}$), colid (43.57 ± 5.54 , $37.71-48.73 \mu\text{m}^2$; 28.05 ± 1.88 , $26.54-30.15 \mu\text{m}$ and 7.41 ± 0.47 , $6.91-7.85 \mu\text{m}$), other malignant epithelial neoplasms (39.99 ± 5.15 , $29.94-48.73 \mu\text{m}^2$; 26.85 ± 2.03 , $22.98-30.15 \mu\text{m}$ and 7.09 ± 0.50 , $6.16-7.85 \mu\text{m}$) and malignant epithelial neoplasms of special types (45.89 ± 4.12 , $43.41-50.65 \mu\text{m}^2$; 29.92 ± 0.21 , $29.68-30.06 \mu\text{m}$ and 7.60 ± 0.34 , $7.41-8.00 \mu\text{m}$). However, there was not statistically significant difference in comparison between benign tumours and sarcomas (25.95 ± 5.21 , $21.64-33.00 \mu\text{m}^2$; 21.85 ± 1.79 , $20.21-24.05 \mu\text{m}$ and 5.68 ± 0.56 , $5.21-6.42 \mu\text{m}$). Among the different groups of malignant neoplasms lower rates were in sarcoma, the other groups had no difference. Taking into consideration the indicators of nuclear morphometry (nuclear area, diameter and perimeter) different types of neoplasms can be differentiated: benign from malignant tumours and sarcomas from malignant epithelial neoplasms (tubular, tubulopapillary, cystic-papillary, colid, micropapillary, mucinous, lipid-rich and spindle cell carcinomas).

Key words: cancer, nucleus, area, perimeter, diameter.

Ядерна морфометрія пухлин молочної залози собак та патогістологічний діагноз

О. М. Федець, О. І. Заяць, О. О. Зайцев, М. В. Закревська, І. М. Курляк, С. В. Мідяний

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

Для діагностики новоутворень молочної залози собак необхідні дослідження, які дозволять адаптувати методи, що розроблені для людини. Метою даної роботи було встановити взаємозв'язок між параметрами ядерної морфометрії (ядерна площа, діаметр

та периметр) і патогістологічним типом новоутворень молочної залози собаки. Тварини мали вік від 6 до 12 років (середнє значення $9,2 \pm 1,6$ років). Згідно патогістологічних досліджень 3 пухлини були доброякісні і 25 злоякісні, серед яких було 18 злоякісних епітеліальних новоутворень (3 тубулярні карциноми, 13 тубулопапілярних карцином, 1 кістопапільярна карцинома, 3 солідні карциноми, 1 мікропапілярна карцинома), 3 злоякісних епітеліальних новоутворень спеціальних типів (муцинозна, ліпоїдна, веретенклітинна карцинома) і 4 злоякісних мезенхімальних новоутворень (хондросаркоми). Параметри ядерної морфометрії (площа, периметр і діаметр ядра) у доброякісних пухлин ($20,48 \pm 1,22$, $19,13-21,50$ мкм²; $19,27 \pm 0,10$, $19,17-19,36$ мкм і $5,09 \pm 0,16$, $4,92-5,22$ мкм) були вірогідно менші ніж у злоякісних, зокрема у простій карциномі ($38,61 \pm 5,61$, $29,26-46,16$ мкм²; $26,42 \pm 2,32$, $22,10-29,60$ мкм і $6,96 \pm 0,52$, $6,03-7,62$ мкм), тубулярній ($37,89 \pm 7,30$, $29,94-46,16$ мкм²; $26,34 \pm 2,83$, $22,98-29,60$ мкм і $6,90 \pm 0,70$, $6,16-7,62$ мкм), тубулопапілярній ($40,22 \pm 3,48$, $34,38-44,75$ мкм²; $27,02 \pm 1,49$, $24,41-28,97$ мкм і $7,12 \pm 0,31$, $6,58-7,52$ мкм), солідній ($43,57 \pm 5,54$, $37,71-48,73$ мкм²; $28,05 \pm 1,88$, $26,54-30,15$ мкм і $7,41 \pm 0,47$, $6,91-7,85$ мкм), інших злоякісних епітеліальних новоутвореннях ($39,99 \pm 5,15$, $29,94-48,73$ мкм²; $26,85 \pm 2,03$, $22,98-30,15$ мкм і $7,09 \pm 0,50$, $6,16-7,85$ мкм) та злоякісних епітеліальних новоутвореннях спеціальних типів ($45,89 \pm 4,12$, $43,41-50,65$ мкм²; $29,92 \pm 0,21$, $29,68-30,06$ мкм і $7,60 \pm 0,34$, $7,41-8,00$ мкм). Проте не було вірогідної різниці у порівнянні доброякісних пухлин до саркоми ($25,95 \pm 5,21$, $21,64-33,00$ мкм²; $21,85 \pm 1,79$, $20,21-24,05$ мкм і $5,68 \pm 0,56$, $5,21-6,42$ мкм). Серед окремих груп злоякісних новоутворень вірогідно менші показники були лише у саркоми, а інші групи не відрізнялись між собою. За показниками ядерної морфометрії (площа ядра, його діаметр та периметр) можна диференціювати різні типи новоутворень молочної залози собаки, зокрема доброякісні від злоякісних та саркоми від злоякісних епітеліальних новоутворень (тубулярної, тубулопапілярної, кістопапільярної, солідної, мікропапілярної, муцинозної, ліпоїдної та веретенклітинної карциноми).

