

УДК 591.434.5

МИТОХОНДРИИ ЭНДОКРИННЫХ КЛЕТОК ЭПИТЕЛИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ КИШКИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ МЕЛАТОНИНА (ЭЛЕКТРОННО-МОРФОМЕТРИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

© 2025 г. М. Л. Чуркова^{1,*}, С. В. Костюкевич², В. Ф. Иванова²

¹ Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова Министерства обороны Российской Федерации, кафедра гистологии с курсом эмбриологии, Санкт-Петербург, 195009, Россия

² Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, кафедра медицинской биологии, Санкт-Петербург, 195067, Россия

* E-mail: mlchurkova@mail.ru

Поступила 16.01.2025

После доработки 01.04.2025

Принята к публикации 07.04.2025

Исследована ультраструктура митохондрий эндокриноцитов эпителия слизистой оболочки двенадцатиперстной и ободочной кишки крыс при однократном и хроническом введении мелатонина. В цитоплазме 95–90 % эндокринных клеток при введении мелатонина выявлено уменьшение числа митохондрий, их набухание (85 % органелл), фрагментирование крист (у 70 % органелл), просветление матрикса (5 % органелл) и появление миелоноподобных структур (1–2 % органелл). Обнаруженные структурные изменения, возможно, свидетельствуют о повышении метаболической активности эндокриноцитов эпителия в ответ на экспериментальное воздействие.

Ключевые слова: митохондрии, двенадцатиперстная кишка, ободочная кишка, эпителий, эндокринные клетки, мелатонин, ультраструктура

Принятые сокращения: 12пк — двенадцатиперстная кишка; БК — бокаловидная клетка; В — вакуоль; ВК — всасывающая клетка; К — контрольная группа; М — митохондрия; МВ — микроворсинки; МК — малодифференцированная клетка; МС — миелоноподобные структуры; МТ1 — хроническое ежедневное введение 1 терапевтической дозы мелатонина; МТ100 — однократное введение 100 терапевтических доз мелатонина; Об — ободочная кишка; П — полисомы; СГ — секреторная гранула; тд — терапевтическая доза; Я — ядро; D₁Г — секреторная гранула D₁-клетки; DГ — секреторная гранула D-клетки; ЕС — энтерохромаффинные клетки (Enterochromaffin cells); ЕСГ — секреторная гранула ЕС-клетки.

DOI: 10.31857/S0041377125020033, EDN: FVIQMS

Эндокринные клетки эпителия слизистой оболочки кишки являются важным компонентом диффузной нейроиммуноэндокринной системы. Гормоны и амины, вырабатываемые эндокриноцитами, регулируют жизнеспособность организма в норме, а также участвуя в регуляции местного гомеостаза при воздействии факторов внешней среды (Иванова, 2013; Пальцев, Кветной, 2014; Курбонова и др., 2023). При этом в клетках наблюдаются морфологические перестройки (на субклеточном и клеточном уровнях), которые наиболее часто выявляются в ядре и в митохондриях (Söderholm et al., 2002; Костюкевич и др., 2004; Hsieh, 2006; Иванова и др., 2009).

Митохондрии — важнейшие органеллы, ответственные за энергетический баланс клетки. Они играют решающую роль в поддержании функ-

ционирования тканей, обеспечивая клеточное дыхание и синтез АТФ в клетке (электрон-транспортная цепь белковых комплексов крист на внутренней мембране митохондрий), образование железо-серных кластеров, цикл трикарбоновых кислот, играют важную роль в апоптозе и старении клеток (Серов, Пауков, 1975; Acuña-Castroviejo et al., 2001; Brandt et al., 2017; Живодерников и др., 2023; Чернявский и др., 2023; Арешидзе 2024). Например, по строению митохондрий при развитии воспалительных заболеваний кишки оценивают реакцию клеток кишечного эпителия (Hsieh et al., 2006; Novak, Mollen, 2015; Чернявский и др., 2023). При этом органеллы, непосредственно воздействуя на плотные клеточные контакты (Söderholm et al., 2002), участвуют в изменении барьерной функции эпителиоцитов (Rodenburg,

2008; Чернявский, 2023) при развитии окислительного стресса (Bourgonje et al., 2020). Митохондрии находятся в динамическом состоянии: делясь, сливаясь друг с другом, для обеспечения энергетических клеточных потребностей, и нивелируя «естественные» и патологические повреждения своей ДНК. При нарушении сбалансированности данной динамики органеллы могут набухать или фрагментироваться. Последние (фрагментированные) поврежденные митохондрии затем избирательно удаляются клеткой в процессе митофагии. Подобный «качественный» контроль функционирования митохондрий — необходимый элемент для обеспечения клеточного гомеостаза. Нарушение этих процессов наблюдается при развитии различных заболеваний или старении организма (Живодерников и др., 2023).

Количество и строение митохондрий зависит от типа клеток и их функционального состояния (Серов, Пауков, 1975). Так для клеток эпителия слизистой оболочки кишки было показано, что изменение ультраструктурного строения митохондрий всасывающих, бокаловидных и эндокринных клеток наблюдается при воспалении (Чернявский, 2023), развитии заболеваний, таких как, например, болезнь Крона и синдром раздраженного кишечника (Söderholm et al., 2002; Костюкевич и др., 2004), язвенный колит (Hsieh, 2006), при экспериментальных воздействиях на ткани (Иванова и др., 2009) и при введении некоторых лекарственных препаратов (Костюкевич и др., 2004; Чуркова, 2019). При этом в эндокринных клетках эти преобразования возникают одними из первых, что связано с активным участием клеток данного типа в механизмах регенерации эпителия (Иванова, 2013).

Показано, что такой гормон, как мелатонин, вырабатываемый ЕС-эндокринными клетками кишки, обладает уникальными адаптирующими возможностями: участвует в регуляции эндогенных биоритмов, определяя и поддерживая циркадные ритмы сна–бодрствования и регулируя моторику органов пищеварительной системы; влияет на углеводный обмен, способствуя уменьшению интенсивности метаболических процессов; снижает пролиферацию клеток слизистой оболочки кишки, и как следствие, способствует подавлению онкогенеза. При этом мелатонин является одним из мощнейших антиоксидантов, действующим на процессы с участием свободных радикалов в любой клетке, во всех клеточных структурах,

включая ядро. Пик синтеза гормона в эндокриноцитах приходится на ночные часы (Пальцев, Кветной, 2014).

Интересно, что в экспериментах по изучению размеров митохондрий гепатоцитов крыс в условиях темновой депривации отмечалось снижение данного показателя в ночное время (Арешидзе, 2023), то есть во время секреторной активности ЕС-клеток и выработки ими эндогенного мелатонина (Пальцев, Кветной, 2014). При введении экзогенного мелатонина в митохондриях гепатоцитов описано снижение эффектов «окислительного повреждения» свободными радикалами кислорода, приводящего к нарушению выработки АТФ, и, как следствие, к уменьшению вероятности митохондриально зависимой апоптотической гибели клеток (Acuña-Castroviejo et al., 2001). В связи с этим представляет интерес эффект воздействия экзогенного мелатонина на сами эндокринные клетки, ЕС-клетки, продуцирующие мелатонин в норме.

Ранее нами были описаны изменения в строении эндокринных клеток эпителия слизистой оболочки кишки при подобном введении экзогенного мелатонина (Чуркова, 2019), включающие как адаптивные преобразования, так и деструктивные изменения в строении эндокриноцитов, в частности митохондрий. Однако данных по этому вопросу недостаточно, и отсутствует морфометрическая оценка ультраструктурных изменений в строении митохондрий эндокринных клеток эпителия слизистой оболочки кишки при введении мелатонина в разных дозах.

Цель нашего исследования — проанализировать структурные изменения в митохондриях эндокриноцитов эпителия слизистой оболочки двенадцатиперстной и ободочной кишки крыс при введении мелатонина.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследование было проведено на 20 половозрелых самцах крыс линии Wistar. Протоколы экспериментов соответствуют биоэтическим принципам, Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных, Хельсинкской декларации 1975 и 2000 гг.; утверждены локальным этическим комитетом СЗГМУ им И. И. Мечникова (протокол № 12 от 10.12.2014).

