

УДК 616.351-006.6-033.2:576.311.347
<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-2-38-48>

Морфологические особенности митохондрий, изолированных из опухоли и условно здоровой ткани прямой кишки, у пациентов в зависимости от наличия метастазов

Кит О.И.¹, Шихлярова А.И.¹, Франциянц Е.М.¹, Ильченко С.А.¹, Нескубина И.В.¹, Кириченко Е.Ю.², Логвинов А.К.³, Родькин С.В.², Черярина Н.Д.¹, Колесников Е.Н.¹, Кожушко М.А.¹, Анисимов А.Е.¹, Легенько Н.Н.¹

¹ Национальный медицинский исследовательский центр (НМИЦ) онкологии
Россия, 344037, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я Линия, 63

² Донской государственный технический университет (ДГТУ)
Россия, 344000, г. Ростов-на-Дону, пл. Гагарина, 1

³ Южный федеральный университет (ЮФУ)
Россия, 344006, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1

РЕЗЮМЕ

Цель. Изучение ультраструктурных особенностей митохондрий, изолированных из ткани аденокарциномы прямой кишки и условно здоровой ткани по линии резекции опухоли, у пациентов обоего пола в зависимости от наличия или отсутствия метастазов.

Материалы и методы. В исследование включены результаты, полученные от 28 больных раком прямой кишки T2–3N0M0 и T2–3N1–3M1, степень дифференцировки опухоли – G2. Митохондрии из клеток тканей опухоли и кишки выделяли с применением дифференциального центрифугирования. Взвесь митохондрий помещали в фиксирующий раствор, содержащий формальдегид и глутаральдегид, далее в чистую смолу Epon-812 (SPI Inc., США) и отверждали в течение 72 ч при 70 °С. Применяли стандартные методы подготовки срезов, которые исследовали с помощью электронного микроскопа Jeol JEM-1011 (JEOL Inc., Япония). Определение периметра митохондрий на изображениях, полученных методом электронной микроскопии, проводилось с использованием программы FiJi.

Результаты. На основе ультраструктурного исследования и статистического анализа размерности периметра митохондрий, изолированных из аденокарциномы прямой кишки пациентов обоего пола, было установлено, что показатели условно малых (0–1 мкм), средних (1–2 мкм) и больших (>2 мкм) размеров митохондрий не имели межгрупповых статистически значимых различий в зависимости от наличия или отсутствия метастазов. В отличие от опухоли, в условно здоровой ткани по линии резекции прямой кишки доля митохондрий с периметром более 2 мкм, характеризующихся наиболее выраженной дисфункциональностью, снижалась в 3,6 раза у женщин и в 4,8 раза у мужчин без метастазов по сравнению с показателями у всех пациентов с метастазами ($p < 0,05$).

Заключение. Значимость различий в показателях размерности периметра митохондрий, изолированных из условно здоровой ткани на линии резекции аденокарциномы прямой кишки, независимо от гендерных различий пациентов указывала на возможность морфофункциональной взаимосвязи процессов, протекающих на ультраструктурном митохондриальном уровне и метастазированием рака прямой кишки.

Ключевые слова: аденокарцинома прямой кишки, митохондрии, метастазирование

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии источника финансирования при проведении исследования.

✉ Нескубина Ирина Валерьевна, neskubina.irina@mail.ru

Соответствие принципам этики. Все пациенты подписали информированное согласие на взятие и передачу биологического материала для проведения научных исследований, государственных заданий в общественно и социально полезных целях. Исследование одобрено этическим комитетом НМИЦ онкологии (протокол № 1 от 30.01.2023).

Для цитирования: Кит О.И., Шихлярова А.И., Франциянц Е.М., Ильченко С.А., Нескубина И.В., Кириченко Е.Ю., Логвинов А.К., Родькин С.В., Черярина Н.Д., Колесников Е.Н., Кожушко М.А., Анисимов А.Е., Легенько Н.Н. Морфологические особенности митохондрий, изолированных из опухоли и условно здоровой ткани прямой кишки, у пациентов в зависимости от наличия метастазов. *Бюллетень сибирской медицины*. 2026;25(2):38–48. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-2-38-48>.

Morphological features of mitochondria isolated from tumor and apparently healthy tissue of the rectum in patients depending on the presence of metastases

Kit O.I.¹, Shikhlyarova A.I.¹, Frantsiyants E.M.¹, Ilchenko S.A.¹, Neskubina I.V.¹, Kirichenko E.Yu.², Logvinov A.K.³, Rodkin S.V.², Cheryarina N.D.¹, Kolesnikov E.N.¹, Kozhushko M.A.¹, Anisimov A.E.¹, Legenko N.N.¹

*National Medical Research Centre for Oncology
63 14th Liniya, 344037 Rostov-on-Don, Russian Federation*

*Don State Technical University
1 Gagarin Sq., 344000 Rostov-on-Don, Russian Federation*

*Southern Federal University
105/42 B. Sadovaya St., 344006 Rostov-on-Don, Russian Federation*

ABSTRACT

Aim. To examine the ultrastructural characteristics of mitochondria isolated from rectal adenocarcinoma tissue and apparently healthy tissue along the tumor resection line in patients of both sexes, depending on the presence or absence of metastases.

Materials and methods. The study encompassed the analysis of 28 patients diagnosed with rectal cancer, classified as T2–3N0M0 and T2–3N1–3M1, with tumor differentiation grade G2. Mitochondria were isolated from tumor and intestinal tissue cells via differential centrifugation. The mitochondrial suspension was then placed in a fixative solution containing formaldehyde and glutaraldehyde, followed by immersion in pure Epon-812 resin (SPI Inc., USA). The resin was allowed to cure for a period of 72 hours at a temperature of 70° C. Standard methodologies were employed to prepare the sections, which were then examined using a Jeol JEM-1011 electron microscope (JEOL Inc., Japan). The mitochondrial perimeter on images obtained by electron microscopy was determined using the Fiji program.

Results. A comprehensive ultrastructural study and statistical analysis of the perimeter size of mitochondria isolated from rectal adenocarcinoma in patients of both sexes were conducted. The results indicated that there were no statistically significant intergroup differences in mitochondrial size, categorized as conditionally small (0–1 µm), medium (1–2 µm), and large (>2 µm), depending on the presence or absence of metastases. In contrast to the tumor tissue, in apparently healthy tissue along the rectal resection line, the proportion of mitochondria with a perimeter of > 2 µm, characterized by the most pronounced dysfunction, decreased by 3.6 times in women and by 4.8 times in men without metastases compared to the indicators in all patients with metastases ($p < 0.05$).

