

**С. В. Федевич**Львівський національний медичний університет
імені Данила Галицького

Ультраструктурна організація гемомікроциркуляторного русла світлоклітинного раку нирки різних ступенів диференціації

Вступ. У експериментальних дослідженнях за допомогою методу трансмісійної електронної мікроскопії виявлено, що початкова фаза пухлинного ангиогенезу проходить на рівні капілярів і дрібних венул, прилеглих до новоутвору [42]. В епітеліальних пухлинах людей ангиобластична стадія морфогенезу внутрішньопухлинних судин включає перебудови в стінці вхідної судини, формування тяжів ендотеліальних клітин, які простягаються у бластому [6]. Термінальні ділянки тяжів ендотеліальних клітин вхідної судини, що містяться у периферійній частині пухлини, формують із таких клітин судинні бруньки. Ендотеліальні клітини судинних бруньок мають спрощену ультраструктурну будову, що зближує їх морфологічно з примордіальними ендотеліальними клітинами. Однак механізм репродукції судинних бруньок у системі епітеліальних пухлин не з'ясований. Автори праці [42] дослідили, що від судинних бруньок простягаються новоутворені судини в формі примітивних капілярів. Периферійні частини примітивних капілярів на стадії формування в них щілиноподібних просвітів уміщують депозити ШИК-позитивних речовин і прилягають до базальних мембран пухлинних клітин. У епітеліальних пухлинах виявлені безендотеліальні «судини», стінки яких сформовані тільки з пухлинних клітин. Виявлено, що внутрішньоклітинне судинне русло епітеліальних пухлин диференціюється переважно за венозним типом. Побуває думка, що судини в пухлинах майже не відрізняються від інших судин організму-пухлиноносія [5, 6].

За допомогою методики цифрової селективної ангиографії показано, що для пухлин за типом конвенційного (світлоклітинного) раку нирки (СКРН) характерна гіперваскуляризація. Вона найбільш «сприятливо» виражена у висодиференційованих пухлинах та є добрим прогнозом щодо результатів радикального

хірургічного лікування [1]. Із застосуванням методу світлооптичної мікроскопії виявлено, що за наявності СКРН кількість судин мікроциркуляторного русла більша в пухлині, ніж у перитуморальній ділянці. У пухлинах із високим ступенем злоякісності кількість мікросудин зменшується з одночасним збільшенням сумарної площі поперечних перерізів судин [12]. Вважають, що ріст ракових пухлин і їх здатність до метастазування асоційовані з інтенсивним ангиогенезом у пухлинних тканинах [2]. Взаємодія судин строми з клітинами мікрооточення пухлини не тільки призводить до росту, але й підтримує стовбурові пухлинні клітини та регулює їх преметастатичний потенціал [3, 21].

Донедавна вважалося, що в пухлинах нові кровоносні судини утворюються головним чином через ангиогенез, який стимулюється гіпоксією, ацидозом і запаленням [13, 22, 27]. У пухлинах дорослих організмів також формуються кровосні судини *de novo* (васкулогенез) за участі гематопоетичних клітин [37, 39]. Провідну роль у процесі васкулогенезу відіграють ендотеліальні прогеніторні клітини, джерелами яких є кістковий мозок, мезенхімальні попередники, тканинні резидентні стовбурові клітини. В ушкоджених тканинах під час васкулогенезу ендотеліальні прогеніторні клітини накопичуються, диференціюються в ендотеліальні клітини та формують розгалужену сітку, на якій, як на каркасі, відбувається ангиогенез [8, 10, 20, 34]. Незважаючи на значні успіхи у вивченні ендотеліальних прогеніторних клітин, як популяції мононуклеарних клітин гематопоетичного та ендотеліального рядів, дискутується питання про те, які маркери найбільшою мірою виявляють їх істинні форми [25]. Утворене під час васкулогенезу й ангиогенезу мікроциркуляторне русло пухлини, на відміну від нормальних тканин, характеризується наявністю примітивних судин і ненормального мікросередовища [18]. Такий

стан пухлин супроводжується порушеним кровообігом, інтерстиціальною гіпертензією, гіпоксією, ацидозом [32]. Імуногістохімічно виявлено, що прилегла до кровоносних судин і пухлинних клітин основна речовина стромы пухлин СКРН збагачена фактором росту ендотеліальних клітин, фібриногеном, фібрином. Звідси випливає, що активація ангиогенезу та коагуляції в пухлинах у разі СКРН тісно асоційовані [29, 40]. Відомо також, що впровадження нових стратегій, які ґрунтуються на поєднанні антиангіогенних і конвенційних циторедуктивних агентів лікування ракових хворих реалізовується через нормалізацію судинної мережі пухлин [16, 18, 21, 33]. Таким чином, виникає потреба в поглибленому дослідженні ультраструктури пухлин відповідно до ступенів ядерних характеристик [28]. Водночас немає робіт, які б у порівняльному плані характеризували ультраструктурну організацію мікросудин пухлин СКРН різних ступенів диференціації.

Мета дослідження. Дослідити ультраструктурну організацію гемомікроциркуляторного русла конвенційного (світлоклітинного) раку нирки різних ступенів диференціації.

Матеріали й методи дослідження. Дослідження проводили на базі урологічного відділення Львівської обласної клінічної лікарні, кафедри патологічної анатомії та судової медицини і лабораторії електронної мікроскопії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. У рандомізований спосіб, на основі медичних карт стаціонарного хворого про визначення клінічного діагнозу раку нирки, спостерігали 12 пацієнтів, скерованих на проведення хірургічної операції та патогістологічне дослідження. Патогістологічне дослідження ґрунтувалося на визначенні форми, складу та діаметра ядер пухлинних епітеліальних клітин новоутвору на основі їх мікроскопічної морфології парафінових зрізів, пофарбованих гематоксиліном і еозином. Ядерні характеристики в системі гістологічної класифікації СКРН за S. A. Fuhrman et al. [28] забезпечують верифікацію діагнозу за ступенями диференціації (градації) (G 1, G 2, G 3, G 4) [24, 36]. 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 можливість стратифікувати їх на три групи за ступенями диференціації СКРН з: а) високодиференційованим раком (G 1) – три випадки: один чоловік віком 61 рік та дві жінки віком 49 і 50 років; б) раком середнього ступеня диференціації (G 2) – три випадки: два чоловіки віком 43 і 66 років та одна жінка віком 69 років; в) раком низького ступеня диференціації (G 3) – шість випадків, усі чоловіки віком 48, 52, 56, 70, 71, 75 років.

Збір матеріалу провадили згідно з апробованими схемами патогістологічних досліджень нирково-клітинного раку [12].

Матеріалом для проведення дослідження у трансмісійному електронно-мікроскопічному виконанні слугували післяопераційні біоптати периферійної та центральної частин пухлин СКРН хворих. Матеріалом для проведення контролю у трансмісійному електронно-мікроскопічному виконанні були післяопераційні біоптати ниркової кори (макроскопічно «чистого» хірургічного краю нирки), що міститься на віддалі 1,0 см від краю пухлин СКРН, елімінованих частин нирок та цілих нирок під час хірургічного лікування.

