

УДК: 616.61-006.6-076.4

Соломія ФЕДЕВИЧ, Юрій ПОСПИШІЛЬ, Юліан КИЯК, Василь КОВАЛИШИН

УЛЬТРАСТРУКТУРА ГІАЛІНОВИХ ГЛОБУЛ ТУМОРОЗНОГО ВУЗЛА ПРИ ВИСОКОДИФЕРЕНЦІЙОВАНОМУ (G1) СВІТЛОКЛІТИННОМУ РАКУ НИРКИ

*Кафедра патологічної анатомії та судової медицини,
Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,
Львів, Україна, solomiya.fedevych@gmail.com*

Вступ. Наявність гіалінових глобул (ГГ) у цитоплазмі ракових клітин (РК) епітеліальних новоутворів нирки пов'язують з високим ступенем поліморфізму ядер і схильністю до метастазування. Генез і патоморфологія ГГ уточнюється.

Мета дослідження – вивчити генеративні та дегенеративні процеси, пов'язані зі станом ГГ паренхіматозних клітин і неклітинних компонентів туморозного вузла при високодиференційованому (G1) світлоклітинному раку нирки на ультраструктурному рівні.

Матеріали і методи. Ультраструктурно дослідили три випадки під час операційних біопсій туморозного вузла при високодиференційованій (G1) конвенціональній світлоклітинній карциномі нирки людини. Клінічний діагноз зазначених новоутворів – рак нирки T1a.

Результати досліджень. Виявлено, що в складі ракових тубул туморозного вузла наявні РК різної електронної щільності. Електроннощільні РК найменші за розмірами, максимально заповнені гранулами глікогену, гранулярною ендоплазматичною сіткою (ГЕС), а також містять дрібні зародки ГГ (діаметр 300–400 нм). РК середньої електронної щільності містять ГГ першого та другого типів, асоційовані з гранулами глікогену та ГЕС, а також дрібні ядерноподібні утвори (довжина ~ 1,5 мкм), частково оточені мембранними завитками. Вони, на наш погляд, належать ГГ третього типу. Цитоплазма електронношвидких РК, окрім ГГ, що розпадаються, вміщує тільки Маллорі, автофаголізосоми, везикули. Всередині ракових тубул поряд із середньою електронною щільністю РК, що вміщують значну кількість ГГ третього типу, виявили малих розмірів нефрогенні мезенхімальні клітини (довжина 5–10 мкм).

Висновки. У складі туморозного вузла ракових тубул при високодиференційованому (G1) світлоклітинному раку нирки виявлено численні ракові клітини різної електронної щільності, які здебільшого містять ГГ у зародкових формах і на різних стадіях їхнього генеративного та дегенеративного процесу. Поряд із середньою електронною щільністю РК, що вміщують значну кількість ГГ третього типу, виявлено нефрогенні мезенхімальні клітини.

Ключові слова: світлоклітинний рак нирки, гіалінові глобули, пухлина, трансмісійна електронна мікроскопія.

ВСТУП

Відомо, що гіалінові глобули (ГГ) діаметром 0,5-30 мкм виявляються у несподіваних категоріях пухлин, доброякісних тканин і становлять феномен, пов'язаний із апоптозом [1, 2]. На ультраструктурному рівні в ракових клітинах (РК) епітеліальних новотворів нирки розрізняють два типи ГГ [3, 4]. До першого типу ГГ належать такі тільця, які складаються з концентричних мембранних завитків, де центрально розташовані ліпідні краплі або вільний простір. До другого типу ГГ зачисляють тільця, які складаються з трьох шарів: центрального – з концентрично розміщеними мембранними випинами, середнього – з окремих мембранозв'язаних органел (можливо пероксисом) і третього шару, який побудовано з гранулярної ендоплазматичної сітки (ГЕС).

