

УДК 616.233/.24-002:616-07:577.23

DOI: 10.12737/article_5b18b44b8cd1a3.65966166

ДИАГНОСТИКА ЭНЕРГОДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЙ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ БРОНХОЛЕГОЧНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ**Г.П.Евсеева¹, Е.И.Яковлев¹, О.А.Лебедько¹, М.С.Кузнецова¹, С.В.Пичугина¹, Н.И.Кудерова¹, Т.С.Сирина², В.Л.Варакина^{1,2}, В.К.Козлов¹**

¹Хабаровский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – НИИ охраны материнства и детства, 680022, г. Хабаровск, ул. Воронежская 49, корп. 1

²Негосударственное учреждение здравоохранения «Дорожная клиническая больница на станции Хабаровск-1» ООО «Российские железные дороги», 680022, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – совершенствование диагностики нарушений клеточной энергетики у детей с хроническими неспецифическими заболеваниями легких (ХНЗЛ) в стадии ремиссии методами определения цитохимических изменений энергетического статуса и учета процента иммунокомпетентных клеток крови с пониженным мембранным потенциалом митохондрий (МПМ). Обследовано 77 детей, в том числе 66 (83%) с пороками развития легких, 11 детей (17%) – с ХНЗЛ как исходом острых/хронических заболеваний легких. Наличие энергодефицитных состояний оценивали по уровню активности окислительно-восстановительных ферментов сукцинатдегидрогеназы, альфа-глицерофосфатдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы в лимфоцитах периферической крови и процентному соотношению лимфоцитов со сниженным МПМ. Установлено, что у 53,2% обследованных детей даже в периоде ремиссии выявляются признаки митохондриальной недостаточности, когда показатели метаболической активности ферментов в лимфоцитах значительно ниже нормы. Кластерный анализ полученных данных позволил выявить показатели, характерные для энергодефицитных состояний организма больного ребенка, требующих коррекции энерготропными препаратами.

Ключевые слова: дети, бронхолегочная патология, цитохимия, мембранный потенциал митохондрий.

SUMMARY**THE DIAGNOSTICS OF CELL ENERGETIC DEFICIT IN CHILDREN WITH CHRONIC BRONCHOPULMONARY PATHOLOGY****G.P.Evseeva¹, E.I.Iakovlev¹, O.A.Lebed'ko¹, M.S.Kuznetsova¹, S.V.Pichugina¹, N.I.Kuderova¹, T.S.Sirina², V.L.Varakina^{1,2}, V.K.Kozlov¹**

¹Khabarovsk Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Maternity and Childhood Protection, 49/1 Voronezhskaya Str., Khabarovsk, 680022, Russian Federation

²Khabarovsk-1 Station Railway Clinical Hospital, 49 Voronezhskaya Str., Khabarovsk, 680022, Russian Federation

The aim of the research is to improve the diagnosis of disturbances of cell energy in children with chronic nonspecific pulmonary diseases (CNPД) in the remission stage by the methods of detection of cytochemical changes of the energy status and recording the percentage of immune-competent cells of blood with the low membrane potential of mitochondria (MPM). 77 children were examined, including 66 (83%) with lung malformations, and 11 children (17%) with chronic nonspecific lung diseases as an outcome of acute/chronic lung diseases. The presence of energy deficient states was assessed by the level of activity of oxidative-reduction enzymes of succinate dehydrogenase, alpha-glycerophosphate dehydrogenase, lactic dehydrogenase in lymphocytes of the peripheral blood and percent ratio of lymphocytes with low MPM. It was found out that in 53.2% of the examined children even in the remission stage there were identified the signs of mitochondrial insufficiency when the parameters of metabolic activity of enzymes in lymphocytes were significantly lower than the norm. The cluster analysis of the obtained data allowed identifying the parameters typical for energy deficient states of the organism of the child that demand the correction by energotropic medications.

Key words: children, bronchopulmonary pathology, cytochemistry, mitochondrial membrane potential.