10 особей составили две экспериментальные группы, по 5 животных в каждой. Крысам с помощью внутривенного зонда вводили раствор

мелатонина (МТ, препарат «Мелаксен»). Дозы введения раствора животным рассчитывали, исходя из клинических рекомендаций (Hack et al., 2003; Справочник Видаль, 2019). Однократная доза (терапевтическая доза, тд) составляла 0.5 мг/кг веса крысы; соответственно, животным со средним весом 500 мг вводили 0.83 мл раствора мелатонина [препарат «Мелаксен», MELAXEN, UNIPHARM Inc. (США)].

Для приготовления раствора 1 таблетку мелатонина (3 мг) растворяли в 10 мл физиологического раствора. Первой группе крыс вводили однократно сто доз мелатонина (моделирование отравления препаратом при суицидальных попытках); второй группе — одну дозу в сутки, в течение месяца (моделирование лечения острой инсомнии). Контрольным крысам (10 крыс) внутривенно вводили равный по объему изотонический раствор NaCl.

После окончания экспериментального воздействия (2-е и 32-е сут соответственно) был взят материал кишки (двенадцатиперстной, ободочной), согласно европейской директиве 2010/63: у предварительно усыпленных ингаляционно 0.5%-ным раствором фторотана («Алтайхимпром», Россия), а затем — декапитированных крыс. Образцы фиксировали 2.5%-ным глутаральдегидом на фосфатном буфере (pH 7.4) (Sigma-Aldrich, Швейцария) в течение 2 ч при 4 °С, промывали в фосфатном буфере (0.01 М, 3 раза по 30 мин), дофиксировали в 2%-ном растворе четырехоксида осмия (на ацетатном буфере, HiMedia Laboratories, Индия; по протоколу Колфильда, pH фиксатора 7, 4, 1 ч, комнатная температура) и заливали в аралдит М, который готовили из следующих реактивов: Araldit Beschleuniger 964, Araldit Hardener (HY964), Araldit M (Fluka, Швейцария).

Полимеризацию смолы проводили в течение 1 сут при температуре 37 °С и затем в течение 3 сут при температуре 56 °С). На ультрамикротоме LKB III (BROMMA, Швеция) изготавливали ультратонкие серийные срезы, которые затем контрастировали по Рейнольдсу уранилацетатом («ГРАНХИМ», Россия) и цитратом свинца, изготовленным из азотнокислого свинца (II) («ЛенРеактив», Россия) и изучали с помощью электронного микроскопа JEM-100 S (JEOL, Япония) при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Морфометрическую оценку средней площади (мкм²) проводили, как описано Козловой с соавторами (2024) и средней площади внутренней мембраны на единицу объема митохондрий

(мкм²/мкм³), как описано Эльдаровым с соавторами (2015).

Оценку морфометрических показателей митохондрий осуществляли для 20 органелл эндокринных клеток для каждого изучаемого отдела кишки каждого экспериментального животного. Тип эндокринных клеток, согласно международной классификации (Solcia et al., 1981), определяли по размеру, форме и строению секреторных гранул. Диаметр секреторных гранул оценивали, как было описано ранее (Mandarim-de-Lacerda, 2003), с помощью программ PhotoM (Россия), SlideViewer (Венгрия). В дальнейшем в зависимости от разрешения микроскопа рассчитывали истинный размер гранулы по общепринятой формуле: $D_{и} = D_{ф} \times 10^6 / M$, где $D_{и}$ — истинный размер эндокринной гранулы (нм); $D_{ф}$ — диаметр гранулы на фотографиях (мм); M — увеличение электронной микроскопической фотографии. Для каждого образца оценивали по 20 эндокриноцитов на 20 непересекающихся электронных микрофотографиях, полученных при увеличении 20 000×, 28 000×; всего было проанализировано 600 электронных микрофотографий.

На электронных микрофотографиях, полученных при увеличении 20 000×, в эндокриноцитах опытных крыс оценивали относительный объем (долю) в объеме цитоплазмы секреторных гранул, полисом, митохондрий, используя произвольное наложение на каждую электронную микрофотографию двойной квадратной сетки (Tasca, 1980) с периодами 1 и 5 с, по формуле $V_s / V_c = P_c / 2sP_s$, (где V_s — относительный объем изучаемой структуры, V_c — объем цитоплазмы, P_c — число пересечений сетки цитоплазмой, P_s — число пересечений сетки структурами) и последующего выражения полученных результатов в процентном отношении. Полученные результаты соотносили с долей данных структур в эндокринных клетках контрольных животных.

Кроме этого для визуальной оценки и последующих морфометрических измерений степени изменений количества органелл и морфологических перестроек ультраструктуры эндокриноцитов при введении разных доз мелатонина использовали специально разработанную полуколичественную шкалу оценивания: «—» — отсутствие изменений, или они наблюдаются у менее 50 % изученных эндокриноцитов; «+» — наличие данных изменений в 50—60 % клеток животных; «++» — выраженные изменения у 70—80 % клеток; «+++» —

превалирование изменений у 80—99 % изученных эндокриноцитов.

Статистическую обработку полученных морфометрических данных проводили в программе Statistica 10 (StatSoft Inc., Tulsa, OK, США) с использованием критерия Краскела—Уоллиса и критерия Манна—Уитни. Различия считали достоверными при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эпителий слизистой оболочки двенадцатиперстной и ободочной кишки при введении разных доз мелатонина имел типичное строение. Среди всасывающих эпителиоцитов и бокаловидных клеток довольно редко располагались эндокринные клетки. Строение (форма, структура, диаметр) секреторных гранул в цитоплазме эндокриноцитов свидетельствовало о наличии в эпителиальном пласте нескольких типов эндокринных клеток.

Изучение строения и диаметра гранул и степени их электронной плотности позволило идентифицировать эндокриноциты по международной классификации (Solcia et al., 1981). У экспериментальных и контрольных крыс в эпителии слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки были обнаружены все типы эндокринных клеток (ЕС-, D-, D₁-, G-, S-, ECL-, N-, L-, K-, P-клетки); в эпителии ободочной кишки — ЕС-, L-, D- и D₁-клетки. Среди эндокриноцитов эпителиа слизистой оболочки как толстой, так и тонкой кишки, согласно международной классификации, были идентифицированы ЕС-клетки (диаметр электронно-плотных секреторных гранул неправильной формы 130 ± 5 нм), L-клетки (диаметр 168 ± 7 нм, электронноплотные, округлые гранулы), D-клетки (диаметр 202 ± 10 нм, округлые, умеренной электронной плотности гранулы) и D₁-клетки (диаметр 109 ± 11 нм, мелкие гранулы овальной формы). Среди эндокриноцитов эпителиа двенадцатиперстной кишки были также обнаружены единичные G-, S-, ECL-, N-, K-, P-клетки, в строении митохондрий которых не было обнаружено реактивных изменений. В эпителии двенадцатиперстной и ободочной кишки наиболее часто встречающимися эндокриноцитами были ЕС-клетки, которые составили суммарно до 90 % всех изученных клеток контрольных и экспериментальных животных, что соответствует описанным ранее показателям (Solcia et al., 1981; Бархина и др., 1992; Костюкевич и др. 2004).

У контрольных животных большая часть цитоплазмы эндокринных клеток эпителиа слизистой оболочки двенадцатиперстной и ободочной кишки была занята секреторными гранулами (до 80 % объема цитоплазмы), а органеллы были немногочисленны, располагались между гранулами или были смещены к ядру (рис. 1а). Ядра клеток имели овальную форму, с четко оформленным ядрышком и гетерохроматином. Округлые митохондрии с развитыми кристами были немногочисленны (5.6 ± 0.2 шт/кл) (рис. 1б). Гранулярная эндоплазматическая сеть была развита в большей степени, чем гладкая эндоплазматическая сеть. Кроме того, в клетках обнаруживали рибосомы (5 % объема цитоплазмы), вакуоли, лизосомы, комплекс Гольджи. Подобное строение эндокриноцитов интактных крыс согласуется с общепринятыми данными, характерными для эндокринных клеток в условиях нормы (Solcia et al., 1981; Иванова, 2013; Пальцев, Кветной, 2014).

