

Тепленький М.П., Кузнецова Е.И., Чепелева М.В., Спиркина Е.С., Лунева С.Н., Гасанова А.Г., Матвеева Е.Л.

КИСЛОРОДЗАВИСИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС У ДЕТЕЙ ПРИ ОСТЕОХОНДРОПАТИИ ГОЛОВКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ

ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» имени академика Г. А. Илизарова», Минздрава РФ, 640014, Курган, Россия

Дегенеративно-дистрофические процессы в суставных тканях сопровождаются изменениями показателей врожденного иммунитета, что является следствием иммунных реакций на асептическое воспаление. Цель настоящего исследования – изучить кислородзависимые механизмы фагоцитарной активности нейтрофилов (НСТ-тест, активности миелопероксидазы), биохимические показатели перекисного окисления липидов, окислительной модификации белков и активности ферментов антиоксидантной защиты у детей (в возрасте 12 – 16 лет) с остеохондропатией головки бедренной кости. В обследованной группе было выявлено повышение спонтанного НСТ-теста и содержание миелопероксидазы в нейтрофилах, снижение индекса стимуляции НСТ, а также статистически значимое повышение активности супероксиддисмутазы, основного продуцента гидропероксида. При этом, не обнаружено увеличение активности каталазы и содержания продуктов липопероксидации, однако, выявлено перераспределение продуктов окислительной модификации белков с преобладанием кетонов. При развитии у детей остеохондропатии наблюдается активация кислородзависимых механизмов фагоцитарной активности нейтрофилов, возрастает количество вторичных продуктов пероксидации белков – кетонов. Увеличение активности СОД, при одновременном и достоверном снижении активности каталазы свидетельствует о накоплении гидропероксида вызывающей активизацию и хемотаксис нейтрофилов. Данные исследования можно использовать для прогнозирования развития остеонекроза в качестве дополнительных критериев при принятии решения о целесообразности выполнения реконструктивных операций на суставе.

Ключевые слова: остеохондропатия головки бедренной кости; фагоцитарная активность нейтрофилов; НСТ-тест; миелопероксидаза; малоновый диальдегид; диеновые конъюгаты; каталаза; супероксиддисмутаза.

Для цитирования: Тепленький М.П., Кузнецова Е.И., Чепелева М.В., Спиркина Е.С., Лунева С.Н., Гасанова А.Г., Матвеева Е.Л. Кислородзависимые механизмы и окислительный стресс у детей при остеохондропатии головки бедренной кости. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (10): 594-598. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-10-594-598>

Teplen'kiy M.P., Kuznetsova E.I., Chepeleva M.V., Spirkina E.S., Luneva S.N., Gasanova A.G., Matveeva E.L.

OXYGEN-DEPENDENT MECHANISMS AND OXIDATIVE STRESS IN CHILDREN FOR FEMORAL HEAD OSTEOCHONDROPATHY

FSBI Russian Ilizarov Scientific Centre "Restorative Traumatology and Orthopaedics" of the RF Ministry of Health, 640014, Kurgan, Russian Federation

Degenerative-dystrophic processes in the articular tissues are accompanied by the changes in the values of congenital immunity, being a result of immune responses to aseptic inflammation. The purpose of this study – to investigate the oxygen-dependent mechanisms of neutrophil phagocytic activity (NBT-test, myeloperoxidase activity), the biochemical values of lipid peroxidation, the oxidative modification of proteins and the activity of enzyme antioxidant protection in children (at the age of 12-16 years) with osteochondropathy of the femoral head. The increase in spontaneous NBT-test and myeloperoxidase content in neutrophils, the decrease in NBT stimulation index, as well as the statistically significant increase in the activity of superoxide dismutase, the main producer of hydroperoxide, was revealed in the group examined. At the same time, no increase in catalase activity and in the content of lipoperoxidation products was observed, however, redistribution of the products of oxidative modification of proteins with ketone predominance was found. In case of osteochondropathy development in children the activation of the oxygen-dependent mechanisms of neutrophil phagocytic activity is observed, as well as the increase in the number of the secondary products of protein peroxidation – ketones. An increase in SOD activity, with a simultaneous and significant decrease in catalase activity evidence of accumulation of hydroperoxide causing neutrophil activation and chemotaxis. The study data can be used for predicting osteonecrosis development as additional criteria when decision-making of the advisability of performing reconstructive surgeries of the joint.

