

VILNIAUS UNIVERSITETO MEDICINOS FAKULTETO
FIZIOLOGIJOS, BIOCHEMIJOS IR
LABORATORINĖS MEDICINOS KATEDRA

MAGISTRO DARBAS

UŽDEGIMINIO SINOVINIO DANGALO HISTOPATOLOGINIAI IR
IMUNOHISTOCHEMINIAI TYRIMAI

Magistrantė KRISTINA DEŠUK _____
(parašas)

Darbo vadovas
habil. dr. Zigmuntas Mackevičius _____
(parašas)

VU MF Fiziologijos, biochemijos ir
laboratorinės medicinos katedros vedėja
hab. dr., prof. Z. A. Kučinskienė leidžia ginti _____
(parašas)

Darbo įteikimo data _____
Registracijos Nr. _____

SANTRUMPŲ SĄRAŠAS

ACCP - antikūnai prieš ciklinius citrulinus peptidus

Ag – antigenas

Ak – antikūnas

AKTH – adrenokortikotropinis hormonas

CRB – C reaktyvusis baltymas

DS – degeneraciniai sinovitai

ENG – eritrocitų nusėdimo greitis

FBT – fosfatinis buferinis tirpalas

Fc – antikūno molekulės fragmentas

gET – grūdėtasis endoplazminis tinklas

IFN γ – interferonas γ

Ig – imunoglobulinas

IL – interleukinas

IS – imuniniai sinovitai

MMP – metaloproteinazė

MSB – manozę sujungiantis baltymas

OA – osteoartritas

PGE₂ – prostaglandinas

PMN – polimorfonuclearai

RA – reumatoidinis artritas

RF – reumatoidinis faktorius

SAA – serumo amiloidas A

SF – sinovijos fibroblastai

TAF – trombocitus aktyvuojantis faktorius

TGF β – β transformuojantis augimo faktorius

TNF- α – navikų nekrozės faktorius α

ŪFB – ūmios fazės baltymai

ŽLA – žmogaus leukocitų antigenai

TURINYS

1. ĮVADAS	4
2. LITERATŪROS APŽVALGA.....	6
2.1. SAŅARIO STUKTŪRA IR FUNKCIJOS	6
2.1.1. SINOVINIO DANGALO STRUKTŪRA IR FUNKCIJOS	8
2.1.2. HIALININĖS KREMZLĖS STRUKTŪRA	10
2.2. SAŅARIO UŽDEGIMAI. SINOVITAL.....	12
2.3. UŽDEGIMINIAI CITOKINAI IR JŲ VAIDMUO SINOVINIAME DANGALE	18
2.4. HISTOLOGINIAI IR IMUNOCHISTOCHEMINIAI SKIRTUMAI TARP IMUNINIŲ IR DEGENERACINIŲ SINOVITŲ	22
3. TYRIMO METODAI IR APIMTIS	26
3.1. TYRIAMOJI MEDŽIAGA	26
3.2. TYRIMO METODAI.....	26
3.2.1. HISTOPATOLOGINĖ SINOVINIO AUDINIO ANALIZĖ.....	26
3.2.2. IMUNOCHISTOCHEMINIS BIOPSIJŲ TYRIMAS (TNF- α , IL-6, MMP-8).....	28
3.3. STATISTINĖ DUOMENŲ ANALIZĖ	29
4. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS	30
4.1. TIRIAMIEJI.....	30
4.2. HISTOPATOLOGINĖ SINOVIJOS AUDINIŲ BIOPSIJŲ ANALIZĖ	30
4.3. IMUNOCHISTOCHEMINĖ SINOVINIO DANGALO BIOPSIJŲ ANALIZĖ.....	40
4.4 REZULTATŲ APTARIMAS	47
5. IŠVADOS.....	50
LITERATŪROS SĄRAŠAS.....	51
SUMMARY	55
PRIEDAI	57

1. ĮVADAS

Reumatoidiniu artritu - sunkia uždegimine sąnarių liga - serga apie 1-3 proc. pasaulio gyventojų [36]. Vilniaus mieste neįgaliųjų dalis dėl reumatoidinio artrito sudaro net 55 proc. Statistiniai tyrimai parodė, kad po dešimties metų nuo ligos pradžios 50 proc. sergančių reumatoidiniu artritu neišvengiamai tampa neįgaliais, ir daugiau nei 50 proc. ligonių yra priklausomi nuo savo artimųjų [9].

Reumatoidinis artritas (RA) yra lėtinė uždegiminė sąnarių liga, kuriai būdinga sinovijos hiperplazija, o vėlesnėse stadijose - kremzlės ir kaulinių struktūrų pažeidimas [23]. Analizuojant šio susirgimo etiologiją yra diskutuojama apie genetinių veiksnių įtaką, virusines priežastis, bet iki šiol nėra iki galo aišku, kas sąlygoja reumatinio proceso pradžią sąnariuose ir kituose vidaus organuose. Histologiniai RA požymiai yra apibūdinami sinoviocitų proliferacija sinovinėje membranoje, padidėjusia vaskuliarizacija, uždegiminių ląstelių sankaupomis (limfocitai, plazminės ląstelės, mononukleariniai fagocitai, neutrofilai), kurios yra susijusios su padidėjusia citokinų, imunoglobulinų ir uždegiminių mediatorių gamyba [30, 39].

Tuo tarpu osteoartritas (OA) yra kitos kilmės susirgimas, sąlygotas kremzlinių struktūrų degeneracijos, o vėlesniuose etapuose lydymas antrinio uždegiminio proceso sinovijoje [25]. Šios ligos atsiradimą sąlygoja nutukimas, nuolatinės sąnarių traumos ir jų apkrovimas bei genetiniai veiksniai [13, 21, 25].

Nors daugelio artritų priežastys nėra žinomos ir jų patogenezė taip pat nėra visiškai išaiškinta, dauguma jų turi imunopatologinių savybių, kurios priveda prie nekontroliuojamo uždegimo ir audinių destruktijos. Ankstyva diferencinė sinovitu diagnostika galėtų padėti nustatyti tikslią klinikinę diagnozę, kuri leistų parinkti tinkamą gydymą ir pagerinti ligos prognozę [5].

Šio darbo tikslas: Nustatyti skirtingos etiologinės prigimties imuninių ir degeneracinių sinovitų histopatologinius ir imunohistocheminius skirtumus.

Šiam tikslui įgyvendinti buvo iškelti uždaviniai:

1. Nustatyti histopatologinius skirtumus tarp imuninių ir degeneracinių sinovitų.
2. Nustatyti imuninių ir degeneracinių sinovitų biopsijose TNF- α , IL-6, MMP-8 imunohistocheminės raiškos skirtumus.

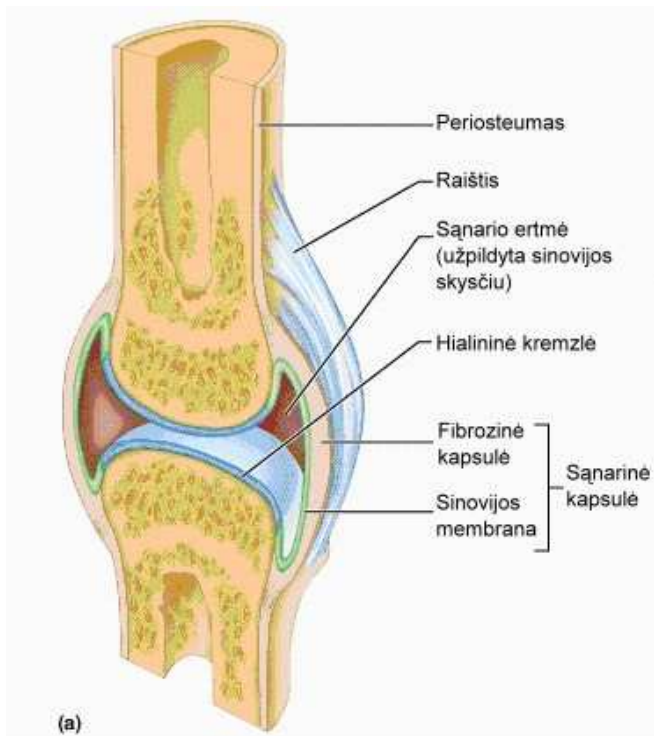
Darbas buvo atliktas VU Eksperimentinės ir klinikinės medicinos institute vadovaujant habil. dr. Zygmuntui Mackevičiui.

2. LITERATŪROS APŽVALGA

2.1. SAŅARIO STUKTŪRA IR FUNKCIJOS

Žmogaus kūno sąnariai tvirtam skeletui suteikia stabilumą, gebėjimą judėti ir pasipriešinti spaudžiančioms jėgoms, kurios yra didesnės už kūno svorį. Šios sąnarių savybės sudaro sąlygas valdyti judesius, kurie yra labai svarbūs palaikant žmogaus judėjimą ir koordinaciją [19].

Sąnarys yra specializuota struktūra, susidedanti iš jungiamojo audinio elementų: raumenų, sausgyslių, raiščių, sinovijos, sąnario kapsulės, kremzlės, ir kaulo [17]. (1 pav.).



1 pav. Sąnario struktūra [46].

Antkaulis – tai tanki membrana, sudaryta iš pluoštinio jungiamojo audinio, kraujagyslių ir nervų. Ši tanki membrana glaudžiai padengia visą kaulą, išskyrus jo galūnes. Prie periosteumo tvirtinasi sausgyslės ir raumenys [40]. Po hialinine kremzle yra subchondralinis kaulas. Šis kaulas, kartu su hialinine kremzle mažina lokalų įtempimą, paskirstydami jį po visą sąnario paviršių [19]. Ir tokiu būdu yra sušvelninamas sąnario

judėjimas. Kaulai taip pat palaiko ir saugo vidaus organus, veikia kaip svirtys sutvirtindami raumenis, kad galėtume judėti [40]. Taigi pagrindinė kaulų funkcija yra atraminė [37].

Šnarių supa ruožuotieji raumenys, kurie yra prisitvirtinę prie kaulo kartu su sausgyslėmis. Kaip ir raiščiai, raumenys stabilizuoja šnarių, per savo sausgyslinius intarpus kaule, taip riboja jo judėjimą ir neleidžia šnariui sukis aplink savo ašį. Sausgyslės kartu su raumeniu padeda reguliuoti šnario padėtį ir judėjimą [19].

Skeletinis ruožuotasis raumeninis audinys yra sudarytas iš į sincitumą susiliejusių ląstelių, turinčių susitraukiamųjų elementų (miofibrilių), gebančių cheminę energiją paversti mechanine ir išvystyti susitraukimo jėgą. Taigi raumenims susitraukiant, jie trumpėja, vyksta audinio, organo ar kūno judėjimas. Ruožuotasis raumeninis audinys sudarytas iš lygiagrečiai susiklosčiusių ruožuotųjų miocitų. Ruožuotieji miocitai (skaidulos) yra cilindro formos, daugiabranduoliai, 10-100 μm skersmens ir iki 20 cm ilgio. Raumu pamažu gale smailėdamas, pereina į sausgyslę. Sausgyslės kolageninės skaidulos nutįsta į bendrą jungiamojo raumens audinio karkasą, įsiterpia į kiekvienos raumeninės skaidulos gale esančias daugines įlankas (invaginacijas). Kitu galu sausgyslė tvirtinasi prie griaučių. Tokia sudėtinė raumens ir jungiamojo audinio struktūra svarbi ir mechaninės jėgos, atsiradusios dėl raumeninių skaidulų susitraukimų, perdavimui (transmisijai) visam raumeniui (nes raumeninės skaidulos daugiausiai nenuitįsta per visą raumens ilgį). Be to, jungiamajame raumens audinyje būna kraujagyslių, limfagyslių ir nervų [37].

Sausgyslės pagrindiniai elementai yra sausgyslinės skaidulos. Sausgyslinių skaidulų pluošteliai guli lygiagrečiai, išsidėstę statmenai į mechaninių jėgų veikimo kryptį. Tarpus tarp sausgyslinių pluoštelių užpildo maža pagrindinė medžiaga. Fibroblastocitai, sintetinantys ir išskiriantys kolageną, vadinami sausgyslės ląstelėmis. Skersiniame pjūvyje sausgyslės ląstelės (fibroblastai) yra žvaigždžiškos, nes turi plokštelių formos ataugų, įsiterpusių tarp sausgyslinių pluoštelių. Ilgosios sausgyslės yra apsuptos tepaline sausgyslės makštimi. Kiekvienos tepalinės makšties skiriama pasieninė dalis, ir sausgyslinė dalis. Sausgyslinė dalis yra suaugusi su sausgysle ir atskirta nuo pasieninės dalies skysčio pripildyta tepaline ertme. Sausgyslės tepalinės makšties galuose pasieninė ir sausgyslinės dalys pereina viena į kitą ir visiškai uždaro makšties ertmę. Tepaliniai

maišeliai yra tarp sausgyslių ir kaulų tose vietose, kur sausgyslė lenkia kaulo iškyšulį ar šiurkštumą. Jų sienelė sudaryta iš dviejų sluoksnių: išorinio skaidulinio ir vidinio tepalinio. Skaidulinio sluoksnio išorinis paviršius yra tiesiogiai suaugęs su kaulų antkauliu, o tepalinio sluoksnio lygus vidinis paviršius apsupa plyšio pavidalo ertmę, pripildytą tūšaus skysčio. Slenkant sausgyslei kaulu, lygūs vidiniai tepalinio maišelio paviršiai šliaužia vienas kitu, ir trintis būna labai maža [37].

Raištis sudarytas iš kolageninių skaidulų ir fibrocitų [37].

Kelio sąnaryje esantys meniskai taip pat yra svarbūs kaip struktūriniai ir funkciniai vienetai. Meniskai yra fibrokremzliniai diskai. Jie yra prisitvirtinę prie fibrozinės kapsulės ir palaiko sąnario stabilumą sukimosi metu. Kadangi meniskai neturi savo kraujagyslių, tai maistinėmis medžiagomis iš sinovijos juos aprūpina nervai [19].

2.1.1. SINOVINIO DANGALO STRUKTŪRA IR FUNKCIJOS

Sąnarį sandariai uždaro sąnario kapsulė. Ji suadyta iš dviejų sluoksnių: išorinio, arba skaidulinio, ir vidinio, arba tepalinio. Išorinį sluoksnį sudaro netaisyklingas glaudusis kolageninis jungiamasis audinys, kurio kolageninės skaidulos nutįsta į besijungiančių kaulų antkaulį. Vidinį sluoksnį sudaro puriojo kolageninio jungiamojo audinio savitoji tepalinio sluoksnio plokštelė, kurioje yra kraujagyslių ir riebalinių ląstelių bei nervų [37]. Taip pat šiame sluoksnyje yra limfinių kanalėlių ir fibroblastų. Visa tai palaiko vidinę sinovijos membraną, kuri turi daug sulenkimų. Šie sulenkimai leidžia membranai išsitempti sąnario judėjimo metu be pažeidimo [19]. Sinovinės membranos tepalinis sluoksnis skirstomas į gaurelinę dalį, ir lygiąją dalį. Į sąnario ertmę iš gaurelinės dalies nutįsta klostės, gaureliai, padengti tepalinio sluoksnio ląstelėmis [37]. Šios ląstelės tankiai išsidėsto 1-2 sluoksniais [11]. Sinovinės membranos tepalinio sluoksnio ląstelių populiacija yra dvejopa. Ją sudaro fagocitiniai ir sekretiniai sinoviocitai [37]. Dar jos žinomos kaip A ir B tipo sinoviocitai. A tipo ląstelės yra fagocitai, o B tipo ląstelės yra fibroblastai, kurie sintetina ir išskiria hialurono rūgštį į sinovijos skystį [19, 25, 15].

Sąnario ertmę pripildo tepalinis skystis, kurio cheminė sudėtis panaši į kraujo plazmą [37]. Sinovinis skystis įprastomis sąlygomis yra šviesus, bespalvis, klampus skystis. Tai yra pagrindinis maisto medžiagų šaltinis nevaskuliarizuotai sąnarinei kremzlei. Nesant sąnarių pažeidimams jo būna maži kiekiai (maždaug 1 iki 4 ml), bet atsiradus pataloginei būsenai jis gali viršyti 150 ml ir gali kauptis stambiuose sąnariuose, tokiuose kaip kelis [19]. Taigi tepalinio skysčio pagrindinė funkcija normoje - sutepti sąnarius paviršius ir maitinti hialininę kremzlę [37].

Sinovijos endotelinė membrana yra nepralaidi didelės molekulinės masės baltymams. Todėl normaliomis sąlygomis, dideli plazminiai baltymai tokie kaip fibrinogenas negali difunduoti į sinovinį skystį. Normalus sinovinis skystis susideda tik iš mažesnės molekulinės masės plazmos baltymų, ir ją sinoviocitai nuolat papildo hialurono rūgštimi. Tačiau esant pataloginei būsenai, sinovinio skysčio baltymų kiekis gali labai stipriai pasikeisti. Kai sinovijos membrana būna paveikta uždegiminio proceso, ji praranda savo selektyvųjį pralaidumą ir didelės molekulinės masės baltymai lengvai difunduoja į sinovinį skystį. Be to, uždegiminis procesas gali stimuliuoti lokalią intra-sinovinę imunoglobulinų sintezę. Tokia lokali imunoglobulinų sintezė vyksta reumatoidinio artrito metu, t.y. sinovijoje pasigamina reumatoidinis faktorius [19].

Hialurono rūgštis tai didelės molekulinės masės, klampus polisacharidas, sudarytas iš kintamų polimerų gliukozamino ir gliukurono rūgšties. Tai molekulė, kuri sinovinį skystį paverčia klampiu [47].

Hialurono rūgštis padengia sąnarių kremzlių paviršius. Jos funkcija - sutepti sąnario paviršių vykstant judėjimui. Taip pat mokslininkai aprašė kelis mažesnės molekulinės masės sinovinio skysčio baltymus, kurie daugelis iš jų taip pat dalyvauja sąnario sutepimo funkcijoje. Tačiau daugelis šių medžiagų iki šiol nepakankamai išanalizuotos ir šios medžiagos bendrai vadinamos tepaliniais glikoproteinais [19].

Esant normaliai būklei, sinovinio skysčio ląstelių skaičius yra apie 200 mm^3 , kurias daugiausia sudaro makrofagai ($> 75 \text{ proc.}$) ir nedidelis skaičius neutrofilų. Tačiau esant pataloginei būklei sinovinio skysčio savybės pakinta. Uždegiminiuose artrituose sinovinio skysčio ląstelių skaičius yra labai aukštas nuo $3\ 000$ iki $100\ 000 \text{ mm}^3$, daugiausia sudarytas iš neutrofilų ($> 75 \text{ proc.}$) [19].