При введении мелатонина в эпителии слизистой оболочки двенадцатиперстной и ободочной кишки крыс были обнаружены эндокриноциты всех ранее описанных типов. В обоих изучаемых отделах кишки преобладали ЕС-клетки (96 % от общего числа эндокриноцитов). При морфометрической оценке электронных микрофотографий с использованием полуколичественной шкалы было выявлено, что среди обследуемых эндокринных клеток эпителиа как двенадцатиперстной, так и ободочной кишки выявляется незначительное количество (5—10 % от общего числа эндокриноцитов) клеток без морфологических ультраструктурных перестроек и эндокриноциты с ультраструктурными изменениями разной степени выраженности (90—95 %, рис. 2а, б; 3а, б).

Для последних было характерно уменьшение числа и неравномерное расположение секреторных гранул (10—35 % объема цитоплазмы клеток), увеличение числа полисом (на 30—40 %), наличие немногочисленных, не связанных друг с другом коротких канальцев гранулярной эндоплазматической сети.

Наиболее выраженные изменения наблюдали в строении митохондрий: они были преимущественно (более 90 % органелл) округлой формы, увеличены в диаметре за счет «набухания» (85 % органелл), при этом сама их форма (площадь сечения) была изменена (рис. 4), а кристы фрагментированы (70 % органелл). В некоторых митохондриях (5 % органелл) их фрагменты из-за низкой электронной

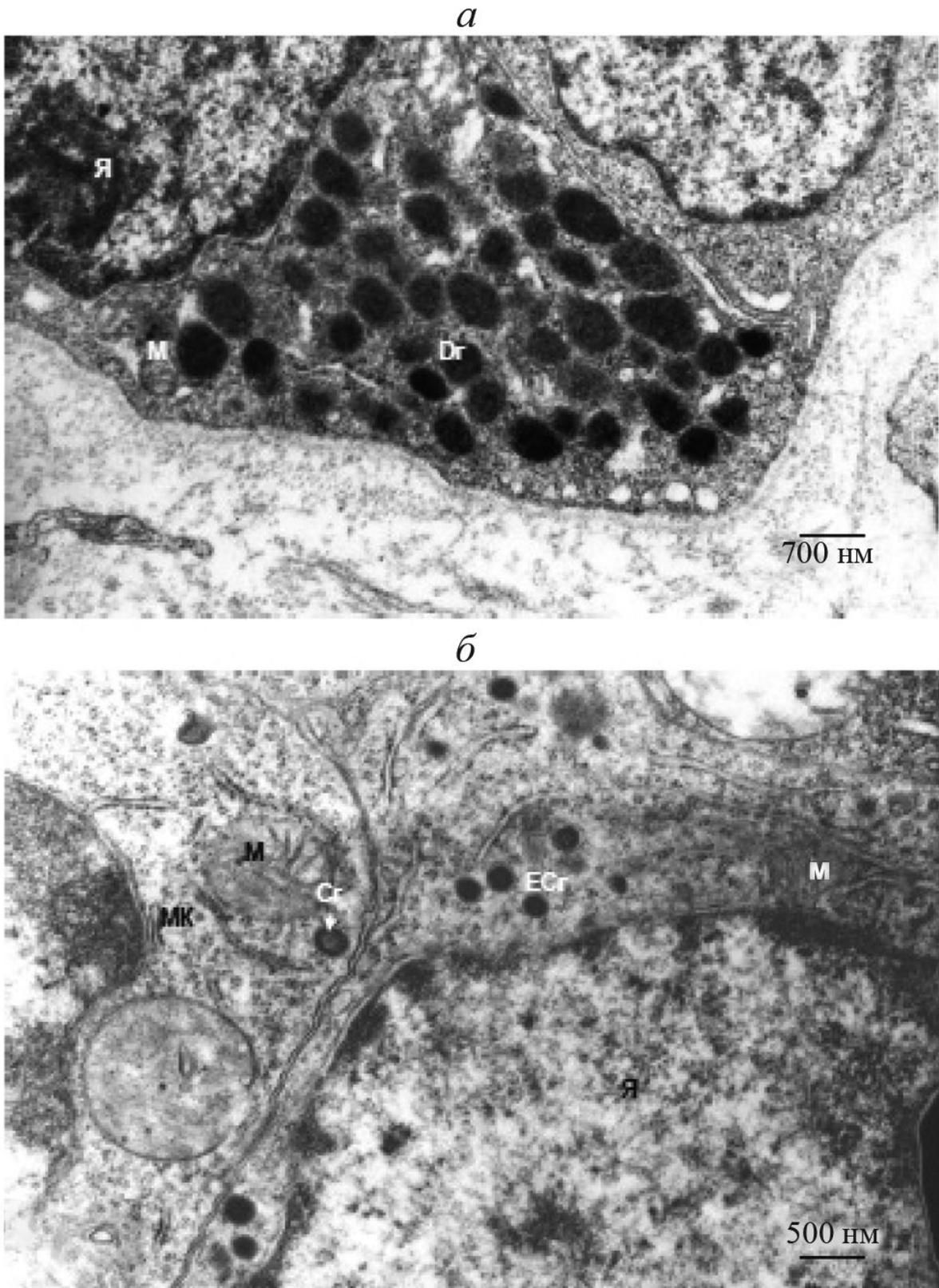


Рис. 1. Эпителий слизистой оболочки двенадцатиперстной (*a*) и ободочной (*б*) кишки крыс контрольной группы. Показаны: D- (*a*) и ЕС-клетки (*б*). М — митохондрия; МК — малодифференцированная клетка; СГ — секреторная гранула; Я — ядро; Dг — секреторная гранула D-клетки; ЕСг — секреторная гранула ЕС-клетки.

