DOI 10.25040/ntsh2018.02.067

УДК: 616.61-006.6-018.7

ОСОБЛИВОСТІ УЛЬТРАСТРУКТУРИ ОСЕРЕДКІВ РЕНАЛЬНОЇ ІНТРАТУБУЛЯРНОЇ НЕОПЛАЗІЇ ПРИ СВІТЛОКЛІТИННОМУ РАКУ НИРКИ

Дмитро Зербіно, Соломія Федевич, Юлія Кузик

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
Львів, Україна, solomiya.fedevych@gmail.com

Мета. Порівнюючи, дослідити ультраструктурні особливості клітин, клітинних і неклітинних елементів ренальної інтратубулярної неоплазії перитуморальної тканини при світлоклітинному раку нирки (СКРН) високого, середнього та низького ступенів диференціації.

Матеріали та методи. Матеріалом для проведення дослідження в трансмісійному електро-но-мікроскопічному виконанні слугували післяопераційні біоптати перитуморальної тканини при: високодиференційованому СКРН (G1) – п'ять випадків; середнього ступеня диференціації СКРН (G2) – п'ять випадків і низького ступеня диференціації СКРН (G3) – шість випадків. Досліджували. На ультраструктурному рівні в перитуморальній тканині при СКРН різної диференціації (G1, G2, G3), були досліджені ниркові тубули (НТ) і дотичні до них елементи строми.

Результати дослідження. Виявлено, що у НТ перитуморальної тканини при СКРН високодиференційованого (G1) і середнього ступеня диференціації (G2) осередки ренальної інтратубулярної неоплазії представлені здебільшого середньої електронної щільності малодиференційованими епітеліальними клітинами з великим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням. В окремих осередках ренальної інтратубулярної неоплазії при СКРН зазначених ступенів диференціації наявні епітеліальні клітини з малим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням, цитоплазма яких наповнена дезорганізованими дрібними мітохондріями, тільцями Маллорі, гранулами глікогену й аутофагосомами. Перитуморальна тканина при СКРН високодиференційованого (G1) і середнього ступеня диференціації (G2) містить гемокапіляри, дрібні венули, скупчення фібробластів, макрофагів, плазмочитів. Характерною ультраструктурною ознакою перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3) є наявність НТ малого діаметра, що окутані дуже товстими, водночас розшарованими базальними мембранами. Типовим для окремих малодиференційованих епітеліальних клітин осередків ренальної інтратубулярної неоплазії НТ перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3) є наявність в їхній цитоплазмі поєданого з зовнішньою мембраною ядерної оболонки дуже великих розмірів, кулястої форми електронно-щільного тільця Маллорі. Виявлено також, що за умов ренальної інтратубулярної неоплазії багато осередків ренальної інтратубулярної неоплазії НТ перитуморальної тканини наповнені епітеліальними клітинами, цитоплазма яких вміщує гігантських розмірів аутофагосому й електронно-щільне скупчення гранул глікогену. В складі аутофагосом містяться дрібні ліпідні краплі незначної електронної щільності та приблизно такого ж розміру дуже високої електронної щільності кулястої форми утвори нез'ясованої природи.

Висновки. Епітеліальні клітини осередків ренальної інтратубулярної неоплазії перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3), порівняно з аналогічними епітеліальними клітинами осередків ренальної інтратубулярної неоплазії перитуморальної тканини при СКРН високого (G1) і середнього (G2) ступенів диференціації, мають цитоплазму, яка найбільш насичена тільцями Маллорі, аутофагосомами, електронно-щільними скупченнями гранул глікогену.

Ключові слова: Світлоклітинний рак нирки, перитуморальна тканина, ренальна інtratубулярна неоплазія, ультраструктура

ULTRASTRUCTURAL FEATURES OF RENAL INTRATUBULAR STRUCTURES IN CLEAR CELL RENAL CELL CARCINOMA

Dmytro Zerbino, Solomiya Fedevych, Yuliia Kuzyk

*Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine,
solomiya.fedevych@gmail.com*

The aim was to use the comparison to research the ultrastructural peculiarities of cells, cellular and noncellular elements of renal intratubular neoplasia of peritumoral tissue with high, average and low levels of differentiation in case of clear cell renal cell carcinoma (CCRCC).

Material and methods. Material for transmission electron microscopic testing was postoperative biopsies of the peritumoral tissue with highly differentiated CCRCC (G1) – five cases; with an average level of differentiation (G2) – five cases; with a low level of differentiation (G3) – six cases. Renal tubules (RT) and tangential stroma elements with different differentiation (G1, G2, G3) in peritumoral tissue at the ultrastructural level were researched.