Матеріал фіксували у 2,0% розчині чотириокису осмію на 0,1М фосфатному буфері (рН 7,36) за загальноприйнятою в ТЕМ методиці. Зафіксовані в розчині чотириокису осмію біоптати дегідрували в етанолі, зростаючої концентрації, відтак у ацетоні, після чого розміщали в суміш епону та аралдиту [26]. Ультратонкі зрізи готували за допомогою ультрамікроматома УМТП-3М, монтували їх на опорні сітки та контрастували в розчинах уранілацетату [38] і цитрату свинцю [35]. Проконтрастовані ультратонкі зрізи вивчали та фотографували з використанням електронного мікроскопа УЭМВ-100К (м. Суми), за прискорювальної напруги 75,0 кВ.

На ультраструктурному рівні в стромі периферійної і центральної частин пухлин СКРН різної диференціації досліджували судинні бруньки, тобто капіляри, що формуються, оптимально розвинуті гемокапіляри, сформовані гемокапіляри, примітивні капіляри, дрібні венули, гематопоетичні клітини.

Контролем слугувала ультраструктура перитубулярних гемокапілярів ниркової кори хворих СКРН різної диференціації.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати ультраструктурного дослідження судинних бруньок, тобто капілярів, що формуються, оптимально розвинутих гемокапілярів, уже сформованих гемокапілярів, примітивних капілярів, дрібних венул, гематопоетичних клітин стромы периферійної і центральної частин високодиференційованих (G 1) пухлин СКРН представлені на рис. 1 і 2, а, б.

Судинні бруньки зосереджені в ділянках пухлин, що наближені до перитуморальної зони. Вони являють собою клубочкоподібні утвори, до складу яких входять невеликі, видовженої форми електронноосвітлі клітини (рис. 1, а). У центрі таких утворів містяться поодинокі юні нейтрофільні гранулоцити. Від окремих периферійних частин судинних бруньок відходять примітивні капіляри у вигляді лічкоподібного утвору, стінки яких сформовані з видовженої форми електронноосвітлих клітин та наближені до тяжів примордіальних ендотеліальних клітин. У основній речовині стромы, що наближена до судинних бруньок, примітивних капілярів і тяжів примордіальних ендотеліальних клітин, містяться моонуклеарні клітини. Наявність моонуклеарних клітин, як прогеніторних елементів, у близькому поєднанні з судинними бруньками й тяжами примордіальних ендотеліальних клітин деякі дослідники використовують для підтвердження васкулогенезу в новоутворах [20], тоді як наявність

юних нейтрофільних гранулоцитів – перебігу запальної реакції в тканині [23]. Стінки гемокапілярів, що формуються, побудовані зі значних за розмірами, видовженої форми примордіальних ендотеліальних клітин, цитоплазма яких багата на дрібні мітохондрії. Відомо, що примордіальні ендотеліальні клітини є обов'язковими клітинними елементами ангиогенезу в тканинах пренатального онтогенезу [4].

Сформовані гемокапіляри, як і дрібні венули, наближені до мезенхімальних клітин та пухлинних епітелійвмісних тубул. Вони мають розширені просвіти, що заповнені плазмою крові, поодинокими еритроцитами та тромбоцитами. Люмінальні поверхні ендотеліальних клітин таких гемокапілярів і дрібних венул містять поодинокі мікрворсинки (рис. 1, б).

Оптимально розвинуті гемокапіляри (рис. 1, в) розташовані зазвичай дуже близько до тубул, які вміщують високодиференційовані середньої електронної щільності пухлинні епітеліальні клітини з вираженою базально-апикальною орієнтацією. Стінка оптимально розвинутих гемокапілярів побудована з безпервної базальної мембрани, субендотеліального шару та середньої електронної щільності ендотеліальних клітин. Ці ендотеліальні клітини мають дископодібну форму, а цитоплазма поза ядром стоншена й розширена. Ядро ендотеліальних клітин оптимально розвинутих гемокапілярів середніх розмірів заповнене еухроматином і невеликим ядерцем. Люмінальна поверхня цитоплазми ендотеліальних клітин містить поодинокі мікрворсинки. Морфологічна структура оптимально розвинутих гемокапілярів значною мірою подібна до такої, яка характерна для перитубулярних гемокапілярів ниркової кори ссавців у нормі, досліджена за допомогою методу трансмісійної електронної мікроскопії [15, 31]. Описаний нами стан оптимально розвинутих гемокапілярів підтверджує раніше наведені докази про морфологічну подібність пухлинних гемокапілярів із гемокапілярами органів людини в нормі [6].

У центральній частині пухлин між стінками дрібних венул і пухлинних епітелійвмісних тубул, клітини яких перебувають на стадіях апоптозу, розташовані судинні бруньки (рис. 1, з). Вони містять примордіальні ендотеліальні клітини значних розмірів. Останні своїми цитоплазматичними відростками контактують із прилеглими ендотеліальними клітинами примітивних капілярів. У щілиноподібних просвітах примітивних капілярів містяться поодинокі мононуклеарні клітини, які, як відомо, можуть мати прогеніторні властивості та диференціюватися у процесі васкулогенезу в ендотеліальні клітини [34]. У центральній частині пухлин є поодинокі ділянки строми, в стані некрозу, із частково зміненими дрібними венулами (рис. 2, а) та дезорганізованими гемокапілярами (рис. 2, б). Просвіти таких дрібних венул заповнені розщепленою на мікрочасточки плазмою крові, а цитоплазма їх ендотеліальних клітин, як і прилеглих пухлинних епітеліальних клітин, має морфологічні ознаки, властиві для ультраструктур декомпозиційно зміненої

ниркової кори [41]. Стінки дезорганізованих гемокапілярів у деяких ділянках стоншені, перфоровані, а просвіти звужені та заповнені скупченнями неправильної форми еритроцитів і тромбоцитів. Більшість таких тромбоцитів перебуває на етапах розпаду й оточена протяжними скупченнями волокон фібрину-мономера. У ділянках некрозу виявляються також дрібні венули зі стінками, що спалися, просвіти яких уміщують гомогенну електронно-світлу плазму крові.

