



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ & ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΣΗΠΤΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΣ ΓΟΝΑΤΟΣ – ΔΙΑΓΝΩΣΗ & ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΩΝ, MMP-2 & MMP-9,

ΣΤΗ ΣΗΠΤΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΤΟΥ ΓΟΝΑΤΟΣ

ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ Χ. ΦΩΤΟΠΟΥΛΟΣ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2012



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ & ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΣΗΠΤΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΣ ΓΟΝΑΤΟΣ – ΔΙΑΓΝΩΣΗ & ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΩΝ, MMP-2 & MMP-9,

ΣΤΗ ΣΗΠΤΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΤΟΥ ΓΟΝΑΤΟΣ

ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ Χ. ΦΩΤΟΠΟΥΛΟΣ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2012

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2.

*Αφιερωμένη
στην αγαπημένη μου σύζυγο,
στον υιό μου και τους γονείς μου*

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ εκ βαθέων όλους εκείνους οι οποίοι με στήριξαν και με βοήθησαν ποικιλοτρόπως στην υλοποίηση αυτής της διατριβής από την αρχή έως το τέλος αυτής.

Πιο συγκεκριμένα, θεωρώ υποχρέωσή μου να ευχαριστήσω:

- τον επιμελητή της Α' Ορθοπαιδικής Κλινικής του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός», κ.Τζουρμπάκη Ματθαίο, εμπνευστή του όλου εγχειρήματος και συμπαραστάτη σε όλα τα στάδια διαλογής των ασθενών και συλλογής δειγμάτων. Η συντριπτική πλειοψηφία των ατόμων που περιελήφθησαν στη μελέτη αυτή είναι ασθενείς του, ενώ η αντιμετώπισή των πασχόντων από σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος με βάση συγκεκριμένο πρωτόκολλο αρθροσκοπικής έκπλυσης και καθαρισμού μετά υφολικής υμενεκτομής πραγματοποιήθηκε από τον ίδιο.
- τον Καθηγητή Ορθοπαιδικής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, κ.Γεωργούλη Αναστάσιο για την τιμή και την εμπιστοσύνη που έδειξε προς το πρόσωπό μου, ως προς την ανάθεση του θέματος της διατριβής, καθώς και τη συμβολή του προκειμένου να ολοκληρωθεί αυτή.
- την Ερευνήτρια Β' του Ινστιτούτου Βιολογίας του Εθνικού Κέντρου Έρευνας Φυσικών Επιστημών «Δημόκριτος», κ.Τζίνια Αθηνά για την καθοδήγηση, συνεργασία, καθώς και την παραχώρηση άδειας χρήσης της υλικοτεχνικής υποδομής και των εγκαταστάσεων του Ινστιτούτου για τη διεκπεραίωση των αναλύσεων των δειγμάτων.
- τα λοιπά μέλη της τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής, την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Πειραματικής Φυσιολογίας, κ.Καλφακάκου

Βασιλική και την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας, κ.Λεβειδιώτου-Στεφάνου Σταματίνα για την αρωγή και τις πολύτιμες συμβουλές τους.

- την Ελληνική Εταιρεία Αρθροσκόπησης, Χειρουργικής Γόνατος & Αθλητικών Κακώσεων «Γ.Νούλης», η υποτροφία της οποίας κάλυψε σημαντικό τμήμα του κόστους της ερευνητικής εργασίας.
- τους Διευθυντές της Α' Ορθοπαιδικής Κλινικής, κ.Τριανταφύλλου Ιωάννη, Γεωργιά Ιωάννη και Τσουτσαίο Νικόλαο για την άδειά τους να εκπονήσω τη διδακτορική αυτή διατριβή στην κλινική που διευθύνουν και τη βοήθειά τους σε όλη αυτή τη δύσκολη πορεία.
- το Διευθυντή της Ρευματολογικής Κλινικής του οικείου νοσοκομείου κ.Σφουντούρη Χαράλαμπο για την ευγενική παραχώρηση δεδομένων ασθενών πασχόντων από ρευματικά νοσήματα με εντόπιση την άρθρωση του γόνατος και τον ειδικευόμενο ιατρό κ.Γκαμαλούτσο Χρήστο για τη λήψη δειγμάτων αρθρικού υγρού από τους αντίστοιχους ασθενείς
- και τέλος, τους λοιπούς συναδέλφους ειδικευόμενους ιατρούς και νοσηλευτικό προσωπικό της Α' Ορθοπαιδικής Κλινικής, καθώς και τους λοιπούς ερευνητές του Ινστιτούτου Βιολογίας για την ανοχή και συμπαράστασή τους.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η οξεία μονοαρθρίτιδα με εντόπιση την άρθρωση του γόνατος αποτελεί κοινή κλινική εικόνα στην ορθοπαιδική πρακτική. Ακριβής και άμεση διάγνωση, ιδιαίτερα μίας μη γονοκοκκικής σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος θεωρείται αποφασιστικής σημασίας για την αποτελεσματική αντιμετώπιση αυτής. Οποιαδήποτε καθυστέρηση, είναι δυνατό να έχει καταστρεπτικά αποτελέσματα, όπως απώλεια του υαλοειδούς χόνδρου και αρθροϊνωση, με επακόλουθη αναπηρία του ατόμου ή βακτηριαιμία και σήψη, με μοιραία συχνά κατάληξη. Η θνητότητα της σηπτικής αρθρίτιδας κυμαίνεται μεταξύ 7% και 15%. Υπολογίζεται δε ότι άνω του 50% των γλυκοζαμινογλυκανών και του 37% του κολλαγόνου είναι δυνατό να απωλεσθεί από τη θεμέλια ουσία του αρθρικού χόνδρου στις προσβεβλημένες αρθρώσεις, παρά την έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία. Ως εκ τούτου, άμεση διαφορική διάγνωση της σηπτικής από την άσηπτη –φλεγμονώδη ή μη– αρθρίτιδα παραμένει πρόκληση για τον κλινικό ιατρό. Δυστυχώς, δεν υπάρχει κανένα ειδικό φυσικό ή εργαστηριακό εύρημα, το οποίο να βοηθά τον κλινικό ιατρό προκειμένου να θέσει την τελική διάγνωση. Αρκετές καταστάσεις, όπως οι κρυσταλλογενείς αρθρίτιδες και άλλες συστηματικές ρευματικές παθήσεις, είναι δυνατό να παρουσιάζουν τα ίδια σημεία και συμπτώματα. Η έλλειψη ομοφωνίας μεταξύ των ειδικών σε ό,τι αφορά στην αντιμετώπιση της σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος επιδεινώνει μία ήδη ζοφερή εικόνα.

Οι στρωματικές μεταλλοπρωτεϊνάσες (matrix metalloproteinases - MMPs) αποτελούν υποψήφιους βιολογικούς δείκτες φυσιολογικής και παθολογικής ιστικής ανακατασκευής εντός των αρθρώσεων, εξαιτίας του κύριου

ρόλου που κατέχουν σε σχέση με την ομοιόσταση του αρθρικού χόνδρου. Είναι ενδοπεπτιδάσες, των οποίων η δράση εξαρτάται από ιόντα ασβεστίου και ψευδαργύρου, ενώ συνιστούν 24 διαφορετικά μέλη, που κατηγοριοποιούνται σε collagenases, gelatinases, stromelysins, matrilysins και μεμβρανικές MMPs. Τα ένζυμα αυτά εκκρίνονται ως αδρανή προ-ένζυμα και εν συνεχεία ενεργοποιούνται με περιορισμένη πρωτεόλυση. Η δράση των MMPs ρυθμίζεται περαιτέρω από αναστολείς, μεταξύ των οποίων οι σημαντικότεροι είναι οι ιστικοί αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών (TIMPs). Οι TIMP-1 και TIMP-2 είναι μοναδικοί στο ότι σχηματίζουν σύμπλοκες μορφές με την proMMP-9 και proMMP-2 αντίστοιχα. Καθώς η ενεργοποίηση των αδρανών προ-ενζύμων καταστέλλεται με το σχηματισμό των συμπλεγμάτων, ο μηχανισμός αυτός αποτελεί μία ακόμη ρυθμιστική δικλείδα της δράσης των ζελατινών. Η εκτροπή της έκφρασης ή/και ενεργοποίησης των ζελατινών με συνέπεια περίσσεια των MMPs έναντι των TIMPs, θεωρείται γεγονός-κλειδί για τη μετάβαση από μία φυσιολογική σε μία παθολογική κατάσταση και στην περίπτωση της αρθρίτιδας του γόνατος [355*].

Επιτυχής εξάλειψη μίας λοίμωξης από τον ξενιστή προϋποθέτει:

- εισροή ενεργοποιημένων κυττάρων της ανοσίας στους προσβεβλημένους ιστούς,
- εξόντωση του παθογόνου,
- λύση της φλεγμονής και τελικά,
- ανακατασκευή της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας.

Οι ζελατινάσες, MMP-2 και MMP-9, μετέχουν σε κάθε βήμα αυτής της διαδικασίας. Κατά τη διάρκεια αυτής, η αποικοδόμηση της θεμέλιας ουσίας του συνδετικού ιστού σε οστά και χόνδρο με διάσπαση των μακρομοριακών

συστατικών τους, κολλαγόνου και πρωτεογλυκανών αποτελεί παράπλευρη ζημία. Ο αρθρικός χόνδρος σε σηπτική αρθρίτιδα προσβάλλεται από πρωτεϊνάσες με τρεις τρόπους:

- καταστροφή της αρθρικής επιφάνειας από πρωτεϊνάσες παρούσες στο αρθρικό υγρό,
- καταστροφή με άμεση επαφή του πρωτεολυτικού υμένα ή/και του επιθητικού, φλεγμονώδους ιστού (rannus) και
- ενδογενής καταστροφή από πρωτεϊνάσες που προέρχονται από χονδροκύτταρα.

Έκφραση MMP-9 έχει διαπιστωθεί σε φλεγμονώδη κύτταρα, υμενικούς ινοβλάστες, χονδροκύτταρα και οστεοκλάστες, ενώ MMP-2 εκκρίνεται τοπικά από υμενικούς ινοβλάστες και χονδροκύτταρα.

Η άσηπτη, φλεγμονώδης αρθρίτιδα χαρακτηρίζεται από χρόνια υπερτροφική υμενίτιδα με προεξάρχοντα στοιχεία:

- την υπερπλασία - πάχυνση του επιθηλίου,
- τη διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων και
- τη νεοαγγείωση του υμενικού στρώματος.

Η χρονιότητα της φλεγμονής συντηρείται από την υπερπαραγωγή προφλεγμονωδών μεσολαβητών –παρότι πιο ήπιας σε σχέση με τη σηπτική αρθρίτιδα, η οποία υπερβαίνει και στην περίπτωση αυτή την αντιφλεγμονώδη δράση άλλων συστατικών. Στην οστεοαρθρίτιδα, δεν παρατηρούνται αξιοσημείωτες φλεγμονώδεις μεταβολές του υμένα, τουλάχιστον στα αρχικά στάδια της νόσου. Παρά ταύτα, η διαπιστούμενη καταστροφή του αρθρικού χόνδρου οφείλεται σε αυξημένη παραγωγή ενζύμων από τα χονδροκύτταρα.

Η υπόθεση εργασίας της παρούσας διατριβής βασίζεται στα παρατηρούμενα υψηλότερα επίπεδα ζελατινών σε δείγματα αρθρικού υγρού ασθενών-πασχόντων από σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος σε σχέση με εκείνα πασχόντων από ρευματικής αιτιολογίας αρθρίτιδα ή οστεοαρθρίτιδα. Ο καταρράκτης της φλεγμονής ενεργοποιείται σε σηπτική και άσηπτη φλεγμονώδη αρθρίτιδα του γόνατος. Όμως, στην περίπτωση της σηπτικής αρθρίτιδας, ανιχνεύεται εκσεσημασμένη ενζυμική δράση, μετά κορεσμό της ενδογενούς ανασταλτικής δυναμικής, εξαιτίας αυξημένης έκφρασης και ενεργοποίησης των MMPs οι οποίες επάγονται από βακτήρια ή συγκεκριμένα βακτηριακά συστατικά. Πραγματοποιήθηκε λοιπόν ζυμογραφία ζελατίνης και προσδιορισμός πρωτεϊνών με ποσοτικές και ημιποσοτικές μεθόδους (western blot analysis και ELISA), προκειμένου να συγκριθούν τα επίπεδα των MMP-2, MMP-9 και TIMP-1 μεταξύ των τριών ομάδων, της σηπτικής, ρευματικής και της οστεοαρθρίτιδας. Σκοπός της διατριβής είναι η διερεύνηση της κλινικής σημασίας της δράσης των ζελατινών και των αναστολέων τους στη σηπτική και άσηπτη αρθρίτιδα και της πιθανής χρήσης ως πρόσθετου διαγνωστικού κριτηρίου είτε και ως προγνωστικού δείκτη.

Περιεχόμενα

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	11
1. Στοιχεία ανατομίας γόνατος	13
2. Στοιχεία ιστολογίας	27
3. Σηπτική αρθρίτιδα γόνατος	37
3.1. Επιδημιολογία	37
3.2. Παθοφυσιολογία και μικροβιολογία	41
3.3. Φυσική ιστορία	55
3.4. Κλινική και εργαστηριακή αξιολόγηση	59
3.4.1. Κλινική εικόνα	59
3.4.2. Εργαστηριακή αξιολόγηση	63
I. Εργαστηριακές παράμετροι αίματος	63
II. Εργαστηριακές παράμετροι αρθρικού υγρού	67
III. Επιχρίσματα	85
IV. Βιοψία και καλλιέργεια ιστών - υλικών	87
V. Απεικονιστικές εξετάσεις	93
VI. Διαγνωστική αρθροσκόπηση	103
3.5. Διαφορική διάγνωση	107
3.5.1. Ρευματικά νοσήματα	115
3.5.2. Κρυσταλλογενής αρθρίτιδα	119
I. Ουρική αρθρίτιδα	121
II. Ψεύδο-ουρική αρθρίτιδα	125
3.5.3. Οστεοαρθρίτιδα	127
3.6. Κατάταξη	131

3.7.Αντιμετώπιση	137
3.7.1. Αντιμικροβιακοί παράγοντες	141
3.7.2. Αντιφλεγμονώδεις παράγοντες	151
3.7.3. Εκκένωση και αποσυμπίεση της άρθρωσης	155
I. Επαναλαμβανόμενες παρακεντήσεις	159
II. Αρθροσκοπική παροχέτευση	161
III. Ανοικτή χειρουργική παροχέτευση - Αρθροτομή	167
IV. Συστήματα συνεχούς έκπλυσης	169
3.7.4. Τοπικά συστήματα αποδέσμευσης αντιμικροβιακών παραγόντων	171
3.7.5. Ξένα σώματα	173
3.7.6. Φυσική αποκατάσταση	177
3.8.Βιολογικοί δείκτες	179
4. Ζελατινάσες (gelatinases)	181
4.1.Στρωματικές μεταλλοπρωτεϊνάσες	181
4.2.Ζελατινάσες	187
4.3.Ενεργοποίηση των προζελατινασών	191
4.4.Ενδογενείς αναστολείς πρωτεϊνολυτικών	197
4.5.Ρυθμιστικοί μηχανισμοί δράσης των πρωτεϊνολυτικών	203
5. Σηπτική αρθρίτιδα και ζελατινάσες	209
5.1.Αποικοδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας στον αρθρικό χόνδρο	209
5.2.Πηγή των ζελατινασών	211
5.3.Ιδιότητες των ζελατινασών	213
5.4.Αύξηση έκφρασης και ενεργοποίησης	217

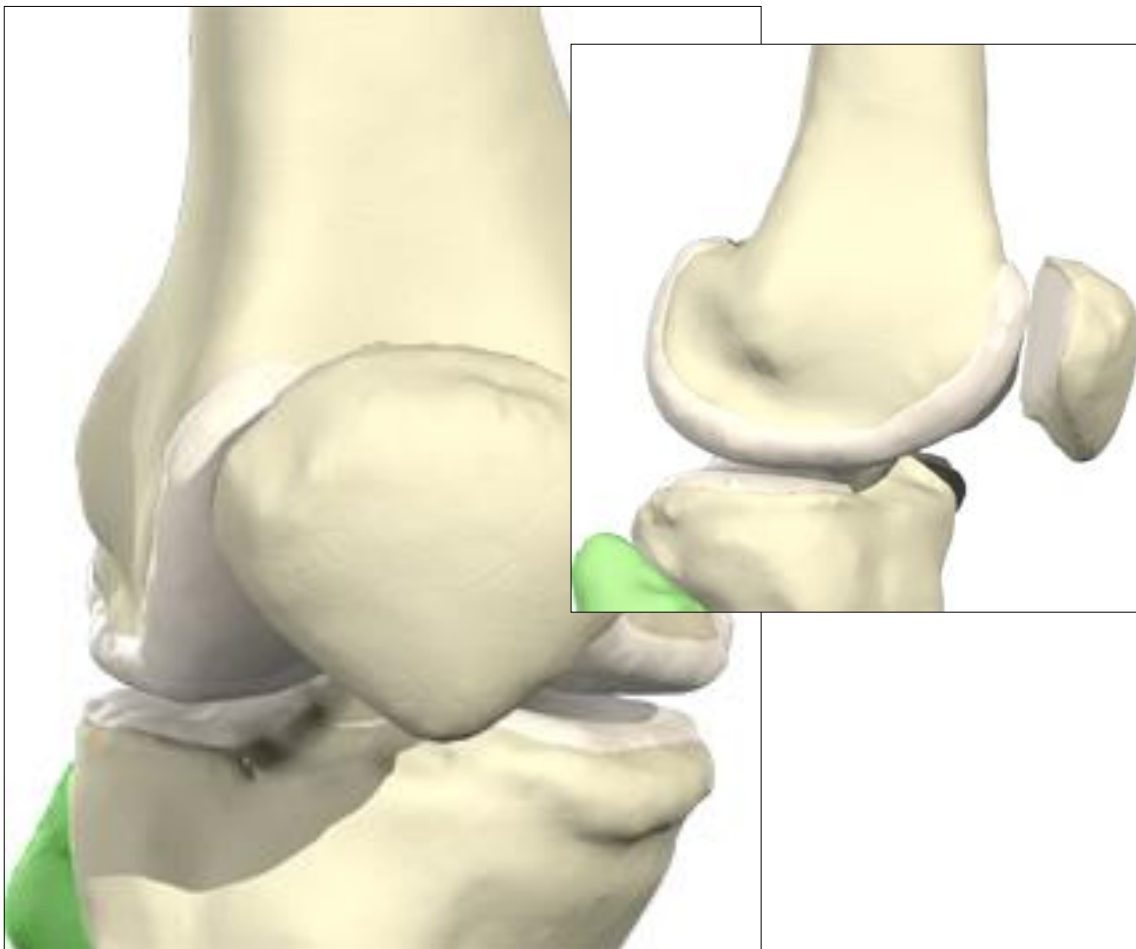
5.5. Παραγωγή ζελατινών ανά κυτταρικό τύπο	221
5.5.1. Ουδετερόφιλα	221
5.5.2. Μακροφάγα - μονοκύτταρα	223
5.5.3. Λεμφοκύτταρα	229
5.5.4. Υμενικά κύτταρα - ινοβλάστες	231
5.5.5. Χονδροκύτταρα	233
5.5.6. Οστεοκλάστες	235
B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	239
1. Υλικό/Μεθοδολογία	241
1.1. Λήψη και διαχείριση δειγμάτων	249
1.2. Ζυμογραφία ζελατίνης	251
1.3. Ανάλυση western blot	259
1.4. ELISA	265
1.5. Πρωτόκολλο αντιμετώπισης ασθενών πασχόντων από σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος	267
1.6. Παρακολούθηση των ασθενών της ομάδας της σηπτικής αρθρίτιδας	269
1.7. Στατιστική ανάλυση	273
2. Αποτελέσματα	275
2.1. Δεδομένα ασθενών που περιελήφθησαν στη μελέτη	275
2.2. Ανίχνευση δράσης ζελατινάσης σε δείγματα αρθρικού υγρού	277
2.3. Προσδιορισμός MMP-9 και TIMP-1	281
2.4. Ποσοτικός προσδιορισμός proMMP-9	287
2.5. Κλινικά αποτελέσματα	291
3. Συζήτηση	303
4. Συμπέρασμα	309

5. Περίληψη	311
6. Abstract	313
Γ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	317
I. Πίνακες	319
II. Σχήματα	343
III. Διαλύματα	351
IV. Στατιστικές αναλύσεις	355
V. Εικόνες	391
Δ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	401

Α. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΑΝΑΤΟΜΙΑΣ ΓΟΝΑΤΟΣ

Η διάρθρωση του γόνατος είναι η μεγαλύτερη από τις αρθρώσεις του σώματος. Είναι *τροχογίγγλυμη* άρθρωση που επιτρέπει μικρού βαθμού στροφή [1]. Είναι *σύνθετη* άρθρωση, κατά την οποία το κάτω άκρο του μηριαίου αρθρώνεται αφενός με το άνω άκρο της κνήμης (μηροκνημιαία διάρθρωση), αφετέρου με την οπίσθια επιφάνεια της επιγονατίδας (επιγονατιδομηριαία διάρθρωση) [2].



ΕΠΙΓΟΝΑΤΙΔΟΜΗΡΙΑΙΑ ΔΙΑΡΘΡΩΣΗ

Έχει ως αρθρικές επιφάνειες την τροχιλία του μηριαίου οστού και την οπίσθια επιφάνεια της επιγονατίδας. Η τελευταία έχει κάθετη ακρολοφία στο μέσο της, η οποία εφαρμόζει σε αντίστοιχη αύλακα της τροχιλίας [2]. Η αρθρική επιφάνεια της επιγονατίδας έρχεται σε άμεση επαφή με τη μηριαία τροχιλία όταν το γόνατο

βρίσκεται σε έκταση. Στην κάμψη η επιγονατίδα απομακρύνεται περιφερικά (προς τα κάτω) [1].

ΜΗΡΟΚΝΗΜΙΑΙΑ ΔΙΑΡΘΡΩΣΗ

Οι αρθρικές επιφάνειες της διάρθρωσης είναι η κάτω επιφάνεια των δύο μηριαίων κονδύλων και οι δύο κνημιαίες γλήνες [2]. Ο έξω μηριαίος κόνδυλος είναι πλατύτερος εμπρός από ότι στην οπίσθια επιφάνεια, ενώ ο έσω έχει σχετικά σταθερό πάχος. Κατά το οβελιαίο επίπεδο η καμπυλότητα του κονδύλου αυξάνει από εμπρός προς τα πίσω, καθώς η ακτίνα καμπυλότητας γίνεται μικρότερη. Τα κέντρα της καμπύλης δε βρίσκονται σε ένα μοναδικό εγκάρσιο άξονα αλλά σε αναρίθμητους. Έτσι όταν κάμπτεται το γόνατο οι πλάγιοι σύνδεσμοι χαλαρώνουν. Επιπροσθέτως, ο έσω μηριαίος κόνδυλος καμπυλώνει πέραξ ενός κάθετου άξονα (καμπύλη συστροφής).