Key words: osteochondropathy of the femoral head; neutrophil phagocytic activity; NCT – test; myeloperoxidase; malondialdehyde; diene conjugates; catalase; superoxide dismutase.

For citation: *Teplen'kiy M.P., Kuznetsova E.I., Chepeleva M.V., Spirkina E.S., Luneva S.N., Gasanova A.G., Matveeva E.L. Oxygen-dependent mechanisms and oxidative stress in children for femoral head osteochondropathy. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (10): 594-598. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-10-594-598>*

For correspondence: *Kuznetsova E.I.*, Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics; e-mail: citoz@mail.ru

Information about authors:

Teplenkiy M.P., ORCID iD <https://orcid.org/0000-0002-1973-5192>

Kuznetsova E. I., ORCID iD <https://orcid.org/0000-0001-8022-5696>

Chepeleva M. V., ORCID iD <https://orcid.org/0000-0002-9731-115X>

Spirkina E.S., ORCID iD <https://orcid.org/0000-0003-2506-2657>

Luneva S.N., ORCID iD <https://orcid.org/0000-0002-0578-1964>

Gasanova A.G., ORCID iD <https://orcid.org/0000-0001-7734-2808>

Matveeva E.L., ORCID iD <https://orcid.org/0000-0002-7444-2077>

Conflict of interests. *The authors declare absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 05.07.2019

Accepted 20.07.2019

Введение. Несмотря на полиэтиологичный характер, ключевым моментом развития патологии признается нарушение кровоснабжения в головке бедра, ведущее к прогрессированию ишемического некроза [1]. Травмы, инфекции микробной и вирусной этиологии, гормональные перестройки в переходном возрасте могут служить пусковым механизмом для развития у детей остеохондропатии головки бедренной кости (ОГБК) [2, 3]. Установлено, что дегенеративно – дистрофические процессы в суставных тканях сопровождаются изменениями показателей иммунитета, что является следствием иммунных реакций на асептическое воспаление [4-6]. Ключевую роль в первую фазу иммунного ответа при воспалительных процессах как инфекционного, так и неинфекционного генеза играют нейтрофилы, одной из главных функций которых является уничтожение и элиминация опсонированных клеток при помощи высокоактивных ферментов и кислородных радикалов. На окружающие ткани лизосомальные продукты активированных нейтрофилов оказывают повреждающее воздействие [7]. Возможно, развивающаяся при этом гипоксия вызывает дисбаланс в реализации свободнорадикальных реакций и системе перекисного окисления липидов (ПОЛ) – антиоксидантная система (АОС). По мнению ряда авторов, определенную роль в развитии болезни играет оксидантный стресс и снижение защитной функции АОС.

Целью исследования являлось исследование показателей перекисидации, НСТ-теста, активности миелопероксидазы и ферментов антиоксидантной защиты у детей с остеохондропатией головки бедренной кости.