Results. It was detected that in RT of peritumoral tissue with a highly differentiated CCRCC (G1) and the average level of differentiation (G2), cells of renal intratubular neoplasia are mainly of the average electron density and represented by the mild-differentiated epithelial cells with large nuclear-cytoplasmic ratio cells. In certain areas of renal intratubular neoplasia in case of CCRCC with the specified levels of differentiation, there are epithelial cells with the small nuclear-cytoplasmic ratio, where the cytoplasm is filled with disorganized small mitochondria, Mallory bodies, glycogen granules, and autophagosomes. Peritumoral tissue in case of highly differentiated CCRCC (G1) and the average level of differentiation (G2) contains hemocapillaries, small venules, clusters of fibroblasts, macrophages, plasmocytes. The presence of RT with a small diameter coated with very thick and layered basal membranes is a characteristic ultrastructural feature of peritumoral tissue with a low degree of differentiation (G3). The presence in the cytoplasm of a large spherical electron dense Mallory body, which is connected to the outer membrane of the nuclear envelope, is typical for separate poorly differentiated epithelial cells of the areas of renal intratubular neoplasia RT of the peritumoral tissue in case of CCRCC with a low level of differentiation (G3). It was also revealed that in case of renal intratubular neoplasia, many areas of renal intratubular neoplasia RT of the peritumoral tissue are filled with epithelial cells with the cytoplasm containing giant autophagosome and electron-density cluster of glycogen granules. The autophagosomes contain small lipid drops of insignificant electron density and spherical formation of an unspecified nature with approximately equal very high electron density.

Conclusions. Epithelial cells of the renal intratubular neoplasia areas of the peritumoral tissue in case of CCRCC with a low level of differentiation (G3), as compared to similar epithelial cells of the renal intratubular neoplasia areas of the peritumoral tissue with high (G1) and average (G2) levels of differentiation, have a cytoplasm, which is the most saturated with Mallory bodies, autophagosomes, electron-density clusters of glycogen granules.

Disclosures. No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors. Author contribution. Solomiya Fedevych drafted manuscript; Yuliia Kuzyk edited and revised manuscript; Dmytro Zerbino approved final version of the manuscript.

Key words: *Clear cell renal cell carcinoma, peritumoral tissue, renal intratubular neoplasia, ultrastructure*

Вступ. Світлоклітинний рак нирки (СКРН) оточений перитуморальною тканиною нирки [4, 16]. До перитуморальної тканини зачисляють поняття «пухлинне поле», позаяк у ній розпочинається ріст пухлини і по ній же поширюється пухлина [9]. За перитуморальну тканину приймають: безпосередньо прилеглу до псевдокапсули пухлинну тканину; псевдокапсулу; тканину, розміщену за псевдокапсулою відносно «інтактної паренхіми» нирки. Ширина перитуморальної тканини злоякісних новоутворів нирки коливається від 152,5 до 2593,2 мкм і є залежною від розміру пухлини [4]. Із перитуморальною тканиною пов'язані структурно-функціональні перетворення (дисплазія) епітеліальних клітин (осередків) ниркових тубул (НТ), які є попередниками пухлинних клітин [17]. Раніше дослідникам вдалося не тільки виявити осередки інтратубулярної епітеліальної дисплазії в перитуморальній тканині при нирково-клітинному раку, а й описати скупчення попередників пухлинних клітин у вигляді карциноми *in situ* [14, 31]. Сформульована та розвинута проблема ренальної інтратубулярної неоплазії як передраку нирки [22, 26, 31]. На підставі проведених імуногістохімічних реакцій на панцитокератин (цитоплазматичний антиген) і PCNA (ядерний антиген) виявили, що найбільша експресія зазначених антигенів супроводжує епітеліальні клітини НТ перитуморальної тканини при СКРН. Тоді як у пухлинних клітинах СКРН та відносно «інтактній паренхімі» нирки при СКРН ці імуногістохімічні реакції менш інтенсивні [17, 31]. Виявлено, що ренальна інтратубулярна неоплазія таких осередків асоціюється з групами епітеліальних клітин, окремі представники яких відрізняються розміром. Ядра зазначених епітеліальних клітин мають значні розміри. Осередки ренальної інтратубулярної неоплазії містяться неподалік від пухлинного вузла і часто в асоціації з явищами нефросклерозу [26]. Зростання розміру пухлини навіть на 1 см значно збільшує кількість випадків росту пухлинних клітин у перитуморальній псевдокапсулі [16].

У перитуморальній тканині нирки, у пухлинах високого ступеня злоякісності, ознаки ренальної інтратубулярної неоплазії (в тім