Ключові слова: рак, ядро, площа, периметр, діаметр

Вступ

Більшість новоутворень, які діагностують у собак, є новоутвореннями молочної залози (Vascellari et al., 2016). Патогістологічне дослідження є ключовим у їх діагностиці, проте цитологічне дослідження має ряд переваг: простота у використанні, економічна ефективність, відносна неінвазивність та швидке забезпечення результатів (Dolka et al., 2018). Гістологічна класифікація пухлин молочної залози собаки є адаптована з досліджень людини (Goldschmidt, 2011). З гістологічною класифікацією корелює цитологічна система класифікації і цитологічні дослідження є рекомендовані для прогнозу (No authors, 1997). В літературі найбільше представлени результати досліджень у людини (Pienta et al., 1991; Ruiz et al., 1999; Ikratt et al., 2002; Radwan et al., 2003; Kalhan et al., 2010; Chowdhury et al., 2018; Dolka et al., 2018). Є повідомлення що цитологічний метод, який розроблений і прийнятий для людини, може бути адаптований для ветеринарної цитології (Dolka et al., 2018), проте результатів отриманих у собак є небагато і тому необхідними є додаткові дослідження.

Метою даної роботи було встановити взаємозв'язок між параметрами ядерної морфометрії (ядерна площа, діаметр та периметр) і патогістологічним типом новоутворень молочної залози собаки.

Матеріал і методи досліджень

Для досліджень використали 28 зразків з пухлин, які отримали при їх видаленні з молочної залози собак. Тканини фіксували в 5 % розчині нейтрального забуференого формаліну; зневоднювали, витримуючи по одній добі у 70 %, 80 %, 96 % та абсолютному етанолі; витримували 1 год у суміші етанолу з хлороформом (1:1), тричі по 30 хв промивали хлороформом; поміщали на 30 хв в суміш хлороформу з парафіном (1:1) при температурі 37 °C і двічі по 30 хв в парафін

