

МЕТАБОЛИЗМ ОКСИДА АЗОТА И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ ПРИ БОЛЕЗНИ ЛЕГГ-КАЛЬВЕ-ПЕРТЕСА И ТРАНЗИТОРНЫХ СИНОВИТАХ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

С.Е. Львов, Раза Таусиф, С.Б. Назаров, И.К. Томилова

ГОУ ВПО МЗ РФ Ивановская государственная медицинская академия,
ректор – з.д.н. РФ, д.м.н. профессор Р.Р. Шилев
г. Иваново

Введение. Проблема диагностики и лечения болезни Легг-Кальве-Пертеса (БЛКП) у детей до сих пор является актуальной и далеко не решенной. На раннем этапе развития чаще всего её приходится дифференцировать с транзиторным синовитом (ТС), возникновение которого является обязательным условием патогенеза обоих заболеваний [1, 7, 13, 14, 22]. Основываясь только на клинических и рентгенологических данных, практически невозможно составить прогноз развития дистрофических изменений в костной ткани головки бедра, особенно на ранних этапах их развития [12, 21].

Одним из маркеров асептического воспаления является оксид азота (NO) [4, 23]. Доказано его участие в ключевых иммуновоспалительных процессах [16, 18]. В работе Z. Zidek с соавторами [24] указывается, что изменение концентрации NO является одним из главных показателей воспаления любой этиологии. В доступной нам отечественной и зарубежной литературе не найдено работ, посвященных оценке обмена оксида азота (NO) у детей с БЛКП и ТС.

Считается, что одним из показателей воспаления при дегенеративно-дистрофических заболеваниях у взрослых является изменение содержания малонового диальдегида (МДА) – конечно-го метаболита неферментативной деградации продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [8].

Мы сочли целесообразным изучить взаимосвязь метаболизма оксида азота и ПОЛ для более полной информации о механизмах прогрессирования и хронизации асептического воспаления при БЛКП. Определение показателей обмена оксида азота у больных с ТС и БЛКП при различных стадиях может иметь значение для уточнения патогенеза, прогнозирования осложнений и лечения.

Целью работы явилось изучение показателей продукции оксида азота и перекисного окисления липидов в цельной крови, плазме и синовиальной жидкости у детей с БЛКП и ТС.

Материалы и методы

Были обследованы 61 ребенок с БЛКП и ТС в возрасте от 3 до 14 лет без сопутствующей патологии и 15 здоровых детей (контрольная группа). Лабораторные исследования проводились на базе НИЦ ИвГМА. Материалом для них служила венозная кровь из локтевой вены, а также синовиальная жидкость (СЖ), полученная при пункции тазобедренного сустава.

В цельной крови, плазме и синовиальной жидкости потенциометрически оценивалось содержание нитрат-ионов, тиобарбитуровым методом – малоновый диальдегид, а спектрофотометрическим – диеновые конъюгаты (ДК).

Результаты и обсуждение

По сравнению с контрольной группой, у детей с БЛКП и ТС выявлено повышенное содержание нитрат-ионов ($p < 0,05$), причем у детей с БЛКП оно повышается в зависимости от стадии болезни (табл. 1). Достоверное увеличение продукции NO зафиксировано при II-III стадиях заболевания. В IV стадии болезни уровень нитрат-ионов снижен до $1,27 \pm 0,123$ (ммоль/л, плазма) и $1,13 \pm 0,11$ (ммоль/л, цельная кровь) ($p > 0,05$). Идентичные показатели у больных с ТС были достоверно выше показателей в группе здоровых детей: $1,71 \pm 0,28$ ммоль/л – в цельной крови и $1,87 \pm 0,19$ ммоль/л – в плазме ($p < 0,05$).

Показатели концентрации МДА и ДК в плазме крови у детей с БЛКП и ТС, характеризующие уровень ПОЛ, представлены в таблице 2.

Анализ полученных данных показал, что у детей с ТС показатели МДА и ДК были достоверно выше по сравнению с группой контроля ($p < 0,05$) и в среднем составили $7,95 \pm 0,48$ нмоль/мл и $2,69 \pm 0,24$ ед/мг соответственно. Кроме того, данные показатели у детей с БЛКП изменялись в зависимости от стадии болезни. Анализ данных содержания МДА и ДК, характеризующий состояние ПОЛ у детей с БЛКП, показал, что они зависели от выраженности дистрофических изменений в пораженном суставе.