числі і проліферативну активність) виявляють частіше, ніж у пухлинах низьких ступенів анаплазії [3]. Ці ж дослідники виявили, що молекулярно-біологічні й анатомічні особливості перитуморальної тканини при нирковоклітинному раку залежать від ступеня градації пухлин. Перитуморальна тканина у пухлинах нирковоклітинного раку низьких ступенів злоякісності (G1-2) суттєво відрізняється від такої, як у носіїв пухлин нирковоклітинного раку високих ступенів злоякісності (G3-4). Виявилось те, що у перитуморальній тканині у пухлинах нирковоклітинного раку високих ступенів злоякісності (G3-4) осередки ренальної інтратубулярної неоплазії трапляються частіше, ніж у пухлинах низьких ступенів злоякісності (G1-2). Крім того, з'ясували, що елементи епітелію НТ за таких умов «замуровані» у щільній склерозованій і гіалінізованій стромі з вираженим еластозом. Для перитуморальної тканини пухлин низьких ступенів злоякісності (G1-2) характерні судини, що мають будову капілярів, а для пухлин нирковоклітинного раку високих ступенів злоякісності (G3-4) – судини лакунарного типу й утворені одним шаром ендотеліоподібних клітин. Наведені докази про зростання щільності мікроциркуляторного русла у перитуморальній тканині при появі віддалених метастазів, а наявність поліплодії і анеуплодії клітин карциноми нирки приводить до появи вогнищ проліферації та дисплазії в епітелії НТ перитуморальної тканини [15]. Також простежили, що у відносно «інтактній паренхімі» помічали аналогічні з перитуморальною тканиною тенденції: чим вищою була злоякісність і розмір пухлини, тим більше зростала в епітелії каналців нирки експресія маркерів проліферації й апоптозу, а активність ангиогенезу знижувалась. На цій підставі дослідники дійшли висновку, що нирка реагує на ріст злоякісної пухлини не тільки перитуморальною тканиною, а й як орган у цілому. Морфологічні зміни перитуморальної тканини – це дані, які головно отримали за допомогою методів патогістології, гістохімії та імуногістохімії. Вони належать до світлооптичного рівня аналізу та становлять клінічний інтерес у зв'язку з поширенням у хірургії пухлин нирки органозберігаючої тактики [29].

Зважаючи на тривале вивчення, генез СКРН, а особливо в ділянці епітеліальних клітин НТ перитуморальної тканини, остаточно не з'ясований [26, 27]. В літературі існує дискусія про достовірність багатьох імунних реакцій, специфічності антитіл, зрештою, правильної інтерпретації та можливості категоризації результатів фарбування [28]. На цій підставі згадані дослідники вважають метод трансмісійної електронної мікроскопії «золотим стандартом» для вивчення внутрішньоклітинних утворів і пов'язаних із ними процесів у тканинах.

Разом з тим немає досліджень які б на підставі порівнянь показали ультраструктурну організацію клітин, клітинних і неклітинних елементів ренальної інтратубулярної неоплазії перитуморальної тканини при СКРН різних ступенів диференціації. Тому виникла потреба дослідити ультраструктури осередків ренальної інтратубулярної неоплазії перитуморальної тканини при СКРН різних ступенів диференціації.

Мета роботи – дослідити, порівнюючи, ультраструктурні особливості клітин, клітинних і неклітинних елементів ренальної інтратубулярної неоплазії перитуморальної тканини при СКРН високого (G1), середнього (G2) та низького (G3) ступенів диференціації.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на базі урологічного відділення (Львівська обласна клінічна лікарня), кафедрі патологічної анатомії та судової медицини, лабораторії електронної мікроскопії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. У рандомізований спосіб, на підставі медичних карт стаціонарного хворого про встановлення клінічного діагнозу раку нирки, досліджено 16 пацієнтів, яких направили на проведення хірургічної операції та патогістологічне дослідження. Патогістологічне дослідження охоплювало визначення форми, складу та діаметру ядер пухлинних клітин новотвору на підставі їхньої мікроскопічної морфології (дослідження зрізів пофарбованих гематоксиліном і еозином). Ядерні характеристики в системі гістологічної класифікації СКРН за S.A.Fuhrman та співавторами [10] забезпечують верифіка-

цію діагнозу за ступенями диференціації (градації) G1, G2, G3, G4 [6, 25]. Проведений відповідно до рекомендацій МОЗ України від 28.03.2016 р. «Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при раку нирки» аналіз протоколів патогістологічного дослідження біопсійного матеріалу пухлин хворих на рак нирки дав змогу стратифікувати їх на три групи за ступенями диференціації СКРН: а) із високодиференційованим раком (G1) – п'ять випадків: чотири чол. (віком 61, 61, 61, 83 роки) та одна жін. (віком 50 років)); б) із раком середнього ступеня диференціації (G2) – п'ять випадків: три чол. (віком 43, 66, 66 років) та дві жінки (віком 59, 69 років); в) із раком низького ступеня диференціації (G3) – шість випадків, всі чол. (віком 48, 52, 56, 58, 71, 75 років).

Збір матеріалу провадили згідно з апробованими схемами патологістологічних досліджень нирковоклітинного раку [4].

Матеріалом для проведення дослідження в трансмісійному електронно-мікроскопічному виконанні слугували післяопераційні біоптати перитуморальної тканини при СКРН згаданих хворих.