Припускають, що ГГ складаються з білок-вмісної секреторної речовини [5] і можуть становити танатосоми, білок-секреторний матеріал та стосуються цитоплазматичного блебінгу; тілець Маллорі – як продуктів проліферативної активності, збільшення мембранної проникності для білків плазми крові, а також виникнення «гіалінізованих» внутрішньоклітинних утворів [1, 2, 6, 7]. У працях з вивчення епітеліальних новотворів нирок було зазначено, що наявність ГГ у цитоплазмі РК пов'язана з високим ступенем – 3, 4 (Fuhrman S.A. et al., 1982) ядерних характеристик і метастазування [8], акцентовано увагу на те, що біологічна природа і значення ГГ не зрозумілі [1, 2, 9].

Мета – вивчити генеративні та дегенеративні процеси, пов'язані зі станом ГГ паренхіматозних клітин і неклітинних компонентів туморозного вузла при високодиференційованому (G1) світлоклітинному раку нирки на ультраструктурному рівні.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Ультраструктурно дослідили три випадки під час операційних біопсій туморозного вузла (діаметр ~ 3 см) при високодиференційованій (G1) конвенціональній світлоклітинній карциномі нирки людини. Клінічний діагноз зазначених новотворів – рак нирки T1a.

Отриманий біопсійний матеріал фіксували у 2 % розчині чотириокису осмію на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,36) [10]. Зафіксовані біоптати дегідрували в етанолі зростаючої концентрації й ацетоні та поміщали в суміш епону та аралдиту. Ультратонкі зрізи досліджуваного матеріалу отримували за допомогою ультрамікроскопа УМТП-3М і монтували на опорні сітки. Їх контрастували в розчинах ураніл ацетату [11] та цитрату свинцю [12]. Проконтрастовані зрізи вивчали та фотографували з використанням трансмісійного електронного мікроскопа УЭМВ-100К (м. Суми), за прискорювальної напруги 75 кВ.