Так, у детей с II стадией болезни, когда дистрофические изменения наиболее выражены, они достоверно выше показателей в контрольной группе (МДА – $8,5 \pm 0,52$ нм/мл и ДК – $3,31 \pm 0,51$ ед/мг) ($p < 0,01$). По мере клинического улучшения у детей с IV стадией отмечалась тенденция к стабилизации процессов пероксидации (МДА – $5,43 \pm 0,63$ нмоль/мл; ДК – $1,72 \pm 0,16$ ед/мг) ($p > 0,05$).

Отсутствие достоверных изменений конечных метаболитов NO и ПОЛ в синовиальной жидкости, возможно, связано с техническими трудностями её получения без примесей крови при пункции сустава. Полученные данные свидетельствуют о том, что при БЛКП показатели конеч-

ных метаболитов NO в цельной крови и её плазме, а также показатели МДА в плазме крови повышены по сравнению с контрольной группой и достоверно отличаются от таковых у больных с ТС. Это может служить отличительным признаком при дифференциальной диагностике БЛКП и ТС.

Выявленные изменения показателей, характеризующие состояние конечных метаболитов NO и ПОЛ у детей с БЛКП, косвенно свидетельствуют о снижении антиоксидантной защиты в зависимости от выраженности дегенеративно-дистрофических изменений и наличии продуктивного воспаления в области тазобедренного сустава. Полученные результаты подтверждают

Таблица 1

Концентрация нитрат-ионов при ТС и БЛКП в зависимости от стадии

Показатель	Контрольная группа n = 15	ТС n = 29	Болезнь Легг-Кальве Пертеса (стадии)			
			I n = 4	II n = 7	III n = 16	IV n = 5
Нитраты ммоль/л (цельная кровь)	0,93 $\pm 0,12$	1,71 $\pm 0,28^*$	1,06 $\pm 0,06$	1,38 $\pm 0,17^*$	1,76 $\pm 0,18^*$	1,13 $\pm 0,11$
Нитраты ммоль/л (плазма)	0,92 $\pm 0,18$	1,87 $\pm 0,19^*$	1,14 $\pm 0,24$	1,65 $\pm 0,17^*$	1,98 $\pm 0,20^*$	1,27 $\pm 0,13$
Нитраты (СЖ) ТС, n=7	0,99 $\pm 0,29$					
Нитраты (СЖ) БЛКП, n=6	2,31 $\pm 0,59$					

* $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

Таблица 2

Содержание МДА и ДК в плазме крови

Показатель	Контрольная группа n = 15	ТС n = 29	Болезнь Легг-Кальве Пертеса (стадии)			
			I n = 4	II n = 7	III n = 16	IV n = 5
МДА нмоль/мл	4,63 $\pm 0,22$	7,97 $\pm 0,48^*$	5,70 $\pm 0,83$	8,57 $\pm 0,52^*$	6,58 $\pm 0,32^*$	5,43 $\pm 0,63$
ДК ед/мг	1,78 $\pm 0,17$	2,69 $\pm 0,24^*$	3,48 $\pm 0,30^*$	3,31 $\pm 0,51^*$	1,88 $\pm 0,32$	1,72 $\pm 0,16$

* $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой.

данные Г.И. Клебанова [6] о том, что повышение уровня функциональной активности клетки приводит к увеличению продукции различных биологически активных соединений (оксида азота, супероксидного анион-радикала, гипохлорит-иона и др.). Некоторые из них способны влиять на микроциркуляцию крови [10]. Например, основная роль NO связана с вазодилатацией за счет расслабления гладких мышц сосудов [10, 17].

Продукция NO может значительно увеличиваться при различных заболеваниях [3], что и отмечено нами при ТС и БЛКП. В лейкоцитах за синтез NO ответственна индуцибельная NO-синтаза [4]. Образование индуцибельной NO-синтазы может происходить в патологически измененных тканях, например, в очаге воспаления [3]. Следовательно, определенный вклад в изменение микроциркуляции может вносить, в частности, оксид азота, вырабатываемый лейкоцитами циркулирующей крови.