Болезни органов дыхания являются серьезной медико-социальной проблемой, что определяется их значимостью в уровне детской заболеваемости, младенческой смертности, инвалидизации больных [1, 11]. По данным многочисленных исследований отмечается неуклонный рост числа детей и подростков, больных хроническими воспалительными заболеваниями легких (ХНЗЛ), трудно поддающимися лечению и склонными к рецидивированию [5, 14]. В основе патогенеза большинства ХНЗЛ лежит длительно текущий воспалительный процесс, формирующийся в структурно измененной ткани легких и бронхов вследствие врожденных дефектов или других причин. Обычно они появляются в результате нарушения эмбрионального формирования бронхолегочных структур, но не исключается влияние заболеваний легких, возникающих в постнатальном периоде, на дифференцировку структур бронхолегочной системы и формирование хронического бронхолегочного процесса [7].

Очень сложно обнаружить единственную причину хронизации воспалительного процесса, но одной из наиболее частых причин нарушения энергетического баланса является гипоксия. Она характеризуется нарушением клеточного дыхания, недостаточностью биологического окисления и дефицитом энергии в организме [12]. Изучение недостаточности цитозергетического статуса организма может служить одной из важнейших патогенетических аспектов расшифровки молекулярных механизмов реализации локального и системного воспаления при ХНЗЛ.

По данным литературы, около 15-20% детей имеют нарушения клеточной энергетики [15]. Метаболическая чувствительность может варьировать в процессе онтогенеза и клинические проявления могут появиться только в подростковом возрасте, в связи с возрастающими метаболическими потребностями [9]. На сегодняшний день активно расширяется круг доказательств важной роли митохондриальных дисфункций в патогенезе заболеваний различных органов и систем. Так, помимо первичных митохондриальных болезней, связанных с мутациями ядерной или митохондриальной ДНК, выделяют состояния, характеризующиеся вторичной митохондриальной дисфункцией, которые могут встречаться при разнообразной патологии, вследствие присутствия митохондрий практически во всех клетках организма [15].

Информативным подходом к оценке биоэнергетики является измерение мембранного потенциала митохондрий (МПМ, Δψ). Дыхательная цепь митохондрий снабжает клетку энергией, трансформируя энергию окисления субстратов дыхания в форму трансмембранной разности электрохимических потенциалов ионов водорода на сопрягающей мембране. Поддержание мембранного потенциала служит индикатором «здоровья» митохондрий и уровня метаболической активности клеток. Во внутренней мембране митохондрий находятся элементы дыхательной цепи, в том числе и сукцинатдегидрогеназа, поэтому нарушение процессов энергообразования может изменять трансмембранный протонный потенциал [8, 19]. МПМ не имеет постоянного значения. Он может изменяться под воздействием многих внутриклеточных биохимических процессов, а также внешних раздражителей [2]. Снижение МПМ свидетельствует о повреждении клетки, сопровождается высвобождением из межмембранного пространства широкого спектра апоптогенных факторов (прокаспаз 2, 3 и 9, апоптоз-индуцирующего фактора АIF, вторичного митохондриального активатора апоптоза SMAC, цитохрома С и др.), определяющих реализацию запрограммированной гибели клетки. Падение величины МПМ является одним из основных показателей инициации митохондриального пути запуска апоптоза [13, 17, 18]. Установлена прямая взаимосвязь между нарушением потребления кислорода клетками крови, развитием гипоксии и состоянием митохондриального аппарата клетки у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких [10], у детей с внебольничной пневмонией [4].

Определение МПМ – один из наиболее отвечающих требованиям метод исследования функционального и энергетического состояния живой клетки, так как он позволяет одновременно проанализировать нарушение МПМ у 5000-25000 лимфоцитов.

С этих позиций нами было предпринято исследование, целью которого стало совершенствование диагностики нарушений клеточной энергетики у детей с ХНЗЛ в стадии ремиссии методами определения цитохимических изменений энергетического статуса и учета процента иммунокомпетентных клеток крови с пониженным МПМ.