56–58 °C, після чого заливали у парафінові блоки. Парафінові зрізи товщиною 7 мкм отримували на санному мікротомі MC-2. Зрізи розправлені в дистильованій воді при температурі 45 °C монтували на предметному склі, підсушували при кімнатній температурі та протягом 12 год в термостаті при температурі 45 °C. Гістологічні зрізи депарафінували та забарвлювали гематоксиліном та еозином. Отримані препарати оглядали під мікроскопом Leica DM-2500 з камерою LeicaDFC450C і програмним забезпеченням Leica Application Suite Version 4.4 [Build:454] Leica Microsystems (Switzerland) Limited. Показники ядерної морфометрії (площу ядра, його діаметр та периметр) встановлювали з використанням програми Aperio Image Scope 12.1.0.5029, проводячи по 20 вимірів кожного показника у кожній пробі. Гістологічний тип пухлин встановлювали за класифікацією Goldschmidt et al., (2010). Статистичну обробку одержаних результатів проводили з використанням t-тесту Стьюдента, достовірними вважали розбіжності при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Тварини мали вік від 6 до 12 років (середнє значення $9,2 \pm 1,6$ років). Згідно патогістологічних досліджень (табл.) 11% пухлини були доброякісні а 89% злоякісні, серед яких найбільше було злоякісних епітеліальних новоутворень (64 %).

Досліджувані параметри ядерної морфометрії у доброякісних пухлин (рис. 1) були вірогідно менші ніж у злоякісних, зокрема у простій карциномі (тубулярній (рис. 2) і тубулопапілярній (рис.3), солідній (рис. 4), інших злоякісних епітеліальних новоутвореннях та злоякісних епітеліальних новоутвореннях спеціальних типів (рис. 5). Проте не було вірогідної різниці у порівнянні до саркоми (рис. 6). Серед окремих груп злоякісних новоутворень вірогідно менші показники були лише у саркоми, а інші групи не відрізнялись між собою.

Таблиця

Параметри ядерної морфометрії та патогістологічний діагноз доброякісних і злоякісних пухлин молочної залози собак ($M \pm m$)

Патогістологічний діагноз	Площа ядра, мкм ²	Периметр ядра, мкм	Діаметр ядра, мкм
Доброякісні новоутворення (фіброаденома, інтрадуктальна папілярна аденома) (n = 3)	20,48 ± 1,22	19,27 ± 0,10	5,09 ± 0,16
	19,13–21,50	19,17–19,36	4,92–5,22
Проста карцинома (тубулярна, тубулопапілярна, кістоплапілярна карцинома) (n = 14)	38,61 ± 5,61	26,42 ± 2,32	6,96 ± 0,52
	29,26–46,16	22,10–29,60	6,03–7,62
	P ₁ < 0,00 P ₂ < 0,001	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001
Тубулярна карцинома (n = 5)	37,89 ± 7,30	26,34 ± 2,83	6,90 ± 0,70
	29,94–46,16	22,98–29,60	6,16–7,62
	P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,05	P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,05	P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,05
Тубулопапілярна карцинома (n = 8)	40,22 ± 3,48	27,02 ± 1,49	7,12 ± 0,31
	34,38–44,75	24,41–28,97	6,58–7,52
	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001
Солідна карцинома (n = 3)	43,57 ± 5,54	28,05 ± 1,88	7,41 ± 0,47
	37,71–48,73	26,54–30,15	6,91–7,85
	P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,01	P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,01	P ₁ < 0,01 P ₂ < 0,01
Злоякісні епітеліальні новоутворення (тубулярна, тубулопапілярна, кістоплапілярна, солідна, мікропапілярна карцинома) (n = 18)	39,99 ± 5,15	26,85 ± 2,03	7,09 ± 0,50
	29,94–48,73	22,98–30,15	6,16–7,85
	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001
Злоякісні епітеліальні новоутворення – спеціальні типи (муциозна, ліпідна, веретеноклітинна карцинома) (n = 3)	45,89 ± 4,12	29,92 ± 0,21	7,60 ± 0,34
	43,41–50,65	29,68–30,06	7,41–8,00
	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,001	P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01
Злоякісні мезенхімальні новоутворення – саркоми (хондросаркоми) (n = 4)	25,95 ± 5,21	21,85 ± 1,79	5,68 ± 0,56
	21,64–33,00	20,21–24,05	5,21–6,42
	P ₁ > 0,2	P ₁ > 0,1	P ₁ > 0,2
Разом злоякісні новоутворення (n = 25)	38,39 ± 7,78	26,40 ± 3,01	6,92 ± 0,75
	21,64–50,65	22,05–30,15	5,21–8,00
	P ₁ < 0,001	P ₁ < 0,001	P ₁ < 0,001