Широкий диапазон физиологических эффектов NO реализуется через различные механизмы и, в частности, через участие в процессах ПОЛ [5, 11]. Избыточное образование NO может инициировать действие этого медиатора непосредственно по свободнорадикальному механизму, вызывая активирование процессов ПОЛ [11].

При высоком уровне концентрации оксида азота происходит резкая вазодилатация [19], усиливается сосудистая проницаемость, формируется отек и впоследствии – воспалительная реакция при ТС и БЛКП. В генезе вазогенного отека участвует реакция NO с O_2 , ведущая к образованию потенциально токсичного пероксинитрита ($ONOO^-$), который индуцирует некроз тканей [8].

Итак, при ТС и БЛКП воспалительный процесс сопровождается увеличением содержания нитрат-ионов в цельной крови и плазме и зависит от выраженности клинических и лабораторных показателей активности заболевания. Прямпропорциональное увеличение показателей метаболизма NO и ПОЛ указывает на возрастание прооксидантных эффектов оксида азота при прогрессировании заболевания и зависит от стадии и особенностей течения патологического процесса.

Известно, что увеличение концентрации оксида азота является компенсаторным механизмом, улучшающим кровообращение при различных патологических процессах [10]. Однако чрезмерная продукция NO стимулирует апоптоз, связанный с токсическим воздействием избытка NO на клетки [2, 15, 20] и приводящий к ухудшению микроциркуляции. При ТС и БЛКП это проявляется в изменении свойств и увеличении содержания жидкости в полости сустава, что

приводит к гипертензии и замедлению оттока в венах тазобедренного сустава.

Таким образом, полученные данные подтверждают наличие тесной патогенетической связи между усилением образования NO и процессами ПОЛ, а также клиническими и лабораторными проявлениями БЛКП как на системном, так и на местном уровнях в воспаленных суставах. Важная роль NO в патологических и физиологических процессах объясняет уникальные диагностические возможности, связанные с исследованием продукции NO в организме.

Выводы

Показатели продукции оксида азота и интенсивности перекисного окисления липидов у больных с болезнью Легг-Кальве-Пертеса и транзитным синовитом можно использовать для оценки активности воспалительного процесса.

1. При транзитном синовите параметры конечных метаболитов NO и малонового диальдегида повышены примерно вдвое по сравнению с контрольной группой.

2. При I стадии болезни Легг-Кальве-Пертеса параметры конечных метаболитов NO и перекисного окисления липидов достоверно отличаются от показателей больных с транзитным синовитом.

Литература

1. Баталов О.А. Ранняя диагностика и выбор лечебной тактики при болезни Пертеса / О.А. Баталов, А.Б. Богосьян, И.В. Мусихина, Н.А. Тенилин // Вестн. травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. — 1998. — № 2. — С. 43-47.
2. Брюне Б. Апоптотическая гибель клеток и оксид азота: механизмы активации и антагонистические сигнальные пути / Б. Брюне, К. Сандау, А. фон Кне-тен // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 7. — С. 966-975.
3. Голиков П.П. Роль оксида азота в патологии / П.П. Голиков, А.П. Голиков // Международный медицинский журнал. ТОП. Медицина. — 1999. — № 5. — С. 24-27.
4. Гуревич К.Г. Оксид азота: биосинтез, механизмы действия, функции / К.Г. Гуревич, Н.Л. Шимановский // Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. — 2000. — № 4. — С. 16-22.
5. Зинчук В.В. Роль окиси азота в процессах перекисного окисления липидов / В.В. Зинчук, М.В. Борисюк // Здравоохранение. — 1996. — № 11. — С. 47-50.
6. Клебанов Г.И. Влияние перекисного окисления липидов на структуру и функционирование мембран и липопротеидов: Дис ... д-ра биол. наук. — М., 1991. — 431 с.
7. Малахов О.А. Новые возможности ультразвукового исследования при патологии тазобедренного сустава у детей / О.А. Малахов, С.Э. Кралина // Человек и его здоровье: Материалы национального конгресса травматологов-ортопедов России с международным участием. — СПб., 2003. — С. 183.
8. Метод дифференциальной диагностики дегенеративно-дистрофических заболеваний тазобедренного сустава: Методические рекомендации / Сост.: Ю.А. Ежов и др. — Н. Новгород, 2000. — 8 с.