Conclusion. The significance of differences in the perimeter dimensions of mitochondria isolated from apparently healthy tissue at the resection line of rectal adenocarcinoma, regardless of gender differences in patients, indicated the possibility of a morphofunctional relationship between processes occurring at the ultrastructural mitochondrial level and metastasis of rectal cancer.

Keywords: rectal adenocarcinoma, mitochondria, metastasis

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Source of financing. The authors state that they received no funding for the study.

Conformity with the principles of ethics. All patients signed an informed consent to collection and transfer of biological material and to carrying out of studies and state assignments for socially sensitive purposes. The study was approved by the Ethics Committee at N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center (Minutes No. 1 dated 30.01.2023).

For citation: Kit O.I., Shikhlyarova A.I., Frantsiyants E.M., Ilchenko S.A., Neskubina I.V., Kirichenko E.Yu., Logvinov A.K., Rodkin S.V., Cheryarina N.D., Kolesnikov E.N., Kozhushko M.A., Anisimov A.E., Legenko N.N. Morphological features of mitochondria isolated from tumor and apparently healthy tissue of the rectum in patients depending on the presence of metastases. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2026;25(2):38–48. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2026-2-38-48>.

ВВЕДЕНИЕ

Принцип неразрывной связи структуры и функции, с давних времен развиваемый в отечественной науке флагом морфофункционального единства академиком Д.С. Саркисовым, в настоящее время достиг полного понимания в мировом сообществе и признания эквивалентности прежде считавшихся полярными понятий на тонком ультраструктурном уровне митохондрий [1]. В таких крупнейших мировых издательствах, как Nature, Nat. Metabolism, Redox Biology, и многих других за последние 10 лет, включая 2025-й, опубликованы сотни профильных статей и обзоров литературы, которые представляют новую парадигму о многогранности митохондрий и заявляют о выводе митохондриальной науки за рамки функции и дисфункции [2–5].

Тесная связь между структурой и функциями митохондрий привела к появлению концепции «морфофункциональности» митохондрий [6] и включала «морфофункциональный анализ митохондрий» как «одновременное количественное определение морфологических и функциональных показателей митохондрий». Т.Т. Renault и соавт. (2015) показали, что как гиперфузия, так и гиперфрагментация митохондрий защищали клетки от апоптоза, опосредованного BAX. Это позволяет предположить, что для индукции пермеабиллизации внешней мембраны митохондрий BAX требуется определенная форма митохондрий [7].

Кроме того, установлено, что в ответ на низкие концентрации АДФ структура ММ изменялась: митохондриальный матрикс сжимался и уплотнялся («конденсированное состояние»), а затем становился менее плотным и более растянутым («ортодоксальное состояние»), что было связано с более компактным расположением крист [8]. Исследование Y. Wang и соавт. (2017) показало, что фрагментация митохондрий позволяет высвобождать Ca^{2+} из эндоплазматического ретикула в цитозоль, способ-

ствуя фагоцитозу и стимулируя Ca^{2+} -опосредованный транспорт везикул [9]. Показано, что структура митохондрий влияет на фазу клеточного цикла, и наоборот [10].

Например, циклин-зависимая киназа 5 (CDK5) ингибирует динамин-связанный белок 1(DRP1) посредством фосфорилирования [11], а митохондрии образуют гиперфузионную сеть при переходе из G1 в S-фазу, связанном с накоплением циклина E [12]. Последнее исследование также показало, что деполаризация $\Delta\psi$ в начале G1 препятствует переходу клеточного цикла в S-фазу [12].

Один из важнейших аспектов исследований митохондрий сопряжен с их уникальной и незаменимой ролью в онкогенезе и прогрессировании рака [5, 13, 14]. И хотя механизмы митохондриального перепрограммирования при раке в последнее время получили более пристальное внимание, однако особенности приспособления органелл в этом процессе широко не рассматривались [15–17]. Между тем микросреда, в которой растет опухоль, крайне неблагоприятна для митохондрий, поскольку неустойчивые концентрации кислорода и окислительные радикалы могут нарушить целостность органелл, дезинтегрировать регулирование множества функций митохондрий и активировать гибель клеток [18]. Вопросы о том, каким образом митохондрии справляются с потерей своей «функциональной формы» и каково влияние некачественных или поврежденных митохондрий на признаки опухоли, в том числе при переносе злокачественной информации, остается еще не понятыми и мало изученными [19].

В начале 2025 г. были опубликованы «Рекомендации по номенклатуре и характеристике переноса митохондрий», разработанные более 30 учеными из разных стран мира [20]. Эти рекомендации значительно облегчили сложную задачу описания всех форм митохондрий структурно поврежденных, неповрежденных или фрагментарных. В них указано о необходимости того, чтобы митохондрии были

охарактеризованы, по крайней мере, с точки зрения размера, поскольку эта физическая характеристика, которую можно измерить с помощью различных методов. Таким образом, исследования на уровне митохондрий, изолированных из тканей, могут способствовать не только расширению представлений о связи между функциональными и морфологическими аспектами, но и определить роль размерности митохондрий в опухолевой прогрессии, в частности процессов метастазирования.

Цель данной работы состояла в изучении ультраструктурных особенностей изолированных митохондрий, выделенных из ткани аденокарциномы прямой кишки и условно здоровой ткани по линии резекции опухоли, у пациентов обоего пола в зависимости от наличия или отсутствия метастазов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены результаты, полученные от 28 больных раком прямой кишки T2–3N0M0 и T2–3N1–3M1, средний возраст 66 (58–73) лет. Никто из больных, включенных в исследование, до операции не получал неоадьювантного лечения. Степень дифференцировки опухоли у всех больных соответствовала G2. Выполняли резекцию пораженного органа в объеме резекции прямой кишки с удалением злокачественной опухоли.

Митохондрии из клеток тканей опухоли и условно здоровой ткани прямой кишки выделяли с применением дифференциального центрифугирования на высокоскоростной рефрижераторной центрифуге Avanti J-E (BECMAN COULTER, США) по общепринятым методам [21, 22]. Для разрушения межклеточных связей, клеточной стенки и плазматических мембран применяли механическую обработку тканей с измельчением ножницами и гомогенизацией в стеклянном гомогенизаторе с тефлоновым пестиком (гомогенизатор Поттера – Эльвегейма). На каждый грамм ткани добавляли по 10 мл стерильной среды выделения (0,22 М маннитол, 0,3 М сахараза, 1 мМ ЭДТА, 2 мМ TRIS-HCL, 10 мМ HEPES, pH 7,4).