Методика ультрамікроскопічного дослідження. Матеріал фіксували у 2 % розчині чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері рН 7,36 за загальноприйнятою у трансмісійній електронній мікроскопії методикою. Зафіксовані у розчині чотириокису осмію біоптати дегідрували в етанолі зростаючої концентрації, відтак в ацетоні, після чого розміщали в суміш епону та аралдиту [12]. Ультратонкі зрізи готували за допомогою ультрамікротома УМТП-3М, монтували їх на опорні сітки та контрастували в розчинах ураніл ацетату [30] і цитрату свинцю [23]. Проконтрастовані ультратонкі зрізи вивчали та фотографували з використанням електронного мікроскопа УЭМВ-100К (м. Суми), за прискорюючої напруги 75 кВ.

Досліджували. На ультраструктурному рівні в перитуморальній тканині при СКРН різної диференціації (G1, G2, G3) були досліджені НТ та дотичні до них елементи строми.

Результати дослідження. Електронна мікроскопія перитуморальної тканини при високодиференційованому (G1) СКРН допомогла виявити, що тут серед переважаючих об'ємів строми містяться поодинокі НТ (рис. 1). Базальні частини цитоплазми епітеліальних клітин НТ у більшості випадків перебувають в прямому контакті з різної товщини розшарованою базальною мембраною.

Рис. 1. Ультраструктура епітеліальних клітин НТ в оточенні базальних мембран і колагенових волокон перитуморальної тканини при високодиференційованому (G1) СКРН. Масштабний відрізок: 6,7 мкм

Рис. 2. Ультраструктура скупчення фіброblastів, макрофагів і плазмациту в основній речовині строми перитуморальної тканини при високодиференційованому (G1) СКРН. Масштабний відрізок: 5,0 мкм

Така базальна мембрана (як безперервний комплекс) формує між сусідніми НТ лабіринт із електронно-світлої основної речовини строми, колагенових волокон,

гемокапілярів і поодиноких локальних скупчень фіброblastів, макрофагів, плазмацитів (рис. 2). Характерною ознакою епітеліальних клітин НТ перитуморальної тканини є те, що вони різні за формою та розмірами (рис. 3). Серед епітеліальних клітин виявляються такі, що подібні до малих лімфоцитів і такі, що мають форму близьку до яйцеподібної, і такі, які вирізняються видовженою полігональною формою. Епітеліальні клітини з формами, що близькі до яйцеподібної, мають велике ядерно-цитоплазматичне співвідношення, а їхня цитоплазма заповнена головню гіалоплазмою середньої електронної щільності, поодинокими каналами агранулярної ендоплазматичної сітки, незначною кількістю дрібних мітохондрій і гранул глікогену. Ядра епітеліальних клітин яйцеподібної форми заповнені гомогенними масами щільно упакованого еухроматину, серед яких є здебільшого одне електронно-щільне ядерце, що містить декілька фібрилярних центрів (рис. 4). Зовнішня ядерна мембрана таких клітин не завжди чітка, на окремих ділянках розпушена. В таких клітинах базо-латеральні та частково апікальні частини плазматичної мембрани мають характерну для цих органел чітку контурність. Плазматичні мембрани сусідніх епітеліальних клітин в окремих випадках мають між собою міжклітинні канальці.

Рис. 3. Ультраструктура НТ в оточенні потовщених базальних мембран, гемокапілярів та колагенових волокон перитуморальної тканини при високодиференційованому (G1) СКРН. Масштабний відрізок: 4,0 мкм

Рис. 4. Ультраструктура епітеліальних клітин; ядро однієї з них поєднане з тільцем Маллорі НТ перитуморальної тканини при високодиференційованому (G1) СКРН. Масштабний відрізок: 3,0 мкм

Плазматична мембрана в цьому випадку утворює локальні електронно-світлі інвагінації, що дотичні до базальної мембрани. Однак окремі поверхневі ділянки апікальної цитоплазми прилеглих епітеліальних клітин НТ поєднані між собою дуже високої електронної щільності шаром змінених плазматичних мембран. На наш погляд, ультраструктурні перетворення епітеліальних елементів в НТ перитуморальної тканини при СКРН аналогічні до таких, які виявляються за умов впливу стресорів, що супроводжуються процесами дедиференціації високодиференційованих епітеліальних клітин канальців проксимального відділу нефронів у мезенхімальні. Така трансформація епітеліальних клітин у підсумку приводить до формування стовбурових плюрипотентних клітин, які аналогічні до ембріональних клітин [18, 21].

Поряд із дуже високої електронної щільності матеріалом апікальної частини цитоплазми яйцеподібної форми епітеліальних клітин наявні дуже низької електронної щільності нанотрубки та мікротрубки. Наявність у цитоплазмі епітеліальних клітин НТ нанотрубок і мікротрубок як і міжклітинних канальців поміж ними може бути порівняно з аналогічними ультраструктурами парієтальних екзокриноцитів слизової оболонки шлунка ссавців, які беруть участь у продукції йонів водню. Це може пояснити загальновідомий факт про те, що внутрішнє середовище СКРН перебуває в стані ацидозу [20].