Материалы и методы исследования

Все исследования были проведены с учетом требований Хельсинкской декларации «Рекомендации для врачей по биомедицинским исследованиям на людях» (2013). Дизайн исследования одобрен решением Этического комитета Хабаровского филиала ДНЦ ФПД – НИИ ОМИД. Для решения поставленных в работе задач проводились:

1. Анализ анамнестических и клинических данных наблюдаемых 77 больных в возрасте от 1 года до 17 лет (средний возраст 9,2±3,2 лет), с длительностью заболевания от 1 года до 14 лет (в среднем 6,4±2,3 лет). Диагноз ставился в соответствии с классификацией клинических форм бронхолегочных заболеваний у детей, утвержденной XVIII Национальным конгрессом по болезням органов дыхания. В соответствии с этой классификацией дети с пороками развития легких (ВПРЛ) составили самую многочисленную группу – 66 человек (83%). У обследованных детей выявлены следующие ВПРЛ (табл. 1).

Таблица 1

Структура морфологических форм ВПРЛ (n=66)

Нозология	абс. (%)
Гипоплазия доли легкого	36 (54,5)
Аплазия доли легкого	2 (3)
Синдром Вильямса-Кэмпбелла	2 (3)
Кистозная гипоплазия	6 (9)
Бронхоэктатическая болезнь	7 (11)
Легочная секвестрация	5 (7,5)
Аномалия строения бронхиального дерева	3 (4,5)
Недифференцированные тканевые пороки	5 (7,5)

Вторую группу составили 11 детей (17%) с ХНЗЛ как исходом острых/хронических заболеваний легких. Критерии отбора: верифицированный диагноз хронического заболевания, отсутствие обострений в течение 3 мес.

Контролем послужили показатели 23 здоровых детей, сопоставимых по полу и возрасту.

2. Инструментально-лабораторное обследование

детей. Больным выполнено полное клиническое обследование, по показаниям проводилось морфологическое исследование, бронхоскопия/бронхография, спиральная компьютерная томография.

3. Определение активности дегидрогеназ – сукцинатдегидрогеназы (СДГ), α -глицерофосфатдегидрогеназы (α -ГФДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) – проводили количественным методом по Р.П.Нарцисову (1969), основанным на реакции восстановления солей тетразолия и выпадения осадка диформаза в местах активности фермента. Активность дегидрогеназ выражалась средним числом гранул в одной клетке (гр./кл.). Кроме того, был рассчитан коэффициент вариации (V) – степень разнородности клеток по активности фермента.

4. Определение МПМ проводили в гепаринизированной крови с использованием красителя JC-1 (5,5',6,6'-тетрахлор-1,1',3,3' тетраэтилбензимидазолкарбоанин иодид/хлорид) (Vecton Dickinson, США). JC-1 является катионным красителем, поглощение которого митохондриями напрямую связано с величиной МПМ [19]. Способ осуществляют следующим образом: 800 мкл гепаринизированной крови наслаивается на 400 мкл фиколл-верографина, центрифугируется при 1500 об/мин в течение 15 минут, собирается лимфоцитарное кольцо, которое центрифугируется 5 минут при 1000 об/мин, надоса-

дочная жидкость сливается. Клетки окрашиваются красителем JC-1, после чего инкубируются 15 минут при температуре 37°C, затем дважды промываются буфером, после чего подвергаются анализу на цитометре BD FACS Calibur (США) в программе Cell Quest Pro.

5. Статистическая обработка материала проведена на персональном компьютере с применением пакета статистических программ: STATISTICAR для Windows (версия 10.0) и пакет «Анализ данных» для Microsoft Excel 2007 и включала описательную статистику, оценку достоверности с использованием критерия Стьюдента. В исследовании применялся метод k-средних кластерного анализа, который позволяет произвести разбиение множества исследуемых объектов и признаков на однородные в соответствующем понимании группы или кластеры. Большое достоинство кластерного анализа в том, что он позволяет производить разбиение объектов не по одному параметру, а по целому набору признаков [6]. Критическая величина уровня значимости принята равной 0,05.

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный анализ данных определения уровня окислительно-восстановительных ферментов и доли лимфоцитов с нарушенным мембранным потенциалом представлен в таблице 2.