Ткани гомогенизировали и центрифугировали первый раз 10 мин при скорости 1 000 g, температура 0–2 °С, второе и третье центрифугирование осуществляли при 20 000 g, 20 мин, температура 0–2 °С. Между центрифугированием проводили процедуру ресуспендирования осадка митохондрий в среде выделения. Митохондрии дополнительно очищали от лизосом, пероксисом, меланосом и т.п., центрифугируя в 23%-м градиенте Перколл. Суспензию субклеточных структур наслаивали на градиент Перколл, центрифугировали 15 мин при 21 000 g, после этого

наблюдали разделение на три фазы, оставляли нижний слой митохондрий и ресуспендировали средой выделения. Следующую «промывку» митохондрий осуществляли путем центрифугирования в течение 10 мин при 15 000 g, температура 0–2 °С.

Часть тканей кишки и взвеси митохондрий, выделенных из опухолевой и условно здоровой ткани прямой кишки, сразу помещали в фиксирующий раствор, содержащий формальдегид и глутаральдегид. После предварительной подготовки образец тканей помещали в чистую смолу Epon-812 (SPI Inc., США) и отверждали в течение 72 ч при 70 °С. Ультратонкие срезы (90 нм) получали с помощью ультратомата, оснащенного алмазным ножом. Срезы монтировали на медные щелевые решетки и подвергали контрастированию 2%-м водным раствором уранилацетата в течение 40 мин и цитратом свинца в течение 2 мин. Срезы исследовали и фотографировали с помощью электронного микроскопа Jeol JEM-1011 (JEOL Inc., Япония).

Определение периметра митохондрий на изображениях, полученных методом электронной микроскопии, проводилось с использованием программы FiJi. Перед началом анализа масштаб изображения задавался вручную по масштабной линейке, присутствующей на каждой микрофотографии. Митохондрии выделялись с помощью инструмента свободного выделения (Freehand Selection). Также при необходимости выполнялась коррекция контраста и сглаживание изображения для улучшения визуализации границ митохондрий. После завершения обводки каждой митохондрии результат сохранялся в виде ROI, а полученные контуры добавлялись в ROI Manager.

На основе этих выделений программа автоматически рассчитывала периметр каждой митохондрии. Для повышения воспроизводимости и прозрачности анализа для каждого изображения была составлена карта разметки: файлы с нанесенными контурами митохондрий сохранялись отдельно, что позволило в дальнейшем проконтролировать точность идентификации объектов.

Статистический анализ результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 10.0. Распределение нормальности оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка (для малых выборок). Сравнение количественных данных в группах (независимые выборки) проводили с использованием критериев Стьюдента и Манна – Уитни. Значение $p < 0,05$ было сохранено в качестве предела статистической значимости. Данные таблиц представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех пациентов с аденокарциномой прямой кишки на ультратонких серийных срезах отмечались морфологические признаки дисфункции изолированных из опухоли митохондрий, что выражалось в значительной вариации размеров и формы органоидов – от овоидной и округлой до полигональной (рис. 1). На электронограмме можно видеть, что значительная часть популяции митохондрий (более 40%) крупного и среднего периметра находится в набухом состоянии. Тотальное набухание митохондрий могло свидетельствовать о большем

сопряжении и повышении в них синтеза АТФ, т.е. вероятности высокой скорости обмена. По данным литературы, интенсивность дыхания митохондрий в патологических состояниях может увеличиваться вдвое, но без существенного изменения эффективности окислительного фосфорилирования [23, 24].

Обращало внимание, что в набухших укрупненных митохондриях структура крист существенным образом деформируется и ограничивается единичными удлинненными или укороченными инвагинациями внутренней мембраны, ориентированными иррадиально с увеличением межмембранного пространства.

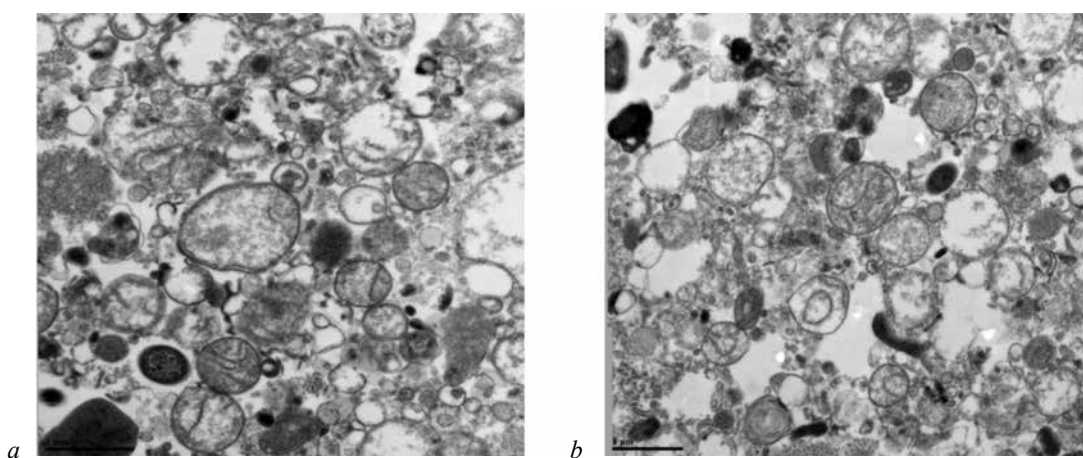


Рис. 1. Электронная микрофотография митохондрий, выделенных из аденокарциномы прямой кишки у мужчин: *a* – с выявленными метастазами, *b* – без метастазов. Проявление локального набухания и осмиофильного гранулярного компонента; $\times 50\,000$

Ультраструктура митохондрий аденокарциномы прямой кишки у мужчин без метастазов и с метастазами была сходной по гетерогенности и дополнялась данными о состоянии митохондриального матрикса, который имел преимущество полного или частичного заполнения включениями повышенной электронной плотности. Заполнение матрикса было неоднородно, поскольку включения либо заполняли весь матрикс, либо образовывали сгущения в краевых зонах ближе к внутренней митохондриальной мембране (см. рис. 1, *b*). На ультратонких срезах достаточно четко контурировалась внешняя мембрана митохондрий, в большинстве случаев была сохранена или наблюдались небольшие разрывы. Патологическая картина гетерогенности митохондрий опухоли у мужчин без метастазов дополнялась проявлением локального набухания и незначительным отложением осмиофильного гранулярного компонента внутри отдельных органелл (на рис. 1, *b* указано стрелками).

У женщин с метастазами аденокарциномы прямой кишки на ультратонких серийных срезах отме-

чались подобные морфологические признаки дисфункции изолированных из опухоли митохондрий, как и у мужчин (рис. 2).