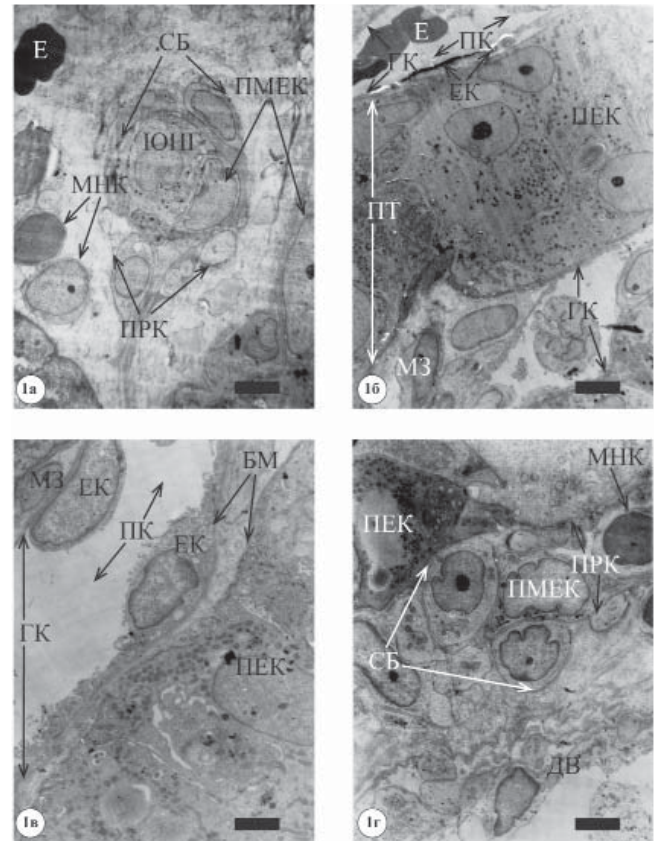


Рис. 1. Ультраструктура периферійної [судинної бруньки (а), оптимально розвинутого гемокапіляра (б), частково дезорганізованих гемокапілярів (в)] та центральної [судинної бруньки із прилеглими до неї примітивним капіляром і дрібною венулою (г)] частин пухлин високодиференційованого (G 1) світлоклітинного раку нирки (СКРН); ГЛ – гемокапіляр, ДВ – дрібна венула, ЕК – ендотеліальна клітина, МЗ – мезенхімальна клітина, МНК – мононуклеарна клітина, ПЕК – пухлинна епітеліальна клітина, ПРК – плазма крові, ПМЕК – примордіальна ендотеліальна клітина, ПРК – примітивний капіляр, ПТ – пухлинна тубула, СБ – судинна брунька. Масштабні відрізки, мкм: а – 6,0; б – 4,5; в – 6,7; г – 5,3.

Результати ультраструктурного дослідження судинних бруньок, тобто капілярів, що формуються, оптимально розвинутих гемокапілярів, сформованих гемокапілярів, примітивних капілярів, дрібних венул, гематопоетичних клітин строми периферійної і центральної частин середнього ступеня диференціації (G 2) пухлин СКРН, представлені на рис. 2, в, г.

Значні ділянки склеротизованої строми середнього ступеня диференціації (G 2) пухлин СКРН (як периферійної, так і центральної частин) містять мезенхімальні клітини, тяжі дезорганізованих примордіальних ендотеліальних клітин, гіпертрофовані

гемокапіляри та дрібні венули. Люмінальні поверхні ендотеліальних клітин цих гемомікрокапілярів утворені великою кількістю мікроворсинок (рис. 2, в). Наявність на ультраструктурному рівні у складі люмінальної поверхні цитоплазми ЕК мікроворсинок підтверджує існування циркуляторної гіпоксії в тканині [7]. Гіпоксія є основним регулятором ангиогенезу в ракових пухлинах [30]. Просвіти гемокапілярів уміщують ліпопротеїнові краплі великих розмірів, гіперагрегати еритроцитів, поліморфноядерні гранулоцити, моноцити, тромбоцити високої електронної щільності, пучки волокон фібрину-полімера (рис. 2, з). Судинні бруньки, гемокапіляри та дрібні венули, що містяться в ділянках некрозу як периферійної, так і центральної частин пухлин, морфологічно подібні до тих, які є за умов високого ступеня диференціації СКРН.

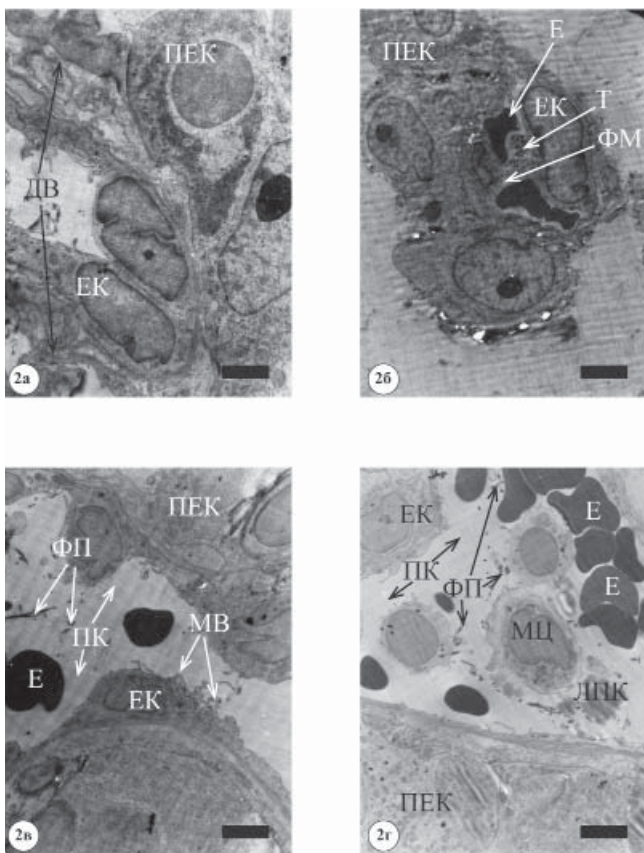


Рис. 2. Ультраструктура дезорганізованих дрібної венули, стінка і плазма крові якої декомпозиовані (а), та гемокапіляра, просвіт якого заповнений скупченнями тромбоцитів, еритроцитів і пучків волокон фібрину-мономера (б) центральної частини пухлин високодиференційованого (G 1) СКРН.

Люмінальна цитоплазма ендотеліальних клітин дрібної венули вміщує велику кількість мікроворсинок (в), а плазма крові гемокапіляра насичена скупченнями пучків волокон фібрину-полімера, еритроцитами, моноцитами (з) периферійної частини пухлин середнього ступеня (G 2) диференціації СКРН;

Е – еритроцит, ЛПК – ліпопротеїнова крапля, МВ – мікроворсинка, МЦ – моноцит, Т – тромбоцит, ФП – пучок волокон фібрину-полімера.

Решта аббревіатур і позначень такі, як до попередніх рисунків. Масштабні відрізки, мкм: а – 5,0; б – 6,0; в – 4,0; з – 4,0.

Результати ультраструктурного дослідження судинних бруньок, тобто капілярів, що формуються, оптимально розвинутих гемокапілярів, уже сформованих гемокапілярів, примітивних капілярів, дрібних венул, гематопоетичних клітини стромы периферійної і центральної частин низького ступеня диференціації (G 3) пухлин СКРН представлені на рис. 3 і 4, а.