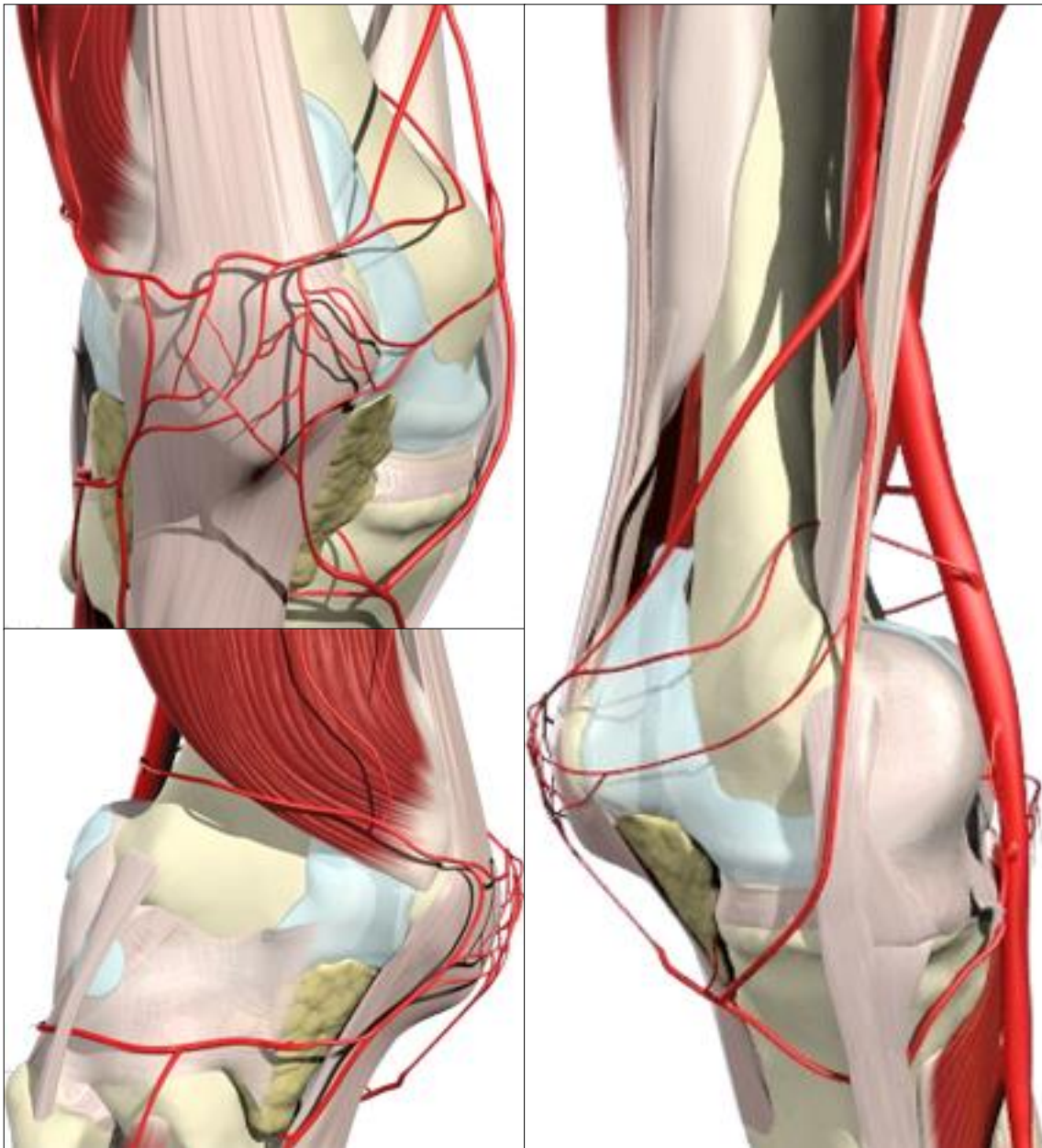
Η άνω αρθρική επιφάνεια της κνήμης σχηματίζεται από τις δύο κνημιαίες γλήνες οι οποίες χωρίζονται με το μεσογλήνιο έπαρμα και τους δύο μεσογλήνιους βόθρους [1].

Οι διάφορες ανωμαλίες των αρθρικών επιφανειών αντισταθμίζονται με τους σχετικά παχείς αρθρικούς χόνδρους και τους διάρθριους μηνίσκους – έξω και έσω, οι οποίοι παρεμβάλλονται μεταξύ αυτών [1, 2]. Με τους μηνίσκους η αρθρική κοιλότητα διαιρείται ατελώς σε άνω μοίρα ή μηνισκομηριαία και κάτω ή μηνισκοκνημιαία [2].

ΔΙΑΡΘΡΟΙΟΙ ΜΗΝΙΣΚΟΙ

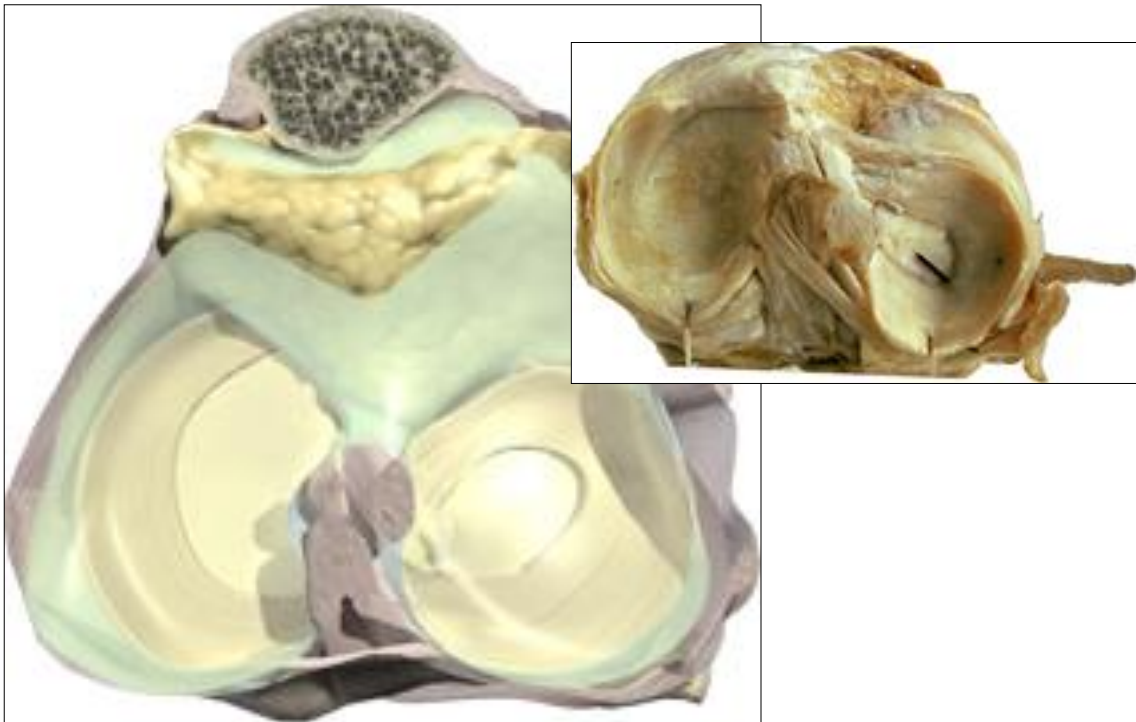
Οι διάρθριοι μηνίσκοι αποτελούνται από πυκνό κολλαγόνο συνδετικό ιστό και χονδροκύτταρα (ινώδης χόνδρος) [1, 2]. Αιματώνονται από τη μέση αρθρική και

τις κάτω αρθρικές αρτηρίες του γόνατος οι οποίες σχηματίζουν αρτηριακά τόξα κατά το έξω χείλος των μηνίσκων [1].



Σε εγκάρσια διατομή είναι πιο πεπλατυσμένοι κατά το έσω χείλος, εμφανίζουν δηλαδή τριγωνικό σχήμα, του οποίου η βάση συμφύεται με τον αρθρικό υμένα και η κορυφή αποτελεί το έσω, ελεύθερο χείλος του μηνίσκου [1, 2]. Οι άνω επιφάνειές τους είναι υπόκοιλες και υποδέχονται το σύστοιχο μηριαίο κόνδυλο. Οι κάτω είναι σχετικά επίπεδες και εφαρμόζουν στις κνημιαίες γλήνες. Με τον

τρόπο αυτό η αρθρική επιφάνεια των κνημιαίων γληνών γίνεται υποστρόγγυλη και βαθύτερη για την υποδοχή των μηριαίων κονδύλων.



Ο έσω μηνίσκος έχει ημικυκλικό σχήμα και είναι πλατύτερος κατά το οπίσθιο κέρασ αυτού, παρά εμπρός. Το περιφερικό του χείλος συνάπτεται με τον αρθρικό θύλακο και τον έσω πλάγιο σύνδεσμο και γενικά συνδέεται πιο στέρεα με την κνήμη [1].

Ο έξω μηνίσκος είναι μάλλον στρογγυλός, με τα άκρα του να συμπλησιάζουν μεταξύ τους και έχει το ίδιο σχεδόν πλάτος σε όλο το μήκος του. Δε συνάπτεται με τον αρθρικό θύλακο ή τον έξω πλάγιο σύνδεσμο, ενώ συνδέεται χαλαρά με την κνήμη. Κατά τις κινήσεις του γόνατος μετακινείται ελαφρά προς τα πρόσω ή πίσω μαζί με τον έξω μηριαίο κόνδυλο [1, 2]. Ο έξω μηνίσκος μπορεί να συνδέεται με την έσω επιφάνεια του έσω μηριαίου κονδύλου με συνδέσμους. Έτσι από το οπίσθιο κέρασ του ο οπίσθιος μηνισκομηριαίος σύνδεσμος (σύνδεσμος του Robert ή σύνδεσμος του Wrisberg) φέρεται συχνά πίσω από τον οπίσθιο χιαστό σύνδεσμο. Λιγότερο συχνά,

εμπρός από τον οπίσθιο χιαστό, προς τον έσω μηριαίο κόνδυλο, φέρεται ο πρόσθιος μηνισκομηριαίος σύνδεσμος (σύνδεσμος του Humphry). Σε ελάχιστες περιπτώσεις υπάρχουν και οι δύο [1]. Το έξω χείλος του έξω μηνίσκου χωρίζεται από τον έξω πλάγιο σύνδεσμο με τον εκφυτικό τένοντα του ιγνυακού μυός, του οποίου μερικές δεσμίδες εκφύονται από τον έξω μηνίσκο.

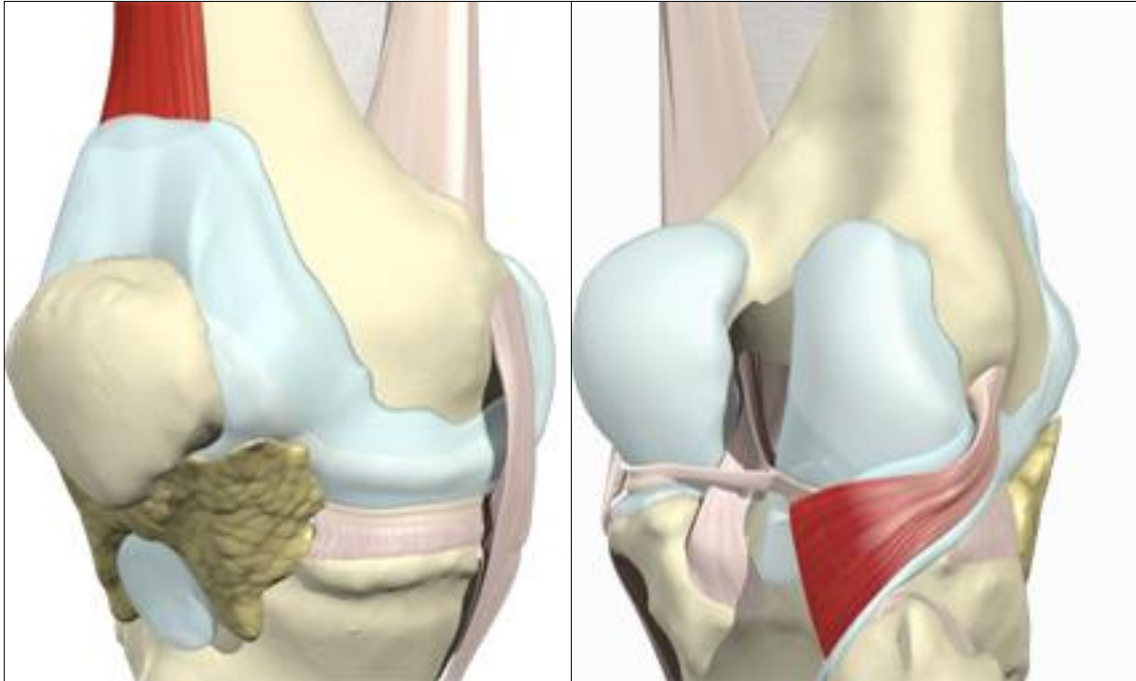
Οι δύο διάρθριοι μηνίσκοι συνδέονται μεταξύ τους, εμπρός, με τον εγκάρσιο σύνδεσμο των μηνίσκων. Οι μηνίσκοι με το πρόσθιο άκρο τους προσφύονται στον πρόσθιο μεσογλήνιο βόθρο, με το οπίσθιο στον αντίστοιχο βόθρο και με το έξω χείλος τους συμφύονται με τον αρθρικό υμένα [2].

ΑΡΘΡΙΚΟΣ ΘΥΛΑΚΟΣ

Ο αρθρικός θύλακος είναι κοινός και περιλαμβάνει και τις δύο επιμέρους διαρθρώσεις του γόνατος [2]. Ο αρθρικός υμένας και ο ινώδης θύλακος του αρθρικού θυλάκου χωρίζονται μεταξύ τους με την παρεμβολή λιπωδών σωμάτων στην πρόσθια (υποεπιγονατιδικό λιπώδες σώμα και οι δύο πτερυγοειδείς πτυχές αυτού) και οπίσθια επιφάνεια της άρθρωσης [1].

Το πρόσθιο τοίχωμα του αρθρικού θυλάκου είναι λεπτό και ο αρθρικός υμένας προβάλλει υπό τον τένοντα του τετρακέφαλου μυός προς τα άνω, σχηματίζοντας τον υπερεπιγονατιδικό ορογόνο θύλακο [2]. Η γραμμή ανάκαμψης του αρθρικού υμένα στην πρόσθια επιφάνεια του μηριαίου οστού βρίσκεται υψηλότερα από τα χείλη του αρθρικού χόνδρου όπου καταφύεται, σχηματίζοντας το υπερτροχίλιο κόλπωμα, το οποίο επικοινωνεί με τον υπερεπιγονατιδικό θύλακο [1, 2]. Ο θύλακος αυτός, άνωθεν της μηριαίας τροχιλίας, συγκρατείται στη θέση του με μυικές δεσμίδες που προέρχονται από την κατώτερη μοίρα του μέσου πλατέως μυός (μυς της άρθρωσης του γόνατος

– M. Articularis Genu ή υπομηρίδιος μυς) [2]. Μεταξύ του περιostίου του μηριαίου και του αρθρικού υμένα παρεμβάλλεται στρώμα συνδετικού ιστού [1].



Στο μηρό λοιπόν ο αρθρικός θύλακος προσφύεται εμπρός, λίγο πάνω από τη μηριαία τροχλία, πλάγια, κάτωθεν των υπερκονδυλίων κυρτωμάτων και κατά την οπίσθια επιφάνεια του γόνατος, ακολουθεί ακριβώς τα χείλη του αρθρικού χόνδρου των μηριαίων κονδύλων [1, 2]. Στην πρόσθια και οπίσθια επιφάνεια της κνήμης η γραμμή ανάκαμψης και η πρόσφυση του θυλάκου βρίσκεται πλησίον των χειλέων του αρθρικού χόνδρου. Από το υποεπιγονατιδικό λιπώδες σώμα φέρεται προς τα πίσω, έως τον πρόσθιο χιαστό σύνδεσμο, η υποεπιγονατιδική ενάρθρια πτυχή. Η πτυχή αυτή, προσεκβολή του αρθρικού υμένα, αποτελεί υπόλειμμα εμβρυϊκής πτυχής η οποία διαιρούσε την αρθρική κοιλότητα σε δύο επιμέρους κοιλότητες και περιβάλλει και τους δύο χιαστούς συνδέσμους [1]. Αντίστοιχα προς τη μεσοκονδύλια εντομή, ο υμένας ενδιπλούμενος εισέχει και συνυφαίνεται με τους χιαστούς συνδέσμους, ενώ προσφύεται περίξ του υπογλήνιου χείλους, αφήνοντας τους μεσογλήνιους

βόθρους έξω από τη διάρθρωση [2]. Αυτή η διάταξη δημιουργεί δύο αρθρικούς χώρους γιατί ο αρθρικός υμένας περνά εμπρός από τον πρόσθιο και οπίσθιο χιαστό σύνδεσμο, ώστε οι σύνδεσμοι βρίσκονται έξω από την αρθρική κοιλότητα αλλά εντός του ινώδους θυλάκου [1].

Ακόμη, στην επιγονατίδα ο αρθρικός υμένας προσφύεται πέριξ της αρθρικής επιφάνειάς της, ενώ στους διάρθριους μηνίσκους συνυφαίνεται στέρεα με την περιφέρειά τους. Δεξιά και αριστερά από την επιγονατίδα ο αρθρικός θύλακος ενισχύεται από τενόντιες ίνες του έσω και έξω πλατέως μυός, οι οποίοι φέρονται και προσφύονται απ' ευθείας στα πλάγια χείλη της επιγονατίδας (καθεκτικοί σύνδεσμοι).

Τέλος, ο θύλακος ενισχύεται οπισθίως από λοξή προσεκβολή του τένοντα του ημιϋμενώδους μυός, η οποία αποτελεί το λοξό ιγνυακό σύνδεσμο. Αντιστοίχως προς εκφυτικές δεσμίδες του ιγνυακού μυός, πίσω από τον έξω κνημιαίο κόνδυλο υπάρχει μικρή σχισμή του αρθρικού θυλάκου. Ο αρθρικός υμένας προεκβάλλει υπό τον τένοντα του ιγνυακού μυός και σχηματίζει τον ορογόνο θύλακο του ιγνυακού μυός (υποίγνυακό κόλπωμα). Από τον αρθρικό υμένα σχηματίζεται και ο ορογόνος θύλακος του ημιϋμενώδους μυός, μεταξύ της έσω εκφυτικής κεφαλής του γαστροκνημίου, του έσω κνημιαίου κόνδylου και του τένοντα του ημιϋμενώδους μυός.

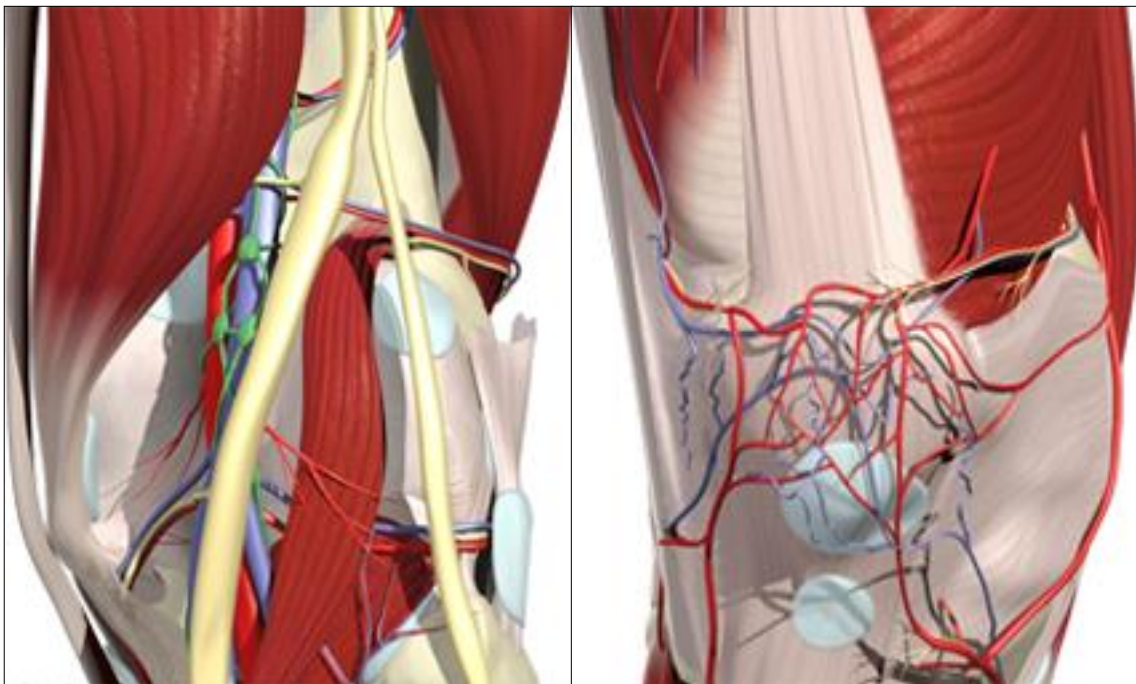
Ο αρθρικός υμένας προεκβάλλει πίσω από την οπίσθια επιφάνεια του επιγονατιδικού συνδέσμου και σχηματίζει τον εν τω βάθει υποεπιγονατιδικό θύλακο, ο οποίος πληροί το κενό μεταξύ του οστού της κνήμης και του επιγονατιδικού συνδέσμου. Προσεκβολές δε του υμένα εντός της αρθρικής κοιλότητας, οι ενάρθριες λιπώδεις πτυχές ή λάχνες, πληρούν τα κενά εντός της

αρθρώσεως και αμβλύνουν τις πλήξεις και τη δυσαρμονία των αρθρικών επιφανειών [2].

ΟΡΟΓΟΝΟΙ ΘΥΛΑΚΟΙ

Πέριξ της διάρθρωσης του γόνατος, ιδιαίτερα σε σημεία όπου το δέρμα, μύες ή τένοντες υφίστανται τριβή επί των οστών, απαντώνται ορογόνοι θύλακοι, τέσσερις στην πρόσθια και έξι στην οπίσθια επιφάνειά του. Οι πρόσθιοι είναι:

- ο υπερεπιγονατιδικός θύλακος,
- ο υποδόριος της επιγονατίδας,
- ο επιπολής και
- ο εν τω βάθει υποεπιγονατιδικός.



Οι οπίσθιοι είναι:

- ο θύλακος του ιγνυακού μύος
- του ημιϊμενώδους (θύλακος του Brodie)
- του δικέφαλου μηριαίου
- του «χήνειου ποδός»

- της έξω και
- έσω κεφαλής του γαστροκνημίου μύος.

Από τους ανωτέρω, με την αρθρική κοιλότητα επικοινωνούν ο υπερεπιγονατιδικός, ο εν τω βάθει υποεπιγονατιδικός, του ιγνυακού μύος και του ημιϊμενώδους. Οι προεκβολές αυτές του αρθρικού υμένα επί τα εκτός, αντιστοιχούν σε ασθενείς θέσεις του αρθρικού θύλακου και ως παραπληρωματικοί χώροι υποδέχονται το εκτοπιζόμενο, κατά τις πλήξεις των αρθρώσεων, αρθρικό υγρό [2].

ΣΥΝΔΕΣΜΟΙ

Ο αρθρικός θύλακος ενισχύεται από συνδέσμους οι οποίοι βρίσκονται εκτός του θύλακου, όπως ο επιγονατιδικός, ο έξω και έσω πλάγιος, οι καθεκτικοί, ο λοξός ιγνυακός, ο τοξοειδής ιγνυακός και άλλους που βρίσκονται εντός αυτού, μεταξύ ινώδους θύλακου και αρθρικού υμένα, όπως οι χιαστοί (πρόσθιος και οπίσθιος).

