

**Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ – Скопје**

**Природно - математички факултет  
Институт за биологија - Завод за физиологија**

**м-р Мире Спасов**

**ЕФЕКТОТ НА КОЛАГЕН - ИНДУЦИРАНИОТ АРТРИТИС  
ВРЗ НЕКОИ ПАРАМЕТРИ НА ИМУНОЛОШКИОТ СТАТУС  
КАЈ БЕЛИОТ ЛАБОРАТОРИСКИ СТАОРЕЦ**

**- докторска дисертација -**



**Скопје, 2014**

**Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ – Скопје**

**Природно - математички факултет  
Институт за биологија - Завод за физиологија**

**м-р Мире Спасов**

**ЕФЕКТОТ НА КОЛАГЕН - ИНДУЦИРАНИОТ АРТРИТИС  
ВРЗ НЕКОИ ПАРАМЕТРИ НА ИМУНОЛОШКИОТ СТАТУС  
КАЈ БЕЛИОТ ЛАБОРАТОРИСКИ СТАОРЕЦ**

**- докторска дисертација -**



**Скопје, 2014**

**КОМИСИЈА ЗА ОЦЕНА И ОДБРАНА НА ДОКТОРСКАТА  
ДИСЕРТАЦИЈА**

**Ментор:** **Проф. д-р Ицко Ѓоргоски**  
Декан и редовен професор на Природно -  
математички факултет - Скопје,  
Институт за Биологија

**Членови на комисија:** **Проф. д-р Ицко Ѓоргоски**  
Декан и редовен професор на Природно -  
математички факултет - Скопје,  
Институт за Биологија

**Проф. д-р Велимир Стојковски**  
Ректор на УКИМ - Скопје и редовен професор на  
Ветеринарниот Факултет во Скопје

**Проф. д-р Емилија Јаневиќ-Ивановска**  
Проректор на УГД - Штип и вонреден професор на  
Факултетот за медицински науки во Штип

**Проф. д-р Даниела Миладинова**  
Продекан и редовен професор на Медицински  
факултет - Скопје, Институт за Патофизиологија

**Проф. д-р Митко Младенов**  
Вонреден професор на Природно - математички  
факултет - Скопје, Институт за биологија

**Датум на одбрана:** .....

**Датум на промоција:** .....

**Научна област:** Физиологија

*Неизмерна благодарност изразувам на мојот ментор, Проф. д-р Ицко Ѓоргоски, за корисните совети и сугестии, упатствата и корекциите во текот на изработката на докторската дисертација, како и при конечното пишување на истата. Што друго и да напишам за мојот ментор е премалку..., едноставно, чест и привилегија е да се познава таков човек.*

*Голема благодарност должам за корисните коментари и сугестии на Проф. д-р Велимир Стојковски, Вонр. проф. д-р Емилија Јаневиќ - Ивановска, Проф. д-р Даниела Миладинова и на Вонр. проф. д-р Митко Младенов.*

*Искерна благодарност и признание должам на сите други кои на директен или индиректен начин учествуваа во ова истражување, како и при конечното оформување на трудот.*

*Посебна благодарност должам на моето семејство за нивното разбирање, безрезервната поддршка и поттик во работата.*

*Мире*

***На моите Христијан и Верица***

# ЕФЕКТОТ НА КОЛАГЕН - ИНДУЦИРАНИОТ АРТРИТИС ВРЗ НЕКОИ ПАРАМЕТРИ НА ИМУНОЛОШКИОТ СТАТУС КАЈ БЕЛИОТ ЛАБОРАТОРИСКИ СТАОРЕЦ

## Апстракт:

Промените што настануваат кај организмот во борбата за зачувување на внатрешната хомеостаза и одбраната на истиот, како од надворешните фактори така и од навлезените агенси во него, се одбрамбени механизми со кои се овозможува преживување на истиот во дадената ситуација. Манифестирањето на тие промени зависат од карактерот, интензитетот и времетраењето на дејството на агенсот, како и од физиолошките карактеристики на организмот; пол, возраст, здравствена состојба, и истите не секогаш се успешни за да тој преживее.

Испитувани беа ефектите на колаген-индуцираниот артритис, односно автоимуната реакција и воспалението, врз имуниот систем кај машки и женски стаорци на 30-иот и на 60-иот ден од третманот. Следени беа промените на хематолошките и на биохемиските параметри во крвта и серумот, како и влијанието врз мобилниот дел од имуниот систем, односно врз леукоцитите.

Како експериментални животни беа користени бели лабораториски стаорци од сојот Wistar.

Од испитувањата се дојде до сознанија за штетното влијание на предизвиканиот ревматоиден артритис врз сите испитувани параметри, како хематолошки, така и биохемиски. Тоа се манифестира преку сигнификантно намалување на бројот на рте, хемоглобинот, тромбоцитите и IgG, а сигнификантно зголемување на бројот на леукоцитите, лимфоцитите, моноцитите и гранулоцитите. Несигнификантни промени се забележуваат кај хематокритот, CRP, C3, C4, IgA и IgM. Извршените испитувања за RF, OAST и за ANA покажаа негативни резултати. Вредностите за активноста на AST и ALT кај контролната група на стаорци, во споредба со третираниите експериментални животни, покажаа сигнификантно зголемување за AST, додека вредностите за ALT несигнификантно се зголемија и останаа на ниво поблиску до контролната група.

Споредени со контролната група ефектите од третманот на 30-иот ден се поизразени, во однос на 60-иот ден. Разлика се јавува и кај машките животни, каде има поголеми разлики, во споредба со женските.

**Клучни зборови:** колаген-индуциран артритис, ревматоиден артритис, инфламација, стаорец, крвни елементи, имуноглобулини, RF, OAST, ANA, C3, C4, CRP, AST, ALT.

# THE EFFECT OF COLLAGEN - INDUCED ARTHRITIS OVER SOME PARAMETERS OF THE IMMUNE SYSTEM OF THE WHITE LABORATORY RAT

## **Abstract:**

The changes that happen in organism in its struggle to keep the inner homeostasis and its defense, due to external factors and penetration agents, are defensive mechanisms that make the organism alive in that situation. However, the manifestation of these changes depends on the character, the intensity and the duration of the agents' activity, and on the physiological characteristics as well like gender, age, health condition, and they are not always successful for organism's survival.

The effects of the collagen-induced arthritis were analyzed, that is the autoimmune reaction and the inflammation over the immune system of male and female rats on the 30<sup>th</sup> and the 60<sup>th</sup> day of the treatment. The changes of the hematological and the biochemical parameters in the blood and serum were analyzed as well as the effect upon the mobile part of the immune system, i.e. leucocytes

For that purpose, white laboratory rats from the Wistar race were used as experimental animals.

The research revealed a harmful effect of the induced rheumatoid arthritis over all tested parameters, both the hematological and the biochemical. It results in significant decrease of the erythrocytes, hemoglobin, platelets and IgG, and significant increase of leucocytes, lymphocytes, monocytes and granulocytes. No significant change is noticed at the hematocrit, CPR, C3, C4, IgA and IgM. The analyses of RF, OAST and ANA revealed negative results. The AST and ALT activity values of the control group of rats, comparing to the treated experimental animals, revealed significant increase of AST, whereas the ALT values are increased not so significantly and stayed on the level closer to the control group.

Compared to the control group, the effects of the treatment on the 30<sup>th</sup> day were more significant compared to the 60<sup>th</sup> day. The difference in male animals is more obvious than the difference in female animals.

**Keywords:** collagen-induced arthritis, rheumatoid arthritis, inflammation, a rat, blood elements, immunoglobulins, RF, OAST, ANA, C3, C4, CRP, AST, ALT.

## Содржина

1. Вовед.....	12
1.1. Анимални модели за експериментален артритис .....	14
1.2. Епидемиолошки податоци.....	17
1.3. Етиологија .....	19
1.3.1. Генетиката како фактор .....	19
1.3.2. Вирусите и бактериите како можен етиолошки фактор.....	21
1.3.3. Теорија за мултифакторска етиологија на ревматоидниот артритис	22
1.4. Патогенеза.....	24
1.4.1. Хистолошка слика на ревматоидната синовија .....	26
1.4.2. Презентација на антигените и костимулација на Т-клетките .....	28
1.4.3. Цитокинска каскада и созревање на синовијата .....	32
1.4.4. Деструкција на 'рскивицата .....	37
1.4.5. Механизам на настанување на ерозија на коските.....	39
1.4.6. Васкуларни и кожни промени .....	41
1.5. Поделба на ревматските болести .....	44
1.6. Екстраартикуларни манифестации кај ревматоидниот артритис.....	46
1.7. Дијагноза на ревматоидниот артритис.....	49
1.7.1. Клинички манифестации на ревматоидниот артритис и негово дијагностицирање.....	49
1.7.2. Компликации кои настануваат како резултат на ревматоидниот артритис .....	60
1.7.3. Клинички тек и прогноза на болеста .....	62
1.8. Превенција и лечење на ревматоидниот артритис .....	64
2. Цели на трудот .....	69
3. Материјал и методи на работа .....	71
3.1. Експериментални животни.....	71



3.2. Методи на работа .....	72
3.2.1. Подготовка на колагенот за апликација.....	72
3.2.2. Постапка за аплицирање на колагенот.....	73
3.2.3. Земање на крв за анализа од експерименталните животни и добивање на серум.....	74
3.2.4. Одредувани параметри.....	74
3.3. Методи за одредување на испитуваните параметри .....	75
3.3.1. Анализа на крвната слика и на диференцијалната крвна слика .....	75
3.3.2. Одредување на ревматоиден фактор (RF) .....	75
3.3.3. Одредување на Ц-реактивен протеин (CRP) .....	76
3.3.4. Одредување на С3 и С4 компонентите на комплементот.....	76
3.3.5. Изолирање и двоене на имуноглобулини IgA, IgG и IgM.....	77
3.3.6. Одредување на антистрептолизински тест (OAST).....	78
3.3.7. Одредување на антинуклеарни антитела (ANA).....	78
3.3.8. Метода за одредување на аспартатаминотрансфераза (AST).....	78
3.3.9. Метода за одредување на аланинаминотрансфераза (ALT).....	79
3.4. Статистичка обработка на резултатите .....	80
4. Резултати .....	82
4.1. Анализа на крвната слика и на диференцијалната крвна слика .....	82
4.1.1. Број на еритроцити.....	82
4.1.2. Ниво на хемоглобин .....	85
4.1.3. Вредност за хематокрит.....	88
4.1.4. Број на тромбоцити .....	91
4.1.5. Број на леукоцити.....	94
4.1.6. Број на лимфоцити.....	97
4.1.7. Број на моноцити.....	100
4.1.8. Број на гранулоцити .....	103

4.2. Ревматоиден фактор (RF).....	106
4.3. Ц-реактивен протеин (CRP) .....	107
4.4. С3 компонента на комплементот .....	109
4.5. С4 компонента на комплементот .....	112
4.6. Имуноглобулин А (IgA) .....	115
4.7. Имуноглобулин G (IgG).....	117
4.8. Имуноглобулин М (IgM) .....	120
4.9. Антистрептолизински тест (OAST) .....	122
4.10. Антинуклеарни антитела (ANA) .....	123
4.11. Аспаратаминотрансфераза (AST).....	124
4.12. Аланинаминотрансфераза (ALT).....	127
5. Дискусија .....	131
5.1. Крвна слика и диференцијална крвна слика.....	134
5.2. Ревматоиден фактор (RF) .....	143
5.3. Ц- реактивен протеин (CRP) .....	146
5.4. С3 и С4 компонента на комплементот .....	147
5.5. Имуноглобулин А (IgA), имуноглобулин G (IgG) и имуноглобулин М (IgM) .....	150
5.6. Антистрептолизински тест (OAST) .....	153
5.7. Антинуклеарни антитела (ANA) .....	154
5.8. Аспаратаминотрансфераза (AST) и аланинаминотрансфераза (ALT)	155
6. Заклучоци.....	161
7. Литература.....	163
8. Curriculum vitae .....	183

## Кратенки

<b>CRP</b>	Ц-реактивен протеин
<b>ELISA</b>	Ензимски имуноапсорбент
<b>HLA</b>	Хуман леукоцитарен антиген
<b>IL</b>	Интерлеукин
<b>IgA</b>	Имуноглобулин А
<b>IgG</b>	Имуноглобулин Г
<b>IgM</b>	Имуноглобулин М
<b>NSAID</b>	Нестероидни антиинфламаторни лекови
<b>RA</b>	Ревматоиден артритис
<b>JIA</b>	Јувенилен идиопатски артритис
<b>RF</b>	Ревматоиден фактор
<b>TNF</b>	Тумур некрозен фактор
<b>ANA</b>	Антинуклеарни антитела
<b>ARA</b>	Американска Ревматолошка Асоцијација
<b>NK</b>	Клетки природни убици
<b>ACR</b>	Американски Колеџ за Ревматологија
<b>antiCCP</b>	Антициклични цитрулизирани полипептиди
<b>CT</b>	Компјутерска томографија
<b>DMARD</b>	Антиревматични лекови
<b>EULAR</b>	Европска лига против ревматизам
<b>MRI</b>	Магнетна резонанца
<b>CNS</b>	Централен нервен систем
<b>PNS</b>	Периферен нервен систем
<b>CIA</b>	Колаген индуциран артритис
<b>SLE</b>	Системски лупус еритематосус
<b>MCH</b>	Главен хистокомпатибилен комплекс

# 1. Вовед

Ревматоидните болести претставуваат едни од најважните здравствени, социјални и општествено-економски проблеми, поради последиците кои ги предизвикуваат. Тие се значаен економски проблем во многу земји во светот, а колку треба овој проблем сериозно да се сфати и третира произлегува од процентот на заболени, кој во последните децении континуирано се зголемува и е најголемата причина за физичка попреченост во работата и за телесен инвалидитет. Научните сознанија од биомедицинските истражувања, посебно во последните децении од дваесетиот век, придонесоа за значително подобрување и продолжување на животниот век на заболениите, како и за квалитетот на нивниот живот. Постојаните болки и физичките ограничувања, предизвикани од околу 100-те форми на артритис, се секојдневие за милиони луѓе. Болеста може да се јави во било кој период од животот, иако е најчеста кај возрасни женски пациенти после 60-тата година.

Ревматоидниот артритис (RA), е една од најтешките форми на ревматоидните болести која покрај болки и ограничени движења, предизвикува и деформитети на зглобовите и траен инвалидитет. Не постои лек за RA, но со соодветен третман и стратегија за заштита од болеста, пред се на зглобовите, како и со промена на животниот стил и навики на пациентите, истата може да се стави под контрола и заболениите да имаат долг и продуктивен живот и покрај постоењето на болеста. Деструктивниот потенцијал на RA, текот, знаците и симптомите на болеста можат да варираат, да се појавуваат и да се изгубат во текот на животот, но болеста во континуитет притаено перзистира. Кај некои пациенти може да се јави само блага олигоартикуларна болест со кратко траење и со минимално оштетување на зглобовите, но во најголемиот број случаи настанува тежок прогресивен полиартритис, со значително функционално нарушување (Bennett со сор., 1942; Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008).

Луѓето заболувале од ревматските болести со илјадници години. Зборот „rheuma“ доаѓа од грчкиот јазик и значи „проток“, „секреција“. Ревматоидните воспаленија, автоимуните болести и автоимуните синдроми припаѓаат на посебна група на болести во хуманата патологија, кои манифестираат клинички, серолошки и патохистолошки знаци за активација на автореактивните клонови

на лимфоцитите (Vanham со сор., 2006). RA главно се дефинира како хронична, мултисистемска, инфламаторна автоимуна болест на сврзното ткиво од непознато потекло со прогресивни лезии, претежно на периферната (синовијална) мембрана на зглобовите во вид на деструктивни, симетрични ерозивни промени (Nasonova, 2001; Anthony со сор., 2008). Активирањето на имунолошкиот систем кај овие болести се гледа во појавата на автоантитела на еден или повеќе автоантигени. Најчесто тоа се случува кога имунолошкиот систем ќе ја изгуби контролата над делот од лимфоцитите, кои се специфично автореактивни со клетките на сопствениот организам, на функциските и ткивните антигени, односно рецептори (Vanham со сор., 2006; Ishii со сор., 2006; Anthony со сор., 2008). Болеста најверојатно е генетска и мултифакторијална, а отсуството на контролата е последица на подолго време нарушената регулација на фид-бек контролираните функции на нервно-хуморалниот и микро-васкуларниот систем кај генетски предиспонираните индивидуи. Според Burnet (1959) и Oldstone (2005), при воспалителните процеси, невроендокрината регулација на имуноста ја подразбира хомеостазата помеѓу централниот и периферниот нервен систем, хормоналниот циклус, клеточните и хуморалните интеракции со цитокинините и неврпептидите. Во ваквата контрола клучно место зазема постојаната поврзаност на функциите од нервниот и ендокриниот систем, каде ослободувањето на невротрансмитерите и на некои пептиди во CNS, доведува до стимулирање или инхибирање на една или повеќе од хипоталамус-хипофиза оските. Совершеноста на ваквата контрола што ја има нервно ендокрината функција во организмот ја одржува хомеостазата, независно од големиот број на надворешни влијанија. Меѓутоа, во ваквите физиолошки, нормално контролирани процеси, најразновидните стресогени фактори, од различни агенци, значително ја менуваат концентрацијата на споменатите пептиди, па и на повеќето хормони од хипоталамусот, хипофизата и останатите ендокрини жлезди (Горгоски, 1994). Голем е бројот на експериментални студии и научни истражувања од кои јасно може да се заклучи неизбежното заемно дејство на овие агенци со имунолошкиот систем кај организмот, при што доаѓа до соодветен одговор на самиот организам. Повеќето испитувања го констатираат тератогеното дејство на агенсите со епизодни фебрилни состојби со различна инцидентност, а видот и острината на дефектите

ќе зависат како од зафатеноста на зглобовите, така и од времетраењето на болеста.

Генерално прифатена дефиниција за RA е дека тоа е автоимуно заболување на сврзното ткиво, што се карактеризира со хроничен пролиферативен синовит, уништување на зглобната 'рскавица и анкилоза, првенствено на малите зглобови, со можна зафатеност на кожата, крвните садови и срцето, белите дробови, бубрезите и мускулите. Како последица на болеста доаѓа до морфолошко и функционално оштетување на клетките, ткивата и органите, на васкуларниот систем, ендокриниот и егзокриниот систем, централниот нервен систем (CNS) и периферниот нервен систем (PNS) и механизмот за коагулација на крвта.

### **1.1. Анимални модели за експериментален артритис**

Животинските модели на индуциран експериментален артритис се широко употребувани за да се истражи патогенезата на RA, како и да послужи за развивање на нови терапии. Колаген индуцираниот артритис (CIA) тип-II експериментално бил развиван во доцните 70-ти години употребувајќи Wistar стаорци, со развој на автоимун артритис со значајни сличности со човечкиот RA (Moritz, 1942; Trentham со сор., 1977). Овој вид на артритис бил развиван и врз глвци (Courtenay со сор., 1980), но и на други нечовечки примати (Cathcart со сор., 1986). Според ваквите истражувања, автоимуната реакција на чувствителните животни е комплексна комбинација на фактори, вклучувајќи молекули на специфичниот главен хистокомпатибилен комплекс (MHC), цитокини и колаген II специфични реакции на B и T-клетките. Од другите модели студирани е антигениот артритис кај стаорецот, првобитно развиван кај зајак, со интраартикуларна инсталација на антиген (methylated bovine serum albumin (mBSA)), кој има бројни карактеристики слични со човечкиот RA. Споредено со глвците разните видови на стаорци се поподложни на CIA, и развиваат артрит до ограничени размери. Генерално земено, за експерименталниот CIA, свинскиот колаген тип-II е најпотентниот артритогенетски вид од типот-II колаген, потоа следи говедскиот, а на крај е пилешкиот, кој е најмалку артритогенетски

(Wooley, 1988). Притоа, здравствената состојба и квалитетот на животните, исто така, е многу важен фактор (Griffiths, 1988).

Според Wooley (1988), постојат неколку начини за предизвикување на артритис со висока зачестеност, а во зависност од целта на експериментот поважни се два:

а) Предизвикување на артритис со една имунизација, без инјекција за побудување. Протоколот користи подготвена емулзија, која се инјектира на ист начин, а артритисот ќе се развие за 2-3 седмици по имунизацијата во зависност од видот на лабораториските стаорци. Процентот предизвикан артритис ќе биде од 80% до 100% кај оние видови кои се со високо ниво на одговор.

б) Предизвикување на артритис со инјекција за побудување, а за да се обезбеди висок степен на предизвикување на артритис, инјекцијата за побудување може да се даде седмиот ден по имунизацијата.

Почетокот на артритисот кај стаорците, како експериментални животни, е многу побрз отколку кај глувците (околу три седмици), а клинички очигледен артритис со пропаднати зглобови се појавува за две до три седмици по првиот третман. Почетокот на артритисот кај BB стаорците е побрз отколку кај другите видови стаорци (околу дванаесет до четринаесет дена), доколку имунизацијата е ефикасна, а 95% од стаорците развиваат артритис во рок од три седмици. Според литературните податоци (Cathcart со сор., 1986), сите стаорци треба да се жртвуваат на триесеттиот ден од постимунизацијата со колаген тип-II. Болеста започнува да се развива две до три недели после имунизацијата со црвенило и отекување на периферните интерфалангијални завршетоци на задните канџи, а во повеќето случаи со отекување и на сите четири канџи. Истражувањата на Winter и сор. (1962), покажале дека кај повеќето третирани стаорци се појавува краткотрајно мало губење на тежината, помалку од 5%, почнувајќи два до три дена после појавата на болеста и трае десетина дена. Воглавно, цревната бактериска флора без оглед на тоа дали е патогенична или непатогенична, влијае значително на имунолошката реакција на домаќинот. Стаорците кои немаат бацили се многу поподложни на прифаќање на поттикнатиот артритис, додека конвенционалните стаорци се помалку подложни на тоа, затоа цревната бактериска флора може да биде еден од важните

фактори кој влијаат на имунолошката реакција на колагенот од типот-II, и кој исто така последователно предизвикува развивање на артритис. Исто така, познато е дека диетата влијае на видот и различноста на колаген предизвиканиот артрит кај глувците (Wooley, 1988). Но сепак, ова не е пошироко испитувано и докажано кај стаорците. Според протоколот за работа секое животно кое ќе покаже знаци на стрес, неактивност, тимарење, коњуктивитис и губење на тежина повеќе од 20% треба да му се изврши евтаназија (Winter со сор., 1962). Имунолошката реакција на колагенот тип-II и последователното развивање на артритисот кај стаорците најверојатно е поврзано одредена точка на геномот, варирајќи кај видовите кај кои се користи колагенот тип-II за имунизација (Griffiths, 1988). Притоа, кај зафатените зглобови се јавува воспаление, болка, оток, топлина, црвенило и губење на нивната функција.

Најголемиот број автори сметаат дека некои непознати примарни агенси трансформираат некои од белковините во организмот, и истиот препознавајќи ги како свои, против нив создава антитела. Тогаш настанува доста сложен имунолошки процес на автоагресија, имунолошките комплекси се наталожуваат насекаде, меѓудругото и на сидовите на крвните садови предизвикувајќи дифузен васкулитис, а потоа и синовитис, односно воспаление на внатрешниот сид на зглобната чашка. Со зголемувањето на бројот на епителните клетки во синовијалниот слој се насобираат клетките кои се карактеристични за воспалението, полиморфонуклеарните леукоцити. Од синовијалниот слој во зглобната чашка се излачува зглобна течност, синовијалниот слој хипертрофира, со што се развива гранулациско ткиво, богато со агресивни клетки и лизирачки ензими кои ја разоруваат зглобната 'рскавица и коската. Кога гранулациското ткиво покасно ќе се разграничи со сврзното ткиво настанува ткиво кое пролиферира и се нарекува панус пролиферативно ткиво. Слични промени се случуваат и во тетивните обвивки, во бурзата и сврзното ткиво на мускулите (Scott, 1998).

Според литературните податоци (Bendele, 2001), околу 10% од популацијата на имунизирани стаорци може да не реагираат на истата.



## 1.2. Епидемиолошки податоци

Според светската здравствена организација повеќе од 4% од светската популација страда од различни болести на зглобовите и 'рбетот. Повеќе од 30% од случаите на привремена спреченост за работа и 10% од пациентите со хендикеп се поврзани со ревматските заболувања. Токму затоа, во моментот, мускулно-скелетната патологија е во фокусот на научната заедница во светот.

Артритисот е честа и тешка ревматолошка болест. Според најновите податоци околу 180 милиони луѓе ширум светот страдаат од оваа болест од кои 75% се жени. Така на пример, во САД има над два милиони луѓе болни од RA и повеќе од три милиони во Европа. Според Anthony и сор. (2008) преваленцата на RA е околу 0,8% од популацијата (со опсег од 0,3% до 2,1%). Иако жените се засегнати трипати повеќе од мажите, преваленцата расте со возраста и кај постарата група се намалуваат разликите во застапеноста на болеста зависно од полот. Процентот на заболените од RA се зголемува на 6% кај машката популација над 75 години и на 16% кај женската популација постара од 65 години (Anthony со сор., 2008). Инциденцата на RA непрекинато се зголемува по возраст од 60 години, со понеповолна прогноза, што се доведува во корелација со подолгата активност на болеста, почестите системски нарушувања и побрзото функционално опаѓање на организмот со стареењето. Агресивното заболување е претежно ограничено на пациентите со висок титар на ревматоиден фактор (RF), додека спротивно на ова, постарите пациенти кои развиваат RA без покачен титар на RF (серонегативно заболување) се помалку сериозни, и често се третираат само како локални заболувања (Calabro со сор., 1989).

Најголемиот број на епидемиолошки статистички податоци укажуваат дека болеста ги зафаќа луѓето од сите возрасти, етноси, социјални и расни групи, а за сите е заедничко тоа што жените заболуваат три пати почесто од мажите. Но, иако RA е распространет низ целиот свет и ги зафаќа сите раси, сепак, инциденцата и сериозноста на болеста се помали во руралната супсахарска Африка, и кај црното население на Карибите (Anthony со сор., 2008). Појавата на болеста, според едни автори, е најчеста помеѓу 35-тата и 65-тата година од животот, но доста често може да се јави и од 20 до 45 годишна возраст (Calabro со сор., 1989), а според други, болеста најчесто започнува помеѓу

четвртата и петтата деценија од животот, при што 80% од пациентите заболуваат помеѓу 35-тата и 50-тата година од животот (Anthony со сор., 2008). Инциденцата на RA е поголема повеќе од шест пати кај жените од 60 до 64 годишна возраст, во споредба со жените на возраст од 18 до 29 години. Според истите истражувања, RA кој се јавува кај деца до 16 годишна возраст се нарекува јувенилен идиопатски артритис (JIA), а може да се јави и до навршување на првата година од животот. Епидемиолошките следења покажале дека активната фаза на болеста е 2,5 пати почеста кај девојчињата отколку кај момчињата, каде дури во 62% од случаите била забележана ремисија. Од друга страна, Calabro и сор. (1989), од дваесет и петгодишно искуство со пациенти, истакнуваат дека само 7% од пациентите со артритис имаат ремисија. Овие податоци укажуваат на можноста за формирање на ремисија кај пациентите во подоцнежните периоди од животот. Сепак, Laaksonen и сор. (1996), нагласуваат дека времетраењето на болеста е најсилниот показател за ремисија на болеста. Други автори, како Vinay и сор. (2007) потенцираат дека преваленцата кај RA е приближно 1%, и дека RA е три до пет пати повообичаен кај жените отколку кај мажите. Според овие автори најголема е зачестеноста од втората до четвртата деценија од животот, но во ниедна возраст не може да биде исклучок. RA, според други автори се карактеризира со преваленца од 0,5% до 1% односно, на популација од 100.000 луѓе, инциденца е од 12 до 1200 (Gabriel, 2001). Последните анализи на статистичките показатели покажале дека повеќе од 30 милиони луѓе во Европа се соочени со овој проблем, и се на удар на ризична болест од групата на реуматски заболувања, а RA е најголема причина за физички инвалидитет и телесна попреченост. Околу три милиони луѓе во Европа живеат во постојна болка и страдање од напреднат стадиум на оваа болест, а се претпоставува дека истата го скратува животниот век од 3 до 17 години. Така на пример, само во Шведска постојат околу пола милион луѓе со реуматизам, а 1200 до 1500 од нив се деца или адолесценти кои страдаат од хроничен артритис. Во таа насока испитувањата на Sokka (2003) констатирале висок инвалидизирачки потенцијал, така што после 10 години околу 50% од пациентите се неспособни за работа. Према други податоци 10% од болните се неспособни за работа после првата, а 50% после десетата година од почетокот на болеста (Stefanović, 2005).

Ревматските заболувања и RA финансиски Европа ја чинат околу 45,4 милијарди евра секоја година, а и понатаму ревматските болести се во постојан пораст. Конечно, ревматските заболувања, кои се најголема причина за физички инвалидитет кај луѓето, се во постојан пораст како во светот, така и во Македонија, па според проценките на Клиниката за ревматолошки болести во Скопје дијагностицирани се 5.000 пациенти, од очекуваните 12.000 до 15.000 заболени (Перчинкова со сор., 2010).

### **1.3. Етиологија**

Етиологијата на болеста е непозната, но литературните податоци наведуваат повеќе ризик фактори како, семејната историја, возраста, пушењето и други.

#### **1.3.1. Генетиката како фактор**

Често споменуван податок е дека RA најверојатно е манифестација на реакцијата на некој инфективен агенс кај генетички подложен домаќин (Marrack со сор., 2001; Turrenson и Matteson, 2006; Anthony со сор., 2008). Имено, долготрајно пореметената рамнотежа помеѓу одбрамбените механизми на организмот и факторите на провокација на болеста, во комбинација со генетската предиспозиција и изместената нервно-ендокрино-хуморалната регулација на имунитетот го зголемуваат ризикот од појава на автоимуните болести. Бидејќи RA е распространет широм светот, се претпоставува дека доколку е вклучен некој инфективен агенс, и тој мора да го има насекаде. Засега, извесно е дека доминира генетската предиспозиција за појавата на болеста, на што упатува фактот дека кај некои делови од човечката популација појавата на болеста е почеста. Генетиката во патогенезата на RA ја сугерира и зголемената зачестеност на заболувањето пред се помеѓу роднини од прв ред, како и високата стапка на усогласеност кај монозиготните близнаци. Истите се најмалку 4 пати поподобни (конкорданција) за RA во споредба со дизиготните близнаци, кои имаат сличен ризик за развивање на RA како и браќата и сестрите кои не се близнаци (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008), иако само околу 15 до 20%

од монозиготните близнаци се подобни за RA, што пак упатува на заклучок дека освен генетските и други фактори играат значајна етиопатогена улога (Anthony со сор., 2008). Сепак, со генетските фактори се објаснуваат околу 60% од подложноста на RA. Испитувањата кај поедини семејства, исто укажуваат на генетска предиспозиција, на пример, тежок RA е речиси 4 пати позастапен кај роднините од прво колено кои имаат заболување поврзано со присуството на антителото RF. Кај околу 10% од пациентите со RA непосредното потомство исто така е засегнато. Најголем ризик за појава на RA е забележан кај близнаци што имаат два алели HLA-DRB1, за кои со сигурност се знае дека се поврзани со RA (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Според истите автори алелата HLA-DR4 на класата II, од главниот комплекс на хистокompatibilност и поврзаните алели се сметаат за главни генетски ризик фактори за појавата на RA. Поранешни студии покажале дека околу 70% од лицата со RA експресираат HLA-DR4, во споредба со 28% од контролните лица. Ова укажува дека постојат врски помеѓу HLA-DR4, и полиморфизмот на генот PTPN22 кај RA (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008).

Најновите истражувања јасно покажале дека има поврзаност помеѓу појавата на болеста и антигените на ткивната подударност HLA DR1 и DR4. Потврдено е дека од 60% до 80% болни од RA се носители на тој антиген. Кај 10% од пациентите може и да се докаже генетскиот фактор за појавата на болеста. Оваа поврзаност е особено изразена кај лицата кои развиваат RA поврзано со антитела на цикличните цитрулизирани полипептиди (CCP). Кај голем број индивидуи од одредени популации (но не кај сите), најдена е поврзаност со HLA-DR4, но кај одредени популации, на пример, Евреите во Израел, Индијците во Азија и Индијанците Јакима во Северна Америка, нема поврзаност меѓу развојот на RA и HLA-DR4. Кај овие популации RA е тесно поврзан со HLA-DR1 (Anthony со сор., 2008). Според овие автори терминот заеднички епитоп се користи за укажување на алелите HLA- $\beta$ 1, кои најверојатно го зголемуваат ризикот од RA, бидејќи имаат слични аминокиселини во третиот хиперваријабилен регион во процепот при поврзувањето на пептидите. Кај одредени група на пациенти, не е утврдена врска меѓу епитопите поврзани со HLA-DR4 и RA. На пример, околу 75% од афроамериканските пациенти со RA го немаат овој генетски елемент, кај Шпанците и Италијанците постои поврзаност со

HLA-DR10, кај Чилеанците со HLA-DR9, а кај арапската популација со HLA-DR3. Дополнителни гени во комплексот HLA-D, исто така, можат да ја променат подложноста на RA. Ова вклучува делови од HLA-регионот, кој е надвор од кодирачките региони на молекулите на HLA-DR што го зголемува ризикот, при што и одредени алели на HLA-DR, вклучително и HLA-DR5, HLA-DR2, HLA-DR3, и HLA-DR7 можат да имаат заштитна улога во развојот на RA и имаат пониска фреквенција кај пациентите со RA во споредба со контролните субјекти (Anthony со сор., 2008). Поновите анализи идентификувале PTPN22, фосфатаза вклучена во сигнализацијата на антигенските рецептори во лимфоцитите, FcRL3, молекул вклучен во регулирањето на активацијата на В-клетките и CTLA4, молекул вклучен во регулирањето на активацијата на Т-клетките, како гени за подложност на RA, барем кај одредени групи на народи. Генетските фактори не се единствени што придонесуваат за инциденцата на RA, што укажува дека и факторите на средината имаат важна улога во етиологијата на болеста. Ова се нагласува во епидемиолошките студии во Африка, кои сугерираат дека климата и урбанизацијата имаат големо влијание врз инциденцата и сериозноста на RA кај групите со слична генетска позадина.

### **1.3.2. Вирусите и бактериите како можен етиолошки фактор**

Некои вируси и бактерии, исто така, се доведуваат во врска со оваа болест, како и стресот и траумата, иако нема сигурни докази за тоа. Кога се зборува за вирусите и бактериите како инфективни агенси чии антигени можат да ги активираат Т и В-клетките, за ниту еден нема сигурен доказ, но постојат индикации и најчесто се споменувани EBV (Епштајн-Баров вирус), видот *Borrelia*, видот *Mycoplasma*, парвовируси, цитомегаловируси, вирусот на рубеола и микобактериите (DeShazo со сор., 1972; Zandman-Goddard и Shoendfeld, 2005; Samarko и Vaiopoulos, 2005; Shoendfeld со сор., 2006; Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Но сепак, нема убедливи докази дека овие или други инфективни агенси предизвикуваат RA. Вирусите можат да бидат едни од провокативните причинители кои поттикнуваат лачење на автореактивни антители поради својата молекуларна мимикрија. Теоријата на молекуларната мимикрија во последно време еволуираше од сознанијата за сличности во секвенците помеѓу

сопствените и вирусните антигени, до сознанија за „структурна хомологија“ која упатува на директна поврзаност помеѓу инфекцијата и автоимуната инфламација (Springer, 1990; Kamradt и Volkmer-Engert, 2004). Доколку се можни причинители, не е познат процесот со кој инфективниот агенс предизвикува хроничен воспалителен артритис со карактеристичен и симетричен распоред (Anthony со сор., 2008). Се претпоставува дека во зглобот, односно во синовијалната мембрана, доаѓа до реакција помеѓу надворешно навлезен агенс-антиген, кој може да биде дел од некоја бактерија или вирус, и најзначајните клетки на имунолошкиот систем Т-лимфоцитите (Cohen, 1993). Имунолошкиот одговор од цитолитичките Т-лимфоцити на вирусните инфекции може да доведе до оштетување на ткивата убивајќи ги заразените клетки, дури иако вирусот сам по себе нема цитопатски ефект врз организмот. Основна физиолошка функција на цитолитичките Т-лимфоцити е елиминација на интрацелуларните микроорганизми, првенствено на вирусите. Некои вируси директно ја оштетуваат заразената клетка, но има и такви вируси кои го немаат тој ефект. Цитолитичките Т-лимфоцити не можат однапред да прават разлика помеѓу цитопатските и нецитопатските вируси, и затоа тие ги убиваат заразените клетки со вирус, без разлика дали е инфекцијата штетна за организмот или не. Пример за ваква вирусна инфекција е limfocitniot horiomeningitis, каде доаѓа до оштетување на ткивото, после имунолошкиот одговор на сопствените цитолитички Т-лимфоцити, иако самиот вирус не предизвикува оштетување на ткивото. Поради промени во клетките на зглобната 'рскавица Т-лимфоцитите, клетките на зглобната 'рскавица ги препознаваат како туѓи тела и ги напаѓаат (Cohen, 1993).

### **1.3.3. Теорија за мултифакторска етиологија на ревматоидниот артритис**

Во поново време клиничките истражувања поткрепени со базичните биомедицински сознанија потенцираат дека појавата на болеста е мултифакторска, а во прилог на тоа наведуваат дека дури и да е многу важен генетскиот фактор, многу ретко се случува во едно семејство две деца, кои не се близнаци да заболат од ЈА, што потврдува дека болеста е резултат на комбинација на наследните и некои фактори од надворешната средина,

најверојатно некоја инфекција. Според Vlnay и сор. (2007), може да се каже дека воспалението на зглобовите кај RA имунолошки е посредувано и постои јасна генетска предиспозиција кон болеста, но агентот или агентите што ја иницираат појавата на болеста сеуште се неразјаснети. Се мисли дека заболувањето кај генетски предиспонирано лице го почнува активирањето на CD4+ Т-клетки помошнички, кои реагираат на некој артритогенски агент, најверојатно микроорганизам или на некој автоантиген. Активираниите Т-клетки создаваат цитокини, кои ги активираат макрофагите и другите клетки во зглобниот простор, ослободувајќи разградувачки ензими и други фактори кои го одржуваат воспалението и ги активираат Б-клетките, доведувајќи до создавање на антитела, од кои некои се насочени против автоантигените во зглобот и во други органи. Затоа RA спаѓа во групата на таканаречени системски болести на сврзувачкото ткиво.

Како ризик фактори во голем број на истражувања се споменуваат и стареењето, полот и хормоналниот статус, потоа пушењето во тек на долг временски период, како и исхраната. Во оваа насока, во заклучокот од истражувањата објавени за болницата Рикшоспиталет во Осло се потенцира дека производството на антитела драстично се зголемува во абдоменот на заболениите од RA при консумирањето на некои видови храна. Изненадувачки бил степенот на зголемување на нивото на антителата на некои видови храна во абдоминалните секрети на пациентите. Идентификувани се антитела на некои компоненти на млеко, јајца, свинско месо и риба. Заклучокот на норвешките истражувачи е дека жалбите кај некои пациенти на тоа дека некоја храна не им одговара имаат физичка основа и дека треба сериозно да се разгледуваат. Затоа докторите од болницата Рикшоспиталет во Осло советуваат дека најдобро е таквите пациенти да избегнуваат храна која потенцијално може да ја влоши здравствената состојбата со нивните зглобови.

Во последните години се повеќе е прифатена хипотезата дека RA и ревматолошките болести настануваат кај лицата со генетски предиспозиции, кои се изложени на провокациско делување на надворешните фактори, како инфекции, стрес, хемикалии или примена на козметички средства или силикони, но и траумите, хируршките зафати и породувањето, бидејќи кај некои пациенти истите коинцидираат токму со почетокот на болеста. Сето ова наведува на

заклучок дека при RA патолошкиот процес е комплексен, во кој се ангажирани бројни имунолошки активни клетки и нивна интеракција (Weyand и Goronzy, 1997).

Според поновите хипотези, во основа на RA е нарушување на периферните механизми на толеранција, аномалија на лимфопрлиферацијата и на хомеостазата на Т лимфоцитите (Smeets со сор., 2003).

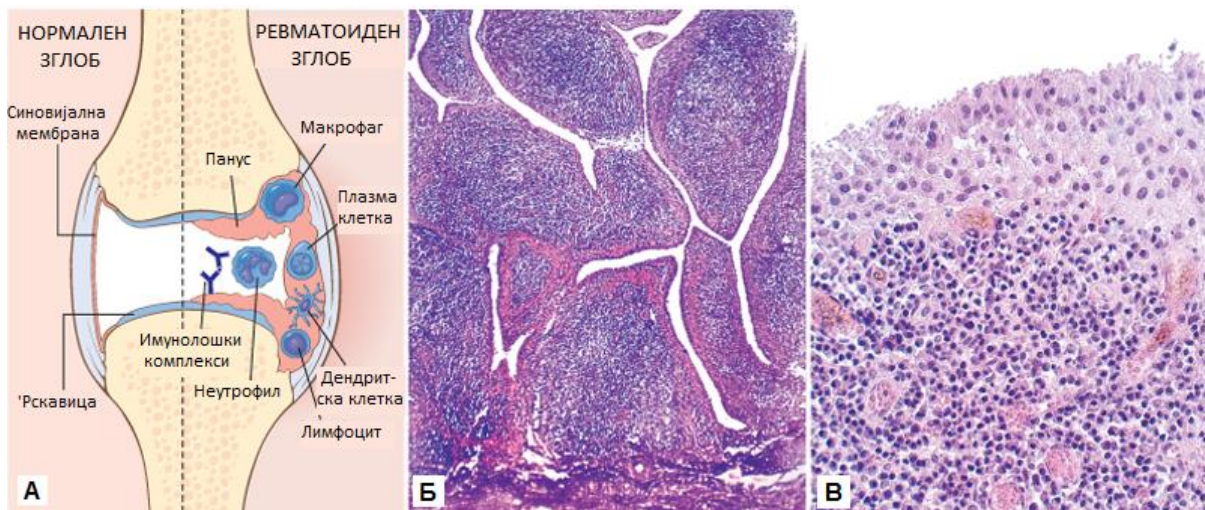
Денес најприфатени се две хипотетички теории за развојот на RA. Според првата теорија, Т-лимфоцитите, како клетки на имунолошкиот систем, стапуваат во интеракција со сеуште непознат антиген. Затоа, според оваа теорија Т-лимфоцитите се одговорни за почетокот на болеста, за текот и нејзината хронична природа. Оваа теорија е базирана на истражувањата кои го поврзуваат RA со составот на HLA антигенот, големиот број на CD4+ Т-лимфоцити и нарушени рецептори за Т-лимфоцити во зглобовите (Roitt, 1984; Shoenfeld, 1989; Gardner, 1992; Cohen, 1993; Samarko и Vaiopoulos, 2005). Според втората теорија, Т-лимфоцитите се причина само за почетокот на болеста, а хроничното воспалување на зглобовите е резултат на активноста на макрофагите и фибробластите. Во развојот на RA се смета дека клучна улога има генетската предиспозиција, поради генетска грешка во клетките на зглобната 'рскавица, кога Т-лимфоцитите истите ги препознаваат како туѓи тела и ги напаѓаат.

#### **1.4. Патогенеза**

Во почетните фази на болеста патогенезата е со доста нејасна клиничка слика и со преклопување на симптомите со други болести. Зголемената температура и црвенилото резултираат со локална вазодилатација на нападнатата област, каде што има зголемена продукција на топлина и покачување на внатрешната температура, додека зголемената пропусливост на капиларите во воспалените ткива резултираат со зголемена филтрација и локализирано црвенило (Key, 1925; Wolcott, 1927; Koski, 2000; Kamradt и Volkmer-Engert, 2004; Karim со сор., 2004). Според истите автори, овие васкуларни промени може да бидат протолкувани како обид на организмот да го засили протокот на крвта во нападнатата област, со цел прилив на повеќе леукоцити и состојки за „поправка на штетата“. Манифестирајќи ги овие знаци на воспаление



и знаејќи дека базофилните леукоцити се активираат кога маст-клетките преовладуваат во сите ткива, можат да настанат некои важни физиолошки врски (Слика 1.1.). Имено, базофилите и маст-клетките содржат и може да ослободат хистамин (Vanham со сор., 2006; Ishii со сор., 2006; Vinay со сор., 2007), при што е интересно дека хистаминот е способен да продуцира ефекти претходно опишани како симптоми на воспаление, но и некои други ефекти. Хистаминот кој е ослободен во иницијалната фаза на оштетување на ткивото, е еден вид заштитна мерка на организмот за да го забрза закрепнувањето. Според истражувањата на Christen (2005), како резултат на ослободувањето на хистаминот и зголемениот проток на крв во нападнатата област се врши „поправка на штетата“. Но, во некои случаи хистаминот, сам по себе може да предизвика оштетување во организмот. На пример, IgE антителата се поврзани со хиперсензитивни алергични реакции и тие предизвикуваат дегранулација на маст-клетките со ослободување на хистамин (Christen, 2005). Болеста ја карактеризира непредвидлив тек, спонтана ремисија, непредвидливо влошување и неизвесен завршетокот на истата (Shoenfeld, 1989).



Слика 1.1. Ревматоиден артритис

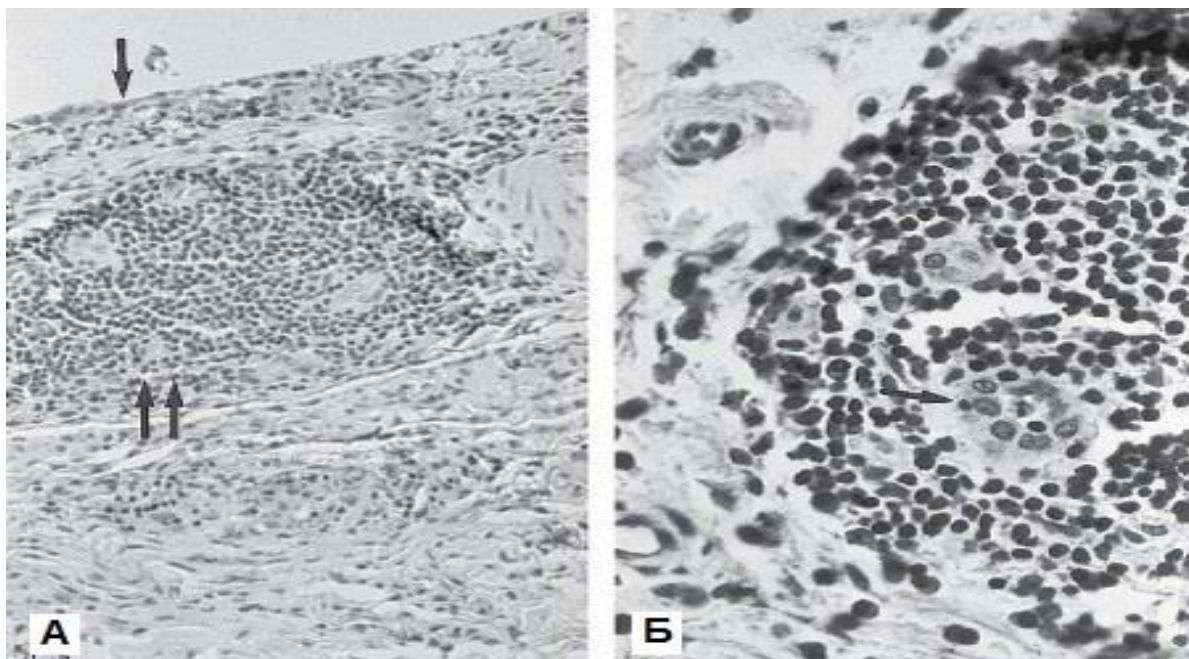
**А.** Лезија на зглобот. **Б.** Под слабо зголемување се забележува обележана хипертрофија на синовиумот со создавање на ресички. **В.** При поголемо зголемување во синовиумот се забележуваат густы лимфоидни агрегати. (А. Приспособено со дозвола на Фелдман, М.: Развој на анти-TNF-терапија против ревматоидниот артритис. *Nat Rev Immunol* 2:364, 2002). (преземено од Основи на патологијата според Робинс, 8-мо издание, поглавје 5, стр.145, слика 5-23, 2007.)