Наблюдалось выраженное разнообразие размеров и формы органоидов: овоидная, округлая, реже – полигональная. Более чем в 50% случаев отмечалось набухание митохондрий с деформацией или отсутствием крист. Выявлялись единичные митохондрии с относительно равномерной исчерченностью крист с высокой осмиофильной активностью включений и увеличением электронно-оптической плотности матрикса. Краевые отложения в матриксе округлых фрагментов осмиофильного компонента, связанного с деформированными кристами, могли быть липидной природы.

При анализе электронограмм митохондрий, выделенных из клеток аденокарциномы прямой кишки у женщин без выявленных метастазов (см. рис. 2, *b*), выраженных отличительных особенностей ультраструктуры по сравнению с предыдущим исследованием не отмечалось.

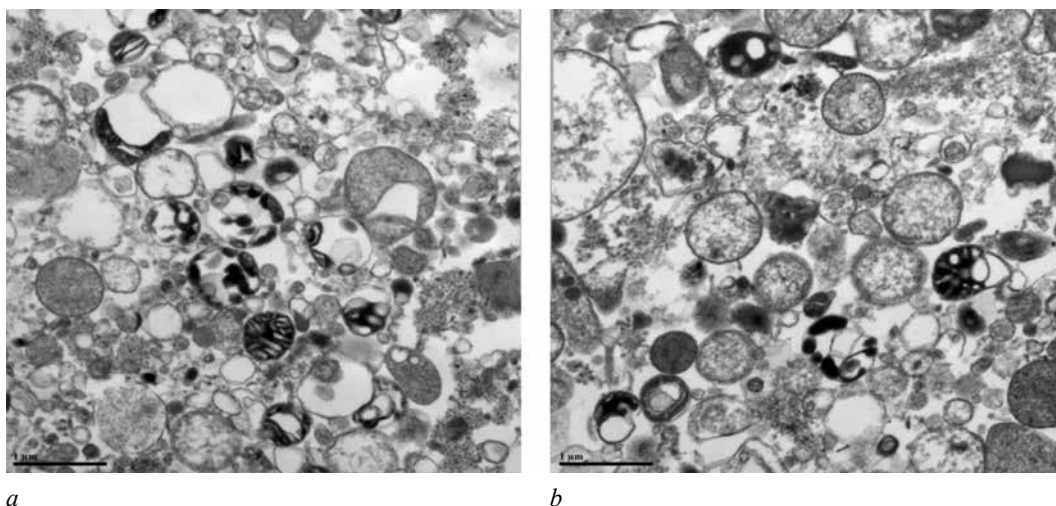


Рис. 2. Электронная микрофотография митохондрий, выделенных из аденокарциномы прямой кишки у женщин: *a* – с выявленными метастазами, *b* – без метастазов; $\times 50\,000$

Таким образом, микрокартина изолированных из клеток опухоли митохондрий у мужчин и женщин независимо от наличия метастазов характеризовалась сравнительно сходными признаками: гетерогенностью формы и укрупненностью размеров, тотальным набуханием митохондрий с существенной деформацией крист, изменением электронной плотности и отложением осмофильных отложений в матриксе и кристах.

При изучении условно здоровой ткани прямой кишки по линии резекции у мужчин и женщин с наличием или отсутствием метастазов выявилось наполнение «неопухолевой» ткани митохондриями опухоли (рис. 3).

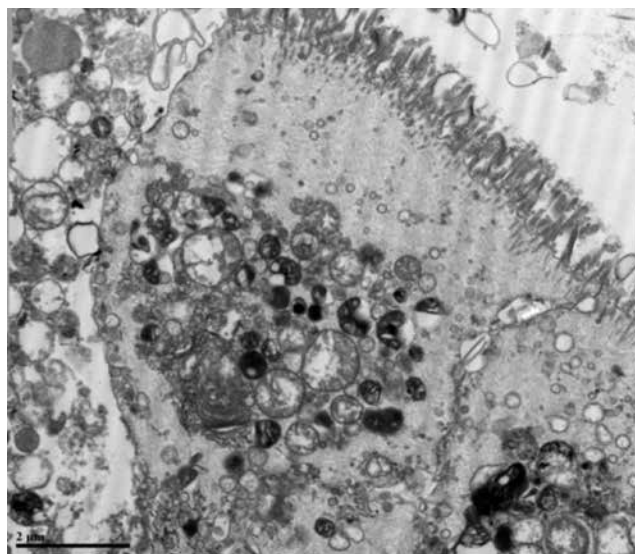


Рис. 3. Электронная микрофотография, демонстрирующая вариацию размеров и формы митохондрий в условно здоровой ткани прямой кишки по линии резекции опухоли; $\times 50\,000$

Как пример, приводим микрофотографию, убедительно свидетельствующую о способности транслкации митохондрий опухоли в прилежащие к области резекции, визуально (при световой микроскопии) не затронутые опухолевым процессом.

Электронно-микроскопическое изучение митохондрий, изолированных из условно здоровой ткани прямой кишки у мужчин с метастазами аденокарциномы, выявило весь спектр нарушений морфологического порядка. На микрофотографии (рис. 4, *a*) можно видеть набухшие органоиды различных размерных кластеров, преимущественно повышенной электронной плотности матрикса с удлинёнными единичными и укороченными множественными кристами.

Наружная мембрана митохондрий в подавляющем большинстве случаев сохраняла целостность, но выявлялись и фрагментарные участки повреждения, в том числе раздвоения наружной и внутренней мембран с заполнением межмембранного пространства. Обращало внимание наличие внутри митохондрий включений отростчатой формы с высокой осмофильной активностью, ассоциированных с кристами. Патологические формы митохондрий, изолированных из клеток условно здоровой ткани прямой кишки, были отмечены и у мужчин без метастазов. Однако микрокартина несколько менялась, выделяя преимущество мелких форм. При сниженной размерности митохондрий митохондриальный матрикс характеризовался умеренной и низкой оптической плотностью, мембрана сохраняла целостность, выявлялась структура крист разной степени выраженности и конфигурации.

Подобное несоответствие размерности митохондрий в условно здоровой ткани прямой кишки визу-

лизировалось и у женщин в зависимости от наличия или отсутствия метастазов аденокарциномы. Хотелось бы подчеркнуть, что при всех исследованиях ультраструктуры митохондрий для адекватного сопоставления их размеров соблюдалось принципиальное условие идентичности увеличения электронного микроскопа $\times 50\,000$, что создавало возможность унификации их размерности.