- Ο **επιγονατιδικός** σύνδεσμος αποτελεί συνέχεια του τένοντα του τετρακέφαλου μηριαίου μύος. Εκφύεται από τον κάτω πόλο της επιγονατίδας και καταφύεται στο κνημιαίο κύρτωμα.
- Οι **καθεκτικοί** σύνδεσμοι της επιγονατίδας (έξω και έσω) καλύπτουν τον αρθρικό θύλακο, προσφυόμενοι στα πλάγια χείλη της επιγονατίδας [2]. Αποτελούν προσεκβολές της μηριαίας περιτονίας και των τενόντων του έσω και έξω πλατέως μύος και φέρονται προς την κνήμη όπου καταφύονται στα πλάγια του κνημιαίου κυρτώματος.
- Ο **έξω πλάγιος** σύνδεσμος έχει σχοινοειδή μορφή. Εκφύεται από το έξω υπερκονδύλιο κύρτωμα και καταφύεται στην κεφαλή της περόνης. Δε συμφύεται με τον αρθρικό θύλακο ή τον έξω διάρθριο μηνίσκο, ενώ μεταξύ

αυτού και του μηνίσκου παρεμβάλλονται εκφυτικές δεσμίδες του ιγνυακού μυός.

- Ο **έσω πλάγιος** σύνδεσμος πεπλατυσμένος, τριγωνικού σχήματος, φέρεται από το έσω υπερκονδύλιο κύρτωμα προς την έσω επιφάνεια της κνήμης, κάτωθεν του κνημιαίου κονδύλου, συμφύομενος κατά την πορεία του με το περιφερικό χείλος του έσω μηνίσκου [1, 2].

Τα σημεία πρόσφυσης του έξω και έσω πλαγίου συνδέσμου βρίσκονται όπισθεν του κατακόρυφου άξονα των αρθρούμενων οστών, ώστε παρεμποδίζεται η υπερέκταση της κνήμης.

- Ο **λοξός ιγνυακός** σύνδεσμος ή σύνδεσμος του Winslow αποτελεί λοξή προσεκβολή του τένοντα του ημιϋμενώδους μυός στην οπίσθια επιφάνεια της διάρθρωσης του γόνατος [2].
- Ο **τοξοειδής ιγνυακός** σύνδεσμος βρίσκεται στην περιοχή του έξω μηριαίου κονδύλου, σε στενή συνάφεια με τον ιγνυακό μυ. Αποτελείται από δεσμίδες συνδετικού ιστού και τενόντιες ίνες, οι οποίες εκφύονται από την κεφαλή της περόνης και συνυφαίνονται με τον αρθρικό θύλακο.
- Οι **χιαστοί** σύνδεσμοι (πρόσθιος και οπίσθιος) βρίσκονται εντός της διάρθρωσης του γόνατος, μεταξύ των μηριαίων κονδύλων. Εμποδίζουν την υπερέκταση της κνήμης και συγκρατούν τα αρθρούμενα οστά σε επαφή κατά τις στροφικές κινήσεις με το γόνατο σε κάμψη, οπότε χαλαρώνουν οι πλάγιοι σύνδεσμοι.

Ο πρόσθιος χιαστός σύνδεσμος φέρεται από τον πρόσθιο μεσογλήνιο βόθρο στη μεσοκονδύλια (έσω) επιφάνεια του έξω μηριαίου κονδύλου. Ο οπίσθιος χιαστός – ισχυρότερος – φέρεται από τον οπίσθιο μεσογλήνιο

βόθρο προς τη μεσοκονδύλια (έξω) επιφάνεια του έσω μηριαίου κονδύλου, ενώ κατά τη διαδρομή του χιάζεται με τον πρόσθιο [1, 2].

ΑΓΓΕΙΩΣΗ & ΝΕΥΡΩΣΗ

Η διάρθρωση του γόνατος αγγειούται από το αρτηριακό αρθρικό δίκτυο του γόνατος. Το δίκτυο αυτό σχηματίζεται πέριξ της επιγονατίδας και των παρακείμενων άκρων του μηρού και της κνήμης και συμβάλλει στην αντιρρόπηση της διακοπής της κυκλοφορίας από τη σύγκαμψη της ιγνυακής αρτηρίας κατά την υπερβολική κάμψη του γόνατος. Στο σχηματισμό του δικτύου μετέχουν οι εξής αρτηρίες οι οποίες και αναστομώνονται μεταξύ τους:

- η ανώτατη του γόνατος από τη μηριαία αρτηρία,
- οι άνω και κάτω αρθρικές (έσω και έξω) από την ιγνυακή αρτηρία,
- η πρόσθια και οπίσθια κνημιαία παλίνδρομη από την πρόσθια κνημιαία αρτηρία και
- ο περνιαίος κλάδος από την οπίσθια κνημιαία αρτηρία.

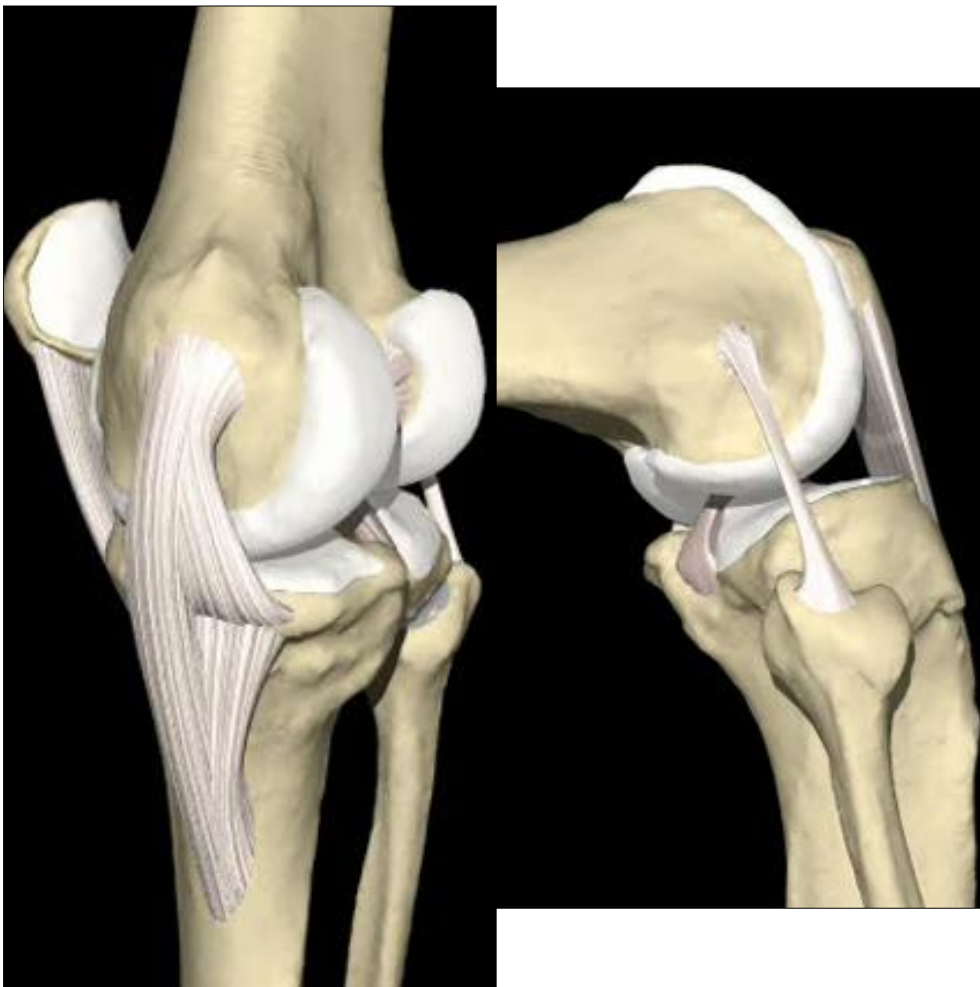
Το γόνατο νευρώνεται από το μηριαίο, το θυροειδές, το κοινό περνιαίο και το κνημιαίο νεύρο [2].

ΚΙΝΗΣΕΙΣ

Κατά την άρθρωση του γόνατος, εκτελούνται κινήσεις κάμψης και έκτασης, ενώ με το γόνατο σε κάμψη μικρού βαθμού στροφικές κινήσεις [1, 2].

Η έκταση της κνήμης πραγματοποιείται με ενέργεια του τετρακέφαλου μηριαίου μυός [2]. Κατά την έκταση η κνήμη ευθειάζεται προς το μηρό και διατείνονται οι δύο πλάγιοι σύνδεσμοι [1, 2]. Οι μηριαίοι κόνδυλοι ολισθαίνουν στην πιο ακραία θέση που επιτρέπει η πλήρης διάταση του έσω πλαγίου

συνδέσμου [1]. Περισσότερη έκταση παρεμποδίζεται από τον πρόσθιο χιαστό σύνδεσμο [2]. Κατά τις τελευταίες 10° πριν την πλήρη έκταση παρατηρείται υποχρεωτική τελική στροφή περίπου 5°, οπότε και διατείνονται και οι δύο πλάγιοι σύνδεσμοι, ενώ συγχρόνως διαχωρίζονται οι χιαστοί σύνδεσμοι μεταξύ τους. Όταν το σκέλος δε φέρει βάρος, η τελική στροφή γίνεται με έξω στροφή της κνήμης, ενώ όταν το σκέλος φέρει το βάρος του σώματος (ορθοστασία), η τελική στροφή γίνεται με έσω στροφή του μηρού [1]. Κατά την υπερέκταση της κνήμης, η έσω στροφή του μηρού έχει ως αποτέλεσμα τη διάταση όλων των κύριων συνδέσμων της διάρθρωσης (πλαγίων, χιαστών και λοξού ιγνυακού) [1, 2]. Το γόνατο τότε γίνεται άκαμπτο («κλειδωμένη θέση») με τους διάρθριους μηνίσκους να δέχονται το μέγιστο της φόρτισης.



Η κάμψη της κνήμης επί του μηρού πραγματοποιείται με ενέργεια του δικέφαλου μηριαίου, του ημιτενοντώδους και του ημιϋμενώδους μυός. Για την κάμψη του γόνατος απαραίτητη είναι η χαλάρωση των συνδέσμων («ξεκλείδωμα»). Αυτή επιτυγχάνεται με έξω στροφή του μηρού με την ενέργεια του ιγνυακού μυός, ενώ οι διάρθριοι μηνίσκοι ανακτούν το αρχικό σχήμα τους [2]. Με κεκαμμένο το γόνατο, είναι δυνατή και στροφή. Το εύρος της έσω στροφής της κνήμης είναι μικρότερο της έξω. Κατά την έσω στροφή της κνήμης επί του μηριαίου, οι χιαστοί σύνδεσμοι συστρέφονται ο ένας περίξ του άλλου, περιορίζοντας το εύρος αυτής. Το αντίθετο παρατηρείται κατά την έξω στροφή.



Εξαιτίας της λοξής φοράς των χιαστών συνδέσμων, σε κάθε θέση διατείνεται κάποιος χιαστός σύνδεσμος ή μοίρα αυτού. Το όριο της έξω στροφής καθορίζεται από τον έσω πλάγιο σύνδεσμο (μέγιστο εύρος 45° - 60°) [1]. Η έσω στροφή πραγματοποιείται με ενέργεια του ραπτικού, ισχνού και ημιτενοντώδους μυός, η δε έξω, με ενέργεια του δικέφαλου μηριαίου [2]. Κατά τη στροφή ο

μηρός και οι μηνίσκοι κινούνται επί της κνήμης, ενώ κατά την κάμψη και έκταση ο μηρός ολισθαίνει επί των μηνίσκων [1].

Τέλος, κατά την κάμψη του γόνατος οι διάρθριοι μηνίσκοι μετακινούνται ελάχιστα προς τα πίσω, η δε επιγονατίδα κινείται περιφερικά, φερόμενη έναντι της μεσοκονδύλιας εντομής. Αντίθετα, κατά την έκταση, οι μηνίσκοι φέρονται προς τα εμπρός, ενώ η επιγονατίδα κινείται κεντρικά, μέχρι άνωθεν της τροχιλίας [2].

2. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΙΣΤΟΛΟΓΙΑΣ

Κατά τη διάρθρωση του γόνατος, τα άκρα των συντασσομένων οστών περιβάλλονται από ισχυρή ινοκολλαγονώδη κάψα, ώστε παραμένει μεταξύ των σχισμοειδής χώρος, η αρθρική κοιλότητα [2, 3].

ΑΡΘΡΙΚΟ ΥΓΡΟ

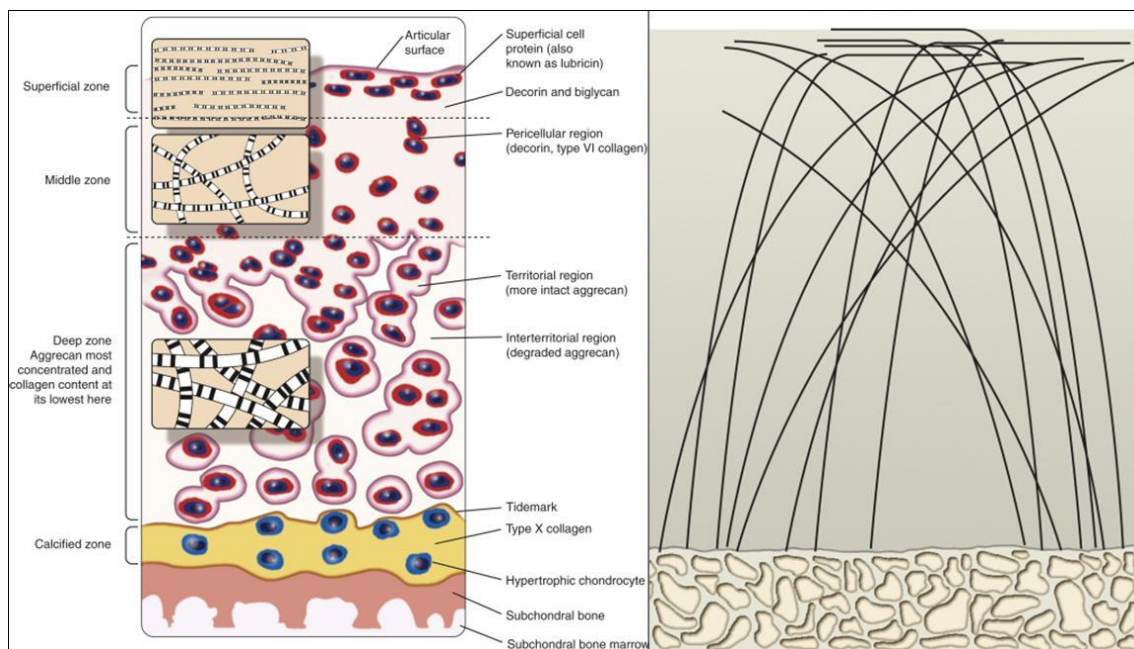
Η αρθρική κοιλότητα περιέχει ελάχιστη ποσότητα διαυγούς, παχύρρευστου, βλεννώδους υγρού (αρθρικό υγρό) [1, 2]. Το αρθρικό υγρό αποτελεί διήθημα του πλάσματος και παράγεται από τα Α κύτταρα του αρθρικού υμένα [4]. Η γλοιότητά του εξαρτάται από την αυξημένη περιεκτικότητα σε υαλουρονικό οξύ και μεταβάλλεται με την θερμοκρασία: αύξηση της θερμοκρασίας συνεπάγεται μείωση της γλοιότητας [1, 4]. Χάριν του αρθρικού υγρού, μειώνεται στο ελάχιστο ο συντελεστής τριβής και πίεσης μεταξύ των αρθρικών επιφανειών των συντασσομένων οστών, ώστε εξασφαλίζεται ομαλή ολίσθηση [2]. Επιπροσθέτως, εφοδιάζει με θρεπτικές ουσίες και οξυγόνο το στερημένο από αγγεία αρθρικό χόνδρο [4].

ΑΡΘΡΙΚΟΣ ΧΟΝΔΡΟΣ

Οι αρθρικές επιφάνειες επικαλύπτονται από στιβάδα υαλοειδούς χόνδρου, το πάχος του οποίου ποικίλλει από 2 έως 5 mm – μεγαλύτερο σε θέσεις όπου ασκούνται μεγαλύτερες δυνάμεις πίεσης και τριβής (Σε μερικές θέσεις της επιγονατίδας μπορεί να φθάσει και τα 6 mm) [1, 2]. Ο αρθρικός χόνδρος – λείος, ολισθηρός, ελαστικός και ευπίεστος – συνδέεται στερρά με το υποκείμενο οστό και στερείται περιχονδρίου. Εξουδετερώνει οιαδήποτε δυσαρμονία των

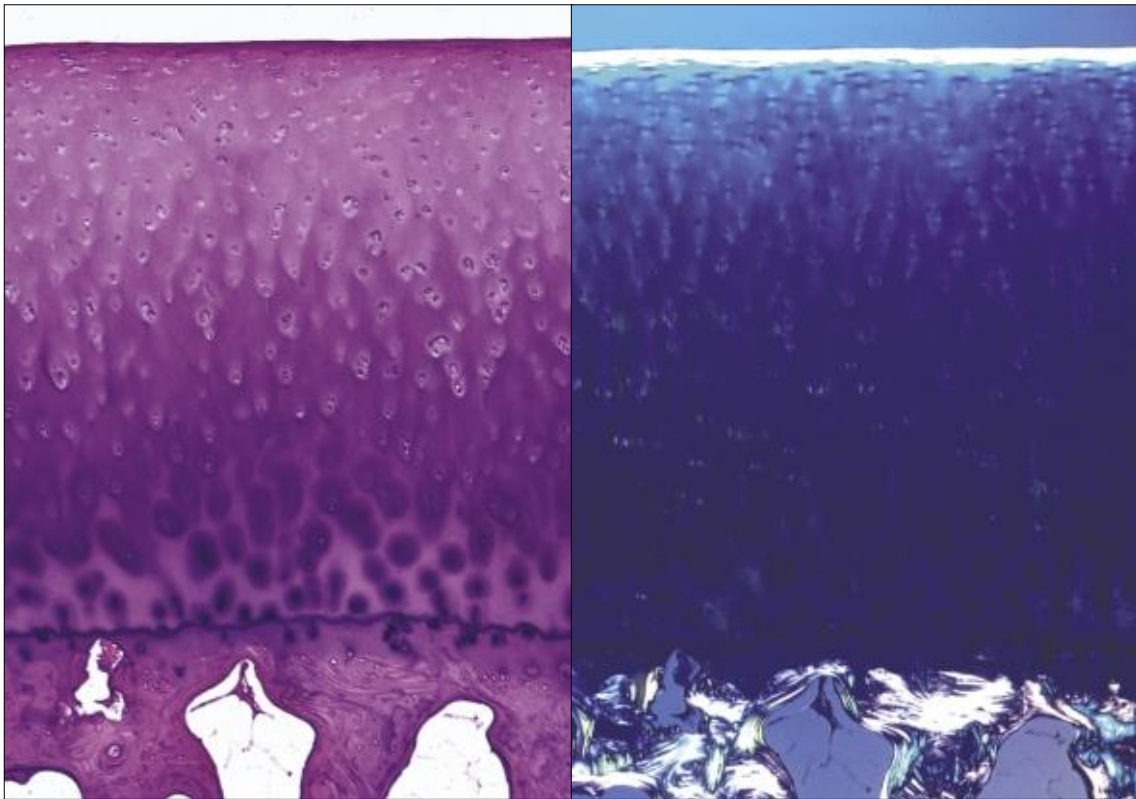
αρθρικών επιφανειών και αμβλύνει τις διαλείπουσες μηχανικές πιέσεις στις οποίες υπόκειται η άρθρωση του γόνατος, εξασφαλίζοντας άριστη λειτουργικότητα [2, 4]. Βάσει μορφολογικών αλλαγών σε ό,τι αφορά στην κυτταρική περιεκτικότητα και τη σύσταση και διάταξη της θεμέλιας ουσίας, αναγνωρίζονται οι εξής τέσσερις ζώνες από την αρθρική επιφάνεια προς το υποχόνδριο οστού:

- η επιφανειακή ζώνη (lamina splendens)
- η μεταβατική
- η ακτινωτή και
- η ζώνη του ασβεστοποιημένου χόνδρου.



Μόνο ένας πληθυσμός κυτάρων ανιχνεύεται στο φυσιολογικό αρθρικό χόνδρο, τα χονδροκύτταρα [5]. Μεγαλύτερη συγκέντρωση αυτών παρατηρείται πλησίον του υποχόνδριου οστού, όπου είναι διατεταγμένα σε κάθετους στοίχους. Προς την επιφάνεια τα σφαιρικού σχήματος κύτταρα επιπεδώνονται, ενώ πλέον ανευρίσκονται μεμονωμένα και όχι οργανωμένα κατά ομάδες [4]. Τα χονδροκύτταρα είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση συγκεκριμένου τύπου και

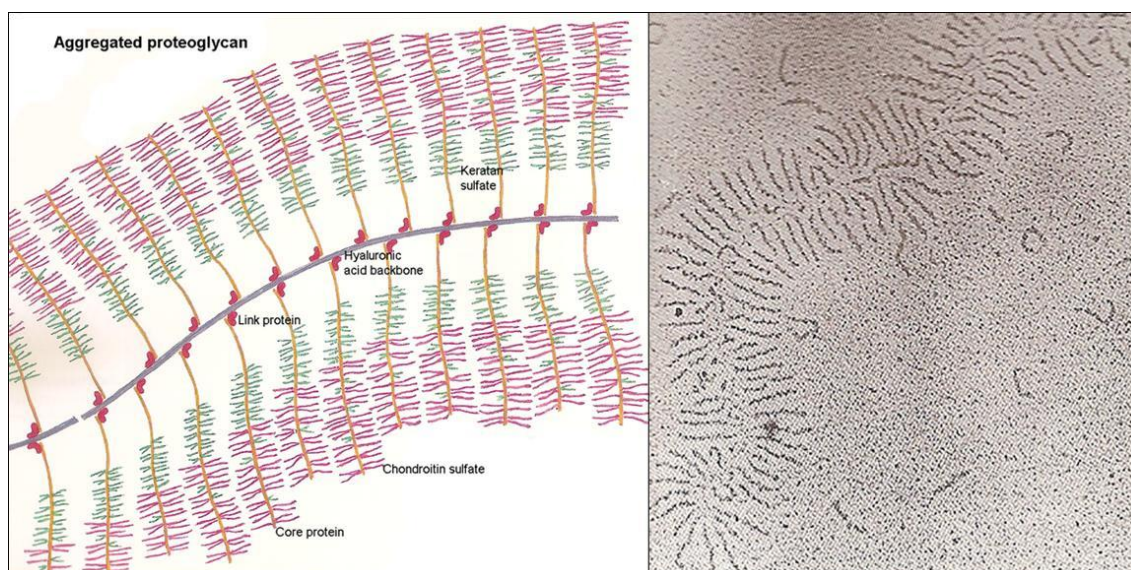
ποσότητας μακρομορίων, τα οποία εν συνεχεία συναρμολογούν και οργανώνουν σε ένα υψηλής τάξεως οργάνωσης μακρομοριακό πλέγμα.



Η εξωκυττάρια θεμέλια ουσία του αρθρικού χόνδρου αποτελείται από ιστικό υγρό και το πλέγμα των δομικών μακρομορίων το οποίο προσδίδει στον ιστό το σχήμα και τη σταθερότητά του. Το νερό αποτελεί το 80% του αρθρικού χόνδρου. Άλλα συστατικά του ιστικού υγρού είναι ποικίλα αέρια, μικρές πρωτεΐνες, μεταβολίτες και μία αυξημένη συγκέντρωση κατιόντων τα οποία εξισορροπούν τις αρνητικά φορτισμένες πρωτεογλυκάνες. Σε ό,τι αφορά στα δομικά μακρομόρια του αρθρικού χόνδρου, το κολλαγόνο αποτελεί το 60% του ξηρού βάρους του, οι πρωτεογλυκάνες, το 25% - 35%, ενώ γλυκοπρωτεΐνες και άλλες πρωτεΐνες εκτός του κολλαγόνου, το 15% - 20%.