### 1.4.1. Хистолошка слика на ревматоидната синовија

Во состојба на RA примарната зона за напад е синовијалната мембрана и артикуларната 'рскавица. Таа е хијалинска 'рскавица која ги покрива краевите на коските во зглобовите, и е еластично, аваскуларно, со клетки сиромашно ткиво. Уште во 1942 година Moritz истакнува дека во споредба со другите сврзни ткива артикуларната 'рскавица има мала способност за регенерација и репарација после повреда. Синовијалната мембрана, за разлика од 'рскавицата, има изразена способност за регенерација и репарација после повреда, а функцијата на истата е создавање на синовијален муцин и регулирање на размената на материите помеѓу крвта, лимфата и синовијалната течност (Bauer со сор., 1940; Ropes и Bauer, 1953). За разлика од другите мембрани, синовијалната мембрана има зголемена пропустливост (Bauer со сор., 1933; Shaffer и Bennett, 1939; Bennett, 1939). Капсулата на зглобот се состои од густо фиброзно ткиво зајакнато со тетиви, мускули и фасцијални слоеви, чија главна функција е поврзување на краевите на коските кои влегуваат во составот на зглобот. Синовијалната течност во нормален зглоб е бистра, бледожолта, леплива течност, сиромашна со клетки и малку по количина (Coggeshall со сор., 1940; Coggeshall со сор., 1941). Овие структури се од големо значење за нормалното механичко функционирање на зглобот, кои при RA се примарно или секундарно зафатени.

Болеста започнува да се развива постепено и најчесто првите симптоми ги зафаќаат дланките, метатарзофалангеалните и радиокарпалните зглобови (Markeljevic, 2006; Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Микроваскуларната повреда и зголемениот број на синовијални површински клетки се првичните лезии при ревматоидниот синовитис. Природата на промените поради која се јавува овој одговор е сеуште непозната. Кај здрави зглобови синовија е добро организиран матрикс, составен од микрофибрили и агрегати на протеогликани. Внатре во матриксот се наоѓаат различни клетки. Тип А клетките се слични на макрофагите, а тип В на фибробластите. Површинскиот слој на синовијата е со дебелина од 25 до 35  $\mu\text{m}$ , а внатрешниот слој е субинтима со дебелина и до 5  $\text{mm}$ . Синовијата при RA се карактеризира со хиперплазија, инфилтрација на воспалителни клетки, конгестија, присуство на големи ендотелни клетки, оклузија на капиларите со тромбоцити, тромбови и таложење на фибрин.

Хиперплазијата е последица на зголемениот број и хипертрофија на А и В клетките, а субинтималниот дел е богато инфилтриран со монојадрени клетки (Ronney со сор., 1998 Kim со сор., 2005). Последователно, зголемениот број на синовијални површински клетки е наод и при периваскуларна инфилтрација со мононуклеарни клетки. Пред појавата на клиничките симптоми, периваскуларните инфилтрати главно се состојат од миелоидни клетки, додека при симптоматски артритис, застапени се и Т-клетките, но нивниот број не е во корелација со симптомите. Со напредување на болеста синовиумот станува едематозен и навлегува во зглобната празнина во вид на продолжетоци (Vinaу со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Микроскопски се забележува хиперплазија и хипертрофија на синовијалните површински клетки, фокални васкуларни промени, тромбоза и неоваскуларизација, едеми и инфилтрација со мононуклеарни клетки, често собрани во агрегати околу малите крвни садови (Слика 1.2.).



Слика 1.2. Хистологија на ревматоиден синовитис

А. Карактеристични својства на ревматоидно воспаление со хиперплазија на површинскиот слој (стрелка) и мононуклеарни инфилтрати под површинскиот слој (двојна стрелка). Б. Зголемена слика на големи CD4+ Т-клетки инфилтрирани околу посткапиларните венули (стрелка). (преземено од Интерната медицина на Харисон, 17-то издание, дел 14, поглавје 314, стр. 2084, слика 314-1, 2008.).

### 1.4.2. Презентација на антигените и костимулација на Т-клетките

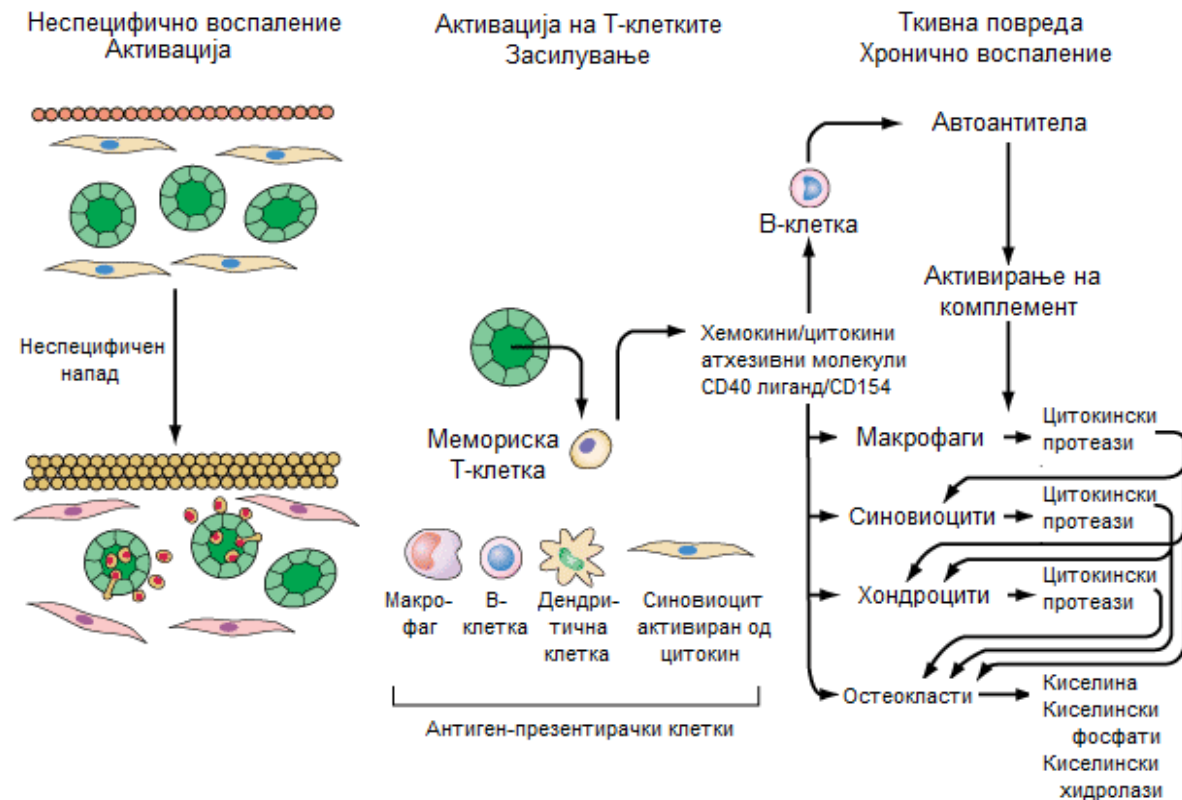
Според најчесто споменуваниот концепт за имунопатогенезата на RA, сеуште непознат антиген е фагоцитиран од антиген-презентиращките клетки, а потоа и разграден на пептиди (епитопи) кои се врзуваат за антигенврзувачки жлеб HLA-DR4/ DR1 молекула, и така е изложен на површината на антиген-презентиращките клетки. Антиген специфичната Т-клетка ја препознава и HLA молекулата и антигенот. За активацијата на Т-клетката потребно е најмалку два различни сигнали. Се претпоставува дека првиот е антиген специфичната интеракција помеѓу Т-клеточниот рецептор и антигенот, а вториот сигнал, најверојатно, генерира интеракција на различни молекули на мембраната на Т-клетките и антиген-презентиращките клетки, што има за последица стимулација на активацијата на делбата и секреција на цитокини (Goronzy и Zetll, 1998). Овие таканаречени костимулаторни молекули можат да се класираат во три групи; суперфамилија на имуноглобулини, суперфамилија TNF рецептори и цитокински рецептори (Liu и Linsley, 1992; Schwartz, 1992). CD28, ICOS и CD28 припаѓаат на суперфамилијата на имуноглобулини. Од цитокинските рецептори најважни се рецепторите за IL-2, IL-7, IL-15, IL-1 и IL6. Во суперфамилијата на TNF рецепторите припаѓаат CD40, OX40 (CD134), 4-1BB (CD137), CD27, CD30 и HVEM. Еден од најважните костимулаторни рецептори е CD28, кој се експримира на повеќето Т-клетки. Од друга страна пак, костимулацијата овозможува продуцирање на IL-2 и понатамошна активација на Т-клетките. Костимулаторните молекули се наоѓаат во зголемена концентрација во синовијалното ткиво кај болните од RA и овозможуваат активирање на Т-клетките во отсуство на антигени. После активацијата на Т-клетките доаѓа до зголемена регулација на цитотоксичните Т-лимфоцити, кој во интеракција со CD80 и CD86 остваруваат намалена регулација на нивната активност со инхибирање на пролиферацијата и продукцијата на цитокини. Иако синовијалниот Т-клеточен инфилтрат се менува, клонски експандираните CD4+ Т-лимфоцити се континуирано присутни.

Ревматоидните синовијални ендотелни клетки експресираат зголемено присуство на различни адхезивни молекули, кои учествуваат во овој процес. Групираните мононуклеарни клетки имаат различен состав и големина, а најзастапени инфилтрати се Т-лимфоцитите. CD4+ Т-клетките доминираат над

CD8+ T-клетките и често се наоѓаат во близина на HLA-DR+ макрофаги и дендритични клетки (Liu и Linsley, 1992; Schwartz, 1992; Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Главната популација на T-клетките во рамките на ревматоидниот синовиум е составена од CD4+ мемориски T-клетки, кои се мнозинство од клетките насобрани околу посткапиларните венули, а CD8+ T-клетките се расеани по ткивото. Освен акумулацијата на T-клетки, ревматоидниот синовитис се карактеризира и со инфилтрација на различен број на B-клетки и плазма клетки што создаваат антитела. Поликлоналниот имуноглобулин и RF, се создаваат во синовијалното ткиво, со што се создаваат локални имуно комплекси. Во ревматоидниот синовиум се забележува и зголемен број на мастоцити, при што со локалното ослободување на содржините од нивните гранули може да придонесат за воспаление. На крајот, синовијалните фибробласти при RA активираат создавање на ензими, како што се колагеназа и катепсини, кои што можат да ги разградат компонентите на матриксот на зглобовите. Овие активирани фибробласти се најзастапени во површинскиот слој и на интерфејсот помеѓу коската и 'рскавицата, а на местото на коскената ерозија се присутни и голем број на остеокласти (Anthony со сор., 2008). Така, според овие автори, ревматоидниот синовиум се карактеризира со големо присуство на производи што се излучуваат од активираните лимфоцити, макрофаги и фибробласти, а локалното производство на овие цитокини и хемокини е одговорно за многу патолошки и клинички манифестации на RA. Поради ова, голем број од карактеристиките на ревматоидниот синовитис зависат од активноста на хемокините и цитокините, вклучувајќи го и воспалението на синовијалното ткиво, воспаление на синовијалната течност, синовијалната пролиферација и оштетување на коските и на 'рскавицата, како и системските манифестации на RA. Покрај создавањето на ефекторните молекули што го шират воспалителниот процес, се создаваат и локални фактори за забавување на воспалението, вклучувајќи и специфични инхибитори на активноста на цитокинет и на дополнителните други цитокини. Таков е трансформиращкиот фактор на раст  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), кој инхибира многу од карактеристиките на ревматоидниот синовитис, вклучително и активацијата и пролиферацијата на T-клетките, диференцијацијата на B-клетките и миграцијата на клетките во подрачјето на воспалителниот процес, а може да учествува и во

создавањето на популација на регулаторни Т-клетки, како помагачи за контролирањето на воспалението (Liu и Linsley, 1992; Anthony со сор., 2008). Притоа, директниот контакт меѓу активираните Т-клетки и миелоидните клетки може да води и кон создавање на провоспалителни цитокини, при што Т-лимфоцитите експресираат површински молекули, како што се CD40-лиганд, создавајќи разновидни цитокини што ја забрзуваат В-клеточната пролиферација и диференцијација во клетки што продуцираат антитела, па затоа можат да ја помагаат и локалната стимулација на В-клетките. Создадените имуноглобулини и RF може да доведе до формирање на имун комплекс, со последователно активирање на комплементот и влошување на воспалителниот процес преку создавање на анафилатоксини, C3a и C5a, а и хемотактичен фактор C5a. Исто така, антителата може да создаваат и други автоантигени, како CCP, што пак може да придонесе за патогенезата на заболувањето. Воспалението на ткивото потсетува на хронични воспалителни реакции на перзистентни микроорганизми, иако бројот на клетките кои произведуваат цитокини е помал од тој забележан кај типичните задоцнети хиперсензитивни реакции, најверојатно како резултат на зголеменото присуство на реактивните кислородни врски, што се создаваат локално во синовиумот и можат да ја потиснат функцијата на Т-клетките или дејството на локалните регулаторни клетки (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Според овие автори, сепак, останува нејасно дали постојаната активност на Т-клетките преставува реакција на перзистентен егзоген антиген или на променети автоантигени, како колаген, имуноглобулин, некој од протеините на топлотен шок, или на CCP, но алтернативно може да претставува постојана реактивност кон активирани автологни клетки што можат да се појават како резултат на инфекцијата со EBV, или пак на постојана реакција на туѓ антиген или суперантиген на синовијалното ткиво. Одовде, ревматоидното воспаление може да ја одразува постојаната стимулација на Т-клетките од страна на синовијално создадените антигени кои вкрстено реагираат со детерминантите воведени при претходно изложување на туѓи антигени или инфективни микроорганизми. Важниот придонес на В-лимфоцитите кон хроничниот воспалителен процес е нагласен со фактот дека третманот со моноклонално антитело на В-клеточниот маркер, CD10 предизвикал брза деплеција на В-лимфоцитите, намалување на титрите на RF во серумот и делумно поправање

на симптомите и знаците на воспалението. Сите овие наоди сугерираат дека ширењето на RA е имунолошки условен процес, иако почетниот иницирачки причинител сеуште не е откриен (Слика 1.3.).



Слика 1.3. Прогресијата на ревматоидниот синовитис

Сликата ја прикажува еволуцијата на патогените механизми и крајните патолошки промени што се вклучени во развојот на ревматоиден синовитис. Стадиумите на ревматоидниот артритис се поделени на: почетна фаза на неспецифично воспаление, по што следува фаза на засилување, која произлегува од активацијата на Т-клетките, и на крајот, стадиум на хронично воспаление со повреда на ткивото. Разновидни стимули може да ја иницираат почетната фаза на неспецифично воспаление, и може да трае еден подолг временски период, без или со умерени симптоми. Кога кај генетски подложните лица ќе се активираат Т-клетките, како одговор на различните пептиди презентирани од антиген-презентирачките гени, воспалението се засилува поради активација на локалниот ревматоиден фактор и други автоантитела, како и зголемен капацитет за посредно оштетување на ткивото. (преземено од Интерната медицина на Харисон, 17-то издание, дел 14, поглавје 314, стр. 2086, слика 314-2, 2008.).

Вообичаено симптомите се развиваат постепено, како што се шири инфламацијата. Болеста може да има палиндромски почеток и симптомите да траат од неколку часа до неколку дена. Првите симптоми може да бидат акутни



и фулминантни. Според Anthony и сор. (2008), најважно во хроничниот воспалителен процес на синовијалното ткиво е акутниот воспалителен процес во синовијалната течност. Ексудативната синовијална течност содржи повеќе полиморфонуклеарните леукоцити (PMNL) отколку мононуклеарни клетки, а повеќе механизми учествуваат во стимулацијата на ексудацијата на синовијалната течност. Локалните антитела на ткивните компоненти и имуните комплекси може да го активираат комплементот и да создадат анафилатоксини и хемотактични фактори, а локалното создавање на хемокини и цитокини со хемотактична активност како и со воспалителни посредници, како што е леукотриен B<sub>4</sub> и продуктите на активацијата на комплементот можат да привлечат неутрофили. Така, според Vinay и сор. (2007), голем дел од овие агенси можат да ги стимулираат и ендотелните клетки на посткапиларните венули да станат поефикасни кај циркулирачките клетки што се врзуваат, како резултат на што има засилена миграција на PMNL, во синовиумот. Притоа, вазоактивните посредници како што е хистаминот произведен од мастоцитите инфилтрирани во ревматоидниот синовиум можат, исто така, да ја олеснат ексудацијата на воспалителните клетки во синовијалната течност, а овој ефект можат да го имаат и локално продуцираниот простагландин E<sub>2</sub>. Откако ќе навлезат во синовијалната течност, PMNL можат да ги апсорбираат имуните комплекси, со што се создаваат метаболити на реактивен кислород и други воспалителни посредници, со што самото воспаление се повеќе се интензивира, а локално создадените хемокини и цитокини дополнително ги стимулираат PMNL. Според Anthony и сор. (2008), создавањето на големи количини на циклоксигеназа и липоксигеназа на метаболизмот на арахидонската киселина од страна на клетките во синовијалната течност и ткиво уште повеќе ги нагласува симптомите и знаците на воспалението.

### **1.4.3. Цитокинска каскада и созревање на синовијата**

Цитокините се протеини слични на хормони, кои заедно со директен контакт клетка-клетка, ги вклучуваат клетките на имуниот систем во комуникацијата, и истите како координатори на имунолошкиот систем ја стимулираат активацијата на NK-клетките, IL-2 и TNF-alfa. Многу реакции може

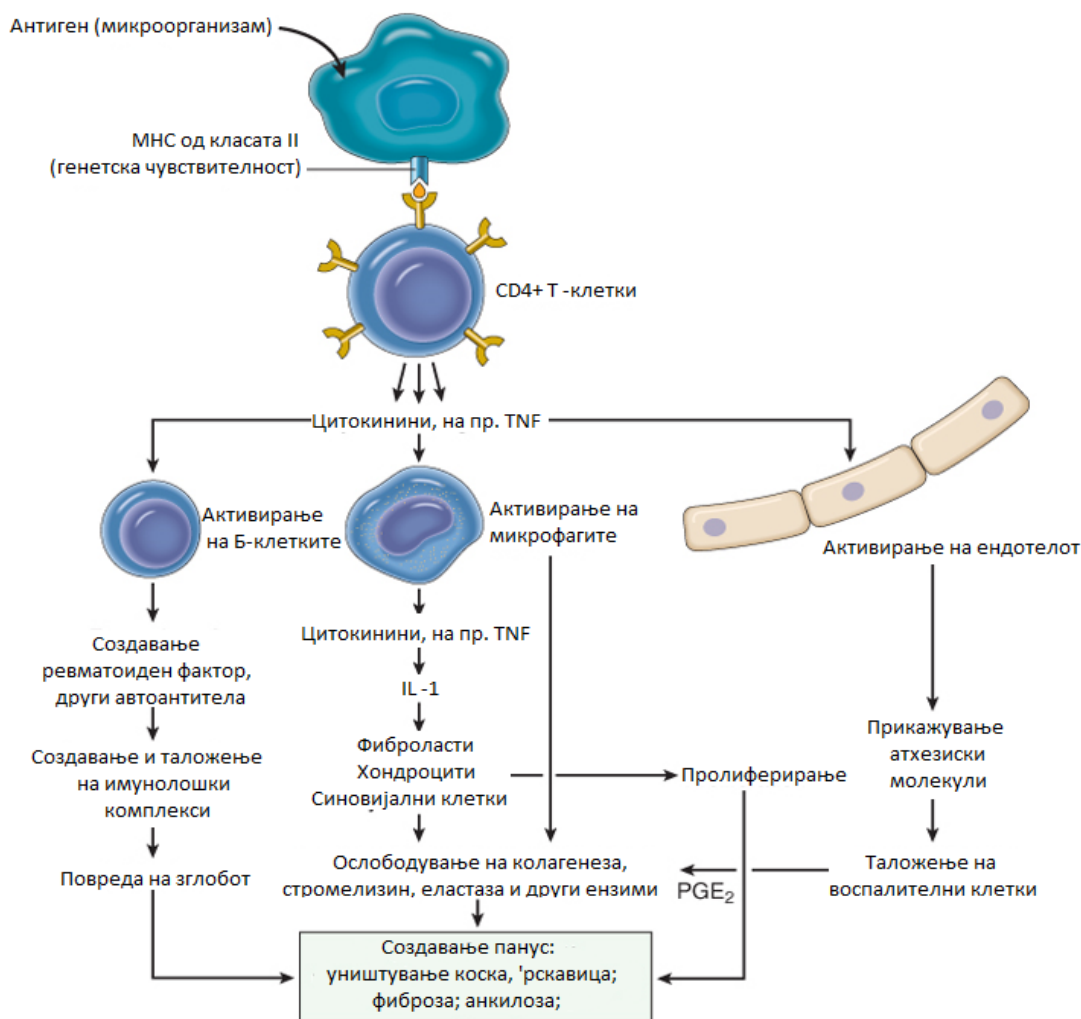


да се сметаат како локално предизвикани активности на цитокините со зголемена продукција на истите кај пациенти со RA. Зголемената лепливост на циркулационите мононуклеарни клетки за посткапиларните венули во воспалениот синовиум може делумно да се препише дека е ефект на цитокините. Медијаторите на воспалението, посебно TNF-alfa и IL-1, се клучни иницијатори на RA, и го стимулираат понатамошниот развој на болеста која добива хроничен тек. Координацијата на васкуларните и клеточните реакции, зависи од бројот на активните медијатори кои се наоѓаат во плазмата, подвижните воспалителни клетки или на погодените клетки во зглобот. Важните медијатори во ревматоидниот процес вклучуваат и метаболити на киселини, на реактивен кислород, комплементарни компоненти, протеази и цитокини (Wagner со сор., 1998; Panoutsoskoulous со сор., 2001; Anthony со сор., 2008). Т-лимфоцитите се присутни околу 30-50% од воспалителните клетки во синовијалното ткиво. Неутрофилите може да бидат активирани од неколку фактори во синовиумот, вклучувајќи го IL-8, кој е стимулативен фактор на гранулоцитната колонија макрофаги. По лизирањето на имуните комплекси, клетките можат да ја ослободат содржината на лизозомските ензими, да генерираат деструктивни радикали на кислород, кои можат да ја оштетат 'рскавицата и потпорните структури на зглобот и да доведат до секундарна афекција и последици врз физиологијата и нормалната функција на другите органи и органски системи (Kitsis и Weissmann, 1991). Активацијата и размножувањето на Т-клетките е примарно поврзана со акцијата на IL-2, IL-6, и TNF-alfa кои, исто така, можат да ги засилат реакциите. Локалната активација на макрофагите е индуцирана од одреден број на цитокини, вклучувајќи го и гамаинтерферонот. В-клетките активно продуцираат имуноглобулини, следејќи ја стимулацијата од IL-4 и IL-6. Лимфоцитите можат, освен цитокини да создаваат и неврохормони, кои пак, можат да делуваат автокринно или паракринно. Нервните завршетоци директно ги иневрираат примарните или секундарните лимфни органи, и се во блиска врска со клеточниот имунитет (Anthony со сор., 2008). Цитокините ослободени од клетките директно делуваат на оската хипоталамус-хипофиза-кора на надбубрежната жлезда, доведувајќи до состојба на стрес во организмот. Во оваа смисла континуираниот стрес долготрајно ги оптеретува адреналните жлезди со постојано покачено ниво на

адреналин, норадреналин и кортизол во крвта, со што стресот предизвикува привремено намалена функција на надбубрежните жлезди, што пак доведува до хипертрофија на истите. Но, во случај стресот да продолжи адреналките се исцрпуваат и се во состојба на хронична хипофункција, а крајниот ефект од инсуфициенцијата на надбубрежните жлезди може да резултира, меѓудругото, и со автоимуни пореметувања од лупус, па до RA (Vinay со сор., 2007). Хомеостазата како динамичката рамнотежа при состојба на RA е нарушена, што се ефектуира со активирање на имунолошкиот систем за откривање и отстранување на туѓите материи од организмот. Т-лимфоцитите се одговорни за клеточниот имунитет, од кои најважни се NK клетките. В-лимфоцитите се одговорни за механизмите на одбрана со посредување на имуноглобулините. Комплексот HLA игра есенцијална улога во одбраната на организмот. Така да една личност носител на антигенот HLA-B27 има 120 пати поголема шанса да заболи од артрит, отколку личност што го нема тој антиген. Имунолошкиот статус се одредува со бројот и просекот на поединечните популации на леукоцити, Т, В, NK- клетките, активираните и мемориските клетки. Со функционалните тестови, на пример, се одредува способноста на NK- клетките, и фагоцитната способност на гранулоцитите, но и одредувањето на цитокините во серумот исто така може да биде корисен податок.

Активираните Т- лимфоцити продуцираат проинфламаторни цитокини кои ги стимулираат клетките од моноцитно-макрофагната линија. Тие после активацијата секретираат проинфламаторни цитокини, кои пак имаат повеќе дејства, ги активираат хондроцитите, фибробластите на синовијата, ендотелните клетки и остеокластите. Стимулацијата на дендритичните клетки, моноцитите, В лимфоцитите и на фибробластите слични на синовиоцитите доведуваат до хронична и деструктивна фаза на болеста. Активираните моноцити и фибробластите слични на синовиоцитите секретираат проинфламаторни цитокини, фактори на растот и стимулираат создавање на металопроотеинази и други протеази кои учествуваат во процесот на деструкција. Локално создадените цитокини индуцираат ангиогенеза, и ја засилуваат експресијата на адхезионите молекули и регрутираат воспалителни клетки во синовијата. Прва патолошка промена во синовијата е ангиогенезата, која е следена со трансдукција на течност, трансмиграција на лимфоцитите во

синовијата и на полиморфонуклеарните леукоцити во синовијалната течност (Wagner со сор. 1998; Anthony со сор., 2008). За успешна ангиогенеза е важна зголемената експресија на специфичниот адхезионен молекул интегрин  $\alpha$ -v- $\beta$ -3. Ангиогенезата индиректно ја стимулира и TNF- $\alpha$  (Слика 1.4.).



Слика 1.4. Модел за патогенезата на ревматоидниот артритис

CD4+ T-клетките реагираат против непознат артроген антиген. Се смета дека го стимулираат создавањето на автоантитела и активирањето на макрофаги и други клетки во зглобниот синовиум. PGE<sub>2</sub>, простагландин E<sub>2</sub>. (преземено од Основи на патологијата според Робинс, 8-мо издание, поглавје 5, стр.147, слика 5-25, 2007.)

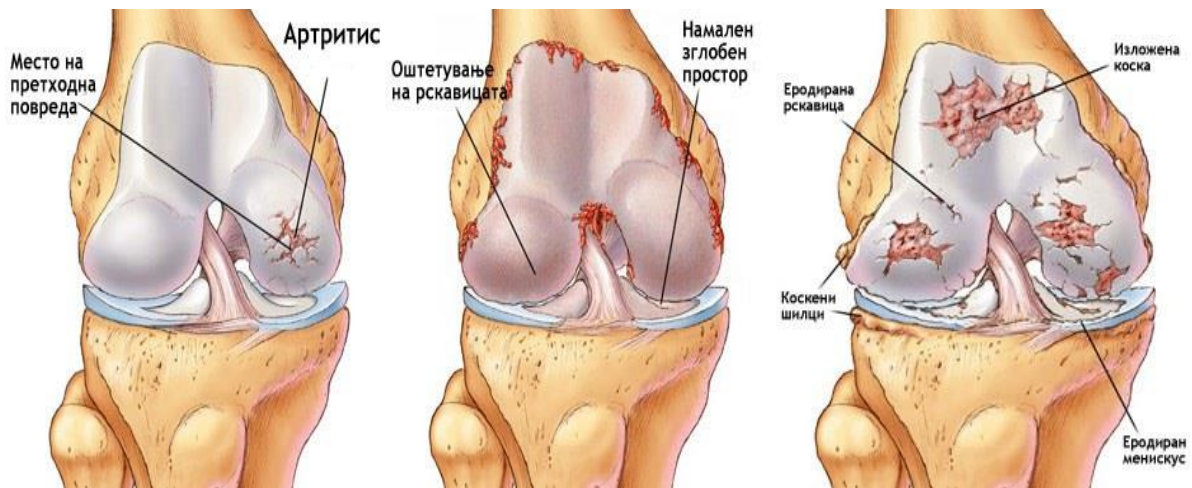
Инхибитори на ангиогенезата се INF- $\gamma$ , трансформирачкиот фактор на растот (TGF)- $\beta$ , IL -1, ангиостатин и ендостатин. Кога ќе се формираат нови капилари, цитокините кои се продуцираат во синовијалното ткиво ги

стимулираат ендотелните клетки да создаваат адхезиони молекули; интерцелуларен адхезионен молекул-1 (ICAM-1), адхезионен молекул за васкуларните клетки-1 (VCAM-1), P-селектин и E-селектин (Coch, 1998; Nasonov со сор., 2000; Markelevic, 2006). Овие молекули ја олеснуваат дијапедезата и екстравазација на леукоцитите. PMNL немаат лиганд за VCAM-1 кој се наоѓа во синовијалното ткиво и не експримираат VLA-4 (very late antigen-4), и затоа во мал процент се наоѓаат во синовијалното ткиво. Лимфоцитите експримираат лиганд VCAM-1 и VLA-4 и затоа се доминантни клетки во ревматоидната синовија (Klimiuk со сор., 2002). Насобирањето на клетки во синовијата е регулирано и со хемокините и нивните рецептори. Хемокините продуцираат ендотелни, епителни, стромални клетки и леукоцити стимулирани од проинфламаторните цитокини и липополисахаридите (Morales-Ducet со сор., 1992). Синовијалните Т лимфоцити се осетливи на апоптоза, но фибробластите ја спречуваат клеточната смрт, и тоа е еден од главните причини за одржување на инфламацијата (Haringman со сор., 2003). Во однос на здравото ткиво ревматоидната синовија содржи повеќе маст клетки кои продуцираат цитокини, фактори на растот, хистамини, простагландини, леукотриени и триптаза, кои во основа и го започнуваат активирањето на металопротеиназите. Под влијание на локално создадените цитокини синовиоцитите го менуваат фенотипот и добиваат способност за инвазија на сврзното ткиво и стимулација, диференцијација и активација на остеокластите. При RA доминира Th1-клеточниот одговор, а во циркулацијата е присутен голем клон на Т-лимфоцити со невообичаен фенотип (CD4+ CD28), кои продуцираат голема количина на проинфламаторни цитокини. Доминантните цитокини во ревматоидната синовија се продукти на макрофагите и фибробластите (Weyand, 2000; Arend, 2001). IL-1 и TNF- $\alpha$  се главни цитокини одговорни за настанување на пролиферативниот синовитис. Тие делуваат синергистички за создавање на гранулоцитниот фактор за стимулација на макрофагите (GM-CSF), IL-6, IL-8, хемокините, колагеназата, стромелезинот и простагландините, ја зголемуваат пролиферацијата на Т-клетките, В-клетките, фибробластите, индуцираат експресија на адхезиони молекули на ендотелот. GM-CSF покрај гранулоцитите ги создаваат и синовијалните макрофаги. Тој ги активира фибробластите, Т лимфоцитите и индуцираат секреција на IL-1, TNF- $\alpha$  и IL-8. Заедно со TNF- $\alpha$  ги

активира макрофагите и индуцира експресија на HLA-DR антигените на антиген-презентиращките клетки. GM-CSF игра главна улога во остеоκластогенезата. IL-15 го создаваат макрофагите и тој индуцира создавање на TNF- $\alpha$ . IL-17 го создаваат Т-лимфоцитите, а тој зголемува создавање на IL-6, кој пак е одговорен за деструкција на колагенот и за остеоκластна ресорпција на коските (Buckley со сор., 2004). IL-18 по структура е сличен со IL-1 $\beta$ , и тој делува синергистички со IL-12 и со IL-15, за создавање на проинфламаторни цитокини и инхибирање на остеоκластогенезата.  $\beta$ -тансформиращкиот фактор на растот е репаративен цитокин и ја инхибира активацијата и пролиферацијата на Т-клетките, В-клетките и ја инхибира биосинтезата на матрикс на металпротеиназата, и ја заштитува зглобната рскавица од дејството на IL-1, ја инхибира секрецијата на TNF- $\alpha$  од макрофагите и ја забрзува регенерацијата на ткивата (Litter со сор., 1997; Bethesda, 1999; Davidson и Diamond, 2001; Kamradt и Volkmer-Engert, 2004; Christen, 2005; Banham со сор., 2006; Ishii со сор., 2006).

#### **1.4.4. Деструкција на 'рскавицата**

Зглобната 'рскавица е изградена од колаген и агрегати на околу 100 протеогликани. Разградувањето на зглобната 'рскавица е комплексен процес во кој се вклучени А и В синовиоцити, Т и В лимфоцити, остеоκласти и хондроцити. Кога се активирани, овие клетки секретираат неколку класи на ензими кои се одговори за деструкција на 'рскавицата (Murphy со сор., 2002; Goldring, 2003). Најважни се агреканазите, протеиназите, колагеназите, стромелизин и желатиназите. Кај здрави организми овие ензими се во рамнотежа со ткивните инхибитори (TIMPS). Една од причините за деструкција на зглобната 'рскавица е и забрзаната апоптоза на хондроцитите, под дејство на проинфламаторните цитокини (Слика 1.5.). Според истите автори докажано е дека постојат најмалку два патишта за деструкција на зглобната 'рскавица. Едниот е зависен а другиот независен од цитокините. Кај првиот, кој е зависен од цитокини, ефектори се воспалителните клетки, а кај цитокин-независниот пат централна улога играат фибробластите. Најверојатно, стимулатори на синовијалните фибробласти се некои компоненти на бактерии, пептидогликани, липопептиди и липополисахариди (Ospelt со сор., 2004).



Слика 1.5. Прогресија на болеста кај зглоб зафатен со ревматоиден артритис

(преземено од интернет [www.thepittsburghchannel.com](http://www.thepittsburghchannel.com); [www.themoneytimes.com](http://www.themoneytimes.com) - јули 2012 г.)

Воспалението при RA е предизвикано од одбрамбениот систем на организмот, кој го напаѓа ткивото кое ги обвиткува зглобовите, а како последица на ова, од воспалената синовијална мембрана, доаѓа до создавање на сврзувачко и гранулациско панус пролиферативно ткиво, кое има злоќудни својства (Kamradt и Volkmer-Engert, 2004). Имено, според овие автори, панусот има способност да ја лизира зглобната 'рскавица, коскените краеви во зглобот, но и сите други структури на зглобот. Притоа, според Vinay и сор. (2007) прекумерниот раст на ова ткиво е толку буен што вообичаено тенката, фина синовијална мембрана се трансформира во нараснати, трошливи, едематозни, влакнести продолжетоци во вид на папрат, а настанува со хипертрофија на синовијалната мембрана, и е составен од хиперплазирани синовиоцити и клетки на воспалението, Т-клетки, В-клетки, макрофаги и слични клетки, потоа маст клетките и ендотелните клетки кои се инфилтрираат во синовијата и учествуваат во одржувањето на хроничното воспаление. Т-клетките имаат клучна улога во патогенезата на RA, кои во зглобот ги препознаваат артритогените антигени на површината на антиген-презентиращките клетки.

Активираниите Т-клетки создаваат медијатори кои го регулираат функционирањето на макрофагите, фибробластите и В-клетките, кои пак продуцираат автоантитела кои можат да бидат патогени. Фибробластите секретираат цитокини и металопроотеинази кои го разградуваат сврзното ткиво,

а ендотелните клетки ги контролираат инфлукс клетките за воспаление на синовијалното ткиво (Stefanovič, 2005). Притоа панусот се врзува за зглобната рскавица, ја разградува и врши инвазија на коските. Така, со напреднувањето на болеста, зглобната рскавица подложена на панусот еродира и со време бива уништена. Субартикуларната коска, исто така, може да биде нападната и да еродира. Сето ова доведува до болки, вкочанетост, деформација и нарушување на функцијата на заболените зглобови. Конечно, кога панусот ќе го исполни зглобниот простор фиброзата и калцификацијата може да предизвикаат трајна анкилоза (Lee и Weinblatt 2001; Vinay со сор., 2007).

#### **1.4.5. Механизам на настанување на ерозија на коските**

Со оглед на влијанието на имуноинфламаторното нарушувања на коскениот ремоделирање и „ресорптивниот“ ефект на „воспалителните“ цитокини, се чини дека неспорно се доведува до воспаление и губење на коскената маса кај пациентите со РА. Во таа насока според некои истражувања ниската телесна тежина на пациентите со РА се поврзани со намалена минерална коскена густина, што е лош прогностички фактор (Deodhar со сор., 2003; Forsblad со сор., 2003). Податоците за ефектот на РА врз губењето на коскената маса е со највисока стапка во првите години од болеста, според истражувањата на Naugeberg и сор. (2002), додека други истражувачи укажуваат дека суштински локалната природа на остеопорозата е кај пациенти со ран стадиум на РА, додека генерализирано намалување на коскената густина е забележано само во подоцнежните фази на болеста (Gough со сор., 1994; Forsblad со сор., 2003; Walsh и Gravallesse, 2004). Други студии наведуваат дека остеопороза напредува побрзо во раните години на болеста и е показател за сериозноста на системскиот инфламаторен процес (Gough со сор., 1994; Forsblad со сор., 2003) (Слика 1.6.).

Карактеристика на РА е настанување на субхондрални ерозии. За нејзино настанување одговорна е зголемената активност на остеокластното разградување на коските (Gough со сор., 1998; Gravallesse со сор., 1998). Хистопатолошката анализа на субхондралните коски покажале големо присуство на повеќејадрени клетки со фенотип на зрели остеокласти. Се

претпоставува дека истите потекнуваат од синовијата, кои под влијание на локалните фактори, пред се на цитокините, се диференцираат во зрели остеокласти (Gravallese со сор., 2000). Според нив значајна улога во процесот на ерозија имаат и синовијалните фибробласти кои секретираат хемокини и катепсини. Ефектот на IL-6 веројатно е резултат на директна стимулација на прекурзорите на остеокластите. Хистолошката анализа покажала дека на страната на коскената срцевина има многу агрегати на воспалителни клетки, пред се на макрофаги и на лимфоцити.

Немањето на директен контакт на синовијалното ткиво и јукстаартикуларните коски сугерираат дека некои други интерклеточни интеракции се вклучени во активацијата на остеокластите (Gough со сор., 1998).



**Слика 1.6. Фази во лезијата на зглобот со појава на коскени ерозии**

(преземено од интернет [www.thepittsburghchannel.com](http://www.thepittsburghchannel.com); [www.themoneytimes.com](http://www.themoneytimes.com) - јули 2012 г.)

Сеуште не е целосно разјаснет прецизниот механизам со кој се појавува уништувањето на коските и на 'рскивицата, така да, иако синовијалната течност содржи голем број на ензими што потенцијално се способни да ја разградат 'рскивицата, поголемиот дел од уништувањето се појавува околу позицијата на воспалениот синовиум, или панус, васкуларно грануларно ткиво кое е составено од пролиферирачки фибробласти, мали крвни садови и различен број на



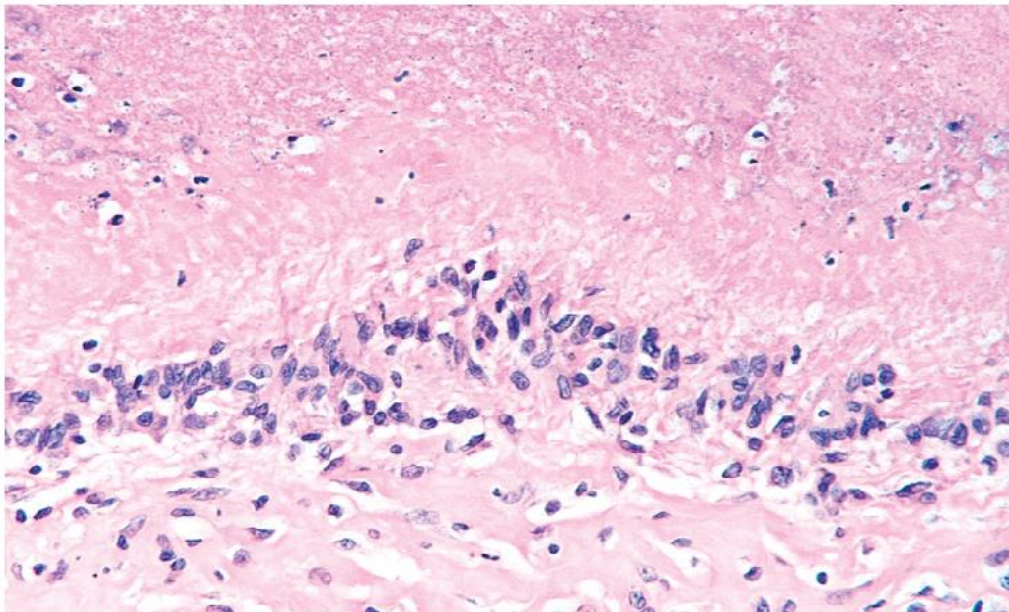
мононуклеарни клетки, при што создава голем број на разградувачки ензими, како колагеназа и стромелезин кои можат да го олеснат уништувањето на ткивото. Притоа, цитокините IL-1 и TNF имаат важна улога со стимулација на клетките од панус-пролиферативното ткиво да создаваат колагеназа и други неутрални протеази. Овие два цитокини ги активираат и хондроцитите, стимулирајќи ги да создаваат протеолитички ензими што можат локално да ја разградат 'рскавицата, а влијаат инхибиторно и врз синтезата на новите матриксни молекули, а заедно со IL-6, може да придонесат за локална деминерализација на коските, преку учествувањето во активирањето на локалните остеокласти распоредени околу деловите на локалната коскена ресорпција. Исто така, простагландинот E2 создаден од фибробластите и макрофагите може да придонесе за деминерализација на коските. Овде е важно да се нагласи дека системската манифестација на RA се јавува како резултат на ослободувањето на воспалителни ефекторни молекули од синовиумот (Firestein, 1994; Anthony со сор., 2008), како IL-1, TNF и IL-6, кои се одговорни за голем дел од манифестациите на активниот RA, вклучувајќи општа слабост, замор, губење апетит, покачено ниво на реактантите од акутната фаза и со покачена телесна температура, а имуните комплекси што се создадени во синовиумот и навлегуваат во циркулацијата може да се одговорни за други карактеристики на заболувањето, како што е системскиот васкулитис.

#### **1.4.6. Васкуларни и кожни промени**

Фокалните или делумните васкуларни промени се редовна појава кај RA, со манифестација на венска надуеност, капиларна опструкција или тромбоза со периваскуларна хеморагија (Roy, 1967; Rothschild и Masi, 1982). Внатрешната синовијална мембрана на зглобот, поради воспалувањето, повеќекратно се здебелува, отечува и се формираат нови крвни садови (Banham со сор., 2006; Ishii со сор., 2006; Markeljevic, 2006). Синовијалната површина со 'рскавицата е примарната „зона за напад“ кај нарушувањата како RA (Gardner, 1992; Firestein, 1994). Координацијата на васкуларните и клеточните реакции, зависи од бројот на активни медијатори кои се наоѓаат во плазмата, подвижните воспалителни клетки или погодените зглобни клетки. Важните медијатори вклучуваат

пајаквидни метаболити на киселина, примерок на реактивен кислород, комплементарни компоненти, протеази и цитокини. Овие медијатори предизвикуваат едем на ткивото и ангиогенеза кои може да бидат набљудувани во првите недели од ревматоидното воспаление (Marr со сор., 1995; Stevens со сор., 1991). Лимфоцитите се собираат во периваскуларниот регион, кој содржи 80% од лимфоцитите, од кои најголем број се Т-клетки (Cush со сор., 1992; Panayi со сор., 1992; Firestein, 1994). Т-лимфоцитите се присутни околу 30-50% од воспалителните клетки во синовијалното ткиво, а неутрофилите може да бидат активирани од неколку фактори во средината на синовијалните флуиди, вклучувајќи го и IL-8, стимулативен фактор на гранулоцитната колонија макрофаги. По лизирањето на имуните комплекси, клетките можат да ја ослободат содржината на лизозомските ензими, да генерираат деструктивни радикали на кислород, кои можат да ги оштетат 'рскавицата и потпорните структури на зглобот и да доведат до последици врз морфологијата, физиологијата и нормалната функција и на другите системи (Kitsis и Weissmann, 1991). Затоа, во зафатените зглобови се забележуваат густо инфилтрати од периваскуларни воспалителни клетки во синовиумот, создадени од CD4+ Т-клетки, плазма-клетки и макрофаги, зголемена васкуларност која се должи на ангиогенезата, неутрофили и агрегати од организирачки фибрин на синовијалната површина и во зглобниот простор.

Ревматоидни поткожни нодули се развиваат кај околу една четвртина од пациентите, јавувајќи се долж екстензорската површина на подлактицата или други делови изложени на механички притисок, кои иако ретко може да се создадат и во белите дробови, слезената, срцето, аортата и во другите органи (Williams со сор., 1998; Vinay со сор., 2007). Ревматоидните нодули се цврсти, безболни, овални или заокружени маси со дијаметар до 2 см. Микроскопски се карактеризираат со централен фокус од фибриноидна некроза опкружен со палисада од макрофаги, кои пак се опкружени со гранулациско ткиво (Слика 1.7.).



**Слика 1.7. Ревматоиден нодулус**

**Поткожен нодулус со некротична област (врв), опкружена со палисада од макрофаги и растурени хронични воспалителни клетки. (преземено од Основи на патологијата според Робинс, 8-мо издание, поглавје 5, стр.146, слика 5-24, 2007.)**

Пациентите со тешка ерозивна болест, ревматоидни нодули и висок титар на RF, циркулирачки IgM кои сврзуваат IgG, се под ризик од настанување на васкулитички синдроми. Серозната зафатеност може да се манифестира како фиброзен плевритис или перикардитис или и двете заедно (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Според истите автори ревматоидниот синовиум е богат со цитокини од лимфоцитно и макрофагно потекло. Активноста на овие цитокини е причина за многу од својствата на ревматоидниот синовитис. Некои како TNF, го подобруваат регрутирањето на леукоцити, други активираат макрофаги, а некои како IL-1 предизвикуваат пролиферирање на синовијални клетки и фибробласти. Цитокините, исто така, го стимулираат излучувањето на протеолитички ензими и ензими што ја разградуваат матрицата од страна на синовијалните клетки и хондроцитите. Активираниите Т-клетки во лезиите кај RA се покажало дека ослободуваат големо количество на цитокин, наречен RANK-лиганд, кој предизвикува диференцијација и активирање на остеокласти и најверојатно има клучна улога во коскената ресорпција што се забележува кај зглобните лезии. Се претпоставува дека TNF има главна улога во создавањето

на цитокини. Во целиот овој процес сомнителна е и улогата на антителата според низа на експериментални и клинички набљудувања.

## 1.5. Поделба на ревматските болести

Меѓународно прифатена класификација на научниците, истражувачите и клиничарите за повеќето воспалителни ревматски и автоимуни болести се диференцијално дијагностичките, односно класификациските критериуми на ARA (American Rheumatology Association, 1987, 2002).

Поделбата на RA може да биде различна зависно од критериумот кој притоа се зема, како на пример етиологијата, симптомите и други, но најчесто се поделени на:

- **Воспалителни ревматски болести** (ревматска грозница, RA, псоријатични артритис, анкилозни спондилоартритис, лупус еритематоза, склеродерма и други).

- септичен артритис е предизвикан кога бактериите ќе стигнат до зглобниот простор преку крвта или отворени рани. Тоа е сериозна болест, која се манифестира со инфекција, црвенило, оток и болка во зглобот.

- акутната ревматска треска е посткомпликација од стрептокок А-тонзилитис (ангина) или болки во грлото како системска воспалителна болест на сврзното ткиво со доминантна локализација во кардиоваскуларниот систем (кардитис), зглобовите (миграциски полиартритис), мозокот (хореа) и кожата (eritem annulare, со развој на ревматоидни нодули). Се развива кај осетливи поединци, најчесто млади луѓе на возраст од 7 до 15 години, и е во врска со автоимуна реакција на организмот на антигени на стрептокок (Nasonova, 2001).

- гихтот е болест „грешки на метаболизмот“ микрокристална артропатија, поврзана со речиси постојано зголемување на серумската урична киселина, микрокристалите на уричната киселина во ткивото, бубрезите, и хиперурикемија. Тој всушност е акутна форма на воспалителниот артрит и ги напаѓа малите зглобови на рацете и нозете и тоа најчесто палецот, а околу 90% од заболените се мажи.

- JIA е хетерогена група на болести на детството кој има тенденција за хроничен развој, со прогресија и значително влијание врз квалитетот на животот на пациентот, поради деструктивната природа на артритисот (Chang, 1980; Calabro со сор., 1989; Davidson и Diamond, 2001; Combe со сор., 2006; Vinay со сор., 2007). Се јавува поретко со 80-90 случаи на 100.000 деца. Според Vinay и сор. (2007), JIA го означува хроничниот идиопатски артритис што се јавува кај децата. RF како и ревматоидните нодули обично се отсутни. Можно е да бидат присутни и вонзглобни воспалителни манифестации, како на пример увеитисот. Една од варијациите, позната како Стилова болест, има акутен фебрилен настап и системски манифестации, вклучително и леукоцитоза, хепатоспленомегалија, лимфоденопатија и осип на кожата. Многу автори ја земаат во предвид состојбата на пациентот после одреден временски период, обично од 7 до 10 години (Laaksonen со сор., 1996).