2.1.2. HIALININĖS KREMZLĖS STRUKTŪRA

Hialininė kremzlė yra organizme daugiausiai paplitusi kremzlė. Jos yra daugelyje suaugusio organizmo vietų: nosyje, gerklėje, bronchuose, sąnariuose kaulų paviršiuose, šonkauliuose, ilgųjų kaulų epifizų ir diafizų sujungimo vietose [37].

Nefiksuota hialininė kremzlė yra balkšvai melsva, pusiau skaidri. Iš to kilęs jos pavadinimas (gr. *hialos* – stiklas). Visos organizmo hialininės kremzlės yra panašios struktūros [37]. Hialininė kremzlė yra tvirta, lanksti, atspari spaudžiamosioms jėgoms [11]. Ši kremzlė yra maždaug apie 5 mm storio, sudaryta iš vandens (65-80 proc.), II tipo kolageno ir proteoglikanų [19]. Tam tikrų organizmo vietų hialininės kremzlės skiriasi ląstelių išsidėstymu ir tarpląstelinės medžiagos struktūra. Hialininę kremzlę sudaro dvi pagrindinės ląstelių rūšys: chondroblastocitai ir chondrocitai.

Chondroblastocitai, susitelkę susiformavusios kremzlės kraštinėje dalyje ir antkremzlyje. Tai jaunos, ovalios, turinčios sferišką branduolį ir ryškų Goldžio kompleksą, gET (grūdėtasis endoplazminis tinklas) ir bazofilišką citoplazmą ląstelės. Chondroblastocitai aktyviai gamina tarpląstelinę medžiagą, kuri gaubia ląsteles, dalyvauja formuojant kremzlę [37].

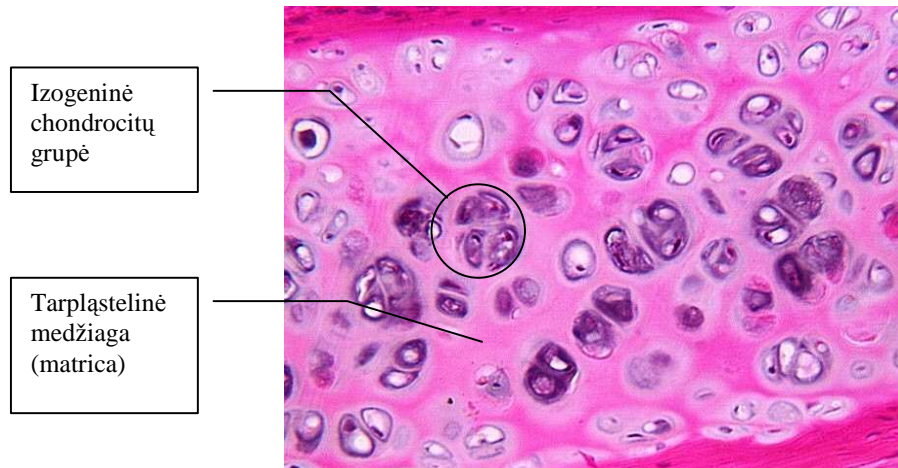
Chondrocitai, yra pagrindinės kremzlinio audinio ląstelės. Jos susiformuoja iš chondroblastocitų, kurie subrendusios kremzlės būna mažiau aktyvūs. Chondrocitų forma priklauso nuo diferenciacijos ir vietos kremzlėje. Kremzlės paviršiuje ląstelės yra plokščios ir išsidėsčiusios lygiagrečiai su paviršiumi, o giliuose sluoksniuose – sferiškos [37].

Jaunesni chondrocitai yra maži, suplokštėję, jų silpnai bazofilinė citoplazma. Chondroblastocitų citoplazmoje yra didelis gET bei Goldžio kompleksas. Jie sintetina, išskiria tarpląstelinę medžiagą ir gali daugintis [37].

Subrendę chondrocitai didesni, sferiški. Jų didelis, sferiškas branduolys turi 1-2 branduolėlius, gulinčius ląstelės centre. Ląstelių citoplazmoje yra lipidų lašelių ir glikogeno grūdelių, gET bei Goldžio kompleksas yra mažiau ryškūs [37].

Chondrocitai, aplink save išskirdami tarpląstelinę medžiagą, apsigaubia ja ir atsiduria uždaroje kremzlės ertmėse. Jeigu chondrocitai toliau dalijasi ir pasidaliję nenutolsta vieni nuo kitų, susiformuoja 2-4 kremzlinių ląstelių grupės. Grupės

chondrocytų, kilusių iš vieno pirmtakės ląstelės, vadinamos izogeninėmis chondrocytų grupėmis. Izogeninės grupės būdingos suaugusio organizmo kremzlėms (2 pav.) [37].



2 pav. Hialininė kremzlė [43].

Chondrocitai išskiria ir palaiko supančią matricą [37]. Chondrocitai nuolatos rekonstruoja kremzlę, ardydami seną nefunkcionuojantį audinį. Tam tikslui chondrocitai gali išskirti ir aktyvinti katabolinius fermentus ardančius kolageną (elastazė, kolagenozė, peptidazė ir kt.) ir proteoglikanus (metaloproteinazė, katepsinas, tumoro nekrozės faktorius ir kt.) ir sekretuoti naujas molekules [17, 44].

Tarpląstelinė kremzlės medžiaga (matrica), susideda iš jungiamojo audinio skaidulų ir pagrindinės medžiagos, kurios turi ir kitos jungiamojo audinio rūšys [37].

Hialininės kremzlės matrica yra sudaryta iš kolageninių skaidulų ir turinčios proteoglikanų pagrindinės medžiagos. Kolagenas sudaro 40 proc. sausos hialininės kremzlės. Tačiau histologiniuose preparatuose kolagenas neišryškėja, nes jo refrakcijos indeksas yra toks pat kaip ir pagrindinės medžiagos. Hialininė kremzlė daugiausiai turi II tipo kolageno, kuris sudaro 15-45 nm storio skaidulas. Skaidulos sudaro trijų dimensių tinklą. Mažiau yra nustatoma IX, X, XI tipų kolageno. Manoma, kad šios kolageno rūšys palaiko ir stabilizuoja II tipo kolageno tinklą [37].

Skaidulas jungia gelio pavidalo pagrindinė medžiaga. Proteoglikanų koncentracija kremzliniame audinyje yra daug didesnė negu kituose jungiamuosiuose audiniuose, ir jie sudaro daug standesnę gelį [37]. Proteoglikanai yra didelės, klampios, hidrofobinės

makromolekulės [19]. Juos sudaro baltyminė šerdis (200-300 nm ilgio), nuo kurios visomis kryptimis tęsiasi glikozaminoglikanai [37]. Pagrindiniai kremzlės glikozaminoglikanai yra chondroitin-6-sulfatas, chondroitin-4-sulfatas ir keratinsulfatas [37, 11]. Šie glikozaminoglikanai turi neigiamus krūvius, kurie stumia vienas kitą, ir dėl šios priežasties, sąvarinė kremzlė yra elastingesnė [19]. Kremzlių proteoglikanai yra tarp didžiausių molekulių, kurias gali sintezuoti ląstelės. Proteoglikanų molekulės yra apsuptos ilgų hialurono rūgšties molekulių. Viena hialurono rūgšties molekulė gali sujungti apie 100 proteoglikano molekulių ir sudaryti didžiulį proteoglikanų agregatą. Šie proteoglikanų agregatai tam tikrose vietose susijungs su kolageninėmis skaidulomis. Chondrocitai taip pat sintezuoja chondronektiną – dideles molekules, kurios dalyvauja chondrocitams prisitvirtinant prie aplinkinių kolageninių skaidulų. Matrica, supanti izogenines ląstelių grupes, vadinama teritorine matrica. Tarp ląstelių grupių yra šviesiau pasidažanti matrica, vadinama tarpteritorine matrica. Senstančios kremzlės pagrindinėje medžiagoje didėja keratinsulfato koncentracija, todėl kremzlė kietėja [37].

2.2. SĄVARIO UŽDEGIMAI. SINOVITAI

Šiame skyrelyje aptarsime labiausiai pasaulyje ir Lietuvoje paplitusius sinovitus t.y. reumatoidinį artritą (RA) ir osteoartritą (OA), kurių diferencinė diagnostika yra labai paini. 1 lentelėje yra pateikiami klinikiniai ir laboratoriniai sinovitų diagnostiniai požymiai, kuriais remiantis gydytojas nustato RA arba OA diagnozę.

1 lentelė. RA ir OA klinikiniai ir laboratoriniai diagnostiniai dažniausiai pasireiškiantys požymiai [34, 28, 12, 31, 6, 25].

Reumatoidinis artritas (RA):	Osteoartritas (OA):
1) Ne mažiau kaip trijų sąnarių artritas;	1) Degeneraciniai pakitimai kelio, klubo, nykščio, kulkšnies, kojų, ar stuburo srityse;
2) Simetrinis artritas esantis rankose ir/ar kojose;	2) Judėjimas su skausmu, kuris praeina pailsėjus;
3) Rytinis sąstingis;	3) Antrinis sinovitas;
4) Nuovargis;	4) Kaulo subchondrinė sklerozė;
5) Patynimas, jautrumas, šiluma, ir funkcijos praradimas;	5) Rentgenologinių tyrimų rezultatai: susiaurėjęs sąnarys, osteofitai, padidėjęs subchondralinio kaulo tankis, kaulo cistos;
6) Reumatoidiniai mazgeliai;	6) Sisteminių požymių nebuvimas: temperatūros ir drebulio.
7) Padidėjęs ENG ir CRB;	7) ENG ir CRB normos ribose;
8) Teigiamas testas reumatoidiniam faktoriui (RF);	8) Teigiamas testas RF (neaukšti titrai);
9) Randamas ACCP (antikūnai prieš ciklinius citrulinus peptidus).	9) Padidėjęs sąnarinio skysčio kiekis (dominuoja mononuklearai).

Reumatoidinis artritas (RA) – tai chroninė autoimuninė liga, kuria sergant pažeidžiama daug organų, bet vyrauja sąnarių minkštųjų audinių, ypač sinovijos, pažeidimas, kuriam progresuojant suardoma sąnarinė kremzlė, pažeidžiamas kaulas ir susidaro sąnario ankilozė (sąnarys pasidaro nepaslankus) (3 pav.). Ligonis tampa neįgaliuoju [35].



3 pav. Reumatoidiniu artritu pažeistas sąnarys. [45]

Epidemiologija. Maždaug 1 proc. suaugusiųjų Šiaurės Amerikoje ir Šiaurės Europoje serga RA, taip pat RA yra paplitęs ir kitose pasaulio šalyse [3]. Lietuvoje pastaraisiais metais buvo atliktas RA epidemiologinis tyrimas. Nustatytas RA paplitimas – 0,55 proc. suaugusiųjų. Taigi Lietuvoje RA serga apie 12 000 – 13 000 žmonių [25].

Maždaug 70 procentų pacientų stebima chroniška ligos eiga. 25 proc. pacientams pasireiškia remisijos ir maždaug apie 5 proc. pacientams pasireiškia agresyvi, piktybinė ligos forma su daugialypėmis papildomomis sąnarinėmis apraiškomis [33].

Lietuvoje, kaip ir kituose kraštuose, moterys šia liga serga 2-3 kartus dažniau negu vyrai. RA gali susirgti bet kokio amžiaus žmonės, tačiau ypač daug suseraga 5 – 6 gyvenimo dešimtmetyje [25].

Etiologija RA savo esme yra autoimuninė liga. Nėra aišku, koks antigenas (Ag) indukuoja autoimuninį procesą. Tai galėtų būti tokie auto-Ag, kaip pakitusios struktūros IgG (jo Fc fragmentas), II tipo kolagenas, proteoglikanai, chondrocitų antigenai arba tokie hetero-Ag kaip bakterijos (žarnyno lazdelė, proteus, mikobakterijos ir kt.), virusai (parvovirusai, retrovirusai, stafilokokai, streptokokai, citomegalo virusas, raudoniukės virusas, herpes virusai, ypač vienas iš jų Epstein-Barr virusas) [13, 35, 25].

RA gali atsirasti ir kaip genetinių pokyčių rezultatas [16]. Atlikus tyrimus buvo pastebėtas ryšys tarp sąnarių ligų ir ŽLA-DR1 ir DR4 genų [2]. RA taip pat gali sukelti ir mechaninės traumos [14].

Nors RA nėra mirtina liga, tačiau vis dažniau pastebima, kad mirtingumas nuo šios ligos vis didėja. Ir dažniausiai mirties priežastys yra širdies kraujagyslių, inkstų ir infekcijų komplikacijos [19].

Patogenezė. Svarbiausi procesai sukeltantys sąnario uždegimą ir jo audinių (kaulų epifizų, kremzlės) destruktiją vyksta sinoviniame audinyje. Sinovijos vidinio dangalo A ir B sinoviocitai vaidina esminį vaidmenį RA patogenezėje. Sinovinio dangalo gilesniuose sluoksniuose RA atveju randama įvairiausių imunokompetentinių ląstelių: T-limfocitų, dendritinių ir putliųjų ląstelių, makrofagų [25].

Patogenezė nėra neaiški, ypač pirmosios jos grandys. Manoma, kad svarbios dvi veiksmų grupės – vietiniai ir bendrieji veiksniai. Pirmajai grupei priklauso veiksniai, žalojantys sąnarių audinius. Tai jų atšaldymas, o galbūt ir mikrobinis pažeidimas. Antrajai veiksmų grupei priskiriamas sutrikęs imuninis atsakas (autoimuninė reakcija). Kai yra genetinis polinkis, mikroorganizmai (galbūt neišaiškintas antigenas) aktyvina CD4+ T helperius, kurie produkuoja citokinus. Pastarieji aktyvina:

1) makrofagus ir sąnario ertmės ląsteles, kurios išskiria audinį ardančius fermentus ir kitus uždegimą palaikančius faktorius;

2) B ląstelių sistemą, gaminančią antikūnus, taip pat ir prieš savo struktūras.

Makrofagų išskiriami citokinai IL-1, TGF- β , TNF- α , IFN- γ ne tik palaiko uždegimą, bet ir skatina sinovijos ląstelių bei fibroblastų proliferaciją, taip pat stimuliuoja sinoviocitus ir chondroцитus sekretuoti proteolizinus bei matriksą ardančius fermentus [35].

Tiesiogiai paveikus T-helperiams ir citokinams prasideda B ląstelių aktyvacija. Aktyvuoti B limfocitai per keletą aktyvacijos pakopų pavirsta plazminėmis ląstelėmis. Aktyvuotų B limfocitų sancaupos būna randamos sergančiųjų RA sinovijos dangale kaip ekstopinės limfoidinių ląstelių sancaupos – folikulai. Po aktyvavimo B limfocitai pradeda antikūnų gamybą [25]. Gaminasi antriniai antikūnai (autoantikūnai) prieš kolageną, proteoglikanus, kremzlės glikozaminglikanus, leukocitų branduolius ir net prieš pasigaminusio anksčiau autologinio IgG Fc fragmentą [35]. Dažniausiai tai IgM, rečiau IgG ar IgA klasės antikūnai [25, 15]. Makroglobulininis antikūnas vadinamas reumatoidiniu faktoriumi (RF). RF nustatomas apie 80% sergančiųjų šia liga, o kartais jis būna kitų ligų atvejais arba kartais ir sveikiems žmonėms [35]. Taigi RF reaguoja su

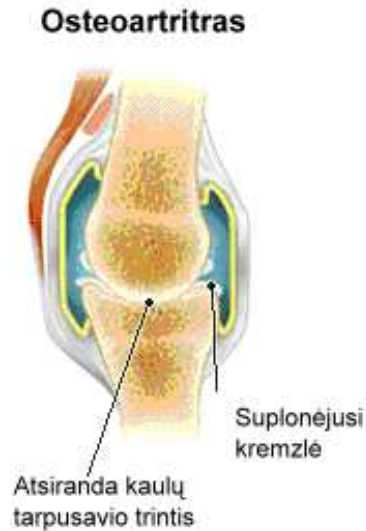
antigenine determinante ir formuoja imuninį kompleksą. Imuniniai kompleksai aktyviai stimuliuoja komplementą. Prie imuninio komplekso jungiasi pirmieji komplemento (C) komponentai ir tuo būdu prasideda visos C sistemos kaskadinis aktyvavimas. C yra 9 baltymų grupių sistema (C₁ iki C₉). Kiekvienas C komponentas turi savo funkciją reguliuojant uždegimą ir/ arba audinių destrukcijos procesą. Atskiri C komponentai paruošia imuninį kompleksą fagocitozei, pritraukia neutrofilus ir makrofagus į uždegimo židinį, skatina putliąsias ląstelės išskirti uždegimo mediatorius, o kompleksas C_{5b-9} tiesiogiai lizuoja antikūnais padengtas ląsteles, t.y. vykdo sąnario audinių destrukciją. Vykstant autoimuniniam procesui prie audinių destrukcijos (kremzlės ardymo) prisideda ir lizosominiai fermentai (proteazės, metalo proteinazės). Jie yra atpalaiduojami į sąnario ertmę po to, kai sąnario sinovijos dangalo fagocitinių ląstelių citoplazma prisipildo imuninių kompleksų. Imuniniai kompleksai skatina ir kitų uždegimo bei destrukcijos mediatorių – prostaglandinų, tromboksanų, histamino, aktyvių deguonies radikalų bei citokinų – atsipalaidavimą į sąnario terpes [25].

Laisvieji deguonies radikalai padidina kraujagyslių laidumą, veikia citotoksiškai, depolimerizuoja hialurono rūgštį, proteoglikanus ir kolageną – labai svarbius sąnario hialininės kremzlės komponentus. Sinovinio dangalo ląstelių gaminami tromboksanai ir prostaglandinai skatina vietinę audinių edemą ir daugybę kitų uždegimo mechanizmų [25].

Užsitęsęs autoimuninei-uždegiminei reakcijai ir jos negydant sinovija iš dalies dėl spartaus sinoviocitų dauginimosi suveša [34, 25]. Tokios hiperplazijos mechanizmas nėra aiškus. Greičiausiai tai apoptozės (užprogramuotos ląstelių mirties dėsningai išstinkančios po tam tikro dalijimosi skaičiaus) sutrikimo rezultatas [25]. Sinovinis dangalas pradeda hipertrofuotis ir invazyviai skverbtis į kitus audinius – kremzlę, kaulą. Tokia suvešėjusi sinovijos dalis besiskverbianti į kitus audinius vadinama panusu [34, 25, 15]. Bujojančiame sinoviniame audinyje atsiranda angiogenezė, kurią stimuliuoja sinovijos ląstelių produkuojami faktoriai: fibroblastų augimo faktorius, kraujagyslių endotelio augimo faktorius, kai kurios adhezijos molekulės. Šių faktorių sintezę stimuliuoja priešuždegiminiai citokinai (IL-4, 10, 13) [25].

Osteoartritas (OA) - tai lėtinė, degeneracinė, palaipsniui progresuojanti sąnarių liga, kurios eigoje visa sąnario kremzlinė ir kaulinė struktūra pakinta ir sąnarys praranda

savo funkcijas (4 pav.) [13, 18, 6]. Šios patloginės ligos metu yra prarandama hialininė sąnarinė kremzlė. OA yra labiausiai paplitęs artrito tipas [13].



