

УДК 612:24-008.811.6-036.12:577.125.33:576.311.347

DOI: 10.12737/20048

**К ВОПРОСУ О МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ
ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНИ ЛЕГКИХ****Ю.К.Денисенко¹, Т.П.Новгородцева¹, Т.И.Виткина¹, М.В.Антонюк¹, Н.В.Жукова²**

¹Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» – Научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения, 690105, г. Владивосток, ул. Русская 73г

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии моря им. А.В.Жирмунского Дальневосточного отделения РАН, 690041, г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17

РЕЗЮМЕ

Цель исследования – изучить структурно-функциональное состояние митохондриального аппарата клеток по оценке мембранного потенциала (ММП) и состава жирных кислот (ЖК) мембран митохондрий клеток крови у больных ХОБЛ разной степени тяжести, установить значение митохондриальной дисфункции в патогенезе ХОБЛ. Проведено обследование 27 больных ХОБЛ легкой степени тяжести, 21 пациента с ХОБЛ средней степени тяжести стабильного течения, 20 здоровых лиц. ММП лейкоцитов оценивали методом проточной цитофлуориметрии. Состав ЖК мембран митохондрий изучали методом газожидкостной хроматографии. В результате исследования установлено, что утяжеление заболевания (ХОБЛ средней степени тяжести) приводит к увеличению количества лейкоцитов со сниженным ММП, появлению дефицита насыщенных, моноеновых и n-3 полиненасыщенных ЖК в мембране митохондрий. Выявленные изменения в структурно-функциональном состоянии митохондрий свидетельствуют о нарушении энергетической активности, мембранной проницаемости и транспорта веществ, что является признаком формирования митохондриальной дисфункции и развития клеточной гипоксии при заболеваниях органов дыхания.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь легких, митохондрия, жирные кислоты.

SUMMARY**MITOCHONDRIAL DYSFUNCTION IN CHRONIC
OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE**

**Yu.K.Denisenko¹, T.P.Novgorodtseva¹, T.I.Vitkina¹,
M.V.Antonyuk¹, N.V.Zhukova²**

¹Vladivostok Branch of Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration – Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment, 73g Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation

²A.V.Zhirumsky Institute of Marine Biology of Far East Branch RAS, 17 Pal'chevskogo Str., Vladivostok, 690041, Russian Federation

The aim is to study structural and functional condition of cell mitochondrial apparatus for evaluating the mitochondrial membrane potential (MMP) and the

fatty acids (FA) composition of mitochondrial membranes of blood cells in patients with COPD; to establish the role of mitochondrial dysfunction in the mechanism of COPD. The study involved 27 patients with mild COPD, 21 with moderate COPD of a stable course, and 20 healthy people. MMP of leukocytes was assessed with cytofluorimetry. The composition of FA of mitochondrial membranes was studied with gas-liquid chromatography. As a result of the study it was found out that the worsening of the disease (moderate COPD) leads to the increase of the number of white blood cells with reduced MMP and appearance of deficit of the saturated monoenoic and n-3 polyunsaturated fatty acids in the membrane of mitochondria. The revealed changes in the structural and functional state of mitochondria show a violation in energetic activity, membrane permeability and transport of substances, which is a sign of the formation of mitochondrial dysfunction and cell hypoxia development at respiratory diseases.

Key words: chronic obstructive pulmonary disease, mitochondria, fatty acids.

Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) является одной из ведущих причин заболеваемости и смертности в современном обществе, и представляет собой значительную экономическую и социальную проблему, которая пока не имеет тенденции к улучшению [1]. В настоящее время не найдено эффективных способов предотвращения прогрессирования необратимых изменений в бронхах и легочной паренхиме у больных ХОБЛ. Отчасти это связано с отсутствием единой патогенетической концепции, которая могла бы показать иерархию основных факторов развития ХОБЛ. В мультифакториальном патогенезе хронических заболеваний органов дыхания ведущие роли принадлежат системным эффектам воспаления и окислительному стрессу [9]. На клеточно-молекулярном уровне индукция перечисленных выше патологических процессов может быть детерминирована нарушением ультраструктуры и функционирования важной клеточной органеллы – митохондрии [5]. Известно, что альтерация митохондриального аппарата клеток лежит в основе патогенеза ишемической болезни сердца, нейродегенеративных заболеваний, развития фиброзных изменений в печени и многих других патологических процессов [12]. Активные исследования в этой области, ведущиеся по всему миру, свиде-

тельствуют об актуальности изучения митохондрий и процессов, протекающих в этих органеллах.