Групи епітеліальних клітин видовженої полігональної форми у складі НТ перитуморальної тканини найбільш диференційовані. Здебільшого їхній базальний полюс цитоплазми контактує з базальною мембраною, а протилежний – апікальний полюс цитоплазми з подібними частинами цитоплазми сусідніх клітин. Цитоплазма окремих епітеліальних клітин вміщує дрібні мітохондрії та тільця Маллорі, що поєднані з периферійними частинами ядра (рис. 4). В місцях контактів апікальних частин цитоплазми зазначених епітеліальних клітин є незначного діаметра міжклітинні канальці. Плазматична мембрана таких клітин, особливо в ділянках цитоплазми прилеглої до базальної мембрани, утворює незначну кількість вкорочених складок, до яких прилягають дрібні циліндричної форми мітохондрії. В значних кількостях подібні мітохондрії та електронно-щільні аутофагосоми виявляються у латерально-апикальній частині цитоплазми такої форми клітин. Зазначаємо, що латеральна цитоплазма епітеліальних клітин полігональної форми, крім мітохондрій і скупчень ліпидовмісних аутофаголізосом, вміщує поодинокі тільця Маллорі (рис. 5, 6). Окремі ділянки гіалоплазми цих клітин заповнені скупченнями дрібноволокнистого матеріалу та поодинокими гранулами глікогену. За значних об'ємів цитоплазми таких клітин ядро займає теж великий об'єм і має неправильну форму. Внутрішній вміст ядер досліджуваних клітин представлений суцільними масами ампліфікованого еухроматину, де в значних кількостях наявні невеликого розміру електронно-щільні глибоки гетерохроматину й електронно-щільне ядерце значних розмірів. У складі виявлених ядерць містяться поодинокі фібрилярні центри. Зазначені ядерця розташовані неподалік ядерної оболонки та поєднані з нею кількома тяжами гетерохроматину (рис. 6).

Ультраструктура перитуморальної тканини при СКРН середнього ступеня диференціації (G2) вирізняється наявністю НТ, до яких прилягають судини (рис. 7, 8). Судини цієї частини перитуморальної ділянки представлені головню гемокапілярами та дрібними венулами, що суттєво поєднує її із мікроциркуляторним руслом периферичних частин СКРН, де подібні елементи провідності крові на ультраструктурному рівні досліджені раніше [7].

Рис. 5. Ультраструктура епітеліальних клітин, цитоплазма однієї з яких містить тільки Маллорі, скупчення мітохондрій і гранули глікогену в НТ перитуморальної тканини при високодиференційованому (G1) СКРН. Масштабний відрізок: 3,3 мкм

Рис. 6. Ультраструктура епітеліальної клітини, цитоплазма якої містить гігантських розмірів аутофагосом, дрібні мітохондрії та гранули глікогену в НТ перитуморальної тканини при високодиференційованому (G1) СКРН. Масштабний відрізок: 3,0 мкм

В одних випадках, коли НТ прилягають до гемо капілярів, просвіти яких зовні заповнені гіперагрегатами еритроцитів, то деградована основна речовина строми вміщує фрагменти клітин, які розпалися та деформовані еритроцити (рис. 7). Наявність частково деградованого екстрацелюлярного матриксу в перитуморальній тканині може свідчити про формування її резистентності до хіміотерапії [2]. Інші автори зазначають, що наявність у перитуморальній тканині при нирковоклітинному раку розвинутої мережі судин, з одного боку, сприяє компенсаторному поліпшенню кровообігу пухлини, а з іншого – утворенню метастазів [15]. Зауважимо, що у згаданих НТ епітеліальні кліти-

ни середньої електронної щільності та мають невелике ядерно-цитоплазматичне співвідношення. Цитоплазма цих клітин наповнена значною кількістю дрібних мітохондрій і поодинокими аутофагосомами.

Рис. 7. Ультраструктура гемокапіляра заповненого еритроцитами та НТ в оточенні базальних мембран дезорганізованої строми перитуморальної тканини при СКРН середнього ступеня диференціації (G2). Масштабний відрізок: 6,4 мкм

Паралельно виявлено НТ, базальна мембрана яких розшарована та поєднана з розшарованою базальною мембраною типових венул (рис. 8). Просвіти таких венул розширені, наповнені плазмою крові неоднорідної консистенції і незначними скупченнями еритроцитів. Плазма крові у ділянках дотичних до скупчень еритроцитів розшарована на електронно-щільні та електронно-світлі прошарки. Зазвичай люменальні поверхні ендотеліальних клітин у дотичних до розшарованої плазми крові містять мікроворсинки. Наявність мікроворсинок у складі люменальної поверхні ендотеліальних клітин є електронно-мікроскопічним еквівалентом наявності циркуляторної гіпоксії в тканині [32]. Характерною ультраструктурною ознакою перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3) є наявність НТ малого діаметра, що окутані дуже товстими базальними мембранами (рис. 9, 10). Базальні мембрани неоднорідні, в них є дрібні електронно-світлі щілини, які поєднані із субепітеліальним шаром НТ та основною речовиною строми. Поперечні перерізи таких НТ дають змогу констатувати, що їхні осередки представлені електронно-світлими епітеліальними клітинами з розширеною базальною та дещо звуженою апікальною частинами цитоплазми. Вираженість у деяких

епітеліальних клітинах базально-апикальної орієнтації значна за наявності в їхній цитоплазмі мітохондрій, помірної кількості гранул глікогену та дрібних аутофагосом (рис. 9).