4 pav. Osteoartritu pažeistas sąnarys. [45]

Epidemiologija ir etiologija. OA paplitimo dažnis yra didelis, ypač tarp pagyvenusių žmonių [13]. Šios ligos pagrindinis rizikos veiksnys yra nutukimas, tačiau yra išskiriami dar keli veiksniai, kurie taip pat didina OA atsiradimą, t.y. amžius, lytis, sąnario traumas [13, 21]. Kliniškai OA gali pasireikšti anksti apie ketvirtą ir penktą gyvenimo dešimtmetį. OA daugiau serga moterys negu vyrai. Ši liga pasireiškia 50-aisiais, 60-aisiais, ir 70-siais gyvenimo metais [21, 15]. OA labiausiai pažeidžia rankų, kelių ir klubų sąnarius [21, 25]. Tikėtina, kad tam tikri genetiniai veiksniai taip pat turi įtakos sąnarių ligų atsiradime. Pavyzdžiui, OA atsiradimą klubų ir rankų srityse lemia genetiniai veiksniai, o keliuose – dažniau sąlygoja sąnarių traumas ir jų apkrovimas [21]. Uždegimo požymiai paprastai būna neįžymūs [29]. Progresuojant šiai ligai žmogus tampa neįgaliu [13].

Patogenezę. Šiuo metu jau yra žinomos kelios OA atsiradimo priežastys. OA atsiradimą gali sąlygoti:

- 1) Įgimti klubo vystymosi sutrikimai (Legg-Calve-Perthes liga, šlaunies epifizio dislokacija);
- 2) Įgimti jungiamojo audinio defektai (Ehlers-Danloso sindromas, Marfano sindromas);

- 3) Potrauminiai kelio pažeidimai (kelio priekinio raiščio plyšimas, kelio sąnario meniskų plyšimas);
- 4) Medžiagų apykaitos sutrikimai (Hemochromatozė, Wilsono liga, Ochronozė (alkaptonurija));
- 5) Lėtiniai uždegiminiai pakenkimai [21].

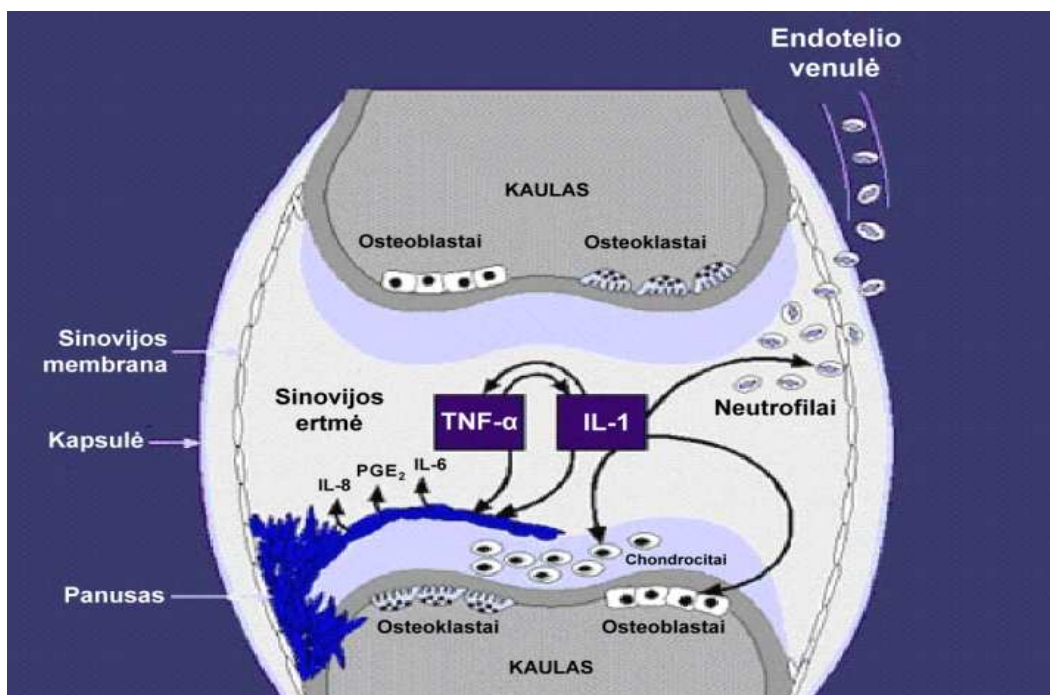
Bet kaip jau minėta anksčiau, pagrindiniai OA sukiantys veiksniai yra nutukimas ir nuolatinis didelis fizinis krūvis sąnariams.

Taigi nutukimas ir nuolatinės sąnarių traumos ir fizinis krūvis gali stimuliuoti OA procesą. Šio proceso eigoje palaipsniui yra ardomas kremzlės paviršius, todėl kremzlė nebesugeba atlikti savo funkcijų ir didesnė apkrovos dalis atitenka kaului [34]. Todėl palaipsniui atsiranda kaulo pakitimai (sklerozė), vystosi įvairaus laipsnio osteofitai, nusilpsta ir atrofuojasi raumenys, kurie tvirtinasi prie sąnario, susilpnėja raiščiai ir atsiranda sinovitai [21, 6]. Patofiziologiškai OA metu yrant kremzlei atsiranda sąnarinės kremzlės mikrolūžiai. Šios mikronuolaužos sinovinio skysčio viduje gali sukelti nedidelį uždegimą [34].

2.3. UŽDEGIMINIAI CITOKINAI IR JŲ VAIDMUO SINOVINIAME DANGALE

Citokinai – tai didelė grupė baltyminės kilmės tarpląstelinės sąveikos mediatorių, dalyvaujančių hemopoezėje, imuninėse ir uždegiminėse reakcijose. Citokinų signalą gavusi ląstelė gali proliferuoti, diferencijuotis, sekretuoti kitus citokinus, migruoti, būti slopinama ar žūti [22].

Uždegimo reakcijose dalyvaujantys citokinai gali skatinti uždegimą, jį slopinti. Uždegimą skatinatys citokinai sutelkia pažeidimo vietoje neutrofilus ir monocitus ir aktyvina šias ląsteles, kad jos sunaikintų patogeną [22]. Citokinus gali sekretuoti monocitai, makrofagai, fibroblastai, ir T ląstelės. Dauguma citokinų, kurie aptinkami RA sergančių pacientų sinoviniame skystyje yra TNF- α , IL-1, IL-6 (5 pav.) [7].



5 pav. Uždegiminis procesas reumatoidiniame sąnaryje [42].

TNF- α ir IL-1 yra stiprūs mezenchiminių ląstelių stimulatoriai, tokių kaip sinovijos fibroblastų, osteoklastų, ir chondrocitų, kurie išskiria audinių matricą ardančias metaloproteinazes (MMP) [7].

TNF- α daugiausia sekretuoja monocitai, makrofagai, taip pat B ir T ląstelės, fibroblastai. TNF- α skatina IL-1; IL-6; IL-8 sekreciją [7]. TNF- α sutraukia neutrofilus ir monocitus į uždegimo židinį bei juos aktyvina. Šias funkcijas jis atlieka veikdamas kraujagyslių endotelį ir leukocitus. Endotelio ląstelėse skatina adhezijos molekulių ekspresiją, kurios sąlygoja neutrofilų ir monocitų prilipimą prie jų ir tolesnę jų migraciją. TNF- α aktyvina endotelį ir makrofagus, kurie sekretuoja citokinus-chemokinus, sukeliančius leukocitų chemotaksį [1]. TNF- α netiesiogiai slopina uždegimą skatindamas kortikotropinio hormono sekreciją iš pasmegininės liaukos. Šis hormonas stimuliuoja antinksčių žievę, kuri sekretuoja kortizolį, slopinantį uždegimą [7].

IL-1 daugiausia sintetina monocitai ir makrofagai, taip pat endotelinės ląstelės, B ir T limfocitai. Kaip ir TNF- α , IL-1 gali sukelti pažeidimą, skatindamas matricos metaloproteinazių išsiskyrimą iš fibroblastų ir chondrocitų [7]. IL-1 stimuliuoja prostaglandino PGE₂, azoto oksido, ir matricos metaloproteinazių išsiskyrimą, kurie taip

pat skatina sąnario pažeidimą. Be to, svarbus veiksnys, kad IL-1 slopina sąnario regeneraciją, slopindamas kolageno sintezę [4]. Jis veikia kaip vietinis uždegimo mediatorius, skatina adhezijos molekulių sintezę endotelio ląstelėse. Taip pat pasireiškia šio interleukino endokrininis, sisteminis poveikis centrinei nervų sistemai (karščiavimas), hepatocitams (ūmios fazės baltymų sintezė), osteoklastams (kaulų rezorbcijos padidėjimas), kaulų čiulpams (leukocitozė, neutrofilija), jungiamojo audinio ląstelėms (proteoglikanų, PGE₂ sintezė) [1]. Aktyvindamas monocitus/makrofagus skatina uždegimą, skatindamas fibroblastų proliferaciją – skatina sinovijos panuso formavimąsi, aktyvindamas chondrocitus – skatina kremzlės ardymą [4]. Per IL-1 pasireiškia imuninės ir neuroendokrininės sistemos ryšys: IL-1 veikia pagumburį, skatindamas kortikoliberino sintezę, kuris didina kortikotropino sintezę pasmegeninės liaukos priekinėje dalyje, o šis skatina gliukokortikoidų sekreciją. Gliukokortikoidai savo ruožtu, slopina IL-1 bei kitų citokinų sintezę, slopina uždegimą ir turi imunosupresinį poveikį [1, 4].

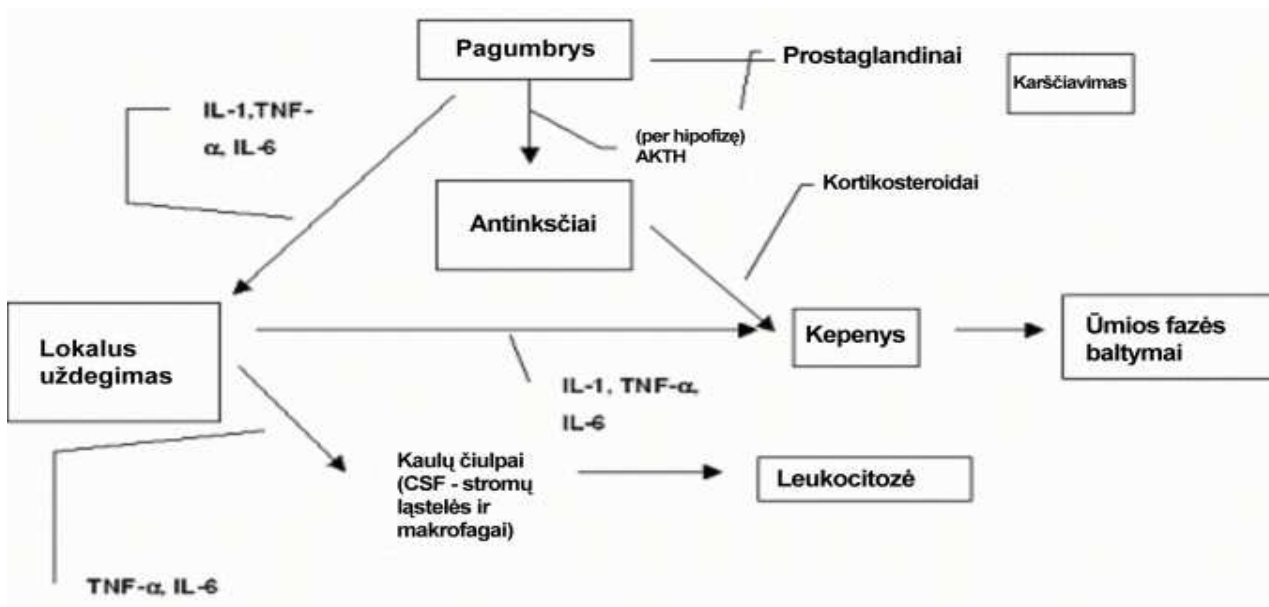
IL-6 sintetina monocitai, makrofagai, endotelio ląstelės, fibroblastai, aktyvinti T limfocitai. Jis skatina ŪFB sintezę hepatocituose, sukeldamas sisteminius uždegimo pokyčius, vadinamąjį ūmios fazės atsaką, taip pat skatina B limfocitų augimą ir jų vartimą plazminėmis ląstelėmis [1, 4].

IL-8 sekretuoja TNF- α ir IL-1 aktyvinti makrofagai, endotelio ląstelės ir fibroblastai. IL-8 yra stiprus neutrofilų chemoatraktantas [1].

Taigi citokinai gali veikti vietiškai ir sistemiškai. Vietinis citokinų poveikis pasireiškia taip: patogeno patekimo vietoje jie skatina adhezijos molekulių sintezę ir ekspresiją endotelio ir leukocitų membranose, neutrofilų ir monocitų chemotaksi. Taip pat aktyvina uždegimo židinyje susitelkusias ląsteles [22].

Veikdami sistemiškai, uždegimą skatinantys citokinai TNF- α , IL-1, IL-6 sukelia ūmios fazės atsaką (6 pav.) [22, 24]:

- 1) skatindami leukocitų gamybą kaulų čiulpuose ir jų patekimą į kraują, sukelia leukocitozę;
- 2) veikdami prostaciklinų sintezę pagumburyje termoreguliacijos centre, sukelia karščiavimą;
- 3) skatina hepatocituose ūmios fazės baltymų (ŪFB): CRB, MSB, α_1 -antitripsino, α_2 -makroglobulino, ceruloplazmino, haptoglobino, fibrinogeno sintezę [22].



6 pav. Sisteminis ūmios fazės uždegimo atsakas [41].

Uždegimo proceso metu organizme vyksta daugybė sisteminių ir molekulinų pokyčių, kurie bendrai vadinami ūmios fazės atsaku. Jis paprastai išsiplėtoja per kelias valandas ir po uždegimo stimulo ir yra lydimas ŪFB sintezės. ŪFB gali tiesiogiai neutralizuoti uždegimą sukėlusį agentą, taip pat gali dalyvauti audinio regeneracijoje [24].

Dauguma ŪFB yra sintetinami hepatocituose, tačiau kai kurie gali būti sintetinami ir monocitų, endotelio ląstelių, fibroblastų ir adipocitų. Po audinio ar ląstelių pažeidimo keičiasi ŪFB, tokių kaip CRP, serumo amiloido A, haptoglobino, fibrinogeno, albuminų ir transferino koncentracija bei kinetiniai kraujo parametrai (pvz., klampumas) [24].

Svarbiausi ŪFB ir jų funkcijos:

- proteazių inhibitoriai - α_1 -antitripsinas, α_2 -makroglobulinas. Proteazių inhibitoriai paverčia neaktyviais neutrofilų ir makrofagų lizosomų fermentus – proteazes, kurios atsipalaidavusios sukelia audinių alteraciją (pakenkimą) [1, 27];

- CRB – jungiasi prie patogeno membranos, jį opsonizuoja ir makrofagams padeda įsiurbti opsonizuotas daleles, be to, aktyvina komplemento sistemą klasikiniu būdu [1, 24]. CRB sąlygoja ankstyvą imuninės sistemos atsaką į antigeninį stimulą. Per pirmąsias pora dienų jo koncentracija pasiekia piką, esant lėtiniam uždegimui išlieka padidėjusi [24];

- Fibrinogenas, tai svarbus krešėjimo baltymas, trikdantis mikrocirkuliaciją uždegimo židinyje ir trukdantis patogenui pasklisti po organizmą [1];

- Haptoglobinas – prisijungdamas Hb dimerus, kurių daug išsilaisvina į kraują suaktyvėjus eritrocitų hemolizei uždegimo metu, jis padeda tausoti organizmo geležį [1, 38]. Taip pat haptoglobinas dalyvauja inaktyvuojant lizosominius fermentus [27];

- Ceruloplazminas – ardo superoksido radikalus, kurie išsiskiria iš fagocitų vykstant fagocitozei uždegimo metu [1, 38].

- Serumo amiloidas A (SAA)– transportuoja cholesterolį [38]. Jis turi įtakos ląstelių adhezijai, migracijai, proliferacijai ir agregacijai [40]. SAA sintetinamas kepenyse, taip pat jo sintetina aktyvinti makrofagai, fibroblastai. SAA yra jautrus uždegimo žymuo. Jo kiekis kraujo serume pradeda didėti praėjus porai valandų nuo pažeidimo, panašiai kaip ir CRB, bet šis didėjimas ryškesnis ir koncentracija maksimumą pasiekia anksčiau negu CRB, todėl yra jautresnis uždegimo rodiklis [27].

- Komplemento komponentai – C3a, C4a, C5a uždegimo židinyje sukeliama putliųjų ląstelių (audinių bazofilų) ir bazofilų (cirkuliuojančių kraujyje) degranuliaciją; C5a, C3a, C5b67 – leukocitų ekstravazaciją ir chemotaksį; C3a, C5a – trombocitų agregaciją; C5a – neutrofilų aktyvaciją; C3b, C4b, C3bi – opsonizaciją [1, 38].

2.4. HISTOLOGINIAI IR IMUNOCHISTOCHEMINIAI SKIRTUMAI TARP IMUNINIŲ IR DEGENERACINIŲ SINOVIŲ

Limfo-plazmocitinė subsinovinio sluoksnio infiltracija, stambiažidininė, o vėliau susiformuojant ir susidarant **limfoidiniams folikulams** - yra būdingas RA patognominis histopatologinis požymis. Kitų artritų sinovijoje būna silpnas ar vidutiniškai išreikštas uždegimas, dažnai besiskiriantis nuo RA pagal uždegiminių ląstelių sudėtį ir uždegimo stiprumą, vertinant jų skaičių (skorus – židinyje daugiau nei 50 ląstelių). Susidariusių

limfoidinių folikulų centruose būna limfocitai, juos supa plazminės ląstelės, kartais folikulai turi germinalinius centrus, randami 30 proc. RA ligonių. Tai reiškia, kad taikininys organas – sinovija – sergantiems RA praranda savo kaip normalaus audinio ir įgyja limfoidinio audinio funkcijas. Ypač stambūs limfoidiniai folikulai derinyje su subsinovijos fibroblastų proliferacija, būdingi tik RA. Manoma, kad limfoidiniai mazgai yra geriausias RA diagnostinis kriterijus [24].