Таблица 2

Показатели доли лимфоцитов со сниженным МПМ и активности ферментов лимфоцитов периферической крови у детей с ХНЗЛ в ремиссии (M±m)

Показатели	ХНЗЛ (n=77)	Контроль (n=23)	p
СДГ, гр./кл.	18,51±0,77**	23,42±0,58	<0,001
α -ГФДГ, гр./кл.	10,82±1,12	12,85±0,82	>0,05
ЛДГ, гр./кл.	17,69±1,78*	11,75±0,96	<0,05
СДГ/ α -ГФДГ	1,63±0,25	1,80±0,7	>0,05
СДГ/ЛДГ	0,91±0,08**	1,98±0,06	<0,001
ЛДГ/ α -ГФДГ	1,62±0,29*	0,91±0,03	<0,05
СДГ V	34,47±2,39**	22,89±1,63	<0,001
α -ГФДГ V	35,21±3,84**	20,71±1,29	<0,001
ЛДГ V	27,29±1,98	26,36±2,96	>0,05
МПМ, %	52,55±2,15**	31,19±2,08	<0,001

Примечание: * – p<0,05, ** – p<0,001 – уровень статистической значимости различий значений показателей между группами.

Исследование цитоэнзиматического статуса лимфоцитов периферической крови свидетельствует о снижении клеточного энергообеспечения у детей с ХНЗЛ. В сравнении с группой «контроль» у них выявлено снижение в 1,3 раза уровня активности СДГ (p<0,001) и отношения СДГ/ЛДГ (p<0,001) и ЛДГ/ α -ГФДГ (p<0,05), что указывает на несоответствие между энергопотребностью клетки и энергопродукцией в системе митохондриального окислительного фосфорилирова-

ния. Кроме того, обнаружено достоверное увеличение разнородности лимфоцитов по активности СДГ и α -ГФДГ (коэффициент V составлял, соответственно, 34,47±2,39 и 35,21±3,84), что характерно для гипоксических состояний [3].

При оценке уровня МПМ было выявлено, что у детей с ХНЗЛ показатель процентного содержания лимфоцитов со сниженным МПМ был в 1,7 раза выше, чем в группе контроля (p<0,001), что, в свою очередь,

свидетельствовало об активации митохондриального пути апоптоза [16].

Для оценки диагностической ценности исследова-

ния МПМ у детей с ХНЗЛ использовался кластерный анализ, в процессе которого обследованные дети были разделены на 3 группы (кластера) (табл. 3).

Таблица 3

Средние значения доли лимфоцитов со сниженным МПМ и активности ферментов лимфоцитов периферической крови у детей с ХНЗЛ в каждом кластере (M±m)

Показатели	1-й кластер (n=19)	2-й кластер (n=17)	3-й кластер (n=41)
СДГ, гр./кл.	24,02±0,75*	18,65±0,83*	13,3±0,69*
СДГ V	31,48±4,93	25,42±4,2	28,77±4,62
α-ГФДГ, гр./кл.	10,22±1,31	15,01±2,09	9,66±1,51
α-ГФДГ V	28,57±5,21	25,38±2,75	35,42±6,33
ЛДГ, гр./кл.	20,78±2,06	19,01±0,53	15,92±1,79
ЛДГ V	29,36±4,49	26,05±1,33	24,91±0,89
МПМ, %	33,98±0,41*	51,06±1,69*	73,72±4,45*

Примечание: * – достоверность различий между группами (p<0,001).

Как видно из представленных данных, группы достоверно различались по активности основного фермента цикла Кребса – СДГ, и процентному содержанию лимфоцитов со сниженным МПМ.

В 1-й кластер организовались дети, показатели которых были близки к нормативным показателям. Течение заболевания у детей этой группы характеризовалось отсутствием в 75% случаев обострений, средний возраст детей, объединившихся в данном кластере, составил 3,35±1,23 лет.

Во 2-ом кластере объединились дети, у которых, в сравнении с показателями 1-го кластера, активность СДГ была снижена в 1,3 раза (p<0,001) и в 1,5 раза увеличено процентное содержание лимфоцитов со сниженным МПМ. Активность α-ГФДГ имела тенденцию к увеличению, возможно, как компенсаторное повышение на снижение активности СДГ. О недостаточно полном характере компенсаторной реакции у детей этой группы свидетельствует достоверно высокое процентное содержание лимфоцитов со сниженным МПМ, поэтому изменения в состоянии здоровья, в том числе заболевания, сопровождающиеся дополнительной нагрузкой на уже возбужденную систему, могут в дальнейшем привести к снижению ее функциональной активности. Поэтому течение заболевания у детей этой группы характеризовалось увеличением числа пациентов, у которых обострения наблюдались 1-3 раз год (55%), при отсутствии обострений у 45% детей. Средний возраст детей, объединившихся в данном кластере, составил 4,8±2,54 лет.