Рис. 8. Ультраструктура розширеної дрібної венули, яка прилягає до стінки НТ і дезорганізованої основної речовини строми перитуморальної тканини при СКРН середнього ступеня диференціації (G2). Масштабний відрізок: 5,7 мкм

Рис. 9. Ультраструктура епітеліальних клітин НТ в оточенні товстої базальної мембрани та колагенових волокон перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3). Масштабний відрізок: 5,3 мкм

У тих електронно-світливих епітеліальних клітинах, де цитоплазма вміщує мітохондрії лише у слідових кількостях, вираженість їхньої базально-апикальної орієнтації незначна (рис. 10). Ми зауважили, що ультраструктура епітеліальних клітин НТ малого діаметра перитуморальної тканини, на підставі порівнянь, найбільше ідентична до пухлинних клітин високодиференційованого (G1) СКРН, електронограми яких ми продемонстрували

раніше [7, 8, 32]. Це дає нам підставу такої ультраструктурної організації епітеліальні клітини діагностувати як такі, що перебувають на завершальному етапі ренальної інтратубулярної неоплазії, та є попередниками пухлинних клітин. Типовим для окремих малодиференційованих клітин НТ перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3) є наявність в їхній цитоплазмі та поєднаного з зовнішньою мембраною ядерної оболонки великих розмірів, кулястої форми електронно-щільного тільця (рис. 11), що, згідно з даними літератури [8, 20], аналогічні до тілець Маллорі. Ззовні такі тілця Маллорі огорнуті неперервною електронно-щільною оболонкою, що тісно поєднана з периферичними частинами електронно-щільного матриксу.

Рис. 10. Ультраструктура епітеліальних клітин НТ в оточенні товстої базальної мембрани та колагенових волокон перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3). Масштабний відрізок: 5,0 мкм

У внутрішніх частинах електронно-щільного матриксу тілця Маллорі вирізняються крипти. По периферії такі крипти вистелені незначного діаметра кулькоподібними структурами, а в середині вміщують значних розмірів пальцеподібної чи кулеподібної форми утвори. Зауважимо, що електронна щільність утворів, які заповнюють крипти, дещо нижча, ніж електронна щільність матриксу тілець Маллорі. Відомі також літературні дані про те, що тілця Маллорі (цитокератинові агресомі) вміщують у значних кількостях білок кератин [24]. Акцентується увага на тому, що тілця Маллорі насичені гіаліном і мають відношення до проліферативного процесу [11]. Ми, на підставі

Рис. 11. Ультраструктура епітеліальної клітини, цитоплазма якої містить тільки Маллорі, що контактує з зовнішньою мембраною ядерної оболонки в НТ перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3). Масштабний відрізок: 1,0 мкм

Рис. 12. Ультраструктура епітеліальної клітини, цитоплазма якої містить гігантських розмірів аутофагосому в НТ перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3). Масштабний відрізок: 3,0 мкм

електронно-мікроскопічних досліджень, говоримо про ендогенне походження тілець Маллорі в попередниках пухлинних клітин НТ. Виявлено, що за таких умов ряд НТ незначного діаметра перитуморальної тканини наповнені епітеліальними клітинами, цитоплазма яких вміщує гігантських розмірів аутофагосому та електронно-щільне скупчення гранул глікогену (рис. 12). В складі аутофагосом містяться дрібні ліпідні краплі незначної електронної щільності та приблизно такого ж розміру дуже високої електронної щільності кулястої форми утво-

ри, біологічна природа і значення яких не зрозумілі. Щодо дрібних ліпідних крапель незначної електронної щільності, то вони морфологічно ідентичні до таких, які при-
таманні бежевим адипоцитам та є регуляторами аутофагії [1]. З'ясовано, що аутофагія відіграє подвійну роль: у пригніченні ініціації та в сприянні виживання пухлин СКРН [5]. Це спонукає вивчати аутофагосоми та застосовувати антиаутофагію як абсолютно новий підхід лікування раку [13].

Висновки.