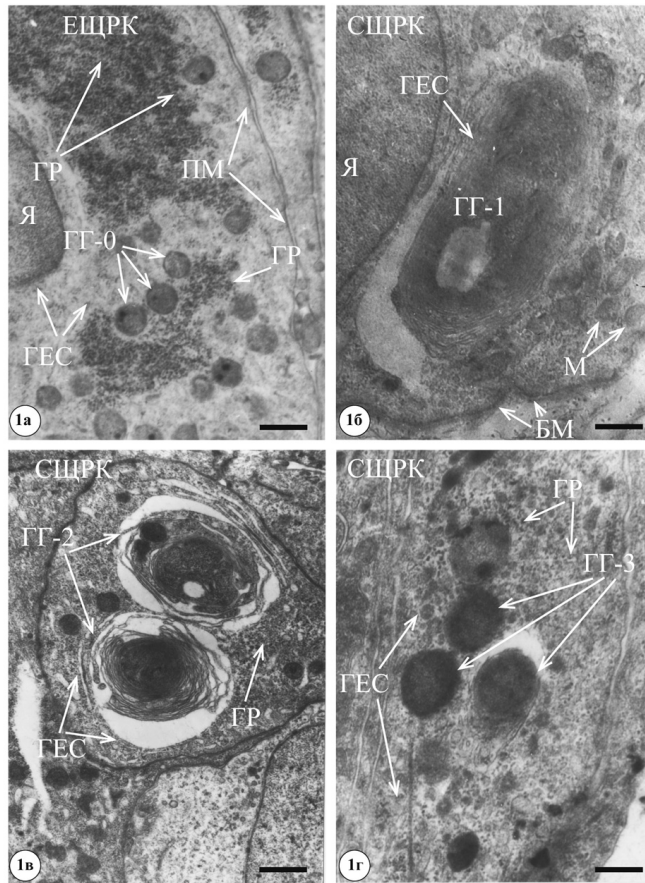


Рис. 1. Ультраструктура гіалінових глобул (ГГ) у складі цитоплазми електроннощільної (а) та середньої електронної щільності (б, в, г) ракових клітин туморозного вузла при високодиференційованому (G1) світлоклітинному раку нирки; БМ – базальна мембрана, ГГ-0 – зачаткова ГГ, ГГ-1 – ГГ першого типу, ГГ-2 – ГГ другого типу, ГГ-3 – ГГ третього типу, ГЕС – гранулярна ендоплазматична сітка, ГР – гранула глікогену, ЕЩРК – електроннощільна ракова клітина, М – мітохондрія, ПМ – плазматична мембрана, СЩРК – ракова клітина середньої електронної щільності, Я – ядро.
 Масштабні відрізки: а – 0,5 мкм; б, в, г – 1,0 мкм

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Ультраструктурно в складі ракових тубул туморозного вузла виявили електроннощільні, електронноосвітлі, а також середньої електронної щільності РК. Електроннощільні РК (рис. 1, а) були найменші за розмірами, тоді як електронноосвітлі – найбільші (рис. 2, б, г). Цитоплазма електроннощільних РК була максимально заповнена гранулами глікогену, ГЕС та вмщувала асоційовані з ними зачаткові

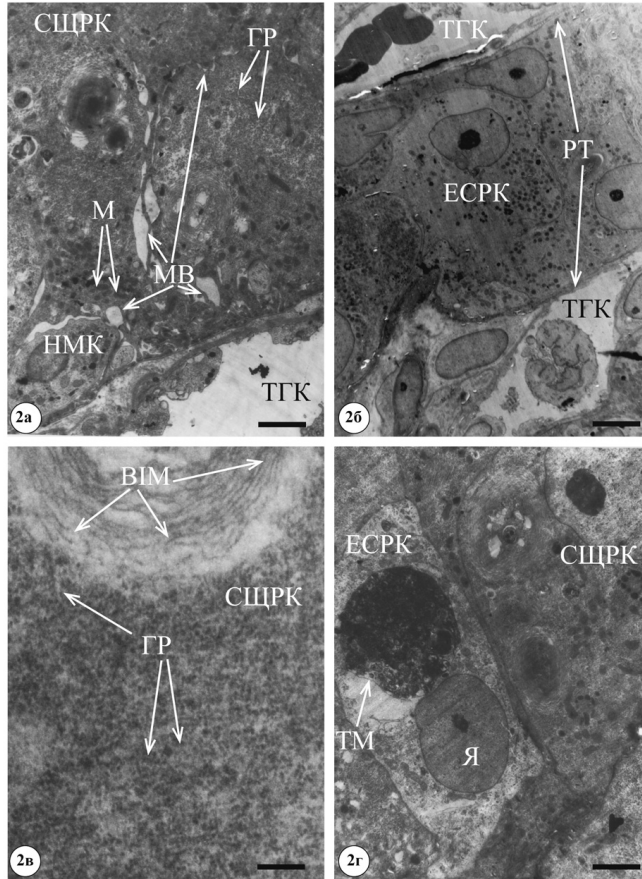


Рис. 2. Ультраструктура СЩРК і нефрогенної мезенхімальної клітини (а), ракової тубули, яка оточена дезорганізованими тонкостінними гемокапілярами (б), фрагмента цитоплазми СЩРК, який містить скупчення віментин інтермедійних мембран (в), а також ЕСРК (г) туморозного вузла при високодиференційованому (G1) світлоклітинному раку нирки; ВІМ – віментин інтермедійна мембрана, ЕСРК – електроннощільна ракова клітина, МВ – мікроворсинка, НМК – нефрогенна мезенхімальна клітина, РТ – ракова тубула, ТГК – тонкостінний гемокапіляр, ТМ – тільце Маллорі.

Решта аббревіатур і позначень такі, як до попередніх рисунків.