Митохондрии, изолированные из условно здоровой ткани по линии резекции опухоли у женщин с метастазами, выглядели более крупными по сравнению с митохондриями при отсутствии метастазов (рис. 5, *a*, *b*). Тем не менее в обоих случаях отмечалось набухание, выраженная структура крист, в большей или меньшей степени ассоциированных с

включениями высокой осмиофильной активности. Наружные мембраны митохондрий, как правило, сохраняли целостность, однако можно было видеть истончение или даже размытость границ митохондрий, а также раздвоение мембран с заполнением промежутка активной средой митохондриального метаболизма.

Учитывая значительную вариацию размеров митохондрий, нами были сформированы кластеры условно малых (0–1 мкм), средних (1–2 мкм) и больших (>2 мкм) размеров митохондрий и проведено измерение их периметра со статистической обработкой показателей и вычисления частоты встречаемости данной размерности митохондрий у женщин и мужчин с наличием и отсутствием метастазов (таблица).

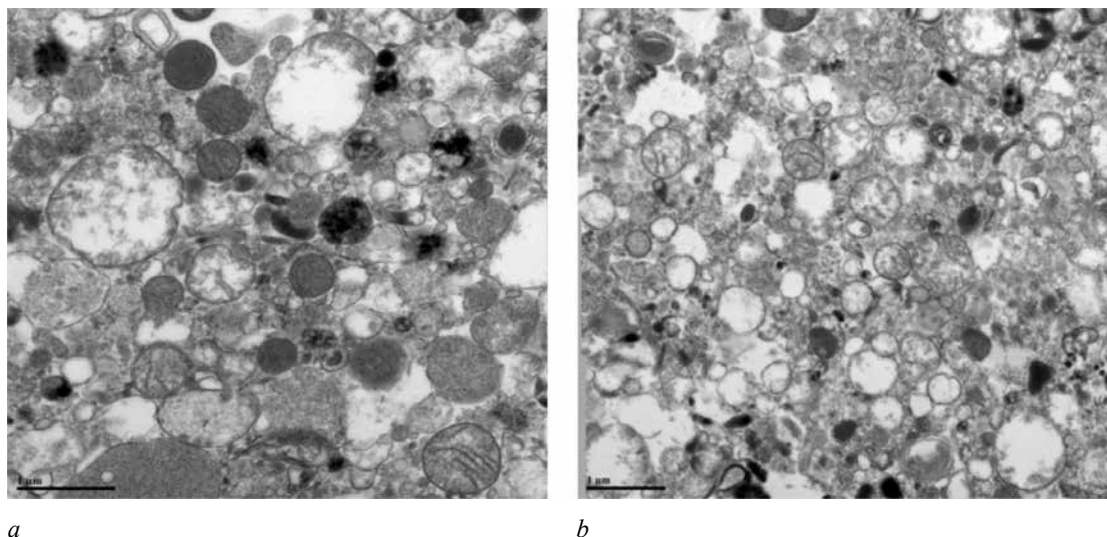


Рис. 4. Электронная микрофотография митохондрий, выделенных из условно здоровой ткани по линии резекции опухоли прямой кишки у мужчин: *a* – с выявленными метастазами, *b* – без метастазов; $\times 50\,000$

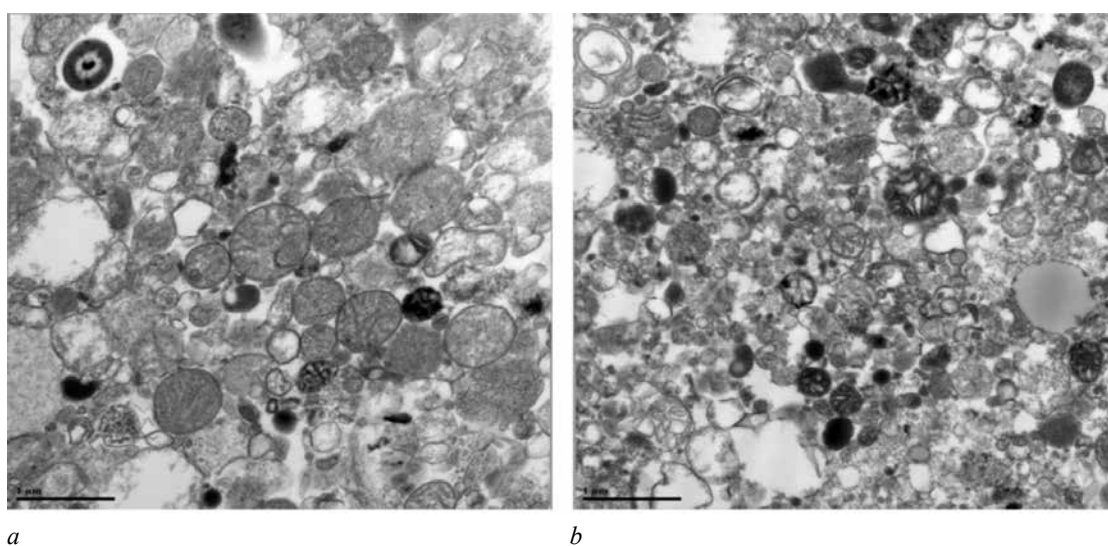


Рис. 5. Электронная микрофотография митохондрий, выделенных из условно здоровой ткани по линии резекции опухоли прямой кишки у женщин: *a* – с выявленными метастазами аденокарциномы, *b* – без метастазов; $\times 50\,000$

Т а б л и ц а

Частота встречаемости (%) и периметр (мкм) митохондрий, выделенных из клеток опухоли и условно здоровой ткани прямой кишки пациентов мужского и женского пола с наличием или отсутствием метастазов, $M \pm m$						
Группа пациентов	Опухоль			Условно здоровая ткань		
	0–1	1–2	более 2	0–1	1–2	более 2
Женщины с метастазами, $n = 7$	$65,5 \pm 5,1\%$ $0,63 \pm 0,009$ $n = 272$	$22,9 \pm 2,0\%$ $1,46 \pm 0,03$ $n = 95$	$11,6 \pm 1,4\%$ $2,43 \pm 0,05$ $n = 48$	$50,6 \pm 4,9\%$ $0,69 \pm 0,01$ $n = 167$	$35,2 \pm 2,9\%$ $1,45 \pm 0,03$ $n = 116$	$14,2 \pm 1,7\%$ $2,41 \pm 0,06$ $n = 47$
Женщины без метастазов, $n = 7$	$49,6 \pm 4,4\%$ $0,69 \pm 0,01$ $n = 130$	$36,3 \pm 3,1\%$ $1,45 \pm 0,03$ $n = 95$	$14,1 \pm 1,6\%$ $2,43 \pm 0,06$ $n = 37$	$61,5 \pm 5,4\%$ $0,68 \pm 0,01$ $n = 220$	$34,6 \pm 2,7\%$ $1,32 \pm 0,02$ $n = 124$	$3,9 \pm 0,5\%^*$ $2,32 \pm 0,06$ $n = 14$
Мужчины с метастазами, $n = 7$	$58,1 \pm 5,3\%$ $0,68 \pm 0,01$ $n = 122$	$27,1 \pm 2,2\%$ $1,41 \pm 0,04$ $n = 57$	$14,8 \pm 1,9\%$ $2,65 \pm 0,12$ $n = 31$	$42,5 \pm 3,9\%$ $0,69 \pm 0,02$ $n = 119$	$42,5 \pm 3,7\%$ $1,41 \pm 0,03$ $n = 119$	$15,0 \pm 1,6\%$ $2,63 \pm 0,09$ $n = 42$
Мужчины без метастазов, $n = 7$	$55,9 \pm 4,9\%$ $0,7 \pm 0,02$ $n = 85$	$32,3 \pm 2,7\%$ $1,4 \pm 0,04$ $n = 49$	$11,8 \pm 1,5\%$ $2,5 \pm 0,08$ $n = 18$	$64,5 \pm 5,1\%$ $0,76 \pm 0,01$ $n = 82$	$32,4 \pm 2,5\%$ $1,37 \pm 0,03$ $n = 71$	$3,1 \pm 0,2\%^*$ $2,48 \pm 0,16$ $n = 19$