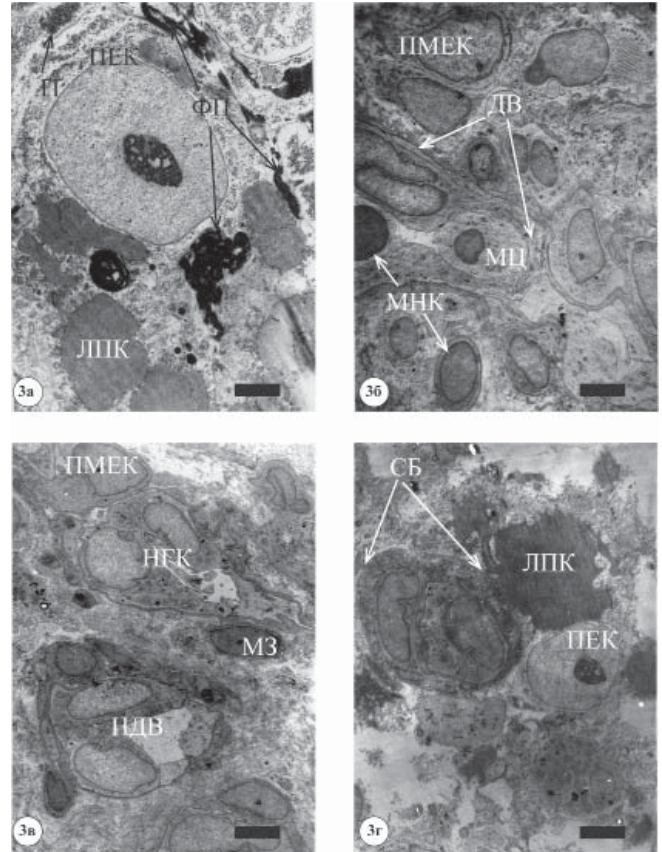


Рис. 3. Ультраструктура апоптично зміненої пухлинної епітеліальної клітини в оточенні пучків волокон фібрину-полімера і скупчень гранул глікогену (а), дрібної венули в оточенні пухлинних епітеліальних клітин, мононуклеара, моноцитів (б), судинної бруньки, скупчень пухлинних епітеліальних клітин, новосформованих гемокапіляра та дрібної венули (в) і судинної бруньки в ділянці некрозу (з) центральної частини пухлин низькодиференційованого (G 3) СКРН; ГГ – гранула глікогену, НГК – новосформований гемокапіляр, НДВ – новосформована дрібна венула. Решта аббревіатур і позначень такі, як до попередніх рисунків. Масштабні відрізки, мкм: а – 4,0; б – 6,5; в – 6,5; з – 6,5.

За наявності низького ступеня диференціації (G 3) пухлин СКРН значні ділянки епітелій- та ендотелій-вмісних утворів периферійної і більшою мірою центральної частини пухлин дезорганізовані, перебувають у стані апоптозу та некрозу. Інтерстицій, розташований між апоптично зміненими пухлинними епітеліальними клітинами, наповнений протяжними скупченнями пучків волокон фібрину-полімера, скупченнями гранул глікогену (рис. 3, а). Неоднакова присутність пучків волокон фібрину-мономера і фібрину-полімера в складі як плазми крові гемомікроциркуляторного русла, так і інтерстицію, поміж апоптично зміненими пухлинними епітеліальними клітинами пухлин

різних ступенів диференціації СКРН, згідно з результатами нових біохімічних досліджень, може бути зумовлена аномальною активацією системи згортання крові та фібринолізу, як процесів, що супроводжують чи є причиною онкологічного захворювання [11].

Прилегла до апоптично змінених пухлинних епітеліальних клітин строма пухлин низького ступеня диференціації (G 3) СКРН вміщує тяжі примордіальних ендотеліальних клітин; судинні бруньки, мононуклеарні клітини, моноцити, розгалужену мережу синусоїдних гемокапілярів, стінки яких сформовані з примордіальних ендотеліальних клітин. Просвіти дрібних венул серед цього мікрооточення вміщують мононуклеарні клітини та моноцити (рис. 3, б). У складі такої строми є мезенхімальні клітини, новоформовані дрібні венули та гемокапіляри (рис. 3, в). Зазвичай ділянки строми, збагаченої на мезенхімальні клітини, примордіальні ендотеліальні клітини та мононуклеари, прилягають до обширних ділянок некрозу пухлин. Тут, серед лізованих мас основної речовини строми і різноманітних фрагментів клітин містяться поодинокі дезорганізовані дрібні венули та компактні, значних розмірів судинні бруньки (рис. 3, г). Наявність скупчень новоутворених під час ангіогенезу і васкулогенезу кровоносних судин між частково дезорганізованими епітеліальними тубулами (пухлинні епітеліальні клітини яких перебувають на етапах апоптозу) та ділянками некрозу пухлин відображає процеси ремодулювання гемомікроциркуляторного русла аналогічно до того, як це відбувається в ділянці рубців і поблизу післяінфарктної аневризми лівого шлуночка серця [9].

На нашу думку, наявність ремодульованого мікроциркуляторного русла та його мікрооточення у стромі пухлин різних ступенів диференціації, а найбільше у випадку низькодиференційованого (G 3) СКРН вказує на те, що в первинних пухлинах на каркасі ремодульованого мікроциркуляторного русла формується клітинний потенціал преметастатичних ніш, що забезпечують їх ріст і здатність до метастазування.

Зауважено, що у відносно збережених ділянках периферійної частини пухлин СКРН різних ступенів диференціації (G 1, G 2, G 3) стінки окремих гемокапілярів вміщують ендотеліальні клітини дуже високої електронної щільності. Прилегла плазма крові до люмінальної цитоплазми таких ендотеліальних клітин локально поділена на прошарки дуже високої і дуже низької електронної щільності (рис. 1, б, 4, а). Подібні, а саме коагуляційного генезу, зміни плазми крові та ендотеліальних клітин гемокапілярів ниркової кори були електронно-мікроскопічно виявлені за екзогенного впливу надфізіологічних доз тромбіну або плазміну в експерименті [17]. Це може бути морфологічною підставою для прогнозу, що плазма крові окремих, частково збережених, гемокапілярів пухлин СКРН локально насичена надфізіологічними концентраціями тромбіну і плазміну. Згідно з принципами розмежування токсичних і фізіологічних реакцій організму на дію чинників у надфізіологічних кількостях з'я-

совано, що їх вплив у досить високих дозах призводить до токсичного дисгомеостазу [19]. Локальна присутність у гемокапілярах мікротромбів, на думку відомих дослідників судинних уражень нирок, є ознакою глибоких мікроциркуляторних змін тканин, що настають у разі дисемінованого внутрішньосудинного згортання крові [14].

Результати контрольного ультраструктурного дослідження перитубулярних гемокапілярів ниркової кори хворих на СКРН різної диференціації представлені на рис. 4, б, г.

