

Биофизические параметры мембран эритроцитов детей с бронхолегочной дисплазией в стадии хронической болезни

*1Белорусский государственный медицинский университет
2Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси*

С помощью флуоресцентных зондов изучены биофизические параметры мембран эритроцитов (МЭ) у детей с бронхолегочной дисплазией (БЛД) в стадии хронической болезни в возрасте 6 мес. – 3 года. Выявлено снижение микровязкости гидрофобной области липидного бислоя мембраны, в то время как уровень SH-групп мембранных белков не отличался от значений контрольной группы. Полученные результаты указывают на отсутствие интенсификации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и окислительной модификации белкового компонента мембран у детей с БЛД в стадии хронической болезни в указанный возрастной период. Обнаруженные изменения можно трактовать как компенсаторно-приспособительную реакцию системы эритрона, направленную на облегчение газообмена в легких детей с БЛД.

Ключевые слова: бронхолегочная дисплазия, дети, мембрана, эритроцит, флуоресцентные зонды.

БЛД – хроническое заболевание бронхолегочной системы у детей, социальная и медицинская значимость которого в последние годы возрастает во всем мире. Доказано, что одним из доминирующих факторов в патогенезе развития заболевания в стадии его формирования является оксидантный стресс.

Ранее нами было установлено наличие хронически текущего воспаления низкой интенсивности с преимущественной активацией клеточного звена иммунитета у детей с БЛД в стадии хронической болезни в возрасте от 6 мес. до 3 лет. Известно, что в ходе воспалительного процесса любой этиологии образуется большое количество активных радикалов, имеющих не только санационные свойства, но и способных повреждать разнообразные структуры собственного организма. В настоящее время накоплено достаточно клинических и экспериментальных данных, позволяющих констатировать ведущую роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе различных заболеваний, в том числе и бронхолегочных.

В проведенных нами исследованиях у детей с БЛД в стадии хронической болезни в возрасте 6 мес. – 3 года выявлено повышение активности каталазы, рассматриваемое как компонент компенсаторно-приспособительной реакции, направленной на поддержание гомеостаза системы «оксиданты – антиоксиданты», а также снижение активности глутатионпероксидазы, свидетельствующее об истощении данного компонента системы антиоксидантной защиты и снижении компенсаторно-приспособительных возможностей организма [2]. Нами также было исследовано содержание продуктов ПОЛ в сыворотке крови детей с БЛД (диенконъюгатов, диенкетонов и малонового диальдегида) и не обнаружено их повышения, что косвенно говорит об отсутствии интенсификации процессов ПОЛ [1].

Вышеизложенное и определило дальнейшее направление наших исследований, а именно изучение биофизических характеристик мембран, являющихся чувствительным индикатором свободнорадикальных процессов. В качестве простой и репрезентативной модели выбрана МЭ, так как ее структура является достаточно лабильной и чувствительной к процессам свободнорадикального окисления и может реагировать множеством обратимых и необратимых перестроек в липидных и белковых компонентах (Слобожанина Е.п., 1992).

Помимо этого популяция эритроцитов в периферической крови наиболее многочисленна, а продолжительность их жизни достаточна для отображения специфических изменений.

Цель исследования: изучить биофизические параметры мембран эритроцитов у детей с бронхолегочной дисплазией в стадии хронической болезни с помощью флуоресцентных зондов.

Материалы и методы. В исследование (2007-2008 гг.) включено 88 детей (М-54 и Д-34) в возрасте от 6 до 35 мес. Все обследуемые были распределены на три группы, каждая из которых состояла из детей двух возрастных периодов (6-12 мес. и 1-3 года). В основную группу вошло 38 (18 и 20, соответственно) детей с БЛД, находившихся под динамическим наблюдением в городском амбулаторном пульмонологическом кабинете на базе УЗ «3-ая городская детская клиническая больница» г. Минска; в контрольную группу – 31 (15 и 16, соответственно) ребенок, наблюдавшийся в городских детских поликлиниках г. Минска; в группу сравнения вошло 19 (8 и 11, соответственно) детей, находившихся на стационарном лечении в инфекционном отделении детей раннего возраста на базе УЗ «3-ая городская детская клиническая больница» г. Минска. С целью установления закономерностей изменения изучаемых параметров с возрастом 15 детям с БЛД 6-12 мес. исследование проводилось в динамике дважды с интервалом 8 (6/10) мес.: в возрастных периодах 6-12 мес. и 1-3 года. Таким образом, в группу БЛД 1-3 года вошло 35 (20+15) детей.