Материал и методы. Основу исследования составили результаты, полученные при предоперационном иммунологическом обследовании 18 пациентов с ОГБК. Критерии включения: 12 - 16 лет (13,5 (12,0;14,5), мужской пол, IV стадия по Waldenstrom, коксартроз 0-I степени по Tonnis, отсутствие острых и хронических заболеваний, которые могли бы оказать влияние на результаты исследования. Критерии исключения: I - III стадия по Waldenstrom, коксартроз II-III степени. Для всех пациентов был характерен болевой синдром, умеренно выраженный, связанный с нагрузкой. В 5 случаях наблюдалось нарушение походки в виде прихрамывания, в 13 случаях - хромота без использования дополнительных средств опоры. Во всех наблюдениях отмечен положительный симптом Тренделенбурга III типа, положительный RIM синдром. Во всех суставах диагностировано ограничение внутренней ротации и отведения, которые в 7 случаях сочетались с дефицитом сгибания до 90 - 100°. Величина относительного укорочения составляла 1 - 3 см. Объектом исследования послужила кровь из локтевой вены, взятая натощак. Контрольную группу составили

12 практически здоровых подростков аналогичного возраста и пола.

Метаболическую активность нейтрофилов оценивали в реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест) по методу Park, в двух вариантах: спонтанном и стимулированном. В качестве стимулятора использовали микробную тест - культуру *Staphylococcus epidermidis* штамм № 9198 «НИИЭМ» СЗО РАМН. Активность миелопероксидазы (МП) определялась по Грехему – Кнолю. Уровень МП выражали в виде среднего цитохимического коэффициента (СЦК). Окраску препаратов осуществляли по Романовскому – Гимзе. Учет результатов проводился при помощи светового микроскопа Axio Lab.A 1 (Karl Zeiss MicroImaging GmbH; объектив 100 (МИ), окуляр 12,5x) с использованием иммерсии.

Общее количество белка (ОБ) измеряли методом количественного определения белков с помощью биуретовой реакции. Метод определения окислительной модификации белков в сыворотке крови основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков с 2,4-динитрофенилгидразином, путем осаждения белка с последующим растворением осадка. Концентрацию альдегидов (ОМБ₂₇₀ первичные продукты) и кетонов (ОМБ₃₆₃₊₃₇₀ вторичные продукты) выражали в единицах оптической плотности на мг белка [8]. Среди первичных механизмов повреждения клеток при окислительном стрессе исследованы промежуточные вещества продуктов липопероксидации - первичные продукты - диеновые конъюгаты (ДК). Расчет содержания первичных продуктов ПОЛ проводили спектрофотометрическим методом, который представлен разностью оптической плотности между опытной и контрольной пробами [9]. Определение концентрации вторичных продуктов липопероксидации - малоновый диальдегид (МДА) основан на реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой, которая при высокой температуре образует окрашенный триметиповый комплекс и имеет максимум поглощения при 532 нм. Концентрацию первичных и вторичных продуктов перекисного окисления рассчитывали на мг общих липидов, которые определяли колориметрическим методом с использованием ортофосфорной кислоты. Основной функцией фермента каталазы является освобождение клетки от избытка перекиси водорода, которая образуется при многих окислительно-восстановительных процессах. Активность фермента каталазы определяли по скорости разрушения перекиси водорода [10]. Определение активности фермента антиоксидантной системы супероксиддисмутазы (СОД) проводилось в супернатантах гемолизатов эритроцитов, приготовленных по методу Nishikimi N. et al. (1972) [11]. Данный метод определения активности СОД основан на способности фермента, тормозить

автоокисление адреналина. Результаты определения липопероксидации и окислительной модификации белков были представлены в виде расчетного коэффициента суммы и отношений. Показателями нормы служили данные, полученные при исследовании крови у 10 здоровых детей в возрасте 13,0 лет. Лечение и обследования пациентов проводились квалифицированным персоналом при использовании сертифицированного оборудования в соответствии с принятыми на территории Российской Федерации стандартами. Все исследования проведены в соответствии с этическими стандартами Хельсинкской

декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками. Всеми пациентами и их законными представителями было подписано информированное согласие на публикацию данных, полученных в результате исследований, без идентификации личности.

Результаты исследования представлены в виде медианы 1 – го и 3 – го квартилей (Me [Q1;Q3]). Межгрупповые сравнения проводили с использованием рангового метода Манна – Уитни. Исходный уровень альфа для принятия или отклонения нулевой гипотезы в настоящем исследовании был принят равным 0,05.