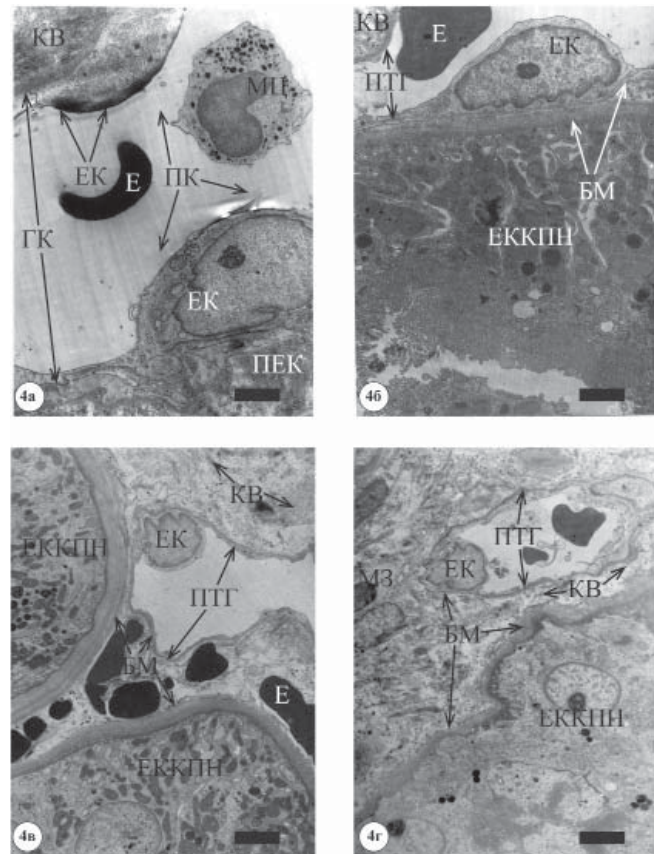


Рис. 4. Ультраструктурна організація: а – ендотеліальних клітин і просвіту гемокапіляра, що вміщує прошарки цитоплазми і плазми крові дуже високої та дуже низької електронної щільності периферійної частини пухлини низькодиференційованого (G 3) СКРН; б – оптимально розвинутого перитубулярного гемокапіляра, що тісно прилягає до стінки каналця проксимального відділу нефрона ниркової кори за високодиференційованого (G 1) СКРН; в – дезорганізованого, незначною мірою, перитубулярного гемокапіляра ниркової кори за середнього ступеня диференціації (G 2) СКРН; г – дезорганізованого, значною мірою, перитубулярного гемокапіляра ниркової кори за низького ступеня диференціації (G 3) СКРН; БМ – базальна мембрана, ЕККПН – епітеліальна клітина каналця проксимального відділу нефрона, КВ – колагенове волокно, ПТГ – перитубулярний гемокапіляр. Решта аббревіатур і позначень такі, як до попередніх рисунків. Масштабні відрізки, мкм: а – 3,5; б – 3,0; в – 5,0; г – 6,0.

Контрольні у трансмісійному електронно-мікроскопічному виконанні дослідження ниркової кори хворих на високодиференційований (G 1) СКРН виявили, що у стромі ниркової кори є оптимально розвинуті перитубулярні гемокапіляри, які мають типо-

ву для таких утворів будову. Вони складаються із просвіту, заповненого плазмою крові середньої електронної щільності, та стінки, в якій чітко розрізняються ендотеліальні клітини, субендотеліальний шар і базальна мембрана (рис. 4, б). Подібна ультраструктурна організація перитубулярних гемокапілярів ниркової кори ссавців у нормі була трактована такою, що оптимально забезпечує гемодинаміку нирок [31]. Паралельні ультраструктурні дослідження ниркової кори хворих із середнім (G 2) та низьким (G 3) ступенями диференціації СКРН виявили, що перитубулярні гемокапіляри дезорганізовані незначною (рис. 4, в) та значною (рис. 4, г) мірою відповідно. Наші контрольні дослідження про стан ультраструктур оптимально розвинутих, дезорганізованих незначною та значною мірою перитубулярних гемокапілярів стромы ниркової кори хворих на СКРН виявили паралелі в тактиках хірургічного лікування, а саме – можливе проведення резекції нирки з пухлиною хворим із високим (G 1) чи нефректомії хворим із середнім (G 2) і низьким (G 3) ступенями диференціації СКРН відповідно [12].

Контрольні дослідження показали, що ультраструктурна організація оптимально розвинутих гемокапілярів периферійної частини пухлин високого ступеня диференціації СКРН близька до такої перитубулярних гемокапілярів ниркової кори хворих на високодиференційований (G 1) СКРН та нирок ссавців.

Висновки. Гемомікроциркуляторне русло пухлин високого (G 1) і меншою мірою середнього ступеня диференціації (G 2) СКРН складається головним чином із оптимально розвинутих гемокапілярів, сформованих гемокапілярів, дрібних венул. Поодинокі гемокапіляри та дрібні венули перебувають на етапах

локальної декомпозиції та ремодулювання. Гемомікроциркуляторне русло низькодиференційованих (G 3) пухлин СКРН складається із дезорганізованих і некротизованих гемокапілярів, дрібних венул, і, незначною мірою, тяжів примордіальних ендотеліальних клітин, синусоїдних гемокапілярів, судинних бруньок, новосформованих гемокапілярів і дрібних венул, примітивних капілярів. Ремодульоване шляхом ангиогенезу і васкулогенезу гемомікроциркуляторне русло як периферійної, так і центральної частин низькодиференційованих (G 3) пухлин СКРН локалізоване між частково дезорганізованими епітеліальними тубулами (пухлинні епітеліальні клітини яких перебувають на етапах апоптозу), а саме, в прошарках (преметастатичних нішах) стромы, збагаченої на примордіальні ендотеліальні клітини, мононуклеарні клітини, моноцити, гематопоетичні клітини, мезенхімальні клітини, прилеглі до ділянок некрозу. Аномальна активація системи згортання та фібринолізу плазми крові гемомікроциркуляторного русла та основної речовини інтерстицію пухлин найменше виражена за наявності високодиференційованого (G 1), а найбільше – низькодиференційованого (G 3) ступенів диференціації СКРН. Ультраструктурна організація оптимально розвинутих гемокапілярів периферійної частини пухлин високого ступеня диференціації СКРН близька до такої перитубулярних гемокапілярів ниркової кори хворих на високодиференційований (G 1) СКРН і нирок ссавців. Ультраструктура гемомікроциркуляторного русла пухлин високого ступеня диференціації (G 1) більшою мірою «нормалізована», ніж середнього (G 2) та низького (G 3) ступенів диференціації СКРН.