Наиболее неблагоприятными по клинической характеристике являются наблюдения (53,2%), вошедшие в 3-й кластер, показатели которого характеризовались низкой активностью СДГ и высоким уровнем лимфоцитов, имеющих митохондрии со сниженным мембранным потенциалом. В этой группе было наибольшее число детей (68%), переносящих обострения заболевания 3-5 раз в год. Средний возраст

детей, объединившихся в данном кластере, составил 8,72±1,9 лет (различия с показателем 1-го кластера p<0,05).

Таким образом, у 53,2% детей с ХНЗЛ даже в периоде ремиссии выявляются признаки митохондриальной недостаточности, зависящие от длительности заболевания.

Показатели СДГ и МПМ детей с ХНЗЛ, объединившихся в 1-ом кластере, можно принять за нормативные показатели, не требующие энерготропного пособия. Показатели СДГ и МПМ детей с ХНЗЛ, вошедших во 2-ой кластер, отражают возможности адаптации клеточных мембран без гибели клетки и требующие использования метаболической коррекции при сопутствующих простудных заболеваниях, других состояниях с повышенной физической или эмоциональной нагрузкой.

Показатели СДГ и МПМ 3-го кластера можно использовать как критерий энергодефицитного состояния у ребенка с ХНЗЛ, требующего метаболической коррекции.

В дополнение следует отметить, что предлагаемые методы оценки дизэнергетических состояний могут быть полезны при проведении динамических наблюдений и подборе энерготропной терапии при болезнях и синдромах, этиопатогенетически ассоциированных с митохондриальной недостаточностью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баранов А.А., Альбицкий В.Ю., Иванова А.А., Терлецкая Р.Н., Косова С.А. Тенденции заболеваемости и состояние здоровья детского населения Российской Федерации // Российский педиатрический журнал. 2012. №6. С.4–9.

2. Бурджанадзе Г., Менабде К., Гавашелидзе М. Кучукашвили З., Кошоридзе Н. Функциональное состояние митохондриальной поры головного мозга белых крыс в условиях длительного эмоционального стресса // Журнал стресс-физиологии и биохимии.

2011. Т.7, №4. С.88–96.

3. Духова З.Н., Комиссарова И.А., Моисеев В.С. Активность дегидрогеназ миокарда и лимфоцитов при экспериментальной гипоксии // Кардиология. 1975. №5. С.129–132.

4. Евсеева Г.П., Ефименко М.В., Ли Л.А., Козлов В.К. Мембранный потенциал митохондрий иммунокомпетентных клеток крови у детей с внебольничной пневмонией // Российский иммунологический журнал. 2015. Т.9(18), №3(1). С.63–65.

5. Евсеева Г.П., Холодок Г.Н., Морозова Н.В., Супрун Е.Н., Козлов В.К., Лазарь К.Г. Эпидемиология бронхолегочных заболеваний детей и подростков Хабаровского края // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2016. Вып.61. С.31–35. doi: 10.12737/21436

6. Жижин К.С. Медицинская статистика. Ростов-на-Дону: Феникс, 2007. 160 с.

7. Козлов В.К., Рыжавский Б.Я., Лебедево О.А., Морозова Н.В., Гусева О.Е., Козлов М.В. Этиопатогенетические и клинические особенности формирования хронических обструктивных болезней легких у детей Приамурья // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2007. Вып.24. С.7–10.

8. Кондратьева Е.В., Лобанова Е.Г. Влияние озона на мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов // Медицинский альманах. 2013. №3(27). С.58–59.

9. Крестинина О.В., Круглов А.Г., Грачев Д.Е., Бабурина Ю.Л., Евтодиенко Ю.В., Мошков Д.А., Санталова И.М., Азарашвили Т.С. Возрастзависимые изменения функций митохондрий при Ca²⁺-индуцируемом открытии поры // Биологические мембраны. 2010. Т.27, №2. С.177–183.