- псоријатичен артритис е хронична системска прогресивна болест поврзана со промени на кожата кои одговараат на псоријаза, која води кон развој на ерозивен артритис и коскена ресорпција.

- системскиот лупус еритематозус е шест пати почест кај жените отколку кај мажите. Тоа е воспаление со влијание на многу органски системи. При тешки форми на болеста страдаат внатрешните органи, како што се срцето и бубрезите.

- системски склеродерма е автоимуна болест на сврзното ткиво. Главните клинички карактеристики се предизвикани од заеднички нарушувања на микроциркулацијата, фиброза на кожата и внатрешните органи.

- системски васкулитис е група на болести, во кои исхемијата и некрозата на ткивото се предизвикани од воспаление на крвните садови (примарно или секундарно). Клиничките манифестации на васкулитис зависат од видот, големината и локацијата на заболените крвни садови, како и активноста на системското воспаление.

- **Дегенеративни ревматски болести** (спондилитис и спондилоартритис хондроза, остеохондроза, остеоартритис).

Во групата на серонегативни спондилоартрити припаѓаат: анкилозен спондилитис, реактивен артритис, псоријатичен артритис, спондилитис со улцеративен колитис и Кронова болест. Се карактеризираат со асиметрични

воспаленија на зглобовите, обично на зглобовите на долните екстремитети, ентезитис на сакроилијачните зглобови.

- анкилозен спондилитис е хронична ревматска болест на зглобовите на грботот, а младите мажи се најлошо погодени.

- **Вонзглобен ревматизам** (фибромиалгија, тендинитис, тендовагинитис, бурзитис и други).

- реактивен артритис е болест која се должи на инфекции, како што салмонела и труење со храна, најчесто кај уринарниот и гастроинтестиналниот тракт. Реактивниот артритис се развива брзо (обично не подоцна од 2 месеци) по акутната цревна или генитоуринарна инфекција.

- фибромиалгија претежно се јавува кај жени во репродуктивниот период на животот.

Во зависност од потеклото и видот на оштетувањата на зглобовите поделбата може да биде и како;

- **Трауматски артритис**, кога има често повторливи трауми и вибрации во зглобот при што настанува оштетување на артикуларната 'рскавица.

- **Дегенеративен артритис**, каде причината за појавувањето може да бидат метаболички нарушувања, хипотермија, физички стрес, недостаток на витамини, несоодветни хигиенски, работни или животни услови во домот и инфективен артритис, кој е поврзан со инфекција и постоење на болест кај луѓето.

## **1.6. Екстраартикуларни манифестации кај ревматоидниот артритис**

Екстраартикуларните манифестации на RA се смета дека се појавуваат кај околу 40% од пациентите, а кај 15% од нив се сериозни. По правило, овие манифестации се појавуваат кај лица со високи титри на автоантитела на Fc-компонентата кај IgG. Со посовремените методи на терапија бројот на лицата со сериозни екстраартикуларни манифестации се намалува, но сепак стапката на смртност кај нив е повисока во споредба со лицата со RA или нормална контрола во зависност од возраста.

Од екстраартикуларните манифестации најчести се:

- ревматоидните нодули, кој може да се развијат кај околу 20 до 30% од лицата со RA. Тие обично се забележуваат на периартикуларните структури, екстензорните површини, или други регии што се изложени на механички притисок, но може да настанат и на кое било друго место, вклучително и плеврата и менингите, но сепак најчести локации се бурзата на олекранонот, проксималната улна, ахиловата тетива и тилот.

- атрофијата на скелетните мускули и нивната слабост се вообичаени. Се јавува неколку недели од почетокот на RA со најголема манифестација околу заболените зглобови.

- ревматоидниот васкулитис се забележува кај лица со тежок RA и високи титри на циркулирачки RF, кој може да го зафати речиси секој циркулирачки систем. Истиот е многу редок кај Афроамериканците. Во најагресивната форма, ревматоидниот васкулитис може да предизвика полиневропатија и mononeuropathy multiplex, кожна улцерација и дермална некроза, гангрена на прстите и висцерален инфаркт (Leirisalo-Repo со сор., 2003; Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Ваквата форма е многу ретка, повообичаени се поограничените форми, посебно кај пациентите од белата раса со високи титри на RF. Може да се развијат поголеми исхемички улцери, особено на долните екстремитети, васкулитично зафаќање на срцето, белите дробови, цревата, црниот дроб, слезината, панкреасот, лимфните јазли и тестисите, а ренален васкулитис е ретка појава.

- плевропулмоналните манифестации почесто се забележуваат кај мажите и истите вклучуваат плеврално заболување, интерстициелна фиброза, плевропулмонални нодули, пневмонитис и артеритис. Пулмоналните нодули можат да бидат единечни или во кластери, развивајќи дифузен нодуларен фиброзен процес познат како Капланов синдром.

- перикардитисот најчесто е асимптоматски, а може да се појави и хроничен констриктивен перикардитис (Leirisalo-Repo со сор., 2003). Во поново време, зголемената инциденца на конгестивна срцева слабост и на смртни случаи од кардиоваскуларно заболување се поврзуваат со RA.

- невролошките манифестации може да произлезат од атлантаксијална сублуксација или од сублуксација на средишниот цервикален дел на 'рбетот.

Иако RA генерално има тенденција да го поштеди CNS, васкулитисот може да предизвика невропатии кај n. medianus, n. ulnaris, n. radialis или n. tibialis anterior.

- очите при ревматоидниот процес се зафатени кај 1% од пациентите и болеста е обично дојготрајна и има присуство на нодули. Двете главни манифестации се еписклеритис, кој обично е благ и транзиторен, и склеритис, кој ги зафаќа подлабоките слоеви на окото и е потешка воспалителна состојба. Хистолошки, лезијата наликува на ревматоидна нодула и може да предизвика истенчување и перфорација на очното јаболко (scleromalacia perforans), а кај 15 до 20% од пациентите со RA се јавува Сјогренов синдром придружен со сув кератокоњуктивитис.

- остеопорозата е честа секундарна појава кај RA, а може да се влоши доколку пациентот прима гликокортикоидна терапија. Гликокортикоидите може да предизвикаат значително губење на коскената маса, особено во почетокот на терапијата, дури и при примање на ниски дози. Остеопенија при RA ги зафаќа јукстаартикуларните коски и долгите коски, што се оддалечени од заболените зглобови, со умерено зголемен ризик од фрактури.

- Фелтиев синдром се карактеризира со хроничен RA, спленомегалија, неутропенија и повремено со анемија и тромбоцитопенија, а најчесто се јавува кај лица со долготрајно заболување. Овие пациенти често имаат високи титри на RF, поткожни нодули и други манифестации на системско ревматоидно заболување. Истиот ретко се развива кај Афроамериканците, почесто кај белците, а присутни се циркулирачки имуни комплекси со забележана потрошувачка на комплементот. Леукопенијата е селективна неутропенија со број на PMNL од 1500 клетки/ $\mu$ L крв, а понекогаш и под 1000 клетки/ $\mu$ L крв. Испитувањата на коскената срцевина открива умерена хиперцелуларност со недостиг на зрели неутрофили. Сепак, коскената срцевина може да биде нормална, хиперактивна или хипоактивна, може да се забележи застој во созревањето на клетките и процесот на целосната диференцијација на клетките може да биде нарушен. Хиперспленизмот е посочен за еден од можните причинители на леукопенија, иако не секогаш се јавува спленомегалија. Прекумерното ограничување на гранулоцитите предизвикано од антителата на овие клетки, активацијата на комплементот и поврзувањето на имуните комплекси, може да придонесат за гранулоцитопенија. Пациентите со Фелтиев



синдром обично се поподложни на инфекции поврзани со неутропенија. Причината за зголемената подложност на инфекции се доведува во врска дефектната функција на PMNL, како и со намалениот број на клетки.

RA се поврзува и со зголемена инциденца на лимфоми, особено В-клеточен лимфом, посебно кај пациенти со перзистентно воспалително заболување.

## **1.7. Дијагноза на ревматоидниот артритис**

Сите литературни податоци сугерираат дека автоимунитетот е срцевината на проблемот кај мнозина на пациенти со RA. Автоимуните абнормалности и реакцијата на пациентите на третман со имуномодулациска терапија, ја зацврстува идејата дека RA е автоимуно нарушување. Бидејќи три четвртини од ревматичната популација има автоимуни проблеми, се мисли дека најголем број на ревматоидни пациенти би можеле директно да имаат полза од автоимуното истражување денес. Богатството на сознанија добиено од големиот број на лабораториски и клинички испитувања, но и многубројните неразјаснети прашања, уште повеќе го побудува и онака големиот интерес за одговор на голем број отворени прашања во оваа истражувачка област. Во таа насока се движи и дијагностиката на RA.

### **1.7.1. Клинички манифестации на ревматоидниот артритис и негово дијагностицирање**

Карактеристично, RA е хроничен полиартритис. Кај околу две третини од пациентите, болеста започнува притаено со замор, анорексија, општа слабост и неодредени мускулно-скелетни симптоми, се додека синовитисот не стане манифестен, што може да трае и неколку недели или месеци и го отежнува дијагностицирањето. Кај околу 10% од пациентите почетокот на болеста е поакутен со брз развој на полиартритис, придружен со конституционални симптоми, вклучително и треска, лимфаденопатија и спленомегалија. Кај приближно една третина од пациентите почетните симптоми се јавуваат кај еден или кај два зглоба, со типична симетрија, иако, кај одредени пациенти

зафаќањето на зглобовите е асиметрично (Anthony со сор., 2008). Во почетокот знаците и симптомите за заболување на зглобовите се болка, оток и осетливост локализирана на зглобовите, додека болката во засегнатиот зглоб, што се влошува со движење е најчеста манифестација на RA. Таа, според Anthony и сор. (2008), е во корелација со зафатеноста на зглобот но не секогаш соодветствува со степенот на воспалението.

Диференцијално дијагностичката постапка за RA се базира на проценката на клиничката симптоматологија, морфологијата и функцијата на зглобовите, органите и ткивата, како и анализа на имунолошкиот статус. Овие критериуми покажуваат сензитивност од 91% до 94% и специфичност од 89% при класификација на пациентите со RA споредени со контролни субјекти со ревматоидни заболувања различни од RA. Иако овие критериуми биле воведени како помагала за класификација на болеста за истражувачки цели, тие може да се корисни насоки за утврдување на дијагнозата. Сепак, според Arnett и сор. (1988), неисполнувањето на овие критериуми, особено во раниот стадиум на болеста не ја исклучуваат дијагнозата. Во основа, овие критериуми не ги разграничуваат пациентите со скорашен почеток на RA од оние со варијации на други форми на почетен воспалителен артритис. Заедничка карактеристика за сите реуматски болести е негнојна воспалителна реакција на сврзувачкото ткиво со основни клинички знаци како, воспаление, црвенило, оток, локална топлина, болка и ограничена моторна подвижност (Christen, 2005). Болеста доведува до воспалителен процес и до автоимуна реакција во организмот што резултира со изместување на нормалните вредности на биохемиските и хематолошките параметри во крвта (Gueilherme со сор., 2001; Davidson и Diamond, 2001). Според истите автори, клинички тоа различно се манифестира, зависно дали се работи за акутна или хронична фаза на болеста. Во 1987, 2002 и 2010 година, Американскиот колеџ за ревматологија развил ревидирани критериуми за класификација на RA (ARA корегирани критериуми 2002; 2010; Балабанова и Олјунин, 2005). (Табела 1.1).

**Табела 1.1. Ревидирани критериуми за класификација на ревматоидниот артритис од 1987 година**

1. Насоки за класификација
а. Потребни се 4 од 7 критериуми за пациентот да се класифицира заболен од ревматоиден артритис (RA)
б. Пациенти со две или повеќе клинички дијагнози не се исклучуваат.
2. Критериуми
а. Утринска вкочанетост: вкочанетост во и околу зглобовите со времетраење од 1 час пред максимално подобрување.
б. Артритис на три или повеќе зглобни регии: најмалку три зглобни регии, со отекување на мекото ткиво или ефузија на зглобовите, а не само коскен израсток. Може да бидат зафатени 14 зглобни региии: лев и десен проксимален интерфалангеален, метакарпофалангеален, рачни зглобови, лактите, колената, глуждовите и метатарзофалангеалните зглобови.
в. Артритис на зглобовите на дланката: артритис на рачниот зглоб, метакарпофалангеалниот или проксималниот интерфалангеален зглоб.
г. Симетричен артритис: симултано зафаќање на исти зглобни регии на двете страни од телото.
д. Ревматоидни нодули: поткожни нодули над коскените испакнатини, екстензорните површини или јукстаартикуларните региони.
ѓ. Серумски ревматоиден фактор: присуство на абнормална количина на серумски ревматоиден фактор со кој било метод за кој резултатите се позитивни најмалку кај 5% од нормалните контролни субјекти.
е. Радиографски промени: типични промени на ревматоиден артритис на радиограми на постероантериорните аспекти на дланката и на рачниот зглоб што мора да вклучуваат ерозии или нееднаква декалцификација на коските локализирани во или непосредно до засегнатите зглобови

**Критериумите од а. до г. треба да бидат присутни најмалку 6 недели.  
(преземено од: The American Rheumatism Association 1987 Revised Criteria for the Classification of Rheumatoid Arthritis Rheum.)**

Карактеристичен знак на болеста е вкочанетост што се јавува после продолжен одмор и појавата на крепитација во зглобовите при движење. Генерализирана вкочанетост е честа, а најинтензивна е по периоди на неактивност (Davidson и Diamond, 2001; Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Многу важна карактеристика на заболувањето е утринска вкочанетост која е подолга од еден час, а повеќето од пациентите чувствуваат слабост, лесно заморување, анорексија и губење на телесната тежина, со лесно покачена телесна температура до 38°C, иако во одредени случаи може да достигне и до 40°C.

Дијагнозата на RA полесно се поставува кај лицата со типично утврдени симптоми. Состојба што укажува на дијагноза на RA е билатерален симетричен воспалителен полиартритис на малите и на големите зглобови на горните и на долните екстремитети, со поштедување на аксијалниот скелет, освен цервикалниот дел од 'рбетот. Утринската вкочанетост, присуството на поткожните нодули, присуството на RF, анти-CCP антителата, воспалителна синовијална течност со зголемен број на PMNL и радиографските наоди на деминерализација и ерозии на зафатените зглобови со голема сигурност ја поддржуваат дијагнозата. Дефинитивната дијагноза на RA зависи пред се од клиничките карактеристики и од исклучувањето на другите воспалителни процеси.

Од големо дијагностичко значење е и радиолошката слика за заболениите зглобови, која е карактеристична при перзистентно воспаление. Ова во основа може да биде и последица на повеќе патолошки настани во зглобот како, оштетување или ослабување на лигаментите, тетивите и на зглобната капсула, разградување на 'рскавицата, мускулна нестабилност и неспротивставена физичка сила при движење на заболениот зглоб (Anthony со сор., 2008). Карактеристична е промената на дланките со радијална девијација на рачниот зглоб со улнарна девијација на прстите, често со палмарна сублуксација на проксималните фаланги, т.н. „Z“-деформитет, потоа хиперекстензија на проксималните интерфалангеални зглобови со компензаторна флексија на дисталните интерфалангеални зглобови, т.н. деформитет во форма на лебедов врат, потоа контрактура при флексија кај проксималните интерфалангеални зглобови и екстензија на дисталните интерфалангеални зглобови т.н.

„boutonniere“ деформитет (Слика 1.8.), и хиперекстензија на првиот интерфалангиален зглоб и флексија на првиот метакарпофалангеален зглоб со последователно губење на подвижноста и на способноста за притискање на палецот (Vinay со сор., 2007).

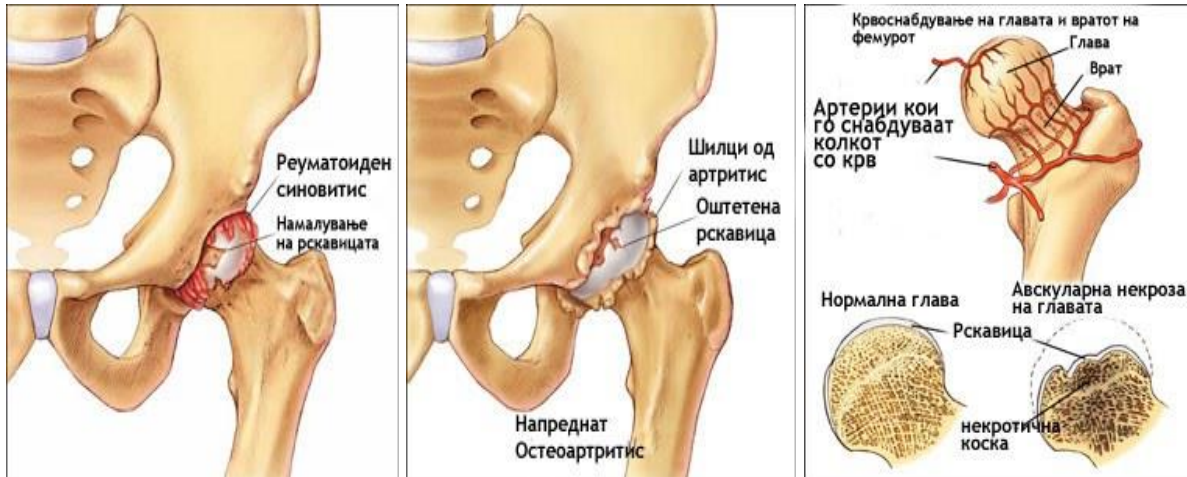


**Слика 1.8. Карактеристична симетрична деформација на прстите на дланките**

(преземено од интернет [www.thepittsburghchannel.com](http://www.thepittsburghchannel.com); [www.themoneytimes.com](http://www.themoneytimes.com) - јули 2012 г.)

Освен на рацете, типични промени на зглобовите може да се развијат и на стапалата, вклучувајќи и еверзија на долниот дел од стапалото, плантарна сублуксација на метатарзалните врвови, проширување на предниот дел од стапалото, латерална девијација и дорзална сублуксација на прстите на нозете (Kim со сор., 2005; Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Во почетокот на болеста нема радиографски промени, но после извесно време од траењето на болеста, се детектира и остеопороза на соседните коски во зглобот за да на крајот има деструкција на зглобот (Graudal со сор., 1998). Јукстаартикуларната остеопенија може да се забележи после неколку недели од почетокот на болеста. Според овие автори, деструкцијата е дифузна со ерозија на зглобната површина, намалување на зглобниот простор, периартикуларна остеопороза и оток на зглобот. Отокот на зглобот е последица на пролиферација на синовијалното ткиво. Болката при пасивно придвижување на зглобот е еден од можните знаци за постоење на воспаление во зглобот. Поголема деструкцијата на зглобовите настанува за една до две години од почетокот на болеста, а за

време на траење на болеста, бројот на заболените зглобови се зголемува (Слика 1.9.).



Слика 1.9. Ревматоидни промени во зглобот на карлицата

(преземено од интернет [www.thepittsburghchannel.com](http://www.thepittsburghchannel.com); [www.themoneytimes.com](http://www.themoneytimes.com) - јули 2012 г.)

Лабораториски, не постојат специфични тестови за дијагностицирање на RA. Од хематолошките се користат SE и KKS, а од биохемиските анализи на крвта кои се користат за дијагностицирањето на болеста се; RF, CRP, СК, LDH и биохемиска анализа на урина. Од имунолошките анализи се користат ANA, HLA B27, RF, ANF, од радиографските RTG, CT, MR, а за дијагностички потреби се прави и интраартикуларна пункција.

За дијагностицирањето на ревматоидниот артритис важна е стапката на седиментационата рата, која дава покачено ниво и посочува на воспалителен процес во организмот. Иако таа не е специфична за RA, кај речиси сите пациенти со активен RA истата е покачена. Исто така, покачени се и нивоата на други реактанти во акутната фаза, како церулоплазмин и CRP, и ваквите покачувања обично се во корелација со активноста на болеста и веројатноста за прогресивно оштетување на зглобовите.

Со анализирање на синовијалната течност се потврдува присуството на воспалителен артритис, иако повторно, ниеден од овие наоди не е специфичен. Синовијалната течност обично е матна, со намалена вискозност, зголемено

присуство на протеини, и благо намалување на нормалната концентрација на гликозата. Бројот на леукоцитите се движи од 5 до 50.000/ $\mu\text{l}$ , со доминација на PMNL. Бројот на леукоцитите во синовијалната течност, што е поголем од 2000/ $\mu\text{l}$  со 75% на PMNL се смета за високо карактеристичен за воспалителен артритис, иако не е дијагностички за RA. Вкупниот хемолитички комплемент, C3 и C4 се значително намалени во синовијалната течност, во однос на концентрацијата на протеините, што е резултат на активацијата на класичната патека на комплементот преку локално создадените имунокомплекси.

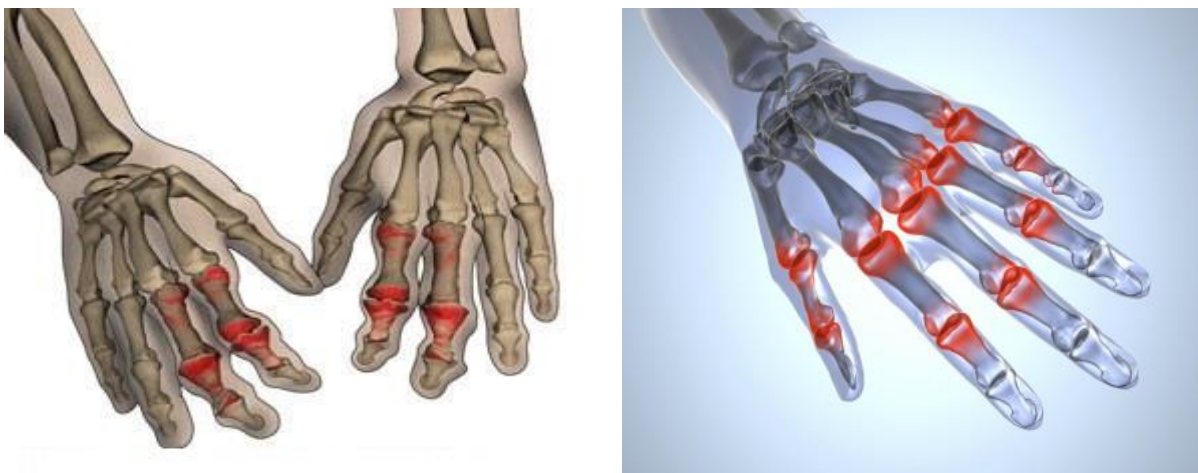
RF, кои претставуваат реактивни автоантитела со Fc-делот од IgG, најдени се кај повеќе од две третини од возрасните заболени лица. Тестовите во голема мера детектираат и IgM-RF. Присуството на RF не е специфичен за RA, бидејќи ваквиот фактор е најден и кај 5% од здравите лица, и со зголемување на возраста застапеноста на RF се зголемува и 10 до 20% кај лицата над 65 годишна возраст (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Освен тоа и голем број на други болести се поврзуваат со присуството на RF, како и фактот дека предиктивната вредност на RF е слаба, бидејќи се смета дека кај помалку од една третина од лицата со позитивни тестови на за RF имаат позитивна дијагноза за RA (Schumacher, 1994; Davidson и Diamond, 2001; Markeljevic, 2005). Ревматоидниот фактор (RF) може да биде докажан во 70–80% од случаите, и претставува автоантитела (главно од тип IgM), насочени против Fc-фрагменти на IgG.

Важни дијагностички методи кои се применуваат се и рентген снимањата на зафатените зглобови и одредување на CRP, потоа HLA B27 кој е молекул кој спаѓа во групата на клеточни маркери и неговото присуство се одредува со посебни анализи на крвта. Кај здрава популација, наодот е од 5% до 8% додека кај артрозната се среќава дури до 80% од случаевите (Bell со сор., 1998). Со извршување на лабораториските анализи се детектира зголемување на CRP, зголемување на соодносот помеѓу алфа2 и гамаглобулин, зголемување на серумското железо и зголемување на бакарот, анемија и евентуално лесна тромбофилија и леукоцитоза.

За евалуација на пациентите со RA корисни може да бидат и антителата на CCP (анти-CCP). Иако овие антитела обично се присутни кај пациенти со позитивен тест за RF, може да бидат присутни и во отсуство на RF, а се значајни

кај лицата со почетен RA за потврдување на дијагнозата. Присуството на анти-CCP, како и RF не можат да го сугерираат понатамошниот развој на RA, од причина што може да се најде кај речиси 1,5% од здравите лица, од кои повеќето нема да развијат RA, иако, сепак, е корисен тест за потврдување на дијагнозата и за процена на прогнозата на RA. Циркулирачки имуно комплекси се наоѓаат во околу 50% од случаите. Воспалителните ревматски болести ги карактеризира изразена разновидност на имунолошки и клинички параметри, кои често се преклопуваат со симптомите на инфекција и додатно го проблематизираат дијагностицирањето.

Главни симптоми на RA се црвенило и зголемување на температурата во погодените зглобови, цврстина и болка, оток и ограничена подвижност. Во потешки случаи, може да се појави треска, општа слабост, и леукоцитоза. При хронични ревматски срцеви заболувања болеста се карактеризира со лезии на срцеви залистоци и срцева болест (инсуфициенција или стеноза), која се формира после акутна ревматска треска. При дијагнозата на RA во клиничката пракса најважен е губитокот, односно абењето на малите зглобови на рацете и тоа на три или повеќе кога воспалението трае најмалку три месеци или повеќе, а во патолошкиот процес се вклучени симетрични зглобови на двете раце или нозе (Слика 1.10.).



Слика 1.10. Симетрична зафатеност при воспаление на зглобовите

(преземено од интернет [www.thepittsburghchannel.com](http://www.thepittsburghchannel.com); [www.themoneytimes.com](http://www.themoneytimes.com) - јули 2012 г.)



Навремена дијагноза и третман е многу важно во спречувањето на прогресијата на оваа болест. Меѓутоа, според Schumacher (1994), критериумите овозможуваат групирање на болестите со различен спектар на клинички и имунолошки обележја и постои опасност од маскирање и преклопување на симптомите важни за поедините болести. Класификацијата на воспалителните ревматски болести на органско-специфични, органско-неспецифични и болести на преклопување (Roitt, 1984), проширена со сознанијатата за имунопатолошките карактеристики на автоимуните болести, допринела за примена на нова терминологија која зборува за „мозаикот на автоимуноста“ (Shoenfeld, 1989), што значи дека константно здравиот имунолошки систем го дефинира збир на лимфоцити, автореактивни спрема селектирани доминантни автоантигени кои се под контрола на регулациските лимфоцити (Cohen, 1993).

Клиничката слика кај болните од RA се менува од пациент до пациент и нема правило за развој на болеста. Најчесто почетокот на болеста кај 55%-70% од пациентите е незабележлив, а знаците на болеста се развиваат и јавуваат после неколку недели или месеци. RA може кај 8-15 % од болните да отпочне инвазивно со зафаќање на повеќе зглобови истовремено и за доста кратко време. 'Рскавичните и зглобните промени се дијагностицираат со артродеографија, со дијагностицирање на присуството на формиран панус, со рентгенските испитувања за оштетувањето на зглобната 'рскавица и намалување на зглобната пукнатина. Коскена сцинтиграфија со  $^{99m}\text{Tc}$ , која е најчувствителна метода за рано откривање на постоењето на синовит и промени на 'рскавицата и зглобовите. При биопсија и синовиектомија има типична хистолошка слика (Bach, 2005).

Антинуклеарните антитела (ANA) се присутни во 30 до 40% од случаите, и се необични антитела откриени во крвта, кои исто така се производ на пореметен имунолошки одговор и имаат способност да се врзуваат со одредени структури во јадрото на клетките, кое содржи DNA, основниот генетски материјал. ANA се пронајдени кај пациенти чии имунолошки систем е склон да предизвика воспаление на сопствените телесни ткива. ANA покажува голема веројатност од можно присуство на автоимуно заболување и при негативен резултат најчесто се негативни и останатите автоантитела. Испитувањата на ANA се изведува истовремено со други испитувања за да може да се потврди дијагнозата за

автоимуно заболување и диференцијално да се дијагностицираат некои од заболувањата како RA, системскиот лупус еритематозус, полимиозит, склеродермија, синдром на Sjogren. Со текот на времето, инфламаторните болести, како што се RA, полимиозитис, реактивниот артритис, еволуираат една во друга, или се појавуваат истовремено кај еден пациент со синдром на преклопување, мешање на сликите на болестите, на серопозитивните и серонегативните артритиси, со што уште повеќе се комплицира состојбата на дијагностицирање и третман на болеста (Schumacher, 1994; Davidson и Diamond, 2001; Markelevic, 2005).

Клиничките тестови за рано откривање на RA се дефицитни, па затоа сите научни напори се во правец на откривање или дефинирање на нови клинички и параклинички параметри или методи за рана дијагноза на RA. Таква улога имаат новите серолошки фактори, како anti-CCP, антителата против цитрулинираните циклични пептиди (Prots со сор., 2006), новите генетски фактори, како генскиот полиморфизам на IL4R (Prots со сор., 2006), TNF $\alpha$ -308 (Khanna со сор., 2006), новите епидемиолошки фактори (Silman со сор., 1996).

ACR критериумите од 1987 за RA го покриваат само тој дел на пациенти кои веќе имаат етаблирана болест и кои се со веќе присутни радиографски промени, кои според новите сознанија се „доцни“ манифестаци на RA. Затоа се започнала иницијативата за изработување на нови класификациски критериуми за RA, која се постигна во 2010 година. Во истата година Американскиот колеџ за ревматологија во соработка со Европската лига против ревматизам ги дефинираа новите критериуми за дијагноза на RA. Како златен стандард за рана детекција на синовитис се користи нуклеарна магнетна резонанца, но самата метода е скапа или тешко достапна, додека можностите на рентгенографијата за откривање на синовитис се сведени до детекцијата на индиректните знаци за инфламација, на пример едем на меките ткива, додека рентгенографските видливи ерозии се касна манифестација на болеста. Со други методи на визуелизација на коските и зглобовите, вклучително и скен на коските со  $^{99m}\text{Tc}$  бисфосфонат и MRI, може да се откријат почетните воспалителни промени што не се очигледни со стандардната радиографија. Идеалната средина овде ја завзема ултразвукот, како достапна, ефтина и прифатливо доста прецизна метода, со значајна улога во дијагнозата, следењето на третманот и прогнозата

на RA. Првиот случај за употреба на ултразвукот во ревматолошката пракса е објавен во 1972 година од страна на Daniel MacDonald и George Leopold, каде се помошта на ултразвук е диференцирана Baker-ова циста од тромбофлебитот. Првата публикација за употребата на PDUS е во 1994 година, докажала зголемена васкуларизација на болните ревматоидни зглобови. Тоа е воведниот труд на модерната употреба на ултразвук во ревматологијата (Newman со сор., 1994). Ултразвукот како прецизна и сензитивна метода е користена во откривањето на синовитис на различни зглобови како: рамо (Bruyn со сор., 2010), рачни и мали зглобови на шаките (Szkudlarek со сор., 2006), колена (Karim со сор., 2004), и стапала (Wakefield со сор., 2008). Многу студии ја докажале супериорноста на ултразвукот во детекцијата на синовитисот во споредба со рентгенските испитувања и клиничкиот наод (Szkudlarek со сор., 2006; Wakefield со сор., 2008; Naredo со сор., 2005; Vlad со сор., 2011). Ултразвукот е докажано посупериорна метода во однос на рентгенските испитувања во откривањето на ерозиите и тоа во рани фази на болеста и испитување на промените во повеќе рамнини. Така на пример, во една од студиите во раните фази на болеста (помалку од 12 месеци) ултразвукот открил 6,5 пати повеќе ерозии во споредба со радиографија, додека во касните фази на болеста (повеќе од 12 месеци) ултразвукот открил 4 пати повеќе ерозии, каде како златен стандард е користена MRI (Szkudlarek со сор., 2006; Backhaus со сор., 2002; Scheel со сор., 2006; Wakefield со сор., 2000). Ултразвукот ефективно открива вистински коскени ерозии кога како референца се користи и компјутерската томографија (Dohn со сор., 2006). Ултразвукот е блиска до MRI во детекција на ерозии (Bruyn со сор., 2010; Wakefield со сор., 2000). Во една студија каде се користени фантоми со коскени ерозии, ултразвукот детектирал ерозии до 1,5мм во ширина и до 1мм длабочина (Brown со сор., 2006; Naredo со сор., 2007; Koski со сор., 2010; Saleem со сор., 2011). Особен интерес преставуваат податоците за неусогласеност на синовитисот со прогнозата за развивање на ерозии. Таков пример е студијата на Backhaus и сор. (2002) каде е направено двегодишно следење на пациенти под терапија со неболошки лекови, каде иако промените на синовијата покажале пободрување, ерозивните промени се зголемиле. Во една студија каде е употребена комбинирана терапија на неболошки со биолошки лекови, која важи како поефективна терапија во превенцијата на зглобните оштетувања, исто така

се нотирали развивања на ерозии како кај пацинети со монотерапија (Saleem со сор., 2009; Нама со сор., 2012). Оваа укажува дека можеби во процесот на развивање на ерозиите освен синовитисот постојат и други дополнителни фактори, кои остануваат во иднина да се разјаснат. Ултразвукот како метода своја значајна улога има не само во дијагностички туку и во терапевтски цели. Особена улога има во локалната апликација на лекови, најчесто кортикостероиди, во различни делови на мускулоскелетниот систем. Иако нема разлика во клиничкиот исход помеѓу ултразвучно-насочените и топографско ориентираните локални апликации, првите имаат поголема прецизност со поголемо подобрување на зглобната функција (Cunnington со сор., 2010).

### **1.7.2. Компликации кои настануваат како резултат на ревматоидниот артритис**

Компликациите зависат од стадиумот и инвазивноста на болеста, како и возраста и здравствената состојба на организмот. Се јавува васкулит кој е општ поим за означување на цела група на ретки заболувања, кои се карактеризират со воспаление на крвните садови (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Воспалението предизвикува оштетување на сидот на засегнатите крвни садови и истото може да биде акутно и хронично. Тежината на воспалителниот процес може да варира, а во потешките случаи повредата на сидот на крвните садови го нарушува снабдувањето на органите со крв, односно кислород и хранливи материи, што пак може да предизвика сериозни оштетувања и последици кога се зафатени крвоносните садови на витални органи како мозокот, белите дробови и бубрезите. Кон васкулитите се вбројуваат и заболувањата како болеста на Кавазаци, полиартритисот, грануломатозата на Вегенер, пурпурата на Хенох-Шенлајн (Gaffney со сор., 2002; Crow и Kirou, 2004; Goekoop-Ruiterman со сор., 2005). Сеуште е нејасна причината за настанувањето на повеќето форми на васкулит, но се претпоставува дека главно е поврзан со проблемот на функционирањето на имунолошкиот систем.

Формите на васкулит може да бидат:

- нодозен полиартерит. Кај оваа форма на васкулит се засегнати поголем број на крвни садови од помала и средна големина во различни делови од

телото, најчесто кожата, бубрезите и нервното ткиво. Заболувањето е прогресивно и трипати почесто кај машката популација отколку кај женската.

- хиперсензитивен васкулит, кој ги зафаќа најмалите крвни садови, артериоли, венули и капилари, најчесто на кожата и со пропратни алергиски реакции.

- грануломатозата на Вегенер, васкулит кој зафаќа мали и средни по големина крвни садови во бубрезите и дишните патишта, се јавува исто и кај двата пола и во различна возраст.

- болест на Кавасаки. Овој васкулит ги зафаќа лимфните јазли, кожата, слузокожата и срцето со коронарните артерии. Се јавува најчесто кај деца.

RA е системско заболување, бидејќи болеста ги зафаќа и другите органи и системи на телото. Кај 20% од пациентите се развиваат најчести вонзглобни систематски промени локализирани на:

- кожата, со кожни и поткожни промени и појава на ревматоидни јазли.

- тетивите и бурзите околу заболените зглобови со воспалителни промени кои доведуваат до луксација и руптура на тетивите.

- зафатеност на мускулите проследена со слабост на мускулатурата и нодуларни полимиозитис, мускулноскелетните промени и атрофија на мускулите.

- ендоартеритис со воспаление на сидовите на крвните садови.

- промени во нервниот систем со деформацијата на зглобовите и промените во околните ткива често доведува до прикleshтување на нервите, како синдромот на карпалниот канал.

- срцеви промени, кои се чести при RA кога се насобира течност во перикардот со воспаление на перикардот и срцевиот мускул.

- белодробни промени со создавање на фиброзно ткиво во белите дробови, односно, замена на нормалното ткиво со нефункционално сврзно ткиво, или појава на плеврит, инфилтрација и појава на нодулиси.

- анемија, која се јавува како резултат на неспособноста на коскената срцевина да произведува доволно еритроцити. При RA честа е појавата на анемија (дури кај 50% од заболените), иако истата сама по себе не е специфична за ова заболување.

- остеопорозата, компликација која е како резултат на промените во заболените зглобови, но исто така се развива и на другите коски во телото.

- промени во гастроинтестиналниот тракт, кои се проблематични доколку се развие васкулит на stomачните крвоносни садови, што е поретко и доведува до зафаќање на секој дел од трактот.

- промени на бубрезите, каде дирекното зафаќање на бубрезите не е карактеристично за RA, но може да се појави како резултат на подолготрајно лечење.

- сјогренов синдром се јавува при RA, каде очите често можат да бидат суви и воспалени и се развива иридоциклитис.

Од компликациите кои се карактеристични за RA е болка и вкочанетост на зглобовите, со истовремено зголемен ризик од остеопенија и остеопороза, посебно кај луѓето кои примаат кортикостероиди за лечење. Во минатото, луѓето со RA завршувале во инвалидски колички поради големото оштетување на зглобовите, но со денешните можности за лечење, со соодветен третман и најтешките форми на RA можат да се стават под контрола.

### **1.7.3. Клинички тек и прогноза на болеста**

Текот на болеста е доста променлив, со проблематична прогноза. Според литературните податоци, повеќето од пациентите имаат подолга активност на болеста, но со променлив интензитет, придружен со променлив степен на абнормалности и на функционално нарушување на зглобовите (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). После 10 до 12 години од почетокот на болеста, само кај помалку од 20% од пациентите нема доказ за онеспособеност или за абнормалности на зглобовите, а околу 50% имаат отежната работна способност, додека, пак, перзистентниот синовитис над 12 недели се поврзува со зголемена веројатност од ерозија на коските. Одредени показатели се во корелација со поголемата веројатност од развојот на абнормалности во зглобовите или за онеспособување на истите. Тоа се; повеќе од 20% воспалени зглобови, присуство на ревматоидни нодули, високи титри на RF, перзистентно воспаление, радиографски доказ за ерозија на коските, присуство на коморбидни состојби, присуство на HLA-DR $\beta$ 1 или DR $\beta$ . Пациентите кои ги

немаат овие показатели имаат поиндолентно заболување со побавна прогресија на абнормалностите на зглобовите (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Овде е значајно дека начинот на активацијата на болеста неможе да го предвиди развојот на онеспособувањето на зглобовите. Околу 15% од пациентите со RA имаат краток воспалителен процес и кај нив отсутствуют споменатите карактеристики, што се поврзуваат со поагресивно заболување. Клиничкиот тек кај RA може да доведе до конституциски симптоми како слабост, мачнина и треска од понизок степен. Многу од системските манифестации се резултат од истите медијатори што предизвикуваат воспаление на зглобовите, на пример, IL-1 и TNF. Васкуларната зафатеност на екстремитетите може да доведе до Рејновдов феномен и хронични улцерации на ногата. Клиничкиот тек на RA силно варира. Кај мал број на пациенти може да дојде до стабилизирање, па дури и повлекување на болеста, но кај повеќето од пациентите се регистрира хроничен тек со ремисии и рецидиви. Историјата на болеста укажува на напредно уништување на зглобот кое доведува до инвалидитет по 10 до 15 години (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Женските лица од белата раса имаат поперзистентен синовитис и попрогресивно ерозивно заболување отколку машките лица.

Прогнозата кај лицата со повисоки титри на RF, анти-CCP антитела, CRP и хаптоглобин е понеповолна, како и за лицата со поткожни нодули или радиографски доказ за ерозии во времето на почетната евалуација. Лош исход на болеста навестува и активност на истата повеќе од една година, а постојано покачени реактанти во акутната фаза се во силна корелација со радиографската прогресија, иако, генерално радиографското оштетување прогресира со константна стапка кај сите пациенти со RA. Просечно животниот век на лицата со RA се скратува за три до седум години, стапката на смртност се зголемува за 2,5 пати, а самиот RA има придонес кај 15-30%. Зголемената стапка на смртност е покарактеристична за лицата со тешко заболување на зглобовите, и во голем процент се препишува на инфекција и гастроинтестинално крварење, како и зголемен ризик од кардиоваскуларно заболување. Факторите кои се во корелација со порана смрт вклучуваат онеспособеност на зглобовите, времетраењето и сериозноста на болеста, перзистентноста на воспалението,

употребата на гликокортикоиди, возраста на почетокот на болеста, но и нискиот социоекономски и образовен статус на пациентите.

## **1.8. Превенција и лечење на ревматоидниот артритис**

Општите препораки за превенција на оваа болест се заштитата од инфекции и здравиот начин на живот. Само со рано детектирање на оваа болест и правилен третман може да се заштитат зглобовите од целосно уништување.

Терапијата на RA е главно емпирска, од причина да етиологијата на болеста е непозната, патологијата не е целосно претставена, а механизмите на дејството на некои од лековите што се употребуваат се нејасни и несигурни. Терапевтските интервенции не се куративни, па сите треба да се гледаат како палијативни, насочени кон ублажување на симптомите и знаците на заболувањето (Harris, 1990; Hansen со сор., 2003; Wasko, 2004). Третманот на RA, за жал, е многу комплексен и долготраен процес, со интердисциплинарен пристап. Тој мора да биде насочен кон намалување или ублажување на симптомите на болеста, возобновување на метаболизмот во погодената област и колку што е можно подобро да се зачува функцијата на оштетените зглобови (Saag со сор., 1994; Weinblatt со сор., 1999; Koski, 2000).

Методите за лекување артритис се фармаколошки, нефармаколошки или природни, и хируршки, а третманот на RA е со две главни цели;

- првата е редуцирање на воспалението и спречување на оштетувањето на зглобот,

- втората е сузбивање на симптомите на болеста, особено на болката.

Токму од овие причини основната цел на медицинта е при лечењето на RA да се запре воспалителниот процес во зглобовите и да се намали болката, да се спречи деформација на зглобовите и инвалидноста, односно да се овозможи што поквалитетен живот на пациентот. За супресија на воспалението на зглобовите и болката се користат лекови, а за деформацијата и оштетувањето на зглобовите корисни се методите на медицинска рехабилитација како што се правилни вежби, физикална терапија, помагала, ортози и протези (Slobodan, 2003). Основно правило е да се започне со



терапијата во првите три месеци од почетокот на првите симптоми на болеста, па затоа брзата и точна дијагноза претставува клуч на решението. Доколку болеста не се лечи сигурно и неодложно напредува.

Основните принципи на современото лекување на RA се:

- ран, активен и агресивен третман
- брза промена на терапијата која не е доволно ефикасна
- постигнување на ремисија на болеста, и одржување на постигнатата ремисија, што подолго со континуирана терапија

Медикаментозниот третман на RA вклучува пет општи пристапи.

1. Првиот е употреба на нестероидни антиинфламаторни лекови, nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) и аналгетици за контрола на симптомите и знаците на локалниот воспалителен процес. Тие се со брзо и ефективно дејство за намалување на знаците и симптомите на болеста, но имаат минимален ефект во однос на прогресијата на болеста. Нестероидни противвоспалителни лекови (NSAR) е најчесто препишувана група на лекови во светот и истите дејствуват на инхибирање на циклооксигеназата и на тој начин и врз синтезата на простагландините. При поголеми болки секогаш се препорачуваат нестероидни антиинфламаторни лекови. Се нарекуваат симптоматски лекови, бидејќи делуваат на симптомите на болеста, но неможат целосно да го запрат процесот на воспаление. Најчесто користени лекови од оваа група се: Ibuprofen (brufen), Diklofenak (Voltaren), Indometacin (Indometacin), Ketoprofen (Ketonal), Piroxicam (Lubor-Erazon), Tenoxicam (Artocam), Naproxen (Naprosyn).
2. Терапија од втор ред вклучува употреба на ниски дози на орални гликокортикоиди. Гликокортикоидите се лекови од групата на стероидни хормони со силно антивоспалително и имunosупресивно дејство. Ниска доза Prednison е корисна дополнителна терапија за контролирање на симптомите. Употребата на ниска доза на

гликокортикоиди го зголемува противвоспалителниот ефект на некои лекови како метотрексатот, како и протективниот ефект на овие агенсии во однос на оштетувањето на коските.

3. Лековите од трет ред се агенсии со капацитет да го модифицираат текот на болеста, disease-modifying antirheumatoid drugs (DMARDs), а најчесто користен лек за RA е methotrexat, кој се дава во мали дози еднаш неделно и има позитивен ефект кај повеќето пациенти. Лековите од оваа група имаат капацитет да ги намалат покачените нивоа на реактантите од акутната фаза кај третираниите пациенти, и одовде се смета дека ја модифицираат воспалителната компонента на RA, а со тоа и неговата деструктивна природа. Други лекови од оваа група се Salazopyrin, Leflunomide, Thiomalate, Aurothioglucose и Auranofin. Третманот со овие лекови кај две третини од пациентите е со клиничко и серолошко подобrena слика за активноста на болеста, а често се намалуваат и титрите на RF, CRP, SE, како и забавен развој на коскените ерозии. Во поглед на негативните ефекти, секој од DMARD се поврзува со токсичност, посебно врз гастроинтестиналниот тракт, пневмонитис, орална улцерација и абнормалности во функцијата на црниот дроб, со можност за фиброза која е доста подмолна.
4. Лековите од четврт ред се од групата на биолошки агенсии, биолошки DMARDs, односно TNF-неутрализирачки агенсии, кои го врзуваат и неутрализираат TNF. Еден од нив е рецепторот за TNF тип 2 што се врзува со IgG1 (Etanercept), втор е химераично глушец/човек моноклонално антитело на TNF (Infliximab), а трет е целосно човечко антитело на TNF (Adalimumab). Се користат антитела на TNF-alfa рецептори, Infliximab (Remicade), Etanercept (Enbrel), D2-E7 (Humira), потоа инхибитори на рецепторите на IL-1, Anakinra (Kineret), блокатори на T-клетките Abatacept (Orencia), блокатори на B-клетките Rituximab. Овие лекови значително влијаат врз симптомите и знаците на RA и го забавуваат прогресивното оштетување на зглобните структури.

Несаканите ефекти вклучуваат потенцијалено зголемен ризик од тешки инфекции, и поретко демиелинизирачко заболување на CNS.

5. Петтата група агенси се имunosупресивните и цитотоксичните лекови, како Leflunomid, Ciclosporin, Azatioprin и други, кои кај некои пациенти го забавуваат процесот на болеста. Тие се покажале ефективни во третманот на RA и се со слични терапевтски ефекти како DMARD, но не и поефикасни. Истите предизвикуваат несакани токсични ефекти, со можен зголемен ризик од малигни неоплазми, поради што се резервирани за пациенти кои не реагирале на терапијата со DMARD или со биолошките лекови. Leflunomid-от има доминантно дејство во инхибицијата на пролиферацијата на Т-лимфоцитите, а главен несакан ефект е поврзаноста со зголемувањето на активноста на ензимите од црниот дроб.

Гликокортикоидите се најмоќните лекови кои вршат супресија на воспалителните процеси во организмот. Стероидите, како што се преднизон и, или АСТН вообичено се употребуваат како прв лек при третманот на пациенти со автоимуни болести (Oberbeck, 2006). Најчесто од аналгетиците како лекови за намалување на болката се користат Paracetamol (Lekadol), слаби опоици како Tramadol, јаки опоици како Transtec (Buprenofin). Од лековите се користи и ацетисалсалицилна киселина, индометхацин, диклофенак, ибупрофен. Интересен е податокот од Институтот за клеточен метаболизам во Тенерифе и Универзитетот во Гренада, каде се наведува дека додавајќи глицин во храната на испитаниците, се открило дека со неговата употреба од еден до два месеци организмот се штити од артроза и други дегенеративни болести на зглобовите. Глицинот е неопходен за синтеза на белковините и неговиот недостаток доведува до авитаминоза и заболување на зглобовите. Глутатионот е трипептид што содржи три аминокиселини и е природен имуномодулатор, антиоксидант и детоксификатор. Заради овие три биолошки функции, глутатионот е најпотенцијален заштитник на телото од инфекции, автоимуни проблеми и други абнормалности, вклучувајќи го и оксидативниот стрес. RA е важен причинител

на реактивната амилоидоза, која се развива кај 5% до 10% од овие пациенти, особено оние со долготрајно тешко заболување (Vinay со сор., 2007).