Критериями включения в исследование служили: дети с БЛД в стадии хронической болезни, не имеющие на момент осмотра клинико-лабораторных данных в пользу инфекционного процесса составили основную группу; практически здоровые дети, не болевшие по данным анамнеза и формы 112 в течение предшествующего обследованию месяца острыми инфекционными заболеваниями – контрольную группу; дети с клинико-рентгенологически подтвержденным диагнозом пневмония в первые 5 – 7 суток от начала заболевания – группу сравнения. Последняя сформирована с целью выявления возможных изменений биофизических свойств МЭ и их интенсивности при воспалительном процессе с локализацией в легких. Перед обследованием детей обязательным было получение информированного согласия от родителей на проведение дополнительных исследований.

Диагноз и степень тяжести БЛД верифицированы на основании критериев определения и классификации 2000 года [4].

Эритроциты отделяли от плазмы путем центрифугирования образцов крови при 3000g в течение 15 мин и трижды отмывали в 155 мМ растворе NaCl. МЭ выделяли по методу Доджа [8], а концентрацию белка (Сбелка) в них измеряли по модифицированному методу Лоури [3].

Изменение физического состояния липидного бислоя МЭ оценивали с помощью липофильных флуоресцентных зондов: 1-(4-триметиламмоний)-6 фенил-1,3,5 гексатриена (ТМА-ДФГ), 2-диметиламино-6-лауроилнафталина (лаурдана) и пирена. ТМА-ДФГ растворяли в тетрагидрофуране до концентрации 1 мМ, перед использованием разводили в 10 раз в 10 мМ трис-HCl буфере, pH=7,4. Конечная концентрация зонда в исследуемых образцах составляла 1,5 мкМ, а инкубация суспензии длилась 30 мин. при 37°C. Флуориметрические измерения ТМА-ДФГ проводили аналогично методу, описанному в работе Sokal A. et al. [5]. При проведении исследований с лаурданом использовали суспензию МЭ (Сбелка=0,4 мг/мл), конечная концентрация зонда в образцах составляла 1 мкМ. Интенсивность флуоресценции лаурдана измеряли при длинах волн 440 и 490 нм (Iвозб.=340 нм). Генерализованную поляризацию (GP) лаурдана рассчитывали как в работе Harris F.M. et al. [9]. Для связывания пирена к суспензии МЭ (Сбелка=0,1 мг/мл) в 15 мМ Na-фосфатном буфере pH 7,4 добавляли 10 мкл 1мМ его раствора в этаноле, и суспензию

инкубировали при $20 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 40 мин. После измерения интенсивности флуоресценции эксимерной (I_э) и мономерной (I_м) форм пирена при длинах волн 470 и 390 нм соответственно (I_{возб.}=330 нм) рассчитывали коэффициент эксимеризации пирена ($K_{экс} = I_{э}/I_{м}$).

Уровень SH-групп в МЭ определяли с помощью N-(1-пирен) малеида (ПМ) – зонда, флуоресцирующего при связывании с SH-группами белков. Для этого в суспензию МЭ (Сбелка=0,1 мг/мл) добавляли ПМ в конечной концентрации зонда 5 мкМ и инкубировали в течение 15 мин. при $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Измерения интенсивности флуоресценции ПМ (I_{фл} ПМ) проводили при длине волны 396 нм как в работе [6].