Результаты. Исследование количества нейтрофилов показало тенденцию к их увеличению в группе с ОГБК в сравнении с контрольной группой. Между тем статистически достоверных межгрупповых отличий мы не выявили (рис. 1).

В сравнении с показателями контрольной группы, у подростков с ОГБК отмечалось статистически значимое повышение спонтанного НСТ - теста, позволяющего оценить состояние кислородзависимого механизма бактерицидности фагоцитов крови *in vitro* (рис. 2).

Исследование стимулированного НСТ-теста, который позволяет получить информацию о функциональном резерве фагоцитов, достоверных отличий между контрольной и опытной группами не выявило (рис. 3).

Вследствие повышенных значений спонтанного НСТ - теста, индекс стимуляции НСТ в группе с ОГБК оказался статистически значимо ниже, чем в контрольной группе, что свидетельствовало о сниженном кислородзависимом потенциале нейтрофильных фагоцитов при данной патологии (рис. 4).

Важную роль в образовании АФК (активных форм кислорода) играет миелопероксидаза (МП), являющаяся катализатором реакций, продуктами которых становятся гипохлорит, реактивные производные азота, свободные радикалы, и т. д., участвующие в процессах перекисного окисления липидов.

Главной функцией МП является противомикробная защита, при этом МП способна оказывать повреждающее влияние на собственные ткани организма [12]. Согласно результатам наших исследований, активность МП у пациентов с ОГБК достоверно превышала значения контрольной группы (рис. 5).

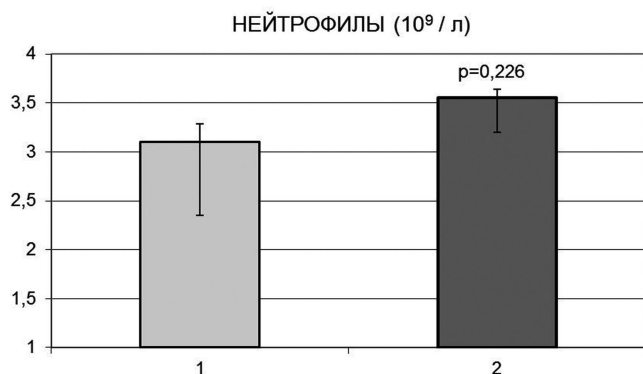


Рис. 1 Содержание нейтрофилов в периферической крови у пациентов с ОГБК (10⁹/л).

Здесь и на рис. 2-5: 1 – контрольная группа; 2 – ОГБК.

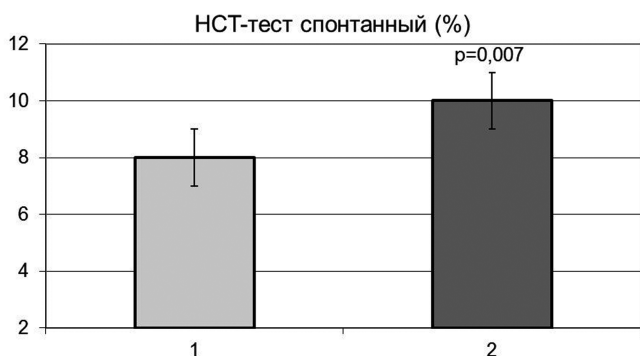


Рис. 2 Кислородзависимая активность нейтрофилов крови (НСТ-тест спонтанный) (в %).