Се смета дека оштетувањето предизвикано од RA е неповратно, што значи дека на сите болни им е потребно итно и ефикасно лекување со цел да се спречи или барем супресира напредувањето на болеста. Иако не постои лек за RA со соодветен третман и стратегија за заштита на зглобовите, како и промена на животниот стил, болеста може да се стави под контрола и заболените да имаат долг и продуктивен живот. Во основа, целта на современото лекување е спречување и контролирање на оштетувањето на зглобовите, спречување на губитокот на функцијата на зглобовите, намалување на болката и унапредување на квалитетот на живот на болните (Goldbach-Mansky и Lipsky, 2001). Освен лековите при терапијата важни се и методите на физикална терапија и рехабилитација, хируршко лечење, како и користење на помагала. Во најтешките случаи се применуваат ортопедски операции, како корективни операции на коските, транспозиција на тетивите или тотална замена со зглобни протези, кога постои тешко оштетување на зглобот, но и хируршки интервенции на меките ткива во случај на трајни контрактурни деформитети. Хируршкото лекување на пациентите со RA е индицирано кај пациенти со тешко оштетени зглобови.

## 2. Цели на трудот

Големиот број на истражувања и добиените резултати од експерименталните и клиничките студии за ефектот на RA врз организмот, сугерираат дека настануваат промени, меѓу другото и во биохемиските параметри на серумските примероци кај истиот.

Главната поставена цел на дисертацијата беше индуцирање на RA, со колаген тип-II, кај белите лабораториски стаорци од сојот Wistar и испитување на разликите во параметрите помеѓу двете групи животни, контролната (нетретирана) и третираната група. Истражувањата да се направат посебно за машки и женски животни во периодот од 30-иот и 60-иот ден после индукцијата.

Целите на истражувањето се поставени во следните неколку точки:

- Да се оцени ефикасноста на администрираната доза на колаген тип-II при индукцијата на RA.
- Да се одредат промените во крвната и диференцијалната крвна слика.
- Да се одредат вредностите на RF и да се воспостави корелација со влијанието на колаген тип-II индуцираниот артритис.
- Квалитативно одредување на Ц-реактивниот протеин (CRP) кај третираните со колаген тип-II во споредба со контролната група на животни.
- Да се одредат компонентите на комплементот C3, C4, кај двете групи на експериментални животни.
- Одредување на серумската концентрација на имуноглобулините; IgG, IgA и IgM при индукција на RA со колаген тип-II во споредба со контролната нетретирана група.
- Споредување и корелација на антистрептолизинскиот титар (OAST), во серумот на третираната група на експериментални животни во споредба со контролната група.
- Да се одреди нивото на антинуклеарните антитела (ANA) во серумот кај двете групи на животни и да се види дали постои корелација помеѓу ANA и индуцирањето на RA.

- Да се одредат концентрациите, односно активноста на аспартатаминотрансферазата (AST), како и на аланинаминотрансферазата (ALT) во серумот кај здрава популација, во однос на популација кај која е индуциран RA.

## 3. Материјал и методи на работа

### 3.1. Експериментални животни

Како експериментален модел беа користени бели лабораториски стаорци од сојот Wistar. Избиравме здрави животни, од двата пола, на возраст од околу седум недели, кои се чуваа под стандардизирани услови за експериментални животни. Тие беа одгледувани во фармата за лабораториски животни, на Заводот за физиологија и биохемија на Институтот за биологија при Природно-математичкиот факултет во Скопје. Беа сместени во кафези (Hulskamp Alkamaar Holand) под постојана контрола, хранети со стандардна храна за лабораториски животни. Храна и вода беше давано по желба (*ad libitum*), а престојуваа на собна температура од 20 °C ( $\pm 2$  °C), со светлосен режим 12:12 часа.

Животните беа поделени во четири групи и тоа на; контролни машки, контролни женски, третирани машки и третирани женски животни.

- Контролната група (n=20) на машки животни. Истата не беше третирана, туку само се испитуваа дадените серумски параметри за компарација со истите кај животните кои беа третирани со колаген тип II, односно артрозната група.

- Контролната група (n=20) на женски животни, која исто така не беше третирана, само се испитуваа дадените серумски параметри за споредување со истите кај животните кои беа третирани со колаген тип II, односно артрозната група.

- Експерименталната група (n=60) на машки животни кои се третираа со колаген тип-II. Извршени беа анализите на 30-иот и 60 ден-иот од третманот.

- Експерименталната група (n=60) на женски животни, кои се третираа со колаген тип-II. Извршените анализи на параметрите, исто така, беа на 30-иот и на 60-иот ден од животот.

Припреманиот колаген по строго дефиниран протокол го аплицираме со мали, тенки-инсулински игли и шприцови во коленовиот зглоб на задната десна нога. Од стаорците се земаше крв на 30-иот и на 60-иот ден од пост-имунизацијата со колаген тип-II.

Секое животно, кое ќе покажеше знаци на стрес, како неактивност, тимарење, коњуктивитис, губење на тежината, беше отстранувано од експериментот.

## **3.2. Методи на работа**

За изработката на експерименталниот дел беа користени следните методи:

### **3.2.1. Подготовка на колагенот за апликација**

За експериментот се употребуваше високо прочистен колаген тип-II, подготвен по дефиниран протокол, според Michaelsson (1994), бидејќи квалитетот на колагенот има влијание врз артритогенетичноста.

Подготовката се вршеше по строго дефиниран протокол. Се земаше 2 до 4 mg/ml и се ставаше во 0.05M солна киселина, со благо промешување во текот на ноќта, на температура од +4°C. Колагенот го употребувавме наредниот ден по подготовката на растворот за аплицирање. Растворите на колагенот можат да се чуваат и до една седмица на температура од +4 °C, но потоа треба да се чуваат на температура од -20 °C. Лиофилизираниот колаген е многу стабилен, ако правилно се чува на температура од -20 °C и на темно место.

Компанијата Chondrex, Inc. нуди комплетна линија за имунизација со колаген од типот-II. Квалитетот на емулзијата за имунизација е основен за предизвикување на високо фреквентен артритис. Емулзиите можат да се подготвуваат применувајќи различни методи. Крајниот резултат на овие методи на подготовка е стабилни емулзии кои можат ефектно да предизвикаат артритис. Подготовката на емулзијата од колагенот се вршеше со употреба на електричен хомогенизатор.

- 1) Се користеше хомогенизатор со мало сечило (дијаметар 5 mm или помалку) за мешање на IFA и растворот на колаген. Погодно беше да се користи 5 ml или 10 ml пластичен шприц кој се сече на половина. Се ставаше шприцот во држачот и се потопуваше во студена вода. Последниот чекор беше многу важен за да се спречи денатурализацијата на колагенот, бидејќи тој се загрева додека се меша. Денатуризираниот колаген нема да предизвика артрит.



- 2) Се додаваше една доза (максимум 2.5 ml) од IFA во шприцот со вентил во 3 насоки. Потоа, се додаваше еднакво количество на раствор од колагенот (2 mg/ml во 0.05M солна киселина) со капнување додека се мешаше на мала брзина.
- 3) Се продолжуваше со мешањето додека не се добиеше густа емулзија на максимална брзина (просечно 30000 вртежи за 2-3 минути). Потоа, се чекаше да се олади (во ладна вода) пред да почне да се меша повторно. Мешањето по потреба се повторуваше уште два пати.
- 4) Стабилноста на емулзијата се тестираше со додавање на една капка во епрувета со вода. Ако емулзијата беше стабилна, капката остануваше цврста и не се губеше т.е. не се растворуваше. Ако емулзијата се растечеше по површината на водата, тогаш таа не беше стабилна. Во тој случај се додаваше уште неколку капки од IFA, повторно се промешуваше и се правеше повторен тест.
- 5) Емулзијата се префрлуваше во шприц.

### **3.2.2. Постапка за аплицирање на колагенот**

Подготвениот колаген го аплициравме со мали, тенки, инсулински игли и шприцови во коленовиот зглоб на задната десна нога. Боцкавме малку поткожно и потоа внимателно со иглата навлегувавме во зглобот и го аплициравме колагенот. Количината што се инјектираше (точно 0,1 ml) беше од емулзијата на колагенот, и 0,02 ml физиолошки раствор, при што посебно внимававме при боцкањето да не истече течноста која се инјектираше. Постапката се извршуваше во што е можно пократко време, а после боцкањето стаорчињата ги враќавме во кафезите и им се даваше нормално храна и вода- ad libitum.

Според литературните податоци ова е најдобрата апликација, иако, инјектирање на 0.2 ml од емулзија постепено може да се изврши и во опашката, на 2-3 cm од телото. Интракожното инјектирање во грбот, според литературата,

е исто така доста ефикасно. Во тој случај иглата се поставува закосено под агол од 45° и паралелно со опашката. (Michaelsson, 1994).

### **3.2.3. Земање на крв за анализа од експерименталните животни и добивање на серум**

Крвта за добивање на серум за анализа на параметрите, се земаше од експерименталните животни, нетретирани и третирани со колаген. Земањето на крв го вршевме внимателно, од опашката во количина од околу 1 ml во специјални-erendorf епрувети. На 60-иот ден (крајот од експериментот) животните беа жртвувани. После земањето на крвта, ретракцијата на коагулумот и издвојувањето на серумот, означените епруветите се центрифугираа, а потоа серумот го одделувавме со декантирање во посебни епрувети, без крвен коагулум. Соодветно означените епрувети со одвоениот серум уште еднаш беа центрифугирани, и потоа се вршеа анализите на серумите. Доколку не бевме во можност веднаш да се изработат анализите се чуваа замрзнати на -20 °C, не повеќе од една недела.

### **3.2.4. Одредувани параметри**

Во примероците за анализа од контролните и експерименталните животни се одредуваше нивото, односно вредностите на следните испитувани параметри: крвна слика со диференцијална крвна слика, ревматоидниот фактор (RF), Ц-реактивениот протеин (CRP), компонентите на комплементот C3, C4, имуноглобулините IgA, IgG, IgM, антистрептолизинскиот тест (OAST), антинуклеарните антитела (ANA), аспартатаминотрансферазата (AST) и аланинаминотрансферазата (ALT). Испитувањата на крвната слика и на диференцијалната крвна слика се вршеше на хематолошки бројач, наведен подолу. Биохемиските анализи се вршеа по строго проверени, контролирани и стандардизирани постапки соодветни за секоја анализа, и тоа ензимски, преципитирачки и кинетички реакции. Анализите се вршеа во Скопје во лабораториите на Природно-математичкиот факултет, Медицинскиот факултет, Воената болница, Биохемиската лабораторија на Авицена и во Клиничката

болница - Штип. Примероците од серумите се испитуваа со помош на компјутеризирани, автоматизирани, термостатирани биохемиски анализатори со оригинални реагенси, со спектрофотометарски и нефелометриски методи специфично за секоја посебна анализа. Сите анализи се изведуваа на 30-иот и 60-иот ден од постимунизацијата.

### **3.3. Методи за одредување на испитуваните параметри**

Испитуваните параметри беа изведувани со следните методи:

#### **3.3.1. Анализа на крвната слика и на диференцијалната крвна слика**

Одредувањето на крвната слика и на диференцијалната крвна слика се вршеше на стандарден хематолошки анализатор (целулоскоп) на Cobas Micros Hematology Roche во лабораторијата при Воената болница во Скопје, со проверка во Клиничката болница - Штип.

#### **3.3.2. Одредување на ревматоиден фактор (RF)**

Одредувањето се вршеше со имунотурбидиметриски есеј. RF аглутинараат со латекс партикули обвиткани со IgG и се формира преципитат. Истиот се одредува турбидиметриски на 583 nm. Анализите се вршеа на апаратот Mini NEF TM Duinding Fait во Скопје и Заводот за здравствена заштита во Штип.

Принципот на одредување се состои во тоа да ревма фактор-латексот е базиран на имунолошка реакција помеѓу ревма факторот и соодветните антитела со кои се обложени латекс партикулите, меѓу кои доаѓа до реакција. 85 % од пациентите со ревматоиден артритис имаат позитивен ревма фактор (RF). Позитивен е и кај полиартритис, хепатитис, системски лупус еритематодус и други болести.

### **3.3.3. Одредување на Ц-реактивен протеин (CRP)**

Анализата е имунотурбидиметриски есеј со користење на латекс партикули како подобрувачи на реакцијата. CRP аглутинара со латекс партикули обвиткани со моноклонални анти-CRP антитела при што се формира преципитат. Истиот се одредува турбидиметриски на 552 nm. Анализите се вршеа на апаратот Mini NEF TM Duinding Fait во Скопје и Штип.

CRP е гликопротеин составен од пет идентични полипептидни мономери. Во серумот на здрави особи го има од 5 до 10 mg/L. Коцентрацијата му е зголемена при воспаленија, ран колоректален карцином, ревматоиден артритис, инфаркт на миокардот, неонатална септикемија и други болести. Тој е добар тест за разликување на бактериска инфекција, каде е зголемен, од вирусна, каде не е зголемен.

Се одредува со методи на радијална имунодифузија (RID) и ензимимунолошки (EIA). Радијалната имунодифузија (RID) е метода која се базира на пасивна дифузија а се изведува во агар гел. Ензимимунолошката (EIA) е компетитивна метода во која антигенот е обележан со ензим. После имунолошката реакција во која обележаниот и необележаниот антиген конкурираат за врзување со антитела, се мери каталитичката активност на ензимот маркер.

Принцип на методата:

Методата на аглутинација се базира на принципот да CRP реагенсот содржи латекс партикули обложени со антихуман CRP антитела. Кога реагенсот се измеша со серум во кој има CRP партикули доаѓа до аглутинација, што всушност е позитивна реакција.

### **3.3.4. Одредување на C3 и C4 компонентите на комплементот**

Определувањето на компонентите на комплементот се врши во свежо издвоен серум со помош на радијална имунодифузија. Определувањето на сите компоненти на комплементот е на идентичен начин, само што за секоја компонента на комплементот треба да се користи специфично противтелo. Против C3 противтелo, може комерцијално да се набави, но може и да се

пригответи по определена постапка, бидејќи не е комплицирано, а обезбедува добра прецизност за дијагностицирање. Отчитувањето на концентрацијата на испитуваната компонента на комплемент се врши во серум на готови плочи. Се мери дијаметарот на исталожениот прстен околу секое бунарче со ленир, со лупа или со RID-метар. Се поставува дијаметарот на прстенот наспроти  $\log_{10}$  од концентрацијата на антигенот, за да се добие стандардна права. Непознатиот примерок се отчитува на оваа права. Добиената вредност се множи со два, за да се корегира разредувањето на примерокот. Во комерцијално направените имунодифузиjsки плочи дадени се табели за отчитување на комплементот C3, на Клиниката за хематологија во Скопје. Проверка на резултатите од анализите за овие параметри беа изработени на апаратот MININEPH, од производителот The Binding Site од Велика Британија, со ласерски насочена имунонефелометриска метода во Авицена лабораторија во Скопје.

### **3.3.5. Изолирање и двоене на имуноглобулини IgA, IgG и IgM**

Имуноглобулините се составени од општа структурна единица која се состои од две тешки и две лесни вериги. Тешката верига содржи константно подрачје кое ги определува класите и поткласитена имуноглобулините, додека лесната верига (било капа или ламбда) се општи за сите класи. Варијабилното подрачје на тешката и лесната верига ја определува врзувачката специфичност. Имуноглобулините се робустни белковини и имаат добра стабилност.

Изолирањето на имуноглобулините се вршеше со хроматографија во колона, за што е потребен соодветен материјал и опрема, како и соодветна пропишана постапка на апаратот Dimension RL Max на Siemens во Скопје и Штип. Имуноглобулинската (протеинска) содржина на крај на постапката се пресметува од апсорбанцијата на 280 nm и вкупниот волумен на елуатот. Проверка на аликвотите се вршеше на апаратот Immulite 1000 Diagnostic и DADE BEHRING DIMENSION RxL Max од производителот Simens со имунопреципитациона турбидиметриска метода во Авицена лабораторија во Скопје.

### **3.3.6. Одредување на антистрептолизински тест (OAST)**

Антистрептолизинскиот тест се користи за дијагностицирање на RA и евентуално некои стрептококни инфекции. Принципот на методата се заснова на тоа да патогените бета-хемолитички стрептококи од групата А, продуцираат стрептолизин О, кои го стимулираат организмот да создава антистрептолизин. Титар поголем од 1/200 е позитивна реакција. Анализите се изведуваат на апаратот Mini NEF TM Duinding Fait во Штип.

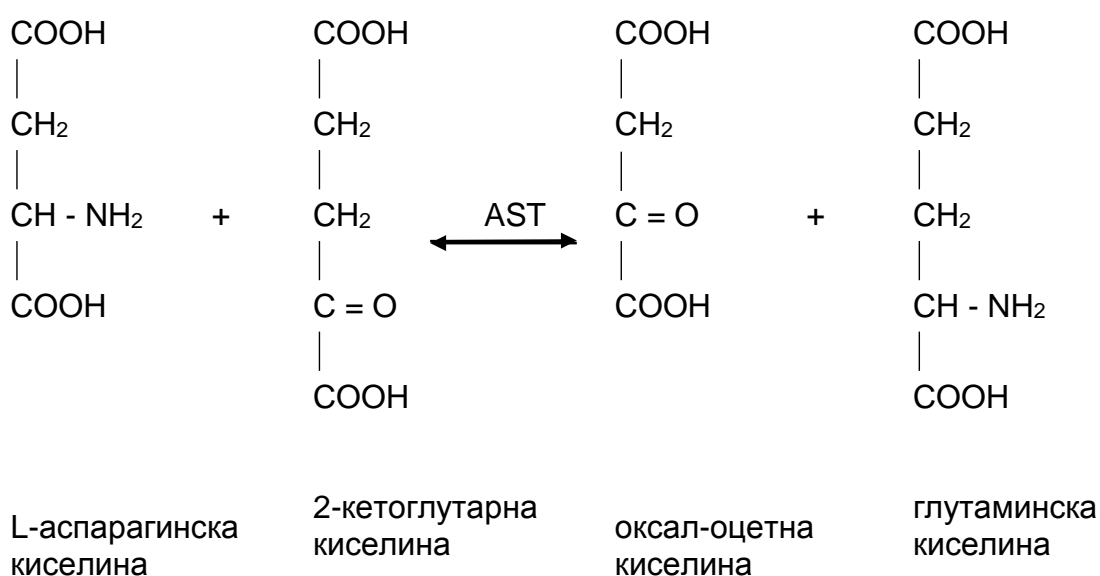
### **3.3.7. Одредување на антинуклеарни антитела (ANA)**

Антинуклеарните антитела се антитела кои се насочени против структурните компоненти на клеточното јадро. Техниката за одредување на ANA е индиректна имунофлуоресценција која е screening метода. Во првата фаза доаѓа до специфично врзување на автоантителата (необележани антитела) од испитуваниот серум со антигените на супстратот (примарно антитело), доколку ги има во супстратот. Во втората фаза се додаваат обележани антихумани антитела, кои ќе се врзат за необележаните автоантитела, додадени во првата фаза (секундарно антитело). Кога овие антитела ќе се осветлат со флуоросцентно светло на 450 nm бранова должина доаѓа до емисија на електрони, што на темно поле се гледа како жолто-зеленкаста флуоресценција. При испитувањата секогаш се припремаат позитивна и негативна контрола (со позитивен и негативен контролен серум). Анализите се вршеат на Клиниката за хематологија во Скопје. Да спомнеме дека можат да се користат и други техники, како ELISA, RIA, ID и други.

### **3.3.8. Метода за одредување на аспартатаминотрансфераза (AST)**

Методата за одредување на аспартат аминотрансфераза, која е применета во автоматскиот биохемиски анализатор COBAS Integra, претставува адаптација на ензимската метода, при што AST ја катализира трансминацијата помеѓу аспарагинската и 2-оксоглутарната киселина. Притоа, од аспартатот настанува оксалоцетна киселина, која со  $\text{NADH}_2$  и ензимот малатдехидрогеназа

(MDH) преоѓа во јаболкова киселина, а еквивалентна количина  $\text{NADH}_2$  се оксидира во  $\text{NAD}$ . Намалувањето на апсорбанцијата соодветствува на преоѓањето на редуцираниот во оксидиран облик на коензимот и претставува мерка за активноста на ензимот (Слика 3.1.). Анализите се вршеа на Клиниката за неврологија во Скопје.

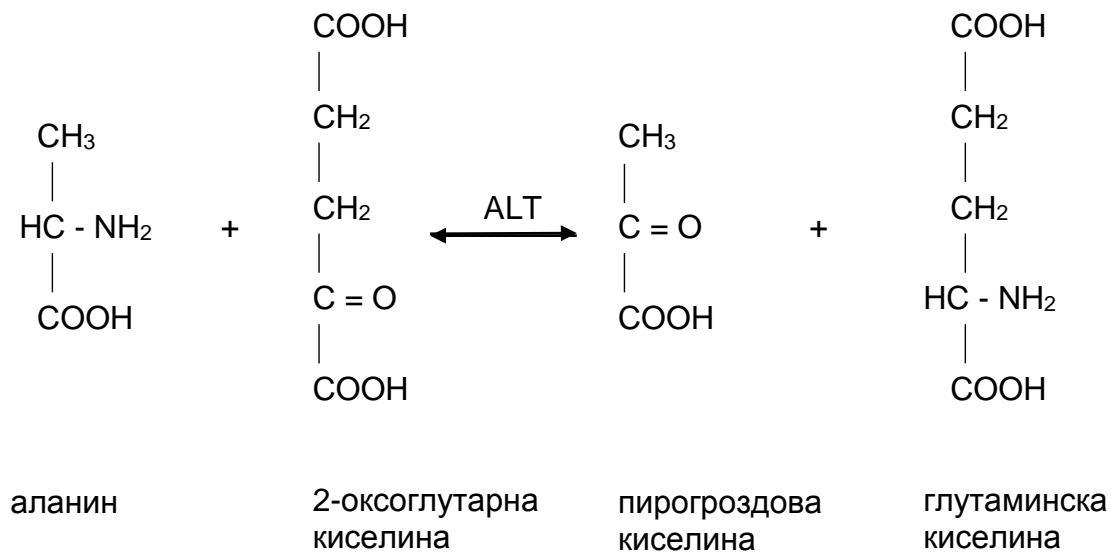


Слика 3.1. Принцип на методата за одредување на AST

### 3.3.9. Метода за одредување на аланинаминотрансфераза (ALT)

Методата за одредување на аланин аминотрансфераза се базира на тоа ALT да ја катализира трансминацијата помеѓу L-аланин и 2-оксоглутарат. Притоа од аланинот настанува пируват, кој со  $\text{NADH}_2$  и со дејството на ензимот лактатдеhidрогеназа (LDH) преминува во лактат (индикаторска реакција), а еквивалентна количина на  $\text{NADH}_2$  се оксидира во  $\text{NAD}$ . Намалувањето на апсорбанцијата соодветствува на преоѓањето на редуцираниот во оксидиран облик на коензимот и претставува мерка за активноста на ензимот (Слика 3.2.). Важна работа при испитувањето на AST и ALT е да не се користи хемолизиран серум бидејќи активноста на AST е петнаесет пати, а на ALT седум пати

поголема во еритроцитите отколку во нормален серум. Серумот ако мора да се чува подолго од 3-4 дена, најдобро е да се чува замрзнат. Анализите се вршеа на Клиниката за неврологија во Скопје.



Слика 3.2. Принцип на методата за одредување на ALT

### 3.4. Статистичка обработка на резултатите

Статистичката анализа на испитуваните примероци се вршеше компјутерски и беа применети следните статистички методи:

- Descriptive Statistics (Комплетна дескриптивна статистика со утврдување на просечните вредности, стандардната девијација, коефициентот на варијација, максималната и минималната вредност, отклонувањето и куртозите на сите параметри кај различни видови популации).
- Student-овиот t-тест со Bonferoni корекција беше применет за детерминација на разликите помеѓу групните парови. Како статистички сигнификантна се смета разликата помеѓу две аритметички средини, ако



е  $p < 0.050$  Резултатите се претставени како средни вредности  $\pm$  стандардна грешка. Испитуваните параметри беа определени со примена на Spss statistics, One-way analysis of variance (ANOVA), Tukey post-hoc тест за утврдување на сигнификантноста на разликите помеѓу различни параметри кај различни групи на испитаници.

- Box plot, Column chart за изработка на графичките прикази.

## 4. Резултати

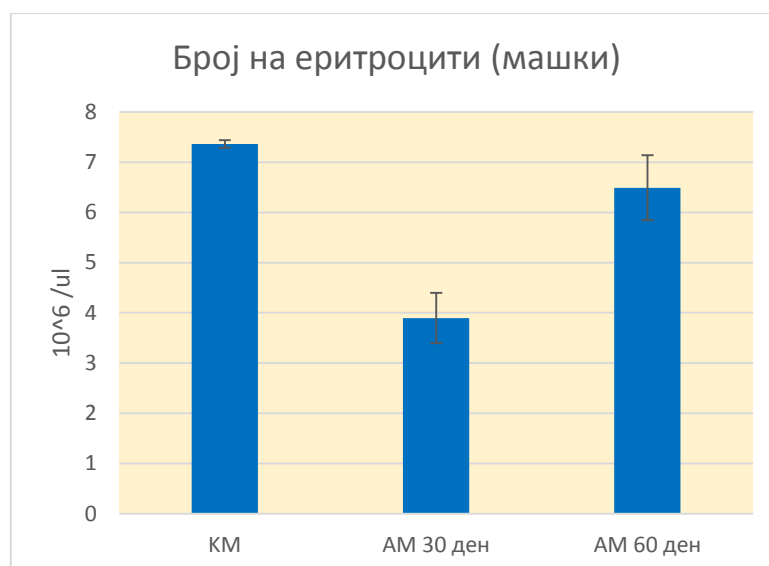
Во докторскиот труд беа испитувани, анализирани и споредувани дадените серумски параметри кај артрозните групи на животни, машки и женски, на триесетиот и шеесетиот ден од третманот со колаген тип II, соодветно на истите кај контролите.

### 4.1. Анализа на крвната слика и на диференцијалната крвна слика

Со нашите испитувања, меѓудругото, сакавме да видиме дали индуцираниот RA тип II, кај белиот лабораториски стаорец има ефект, и каков, врз крвната и диференцијалната крвна слика.

#### 4.1.1. Број на еритроцити

Од приложените резултати на сликата бр. 1, кои го покажуваат бројот на еритроцитите кај животните од машки пол, се гледа дека индуцираниот ревматоиден артритис дава статистички значајна разлика кај артрозните стаорци на 30-иот ден од третманот, во однос на животните од контролната група (KM:AM30ден,  $p < 0.024$ ). Имено, констатиравме значајно намалување на бројот на еритроцитите кај третираните стаорци, во однос на контролната група. Статистички значајна разлика се јавува и помеѓу бројот на еритроцитите кај артрозните машки животни на 30-иот ден, во однос на истите на 60-иот ден од третманот (AM30ден:AM60ден,  $p < 0.050$ ). Притоа, на графикот од сликата е јасно видлива разликата во бројот на еритроцитите, на 30-иот ден каде е помал, во однос на 60-иот ден од животот, каде има зголемување на нивниот број. Но, сепак, вкупниот број на еритроцити кај машката група на 60-иот ден од животот, после индукција на ревматоидниот артритис, е помал од бројот на еритроцитите кај контролната група, иако оваа разлика не влегува во доменот на статистички значајна вредност (AM60ден:KM,  $p = 0.131$ ).



Слика 1. Број на еритроцити кај машки

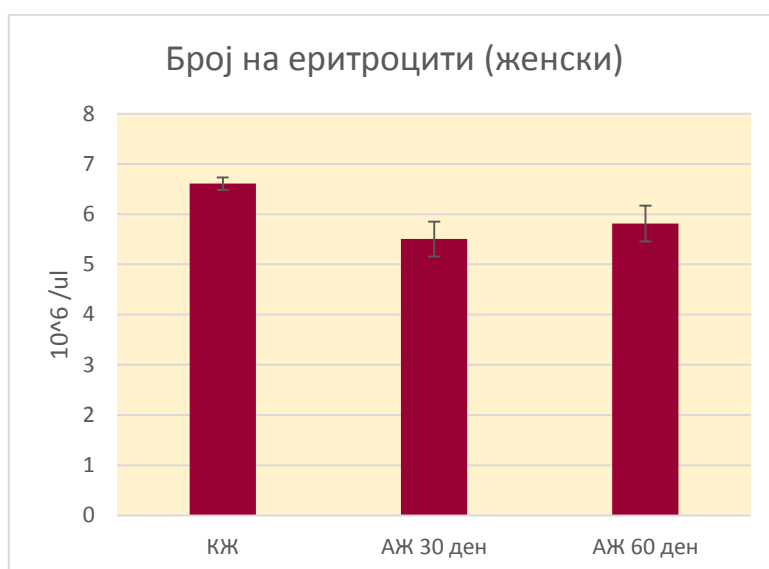
Легенда: КМ–контролни машки; АМ 30 ден–артрозни машки на 30 ден; АМ 60 ден–артрозни машки на 60 ден. (Легендата е иста за следните графици).

Табела 1. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на еритроцитите кај машки

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	-47,08338992	,024
КМ : АМ 60 ден	-11,82262665	,050
АМ 30 ден : АМ 60 ден	66,63458454	,013

При статистичката обработка на резултатите кај животните од женски пол се забележува дека бројот на еритроцитите на 30-иот ден од третманот се разликува во споредба со оние од машки пол. Иако и овде има разлика во бројот на еритроцитите помеѓу контролната група и артрозната група на 30 ден, каде исто така, се констатира намалување на бројот на еритроцитите, сепак таа не е статистички значајна вредност, како што е забележана кај животните од машки пол (слика бр. 2, КЖ:АЖ30ден,  $p=0.536$ ). Кога за споредба се земаат добиените резултати за бројот на еритроцитите кај групата на женски стаорци на 30-иот ден од индуцирањето на артритисот, со истите на 60-иот ден, се забележува дека

разликата не влегува во кругот на статистички значајни вредности (АЖ30ден:АЖ60ден,  $p=0.937$ ). Ако се споредат резултатите помеѓу артрозните женски стаорци на 60-иот ден од имунизацијата, во однос на контролната група, исто така не се забележува статистички значајна разлика (АЖ60ден:КЖ,  $p=0.696$ ). Резултатите за бројот на еритроцитите кои се добиени кај животните од женски пол се прикажани на сликата бр. 2.



**Слика 2. Број на еритроцити кај женски**

**Легенда:** КЖ–контролни женски; АЖ 30 ден–артрозни женски на 30 ден; АЖ 60 ден–артрозни женски на 60 ден. (Легендата е иста за следните графици).

**Табела 2. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на еритроцитите кај женски**

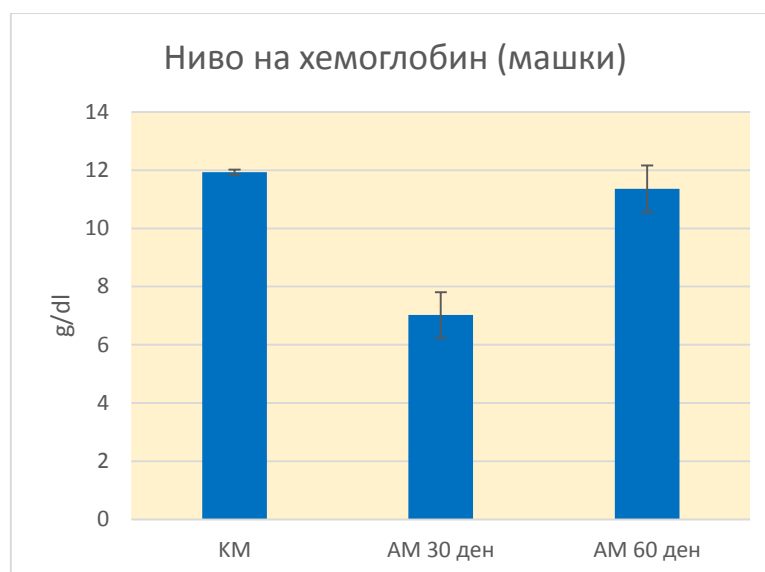
Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	-16,69770907	,536
КЖ : АЖ 60 ден	-12,02285999	,696
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	5,611909381	,937

Вредностите за бројот на еритроцитите, споредени кај машките и женските животни за соодветните групи и временски периоди од експериментот, покажуваат иста динамика на промени во намалувањето и зголемувањето на вредностите (слики бр. 1 и 2).

При споредување на резултатите кои се добиени кај машките во однос на женските животни, се гледа дека и кај самите контролни животни, во зависност од полот, има разлика во бројот на еритроцитите, при што тој број е поголем кај машките, во однос на женските, но таа разлика не е статистички значајна (КМ:АЖ,  $p=0.536$ ). На 30-иот ден од животот кај артрозните животни од машки пол се забележува сигнификантно помал број на еритроцити, во однос на истата група кај женските (АМ30ден:АЖ30ден,  $p<0.05$ ). Нема сигнификантна разлика во бројот на еритроцитите кај машките и женските артрозни стаорци на 60-иот ден (АМ60ден:АЖ60ден,  $p=0.759$ ).

#### **4.1.2. Ниво на хемоглобин**

Индукцијата на ревматоидниот артритис кај експерименталните стаорци генерално покажува супримирачки ефект врз содржината на хемоглобинот кај артрозната во однос на контролната група (слики бр. 3 и 4). Од графичкиот приказ на сликата бр. 3, се гледа супримирачкото дејство на предизвиканиот ревматоиден артритис кој влијае врз содржината на хемоглобинот кај артрозната машка група на стаорци. Констатираните намалени вредности и разликата на артрозната група од 30-иот ден, во однос на контролната група на животни, се високо сигнификантни (КМ:АМ30ден,  $p<0.015$ ). Исто така, со споредување на артрозната машка група на стаорци, на 30-иот и 60-иот ден од животот, се покажува статистички значајна разлика во вредноста за содржината на хемоглобинот (АМ30ден:АМ60ден,  $p<0.050$ ).

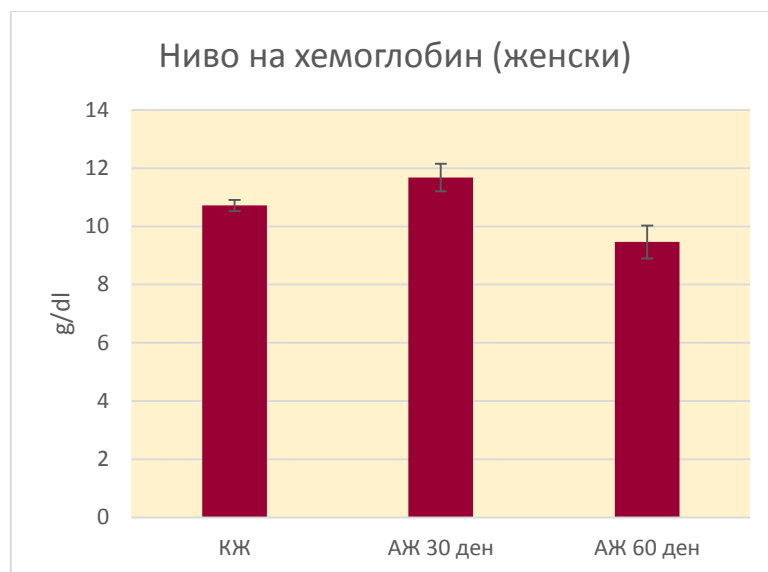


**Слика 3. Ниво на хемоглобин кај машки**

**Табела 3. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за нивото на хемоглобинот кај машки**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	-41,11483655	,015
КМ : АМ 60 ден	-4,801820141	,937
АМ 30 ден : АМ 60 ден	61,66751398	,050

Од приложените резултати за женските лабораториските животни третирани со колаген тип II, се гледа дека содржината на хемоглобинот на 30-иот ден од третманот, во споредба со контролната група се на пониско ниво (слика бр. 4). Кај артрозната група на стаорци на 30-иот ден се забележува пониско ниво на вкупната содржината на хемоглобинот, но без статистичка значајност (КЖ:АЖ30ден,  $p=0.761$ ). Резултатите кај женските артрозни животни на 30-иот ден, споредени со 60-иот ден, не покажуваат статистичка значајност, а вредностите за нивото на хемоглобинот, кај истите се многу слични (АЖ30ден:АЖ60ден,  $p=0.997$ ). Ако се споредат резултатите помеѓу контролната група и групата на 60-иот ден (КЖ:АЖ60ден,  $p=0.700$ ), се гледа дека исто така вредноста не влегува во доменот на статистичка значајност.



Слика 4. Ниво на хемоглобин кај женски

Табела 4. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за нивото на хемоглобинот кај женски

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	8,955223881	,761
КЖ : АЖ 60 ден	-11,70983319	,700
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	-18,96655923	,997

Со споредувањето на резултатите кој се добиени кај машките во однос на женските животни, се гледа дека и кај самите контролни животни, во зависност од полот, има разлика во нивото на содржината на хемоглобинот во крвта, при што тој е со повисоки вредности кај машките во однос на женските животни (КМ:КЖ,  $p=0,761$ ). Но, оваа разлика за добиената вредност покажува дека нема статистичка значајност. На 30-иот ден од животот кај артрозните машки животни се забележува вредност која е на границата на сигнификантноста, во однос на истата група кај женските животни (АМ30ден:АЖ30ден,  $p=0.053$ ). Нема сигнификантна разлика во однос на нивото на хемоглобинот кај машките и женските артрозни стаорци на 60-иот ден од животот (АМ60ден:АЖ60ден,  $p=0.333$ ).

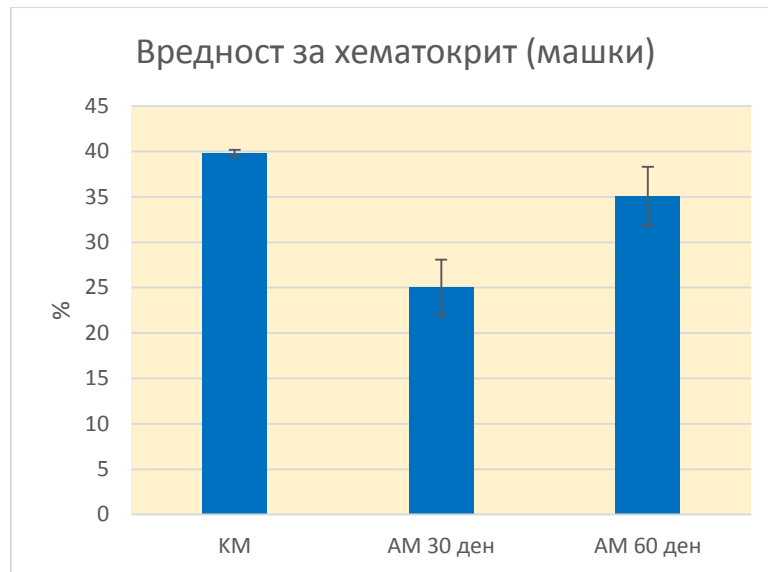
Вредностите за нивото на хемоглобинот во однос на бројот на еритроцитите, споредувано соодветно кај машките и женските животни, покажуваат иста динамика на промени кај двете експериментални групи (слики бр. 1, 2, 3 и 4). Забележливо е дека вредностите за содржината на хемоглобинот кај сите експериментални групи соодветно, го следат бројот на еритроцитите, со единствен исклучок кај артрозните женски стаорци на 60-иот ден од третманот, каде има некое незначително отстапување, и содржината на хемоглобинот се задржува приближно на истото ниво како кај артрозната група на 30-иот ден. Притоа, се гледа дека секаде овие вредности за нивото на хемоглобинот се на пониско ниво кај женските, во споредба со машките животни.

#### **4.1.3. Вредност за хематокрит**

Добиените резултати за вредноста на хематокритот кај машките и женските животни, соодветно се прикажани на сликите бр. 5 и 6.

Од приложените резултати за вредностите на хематокритот кај машките стаорци, прикажани на сликата бр. 5, се гледа дека има речиси идентично следење во однос на промените кај другите параметри на крвната слика кај артрозната група стаорци на 30-иот ден од постимунизацијата. Иако јасно се забележува разликата кај оваа група, во однос на контролната група, сепак вредноста која што е добиена за статистичката разлика, покажува дека таа не влегува во кругот на статистички значајни вредности, односно е некаде приближно на границата на статистичката значајност (КМ:АМ30ден,  $p=0.070$ ). Исто така, иако се забележува разлика на графикот во рамките на истата група од машки пол, помеѓу артрозната група на 30-иот ден, во однос на истата група на 60-иот ден од третманот, нема статистичка значајност (АМ30ден:АМ60ден,  $p=0.326$ ), при што на 30-иот ден има несигнификантно помала вредност за хематокритот. Споредените вредности за резултатите на контролната и артрозната група од 60-иот ден, покажуваат дека помеѓу нив нема статистички значајна разлика (КМ:АМ60ден,  $p=0.753$ ).





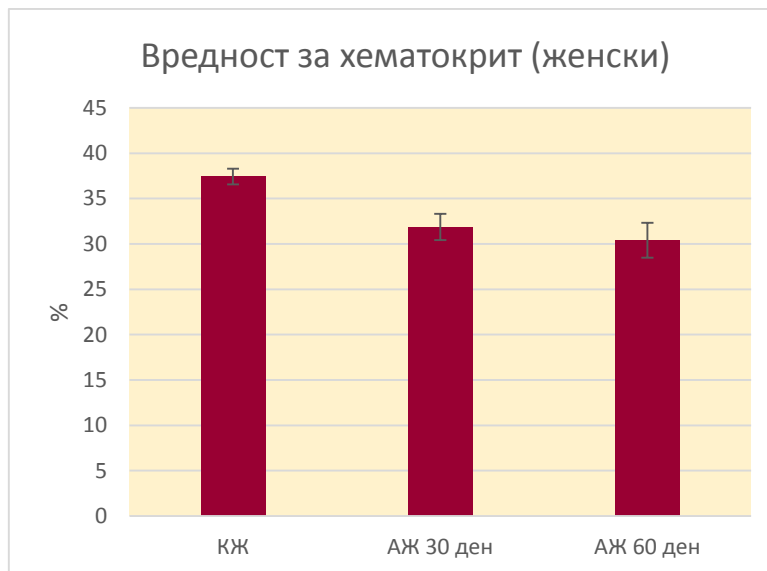
**Слика 5. Вредноста на хематокритот кај машки**

**Табела 5. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на хематокритот кај машки**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	-37,17030897	,070
КМ : АМ 60 ден	-11,86708293	,753
АМ 30 ден : АМ 60 ден	40,27272078	,326

Што се однесува до ефектот на индуцираниот ревматоиден артритис врз вредноста на хематокритот кај женската група, за разлика од машката, истиот не се манифестира толку изразено, како на триесетиот ден, така и на шеесетиот ден после третманот на животните (слика бр. 6). Имено, кај женската група на ревматоидни стаорци на 30-иот ден има несигнификантно помала вредност за хематокритот (КЖ:АЖ30ден,  $p=0,546$ ), во однос на контролната група, но за разлика од кај машките стаорци, разликата не е толку голема. На 60-иот ден исто така, има намалување на вредноста за хематокритот, но овој резултат не е статистички значаен, кога ќе се спореди со 30-иот ден од третманот (АЖ60ден:АЖ30ден,  $p=0,946$ ). Вредноста која што е добиена на 60-иот ден ако

се спореди со контролата дава статистички незначајна разлика (АЖ60ден:КЖ,  $p=0.333$ ).



Слика 6. Вредноста за хематокритот кај женски

Табела 6. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на хематокритот кај женски

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	-14,86330038	,546
КЖ : АЖ 60 ден	-18,7974415	,333
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	-4,620969727	,946

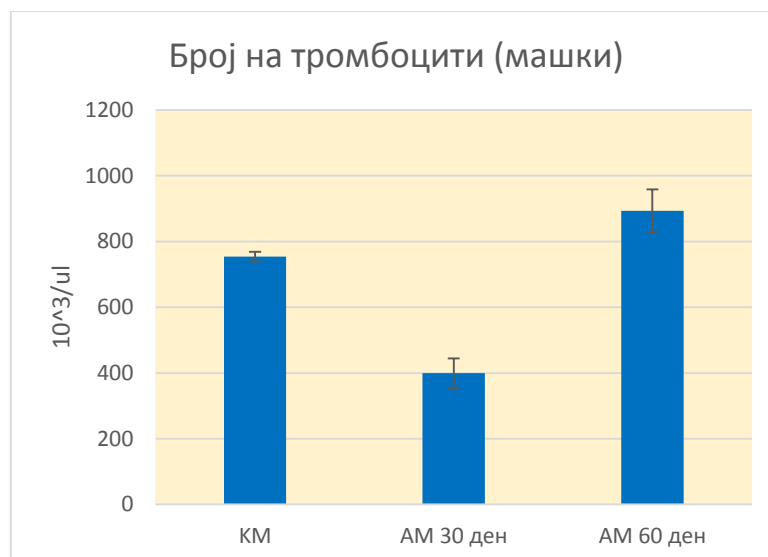
Кога ќе се споредат вредностите за хематокритот кај двете групи, машки и женски животни, се забележува дека почетните вредности на контролите кај машките животни се повисоки во однос на женските, но таа разлика не е статистички значајна (КМ:КЖ,  $p=0.946$ ). Ова е од разбирливи причини ако се земе за споредба и бројот на еритроцитите. Кај женските артрозни животни на 60-иот ден од постимунизацијата нема следење на вредноста за хематокритот

како кај машката група, туку само стагнирање или незначително намалување, за разлика од машката група каде има несигнификантно зголемување во овој експериментален период (слики бр. 5 и 6, на страна 89 и 90). Ако се споредат двете групи на артрозни животни на 30-иот ден, се забележува дека кај машката група има намалување на вредноста за хематокритот во овој период, за разлика од женската група, но и таа не е во доменот на сигнификантноста (AM30ден:AJ30ден,  $p=0.326$ ).

#### **4.1.4. Број на тромбоцити**

Резултатите кои го покажуваат ефектот на предизвиканиот RA врз бројот на тромбоцитите, кај контролната и третираната група на животни, машки и женски, соодветно графички се прикажани на сликите бр. 7 и 8.

Од приложените резултати за бројот на тромбоцитите на графикот на сликата бр. 7, се забележува дека индуцираниот ревматоиден артритис кај машката група животни споредени, третираните во однос на контролните, доведува до синификантно намалување на бројот на тромбоцитите кај артрозните животни на 30-иот ден од третманот со колаген тип II, во споредба со контролата, кој влегува во доменот на статистички значајни резултати (KM:AM30ден,  $p<0.025$ ). Кај машките третирани животни на 60-иот ден од постимунизацијата се забележува нормализирање на бројот на тромбоцитите, па дури и благо зголемување, во однос на контролната група на животни, но оваа разлика не влегува во статистички значајни вредности (KM:AM 60ден, n.s.,  $p=0.436$ ). Доколку се изврши споредба на артрозната машка група на 30-иот ден со артрозната машка група на 60-иот ден од постимунизацијата, јасно се забележува високо сигнификантна разлика (AM30ден:AM60ден,  $p<0.004$ ).



Слика 7. Број на тромбоцити кај машки

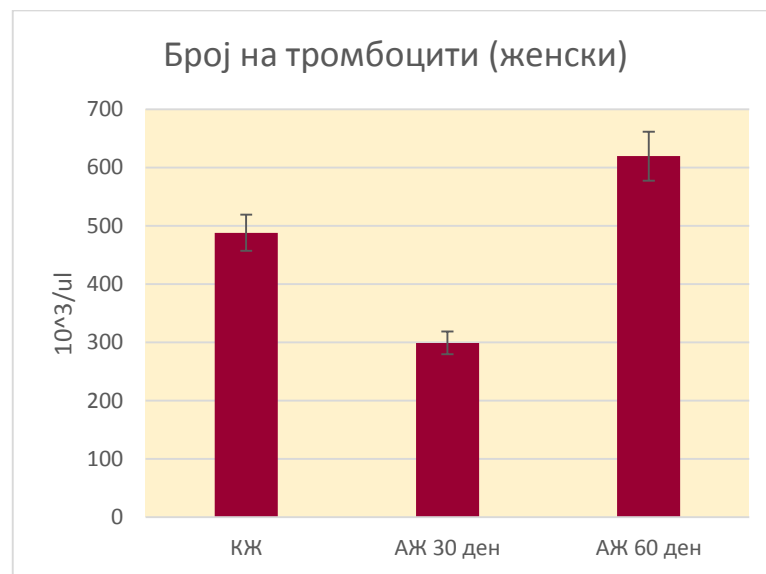
Табела 7. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на тромбоцитите кај машки

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	-47,05570292	,025
КМ : АМ 60 ден	18,43501326	,436
АМ 30 ден : АМ 60 ден	123,6973948	,004

Ефектот на индуцираниот RA кај женската група на животни графички е прикажан на сликата бр. 8.