Спектрофотометрические измерения выполняли на спектрофотометре «Specord M-40» (Германия), а спектрофлуориметрические – на люминесцентном спектрофотометре SM2203 ("Солар", Беларусь).

Статистический анализ данных проводили с использованием коммерческого пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc., США). Результаты считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости менее 0,05. Описательная статистика качественных признаков представлена абсолютными частотами, а количественных признаков – в формате: среднее значение (среднеквадратичное отклонение) – M (s) или медиана (интерквартильный размах) – Me (LQ/UQ) в зависимости от вида распределения. Проверка гипотез о виде распределения количественных признаков осуществлялась с помощью критерия Шапиро-Уилка.

Результаты и обсуждение

Для изучения состояния липидного бислоя биологических мембран в норме и при патологии в настоящее время широко используются флуоресцентные зонды. Их преимущество состоит в том, что они связываются только с определенными специфичными для каждого зонда участками мембраны. Нами с целью комплексной оценки физического состояния мембранных липидов были выбраны зонды, распределяющиеся на разной глубине липидного бислоя. Помимо этого, для выявления возможных повреждений белкового компонента МЭ исследовался уровень SH-групп, по величине I_{фл} ПМ.

Одним из параметров, характеризующих физическое состояние липидного бислоя МЭ, является микровязкость. Об ее изменении можно судить по поляризации флуоресценции ТМА-ДФГ (РТМА-ДФГ), включенного в липидный бислой мембран клеток. Как известно, ТМА-ДФГ равномерно распределяется в мембране, встраиваясь в гидрофильные области полярных головок фосфолипидов [7]. Этот зонд обладает интенсивной флуоресценцией и чувствителен к физическому состоянию мембран, а значения РТМА-ДФГ прямопропорциональны микровязкости гидрофильной области липидного бислоя мембраны.

Параметры флуоресценции лаурдана используются для выявления изменений в упорядоченности фосфолипидов. Показано, что амфифильный флуоресцентный зонд лаурдан встраивается в мембрану в гидрофильно-гидрофобной области липидного бислоя, при этом остаток лауриновой кислоты располагается в области углеводородных цепочек жирных кислот фосфолипидов, а его флуоресцентный нафталиновый остаток находится на уровне их полярных головок [10]. По значениям GP лаурдана можно составить представление о микровязкости мембраны в гидрофильно-гидрофобной области липидного бислоя.

Считается, что $K_{экс}$ пирена зависит от скорости латеральной диффузии зонда в гидрофобном компартменте липидного бислоя мембраны и поэтому его изменение может говорить о подвижности жирнокислотных цепей. Значения $K_{экс}$ пирена находятся в

обратной зависимости от микровязкости гидрофобной области липидного бислоя мембраны.

Для объективной оценки полученных результатов проведению статистического анализа по изучаемым параметрам предшествовало сравнение групп по возрасту (критерий Краскела-Уоллиса) и полу (анализ таблиц сопряженности с использованием критерия χ^2 Пирсона). Статистически значимых различий по вышеуказанным показателям для групп БЛД-контрольная-сравнения в возрастном периоде 6-12 мес. (возраст $p=0,55$; пол $p=0,59$), и БЛД-контрольная-сравнения в возрастном периоде 1-3 года (возраст $p=0,78$; пол $p=0,72$) нами не выявлено (табл. 1, 2). Полученные данные указывают на сопоставимость групп по возрасту и полу, что позволяет проводить дальнейший анализ.