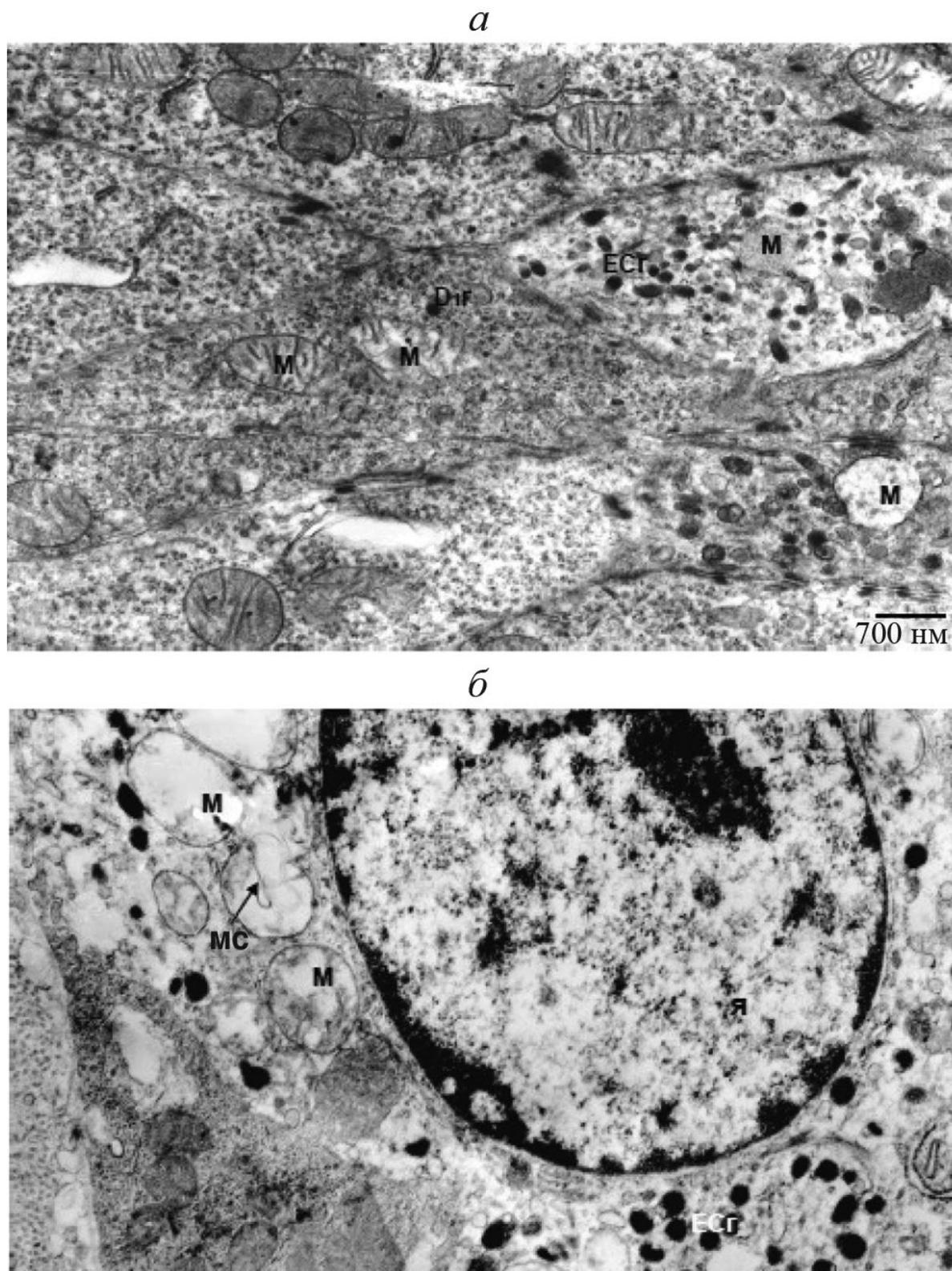


Рис. 2. Эпителий слизистой оболочки ободочной (*a*) двенадцатиперстной (*б*) кишки крыс после ежедневного хронического введения одной терапевтической дозы мелатонина. Показаны: D₁- (*a*) и ЕС-клетки (*a*, *б*). М — митохондрия; МС — миелиноподобные структуры; Я — ядро; D₁Г — секреторная гранула D₁-клетки; ЕСГ — секреторная гранула ЕС-клетки.

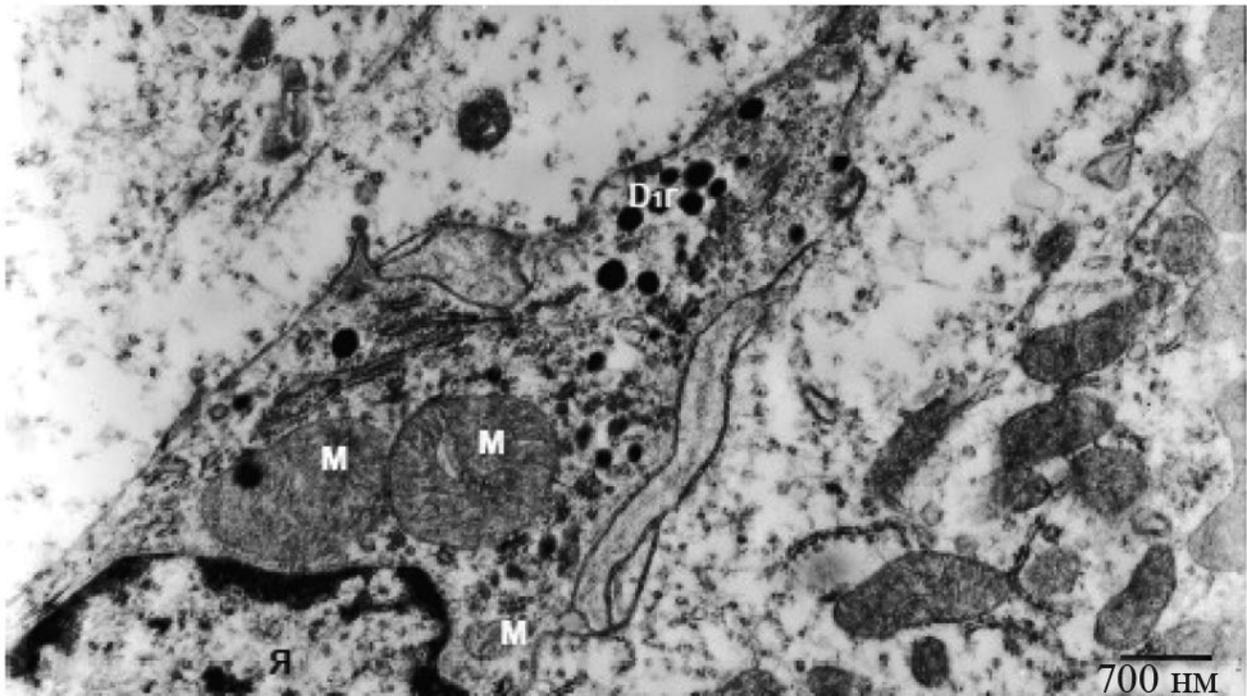
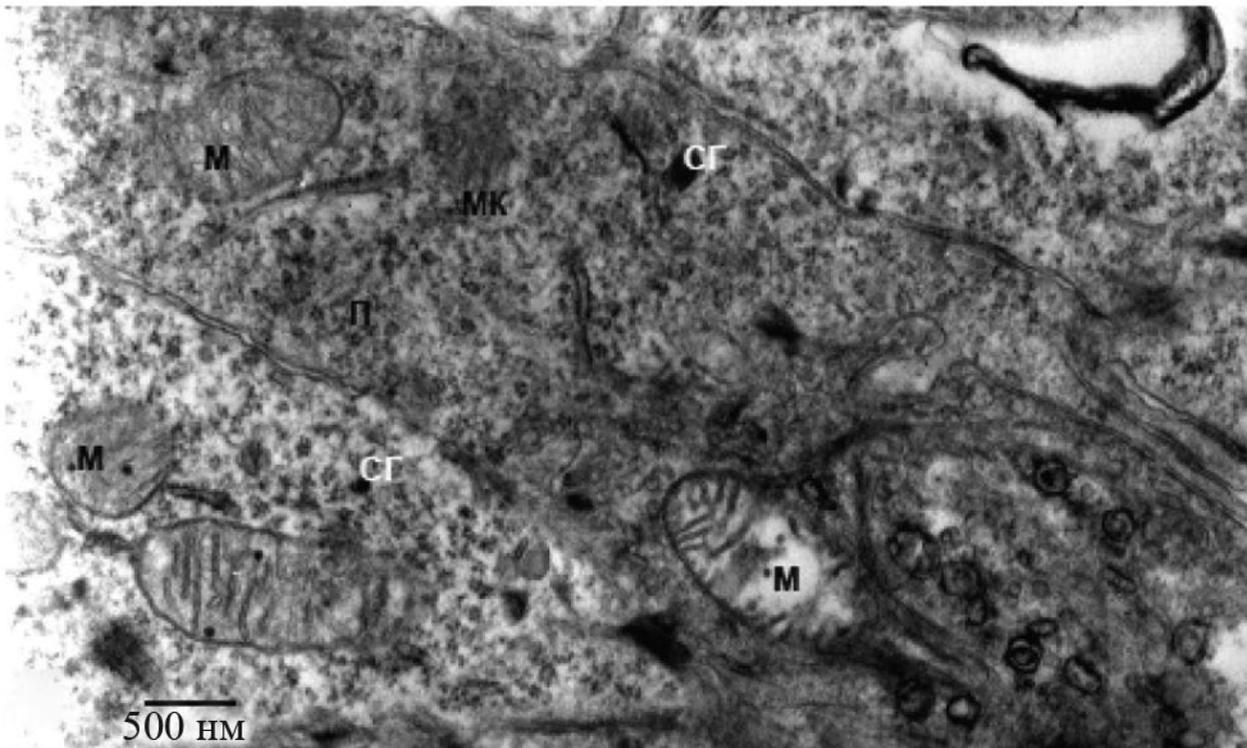
a*б*

Рис. 3. Эпителий слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки крыс после острого введения 100 тд мелатонина. Показаны D₁-клетка (а) и малодифференцированная эндокринная клетка (б). М — митохондрия; МК — малодифференцированная клетка; П — полисомы; Сг — секреторная гранула; Я — ядро; D1г — секреторная гранула D1-клетки.