Со споредување на резултатите од контролата, во однос на артрозната група на 30-иот ден, се костатира несигнификантно намалување на бројот на тромбоцитите во крвта кај оваа група на животни, споредено кај третираниите на 30-иот ден, во однос на контролата (слика бр. 8, КЖ:АЖ30ден,  $p < 0.227$ ). Вредноста на резултатот не влегува во доменот на статистичка значајност, и разликата ја нема како кај машката група. Со споредување на резултатите на 30-иот ден од третманот, со оние на 60-иот ден, се забележува, изразено висока статистички значајна разлика. На 60-иот ден има зголемување на бројот на тромбоцитите во однос на групата на 30-иот ден од постимунизацијата (слика 8,

АЖ30ден:АЖ60ден,  $p < 0.007$ ). Споредено, бројот на тромбоцитите на 60-иот ден со бројот кај контролата, забележлива е разликата на зголемен број кај групата на 60-иот ден од третманот во однос на контролата, но таа разлика е статистички незначајна (АЖ60ден:КЖ,  $p = 0.430$ ).



Слика 8. Број на тромбоцити кај женски

Табела 8. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на тромбоцитите кај женски

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	-38,72046975	,227
КЖ : АЖ 60 ден	26,90073981	,430
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	107,0850401	,007

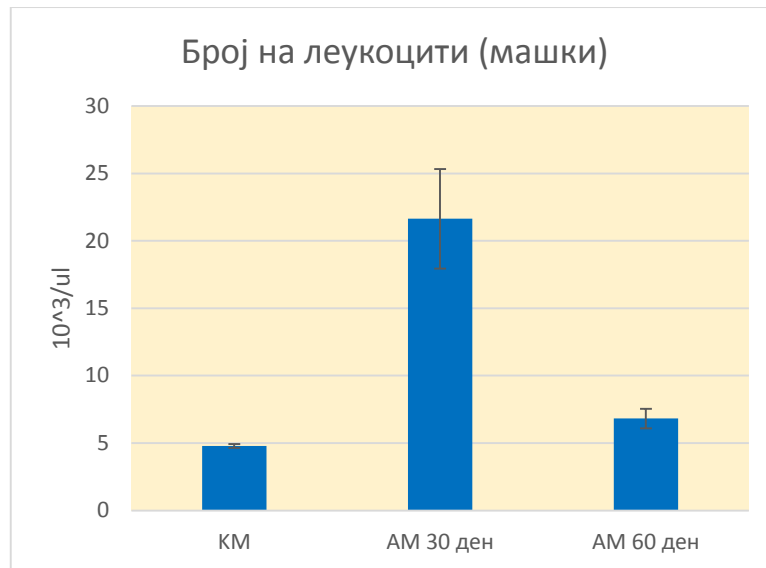
Вредностите за бројот на тромбоцитите споредувани за соодветен период кај машките и женските стаорци, покажуваат иста динамика на промени во двете експериментални групи (слики бр. 7 и 8). Забележливо е дека кај контролните женски животни во споредба со истата група кај машките има помал број на тромбоцити, но разликата не е со статистичка значајност (КМ:КЖ, n.s.,  $p > 0.05$ ).

Промените во правец на намалување на бројот на тромбоцитите кај артрозните групи на 30-иот ден се следат и кај машките и кај женските животни, иако таа промена е поизразена кај машките во однос на женските. Направената споредба за бројот на тромбоцитите на 60-иот ден во однос на контролата кај машката група, покажува динамика на зголемување, до изедначување со бројот на тромбоцитите кај контролата, или нивно благо покачување над бројот што е регистриран кај контролата (AM60ден:KM, n.s.,  $p=0.436$ ). Оваа разлика кај овие две групи е поизразена и појасно видлива кај животните од женската група, но и овде вредностите на разликите не се со статистичка значајност ( $p<0.430$ ).

#### **4.1.5. Број на леукоцити**

Добиените резултати за бројот на леукоцитите за машката и женската група животни се прикажани на сликите бр. 9 и 10.

Од добиените резултати за бројот на леукоцитите прикажани на сликата бр. 9 за машката група, јасно се гледа дека индуцираниот ревматоиден артритис предизвикува зголемување на бројот на леукоцитите кај артрозната група на животни на 30-иот ден од постимунизацијата, во споредба со контролната група, при што, разликата која е добиена е статистички значајна и покажува високо сигнификантно зголемување на бројот на леукоцитите во однос вредноста која е добиена кај контролната група на животни (KM:AM30ден,  $p<0.022$ ). На 60-иот ден забележливо е високо сигнификантно намалување на бројот на леукоцитите во однос на 30-иот ден (AM30ден:AM60ден  $p<0.04$ ) и приближување до бројот на леукоцитите на контролната група на животни, иако сеуште е на повисоко ниво во однос на контролата, но, оваа разлика не е во доменот на статистички значајна вредност (KM:AM60ден, n.s.,  $p=0.944$ ).



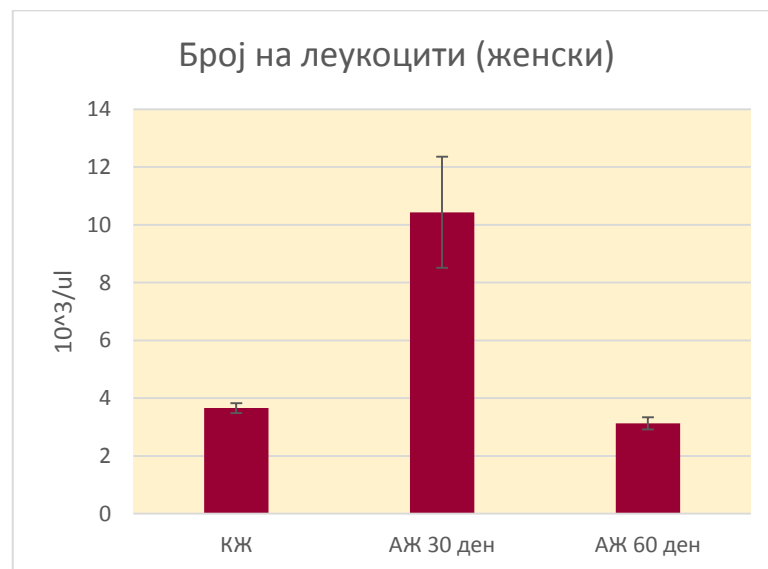
Слика 9. Број на леукоцити кај машки

Табела 9. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на леукоцитите кај машки

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	352,667364	,022
КМ : АМ 60 ден	42,60808926	,944
АМ 30 ден : АМ 60 ден	-68,49605238	,04

Од графичкиот приказ на сликата бр. 10 се гледа дека предизвиканиот ревматоиден артритис, исто како и кај машката група, покажува ефектно дејство врз зголемувањето на бројот на леукоцитите и кај артрозните женски животни на 30-иот ден од третманот, во однос на контролната женската група. Така, ова, кај артрозните женски животни се манифестира со сигнификантно повисоки вредности за бројот на леукоцитите во споредба со контролната група (слика бр. 10, КЖ:АЖ30ден  $p < 0,042$ ). На 60-иот ден од третманот, исто како и кај машката група, забележливо е високо сигнификантно намалување на бројот на леукоцитите во однос на 30-иот ден (АЖ30ден:АЖ60ден,  $p < 0,013$ ), и приближување до бројот на леукоцитите како кај контролната група на животни.

Иако, овде е видлива тенденцијата на понатамошно намалување на бројот на леукоцитите, и под вредноста за контролната група, сепак таа разлика во однос на контролата, не е во доменот на статистички значајна вредност (КЖ:АЖ60ден,  $p < 0.972$ ).



Слика 10. Број на леукоцити кај женски

Табела 10. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на леукоцитите кај женски

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	185,0637523	,042
КЖ : АЖ 60 ден	-14,49694632	,972
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	-70,00563804	,013

Со споредување на резултатите за машката и женската група, прикажани на сликите бр. 9 и 10, евидентно е дека, индуцираниот ревматоиден артритис како кај машката, така и кај женската група на животни, предизвикува значајно зголемување на бројот на леукоцитите на 30-иот ден од имунизацијата и

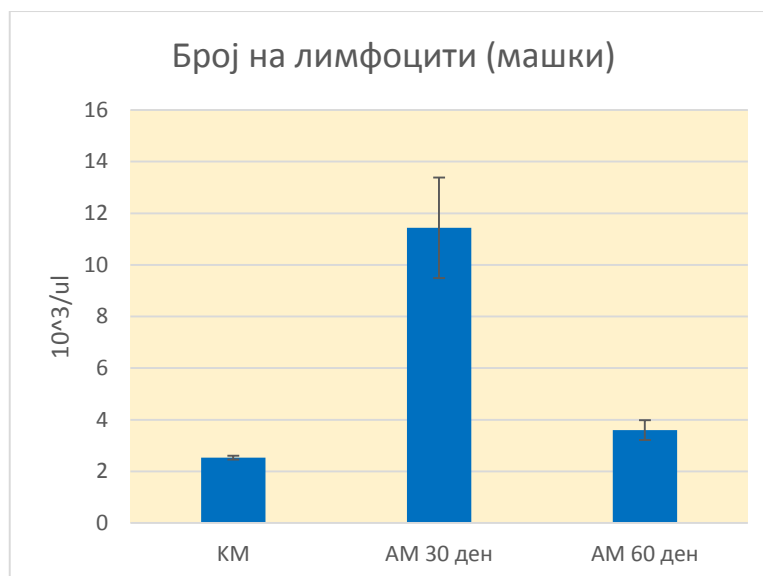


намалување на истиот на 60-иот ден, со приближување до вредноста на контролните групи на машки и женски животни, со таа разлика што кај машката група сеуште има несигнификантно покачен број на леукоцити, во однос на контролата (КМ:АМ60ден, n.s.,  $p=0.954$ ), за разлика од женската група, каде има несигнификантно намален број на леукоцитите во однос на контролната женска група (КЖ:АЖ60ден, n.s.,  $p=0.972$ ).

#### **4.1.6. Број на лимфоцити**

Резултатите за бројот на лимфоцитите кај машката и женската испитувана група графички се прикажани на сликите бр. 11 и 12.

Резултатите кои го покажуваат ефектот на предизвиканиот РА, врз бројот на лимфоцитите во крвта кај машката група на стаорци графички се прикажани на сликата бр. 11. Од графичкиот приказ на оваа слика споредено со графикот на сликата бр. 9 јасно е видно дека зголемувањето на бројот на лимфоцитите пропорционално го следи зголемувањето на вкупниот број на леукоцитите. Така, на 30-иот ден од постимунизацијата бројот на лимфоцитите во крвта кај машката група е на сигнификантно ниво поголемо во споредба со бројот кај контролната група (КМ:АМ30ден,  $p<0.022$ ). Оваа тенденција (бројот на лимфоцитите да го следи бројот на леукоцитите), се забележува и кај групата на 60-иот ден, каде бројот на лимфоцитите е сигнификантно намален како и кај леукоцитите, споредено со 30-иот ден, и е приближен на бројот кај контролната група, (КМ:АМ60ден,  $p<0.944$ ), но со изразена разлика, во смисла на благо зголемен број на лимфоцитите во однос на контролната машка група. Споредувајќи ги артрозните групи на машки животни на 30-иот и на 60-иот ден, се гледа дека има значајно намалување на бројот на лимфоцитите кај групата на 60-иот ден, во однос на 30-иот ден (АМ30ден:АМ60ден,  $p<0.045$ ).

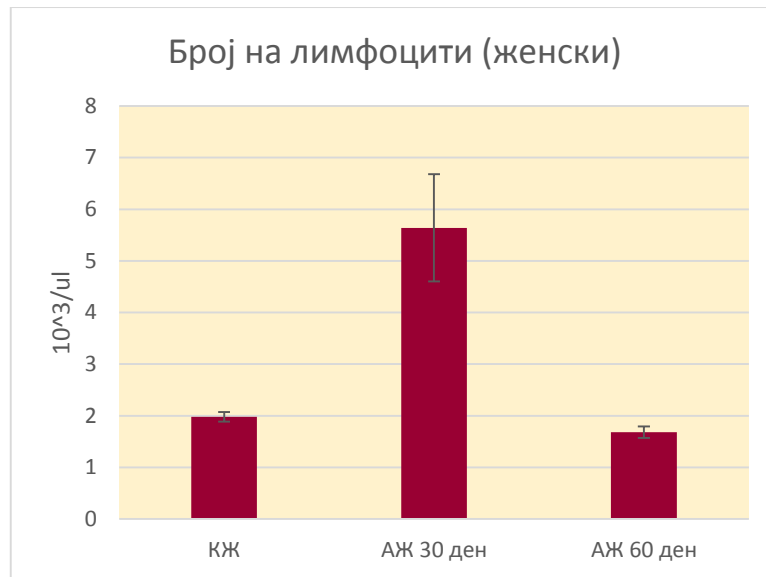


Слика 11. Број на лимфоцити кај машки

Табела 11. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на лимфоцитите кај машки

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	352,173913	,022
КМ : АМ 60 ден	42,29249012	,944
АМ 30 ден : АМ 60 ден	-68,53146853	,045

Од графиконот на сликата бр.12, каде е прикажан бројот на лимфоцитите кај женските стаорци, јасно се гледа изразеното зголемување на бројот на лимфоцитите на 30-иот ден кај третираниите животни, во однос на бројот кај контролната група (КЖ:АЖ30ден,  $p < 0.042$ ). На 60-иот ден од постретманот се гледа намалување на бројот на лимфоцитите во однос на 30-иот ден (АЖ30ден:АЖ60ден,  $p < 0.013$ ), што е високо сигнификантна разлика. Се забележува приближување на бројот на лимфоцитите со контролната група, со тенденција за понатамошно намалување, но оваа вредност не припаѓа во доменот на статистички значајните вредности (КЖ:АЖ60ден,  $p = 0,972$ ).



Слика 12. Број на лимфоцити кај женски

Табела 12. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на лимфоцитите кај женски

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	184,8484848	,042
КЖ : АЖ 60 ден	-15,15151515	,972
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	-70,21276596	,013

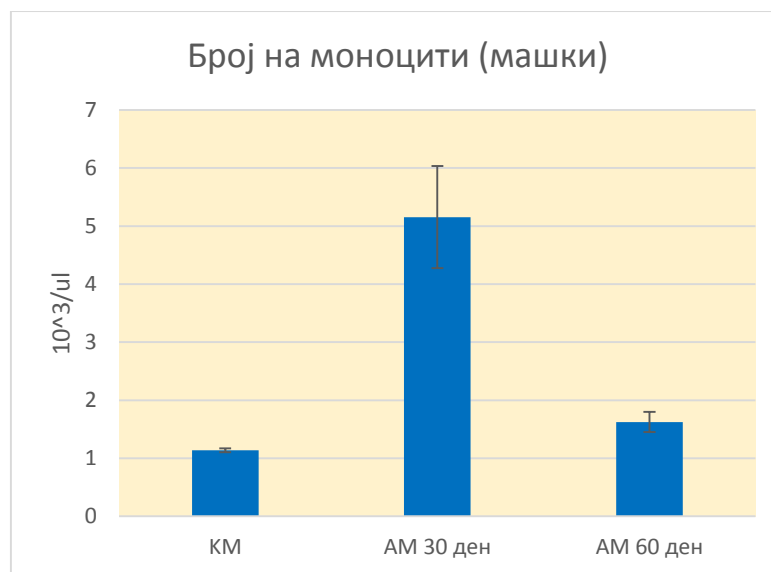
Ако се споредат вредностите кај машката и женската група на животни (слики бр. 11 и 12), се гледа дека предизвиканиот RA на 30-иот ден од третманот, доведува до сигнификантно зголемување на бројот на лимфоцитите и кај едните и кај другите животни, во споредба со контролната група. Манифестираните промени се идентични кај двете групи на животни со таа разлика што кај машките стаорци на 60-иот ден вредноста за бројот на лимфоцитите е приближна на бројот кај контролата, но на несигнификантно зголемено ниво (слика бр. 11, КМ:АМ60ден,  $p < 0.923$ ). За разлика од нив, кај женските стаорци на 60-иот ден од животот има намалување на бројот на лимфоцитите во споредба со вредностите на 30-иот ден и приближување до вредноста што е кај контролната женска група.

Но, овде се забележува тенденција за продолжено несигнификантно намалување на бројот на лимфоцитите до вредност под бројот кај контролната група (слика бр. 12, КЖ:АЖ60ден,  $p=0,971$ ). Разликата во бројот на лимфоцитите кај контролните машки и женски животни е забележлива. Поголем е бројот на лимфоцитите кај машката во споредба со женската група, но разликата е без статистичка значајност (КМ:КЖ, n.s.,  $p=0.999$ ).

#### **4.1.7. Број на моноцити**

Ефектот на индуцираниот RA врз бројот на моноцитите во крвта кај експерименталните групи графички е прикажан преку добиените резултати на сликите бр.13 и 14.

Од сликата бр. 13 се забележува дека предизвиканиот RA доведува до сигнификантно зголемување на бројот на моноцитите кај машката група на стаорци на 30-иот ден од третманот, во споредба со контролната група на животни. Ова зголемување е високо сигнификантно (КМ:АМ30ден,  $p<0.022$ ). На 60-иот ден од постимунизацијата има сигнификантно намалување на бројот на моноцитите, во споредба со 30-иот ден, и приближување на вредноста блиску до контролната група, но на несигнификантно повисоко ниво (КМ:АМ 60ден,  $p<0.944$ ). Кога ќе се споредат групите на артросни стаорци на 30-иот и на 60-иот ден од имунизацијата (слика13, АМ30ден:АМ60ден,  $p=0.065$ ), се гледа дека разликата која постои не е во доменот на статистичка значајност.

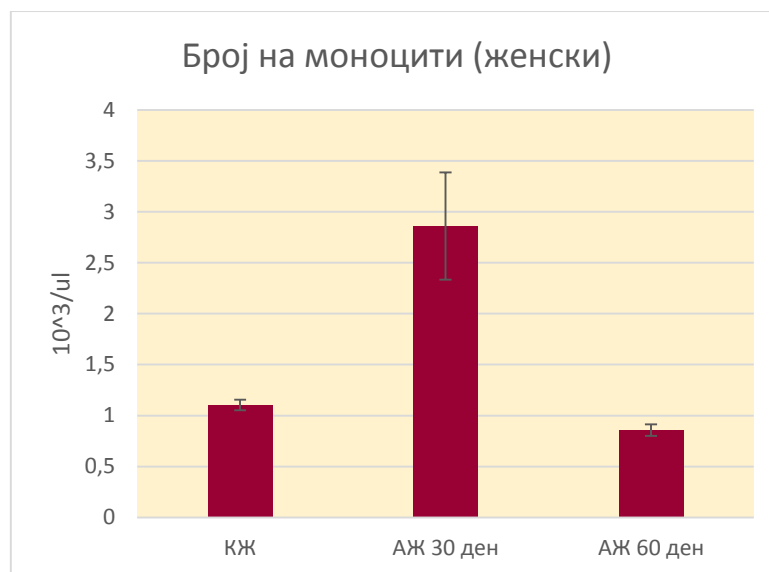


Слика 13. Број на моноцити кај машки

Табела 13. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на моноцитите кај машки

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	352,9876977	,022
КМ : АМ 60 ден	42,70650264	,944
АМ 30 ден : АМ 60 ден	-68,49660524	,065

Кај женската група на животни (слика бр.14), има иста тенденција на варијација на бројот на моноцитите, како и кај машката група, со таа разлика што овде има несигнификантно намалување на бројот на моноцитите на 60-иот ден, споредена со вредноста за бројот на моноцитите кај контролната женска група (КМ:АМ60ден, n.s.,  $p=0.972$ ). Споредените резултати помеѓу контролната женска група и артрозната женска група на 30-иот ден, дава сигнификантно повисок број на моноцити на 30-иот ден (КЖ:АЖ30ден,  $p<0.042$ ). Ако пак се споредат вредностите за бројот на моноцитите кај артрозната женска група на 30-иот и на 60-иот ден од имунизацијата (АЖ30ден:АЖ60ден,  $p<0.013$ ), се гледа дека има високо сигнификантна разлика на вредностите помеѓу овие две групи.



Слика 14. Број на моноцити кај женски

Табела 14. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на моноцитите кај женски

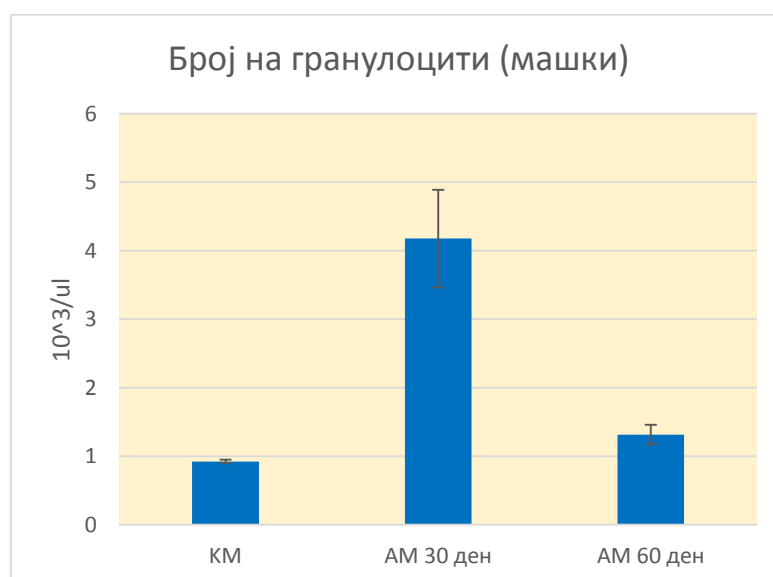
Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	159,2189907	,042
КЖ : АЖ 60 ден	-22,2614841	,972
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	-70,01048584	,013

Со споредување на резултатите за машките и женските групи, за бројот на моноцитите, од сликите бр. 13 и 14 се констатира дека овде, за разлика од предходно споредуваните резултати, за бројот на крвните елементи кај испитуваните групи, речиси и да нема разлика во вредностите за бројот на моноцитите кај контролните машки и контролните женски животни. Бројот на моноцитите кај двете групи е со приближно иста вредност (слики бр. 12 и 13, КМ:КЖ,  $p=0.997$ ). Високо сигнификантна разлика се забележува на 30-иот ден помеѓу машката и женската група, каде бројот на моноцитите кај машката група е на сигнификантно повисоко ниво во споредба со бројот на моноцитите кај женската група (слики бр.13 и 14, на страна бр. 101 и 102, АМ30ден:АЖ30ден,  $p<0.05$ ). Нема статистички значајна разлика за добиените резултати помеѓу

артрозната машка група на 60-иот ден, споредена со истата женска група (AM60ден:AJ60ден, n.s.,  $p=0.982$ ).

#### 4.1.8. Број на гранулоцити

Резултатите кои ги покажуваат вредностите за бројот на гранулоцитите кај машките и женските групи на стаорци графички се претставени на сликите бр. 15 и 16. Притоа, од сликата бр. 15, каде се гледа влијанието на индуцирањето на ревматоиден артритис кај белите лабораториски стаорци од машката група, се забележува високо сигнификантно зголемување на бројот на гранулоцитите на 30-иот ден во однос на контролата (KM:AM30ден,  $p<0.022$ ). На 60-иот ден се забележува сигнификантно намалување на бројот на гранулоцитите во однос на 30-иот ден од третманот со колаген тип II, и враќање на бројот на гранулоцитите на контролните вредности или приближно до контролните, без статистички значајна разлика во однос на истите (слика бр. 15, KM:AM60ден,  $p<0.944$ ). Доколку се споредат артрозните групи на 30-иот и 60-иот ден (AM30ден:AM60ден,  $p=0.055$ ), се гледа дека добиената вредност не е во групата на статистички значајни резултати.

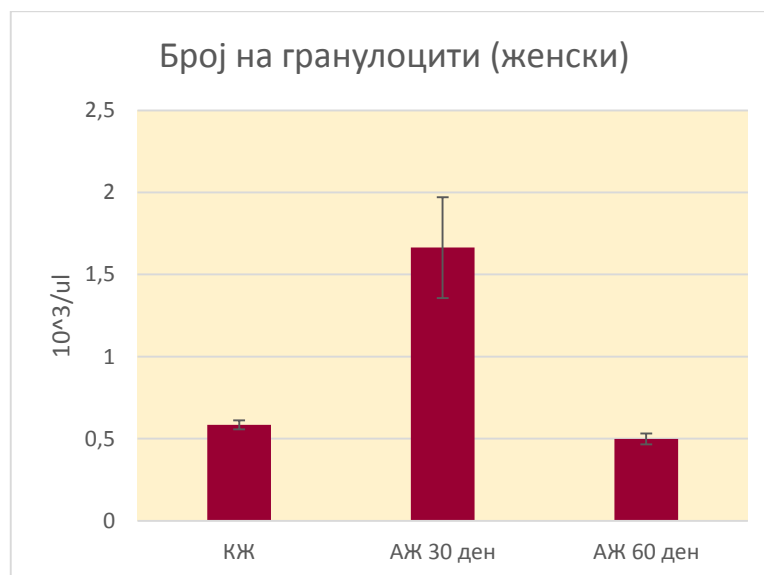


Слика 15. Број на гранулоцити кај машки

**Табела 15. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на гранулоцитите кај машки**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	352,667364	,022
КМ : АМ 60 ден	42,60628265	,944
АМ 30 ден : АМ 60 ден	-68,49645148	,055

Кај женската група (слика бр. 16), исто така, има сигнификантно зголемување на бројот на гранулоцитите на 30-иот ден од постимунизацијата (КЖ:АЖ30ден,  $p < 0.042$ ). Враќање на вредноста за бројот на гранулоцитите блиску до вредноста за бројот кај контролната група, има на 60-иот ден (КЖ:АЖ60ден,  $p = 0.972$ ). Оваа вредност не е со статистичка значајност. Ако се споредат женските артрозни групи на 30-иот и 60-иот ден (АЖ30ден:АЖ60ден,  $p < 0.013$ ), се гледа дека има висока сигнификантна разлика помеѓу добиените вредности за бројот на гранулоцитите, во овие два периоди од експериментот.



**Слика 16. Број на гранулоцити кај женски**



**Табела 16. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за бројот на гранулоцитите кај женски**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	185,0437672	,042
КЖ : АЖ 60 ден	-14,5211299	,972
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	-70,01201923	,013

Доколку се споредат вредностите за бројот на гранулоцитите кај контролите за машката и женската група, се гледа дека кај женската група почетната вредност за бројот на гранулоцитите е на пониско ниво во споредба со машката група (КМ:КЖ,  $p=0.945$ ), но разликата не е статистички значајна. На 30-иот ден од постимунизацијата забележливо е статистички значајно зголемување на бројот на гранулоцитите, и кај машката и кај женската група, во споредба со контролата, (слика 15,  $p<0.022$ ; слика 16,  $p<0.042$ ). Но, се бележат повисоки вредности за гранулоцитите кај машката артрозна група во однос на контролната група на машки животни, отколку кај женската артрозна група во споредба со контролната женска група. Кај двете групи на машки и женски артрозни животни разликите во бројот на гранулоцитите на 30-иот ден во однос на контролите се високо сигнификантни. Со споредување на почетните вредности за бројот на гранулоцитите кај контролните групи на машки и женски животни, и ставање во корелација на истите со вредностите на 60-иот ден, се забележува обратнопропорционалност во вредноста на резултатите.

Од добиените резултати за диференцијалната крвна слика, може да се констатира дека промените како во бројот за лимфоцитите, моноцитите и гранулоцитите, се многу адекватни, како споредени помеѓу себе, исто така, споредени и со бројот на леукоцитите кај испитуваните групи. Впрочем, тоа најдобро се гледа од графиконите на сликите бр. 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 и 16, каде скоро и да нема разлика во промените за вредностите за соодветните групи.

## 4.2. Ревматоиден фактор (RF)

Со испитувањето на RF кај контролните и артрозните групи на животни, машки и женски, на триесетиот и на шеесетиот ден од третирањето со колаген тип II, се добиени резултати кои се прикажани во табелите бр. 17 и 18.

**Табела 17. Резултати од одредувањето на ревматоидниот фактор кај машки**

<b>Резултати од одредувањето на ревматоидниот фактор (RF) кај машки</b>		
Контролна група	Артрозна група 30 ден	Артрозна група 60 ден
Негативна вредност ( $<30.380$ IU/ml)	Негативна вредност ( $<30.380$ IU/ml)	Негативна вредност ( $<30.380$ IU/ml)

Од табелата бр.17 за машката група, се гледа дека со методата со кои се одредуваа анализите покажаа дека кај сите животни, независно дали се контролна група или артрозни на 30-иот и 60-иот ден од постимунизацијата има негативна вредност за ревматоидниот фактор. Како негативна вредност се зема секој добиен резултат кој што е помал од  $30.380$  IU/ml. Референтна вредност се зема за секој резултат кој што е поголем од  $30.380$  IU/ml.

Резултатите за RF кај женската група се прикажани во табелата бр. 18. Од истата се гледа дека, исто како и кај машката група, вредностите кај сите животни се негативни, независно дали се тоа контролни или третирани на 30-иот и на 60-иот ден.

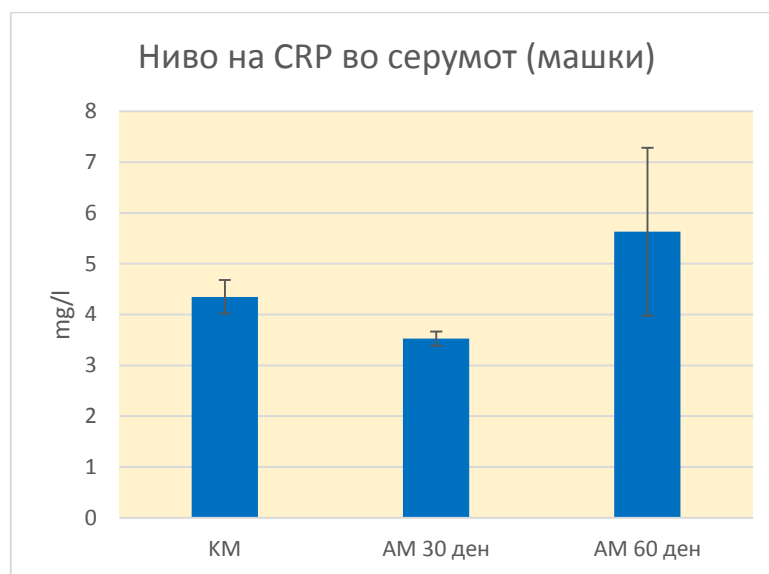
**Табела 18. Резултати од одредувањето на ревматоидниот фактор кај женски**

<b>Резултати од одредувањето на ревматоидниот фактор (RF) кај женски</b>		
Контролна група	Артрозна група 30 ден	Артрозна група 60 ден
Негативна вредност ( $<30.380$ IU/ml)	Негативна вредност ( $<30.380$ IU/ml)	Негативна вредност ( $<30.380$ IU/ml)

### 4.3. Ц-реактивен протеин (CRP)

Резултатите добиени за CRP се прикажани на сликите бр. 17 и 18.

На сликата бр. 17, за машката група, се гледа дека кај третираната група на животни на 30-иот ден видливо е намалувањето на CRP во однос на контролната група, иако резултатот не е со статистичка значајност (слика бр. 17, КМ:АМ30ден, n.s.,  $p=0.894$ ). Кај артрозните машки животни на 60-иот ден се забележува дека има зголемување на вредноста за CRP, но истата споредена со контролата е без статистичка значајност (слика бр. 17, КМ:АМ60ден, n.s.,  $p=0.799$ ). Ако се споредат резултатите за CRP кај групата на машки артрозни животни на 30-иот ден и на 60-иот ден, се гледа дека нема статистички значајна разлика помеѓу истите (АМ30ден:АМ60ден,  $p=0.604$ ).

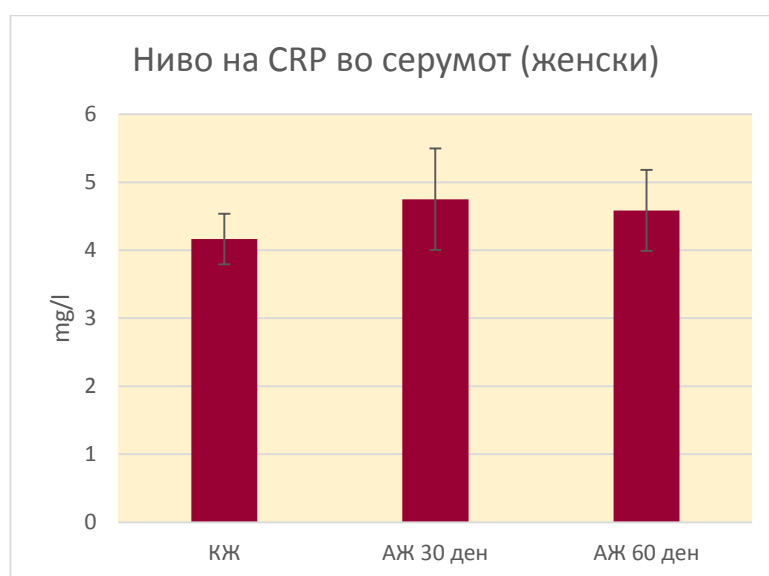


Слика 17. Ниво на CRP кај машки

**Табела 19. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за нивото на вредноста на CRP кај машки**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	-18,96551724	,894
КМ : АМ 60 ден	29,50191571	,799
АМ 30 ден : АМ 60 ден	59,8108747	,604

Резултатите за CRP кои се добиени за женската група на животни се прикажани на сликата бр. 18. Од графикот се забележува дека на 30-иот ден има малку покачени вредности за CRP, кои не влегуваат во доменот на статистички значајни вредности (КЖ:АЖ30ден, n.s.,  $p=0.944$ ). Ако се споредат резултатите за CRP кај групата на женски артрозни животни на 30-иот ден и на 60-иот ден, се гледа дека има статистички незначајна намалена вредност помеѓу вредностите (АЖ30ден:АЖ60ден, n.s.,  $p=0.995$ ). Исто така и резултатите за CRP кои се добиени на 60-иот ден, споредени со контролната група немаат статистичка значајност (КЖ:АЖ 60ден, n.s.,  $p=0.972$ ).



**Слика 18. Ниво на CRP кај женски**

**Табела 20. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за нивото на вредноста на CRP кај женски**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	14	,944
КЖ : АЖ 60 ден	10,05714286	,972
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	-3,458646617	,995

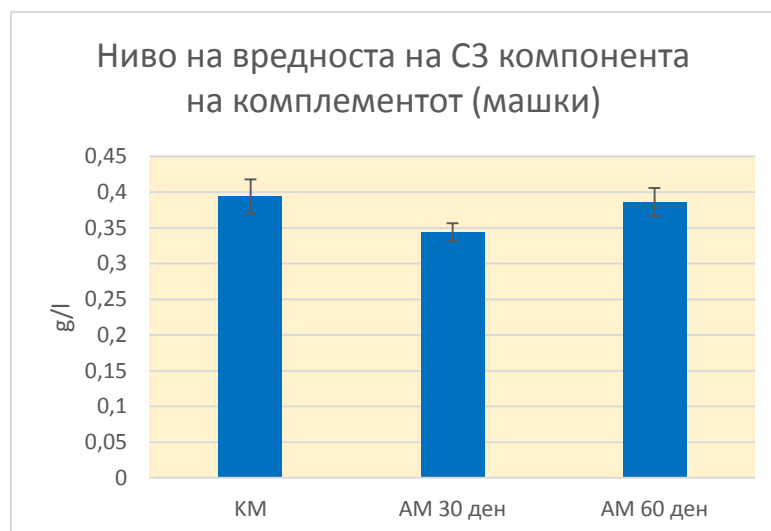
Споредени вредностите за контролната машка и женска група даваат речиси идентични резултати за вредноста на CRP (слики бр.17 и 18, КМ:КЖ,  $p=0.999$ ). На 30-иот ден артрозната машка во споредба со артрозната женска група покажуваат различна динамика на резултатите. Така, кај машката група има несигнификантно намалување на вредноста за CRP, додека кај женската група има несигнификантно зголемување на вредноста (слики бр. 17 и 18). Ако се споредат резултатите на 60-иот ден од имунизацијата се забележува дека кај машката група има тенденција на понатамошно зголемување на вредноста, а кај женската група тенденција за незначително намалување.

#### **4.4. С3 компонента на комплементот**

Вредностите за одредувањето на С3 компонентата на комплементот, кај групата на машки и женски животни со предизвикан ревматоиден артритис се прикажани на сликите бр. 19 и 20.

Од графикот за машката група, прикажан на сликата бр. 19, јасно се гледа дека вредноста на С3 компонентата на комплементот на 30-иот ден од третманот се намалува (КМ:АМ30ден, n.s.,  $p=0.696$ ). Оваа вредност не влегува во статистички значајните резултати. За разлика од овој временски период, вредноста која што е добиена на 60-иот ден од постимунзацијата, покажува приближно исто ниво на вредност како и кај контролната група на животни, или истата е незначително намалена, а вредноста не е во доменот на статистичка значајност (КМ:АМ60ден, n.s.,  $p=0.985$ ). Споредени вредностите за С3 компонентата на комплементот за артрозните животни на 30-иот и 60-иот ден од

третманот, покажуваат дека разликата не е со статистичка значајност (AM30ден:AM60ден,  $p=0,782$ ).



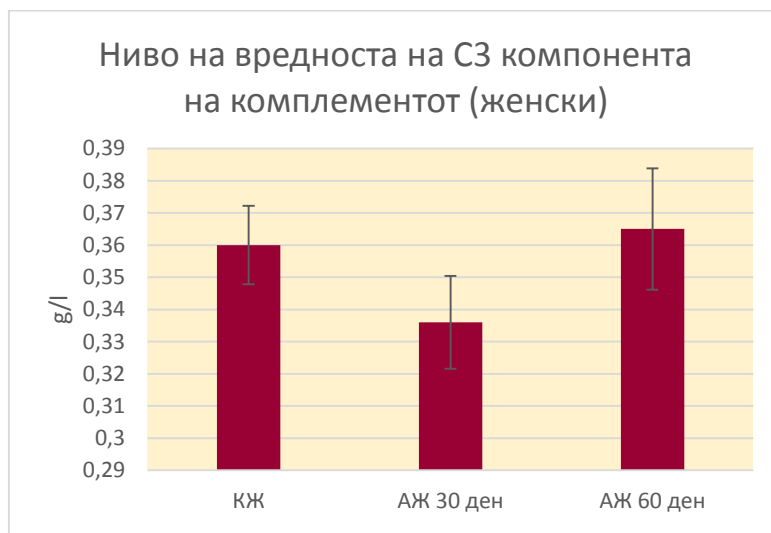
Слика 19. Ниво на вредноста на С3 компонентата на комплементот кај машки

Табела 21. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на С3 компонентата на комплементот кај машки

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	-12,69035533	,696
КМ : АМ 60 ден	-2,030456853	,985
АМ 30 ден : АМ 60 ден	12,20930233	,782

Добиените вредности за животните од женската група се прикажани на сликата бр. 20. Од овој графички приказ се гледа дека на 30-иот ден, исто како и кај машката група, има намалување на вредностите за нивото на С3 компонентата на комплементот, во споредба со контролата, но со вредности кои не се во доменот на статистичката значајност (КЖ:АЖ30ден,  $p=0.870$ ). Од графикот на сликата се забележува зголемување на нивото на С3 на 60-иот ден после третманот со колаген тип II, до ниво на изедначување на вредноста со онаа кај контролната група, или има сосема мала разлика, која не е во доменот

на статистичка значајност (КЖ:АЖ60ден, n.s.,  $p=0.990$ ). Кога ќе се споредат артрозните женски групи на 30-иот и 60-иот ден (АЖ30ден:АЖ60ден,  $p=0.780$ ), се гледа дека разликите во резултатите не се статистички значајни.



Слика 20. Ниво на вредноста на С3 компонентата на комплементот кај женски

Табела 22. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на С3 компонентата на комплементот кај женски

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	-6,666666667	,870
КЖ : АЖ 60 ден	1,388888889	,990
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	8,630952381	,780

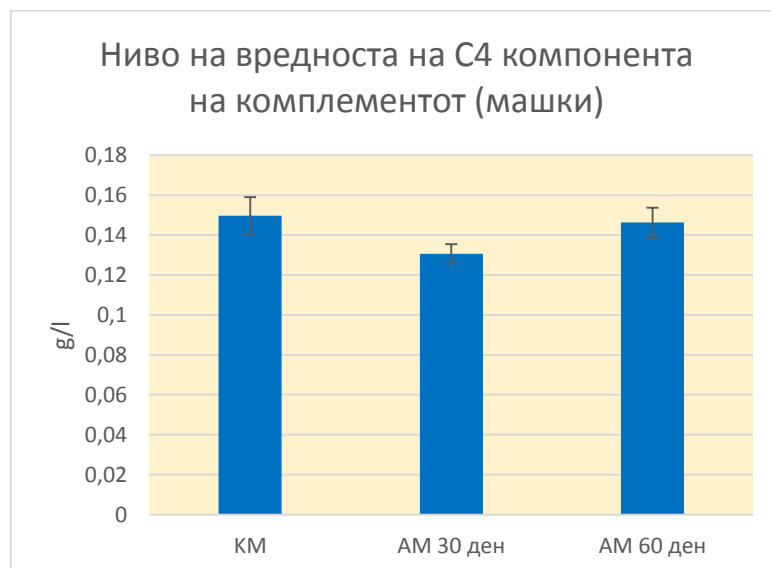
Споредувајќи ги графициите за машката и женската група (од сликите бр. 19 и 20), се забележува дека има идентичност во флукуацијата на вредноста за нивото на С3 компонентата на комплементот кај двете групи на животни. Скоро ист, или незначајно различен ефект на RA има кај машката и женската група, следен преку вредностите за С3 компонентата на комплементот. На 60-иот ден од третирањето со колаген тип II, кај двете групи на животни, независно од

полот, се забележува дека ревматоидниот артритис е скоро без никаков ефект врз испитуваниот параметар, споредено со контролата. Вредностите се исти или многу блиски до оние кај контролната група.

#### 4.5. C4 компонента на комплементот

Резултатите кои ги покажуваат вредностите за C4 компонента на комплементот графички се прикажани на сликите бр. 21 и 22, соодветно за машката и женската група.

Резултатите за C4 компонентата на комплементот кај машката група укажуваат на тоа дека, индуцираниот RA има влијание како и кај C3 компонентата, предизвикувајќи несигнификантни промени со намалување на вредноста на C4 компонентата на 30-иот ден од постимунизацијата, споредена со контролната група (KM:AM30ден, n.s.,  $p=0.696$ ). Резултатите добиени на 60-иот ден, покажуваат приближно исто ниво на вредност како и кај контролната група на животни, или истата е сосема незначително намалена (KM:AM60ден,  $p=0.985$ ). Помеѓу себе споредени артрозните групи на 30-иот и на 60-иот ден (AM30ден:AM60ден,  $p=0.782$ ), покажуваат дека разликата во резултатите не се со статистичка значајност.



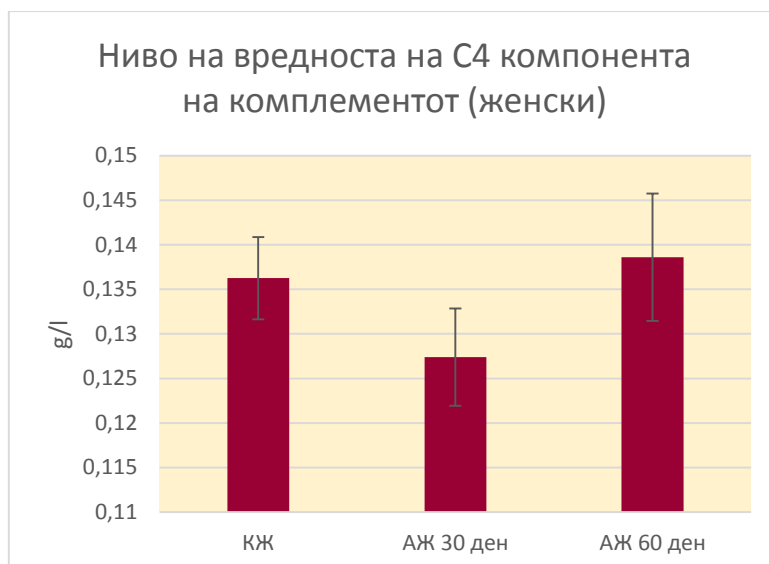
Слика 21. Ниво на вредноста на C4 компонентата на комплементот кај машки



**Табела 23. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на С4 компонентата на комплементот кај машини**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	-12,74346132	,696
КМ : АМ 60 ден	-2,337228715	,985
АМ 30 ден : АМ 60 ден	11,92602041	,782

Кај женската група на животни добиените вредности за С4 компонентата на комплементот графички се прикажани на сликата бр. 22. Од овој графички приказ на сликата се гледа дека на 30-иот ден, исто како и кај машката група, има намалување на вредностите за нивото на С4 компонентата на комплементот, во однос на контролната група, но со вредности кои не се статистички значајни (КЖ:АЖ30ден,  $p=0.870$ ). Од графикот на сликата се забележува зголемување на нивото на С4 компонентата на комплементот на 60-иот ден после третманот со колаген тип II, за разлика од 30-иот ден, до ниво на изедначување на вредноста со онаа кај контролната група, при што таа е речиси идентична или има сосема мала разлика, која не е во доменот на статистичка значајност (КЖ:АЖ60ден,  $p=0.990$ ). Споредени вредностите за артрозните групи на 30-иот и 60 ден (АЖ30ден:АЖ60ден,  $p=0.785$ ), покажуваат дека нема статистичка значајност на разликата во резултатите.



Слика 22. Ниво на вредноста на С4 компонентата на комплементот кај женски

Табела 24. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на С4 компонентата на комплементот кај женски

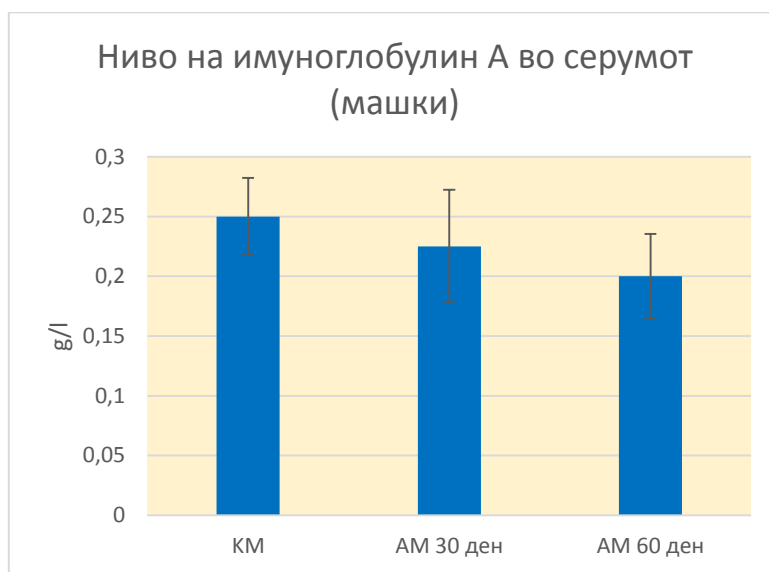
Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	-6,495412844	,870
КЖ : АЖ 60 ден	1,724770642	,990
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	8,791208791	,785

Ако се споредат добиените резултати за машката и женската група (слики бр. 21 и 22), јасно ќе се види дека и овде се следат промените на вредноста како и кај С3 компонентата на комплементот, и тоа за двете групи на животни. И кај овој испитуван параметар незначително различен ефект на ревматоидниот артритис се забележува кај машката и женската група за вредностите на С4 компонентата на комплементот. Кај двете групи на 60-иот ден од третманот со колаген тип II, се гледа дека ревматоидниот артритис е скоро без никаков ефект врз испитуваниот параметар споредено со контролата.

## 4.6. Имуноглобулин А (IgA)

За да се види каков е ефектот на индуцираниот РА врз имунолошкиот систем кај третираниите животни, се вршеше испитување и на некои од имуноглобулините. Каков е ефектот на артритисот врз IgA кај машките и женските групи, графички се прикажува на сликите бр. 23 и 24.