Примітка: P₁ – вірогідність відмінностей між доброякісними і злоякісними новоутвореннями; P₂ – вірогідність відмінностей між саркомою та іншими злоякісними новоутвореннями; значення P: * – < 0,05; ** – < 0,01; *** – < 0,001

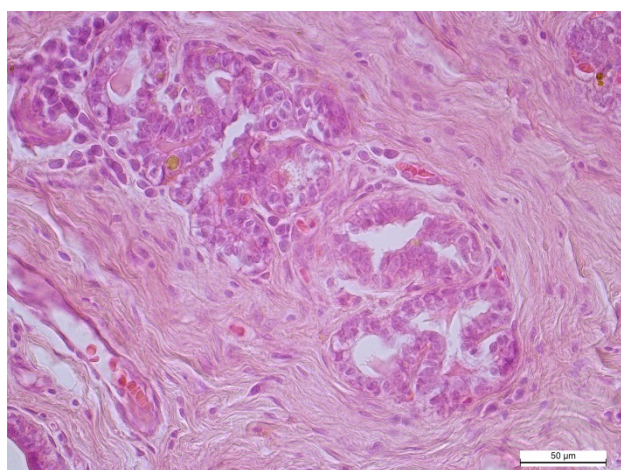


Рис. 1. Фіброаденома, х400

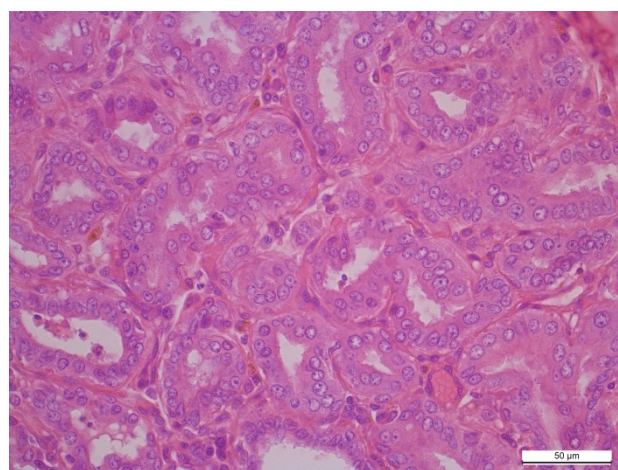


Рис. 2. Тубулярна карцинома, х400

Подібну, до отриманих нами результатів, відмінність ядерної площі встановили [Pierini et al. \(2017\)](#), досліджуючи аспірати із добро- та злоякісних пухлин молочної залози собаки – 69,7 мкм² (47,6–85,6 мкм²) і

82,2 мкм² (50,5–93,5 мкм²) відповідно. Тобто у злоякісних вона була вища.

[Ciurea et al. \(1992\)](#) виявили також відмінності ядерної площі та ядерного периметру та у собак з доброякісною аденомою та карциномою молочної залози.