Ο υαλοειδής χόνδρος περιέχει κατά 90% - 95% κολλαγόνο τύπου II, κύριο συστατικό των διασταυρούμενων ινιδίων, ενώ ανιχνεύεται ακόμη κολλαγόνο τύπου VI, IX, X και XI [5]. Οι εν τω βάθει ίνες του κολλαγόνου είναι

κατακόρυφες, ενώ οι επιφανειακά ευρισκόμενες, παράλληλες προς την αρθρική επιφάνεια [4].



Οι πρωτεογλυκάνες αποτελούνται από έναν πρωτεϊνικό πυρήνα και μία ή περισσότερες αλυσίδες γλυκοζαμινογλυκανών, αρνητικά φορτισμένες (μακριές, χωρίς διακλαδώσεις, πολυσακχαριδικές αλυσίδες από επαναλαμβανόμενους δισακχαρίτες που περιέχουν ένα άμινο-σάκχαρο). Οι γλυκοζαμινογλυκάνες που ανιχνεύονται κατά κύριο λόγο στον αρθρικό χόνδρο είναι το υαλουρονικό οξύ, η θειική χονδροϊτίνη, κερατάνη και δερματάνη. Διακρίνονται λοιπόν δύο κατηγορίες πρωτεογλυκανών, τα μεγάλα μοριακού βάρους, αθροιζόμενα μόρια ή aggrecans και οι μικρότερες πρωτεογλυκάνες με τις decorin, biglycan και fibromodulin μεταξύ των. Οι aggrecans αποτελούν το 90% της μάζας των πρωτεογλυκανών του αρθρικού χόνδρου. Στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία οι περισσότερες aggrecans συνδέονται ετεροπολικά με μόρια υαλουρονικού οξέος ή συνδετικές πρωτεΐνες (link proteins) προκειμένου να σχηματίσουν μεγαλύτερα συσσωματώματα πρωτεογλυκανών [5].

Τα μόρια πρωτεογλυκάνης είτε μεμονωμένα είτε σε αθροίσματα περιέχουν μεγάλη ποσότητα νερού. Τα συστατικά αυτά της εξωκυττάριας

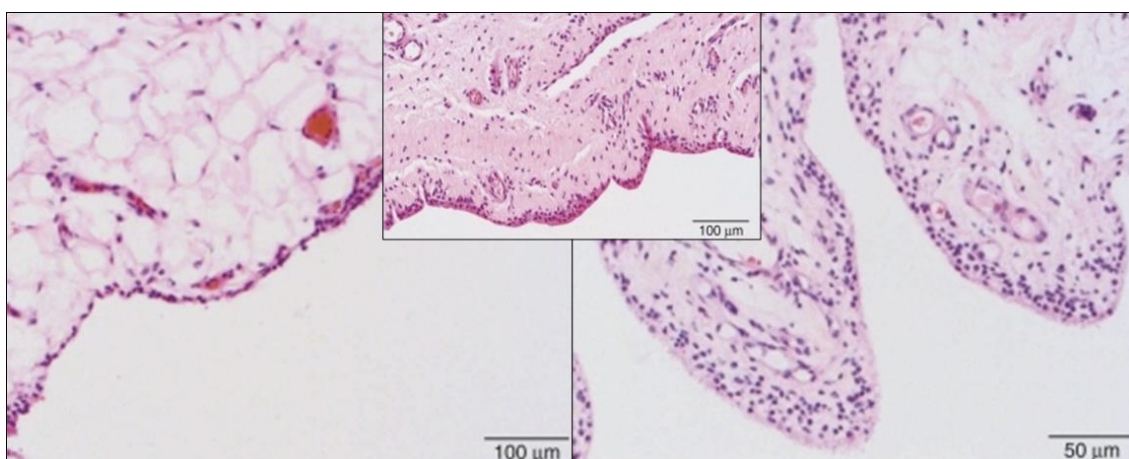
θεμέλιας ουσίας, πλούσια σε υδρόφιλες γλυκοζαμινογλυκάνες, λειτουργούν σαν μηχανικά βιοελατήρια. Με την εφαρμογή πίεσης, νερό εκκρίνει από τη θεμέλια ουσία προς το αρθρικό υγρό. Όταν συμβεί αυτό, η ελαστικότητα του χόνδρου διατηρείται χάριν της αμοιβαίας ηλεκτροστατικής απώθησης των φορτισμένων αρνητικά καρβοξυλικών και θειικών ομάδων των γλυκοζαμινογλυκανών. Τα εν λόγω ηλεκτρικά φορτία είναι επίσης υπεύθυνα για το διαχωρισμό των αλυσίδων των γλυκοζαμινογλυκανών μεταξύ των, με αποτέλεσμα τη δημιουργία χώρων οι οποίοι πληρούνται με νερό. Με την άρση της πίεσης, το νερό έλκεται προς τα ανωτέρω μεσοδιαστήματα. Η κίνηση του ιστικού υγρού αυτή είναι ουσιώδης για τη θρέψη του χόνδρου, καθώς τοιούτοτρόπως διευκολύνεται η ανταλλαγή των αερίων O_2 και CO_2 και άλλων ουσιών, μεταξύ αρθρικού χόνδρου και αρθρικού υγρού [4].

Τα ινίδια του κολλαγόνου λοιπόν ανθίστανται αποτελεσματικά σε δυνάμεις παραμόρφωσης εφελκυσμού και διάτμησης, ενώ οι φορτισμένες αρνητικά γλυκοζαμινογλυκάνες των aggrecans σε δυνάμεις συμπίεσης του αρθρικού χόνδρου. Η διατήρηση της λειτουργίας του απαιτεί τη σύνθεση, συναρμολόγηση και αποικοδόμηση πρωτεογλυκανών, κολλαγόνου, άλλων πρωτεϊνών και γλυκοπρωτεϊνών και άλλων μορίων της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας [5].

ΑΡΘΡΙΚΟΣ ΘΥΛΑΚΟΣ

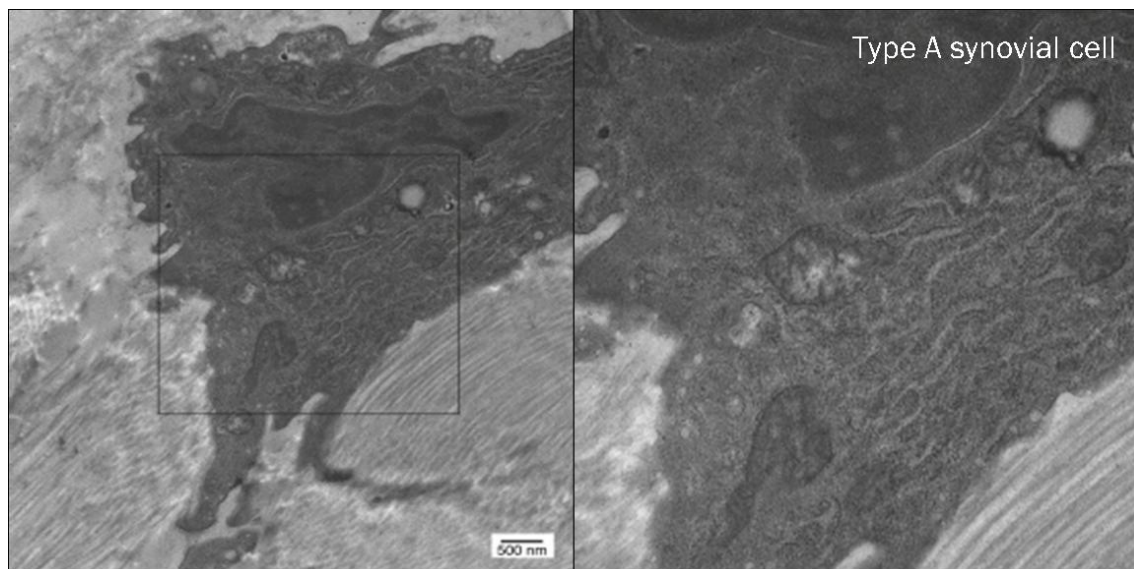
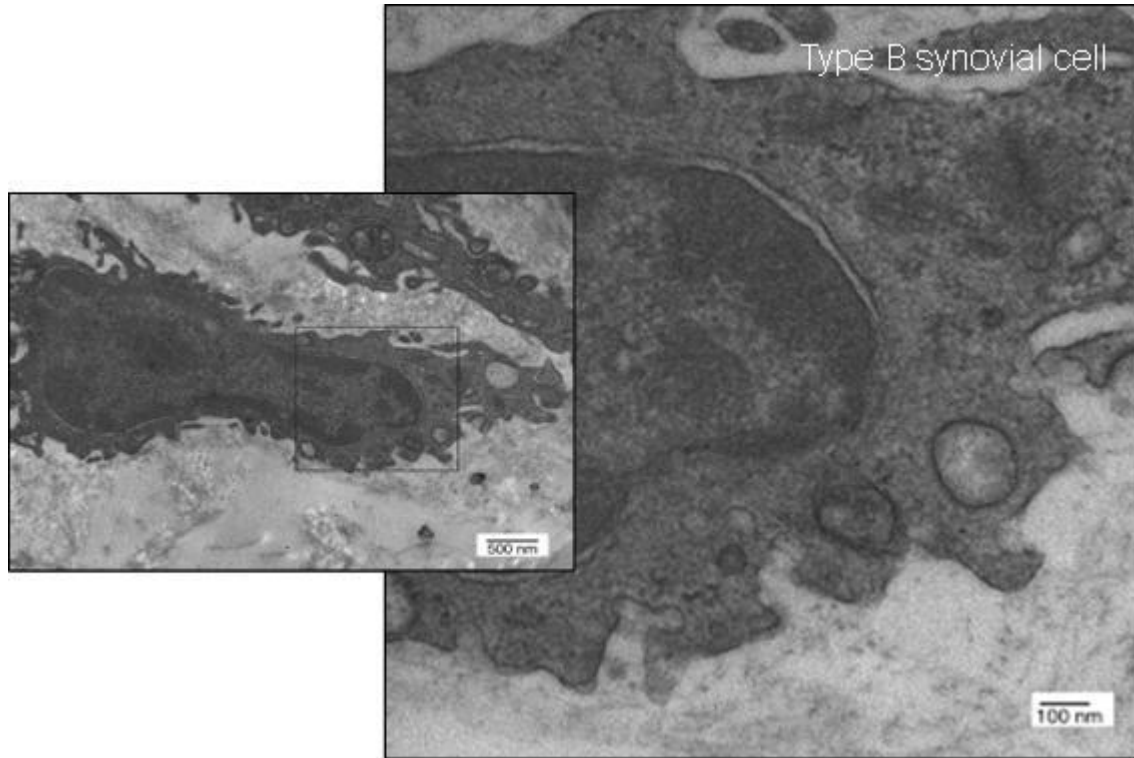
Ο αρθρικός θύλακος αποτελείται από δύο στιβάδες, την παχύτερη έξω, η οποία ονομάζεται ινώδης θύλακος και την λεπτότερη έσω ή αρθρικός υμένας. Ο ινώδης θύλακος συνίσταται από ισχυρό πυκνό ινοκολλαγονώδη συνδετικό ιστό (μεγαλύτερη αναλογία κολλαγόνων ινών προς ελαστικές), ο οποίος συνέχεια

με το περίστωο των συντασσομένων οστών [1, 2]. Είναι περισσότερο ανεπτυγμένος σε σημεία που υφίστανται μεγαλύτερες πιέσεις [4]. Ο αρθρικός υμένας, πιο ελαστικός, επενδύει εσωτερικά τον ινώδη θύλακο [2]. Αποτελείται από δύο στιβάδες, την έξω με άφθονα αιμοφόρα αγγεία, λεμφαγγεία και νεύρα και την έσω, χωρίς αγγεία ή νεύρα, η οποία παρουσιάζει πτυχωτή διάταξη [2, 4]. Η εσωτερική επιφάνεια του υμένα αντιστοιχεί σε εξειδικευμένο, εκκριτικό επιθήλιο, το αρθρικό επιθήλιο, το οποίο παράγει το αρθρικό υγρό [3]. Το αρθρικό επιθήλιο αποτελείται από 1 έως 4 στοιβάδες μεσεγγυματικών κυττάρων (synovialocytes), τα οποία διαχωρίζονται μεταξύ τους από μικρή ποσότητα θεμέλιας ουσίας [3, 4].



Τα αρθρικά κύτταρα ποικίλλουν, όσον αφορά στο σχήμα τους, από αποπλατυσμένα, μεσοθηλιακού τύπου κύτταρα, έως ατρακτόμορφα, πολυεδρικά ή κυβοειδή. Κάτωθεν του καλυπτικού αυτού επιθηλίου, υπάρχει ζώνη χαλαρού συνδετικού ιστού, η οποία περιέχει λιποκύτταρα, ινοβλάστες, σιτευτικά κύτταρα (mast cells) και φαγοκύτταρα [3]. Παρατηρήσεις με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο κατέδειξαν δύο τύπους κυττάρων του αρθρικού υμένα: Τα κύτταρα τύπου Α, εκκριτικά, έχουν καλά ανεπτυγμένο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο, ενώ τα τύπου Β, φαγοκυτταρικά, έχουν ευμέγεθες σύμπλεγμα Golgi, πολυάριθμα λυσοσώματα και ασήμαντο ενδοπλασματικό δίκτυο [3, 4].

Υπάρχουν και άλλα αδιαφοροποίητα κύτταρα με επανορθωτικό κυρίως ρόλο. Ένας τρίτος τύπος κυττάρων (τύπος C) είναι δυνατόν να υπάρχει, αποτελώντας έναν ενδιάμεσο τύπο κυττάρων.



Πίνακας 2.1**Συστατικά εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας του αρθρικού χόνδρου [6]**

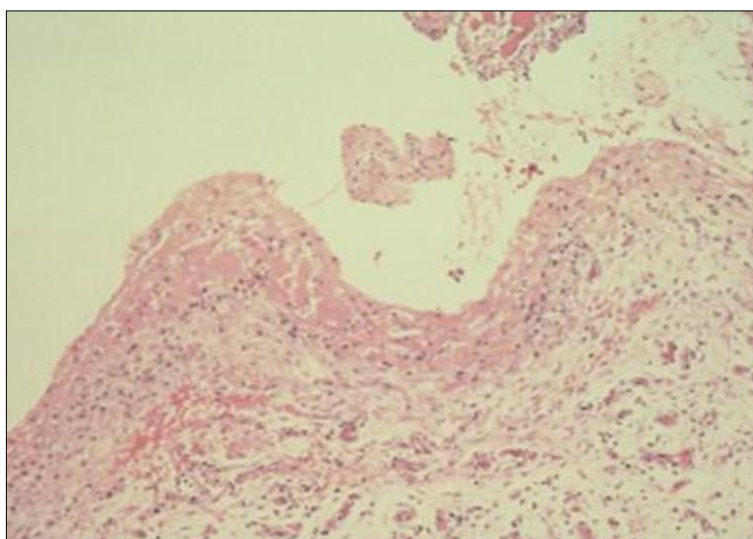
Κολλαγόνο
Τύπου II
Τύπου IX
Τύπου XI
Τύπου VI
Τύπου XII, XIV
Τύπου X (Υπερτροφικά χονδροκύτταρα)
Πρωτεογλυκάνες
Aggrecan
Versican
Link protein
Biglycan (Dermatan sulfate - PGI)
Decorin (DS-PGII)
Eripheycan (DS-PGIII)
Fibromodulin
Lumican
Proline/arginine-rich and leucine-rich repeat protein (PRELP)
Chondroadherin
Perlecan
Lubricin (superficial zone protein)
Άλλες πρωτεΐνες εκτός του κολλαγόνου (δομικές)
Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) ή thrombospondin-5
Thrombospondin-1 και thrombospondin-3
Cartilage matrix protein (matrilin-1) και matrilin-3
Fibronectin
Tenascin-C
Cartilage intermediate layer protein (CILP)
Fibrillin
Ελαστίνη

Άλλες πρωτεΐνες εκτός του κολλαγόνου (ρυθμιστικές)
Γλυκοπρωτεΐνη (GP)-39, YKL-40 (40KD chitinase 3-like glycoprotein)
Matrix Gla protein (MGP)
Chondromodulin-I (small cartilage-derived glycoprotein) και chondromodulin-II
Cartilage-derived retinoic acid-sensitive protein (CD-RAP)
Αυξητικοί παράγοντες
Πρωτεΐνες συνδεόμενες με την κυτταρική μεμβράνη
Integrins ($\alpha 1\beta 1$, $\alpha 2\beta 1$, $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$, $\alpha 10\beta 1$, ανβ3, ανβ5)
Anchorin CII (annexin V)
Cell determinant 44 (CD44)
Syndecan-3
Discoidin domain receptor 2

3. ΣΗΠΤΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΣ ΓΟΝΑΤΟΣ

3.1. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Σηπτική αρθρίτιδα καλείται η εισβολή μικροβίων (βακτηρίων, ιών, μυκήτων) εντός της αρθρικής κοιλότητας. Ο Goldenberg το 1998 έγραψε: «*Η αντιμετώπιση της σηπτικής αρθρίτιδας και τα αποτελέσματα αυτής δεν έχουν ουσιαστικά βελτιωθεί τα τελευταία 20 έτη*» [7]. Η δήλωση αυτή μάλλον ισχύει ακόμη. Παρά τη χρήση αντιβιοτικών, η θνησιμότητα της σηπτικής αρθρίτιδας σε νοσηλευόμενους ασθενείς κυμαίνεται μεταξύ 7% και 15%, με εξίσου σημαντική νοσηρότητα [8]. Το ήμισυ αυτής οφείλεται σε σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος.



Μία προοπτική μελέτη πληθυσμού κοινότητας της Ολλανδίας κατέδειξε μία αντιπροσωπευτική κατανομή συμμετοχής των αρθρώσεων στην αναφερόμενη παθολογία:

- γόνατο 55%,
- ποδοκνημική 10%,
- πηχεοκαρπική 9%,

- ώμος 7%,
- ισχίο 5%,
- αγκώνα 5%
- στερνοκλειδική 5%
- ιερολαγόνιος 2% και
- αρθρώσεις του ποδιού 2% **[9]**.

Σύμφωνα με άλλες μελέτες η συχνότητα σήψης του γόνατος κυμαίνεται μεταξύ 40% και 50%, του ισχίου μεταξύ 20% και 25% και του ώμου μεταξύ 10% και 15% σε σχέση με το σύνολο των περιστατικών σηπτικής αρθρίτιδος **[10-12]**. Οι μεγάλες αρθρώσεις προσβάλλονται με μεγαλύτερη συχνότητα από τις μικρές, με την άρθρωση του γόνατος να εμπλέκεται σε περισσότερους από το 50% των ασθενών **[10]**. Η μονοαρθρική προσβολή είναι ο κανόνας, ενώ πολυαρθρική προσβολή (εμπλοκή περισσότερων της μίας άρθρωσης) παρατηρείται σε λιγότερες από 20% περιπτώσεις. Η ετήσια επίπτωση της νόσου στο γενικό πληθυσμό κυμαίνεται μεταξύ 4 και 10/100.000 άτομα, σε ασθενείς πάσχοντες από ρευματοειδή αρθρίτιδα μεταξύ 30 και 70/100.000 και σε ασθενείς με προθέσεις των αρθρώσεων μεταξύ 40 και 70/100.000 **[11, 13-15]**. Η συχνότητα της σηπτικής αρθρίτιδας αυξάνεται αναλογικά με τη γήρανση του πληθυσμού και την επακόλουθη αύξηση της συχνότητας χρόνιων νόσων οι οποίες εξασθενούν τον ξενιστή. Παρά την επαρκή αντιμετώπιση, σε 50% των ασθενών παρατηρείται μη αντιστρεπτή απώλεια της λειτουργικότητας της προσβεβλημένης άρθρωσης **[11, 13, 16]**.