Одним из маркеров митохондриальной активности является мембранный потенциал митохондрий (МПМ) [4]. Снижение МПМ указывает на угнетение энергетической функции клетки. Главной причиной уменьшения МПМ является увеличение проницаемости внешней и внутренней мембраны митохондрии, что приводит к выходу из матрикса митохондрий в цитоплазму клеток различных субстратов, включая цитохром С [11]. Таким образом, эффективное функционирование митохондрий связано с интегральной целостностью их мембранных структурных компонентов. Структурно-функциональное состояние мембраны определяют фосфолипиды и входящие в их состав жирные кислоты (ЖК) [2, 3]. Основной пул ЖК вовлечен в окислительные энергетические процессы и поддержание мембранного гомеостаза митохондрий [3]. Можно предположить, что в ответ на изменение концентрации и соотношения ЖК происходит реорганизация липидного состава мембраны, которая и детерминирует повышение проницаемости мембраны митохондрии, нарушение МПМ и, как итог, развитие митохондриальной дисфункции. Изучение процессов, протекающих в митохондриях, необходимо для понимания механизмов многих физиологических процессов и патофизиологических изменений в различных органах и тканях, в том числе при заболеваниях органов дыхания.

Цель работы – изучить структурно-функциональное состояние митохондриального аппарата клеток по оценке мембранного потенциала и состава ЖК мембран митохондрий клеток крови у больных ХОБЛ разной степени тяжести, установить значение митохондриальной дисфункции в патогенезе ХОБЛ.

Материалы и методы исследования

В исследовании на условиях добровольного информированного согласия участвовало 77 пациентов (45 мужчин и 32 женщины), их средний возраст составил $57,5 \pm 4,8$ года. Критериями разделения больных по группам была степень тяжести течения ХОБЛ [1]. По клинико-функциональным вариантам пациенты с ХОБЛ разделялись по группам: 27 человек с легкой степенью тяжести, 21 человек со средней степенью тяжести. На момент обследования больные не получали регулярной противовоспалительной терапии. Диагноз ХОБЛ выставлялся в соответствии с Международной статистической классификацией болезней, травм и причин смерти X пересмотра (МКБ-10, 1992 г.) и согласно Глобальной стратегии диагностики, лечения и профилактики ХОБЛ (GOLD, 2014 г.) [1]. Критериями исключения из исследования явилось наличие у пациентов острых инфекционных заболеваний, хронических заболеваний внутренних органов в фазе обострения, хронической сердечной недостаточности в стадии декомпенсации. В контрольную группу вошли 29 практически здоровых лиц, не курящих, с нормальной функцией внешнего дыхания. Все исследования

были проведены с учетом требований Хельсинской декларации «Рекомендации для врачей по биомедицинским исследованиям на людях» (2013). Исследование было одобрено этическим комитетом Владивостокского филиала ДНЦ ФПД – НИИ МКВЛ.

Бронхиальная проходимость оценивалась по показателям объема форсированного выдоха за 1-ю секунду ($ОФВ_1$) и форсированной жизненной емкости легких (ФЖЕЛ), индексу $ОФВ_1/ФЖЕЛ$. В соответствии с рекомендациями GOLD диагноз ХОБЛ выставляли при $ОФВ_1/ФЖЕЛ < 0,70$ [1]. По результатам спирометрии у пациентов с легкой степенью тяжести ХОБЛ постбронходиляционный показатель $ОФВ_1$ составил $90,13 \pm 1,99\%$. У больных ХОБЛ средней тяжести показатель $ОФВ_1$ составил $73,9 \pm 2,56\%$.