1. У НТ перитуморальної тканини при СКРН високодиференційованого (G1) та середнього ступеня диференціації (G2) осередки ренальної інтратубулярної неоплазії представлені здебільшого середньої електронної щільності малодиференційованими епітеліальними клітинами з великим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням.
2. Перитуморальна тканина при СКРН високодиференційованого (G1) та середнього ступеня диференціації (G2) містить гемокapіляри, дрібні венули, скупчення фібробластів, макрофагів, плазмочитів.
3. Характерною ультраструктурною ознакою перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3) є наявність НТ малого діаметра, що окутані дуже товстими базальними мембранами.
4. Типовим для окремих малодиференційованих епітеліальних клітин осередків ренальної інтратубулярної неоплазії НТ перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3) є наявність в їхній цитоплазмі та поєданого з зовнішньою мембраною ядерної оболонки дуже великих розмірів, кулястої форми електронно-щільного тільца Маллорі.
5. За умов ренальної інтратубулярної неоплазії ряд незначного діаметра НТ перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3) наповнені епітеліальними клітинами, цитоплазма яких вміщує гігантських розмірів аутофагосому й електронно-щільне скупчення гранул глікогену. В складі аутофагосом містяться дрібні ліпідні краплі незначної електронної щільності та приблизно такого ж розміру дуже високої електронної щільності кулястої форми утвори, біологічна природа і значення яких не зрозумілі.
6. Епітеліальні клітини осередків ренальної

інтратубулярної неоплазії перитуморальної тканини при СКРН низького ступеня диференціації (G3), які порівнювали з аналогічними епітеліальними клітинами осередків ренальної інтратубулярної неоплазії перитуморальної тканини при СКРН високого (G1) і середнього (G2) ступенів диференціації, мають цитоплазму, яка найбільш насичена тільцями Мал-

лорі, аутофагосомами, електронно-щільними скупченнями гранул глікогену.

Disclosures. No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the authors. Author contribution. Solomiya Fedevych drafted manuscript; Yuliia Kuzyk edited and revised manuscript; Dmytro Zerbino approved final version of the manuscript.

Література

1. Altshuler-Keylin S, Shinoda K, Hasegawa Y, Ikeda K, Yonq H, Kanq Q, et al. Beige Adipocyte Maintenance is Regulated by Autophagy – Induced Mitochondrial Clearance. *Cell Metab.* 2016;24(3):402-19. doi: 10.16/j.cmet.2016.08.002 Epub 2016 Aug 25.
2. Chekhun VF, Berezhnaya NM. Fiziologicheskaya sistema soyedinitelnoy tkani i onkogenez. III. Formirovaniye rezistentnosti k khimioterapii [Physiological system of connective tissue and oncogenesis. III. Formation of resistance to chemotherapy]. *Onkologiya.* 2017;19(3):156-170. (in Ukrainian)
3. Cherdantseva TM, Bobrov IP, Klimachev VV, Bryukhanov VM, Lazarev AF, Avdalyan AM, i dr. Peritumornaya zona raka pochki: vse li problemy resheny? [The peritumorous zone of a renal carcinoma: whether all problems are solved?]. *Fundamentalnyye issledovaniya.* 2012;(4):141-145. (in Russian)
4. Cherdantseva TM, Bobrov IP, Klimachev VV, Bryukhanov VM, Lazarev AF, Avdalyan AM, i dr. Razmer opukholevogo uzla i gistologicheskoye stroeniye peritumornoj zony raka pochki [The size of a tumour and histologic structure peritumorous zones of a cancer of a renal cell carcinoma]. *Fundamentalnyye issledovaniya.* 2013;(7):188-193. (in Russian)
5. Czyzyk-Kreska MF, Meller J, Plas DR. All autophagy is equal. *Autophagy.* 2012;8 (7):1155-6. doi:10.416/ auto.20650.
6. Eble JN, Sauter G, Epstein IJ, Sesterhenn IA. Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon: IARC Press; 2004. 353 p.
7. Fedevych SV. Ultrastrukturna orhanizatsiia hemomikrotsyrkulatornoho rusla svitloklitynnoho raku nyrky riznykh stupeniv dyferentsiatsii [Ultrastructural Organization of Microcirculatory Bed in Clear Cell Renal Cell Carcinoma of Different Grades of Differentiation]. *Lvivskyi klinichniy visnyk.* 2016;(4):27-35. (in Ukrainian)
8. Fedevych S, Pospishil Yu, Kyiak Yu, Kovalyshyn V. Ultrastruktura hialinovykh hlobul tumoroznoho vuzla pry vysokodyferentsii (G 1) svitloklitynnomu raku nyrky [Ultrastructure of hyaline globules of tumorous nodes in highly differentiated (G1) clear cell renal carcinoma]. V: Pratsi Naukovoho tovarystva im. Shevchenka. Med. Nauky. Lviv; 2015. T. 41. s. 84-91. (in Ukrainian)
9. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst.* 1990;82(1):4-6.
10. Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1982;6(7):655-63.
11. Gao Ch, D'Angelis ChA, Qin J, Xu B. Hyaline Globules in Epithelial Neoplasm of Kidney. *NASD Med Sci.* 2013;6(1):41-3.
12. Glauert AM. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. In: Practical methods in electron microscopy/ Ed. by. Glauert AM. Amsterdam: North-Holland; New York : American Elsevier; 1975. 207 p.
13. Janji B, Viry E, Moussay E, Arakelian T, Mgrditchian T, Messai Y, et al. The Multifaceted role of autophagy in tumor evasion from immune surveillance. *Oncotarget.* 2016;7(14):17591-607.
14. Kirkali Z, Yorukoglu K. Premalignant Lesions in the Kidney. *Scientific World.* 2001;1:855-67.
15. Kryuchkova NG, Bobrov IP, Cherdantseva TM, Lepilov AV, Myadelets MN, Klimachev VV, i dr. Issledovaniye neoangiogeneza v peritumornoj zone raka pochki [The study of neoangiogenesis in the peritumorous zone of kidney cancer]. V: Materialy 5 syezda rossiyskogo obshchestva patologoanatomov; 2017 Iyun 1–4; Chelyabinsk. Chelyabinsk; 2017. s. 168-169. (in Russian)
16. Minervini A, di Cristofano C, Lapini A, Marchi M, Lanzi F, Giubilei G, et al. Histologic analysis of peritumoral pseudocapsule and surgical margin status after tumor enucleation for renal cell carcinoma. *Eur Urol.* 2009 Jun;55(6):1410-8.
17. Mourad WA, Nestor BR, Saleh GY, Solez K, Power RF, Jewell LD. Dysplastic tubular epithelium in "normal" kidney associated with renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 1994;18(11):1117-24.