Ligai progresuojant išryškėja sinovijos **gaurelių proliferacija** ir **A-sinoviocitų hiperplazija**. Ryški A-sinoviocitų židininė hiperplazija (nuo 2 iki 8-12 sluoksnių) atskiria RA pakenkimą nuo kitų uždegiminių sinovijos pakenkimų: reaktyvaus artrito, psoriazinio artrito, trauminio artrito, OA. Manoma, kad sinoviją dengiančių ir uždegiminių ląstelių hiperplaziją sergantiems RA sukelia sutrikusi ląstelių apoptozė per ląstelių pritekėjimo ir jų proliferacijos *in situ* disbalansą. Nepakankama (nuslopinta) apoptozė yra fundamentalus procesas, kuris lemia lėtinio uždegimo ir ląstelių hiperplazijos mechanizmus sergantiems RA [24].

Palisadinė sinovijos fibroblastų (SF) proliferacija subsinoviniame sluoksnyje yra svarbiausias RA patognominis požymis. SF yra unikalūs ląstelių tipas, atskiriantis RA nuo kitų uždegiminių sąnario ligų. Manoma, kad ankstyva SF aktyvacija yra pirmas žingsnis įvairių citokinų, chemokinų ir matriksą degraduojančių fermentų gamybai šiomis ląstelėmis. Chemokinai lemia sąveiką su kaimyninėmis endotelio ląstelėmis ir yra sąnario kremzlės ir kaulo progresuojančio ardymo kaltininkai. Pagal tokią seką atrodo, kad chemokinų gamyba reumatoidinėje sinovijoje sutelkia T ląsteles, makrofagus ir neutrofilus, kurie dar labiau sustiprina sąnario kremzlės ir kaulo destrukciją. Be to, SF per mutuoto *p53* geno aktyvinimą patiria apoptozės slopinimą, tampa nemirtingais ir pusiau vėžiniais arba įgyja priešvėžines charakteristikas. Šios *p53* geno mutacijos atsiranda ankstyvose RA ligos stadijose, kai dar nėra tikslios artrito diagnozės, bet išlieka per visą RA eigą. Pastaruoju metu susiformavo nuomonė, kad SF (B-sinoviocitai) patiria fenotipinius pokyčius, tampa atsparūs apoptozei, įgyja padidintą proliferacinį potencialą ir gebėjimą ardyti sąnario hialininę kremzlę ir kaulą, nepriklausomai nuo uždegimo sinovijoje. Jei *p53* nėra mutuotas, jo aktyvinimas skatina SF apoptozę, DNR atsistatymą ir apsaugo sinoviją nuo nesibaigiančios ląstelių proliferacijos ir vėžinio peraugimo. Mutuotas *p53* genas skatina SF proliferuoti, o subsinovinį sluoksnį – vežėti. Tokia

peraugusi sinovija panusas ir pasižymi aukštu invazyvumu. Sinovijos panusas per sinovijos/kremzlės jungtį, pasiekia ir užpildo sąnario ertmę, apdengia ir suardo kremzlinius ir kaulinius paviršius per SF gaminamą galektiną. Galektinas 3 (galectin-3) yra lektinas, atpažysta galaktozę turinčius ligandus, pasižymi antiapoptoziniu aktyvumu, gali stimuliuoti fibroblastų proliferaciją ir stiprinti monocitų chemotaksį. Jo gausu RA ligonių sinovijoje ir ypač sinovijos įaugimo (invazijos) vietose į kremzlę. Agresyvusis panusas, atpalaiduoja citokinus (ypač IL-1 β ir TNF- α), kurie slopina kolageno gamybą ir pradeda enzymų (metaloproteinazių ir kolagenazių), dalyvaujančių matriksio degradacijoje, sintezę. Proteazės degradoja kremzlės proteoglikanus, fibronektiną, baziųjų membranų IV - tipo kolageną ir aktyvuoja kolagenazes. Šiuos enzymus generuoja panuso proliferuojantys SF, kurie kartu su IL-1 β dešimt kartų greičiau suardo sinovijos dangalo ir kremzlės matriksus, nei su TNF- α . Abu citokinai aktyvina osteoklastus ir skatina kaulų rezorbciją. Pastarieji procesai tiesiogiai lemia sąnario erozijas, kremzlės suardymą, sukelia destruktinę sąnario ligą su kraujagyslių proliferacija, fibroze, kaulų ankilozėmis ir ankstyva osteoporoze [24].

Sinovitas reiškiasi **sinovinio skysčio pagausėjimu** sąnario ertmėje. Jame kaupiasi polimorfonuklearai (PMN), kurie per sinovijos kapiliarų endotelio ląstelių plyšius prasiskverbia į sąnario ertmę. Iki vieno bilijono ląstelių per dieną gali greitai pasiekti reumatoidinį kelio sąnarį esant aktyviam RA ir tik kelios iš ląstelių palieka sąnarį, kitos suardomos. PMN sukaupia ir atpalaiduoja genų produktus kartu su savo granuliu (azurofilinių, specifinių ir "C") turiniu į sinovinį skystį (mieloperoksidazę, elastazę, lizocimą, kolagenazę, rūgščias hidrolazes, želatinazę, IL-1 β , prostaglandinus, trombocitus aktyvuojantį faktorių (TAF), leukotrienus (įskaitant leukotrieną B4). Šie produktai patenka į sinovinį skystį ir sukelia ryškų sinovijos ir aplinkinių audinių pakenkimą. Dalis jų (leukotrienas B4 ir TAF) yra chemoatraktantai, autokrininiu būdu aktyvuoja naujus neutrofilus. Aktyvuoti leukocitai gamina daug laisvų deguonies radikalų, kurių atomai ar molekulės trumpai gyvena, yra labai agresyvūs ir toksiški. Sinovijoje atsiranda geležies dėl mikrohemoragijų, kuri katalizuoja hidrosilinius jonus ir dar labiau sustiprina metaloproteinazių biosintezę SF ląstelėse [24].

Taigi natūralu, kad sinovijoje ieškoma patognominių požymių artritų diagnostikai. Bet vis dėl to ankstyvas sinovijos dangalo tyrimas nuvilia, nes sunku rasti ryšį tarp

histopatologijos ir artrito specifiškumo bei aktyvumo. Dažnai skirtingos sinovijos dangalo vietos, iš kurių imamos biopsijos, rodo skirtingą histopatologinį vaizdą, nes sergantiems RA sinovijos dangalas pakenkiamas fragmentiškai: fibrozavus vienam uždegimo židiniui, jis prasideda kitoje vietoje. Tik artroskopu paimtas biopsijos mėginys iš sinovijos-kremzlės jungties visada būna labiau uždegimiškas ir informatyvus. Taigi biopsijos vieta imant sinovijos dangalą histologiniam tyrimui yra labai svarbi [24].

Rasti imunohistocheminius skirtumus tarp RA ir OA grupių yra labai sudėtinga, kadangi daugiau ar mažiau šiose abiejose grupėse pasireiškia uždegiminių mediatorių raiška sinovijos membranoje ir kremzlėje [32].

3. TYRIMO METODAI IR APIMTIS

3.1. TIRIAMOJI MEDŽIAGA

Analizei buvo panaudoti 24 pacientų (11 vyrų, 13 moterų), kuriems pasireiškė sąnario pakenkimas, sinovijos audinio biopsiniai mėginiai. Iš jų 12 pacientų buvo sergantys imuniniais sinovitais ir 12 pacientų sergantys degeneraciniais sinovitais. Visiems tiriamiesiems sinovinio audinio mėginiai buvo gauti atlikus sąnarių chirurgines intervencijas gydymo tikslais. Šios sąnarių chirurginės intervencijos buvo atliktos Vilniaus universitetinėje Santariškių klinikoje ir Vilniaus universitetinėje Greitosios pagalbos ligoninėje. Tyrimams atlikti buvo gautas Etikos komisijos leidimas.

3.2. TYRIMO METODAI

3.2.1. HISTOPATOLOGINĖ SINOVINIO AUDINIO ANALIZĖ

Sinovijų biopsijų audiniai buvo fiksuoti 10% neutraliame formalino tirpale ir įlieti į parafiną. 4-5 mikrometrų storio pjūviai supjaustyti *Microm* mikrotomu ir uždėti ant silanizuotų objektinių stiklelių. Iš kiekvienos sinovijos biopsijos buvo padaryta po 5 pjūvius skirtus kiekvienam tyrimo metodui. Po standartinio deparafinizavimo ksilole ir praplovimo pjūviai buvo nudažyti hematoksilino-oezino dažais, bendrai sinovijų biopsijų audinių analizei. Dažymo rezultatai buvo vertinami šviesiniu mikroskopu *Olympus BX51*. Bendras morfologinis vaizdas buvo vertinamas naudojant 100 kartų didinimą, o pusiau kiekybinei analizei – 400 kartų didinimą. Pusiau kiekybiniam vertinimui randomizuotu būdu buvo išrinkti 5 laukai.

Histopatologinė sinovinio audinio analizė buvo atlikta remiantis Krenn V, Morawietz L. sudarytu išplėstu sinovijos tyrimo protokolu, kuris pateiktas 2 lentelėje [46].

Kiekvienas sinovijos biopsijos audinio mėginys buvo atskirai analizuojamas pagal požymius, vertinant juos 4 taškų sistemoje (0 – nėra požymio, 1 – silpnas požymis, 2 – vidutinis požymis, 3 – stiprus požymis).

2 lentelė. Sinovinio dangalo histopatologinių pokyčių vertinimo schema.

Atvejo Nr.	POKYČIAI	POŽYMAI	VERTINIMAS TAŠKAIS
	<p>1. Sinovijos proliferacija</p> <p>2. Sinovijos intimos ląstelių proliferacija (sinoviocitų sluoksnių skaičius)</p> <p>3. Gaurelių, kraujagyslių proliferacija</p> <p>4. Sinovijos pabrinkimas</p>	<p>Nėra</p> <p>2-3 sluoksniai</p> <p>4-5 sluoksniai</p> <p>6> sluoksniai</p>	<p>0</p> <p>1 (silpna)</p> <p>2 (vidutinė)</p> <p>3 (stipri)</p> <p>1-2(silpna-vidutinė)</p> <p>1-2(silpna-vidutinė)</p>
	<p>1. Fibroblastų aktyvacija/panuso susidarymas:</p> <p>a) fibrozė</p> <p>b) fibrinoidinė nekrozė</p>	<p>nėra</p> <p>nežymus ląstelių pagausėjimas, nežymi lėtinė edema</p> <p>vidutiniškas ląstelių pagausėjimas, aktyvių fibroblastų zonos su lėtinėmis granuliacijomis, pavienės gigantinės ląstelės</p> <p>žymus ląsteliškumas, gausu gigantinių ląstelių, granuliuotos</p>	<p>0</p> <p>1 (silpna)</p> <p>2 (vidutinė)</p> <p>3 (stipri)</p> <p>2-3(vidutinė-stipri)</p>
	<p>1. Uždegiminė ląstelių infiltracija</p> <p>2. Limfoidiniai folikulai</p>	<p>nėra</p> <p>difuzinė ar perivaskuliarinė pavienių ląstelių židininės sankaupos, pavienės plazminės ląstelės ir limfocitai</p> <p>perivaskuliarinės ir subsinovinės vidutinės limfocitų sankaupos</p> <p>uždegiminės ląstelės sudaro folikulus su germinaliniais centrais, ar susiliejančius infiltratus</p>	<p>0</p> <p>1 (silpna)</p> <p>2 (vidutinė)</p> <p>3 (stipri)</p> <p>3 (stipri)</p>

	Sinovijos uždegiškumas	Sinovito nėra	0
		silpnas sinovitas = uždegimo laipsnis IG1	1 (silpna)
		vidutiniškas sinovitas = uždegimo laipsnis IG2	2 (vidutinė)
		stiprus sinovitas = uždegimo laipsnis IG3	3 (stipri)

3.2.2. IMUNOHISTOCHEMINIS BIOPSIJŲ TYRIMAS (TNF- α , IL-6, MMP-8)

Sinovijų biopsijų audiniai buvo fiksuoti 10% neutraliame formalino tirpale ir įlieti į parafiną. 4-5 mikrometrų storio pjūviai supjaustyti *Microm* mikrotomu ir uždėti ant silanizuotų objektinių stiklelių. Iš kiekvienos sinovinio dangalo biopsijos buvo padaryta po 5 pjūvius skirtus kiekvienam tyrimo metodui. Po standartinio deparafinizavimo ksilole ir praplovimo fosfatiniame buferio tirpale (FBT) pjūviai buvo 30 minučių inkubuoti 0,3% vandeniniame H₂O₂ tirpale endogeninės peroksidazės užblokavimui. Imunohistocheminis dažymas atliktas pagal DAKO standartinį protokolą. Buvo panaudoti šie pirminiai antikūnai: 1) anti-human IL-6, purified mouse monoclonal IgG_{2B}, 1:160 (R&D, Minneapolis, MN, USA) - monokloniniai pelės antikūnai prieš žmogaus IL-6; 2) anti-human TNF- α , rabbit polyclonal antibody, 1:80 (DAKO, Denmark A/S) – polikloniniai triušio antikūnai prieš žmogaus TNF- α ; 3) anti-human MMP-8, purified mouse monoclonal antibody IgG_{2A}, 1:320 (R&D, Minneapolis, MN, USA) - monokloniniai pelės antikūnai IgG_{2A} prieš žmogaus MMP-8. Inkubavimas pirminių antikūnų terpėse vyko 30 minučių kambario temperatūroje drėgnoje kameroje.

Po praplovimo FBT pjūviai buvo 30 minučių inkubuoti pažymėtų biotinu antrinių antikūnų terpėje, toliau apdoroti, naudojant DAKO En-Vision sudarytą iš substrato – chromogeno rinkinį. Švelniai praplovus FBT, pjūviai buvo papildomai trumpai dažyti Mayerio hematoksilinu (DAKO), praskaidrinti ksilole, padengti DAKO glicergėliu ir uždengti dengiamaisiais stikleliais. Dažymo rezultatai buvo vertinami šviesiniu mikroskopu *Olympus BX51* naudojant ANALYSIS kompiuterinę programą. Fotografuojant bei vertinant naudotas 100-400 kartų didinimas. Teigiamu buvo laikomas

rezultatas jei audiniuose antigeną turinčios struktūros nusidažydavo ruda spalva. Specifinio tiriamojo antigeno susirišimo su pirminiu antikūnu patvirtinimui buvo atliekamos neigiamos dažymo kontrolės, vietoje pirminių antikūnų naudojant FBT. Šiais atvejais specifinio nusidažymo nebuvimas audinyje patvirtindavo, kad nėra antikūno nespecifinio reagavimo su audinių ir ląstelių komponentais.

Kiekvienas imunohistocheminis sinovijos biopsijos audinio mėginio nusidažymas buvo vertinamas 4 taškų sistemoje (3 lentelė).

3 lentelė. Imunohistocheminio nusidažymo vertinimo schema.

VERTINIMAS TAŠKAIS	NUSIDAŽYMAS
0	Nėra specifinio nusidažymo;
1	Pavienės specifiskai nusidažiusios ląstelės (profiliai);
2	Apie 30 proc. specifiskai nusidažiusių ląstelių (profilų);
3	Virš 30 proc. specifiskai nusidažiusių ląstelių (profilų).

3.3. STATISTINĖ DUOMENŲ ANALIZĖ

Statistinė duomenų analizė atlikta kompiuterine statistine programa *SPSS for Windows* (versija 13.0). Taip pat šios programos pagalba buvo sudaryti histopatologinių ir imunohistocheminių rodiklių pasiskirstymo, priklausomai nuo dažnio kiekvienoje tiriamojoje grupėje, paveikslai. Tolydžiams dydžiams vertinti taikytos šios statistinės charakteristikos: vidurkis, dažnis. Neparimetrinių dydžių ar neatitinkantys normaliojo skirstinio sąlygos vidurkių skirtumai buvo lygintini tarp dviejų grupių naudojant Mann-Whitney U testą. Vertinant požymių priklausomumą ranginiams dydžiams bei mažoms imtims naudotas Spearmano ranginės koreliacijos koeficientas (r). Duomenys buvo laikomi statistiškai reikšmingi, kai $p < 0,05$. Demografinė lentelė buvo sudaryta panaudojant Microsoft Excel 2002 programą.

4. TYRIMO REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

4.1. TIRIAMIEJI

Iš 4 pateiktos lentelės, matome, kad imuninių sinovijų grupėje (IS) vyravo moterys, o degeneracinių sinovijų (DS) – vyrai. Pagal amžiaus grupes šios dvi sinovijų grupės praktiškai nesiskyrė. IS jauniausias tiriamasis asmuo buvo 28 metų, vyriausias – 63 metų, o DS jauniausias – 22 metų, vyriausias – 66 metų. Vidutinė ligos trukmė buvo dvigubai ilgesnė IS grupėje, kas neišvengiamai atitinka šių ligų prigimtį ir eigą.

4 lentelė. Tirtų pacientų demografiniai duomenys.

Ligonių grupė	Vyrai (skaičius)	Moterys (skaičius)	Vidutinis amžius (metais)	Vidutinė ligos trukmė (mėnesiais)
IS	3	9	44,92	110,58
DS	8	4	42,08	58,25

4.2. HISTOPATOLOGINĖ SINOVIJOS AUDINIŲ BIOPSIJŲ ANALIZĖ

Atlikus histopatologinę sinovijos biopsijų analizę, buvo nustatytas sinovitas visiems tiriamiesiems. Nors tirtų sinovijų prigimtis buvo skirtinga, visose sinovinio dangalo mėginių grupėse histologinis vaizdas turėjo daug panašumų, bet histopatologiniai pokyčiai buvo išreikšti skirtingais laipsniais (5 lentelė).

5 lentelė. Histopatologiniai pokyčiai imuninių ir degeneracinių sinovijų grupėse.

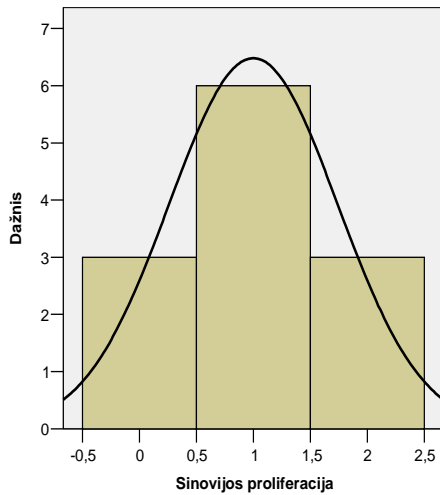
	Sinovijos proliferacija	Gaurelių, kraujagyslių proliferacija	Sinovijos intimos ląstelių proliferacija	Sinovijos pabrinkimas	Fibronoidinė nekrozė	Fibrozę	Audinių infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis	Limfoidiniai folikulai
IS	2,16	2,00	1,83	2,50	2,17	1,83	2,75	2,25
DS	1,00	1,33	0,92	1,42	0,33	0,75	2,00	0,25

Iš pateiktos 5 lentelės matome, kad tiriamiesiems sergantiems imuniniais sinovitais (RA) būdingas didesnis išreikštas, visų tirtų histopatologinių pokyčių laipsnis, negu tiriamiesiems sergantiems degeneraciniais sinovitais (OA).