* различия между частотой выявления максимальной размерности митохондрий в условно здоровой ткани пациентов с метастазами и без метастазов являются статистически значимыми ($p < 0,05$).

В результате проведенных вычислений оказалось, что во всех группах пациентов в трех кластерах размерности периметра митохондрий, изолированных из опухоли, сохраняется условное соотношение значений периметра с преимуществом относительной доли митохондрий малой размерности – 0–1 мкм (см. таблицу). Показатели периметра митохондрий более 2 мкм у женщин и мужчин с метастазами аденокарциномы прямой кишки и без метастазов не имели межгрупповых статистически значимых различий и варьировали с незначительной разницей в 3%, а относительное содержание малых форм органоидов с периметром 0–1 мкм превышало долю больших в 5,6–3,1 раза. Относительное число митохондрий, относящихся к средней размерности периметра 1–2 мкм, занимало промежуточное положение между крупными и мелкими митохондриями.

При анализе показателей периметров митохондрий, выделенных из клеток условно здоровой ткани, были определены статистически значимые различия и у женщин, и мужчин в зависимости от наличия или отсутствия метастазов. Эти различия были характерны только для кластера условно больших митохондрий.

Итак, если у женщин и мужчин с метастазами доля изолированных митохондрий с периметром более 2 мкм из клеток условно здоровой ткани не имела статистически значимых различий ни между собой, ни между показателями митохондрий, выделенных из опухоли, то совершенно иная ситуация раскрывалась у пациентов без метастазов. А именно, у женщин без метастазов аденокарциномы прямой кишки частота встречаемости изолированных из условно здоровой ткани митохондрий с периметром

более 2 мкм снижалась в 3,6 раза по сравнению с показателями митохондрий такой же размерности у женщин с выявленными метастазами ($p < 0,05$). При этом реципрокно со снижением доли крупных органоидов наблюдалось повышение доли митохондрий малой размерности 0–1 мкм, но различия значений показателей в условиях выявления метастазов были незначимы.

Сходный характер изменений наблюдался и у мужчин без метастазов: на фоне процентного повышения частоты выявления органоидов с малым периметром 0–1 мкм содержание изолированных из условно здоровой ткани митохондрий с периметром более 2 мкм было в 4,8 раза ниже по сравнению с показателями при наличии метастазов ($p < 0,05$). Иными словами, статистическая значимость различий в показателях кластерной размерности митохондрий с крупным периметром указывала на возможность морфофункциональной взаимосвязи процессов, протекающих на ультраструктурном уровне с процессами метастазирования рака прямой кишки. Возникал вопрос, чем может быть обусловлена такого рода детерминация процессов формообразования митохондрий в условно здоровой ткани толстой кишки с процессами метастазирования?

ОБСУЖДЕНИЕ

Мы полагаем, что причинно-следственная цепочка событий может быть связана, прежде всего, с особыми характеристиками дисфункциональности митохондрий при канцерогенезе. Крупные митохондрии – это наиболее неблагоприятная, но эффективная форма дисфункциональных митохондрий, чрезмерное присутствие которых в опухоли представляет

высокий риск угрозы ее гибели. С чем это связано? Увеличение размеров митохондрий, в том числе периметра, связано с процессами набухания, которое усиливается при повышении в клетке производства Bcl-2 – Bax и Bak. Именно эти сигналы апоптоза вызывают набухание митохондрий и образование специальной поры для выхода в среду биологически активных молекул: цитохрома C, флавопротеинов, активных форм кислорода (АФК), мтДНК, которые, попадая в цитозоль, запускают программу завершения жизни клетки [25].

Опираясь на этот фундаментальный процесс, можно предположить следующее. Статистически значимое повышение частоты выявления митохондрий с показателями периметра более 2 мкм в условно здоровой ткани прямой кишки у пациентов с метастазами в сравнении с показателями такой же размерности периметра в случаях отсутствия метастазов может быть связано с различными метаболическими изменениями окружающих условий клеточной среды. Прежде всего, это может быть обусловлено выходом факторов патологического перепрограммирования генетических и метаболических процессов, в том числе АФК, как медиаторов направленного митохондриального переноса [26, 27].

Можно добавить, что этому могут способствовать и ассоциированные с раком фибробласты (CAFs), которые участвуют в метаболическом перепрограммировании раковых клеток, способствуя прогрессированию опухоли [28]. Следовательно, наблюдаемые нами морфологические различия митохондрий в условно здоровой ткани прямой кишки у пациентов с метастазами могут косвенно свидетельствовать о причастности к процессам метастазирования. Эти предпосылки могут быть связаны с накоплением неблагоприятных факторов в виде укрупненных деформированных митохондрий, дисфункция которых сочетается со способностью к активной транслокации в средах и тканях и которые обладают мощной сигнальной регуляцией структурно-метаболических процессов при росте опухолей.