18. Obokata H, Wakayaama T, Sasai Y, Kojima K, Vacanti MP, Niwa H, et al. Stimulus triggered fate conversion of somatic cells into pluripotency. *Nature*. 2014;505(7485): 641-7. doi: 10.1038/nature12968.
19. Padera TP, Stoll BR, Tooredman JB, Capen D, di Tomaso E, Jain RK. Pathology: cancer cells compress intratumour vessels. *Nature*. 2004;427(6976):695.
20. Pavelka M, Poth J. Functional Ultrastructure: Atlas of Tissue of Biology and Pathology. Trid Edition. Vienna: Springer-Verlag; 2015. 397 p. DOI:10.1007/978-3-7091-1830-6_23.
21. Pennock R, Bray E, James S, McKeegan P, Sturmey R, Genever P. Human cell dedifferentiation in mesenchymal condensates through controlled autophagy. *Scientific Reports*. 2015;5:13113. doi: 10.1038/srep13113.
22. Van Poppel H, Nilsson S, Algaba F, Bergerheim U, Dal Cin P, Fleming S, et al. Precancerous Lesions in the Kidney. *Scand J Urol Nephron*. 2000;(205):136-65.
23. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J Cell Biology*. 1963;(17):208-12.
24. Riley NE, Li J, McPhaul LW, Bardag-Gorce F, Lue YH, French SW. Heat shock proteins are present in Mallory bodies (cytokeratin aggregates) in human liver biopsy specimens. *Exp Mol Pathol*. 2003;74(2):168-72.
25. Romanenko AM, Nepomniashchyi VM, Zbarko LB. Epitelialni pukhlyny nyrky: suchasna mizhnarodna histolohichna klasyfikatsiia [Epithelial tumors of kidneys: modern international histological classification]. *Urolohiia*. 2002;(4):48-54. (in Ukrainian)
26. Romanenko AM, Vozianov SO, Nepomniashchyi VM, Zbarko LB, Zubko VI, Danylets RO, et al. Renalna intratubuliarna neoplaziia yak peredrak nyrky [Renal intratubular neoplasm as renal precancer]. *Urolohiia*. 2003;(4):4-9. (in Ukrainian)
27. De la Rosette JMCH, Stemberg CN, Van Poppel HA. Renal cell cancer: diagnosis and therapy. London: Springer Verlag; 2008. xvii + 584 p.
28. Schlafl A.M., Berezowska S, Adams O., Langer R., Tschan M.P. Reliable LC3 and p62 autophagy marker detection in fixed paraffin embedded human tissue by immunohistochemistry. *European Journal of Histochemistry*. 2015;59(2):2481.[page 137-144].doi:10.408/ejh.2015.2481.
29. Shuliak OV, Vozianov SO, Banyra OB, Stroi OO. Operatyvni vtruchannia v onkourolohiu [Operative participation in oncurology]. Lviv; 2012. 299 s. (in Ukrainian)
30. Stempac JG, Ward RT. An improved staining method for electron microscopy. *J Cell Biology*. 1964;22:697-701.
31. Yörükoğlu K, Aktas S, Mungan MU, Kirkali Z. Tubular dysplasia and carcinoma in situ: precursors of renal cell carcinoma. *Urology*. 1999;53(4):684-9.
32. Zerbyno DD, Fedevych SV, Kovalyshyn VI. Svitloklitynnyi rak nyrky riznykh stupeniv dyferentsiatsii: osoblyvosti ultrastruktury pukhlynykh klityn [Clear cell renal carcinoma of different grades of differentiation: peculiarity of tumor cells ultrastructure]. *Onkologiya*. 2017;19(3):192-201. (in Ukrainian)

Стаття надійшла 10.10.2018

Після допрацювання 14.12.2018

Прийнята до друку 27.12.2018