Таблица 1. Параметры флуоресценции зондов, включенных в изолированные мембраны эритроцитов обследованных детей в возрасте 6-12 мес. [M(s); Me(LQ/UQ)]

Показатели	Группы		
	БЛД	Контрольная	Сравнения
Число детей, n	18	15	8
Возраст, мес.	9 (7/11)	7 (7/11)	10 (8/10,5)
Пол, м/д	9/9	10/5	4/4
РТМА-ДФГ, отн. ед.	0,41 (0,04)	0,42 (0,03)	0,39 (0,04)
Кэкс. пирена, отн. ед.	1,56 (1,12/ 1,85)*	0,83 (0,63/ 0,96)*, **	1,17 (1,10/ 1,57)**
GP лаурдана, отн. ед.	0,35 (0,31/ 0,37)	0,33 (0,31/ 0,38)	0,35 (0,30/ 0,37)
Ифл. ПМ, отн. ед.	1,0 (0,19)	0,88 (0,21)	0,88 (0,25)

Примечание

- * - статистически значимые различия между группами БЛД и контрольной
- ** - статистически значимые различия между группами сравнения и контрольной

Нами проведено сопоставление групп БЛД-контрольная-сравнения в возрасте 6-12 мес. (параметрический однофакторный дисперсионный анализ вариаций или критерий Краскела-Уоллиса, в зависимости от вида распределения) по параметрам флуоресценции липофильных зондов, а также ПМ, включенных в изолированные МЭ (табл. 1). Статистически высокосignимые различия получены по показателю Кэкс. пирена ($p<0,001$), в то время как по показателям РТМА-ДФГ ($p=0,28$; для критерия Левена $p=0,09$), GP лаурдана ($p=0,85$) и Ифл. ПМ ($p=0,21$; для критерия Левена $p=0,61$) статистически значимых различий нами не обнаружено. При дальнейшем внутригрупповом анализе (критерий Манна-Уитни) по показателю Кэкс. пирена (рис. 1) статистически высокосignимые различия выявлены между группами БЛД-контрольная ($p<0,001$) и сравнения-контрольная ($p=0,006$), а их отсутствие – между группами БЛД-сравнения ($p=1,0$).

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о снижении микровязкости, то есть о повышении текучести гидрофобной области липидного бислоя МЭ у детей с БЛД и у детей с пневмонией в возрасте 6-12 мес.

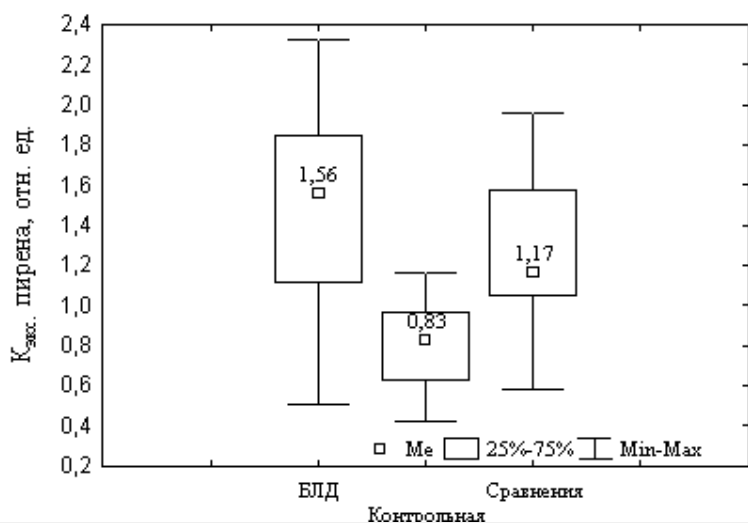


Рис. 1 Значения Кэкс. пирена, включенного в изолированные мембраны эритроцитов детей групп в возрасте 6-12 мес. обследуемых