Πίνακας 3.1

Συνήθεις παράγοντες κινδύνου σχετιζόμενοι με βακτηριακή σηπτική αρθρίτιδα [8, 11, 17-19]

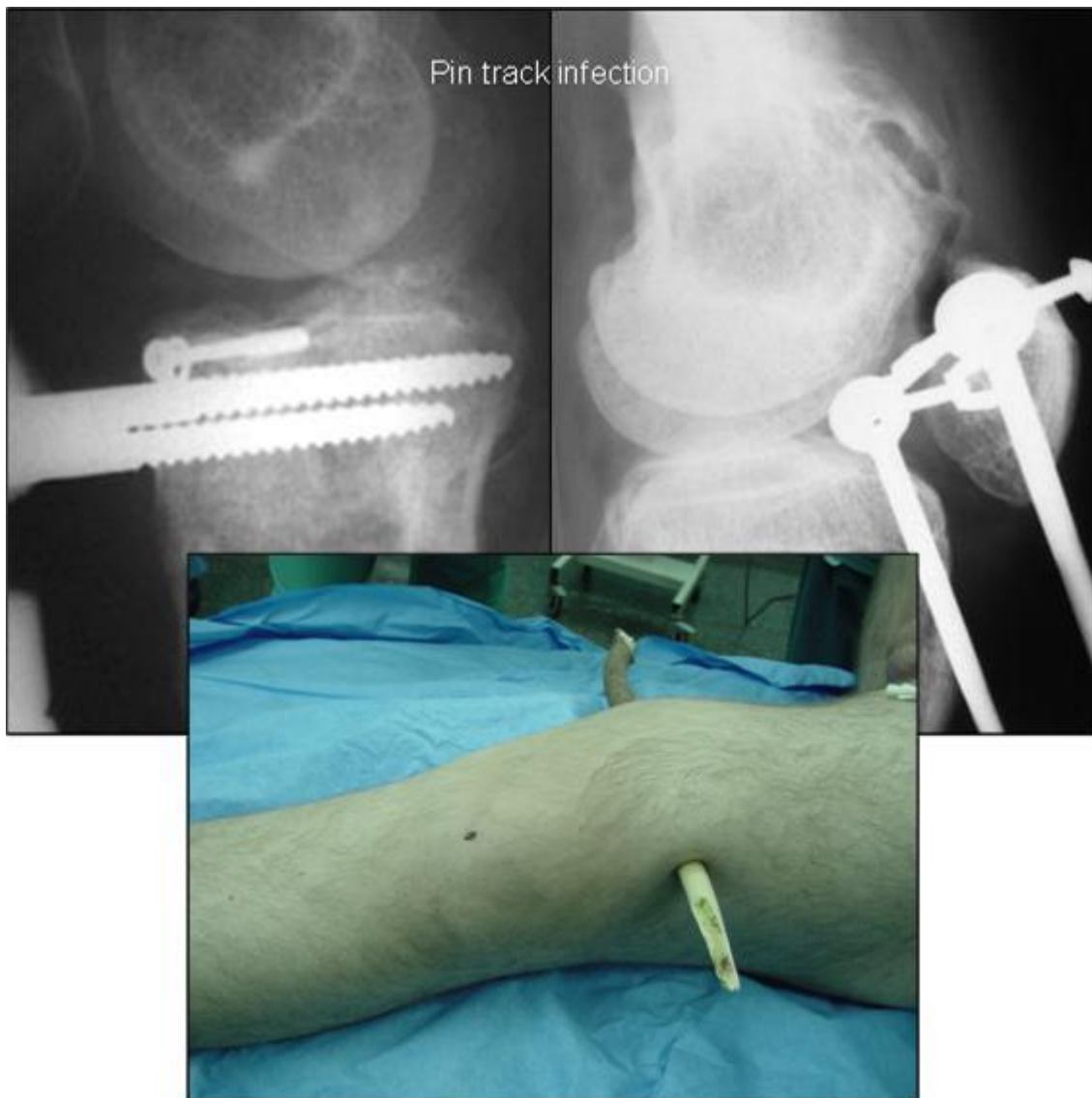
Συστηματικοί
AIDS (LR, 1.7; 95% CI, 1.0 - 2.8)
Αλκοολισμός
Θεραπεία με anti-TNF-α παράγοντες
Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια
Σακχαρώδης διαβήτης (LR, 2,7; 95% CI, 1.0 - 6.9)
Ενδοκαρδίτιδα
Θεραπεία με γλυκοκορτικοστεροειδή
Αιμοκάθαρση
Αιμοφιλία
Υπογάμασφαιριναιμία (ευαισθησία σε λοιμώξεις από mycoplasma)
Ανεπάρκεια παραγόντων του συμπληρώματος
Δρεπανοκυττάρωση
Θεραπεία με ανοσοκατασταλτικούς φαρμακευτικούς παράγοντες
Ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών ουσιών
Ηπατικό νόσημα
Κακοήθεια
Μεταμόσχευση οργάνου
Ψωρίαση
Ρευματοειδής αρθρίτιδα (LR, 2.5; 95% CI, 2.0 - 3.1)
Ταξιδιωτικό και γενετήσιο ιστορικό
Δήγμα κρότωννα (Lyme disease)
Τοπικοί
Προηγούμενο επεισόδιο σηπτικής αρθρίτιδας
Άμεσος τραυματισμός της άρθρωσης
Λοίμωξη του υπερκείμενου δέρματος (LR, 2.8; 95% CI, 1.7 - 4.5)
Ολική αρθροπλαστική ισχίου ή γόνατος (LR, 3.1; 95% CI, 2.0 - 4.9)
± λοίμωξη του υπερκείμενου δέρματος (LR, 15.0; 95% CI, 8.1 - 28.0)

Προσβολή της άρθρωσης από ρευματοειδή αρθρίτιδα
Ανάταξη ανοικτού κατάγματος
Πρόσφατο χειρουργείο (LR, 6.9; 95% CI, 3.8 - 12.0)
Πρόσφατη ενδοαρθρική έγχυση φαρμακευτικών παραγόντων
Σχετικοί με την ηλικία
Ηλικία μεγαλύτερη των 80 ετών (LR, 3.5; 95% CI, 1.8 - 7.0)
Ηλικία μεταξύ 6 μηνών και 2 ετών
Κοινωνικοοικονομικοί
Χαμηλό κοινωνικοοικονομικό επίπεδο (παράγοντας κινδύνου για φυματίωση)
Περιστασιακή έκθεση σε ζώα (παράγοντας κινδύνου για βρουκέλλωση)

3.2. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ & ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

ΑΙΤΙΟΛΟΓΙΑ

Η πλειονότητα των περιπτώσεων βακτηριακής σηπτικής αρθρίτιδας είναι αποτέλεσμα αιματογενούς διασποράς. Η πλούσια αιμάτωση του αρθρικού υμένα και η απουσία βασικής μεμβράνης επιτρέπουν την εγκατάσταση μικροοργανισμών σε αρθρώσεις διάρκεια βακτηραιμίας. Το αρθρικό υγρό δε, αποτελεί εξαιρετικό μέσο ανάπτυξης των μικροβίων με σχετικά μειωμένη ανοσολογική αντίσταση.



Άλλες οδοί μικροβιακής εισβολής αποτελούν:

- ο άμεσος ενοφθαλμισμός διαμέσου τραύματος,
- έγχυσης,
- παρακέντησης (0,04%) [20] ή
- χειρουργικής επέμβασης – ανοικτής ή αρθροσκοπικής (<0,5% [21] - Σε ορισμένες σπάνιες περιπτώσεις σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος μετά συνδεσμοπλαστική προσθίου χιαστού, αλλομοσχεύματα, αναγνωρίστηκαν ως το λοιμογόνο αίτιο [22]),
- η εξάπλωση κατά συνέχεια ιστού από παρακείμενες εστίες οστεομυελίτιδας, κυτταρίτιδας είτε και σηπτικής ορογονίτιδας και
- η μόλυνση υλικών σκελετικής έλξης ή συστημάτων εξωτερικής οστεοσύνθεσης σε επικοινωνία με την άρθρωση λόγω λανθασμένης τοποθέτησης (pin track infection) [11, 14].

ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

Η βακτηριακή σηπτική αρθρίτιδα έχει συνήθως οξεία έναρξη, ενώ είναι δυνατό να αποβεί ταχέως καταστρεπτική για την άρθρωση. Δεν υπάρχει καμία ουσιαστική αλλαγή τα τελευταία 20 έτη σε ό,τι αφορά στα παθογόνα τα οποία προσβάλλουν τις αρθρώσεις [23]. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων απομονώνεται ένας υπεύθυνος μικροοργανισμός. Ο *Staphylococcus aureus* (χρυσίζων σταφυλόκοκκος) ευθύνεται για το 50% της μη γονοκοκκικής σηπτικής αρθρίτιδας σε ενήλικες ασθενείς [24-25]. Επίσης, στρεπτόκοκκοι της ομάδας A, B, C και G προσβάλλουν ποικιλία αρθρώσεων [7], ενώ ο στρεπτόκοκκος της πνευμονίας απομονώνεται συχνά από ασθενείς οι οποίοι πάσχουν από χρόνια αλκοολισμό και υπογαμασφαιριναιμία [26]. Εκτός των άλλων, η συχνότητα

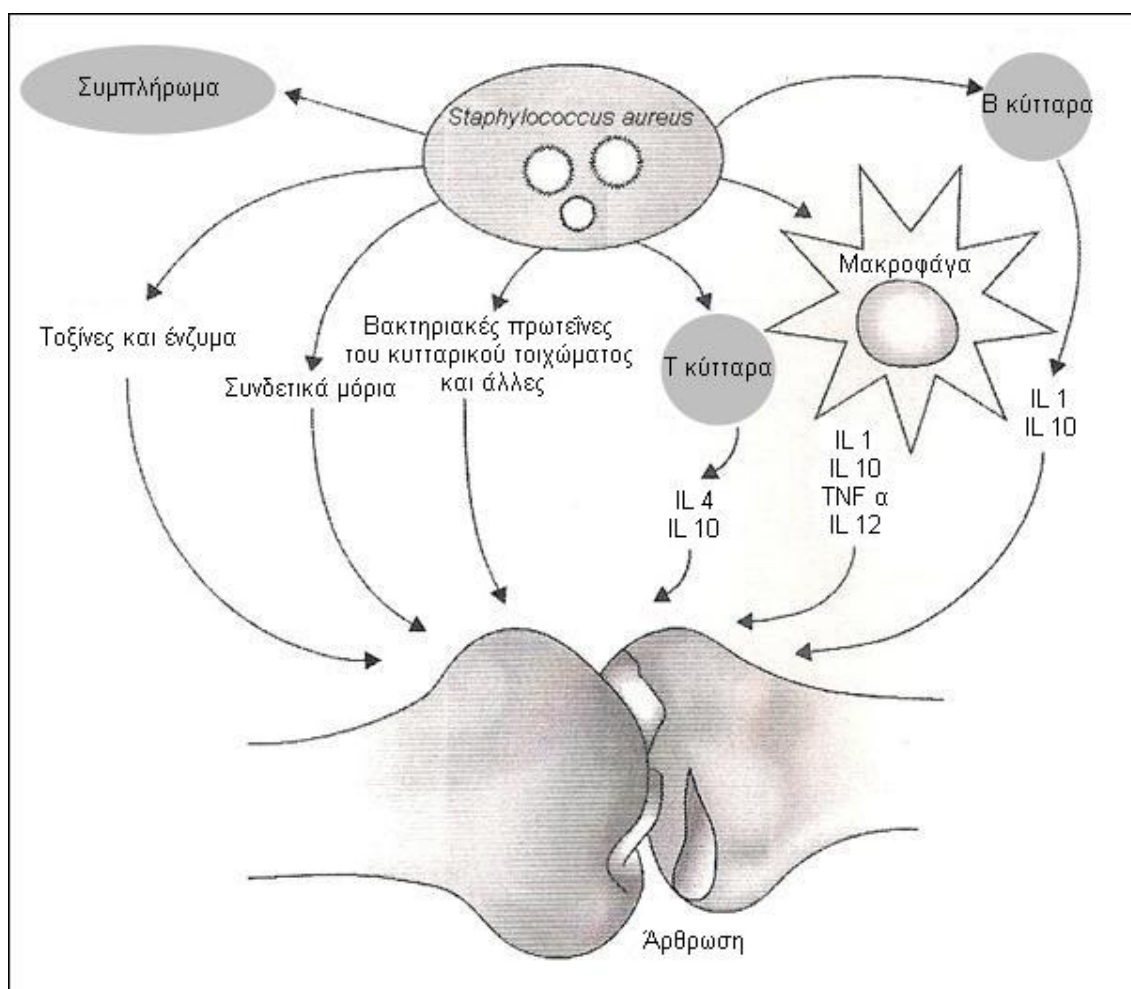
ενδοφθριικής λοίμωξης από Gram-αρνητικούς βάκιλλους αυξάνεται. Οι λοιμώξεις αυτές εμφανίζονται κατά κύριο λόγο σε ασθενείς οι οποίοι κάνουν χρήση ενδοφλέβιων ναρκωτικών ουσιών, σε ανοσοκατεσταλμένους, σε πάσχοντες από σακχαρώδη διαβήτη, αιμοσφαιρινοπάθεια ή κάποια κακοήθεια [27]. Πολυμικροβιακή προσβολή ανευρίσκεται σε 5% με 15% των ασθενών με σηπτική αρθρίτιδα. Συχνά, σχετίζεται με μία εξωαρθρική, πολυμικροβιακή λοίμωξη εστία ή διαπιτραίνον τραύμα, σε ανοσοκατεσταλμένο ασθενή [28]. Τέλος, η πιο κοινή μορφή βακτηριακής αρθρίτιδας σε νέους, σεξουαλικά ενεργούς ενήλικες είναι η γονοκοκκική. Η γονοκοκκική αρθρίτιδα (2-3 φορές πιο συχνή σε θήλεα άτομα) είναι δυνατό να παρουσιαστεί ως οξεία μονοαρθρίτιδα, με την μεταναστευτική πολυαρθρίτιδα και την τενοντοθυλακίτιδα να αποτελούν πιο τυπικές εικόνες. Μεταναστευτική γονοκοκκική λοίμωξη αναπτύσσεται στο 1% με 3% των ασθενών με γονόρροια για την οποία δεν έλαβαν θεραπεία [29].

Η ιογενής αρθρίτιδα, συχνά πολυεστιακή, είναι δυνατό να εμφανιστεί είτε ως λοίμωξη από ενδοαρθρικά ιικά τεμάχια (μέρος συστηματικής λοίμωξης) είτε ως αντιδραστική ανοσολογική απάντηση με συνοδό αρθραλγία. Σπανίως, έχει ως αποτέλεσμα μακροπρόθεσμη νοσηρότητα. Σε αντίθεση με την οξεία βακτηριακή ή ιογενή αρθρίτιδα, η λοίμωξη μίας άρθρωσης από μυκοβακτηρίδια ή μύκητες (εκτός της *Candida*) συνήθως οδηγεί σε μία χρόνια, αργά εξελισσόμενη μονοαρθρίτιδα [11, 14].

ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Η σηπτική αρθρίτιδα είναι το αποτέλεσμα της δυναμικής ισορροπίας μεταξύ ανοσολογικής κατάστασης του ξενιστή και της λοιμογόνου δύναμης του εισβάλλοντος μικροβίου. Ανεπάρκεια κυττοκινών οι οποίες παράγονται από τα

μακροφάγα (LT- α , TNF- α , IL-1) μειώνει την προστασία του ξενιστή έναντι του *S.aureus* σε σηπτικές καταστάσεις, με συνέπεια μεγαλύτερη νοσηρότητα και θνησιμότητα [30, 31]. Παρομοίως, σε απουσία IL-10 φαίνεται ότι αυξάνεται η συχνότητα και η ένταση μίας σταφυλοκοκκικής αρθρικής προσβολής, εξαιτίας μειωμένης βακτηριακής κάθαρσης [32]. Αντιθέτως, ανεπάρκεια IL-4 σχετίζεται με ελαττωμένη επίπτωση σηπτικής αρθρίτιδας και θνησιμότητα που οφείλεται ίσως στο ρόλο της κυττοκίνης αυτής σε ό,τι αφορά στην επιτάχυνση της βακτηριακής ανάπτυξης και/ή την ελάττωση της βακτηριακής κάθαρσης από την



αρθρική κοιλότητα [33]. Τα ανωτέρω πειραματικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι γενετικές παραλλαγές της έκφρασης των εν λόγω κυττοκινών είναι δυνατό να μεταφράζονται ως διαφορετική ευαισθησία του ξενιστή σε ποικίλους

μικροβιακούς παράγοντες, αλλά και διαφορετική ένταση φλεγμονώδους εξεργασίας από τη στιγμή που οι τελευταίοι εγκατασταθούν σε μία άρθρωση.

Ο *S.aureus* είναι το πιο κοινό παθογόνο αίτιο μη γονοκοκκικής σηπτικής αρθρίτιδας. Η λοιμογόνος δύναμή του σχετίζεται με την ικανότητά του να προσδένεται σε ιστούς του ξενιστή εντός της αρθρικής κοιλότητας, να διαφεύγει της άμυνας του ξενιστή και τέλος, να προκαλεί βλάβες στην ίδια την άρθρωση. Η προσκόλληση του *S.aureus* σε αρθρικούς ιστούς συνεπικουρείται από μικροβιακά συστατικά επιφανείας τα οποία αναγνωρίζουν συνδεδετικά μόρια της θεμέλιας ουσίας (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules - MSCRAMMs). Τα συστατικά αυτά βρίσκονται ενσωματωμένα στο κυτταρικό τοίχωμα πεπτιδογλυκάνης του *S.aureus* και συνδέονται με πρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας του ξενιστή, κολλαγόνο, ινωδογόνο, elastin, laminin, vitronectin και fibronectin [34-36]. Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η δεσμεύουσα κολλαγόνο πρωτεΐνη, όπως και εκείνες οι οποίες δεσμεύουν fibronectin (fibronectin-binding proteins, FnbpA και FnbpB) αποτελούν σημαντικούς λοιμογόνους σταφυλοκοκκικούς παράγοντες, η απουσία των οποίων εμποδίζει την προσκόλληση του βακτηρίου σε επιφάνειες επικαλυμμένες από κολλαγόνο ή fibronectin αντίστοιχα (υλικά προθέσεων) [37, 38]. Ομοίως, σε μελέτες κατά τις οποίες η δεσμεύουσα κολλαγόνο πρωτεΐνη και ο παράγοντας συσσωμάτωσης A (clumping factor A - πρωτεΐνη δεσμεύουσα ινωδογόνο) εξουδετερώνονται διά εμβολιασμού, παρατηρήθηκε μείωση νοσηρότητας και της επακόλουθης θνησιμότητας [39, 40].

Μετά την προσκόλληση σε αρθρικούς ιστούς, τα βακτήρια ενεργοποιούν την άμυνα του ξενιστή. Η οψωνοποίηση και φαγοκυττάρωση αποτελούν αμυντικούς μηχανισμούς για την εξάλειψη και εκκρίζωσή τους. Ο

S.aureus διαθέτει αρκετούς λοιμογόνους παράγοντες διά των οποίων διαφεύγει των ανωτέρω μηχανισμών. Η πρωτεΐνη A (πρωτεΐνη επιφανείας) προσδένεται στο τμήμα Fc IgG ανοσοσφαιρινών, εμποδίζοντας έτσι την ενεργοποίηση παραγόντων του συμπληρώματος. Εκτός αυτού, χαρακτηρίζεται ως υπεραντιγόνο, μιας και το 30% των B λεμφοκυττάρων δεσμεύει την εν λόγω πρωτεΐνη μέσω του τμήματος Fab ανοσοσφαιρινών προσδεδεμένων στην επιφάνειά τους [41]. Η δέσμευση της πρωτεΐνης A από τα B κύτταρα έχει ως συνέπεια την ενεργοποίηση και εν συνεχεία τον αποπτωτικό τους θάνατο [42]. Ως εκ των άνω, στελέχη *S.aureus* με ανεπάρκεια της πρωτεΐνης A, προκαλούν σημαντικά λιγότερες βλάβες μετά ενδαρθρικό ενοφθαλμισμό [43, 44].

Από τους 11 καταγεγραμμένους ορότυπους *S.aureus* με βάση την πολυσακχαριδική τους κάψα, οι τύποι 5 και 8 είναι υπεύθυνοι για το 85% των κλινικών λοιμώξεων [45]. Η κάψα των δύο αυτών τύπων είναι λεπτότερη, γεγονός που επιτρέπει την ευχερέστερη προσκόλληση σε ιστούς του ξενιστή (fibronectin και ινική) [46]. Σε αυτή την αρχική φάση ιστικού αποικισμού, ρυθμιστικά γονίδια, όπως το agr (accessory gene regulator) συμβάλλουν στην υπερέκφραση πρωτεϊνών επιφανείας - MSCRAMMs και άλλων. Μετά προσκόλληση σε ιστούς ή ορθοπαιδικά υλικά, τα βακτήρια περνούν από την εκθετική σε στατική φάση ανάπτυξης, ενώ το ρυθμιστικό γονίδιο agr καταστέλλει την έκφραση γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες επιφανείας και ενεργοποιεί άλλα που κωδικοποιούν εξωτοξίνες και καταστρεπτικά για τους ιστούς ένζυμα [47, 48]. Παράλληλα, προωθείται ο σχηματισμός κάψας μεγαλύτερου πάχους, γεγονός το οποίο καθιστά τα βακτήρια πιο ανθεκτικά σε οψωνοποίηση και φαγοκυττάρωση, αφού συγκαλύπτονται υψηλής αντιγονικότητας συνδετικές

πρωτεΐνες (MSCRAMMs) [49]. Μετάλλαξη της τύπου 5 πολυσακχαριδικής κάψας έχει ως αποτέλεσμα ηπιότερη προσβολή της άρθρωσης [50].

Ορισμένα στελέχη *S.aureus* είναι θετικά για το λοιμογόνο παράγοντα Pantan-Valentine leukocidin (PVL), μία τοξίνη η οποία τους επιτρέπει να επιβιώνουν εντός των ουδετερόφιλων μετά φαγοκυττάρωση. Τα στελέχη αυτά έχουν ενοχοποιηθεί για κεραυνοβόλες λοιμώξεις σε προηγουμένως υγιείς ασθενείς με αυξημένη συχνότητα επιπλοκών [51].

Οι εξωτοξίνες του *S.aureus* (τοξίνη του συνδρόμου τοξικού shock-1 και εντεροτοξίνες) δρουν ως υπεραντιγόνα, συνδεόμενα με μόρια του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (major histocompatibility complex - MHC) τύπου II και υποδοχείς T κυττάρων. Συνέπεια των ανωτέρω αποτελεί η εξάπλωση και ενεργοποίηση συγκεκριμένων κλώνων T κυττάρων. Η ενεργοποίησή τους πυροδοτεί την απελευθέρωση κυτοκινών με τις IL-2, IFN- γ και τον TNF- α μεταξύ αυτών, η οποία επιτείνει τη συστηματική τοξικότητα και αρθρική καταστροφή [52]. Τα ενεργοποιημένα T κύτταρα αρχικά πολλαπλασιάζονται, αλλά εν συνεχεία εξαφανίζονται, πιθανότατα λόγω απόπτωσης, καταλείποντας την άμυνα του ξενιστή εκτεθειμένη στους εισβάλλοντες οργανισμούς [53]. Στελέχη *S.aureus* που στερούνται εξωτοξινών σπάνια προκαλούν σηπτική αρθρίτιδα, ενώ όταν αυτό συμβεί η αρθρίτιδα είναι σαφώς μικρότερης έντασης [52].

Λοιμογόνοι παράγοντες άλλων βακτηριών έχουν επίσης αναγνωρισθεί [54]. Η *N.gonorrhoeae* προσκολλάται σε κυτταρικές επιφάνειες με τη βοήθεια νηματοειδών έξω-μεμβρανικών εξαρτημάτων. Μία άλλη έξω-μεμβρανική πρωτεΐνη, η πρωτεΐνη I, έχει δύο μορφές (IA και IB) εκ των οποίων η μία, η IA, δεσμεύει τον παράγοντα H και απενεργοποιεί τον παράγοντα C3b του

συμπληρώματος, διαφεύγοντας του αμυντικού μηχανισμού του συστήματος του συμπληρώματος του ξενιστή [55]. Ακόμη, εμποδίζει την σύντηξη φαγοκυτταρικού εγκλείστου και λυσοσώματος, επιτρέποντας έτσι την επιβίωση του οργανισμού εντός των φαγοκυττάρων. Τέλος, η λίπο-ολιγοσακχαρίδη, ένα γονοκοκκικό μόριο παραπλήσιο της λιποπολυσακχαρίδης (LPS) άλλων αρνητικών κατά Gram βακτηρίων, έχει δράση ενδοτοξίνης, η οποία συνεισφέρει έτι περαιτέρω στην αρθρική καταστροφή που παρατηρείται σε γονοκοκκική αρθρίτιδα [56].

Εκτός λοιπόν, της ποικιλίας παραγόντων του ξενιστή, υπάρχει αξιοσημείωτη βακτηριακή ποικιλότητα η οποία μπορεί να είναι υπεύθυνη για το γεγονός ότι κάποιες λοιμώξεις είναι ήπιες και αυτοπεριοριζόμενες, ενώ κάποιες άλλες δριμείς και θανατηφόρες.