плотности были слабо различимы и выявлялись в виде теней (рис. 2а). Помимо этого, в отдельных органеллах из-за низкой электронной плотности наружные мембраны не выявлялись (5 % органелл). Изредка (1—2 % органелл) в матриксе митохондрий обнаруживали миелоноподобные концентрические структуры (рис. 2б).

Так как введение мелатонина осуществляли внутрижелудочно с помощью зонда, первоначально мы предполагали обнаружить наиболее выраженные изменения в строении митохондрий эндокринных клеток двенадцатиперстной кишки по сравнению с органеллами эндокриноцитов эпителия ободочной кишки. Однако митохондрии в эндокриноцитах обоих отделов кишки демонстрировали сходные особенности размера и формы — доля видоизмененных органелл в двенадцатиперстной кишке составляла 95 %, в ободочной — 92 %. Мелатонин, как экзогенное вещество, возможно, привел, с одной стороны, к дестабилизации баланса динамики митохондрий и появлению органелл с ремоделированными и дезорганизованными кристами; с другой стороны, вследствие модификации процессов деления и слияния митохондрий, — к появлению органелл с измененной формой, эффектами набухания, что сопоставимо с преобразованиями, отмеченными для митохондрий кардиомиоцитов в условиях кардиомиопатии (Живодерников и др., 2023).

Логично предположить, что при длительном воздействии мелатонина — ежедневном введении в течение месяца 1 тд раствора, для поддержания клеточного гомеостаза потребуется перестройка «энергетического аппарата клетки», приводящая к изменению динамики митохондрий, морфологически выражающаяся в появлении «набухших» органелл с дезорганизованными кристами, видоизменной формой, а также к запуску процессов митофагии и удалению дефектных митохондрий, приводящих к уменьшению числа органелл в цитоплазме клеток в целом. Подобные морфологические преобразования были также обнаружены при однократном введении 100 тд изучаемого вещества, но в меньшем количестве.

Сравнительная полуколичественная оценка частоты встречаемости в цитоплазме эндокринных клеток подобных морфологических структур для обеих серий опыта представлена в табл. 1. В обеих сериях опыта материал кишки был забран на следующие сутки после экспериментального воздействия. В связи с этим, по-видимому, у крыс при

однократном введении 100 тд изучаемого раствора эндокринные клетки еще не успели в полной мере включиться в процессы регуляции клеточного гомеостаза, а выявленные преобразования (изменение формы органелл, изменение площади сечения, площади внутренней мембраны, фрагментация, неправильная ориентация крист) свидетельствуют об изменении динамики митохондрий.

Таблица 1. Изменения ультраструктуры митохондрий эндокриноцитов при введении разных доз мелатонина

Сущность изменения	Введение мелатонина в течение 1 мес (1 тд)	Введение мелатонина однократно (100 тд)
Уменьшение числа митохондрий	+++	+
Набухание митохондрий		
Фрагментирование и уменьшение количества крист митохондрий	++	
Просветление матрикса митохондрий	+++	

Примечание: «+» — наличие данных изменений в 50—60 % клеток; «++» — выраженные изменения в 70—80 % клеток; «+++» — превалирование изменений в 80—100 % изученных эндокриноцитах.

Количественная оценка средней площади сечения митохондрий и соотношения средней площади внутренней мембраны митохондрий на единицу объема митохондрии эндокринных клеток (ЕС-, D-, D₁-, L-клеток) при хроническом ежедневном введении в течение месяца 1 тд мелатонина и остром введении 100 тд представлена на соответствующих гистограммах (рис. 4), и свидетельствует о выраженных изменениях (в строении формы, площади сечения) митохондрий эндокриноцитов эпителия слизистой оболочки обоих изучаемых отделов кишки опытных крыс, по сравнению с контрольной группой ($P < 0.05$). Изменение площади внутренней мембраны органелл (уменьшение) при этом достоверно было отмечено в обеих сериях эксперимента в митохондриях эндокриноцитов эпителия слизистой оболочки ободочной кишки, тогда как для эндокринных клеток двенадцатиперстной кишки подобные преобразования не были выражены.

Возможно, последняя закономерность связана с антиокислительной функцией мелатонина и «близостью» двенадцатиперстной кишки к месту