Митохондрии из клеток крови получали стандартным методом дифференциального центрифугирования в среде, содержащей сахарозу в концентрации 0,75М, 0,5% раствора бычьего сывороточного альбумина (BSA), 0,01М раствор фосфатного буфера.

Измерение МПМ лейкоцитов производили с использованием набора MitoProbe™ JC-1 Assay Kit (Life Technologies, США) в соответствии с инструкцией к набору на проточном цитофлуориметре BD FACS CANTO II (BD Biosciences, США).

Экстракцию липидов из мембран митохондрий тромбоцитов осуществляли, используя систему растворителей хлороформ – метанол в соотношении 1:2, затем добавляли по 1 объему хлороформа, метанола и 0,9 % раствора хлористого натрия до полного расслоения фаз [6]. Анализ состава ЖК проводили методом газожидкостной хроматографии после их метилирования [7]. Метилловые эфиры ЖК получали с помощью трансметилирования липидов 1% раствором натрия в метаноле и затем 5% HCl в метаноле. Метилловые эфиры экстрагировали гексаном. Гексановый раствор метилловых эфиров ЖК очищали с помощью микротонкослойной хроматографии в бензоле. Зону метилловых эфиров на силикагеле определяли по стандарту или с помощью паров йода. Эфиры элюировали хлороформом, раствор упаривали в вакууме на ротационном испарителе (Венгрия). Перерастворенные в гексане метилловые эфиры анализировали на газожидкостном хроматографе Shimadzu GC-2010 (Япония), снабженном пламенно-ионизационным детектором, капиллярной колонкой (0,25 мм × 30 м) с привитой фазой Supelcowax 10. Температура колонки и детектора 210°C, температура испарителя 240°C. Газ-носитель – гелий. Расчет площади хроматографических пиков и обработку результатов проводили на станции Z-Chrom. Идентифицировали метилловые эфиры ЖК по времени удерживания с использованием стандартов и по значениям «углеродных чисел». Результаты выражали в относительных % от общей суммы ЖК.

Для анализа полученных данных использовалась прикладная программа Statistica 6.1 (серия 1203С для Windows). Проверку нормальности распределения осуществляли с применением коэффициента Колмогорова-Смирнова. Данные представлены в виде средней

(М) и ошибки средней (m). Оценку различий проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка МПМ лейкоцитов в исследуемых группах выявила значительное повышение данного показателя по мере утяжеления заболевания. У больных ХОБЛ легкой степени тяжести доля клеток со сниженным МПМ составила $2,6 \pm 0,11\%$, у лиц с ХОБЛ средней сте-

пени тяжести – $3,15 \pm 0,14\%$. Полученные результаты исследования МПМ указывают на уменьшение энергообеспечения клетки, кислородное голодание и предрасположенность к развитию клеточной гипоксии. Гипоксическое повреждение клетки сопровождается дефицитом АТФ и является начальным звеном в событиях, которые приводят к митохондриальной дисфункции [3, 11].

Таблица

Состав жирных кислот мембран митохондрий тромбоцитов у пациентов с ХОБЛ (М+m)