Список літератури

- Акинфеев В. В. Закономерности между ангиографической семиотикой почечно-клеточного рака и морфологическим строением опухоли [Электронный ресурс] / В. В. Акинфеев // Новости лучевой диагностики. – 2004. – № 1. – Режим доступа : <http://nld.by/104/stat1.htm> (Akinfeyev V. The regularities between angiographic semiotics of renal cell carcinoma and morphological structure of the tumor / V. Akinfeyev // News of Beam Diagnostics. – 2004. – N 1. – Access mode : <http://nld.by/104/stat1.htm>) (in Belarus).
- Алексеев Б. Я. Таргетная терапия распространенного рака почки / Б. Я. Алексеев, П. В. Шерай // Онкоурология. – 2007. – № 4. – С. 6–11 (Alekseyev B. Target therapy for disseminated renal cancer / B. Alekseyev, P. Shegai // Oncourology. – 2007. – N 4. – P. 6–11) (in Russian).
- Бережная Н. М. Физиологическая система соединительной ткани и онкогенез. I. Роль клеточных компонентов стромы в развитии опухоли / Н. М. Бережная, В. Ф. Чехун // Онкология. – 2016. – Т. 18, № 1. – С. 6–11 (Berezhnaya N. Physiological system of conjunctive tissue and oncogenesis. I. Role of cellular components of stroma in tumor development / N. Berezhnaya, V. Chekhun // Oncology. – 2016. – Vol. 18, N 1. – P. 4–14) (in Ukrainian).
- Бобрик И. И. Развитие кровеносных и лимфатических сосудов / И. И. Бобрик, Ш. А. Шевченко, В. Г. Черкасов. – К. : Здоров'я, 1991. – 208 с. (Bobryk I. The development of blood and lymphatic vessels / I. Bobryk, Sh. Shevchenko, V. Cherkasov. – K. : Zdorov'ya, 1991. – 208 p.) (in Ukrainian).
- Дмитрук И. М. Морфогенез сосудистого русла в эпителиальных опухолях и их метастазах : автореф. дис. на соискание ученой степени канд. мед. наук : спец. 14.00.15 «Патологическая анатомия» / Дмитрук И. М. – Львов, 1987. – 18 с. (Dmitruk I. M. Morphogenesis of vascular bed in epithelial tumors and there metastases : thesis for the defense of Ph. D. degree of medical sciences on a speciality 14.00.15 "Pathological anatomy" / Dmitruk I. M. – Lviv, 1987. – 18 p.) (in Ukrainian).
- Зербино Д. Д. Внутриопухольная пролиферация сосудов / Д. Д. Зербино, И. М. Дмитрук // Архив патологии. – 1983. – Т. 45, № 4. – С. 80–83 (Zerbino D. Morphogenesis of intratumor vascular proliferation / D. Zerbino, I. Dmitruk // Arkhiv Patologii. – 1983. – Vol. 45, N 4. – P. 80–83) (in Russian).
- Зербино Д. Д. Общие закономерности ультраструктурной трансформации капилляров при гипоксии / Д. Д. Зербино // Ультраструктура микроциркуляторных путей в патологии : материалы респ. конф., 26-27 сент. 1974 г. – Львов, 1974. – С. 174–175 (Zerbino D. Common regularities of ultrastructural transformation of capillaries in hypoxia : proceedings of materials the republic conference, Sept. 26-27, 1974 / D. Zerbino. – Lviv, 1974. – P. 174–175) (in Ukrainian).