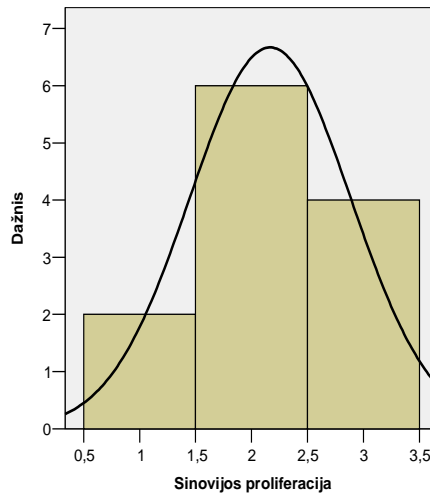
Šiose dviejose tirtose grupėse, histopatologiniai pokyčiai, skirtingai pasiskirstė pagal vertinimo taškų sistemą.

DS sinovijos proliferacija (7 pav.) buvo minimaliai įvertinta 0 taškų, maksimaliai - 2 taškais, o IS min. – 1 tašku, max. – 3 taškais. Tačiau DS sinovijos proliferacija daugiausiai buvo įvertinta 1 tašku, o IS – 2 taškais.

Degeneraciniai sinovitai



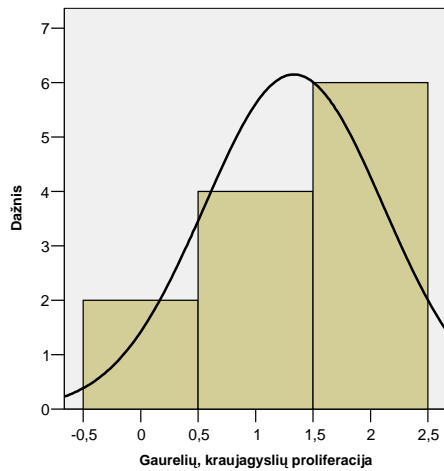
Imuniniai sinovitai



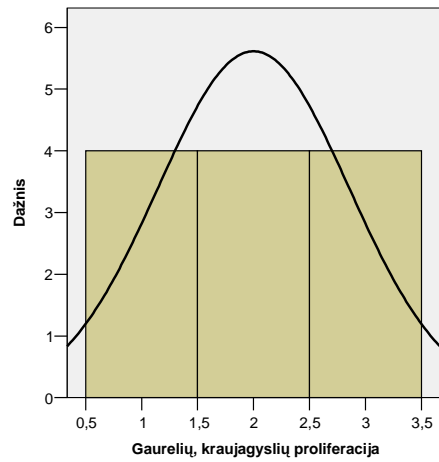
7 pav. Sinovijos proliferacija degeneracinių ir imuninių sinovitų metu.

DS gaurelių, kraujagyslių proliferacija (8 pav.) buvo minimaliai įvertinta 0 taškų, maksimaliai - 2 taškais, o IS min. – 1 tašku, max. – 3 taškais. Tačiau DS gaurelių, kraujagyslių proliferacija daugiausiai buvo įvertinta 1 tašku, o IS vyravo po lygiai 1, 2 ir 3 taškai.

Degeneraciniai sinovitai



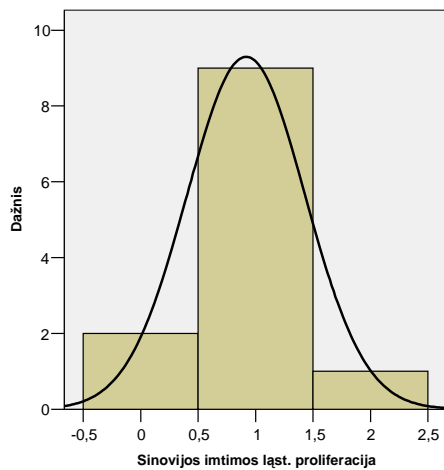
Imuniniai sinovitai



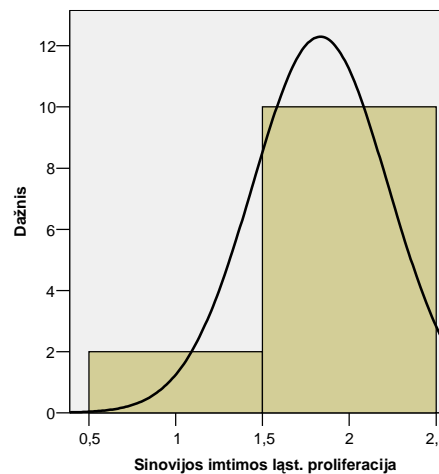
8 pav. Gaurelių, kraujagyslių proliferacija degeneracinių ir imuninių sinovitų metu.

DS sinovijos imtimos ląstelių proliferacija (9 pav.) buvo minimaliai įvertinta 0 taškų, maksimaliai - 2 taškais, o IS min. – 1 tašku, max. – 2 taškais. Tačiau DS vyravo tiriamieji, kurių sinovijos imtimos ląstelių proliferacija daugiausiai buvo įvertinta 1 tašku, o IS – 2 taškai.

Degeneraciniai sinovitai



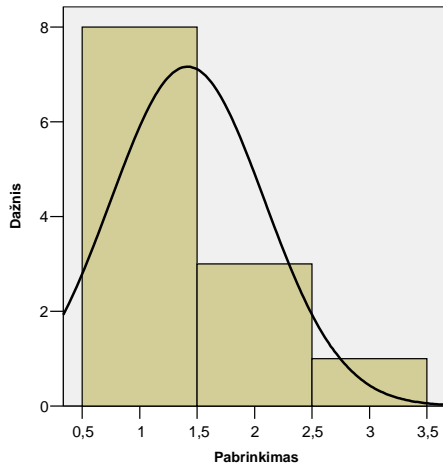
Imuniniai sinovitai



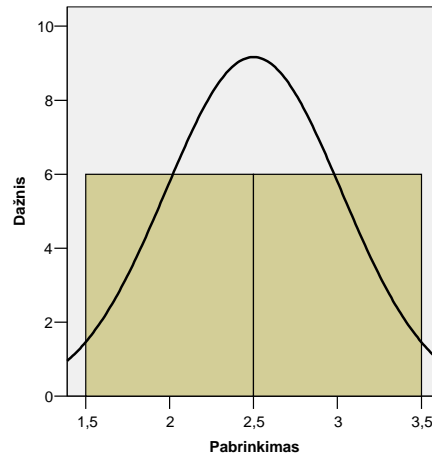
9 pav. Sinovijos imtimos ląstelių proliferacija degeneracinių ir imuninių sinovitų metu.

DS sinovijos pabrinkimas (10 pav.) buvo minimaliai įvertintas 1 tašku, maksimaliai - 3 taškais, o IS min. - 2 taškais, max. - 3 taškais. Tačiau DS vyravo tiriamieji, kurių sinovijos pabrinkimas daugiausiai buvo įvertintas 1 tašku, o IS - po lygiai 2 ir 3 taškais. Histopatologinis šių dviejų grupių vaizdas pateiktas 11 ir 12 paveiksluose.

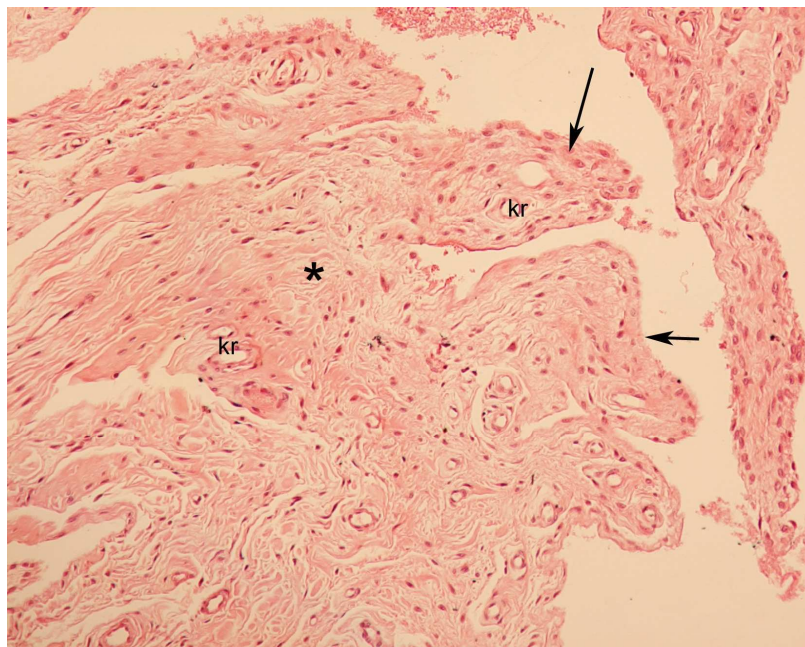
Degeneraciniai sinovitai



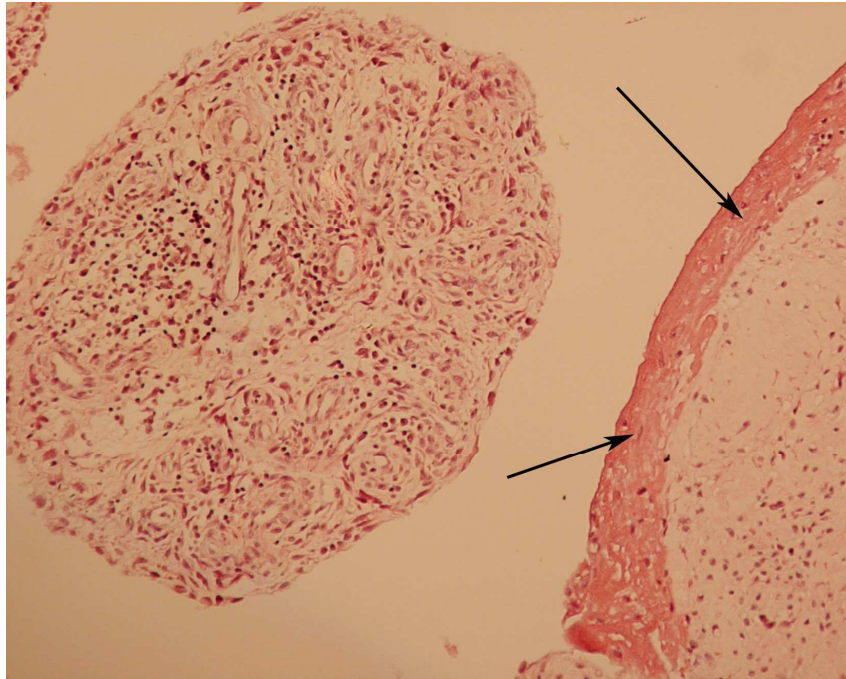
Imuniniai sinovitai



10 pav. Sinovijos pabrinkimas degeneracinių ir imuninių sinovitų metu.



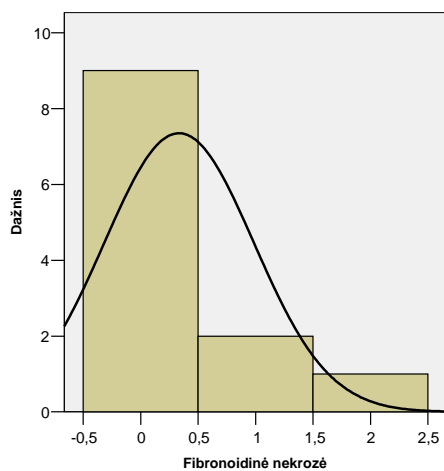
11 pav. Degeneracinis sinovitas. Sinovinio dangalo bei gaurelių pabrinkimas (*); "kr"- kraujagyslės; "→" - sinovijos gaureliai. Dažyta hematoksilinu ir eozinu, padidinimas x100.



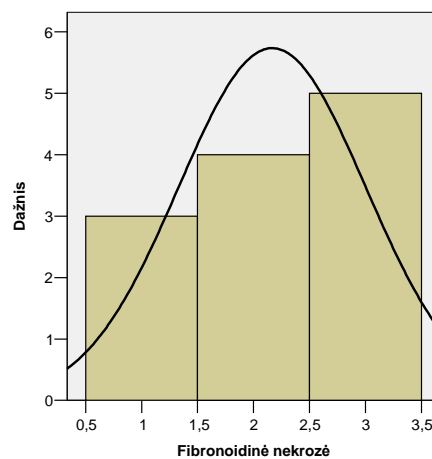
12 pav. Imuninis sinovitas. Sinovinio dangalo gaurelių pabrinkimas bei infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis (iš kairės) bei gaurelio fibrinoidinė nekrozė ("→"). Dažyta hematoksilinu ir eozinu, padidinimas x100.

DS fibrinoidinė nekrozė (13 pav.) buvo minimaliai įvertinta 0 tašku ir šis įvertinimas vyravo tarp tiriamųjų, o maksimaliai įvertinta - 3 taškais. IS fibrinoidinė nekrozė min. įvertinta – 1 tašku, max. – 3 taškais. Fibrinoidinės nekrozės histopatologinis vaizdas pateiktas 12 paveiksle.

Degeneraciniai sinovitai



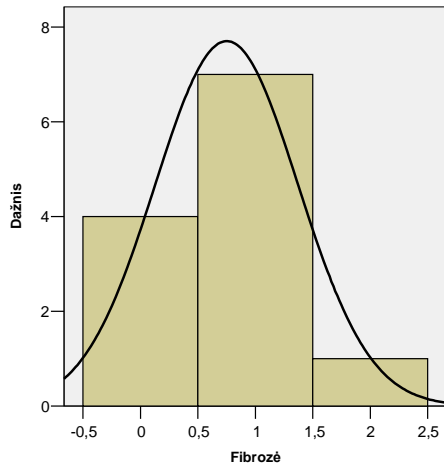
Imuniniai sinovitai



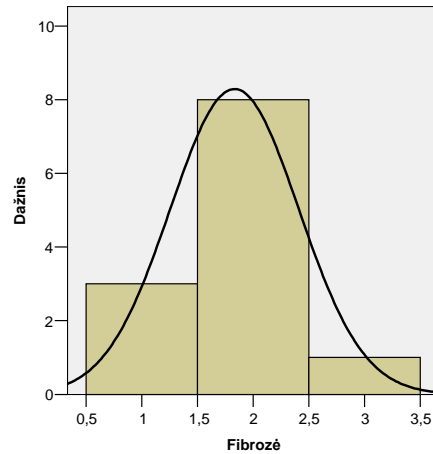
13 pav. Fibrinoidinė nekrozė degeneracinių ir imuninių sinovitų metu.

DS fibrozė (14 pav.) buvo minimaliai įvertinta 0 tašku, maksimaliai - 2 taškais, o IS min. – 1 tašku, max. – 3 taškais. Pateiktame paveikslėlyje matome, kad DS grupėje vyravo tiriamieji, kurių sinovijos fibrozė daugiausiai buvo įvertinta 1 tašku, o IS – 2 taškais. Fibrozės histopatologinis vaizdas pateiktas 15, 16 paveiksluose.

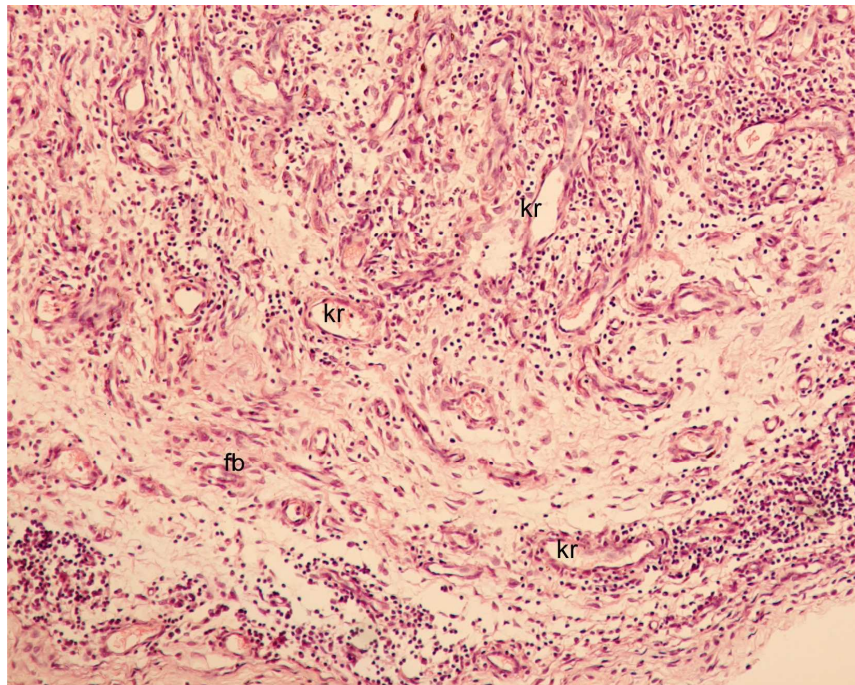
Degeneraciniai sinovitai



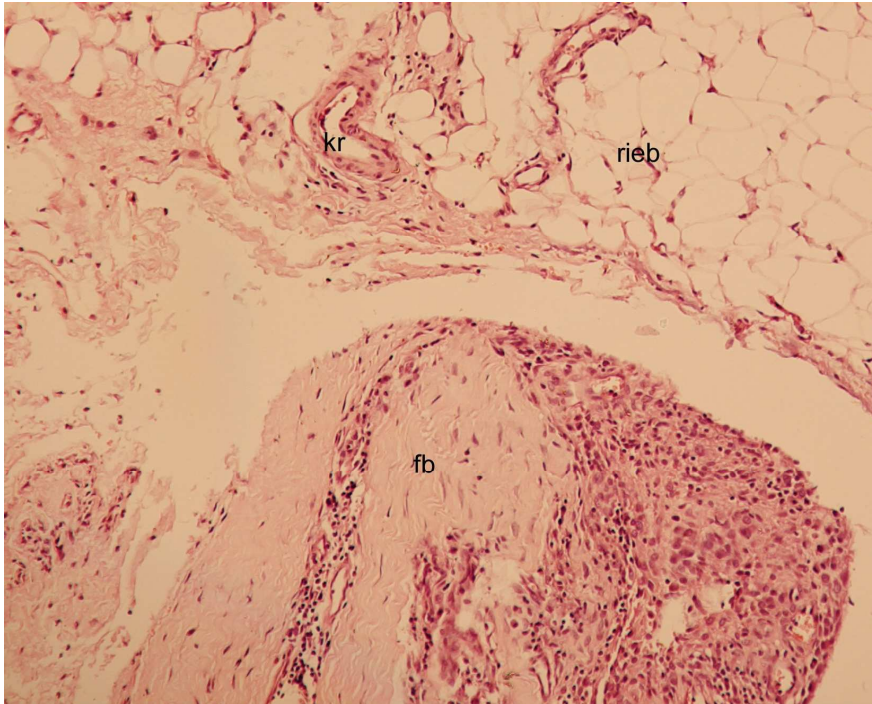
Imuniniai sinovitai



14 pav. Fibrozė degeneracinių ir imuninių sinovitų metu.