Жирные кислоты митохондрий, %	Контрольная группа (n=29)	Больные ХОБЛ	
		легкой степени тяжести (n=27)	средней степени тяжести (n=21)
12:0	$0,56 \pm 0,05$	$0,47 \pm 0,05$	$0,38 \pm 0,02^*$
14:0	$2,90 \pm 0,16$	$2,17 \pm 0,18^*$	$1,84 \pm 0,08^{*+}$
16:0	$28,25 \pm 0,75$	$23,89 \pm 1,02^*$	$21,09 \pm 0,91^*$
18:0	$18,71 \pm 0,33$	$20,06 \pm 1,85$	$19,06 \pm 1,04^*$
20:0	$0,74 \pm 0,03$	$0,68 \pm 0,04$	$0,67 \pm 0,08$
16:1n-9	$1,65 \pm 0,07$	$0,98 \pm 0,12^*$	$0,89 \pm 0,08^{*+}$
16:1n-7	$1,68 \pm 0,10$	$1,08 \pm 0,19^*$	$1,04 \pm 0,19^*$
18:1n-9	$14,39 \pm 0,43$	$13,03 \pm 0,80^*$	$12,03 \pm 0,07^*$
18:1n-7	$1,78 \pm 0,07$	$1,26 \pm 0,13^*$	$1,22 \pm 0,09^*$
18:2n-6	$6,06 \pm 0,72$	$10,81 \pm 1,24^*$	$11,55 \pm 0,93^*$
18:3n-6	$0,36 \pm 0,02$	$0,28 \pm 0,04^*$	$0,23 \pm 0,01^*$
18:3n-3	$0,51 \pm 0,04$	$0,31 \pm 0,05^*$	$0,18 \pm 0,04^{*+}$
20:3n-6	$0,62 \pm 0,06$	$0,76 \pm 0,04$	$0,44 \pm 0,08^{*+}$
20:4n-6	$6,31 \pm 0,44$	$16,58 \pm 0,41^*$	$16,31 \pm 0,41^*$
20:5n-3	$0,80 \pm 0,07$	$0,47 \pm 0,10^*$	$0,34 \pm 0,07^*$
22:4n-6	$0,83 \pm 0,09$	$1,35 \pm 0,18^*$	$0,95 \pm 0,08^{*+}$
22:5n-6	$1,24 \pm 0,04$	$0,61 \pm 0,04^*$	$0,41 \pm 0,05^{*+}$
22:5n-3	$0,67 \pm 0,06$	$0,28 \pm 0,05^*$	$0,31 \pm 0,07^{*+}$
22:6n-3	$1,45 \pm 0,13$	$0,48 \pm 0,11^*$	$0,56 \pm 0,09^*$
Сумма НЖК	$51,16 \pm 2,51$	$42,27 \pm 1,14^*$	$43,04 \pm 1,07^*$
Сумма МЖК	$19,5 \pm 1,07$	$16,6 \pm 1,12^*$	$15,45 \pm 1,04^*$
Сумма ПНЖК n-3	$3,43 \pm 0,09$	$1,54 \pm 0,08^*$	$1,39 \pm 0,04^{*+}$
Сумма ПНЖК n-6	$15,42 \pm 1,54$	$30,39 \pm 2,04^*$	$29,89 \pm 2,31^*$

Примечание: (*) – различия статистически значимы относительно контрольной группы; (+) – различия статистически значимы относительно пациентов с ХОБЛ легкой степени тяжести.

Результаты исследования состава ЖК мембраны митохондрий пациентов с хроническими заболеваниями органов дыхания представлены в таблице. У больных ХОБЛ наблюдалось уменьшение содержания некоторых насыщенных ЖК (НЖК) в мембране митохондрий тромбоцитов. Так, у пациентов с ХОБЛ легкой степени тяжести отмечалось уменьшение доли 14:0, 16:0. При этом у больных ХОБЛ средней степени тяжести также снижался уровень 12:0 относительно всех исследуемых групп. Примечательно, что значение 18:0 у больных ХОБЛ легкой и средней степени тяжести были выше относительно контрольной группы. Выявленные изменения в содержании насыщенных ЖК в мембране митохондрий тромбоцитов у пациентов с ХОБЛ отразились в уменьшении суммы НЖК.

У пациентов с ХОБЛ разной степени тяжести выявлялись однонаправленные изменения в содержании моноеновых ЖК (МЖК): отмечалось снижение уровней 16:1n-9, 16:1n-7, 18:1n-9, 18:1n-7 относительно контрольной группы. Максимальное снижение перечисленных выше кислот было показано в группе больных ХОБЛ средней степени тяжести. При этом различий в суммарном содержании МЖК между группами пациентов с ХОБЛ выявлено не было.