Πίνακας 3.2

Μικροβιολογία της βακτηριακής σηπτικής αρθρίτιδας σε σχέση με την ηλικία [19, 57]

Μικροοργανισμός	Παιδιά (ηλικίας από 6 μηνών έως 5 ετών)	Νεαρός ενήλικος με υψηλής επικινδυνότητας σεξουαλική συμπεριφορά	Ενήλικος	Ηλικιωμένος ενήλικος
Staphylococcus aureus	10% - 20%	15% - 20%	60% - 70%	45% - 65%
Streptococcus species	5% - 10%	1% - 5%	15% - 20%	10% - 15%
Gram-αρνητικά βακτήρια	1% - 5%	Σπάνια	10% - 15%	15% - 35%
Haemophilus influenzae	Σπάνια	Σπάνια	Σπάνια	Σπάνια
Neisseria gonorrhoeae	1% - 5%	60% - 80%	1% - 5%	Σπάνια

Πίνακας 3.3**Μικροβιολογία της σηπτικής αρθρίτιδας σε σχέση με την κατάσταση του ξενιστή [57]**

Καταστάσεις οι οποίες επηρεάζουν την ανοσολογική απάντηση του ξενιστή	Συχνά λοιμώδη αίτια σηπτικής αρθρίτιδας
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	S.aureus (40% - 60%)
	S.pyogenes (10% - 20%)
	Salmonella species (σπάνια)
	Moraxella catarrhalis (σπάνια)
	Listeria (σπάνια μετά θεραπεία με αντί-TNF-α παράγοντες)
Νόσος Whipple	Tropheryma whippelii (σπάνια)
Ηλικία μεγαλύτερη των 80 ετών	S.aureus (30% - 40%)
	Gram-αρνητικά βακτήρια (10% - 20%)
Βακτηριακή ενδοκαρδίτιδα	S.aureus (10% - 30%)
	S.pyogenes (40% - 60%)
	Pseudomonas aeruginosa (5% - 10%)
Χρήση ενδοφλέβιων ναρκωτικών ουσιών	S.aureus (60% - 80%)
	P.aeruginosa (σπάνια)
	Serratia (σπάνια)
	Candida species (σπάνια)

Ολική αρθροπλαστική	Staphylococci (40% - 60%) (coagulase-αρνητικοί staphylococci + S.aureus)
	Streptococci (10% - 30%)
	Gram-αρνητικά βακτήρια (10% - 15%)
	Propionibacterium species (σπάνια)
	Corynebacterium species (σπάνια)
Ανοσοκαταστολή, AIDS, μεταμόσχευση βλαστικών κυττάρων	Stenotrophomonas (σπάνια)
	Salmonella (σπάνια)
	Rhizobium (σπάνια)
	Μύκητες (σπάνια)
	Άτυπα μυκοβακτηρίδια (σπάνια)
Υπογαμασφαιριναιμία	Ureaplasma species (σπάνια)
Κρότωνες (σε περιοχή ενδημική για τη νόσο του Lyme)	Borrelia burgdorferi
Αιμοσφαιρινοπάθεια	Salmonella (σπάνια)
	S.aureus (σπάνια)
Δήγμα ανθρώπου ή ζώου	Pasteurella multocida (σπάνια)
	Eikenella corrodens (σπάνια)
	Streptobacillus moniliformis (σπάνια)

Θετικό test φυματίνης	M.tuberculosis
Νυγμός άκανθας φυτού	Pantoea agglomerans (σπάνια)
	Sporothrix schenckii (σπάνια)
	Άτυπα μυκοβακτηρίδια (σπάνια)
	Nocardia (σπάνια)
	Clostridium sordellii (σπάνια)
	Actinomyces israelii (σπάνια)
Έκθεση σε μολυσμένα θαλάσσια ύδατα	Mycobacterium marinum

Πίνακας 3.4**Λοιμογόνοι παράγοντες του *S.aureus* και μηχανισμός δράσης [19]**

Λοιμογόνος παράγοντας	Μηχανισμός δράσης
Πρωτεΐνη δεσμεύουσα κολλαγόνο	Προσδένεται σε κολλαγόνο
Παράγοντας συσσωμάτωσης A και B	Προσδένεται σε ινωδογόνο
Πρωτεΐνη δεσμεύουσα fibronectin A και B	Προσδένεται σε fibronectin
Πολυσακχαριδική κάψα	Αντιφαγοκυτταρική
Πρωτεΐνη A	Προσδένεται στο Fc τμήμα IgG αντισωμάτων
Τοξίνη του συνδρόμου τοξικού shock-1 (TSST-1)	Υπεραντιγόνο
Έντεροτοξίνες	Υπεραντιγόνα

3.3. ΦΥΣΙΚΗ ΙΣΤΟΡΙΑ

Η σηπτική αρθρίτιδα αποτελεί μία δυνητικά επιβλαβής διαταραχή της διάρθρωσης με σημαντική τοπική, ιστική καταστροφή [58, 59]. Επιτυχής εξάλειψη της λοίμωξης από τον ξενιστή προϋποθέτει:

- εισροή ενεργοποιημένων κυττάρων της ανοσίας στους προσβεβλημένους ιστούς,
- εξόντωση του παθογόνου,
- λύση της φλεγμονής και τελικά,
- ανακατασκευή της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας.

Οι **στρωματικές μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs)** των κυττάρων του ξενιστή και ειδικότερα οι **ζελατινάσες (gelatinases)** MMP-2 και MMP-9, μετέχουν σε κάθε βήμα αυτής της διαδικασίας [60]. Κατά τη διάρκεια αυτής, η αποικοδόμηση της θεμέλιας ουσίας του συνδετικού ιστού σε οστά και χόνδρο με διάσπαση των μακρομοριακών συστατικών τους, κολλαγόνου και πρωτεογλυκανών αποτελεί παράπλευρη ζημία [61].

Μελέτες σε ζώα κατέδειξαν ότι ο άμεσος ενοφθαλμισμός βακτηρίων σε μία άρθρωση συνοδεύεται από ταχείες αλλαγές όλων των στοιχείων αυτής, του αρθρικού υμένα, του χόνδρου και των οστικών δομών [62]. Ιντερλευκίνες IL-1β και IL-6 απελευθερώνονται στην αρθρική κοιλότητα [63]. Εντός ολίγων λεπτών από τη βακτηριακή εισβολή, ο αρθρικός υμένας φλεγμαίνει. Η αθρόα εισροή πολυμορφοπύρηνων κυττάρων εξελίσσεται στη διαμόρφωση οργανωμένου εισβάλλοντα, φλεγμονώδους ιστού (pannus), ο οποίος διαβρώνει και υποσκάπτει τον αρθρικό χόνδρο. Ανοσοϊστοχημικές αναλύσεις αρθριτιδικών αρθρώσεων στοιχειοθέτησαν την παρουσία μακροφάγων, πολυμορφοπύρηνων

κυττάρων και T λεμφοκυττάρων, κυρίως CD4⁺ φαινοτύπου [64]. Μακροφάγα, μονοκύτταρα και ουδετερόφιλα φαγοκυτταρώνουν βακτήρια και απελευθερώνουν πρόσθετες κυττοκίνες, όπως TNF-α, IL-1, IL-6 και IL-8. Η άμεση ανοσολογική απάντηση του ξενιστή διά των κυττοκινών συμβάλλει στην κάθαρση των μικροοργανισμών και τον περιορισμό της λοίμωξης [63, 65].

Εντός 3 ωρών, είναι δυνατό να παρατηρηθεί πυώδες εξίδρωμα του αρθρικού υμένα, ενώ εντός 24/ώρου πολλαπλά αποστημάτια αυτού. Η τοξική δράση των μικροβίων ευνοεί το σχηματισμό θρόμβων στην μικροκυκλοφορία, με αποτέλεσμα τη νέκρωση περιοχών του υμένα και την περαιτέρω εξάπλωση της λοίμωξης. Τη δεύτερη ημέρα (ημέρα 2), ταυτόχρονη, προοδευτική απώλεια γλυκοζαμινογλυκανών μπορεί να επιβεβαιωθεί με χρώση σαφρανίνης. Σταφυλοκοκκική λοίμωξη γόνατος κονίκλων προκάλεσε ταχεία απώλεια πρωτεογλυκανών από τον αρθρικό χόνδρο, με περισσότερο από το 40% του συνόλου των πρωτεογλυκανών της θεμέλιας ουσίας του χόνδρου να χάνεται εντός 48 ωρών από τη λοίμωξη [66]. Την πέμπτη ημέρα (ημέρα 5), η φλεγμονή του αρθρικού υμένα επεκτείνεται στα όρια αρθρικού χόνδρου – υποχόνδριου οστού, με συνέπεια τη διάβρωση και χαλάρωση του χόνδρου. Η απώλεια των γλυκοζαμινογλυκανών είναι περισσότερο εκσεσημασμένη πέριξ των ορίων του φλεγμονώδους ιστού (rannus). Η αποικοδόμηση του αρθρικού χόνδρου, κύριο χαρακτηριστικό των σηπτικών αρθροπαθειών, είναι αποτέλεσμα βακτηριακών ενδοτοξινών και προσταγλανδινών και κυττοκινών του ξενιστή. Οι κυττοκίνες αυτές ρυθμίζουν ένα σύνολο γεγονότων τα οποία συνιστούν την ανοσολογική αντίδραση του ξενιστή στο παθογόνο και προκαλούν απελευθέρωση καταστρεπτικών ενζύμων από τα κύτταρα του αρθρικού υμένα και τα λευκοκύτταρα, με τις ζελατινάσες, MMP-2 και MMP-9, να διαδραματίζουν

σημαντικό ρόλο μεταξύ αυτών [61, 64, 65, 67]. Κατά την εισροή Τ λεμφοκυττάρων λίγες ημέρες μετά τη λοίμωξη, απελευθερώνεται ιντερφερόνη INF- γ , η οποία σχετίζεται με επιδείνωση της αρθρίτιδας, αλλά και προστασία του ξενιστή από βακτηριαιμία. Αυτού του τύπου η καθυστερημένη ανοσολογική απάντηση συνεισφέρει στην περαιτέρω καταστροφή της άρθρωσης από μία εγκατεστημένη πλέον λοίμωξη [68].

Οι γλυκοζαμινογλυκάνες έχουν πλήρως εξαλειφθεί την 14^η ημέρα (ημέρα 14). Παρά το γεγονός ότι η αποικοδόμηση των πρωτεογλυκανών είναι συχνά μία αναστρέψιμη διαδικασία, εάν επιμείνει είναι δυνατό να οδηγήσει σε αποικοδόμηση του κολλαγόνου. Η διάσπαση του κολλαγόνου είναι μη αντιστρεπτή και χαρακτηρίζει τη διάβρωση του χόνδρου [69]. Η απώλεια του κολλαγόνου γίνεται σημαντική τη δεύτερη με τρίτη εβδομάδα μετά τη λοίμωξη (ημέρα 14-21) [66]. Η κυρίαρχη κυττοκίνη, η IL-1 αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των χονδροκυττάρων και μειώνει την έκφραση κολλαγόνου τύπου II και X, κάνοντας τον αρθρικό χόνδρο πιο εύθραυστο και ως εκ τούτου, πιο επιδεκτικό σε βακτηριακή προσκόλληση [12]. Η καταστροφή επιτείνεται έτι περαιτέρω από την παθολογική σύσταση του αρθρικού υγρού, με αποτέλεσμα να παραβλάπτεται τόσο η λίπανση όσο και η διατροφή του χόνδρου.

Παρά την έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπιση, περισσότερο από το 50% των γλυκοζαμινογλυκανών και 37% του κολλαγόνου είναι δυνατό να χαθεί από τη θεμέλια ουσία του αρθρικού χόνδρου σε προσβεβλημένες αρθρώσεις [58, 59, 70, 71]. Εκτός κι αν η άρθρωση αποστειρωθεί, μη αντιστρεπτές αλλαγές παρατηρούνται εντός 5 ημερών από τη λοίμωξη. Αντιβιοτική αγωγή η οποία ξεκινά εντός 24/ώρου από την έναρξη της συμπτωματολογίας, ελαττώνει σημαντικά την απώλεια κολλαγόνου, ενώ δεν είναι ικανή να αποτρέψει απώλεια

πρωτεογλυκάνης από τη θεμέλια ουσία. Σε ένα πειραματικό πρότυπο σταφυλοκοκκικής αρθρίτιδας σε ζώα, η αποικοδόμηση του χόνδρου συνεχίστηκε παρά την άμεση χορήγηση αντιβιοτικής αγωγής, καθώς φαίνεται ότι οι MMPs και όχι βακτηριακά πρωτεολυτικά ένζυμα είναι υπεύθυνα για τη βλάβη [59]. Εάν η λοίμωξη αφηθεί χωρίς αγωγή για 7 με 10 ημέρες, εμφανίζονται ρωγμές και μείωση του ύψους του αρθρικού χόνδρου, κυρίως σε επιφάνειες που υποδέχονται το βάρος του σώματος. Συνεχιζόμενη λοίμωξη έχει ως αποτέλεσμα διάλυση ανατομικών δομών, όπως του αρθρικού θυλάκου και των συνδέσμων. Η μη φυσιολογική παρουσία δε ινικής στο αρθρικό υγρό, ευνοεί το σχηματισμό πλέγματος ινιδίων μεταξύ των αρθρικών επιφανειών με σημαντικό περιορισμό των κινήσεων. Σε μία μελέτη σε κονίκλους, ινώδης αγκύλωση της άρθρωσης παρατηρήθηκε εντός 5 εβδομάδων [62].

3.4. ΚΛΙΝΙΚΗ & ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

3.4.1. ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ

Ο Ρωμαίος εγκυκλοπαιδιστής Aulus Cornelius Celsus περιέγραψε τα τέσσερα πρωτεύοντα σημεία της φλεγμονής: *calor* - θερμότητα, *dolor* - άλγος, *tumor* - οίδημα και *rubor* - ερυθρότητα [72]. Η κλασική λοιπόν κλινική εικόνα της σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος είναι μία οξέως οίδηματώδης, επώδυνη άρθρωση με περιορισμένο εύρος κίνησης, από 1-2 εβδομάδων.

Συστηματικά σημεία και συμπτώματα

Ο πυρετός (θερμοκρασία σώματος $>37,5^{\circ}\text{C}$), συνήθως διαλείπων, άνω των 38°C (εύρος τιμών μεταξύ $37,5-39,5^{\circ}\text{C}$) φαίνεται ότι αποτελεί πτωχό διαγνωστικό κριτήριο σε ό,τι αφορά στη σηπτική αρθρίτιδα. Παρατηρείται σε περισσότερους από το 50% των ασθενών με χαμηλή όμως ευαισθησία (sensitivity 57%; 95% CI, 52% - 62%) [9]. Σύμφωνα με μία μελέτη, η ευαισθησία και ειδικότητα του σημείου αυτού είναι 46% και 31% αντίστοιχα (LR, 0.67; 95% CI, 0.43 - 1.0) [73]. Σε ηλικιωμένα άτομα ή άτομα που λαμβάνουν μη στεροειδείς-αντιφλεγμονώδεις παράγοντες (Μ.Σ.Α.Φ.) ή κορτικοστεροειδή, ο πυρετός μπορεί να απουσιάζει. Εφίδρωση (sensitivity 27%; 95% CI, 20% - 34%) και ρίγος (sensitivity 19%; 95% CI, 15% - 24%) είναι πιθανό να συνυπάρχουν, όπως επίσης και άλλα συστηματικά σημεία και συμπτώματα της νόσου (αδιαθεσία, καχεξία, ανορεξία κ.α.) [9].

Τοπικά σημεία και συμπτώματα

Η φυσική εξέταση αποκαλύπτει αυτόματο άλγος (sensitivity 85%; 95% CI, 78% - 90%) και οίδημα (sensitivity 78%; 95% CI, 71% - 85%) της άρθρωσης του γόνατος. Το άλγος (σφύζον ή όχι) εκλύεται με ελάχιστη κίνηση είτε και αυτόματα, ενώ το εύρος κίνησης –ενεργητικό και παθητικό– είναι σαφώς μειωμένο. Άλλα κλινικά σημεία της σηπτικής αρθρίτιδας είναι η ευαισθησία στην ψηλάφηση, η τοπική ερυθρότητα και αύξηση της θερμοκρασίας [9]. Προσοχή πρέπει να δίδεται κατά την αξιολόγηση του πόνου σε σχέση με το ιστορικό και τη γενικότερη κατάσταση της υγείας του ασθενούς. Η διαβητική νευροπάθεια είναι πιθανό να αποκρύψει το άλγος της άρθρωσης, Ομοίως, οξείες ή χρόνιες καταστάσεις που αφορούν στη σπονδυλική στήλη ή λήψη φαρμακευτικών παραγόντων μπορεί να αμβλύνουν ή να εξαλείψουν την αίσθηση του πόνου.



Τέλος, η εκροή υγρού από τραύμα ή χειρουργική τομή είναι συχνά ενδεικτική λοίμωξης της άρθρωσης του γόνατος. Η εκροή υγρού από εν τω βάθει ιστούς υπαινίσσεται την παρουσία επικοινωνίας μεταξύ δέρματος και εν τω βάθει ιστών και επιμόλυνσης αυτών. Η ποσότητα και ποιότητα του υγρού αυτού είναι καθοριστικής σημασίας. Εκροή πύου υποδηλώνει λοίμωξη στην πλειονότητα των περιπτώσεων, ενώ εκροή ορώδους ή αιματηρού υγρού δεν την αποκλείει.

Συνήθως η ποσότητα του υγρού που παροχετεύεται από ένα χειρουργικό τραύμα μειώνεται σταθερά διάρκεια της πρώτης έως τρίτης ημέρας μετά την επέμβαση. Εμμένουσα εκροή υγρού ή αύξηση της ποσότητας αποτελεί ένδειξη βακτηριακής φλεγμονής της άρθρωσης.

Συρίγγιο καλείται μία χρόνια επικοινωνία μεταξύ δέρματος και εν τω βάθει ιστών. Σχεδόν πάντα αντιπροσωπεύουν εν τω βάθει λοίμωξη. Ένα συρίγγιο πλησίον της άρθρωσης του γόνατος θεωρείται ότι επικοινωνεί με αυτήν μέχρις αποδείξεως του εναντίου. Εφόσον αυτό ευρίσκεται εντός πεδίου προηγούμενης επέμβασης, είναι ενδεικτικό εν τω βάθει, πιθανά ενδαρθρικής, χρόνιας λοίμωξης [72].

3.4.2. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ

I. Εργαστηριακές παράμετροι αίματος

ΑΡΙΘΜΟΣ ΛΕΥΚΟΚΥΤΤΑΡΩΝ, Τ.Κ.Ε., CRP

Συμβατικές εργαστηριακές παράμετροι του αίματος, όπως:

- ο αριθμός των λευκοκυττάρων του αίματος (WBC),
- η ταχύτητα καθίζησης ερυθρών (Τ.Κ.Ε.) και
- η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (CRP),

φαίνεται ότι έχουν περιορισμένη διαγνωστική αξία ως προς τη διάκριση μεταξύ διαφόρων τύπων φλεγμονώδους αρθρίτιδας του γόνατος, λόγω χαμηλής ειδικότητας. Τα επίπεδα Τ.Κ.Ε. και CRP είναι συχνά αυξημένα σε ασθενείς με σηπτική αρθρίτιδα, >30 mm/h και >10 mg/dL αντίστοιχα, ενώ ο αριθμός των λευκοκυττάρων του αίματος μπορεί να είναι μεγαλύτερος του φυσιολογικού (10000/μL) ή και εντός φυσιολογικών ορίων [9]. Ειδικότερα, ο αριθμός των λευκοκυττάρων του αίματος δεν έχει καμία ευαισθησία ως δείκτης περιπρωθετικής λοίμωξης του γόνατος. Μία τιμή Τ.Κ.Ε. >30 mm/h είναι 66% ευαίσθητη και 90% ειδική για τη διάγνωση της εν λόγω λοίμωξης και τιμή CRP >1.0 mg/dL 77% ευαίσθητη και 84% ειδική αντίστοιχα. Ο συνδυασμός φυσιολογικής Τ.Κ.Ε. και CRP υποδηλώνει την απουσία περιπρωθετικής λοίμωξης στο 92% των ασθενών [74]. Σε μία άλλη μελέτη, επίπεδα CRP >3.2 mg/dL, ανέβασαν την ευαισθησία της παραμέτρου αυτής στο 96% [75].

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΑΙΜΑΤΟΣ

Οι καλλιέργειες αίματος είναι θετικές στο 40%-50% των περιπτώσεων σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος (με την προϋπόθεση οι ασθενείς να μην έχουν λάβει

κάποια αντιβιοτική αγωγή) και αποτελούν τη μοναδική μέθοδο ανάδειξης του παθογόνου στο 10% αυτών. Σε ό,τι αφορά στις γονοκοκκικές λοιμώξεις, ο υπεύθυνος μικροοργανισμός απομονώνεται σε λιγότερες από το 1/3 των αιμοκαλλιιεργειών [7].

ΟΡΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

Σε υποψία ιογενούς αρθρικής λοίμωξης, ορολογικές εξετάσεις θεωρούνται επιβεβλημένες, ίδια για Parvovirus B19. Σε περιοχές ενδημικές για τη νόσο του Lyme, υπάρχουν ανάλογες εξετάσεις για τη *Borrelia burgdorferi*. Τέλος, εξετάσεις αίματος είναι δυνατό να αναδείξουν μυκητιασικές, μυκοβακτηριδιακές ή και λοιμώξεις από *Brucella*, προκειμένου να τεθεί διάγνωση σε πιο χρόνιες μορφές αρθρίτιδας [72].

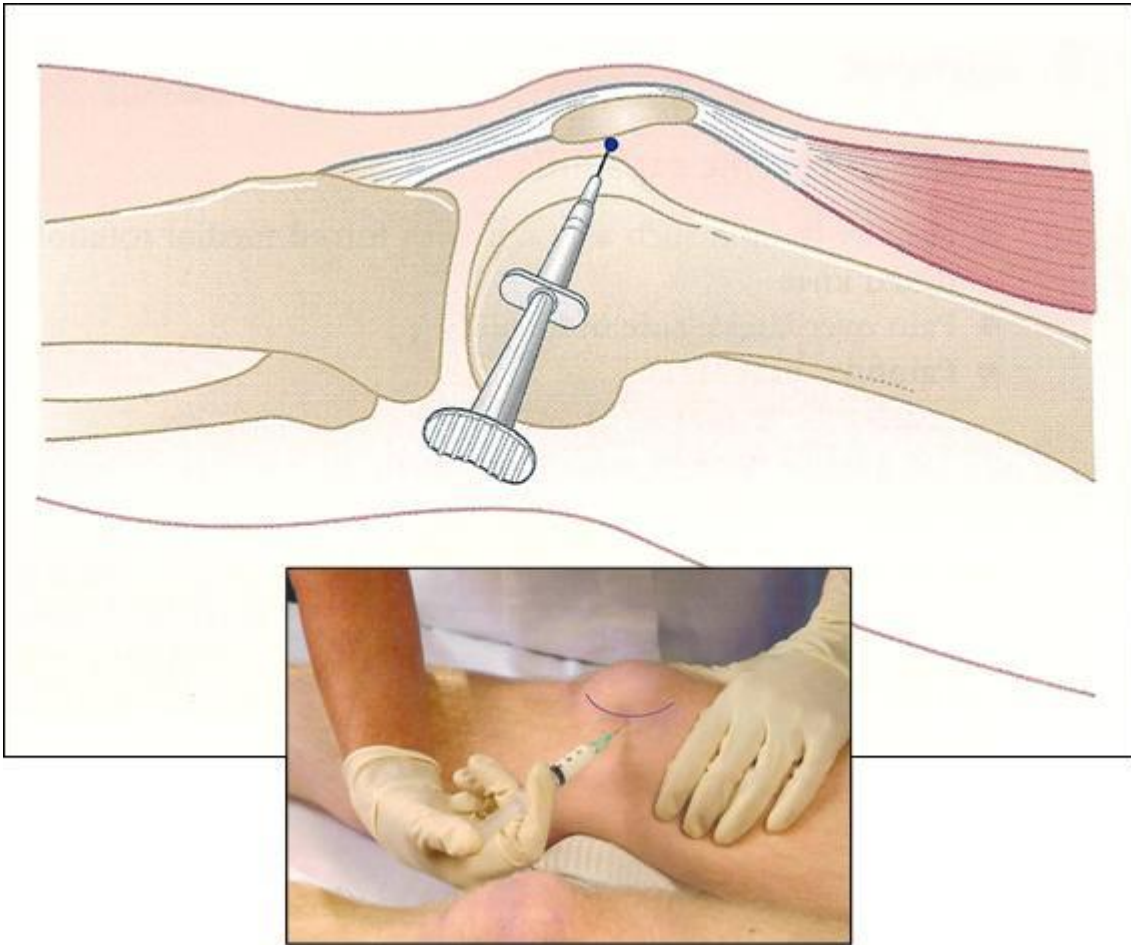
Πίνακας 3.4

**Αναλογία πιθανοφάνειας (*Likelihood ratio*) σηπτικής αρθρίτιδας
εργαστηριακών παραμέτρων του αίματος [9]**

	Ευαισθησία	Ειδικότητα	LR	95% CI
WBC >10000/μL	90%	36%	1.4	1.1-1.8
T.K.E. >30mm/h	95%	29%	1.3	1.1-1.8
CRP >10mg/dL	77%	53%	1.6	1.1-2.5

II. Εργαστηριακές παράμετροι αρθρικού υγρού

Παρακέντηση της άρθρωσης και λήψη αρθρικού υγρού για ανάλυση πρέπει να πραγματοποιείται οποτεδήποτε θεωρείται πιθανή η διάγνωση της σηπτικής αρθρίτιδας [9]. Σε περίπτωση πολυαρθρικής προσβολής, αρθρικό υγρό αναρροφάται από όλες τις δυνητικά μολυσμένες αρθρώσεις [72].