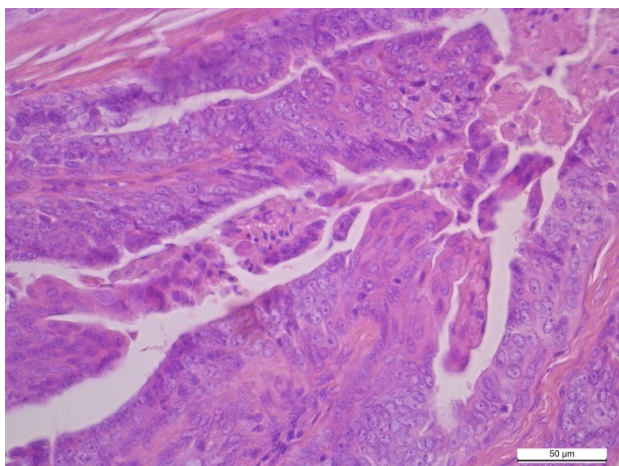


Рис. 3. Тубулопапілярна карцинома, х400

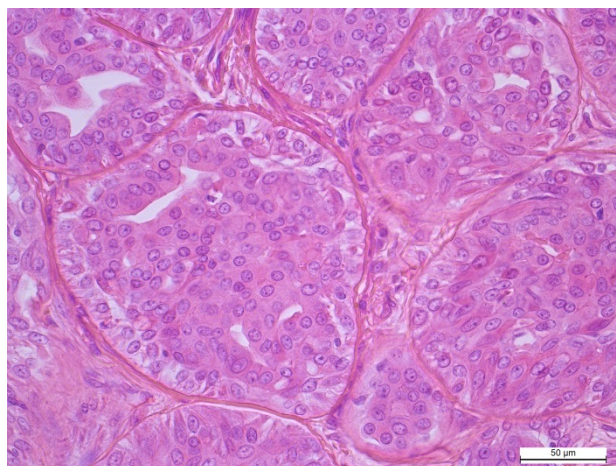


Рис. 4. Сольідна карцинома, х400

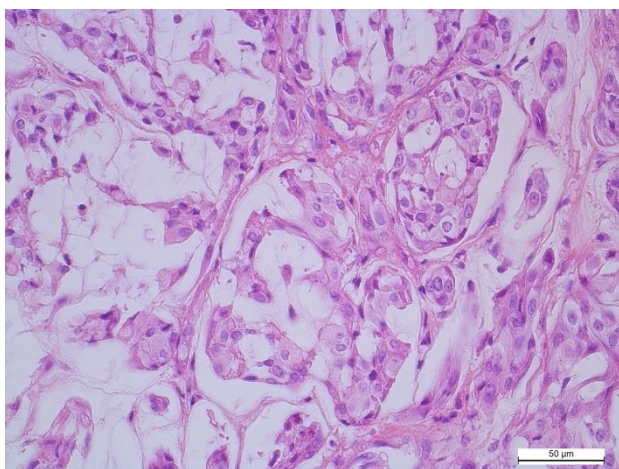


Рис. 5. Муцинозна карцинома, х400

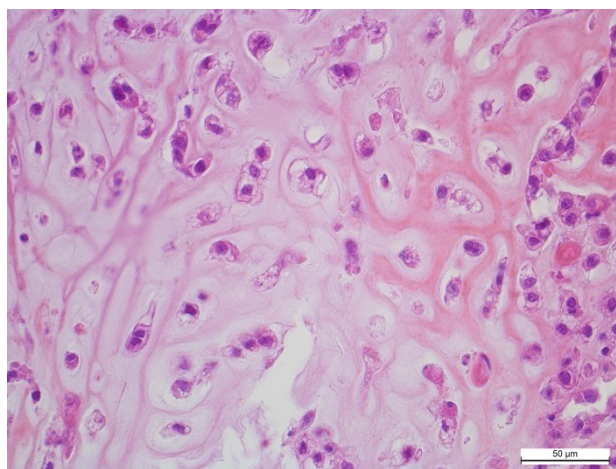


Рис. 6. Хондросаркома, х400

Якщо, згідно наших даних, не виявлено різниці ядерної площі між окремими групами злоякісних новоутворень, за винятком сарком, то [De Vico et al. \(2007\)](#) виявили значні відмінності між новоутвореннями молочної залози собаки. Показники карциноми $51,98 \pm 13,76 \text{ мкм}^2$ (34,99–81,34) і карциноми змішаного типу $56,98 \pm 1,54 \text{ мкм}^2$ (45,25–71,12) були менші, ніж у дуктальної карциноми $76,55 \pm 12,93 \text{ мкм}^2$ (52,98–93,81) і анапластичної карциноми $85,70 \pm 1,54 \text{ мкм}^2$ (84,61–86,8).