В исследуемых группах большие различия были выявлены среди основных полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) как n-6, так и n-3 семейств. В частности, в мембране митохондрий больных ХОБЛ выявлены высокие значения уровня линолевой кислоты (18:2n-6) относительно здоровых пациентов. Однако, уровень другой эссенциальной ЖК – α -линоленовой кислоты (18:3n-3) у лиц с ХОБЛ напротив, значительно понижался. Причем с утяжелением заболевания дефицит 18:3n-3 усиливался. У больных ХОБЛ похожая картина выявлялась и в содержании других ПНЖК n-3 (20:5n-3, 22:5n-3, 22:6n-3). Интересная динамика прослеживалась в уровнях ПНЖК n-6. Показано значительное повышение содержания арахидоновой кислоты (20:4n-6) у пациентов с ХОБЛ по сравнению с контрольной группой. Обобщая изменения, выявленные в содержании индивидуальных ПНЖК, можно отметить, что с утяжелением бронхолегочной патологии усугубляется дефицит ПНЖК n-3 на фоне повышения некоторых ПНЖК n-6 (20:4n-6, 22:4n-6). Суммарное значение процентного содержания ПНЖК n-3 в мембране митохондрий у лиц с ХОБЛ было пониженным, тогда как сумма ПНЖК n-6 повышалась более чем в два раза. Следовательно, анализ липидома митохондрий тромбоцитов указывает на модификацию состава ЖК митохондриальных мембран при хронических заболеваниях органов дыхания. Изменение состава структурной составляющей митохондриальной мембраны логичным образом будет влиять на функциональную активность митохондрий и на способность адекватно выполнять присущие ей функции, в том числе энергетические.

Таким образом, совокупность результатов исследования свидетельствуют о нарушении функции митохондрий у лиц с бронхолегочной патологией. При

отсутствии клинических симптомов у больных ХОБЛ сохранялись метаболические нарушения, обусловленные падением энергетической активности и нарушением ультраструктуры митохондрий. Выявленное увеличение количества лейкоцитов со сниженным МПМ указывает на уменьшение энергообеспечения клетки, кислородное голодание и предрасположенность к развитию клеточной гипоксии. Причем с утяжелением заболевания происходит увеличение количества лейкоцитов со сниженным МПМ, что свидетельствует о нарастании нарушения трансмембранного переноса ионов, угнетении клеточной дыхательной активности. Все эти изменения детерминируют развитие гипоксии и гибель клетки по механизму апоптоза [3, 11, 12]. Развитие клеточной гипоксии приводит к деструктивным процессам в ключевых структурных компонентах дыхательной системы – слизистой оболочке бронхиальных путей, что создает условия к формированию структурно-функциональной базы постоянного обструктивного состояния [8].

Как показали наши исследования, ключевым механизмом развития митохондриальной дисфункции является нарушение состава ЖК мембран митохондрий. Оценка состава ЖК мембраны митохондрии у лиц с ХОБЛ позволила выявить основные нарушения в ультраструктуре митохондрий. Показано, что у пациентов с ХОБЛ нарастает дефицит НЖК в мембране митохондрий. Как известно для митохондрий основным источником энергии и предпочтительными для окисления являются короткоцепочечные от 6:0 до 10:0, среднецепочечные 12:0, 14:0 и 16:0 НЖК [2, 5]. При недостатке этих жирных кислот митохондрии в качестве субстрата для β -окисления начинают использовать глюкозу. Снижение насыщенности митохондриальной мембраны всегда свидетельствует об энергетическом дефиците клетки в целом, развитии клеточной гипоксии [5]. Недостаток субстрата для синтеза АТФ приводит к нарушению процесса окислительного фосфорилирования, активации на его фоне перекисного окисления липидов, фосфолипидиза, что в свою очередь приводит к повреждению мембранной структуры митохондрий и апоптозу клетки [11, 12].