Од сликата бр. 23, јасно се гледа дека кај артрозната машка група животни на 30-иот ден содржината на IgA е на пониско ниво во однос на контролата, но таа разлика во вредностите на резултатите не е со статистичка значајност (KM:AM30ден, n.s.,  $p=0.972$ ). Истата состојба е констатирана и на 60-иот ден од имунизацијата (KM:AM60ден, n.s.,  $p=0.894$ ). Ако се споредат вредностите за артрозните животни добиени на 30-иот и на 60-иот ден (AM30ден:AM60ден,  $p=0.972$ ), јасно е дека нема статистички значајна разлика.

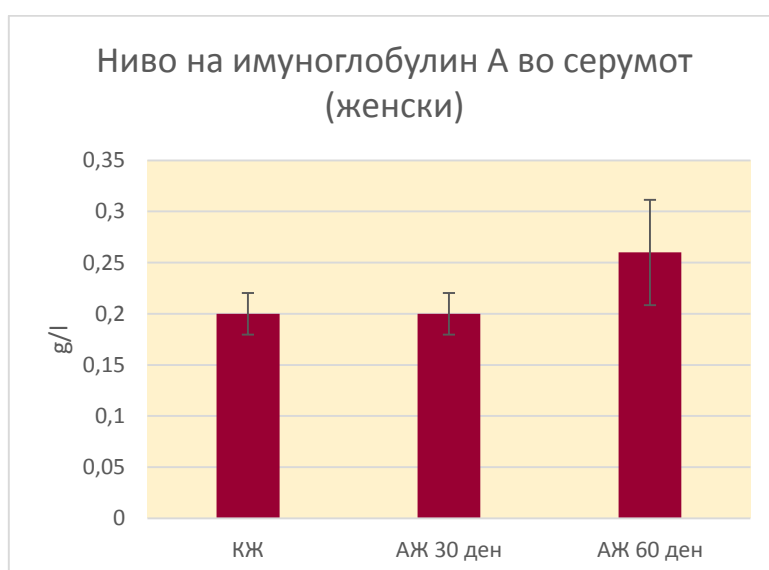


Слика 23. Ниво на вредноста на IgA во серумот кај машки

**Табела 25. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на IgA во серумот кај машки**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	-10	,972
КМ : АМ 60 ден	-20	,894
АМ 30 ден : АМ 60 ден	-11,11111111	,972

Ако се погледнат резултатите кои се добиени кај женската група на животни за содржината на IgA во серумот, после третманот со колагенот тип II на 30-иот ден, и истите се споредат со контролната група, се гледа дека истиот не предизвикува никакви промени во однос на контролната група (КЖ:АЖ30ден,  $p=1.000$ ), односно се забелжуваат истите вредности како и кај контролата, или вредности кои се многу блиски до контролните. На графикот се гледа дека има несигнификантно зголемување на вредноста на 60-иот ден од третманот, во споредба со контролата (КЖ:АЖ60ден,  $p=0.842$ ). Со споредување на резултатите за артрозните женски животни на 30-иот и 60-иот ден (АЖ30ден:АЖ60ден,  $p=0.842$ ), се заклучува дека разликата на вредностите е без статистичка значајност.



**Слика 24. Ниво на вредноста на IgA во серумот кај женски**

**Табела 26. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на IgA во серумот кај женски**

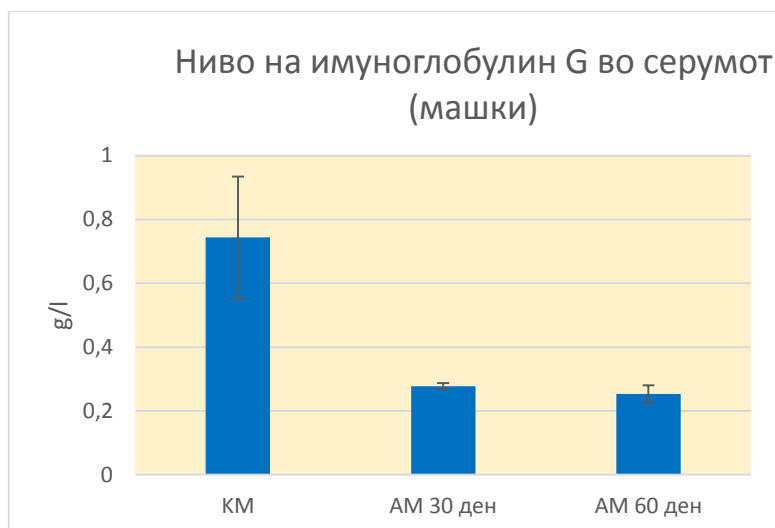
Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	0	1,000
КЖ : АЖ 60 ден	30	,842
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	30	,842

Доколку се споредат вредностите на IgA за машката и за женската популација се констатира дека кај машката група има континуирано намалување на вредноста на IgA во серумот и на 30-иот ден и на 60-иот ден, додека кај женската група се забележува иста или слична вредност за овој параметар на 30-иот ден (КЖ:АЖ30ден,  $p=1.000$ ), како и кај контролата, додека на 60-иот ден има несигнификантно зголемување на вредноста за IgA, споредено со 30-иот ден и со контролната група ((КЖ:АЖ30ден):АМ60ден,  $p=0.842$ ).

#### **4.7. Имуноглобулин G (IgG)**

Резултатите кои се добиени за нивото на IgG во серумот кај машките и женските животни, соодветно се прикажани на сликите бр. 25 и 26.

На сликата бр. 25 се гледа дека кај групата на машки животни на 30-иот ден има сигнификантно намалување на вредноста за IgG (КМ:АМ30ден,  $p<0.05$ ). Добиените резултати за нивото на IgG во серумот, после развојот на артритисот кај третираниите животни на 60-иот ден не се зголемува, односно стагнира или незначајно се намалува, но главно останува на ниво блиску до вредноста добиена на 30-иот ден од имунизацијата (АМ30ден:АМ60ден, n.s.,  $p=0.999$ ). Оваа група на 60-иот ден од постимунизацијата, исто така е на сигнификантно пониско ниво во однос на контролната група (КМ:АМ60ден,  $p<0.05$ ).



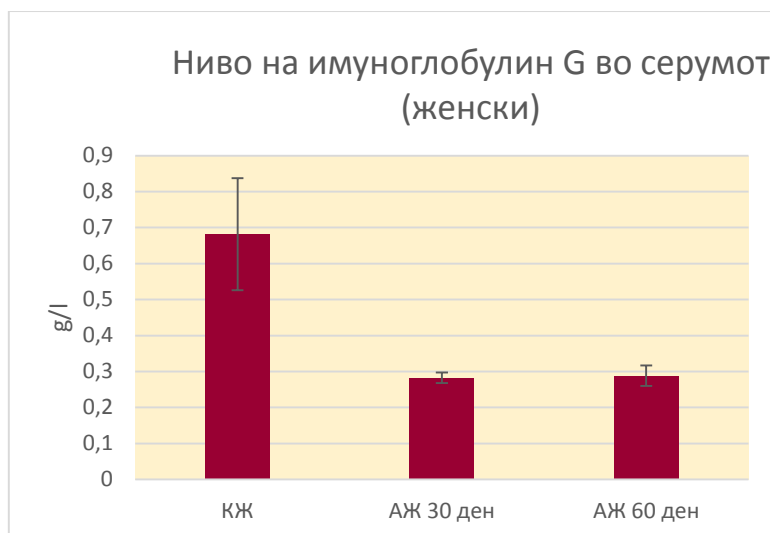
**Слика 25. Ниво на вредноста на IgG во серумот кај машки**

**Табела 27. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на IgG во серумот кај машки**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КМ : АМ 30 ден	-62,66816143	,050
КМ : АМ 60 ден	-65,91928251	,050
АМ 30 ден : АМ 60 ден	-8,708708709	,999

Резултатите за IgG кај женската група на животни се прикажани на графикот на сликата бр. 26.

Од резултатите за IgG кај женската група, се гледа дека индуцираниот РА условува сигнификантно намалување на нивото на IgG во серумот на 30-иот ден од третманот, во споредба со контролната група (КЖ:АЖ30ден,  $p < 0.05$ ). Вредноста за овој параметар на 60-иот ден останува приближно иста, со нивото измерено на 30-иот ден (АЖ30ден:АЖ60ден, n.s.,  $p = 1.000$ ). Но, ако оваа група од 60-иот ден се спореди со контролата има сигнификантна разлика (КЖ:АЖ60ден,  $p < 0.05$ )



Слика 26. Ниво на вредноста на IgG во серумот кај женски

Табела 28. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на IgG во серумот кај женски

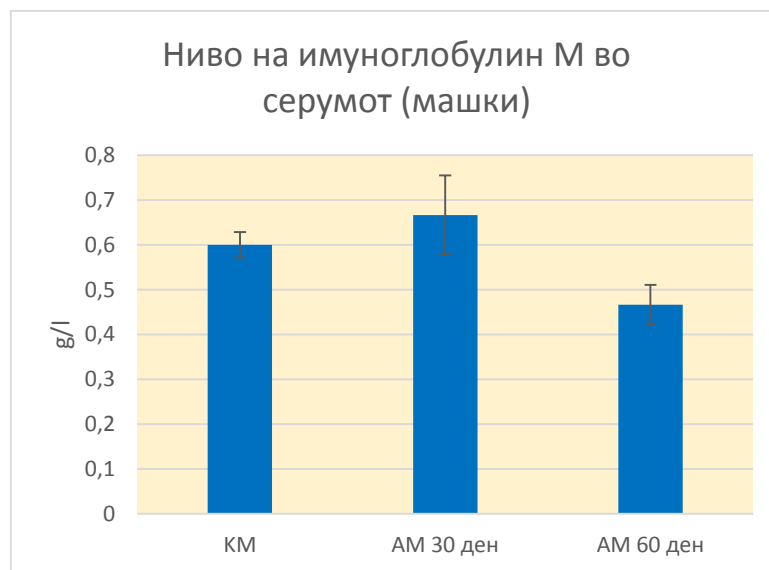
Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	-58,55745721	,050
КЖ : АЖ 60 ден	-57,66678309	,050
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	2,149178255	1,000

Од резултатите кои се добиени за машките и женските животни се констатира дека има иста динамика и тенденција за промена на нивото на IgG во серумот и кај машките и кај женските стаорци (слики бр. 25 и 26, табели 27 и 28). Вредностите за овој параметар кај контролната група се разликуваат во нешто повисоко ниво кај машката група во споредба со женската, но без статистичка значајност (слики бр. 25 и 26, КМ:КЖ,  $p=0.942$ ). На 60-иот ден од имунизацијата кај машката група се забележува тенденција за понатамошно намалување на вредноста за IgG во однос на 30-иот ден, но овој резултат спореден со истата група кај женските животни нема статистичка значајност.

## 4.8. Имуноглобулин М (IgM)

Резултатите кои се добиени за вредностите на IgM во серумите кај контролните и артрозните машки и женски животни, графички се прикажани на сликите бр. 27 и 28.

Со анализа на графикот на сликата бр. 27, за машката група, се констатира дека на 30-иот ден од третманот има зголемување на вредноста за IgM во серумот, но таа разлика на вредностите не е во доменот на статистички значајни резултати (KM:AM30ден, n.s.,  $p=0.900$ ). Индуцираниот артритис кај машката група на 60-иот ден, во споредба со 30-иот ден од третманот, не доведува до сигнификантно намалување на содржината на IgM во серумот (AM30ден:AM60ден,  $p<0.469$ ). Ако се споредат контролната група на животни, со артрозната група на 60-иот ден (KM:AM60ден,  $p=0.667$ ), се гледа дека разликата не е во доменот на статистички значајни резултати.



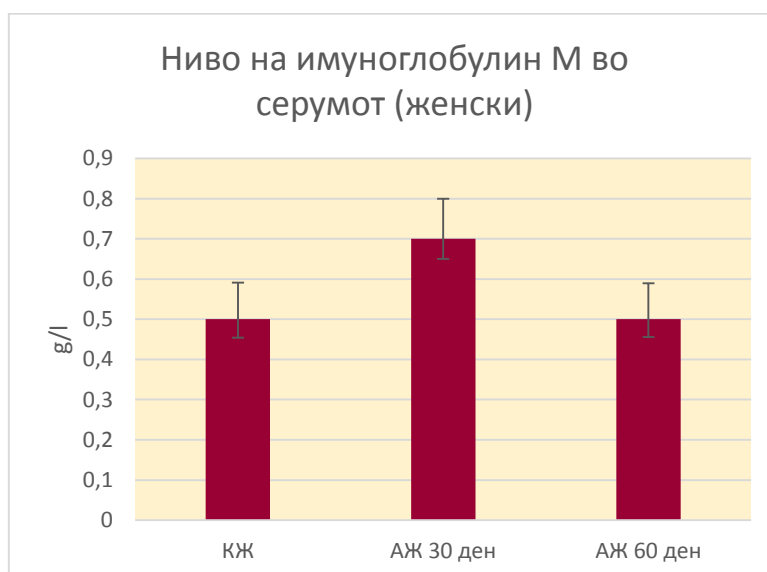
Слика 27. Ниво на вредноста на IgM во серумот кај машки



**Табела 29. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на IgM во серумот кај машки**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
KM : AM 30 ден	11,11111111	,900
KM : AM 60 ден	-22,22222222	,667
AM 30 ден : AM 60 ден	-30	,469

Од графикот на сликата бр. 28 се забележува дека кај женската група на артрозни стаорци на 30-иот ден од предизвиканиот RA има зголемено ниво на концентрацијата на IgM во серумот, кое што е на повисоко квантитативно ниво во споредба со контролната група, но вредноста не влегува во рамките на статистички значајни резултати (КЖ:АЖ30ден, n.s.,  $p=0.369$ ). На 60-иот ден од третманот се констатира намалување на нивото на вредноста за IgM и изедначување со контролната група. (КЖ:АЖ60ден, n.s.,  $p=1.000$ ). Ако се споредат групите на артрозните женски животни на 30-иот и на 60-иот ден од третманот, се гледа дека на 60-иот ден има сигнификантно пониско ниво на IgM во однос на 30-иот ден (АЖ30ден:АЖ60ден, n.s.,  $p=0.301$ ).



**Слика 28. Ниво на вредноста на IgM во серумот кај женски**

**Табела 30. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за вредноста на IgM во серумот кај женски**

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	40	,369
КЖ : АЖ 60 ден	0	1,000
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	-28,57142857	,301

Доколку се споредат графициите за машките и женските животни на сликите бр. 27 и 28, се констатира дека индуцираниот RA предизвикува зголемување на нивото на IgM во серумот кај машката и женската група на животни на 30-иот ден од имунизацијата, но разликите не се во кругот на статистички значајни вредности (KM:AM30ден,  $p=0.900$ ; КЖ:АЖ30ден,  $p=0.369$ ). Кај артрозната машка и женска група на 60-иот ден констатиравме несигнификантно намалување на вредноста за IgM во споредба со артрозната група на 30-иот ден (AM30ден:AM60ден,  $p=0.469$ ; АЖ30ден:АЖ60ден,  $p=0.301$ ). Од вредностите кои се добиени за артрозните групи на 60-иот ден се констатира дека има разлики кај машките животни во споредба со контролата, но тие не се статистички значајни, додека кај женската група не постои разлика (слики бр. 27 и 28).

#### **4.9. Антистрептолизински тест (OAST)**

Добиените резултати од антистрептолизинскиот тест за машката група на животни се прикажани во табелата бр. 31.

Вредностите кај контролната група и кај двете третирани групи на 30-иот и на 60-иот ден покажуваат негативни резултати, бидејќи истите се помали од 59.430 IU/ml. По методата по која се работеше тестот како позитивна вредност се зема секоја вредност што е поголема од 224 IU/ml.

**Табела 31. Резултати од одредувањето на антистрептолизинскиот тест кај машки**

<b>Резултати од одредувањето на антистрептолизински тест (OAST) кај машки</b>		
Контролна група	Артрозна група 30 ден	Артрозна група 60 ден
Негативна вредност (<59.430 IU/ml)	Негативна вредност (<59.430 IU/ml)	Негативна вредност (<59.430 IU/ml)

Добиените резултати за женската група на животни се прикажани во табелата бр. 32. Од истата се забележува дека сите вредности се помали од 59.430 IU/ml, што значи дека исто како и кај машката група, резултатите од антистрептолизинскиот тест се во границите на нормалните и не се бележи нивно зголемување кај ниту една група и кај двата пола.

**Табела 32. Резултати од одредувањето на антистрептолизинскиот тест кај женски**

<b>Резултати од одредувањето на антистрептолизински тест (OAST) кај женски</b>		
Контролна група	Артрозна група 30 ден	Артрозна група 60 ден
Негативна вредност (<59.430 IU/ml)	Негативна вредност (<59.430 IU/ml)	Негативна вредност (<59.430 IU/ml)

#### **4.10. Антинуклеарни антитела (ANA)**

Добиените резултати за антинуклеарните антитела кај машката група се прикажани во табелата бр. 33. Од истата се гледа дека сите бележат негативни вредности, независно дали се тоа контролни или третирани групи на животни.

**Табела 33. Резултати од одредувањето антинуклеарни антитела кај машки**

<b>Резултати за присуство на антинуклеарни антитела (ANA) кај машки</b>		
Контролна група	Артрозна група 30 ден	Артрозна група 60 ден
Негативна вредност	Негативна вредност	Негативна вредност

Од добиените резултати за ANA кај женската група, кои што се прикажани во табелата бр. 34, исто така се констатира дека нема присуство на ANA, одосно дека сите се со негативна вредност, исто како и кај машките стаорци. Кај женската контролна група имаше само еден примерок каде е забележано присуство на RNPC антитела.

**Табела 34. Резултати од одредувањето антинуклеарни антитела кај женски**

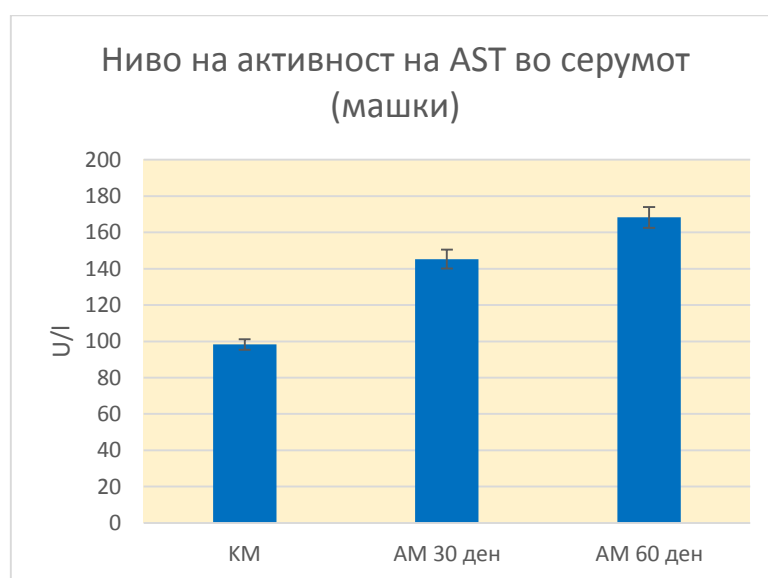
<b>Резултати за присуство на антинуклеарни антитела (ANA) кај женски</b>		
Контролна група	Артрозна група 30 ден	Артрозна група 60 ден
Негативна вредност	Негативна вредност	Негативна вредност

#### **4.11. Аспартатаминотрансфераза (AST)**

Испитуван беше и ефектот на индуцираниот RA, врз активноста на AST кај експерименталните групи на белиот лабораториски стаорец, во споредба со контролата.

Резултатите графички се прикажани на сликите бр. 29 и 30. Од сликата бр. 29 се гледа дека кај групата на машки животни третирани со колаген тип-II има сигнификантно повисоко ниво на активноста на AST, во споредба со вредностите кои се добиени кај контролната група (слика бр. 29, KM:AM30ден,

$p < 0.004$ ). На 60-иот ден од имунизацијата се забележува дека има зголемување на вредноста на AST во однос артрозната група од 30-иот ден (AM30ден:AM60ден,  $p = 0,258$ ), но разликата не е во кругот на статистички значајни вредности. Кога ќе се споредат добиените резултати од контролата во однос на артрозната група на 60-иот ден, прикажани на графикот од сликата бр. 29, се гледа дека нивото на AST во серумот е со вредност која е на високо сигнификантно ниво повисоко во споредба со вредноста кај контролата (KM:AM60ден,  $p < 0.0001$ ).

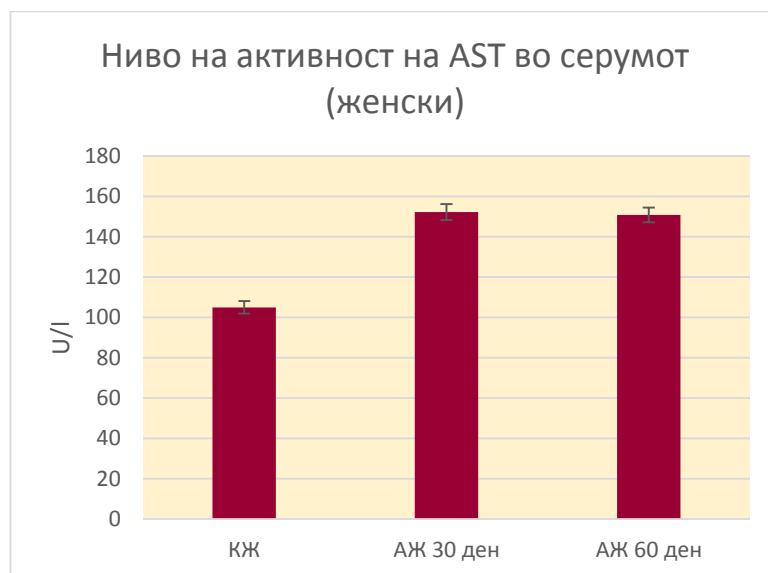


Слика 29. Ниво на активноста на AST во серумот кај машки

Табела 35. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за нивото на активноста на AST кај машки

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
KM : AM 30 ден	47,85184647	,004
KM : AM 60 ден	71,28525734	,0001
AM 30 ден : AM 60 ден	15,84925142	,258

Што се однесува до ефектот на предизвиканиот RA врз активноста на AST кај третираната женска група во однос на контролата, може да се констатира дека тој доведува до сигнификантно зголемување на вредноста за нивото на активноста на AST на 30-иот ден, кое што ниво се задржува и на 60-иот ден од третманот со колаген тип II (КЖ:АЖ30ден,  $p < 0.001$ ; КЖ:АЖ60ден,  $p < 0.001$ ). Вредноста за овој параметар останува на исто, или на приближно исто ниво на 30-иот и на 60-иот ден, што значи дека CIA не предизвикува значајни промени во нивото на активноста на AST споредено на 30-иот и на 60-иот ден, и таа кај третираната група е скоро идентична во овој период (слика бр. 30, АЖ30ден:АЖ60ден,  $p = 0.989$ ).



Слика 30. Ниво на активноста на AST во серумот кај женски

Табела 36. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за нивото на активноста на AST кај женски

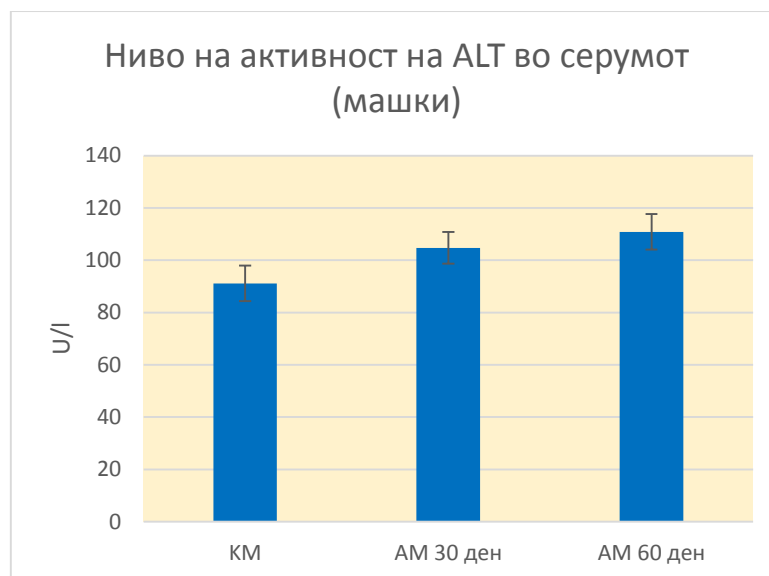
Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	44,96019867	,001
КЖ : АЖ 60 ден	43,5977684	,001
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	-0,939865063	,989

Споредени вредностите за машката и женската група на стаорци покажуваат дека динамиката на промената на вредностите за нивото на активноста на AST кај овие групи на животни е речиси идентична, со таа разлика што кај машката група на 60-иот ден од третманот и понатаму има зголемување на нивото на активноста на AST, во споредба со женската група, иако оваа разлика на 30-иот и на 60-иот ден од третманот не е во кругот на статистички значајни вредности. Кај женската група кога ќе се споредат вредностите на 30-иот и 60-иот ден од третманот се гледа дека нивото на активноста на AST е со приближно иста вредност, или има благо намалување, што не е со статистичка значајност.

#### **4.12. Аланинаминотрансфераза (ALT)**

Резултатите за нивото на активноста на ALT во серумот кај контролните и артрозните машки и женски животни графички се прикажани на сликите бр. 31 и 32.

Од сликата бр. 31 за машката група на стаорци се гледа дека на 30-иот ден има зголемено ниво на активноста на ALT, но вредноста не е во доменот на статистички значајни резултати (KM:AM30ден,  $p=0.749$ ). На 60-иот ден од третманот се забележува дека и понатаму има зголемување на нивото на активноста на ALT во серумот, во споредба со 30-иот ден, но исто така, резултатите не влегуваат во доменот на статистичка значајност (AM30ден:AM60ден,  $p=0.942$ ). Резултатите кои се добиени на 60-иот ден од третманот, споредени со контролната група, имаат зголемена вредност, но без статистичка значајност (KM:AM60ден,  $p=0.550$ ).



Слика 31. Ниво на активноста на ALT во серумот кај машки

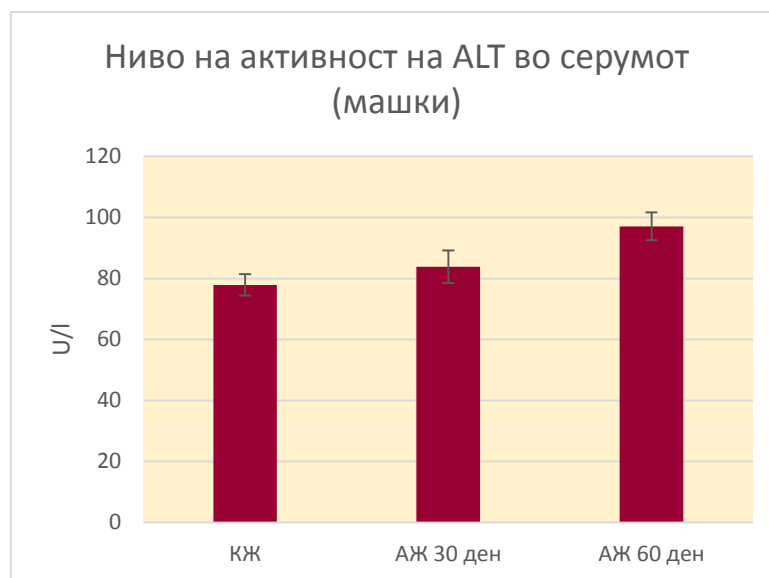
Табела 37. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за нивото на активноста на ALT кај машки

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
KM : AM 30 ден	14,90595611	,749
KM : AM 60 ден	21,61442006	,550
AM 30 ден : AM 60 ден	5,838221252	,942

Индуцираниот RA не доведува до сигнификантни промени во нивото на активност на ALT во серумот кај артрозната женска група на животни, како на 30-иот, така и на 60-иот ден, споредена со контролната група. Ако се споредат резултатите од артрозните животни на 30-иот ден од третманот со контролата (АЖ30ден:КЖ,  $p=0.890$ ), се гледа дека вредностите не се во кругот на статистички значајни разлики. Споредени резултатите на 60-иот ден во однос на контролата (АЖ60ден:КЖ,  $p=0.316$ ), покажуваат, исто така, дека разликата има несигнификантно зголемување на нивото на активност на ALT во споредба со контролата (слика бр. 32). Направената споредба за артрозните женски групи помеѓу себе на 30-иот и 60-иот ден од постимунизацијата покажуваат дека



разликите во резултатите не се во доменот на статистичка значајност (слика бр.32, АЖ30ден:АЖ60ден,  $p=565$ ).



Слика 32. Ниво на активноста на ALT во серумот кај женски

Табела 38. Процентуална и сигнификантна разлика помеѓу групите за нивото на активноста на ALT кај женски

Групи	Процентуална разлика (%)	Сигнификантна разлика (p)
КЖ : АЖ 30 ден	7,592151109	,890
КЖ : АЖ 60 ден	24,62864478	,316
АЖ 30 ден : АЖ 60 ден	15,8343276	,565

Доколку се споредат вредностите за овој параметар, помеѓу машката и женската контролна група, ќе се забележи дека резултатите покажуваат поголеми вредности кај машката споредено со женската група, но констатираните разлики не се сигнификантни (КМ:КЖ,  $p=0.930$ ).

Динамиката на промената на вредностите за ALT, се следат во двете групи, независно од полот, со таа разлика што кај машката артрозна група на 60-

иот ден има забележана поголема вредност за ALT во споредба со истата женска група. Вредностите и во двата случаја не влегуваат во кругот на статистички значајни резултати.

## 5. Дискусија

Ревматоидниот артритис е сериозна и хронична болест, која се карактеризира со нарушување на градбата на зглобовите, системски нарушувања и зголемен ризик од фрактури. Со зголемувањето на возрасната популација и начинот на живот во следните 50 години, се претпоставува дека ќе дојде до зголемување на бројот на болните од RA. Во последните петнаесетина години е постигнат голем напредок во поглед на разјаснувањето на епидемиологијата, патофизиологијата, превенцијата и лечењето на RA, како и добивање на поголеми сознанија за RA како болест и реагирањето на новите генерации на применети лекови.

Животинските модели на RA се корисни за изучување на патогенезата на болеста, како и за процена на потенцијалните антиартритични лекови за клиничка употреба. Ова го овозможуваат морфолошките сличности со човечката болест и капацитетот на моделите да се предвидат и споредат резултатите со оние кај луѓето, бидејќи резултатите од животинските студии можат да бидат причински интерпретирани во компарација со хуманата ревматоидна болест. CIA тип II кај стаорецот, како животински модел за RA, е со докажана ефикасност и предвидливост во споредба со луѓето и акцентирана сличност со човечкиот RA, бидејќи, прво има капацитет да се предвиди и спореди ефикасноста на третманот и кај луѓе, второ, лесно изведување на експериментите врз стаорците со разумно времетраење на тест периодот и трето, сличноста во патологијата и патогенезата со болеста кај човекот, но со многу побрз развој (Young, 2000; Bendele, 2001).

Значајноста на темата произлегува од податокот што секој стоти жител на земјината топка боледува од ревматизам. Последните анализи покажале дека повеќе од 30 милиони луѓе во Европа се соочени со овој проблем, и се на удар на заболување од групата на ревматски болести. RA е и најголемата причина за физички инвалидитет и телесна попреченост. Ревматските заболувања и RA Европа ја чини околу 45,4 милијарди евра секоја година. Ревматските заболувања се во постојан пораст како во светот, така и во Македонија, па според проценките на Клиниката за ревматолошки болести во Скопје

дијагностицирани се 5.000 пациенти, од очекуваните 12-15.000 заболени (Перчинкова со сор., 2010).

Една од најтешките форми е токму RA, и затоа сите литературни податоци RA го дефинираат како подмолна и подолготрајна разорна болест за зглобовите со последици и врз другите органи и органски системи (Arnett, 1988; Bethesda, 1999; Christen и Von Herrath, 2004; Kamrdat со сор., 2005; Markelevic, 2006; Costenbader, 2006; Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008).

Во доцните седумдесетти години се почетоците на експерименталниот CIA, кои довел до развој на автоимун артритис со значајни сличности како и човечкиот RA (Trentham со сор., 1977). Автоимуната реакција на чувствителните животни е комплексна комбинација на фактори, вклучувајќи специфичен главен хистокомпатибилен комплекс (MCH) молекули, цитокини и колаген тип II специфични реакции на B и T-клетките (реобјавено од Messori, 2004). Првобитните студии со CIA сугерираат дека декомплементацијата околу очекуваното време на болеста понекогаш го одложува артритисот до комплементарно ниво, кое се враќа на нормалното, но не го намалува специфичното влијание на CIA врз третираната група. Ова подразбира рефлектирање на најважниот допринос на имуно-комплексно-медијативната активација на комплементот во воспалителниот процес на болеста (Breitner со сор., 1995). Притоа, не бил забележан клинички или хистолошки ефект за време на експерименталниот период во таа студија. Еден хипотетички заклучок е дека локално комплементарната синтеза и активација во воспалените зглобови сами по себе можат да играат значајна улога во постојаноста на процесот на болеста. Притоа, микро-околината може да биде релативно рефракторна на ефектите на системската декомплементација и теорија е соодветна на експерименталните докази изведени од воспалените животински зглобови (Cromartie со сор., 1977). Други студии со објавените извештаи за другите глувчешки модели на воспалителен артритис, исто така се следени со хронични, ерозивни и повратни фази на болеста во период од неколку месеци (Brackertz со сор., 1977; Cromartie со сор., 1977).

Во сите студии болеста е опишана со многу карактеристики на неред, во кој продуцираните антителата го напаѓаат сопственото нормално ткиво на организмот. Исто така, литературните податоци од истражувањата зборуваат за

тоа дека при RA, било тој да е предизвикан или спонтано се појавил, а посебно при хроничен облик кај живите организми настануваат промени како воспаление, оток, болка, отежнато движење, но и промени во крвта, односно изместувања како на хематолошките, така и на биохемиските параметри во серумот (Kamradt и Volkmer-Engert, 2004).

Нашето истражување беше насочено кон утврдување на тоа дали третманот со колаген тип II ќе предизвика ефект, и каков, врз имунолошкиот систем, хематолошките и биохемиските параметри кај белите лабораториски стаорци од сојот Wistar, од машки и женски пол на 30-иот и 60-иот ден од постимунизацијата. Со нашите испитувања и добиените резултати после третманот со колаген тип II, се покажа дека индуцираниот RA доведува до различно влијание врз поделните испитувани параметри и сумирано се гледа дека има влијание врз промената како на хематолошките, така и на биохемиските параметри во серумот кај испитуваните животни.

Подносливоста на колагенот кај стаорчињата после апликацијата го сметавме за задоволителен. Фреквенцијата и спектарот на несаканите дејства за време на третманот не се значително различни од несаканите ефекти опишани во протоколот за работа. Несакани ефекти се забележани само кај пет стаорчиња (3 машки и 2 женски или севкупно 4,16%). Тежината на несаканите дејства се сметаше првенствено како лесна, умерена во три случаи, а сериозно несакан настан со летален исход кај две машки животни. По неколку дена од аплицирањето на колагенот, кај стаорчињата се појави извесна вознемиреност, чешање и мала саливација, по што им се повлекоа овие симптоми. Немаше промени во исхраната, во смисла на зголемување или намалување на количината на храната после третманот. Пред крајот на третманот имаше значително намалување на бројот на болни и воспалени зглобови, како и на индикаторите за активност на болеста. Колаген-индуцираниот артритис предизвика реакција кај скоро 100% од имунизираните стаорци со колаген тип-II, што е јасно и од поединечно добиените резултати, како и од статистички обработените средни вредности.

Сите литературни податоци наведуваат дека RA како болест бара интердисциплинарен дијагностички пристап, вклучувајќи и континуирано интегрирање на новите достигнувања во науката, како и на базичната медицина

(Wraith со сор., 2003; Alarcon-Riquelme, 2004; Cooke со сор., 2004; Bach, 2005; Bouwman со сор., 2006;).

## 5.1. Крвна слика и диференцијална крвна слика

Оформените крвни елементи имаа важна улога во дијагностицирањето, следењето на заболувањето, адекватниот избор на тераписките средства и терапискиот третман, но уште позначајна улога и во следењето на терапискиот ефект и прогнозата на конечниот исход од терапијата кај болните со РА.

Индуцираниот РА, уште од самиот почеток доведува до промени во кардиоваскуларниот, ендокриниот и нервниот систем кај третираниите животни (Bouwman со сор., 2006). Во литературата постојат делумно потврдени информации за поврзаноста помеѓу предизвиканиот артритис и појавата на промените на хематолошките параметри. Овие промени првенствено се циркулаторни со хиперремија на зафатената област и овозможување да протече зголемен волумен на крв, со што би се транспортирале материји и клетки за „поправка на штетата“. Појавата на зголемена пермеабилност на мембраната на клетките вообичаено се случува при инфламацијата за дотур на материји во функција на претходно наведените механизми. Овие механизми кои што се одговорни за зголемената пермеабилност сеуште не се доволно разјаснети.

Негативниот ефект на CIA најмаркантно е изразен кај добиените резултати за бројот на еритроцитите кај машките животни. Кај женските иако има висок процент на отстапување помеѓу групите, сепак има несигнификантни разлики. Кај машката група јасно се гледа високо сигнификантна разлика во вредностите, посебно на 30-иот ден, споредени со контролата. Ова зборува дека CIA има значајно супримирачко дејство врз бројот на еритроцитите посебно после првиот месец од имунизацијата. Нашите добиени резултати за еритроцитите кај овие две групи се прикажани на графициите на сликите бр.1 и 2 и во табелите бр. 1 и 2 (стр. 82 и 83).

За машката популација резултатите се прикажани на графикот на сликата бр. 1. Тие се манифестираат преку намален број на еритроцити кај артрозната група на 30-иот ден во споредба со контролната група животни. Констатираните

промени се високо сигнификантни (KM:AM30 ден,  $P < 0.024$ ). Вредноста искажана во проценти покажува дека за 47,08% има намалување на бројот на еритроцитите кај артрозната машка група на 30-иот ден во споредба со контролната група. Резултатите на 60-иот ден, исто така покажуваат сигнификантна разлика во однос на контролата (слика бр. 1, KM:AM60 ден,  $P < 0.05$ ), или изразено во проценти има намалување на бројот на еритроцитите за 11,82%. Разликите помеѓу артрозните групи се во доменот на статистички значајни со  $P < 0,013$ , или процентуално изразена разликата е 66,63%.

Негативниот ефект на индуцираниот RA врз вкупниот број на еритроцитите е изразен и кај женската група на животни на 30-иот ден, но преку несигнификантното намалување на нивниот број кај третираната во однос на контролната група, што е видно од сликата бр. 2 (КЖ:АЖ30 ден,  $P > 0.05$ ). Процентот на намалување на бројот на еритроцитите е за 16,69%. На 60-иот ден од третманот кај женската група има незначајно намален број на еритроцитите за 12,02% во споредба со контролата (КЖ:АЖ60 ден,  $P > 0.05$ ).

Намалениот број на црвените крвните елементи е резултат на влијанието на RA, како врз другите органи и органски системи, така и врз крвта како течно сврзно ткиво. Некои од овие процеси се сеуште со некомплетно осознаен механизам и корелација помеѓу артритисот и бројот на крвните елементи (Davidson и Diamond, 2001), но се претпоставува дека RA има супримирачко дејство за еритроцитопоетската активност во коскената срцевина. Овој податок од нашите добиени резултати се совпаѓа со наодите на Bendele (2001) и Bouwman со сор. (2006). Според овие автори анемијата е најизразена кај акутната форма на болеста, а помалку при хроничен тек или ремисија на истата. Тие потенцираат дека кај околу 50% од пациентите, како и кај експерименталните животни се јавува одреден степен на анемија и еритропенија, односно намалено ниво на хемоглобинот. При состојба на активен RA често се јавува нормохромна, нормоцитна анемија, и се смета дека одразува неефективна еритропоеза, бидејќи во коскената срцевина се најдени големи резерви на железо. Според литературните податоци, генерално анемијата и тромбоцитозата соодветствуваат со активноста на болеста. Така, според Dürrigl (1997), хемоглобинот во крвта може да се намали до 6 g/dl, иако најчесто е намален на околу 9 g/dl. За споредба, кај здрав машки организам нивото се

движи околу 14-16 g/dl, а кај женските околу 12-14 g/dl хемоглобин во крвта. Според истиот автор карактеристична е и леукопенија со спленомегалија и развој на посебно тешка форма на RA, попозната како Feltyjev синдром. Притоа организмот е подложен на инфекција, се развиваат абнормалности на хепарот, и честа е појавата на васкулитиси, а инфекцијата е главна причина за смрт.

Мошне силен супримирачки ефект на индуцираниот RA врз содржината на хемоглобинот е нотиран кај артрозната машка група на 30-иот ден од третманот во споредба со контролната група на стаорци. Ова јасно се гледа од резултатите на сликата бр. 3, (KM:AM30 ден,  $P < 0.015$ ), што е високо сигнификантна разлика, или изразена во проценти вредноста на хемоглобинот е за 41,11% помала во споредба со контролата. Добиените резултати на 60-иот ден од третманот споредени со контролата не бележат сигнификантни промени (KM:AM60 ден,  $P > 0.05$ ), или искажано во проценти, намалувањето е за 4,80% кај артрозната група. Ако се споредат вредностите за хемоглобинот на артрозните машки групи од 30-иот ден и 60-иот ден се гледа дека има висок процент на разлика од дури 61,66% и вредност за  $P < 0.050$ .

Резултатите за вредноста на хемоглобинот кај женската група на животни за разлика од машката група покажуваат несигнификантни разлики на 30-иот ден во однос на контролната група (слика бр. 4, KЖ:АЖ30 ден,  $P = n.s$ ). Зголемување на вредноста во проценти е за 8,95% кај артрозната група. Ова забележано благо зголемување на содржината на хемоглобинот е без статистичка значајност. Карактеристична разлика во споредба со машката група на животни е дека на 30-иот ден има несигнификантно зголемена вредност за хемоглобинот, што не е случај кај машката артрозна група. Оваа разлика помеѓу машките и женските животни може да се објасни со разликите во хормоналниот статус, нервнохуморалната регулација кај двата пола на животни, различниот одговор на стрес ситуацијата, но и на реакцијата од самиот третман. Резултатите добиени на крајот од експерименталниот период, односно на 60-иот ден, кај артрозните женски животни не покажуваат разлики во однос на истите од контролната група на животни, или има мало намалување на вредноста, која не е во доменот на статистичка значајност (страна бр. 86, слика бр. 4, KЖ:АЖ60 ден,  $P = n.s$ ). Вредноста изразена во проценти бележи намалување кај артрозната



група за 11%. Се бележи разлика и помеѓу женската артрозна група на 30-иот и 60-иот ден од третманот со намалување на вредноста на 60-иот ден за 18,96%.

Разликите кои се бележат за вредностите на хемоглобинот се во корелација со вредностите кои се добиени за бројот на еритроцитите и се во согласност со добиените резултати од други автори (Davidson и Diamond, 2001; Bendele, 2001; Bouwman со сор., 2006). Тие наведуваат дека кај околу 50% болни од RA, и кај околу 50% од експерименталните животни се јавува анемија, односно намалено ниво на хемоглобинот. Нашите резултати се совпаѓаат со ова сознание и истото е конзистентен наод со известувањата од други студии. Така, според Dürrigl (1997), хемоглобинот во крвта при RA може да се намали до 6 g/dl, иако најчесто е намален на околу 9 g/dl. За споредба, кај здрав машки организам нивото се движи околу 14-16 g/dl, а кај женските околу 12-14 g/dl хемоглобин во крвта.

Ефектот на CIA во крвта беше испитуван и врз хематокритот, кај експерименталните групи од двата пола на белиот лабораториски стаорец, во споредба со контролите. Ефектот на индуцираниот RA врз хематокритот кај третираната во однос на контролната група на животни графички е прикажан преку резултатите на сликите бр. 5 и 6, и табелите бр. 5 и 6, на страна бр. 88, 89 и 90. Применетиот третман според програмата за работа, има свој ефект и врз овој параметар. Така, индуцираниот RA предизвикува намалување на вредноста за хематокритот кај експерименталните машки животни на 30-иот и на 60-иот ден од третманот. Разликата на 30-иот ден во споредба со контролната група е намалување за 37,17% (KM:AM30 ден,  $P=n.s.(0,70)$ ). На шеесетиот ден од третманот во споредба со контролата, хематокритот има помала вредност за 11,86% (KM:AM60 ден,  $P=n.s.$ ). Сите манифестирани промени кај групата на машки животни се гледаат од графикот на сликата бр. 5. Вредностите што ние сме ги добиле иако не влегуваат во доменот на статистички значајни, сепак, нотираат намалување на истите.

Кај женските артрозни животни на 30-иот ден има намалување за 14,86% во споредба со контролата, а на 60-иот ден намалувањето е за 18,79% (слика бр. 6, KЖ:АЖ30 ден,  $P>0.05$ ; KЖ:АЖ60 ден,  $P>0.05$ ). Добиените вредности и во двата периоди не покажуваат статистичка значајност. Повеќе од јасно е дека

вредностите за хематокритот ќе ги следат вредностите за бројот на еритроцитите, како оформени крвни елементи кои имаат најзначајна улога, бидејќи со најголем дел партиципираат во добивањето на хематокритската вредност.

Добиените резултати за тромбоцитите покажуваат дека има нивно намалување при RA на 30-иот ден од имунизацијата за 47,05% во однос на контролната група (страна бр. 91, слика бр. 7, КМ:АМ30 ден,  $P < 0.025$ ). Вредноста на испитуваниот параметар кај артрозните животни во споредба со контролните на 60-иот ден покажува несигнификантно повисока вредност за 18,43%, и  $P < 0.0436$ . Сето ова нè упатува да констатираме дека CIA има значајно супримирачко дејство врз бројот на тромбоцитите, но само во периодот до 30-иот ден од имунизацијата, што впрочем според протоколот за работа тоа е и периодот за имунизацијата. После овој период има зголемување на бројот на тромбоцитите. Вредноста за тромбоцитите кај машките, кои се добиени на 60-иот ден се за 123,69% повисоки во однос на 30-иот ден.

Кај женските артрозни животни на 30-иот ден во споредба со контролата вредноста за бројот на тромбоцитите е за 38,72% помала, но без статистичка значајност (КМ:АМ30 ден,  $P > 0.05$ ). На 60-иот ден се бележи зголемување на бројот на тромбоцитите за 26,90% во споредба со контролата (КМ:АМ60 ден,  $P > 0.05$ ), исто така без статистичка значајност. Добиените резултати за овој параметар графички се прикажани на сликата бр. 8 и табелата бр. 8, на страна бр.92. Слично како и за вредностите кои се добиени за машките животни, и кај женските има разлика од 107,08% на 60-иот ден во споредба со 30-иот ден од третманот (АМ30 ден:АЖ60 ден,  $P < 0.007$ ), што е високо сигнификантна разлика.

Генерално, според литературните податоци, анемијата и тромбоцитозата соодветствуваат со активноста на болеста, а овој податок е потврден и со нашите добиени резултати. Но, според Vanham со сор. (2006), при RA е намален бројот на тромбоцитите, но и нивото на протромбинот во крвта, кој нормално непрекинато се создава во хепарот, бидејќи се троши при коагулацијата на крвта. Нашите резултати за бројот на тромбоцитите, кои се добиени во оваа студија се во согласност со литературните податоци на Ishii со сор. (2006). Зголемувањето на васкуларизацијата е како резултат на CIA, односно има појава на

инфламација, што резултира со фокални лезии во зглобовите во смисла на отекување, болка и отежнато движење (Arnett, 1988), а ова би можела да биде и причината за зголемено создавање на тромбоцитите од мегакариоцитите во коскената срцевина.

Добиени резултати за бројот на леукоцитите, за машката и женската група на животни соодветно се прикажани на сликите бр. 9 и 10, на страните бр. 94, 95 и 96. Од графикот на сликата бр. 9 јасно се гледа дека има високо сигнификантно зголемување на бројот на леукоцитите на 30-иот ден кај артрозната машка група на стаорци во споредба со контролата (КМ:АМ30 ден,  $P < 0.022$ ), но на 60-иот ден има несигнификантно зголемување (КМ:АМ60 ден,  $P > 0.944$ ). Ова може да се објасни со тоа што артритисот после после првиот месец од индукцијата има период на смирување на бурниот одговор од страна на организмот, пред се на имунолошкиот систем, што се гледа и кај другите испитувани параметри од диференцијалната крвна слика. Ефектот на предизвиканиот РА најдобро се гледа кога процентуално ќе се споредат вредностите кај третираните во споредба со контролните групи на животни. Така, кај машката група на 30-иот ден има зголемување на бројот на леукоцитите за 352,66%, во споредба со контролата, а на 60-иот ден за 42,60%. Ако се споредат артрозните групи помеѓу себе на 30-иот и 60-иот ден се гледа дека има сигнификантна разлика во резултатите (АМ30 ден:АМ60 ден,  $P < 0.04$ ), односно намалување на бројот на леукоцитите на 60-иот ден за 68,49%, во споредба со 30-иот ден.