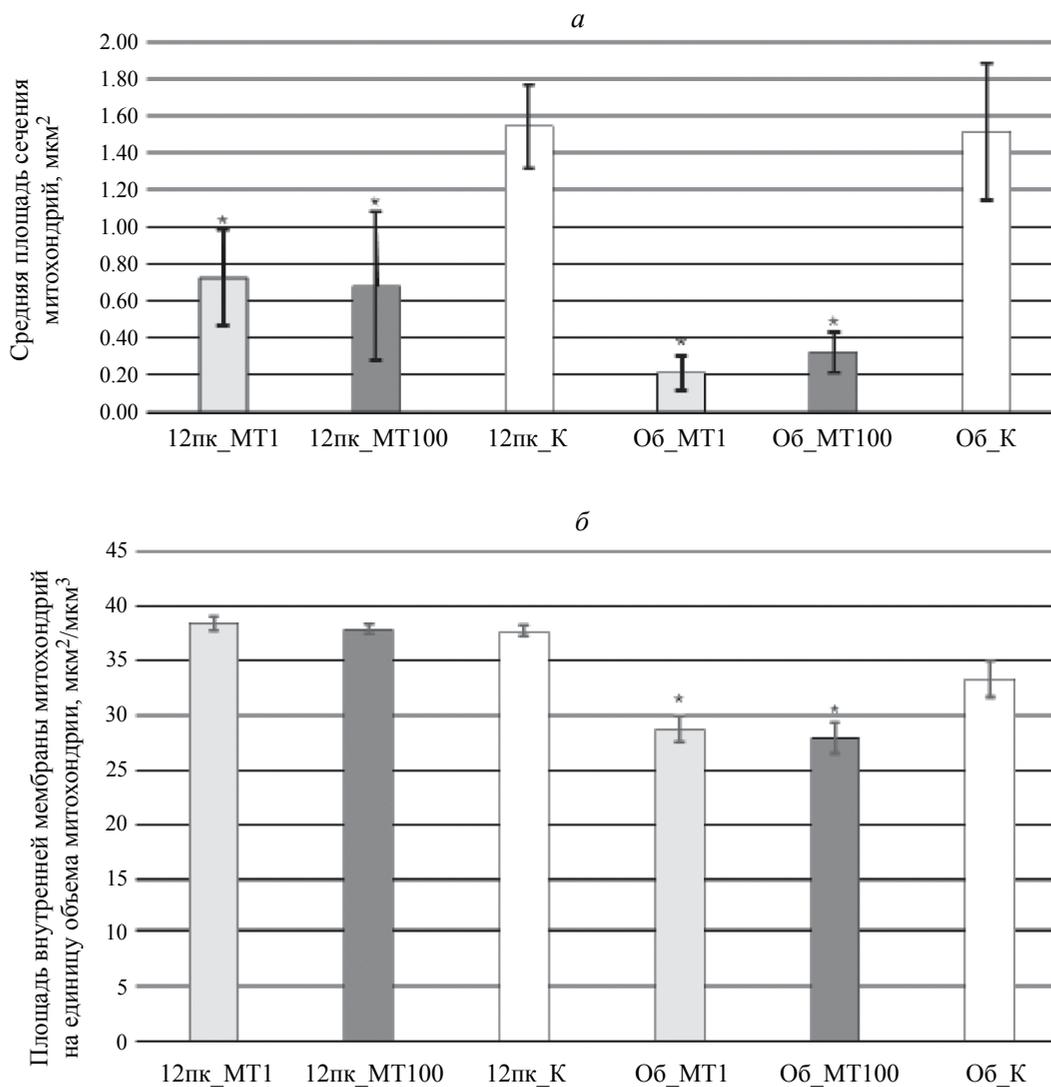


Рис. 4. Средняя площадь сечения митохондрий (а) и внутренней мембраны митохондрий на единицу объема митохондрии (б). (*) — Достоверные отличия от показателей контрольной группы ($P < 0.05$); вертикальные отрезки — значения стандартной ошибки. 12пк_МТ1 — двенадцатиперстная кишка, хроническое ежедневное введение одной терапевтической дозы мелатонина (бледно-серый цвет столбика); 12пк_МТ100 — двенадцатиперстная кишка, однократное введение 100 тд мелатонина (темно-серый цвет столбика); 12пк_К — двенадцатиперстная кишка, контрольная группа (белый цвет столбика); Об_МТ1 — ободочная кишка, хроническое ежедневное введение 1 тд мелатонина (бледно-серый цвет столбика); Об_МТ100 — ободочная кишка, однократное введение 100 тд мелатонина (темно-серый цвет столбика); Об_К — ободочная кишка, контрольная группа (белый цвет столбика).

введения препарата (внутрижелудочное введение). Можно предположить, что система белковых комплексов крист митохондрий эндокриноцитов двенадцатиперстной кишки (электрон-транспортная цепь), как маркер митохондриальной функциональной активности, успешно компенсировала у большинства органелл энергетический дефицит, возникший на фоне развития процессов регенерации клеток эпителия (Живодерников и др., 2023; Козлова и др., 2024).

На фоне выраженных изменений в строении эндокриноцитов эпителия слизистой оболочки изучаемых отделов тонкой и толстой кишки были отмечены морфологические преобразования во всасывающих клетках. Они характеризовались изменением микроворсинок всасывающей апикальной поверхности: их укорочением и более редким расположением (рис. 5а). Для ядер отдельных всасывающих энтероцитов было характерно образование впячиваний ядерной оболочки,

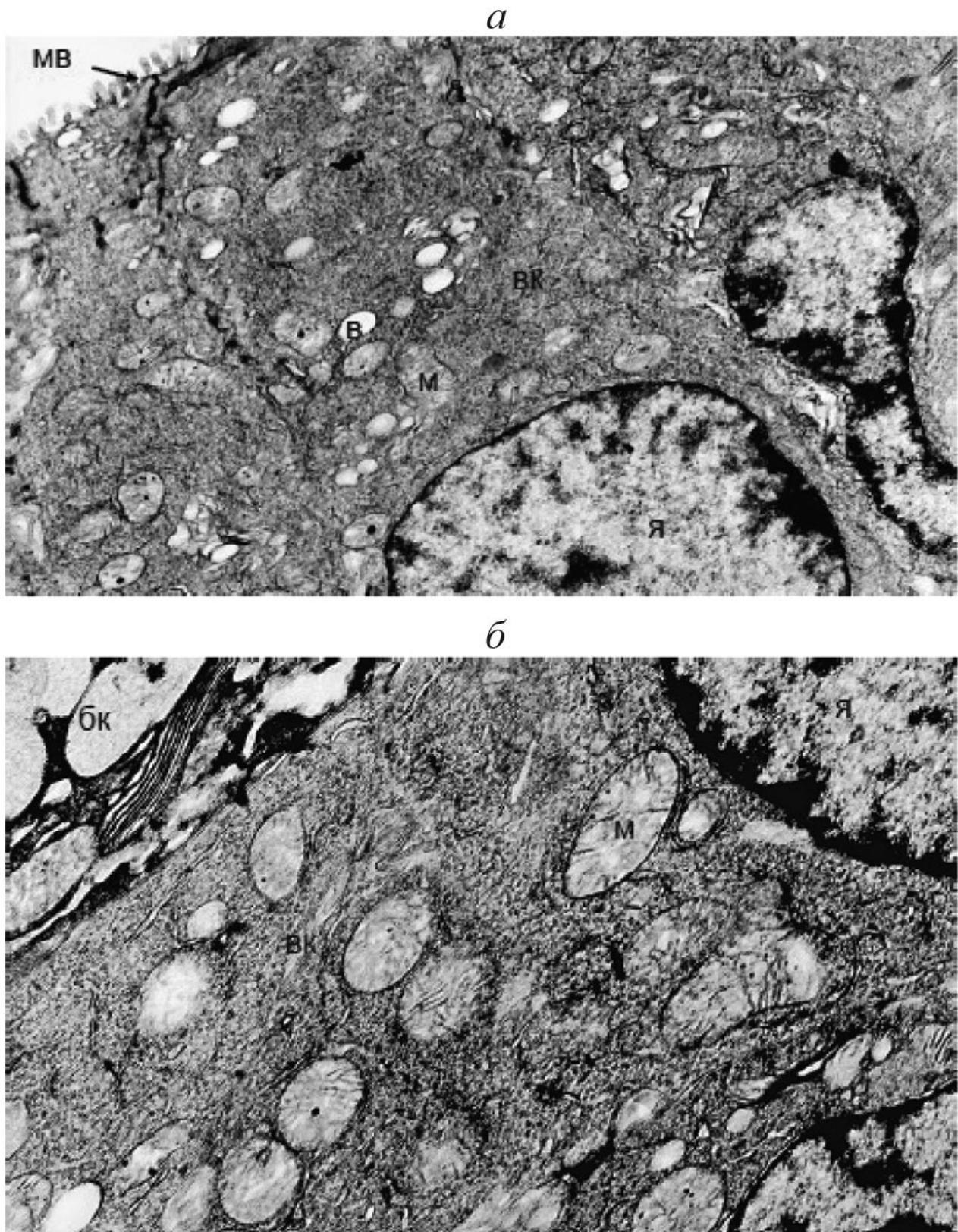


Рис. 5. Эпителий слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки крыс после ежедневного хронического введения одной терапевтической дозы мелатонина. Показаны: апикальная часть всасывающих клеток (*a*); бокаловидная и всасывающая клетки (*б*). БК — бокаловидная клетка; В — вакуоль; ВК — всасывающая клетка; М — митохондрия; MB — микроворсинки; Я — ядро.

приводящее к изменению ядерно-цитоплазматического соотношения.

В цитоплазме клеток встречались митохондрии с одиночными кристами, тогда как остальные были видны в виде теней (рис. 5б), обнаруживались многочисленные полисомы, а также узкие каналы гранулярной эндоплазматической сети. Бокаловидные клетки эпителия изучаемых отделов кишки были без изменений. На фоне приема мелатонина в эпителии слизистой оболочки изучаемых отделов кишки были также обнаружены тучные клетки на разных этапах дифференцировки.

Кроме того, в эпителии слизистой оболочки двенадцатиперстной и ободочной кишки опытных крыс наблюдалось увеличение числа малодифференцированных эндокринных клеток (рис. 3б), в цитоплазме которых выявлялись единичные гранулы, строение которых на этой стадии дифференцировки еще не позволяет провести их идентификацию. Ядро этих клеток занимало большую часть цитоплазмы, ядерная оболочка имела небольшие впячивания, отчетливо определялся гетерохроматин, лежащий узкой полоской вблизи ядерной оболочки, а также распределенный равномерно по всей кариоплазме. Большую часть органелл цитоплазмы таких клеток составляли многочисленные полисомы, единичные округлые небольшого размера митохондрии и суженные цистерны гранулярной эндоплазматической сети.