9. Раевский К.С. Оксид азота — новый физиологический мессенджер: возможная роль при патологии центральной нервной системы / К.С. Раевский // Бюл. exper. биол. — 1997. — Т. 123, № 5. — С. 484-490.
10. Северина И.С. Растворимая гуанилатциклаза в молекулярном механизме физиологических эффектов оксида азота / И.С. Северина // Биохимия. — 1998. — Т. 63, № 7. — С. 939-947.
11. Borisyuk M.V. Thermoregulation and temperature adaptation / M.V. Borisyuk, V.V. Zinchuk / Ed. by V.N. Gourine. — Minsk, 1995. — P. 86-89.
12. Eich G.F. The painful hip: evaluation of criteria for clinical decision-making / G.F. Eich, A. Superti-Furga, F.S. Umbricht, U.V. Willi // Eur. J. Pediatr. — 1999. — Vol. 158, N 11. — P. 923-928.
13. Fischer S.U. The limping child: epidemiology, assessment and outcome / S.U. Fischer, T.F. Beattie // J. Bone Joint Surg. — 1999. — Vol. 81-B, N 6. — P. 1029-1034.
14. Hochbergs P. Synovitis in Legg-Calve-Perthes disease. Evaluation with MR imaging in 84 hips / P. Hochbergs, G. Eckerwall, N. Egund // Acta Radiol. — 1998. — Vol. 39, N 5. — P. 532-537.
15. Kasuda A. Nitric oxide is important for mouse beta-cell line killing by peritoneal exudate cells obtained from cyclophosphamide treated non-obese diabetic mice / A. Kasuda, T. Nakai, I. Takai et al. // Endocrinol. J. — 1995. — Vol. 42, N 2. — P. 259-263.
16. Moncada S. Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: a pathway for the regulation of cell function and communication / S. Moncada, R.M.J. Palmer, E.A. Higgs // Biochem. Pharmacol. — 1989. — Vol. 38. — P. 1709-1715.
17. Moncada S. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology / S. Moncada, R.M.J. Palmer, E.A. Higgs // Pharmacol. Rev. — 1991. — Vol. 43, N 2. — P. 109-142.
18. Moncada S. Mechanisms of disease: the L-arginine-nitric oxide pathway / S. Moncada, E.A. Higgs // New Engl. J. Med. — 1993. — Vol. 329. — P. 2002-2012.
19. Santiago E. The role of nitric oxide in the pathogenesis of multiple sclerosis / E. Santiago, L.A. Perez-Mediavilla, N. Lopez-Moratalla // J. Physiol. Biochem. — 1998. — Vol. 54, N 4. — P. 229-237.
20. Terenzi F. Bacterial lipopeptides induce nitric oxide synthesis and promote apoptosis through nitric oxide-independent pathways in rat macrophages / F. Teensy, M.R. Diaz-Guerra, M. Cased et al. // J. Biol. Chem. — 1995. — Vol. 270, N 11. — P. 6017-6021.
21. Wall E.J. Legg-Calve-Perthes' disease / E.J. Wall // Curr. Opin. Pediatr. — 1999. — Vol. 11, N 1. — P. 65-66.
22. Wingstrand H. Significance of synovitis in Legg-Calve-Perthes disease / H. Wingstrand // J. Pediatr. Orthop. — 1999. — Vol. 8, N 3. — P. 156-160.
23. Zidek Z. Interferon-gamma/tumor necrosis factor-alpha synergism as a mechanism for enhanced nitric oxide production following in vivo administration of muramyl dipeptide (MDP) to mice / Z. Zidek, D. Frankova // Int. J. Immunopharmacol. — 1995. — Vol. 17, N 4. — P. 313-317.
24. Zidek Z. Lack of casual relationship between inducibility severity of adjacent arthritis in the rat and disease associated with changes in production of nitric oxide by macrophages / Z. Zidek, D. Frankova, B. Otova // Ann. Rheum. Dis. — 1995. — Vol. 54, N 4. — P. 325-327.