Отримані нами результати варіабельності ядерного діаметру узгоджуються з даними [Simeonov & Simeonova \(2006\)](#), які встановили, що у доброякісній аденомі цей показник менший, ніж у злоякісних тубулопапілярній та сольідній карциномі молочної залози собаки – $9,02 \pm 0,62 \text{ мкм}$ проти $10,46 \pm 0,87$ і $11,73 \pm 1,83 \text{ мкм}$. Проте різниця не вірогідна і не є така значна, як згідно наших даних. Ці показники були вірогідно вищі при порівнянні до нормальної тканини $6,95 \pm 0,88 \text{ мкм}$.

Значно більше є результатів досліджень у жінок, згідно яких встановлені подібні до отриманих нами відмінності показників ядерної морфометрії між доброякісними і злоякісними новоутвореннями молочної залози ([Pienta et al., 1991](#); [Ruiz et al., 1999](#); [Ikpatt et al., 2002](#); [Radwan et al., 2003](#); [Kalhan et al., 2010](#); [Ilicl et al., 2016](#); [Chowdhury et al., 2018](#); [Dolka et al., 2018](#)), та між

нормальною тканиною і новоутвореннями ([Pienta et al., 1991](#)).

Наші результати ядерних морфометричних параметрів відрізняються від описаних в літературі. Такі ж відмінності є і між результатами отриманими різними дослідниками при вивченні цих параметрів в новоутвореннях молочної залози жінок: 1) площа ядра у доброякісних пухлин $47,32 \pm 3,53 \text{ мкм}^2$, а у злоякісних $140,75 \pm 22,94 \text{ мкм}^2$ ([Chowdhury et al., 2017](#)); у доброякісних (лобулярна гіперплазія) $60,1 \text{ мкм}^2$, а у злоякісних (внутрипротокова карцинома) $94,3 \text{ мкм}^2$ ([Ikpatt et al., 2002](#)); у доброякісних (гіперплазія) $30,62 \text{ мкм}^2$, а у злоякісних (карцинома in situ) $45,21 \text{ мкм}^2$ ([Ruiz et al., 1999](#)); у доброякісних $38,34 \pm 7,73 \text{ мкм}^2$, а у злоякісних (карцинома in situ) $105,63 \pm 17,45 \text{ мкм}^2$ ([Radwan et al., 2003](#)); у доброякісних $28,46 \pm 7,72 \text{ мкм}^2$, а у злоякісних $94,19 \pm 19,49 \text{ мкм}^2$ ([Kalhan et al., 2010](#)); 2) периметр ядра $24,36 \pm 0,916 \text{ мкм}$ і $41,92 \pm 3,33 \text{ мкм}$ ([Chowdhury et al., 2017](#)); $28,9 \text{ мкм}$ і $35,5 \text{ мкм}$ ([Ikpatt et al., 2002](#)); $20,3 \text{ мкм}$ і $28,88 \text{ мкм}$ ([Ruiz et al., 1999](#)); $25,08 \pm 2,36 \text{ мкм}$ і $40,73 \pm 3,28 \text{ мкм}$ ([Radwan et al., 2003](#)); $19,77 \pm 2,42$ і $36,19 \pm 4,91$ ([Kalhan et al., 2010](#)); 3) діаметр ядра $7,74 \text{ мкм}$ і $13,34 \text{ мкм}$ ([Chowdhury et al., 2018](#)); $8,6 \text{ мкм}$ і $10,7 \text{ мкм}$ ([Ikpatt et al., 2002](#)).

[Ikpatt et al. \(2002\)](#) припускають, що різниця в морфометричних параметрах ядра новоутворень молочної залози жінок з різних країн може бути наслідком різ-

них клінічних стадій захворювання та відмінностей в методах досліджень.