Как отмечалось ранее, настоящее исследование ставило своей целью выявить ультраструктурные особенности митохондрий, изолированных из ткани аденокарциномы прямой кишки и условно здоровой ткани по линии резекции опухоли у пациентов обоего пола в зависимости от наличия или отсутствия метастазов. Вместе с тем данная проблема намного шире, чем морфологические аспекты, и может содержать еще множество неучтенных факторов. К ним можно отнести нарушения митофагии, увеличение экстраклеточных везикул (EVS), которые могут ох-

ватывать крупные митохондрии и осуществлять их перенос во внеклеточное пространство [29, 30]. В этом отношении необходимо указать, что в реализации митохондриальной дисфункции в направлении метастазирования важную роль играет популяция внеклеточных пузырьков самих митохондрий – митовезикул (EV-Mito), содержащих множество митохондриальных компонентов (митохондриальный груз), состав которых отражает изменения в исходной клетке.

Принципиально важно учитывать, что метастазирование – сложный, многоэтапный процесс, зависящий не только от внутриклеточных изменений, но и от ангио- и лимфангиогенеза, экспрессии молекул адгезии, ЕМТ, особенностей иммунного микроокружения. Для более детального исследования требуется контроль таких переменных, как стадия, уровень инвазии, мутационный профиль опухоли, опухолевое микроокружение, индекс Ki-67, и др. Настоящее исследование представляет лишь ограниченную часть изменений субклеточного уровня в многогранных процессах метастазирования рака прямой кишки.

Вместе с тем, принимая во внимание стратегическую роль митохондрий в процессах канцерогенеза, нельзя не отметить, что даже наблюдаемые морфологические изменения этих органоидов уже на линии резекции опухоли могут манифестировать о событиях по реализации программы прогрессирования опухолевого процесса. Увеличение численности популяции дисфункциональных митохондрий укрупненной формы в относительно близкой к опухоли зоне может служить одним из значимых сигналов на пути метастазирования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При сравнении пространственной размерности митохондрий, изолированных из аденокарциномы и условно здоровой ткани прямой кишки у пациентов обоего пола с метастазами или без них, выявлены морфологические различия. Эти различия были связаны со статистически значимым увеличением популяции митохондрий большой размерности с периметром более 2 мкм только в условно здоровой ткани по линии резекции опухоли в тех случаях, когда было установлено метастазирование по отношению к их содержанию при отсутствии метастазов ($p < 0,05$). Увеличение размерности митохондрий с морфологическими признаками дисфункции характеризует повышение злокачественного потенциала условно здоровой ткани прямой кишки, что может способствовать прогрессированию опухолевого процесса.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Саркисов Д.С. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. М.: Медицина, 1987:448.
2. Wallace D.C. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu. Rev. Genet.* 2005;39:359–407. DOI: 10.1146/annurev.genet.39.110304.095751.
3. Monzel A.S., Enriquez J.A., Picard M. Multifaceted mitochondria: moving mitochondrial science beyond function and dysfunction. *Nat. Meta.* 2023;5:546–562. DOI: 10.1038/s42255-023-00783-1.
4. Conroy G. Cells are swapping their mitochondria. What does this mean for our health? *Nature.* 2025;640(8058):302–304. DOI: 10.1038/d41586-025-01064-5.
5. Кит О.И., Франциянц Е.М., Шихлярова А.И., Нескубина И.В. Митохондриальная трансплантация – новые вызовы раку. *Южно-Российский онкологический журнал.* 2024;5(1):60–70. DOI: 10.37748/2686-9039-2024-5-1-7.
6. Benard G., Rossignol R. Mitochondrial ultrastructure and its impact on function and bioenergetics. *Antioxid. Redox Signal.* 2008;10(8):1313–1342. DOI: 10.1089/ars.2007.2000.
7. Renault T.T., Floros K.V., Elkholi R., Corrigan K.A., Kushnareva Y., Wieder S.Y. et al. Mitochondrial shape governs BAX-induced membrane permeabilization and apoptosis. *Mol. Cell.* 2015;57(1):69–82. DOI: 10.1016/j.molcel.2014.10.028.
8. Hackenbrock C.R. Ultrastructural bases for metabolically linked mechanical activity in mitochondria. I. Reversible ultrastructural changes with change in metabolic steady state in isolated liver mitochondria. *J. Cell Biol.* 1966;30(2):269–297. DOI: 10.1083/jcb.30.2.269.
9. Wang Y., Subramanian M., Yurdagul A. Jr., Barbosa-Lorenzi V.K., Tsai B., de Juan-Saens H. et al. Mitochondrial fission promotes further macrophage clearance of apoptotic cells. *Cell.* 2017;171(2):331–345. DOI: 10.1016/j.cell.2017.08.041.
10. Horbay R., Bily R. Mitochondrial dynamics during the cell cycle. *Apoptosis.* 2016;21(12):1327–1335. DOI: 10.1007/s10495-016-1295-5.
11. Cho B., Cho H.M., Kim H.J., Jeong J., Park S.K., Hwang E.M. et al. CDK5-dependent inhibitory phosphorylation of Drp1 during neuronal maturation. *Exp. Mol. Med.* 2014;46(7):e105. DOI: 10.1038/emmm.2014.36.
12. Mitra K., Vander S., Roysam B., Lin G., Lippincott-Schwartz J. A hyperfused mitochondrial state achieved in G1-S regulates cyclin E accumulation and entry into S phase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009;106(29):11960–11965. DOI: 10.1073/pnas.0904875106.
13. Grasso D., Zampieri L.X., Capelôa T., Van de Velde J.A., Sonveaux P. Mitochondria in cancer. *Cell Stress.* 2020;4(6):114–146. DOI: 10.15698/cst2020.06.221.
14. Франциянц Е.М., Нескубина И.В., Черярина Н.Д., Сурикова Е.И., Шихлярова А.И., Бандовкина В.А. и др. Функциональное состояние митохондрий кардиомиоцитов при злокачественном процессе на фоне коморбидной патологии в эксперименте. *Южно-Российский онкологический журнал.* 2021;2(3):13–22. DOI: 10.37748/2686-9039-2021-2-3-2.
15. Jia D., Park J.H., Jung K.H., Levine H., Kaiparettu B.A. Elucidating the metabolic plasticity of cancer: mitochondrial reprogramming and hybrid metabolic states. *Cells.* 2018;7(3):21. DOI: 10.3390/cells7030021.
16. Li J., Agarwal E., Bertolini I., Seo J.H., Caino M.C., Ghosh J.C. et al. The mitophagy effector FUNDC1 controls mitochondrial reprogramming and cellular plasticity in cancer cells. *Sci. Signal.* 2020;13(642):eaaz8240. DOI: 10.1126/scisignal.aaz8240.
17. Кит О.И., Водолажский Д.И., Кутилин Д.С., Малейко М.Л., Двадненко К.В., Енин Я.С. и др. Копийность генов *GSTP1*, *NFKB1* и локуса HV2 митохондриальной ДНК при некоторых гистологических типах рака желудка. *Успехи современного естествознания.* 2015;1(6):918–921.
18. Damaghi M., West J., Robertson-Tessi M., Xu L., Ferrall-Fairbanks M.C., Stewart P.A. et al. The harsh microenvironment in early breast cancer selects for a Warburg phenotype. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2021;118(3):e2011342118. DOI: 10.1073/pnas.2011342118.
19. Humpton T.J., Alagesan B., DeNicola G.M., Lu D., Yordanov G.N., Leonhardt C.S. et al. Oncogenic KRAS induces NIX-mediated mitophagy to promote pancreatic cancer. *Cancer Discov.* 2019;9(9):1268–1287. DOI: 10.1158/2159-8290.
20. Brestoff J.R., Singh K.K., Aquilano K., Becker L.B., Berridge M.V., Boilard E. et al. Recommendations for mitochondria transfer and transplantation nomenclature and characterization. *Nat. Metab.* 2025;7(1):53–67. DOI: 10.1038/s42255-024-01200-x.
21. Егорова М.В., Афанасьев С.А. Выделение митохондрий из клеток и тканей животных и человека: Современные методические приемы. *Сибирский медицинский журнал.* 2011;26(1-1):22–28.
22. Гуреев А.П., Кокина А.В., Сыромятникова М.Ю., Попов В.Н. Оптимизация методов выделения митохондрий из разных тканей мыши. *Вестник ВГУ. Серия: химия, биология, фармация.* 2015;4:61–65.
23. Белослудцева Н.В., Павлик Л.Л., Горячева Н.А., Миронова Г.Д. Электронно-микроскопическое исследование процесса формирования ламеллярных телец в митохондриях печени крысы при экспериментальном гипертиреозе. *Современные проблемы медицины и естественных наук.* 2018;7:19–22.
24. Shears S.B., Bronk J.R. Ion transport in liver mitochondria from normal and thyroxine-treated rats. *J. Bioenerg. Biomembr.* 1980;12(5-6):379–393.
25. Santhanam S., Dianne L., Kalimuthusamy N. Inter and Intracellular mitochondrial trafficking in health and disease. *Ageing Research Reviews.* 2020;62:101128. DOI: 10.1016/j.arr.2020.101128.
26. Bonnay F., Veloso A., Steinmann V., Köcher T., Abdusselamoglu M.D., Bajaj S. et al. Oxidative metabolism drives immortalization of neural stem cells during tumorigenesis. *Cell.* 2020;182(6):1490–1507. DOI: 10.1016/j.cell.2020.07.039.
27. Sessions D.T., Kashatus D.F. Mitochondrial dynamics in cancer stem cells. *Cell Life Science.* 2021;78(8):3803–3816. DOI: 10.1007/s00018-021-03773-2.
28. Ippolito L., Morandi A., Taddei M.L., Parri M., Comito G., Iscaro A. et al. Cancer-associated fibroblasts promote prostate cancer malignancy via metabolic rewiring and mitochondrial transfer. *Oncogene.* 2019;38:5339–5355. DOI: 10.1038/s41388-019-0805-7.