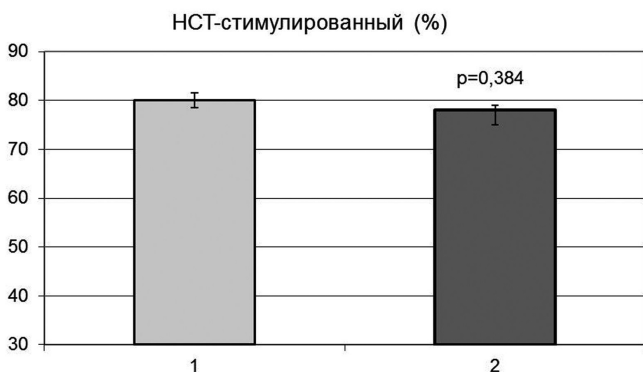


Рис. 3 Кислородзависимая активность нейтрофилов крови (НСТ-тест стимулированный) (в %).

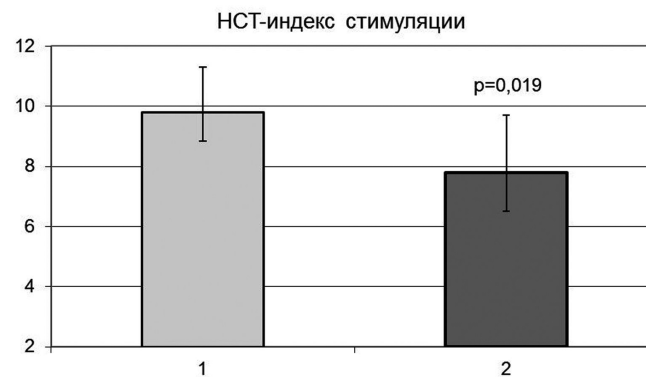


Рис. 4 Индекс стимуляции НСТ-теста.

Сравнительный анализ результатов определения показателей ПОЛ, ОМБ и активности ферментов антиоксидантной защиты проводили, сопоставляя данные полученные в группе пациентов с ОГБК и показателями группы здоровых детей. Изменения в сыворотке крови, связанные с показателями перекисидации и активностью антиоксидантных ферментов, оценивали, представив данные в таблице.

По сравнению с группой контроля у детей с ОГБК не выявлено накопления продуктов ПОЛ [ДК+МДА] или ОМБ [Альдегиды+Кетоны]. Однако, отношения между первичными и вторичными продуктами перекисидации [ДК/МДА и Альдегиды/Кетоны] изменены. Если в отношении ПОЛ доля первичных продуктов изменяется не достоверно, то в ОМБ отношение альдегидов к кетонам уменьшается статистически значимо, что говорит о преобладании вторичных продуктов ОМБ. Соответственно, концентрация кетонов – вторичных продуктов ОМБ - возрастает. Наиболее существенные изменения нами обнаружены в отношении активности ключевых ферментов антиоксидантов. Активность каталазы оказалась снижена более чем в 4 раза, но активность супероксиддисмутазы повышена в 1,7 раза.

Известно, что окислительно - восстановительные процессы являются физиологической основой жизнедеятельности клетки. В результате влияния многочисленных раздражителей на мембраны фагоцитов происходит развитие метаболических реакций, в результате которых образуются первичные и вторичные метаболиты активированного кислорода, обладающие высокой цитотоксической активностью в отношении не только микробных клеток, но и собственных тканей организма, включая костную [13]. Итогом воспаления любой этиологии, включая асептическое, становится повышение показателей кислородзависимой фагоцитарной активности нейтрофилов.

Обсуждение. Дистрофические, воспалительные и некротические изменения при ОГБК описаны во всех элементах тазобедренного сустава: в структуре кости, в артикулярных и параартикулярных тканях. Существует мнение о наличии связи этих нарушений с патологией системы перекисидации и антиоксидантной защиты [14]. Как правило, при ОГБК, параметры метаболитов перекисидации оказываются повышенными, однако, связь с определенным звеном развития патологии пока не установлена. Продукты перекисидации вовлечены в ши-