У больных ХОБЛ происходили значительные изменения уровня ПНЖК n-6 и n-3 в мембранах митохондрий. Отличительной особенностью состава ЖК мембраны митохондрий лиц с ХОБЛ стало значительное повышение уровня ПНЖК n-6, тогда как уровень ПНЖК n-3, напротив, снижался. Причем дефицит ПНЖК n-3 нарастал по мере утяжеления заболевания. Дисбаланс в составе ЖК митохондриальной мембраны, формирующийся в условиях хронических заболеваний органов дыхания, приводит к существенной перестройке архитектоники крист митохондрий, нарушая, тем самым, структурно-функциональные свойства, как самой клетки, так и ее субклеточных структур [10]. В частности известно, что конкурентное преобладание уровня ПНЖК n-6 над содержанием ПНЖК n-3 в цитомембране указывает на приоритетный синтез эй-

козаноидов с повышенной провоспалительной и бронхоконстрикторной активностью (лейкотриен В4, тромбоксан В2) [9, 10]. Нами впервые показано, что и субклеточные мембраны, а именно мембраны митохондрий, подвергаются существенной реорганизации, что, возможно, и обуславливает сложный механизм патогенеза ХОБЛ.

Можно заключить, что митохондриальная дисфункция, развивающаяся вследствие нарушения жирнокислотного состава мембран митохондрий, играет важную роль в механизме формирования ХОБЛ. Полученные результаты исследования необходимо учитывать при выборе способов профилактики и лечения больных с бронхолегочной патологией. При лечении пациентов с заболеваниями легких акцент должен быть сделан не только на воспалительный процесс, но и на предотвращение или устранение нарушений в митохондриях, энергетических и окислительно-восстановительных процессах клетки. Уточнение роли структурно-функционального состояния митохондрий в формировании заболеваний системы органов дыхания позволит своевременно выявлять риски развития и осложнения бронхиальной обструкции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глобальная стратегия диагностики, лечения и профилактики хронической обструктивной болезни легких (пересмотр 2014 г.): пер. с англ. / под ред. А.С.Белевского. М.: Российское респираторное общество, 2015. 93 с.
2. Денисенко Ю.К., Виткина Т.И., Новгородцева Т.П., Кондратьева Е.В., Жукова Н.В., Борщев П.В. Спектр жирных кислот мембран митохондрий тромбоцитов больных хроническим необструктивным бронхитом // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2013. Вып.50. С.34–38.
3. Денисенко Ю.К., Новгородцева Т.П., Кондратьева Е.В., Жукова Н.В., Антонюк М.В., Кнышова В.В., Минеева Е.Е. Морфофункциональное состояние митохондрий клеток крови при бронхиальной астме // Клиническая медицина. 2015. Т.93, №10. С.47–52.
4. Лобанова Е.Г., Кондратьева Е.В., Минеева Е.Е., Караман (Денисенко) Ю.К. Мембранный потенциал митохондрий тромбоцитов у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких // Клиническая лабораторная диагностика. 2014. Т.59, №6. С.13–16.
5. Aravamudan B., Thompson M.A., Pabelick C.M., Prakash Y.S. Mitochondria in Lung Diseases // Expert Rev. Respir. Med. 2013. Vol.7, №6. P.631–646.
6. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification // Can. J. Biochem. Physiol. 1959. Vol.37, №8. P.911–917.
7. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extract // J. Chromatogr. 1978. Vol.151, Iss.3. P.384–390.
8. Hattab Y., Alhassan S., Balaan M., Lega M., Singh A.C. Chronic Obstructive Pulmonary Disease // Crit. Care Nurs. Q. 2016. Vol.39, №2. P.124–130.