- Ο ασθενής τοποθετείται σε ύπτια θέση με το γόνατο να υποστηρίζεται σε έκταση.
- Αναγνωρίζεται και σημειώνεται το έξω χείλος της επιγονατίδος.
- Μετά κατάλληλη προετοιμασία του δέρματος, εισάγεται βελόνα 19G με κατεύθυνση προς τα έξω και ελαφρά ραχιαία, κάτωθεν της επιγονατίδας.

Εναλλακτικές προσπελάσεις της άρθρωσης του γόνατος είναι η άνω-έξω προσπέλαση του υπερεπιγονατιδικού θυλάκου, ακριβώς παράλληλα με τον άνω πόλο της επιγονατίδας και η έξω προσπέλαση στο μέσο της επιγονατίδας [76].



Σε παρουσία υπερκείμενης κυτταρίτιδας, επιβάλλεται η αποφυγή παρακέντησης της άρθρωσης διά του μολυσμένου δέρματος, εκτός εάν καμία άλλη οδός προσπέλασης δεν είναι εφικτή. Σχετική αντένδειξη θεωρείται επίσης, η υποψία περιπροθετικής λοίμωξης λόγω του κινδύνου ενοφθαλμισμού βακτηριών σε μία δυνητικά στείρα άρθρωση [9].

- Αναρροφάται αρθρικό υγρό με αποστειρωμένη σύριγγα [76]. Παρά το γεγονός ότι 10-15 ml είναι συνήθως αρκετά για μία πλήρη ανάλυση του αρθρικού υγρού, σε υποψία λοίμωξης η άρθρωση πρέπει να εκκενώνεται.
- Η σύριγγα αναδεύεται ήπια [77]. Η βελόνη αφαιρείται και αποστέλλεται στο εργαστήριο για καλλιέργεια [78].
- Το αρθρικό υγρό μεταγγίζεται άμεσα με άσηπτη τεχνική ως εξής:
 - Σε αποστειρωμένο σωληνάριο με ηπαρίνη:
 - 3 έως 5 ml για Gram χρώση, καλλιέργεια (περιλαμβανομένης αερόβιας, αναερόβιας, μυκοβακτηριδιακής και μυκητιασικής) και

άμεσο ενοφθαλμισμό σε σοκολατούχο άγαρ (καλλιέργεια γονόκοκκου).

- Σε αποστειρωμένο σωληνάριο με ηπαρίνη ή EDTA (αιθυλένο-διάμινο-τέτρα-οξικό οξύ):
2 έως 3 ml για κυτταρολογική εξέταση, γενική αρθρικού υγρού και ανίχνευση κρυστάλλων.
- Σε δύο απλά σωληνάρια χωρίς αντιπηκτικές ουσίες:
1 έως 2 ml για μακροσκοπική εξέταση του αρθρικού υγρού ως προς το χρώμα, ιξώδες, περιεχόμενο και ανίχνευση κρυστάλλων.
1 έως 2 ml για ποσοτική ανίχνευση λευκώματος, ρευματοειδούς παράγοντα, συμπληρώματος και άλλες παρόμοιες αναλύσεις.
- Σε απλό σωληνάριο με συντηρητικά:
1 ml για ποσοτική ανίχνευση γλυκόζης [77].

Η ανάλυση λοιπόν του αρθρικού υγρού περιλαμβάνει:

- μακροσκοπική εξέταση,
- χρώματος,
- ιξώδους,
- ανίχνευση κρυστάλλων,
- γενική κυτταρολογική εξέταση,
- πολυμορφοπυρηνικό τύπο,
- Gram χρώση και
- καλλιέργεια (αερόβια, αναερόβια κ.α. πιο ειδικές) [9, 18, 79, 80].

ΓΕΝΙΚΗ ΚΥΤΤΑΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ & ΠΟΛΥΜΟΡΦΟΠΥΡΗΝΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ

Η Αμερικανική Ρευματολογική Εταιρεία (American Rheumatology Association) προτείνει ως κριτικό όριο για τη διάγνωση της σηπτικής αρθρίτιδας τις 50×10^3 λευκοκύτταρα/ μL αρθρικού υγρού (62% ευαισθησία και 92% ειδικότητα) [9, 81]. Μία πρόσφατη εργασία αμφισβητεί το κριτήριο αυτό, καθώς θεωρεί τις 18×10^3 λευκοκύτταρα/ μL πιο ασφαλές όριο [82]. Παρά ταύτα μικρότεροι αριθμοί λευκοκυττάρων αρθρικού υγρού παρατηρούνται σε αρχικά στάδια μίας λοιμώδους αρθρίτιδας ή σε ατελώς θεραπευθείσα λοίμωξη, ενώ μεγαλύτεροι στη ρευματοειδή, ουρική και ψεύδο-ουρική αρθρίτιδα. Ως εκ τούτου δε θα πρέπει να χρησιμοποιείται η γενική κυτταρολογική εξέταση του αρθρικού υγρού προκειμένου να αποκλειστεί ένα σηπτικό αίτιο σε μία φλεγμονή γόνατος [79]. Η στροφή του τύπου των λευκοκυττάρων του αρθρικού υγρού προς τα αριστερά με άνωθεν του 90% πολυμορφοπύρηννα υποδηλώνει την παρουσία σηπτικής αρθρίτιδας με μία αναλογία πιθανοφάνειας (likelihood ratio) της τάξεως του 3.4. Πολυμορφοπυρηνικός τύπος κάτωθεν του 90% μειώνει την αναλογία αυτή σε 0.34 [9].

Σε ό,τι αφορά σε περιπρωθετικές λοιμώξεις, αριθμός λευκοκυττάρων του αρθρικού υγρού υψηλότερος του $1,7 \times 10^3/\mu\text{L}$ έχει 94% ευαισθησία και 88% ειδικότητα για την εν λόγω διάγνωση. Πολυμορφοπυρηνικός τύπος άνωθεν του 65% είναι 97% ευαίσθητος και 98% ειδικός [83]. Σε άλλη μελέτη, $1,8 \times 10^3$ λευκοκύτταρα/ μL σε γενική κυτταρολογική εξέταση αρθρικού υγρού φαίνεται ότι θέτουν τη διάγνωση περιπρωθετικής λοίμωξης με 90% ευαισθησία και 99% ειδικότητα, ενώ τύπος με περισσότερα του 73% ουδετερόφιλα έχει 83% ευαισθησία και 93% ειδικότητα [84]. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, το όριο προκειμένου να τεθεί η διάγνωση της λοίμωξης με ασφάλεια σε άρθρωση η

οποία έχει υποστεί ολική αντικατάσταση, είναι τα 1100 λευκοκύτταρα/μL αρθρικού υγρού, με πολυμορφοπυρηνικό τύπο 64% [80].

ΚΑΤΑ GRAM ΧΡΩΣΗ & ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ

Η χρήση της κατά Gram χρώσης και της καλλιέργειας του αρθρικού υγρού ως χρυσού κανόνα για τη διάγνωση μη-γονοκοκκικής σηπτικής αρθρίτιδας θεωρείται προβληματική, αφού προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η ευαισθησία της πρώτης είναι 29% με 50%, ενώ της δεύτερης μόνο 82% (75%-90%) [9, 85]. Η μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια του αρθρικού υγρού είναι καθοριστικής σημασίας. Το σύστημα BACTEC Peds Plus/F σε συνδυασμό με τον εξοπλισμό BACTEC 9240 (Becton Dickinson, Sparks, MD) είναι περισσότερο ευαίσθητο και ειδικό από τις συμβατικές μεθόδους ανίχνευσης μικροοργανισμών σε τρυβλία άγαρ [86].

Περίπου το ¼ των ασθενών με εμπύημα της άρθρωσης από γονόκοκκο έχει θετική κατά Gram χρώση του αρθρικού υγρού. Η *Neisseria gonorrhoeae* μπορεί να απομονωθεί από καλλιέργειες αρθρικού υγρού στο ½ των ασθενών με γονοκοκκική αρθρίτιδα και στο ¼ εκείνων με μεταναστευτική γονοκοκκική λοίμωξη. Συμπληρωματικές χρώσεις και καλλιέργειες για μύκητες και μυκοβακτηρίδια του αρθρικού υγρού είναι απαραίτητες. Χρώσεις για οξεάντοχα βακτήρια σπανίως είναι θετικές, ενώ οι καλλιέργειες αποδίδουν στο 80% των αρθρικών λοιμώξεων από *Mycobacterium tuberculosis* [72].

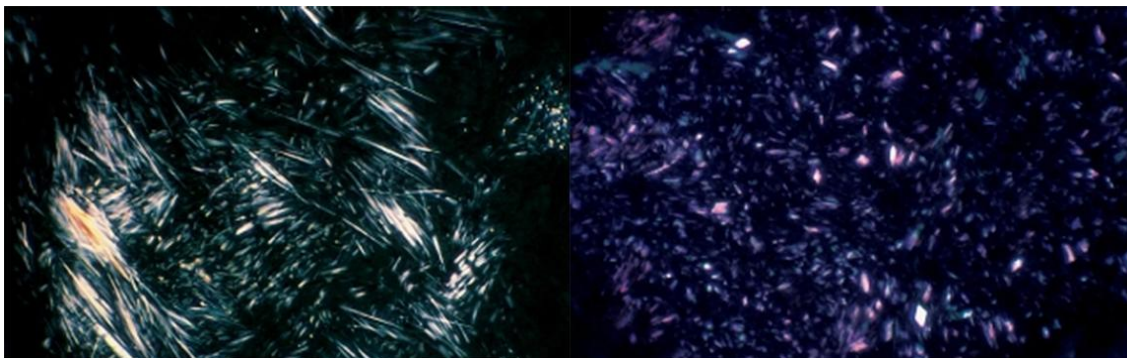
Η ευαισθησία και ειδικότητα της καλλιέργειας του αρθρικού υγρού μεταβάλλεται όσον αφορά στις περιπροθετικές λοιμώξεις σε 73,4% και 90,9% αντίστοιχα. Απομόνωση μικροοργανισμού ο οποίος μπορεί να είναι το παθογόνο αίτιο ή να θεωρηθεί επιμόλυνση του δείγματος, όπως coagulase-

αρνητικοί σταφυλόκοκκοι, εγείρει την ανάγκη λήψης δεύτερου δείγματος αρθρικού υγρού προς καλλιέργεια. Απομόνωση του ίδιου οργανισμού από το δεύτερο δείγμα σαφώς υποδεικνύει εαυτό ως αιτία της λοίμωξης. Η ευαισθησία της κατά Gram χρώσης είναι 32%, ώστε η εξέταση αυτή δεν ενδείκνυται σε περιπτώσεις περιπρωθαικών λοιμώξεων **[87]**. Σε μία μελέτη, κατά την οποία η κατά Gram χρώση θεωρήθηκε θετική παρουσία είτε μικροοργανισμών είτε πλήθους λευκοκυττάρων (>5/οπτικό πεδίο με μεγέθυνση 400×) η ειδικότητα της μεθόδου προσέγγιζε το 100% (98%-100% ειδικότητα, 89%-100% θετική προγνωστική αξία), αλλά με χαμηλή ευαισθησία (30%-50% ευαισθησία, 70%-79% αρνητική προγνωστική αξία) **[80]**.

ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΙ

Η ανίχνευση κρυστάλλων σε αρθρικό υγρό πραγματοποιείται σε δύο φάσεις:

1. Η συμβατική οπτική μικροσκόπηση προηγείται, προκειμένου να γίνει διάκριση της μορφολογίας των κρυστάλλων (βελονοειδείς κρύσταλλοι ουρικού μονοατρίου έναντι πολυμορφικών κρυστάλλων πυροφωσφορικού ασβεστίου).
2. Αφού πιστοποιηθεί η παρουσία κρυστάλλων, χρησιμοποιείται μικροσκόπηση πολωμένου φωτός, χωρίς φίλτρα, προκειμένου να γίνει διάκριση της διπλοδιαθλαστικότητας (ισχυρά αρνητική διπλοδιαθλαστικότητα των κρυστάλλων ουρικού μονοατρίου έναντι ασθενούς θετικής των κρυστάλλων πυροφωσφορικού ασβεστίου).



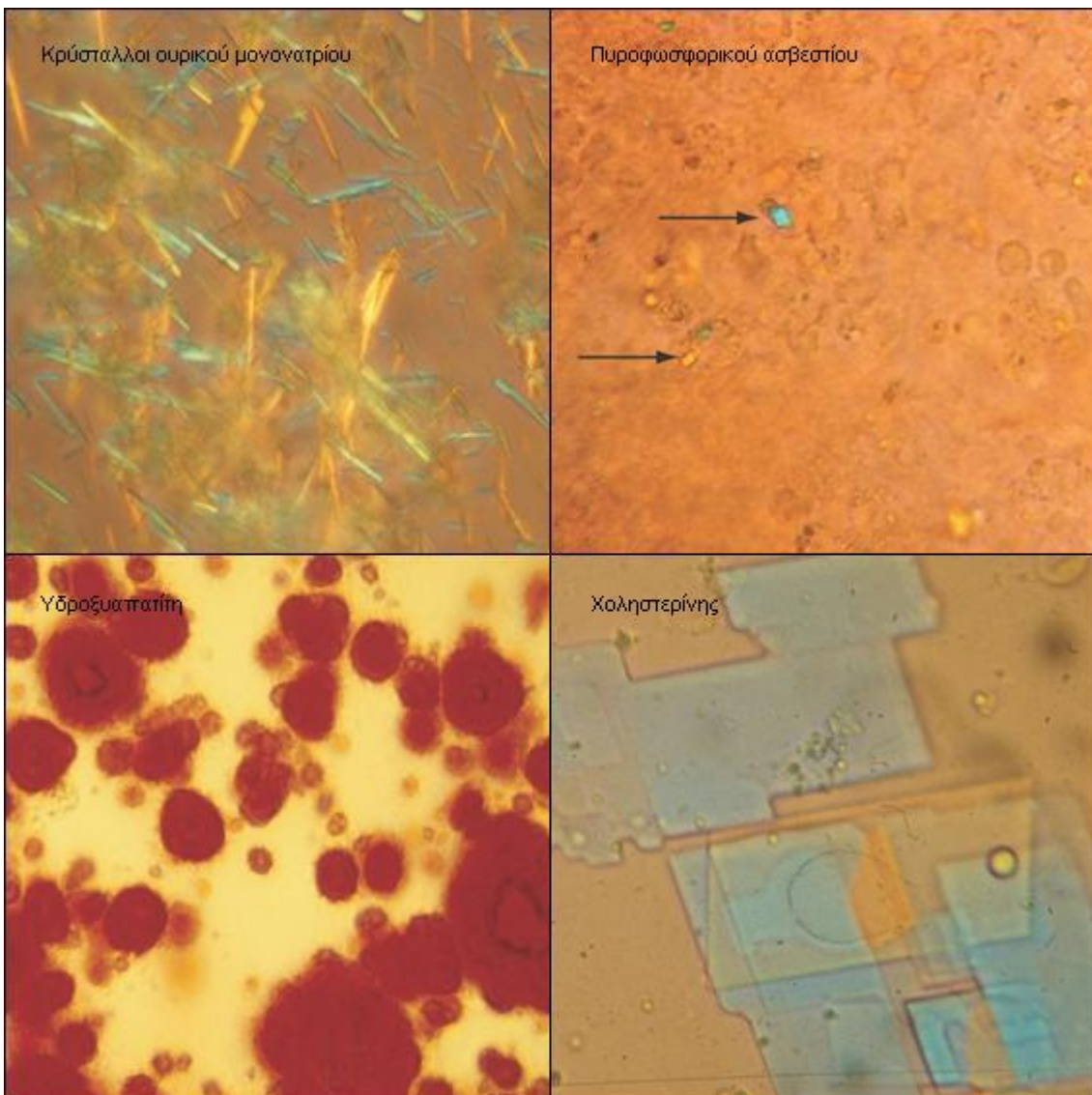
Όταν υπάρχει ισχυρή υποψία ύπαρξης κρυστάλλων, χωρίς να πιστοποιείται σε δείγμα αρθρικού υγρού, φυγοκέντρηση και επανάληψη της μικροσκοπησης είναι δυνατό να αυξήσει το ποσοστό ανίχνευσης [18].

Η απουσία παθολογικών κρυστάλλων στο αρθρικό υγρό αυξάνει τις πιθανότητες μία οξεία μονοαρθρίτιδα του γόνατος να οφείλεται σε κάποιο λοιμώδες αίτιο. Σε καμία περίπτωση όμως, δεν μπορεί να αποκλειστεί το ενδεχόμενο συνύπαρξης σηπτικής με άλλη κρυσταλλογενή αρθρίτιδα (ουρική, ψεύδο-ουρική ή άλλη) [88]. Πέντε κύριοι τύποι παθολογικών κρυστάλλων είναι δυνατό να αναγνωριστούν σε δείγματα αρθρικού υγρού:

- Κρύσταλλοι ουρικού μονονατρίου στην ουρική αρθρίτιδα,
- πυροφωσφορικού ασβεστίου (CPPD) στην ψεύδο-ουρική αρθρίτιδα (συχνά ενδοκυττάριοι),
- υδρόξυ-απατίτη ή βασικού φωσφορικού ασβεστίου σε διαβρωτική οστεοαρθρίτιδα, (στερούνται διπλοδιαθλαστικότητας, ενώ εντοπίζονται σε περιαρθρικές θέσεις και σε μαλακά μόρια της ίδιας της άρθρωσης),
- οξαλικού ασβεστίου σε αρθροπάθεια που σχετίζεται με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και
- κυστεΐνης [77].

Άλλοι κρύσταλλοι που παρατηρούνται είναι:

- οι χοληστερινικοί, επίπεδοι, οι οποίοι ομοιάζουν με πλάκες και φέρουν οξύαιχμα άκρα,
- οι κρύσταλλοι λιπιδίων οι οποίοι έχουν την εμφάνιση σταυρού της Μάλτας. Οι ανωτέρω μπορεί να έχουν ισχυρά αρνητική ή θετική διπλοδιαθλαστικότητα.
- Οι κρύσταλλοι κορτικοστεροειδών μπορεί επίσης να έχουν ισχυρή διπλοδιαθλαστικότητα και μιμούνται τους κρυστάλλους του ουρικού μονοατρίου ή του πυροφωσφορικού ασβεστίου.



Η σημασία της παρουσίας των κρυστάλλων αυτών στο αρθρικό υγρό δεν έχει διευκρινιστεί. Ωστόσο, στην πλειονότητα των περιπτώσεων δεν θεωρείται ότι εμπλέκονται σε κάποια παθολογία [89].

ΒΙΟΧΗΜΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Βιοχημική ανάλυση του αρθρικού υγρού ως προς τα επίπεδα της γλυκόζης, του λευκώματος και της γαλακτικής δεϋδρογενάσης (LDH) συνήθως δεν προσφέρει τα αναμενόμενα [9, 18, 79]. Επίπεδα LDH >250 U/L έχουν 100% ευαισθησία, αλλά χαμηλή ειδικότητα (51%) ως προς τη διάγνωση της σηπτικής αρθρίτιδας, με αρκετά ψευδώς θετικά αποτελέσματα [9]. Η συγκέντρωση του λευκώματος του φυσιολογικού αρθρικού υγρού ισούται συνήθως με περίπου 2 g/dL, ή το 25% εκείνης του πλάσματος [77]. Μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του 2,5 g/dL είναι μη φυσιολογικές, με τα υψηλότερα επίπεδα να αντιστοιχούν σε ανάλογο βαθμό φλεγμονής της άρθρωσης, χωρίς όμως καμία διακριτική ικανότητα ως προς τον τύπο της φλεγμονής (επίπεδα λευκώματος >3 g/dL: 48% ευαισθησία και 46% ειδικότητα) [9, 77]. Υπό κανονικές συνθήκες, τα επίπεδα γλυκόζης του αρθρικού υγρού αντιστοιχούν στο 90% εκείνων του πλάσματος σε ταυτόχρονη λήψη των δειγμάτων [77]. Μείωση αυτών κάτωθεν του 75% ή του 50% κατά άλλους, των επιπέδων γλυκόζης του πλάσματος ή του 1,5 mmol/mL (27 g/dL) ή και των δύο είναι ενδεικτική φλεγμονής. Η ευαισθησία και ειδικότητα της εν λόγω εξέτασης είναι αρκετά χαμηλές (51% ευαισθησία και 85% ειδικότητα), ώστε η αξία της θεωρείται μειωμένη [9, 77]. Ως εκ των ανωτέρω, η ποσοτική ανίχνευση πρωτεΐνης και γλυκόζης σε αρθρικό υγρό έχει εγκαταλειφθεί ως εξέταση ρουτίνας για τη διάγνωση σηπτικής αρθρίτιδας [79].

Ο ρευματοειδής παράγοντας είναι δυνατό να ανιχνεύεται στο αρθρικό υγρό, ακόμη και σε οροαρνητικούς ασθενείς. Προφανώς, το γεγονός αυτό οφείλεται σε παραγωγή αυτού από τα κύτταρα του αρθρικού υμένα στα πλαίσια μίας μη ειδικής αντίδρασης η οποία εκλύεται σε αρκετούς τύπους φλεγμονής (όχι μόνο στη ρευματοειδή αρθρίτιδα). Πολλά άλλα συστατικά, όπως αντιπυρηγικά και άλλα αυτοαντισώματα, θραύσματα DNA, παράγοντες του συμπληρώματος, σφαιρίνες, κρυσταλλικά και ένζυμα ανευρίσκονται στο αρθρικό υγρό, με μικρή όμως κλινική αξία [77].

Σε ασθενείς με θετικούς ορολογικούς δείκτες για τη *B.burgdorferi* και υποψία αρθρίτιδας Lyme, η μέθοδος αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction - PCR) για την ανίχνευση του μικροβιακού DNA στο αρθρικό υγρό, μπορεί να είναι επιβοηθητική. Με τη χρήση μοριακών μεθόδων ή και φθορίζοντων αντισωμάτων είναι δυνατή η πιστοποίηση της παρουσίας βακτηρίων. Ωστόσο, αφενός μεν τα απαιτούμενα αντιδραστήρια δεν είναι ευρέως διαθέσιμα αφετέρου δε δεν έχει αξιολογηθεί η διαγνωστική αξία των πρακτικών αυτών [72].