Abdalla et al. (2009) встановили зв'язок між середньою ядерною площею та стадією і розміром пухлини у жінок, та станом лімфатичних вузлів. Ядерні морфометричні параметри можуть надати значну прогностичну інформацію при прогнозуванні виживання (пацієнтів можна поділити на дві групи з хорошим та поганим прогнозом) та ризику прогресування пухлин.

На думку Kashyap et al. (2018) морфометрія є об'єктивним інструментом діагностики та оцінки раку молочної залози жінок, корелює з розмірами пухлини та ураженням лімфовузлів і може бути використана для прогнозу.

De Vico et al. (2007) продемонстрували, що підвищений показник ядерної площі пухлинних клітин молочної залози собаки пов'язаний з наявністю метастазів у лімфовузлі.

Carleton et al. (2016), використовуючи параметри ядерної морфометрії (площа, периметр та діаметр), розробили автоматизовану кількісну оцінку, що може бути використана для точного прогнозування агресивності та рецидиву раку молочної залози у жінок, після хірургічного видалення пухлин та для інформування пацієнтів про терапію.

Отже, за показниками ядерної морфометрії площа ядра, його діаметр та периметр можна диференціювати різні типи новоутворень молочної залози собаки, зокрема доброякісні від злоякісних та саркоми від злоякісних епітеліальних новоутворень (тубулярної, тубулопапілярної, кістопапілярної, солідної, мікропапілярної, муцинозної, ліпоїдної та веретенноклітинної карцином).

Перспективи подальших досліджень це вивчення розмірів ядерця та ядра і характеристика різних типів новоутворень молочної залози собак за ядерцево-ядерним і ядерно-цитоплазматичним співвідношенням.

Висновки

1. Параметри ядерної морфометрії (площа ядра, його діаметр та периметр) у доброякісних новоутвореннях вірогідно менші ніж у злоякісних новоутвореннях молочної залози собаки (простій – тубулярній і тубулопапілярній карциномі, солідній карциномі, інших злоякісних епітеліальних новоутвореннях та злоякісних епітеліальних новоутвореннях спеціальних типів).

2. Параметри ядерної морфометрії (площа ядра, його діаметр та периметр) у саркомі вірогідно менші ніж у злоякісних новоутвореннях молочної залози собаки.

Подяки

Ця робота була фінансово підтримана Міністерством освіти і науки України (0118U003495).