8. Коненков В. И. Ангиогенез и васкулогенез при сахарном диабете : новые концепции патогенеза и лечения сосудистых осложнений / В. И. Коненков, В. В. Климонтов // *Diabetes mellitus*. – 2012. – № 4. – С. 17–27 (Konenkov V. Vasculogenesis and angiogenesis in diabetes mellitus: novel pathogenetic concepts for treatment of vascular complications / V. Konenkov, V. Klimontov // *Diabetes mellitus*. – 2012. – N 4. – P. 17–27) (in Russian).
9. Кореляції між клінічною і клітинною кардіологією (клініко-ультраструктурні дослідження) / Ю. Г. Кияк, О. Ю. Барнетт, В. І. Ковалишин, Г. Ю. Кияк. – Львів : Кварт, 2012. – 160 с. (Correlations between clinical and cellular cardiology (clinical and ultrastructural examinations) / Y. Kyyak, O. Barnett, V. Kovalyshyn, H. Kyyak. – Lviv, 2012. – 160 p.) (in Ukrainian).
10. Лисяний Н. И. Мезенхимальные стволовые клетки и канцерогенез / Н. И. Лисяний // *Онкология*. – 2013. – Т. 15, № 1. – С. 4–8 (Lisyaniy N. Mesenchymal stem cells and carcinogenesis / N. Lisyaniy // *Oncology*. – 2013. – Vol. 15, N 1. – P. 4–8) (in Ukrainian).
11. Луговской Э. В. Молекулярные механизмы образования и разрушения фибрина / Э. В. Луговской, Е. М. Макогоненко, С. В. Комисаренко. – К. : Наук. думка, 2013. – 231 с. (Lugovskoi E. Molecular mechanisms of formation and degradation of fibrin / E. Lugovskoi, E. Makogonenko, S. Komisarenko. – K. : Nauk. dumka, 2013. – 231 p.) (in Ukrainian).
12. Размер опухолевого узла и гистологическое строение перитуморозной зоны рака почки / Т. М. Черданцева, И. П. Бобров, В. В. Климачев [и др.] // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – № 7. – С. 188–193 (The size of a tumour and histological structure peritumorous zone of cancer of a renal cell carcinoma / T. Cherdantseva, I. Bobrov, V. Klimachev [et al.] // *Fundamental research*. – 2013. – N 7. – P. 188–193) (in Russian).
13. Регуляция ангиогенеза при злокачественных новообразованиях почки и мочевого пузыря / Л. В. Спирина, И. В. Кондакова, Е. А. Усынин, С. И. Винтизенко // *Сибирский онкологический журнал*. – 2008. – № 4. – С. 65–70 (Angiogenesis regulation in renal and bladder cancers / L. Spirina, I. Kondakova, E. Usynin, S. Vintzenko // *Sibirian Journal of Oncology*. – 2008. – N 4. – P. 65–70) (in Russian).
14. Судинна патологія нирок / Д. Д. Зербіно, М. М. Багрій, О. О. Дядик [та ін.]. – Вінниця : Нова книга, 2015. – 456 с. (Vascular renal disease / D. Zerbino, M. Bagrii, O. Dyadyk [et al.]. – Vinnycya : Nova knyha, 2015. – 456 p.) (in Ukrainian).
15. Шахламов В. А. Капилляры (электронно-микроскопическое исследование) / В. А. Шахламов. – М. : Медицина, 1971. – 198 с. (Shachlamov V. The capillaries (electron microscopic examination) / V. Shachlamov. – M. : Medycyna, 1971. – 198 p.) (in Russian).
16. Шпарик Я. В. Рак нирки : останні досягнення медикаментозного лікування / Я. В. Шпарик // *Онкология*. – 2008. – Т. 10, № 4. – С. 436–442 (Shparyk Y. Kidney cancer : recent achievements of medical treatment / Y. Shparyk // *Oncology*. – 2008. – Vol. 10, N 4. – P. 436–442) (in Ukrainian).
17. Явище енантіоморфізму в тромбіно- і плазмінозалежному коагуляційно-пептизаційному генезі ультраструктурного гомеостазу ниркової кори / В. І. Ковалишин, М. Р. Гжегоцький, С. В. Федевич [та ін.] // *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. – 2008. – № 2. – С. 41–58 (Phenomenon of enantiomorphism in trombin- and plasmin-dependent coagulative and peptizative genesis of renal cortex ultrastructural homeostasis / V. Kovalychyn, M. Gzegotskyi, S. Fedevych [et al.] // *Experimental and Clinical Physiology and Biochemistry*. – 2008. – № 2. – P. 41–58) (in Ukrainian).
18. Angiogenesis in cancer / N. Nishida, H. Yano, N. Nishida [et al.] // *Vascular Health Risk Management*. – 2006. – Vol. 2, N 3. – P. 281–290.
19. Bancroft W. D. Reversible coagulation in living tissue. II / W. D. Bancroft, J. E. Rutzler // *Chemistry*. – 1931. – Vol. 17. – P. 186–192.
20. Bussolati B. Resident stem cells and renal carcinoma [Electronic resource] / B. Bussolati, A. Brossa, G. Camussi // *Int. J. Nefrol*. – 2011. – Access mode : <http://www.hindawi.com/journals/ijn/2011/286985/>.
21. Cancer stem Cells and macrophages: Implications in tumor biology and therapeutic strategies / Jr. B. Sainz, E. Carron, M. Vallespinos, H. L. Machado // *Hindawi Publishing Corporation: Mediators of Inflammation*. – 2016. – Vol. 2016. – Access mode: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9012369>.
22. Charleswirth P. J. S. Mechanism of disease : angiogenesis in urologic malignancies / P. J. S. Charleswirth, A. L. Harris // *Nature Clin. Pract*. – 2006. – Vol. 3. – P. 157–169.
23. Coussens L. M. Inflammation and cancer / L. M. Coussens, Z. Werb // *Nature*. – 2002. – Vol. 420, N 6917. – P. 860–867. doi:10.1038/nature01322
24. Delahunt B. History of the development of the classification of renal cell neoplasia / B. Delahunt, J. N. Eble // *Clin. Lab. Med*. – 2005. – Vol. 25, N 2. – P. 231–246.
25. Endotelial progenitor dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy: treatment concept to correct diabetes-associated deficits / S. Li Calzi, M. B. Neu, L. C. Shaw, M. B. Grant // *EPMAJ*. – 2010. – Vol. 1, N 1. – P. 88–100.
26. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens : Practical methods in electron microscopy / ed. A. M. Glauret. – North-Holland : American Elsevier, 1975. – 207 p.
27. Folkman J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? / J. Folkman // *J. Natl. Cancer Inst*. – 1990. – Vol. 82, N 1. – P. 4–6.
28. Fuhrman S. A. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma / S. A. Fuhrman, L. C. Lasky, C. Limas // *Amer. J. Surg. Pathol*. – 1982. – N 6. – P. 655–663.
29. Green D. Coagulation in cancer / D. Green, H. C. Kwaan. – New York : Springer Science. Business Media, 2009. – 327 p.
30. Liao D. Hypoxia : A key regulator of angiogenesis in cancer / D. Liao, R. S. Johnson // *Cancer Metastasis Rev*. – 2007. – Vol. 26, N 2. – P. 281–290.
31. Maunsbach F. V. Functional ultrastructure of the proximal tubule / A. B. Maunsbach, E. I. Christensen // *Renal Physiology* / ed. E. E. Windhager. – 2nd edition. – New York : American Physiological Society by Oxford University Press., 1992. – P. 41–107.
32. Pathology : cancer cells compress intratumour vessels / T. P. Padera, B. R. Stoll, J. B. Tooredman [et al.] // *Nature*. – 2004. – Vol. 427, N 6976. – P. 695.
33. Rakesh K. J. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy / K. J. Rakesh // *Science*. – 2005. – Vol. 307, N 5706. – P. 58–62.
34. Review article : endothelial progenitor cells in renal disease / Goligorsy M. S., M. C. Kuo, D. Patschan, M. C. Verhaar // *Nephrology (Carlton)*. – 2009. – Vol. 14, N 3. – P. 291–297.

35. Reynolds E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds // *J. Cell Biology*. – 1963. – N 17. – P. 208–212.
36. Rioux-Leclercq N. Le grade nucléaire de fuhrman, facteur pronostique du cancer du rein depuis 25 ans / N. Rioux-Leclercq // [The Fuhrman grading system for kidney cancer prognosis] // *Progres en urologie*, 2006 (in French). – Vol. 16, N 4. – P. 5–8. PMID 17183964.
37. Semenza G. L. Vasculogenesis, angiogenesis, and arteriogenesis: mechanisms of blood vessel formation and remodelling / G. L. Semenza // *J. Cell Biochem*. – 2007. – Vol. 102, N 4. – P. 109–117.
38. Stempac J. G. An improved staining method for electron microscopy / J. G. Stempac, R. T. Ward // *J. Cell Biology*. – 1964. – Vol. 22. – P. 697–701.
39. Tang D. G. Endothelial cell development, vasculogenesis, angiogenesis, and tumor neovascularisation: an update / D. G. Tang, C. J. Conti // *Semin. Thromb. Hemost.* – 2004. – Vol. 30, N 1. – P. 840–847
40. The relationship of vascular endothelial growth factor and coagulation factor fibrin and fibrinogen expression in clear cell renal cell carcinoma / H. M. Verheul, K. van Erp, M. Y. Homs [et al.] // *Urology*. – 2010. – Vol. 75, N 3. – P. 608–614.
41. Tubular overexpression of transforming growth factor- β 1 induces autophagy and fibrosis but not mesenchymal transition of Renal Epithelial Cells / R. Koesters, B. Kaissling, M. LeHsr [et al.] // *Amer. J. Pathol.* – 2010. – Vol. 177, N 2. – P. 632–634.
42. Warren B. A. Tumour angiogenesis: ultrastructure of endothelial cells in mitosis / B. A. Warren, M. Greenblatt, V. R. C. Kommineni // *Brit. J. Exp. Path.* – 1972. – Vol. 53, N 2. – P. 216–224.

Стаття надійшла до редакції журналу 1 серпня 2016 р.

Ультраструктурна організація гемомікроциркуляторного русла світлоклітинного раку нирки різних ступенів диференціації

С. В. Федевич

Здійснено дослідження ультраструктурної організації гемомікроциркуляторного русла конвенційного (світлоклітинного) раку нирки різних ступенів диференціації.

Матеріалом для проведення електронно-мікроскопічного дослідження у трансмісійному виконанні слугували післяопераційні біоптати периферійної та центральної частин пухлин СКРН: високодиференційованого раку (G 1) – три випадки: один чоловік віком 61 рік та дві жінки віком 49 і 50 років; раку середнього ступеня диференціації (G 2) – три випадки: два чоловіки віком 43 і 66 років та одна жінка віком 69 років; раку низького ступеня диференціації (G 3) – шість випадків, чоловіки віком 48, 52, 56, 70 71 і 75 років.