Изменение строения мембран митохондрий (особенно внутренней), просветление матрикса органелл, появление миелоноподобных концентрических структур, наряду с изменением числа изучаемых органелл, свидетельствует о повышении метаболической активности эндокринных клеток (Серов, Пауков; 1975; Костюкевич и др., 2004; Иванова и др., 2009; Бакеева, 2015; Эльдаров и др., 2015; Чернявский и др., 2023; Козлова и др., 2024), а появление пула малодифференцированных клеток свидетельствует о развитии компенсаторных процессов и регенерации в эпителии, активации камбиальных элементов ткани (Иванова, 2013). Подобные ультраструктурные изменения (изменение количества митохондрий, явления вакуолизации и набухания) были описаны в митохондриях эндокриноцитов эпителия кишки при различных видах ее патологии (Söderholm et al., 2002; Костюкевич и др., 2004; Иванова и др., 2009). Деструкция элементов внутренней мембраны — крист — нередко приводила к фрагментации органелл (Иванова и др., 2009).

Показано, что при воздействии факторов различного генеза митохондрии одними из первых включаются в адаптивный ответ тканей (Костюкевич и др., 2004; Hsieh et al., 2006; Эльдаров и др., 2015; Арешидзе, 2023; Живоредников и др., 2023). Нарушение ультраструктуры митохондрий наблюдается по срокам раньше проявления клинических симптомов патологического состояния организма (Эльдаров и др., 2015). По-видимому, в наших опытах выявленные структурные преобразования митохондрий эндокринных клеток при хроническом введении мелатонина, возможно, развиваются вследствие недостаточной коррекции динамики митохондрий. Описанная «напряженность» процессов клеточной регенерации может быть следствием длительного «истощения» эпителия вследствие усиления секретобразования, что в итоге, возможно, повышает риск развития окислительного стресса (Серов, Пауков, 1975; Bourgonje, 2020; Живоредников и др., 2023). При однократном воздействии 100 тд материал кишки был фиксирован на следующие сутки после введения препарата, когда, по-видимому, эндокринные клетки еще не успели «перестроить» свою активность и морфологические изменения были менее выражены.

Таким образом, при введении мелатонина в митохондриях эндокринных клеток эпителия слизистой оболочки кишки наблюдаются структурные изменения. Тип и характер их выраженности зависит от продолжительности воздействия вводимого препарата. Обнаруженные структурные изменения, по-видимому, свидетельствуют о напряжении метаболической активности эндокриноцитов эпителия кишки в ответ на экспериментальное воздействие, для обеспечения которой необходима регенераторная коррекция динамики митохондрий.

БЛАГОДАРНОСТИ

Коллектив авторов выражает искреннюю благодарность Татьяне Игоревне Кирюханцевой (ныне покойной) — инженеру Центральной научно-исследовательской лаборатории Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова за помощь при проведении ультраструктурного исследования с использованием электронного микроскопа JEM-100 S (JEOL, Япония).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке правительства Санкт-Петербурга (грант для студентов, аспирантов, молодых ученых, молодых кандидатов наук 2016 г.; серия ПСП № 16553).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все эксперименты были проведены в соответствии с общепринятыми этическими международными нормами использования лабораторных животных. Протоколы экспериментов утверждены локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО СЗГМУ им И. И. Мечникова Минздрава России (протокол № 3 от 14.03.2018).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ИНФОРМАЦИЯ О ВКЛАДЕ АВТОРОВ

Чуркова М. Л. — проведение исследования, анализ полученных данных, подготовка рукописи статьи; Костюкевич С. В. — консультирование по полученным данным, редакция рукописи статьи; Иванова В. Ф. — консультирование при проведении исследования и анализе полученных данных, редакция рукописи статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Арешидзе Д. А.* 2023. Особенности циркадного ритма размеров митохондрий гепатоцитов крыс в условиях темновой депривации и хронической алкогольной интоксикации. 2023. Морфология. Т. 161. № 4. С. 5. (*Areshidze D. A.* Features of the circadian rhythm in the size of the mitochondria of rat hepatocytes under conditions of dark deprivation and chronic alcohol intoxication. 2023. Morfologiya. V. 161. No. 4. P. 5).
<https://doi.org/10.17816/morph.630117>
- Арешидзе Д. А.* 2024. Влияние постоянного освещения и хронической алкогольной интоксикации на структуру митохондрий гепатоцитов крыс Вистар. 2024. Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б. В. Петровского. Т. 12. № 2. С. 64. (*Areshidze D. A.* 2024. The influence of constant lighting and chronic alcohol intoxication on the structure of mitochondria in hepatocytes of Wistar rats. 2024. Clinical and experimental surgery. Journal named after academician B. V. Petrovsky. V. 12. No. 2. P. 64).
<https://doi.org/10.33029/2308-1198-2024-12-2-64-70>
- Бакеева Л. Е.* 2015. Возраст-зависимые изменения ультраструктуры митохондрий. Действие SkQ1. Биохимия. Т. 80. № 12. С. 1843. (*Bakeeva L. E.* 2015. Age-dependent changes in the ultrastructure of mitochondria. Action SkQ1. Biochemistry. V. 80. No. 12. P. 1843).
- Бархина Т. Г., Али-Риза А. Е., Пархоменко Ю. Г.* 1992. Ультраструктурные особенности эндокринных клеток нормальной слепой кишки мыши и при экспериментальном эшерихиозе. Бюлл. эксп. биол. и мед. Т. 114. № 10. С. 429. (*Barkhina T. G., Ali-Riza A. E., Parkhomenko Yu. G.* 1992. The ultrastructural characteristics of the endocrine cells of the normal murine cecum and in experimental escherichiosis. Bull. Eksp. Biol. Med. V. 114. No. 10. P. 429).
- Иванова В. Ф., Пузырев А. А., Костюкевич С. В., Драй Р. В.* 2009. Структурные изменения в стенке кишки крыс при голодании. Морфология. Т. 136. № 6. С. 62. (*Ivanova V. F., Puzyriov A. A., Kostiukevitch S. V., Drai R. V.* 2009. Structural changes in rat intestinal wall during starvation. Morfologiya. V. 136. No. 6. P. 62).
- Иванова В. Ф.* 2013. Регенерация эндокринной гастроэнтеропанкреатической системы при экспериментальной и клинической патологии: становление концепции и современные проблемы. Морфология. Т. 144. № 6. С. 73. (*Ivanova V. F.* 2013. Regeneration of endocrine gastroenteropancreatic system in experimental and clinical pathology: concept development and current problems. Morfologiya. V. 144. No. 6. P. 73).
- Живодерников И. В., Кириченко Т. В., Козлова М. А., Маркин А. М., Маркина Ю. В.* 2023. Митохондриальная дисфункция в патоморфогенезе гипертрофической кардиомиопатии. Морфология. Т. 161. № 4. С. 95. (*Zhivodernikov I. V., Kirichenko T. V., Kozlova M. A., Markin A. M., Markina Yu. V.* 2023. Mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of hypertrophic cardiomyopathy. Morfologiya. V. 161. No. 4. P. 95).
<https://doi.org/10.17816/morph.631335>
- Козлова М. А., Арешидзе Д. А., Черников В. П., Мотрева А. П., Евсеев Е. П., Заклязьминская Е. В., Дземешкевич С. Л.* 2024. Ультраструктурные характеристики митохондрий миокарда при гипертрофической кардиомиопатии диффузно-генерализованного фенотипа. Клиническая и экспериментальная хирургия. Журнал имени академика Б. В. Петровского. Т. 12. № 1. С. 7. (*Kozlova M. A., Areshidze D. A., Chernikov V. P., Motreva A. P., Evseev E. P., Zaklyazminskaya E. V., Dzemeshevich S. L.*