Резултатите за женската група на животни се гледаат од графикот на сликата бр.10 на страна 96. Забележливо е дека има следење на вредностите за машката група на животни. Имено на 30-иот ден од третманот има сигнификантно зголемување на бројот на леукоцитите во споредба со контролата (КЖ:АЖ30 ден,  $P < 0.042$ ), или процентуално за 185,86%, а на 60-иот ден има несигнификантно намалување на бројот на леукоцитите за 14,49% во однос на контролната група (КЖ:АЖ60 ден,  $P > 0.972$ ). Овде кога ќе се споредат помеѓу себе артрозните групи на женски животни, за разлика од кај машките, се добива сигнификантна разлика (АЖ30 ден:АЖ60 ден,  $P < 0.013$ ), или процентуално на 60-иот ден има намалување на бројот на леукоцитите за 70% во споредба со контролата.

Литературните податоци сугерираат дека при RA, генерално бројот на леукоцитите обично е нормален, но може да се јави и во форма на леукоцитоза, како и леукопенија, без карактеристични знаци на Feltyev синдром, но доколку има присуство на еозинофилија, најверојатно има тешко системско заболување. Wraith со сор. (2003), во своето истражување наведуваат дека третираниите стаорци со колаген тип II развиваат леукопенија (помалку од 4000/  $\mu$ l леукоцити), лимфопенија (помалку од 1500/  $\mu$ l лимфоцити) и тромбоцитопенија (помалку од 100 000 тромбоцити), но после подолг период од развојот на болеста. Нормално би било да во првиот контакт со туѓата внесена супстанција или агенс во организмот има одбрамбена реакција и зголемување на бројот на леукоцитите. Подоцна, клеточниот имунолошки одговор на различни антигени, може да доведе до оштетување на мобилниот дел на имунолошкиот систем, односно на леукоцитите со појави на секундарна реакција, со инфламација и фиброза, што пак доведува до леукопенија (Markelevic со сор., 2006).

Резултатите од диференцијалната крвна слика за лимфоцитите, моноцитите и гранулоцитите графички се прикажани на сликите бр. 11, 12, 13, 14, 15 и 16, како и во табелите бр. 11, 12, 13, 14, 15 и 16, на страните бр. 97, 98, 100, 101, 102, 103 и 104, соодветно за видот на леукоцитите и за полот.

Од графичкиот приказ на сликата бр. 11, за лимфоцитите кај машката група, забележливо е дека на 30-иот ден од имунизацијата има зголемување на бројот на лимфоцитите во споредба со контролата за 352,17%, што е статистички значајна разлика (KM:AM30 ден,  $P < 0.022$ ). На 60-иот ден зголемувањето е за 42,29%, во споредба со контролата, а вредноста не е во доменот на статистички значајна разлика (KM:AM60 ден,  $P > 0,944$ ). Разликата кај артрозните машки групи е статистички значајна (AM30 ден:AM60 ден,  $P < 0.045$ ), или процентуалната разлика помеѓу нив е за 68,53% намален бројот на лимфоцитите кај артрозната група на 60-иот ден споредено со 30-иот ден.

Кај женската артрозна група на 30-иот ден во споредба со контролата се забележува зголемување на бројот на лимфоцитите за 184,84% (слика бр. 12, KЖ:АЖ30 ден,  $P < 0.042$ ), додека на 60-иот ден се бележи намалување за 15,15%, без статистичка значајност (KЖ:АЖ60 ден,  $P > 0.972$ ). Споредени помеѓу себе женските артрозни групи нотираат статистички значајна разлика (АЖ30

ден:АЖ60 ден,  $P < 0.013$ ), или помал број на лимфоцитите на 60-иот ден за 70,21%, во споредба со 30-иот ден.

Некои автори потенцираат дека ревматоидните воспаленија, автоимуните болести и автоимуните синдроми припаѓаат на посебна група на болести во хуманата патологија, кои манифестираат клинички, серолошки и патохистолошки знаци за активирање на автореактивните клонови на лимфоцитите (Vander Borghт и Nelson, 2001; Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Активирањето на имунолошкиот состав кај овие болести се гледа во појавата на автоантитела на еден или повеќе автоантигени, а настануваат кога имунолошкиот систем ќе изгуби контрола над делот на лимфоцитите кои се специфично автореактивни со клетките на сопствениот организам, функциските и ткивните антигени односно рецептори (Banham со сор., 2006; Ishii со сор., 2006). Студијата на Davidson и Diamond (2001), укажува дека индуцираниот RA може да предизвика автоимунa реакција и зголемена синтеза на нуклеински киселини. Но, сеуште е нејасно како се индуцира или инхибира автоимуната реакција и како се одвива процесот (Markelevic, 2006; Davidson и Diamond, 2001).

Вредностите кои се добиени за бројот на моноцитите кај артрозните машки стаорци споредени со контролната група покажуваат дека има сигнификантно зголемување на 30-иот ден, споредено со контролната група (слика бр.13, КМ:АМ30 ден,  $P < 0.022$ ), или зголемувањето на бројот на моноцитите кај артрозната група на 30-иот ден во споредба со контролата е за 352,98%. На 60-иот ден разликата е 42,70%, со несигнификантно зголемена вредност (КМ:АМ60 ден,  $P > 0.944$ ). Вредноста за бројот на моноцитите помеѓу артрозните групи на 30-иот и 60-иот ден се статистички без значајна разлика (АМ30 ден:АМ60 ден,  $P < 0.065$ ), односно, намалувањето на 60-иот ден во споредба со 30-иот ден е за 68,49%.

Кај женската група вредноста за бројот на моноцитите на 30-иот ден е за 159,21% поголем во однос на контролата, што претставува статистички значајна разлика (слика бр. 14, КЖ:АЖ30 ден,  $P < 0.042$ ). На 60-иот ден се бележи намалување на бројот во споредба со контролата за 22,26%, со несигнификантна разлика помеѓу групите ( $P > 0.972$ ). Споредени вредностите за артрозните групи на 30-иот и 60-иот ден покажуваат намалување на бројот на

моноцитите на 60-иот ден за 70,01%, со статистички значајна вредност ( $P < 0.013$ ).

Вредностите за бројот на гранулоцитите кај машките и женските групи се прикажани на графиците од сликите бр. 15 и 16. Од графикот на сликата бр.15 се гледа разликата во бројот на гранулоцитите на 30-иот и 60-иот ден споредени со контролата кај машката група. Притоа, забележливо е дека вредностите за бројот на гранулоцитите е во корелација со другите вредности за диференцијалната крвна слика. Така, кај машката група на 30-иот ден во споредба со контролата, има зголемување на бројот на гранулоцитите за 352,66%, со статистички значајна разлика (КМ:АМ30 ден,  $P < 0.022$ ). На 60 ден се нотира поголема вредност од контролната група за 42,60%, без статистичка значајност ( $P < 0.944$ ), а кога ќе се споредат артрозните групи меѓусебно покажуваат сигнификантно намалување за бројот на гранулоцитите на 60-иот ден за 68,49% (АМ30 ден:АМ60 ден,  $P < 0,055$ ), во споредба со 30-иот ден.

За женската група резултатите од овој параметар се прикажани на сликата бр. 16. Од графикот и статистички пресметаните вредности во табелата бр. 15, на страната бр. 104, јасно е видливо зголемувањето на бројот на гранулоцитите на 30-иот ден од имунизацијата за 185,04% во споредба со контролата, со вредност за  $P < 0.042$ , што претставува статистички значајна разлика. На 60-иот ден се забележува намалување на бројот за 14,52% во однос на контролата, што е несигнификантна разлика со вредност за  $P > 0.972$ . Споредени меѓусебно вредностите за бројот на гранулоцитите на 30-иот и 60-иот ден кај женската група покажуваат намалување на 60-иот ден за 70,01%, разлика која влегува во кругот на статистички значајни вредности (АЖ30 ден:АЖ60 ден,  $P < 0.013$ ). Од хистограмите се гледа дека RA предизвикува промени врз бројот на гранулоцитите во крвта и кај машките и кај женските стаорци. Тие се манифестираат преку сигнификантно зголемен број на гранулоцитите кај артрозната група на 30-иот ден од постимунизацијата во споредба со контролната група на животни.

Дискутирајќи ги добиените резултати за гранулоцитите забележуваме дека слични, ако не и исти, се ефектите кои CIA ги предизвикува кај другите крвни елементи од диференцијалната крвна слика. Прекумерното ограничување на гранулоцитите предизвикано од антителата, активацијата на комплементот и

поврзувањето на имуните комплекси, може да придонесат за гранулоцитопенија. Пациентите со Feltyev синдром обично се поподложни на инфекции поврзани со неутропенија. Причината за зголемената подложност на инфекции се доведува во врска со дефектната функција на PMNL, како и со намалениот број на клетки. Benslay и Bendele (1991), како и Probert со сор. (1996), наведуваат дека леукопенијата е селективна неутропенија со број на PMNL од 1500 клетки/ $\mu$ L крв, а понекогаш и под 1000 клетки/ $\mu$ L крв. Испитувањата на коскената срцевина открила умерена хиперцелуларност со недостиг на зрели неутрофили (Kitsis, 2000). Сепак, коскената срцевина може да биде нормална, хиперактивна или хипоактивна, но може да се забележи и застој во созревањето на клетките или во процесот на целосната диференцијација кај истите, кој може да биде нарушен. Хиперспленизмот при RA е посочен за еден од можните причинители на леукопенија, иако не секогаш се јавува спленомегалија.

Други автори пак наведуваат дека базофилите и маст клетките содржат и може да ослободат материја наречена хистамин (Vanham со сор., 2006; Ishii со сор., 2006), при што е интересно дека хистаминот е способен да продуцира ефекти, опишани претходно, како симптоми на воспаление.

## 5.2. Ревматоиден фактор (RF)

Нервноендокрината регулација на имунитетот подразбира хомеостаза помеѓу централниот и периферниот нервен систем, хормоналниот циклус, клеточната и хуморалната интеракција со цитокините, невропептидите и хемокините (Burnet со сор., 1959; Davidson и Diamond, 2001; Oldstone со сор., 2005; Markelevic, 2006). Повеќето автори наведуваат дека инциденцата на RA континуирано се зголемува со возраста, и тоа посебно после шеесетатта година од животот, со многу понеповолна прогноза (Brooks и Day, 1991; Joosten со сор., 1996; Bendele со сор., 1999; Yoshida со сор., 1999). Ова се поврзува со подолгата активност на болеста, почестите системски нарушувања и побрзото функционално истоштување на организмот.

Податоците потврдуваат дека RF не е специфичен за RA и секогаш треба дополнителни лабораториски и други иследувања за сигурна дијагноза. RF понекогаш е позитивен и кај околу 50% од клинички здравите лица, особено кај

пациенти над шеесет годишна возраст, а понекогаш и кај хепаталните заболувања, хронични инфективни заболувања и други болести, но карактеристично е тоа што при полиартикуларен облик на JIA е со постојано висока концентрација. Агресивната форма на болеста претежно е својствена за пациентите со високи титри на RF, додека спротивно на ова, постарите пациенти кои развиваат RA без покачени титри на RF (серонегативно заболување) се со помалку сериозно, често само ограничено заболување. David и Liold (1998), истакнуваат дека вонзглобните манифестации најчесто се јавуваат кај пациентите кои боледуваат од напредната фаза на болеста, кои најчесто се и серопозитивни на RF при самиот хроничен тек на болеста, а поретко при акутната форма. Покачените серумски вредности за антителата кои се специфични за RA, односно RF, се создаваат во синовијата на зглобовите и е позитивен кај околу 75% од животните кои се со симптоми на RA, но не е сигурен знак за постоење на болеста (Schumacher, 1994).

RF може да биде докажан во 70 до 80% од случаите, и претставува автоантитела (главно од тип IgM), насочени против Fc-фрагменти на IgG. Важно е да се истакне дека кај околу 80% од пациентите со RA има зголемени вредности и за серумски IgM (и помалку зачестено IgG), автоантитела кои се сврзуваат за Fc-фрагментот на нивните сопствени IgG. Овие автоантитела се наречени RF. Тие можат да создаваат имунолошки комплекси со авто-IgG, кои се таложат во зглобовите и во другите ткива, при што доведуваат до воспаление и оштетување на ткивото. Сепак, улогата на RF во патогенезата на зглобните и екстраартикуларните лезии сеуште не е утврдена и кај околу 20% од пациентите нема RF, што сугерира дека овие автоантитела не се суштински за ткивната лезија кај RA (Vinay со сор., 2007). Ревматоидните пациенти имаат оштетување на целуларниот и хуморалниот имунитет. Fc-фрагмент на IgG е и самиот антиген, така да се создаваат циркулирачките високомолекуларни имунокомплекси IgG-RF и истата молекула игра улога и на антиген и на антитело. Кај околу 80% од болните се наоѓаат циркулирачките автоантитела, наречени RF, и истите се најдени кај повеќе од две третини од возрасните заболени лица. Тестовите во голема мера детектираат и IgM-RF. Но, присуството на RF не е строго специфичен за RA, бидејќи ваквиот фактор е најден и кај околу 5% од здравите лица, а со зголемувањето на возраста



застапеноста на RF се зголемува за 10 до 20% кај лицата над 65 годишна возраст (Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Ова значи дека и голем број на други болести се поврзуваат со присуството на RF, како и фактот дека предиктивната вредност на овој фактор е слаба, бидејќи се смета дека кај помалку од една третина од лицата со позитивни тестови за RF имаат и позитивна дијагноза за RA (Schumacher, 1994; Davidson и Diamond, 2001; Markeljevic, 2005).

Нашите резултати за ефектот на CIA врз RF како параметар кој се испитуваше се негативни, како кај контролната група, така и кај ревматоидните машки и женски групи на 30-иот и на 60-иот ден од постимунизацијата. Резултатите се прикажани во табелите бр. 17 и 18, на страна бр.105. Ваквите резултати може да се споредат со податокот на Bethesda (1999), кој наведува дека може да има и негативни вредности за RF, и дека истиот не секогаш е позитивен при CIA. Од друга страна, ова може да се објасни со искористувањето на протеините за одбрамбени цели против внесениот надворешен агенс и нивното трошење во услови на вонредна состојба на организмот за одбрана при навлегување или внесување на туѓ агенс во организмот, или пак со намалената синтеза на истите, како резултат на лезија и дезинтеграција на клетките (Joosten со сор., 1996; Bendele со сор., 1999). Имено, при воспалителниот процес во акутната фаза, прв одговор е растењето на протеините од акутната фаза, кои стимулираат каскаден процес за синтеза на имуномедијатори, молекули од типот на цитокини и интерлеукини. Воспалителниот одговор, следен со брза реакција и зголемена синтеза на наведените супстанции, во текот на имунолошката реакција доведува до намалување на истите, со паралелна промена на внатрешниот дел од ткивото на крвните садови и учество во процесот на артериосклероза, но и до промена во структурата на зглобовите, предизвикувајќи RA или артроза (Bethesda, 1999).

Присуството на RF има важно прогностичко значење (иако несекогаш е специфичен за RA), бидејќи пациентите со високи титри имаат тенденција кон потешко и попрогресивно заболување со потешки екстраартикуларни манифестации, што севкупно зборува за понапреднат стадиум на болеста. Анализите за RF ние ги вршевме на 30-иот и 60-иот ден од постимунизацијата што хипотетички може да биде рана фаза за висока вредност на RF. Ова може

да сугерира дека тестот за RF се употребува поради потврда на дијагнозата кај лицата со индикативна клиничка презентација и доколку RF е присутен со висок титар, да ги одреди и дефинира пациентите со висок ризик од тешко системско заболување (Markeljevic, 2005). Нормалните вредности на RF во почетните недели после третманот укажуваат на можноста за рана фаза за позитивни вредности на RF (Haugeberg со сор., 2000; Haugeberg со сор., 2002).

### 5.3. Ц- реактивен протеин (CRP)

Применетиот третман, според програмата за работа, и нашите добиени резултати, покажуваат дека CIA има свој ефект и врз овој параметар, иако вредностите кои се добиени не се со статистичка значајност. Резултатите од нашите испитувања графички се прикажани на сликите бр. 17 и 18, и табелите бр. 19 и 20, на страните бр. 106, 107 и 108.

Резултатите кои што се добиени за машките животни на 30-иот ден од имунизацијата се несигнификантно помали во споредба со контролната група (KM:AM30 ден,  $P > 0.05$ ), а намалувањето е за 18,96% споредени со контролната група. За разлика од овој период, добиените резултати во услови на CIA на 60-иот ден, покажуваат несигнификантно повисоки вредности за CRP кај артрозните машки животни во споредба со контролната група на машки стаорци (KM:AM60 ден,  $P > 0.05$ ), а вредноста споредена со контролата е за 29,50% повисока во наведениот период. Разликата на вредноста од 30-иот ден, во споредба со 60-иот ден е за 59,81% поголема на 60-иот ден, но сепак не е со статистичка значајност.

Добиените резултати кај женските стаорци на 30-иот ден покажуваат дека има несигнификантно повисока вредност, но и на 60-иот ден од имунизацијата во споредба со контролата, со таа разлика што на 60-иот ден има намалување на вредноста во споредба со 30-иот ден за 3,45%. Споредени вредностите кај женската група на 30-иот ден со онаа кај контролната група, покажуваат поголема вредност за 14%, но вредноста не е статистички значајна (КЖ:АЖ30 ден,  $P > 0.05$ ). Стимулирачкиот ефект на RA врз CRP на 60-иот ден кај женската група на артрозни животни, споредени со контролата, не е така изразен како кај

машките животни. Овде има зголемување а 10,05%, со вредност која не влегува во кругот на статистичка значајност (КЖ:АЖ60 ден,  $P>0.05$  ).

Според литературните податоци (Ном со сор., 1988; Ном со сор., 1990; Edwards со сор., 1999; Bran со сор., 2000), лабораториските анализи покажуваат зголемување на вредностите за CRP, зголемување на соодносот помеѓу  $\alpha$ -2 и  $\gamma$ -глобулините, како и зголемување на серумското железо, потоа на бакарот и појава на анемија, но и овде се нагласува дека секогаш не е така. Имено, кај здравата популација, наодот за зголемено CRP е од 5% до 8% додека кај артрозната, истиот се среќава дури до 80% од случаевите, но вредностите може и да не се зголемени (Bell со сор., 1998). Логички би било, и за очекување при RA да има зголемени вредности за CRP во серумот, кој е продуциран во црниот дроб, како одговор на ексцитираниот имун систем, што сè заедно упатува на тератогениот ефект на артритисот, меѓудругото и врз црниот дроб (Corless и Middleton, 1983). Животните кои се со индуциран RA, а кај кои нема детектиран RF, според овие автори, може да се најдат покачени вредности за CRP, што се потврдува и од нашите добиени резултати, каде се гледа зголемување на вредноста за овој параметар кај артрозните во споредба со контролните групи, иако вредноста од разликата не влегува во доменот на статистичка значајност. Карактеристично за RA освен присуството на CRP е и вискозноста на плазмата.

#### **5.4. C3 и C4 компонента на комплементот**

Во нашите испитувања сакавме да видиме дали CIA кај белиот лабораториски стаорец од сојот Wistar има ефект, и каков, врз C3 и C4 компонентата на комплементот.

Вредностите за C3 и C4 компонентите на комплементот, добиени од испитувањата кај контролните машки и женски, и животните кои беа со предизвикан RA се прикажани соодветно на сликите бр. 19, 20, 21 и 22, соодветно на страните 110, 111, 112 и 114 . Графиците покажуваат промени на артрозните машки и женски стаорци, во однос на контролната група на животни.

Резултатите кои го покажуваат ефектот на предизвиканиот RA кај белиот стаорец врз C3 компонентата на комплементот, кај третираните машки и женски животни соодветно во однос на контролните групи, графички се прикажани на

сликите бр. 19 и 20. Притоа, кај машките животни на 30-иот ден има намалена вредност за С3 компонентата на комплементот за 12,69% но, вредноста не е со статистичка значајност (КМ:АМ30 ден,  $P>0.05$ ). На 60-иот ден од третманот исто така има намалена вредност за С3 компонентата, во однос на контролата, за 2,03%, што покажува тенденција на зголемување во споредба со 30-иот ден, но иако вредноста е приближна со онаа кај контролната група, сеуште е помала. Разликата е без статистичка значајност (КМ:АМ30 ден,  $P>0.05$ ). Ако се споредат помеѓу себе артрозните групи на 30-иот и на 60-иот ден од имунизацијата, се гледа дека на 60-иот ден има зголемување на вредноста за С3 за 12,20% во споредба со 30-иот ден.

СИА предизвикува промени врз С3 компонентата на комплементот и кај женската група на животни. И овде разликата не е статистички значајна. Отстапката кај третираната група на женски животни на 30-иот ден во споредба со контролата бележи 6,66% намалување, додека оваа разлика кај групата на 60-иот ден во однос на контролата е повисока за 1,38% (страна бр. 110, слика бр.20, КЖ:АЖ30 ден,  $P>0.05$ ; КЖ:АЖ60 ден,  $P>0.05$ ). Во однос на истиот параметар, споредбено кај женските артрозни животни се констатира дека исто така има несигнификантно помала вредност за С3 компонентата на комплементот, на 30-иот ден во однос на 60-иот ден. Разликата е 8,63%.

Резултатите кои го покажуваат ефектот на СИА кај белиот стаорец врз С4 компонентата на комплементот, кај третираните машки и женски животни соодветно во однос на контролните групи, графички се прикажани на сликите бр. 21 и 22. Забележлива е тенденцијата за следење на овие два параметри, односно вредностите се доста слични за С3, како и за С4 компонентата. Кај машките животни на 30-иот ден, исто така, има намалена вредност за С4 компонентата на комплементот за 12,74%, и истата нема статистичка значајност (КМ:АМ30 ден,  $P>0.05$ ). И на 60-иот ден од третманот има намалена вредност за С4 компонентата на комплементот, во споредба со контролата, но за 2,33%, што покажува тенденција на зголемување во споредба со 30-иот ден. Иако вредноста е приближна со онаа кај контролната група, сеуште е помала. Разликата е без статистичка значајност (КМ:АМ30 ден,  $P>0.05$ ). Ако се споредат помеѓу себе артрозните машки групи на 30-иот и на 60-иот ден од имунизацијата, се гледа

дека на 60-иот ден има зголемување на вредноста за C4 за 11,92% во споредба со 30-иот ден.

Индуцираниот RA предизвикува промени врз C4 компонентата на комплементот и кај женската група на животни. И овде разликата нема статистичка значајност. Отстапувањето кај третираниот група на женски животни на 30-иот ден во споредба со контролата бележи намалување од 6,49% додека оваа разлика кај групата на 60-иот ден во однос на контролата е повисока за 1.72% (страна бр. 113, слика бр.22, КЖ:АЖ30 ден,  $P>0.05$ ; КЖ:АЖ60 ден,  $P>0.05$ ). Споредени женските артрозни животни помеѓу себе на 30-иот и на 60-иот ден покажуваат разлика од 8,79% повисока вредност на 60-иот ден, вредност која не е сигнификантна,  $P=n.s.$

Според некои автори (Banerjee со сор., 1989), студираниот улога на комплементот во CIA кај стаорецот (првобитно испитувана кај зајакот), покажува значаен контраст со повеќето клинички ефекти кај овој модел, забележани во интраартикуларната инхибиција на комплементот. Други испитувања, исто така, ја потенцираат зголемената поврзаност на синтезата на локалниот комплемент и активацијата на воспалените делови, кои играат улога во постојаноста на болеста (Athanasou со сор., 1988). Истите автори наведуваат дека RA доведува до намалување на C3 и C4 фракцијата на комплементот, во зависност од времетраењето и од активноста на воспалението и на циркулирачките имунокомплекси. Ова се забележува и кај нашите добиени резултати на 30-иот ден. Исто така, наведените автори истакнуваат дека кај RA, компонентите на комплементот на плевралната течност се ниски, во споредба со серумските нивоа, кога ќе се поврзат и се направи паралела со целокупната концентрација на протеините. Селективното мерење за C3 и C4 компонентата на комплементот, според нив, не дава доволно релевантни информации за другите компоненти на комплементот, за вкупниот комплемент, како и за нивната взаемна активност. Тие наведуваат дека вкупниот капацитет е детерминиран не само преку концентрацијата, односно активноста на индивидуалните компоненти на комплементот, туку и преку степенот на нивното синергистичко дејство. Споредните продуктите од воспалителниот процес при RA, иницираат понатамошни ланчани имунолошки реакции и трошење на компонентите на комплементот (Banerjee со сор., 1989), потоа протеините, а ова севкупно може

да доведе до намалување на вкупните протеини во серумот, како и намалување на продукцијата на протеините со намалување на физиолошките функции и прогресирање на болеста (Samarko и Vaioroulos, 2005). Притоа, дури и ситните лезии може да имаат значајни биолошки последици, доколку репаративниот систем не може да ги отстрани. Вкупниот хемолитички комплемент, C3 и C4 се значително намалени во синовијалната течност, во однос на концентрацијата на протеините, што е резултат на активацијата на класичната патека на комплементот преку локално создадените имунокомплекси. Карактеристика за болести со имунолошки подлога како RA, се намалување на C3 и C4 фракцијата на комплементот во зависност од активноста на воспалението на циркулирачките имунокомплекси. Некои автори токму ова го наведуваат како причина што RA ретко се развива кај Афроамериканците, а почесто кај белците каде се присутни циркулирачките имуни комплекси, со забележана и нагласена потрошувачка на комплементот (Hom со сор., 1991; McComb со сор., 1999; Anthony со сор., 2008).

## **5.5. Имуноглобулин А (IgA), имуноглобулин G (IgG) и имуноглобулин M (IgM)**

Во текот на нашата експериментална работа го испитувавме и ефектот на индуцираниот RA кај белиот лабораториски стаорец од сојот Wistar, како кај машки, така и кај женски единки, врз вредноста за имуноглобулините А, G и M кај третираниите во однос на контролните групи животни. Добиените резултати графички се прикажани на сликите бр. 23, 24, 25, 26, 27 и 28, од страните бр. 115, 116, 118, 119, 120 и 121.

Резултатите за IgA кај артрозната група на машки и женски животни во споредба со контролната група покажуваат дека тој не предизвикува значајни промени кај овој испитуван параметар (слики бр. 23 и 24, страна бр. 114 и 115). Предизвиканиот RA кај третираниите група на машки животни на 30-иот и на 60-иот ден од третманот, во однос на контролната група на стаорци, за IgA е скоро без ефект (слика бр. 23, KM:AM30 ден, P= n.s; KM:AM60 ден, P= n.s ). Вредноста не влегува во доменот на статистичка значајност, а разликата е за 10% на 30-

иот и за 20% на 60-иот ден од третманот, во однос на вредностите за овој параметар кај контролата. Резултатите за IgA кај двете експериментални групи на женски животни, во споредба со контролата, кои се дадени на сликата бр. 24, ни даваат за право да заклучиме дека кај артрозните женски животни како резултат на третирањето со колаген тип-II доаѓа до зголемување на содржината на IgA, на 60-иот ден од третманот, додека на 30-иот ден останува иста со онаа вредност што е кај контролата (КЖ:АЖ30 ден,  $P=1$ ; КЖ:АЖ60 ден,  $P>0.05$ ). Споредени резултатите во проценти, покажуваат дека кај артрозната женска група на 60-иот ден, во однос на контролата има за 30% повисока вредност за IgA, но без статистичка значајност, со вредност за  $P>0.842$ .

Графичкиот приказ на сликата бр. 25 покажува дека CIA има силно супримирачко дејство врз содржината на IgG во серумот кај артрозната машка група на животни во споредба со контролата. Така, од прикажаните резултати на истата слика, јасно се гледа дека кај третираните животни колагенот тип-II условува намалување на концентрацијата на IgG во серумот со вредност која е статистички значајна (КМ:АМ30 ден,  $P<0.05$ ). Изразена вредноста во проценти на 30-иот ден е помала за 62,66% а на 60-иот ден е помала за 65,91% во однос на контролата, со сигнификантна разлика (КМ:АМ60 ден,  $P<0.05$ ). Споредени резултатите за IgG за артрозните групи на 30-иот и 60-иот ден, покажуваат дека кај втората артрозна група има намалување на вредноста за 8,70%, вредност која не влегува во кругот на статистичка значајност, со вредност за  $P>0.999$ . Слична разлика за IgG е забележана и кај женската артрозна група на животни на 30-иот и на 60-иот ден од третманот, споредена со контролната група. Вредностите графички се прикажани на сликата бр. 26, на страната бр. 118. Од истата се гледа дека ефектот од предизвиканиот RA е силно супримирачки за IgG и кај оваа група на животни (КЖ:АЖ30 ден,  $P<0.05$ ; КЖ:АЖ60 ден,  $P<0.05$ ; КЖ30 ден:КЖ60 ден,  $P=1$ ). На 30-иот ден процентуално вредноста за IgG е помала за 58,55% во споредба со контролата, а на 60-иот ден е помала за 57,66%. Разликата во проценти помеѓу артрозните групи на 30-иот и 60-иот ден е само 2,1%, со вредност за  $P=1$ , што значи намалената вредност за овој параметар на 30-иот ден останува на ова ниво и на 60-иот ден, со што се констатира дека супримирачкото дејство на CIA се задржува.

Нашите добиени резултати за ефектот на индуцираниот RA врз IgM кај белиот стаорец графички се прикажани на сликите бр. 27 и 28, соодветно за машката и женската група. Од графичкиот приказ на резултатите за машката група (слика бр. 27, страна бр. 119) видливо е дека резултатите кои се добиени не се во кругот на статистичка значајност (KM:AJ30 ден,  $P > 0.05$ ; KM:AM60 ден,  $P > 0.05$ ), иако се нотираат отстапувања. Споредени вредностите во проценти покажуваат дека на 30-иот ден од третманот има за 11,11% повисока вредност во однос на контролата, а за 22,22% помала вредност за овој параметар на 60-иот ден, во споредба со контролната група. Споредени помеѓу себе овие две артрозни машки групи на животни имаат разлика од 30%. Резултатите кои го покажуваат ефектот на CIA врз овој параметар кај женската група се прикажани на сликата бр. 28. Од графичкиот приказ се гледа дека индуцираниот артритис нема супримирачко дејство врз содржината IgM во серумот. Напротив, на 30-иот ден од постимунизацијата има зголемување на вредноста за овој параметар, која не е со статистичка значајност (KJ:AJ30 ден,  $P > 0.05$ ), или во проценти има поголема вредност за 40%, а на 60-иот ден има враќање на вредноста на ниво на контролната група (KJ:AJ60 ден,  $P = 1$ ), односно нема разлика во проценти во споредба со контролната група на женски животни. Меѓусебно споредени артрозните групи покажуваат разлика од 28,57% за вредноста на IgM, намалена на 60-иот ден, со вредност за  $P > 0.301$ .

Според истражувањата на Christen (2005), ова е резултат на зголемениот проток на крв во областа каде заздравува ткивната лезија а антителата се поврзуваат со хиперсензитивни антигенски реакции, предизвикувајќи дегранулација на маст-клетките со ослободување на хистамин и зголемување на синтезата на нуклеинските киселини. Околу 80% од пациентите имаат серумски IgM автоантитела кои се сврзуваат за Fc-фрагментот на нивните сопствени IgG. Овие автоантитела се наречени RF. Токму ова може да биде објаснување зошто има негативна вредност за RF кај артрозните животни во двата периоди. Истите можат да создаваат имунолошки комплекси со авто-IgG, кои се таложат во зглобовите и во другите ткива, доведувајќи до воспаление и до оштетување на ткивото (Terato со сор., 1982; Van Vollenhoven со сор., 1988; Bendele со сор., 1999; Brooks и Day, 1991; Joosten со сор., 1996; Vinay со сор., 2007; Anthony со сор., 2008). Затоа ревматоидните пациенти имаат оштетувања



и на целуларниот и на хуморалниот имунитет (Carlson со сор., 1985; Van de Langerijt со сор., 1994; Kouskoff со сор., 1996; Weinrich со сор., 1997; Zuckerman и Bendele, 1989). Fc-фрагмент на IgG е и самиот антиген, така да се создаваат циркулирачките високомолекуларни имунокомплекси IgG-RF и истата молекула игра улога и на антиген и на антитело. Според Ishii со сор. (2006), Ebringer со сор. (2006), кај 80% од болните доаѓа до намалување на IgA и IgG, а зголемување на IgM. Податоците од овие автори се совпаѓаат со резултатите кои ние сме ги добиле. Ние во нашите испитувања констатиравме дека RA има супримирачки ефект врз IgA и IgG, но не и врз вредноста за IgM, каде нашите резултати покажуваат зголемени вредности, но без статистичка значајност. Единствено на 60-иот ден од третманот кај машката група на артрозни стаорци има несигнификантно намалена вредност за IgM. Кога се дискутира за имунолошкиот статус на организмот при инфекција, интересно е да се споменат добиените резултати од истражувањата направени во Габон, каде се покажало дека деца кои преболеле инфекција со паразити воопшто не заболуваат од автоимуни болести (Vocanegra, 1994; Ebringer и Rashid, 2006; Zampieri со сор., 2004), што е интересен податок за науката.

## **5.6. Антистрептолизински тест (OAST)**

Еден од испитуваните параметри при состојба на CIA во експериментот беше и OAST. Од нашите добиени резултати кои се дадени во табелите бр. 31 и 32, на страната бр. 122, се гледа дека CIA покажува негативна вредност за OAST. Негативно добиена вредност има и кај машките и кај женските животни, кај контролните групи, и кај артрозните животни на 30-иот и на 60-иот ден од третманот.

Кога ќе се споредат резултатите добиени во нашата студија, со податоците на Bendele (2001), може да се забележи коинциденција кај делот за резултатите за OAST. Имено, во прилог на нашите истражувања и добиените негативни резултати одат и резултатите на овој автор, кои покажале исто така негативни вредности за OAST кај стаорците, но и кај морското прасе како животински модел. Добиените резултати од други истражувања (Ebringer и Rashid, 2006), покажуваат дека има и позитивни вредности кај постари единки.

Податоците од овие истражувања ја потврдиле широко прифатената теорија за стареењето како примарен процес поврзан со дегенеративните промени, како придружен дел на процесот за развојот на RA. Овие, но и други автори, пронашле докази за намалена синтеза на протеини, што сугерира проблем при самата синтеза на истите (Terato со сор., 1982; Van Vollenhoven со сор., 1988; Brooks и Day, 1991; Joosten со сор., 1996; Bendele со сор., 1999). Во прилог на ова е и податокот дека дисфункцијата на протеинската синтеза за време на комплементарната каскада е проблематичен. За негативните вредности кај овој параметар најверојатно причината е временскиот период кој е потребен за развој на болеста. Имено, за развој на RA во природни услови е потребно многу подолг временски период, при што можно е при третманот за CIA временскиот интервал да е краток.

## **5.7. Антинуклеарни антитела (ANA)**

Антителата во крвта имаат заштитна улога против надворешните агенци. Автоантителата се специфични протеини присутни во крвта, кои се производ на пореметената реакција во имунолошкиот систем на организмот. ANA се присутни во 30 до 40% од случаите, и се необични антитела откриени во крвта, кои исто така, се производ на пореметен имунолошки одговор и имаат способност да се врзуваат со одредени структури во јадрото на клетките, кое содржи DNA, основниот генетски материјал на клетките. ANA се пронајдени кај пациентите и експерименталните животни чии имунолошки систем е склон да предизвика воспаление на сопствените телесни ткива. Антителата кои се насочени против сопствените ткива се автоантитела, а склоноста на имунолошкиот систем да се насочи против сопственото тело е автоимунитет.

ANA покажува голема веројатност од можното присуство на автоимуно заболување и при негативен резултат за овој параметар, најчесто се негативни и останатите автоантитела. Концентрацијата на ANA во крвта како дијагностички параметар се користи при дијагностика на системските заболувања на сврзното ткиво (колагенази, SLE, RA, склеродермија, дерматомиозит, полимиозит, васкулит и други). Испитувањата на ANA се изведува истовремено со други испитувања за да може да се потврди дијагнозата за автоимуно заболување и

диференцијално да се дијагностицираат некои од заболувањата како RA, SLE, полимиозит или склеродермија. Голем проблем е тоа што со текот на времето, инфламаторните болести, како што се RA, полимиозитис, реактивниот артритис еволуираат една во друга или се појавуваат истовремено кај еден пациент со синдром на преклопување, мешање на клиничките слики на болестите, со што уште повеќе се комплицира состојбата за дијагностицирањето и третманот на болеста (Schumacher, 1994; Davidson и Diamond, 2001; Markelevic, 2005). Некои литературни податоци наведуваат дека специфично за болести со имунолошка подлога, како што е RA, е наод на ANA, но ако има висок титар од 95% (Markelevic, 2005). Други литературните податоци (Princus, 2003), сугерираат дека кај околу 40% од третираниите животни при индукција на RA има позитивни вредности за ANA.

Нашите добиени резултати за ANA се прикажани во табелите бр. 33 и 34, соодветно за машката и женската популација на страна бр. 123. Истите покажаа дека кај сите примероци, без разлика на групата (контролна или артрозна) или возраста (на 30-иот или 60-иот ден), но и на полот (дали се машки или женски), има негативни вредности за ANA. Овие резултати се добиени и кај други автори (Million со сор., 1984; Kirwan, 1995), кои нагласуваат дека во првите неколку месеци од третманот при CIA, овие имунолошки тестови можат да бидат негативни, а кај некои примероци и во текот на целиот период после третманот и перзистирањето на болеста (Wooley со сор., 1993; Joosten со сор., 1994; Bendele со сор., 2000; Finckh, 2006).

## **5.8. Аспартатаминотрансфераза (AST) и аланинаминотрансфераза (ALT)**

При поставувањето на нашиот експеримент за CIA, меѓудругото, цел ни беше да видиме како CIA има влијание врз активноста на хепаталните ензими AST и ALT, кои се едни од параметрите што ни даваат податоци за функционалната состојба на хепатоцитите, нивниот интегритет и активност, конкретно при состојба на RA.

Од многу одамна се знае дека хепарот е орган кој е вклучен со голем број од своите функции во одржувањето на функционалната хомеостаза на

организмите (Ѓорѓоски, 1994). Според Jungerman и Katz (1989), најкратко тој може да се дефинира како орган одговорен за одржување на енергетската хомеостаза и контролна станица за ендокриниот систем во организмот. Главните клетки на кои отпаѓаат од 72% до 78% од градбата на црниот дроб се со паренхимско потекло и се т.н. хепатоцити (De Meyts и Hanoune, 1982). Хепаталните ензими служат како показател за промените во хепатоцитите, нивната дезинтеграција односно распаѓање, а со тоа и зголемување на истите во серумот (Adler со сор., 1981; Begic-Janeva, 1991). Во таа смисла, хепаталните ензими укажуваат на постоењето и на динамиката со која настануваат хепаталните лезии.

Имајќи ги во предвид некои од литературните податоци (Schmidt и Schmidt, 1979; Wooley со сор., 1993; Schumacher, 1994; Joosten со сор., 1994; Bendele со сор., 2000; Davidson и Diamond, 2001; Finckh, 2006), според кои при RA има пореметувања во нормалната функција на хепарот како „централна лабораторија“ на организмот, ние го одредувавме и нивото на серумските вредности за AST и ALT, како важни хепатални ензими кои сугерират пореметување во функцијата на хепатоцитите. Наведените автори истакнуваат дека хепатомегалијата е поради хипертрофија на хепатоцитите со можност за лезија на истите и зголемување на нивото на хепаталните ензими, пред се на AST и ALT во серумот. Досегашните истражувања и литературните податоци даваат претстава за движењето на различните промени кај крвните параметри при RA, и помалку или повеќе истите се познати. Ние со индукцијата на RA, меѓудругото, го истражувавме и сакавме да ја видиме и промената на нивото на активноста на овие ензими кај машките и женските стаорци на 30-иот и на 60-иот ден од постимунизацијата.

Ефектот на индуцираниот RA, според резултатите кои ние ги добивме, врз нивото на активноста на AST кај контролната и артрозната група на животни на 30-иот и на 60-иот ден, покажуваат дека нивото на ензимската активност кај артрозната група на стаорци, е сигнификантно зголемена кај машката, и кај женската група (слики бр. 29 и 30 на страни бр. 124 и 125). Ова нè упатува на веројатноста дека како последица на индуцираниот RA доаѓа до разорување на дел од хепатоцитите, нивна дезинтеграција, што пак доведува до зголемена

активност на ензимот во крвниот серум. Силен ефект на индуцираниот RA е регистриран врз нивото на активноста на AST, додека врз нивото на активноста на ALT во серумот не се констатира сигнификантно зголемување (слики бр. 31 и 32 на страна бр. 127 и 128).

Активноста на ензимот AST во серумот кај третираната група машки животни на 30-иот ден е за 47,85% поголема во споредба со контролната група, што е високо сигнификантна разлика (KM:AM30 ден,  $P < 0.004$ ). И на 60-иот ден од третманот оваа вредност бележи зголемување. Така, кај оваа група на машки животни, активноста на AST во споредба со контролата е за 71,28% поголема (KM:AM60 ден,  $P < 0.0001$ ), што исто така е високо сигнификантна разлика. Споредени вредностите помеѓу артрозните групи покажуваат несигнификантна разлика (AM30 ден:AM60 ден,  $P > 0.05$ ), со тенденција за зголемување на вредноста за AST кај артрозната група на 60-иот ден за 15,84%. Слични резултати се добиени и кај женската група. На 30-иот ден од постимунизацијата, споредено со контролата, активноста на AST е за 44,96% поголема (KЖ:AJ30 ден,  $P < 0.0001$ ), што е високо сигнификантна разлика. На 60-иот ден кај женските животни се гледа задржување на ова ниво на вредноста за AST, па дури и негово незначително намалување во споредба со контролата. Разликата е 43,59% а вредноста е статистички значајна (KЖ:AJ60 ден,  $P < 0.0001$ ). Кај женските артрозни групи ако се споредат вредностите за AST се гледа дека на 60-иот ден има благо намалување на вредноста за 0.93%, во споредба со 30-иот ден, што е статистички незначајна вредност со  $P > 0.989$ .

Ензимот AST во клетката е локализиран околу 40% во цитоплазмата и околу 60% во митохондриите. Нашите добиени резултати упатуваат на тоа дека при состојбата на CIA, доаѓа до лезија на хепатоцитите и до зголемување на активноста на AST во серумот, а добиените вредности се во согласност со добиените резултати од други автори. Така, според Vendele со сор. (2000), ова е поради големата разлика во каталитичката концентрација на AST во ткивата и крвниот серум, при што во процесите каде доаѓа до лезија на клетките и ткивата богати со AST, ензимот преминува во циркулацијата, а тоа резултира со негова зголемена активност во крвниот серум.

Од добиените резултати за активноста на ALT во серумот кај артрозните, во споредба со контролните животни (слики бр. 31 и 32), може да се забележи дека нивото на ALT кај контролната група, и нивото на ALT кај артрозната група на 30-иот ден се разликува, и во најголем дел има отстапување. Ова се констатира преку добиените вредности од нашите испитувања, каде просечната вредност на ALT кај контролната група на животни изнесува за 14,90% помала вредност во однос на артрозната група на 30-иот ден. Добиеените резултати за серумските вредности сугерираат дека ефектот на CIA е регистриран и врз нивото на активноста на ALT (KM:AM30 ден,  $P>0.05$ ), иако оваа вредност се гледа дека не влегува во кругот на статистичка значајност. Добиеените резултати за активноста на ALT на 60-иот ден од постимунизацијата и нивна споредба со контролните вредности кај машките животни, покажуваат зголемување на активноста на ALT во серумот за 21,61% во споредба со контролата, но вредноста не влегува во кругот на статистички значајни резултати (KM:AM60 ден,  $P>0.05$ ). Вредностите кои се наведени, а се однесуваат за машката група на животни, се помалку или повеќе слични и кај женската група. Разликата кај оваа група на 30-иот ден е зголемување на ALT за 7.5%, а на 60-ит ден за 24,6%. Ако овие вредности се споредат со машката група се гледа дека на 30-иот ден има помал процент на зголемена активност на ALT во серумот кај женската група во споредба со контролата, додека на 60-иот ден после третманот има зголемен процент на активноста на ALT кај женската во однос на истиот период кај машката група. И кај двете групи, и во двата термини на мерење на активноста на ALT во серумот кај животните нема статистички значајни отстапувања во однос на контролата.

Wroblewski уште во 1958 година, истакнува дека ALT е ензим кој е локализиран во цитоплазмата на клетките и дека најмногу го има во хепарот, потоа во скелетните мускули, срцето, бубрезите, панкреасот и еритроцитите. Бидејќи ALT е типичен цитоплазматичен ензим, дури и при мали оштетувања на ткивата или промена во пропустливоста на клеточната мембрана, тој излегува во меѓуклеточниот простор, односно во циркулацијата, со што се зголемува и неговата активност во крвниот серум (Gedik со сор., 1992; Umegaki со сор., 2002; Finckh, 2006). Ова се потврдува и од нашите добиени резултати, каде има зголемување на вредностите за хепаталните ензими во серумот. Со третманот

на стаорците со колаген тип II, доаѓа до одбрамбена реакција на организмот против внесените туѓи агенси, при што се детектираат променети вредности во серумот и за овие параметри. Според истите автори при RA карактеристична е спленомегалија, организмот е подложен на инфекција, се развиваат абнормалност на хепарот, и честа е појавата на васкулитиси. Притоа, инфекцијата е главна причина за смрт. Ова севкупно, всушност доведува и до зголемување на активноста на серумската ALT. Нашите добиени вредности ја потврдуваат оваа констатација. Од друга страна, некои истражувања покажале и возраст-зависна катализа на некои реакции при RA, како што е регулација на метаболизмот, електронскиот транспорт и одржувањето на правилната структура на некои протеини (Goswami со сор., 1974; Hernanz со сор., 2000; Thomas и Mallis., 2001). Други автори истакнуваат дека заболувањето на организмот е поврзано и со процесот на стареењето, кој пак се поврзува со губитокот на способноста за справување со стресот од било кој вид, и тоа на молекуларно и клеточно, но и на ниво на целиот организам, без разлика на самата етиологија на истиот (Blake со сор., 1990). Механизмите вклучени во овие промени сеуште не се добро дефинирани, но се претпоставува дека вклучуваат модификација на транскрипционата регулација на стрес индуцибилните гени (Papaconstantinou, 1994), несоодветна продукција на инфламаторни цитокини (Ershler, 1993), намалена синтеза на заштитни протеини (Kregel и Moseley, 1996), како и откажување на функцијата на некои органи. Во контекст на ова експериментите најчесто директно или индиректно се фокусирани токму на црниот дроб, како многу важен орган во организмот, но и поради тоа што истиот воедно е и примарна цел при ткивните и системските оштетувања на организмот, кои што се предизвикани од различните заболувања, вклучувајќи ги заболувањата со имунолошка подлога.

Во прилог на се што е погоре наведено за тератогениот ефект на RA врз црниот дроб, одат и литературните податоци каде се наведува дека при болеста доаѓа до пропаѓање на дел од хепатоцитите и ослободување на повеќе ензими од лизозомите на пропаднатите клетки како хидролази и протеази, чија активност исто така се зголемува (Rey и Vanderlinde, 1981; Markelevic, 2005; Markelevic, 2006; Vanham со сор., 2006; Ishii со сор., 2006). Ова сугерира дека предизвиканиот RA е стресоген фактор за белиот лабораториски стаорец кој

доведува до одредени физиолошко-биохемиски нарушувања во црниот дроб, меѓу кои и врз содржината на протеините во него, како и активноста на хепаталните ензими. Исто така, и клеточниот имунолошки одговор на различните микроорганизми и другите антигени, навлезени или внесени во организмот, можат да доведат до оштетување на ткивата на местото каде се појавила, или е предизвикана инфекција, и нејзино проширување низ телото, при што инфламацијата и фиброзата можат да доведат до смалување на функцијата, но и до поголемо разорување на хепатоцитите, што се заедно доведува до зголемена активност на AST и ALT во серумот (De Meyts и Hanoune, 1982; Cohen, 1993; Elliot со сор., 1994; Markelevic, 2006). Ова би можело да биде последица и на привремено нарушената регулација на фид-бек контролираните функции на нервно-ендокрино-хуморалниот и микроваскуларниот систем, кој се однесува на координираното делување на различните гени кои меѓусебно контролираат експресија на одредени гени одговорни за активација на хуморалните и целуларните компоненти на имуниот систем и доведуваат до воспалителни процеси (Griffiths, 1988; Davidson и Diamond, 2001; Banham со сор., 2006; Ishii со сор., 2006). Иако црниот дроб поседува голема функционална резерва и регенеративна способност и извесно време може компензаторно да ја одржува функционалната способност, сепак истиот е на удар при скоро сите заболувања или инфекции во организмот, вклучувајќи го и RA (Straus, 1964; Straus, 1965; Kallan и Romancik, 1966; Straus со сор., 1970; Branch, 1982). Главно сите овие промени се одвиваат во основните функционални единици на црниот дроб, односно хепатоцитите.