Масштабні відрізки: а – 4,0 мкм; б – 6,7 мкм; в – 0,3 мкм; г – 3,3 мкм

форми ГГ діаметром 300 – 400 нм (рис. 1, а). Масивні скупчення гранул глікогену у цитоплазмі електроннощільних РК, як з'ясувалось аналогічні до депозитів глікогену, виявлених у гібернованих кардіоміоцитах при ішемічній хворобі серця [13], що відображає вуглеводну дистрофію РК. Середньої електронної щільності РК (рис. 1, б) у навколядерній ділянці вміщують еліпсоїдоподібні ГГ (довжиною ~ 5 мкм, здебільшого першого типу), оточені гранулами глікогену і ГЕС. Їхня центральна части-

на представлена структурованим комплексом під назвою «бліде тільце» або ліпідною краплею, що містить, очевидно, нейтральні ліпіди [1].

З'ясовано, що в ракових тубулах, крім РК, які вміщують ГГ другого типу (рис. 1, в), виявляються такі, цитоплазма яких насичена дрібними ядроподібними утворами (довжина $\sim 1,5$ мкм), асоційованими з частково збереженими концентрично розміщеними мембранними випинами, що, на наш погляд, можуть бути охарактеризовані як ГГ третього типу (рис. 1, з). РК, які вміщують у своїй цитоплазмі ГГ третього типу, є в ракових тубулах і тісно взаємозв'язані з добре васкуляризованою сполучною тканиною (рис 2, а). Особливістю цих високодиференційованих РК є те, що вони мають базально-апикальну спрямованість, а їхні базально-латеральні і в меншій мірі апикальні ділянки цитоплазми представлені значною кількістю дрібних мітохондрій і мікрворсинок. Аналогічні електронномікроскопічні показники щодо наявності мітохондрій і мікрворсинок у периферичній цитоплазмі РК використали Oberling C. et al., 1960 [14] в підтвердженні походження світлоклітинного раку нирки з епітелію каналців проксимального відділу нефрону. Всередині зазначених ракових тубул поруч із РК, цитоплазма яких насичена ГГ третього типу, зафотографовані поодинокі нефрогенні мезенхімальні клітини малих розмірів (довжина 5–10 мкм) (рис. 2, а). Вони, як з'ясувалось, ультраструктурно подібні до нефрогенних мезенхімальних клітин культури метанефричної нирки [15].

Наявність у складі ракових тубул оптимально сформованих нефрогенних мезенхімальних клітин є нашим підтвердженням того [2], що в тканинах прилеглих до РК багатих на ГГ, простежується підвищена проліферативна активність, яка супроводжується цитоплазматичним блебінгом.

Зауважено, що електронноосвітлі та середньої електронної щільності РК здебільшого виявляються у складі ракових тубул, дотичних до дезорганізованої сполучної тканини (рис. 2, б). У її товщі наявні тонкостінні гемокапіляри, ендотеліальні клітини яких утворені значними кількостями мікрворсинок, що є доказом існування в туморозному вузлі циркуляторної гіпоксії, яка може бути причиною апоптозу паренхіматозних клітин нирки [16].

Обструкція просвіту деяких гемокапілярів гомогенними масами плазми крові може свідчити про підвищену активність плазмін-залежних коагуляційних перетворень внутрішнього середовища організму та пов'язаних з цим неопластичних перетворень, у тім числі й малігнізації нирок [17, 18, 19].

Цитоплазма багатьох РК середньої електронної щільності представлена компактними електроннощільними масами та вакуолями, периферичні частини яких

окутані скупченнями мембран, що розпадаються (рис. 2, в). У літературі подібного формату дезорганізовані мембрани цитоплазми РК позначають як «віментин інтермедійні мембрани» [20]. Серед електронно-світливих РК виявляються такі, цитоплазма яких, окрім ГГ, що розпадаються, вміщує тільця Маллорі, автофаголізосоми та різних розмірів везикули та вакуолі (рис. 2, г). На наш погляд, зачаткові ГГ, які пов'язані з гранулами глікогену та ГЕС, та всі інші тільця РК, що піддавались впливам патологічних чинників на будь-якому етапі розвитку, набувають різних дефективних форм, у тім числі форм апоптичних везикул різного діаметра. Морфологію, хімічний склад і їхнє значення у процесах усунення апоптичних клітин макрофагальною системою організму вивчають [21, 22].