В таблице 2 представлены параметры флуоресценции липофильных зондов, а также ПМ, включенных в изолированные МЭ детей в возрасте 1-3 года. Для выявления различий в значениях изучаемых показателей проведено сопоставление групп БЛД-контрольная-сравнения (критерий Краскела-Уоллиса или медианный тест). Статистически значимые различия получены по трем показателям: РТМА-ДФГ ($p=0,016$), Кэкс. пирена ($p=0,02$) и Ифл. ПМ ($p=0,007$); а по показателю GP лаурдана ($p=0,93$) статистически значимых различий нами не обнаружено. Последующий внутригрупповой анализ (критерий Манна-Уитни) установил статистически значимые различия по показателям РТМА-ДФГ (между группами БЛД-сравнения $p=0,016$ и сравнения-контрольная $p=0,004$), Кэкс. пирена (между группами БЛД-контрольная $p=0,01$ и сравнения-контрольная $p=0,02$) и Ифл. ПМ (между группами сравнения-контрольная $p=0,007$), и их отсутствие по показателям РТМА-ДФГ (между группами БЛД-контрольная $p=0,6$), Кэкс. пирена (между группами БЛД-сравнения $p=0,74$) и Ифл. ПМ (между группами БЛД-контрольная $p=0,4$ и БЛД-сравнения $p=0,1$).

Таблица 2. Параметры флуоресценции зондов, включенных в изолированные мембраны эритроцитов обследованных детей в возрасте 1-3 года [Me(LQ/UQ)]

Показатели	Группы		
	БЛД	Контрольная	Сравнения
Число детей, n	35	16	11
Возраст, мес.	19 (16/25)	19 (14,5/ 22,5)	17 (14/29)
Пол, м/д	20/15	11/5	7/4
РТМА-ДФГ, отн. ед.	0,42 (0,37/ 0,43)#	0,42 (0,39/ 0,44)**	0,37 (0,36/ 0,38)**,#
Кэкс. пирена, отн. ед.	0,96 (0,78/ 1,09)*	0,76 (0,63/ 0,86)*,**	0,89 (0,84/ 1,09)**
GP лаурдана, отн. ед.	0,34 (0,31/ 0,38)	0,34 (0,32/ 0,36)	0,35 (0,30/ 0,38)
Ифл. ПМ, отн. ед.	0,90 (0,75/ 1,40)	0,89 (0,75/ 0,95)**	1,08 (1,04/ 1,34)**

Примечание

1. * - статистически значимые различия между группами БЛД и контрольной
2. ** - статистически значимые различия между группами сравнения и контрольной

3. # - статистически значимые различия между группами БЛД и сравнения

В результате проведенных исследований у детей с БЛД в возрасте 1-3 года установлено снижение микровязкости гидрофобной области липидного бислоя МЭ (рис. 2). У детей с пневмонией аналогичные изменения выявлены в гидрофильной и гидрофобной областях и, помимо этого, отмечено повышение количества SH-групп по отношению к значениям контрольной группы и БЛД.