References

- [No authors listed]. (1997). The uniform approach to breast fine-needle aspiration biopsy. *National Cancer Institute Fine-Needle Aspiration of Breast Workshop Subcommittees. DiagnCytopathol*, 16(4), 295–311. doi:10.1002/(sici)1097-0339(1997)16:4<295::aid-dc1>3.0.co;2-d.
- Abdalla, F., Boder, J., Markus, R., Hashmi, H., Buhmeida, A., & Collan, Y. (2009). Correlation of nuclear morphometry of breast cancer in histological sections with clinicopathological features and prognosis. *Anticancer Res*, 29(5), 1771–1776. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19443402>.
- Carleton, N., Zhu, G., Resar, L., Rooper, L., Bae, Y. K., & Veltri, R. W. (2016). Abstract 3922: Prediction of breast cancer progression using nuclear morphometry. *Cancer Res.*, 76(14 Suppl), 3922. doi: 10.1158/1538-7445.AM2016-3922.
- Chowdhury, A. R., Talukdar, M., & Adhikari, A. (2017). Role of nuclear morphometry as objective parameter to evaluate cytology smears of epithelial breast lesions. *J Clin Diagn Res*, 11(12), EC26–EC28. doi: 10.7860/JCDR/2017/30799.10957.
- Ciurea, D., Wilkins, R. J., Shalev, M., Liu, Z. Y., Barba, J., & Gil, J. (1992). Use of computerized interactive morphometry in the diagnosis of mammary adenoma and adenocarcinoma in dogs. *Am J Vet Res*, 53(3), 300–303. URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1595955>.
- De Vico, G., Maiolino, P., Cataldi, M., Mazzullo, G., & Restucci, B. (2007). Nuclear morphometry in relation to lymph node status in canine mammary carcinomas. *Vet Res Commun*, 31(8), 1005–1011. doi: 10.1007/s11259-006-0108-7.
- Dolka, I., Czopowicz, M., Gruk-Jurka, A., Wojtkowska, A., Sapiernyński, R., & Jurka, P. (2018). Diagnostic efficacy of smear cytology and Robinson's cytological grading of canine mammary tumors with respect to histopathology, cytomorphometry, metastases and overall survival. *PLoS One*, 13(1), e0191595. doi: 10.1371/journal.pone.0191595.
- Goldschmidt, M., Pena, L., Rasotto, R., & Zappulli, V. (2011). Classification and grading of canine mammary tumors. *Veterinary pathology*, 48(1), 117–131. doi: 10.1177/0300985810393258.
- Ikpatt, O. F., Kuopio, T., & Collan, Y. (2002). Nuclear morphometry in african breast cancer. *Image Anal Stereol*, 21(2), 145–150. doi: 10.5566/ias.v21.
- Ilic, I. R., Stojanović, N. M., Randjelović, P. J., Mihajlović, M. N., Radulović, N. S., & Ilić, R. S. (2016). Evaluation of pathological parameters and morphometric data of desmoplastic lobular breast carcinoma. *Indian J Pathol Microbiol.*, 59(4), 463–468. doi: 10.4103/0377-4929.191775.
- Kalhan, S., Dubey, S., Sharma, S., Dudani, S., Preeti, & Dixit, M. (2010). Significance of nuclear morphometry in cytological aspirates of breast masses. *J Cytolol*, 27(1), 16–21. doi: 10.4103/0970-9371.66694.
- Kashyap, A., Jain, M., Shukla, S., & Andley, M. (2018). Role of nuclear morphometry in breast cancer and its

- correlation with cytomorphological grading of breast cancer: A Study of 64 Cases. *J Cytol*, 35(1), 41–45. doi: 10.4103/JOC.JOC_237_16.
- Pienta, K. J., & Coffey, D. S. (1991). Correlation of nuclear morphometry with progression of breast cancer. *Cancer*, 68(9), 2012–2016. doi: 10.1002/1097-0142(19911101)68:9<2012::aid-cnrcr2820680928>3.0.co;2-c.
- Pierini, A., Millanta, F., Zanforlin, R., Vannozzi, I., Marchetti, V. (2017). Usefulness of cytologic criteria in ultrasound-guided fine-needle aspirates from subcentimeter canine mammary tumors. *J Vet Diagn Invest*, 29(6), 869–873. doi: 10.1177/1040638717718886.
- Radwan, M. M., Amer, K. A., Mokhtar, N. M., Kandil, M. A., El-Barbary, A. M., & Aiad, H. A. (2003). Nuclear morphometry in ductal breast carcinoma with correlation to cell proliferative activity and prognosis. *J Egyptian Nat Cancer Inst*, 15(3), 169–182.
- Ruiz, A., Almenar, S., Callaghan, R. C., & Llombart-Bosch, A. (1999). Benign, preinvasive and invasive ductal breast lesions. a comparative study with quantitative techniques: morphometry, image- and flow cytometry. *Pathol. Res. Pract.*, 195(11), 741–746. doi: 10.1016/S0344-0338(99)80115-0.
- Simeonov, R., & Simeonova, G. (2006). Computerized morphometry of mean nuclear diameter and nuclear roundness in canine mammary gland tumors on cytologic smears. *Vet Clin Pathol*, 35(1), 88–90. doi: 10.1111/j.1939-165X.2006.tb00093.x.
- Vascellari, M., Capello, K., Carminato, A., Zanardello, C., Baioni, E., & Mutinelli, F. (2016). Incidence of mammary tumors in the canine population living in the Veneto region (Northeastern Italy): Risk factors and similarities to human breast cancer. *Prev Vet Med*, 126, 183–189. doi: 10.1016/j.prevetmed.2016.02.008.