ВИСНОВКИ

У складі туморозного вузла ракових тубул при високодиференційованому (G1) світлоклітинному раку нирки виявлено численні ракові клітини різної електронної щільності, які здебільшого містять ГГ у зародкових формах і на різних стадіях їхнього генеративного та дегенеративного процесу. Поряд із середньою електронною щільністю РК, що вміщують значну кількість ГГ третього типу, виявлено нефрогенні мезенхімальні клітини.

БІБЛІОГРАФІЧНІ ПОСИЛАННЯ

1. Papadimitriou, J.C., Drachenberg, C.B., Brenner, D.S. et al., 2000. «Thanatosomes»: A Unifying Morphogenetic Concept for Tumor Hyaline Globules Related to Apoptosis. *Human Patol* 12(31), 1455–1465.
2. Dikov, D.I., Auriault, M.L., Boivin, J.F. et al., 2007. Hyaline Globulus (Thanatosomes) in Gastrointestinal Epiithelium. *Amer. J. Clin. Pathol.* Vol. 127, 792–799.
3. Datta, B.N., 1978. Intracellular hyaline globules in carcinoma kidney: Histologic and ultrastructural observation. *Indian J. Pathol. Microbiol.* Vol. 21, 193–196.
4. Gao, Ch., D'Angelis, Ch. A., Qin, J., Xu, B., 2013. Hyaline Globules in Epithelial Neoplasm of Kidney. *NASD Med. Sci.* 1 (6), 41–43.
5. Danbara, N., Shikata, N., Kawamura, H. et al., 2005. Eosinophilic cytoplasmic inclusions in papillar renal cell carcinoma. *Med. Mol. Morphol* 4(38), 262–266.
6. Under, P., Perino, G., Schiff, H. et al, 1992. Eosinophilic globules resembling Mallory bodies in a renal cell carcinoma. *NY State J. Med.* 1(92), 18–20.
7. Hes, O., Benakova, K., Vanecer, T. et al., 2005. Clear cell type of renal cell carcinoma with numerous hyaline globulus; a diagnostic pitfall. *Pathol. Int.* 3(55), 150–154.
8. Fuhrman, S., Lasky, L., Limas, C., 1982. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Amer. J. Surg. Pathol.* 6, 655–663.

9. Nayar, R., Bourton, E., De Frias, D.V.S., 2000. Hyaline Globules in Renal Cell Carcinoma and Hepatocellular Carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* Vol. 114, 576–582.
10. Glauert, A.M. (ed.), 1975. Practical methods in electron microscopy (Fixation, dehydration and embedding of biological specimens). American Elsevier, North-Holland
11. Stempac, J.G., Ward, R.T., 1964. An improved staining method for electron microscopy. *J. Cell Biology.* Vol. 22, 697–701.
12. Reynolds, E.S., 1963. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biology* 17, 208–212.
13. Kovalyshyn, V.I., Lutsyk, O.D., Kyyak, Y.H. et al., 2013. Histokhimichna diahnostryka hibernatsii i nekrozu kardiomiotsytiv pry ishemichnii khvorobi sertsia [Histochemical signs of cardiomyocyte hibernation and necrosis in ischemic heart disease]. *Lvivskyi medychnyi chasopys. Acta medica Leopoliensia* 4(19), 8–11. (in Ukrainian)
14. Oberling, C., Riviere, M., Hagean, F., 1960. Ultrastructure of the clear cells in renal carcinomas and its importance for the determination of their renal origin. *Nature* Vol. 186, 402–403.
15. Steenbard, B.M., Isom, K.S., Cazcarro, P. [et al], 2005. Integration of embryonic stem cell in metanephric kidney organ culture. *Amer. Soc. Nephrol.* Vol. 16, 1623–1631.
16. Greijer, A.E., van der Wall, E., 2004. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis. *J. Clin. Pathol.* Vol. 57, 1009–1014.
17. Kwaan, H.C., 1992. The plasminogen-plasmin system in malignancy. *Cancer Metastasis Rev.* 3–4(11), 291–311.
18. Sengupta, S., Lohse, C.M., Leibovich, B.C., Frank, I., 2005. Histologic coagulative tumor necrosis as a prognostic indicator of renal cell carcinoma aggressiveness. *Cancer* 3(104), 511–520.
19. Green, D., Kwaan, H.C., 2009. Coagulation in Cancer. Springer Science. Business Media, New York.
20. Eyden, B., Banerjee, S. S., Ru, Y., Liberski, P., 2013. The ultrastructure of human tumours: applications in diagnosis and research. Heidelberg.
21. Munoz, L.E., Lauber, K., Schiller, M., Manfredi, A.A., 2010. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat. Rev. Rheumatol.* 5(6), 280–289.
22. Billyy, R., Dumych, T., Stoika, R. et al., 2014. Altered glycosylation apoptotic cell-derived membranous vesicles and its role in immune response and host-pathogen interactions. International Symposium on Cell Biology jointly with 4rd Ukrainian Congress for Cell Biology: abstract book, p. 109.