2024. Ultrastructural characteristics of myocardial mitochondria in hypertrophic cardiomyopathy of a diffusely generalized phenotype. Clinical and experimental surgery. The journal named after Academician B. V. Petrovsky. V. 12. No. 1. P. 7).
- Костюкевич С. В., Аничков Н. М., Иванова В. Ф., Орешко Л. С., Кудряшова Г. П., Медведева О. И., Смирнова О. А. 2004. Эндокринные клетки эпителия прямой кишки в норме, при неспецифическом язвенном колите и синдроме раздраженной кишки без лечения и при лечении преднизолоном и салофальком. Архив патологии. Т. 4. С. 23. (Kostyukevich S. V., Anichkov N. M., Ivanova V. F., Oreshko L. S., Kudryashova G. P., Medvedeva O. I., Smirnova O. A. 2004. Endocrine cells of rectal epithelium in health, in nonspecific ulcerative colitis and irritable colon syndrome in the treatment with prednisolone and salofalk and in the absence of treatment. Archive of Pathology. V. 4. P. 23).
- Курбонова Л. М., Орипов Ф. С., Асадова Ф. Ж., Индейкин Ф. А., Андреева А. Н., Деев Р. В. 2023. Эндокринные клетки эпителия толстой кишки как часть диффузной эндокринной системы. Доктор ахборотномаси. № 3 (111). С. 144. (Qurbonova L. M., Oripov F. S., Asadova F. D., Indeykin F. A., Andreeva A. N., Deev R. V. 2023. Endocrine cells of the colon epithelium as a part of the diffuse endocrine system. Doctor Ahborotnomasi. V. 3 (111). P. 144). <https://doi.org/10.38095/2181-466X-20231113-144-149>
- Пальцев М. А., Кветной И. М. 2014. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. М.: ЗАО «Шико». (Pal'tsev M. A., Kvetnoy I. M. 2014. Guide to neuroimmunoendocrinology. Moscow: "Shiko").
- Серов В. В., Пауков В. С. 1975. Ультраструктурная патология. М.: Медицина. (Serov V. V., Paukov V. S. 1975. Ultrastructural pathology. Moscow: Medicine).
- Толмачева Е. А. (ред). 2019. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. Москва: Видаль Рус. (Tolmatsheva E. A. 2019. The Vidal Directory. Medicinal products in Russia. Moscow: Vidal Rus).
- Чернявский Д. А., Галкин И. И., Павлюченкова А. Н., Федоров А. В., Челомбитко М. А. 2023. Роль митохондрий в нарушении барьерной функции кишечного эпителия при воспалительных заболеваниях кишечника. Молекулярная биология. Т. 57. № 6. С. 1. (Chernyavskij D. A., Galkin I. I., Pavlyuchenkova A. N., Fedorov A. V., Chelombitko M. A. 2023. Role of mitochondria in intestinal epithelial barrier dysfunction in inflammatory bowel disease. Mol. Biol. V. 57. No. 6. P. 1). <https://doi.org/10.31857/S0026898423060058>
- Чуркова М. Л. 2019. Реактивные изменения эндокринных клеток эпителия слизистой оболочки кишки при введении мелатонина или доксиламина сукцината (электронно-микроскопическое исследование). Цитология. Т. 61. № 10. С. 797. (Churkova M. L. 2019. Reactive changes of endocrine cells of intestinal mucosal epithelium with administration of melatonin or doxylamine succinate (electron microscopic study). Cell and Tissue Biology. 2020. V. 14. No. 1. P. 57). <https://doi.org/10.1134/S0041377119100031>
- Эльдаров Ч. М., Вайс В. Б., Вангели И. М., Колосова Н. Г., Бакеева Л. Е. 2015. Морфометрическое исследование ультраструктуры митохондрий кардиомиоцитов при старении. Биохимия. Т. 80. № 5. С. 716. (Eldarov Ch. M., Weiss V. B., Vangeli I. M., Kolosova N. G., Bakeeva L. E. 2015. Morphometric study of the ultrastructure of mitochondria of cardiomyocytes during aging. Biochemistry. V. 80. No. 5. P. 716).
- Асуña-Castroviejo D., Martín M., Macías M., Escames G., León J., Khaldy H., Reiter R. J. 2001. Melatonin, mitochondria, and cellular bioenergetics. J. Pineal Res. V. 30. P. 65. <https://doi.org/10.1034/j.1600-079x.2001.300201.x>
- Bourgonje A. R., Feelisch M., Faber K. N., Pasch A., Dijkstra G., van Goor H. 2020. Oxidative stress and redox-modulating therapeutics in inflammatory bowel disease. Trends Mol. Med. V. 26. P. 1034. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2020.06.006>
- Brandt T., Mourier A., Tain L. S., Partridge L., Larsson N. G., Kühlbrandt W. 2017. Changes of mitochondrial ultrastructure and function during ageing in mice and Drosophila. Elife. V. 12. P. 246. <https://doi.org/10.7554/eLife.24662>
- Hack L. M., Lockley S. W., Arendt J., Skene D. J. 2003. The effects of low-dose 0.5-mg melatonin on the free-running circadian rhythms of blind subjects. J. Biol. Rhythms. V. 18. P. 420. <https://doi.org/10.1177/0748730403256796>
- Hsieh S. Y., Shih T. C., Yeh C. Y., Lin C.-J., Chou Y.-Y., Lee Y.-S. 2006. Comparative proteomic studies on the pathogenesis of human ulcerative colitis. Proteomics. V. 6. P. 5322. <https://doi.org/10.1002/pmic.200500541>
- Mandarim-de-Lacerda C. A. 2003. Stereological tools in biomedical research. An. Acad. Bras. Cienc. V. 75. P. 469. <https://doi.org/10.1590/s0001-37652003000400006>
- Novak E. A., Mollen K. P. 2015. Mitochondrial dysfunction in inflammatory bowel disease. Front. Cell Dev. Biol. V. 3. Art. ID: 62. <https://doi.org/10.3389/fcell.2015.00062>
- Söderholm J. D., Olaison G., Peterson K. H., Franzén L. E., Lindmark T., Wirén M., Tagesson C., Sjö Dahl R. 2002. Augmented increase in tight junction permeability by luminal stimuli in the non-inflamed ileum of Crohn's disease. Gut. V. 50. P. 307. <https://doi.org/10.1136/gut.50.3.307>
- Rodenburg W., Keijer J., Kramer E., Vink C., van der Meer R., Bovee-Oudenhoven I. M. J. 2008. Impaired barrier function by dietary fructo-oligosaccharides (FOS) in rats is

- accompanied by increased colonic mitochondrial gene expression. BMC Genomics. V. 9. Article ID: 144. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-144>
- Solcia E., Capella C., Buffa R., Usellini L., Fiocca R., Frigerio B., Tenti P., Sessa F. 1981. The diffuse endocrine-paracrine system of the gut in health and disease: ultrastructural features. Scand. J. Gastroenterol. Suppl. V. 70. P. 25.
- Tasca C. 1976. Introducere in morfologia cantitativa cito-histologica. Bucuresti: Editura academiei R.S.R.

MITOCHONDRIA OF ENDOCRINE CELLS OF INTESTINE MUCOSA EPITHELIUM IN A MELATONIN-TREATED RATS (ELECTRONIC MORPHOMETRIC STUDY)

M. L. Churkova^{a, *}, S. V. Kostyukovich^b, V. F. Ivanova^b

^a *Military Medical Academy named after S. M. Kirov of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Department of histology with a course of embryology, St. Petersburg, 195009, Russia*

^b *North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Department of medical biology, St. Petersburg, 195067, Russia*

*e-mail: mlchurkova@mail.ru

The ultrastructure of mitochondria of endocrinocytes of the epithelium of the mucous membrane of the duodenum and colon of rats was studied in 2 subgroups of the experiment: with the introduction of 1 and 100 therapeutic doses of melatonin solution. When melatonin was administered in the studied parts of the intestine, it was revealed: a change in the content of 95–90% endocrine cells in the cytoplasm of the studied organelles, their swelling (85% of organelles), fragmentation of crystals (70% of organelles), enlightenment of their matrix (5% of organelles) and the appearance of myelin-like structures (1–2% of organelles) were revealed. The detected structural changes may indicate an increase in the metabolic activity of epithelial endocrinocytes in response to experimental exposure, which requires regenerative correction of mitochondrial dynamics.

Keywords: mitochondria, duodenum, colon, epithelium, endocrine cells, melatonin, ultrastructure