29. Davis C.-H.O., Kim K.-Y., Bushong E.A., Mills E.A., Boassa D., Shih T. et al. Transcellular degradation of axonal mitochondria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014;111:9633–9638. DOI: 10.1073/pnas.1404651111.
30. Ikeda H., Kawase K., Nishi T., Watanabe T., Takenaga K., Inozume T. et al. Immune evasion through mitochondrial transfer in the tumour microenvironment. *Nature*. 2025;638: 225–236. DOI: 10.1038/s41586-024-08439-0.

Вклад авторов

Кит О.И., Колесников Е.Н. – окончательное утверждение для публикации рукописи. Шихлярова А.И., Ильченко С.А. – обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания. Нескубина И.В., Черярина Н.Д., Кожушко М.А., Анисимов А.Е. – проверка критически важного интеллектуального содержания. Кириченко Е.Ю., Логвинов А.К., Легенько Н.Н. – анализ и интерпретация данных. Родькин С.В. – разработка концепции и дизайна.

Информация об авторах

Кит Олег Иванович – д-р мед. наук, профессор, акад. РАН, ген. директор НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, super.gormon@ya.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>

Шихлярова Алла Ивановна – д-р биол. наук, профессор, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, shikhliarova.a@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2943-7655>

Франциянц Елена Михайловна – д-р биол. наук, профессор, зам. ген. директора по науке, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, super.gormon@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>

Ильченко Сергей Александрович – канд. мед. наук, врач-онколог, отделение абдоминальной онкологии № 1, зам. генерального директора по образовательной деятельности, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, ilchenkosergei@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0796-3307>

Нескубина Ирина Валерьевна – д-р биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, neskubina.irina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7395-3086>

Кириченко Евгения Юрьевна – д-р биол. наук, и.о. зав. кафедры «Биоинженерия», ДГТУ, г. Ростов-на-Дону, kirichevgeniya@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0003-4703-1616>

Логвинов Александр Константинович – канд. биол. наук, науч. сотрудник, лаборатория молекулярной нейробиологии, ЮФУ, г. Ростов-на-Дону, a.k.logvinov@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8873-3625>

Родькин Станислав Владимирович – канд. биол. наук, доцент кафедры «Биоинженерия», зав. лабораторий «Медицинские цифровые изображения на основе базисной модели», ДГТУ, г. Ростов-на-Дону, rodkin_stas@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-4036-5410>

Черярина Наталья Дмитриевна – врач-лаборант, лаборатория изучения патогенеза злокачественных опухолей, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, scalolas.92@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0002-3711-8155>

Колесников Евгений Николаевич – д-р мед. наук, зав. отделением абдоминальной онкологии № 1, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, super.gormon@ya.ru, <http://orcid.org/0000-0002-8436-7250>

Кожушко Михаил Анатольевич – канд. мед. наук, врач-онколог, отделение абдоминальной онкологии № 1, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, Kozhushko.misha@yandex.ru, <http://orcid.org/0000-0001-6866-475X>

Анисимов Александр Евгеньевич – канд. мед. наук, врач-онколог, отделение абдоминальной онкологии № 1, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, anisimovaleksan1992@gmail.com, <http://orcid.org/0000-0003-1891-9528>

Легенько Николай Николаевич – врач-ординатор, отделение абдоминальной онкологии № 1, НМИЦ онкологии, г. Ростов-на-Дону, prostaff64@yandex.ru, <http://orcid.org/0009-0005-6923-802X>

(✉) Нескубина Ирина Валерьевна, neskubina.irina@mail.ru

Поступила в редакцию 27.05.2025;
одобрена после рецензирования 22.09.2025;
принята к публикации 30.10.2025