

## STRESZCZENIE

Reumatoidalne zapalenie stawów (RZS) jest przewlekłą chorobą autoimmunologiczną o charakterze zapalnym, w przebiegu której dochodzi do nieswoistego zapalenia błony maziowej, destrukcji stawów, okolic okołostawowych oraz kości. Poza zmianami w obrębie stawów cechą charakterystyczną choroby są liczne objawy pozastawowe i powikłania układowe. Wszystko to prowadzi do zaburzeń wydolności funkcjonalnej, niepełnosprawności znacznego stopnia i przedwczesnej śmierci chorych. Etiopatogeneza RZS wciąż nie została w pełni poznana. Dotychczas zaobserwowano, że do wystąpienia chronicznego procesu zapalnego mogą przyczyniać się czynniki środowiskowe, zakażenia o podłożu zarówno bakteryjnym jak i wirusowym, a także zaburzenia immunologiczne oraz predyspozycje genetyczne. Mimo wielu dekad badań nad tym schorzeniem, wciąż nie zidentyfikowano wszystkich czynników biorących udział w rozwoju RZS, a rola wielu z tych już poznanych nie została w pełni wyjaśniona. Jednym z tych czynników jest adiponektyna (ADPN), której rolę jaką pełni w etiopatogenezie RZS pozostaje niejasna. W niniejszej pracy dokonano próby szerszego zrozumienia udziału ADPN w patogenezie RZS.

### **Cele pracy:**

1. Ocena stężenia ADPN w osoczu oraz jej ekspresji na poziomie mRNA w szpiku kostnym, błonie maziowej i ciele tłuszczowym Hoffy chorych na RZS.
2. Badanie korelacji między ekspresją ADPN w tkankach oraz jej stężenia w osoczu ze stężeniami wybranych mediatorów prozapalnych biorących udział w patogenezie RZS.
3. Badanie wpływu mediatorów stanu zapalnego LPS i TNF $\alpha$  na ekspresję ADPN w ludzkich synowocytach o fenotypie fibroblastów (ang. *Human Fibroblast-Like Synoviocytes* hFLS).
4. Ocena wpływu ADPN na ekspresję mRNA IL-6 w komórkach hFLS, kluczowej cytokiny zaangażowanej w patogenezę RZS.
5. Badanie ekspresji receptorów adiponektyny (AdipoR1 i AdipoR2) na poziomie mRNA oraz ocena lokalizacji ADPN i jej receptorów za pomocą analizy immunohistochemicznej w błonie maziowej oraz ciele tłuszczowym Hoffy chorych na RZS.

## **Materiały i metody:**

Materiałem do badań były fragmenty tkanek stawowych (błona maziowa, ciało tłuszczowe Hoffy), osocze krwi oraz szpik kostny pobrane od pacjentów z reumatoidalnym RZS i chorobą zwyrodnieniową stawów (ChZS), oraz w przypadku osocza krwi od osób zdrowych (Z). Dodatkowo, w badaniach wykorzystano ludzkie synowioocyty o fenotypie fibroblastów (hFLS). Ilościową analizę wybranych genów przeprowadzono za pomocą metody PCR w czasie rzeczywistym. Ocenę stężenia cytokin oraz adiponektyny w osoczu wykonano za pomocą testu multipleksowego. W celu oceny lokalizacji i ekspresji adiponektyny i jej receptorów przeprowadzono analizę immunohistochemiczną (IHC) oraz ocenę immunoreaktywności (IRS). Przeprowadzenie stymulacji komórek hFLS pozwoliło na określenie czy mediatory prozapalne związane z rozwojem RZS wpływają na ekspresję ADPN. Zbadano także, jak stymulacja ADPN wpływa na ekspresję mRNA IL-6 w komórkach hFLS.

## **Wyniki:**

1. Wykazano wyższy poziom ekspresji genu kodującego ADPN w błonie maziowej i ciele tłuszczowym Hoffy u pacjentów z RZS w porównaniu z chorymi na ChZS.
2. Nie wykazano istotnych statystycznie różnic w ekspresji genu kodującego ADPN w szpiku kostnym oraz stężeniu ADPN w osoczu między grupami badanymi.
3. W grupie RZS nie zaobserwowano żadnych istotnych korelacji między stężeniem i ekspresją ADPN w tkankach, a stężeniem wybranych mediatorów o charakterze prozapalnym.
4. Na poziomie mRNA nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w ekspresji receptorów adiponektynowych (AdipoR1 i AdipoR2) w tkankach stawowych pomiędzy pacjentami z RZS i ChZS.
5. Na poziomie białka wykazano, że grupa RZS wykazuje nadekspresję ADPN, AdipoR1 i AdipoR2 w stosunku do grupy ChZS w błonie maziowej stawu. W ciele tłuszczowym Hoffy obserwacja ta dotyczy jedynie AdipoR2.
6. Stymulacja TNF $\alpha$  i LPS spowodowała znaczny wzrost ekspresji mRNA adiponektyny w ludzkich hFLS.
7. Stymulacja adiponektyną samodzielnie, jak i w obecności LPS zwiększa ekspresję IL-6 w ludzkich hFLS.

### **Wnioski:**

1. Pacjenci z RZS w błonie maziowej i ciele tłuszczowym Hoffy mają zwiększony poziom ekspresji mRNA adiponektyny w porównaniu z grupą kontrolną.
2. Nie ma istotnych różnic między poziomem ekspresji mRNA adiponektyny w szpiku kostnym, ani stężeniem adiponektyny w osoczu pomiędzy pacjentami z RZS i ChZS.
3. Nie ma istotnych różnic między poziomem ekspresji mRNA receptorów adiponektyny (AdipoR1 i AdipoR2) w tkankach stawowych pomiędzy pacjentami z RZS i ChZS.
4. Na poziomie białka oznaczanego metodą IHC zaobserwowano różnice w ekspresji ADPN i jej receptorów w błonie maziowej pacjentów z RZS w porównaniu z materiałem od pacjentów z ChZS. W ciele tłuszczowym Hoffy różnice między grupami dotyczyły jedynie receptora adiponektynowego-2 (AdipoR2).
5. Mediatorzy o charakterze prozapalnym (TNF $\alpha$  i LPS) zwiększają ekspresję mRNA adiponektyny w ludzkich synowiocytach o fenotypie fibroblastów.
6. Adiponektyna, zwłaszcza w obecności mediatorów stanu zapalnego (LPS) zwiększa ekspresję IL-6 w ludzkich synowiocytach o fenotypie fibroblastów (hFLS).
7. Badania sugerują, że adiponektyna jest jednym ze składników kaskady zapalnej w przebiegu RZS.