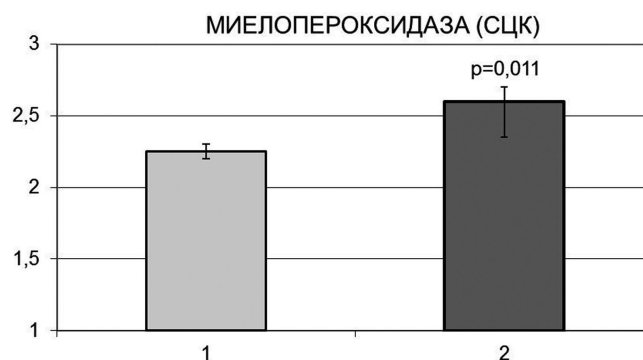


Рис. 5. Активность миелопероксидазы в нейтрофилах (СЦК).

рокий диапазон патологических процессов: их избыток способствует нарушению проницаемости мембран и меняет каталитическую активность ферментов. По данным ряда авторов при остеоэкрозе наблюдается увеличение концентрации продуктов перекисидации, что не противоречит полученным нами данным, но дополняется данными об увеличении концентрации продуктов окислительной модификации белков. Оценка активности ферментов АОС показала изменения в активности ферментативного ансамбля СОД - каталаза. СОД катализирует превращение супероксидного анионрадикала с образованием пероксида водорода и кислорода, каталаза катализирует разложение пероксида водорода до воды. Снижение степени мобилизации гидропероксида в условиях интенсивности свободнорадикальных процессов свидетельствует о ее накоплении в тканях, что способствует активации кислородзависимых механизмов фагоцитарной активности нейтрофилов [15].

Несмотря на отсутствие активного воспаления в тканях пораженного сустава и отсутствие сопутствующей соматической патологии, которая смогла бы оказать влияние на механизмы бактерицидности фагоцитов, у пациентов с ОГБК отмечается усиление кислородзависимой фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови. По нашему мнению, активация кислородзависимого метаболизма в тканях тазобедренного сустава при данной патологии является вторичной и, возможно,

Перекисное окисление липидов и карбонилирование белков под действием окислительного стресса (медиана и интерквартильные размахи)

Показатель	Норма (n=10)	Патология (n=8)
Общие липиды, г/л	7,75 (7,17;8,28)	7,29 (6,52;8,01)
Диеновые конъюгаты нмоль/г ол	5,37 (4,62;6,39)	4,92 (4,34;6,34)
Малоновый диальдегид нмоль/г ол	2,88 (2,39;3,26)	2,65 (2,48;3,06)
ДК+МДА	8,88 (7,17;11,24)	8,61 (7,08;9,28)
ДК/МДА	2,06 (1,15;2,36)	1,58 (1,45;2,18)
Общий белок г/л	72,40 (70,18;75,75)	71,20 (65,30;73,25)
Альдегиды ОМБ ед.опт.пл./ г ОБ	0,22 (0,18;0,23)	0,16 (0,13;0,19)
Кетоны ОМБ ед.опт.пл./ г ОБ	0,014 (0,012;0,015)	0,016 (0,015;0,023) ^{0,01}
Альдегиды+Кетоны	0,23 (0,20;0,24)	0,19 (0,14;0,21)
Альдегиды/Кетоны	15,69 (14,01;16,57)	7,14 (6,69;11,50) ^{0,001}
Каталаза мкатал/ г ОБ	6,92 (4,64;9,15)	1,58 (0,27;1,79) ^{0,01}
СОД мкМ НСТ 10 ⁹ эр/мин	30,95 (28,07;34,29)	52,21(35,99;52,99) ^{0,05}

Примечание: * - статистически значимые различия между группами на 0,01, 0,05, 0,001.

обусловлена вызванными асептическим воспалением, развившимся в результате остеонекроза свободнорадикальными процессами в системе ПОЛ-АОЗ, и накоплением в результате этих процессов гидропероксида [16].