Контролем у трансмісійному електронно-мікроскопічному виконанні слугували післяопераційні біоптати ниркової кори елімінованих частин нирок із пухлиною та цілих нирок із пухлиною вказаних хворих на СКРН.

Застосовували загальноприйнятту в трансмісійній електронній мікроскопії методику.

На ультраструктурному рівні в стромі периферійної частини пухлин високодиференційованого (G 1) СКРН були досліджені судинні бруньки, примордіальні ендотеліальні клітини, оптимально розвинуті гемокапіляри, капіляри, що формуються, сформовані гемокапіляри, дрібні венули, примітивні капіляри, гематопоеичні клітини, мезенхімальні клітини, колагенові волокна. У центральній частині пухлин міститься незначна кількість клітин, які перебувають на стадіях апоптозу, декомпозиції та некрозу. Просвіти дезорганізованих гемокапілярів насичені скупченнями еритроцитів, тромбоцитів і пучків волокон фібрину-мономера, а просвіти дрібних венул зі стінками, які спалися, – гомогенною плазмою крові.

Склеротизована строма пухлин середнього ступеня диференціації (G 2) СКРН містить мезенхімальні клітини, тяжі дезорганізованих примордіальних ЕК, гіпертрофовані гемокапіляри та дрібні венули. Люмінальні поверхні ендотеліальних клітин цих судин утворені великою кількістю мікроворсинок. Їх просвіти вміщують, гіперагрегати еритроцитів, поліморфно-ядерні гранулоцити, моноцити, тромбоцити високої електронної щільності, пучки волокон фібрину-полімера, ліпопротеїнові краплі великих розмірів.

Низького ступеня диференціації (G 3) СКРН значні ділянки епітелій- та ендотелійвмісних утворів периферійної і більшою мірою центральної частин пухлин дезорганізовані, перебувають у стані апоптозу і некрозу. Апоптично змінені пухлинні епітеліальні клітини, оточені пучками волокон фібрину-полімера, а прилегла до них строма ремодульована – насичена мононуклеарними клітинами, моноцитами, гематопоеичними клітинами, мезенхімальними клітинами, примордіальними ендотеліальними клітинами, судинними бруньками, гемокапілярами синусоїдного типу, примітивними капілярами, новосформованими гемокапілярами і дрібними венулами.

Контрольні дослідження дали змогу з'ясувати, що ультраструктурна організація оптимально розвинутих гемокапілярів периферійної частини пухлин високого ступеня диференціації СКРН близька до такої перитубулярних гемокапілярів ниркової кори хворих на високодиференційований (G 1) СКРН та нирок ссавців.

Ультраструктура гемомікроциркуляторного русла пухлин високого ступеня диференціації (G 1) більшою мірою «нормалізована», ніж середнього (G 2) та низького (G 3) ступенів диференціації СКРН.

Ключові слова: конвенційний (світлоклітинний) рак нирки, гемомікроциркуляторне русло, ангиогенез, васкулогенез.

Ultrastructural Organization of Microcirculatory Bed in Clear Cell Renal Cell Carcinoma of Different Grades of Differentiation

S. Fedevych

Introduction. Implementing into medical practice target therapy in cancer patients including the conventional (clear cell) renal cell carcinoma (CCRCC) provides the delivery of anti-angiogenic and conventional cytoreductive agents through "normalized" ways of the vascular network of tumors to cancer cells. We also know that microcirculatory bed and its microenvironment in tumors are formed by vasculogenesis and angiogenesis, unlike normal tissues, are characterized by the presence of primitive vessels and abnormal microenvironment. However, no studies were conducted, which would have characterized in comparative plan the ultrastructural organization of tumor microvessels in CCRCC of different grades of differentiation.

The aim is to examine ultrastructural organization of microcirculatory bed in conventional (clear cell) renal cell carcinoma of different grades of differentiation.

Materials and methods. Material for conducting transmission electron microscopic researches was postoperative biopsies of peripheral and central parts of tumors in CCRCC at high differentiated cancer (G 1) - three cases: one man (61-years-old) and two women (49- and 61-years-old); with an average grade of differentiation (G 2) – three cases: two men (43- and 66-years-old) and one woman (69-years-old); with a low grade of differentiation (G 3) – six cases, all were men (48-, 52-, 56-, 70-, 71-, 75-year-old).

Material for conducting of control studies in transmission electron microscopy was postoperative biopsies of renal cortex of eliminated parts of the kidney with tumor and the whole kidney with tumor in these patients with CCRCC.

The technique is common in transmission electron microscopy.

Results and discussion. At the ultrastructural level, vascular buds, primordial endothelial cells, optimally developed capillaries, forming capillaries, already formed capillaries, small venules, primitive capillaries, hematopoietic cells, mesenchymal cells, fibers of collagen studied in peripheral stroma of tumors with high differentiated (G 1) CCRCC. In the central part of the tumors there are small numbers of cells that are in the process of apoptosis, decomposition and necrosis. Gaps of disorganized capillaries are rich in accumulations of erythrocytes, platelets and fibrin monomer bundles of fibers, gaps of small venules with wrinkled walls are rich in a homogenous blood plasma.

The sclerotized stroma of tumors with an average grade of differentiation (G 2) CCRCC contains mesenchymal cells, disorganized bands of primordial endothelial cells, hypertrophic capillaries and small venules. The luminal surfaces of endothelial cells of the vessels are formed by a large number of microvilli. Their gaps contain hyperaggregates of erythrocytes, polymorphonuclear granulocytes, monocytes, platelets with high electron density, fibrin polymer bundles of fibers, the large drops of lipoprotein.

At the low grade of differentiation (G 3) CCRCC, the considerable areas of epithelium- and endothelium-containing formations of peripheral and more central parts of the tumor are disorganized, and are in a state of apoptosis and necrosis. It was observed that the modified tumor apoptotic epithelial cells with surrounding fibrin polymer bundles of fibers and adjacent the remodulated stroma were rich in mononuclear cells, monocytes, hematopoietic cells, mesenchymal cells, primordial endothelial cells, vascular buds, capillaries of sinusoidal type, primitive capillaries, newly formed capillaries and small venules.

The control studies made it possible to establish that the ultrastructural organization of optimally developed capillaries of peripheral part of tumors with high differentiated grade CCRCC is close to that of peritubular capillaries of renal cortex of patients with high differentiated (G 1) CCRCC and kidney of mammals.

Conclusions. The ultrastructure of microcirculatory bed of tumors with a high grade of differentiation (G 1) is a more "normalized" than the average one (G 2) and the low (G 3) grade of differentiation CCRCC.

Keywords: conventional (clear cell) renal cell carcinoma, microcirculatory bed, angiogenesis, vasculogenesis.