10. Лобанова Е.Г., Кондратьева Е.В., Минеева Е.Е., Караман Ю.К. Мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких // Клиническая лабораторная диагностика. 2014. №6. С.13–16.

11. Миролюбова Д.Б. Закономерности и формирующие факторы заболеваемости детей в начале XXI века // Российский педиатрический журнал. 2017. Т.20, №4. С.232–237.

12. Сухоруков В.С., Клейменова Н.В., Тозлиян Е.В., Шабельникова Е.И., Белов В.А., Крапивкин А.И. Энергодефицитный диатез // Клинико-лабораторный консилиум. 2011. №4(40). С.44–49.

13. Фрелих Г.А., Полмоеева Н.Ю., Васильев А.С., Удуд В.В. Современные методы оценки функционального состояния митохондрий // Сибирский медицинский журнал (Томск). 2013. Т.28, №3. С.7–13.

14. Хронические заболевания легких у детей / под ред. Ю.Л.Мизерницкого, Н.Н.Розиновой. М.: Практика, 2011. 224 с.

15. Царегородцев А.Д., Сухоруков В.С. Митохондриальная медицина – проблемы и задачи // Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2012. №4(2). С.4–14.

16. Dibrova D.V., Cherepanov D.A., Galperin M.Y., Skulachev V.P., Mulikidjanian A.Y. Evolution of cytochrome BC complexes: from membrane-anchored dehy-

drogenases of ancient bacteria to triggers of apoptosis in vertebrates // Biochim. Biophys. Acta. 2013. Vol.1827, №11-12. P.1407–1427. doi: 10.1016/j.bbabo.2013.07.006

17. Lemasters J.J., Ramshesh V.K. Imaging of mitochondrial polarization and depolarization with cationic fluorophores // Methods Cell Biol. 2007. Vol.80. P.283–295. doi: 10.1016/S0091-679X(06)80014-2

18. Ly J.D., Grubb D.R., Lawen A. The mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$) in apoptosis; an update // Apoptosis. 2003. Vol.8. P.115–128. doi: 10.1023/A:1022945107762

19. Widlansky M.E., Wang J., Shenouda S.M., Hagen T.M., Smith A.R., Kizhakekuttu T.J., Kluge M.A., Weihrauch D., Gutterman D.D., Vita J.A. Altered mitochondrial membrane potential, mass, and morphology in the mononuclear cells of humans with type 2 diabetes // Transl. Res. 2010. Vol.156, №1. P.15–25. doi: 10.1016/j.trsl.2010.04.001

REFERENCES

1. Baranov A.A., Albitsky V.Yu., Ivanova A.A., Terletskaya R.N., Kosova S.A. Trends and the health status of the child population of the Russian Federation. *Rossiiskii Pediatricheskii Zhurnal* 2012; 6:4–9 (in Russian).

2. Burjanadze G., Menabde K., Gavashelidze M., Kuchukasvili Z., Koshoridze N. Functional Status of Mitochondrial Pore in the Brain of Laboratory Rats Subjected to Prolonged Emotional Stress. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 2011; 7(4):88–96 (in Russian).

3. Duhova Z.N., Komissarova I.A., Moiseev V.S. Changes in the enzyme activity of lymphocytes and various organs under the influence of hypoxic factor. *Kardiologiya* 1975; 5:129–132 (in Russian).

4. Evseeva G.P., Efimenko M.V., Li L.A., Kozlov V.K. Mitochondrial membrane potential of immunocompetent blood cells in children with CAP (community-acquired pneumonia). *Russian Journal of Immunology* 2015; 9(3): 63–65 (in Russian).

5. Evseeva G.P., Kholodok G.N., Morozova N.V., Suprun E.N., Kozlov V.K., Lazar K.G. Epidemiology of bronchopulmonary diseases in children and teenagers of Khabarovsk Krai. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2016; 61:31–35 (in Russian). doi: 10.12737/21436

6. Zhizhin K.S. Medical statistic. Rostov-na-Donu: Feniks; 2007 (in Russian).

7. Kozlov V.K., Rizhavskiy B.Y., Lebedko O.A., Morozova N.V., Guseva O.E., Kozlov M.V. Etiological, pathogenic and clinical peculiarities of chronic obstructive lung diseases formation in Amur river region children. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2007; 24:7–10 (in Russian).