В свою очередь повышение образования кислородных метаболитов нейтрофилами, избыточное их выделение во внеклеточное пространство может способствовать дальнейшему разрушению костного матрикса и эндотелия сосудов в суставных тканях, создавая тем самым, порочный круг, негативно влияющий на течение заболевания.

Заключение. Следовательно, определение показателей НСТ - теста и активности миелопероксидазы (оба теста являются унифицированными и доступными), можно использовать в качестве дополнительных критериев при принятии решения о целесообразности выполнения реконструктивных операций у пациентов с остеохондропатией тазобедренного сустава. Поиск новых эффективных средств и подходов к лечению ОГБК требует также оценки роли изменений системы перекисидации - антиоксидантной защиты для коррекции свободнорадикального гомеостаза при развитии этой патологии.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kim H.K.W. Pathophysiology and New Strategies for the Treatment of Legg-Calve-Perthes Disease. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2012; 94: 659-69.
2. Бородин С.В., Волков Е.Е., Гордеев М.В., Голощапов А.П. Факторный анализ биохимических и клинических показателей асептического некроза головки бедренной кости. *Гений ортопедии.* 2018; 24 (4): 487-91.
3. Захарова Н.В., Доронских В.А., Борозда И.В., Штарберг М.А. Динамика показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы у пациентов с болезнью Легга – Кальве – Пертеса на фоне антиоксидантной терапии. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания.* 2010; 38: 66-70.
4. Кузнецова Е.И., Чегуров О.К., Камшилов Б.В., Чепелева М.В. Функционально-метаболический статус нейтрофильных фагоцитов у пациентов с заболеваниями суставов перед первичным и ревизионным эндопротезированием. *Гений ортопедии.* 2012; 4: 79-82.
5. Гайко Г.В., Гончарова Л.Д., Донченко Л.И., Золотухин С.Е. О механизме ранних нарушений обмена и иммунологической реактивности у детей с болезнью Пертеса. *Врачебное дело.* 2001; 1: 56-61.
6. Балабанова Р.М. Роль иммунного воспаления в патогенезе остеоартроза, возможности коррекции иммунных нарушений. *Современная ревматология.* 2011; 4: 47-78.
7. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге: Новосибирск: Наука; 1989.
8. Вьюшин А.В., Вайдо А.И., Герасимова И.А. Процессы перекисного окисления белков у крыс, селективных по порогу возбудимости нервной системы. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2002; 133(3): 292 – 6.
9. Орехович В. Н. Современные методы в биохимии: Москва: Медицина; 1977.
10. Королюк М.А., Иванова Л.И., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы. *Лабораторное дело.* 1988; 1: 16-9.
11. Nishikimi M., Rao N.A., Yagi K. The occurrence of superoxide dismutase anion in the reaction of reduced phenazine methosulphate and molecular oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 1972; 46: 849-53.
12. Рулёва Н. Ю., Звягинцева Н. А., Дугин С. Ф. Миелопероксидаза: биологические функции и клиническое значение. *Современные наукоёмкие технологии.* 2007; 8: 11-4.
13. Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. и др. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты: М.: Слово; 2006.
14. Захарова Н.В., Доронских В.А., Борозда И.В. Роль оксидантного стресса в возникновении болезни Легга-Кальве-Пертеса. Основные концепции патогенеза, диагностики и лечения (обзор литературы). *Якутский медицинский журнал.* 2011; 4(36): 95-9.
15. Марквичева, К.Н., Гороховатский, А.Ю., Мишина, Н.М., Мудрик, Н.Н., Винокуров, Л.М., Лукьянов, С.А., Белоусов, В.В. Сигнальная функция фагоцитарной NADPHоксидазы: активация MAP-киназных каскадов при фагоцитозе. *Биоорганическая химия.* 2010; 36 (1): 133-8.
16. Ткачук В.А., Тюрин-Кузьмин П.А., Белоусов В.В., Воронников А.В. Пероксид водорода как новый вторичный посредник. *Биологические мембраны.* 2012; 29 (1–2): 1-17.