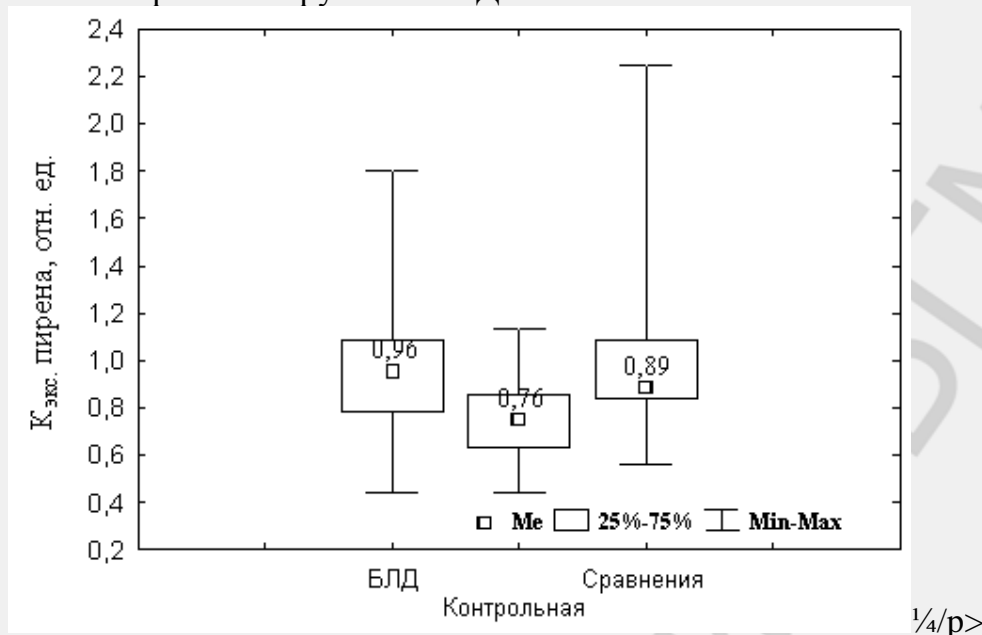


Рис. 2 Значения Кэкс. пирена, включенного в изолированные мембраны эритроцитов детей обследуемых групп в возрасте 1-3 года.

С целью изучения особенностей изменения биофизических параметров МЭ детей с БЛД в зависимости от степени тяжести (табл. 3), нами проведено сопоставление подгрупп БЛД легкой – средней и тяжелой степеней тяжести (критерий Манна-Уитни), которое не обнаружило статистически значимых различий по изучаемым параметрам в возрастном периоде 6-12 мес. (РТМА-ДФГ, $p=0,33$; Кэкс. пирена, $p=0,42$; GP лаурдана, $p=0,53$; Ифл. ПМ $p=0,35$) и возрастном периоде 1-3 года (РТМА-ДФГ, $p=0,2$; Кэкс. пирена, $p=0,44$; GP лаурдана, $p=0,08$; Ифл. ПМ, $p=0,95$). Данный факт указывает на однонаправленность изменений биофизических свойств МЭ у детей с БЛД в возрасте 6 мес.–3 года вне зависимости от степени тяжести заболевания.

Таблица 3. Параметры флуоресценции зондов, включенных в изолированные мембраны эритроцитов детей с БЛД в возрасте 6-12 мес. и 1-3 года в зависимости от степени тяжести [Me(LQ/UQ)]

Показатели	Группы / степени тяжести			
	БЛД 6-12 мес.		БЛД 1-3 года	
	Легкая	Средняя и тяжелая	Легкая	Средняя и тяжелая
Число детей, n	10	8	18	17
РТМА-ДФГ, отн. ед.	0,39 (0,38/0,42)	0,42 (0,39/ 0,45)	0,42 (0,41/ 0,43)	0,42 (0,36/ 0,43)
Кэкс. пирена, отн. ед.	1,5 (1,12/1,83)	1,59 (1,11/ 1,90)	1,02 (0,77/ 1,17)	0,95 (0,88/ 0,98)
GP лаурдана, отн. ед.	0,35	0,35	0,35	0,32

	(0,30/0,37)	(0,32/ 0,35)	(0,33/ 0,39)	(0,31/ 0,36)
Ифл. ПМ, отн. ед.	1,08 (0,92/1,17)	0,93 (0,90/ 1,06)	0,92 (0,76/ 1,26)	0,89 (0,75/ 1,42)

Согласно литературным данным микровязкость мембран является интегральным показателем, зависящим от нескольких компонентов: ненасыщенности липидов, содержания холестерина, фосфолипидного состава и количества белка, внедренного в мембрану. Установлено, что увеличение ненасыщенности липидов (повышение числа двойных связей) ведет к повышению текучести мембран. При этом особенно значимым является появление первой двойной связи в липидной молекуле, а с увеличением степени ненасыщенности эффект прогрессивно снижается. Доказано, что в условиях оксидантного стресса наиболее уязвимыми и подверженными окислительной модификации в липидном бислое мембраны являются полиненасыщенные жирные кислоты, кроме того возможно вовлечение в данный процесс и белкового компонента мембраны, выражающееся в снижении уровня SH-групп.

В настоящем исследовании у детей с БЛД и пневмонией такой закономерности нами не обнаружено. Поэтому, выявленные изменения указывают на отсутствие интенсификации процессов ПОЛ и окислительной модификации белкового компонента мембран у детей с БЛД в стадии хронической болезни и пневмонией в указанный возрастной период, что полностью согласуется с нашими предыдущими исследованиями [1, 2].