9. Novgorodtseva T.P., Karaman (Denisenko) Yu.K., Zhukova N. V., Lobanova E.G., Antonyuk M.V., Kantur T.A. Composition of fatty acids in plasma and erythrocytes and eicosanoids level in patients with metabolic syndrome // Lipids Health Dis. 2011. №10. P.82. doi:10.1186/1476-511X-10-82

10. Novgorodtseva T.P., Denisenko Yu.K., Zhukova N.V., Antonyuk M.V., Knyshova V.V., Gvozdenko T.A. Modification of the fatty acid composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases // Lipids Health Dis. 2013. №12. P.117. doi: 10.1186/1476-511X-12-117

11. Poyton R.O., Ball K.A., Castello P.R. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling // Trends Endocrinol. Metab. 2009. Vol.20, №7. P.332–340.

12. Tait S.W., Green D.R. Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond // Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 2010. Vol.11, №9. P.621–632.

REFERENCES

1. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of COPD. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). 2016. Available at: <http://www.goldcopd.org>.
2. Denisenko Yu.K., Vitkina T.I., Novgorodtseva T.P., Kondrat'eva E.V., Zhukova N.V., Borshchev P.V. Fatty acid spectrum of mitochondrial thrombocytes membranes in patients with chronic non-obstructive bronchitis. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniâ* 2013; 50:34–38 (in Russian).
3. Denisenko Yu.K., Novgorodtseva T.P., Kondrat'eva E.V., Zhukova N.V., Antonyuk M.V., Knyshova V.V., Mineeva E.E. Morpho-functional characteristics of blood cell mitochondria in bronchial asthma. *Klinicheskaya meditsina* 2015; 93(10):47–52 (in Russian).
4. Lobanova E.G., Kondratyeva E.V., Mineeva E.E., Karaman (Denisenko) Y.K. The membrane potential of mitochondria of thrombocytes in patients with chronic obstructive disease of lungs. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika* 2014; 59(6):13–16 (in Russian).
5. Aravamudan B., Thompson M.A., Pabelick C.M., Prakash Y.S. Mitochondria in Lung Diseases. *Expert Rev. Respir. Med.* 2013; 7(6): 631–646.
6. Bligh E.G., Dyer W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 1959; 37(8):911–917.
7. Carreau J.P., Dubacq J.P. Adaptation of a macro-scale method to the micro-scale for fatty acid methyl transesterification of biological lipid extract. *J. Chromatogr.* 1978; 151(3):384–390.
8. Hattab Y., Alhassan S., Balaan M., Lega M., Singh A.C. Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Crit. Care Nurs. Q.* 2016; 39(2):124–130.
9. Novgorodtseva T.P., Karaman (Denisenko) Yu.K., Zhukova N.V., Lobanova E.G., Antonyuk M.V., Kantur T.A. Composition of fatty acids in plasma and erythrocytes and eicosanoids level in patients with metabolic syndrome. *Lipids Health Dis.* 2011; 10:82. doi:10.1186/1476-511X-10-82
10. Novgorodtseva T.P., Denisenko Yu.K., Zhukova

N.V., Antonyuk M.V., Knyshova V.V., Gvozdenko T.A. Modification of the fatty acid composition of the erythrocyte membrane in patients with chronic respiratory diseases. *Lipids Health Dis.* 2013; 12:117. doi: 10.1186/1476-511X-12-117

11. Poyton R.O., Ball K.A., Castello P.R. Mitochondrial

generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends Endocrinol. Metab.* 2009; 20(7):332–340.

12. Tait S.W., Green D.R. Mitochondria and cell death: outer membrane permeabilization and beyond. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2010; 11(9):621–632.

Поступила 17.03.2016

Контактная информация

Юлия Константиновна Денисенко,

доктор биологических наук, заведующая лабораторией биомедицинских исследований,

НИИ медицинской климатологии и восстановительного лечения,

690105, г. Владивосток, ул. Русская, 73г.

E-mail: karaman@inbox.ru

Correspondence should be addressed to

Yuliya K. Denisenko,

PhD, DSc, Head of Laboratory of Biomedical Research,

Research Institute of Medical Climatology and Rehabilitation Treatment,

73g Russkaya Str., Vladivostok, 690105, Russian Federation.

E-mail: karaman@inbox.ru