## 6. Заклучоци

Од нашите испитувања за ефектот на колаген тип-II индуцираниот RA кај белиот лабораториски стаорец од сојот Wistar, можеме да ги извлечеме следните заклучоци:

1. Третманот со колаген тип-II предизвикува намалување во бројот на еритроцитите, намалување на концентрацијата на хемоглобинот и намалување на хематокритската вредност. Овие ефекти отсуствуваат кај животните од женската група. Притоа, процентот на отстапување во бројот на еритроцитите кај машката група на животни е највисок во споредба со промените кај сите испитувани параметри.
2. Забележана е висока сигнификантна разлика во намалувањето на бројот на тромбоцитите на 30-иот ден, и зголемување на 60-иот ден од имунизацијата на животните со CIA кај двата пола.
3. Резултатите за леукоцитите покажуваат високо сигнификантно зголемување на бројот на леукоцитите на 30-иот ден, кај машките и женските животни. На 60-иот ден се бележи намалување и враќање блиску до бројот кај контролната група. Добиените резултати за вредностите на диференцијалната крвна слика го следат вкупниот број на леукоцити.
4. Нотирани негативни вредности за RF кај сите групи на животни, без разлика на третманот или полот. Вредностите за CRP бележат промени во споредба со контролната група, но без статистичка значајност.
5. Статистички обработените резултати за C3 и C4 компонентата на комплементот сугерираат дека промените и отстапувањата не се во доменот на статистичка значајност кај двата пола на животни.

6. Третманот со колаген тип-II доведува до статистички незначајно намалување на нивото на IgA на крајот од експерименталниот период на 60-иот ден кај артрозните машки животни во однос на контролата. Кај женските животни на 60-иот ден се нотира несигнификантно зголемување на вредноста за IgA во споредба со контролата. Високо сигнификантно намалување на вредноста за IgG на 30-иот ден од третманот, и задржување на вредноста и на 60-иот ден. Ова е нотирано и кај машките и кај женските животни. Несигнификантно зголемување на вредноста на IgM во серумот кај двата пола на животни на 30-иот ден и враќање на истата на 60-иот ден на вредност блиска до контролата.
7. Негативни вредности за OAST кај сите групи и кај двата пола на експериментални животни. Негативни вредности за ANA кај сите групи и кај двата пола на животни.
8. Предизвиканиот RA доведува до сигнификантно повисоко ниво на активноста на AST кај третираната група на животни, во однос на контролната група, независно од полот. Активност на ALT во серумот кај артрозните машки и женски животни, е на повисоко ниво во споредба со контролата, но разликата не е статистички значајна.
9. Генерален заклучок од нашите истражувања и севкупно користената литература, е дека истражувањата на автоимунитетот кај животинските модели и поставувањето на паралела со клиничката слика на RA кај пациентите, има голем глобален придонес за разјаснување на многу прашања поврзани со RA. Исто така, треба да се посвети многу повеќе внимание на автоимуното истражување и имуномодулациската терапија.

## 7. Литература

„1987 Criteria for the Classification of Acute Arthritis of Rheumatoid Arthritis.“ [Online]. Available: <http://www.rheumatology.org/practice/clinical/classification/ra/ra.asp>. [Accessed: 30-Jan-2013].

Adler, C.P., Ringlage, W.P., Bohm, N., (1981): DNA content and cell number in heart and liver of children. *Pathol. Res. Pract.*, 172:25-41.

Alarkon-Riquelme, M.E., (2004): Role of RUNX in autoimmune diseases linking rheumatoid arthritis, psoriasis and lupus. *Arthritis Research & Therapy*. 6(4): 169-173.

American College of Rheumatology (ACR). American College of Rheumatology Subcommittee on Rheumatoid Arthritis Guidelines. Guidelines for the management of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* (2002): 46:328–346.

Anthony, S.F., Dennis, L.K., Dan, L.L., Eugene, B., Stephen, L.H., Jameson, J.L., Joseph, L., (2008): *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17<sup>th</sup> edition, 2083-2092.

Arnett, F.C., (1988): The American Rheumatism Association 1987 Revised Criteria for the Classification of Rheumatoid Arthritis *Rheum* 31:315.

Arend, W.P., (2001): Physiology of cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 45: 101-6.

Arnett, F.C., (1988): *Arthritis Rheum.* Mar; 31(3):315-24.

Athanasou, N.A., Quinn, J., Heryet, A., (1988): The immunohistology of synovial lining cells in normal and in inflamed synovium. *J. Pathol.* 155. 133-142.

Балабанова, Р.М., Олюнин, Ю.А., (2005): Клиническая классификация ревматоидного артрита (проект для обсуждения). *Научно-практич. ревматол.*, 2, 83-84.

Banham, A.H., Powrie, F.M., Suri-Payer, E., (2006): FOXP(3) regulatory T cells: Current controversies and future perspectives (Review). *European J. Immunol.* 36(11): 2832- 2836.

Bach, J.F., (2005): Infections and autoimmune diseases. *Journal of Autoimmunity*. 25 Suppl:74-80. Bauer, W., Ropes, M.W., and Waite, H., (1940): *Physiol. Rev.* 20:272.

Bach, J.F., (2005): Six questions about the hygiene hypothesis. *Cellular Immunology*. 233(2): 158-161.

Backhaus, M., Burmester, G.R., Sandrock, D., Loreck, D., Hess, D., Blind, S., Hamm, B., Bollow, M., (2002): "Prospective two year follow up study comparing novel and conventional imaging procedures in patients with arthritic finger joints.," *Annals of the rheumatic diseases*, vol. 61, no. 10, pp. 895–904.

Banerjee, S., Anderson, G.D., Luthra, H.S., (1989): Influence of complement C3, C4 and V $\beta$  T-cell receptor mutations on susceptibility to collagen-induced arthritis in mice. *J. Immunol.* 142. 2237-2243.

Bauer, W., Short, C.L. and Bennett, G.A., (1933): *J. Exper. Med.* 57:419.

Begic-Janeva, A.Z., (1991): Patologija jetre, zucne besike i zucnih vodova. *G. Milanovac.*, 13-19.

Bell, M.J. et al., (1998): A randomized controlled trial to evaluate the efficacy of community based physical therapy in the treatment of people with rheumatoid arthritis. *J. Rheumatol*; 25: 231-237.

Bennett, G.A., (1939): *J. Exper. Med.* 70: 277.

Bennett, G.A., Waive, H., and Bauer, W., (1942): Changes in the knee joint at various ages with particular reference to the nature and development of degenerative joint disease, New York, The Commonwealth Fund. 146-162.

Bendele, A.M., McComb, J., Gould, T., McAbee, T., Sennello, G., Chlipala, E., Guy, M., (1999): Animal models of arthritis: relevance to human disease. *Toxicologic Pathol.* 27:134-142.

Bendele, A., Chlipala, L., Sennello, R., Frazier, J., Edwards, C., (2000): Combination benefit of treatment with soluble TNFRI and IL-1ra in rat models of arthritis. *Arthritis Rheum.* 43:2648-2659.

Benslay, D.N., Bendele, A.M., (1991): Development of a rapid screen for detecting and differentiating immunomodulatory vs anti-inflammatory compounds in rats. *Agents Actions.* 34:254-256.

Bendele, A.M., (2001): Animal models of Rheumatoid arthritis. *J. Musculoskel Neuron Interact* 1(4): 377-385.

Bethesda, M.D., (1999): Rheumatoid Arthritis. National Institutes of Health, National Institute and Musculoskeletal and Skin Diseases.

Blake, M.J., Gershon, D., Fargnoli, J. and Holbrook, N.J., (1990): Discordant expression of heat shock protein mRNA's in tissues of heat-stressed rats. *J.Biol. Chem.* 25, 15275-15279.

Bocanegra, T., (1994): Mycobacterial, fungal and parasitic arthritides. 4.5.1-5.12. In: Klippel, J.H., et all. *Rheumatology*, Mosby. London.

Bouwman, L.H., Roep, B.O., Roos, A., (2006): Mannose-binding lectin: Clinical implications for infection, transplantation and autoimmunity. *Human Immunology.* 67(4-5): 247-256.

Brackertz, D., Mitchell, G.F., Mackay, I.R., (1977): Antigeninduced arthritis in mice I. Induction of arthritis in various strains of mice. *Arthritis Rheum.* 20:841-850.

Bran, M., Grossin, M., Weber, A., Chopin, M., Elbim, C., Pla, M., Gougerot-Pocidallo, M., Gaudry, M., (2000): Suppression of arthritis and protection from bone destruction by treatment with TNP-470/AGM-1470 in a transgenic mouse model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 43:2056-2063.

Branch, R.A., (1982): Drugs as indicators of hepatic function. *Hepatology.* 2:97-105.

Bruyn, G.W., Pineda, C., Hernandez-Diaz, C., Ventura-Rios, L., Moya, C., Garrido, J., Groen, H., a Pena, Espinosa, R., Möller, I., Filippucci, E., a Iagnocco, Balint, P.V., Kane, D., D'Agostino, M., Angulo, M., Ponte, J.R., Fernandez-Gallardo, M., Naredo, E., (2010): "Validity of ultrasonography and measures of adult shoulder function and reliability of ultrasonography in detecting shoulder synovitis in patients with rheumatoid arthritis using magnetic resonance imaging as a gold standard.," *Arthritis care & research*, vol. 62, no. 8, pp. 1079–86.

Brown, A.K., Quinn, M.A., Karim, Z., Conaghan, P.G., Peterfy, C.G., Hensor, E., Wakefield, R.J., O'Connor, P.J., Emery, P., (2006): "Presence of significant synovitis in rheumatoid arthritis patients with disease-modifying antirheumatic drug-induced clinical remission: evidence from an imaging study may explain structural progression.," *Arthritis and rheumatism*, vol. 54, no. 12, pp. 3761–73.

Brooks, P.M., Day, R.O., (1991): Nonsteroidal anti-inflammatory drugs-differences and similarities. *New Engl. J. Med.* 324:1716-1272.

Burnet, F.M., (1959): *The clonal selection theory of aquired immunity.* Nashville, Vanderbilt University press, 143-156.

Buckley, C.D., Filer, A., Haworth, O., Parsonage, G., Salmon, M., (2004): Defining a role for fibroblasts in the persistence of chronic inflammatory joint disease. *Ann. Rheum. Dis.* 63(suppl II):ii92-ii95.

Calabro, J.J., Marchesano, J.M., Parrino, G.R., (1989): JRA:Long-term management and prognosis. *J. Musculo. Med.*, 6, 17-32.

Carlson, R.P., Datko, L.J., O'Neil-Davis, L., Blazek, E.M., Delustro, F., Beideman, R., Lewis, A.J., (1985): Comparison of inflammatory changes in established type II collagen and adjuvant induced arthritis using outbred Wistar rats. *Int. J. Immunopharmacol.* 7:811-826.

Cathcart, E.S., Hayes, K.C., Gonnerman, W.A., Lazzari, A.A., Franzblau, C., (1986): Experimental arthritis in a nonhuman primate. I. Induction by bovine type II collagen. *Lab. Invest* 54:26-31.

Chang, Y., (1980): Adjuvant polyarthritis. *Arthritis Rheum.* 23:62-71.

Christen, U., and Von Herrath, M.G., (2004): Induction, acceleration or prevention of autoimmunity by molecular mimicry. *Mol. immunol*, 40: 113-1382.

Christen, U., (2005): Infections and autoimmunity – Good or Bad. *J. Immunology.* 174:7481-7486.

Coch, A.E., (1998): Review: angiogenesis: implications for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 41:951-62.

Combe, B., Landewé, R., Lukas, C., Bolosiu, H.D., Breedveld, F.C., Dougados, M., (2006): EULAR recommendations for the management of early arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 2006 (published online 5 January 2006).

Coggeshall, H.C., Warren, C.F., and Bauer, W., (1940): *Anat. Rec.* 77:129.

Coggeshall, H.A., Bennett, G.A., Warren, C.F., and Bauer, W., (1941): *Am. J. M. Sc.* 202:486.

Cohen, R., (1993): The meaning of the immunological homunculus. *Isr. J. Med.* 29: 173-174.

Cooke, A., Zaccane, P., Raine, T., Phillips, J.M., Dunne, D.W., (2004): Infection and autoimmunity: Are we winning the war, only to lose the peace? *Trends in parasitology.* 20(7): 316-321.

Corless, J.K., and Middleton, H. M., (1983): Normal liver function: A basis for understanding hepatic disease. *Arch. Intern. Med.*, 143:2291-2294.

Costenbader, K.H., (2006): Smoking intensity, duration and cessation, and risk of rheumatoid arthritis in women. *Am. J. Med.* 119(6): 503.

Courtenay, J.S., Dallman, M.J., Dayan, A.D., Martin, A., Mosedale, B., (1980): Immunization against heterologous type II collagen induces arthritis in mice. *Nature* 283:666-668.

Cromartie, W.J., Graddock, J.C., Scwab, J.H., (1977): Arthritis in rats. *J. Exp. Med.* 146. 1585-1602.

Crow, M.K., Kirou, K.A., (2004): Interferon-alfa in systemic lupus erythematosus. (Discussion of new findings suggesting a role for the cytokine IFN- $\alpha$  in SLE.) *Curr Opin Rheumatol.* 16:541.

Cunnington, J., Marshall, N., Hide, G., Bracewell, C., Isaacs, J., Platt, P., Kane, D., (2010): "A randomized, double-blind, controlled study of ultrasound-guided corticosteroid injection into the joint of patients with inflammatory arthritis," *Arthritis and rheumatism*, vol. 62, no. 7, pp. 1862–9.

Cush, J.J., Lipsky, P.E., (1991): Cellular basis for rheumatoid inflammation. *Clin Orthop Rel. Res.* 265: 9-22.

David, C., Lloyd, J., (1998): *Rheumatological Physiotherapy.* London: Mosby International Limited.

Davidson, A., and Diamond, B., (2001): Autoimmune diseases. *N. Engl. J. Med.* 5(345): 340-350.

De Meyts, P., and Hanoune, J., (1982): Plasma membrane receptors and function. In: Arias, I.M., Popper, H., Schachter, D., Shafritz, D.A., ed. The liver, Biology and Pathobiology. Raven Press, New York, ch. 33, 551-589.

DeShazo, C.V., Henson, P.M., Cochrane, C.G., (1972): Acute immunologic arthritis in rabbits. *J.Clin. Invest.* 51, 50-57.

Deodhar, A.A., Brabyn, J., Pande, I., (2003): Hand bone densitometry in rheumatoid arthritis, a five year longitudinal study: an outcome measure and a prognostic marker. *Annals of the Rheumatic Diseases*; 62:767–770.

Dohn, U.M., Ejbjerg, B.J., Court-Payen, M., Hasselquist, M., Narvestad, E., Szkudlarek, M., Møller, J.M., Thomsen, H.S., Ostergaard, M., (2006): “Are bone erosions detected by magnetic resonance imaging and ultrasonography true erosions? A comparison with computed tomography in rheumatoid arthritis metacarpophalangeal joints.” *Arthritis research & therapy*, vol. 8, no. 4, p. R110.

Dürriegl, T., (1997): *Reumatologija*. Zagreb: Medicinska naklada.

Ebringer, A., Rashid, T., (2006): Rheumatoid arthritis is an autoimmune disease triggered by Proteus urinary tract infection. *Clinical & Development Immunology*. 13 (1): 41-48.

Edwards, C.K., Chlipala, E.C., Dinarello, C.A., Reznikov, L., Moldawer, L.L., Bendele, A.M., (1999): Clinical and histopathologic characterization of arthritis in male and female tumor necrosis factor knockout mice and membrane bound TNF- $\alpha$  transgenic mice injected with *M. pulmonis* or *M. arthritidis*. *Arthritis Rheum. Abstract* 296. Suppl. S120.

Elliot, M.J., Maini, R.N., Feldmann, M., Kalden, J.R., Antoni, C., Smolen, J.S., Leeb, B., Breedveld, F.C., Macfarlane, J.D., Bijli, H., Woody, J.N., (1994): Randomised double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor (cA2) versus placebo in rheumatoid arthritis. *Lancet*. 344: 1104-1110.

Ershler, W. B., (1993): Interleukin-6: a cytokine for gerontologists. *J. Am. Geriat. Soc.* 41, 176-181.

Finckh, A., (2006): The effectiveness of anti-tumor necrosis factor therapy in preventing progressive radiographic joint damage in rheumatoid arthritis: a population-based study. *Arthritis Rheum.* 54(1): 54.



Firestein, G.S., (1994): Rheumatoid synovitis and pannus. In: Klippel, S.H., Dieppe, P.A., eds. *Rheumatology*, Mosby-Year Book Europe limited, London, 15: 12-36.

Forsblad, d'Elia H., Larsen, A., Waltbrand, E., (2003): Radiographic joint destruction in postmenopausal rheumatoid arthritis is strongly associated with generalised osteoporosis *Annals of the Rheumatic Diseases*; 62: 617–623.

Gabriel, S.E., (2001): "The epidemiology of rheumatoid arthritis.," *Rheumatic diseases clinics of North America*, vol. 27, no. 2, pp. 269–81.

Gardner, D.L., (1992): *Pathological basis of the connective tissue diseases*. 1<sup>st</sup> edu. London: Edvard Arnold, a division of Hodder&Stoughton.

Gaffney, P.M. et all., (2002): Recent advances in the genetics of systemic lupus erythematosus. (Review of the genes associated with SLE in humans and in mouse models.) *Rheum Dis Clin North Am* 28:111.

Gedik, C., Ewen, S., Collins, A., (1992): Single cell gel electrophoresis applied to the analysis of UV-C damage and its repair in human cell. *Int. J. Radiat. Biol.* 62: 313-320.

Goekoop-Ruiterman, Y.P.M., de Vries-Bouwstra, J.K. ., Allaart, C.F., van Zeben, D., Kerstens, P.J.S.M., Hazes, J.M.W., Zwinderman, A.H., Roodman, H.K., Han, K.H., Westedt, M.L., Gerards, A.H., van Groenendael, J.H.L.M., Lems, W.F., van Krugten, M.V., Breedveld, F.C., Dijkmans, B.A.C., (2005): "Clinical and radiographic outcomes of four different treatment strategies in patients with early rheumatoid arthritis (the BeSt study): a randomized, controlled trial.," *Arthritis and rheumatism*, vol. 52, no. 11, pp. 3381–90.

Goldbach-Mansky, R., and Lipsky, P.E., (2001): New concepts in the treatment of rheumatoid arthritis. *Annu Rev. Med.* 54:197.

Gough, A. K., Lilley, J., Eyre, S., et al., (1994): Generalised bone loss in patients with early rheumatoid arthritis. *Lancet*, 2; 344 (8914): 23–7.

Goswami, T., Vu, M.L., Srivastava, U., (1974): Quantitative changes in DNA, RNA and protein content of the various organs of the young of undernourished female rats. *J.Nutr.*, 104:1257-1264.

Goronzy, J.J., Zetll, C.M., (1998): T cell receptor repertoire in rheumatoid arthritis. *Int. Rev. Immunol.* 17: 339-63.

Goldring, S.R., (2003): Pathogenesis of bone and cartilage destruction in rheumatoid arthritis. *Rheumatology*; 42(Suppl 2): ii11-16.

Gough, A., Sambrook, P., Devlin, J., (1998): Osteoclastic activation is the principal mechanism leading to secondary osteoporosis in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*; 7:1282–1289.

Gravallese, E.M., Harada, Y., Wang, J.T., (1998): Identification of cell types responsible for bone resorption in rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *Am. J. Pathol.* ; 152:943–51.

Gravallese, E.M., Manning, C., Tsay, A., Naito, A., Pan, C., Amento, E., Goldring, S.R., (2000): Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis Rheum*; 43:250-8.

Gravallese, E.M., Goldring, S.R., (2000): Cellular mechanisms and the role of cytokines in bone erosions in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2000; 43: 2143–2151.

Graudal, N.A., Jurik, A.G., Graudal, H.K., (1998): Radiographic progression in rheumatoid arthritis: a long-term prospective study of 109 patients. *Arthritis Rheum*; 41: 1470-1480.

Griffiths, M.M., (1988): Immunogenetics of collagen induced arthritis in rats. *Intern Rev Immunology* 4:1-15.

Guilherme, L.S.E., Oshiro, K.C., Fae, E., Cunha-Neto, G., Renesto, A.C., Goldberg, A.C., Tanaka, R.M., Pomerantzeff, M.H., Kiss, C., Silva et al., (2001): T cell reactivity against streptococcal antigens in the periphery, mirrors reactivity of heart-infiltrating T lymphocytes the rheumatic disease patients. *Infekt. Imun.* 69: 5345-5351.

Ѓоргоски, К.И., (1994): Влијанието на рестриктивната исхрана и високата надворешна температура врз имуниот систем за време на интраутериниот и раниот постнатален период кај белиот лабораториски стаорец. Докторска дисертација, Скопје., 172-192.

Hama, M., Uehara, T., Takase, K., Ihata, A., Ueda, A., Takeno, M., Shizukuishi, K., Tateishi, U., Ishigatsubo, Y., (2012): “Power Doppler ultrasonography is useful for assessing disease activity and predicting joint destruction in rheumatoid arthritis patients receiving tocilizumab--preliminary data.” *Rheumatology international*, vol. 32, no. 5, pp. 1327–33.

Haringman, J.J., Kraan, M.C., Smeets, T.J., Zwinderman, K.H., Tak, P.P., (2003): Chemokine blockade and chronic inflammatory disease: proof of concept in patients with rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 62: 715-21.

Harris, E.D., (1990): Jr. Rheumatoid arthritis. Pathophysiology and implications for therapy. *N Engl. J. Med.* 322:1277–1289.1.

Hansen, A., et al., (2003): New concepts in the pathogenesis of Sjögren syndrome: many questions, fewer answers. (Discussion of what is known and uncertain about this clinically important disease.) *Cur Opin Rheumatol* 15:563.

Haugeberg, G., Uhlig, T., Falch, J.A., (2000): Reduced bone mineral density in male rheumatoid arthritis patients: frequencies and associations with demographic and disease variables in ninety-four patients in the Oslo County Rheumatoid Arthritis Register. *Arthritis Rheum.* 43:2776-2784.

Haugeberg, G., Uhlig, T., Falch, J.A., Halse, J.I., Kvien, T.K., (2002): Bone mineral density and frequency of osteoporosis in female patients with rheumatoid arthritis: results from 394 patients in the Oslo County Rheumatoid Arthritis Register. *Arthritis Rheum.* 43:522-30.

Hernanz, A., Fernandes-Vivancos, E., Montiel, C., Vazquez, J., Arnalich, F., (2000): Changes in the intracellular homocysteine and glutathione content associated with aging. *Life Sci.* 67: 1317-1324.

Hom, J., Bendele, A.M., Carlsson, D., (1988): In vivo administration with IL-1 accelerates the development of collagen-induced arthritis in mice. *J. Immunol.* 141:834-841.

Hom, J., Gliszcynski, V.L., Cole, H.W., Bendele, A.M., (1991): Interleukin-1 mediated acceleration of type II collagen-induced arthritis: Effects of anti-inflammatory or antiarthritic drugs. *Agents Actions.* 33:300-309.

Horn, J., Cole, H., Bendele, A.M., (1990): Interleukin-1 enhances the development of spontaneous arthritis in MRL/lpr mice. *Clin Immunol Immunopathol.* 55:109-119.

Ishii, K.J., Uematsu, S., Akira, S., (2006): Toll gates for future immunotherapy (Review). *Current Pharmaceutical Design.* 12(32): 4135-4142.

Joosten, L.A.B., Helsen, M.M.A., van de Loo, F.A.J., van denBerg, W.B., (1994): Amelioration of established type II collagen induced arthritis (CIA) with anti-IL-1. *Agents Actions*. 41:C174-C176.

Joosten, L.A.B., Helsen, M.M.A., van de Loo, F.A.J., van den Berg, W.B., (1996): Anticytokine treatment of established type II collagen-induced arthritis in DBA/1 mice. *Arthritis Rheum*. 39:797-809.

Jungermann, K., Katt, N., (1989): Functional specialization of eifferent hepatocyte populations, *Physiol. Rev*. 69(3): 709-710.

Kallan, J., and Romancik, W.Z., (1966): *Clin. Chem., Clin. Biochem*. 4:78.

Kamradt, T., and Volkmer-Engert, R., (2004): Cross-reactivity of T lymphocytes in infection and autoimmunity. *Molekular Diversity*, 8 (3): 271-280.

Kamradt, T., Rolf. G., Klaus, E.J., (2005): Induction, exavervation and inhibiton of Allergic and autoimmune diseases by infection. 5 (26): 260-267.

Karim, Z., Wakefield, R.J., Quinn, M., Conaghan, P.G., Brown, K., Veale, D.J., O'Connor, P., Reece, R., Emery, P., (2004): "Validation and reproducibility of ultrasonography in the detection of synovitis in the knee: a comparison with arthroscopy and clinical examination.," *Arthritis and rheumatism*, vol. 50, no. 2, pp. 387–94.

Key, J.A., (1925): *J. Bone and Joint Surg*. 23: 793, 1925.

Khanna, D., Park, H., Wu, G., Gersuk, V., Gold, R.H., Nepom, G.T., Wong, W.K., Sharp, J.T., Reed, E.F., Paulus, H.E., Tsao, B.P., (2006): "Association of tumor necrosis factor alpha polymorphism, but not the shared epitope, with increased radiographic progression in a seropositive rheumatoid arthritis inception cohort.," *Arthritis and rheumatism*, vol. 54, no. 4, pp. 1105–16.

Kirwan, J.R., (1995): The effect of glucocorticoids on joint destruction in rheumatoid arthritis. The Arthritis and Rheumatism Council Low-Dose Glucocorticoids Study Group. *Nejm*; 333: 142-146.

Kitsis, E., and Weissmann, G., (1991): The role of the neutrophil in rheumatoid arthritis. *Clin. Orthop Rel. Res*. 265: 63-72.

Kitsis, E., and Weissmann, G., (1991): The role of the neutrophil in rheumatoid arthritis. *Clin Orthop Rel Res.* 265: 63-72.

Kim, T.H., Uhm, W.S., Inman, R.D., (2005): Pathogenesis of ankylosing spondylitis and reactive arthritis. *Current Opinion in Rheumatology.* 17(4): 400-500.

Klimiuk, P.A., Sierakowski, S., Latosiewicz, J.P., (2002): Soluble adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1 and E selectin) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in patients with distinct variants of rheumatoid synovitis. *Ann. Rheum. Dis.* 61: 804-9.

Koski, J.M., (2000): Ultrasound guided injections in rheumatology. *J. Rheumatol.* 27(9): 2131-2138.

Koski, J.M., Alasaarela, E., Soini, I., Kemppainen, K., Hakulinen, U., Heikkinen, J. O., Laasanen, M.S., Saarakkala, S., (2010): "Ability of ultrasound imaging to detect erosions in a bone phantom model.," *Annals of the rheumatic diseases*, vol. 69, no. 9, pp. 1618–22.

Kouskoff, V., Korganov, A.S., Duchatelle, V., Degott, C., Benoist, C., Mathis, D., (1996): Organ specific disease provoked by systemic autoimmunity. *Cell.* 87:811-822.

Kregel, K.C., and Moseley, P.L., (1996): Differential effects of exercise and heat stress on liver HSP70 accumulation with aging. *J. Appl. Physiol.* 80, 262-277.

Laaksonen, A.L., (1996): A prognostic study of JRA. *Acta Paediatr. Scand.*, suppl. 166, 9–91.

Litter, A.J., Buckley, C.D., Wordsworth, P., Collins, J., Martinson, J., Simmons, D.L., (1997): Distinkt profile of six soluble adhesion molecules (ICAM-1, ICAM-3, VCAM-1, E selecting, L selectin and P selectin) in rheumatoid arthritis. *Br. J. Rheumatol.* 36: 164-9.

Liu, Y., Linsley, P.S., (1992): Co stimulation of T-cell growth. *Curr. Opin. Immunol.* 4:265.

Leirisalo-Repo, M., Hannu, T., Mattila, L., (2003): Microbial factors in spondyloarthropathies: insights from population studies. *Current opinion in Rheumatology.* 15(4): 408-412.

Lee, D.M., Weinblatt, M.E., (2001): Rheumatoid arthritis. (An authoritative article summarizing clinical aspects of rheumatoid arthritis.) *Lancet* 358:903-911.

Mapp, P.I., Grootveld, M.C., Blake, D.R., (1995): Hypoxia, oxidative stress and Rheumatoid arthritis. *Br Med Bull.* 151: 419-436.

Marrack, P., et al., (2001): Autoimmune disease: why and where it occurs. (Excellent discussion of the interplay of environmental and genetic factors in the development of autoimmune diseases.) *Nat Med* 7:899.

Markeljevic, J., (2005): Autoimunost- trenutni stavovi. *Medicinar* (47): 28-30.

Markeljevic, J., (2006): Upalne reumatske bolesti i infekcije. *Infektoloski glasnik* 26:4, 171-176.

McComb, J., Gould, T., Chlipala, E., Sennello, G., Frazier, J., Kieft, G., Seely, J., Edwards, C., Bendele, A., (1999): Antiarthritic activity of soluble tumor necrosis factor receptor type I forms in adjuvant arthritis: correlation of plasma levels with efficacy. *J. Rheumatol.* 26:1347-1351.

Messori, A., (2004): New drugs for rheumatoid arthritis. *N. Eng. J. Med.* 351(9): 937.

Michaelsson, E. et al., (1994): T cell recognition of carbohydrates on type II collagen. *JexpMed* 180:745-749.

Million, R., Kellgren, J.H., Poole, P., Jayson. M.I., (1984): Long-term study of management of rheumatoid arthritis. *Lancet* 1: 812-816.

Morales-Ducret, J., Wayner, E., Alices, M.J., (1992):  $\alpha 4/\beta 1$  integrin (VLA-4) ligands in arthritis: vascular cell adhesion molecule-1 expression in synovium and on fibroblast-like synoviocytes. *J. Immunol.* 149:1424.

Moritz, A.R., (1942): *The pathology of trauma*, Philadelphia, Lea and Febiger.

Murphy, G., Knauper, V., Atkinson, S., Bufler, G., English, W., Hutton, M., (2002): Matrix metalloproteinases in arthritis disease. *Arthritis Res.* 4(suppl): S39-S49.

Naredo, E., Bonilla, G., Gamero, F., Uson, J., Carmona, L., (2005): "Assessment of inflammatory activity in rheumatoid arthritis: a comparative study of clinical evaluation with grey scale and power Doppler ultrasonography.," *Annals of the rheumatic diseases*, vol. 64, no. 3, pp. 375–81.

Naredo, E., Collado, P., Cruz, A., Palop, M.J., Cabero, F., Richi, P., Carmona, L., Crespo, M., (2007): "Longitudinal power Doppler ultrasonographic assessment of joint inflammatory activity in early rheumatoid arthritis: predictive value in disease activity and radiologic progression.," *Arthritis and rheumatism*, vol. 57, no. 1, pp. 116–24.

Nassonov, E.L., Samsonov, M.Y., Chichanova, N.V., Nikiphorova, E.L., Tilz G.P., Demel, U., (2000): Soluble adhesion molecules in rheumatoid arthritis. *Rheumatology* 39: 808-10.

Насонова, В.А., Балабанова, Р.М., (2001): К вопросу о совершенствовании рабочей классификации ревматоидного артрита. *Научно-практич. ревматол.*, 5, 91-95.

Newman, J.S., Adler, S., Rubin, M., (1994): "Detection Hyperemia : Sonography of Soft-Tissue Value of Power Doppler."

Oberbeck, R., (2006): Catecholamines: Psychological immunomodulators during health and illness. *Current Medicinal Chemistry*. 13(17): 1979-1989.

Oldstone, M.B., (2005): Molecular mimicry, microbial infection, and autoimmune disease: evolution of the concept. *Current Topics in Microbiology & Immunology*, 296:1-17.

Ospelt, C., Kyburz, D., Pierer, M., Seibl, R., Kurowska, M., Distler, O., Neidhard, M., Muller-Ladner, U., Pap, T., Gay, R.E., Gay, S., (2004): Toll-like receptors in heumatoid arthritis joint destruction mediated by two distinct pathways. *Ann Rheum Dis*; 63(suppl II): ii 90-ii91.

Panayi, G.S., Lanchbury, J.S., Kingsley, G.H., (1992): The importance of the T cell Initiating and maintaining the chronic synovitis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 35:729-735.

Papaconstantinou, J., (1994): Unifying model of the programmed (intrinsic) and stochastic (extrinsic) theories of aging. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 719, 195-211.

Panoutsopoulos, V.M., Sanchirico, K.M., Huster, M., Jansson, F., Grancci, D.J., Shin, K.W., Wucherpfenning, A., Cantor, H., (2001): Analysis of the relationship between viral infection and autoimmune disease. *Immunity*. 15:137-147.

Перчинкова, М.С., Чаловски, Ј., Грличков, М., Марина, Н., Божиновски, Г., Николовска-Котевска, М., (2010): Прирачник за лекување на ревматоидниот артритис, Универзитетска клиника за ревматологија, Скопје, 5-8.

Princus, T., (2003): Early arthritis. Introduction. *Rheumatol*; 21 (Suppl. 31).

Probert, L., Akassoglou, K., Alexopoulou, L., Douni, E., Haralambous, S., Hill, S., Kassiotis, G., Kontoyiannis, D., Pasparakis, M., Plows, D., Kolias, G., (1996): Dissection of the pathologies induced by transmembrane and wild-type tumor necrosis factor in transgenic mice. *J. Leukocyte Biol*. 59:518-525.

Prots, I., Skapenko, A., Wendler, J., Mattyasovszky, S., Yoné, C.L., Spriewald, B., Burkhardt, H., Rau, R., Kalden, J.R., Lipsky, P.E., Schulze-Koops, H., (2006): "Association of the IL4R single-nucleotide polymorphism I50V with rapidly erosive rheumatoid arthritis.," *Arthritis and rheumatism*, vol. 54, no. 5, pp. 1491–500.

Rej, R., and Vanderlinde, R.E., (1981): *Clin. Chem.*, 27:213.

Ronney, M., Condell, D., Quinlan, W., Daly, L., Whelan, A., Feighery, C., (1998): Analysis of histologic variation of synovitis in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 31: 956-63.

Ropes, M.W., and Bauer, W., (1953): *Synovial fluid changes in joint disease*, Cambridge, Harvard University Press. 202;486.

Rothschild, B.M., and Masi, A.T., (1982): Pathogenesis of rheumatoid arthritis. Vascular hypothesis. *Semin. Arthritis Rheum*. 12:11-31.

Roy, S., (1967): Ultrastructure of synovial membrane in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 26: 517-527.

Roitt, M., (1984): Prevailing theories in autoimmune disorders. *Triangle*. 23:67-76.

Saag, K.G., Koehnke, R., Caldwell, J.R., Brasington, R., Burmeister, L.F., Zimmerman, B., (1994): Low dose long-term corticosteroid therapy in rheumatoid arthritis: an analysis of serious adverse events. *Am. J. Med*. 96: 115-123.



Saleem, B., Brown, A.K., Keen, H., Nizam, S., Freeston, J., Karim, Z., Quinn, M., Wakefield, R., Hensor, E., Conaghan, P.G., Emery, P., (2009): "Disease remission state in patients treated with the combination of tumor necrosis factor blockade and methotrexate or with disease-modifying antirheumatic drugs: A clinical and imaging comparative study." *Arthritis and rheumatism*, vol. 60, no. 7, pp. 1915–22.

Saleem, B., Brown, A.K., Keen, H., Nizam, S., Freeston, J., Wakefield, R., Karim, Z., Quinn, M., Hensor, E., Conaghan, P.G., Emery, P., (2011): "Should imaging be a component of rheumatoid arthritis remission criteria? A comparison between traditional and modified composite remission scores and imaging assessments." *Annals of the rheumatic diseases*, vol. 70, no. 5, pp. 792–8.

Samarko, M., and Vaiopoulos, G., (2005): The role of infections in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Current Drug Targets–Inflammation & Allergy*, 4 (1): 99-103.

Scott, D.L., Schattenkicher, M., Smolen, J.S., et al., (1998): Efficacy of leflunomide in patients placebo, versus SSA in RA. Effect of disease duration. *Arthritis Rheum*; 41:Suppl:S1551.

Schmidt, E., and Schmidt, F.W., (1979): Enzyme Diagnosis in Diseases of the Liver and Biliary System, in Schmidt, E., Schmidt, F.W., Trautschold, I., Friedel, R., Eds., *Advances in Clinical Enzymology*, S. Karger, Basel. 239.

Schwartz, R.H., (1992): Co stimulation of T lymphocytes: The role of CD28, CTLA-4, and B7/ BB1 in interleukin-2 production and immunotherapy. *Cell* 71:1065.

Scheel, K., Hermann, K.G., Ohrndorf, S., Werner, C., Schirmer, J C., Bollow, M., Hamm, G B., Burmester, G. R., Backhaus, M., (2006): "Prospective 7 year follow up imaging study comparing radiography, ultrasonography, and magnetic resonance imaging in rheumatoid arthritis finger joints." *Annals of the rheumatic diseases*, vol. 65, no. 5, pp. 595–600.

Schumacher, H.R., (1994): Clasiffication of rheumatic diseases 1.7.1.-7.4. In: Klippel JH et all. *Rheumatology*, Mosby. London. 15:112.

Shoenfeld, Y., (1989): The mosaic of autoimmunity. *Immunol Today*, 510-123-136.

Shoenfeld, Y., Blank, M., Cervera, R., Font, J., Raschi, E., Meroni, P.L., (2006): Infectious origin of the antiphospholipid syndrome. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 65(1): 2-6.

Shaffer, M.F., and Bennett, G.A., (1939): J. Exper. Med. 70:293.

Silman, A.J., Newman, J., MacGregor, A.J., (1996): "Cigarette smoking increases the risk of rheumatoid arthritis. Results from a nationwide study of disease-discordant twins.," Arthritis and rheumatism, vol. 39, no. 5, pp. 732–5.

Slobodan, B., (2003): Fizikalna terapija i kvalitet zivota kod bolesnika sa reumatoidnim artritismom. Acta rheumatologica Belgradensia. ISSN 0351-7217.- God. 33, supl.1, str.55-57.

Smeets, T.J.M., Barg, E.C., Kraan, M.C., Smith, M.D., Beedvelol, F.C., Tak, P.P., (2003): Analysis of the cell infiltrate and expression of proinflammatory cytokines and matrix metalloproteinases in arthroscopic synovial biopsies: comparison with synovial samples from patients with end stage, destructive rheumatoid arthritis. Ann. Rheum. Dis. 62: 635-8.

Sokka, T., (2003): "Work disability in early rheumatoid arthritis.," Clinical and experimental rheumatology, vol. 21, no. 5 Suppl 31, pp. S71–4.

Springer, T.A., (1990): Adhesion receptors of the immune system. Nature. 346: 425-434.

Stevens, C.R., Blake, D.R., Merry, P., Revell, P.A., Levick, J.R., (1991): A comparative study by morphometry of the microvasculature in normal and rheumatoid synovium. Arthritis Rheum. 34:1508-1513.

Stefanovič, D., (2005): Mehanizmi zglobnog ostećenja u reumatoidnom artritisu, Acta rheum Belgrad, 35, (suppl. 2).

Straus, B., Plasaj, M., (1964): Lij. vjes. 86:289.

Straus, B., (1965): Farm. Glas. 21:239.

Straus, B., Plasaj, M., Rukavina, Z., Stefanovic, R., Grahovac, M., (1970): Lij. vjes. 92:1377.

Szkudlarek, M., Klarlund, M., Narvestad, E., Court-Payen, M., Strandberg, C., Jensen, K.E., Thomsen, H.S., Ostergaard, M., (2006): "Ultrasonography of the metacarpophalangeal and proximal interphalangeal joints in rheumatoid arthritis: a comparison with magnetic resonance imaging, conventional radiography and clinical examination.," *Arthritis research & therapy*, vol. 8, no. 2, p. R52.

Terato, K., Hashida, R., Miyamoto, K., Morimoto, T., Kata, Y., Kobayashi, S., Tajima, T., Otake, S., Horni, P., Nagai, Y., (1982): Histological, immunological and biochemical studies on type II collagen arthritis in rats. *Biomed. Res.* 3:495-523.

„The 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism classification criteria for rheumatoid arthritis.“ [Online]. Available: [http://www.rheumatology.org/practice/clinical/classification/ra/ra\\_2010.asp](http://www.rheumatology.org/practice/clinical/classification/ra/ra_2010.asp). [Accessed: 30-Jan-2013].

Thomas, J., and Mallis R., (2001): Aging and oxidation of reactive protein sulfhydryls. *Exp.Gerontol.* 36: 1519-1526.

Trentham, D.E., Towens, A.S., Kang, A.H., (1977): Autoimmunity to tipe II collagen: an experimental model of arthritis. *J Exp Med.* 146:857-68.

Turreson, C., and Matteson, E.L., (2006): Genetic of rheumatoid arthritis. *Mayo Clin. Proc.* 81(1): 94.

Umegaki, K., Hashimoto, M., Yamaski, H., Fujii, Y., Yoshimura, M., Sugisawa, A., Shinozuka, K., (2002): Docosahexaenoic acid supplementation-increased oxidative damage in bone marrow DNA in aged rats and its relation to antioxidant vitamins. *Free Radic. Res.* 34: 427-435.

Van Vollenhoven, R.F., Soriano, A., McCarthey, P.E., Schwartz, R.L., Garbrecht, F.C., Thorbecke, G.J., Siskind, G.W., (1988): The role of immunity to cartilage proteoglycan in adjuvant arthritis. *J. Immunol.* 141(4):1168-1173.

Van de Langerijt, A.G.M., Hermus, A.R.M.M., Sweep, C.G.J., Cools, A.R., van den Berg, W.B., (1994): Susceptibility to adjuvant arthritis: relative importance of adrenal activity and bacterial flora. *Clin. Exp. Immunol.* 97(1):33-38.

Vander Borght, A., Nelson, F., (2001): The autoimmune pathogenesis of rheumatoid arthritis: role of autoreactive T cells and new immunotherapies. (An up-to-date summary of the role for autoimmunity in the pathogenesis of rheumatoid arthritis.) *Semin Arthritis Rheum* 31:160.

Vinay, K., Abul, K.A., Nelson, F., Richard, N.M., (2007): *Robbins Basic Pathology*, 8<sup>th</sup> edition, 145-147.

Vlad, V., Berghea, F., Libianu, S., Bojinca, V., Constantinescu, C., Abobului, M., Predeteanu, D., Ionescu, R., (2011): "Ultrasound in rheumatoid arthritis: volar versus dorsal synovitis evaluation and scoring," *BMC musculoskeletal disorders*, vol. 12, no. 1, p. 124.

Wagner, U.G., Kurtin, P.J., Wahner, A., (1998): The role of CD8+ CD40L+ cells in the formation of germinal centres in rheumatoid synovitis. *J. Immunol.* 161: 3690-7.

Wakefield, R.J., Gibbon, W.W., Conaghan, P.G., O'Connor, P., McGonagle, D., Pease, C., Green, M.J., Veale, D.J., Isaacs, J.D., Emery, P., (2000): "The value of sonography in the detection of bone erosions in patients with rheumatoid arthritis: a comparison with conventional radiography.," *Arthritis and rheumatism*, vol. 43, no. 12, pp. 2762–70.

Wakefield, R.J., Freeston, J.E., O'Connor, P., Reay, N., a Budgen, Hensor, E.M., Helliwell, P.S., Emery, P., Woodburn, J., (2008): "The optimal assessment of the rheumatoid arthritis hindfoot: a comparative study of clinical examination, ultrasound and high field MRI.," *Annals of the rheumatic diseases*, vol. 67, no. 12, pp. 1678–82.

Walsh, N.C., Gravallesse, E.M., (2004): Bone loss in inflammatory arthritis: mechanisms and treatment strategies. (A concise and authoritative review of the mechanisms underlying the destructive bone lesions in rheumatoid arthritis.) *Cur. Opin. Rheumatol.* 16:419.

Wasko, M.C., (2004): Comorbid conditions in patients with rheumatic diseases: an abdate. *Current Opinion in Rheumatology.* 16(2): 109-113.

Weinblatt, M.E., Kremer, J.M., Bankhurst, A.D., Bulpitt, K.J., Fleischmann, R.M., Fox, R.I., (1999): A trial of etanercept, a recombinant tumor necrosis factor receptor:Fc fusion protein, in patients with rheumatoid arthritis receiving methotrexate. *N Engl J. Med.* 1999; 340:253–259.

Weinrich, S., Hoebe-Hewryk, B., van der Horst, A.R., Boog, C.J.P., Ivanyi, P., (1997): The role of MCH class I heterodimer expression in mouse ankylosing enthesiopathy. *Immunogenetics*. 46:35-40.

Weyand, C.M., Goronzy, J.J., (1997): Molecular basis of rheumatoid arthritis. *J. Mol. Med.* 75: 772-85.

Weyand, C.M., (2000): New insight into the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Rheumatology*. 39 (suppl 1): 3-8.

Williams, F.M., Cohen, P.R., Arnett, F.C., (1998): Accelerated cutaneous nodulosis during methotrexate therapy in a patient with rheumatoid arthritis. *J. Am. Acad. Dermatol.* 39(2, pt 2):359-362.

Winter, C.H., Risley, E.A., Nuss, G.W., (1962): Carageenan induced edema in hindpaw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. *Proc Soc Exp Bio Med* 111:544-547.

Wooley, P.H., (1988): Collagen-induced arthritis in the mouse. *Methods Enzymol.* 162:361-73.

Wooley, P.H., Whalen, J.D., Chapman, D.L., Berger, A.E., Richard, K.A., Aspar, D.G., Staite, N.D., (1993): The effect of an interleukin-1 receptor antagonist protein on type II collagen-induced arthritis and antigen-induced arthritis in mice. *Arthritis Rheum.* 36:1305-1314.

Wolcott, W.E., (1927): *J. Bone and Joint Surg.* 9: 67.

Wraith, D.C., Goldman, M., Lambert, P.H., (2003): Vaccination and autoimmune disease: What is the evidence? *Lancet*. 362(9396): 1659-1666.

Wroblewski, F., (1958): The clinical Significance of Alterations in Transaminase Activities of Serum and other Body Fluids, u *Advances in Clinical Chemistry*, Vol.1, Sobotka, H., and Stewart, C.P., Eds. Academic Press Inc., New York, London, pag. 313.

Young, A., Dixey, J., Cox, N., Davies, P., Devlin, J., Emery, P., et all., (2000): How does functional disability in early rheumatoid arthritis affects patients and their lives. Results of years of follow-up in 732 patients from the Early RA Study (ERAS). *Rheumatol.* 39:603-11.

Yoshida, M., Belt, E.A., Kaarela, K., et al., (1999): Prevalence of mutilans-like hand deformities in patients with seropositive rheumatoid arthritis. A prospective 20-year study. *Scand J Rheumatol.* 28:38-40.

Zampieri, S., Ghirardello, A., Laccarino, L., Briani, C., Sarzi-Puttini, P., Atzeni, F., Arienti, S., Todesco, S., Doria, A., (2004): Polymyositis-dermatomyositis. *Biochem. J.*, 2:4-13.

Zandman-Goddard, G., Shoendfeld, Y., (2005): Infections and SLE. *Autoimmunity.* 38(7): 473-485.

Zuckerman, S., Bendele, A.M., (1989): Regulation of serum tumor necrosis factor in glucocorticoid sensitive and resistant rodent endotoxin shock models. *Infect Immun.* 57:3009-3013.

## 8. Curriculum vitae

Name: Mire V. Spasov  
Sex: Male  
Date of birth: 26. 06. 1968.  
Place of birth: Stip, Stip, Republic of Macedonia  
Nationality: Macedonian  
Marital status: Married, one son  
Education: 1993-  
Graduated biology at the Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Skopje, Macedonia  
2008-  
Diffended master thesis "The influence of collagen induced arthritis over the activity of AST and ALT on white laboratory rat" at the division of Physiology at the Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Skopje, Macedonia  
Position: Assistant,  
Department of Medical science,  
Faculty of medical science,  
Stip, Republic of Macedonia  
Research experience: During my work on the master thesis at the Department of Biology, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Skopje, and my work on the doctoral thesis in the Department of Biology, Faculty of Natural Sciences and Mathematics I have learned most of the techniques used in physiology and biochemistry research.  
Address: Department of Medical science,  
Faculty of medical science,  
Ljuben Ivanov, b.b.  
Stip, Republic of Macedonia