8. Kondratieva E.V., Lobanova E.G. The influence of ozone on the membrane potential of mitochondria of thrombocytes. *Meditinskiy al'manakh* 2013; 3:58–59 (in Russian).

9. Krestinina O.V., Kруглов А.Г., Грачев Д.Е., Бабурина Ю.Л., Евтодиенко Ю.В., Мошков Д.А., Санталова И.М., Азарашвили Т.С. Age-Related Changes of Mitochondrial Functions under the Conditions of Ca²⁺-Induced Opening of Permeability Transition Pore. *Biologicheskie*

Membrany 2010; 27(2): 177–183 (in Russian).

10. Lobanova E.G., Kondratiyeva E.V., Mineyeva E.E., Karaman Yu.K. The membrane potential of mitochondria of thrombocytes in patients with chronic obstructive disease of lungs. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* 2014; 6:13–16 (in Russian).

11. Mirolubova D.B. Regularities and forming factors of the children's morbidity rate at the beginning of the XXI century (the literature review). *Russian Pediatric Journal* 2017; 20(4):232–237 (in Russian).

12. Sukhorukov V.S., Kleymenova N.V., Tozliyan E.V., Shabelnikova E.I., Belov V.A., Krapivkin A.I. Energy deficiency diathesis. *Kliniko-laboratornyi konsilium* 2011; 4:44–49 (in Russian).

13. Frelikh G.A., Polomeeva N.U., Vasil'ev A.S., Udut V.V. State-of-the art methods of evaluation of mitochondrial function. *Siberian medical journal (Tomsk)* 2013; 28(3):7–13 (in Russian).

14. Mizernitskiy Yu.L., Rozinova N.N., editors. *Chronic Lung Diseases in children*. Moscow: Praktika; 2011 (in Russian).

15. Tsaregorodtsev A.D., Sukhorukov V.S. Mitochon-

drial medicine: problems and tasks. *Ros. Vestn. Perinatol. Pediat.* 2012; 4(2):4–14 (in Russian).

16. Dibrova D.V., Cherepanov D.A., Galperin M.Y., Skulachev V.P., Mulkidjanian A.Y. Evolution of cytochrome BC complexes: from membrane-anchored dehydrogenases of ancient bacteria to triggers of apoptosis in vertebrates. *Biochim. Biophys. Acta* 2013; 1827(11-12):1407–1427. doi: 10.1016/j.bbabi.2013.07.006

17. Lemasters J.J., Ramshesh V.K. Imaging of mitochondrial polarization and depolarization with cationic fluorophores. *Methods Cell Biol.* 2007; 80:283–295. doi: 10.1016/S0091-679X(06)80014-2

18. Ly J.D., Grubb D.R., Lawen A. The mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi_m$) in apoptosis; an update. *Apoptosis* 2003; 8:115–128. doi: 10.1023/A:1022945107762

19. Widlansky M.E., Wang J., Shenouda S.M., Hagen T.M., Smith A.R., Kizhakekuttu T.J., Kluge M.A., Weihrauch D., Gutterman D.D., Vita J.A. Altered mitochondrial membrane potential, mass, and morphology in the mononuclear cells of humans with type 2 diabetes. *Transl. Res.* 2010; 156(1):15–25. doi: 10.1016/j.trsl.2010.04.001

Поступила 19.03.2018

Контактная информация

Галина Петровна Евсеева,

доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе,
главный научный сотрудник группы медико-экологических проблем здоровья матери и ребенка,
Научно-исследовательский институт охраны материнства и детства,
680022, г. Хабаровск, ул. Воронежская, 49, корп. 1.

E-mail: iomid@yandex.ru

Correspondence should be addressed to

Galina P. Evseeva,

MD, PhD, DSc, Deputy Director on Scientific Work,
Main Staff Scientist of the Group of Health and Environmental Problems of Mother and Child Health,
Research Institute of Maternity and Childhood Protection,
49 Voronezhskaya Str., Khabarovsk, 680022, Russian Federation.

E-mail: iomid@yandex.ru