REFERENCES

1. Kim H.K.W. Pathophysiology and New Strategies for the Treatment of Legg-Calve-Perthes Disease. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2012; 94: 659-69.
2. Borodin S.V., Volkov E.E., Gordееv M.V., Golosshapov A.P. Factor analysis of biochemical and clinical indicators of aseptic necrosis of the femoral head. *Geniy ortopedii.* 2018; 24 (4): 487-91. (in Russian)
3. Zakharova N.V., Doronskikh V.A., Borozda I.V., Shtarberg M.A. Factor analysis of biochemical and clinical indicators of aseptic necrosis of the femoral head. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya.* 2010; 38: 66-70. (in Russian)
4. Kuznetsova E.I., Chegurov O.K., Kamshilov B.V., Chepeleva M.V. The functional metabolic status of neutrophilic phagocytes in patients with joint diseases prior to primary and revision arthroplasty. *Geniy ortopedii.* 2012; 4: 79-82. (in Russian)
5. Gayko G.V., Goncharova L.D., Donchenko L.I., Zolotukhin S.E. On the mechanism of early metabolic disorders and immunological reactivity in children with Perthes disease. *Vrachebnoe delo.* 2001; 1: 56-61.
6. Balabanova R.M. The role of immune inflammation in the pathogenesis of osteoarthritis, the possibility of correcting immune disorders. *Sovremennaya revmatologiya.* 2011; 5 (4): 74-8. (in Russian)
7. Mayanskiy A.N., Mayanskiy D.N. Essays on the neutrophil and macrophage: Novosibirsk: Nauka; 1989. (in Russian)
8. Vyushin A.V., Vaido A.I., Gerasimova I.A. Protein peroxidation processes in rats selective for the excitability threshold of the nervous system. *Bul. experiment. biology and medicine.* 2002; 133 (3): 292-6. (in Russian)
9. Orekhovich V.N. Modern methods in biochemistry. Moscow: Meditsina; 1977. (in Russian)
10. Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Tokarev V.E. Method for the determination of catalase activity. *Laboratornoe delo.* 1988; 1: 16-9. (in Russian)
11. Nishikimi M., Rao N.A., Yagi K. The occurrence of superoxide dismutase anion in the reaction of reduced phenazine methosulphate and molecular oxygen. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 1972; 46: 849-53.
12. Ruleva N. Yu., Zvyagintseva N. A., Dugin S. F. Myeloperoxidase: biological functions and clinical significance. Modern high technology. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii.* 2007; 8: 11-4. (in Russian)
13. Men'shikova E.B., Lankin V.Z., Zenkov N.K. et al. Oxidative stress. Prooxidants and Antioxidants [Oksislitel'nyi stress. Prooksidanty i antioksidanty]. Moscow: Slovo; 2006. (in Russian)
14. Zakharova N.V., Doronskikh V.A., Borozda I.V. The role of oxidative stress in the occurrence of Legg-Calve-Perthes disease. The main concepts of pathogenesis, diagnosis and treatment (literature review). *Yakutskiy Meditsinskiy zhurnal.* 2011; 4(36): 95-9. (in Russian)
15. Markvicheva K.H., Gorohovatskiy A.Yu., Mishina H.M., Mudrik N.N., Vinokurov L.M., Luk'yanov, S.A., Belousov V.V. Phagocytic NADPH oxidase signaling function: activation of MAP kinase cascades during phagocytosis. *Bioorganicheskaya khimiya.* 2010; 36 (1): 133-8. (in Russian)
16. Tkachuk V.A., Tyurin-Kuz'min P.A., Belousov V.V., Voronnikov A.V. Hydrogen peroxide as a new secondary mediator. *Biologicheskie membrany.* 2012; 29 (1–2): 1-17. (in Russian)

Поступила 05.07.19

Принята к печати 20.07.19