Доказано, что в результате повреждения легких у детей с БЛД их строение характеризуется необратимыми изменениями: фиброзом, эмфиземой, облитерирующим бронхиолитом, измененной капиллярной конфигурацией и адаптивным дисморфным принципом васкулярного строения, а также задержкой альвеологенеза, ведущей к упрощенному строению ацинусов. У детей с пневмонией, за счет вовлеченных в процесс отделов легких, нарушено вентиляционно-перфузионное соотношение, снижена общая площадь газообмена и диффузионная способность в области альвеолокапиллярного перехода. Вышеперечисленное как у детей с БЛД, так и у детей с пневмонией приводит к напряженности функционирования кардиореспираторной системы и включению ряда компенсаторных механизмов, направленных на поддержание гомеостаза. Понижение микровязкости МЭ улучшает вязко-эластические и реологические их свойства, способность к деформации и, тем самым, облегчает микроциркуляцию. Таким образом, выявленные нами изменения в биофизическом состоянии МЭ можно трактовать, как компенсаторно-приспособительную реакцию системы эритрона, направленную на оптимизацию и облегчение газообмена в легких детей с БЛД и пневмонией.

Для выявления закономерностей изменения изучаемых параметров у детей с БЛД в стадии хронической болезни с возрастом (табл. 4) нами был проведен анализ их значений в группах 6-12 мес. и 1-3 года (критерий Манна-Уитни), который обнаружил статистически высокосignificantные различия по показателю Кэкс. пирена ($p < 0,001$), и их отсутствие по показателям РТМА-ДФГ ($p = 0,71$), GP лаурдана ($p = 0,74$) и Ифл. ПМ ($p = 0,51$).

Таблица 4. Параметры флуоресценции зондов, включенных в изолированные мембраны эритроцитов детей с БЛД в зависимости от возраста [Me(LQ/UQ)]

Группы	Показатели					Ифл. ПМ, отн. ед.
	Число детей, n	РТМА-ДФГ, отн. ед.	Кэкс. пирена, отн. ед.	GP лаурдана, отн. ед.	ПМ, отн. ед.	

БЛД 6-12 мес.	18	0,40 (0,38/ 0,43)	1,56 (1,12/ 1,85)*	0,35 (0,31/ 0,37)	0,99 (0,90/ 1,15)
БЛД 1-3 года	35	0,42 (0,37/ 0,43)	0,96 (0,78/ 1,09)*	0,34 (0,31/ 0,38)	0,90 (0,75/ 1,40)

Примечание – * -статистически значимые различия между группами БЛД 6-12 мес. и 1-3 года

идентичная закономерность (t-критерий Стьюдента для зависимых групп, учитывая условия его применимости, или критерий Вилкоксона, в зависимости от вида распределения) выявлена при обследовании в динамике 15 детей с БЛД (табл. 5) по показателям Кэкс. пирена ($p < 0,001$; для критерия Левена $p = 0,2$), РТМА-ДФГ ($p = 0,16$), GR лаурдана ($p = 0,07$) и Ифл. ПМ ($p = 0,6$).

Таблица 5. Параметры флуоресценции зондов, включенных в изолированные мембраны эритроцитов детей с БЛД в динамике [M(s); Me(LQ/UQ)]

Группы	Показатели				
	Число детей, n	РТМА-ДФГ, отн. ед.	Кэкс. пирена, отн. ед.	GR лаурдана, отн. ед.	Ифл. ПМ, отн. ед.
БЛД (первично)	15	0,39 (0,38/ 0,42)	1,57 (0,39)*	0,35 (0,34/ 0,37)	0,98 (0,89/ 1,17)
БЛД (повторно)	15	0,42 (0,41/ 0,43)	0,83 (0,28)*	0,37 (0,34/ 0,42)	0,81 (0,74/ 1,22)

Примечание – * - статистически значимые различия между группами БЛД первично – повторно