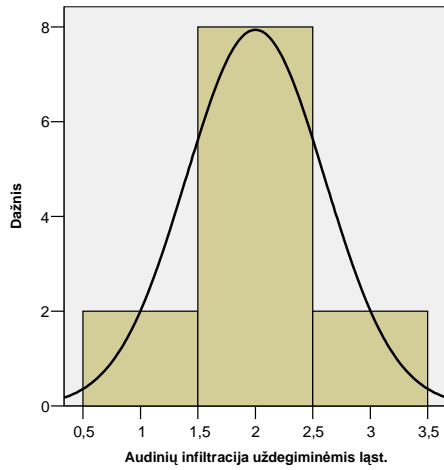
15 pav. Imuninis sinovitas. Granuliacinis audinys sinovijoje. ”kr”- kraujagyslės, “fb” – fibroblastai. Dažyta hematoksilinu ir eozinu, padidinimas x100.



16 pav. Imuninis sinovitas. Mozaiškas gaurelių pažeidimas. ” kr”- kraujagyslės, “fb” – fibroblastai, “rieb” – riebalinis audinys. Dažyta hematoksilinu ir eozinu, padidinimas x100.

DS sinovinio dangalo infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis (17 pav.) buvo minimaliai įvertinta 1 tašku, maksimaliai - 3 taškais, o IS min. – 2 taškais, max. – 3 taškais. Pateiktame paveikslėlyje matome, kad DS grupėje vyravo tiriamieji, kurių audinių infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis daugiausiai buvo įvertinta 2 taškai, o IS – 3 taškais. Histopatologinis, audinių infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis, vaizdas pateiktas 18 paveiksle.

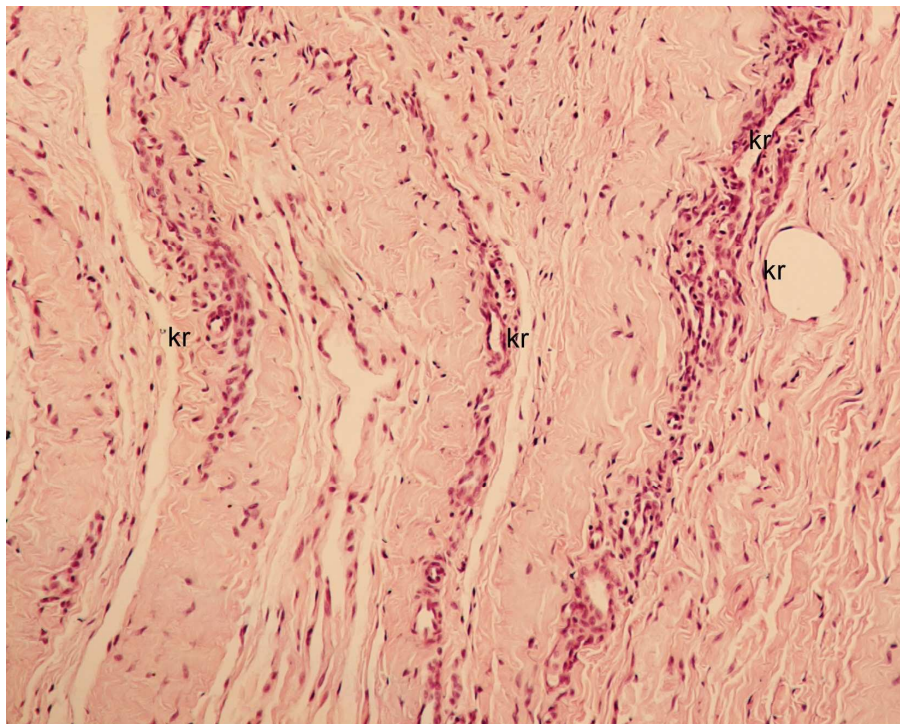
Degeneraciniai sinovitai



Imuniniai sinovitai



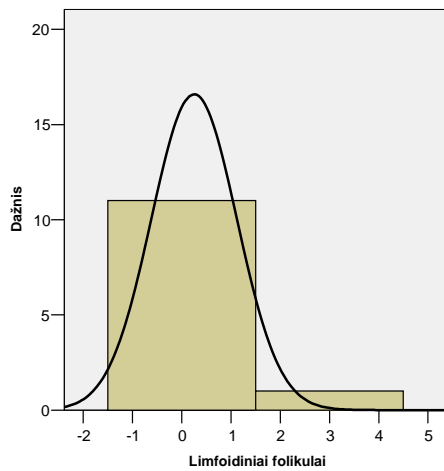
17 pav. Audinių infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis degeneracinių ir imuninių sinovitų metu.



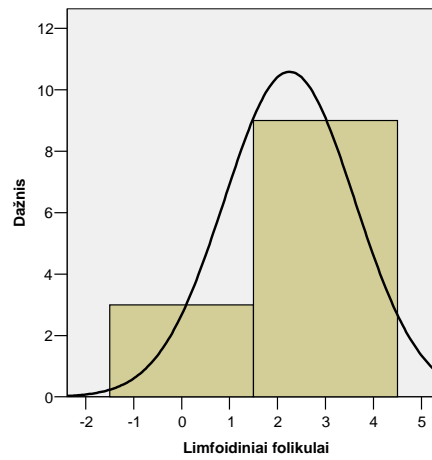
18 pav. Degeneracinis sinovitas. Perivaskuliarinė infiltracija limfocitais; "kr" - kraujagyslės. Dažyta hematoksilinu ir eozinu, padidinimas x100.

DS limfoidiniai folikulai (19 pav.) buvo minimaliai įvertinti 0 tašku (nebuvo limfoidinių folokulų), maksimaliai - 3 taškais (daug limfoidinių folikulų), o IS min. – 0 tašku, max. – 3 taškais. Iš pateikto paveikslėlio matome, kad DS grupėje vyravo tiriamieji, kurių limfoidinių folikulų formavimasis daugiausiai buvo įvertintas 2 taškai, o IS – 3 taškais. Histopatologinis, limfoidinių folikulų vaizdas pateiktas 20 ir 21 paveiksluose.

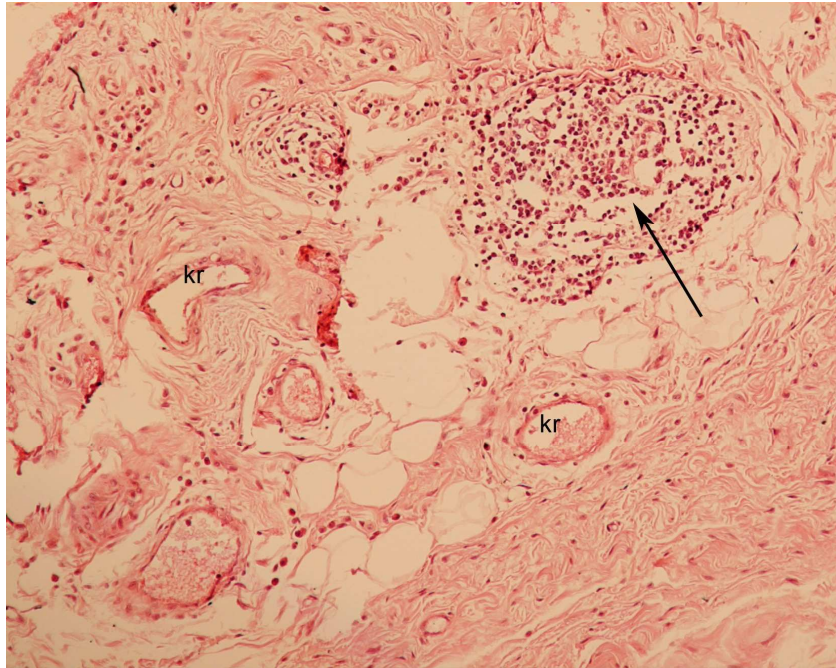
Degeneraciniai sinovitai



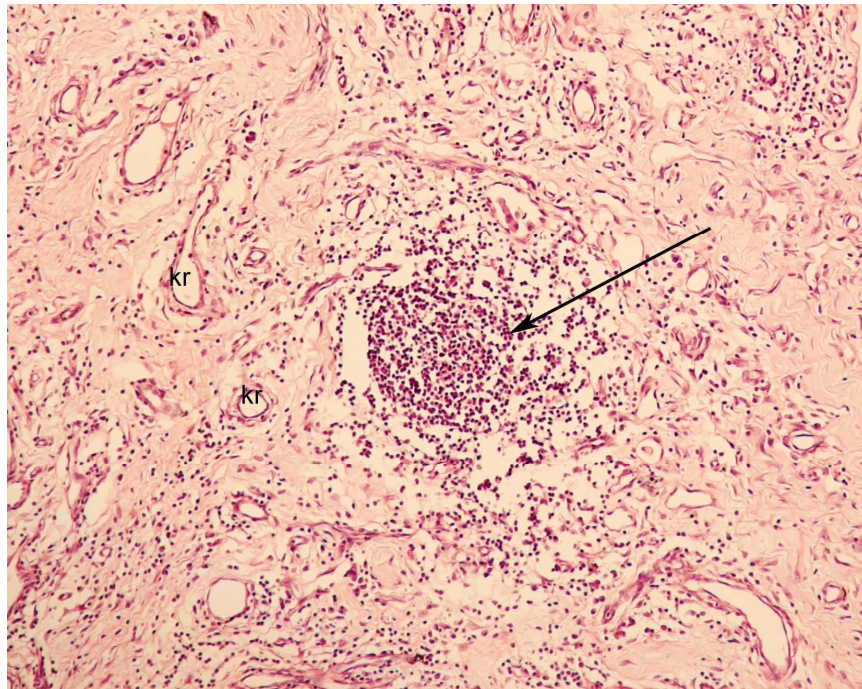
Imuniniai sinovitai



19 pav. Limfoidiniai folikulai degeneracinių ir imuninių sinovitų metu.



20 pav. Degeneracinis sinovitas. Sinovinio dangalo infiltracija limfocitais, limfoidiniais folikulai („→“); „kr“ - kraujagyslės. Dažyta hematoksilinu ir eozinu, padidinimas x100.



21 pav. Imuninis sinovitas. Sinovinio dangalo pabrinkimas, limfoidiniai folikulai („→“). Dažyta hematoksilinu ir eozinu, padidinimas x100.

4.3. IMUNOHISTOCHEMINĖ SINOVINIO DANGALO BIOPSIJŲ ANALIZĖ

Abiejose sinovinio dangalo mėginių grupėse buvo randama visų analizuojamų epitopų raiška. Konkrečių epitopų raiškos dažnis ir teigiamų profilių (ląstelių, tarpląstelinės medžiagos) išsidėstymas skyrėsi tarp atskirų tirtų mėginių ir tarp grupių. Tirtų antigenų suminė raiška pateikiama 6 lentelėje.

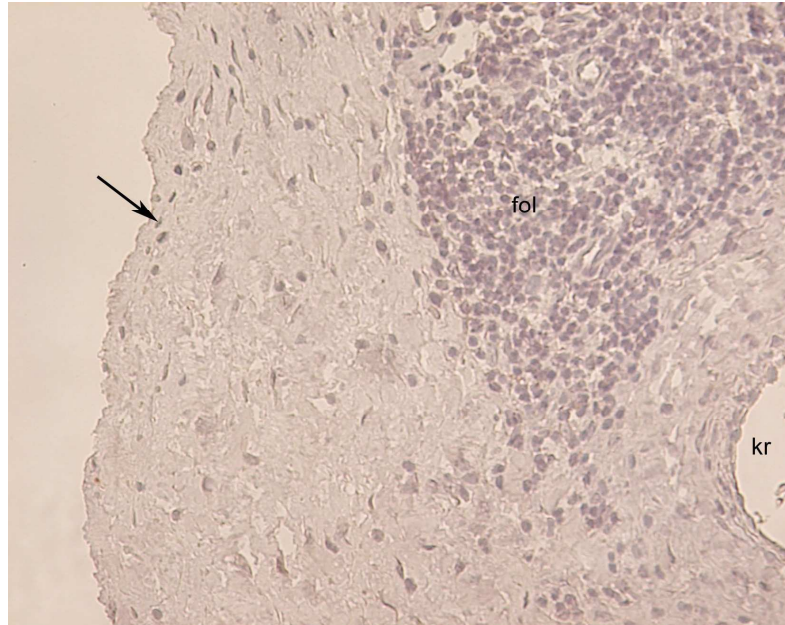
6 lentelė. Palyginamoji uždegimo rodiklių lentelė imuninių ir degeneracinių sinovitu grupėse.

Rodiklis	IS N=12 (SN)	DS N=12 (SN)
Sinovijos uždegimiškumo rodiklis (0-3, 0-nėra uždegimo)	2.83 (0.38)	1.58 (0.51)
TNF- α (0-3, 0- nėra raiškos)	2.25 (0.62)	1.67 (0.88)
IL-6 (0-3, 0- nėra raiškos)	1.50 (0.67)	1.50 (0.99)
MMP-8 (0-3, 0- nėra raiškos)	1.83 (0.83)	1.83 (0.71)

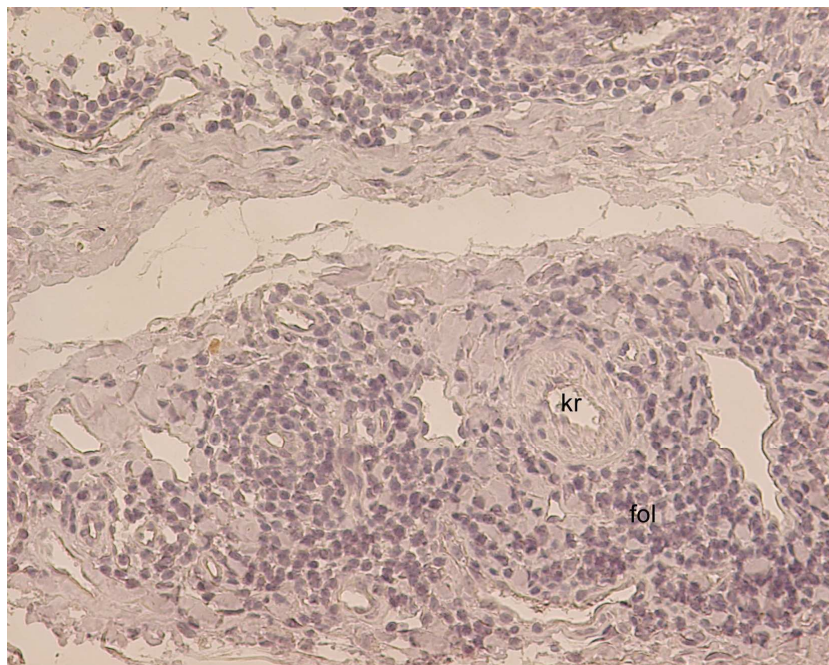
SN- standartinis nuokrypis

Imuniniai sinovitai pasižymėjo didesniu uždegimo laipsniu negu degeneraciniai sinovitai. Tačiau uždegimo požymiai buvo akivaizdūs abiejose grupėse. TNF- α raiška buvo didesnė imuniniuose sinovituose negu degeneraciniuose. O IL-6 ir MMP-8 raiška abiejose sinovitų grupėse buvo lygi, tačiau jų standartiniai nuokrypiai skyrėsi.

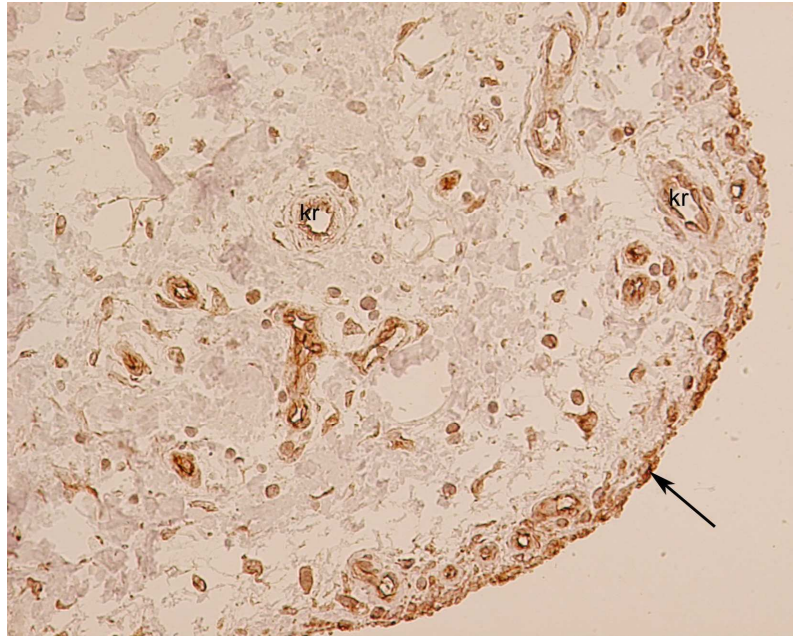
Neigiamos imunohistocheminio dažymo kontrolės neparodė jokios specifinės spalvos (22, 23 pav.). Uždegiminiai citokinai TNF- α bei IL-6 stipriau reikėsi kraujagyslių sienelių ir sinovijos dengiamojo sluoksnio ląstelėse (24-30 pav.). MMP-8 teigiami dažniausiai buvo fibroblastai, kurių išsidėstymas buvo mozaikiškas (31, 32 pav.).



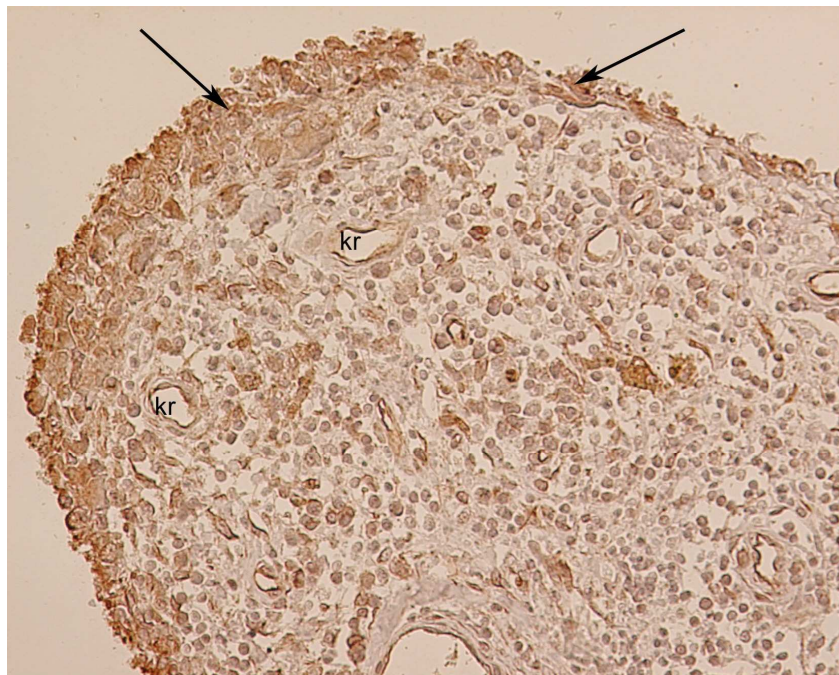
22 pav. Degeneracinis sinovitas. Neigiamo imunoperoksidazinio dažymo kontrolė. ("fol")- limfoidinis folikulas, ("kr") – kraujagyslės, ("→") gaurelio stroma. Papildomai dažyta hematoksilinu. Padidinimas x200.