SUMMARY

Solomiia FEDEVYCH, Yurii POSPISHIL, Yulian KYIAK, Vasyl KOVALYSHYN

ULTRASTRUCTURE OF HYALINE GLOBULES OF TUMOROUS
NODES IN HIGHLY DIFFERENTIATED (G1)
CLEAR CELL RENAL CARCINOMA

*Department of Pathology and Forestic Medicine,
Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine,
solomiya.fedevych@gmail.com*

Introduction. *The presence of hyaline globules (HG) in the cytoplasm of cancer cells (CC) of kidney epithelial neoplasm is associated with high grade of nuclear polymorphism and susceptibility to metastasis. Genesis and pathomorphology of hyaline globules are unclear.*

The aim of the present investigation was to examine generative and degenerative processes associated with the state of HG parenchymal cells and non-cellular components of the tumorous nodes in the highly differentiated (G1) clear cell renal carcinoma at the ultrastructural level.

Materials and methods. *Three cases were examined ultrastructurally during operating biopsies of tumorous nodes in highly differentiated (G1) conventional human clear cell renal carcinoma at the ultrastructural level. Kidney cancer T1a was the clinical diagnosis of these tumors.*

Results. *We have revealed that CC with different electron density are part of the cancer tubules of tumorous nodes. CC with the high electron density have the smallest sizes, they were tightly packed with glycogen granules and rough endoplasmic reticulum (RER), moreover they also contained small primordia of HG (diameter 300–400 nm). CC with the average electron density contained hyaline globules of the first and second types that were associated with glycogen granules and RER as well as with small neoplasms like nuclei (length ~ 1,5 μm), partially surrounded by a membranous whorls. The latter, in our opinion, represent the third type of HG. The cytoplasm of CC with the light electronic density, with the exception of disintegrating HG, contains Mallory bodies, autophagolysosomes and vesicles. Nephrogenic mesenchymal cells (length 5–10 μm) of small size were found inside the cancerous tubules close to the average electron density that contains a significant amount of the HG of the third type.*

Conclusion. *Numerous cancer cells with different electron density were found as a part of tumorous node of cancer tubules under the condition of the highly differentiated (G1) clear cell renal carcinoma. Mostly, these numerous cancer cells contain hyaline globules during embryonic forms and at different stages of their generative and degenerative transformation. Nephrogenic mesenchymal cells were detected close to the CC with the average electron density that contains a significant amount of the HG of the third type.*

Key words: *clear cell renal carcinoma, hyaline globules, tumor, transmission electron microscopy.*

Стаття надійшла 01. 06. 2015
Після доопрацювання 25. 06. 2015
Прийнята до друку 02. 07. 2015