На основании полученных результатов, у детей с БЛД отмечается снижение значений Кэкс. пирена с возрастом, что говорит о повышении микровязкости гидрофобных слоев липидного бислоя МЭ, однако ее значения остаются более низкими по отношению к показателям здоровых детей. Данную закономерность можно связать с тем, что рост легких у детей продолжается постнатально с наибольшей интенсивностью в первые годы жизни, что приводит к образованию новых ацинусов, берущих на себя часть газообменной функции. Действительно, у большинства детей с БЛД в стадии хронической болезни к концу первого года жизни в клинической картине заболевания наступает заметное улучшение и, возможно, обнаруженная нами компенсаторно-приспособительная реакция системы эритрона, направленная на облегчение газообмена, утрачивает свою изначальную физиологическую целесообразность.

Таким образом, по результатам исследования биофизических свойств МЭ детей с БЛД в стадии хронической болезни в возрасте от 6 мес. до 3 лет, сделаны следующие выводы:

1. Не обнаружено интенсификации процессов ПОЛ и окислительной модификации белкового компонента мембран.
2. Установлено снижение микровязкости гидрофобной области липидного бислоя МЭ, которое рассматривается как компенсаторно-приспособительная реакция, направленная на оптимизацию и облегчение газообмена в легких. С возрастом отмечается

ее повышение. Данный факт указывает на то, что выявленная реакция утрачивает свою изначальную физиологическую целесообразность.

3. Выявлена однонаправленность изменений параметров флуоресценции зондов, включенных в изолированные МЭ, вне зависимости от степени тяжести заболевания.

Литература

1. Козарезов, С. Н. Состояние перекисного окисления липидов и уровень витаминов А и Е у детей с бронхолегочной дисплазией в стадии хронической болезни / С. Н. Козарезов [и др.] // Актуальные проблемы педиатрии: сб. Материалов XVI съезда педиатров России. М., 2009. С. 186–187.

2. Состояние ферментного звена системы антиоксидантной защиты у детей с бронхолегочной дисплазией в стадии хронической болезни / С. Н. Козарезов [и др.] // Медицинский журнал. 2009. № 1 (27). С. 61–64.

3. A modification of the Lowry procedure to simplify protein determination in membrane and lipoprotein sample / M.A.K. Markwell, S.M. Haas, N.E. Tolbert // *Analyt. Biochem.* 1978. Vol. 87. № 2. P. 206–210.

4. Bronchopulmonary Dysplasia / A.H. Jobe, E. Bancalari // *Am. J. Crit. Care Med.* 2001. Vol. 163. P. 1723–1729.

5. Is the glutathione S-conjugate pump a flippase / A. Sokal [et al.] // *Biochemistry and molecular Biology international.* 1998. Vol. 44. № 1. P. 97–105.

6. Lead-induced changes in human erythrocytes and lymphocytes / M. Sharma, P.G. Joshi, N.B. Joshi // *Radiat. Phys. Chem.* 1997. Vol. 49. № 1. P. 141–143.

7. Plasma membrane fluidity and polarity of polymorphonuclear leukocytes from children with type I diabetes mellitus / A. Kantar [et al.] // *J. Diabetes Complications.* 1999. Vol. 13. P. 243–250.

8. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin – free ghosts of human erythrocytes / G.T. Dodge, C. Mitchell, D.J. Hanahan // *Arch. Biochem. Biophys.* 1963. Vol. 100. № 2. P. 119–130.

9. Use of laurdan fluorescence intensity and polarization to distinguish between changes in membrane fluidity and phospholipid order / F.M. Harris, K.B. Best, J.D. Bell // *Biochim. Biophys. Acta.* 2002. Vol. 1565. P. 123–128.

10. Water dynamics in glycosphingolipids aggregates studied by Laurdan fluorescence / L.A. Bagatolli, L.A. Gratton, G.D. Fidelio // *Biophys. J.* 1998. Vol. 75. P. 331–341