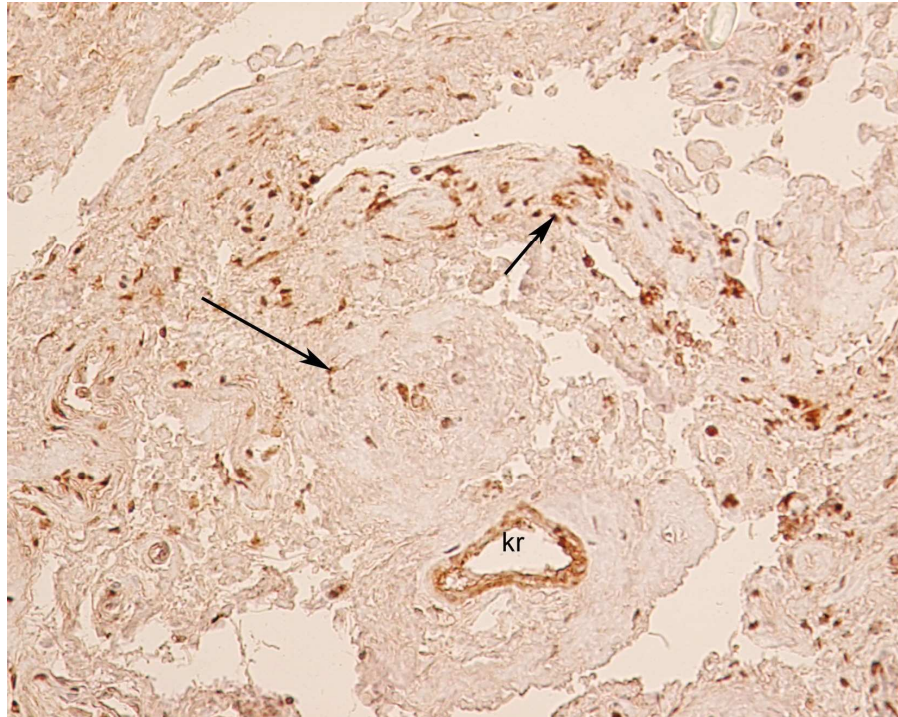
23 pav. Imuninis sinovitas. Neigiamo imunoperoksidazinio dažymo kontrolė. ("fol") - limfoidinis folikulas, ("kr") – kraujagyslės. Papildomai dažyta hematoksilinu. Padidinimas x200.



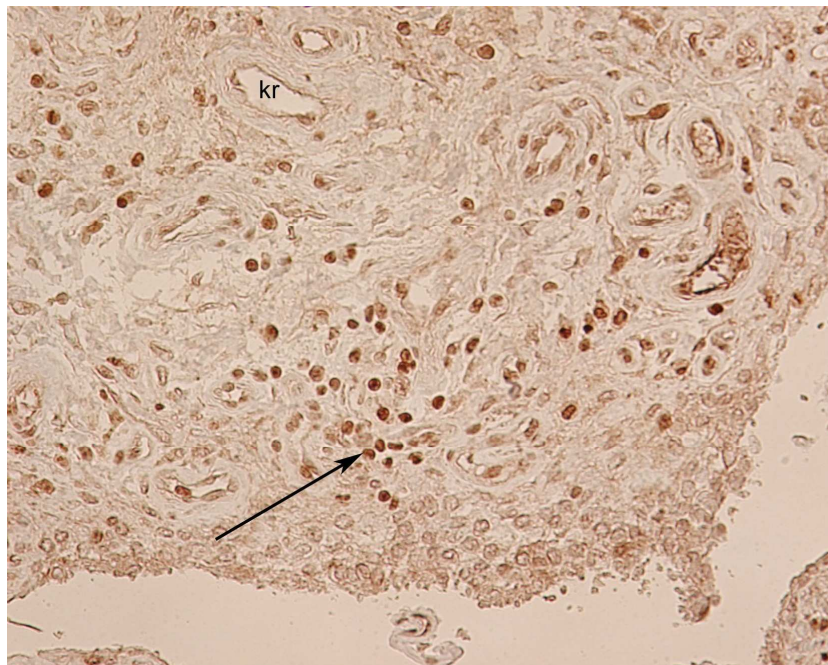
24 pav. Degeneracinis sinovitas. TNF- α sinovijos dengamosiose ląstelėse ("→"), kraujagyslių sienelėse ("kr") bei pavieniose infiltruojančiose ląstelėse. Imunoperoxidazinis dažymas, padidinimas x200.



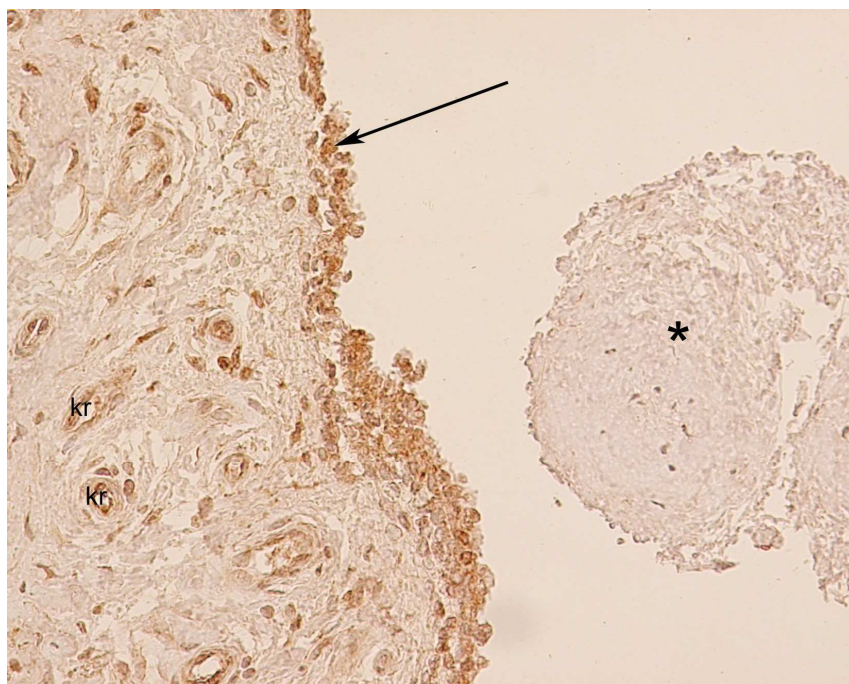
25 pav. Imuninis sinovitas. TNF- α sinovijos dengamosiose ląstelėse ("→"), kraujagyslių sienelėse ("kr") bei daugelyje infiltruojančių ląstelių. Imunoperoxidazinis dažymas, padidinimas x200.



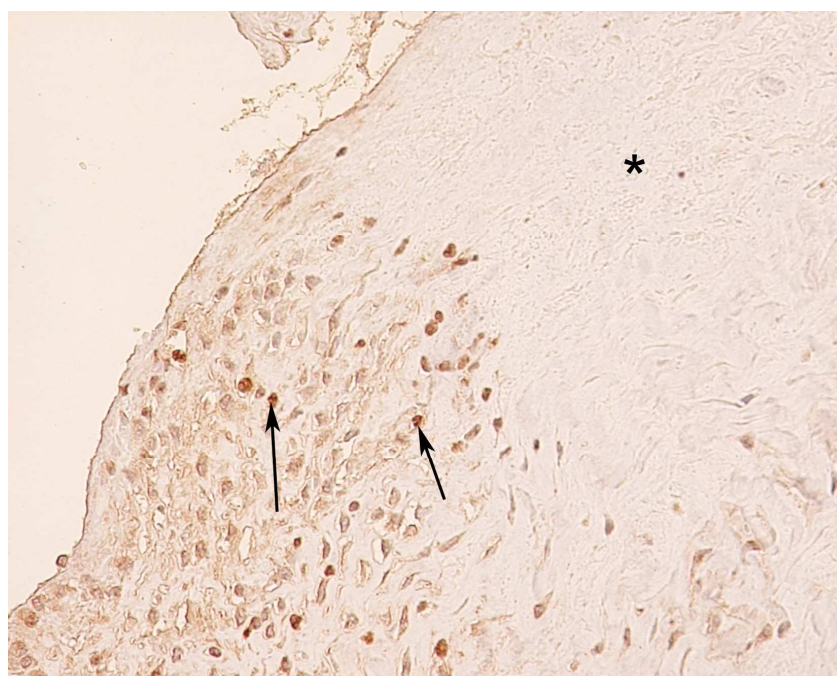
26 pav. Degeneracinis sinovitas. IL-6 kraujagyslių sienelėse ("kr"), fibroblastuose bei pavienėse infiltruojančiose ląstelėse ("→"). Imunoperoksidazinis dažymas, padidinimas x200.



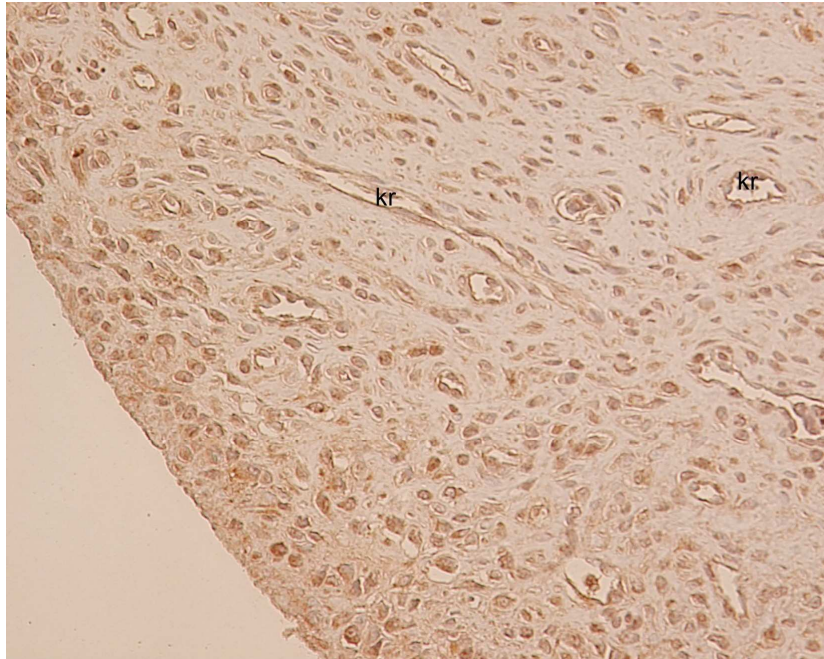
27 pav. Degeneracinis sinovitas. IL-6 daugelyje infiltruojančių ląstelių ("→") bei kraujagyslių sienelėse ("kr"). Imunoperoksidazinis dažymas, padidinimas x200.



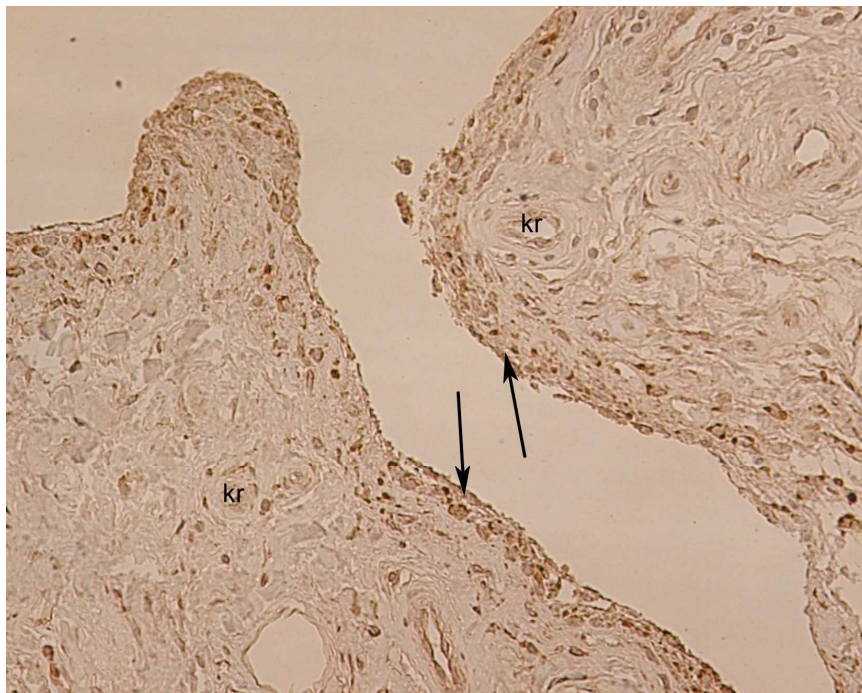
28 pav. Degeneracinis sinovitas. IL-6 sinovijos dengiamosiose ląstelėse ("→"), kraujagyslėse bei pavieniuose fibroblastuose. Gaulyje iš dešinės nėra IL-6 (*). Imunoperoksidazinis dažymas, padidinimas x200.



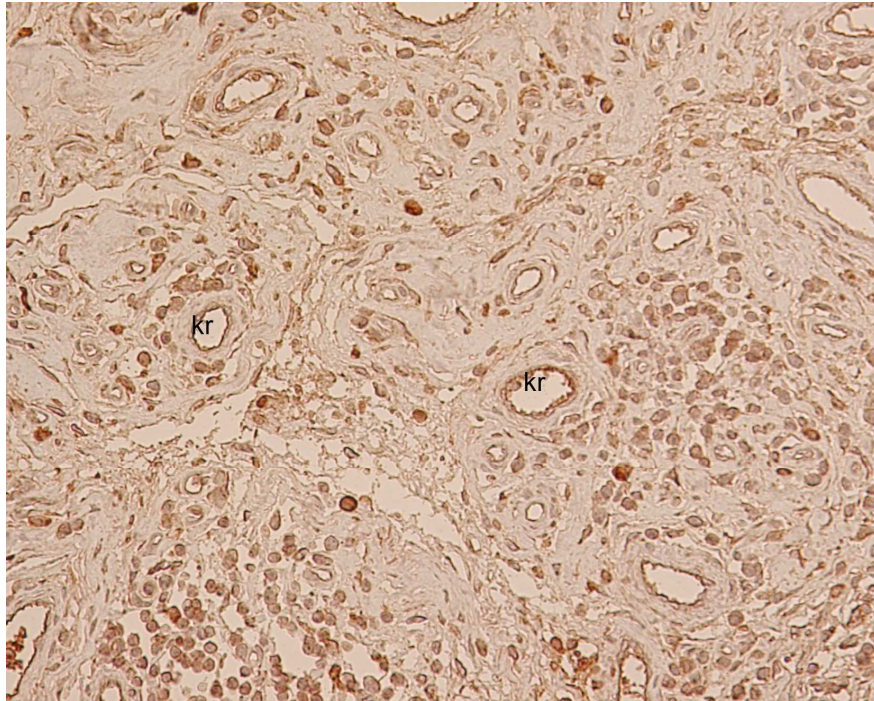
29 pav. Imuninis sinovitas. IL-6 infiltruojančiose uždegiminėse ląstelėse ("→"). Nekrotiniame audinyje IL-6 nėra (*). Imunoperoksidazinis dažymas, padidinimas x200.



30 pav. Imuninis sinovitas. IL-6 kraujagyslių sienelėse ("kr") ir daugelyje stromos bei infiltruojančių ląstelių. Imunoperoksidazinis dažymas, padidinimas x200.



31 pav. Degeneracinis sinovitas. MMP-8 sinovijos dengiamosiose ląstelėse ("→"), bei kraujagyslių sienelėse ("kr") ir stromos ląstelėse. Imunoperoksidazinis dažymas, padidinimas x200.



32 pav. Imuninis sinovitas. MMP-8 daugelyje stromos bei infiltruojančių ląstelių ir kraujagyslių sienelėse ("kr"). Imunoperoksidazinis dažymas, padidinimas x200.

Statistiškai reikšmingos koreliacijos, imuniniuose sinovituose, buvo surastos tarp imunohistocheminės MMP-8 raiškos ir TNF- α ($p=0,024$). MMP-8 neigimai koreliavo su fibrinoidine nekroze ($p=0,024$). Degeneraciniuose sinovituose TNF- α raiška koreliavo su fibrinoidine nekroze ($p=0,013$) ir su MMP-8 ($p=0,014$), o IL-6 raiška koreliavo su fibroze ($p=0,002$) (1 priedas).

4.4 REZULTATŲ APTARIMAS

Histopatologiniai ir imunohistocheminiai tyrimai leidžia įrodyti reumatinių ligų uždegiminę ir autoimuninę kilmę [8]. Tačiau šių tyrimų pagalba labai retai galima anksti bei galutinai diferencijuoti imuninius ir degeneracinius sąnarių pažeidimus [5]. Kadangi dažnai histopatologiniai ir imunohistocheminiai pokyčiai turi daug panašumų tarp imuninių ir degeneracinių sinovitų [20].

Atlikus gautų, histopatologinių požymių, duomenų analizę, mes nustatėme, kad:

- IS yra būdinga stipresnė sinovijos proliferacija, nei DS;
- vieniems asmenims sergantiems DS gali visai nepasireikšti gaurelių ir kraujagyslių proliferacija arba ji gali būti silpnai ar vidutiniškai išreikšta. Kai tuo tarpu asmenims sergantiems IS gaurelių ir kraujagyslių proliferacijos laipsnis svyruoja nuo silpno iki stipraus;
- DS sergantys tiriamieji turėjo silpnai išreikštą sinoviocitų proliferaciją, o IS sergantiems tiriamiesiems pasireiškė vidutinė sinoviocitų proliferacija;
- DS yra būdingas silpnai išreikštas sinovijos pabrinkimas, kai tuo tarpu IS – labiau būdingas vidutinis ar stiprus pabrinkimo laipsnis;
- DS fibrinoidinė nekrozė rečiau pasireiškia ir ji būna silpnai ar vidutiniškai išreikšta, kai tuo tarpu IS aptinkama nuo silpnai iki stipriai išreikšta fibrinoidinė nekrozė bei formuojasi patologinis granuliacinis audinys – panusas;
- DS fibrozė rečiau pasireiškia ir dažniausiai būna silpnai išreikšta, kai tuo tarpu IS – fibrozė pasireiškia vidutiniškai. Tai parodo, kad IS grupei yra būdingas didesnis fibroblastų aktyvacijos laipsnis. Taip pat IS gana dažnai aptikdavome granuliacinį audinį (15 pav.). Esant jungiamojo audinio pažeidimams, jis gali regeneruoti ir pakeisti žuvusius audinių elementus ar užpildyti nekrozės židinius. Toks jaunas jungiamasis uždegiminis audinys vadinamas granuliaciniu audiniu [35]. Šį audinį sudaro naujai susiformavusios kraujagyslės ir jungiamojo audinio ląstelės – fibroblastai,

šiam audinyje būna imuninių ląstelių (limfocitų, makrofagų, plazminių ląstelių), putliųjų ląstelių;

- DS uždegiminių ląstelių infiltracija pasireiškia vidutiniškai, tačiau pasitaiko atvejų, kai ši infiltracija gali būti silpna ar stipri. O IS uždegiminių ląstelių infiltracija pasireiškia dažniausiai stipriai, bet gali būti ir vidutinė. Tai parodo, kad DS ir IS grupėse vyrauja labai panašus audinių infiltracijos uždegiminėmis ląstelėmis laipsnis. Dėl šių panašumų audinių infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis, kaip skiriamasis diagnostinis (histologinis) požymis negali būti naudojamas diferencijuojant šiuos sinovitus;
- DS grupėse limfoidinių folikulų formavimasis yra retas reiškinys, o IS – atvirkščiai. Tai parodo, kad limfoidiniai folikulai gali būti vertinami, kaip diagnostinis (histologinis) požymis, diferencijuojant šiuos sinovitus.

Mūsų atlikti histopatologiniai tyrimai taip pat atskleidė panašumų tarp imuninių ir degeneracinių sinovitų. Tačiau galima išskirti kelis histopatologinius požymius, kurie buvo būdingesni imuniniams sinovitams: tai didesnė sinoviocitų hiperplazija, didesnis fibroblastų išvešėjimas, dažnesnis bei gausesnis limfoidinių folikulų formavimasis. Taip pat daugelyje mokslinių šaltinių teigiama, kad didesnė audinių infiltracija uždegiminėmis ląstelėmis yra būdinga imuniniams sinovitams [20, 8]. Tačiau mūsų tyrimai atskleidė, kad audinių infiltracijos uždegiminėmis ląstelėmis laipsnis, tiek imuniniuose, tiek degeneraciniuose sinovituose svyruoja labai panašiai. Todėl šį požymį mes negalime laikyti kaip diferencinį diagnostinį.

Atlikus imunohistocheminius tyrimus nustatėme, kad abiem tyrimo grupėms (IS ir DS) buvo būdingi ryškūs sinovinio dangalo uždegimo požymiai, tačiau imuniniai sinovitai atskleidė didesnę uždegimo laipsnį negu degeneraciniai sinovitai. Abiejose tiriamosiose grupėse uždegiminių citokinų TNF- α bei IL-6 raiška buvo aptikta kraujagyslių sienelių ir sinovijos dengiamojo sluoksnio ląstelėse, o MMP-8 raiška – fibroblastuose.

Abiejose sinovitų grupėse uždegiminis mediatorius TNF- α statistiškai reikšmingai koreliavo su MMP-8 (IS $p=0,024$; DS $p=0,014$). IS buvo aptikta neigiama koreliacija tarp MMP-8 ir fibrinoidinės nekrozės ($p=0,024$), kas nebuvo būdinga DS. O DS uždegiminiai

mediatoriai TNF- α buvo statistiškai reikšmingai susijęs su fibrinoidine nekroze ($p=0,013$) ir IL-6 – su fibroze ($p=0,002$), kas nebuvo būdinga IS.

Apibendrinus tyrimų rezultatus, galima daryti išvadą, kad mikroskopiniai biostruktūriniai tyrimai ankstyvose tirtų patologijų stadijose neatskleidžia neabejotinus histopatologinius ir imunohistocheminius požymius, kuriais remiantis galima konkrečiam ligoniui diferencijuoti imuninius ir degeneracinius sinovitus, bet kuriame sinovito raidos etape, ypač ankstyvojoje patologinio proceso stadijoje. Tačiau, mūsų analizė nustatė, kurie požymiai yra labiau būdingi degeneraciniam ar imuniniam sinovitui ir tai, kad statistiškai nagrinėtų požymių grupės leidžia tokią diferenciaciją atlikti.

5. IŠVADOS

1. Imuniniai sinovitai histopatologiškai nuo degeneracinių sinovitų skiriasi didesne sinoviocitų hiperplazija, didesniu fibroblastų išvešėjimu, dažnesniu bei gausesniu limfoidinių folikulų formavimavimusi.
2. Imuninių ir degeneracinių sinovitų biopsijose TNF- α , IL-6, MMP-8 imunohistocheminės raiškos vienareikšmiškų patognominių skirtumų neaptikome.

LITERATŪROS ŠARAŠAS

1. Adomaitienė D, Janulevičiūtė N, Kazakevičius R, Vaičiuvėnas V. Klinikinės imunologijos įvadas, 2001. 148-153p, 211-214p, 236-238p.
2. Agrawal S, Aggarwal A, Dabadghao S, Naik S, Misra R. Compound heterozygosity of HLA-DR4 and DR1 antigens in Asian Indians increases the risk of extra-articular features in rheumatoid arthritis, 1995. Br J Rheumatol 34(1):41-44.
3. Alamanos Y, Drosos AA. Epidemiology of adult rheumatoid arthritis, 2004. Autoimmun Rev 4:130.
4. Brill K, M.D, Principal Investigator, Neuronet Institute, St. Wendel, Eckes D, M.D, Weiler E, PhD, Lord G. Chronic inflammatory pain control with omega-5^e™ June 2004 (Chipco5).
5. Butrimienė I, Kirdaitė G, Porvaneckas N, Rimkevičius A, Tutkus V, Jarmalaitė S, Mackiewicz Z. Tangled Immunohistochemical differences between autoimmune and degenerative synovites, 2008. 14(2), 128-134p.
6. C. Keith Stone, Roger L. Humphries CURRENT Diagnosis & Treatment: Emergency Medicine 6th Edition, 2008. Chapter 19 Arthritis & Back Pain.
7. Choy Ernest H.S, M.D, and Panayi Gabriel S, M.D, Sc.D. Cytokine Pathways and Joint Inflammation in Rheumatoid Arthritis, 2001. Volume 344: 907-916 Number 12, March 22.
8. Ciobanu A, Ciobanu IR, Hălălău F, Laky D, Ioniță A, Dinulescu I, Stănculescu M, Stoicescu M, Stroescu I. Aspects of immunopathogenesis of rheumatoid arthritis correlated with some immunological parameters in histopathological and electronmicroscopical investigations of the articular cartilage, 1993. Rom J Morphol Embryol 39(3-4):135-144.
9. Dadoniene J, Lukšienė A. Reumatoidinis artritas - našta ligoniui ir visuomenei. Sveikata, 2002. 9-10p.
10. Dennis L. Kasper, Braunwald E, Hauser S, Longo D, Jameson J. L, Fauci A. S. Harrison's principles of internal medicine 16th, 2005. 1968-1977p.

11. Derek C, Allen and R, Iain Cameron. Histopathology Specimens – Clinical, Pathological and Laboratory Aspects, 2004. 437p.
12. Doherty Gerard M. and Lawrence W. Way CURRENT Surgical Diagnosis and Treatment, 12th Edition, 2006. Chapter 42 Orthopedics.
13. Fauci A. S, Braunwald E, Kasper D. L, Hauser S. L, Longo Dan L, Jameson J. L, and Loscalzo J, Eds. Harrison's Online Featuring the complete contents of Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th Edition, 2008. Chapter 314 Rheumatoid Arthritis, Chapter 326 Osteoarthritis.
14. Firestein GS: Immunologic mechanisms in the pathogenesis of rheumatoid arthritis, 2005. J Clin Rheum 11: S39.
15. George C., Tsokos. Principles of molecular reumatology, 2000. 325-366p; 401-413p.
16. Gorman JD Gorman JD, Lum RF, Chen JJ, Suarez-Almazor ME, Thomson G, Criswell LA. Impact of shared epitope genotype and ethnicity on erosive disease: a meta-analysis of 3240 rheumatoid arthritis patients, 2004. Arthritis Rheum 50(2):400-412.
17. Harris E, Budd R, Firestein G, Genovese M, Sergent J, Ruddy S, Sledge C. Kelley's Textbook of Rheumatology, 7th Edition (2 Vol. Set), 2004. Chapter 1 – Biology of the Normal Joint, Chapter 3 – Matrix Glycoproteins and Proteoglycans in Cartilage.
18. Harry B. Skinner CURRENT Diagnosis & Treatment in Orthopedics 4th Edition, 2006. Chapter 7 Adult Reconstructive Surgery.
19. Harry S, M. D, Oreskes I, Ph. D. Rheumatology for the health care Professional, 1991. 4-9p, 36-48p.
20. Helbig B, Gross WL, Borisch B, Starz H, Müller-Hermelink HK. Characterization of synovial macrophages by monoclonal antibodies in rheumatoid arthritis and osteoarthritis, 1988. Scand J Rheumatol Suppl 76: 61-66.
21. Imboden John B, Hellmann David B, Stone John H. CURRENT Rheumatology Diagnosis & Treatment, Second Edition, 2007. Chapter 44 Osteoarthritis.

22. Janulevičiūtė N, Bagdonaitė L. Citokinai – tarpląstelinės sąvaikos mediatoriai. *Laboratorinė medicina*, 2007. 3(35), 134-138p.
23. Kelly W.N. Etiology and pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Textbook of Rheumatology*, Edited by Kelley W.N, Haris E.D, Ruddy S, Sledge C.B. Philadelphia, 1993. 833-866p.
24. Kirdaitė G, Dadonienė J. *Reumatologija II dalis*, 2008. 25-26p, 33-35p.
25. Kirdaitė G. *Reumatologija I dalis*, 2008. 9-12p, 34-40p, 226-231p.
26. Krenn V, Morawietz L. Grading of chronic synovitis - proposal for histopathological grading system *Pathol Res Pract*, 2002. *Pathol Res Pract* 198(5), 317-325p.
27. Kučinskienė Z. A. Klinikinės biochemijos ir laboratorinės diagnostikos pagrindai, 2008. 100-106p.
28. Lapinienė G, Stropuvienė S, Redaitienė E, Kirdaitė G, Dadonienė J. Naujieji reumatoidinio artrito serologiniai žymenys; antikūnai prieš citrulinintus baltymus. *Laboratorinė medicina*, 2005. 2(26), 3p.
29. McPhee Stephen J, Papadakis Maxine A, Tierney Lawrence M, Jr, Eds. Gonzales R, Zeiger R, Online Eds, *CURRENT Medical Diagnosis & Treatment*, 2008. *Musculoskeletal Disorders*.
30. Merry P.B, Kidd L, Mapp P.I, Stevens C.R, Morris C.J, et al. Mechanism of persistent synoviitis, 1988. 163 -168p.
31. Papadakis A, Stephen J. McPhee. 2007 *CURRENT Consult: Medicine by Maxine Osteoarthritis*, 2006.
32. Ruggeri R, Pulsatelli L, Melchiorri C, Da Re R, Focherini MC, Veronesi M, Facchini A. Differential expression of IL-1 and TNF receptors in inflammatory arthritis and osteoarthritis, 1996. *Boll Soc Ital Biol Sper.* 72(1-2):15-20.
33. Seymour HE, Worsley A, Smith JM, Thomas SH. Anti-TNF agents for rheumatoid arthritis, 2001. *Br J Clin Pharmacol* 51(3):201-208.
34. South-Paul Jeannette E, Matheny Samuel C, Lewis Evelyn L. *CURRENT Diagnosis & Treatment in Family Medicine*, 2nd Edition, 2007. Chapter 22 *Arthritis: Osteoarthritis, Gout, & Rheumatoid Arthritis*.

35. Stalioraitytė E, Ptašekas R, Pangonytė D, Lašienė J, Gričiūtė L, Gailys R, Simanaitis M, Laurinavičius A, Stukonienė Z. Patologinė anatomija, 2001. 59p, 270-273p.
36. Trauner K.B, Hasan T. Photodynamic treatment of rheumatoid and inflammatory arthritis, 1996. Photochem Photobiol 64p, 740-750p.
37. Vitkus A, Baltrušaitis K, Valančiūtė A, Vitkus A, Žukienė J. Žmogaus histologija, 2003. 108-110p, 123-124p, 137-138p.
38. Zhejiang J, Univ Sci B. Acute phase reaction and acute phase proteins 2005 Nov. 6(11):1045-1056.
39. Zvaifler N.J. Rheumatoid synovitis. An extravascular immune complex disease. Arthritis Rheum, 1974. 17p, 297-305p.
40. www.Medicinenet.com
41. <http://herkules.oulu.fi/isbn9514268474/html/c186.html>
42. <http://www.alphaflex.com/research.html>
43. http://www.cytochemistry.net/microanatomy/bone/cartilage_and_bone_cells.htm
44. <http://www.medicine.lt/index.php?pagrid=leidiniai&subid=gm&strid=2742>
45. <http://www.miraflex.tv/Home/KneePain/tabid/723/Default.aspx>
46. <http://www.octc.kctcs.edu/gcaplan/anat/Notes/API%20Notes%20I%20Types%20of%20Joints.htm>
47. <http://www.ucl.ac.uk/~regfjxe/NORMALJOINT.htm>

SUMMARY

The aim of this study was to determine histopathological and immunohistochemical differences of different etiologically originated immune and degenerative synovitis. To achieve this objective following tasks were raised: determine the histopathological differences between the immune and degenerative synovitis; determine immunohistochemical expression differences of TNF- α , IL-6, MMP-8 in the immune and degenerative synovitis biopsies. Histopathological and immunohistochemical analysis of synovial tissue biopsies were performed to achieve these tasks. Biopsy samples of synovial tissue of 24 patients (11 men, 13 women) who have joint damage were used in this analysis. Of these, 12 patients were suffering from the immune synovitis and 12 patients suffering from degenerative synovitis.

Performed histopathological study revealed similarities between the immune and degenerative synovitis. However, one can distinguish only a few histopathological features, which were more specific to immune synovitis that is: higher synoviocyte hyperplasia, fibroblasts proliferation is larger, lymphoid follicle formation are more frequent and increased.

Immunohistochemical study revealed that both study groups (immune and degenerative synovitis) were characterized by pronounced inflammation of synovial tissue symptoms, although the immune synovitis revealed a greater degree of inflammation than the degenerative synovitis. In both groups inflammatory cytokine TNF- α and IL-6 exhibited more strong in the blood vessel walls and synovia intima cells, and MMP-8 expression – in fibroblasts.

While summarising research results it can be concluded that the microscopic biostructural studies in early stages of investigated pathologies did not reveal any undisputed immunohistochemical and histopathological features, which can be differentiate patient-specific immune and degenerative synovitis, in any stage of synovitis development, especially in the early pathological stage. However, our analysis revealed that specific symptoms are more characteristic to degenerative or immune synovitis.

Thus, we found that the immune synovitis histopathologically differs from degenerative synovitis by - higher synoviocyte hyperplasia; increased fibroblasts

proliferation; more frequent and increased lymphoid follicle formation; in immune and degenerative synovitis biopsies TNF- α , IL-6, MMP-8 immunohistochemical expressions has not revealed unambiguously pathological differences.

PRIEDAI

1 priedas. Imuninių ir degeneracinių sinovitų koreliacinė lentelė.

		Degeneraciniai sinovitai			Imuniai sinovitai		
Lytis: vyr. - 1; mot. - 2	Koreliacijos koeficientas	,217	-,221	-,335	,286	-,222	,089
	Patikimumas	,498	,490	,287	,367	,487	,783
Amžius metais	Koreliacijos koeficientas	,562	,076	,019	,002	-,120	,204
	Patikimumas	,057	,816	,953	,995	,710	,525
Ligos trukmė mėn.	Koreliacijos koeficientas	,378	,086	-,228	,220	,200	-,200
	Patikimumas	,226	,791	,477	,493	,534	,534
Sinovijos uždegiškumas (0, 1, 2, 3)	Koreliacijos koeficientas	,207	,158	,053	,222	-,037	,173
	Patikimumas	,518	,623	,869	,489	,909	,592
Sinovijos proliferacija	Koreliacijos koeficientas	-,036	-,479	-,186	,083	,457	,020
	Patikimumas	,911	,116	,562	,798	,135	,950
Gaurelių kraujagyslių proliferacija	Koreliacijos koeficientas	-,073	-,366	-,050	,320	-,084	,079
	Patikimumas	,822	,242	,877	,310	,795	,808
Sinovijos intimos ląst. proliferacija	Koreliacijos koeficientas	-,307	-,454	-,312	,222	-,037	,173
	Patikimumas	,332	,138	,324	,489	,909	,592
Pabrinkimas	Koreliacijos koeficientas	,383	-,211	-,032	,110	,083	-,026
	Patikimumas	,219	,511	,921	,733	,799	,937
Fibronoidinė nekrozė	Koreliacijos koeficientas	,690(*)	-,139	,402	-,480	,138	-,645(*)
	Patikimumas	,013	,667	,195	,114	,669	,024
Fibrozę	Koreliacijos koeficientas	,099	-,802(**)	-,157	-,290	,287	-,058
	Patikimumas	,759	,002	,627	,361	,365	,857
Audinių infiltracija uždegiminėmis ląst.	Koreliacijos koeficientas	-,044	-,473	-,228	,286	,127	,356
	Patikimumas	,891	,120	,476	,367	,694	,256
Limfoidiniai folikulai	Koreliacijos koeficientas	,462	-,188	,095	-,064	,127	,148
	Patikimumas	,130	,558	,768	,844	,694	,645
TNF- α	Koreliacijos koeficientas	1,000	,361	,683(*)	1,000	,266	,643(*)
	Patikimumas	.	,248	,014	.	,404	,024
IL-6	Koreliacijos koeficientas	,361	1,000	,342	,266	1,000	-,002
	Patikimumas	,248	.	,277	,404	.	,995
MMP-8	Koreliacijos koeficientas	,683(*)	,342	1,000	,643(*)	-,002	1,000
	Patikimumas	,014	,277	.	,024	,995	.

PADĖKA

Nuoširdžiai dėkoju Vilniaus Universiteto Medicinos fakulteto dekanei hab.dr., prof. Zitai Aušrelei Kučinskienei už suteiktą galimybę studijuoti, bei visiems VU dėstytojams už vertingas teorinės ir praktinės kompetencijos žinias studijuojant medicinos biologijos specialybėje.

Esu labai dėkinga savo darbo vadovui habil. dr. Zygmuntui Mackevičiui už vadovavimą, palaikymą, visokeriopą pagalbą atliekant tyrimus ir rašant šį darbą.

Taip pat dėkoju VU Eksperimentinės ir klinikinės medicinos instituto vyr. laborantėms Salomėjai Stanaitienei ir Romai Grinienei už pagalbą atliekant tyrimus.

Už palaikymą ir nuoširdų rūpestį visų magistro studijų metu dėkoju dr. Gailutei Kirdaitei.