Πίνακας 3.5**Φυσιολογικό αρθρικό υγρό [77]**

Ποσότητα (άρθρωση του γόνατος)	4 ml
Ιξώδες (ινική ή βλέννη)	Υψηλό
Χρώμα	Άχρωμο / ωχροκίτρινο
Διαύγεια	Διαφανές
WBC/mm ³	200
Γενική εξέταση αρθρικού υγρού	
PMNs	25%
Λεμφοκύτταρα	25%
Μονοκύτταρα	50%
Κρύσταλλοι	Όχι
Λεύκωμα	2.5 g/dL
Γλυκόζη	90% του ορού αίματος
Καλλιέργεια	Αρνητική

Πίνακας 3.6**Χαρακτηριστικά μη φυσιολογικού αρθρικού υγρού [77]**

ΟΜΑΔΑ I: ΜΗ ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΣ	
Ποσότητα (άρθρωση του γόνατος)	Συχνά >4 ml
Ιξώδες (ινική ή βλέννη)	Υψηλό
Χρώμα	Ανοικτό κίτρινο προς κίτρινο
Διαύγεια	Διαφανές
WBC/mm ³	200-3000
Γενική εξέταση αρθρικού υγρού	
PMNs	≤25%
Λεμφοκύτταρα	<25%
Μονοκύτταρα	>50%
Κρύσταλλοι	Όχι
Λεύκωμα	Συνήθως φυσιολογικό
Γλυκόζη	90% του ορού αίματος
Καλλιέργεια	Αρνητική
Σχετικές καταστάσεις	
Τραύμα	
Ενδοαρθρική διαταραχή	
Οστεοαρθρίτις	
Άσηπτη νέκρωση	
Οστεοχονδρίτις	
Οστεοχονδρομάτωση	
Πολυμυαλγία	
Αμυλοείδωση	
Φλεγμονή σε πρώιμο φάση ή σε φάση λύσης	
AIDS	
ΟΜΑΔΑ II: ΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΣ	
Ποσότητα (άρθρωση του γόνατος)	Συχνά >4 ml
Ιξώδες (ινική ή βλέννη)	Χαμηλό
Χρώμα	Κίτρινο προς λευκό

Διαύγεια	Ημιδιαφανές
WBC/mm ³	2000-75000
Γενική εξέταση αρθρικού υγρού	
PMNs	>50%
Λεμφοκύτταρα	<25%
Μονοκύτταρα	25%
Κρύσταλλοι	Ίσως παρόντες
Λεύκωμα	>3.2 g/dL
Γλυκόζη	75% του ορού αίματος ή χαμηλότερη
Καλλιέργεια	Αρνητική για βακτήρια
Σχετικές καταστάσεις	
<i>Συχνά ισχυρά φλεγμονώδες</i>	
Ρευματοειδής αρθρίτις	
Κρυσταλλογενής αρθρίτις	
Σύνδρομο Reiter	
Οξύς ρευματικός πυρετός	
Νόσος Lyme	
<i>Συχνά ασθενώς φλεγμονώδες</i>	
Ψωριασική αρθρίτις	
Αρθρίτιδα σχετιζόμενη με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου	
Νεανική αρθρίτις	
Αγκυλοποιητική σπονδυλίτις	
Νόσος συνδετικού ιστού	
Ιογενής αρθρίτις (περιλαμβανομένου του parvovirus)	
Φυματιώδης ή μυκητιασική αρθρίτις	
ΟΜΑΔΑ III: ΣΗΠΤΙΚΟ	
Ποσότητα (άρθρωση του γόνατος)	Συχνά >4 ml
Ιξώδες (ινική ή βλέννη)	Χαμηλό
Χρώμα	Ποικίλλει
Διαύγεια	Θολερό
WBC/mm ³	Συνήθως >100000

Γενική εξέταση αρθρικού υγρού	
PMNs	>75%
Λεμφοκύτταρα	<10%
Μονοκύτταρα	≤10%
Κρύσταλλοι	Όχι
Λεύκωμα	>3.0 g/dL
Γλυκόζη	50% του ορού αίματος ή χαμηλότερη
Καλλιέργεια	Θετική για βακτήρια
Σχετικές καταστάσεις	
Βακτηριακές λοιμώξεις	
Φυματιώδης ή μυκητιασική αρθρίτις (σπάνια)	
ΟΜΑΔΑ IV: ΑΙΜΟΡΡΑΓΙΚΟ	
Ποσότητα (άρθρωση του γόνατος)	Συχνά >4 ml
Ιξώδες (ινική ή βλέννη)	Ποικίλλει
Χρώμα	Ρόδινο προς ερυθρό
Διαύγεια	Ποικίλλει
WBC/mm ³	Ποικίλλει
Γενική εξέταση αρθρικού υγρού	
PMNs	Ποικίλλει
Λεμφοκύτταρα	Ποικίλλει
Μονοκύτταρα	Ποικίλλει
Κρύσταλλοι	Όχι
Λεύκωμα	Ποικίλλει
Γλυκόζη	Ποικίλλει
Καλλιέργεια	Αρνητική
Σχετικές καταστάσεις	
<i>Αιμορραγική διάθεση</i>	
Θρομβοκυττοπενία	
Αντιπηκτική αγωγή	
Αιμοφιλία	
Δρεπανοκυττάρωση	
Κακοήθεια	

Τραύμα	
Άρθρωση Charcot	
Αρθροπλαστική	
Όγκοι	
Κεχρωσμένη λαχνοοζώδης υμενίτιδα	
Υμενικό αιμαγγείωμα	

Πίνακας 3.7

Χαρακτηριστικά αρθρικού υγρού και εργαστηριακά ευρήματα σε διάφορους τύπους αρθρίτιδας [72]

Χαρακτηριστικά	Κατά φύση	Μη φλεγμονώδης αρθρίτις	Φλεγμονώδης αρθρίτις	Σηπτική αρθρίτις	Περιπροθετική λοίμωξη (ΤΗΑ ή ΤΚΑ)
Μακροσκοπική εμφάνιση	Διαυγές	Διαυγές	Θολερό ή ημιδιαφανές	Θολερό Κίτρινο ή πράσινο	Διαυγές ή θολερό
WBC/mm ³	< 1000	< 1000	5000 - 75000	> 50000	> 1100 - 3000
Πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα	< 25%	< 25%	> 50%	> 75%	> 64% - 80%
Καλλιέργεια	Αρνητική	Αρνητική	Αρνητική	Θετική	Θετική

Πίνακας 3.8

Χαρακτηριστικά αρθρικού υγρού σε σχέση με τη διάγνωση της σηπτικής αρθρίτιδας [9]

WBC	Ευαισθησία	Ειδικότητα	LR	95% CI
<25000			0.32	0.23-0.43
≥25000	77%	73%	2.9	2.5-3.4
>50000	62%	92%	7.7	5.7-11.0
>100000	29%	99%	28.0	12.0-66.0
Πολυμορφοπύρηνα κύτταρα				
<90%			0.34	0.25-0.47
≥90%	73%	79%	3.4	2.8-4.2

Πίνακας 3.9**Μικροσκοπική εξέταση αρθρικού υγρού για κρυστάλλους [90]**

Τύπος κρυστάλλων	Διπλοδιαθλαστικότητα	Αποχή (elongation)	Σχήμα	Μήκος (μm)
Ουρικού μονοατρίου	Ισχυρή	Αρνητική	Βελονοειδές ή σωληνωτό	2 -15
Πυροφωσφορικού ασβεστίου	Ασθενής	Θετική	Ρομβοειδές ή σωληνωτό	2 -15
Οξαλικού ασβεστίου	Ασθενής ή ισχυρή	Θετική ή ενδιάμεση	Διπλής πυραμίδας	5 - 30
Βασικού φωσφορικού ασβεστίου	Χωρίς διπλοδιαθλαστικότητα στο πολωμένο φως	—	Στιλπνό, ομοιάζον με νόμισμα ή ελαφρώς ακανόνιστο	3 - 65

III. Επιχρίσματα

Εκτός των λοιπών καλλιεργειών, στην κλινική πράξη δεν παραλείπεται η λήψη επιχρισμάτων από:

- συρίγγια,
- έλκη ή λύσεις γενικότερα του δέρματος σε συνδυασμό με εν τω βάθει λοίμωξη κατά συνέχεια ιστών,
- τραύματα (χειρουργικά και άλλα) σε επικοινωνία με την άρθρωση [72].

Η μέθοδος αυτή είναι μάλλον ακατάλληλη για τη λήψη καλλιεργειών, ιδιαίτερα επιφανειακών ιστών· προτιμότερη είναι η λήψη τεμαχίων των ιστών. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων απομονώνονται μικροοργανισμοί οι οποίοι έχουν αποικίσει την περιοχή και δε συσχετίζονται με το λοιμώδες αίτιο της εν τω βάθει λοίμωξης. Απομόνωση *S.aureus* από επίχρισμα παροχέτευσης συριγγώδους πόρου έχει διαγνωστική αξία σε 80% ή λιγότερο των ασθενών, ποσοστό μη επαρκές προκειμένου να τεθεί η διάγνωση χωρίς επιπρόσθετες πληροφορίες –κλινικές και εργαστηριακές [91].

Διεγχειρητικά επιχρίσματα από επιφάνειες της άρθρωσης ή της πρόθεσης είναι γενικά ακατάλληλα λόγω χαμηλής ευαισθησίας [92]. Άλλωστε τα βακτήρια προσκολλώνται στις ίνες του στυλεού της καλλιέργειας και προσροφώνται εντός αυτών, χάριν του υδρόφοβου κυτταρικού τοιχώματος που διαθέτουν. Οι στυλεοί λοιπόν παγιδεύουν το μεγαλύτερο αριθμό των βακτηρίων που έρχονται σε επαφή με τις ίνες τους, μειώνοντας την πιθανότητα απομόνωσης κάποιου μικροοργανισμού. Ορισμένοι δε στυλεοί (ιδίως οι ξύλινοι) μπορεί να περιέχουν συστατικά τοξικά για αρκετά βακτήρια. Οι λαβές των στυλεών συχνά είναι πηγή επιμόλυνσης των καλλιεργειών, ενώ εξαιτίας του

μήκους αυτών είναι δυνατό το δείγμα να εισχωρήσει σε βάθος στο μέσο μεταφοράς, ώστε να είναι αδύνατη η ανάκτησή του στο εργαστήριο [91].

Σε περίπτωση μεταναστευτικής γονοκοκκικής λοίμωξης ή γονοκοκκικής αρθρίτιδας, η *N.gonorrhoeae* είναι πιο πιθανό να απομονωθεί από τους βλεννογόνους του τραχήλου της μήτρας, της ουρήθρας, του ορθού ή του ρινοφάρυγγα, παρά από το αρθρικό υγρό ή το αίμα. Εξετάσεις ανίχνευσης γονιδιακού υλικού (DNA ή RNA) του βακτηρίου σε ούρα ή ουρηθρικό ή τραχηλικό επίχρισμα αποτελούν χρήσιμα βοηθήματα για τη διάγνωση της γονοκοκκικής αρθρικής λοίμωξης [72].

IV. Βιοψία και καλλιέργεια ιστών - υλικών

Προκειμένου να τεθεί η διάγνωση της σηπτικής αρθρίτιδας, πολλές φορές απαιτείται η διεγχειρητική λήψη τεμαχίων ιστών της άρθρωσης ή περιπροθετικού ιστού για καλλιέργεια και ιστοπαθολογική εξέταση, ίδια σε περιπροθετικές λοιμώξεις.

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΙΣΤΩΝ

Η ευαισθησία και ειδικότητα μίας μοναδικής καλλιέργειας ιστού είναι χαμηλή. Ως εκ τούτου, πολλαπλά δείγματα πρέπει να ληφθούν. Μία μελέτη η οποία χρησιμοποίησε ένα μαθηματικό πρότυπο, με σκοπό να διευκρινιστεί ο ιδεατός αριθμός τεμαχίων ιστού προς καλλιέργεια για την ακριβή διάγνωση βακτηριακής λοίμωξης της άρθρωσης, όρισε ως τέτοιοι τα πέντε με έξι δείγματα. Απομόνωση του ιδίου μικροοργανισμού από τρία ή περισσότερα δείγματα είναι ισχυρή ένδειξη λοίμωξης, παρά το γεγονός ότι μόνο το 65% των ασθενών με σηπτική αρθρίτιδα βάσει των ιστοπαθολογικών ευρημάτων είχαν τρεις θετικές καλλιέργειες [93]. Τουλάχιστον τρία δείγματα ιστών λοιπόν, πρέπει να λαμβάνονται διεγχειρητικά από θέσεις της άρθρωσης με μακροσκοπικά διαπιστούμενη φλεγμονή ή άλλες υψηλής πιθανότητας για την ανάδειξη εν τω βάθει λοίμωξης (αρθρικός υμένας, κοκκιώδης ιστός, ψεύδο-κάψα, ψεύδο-μεμβράνες, περιπροθετικός ιστός), μετά διακοπή των αντιμικροβιακών παραγόντων επί δύο εβδομάδες. Ακόμη και μία θετική καλλιέργεια από πολλαπλά δείγματα διαφορετικών θέσεων της άρθρωσης αξιολογείται [94]. Η κατά Gram χρώση ιστοτεμαχίων ή περιπροθετικού ιστού δεν προτείνεται ως μέρος της διαγνωστικής διαδικασίας λόγω της χαμηλής ευαισθησίας της – κάτωθεν του 12% [93].

ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ ΥΛΙΚΩΝ

Βάσει μίας πρόσφατα περιγεγραμμένης τεχνικής, είναι δυνατό να καλλιεργηθούν μικροοργανισμοί οι οποίοι εντοπίζονται στην επιφάνεια υλικών-προθέσεων ισχίου ή γόνατος μετά αφαίρεση αυτών από τη φλεγμαίνουσα άρθρωση. Τα υλικά τοποθετούνται σε αποστειρωμένο δοχείο με 400 mL διαλύματος Ringer και υποβάλλονται σε φυγοκέντρηση επί 30 sec, κατεργασία σε λουτρό υπερήχων επί 5 λεπτά στα 40 kHz και δεύτερη φυγοκέντρηση. Το υγρό του δοχείου συλλέγεται και καλλιεργείται (υπό αερόβιες και αναερόβιες συνθήκες). Η ανωτέρω κατεργασία με υπερήχους πιστεύεται ότι διασπά τη βιομεμβράνη που σχηματίζουν κάποια βακτήρια, ίδια σε επιφάνειες υλικών, με αποτέλεσμα απελευθέρωση ικανού αριθμού βακτηρίων στο υγρό μέσο προκειμένου να απομονωθούν σε καλλιέργεια αυτού. Σύγκριση της τεχνικής αυτής με τις συμβατικές καλλιέργειες περιπροθετικού ιστού έδειξε υπεροχή της πρώτης, με ευαισθησία 77,8% έναντι 60,5% και ειδικότητα 98,8% έναντι 99,2% αντίστοιχα. Ακόμη και σε ασθενείς οι οποίοι συνεχίζουν να λαμβάνουν αντιμικροβιακή αγωγή, η ευαισθησία της μεθόδου εξακολουθεί να είναι υψηλή – 75% έναντι 47,5%. Παρά ταύτα, επιβάλλεται η διακοπή οποιουδήποτε αντιμικροβιακού παράγοντα τουλάχιστον 4 ημέρες πριν την αφαίρεση υλικών από την άρθρωση [87].

ΙΣΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Συσχέτιση των μικροβιολογικών ευρημάτων με τα ιστοπαθολογικά είναι απαραίτητη. Προκειμένου να διασφαλιστεί αυτή, από τα τεμάχια ιστών τα οποία λαμβάνονται διεγχειρητικά, τμήμα αυτών καλλιεργείται, ενώ το εναπομένον σταθεροποιείται με ψύξη και κατεργάζεται (frozen sections). Το υλικό εν

συνεχεία μονιμοποιείται σε παραφίνη ή φορμαλδεΰδη και αξιολογείται για δεύτερη φορά, καθώς τα ευρήματα μπορεί να διαφέρουν από εκείνα του κρουστούμου. Η έκταση της διήθησης των ιστών από φλεγμονώδη κύτταρα ποικίλλει μεταξύ διάφορων θέσεων βιοψιών της μολυσμένης άρθρωσης, αλλά και μεταξύ διάφορων οπτικών πεδίων της ίδιας ιστολογικής τομής, ώστε η λήψη βιοψιών από τουλάχιστον δύο θέσεις είναι επιβεβλημένη. Δυστυχώς, η ιστοπαθολογική εικόνα εξαρτάται από την αντίδραση του ξενιστή, η οποία μπορεί να είναι ασθενής σε ενδαρθρικές λοιμώξεις, με αρνητικές καλλιέργειες, χωρίς εμπύημα.

Εξέταση-μικροσκόπηση λεπτών τεμαχίων ιστών από κρουστόμο θεωρείται θετική όταν 10 ή περισσότερα ουδετερόφιλα ανευρίσκονται ανά οπτικό πεδίο σε μεγέθυνση 400× στα 5 πιο κυτταροβριθή οπτικά πεδία που εξετάστηκαν [91]. Η αξία της ιστοπαθολογικής εξέτασης έγκειται στον αποκλεισμό της πιθανότητας λοίμωξης. Η ειδικότητα της μεθόδου κυμαίνεται μεταξύ 98% και 99%, με αρνητική προγνωστική αξία 95%-98%. Αντίθετα, η ευαισθησία αυτής είναι πτωχή (25%-84%) [95, 96]. Η ανίχνευση λιγότερων του ενός ουδετερόφιλου ανά οπτικό πεδίο (σε μεγέθυνση 400×) αποτελεί ισχυρή ένδειξη απουσίας λοίμωξης.

Η παρουσία ουδετερόφιλων είναι αντιπροσωπευτική οξείας λοίμωξης, ενώ ανίχνευση άλλων φλεγμονωδών κυττάρων, συμπεριλαμβανομένων των λεμφοκυττάρων, πλασματοκυττάρων, ηωσινόφιλων και μακροφάγων ποικίλλει. Μακροφάγα (ιστιοκύτταρα) και πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα συνήθως αποτελούν μέρος αντίδρασης σε προϊόντα φθοράς και ως εκ τούτου δεν θεωρούνται αξιόπιστοι δείκτες λοίμωξης. Η εύρεση περισσότερων από πέντε ουδετερόφιλων ανά οπτικό πεδίο θεωρείται αρκετά ευαίσθητη και ειδική

προκειμένου να τεθεί η ιστοπαθολογική διάγνωση της σηπτικής αρθρίτιδας. Κάποιες λοιμώξεις σχετίζονται με εισροή εξίσου μεγάλου αριθμού λεμφοκυττάρων και διάφορου αριθμού πλασματοκυττάρων στην άρθρωση. Παρά ταύτα, σε 45% των ασθενών δεν ανευρίσκονται πλασματοκύτταρα. Το αυξημένο λεμφοκυτταρικό φορτίο δεν είναι ούτε ευαίσθητο ούτε ειδικό για βακτηριακή προσβολή, μολονότι συσχετίζεται ισχυρά με την αθρόα διήθηση των ιστών από ουδετερόφιλα. Ως εκ των ανωτέρω, παρουσία λεμφοκυττάρων, καθίσταται επιβεβλημένη η προσεκτική διερεύνηση των παρακείμενων ιστών για κύτταρα της οξείας φάσης φλεγμονής. Ηωσινόφιλα σπάνια ανιχνεύονται. Η κατά Gram χρώση μονιμοποιημένων ιστών είναι θετική μόνο στο 21,5% των ασθενών με επιβεβαιωμένη αρθρική λοίμωξη [91].

Πίνακας 3.10**Αριθμός φλεγμονωδών κυττάρων που απαιτείται για τη διάγνωση σηπτικής αρθρίτιδας σε ιστολογικές τομές [91]**

Κυτταρικός τύπος	Οξεία λοίμωξη	Χρόνια λοίμωξη	Άσηπτος αντίδραση σε σωματίδια φθοράς
Ουδετερόφιλα	<u>Τομές μετά σταθεροποίηση με ψύξη:</u> >10 σε κάθε ένα από 5 οπτικά πεδία (επί δύο ή περισσότερα δείγματα) <u>Τομές μονιμοποιημένου δείγματος:</u> >5 ανά οπτικό πεδίο, περιαγγειακή διήθηση	0 - 3 ανά οπτικό πεδίο	<1 ανά 10 οπτικά πεδία επί δύο ή περισσότερα δείγματα
Μακροφάγα	Αναξιόπιστος δείκτης	Παρόντα	Κοινά
Λεμφοκύτταρα	Μη διαγνωστικά, δυνατή συνύπαρξη ουδετερόφιλων	Παρόντα	Περιαγγειακή διήθηση σχετίζεται με αντίδραση καθυστερημένης υπερευαισθησίας από μεταλλικά σωματίδια φθοράς
Πλασματοκύτταρα	>5 ανά οπτικό πεδίο	Παρόντα	Άσυνήθη
Γιγαντοκύτταρα	Σπάνια παρόντα	Παρόντα	Κοινά

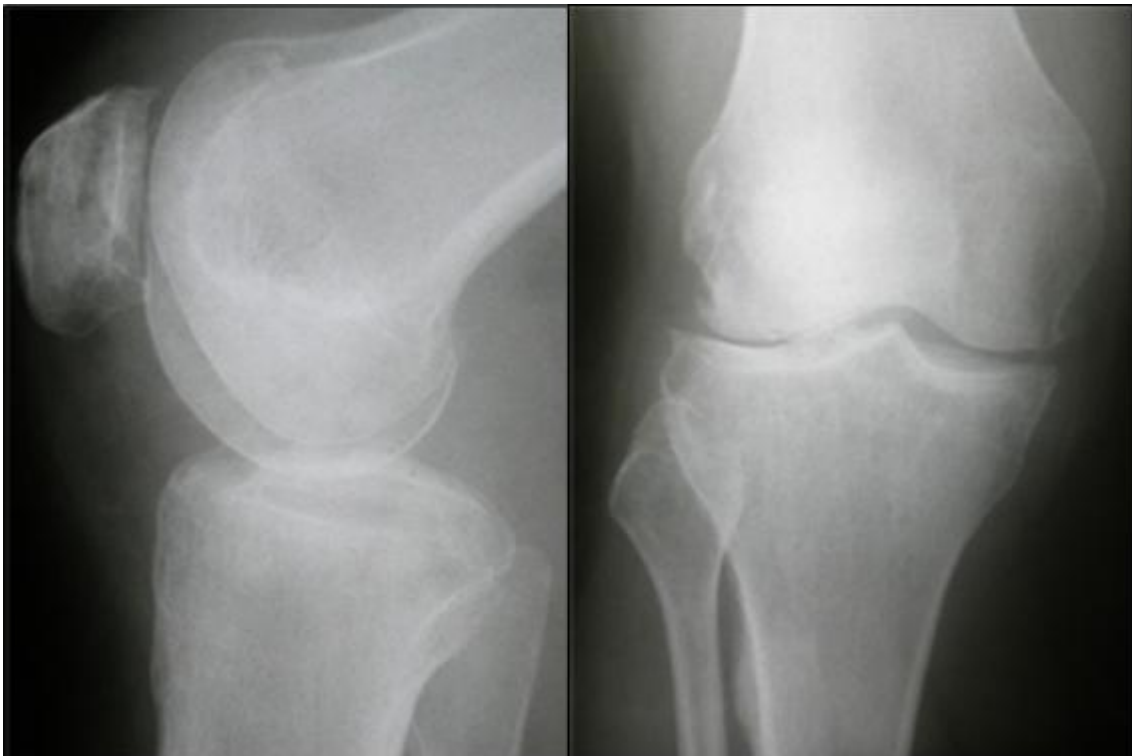
Οπτικό πεδίο: οπτικό πεδίο υψηλής μεγέθυνσης 400x.

V. Απεικονιστικές εξετάσεις

ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Ο κλασικός ακτινολογικός έλεγχος του γόνατος (F/P) σπάνια είναι διαγνωστικός και αδυνατεί να διακρίνει τη σηπτική από την άσηπτο φλεγμονή της άρθρωσης [9, 18, 79, 80].

Στα αρχικά στάδια της σηπτικής αρθρίτιδας, οι απλές ακτινογραφίες μπορεί να είναι φυσιολογικές [19]. Πρώιμες ακτινολογικές αλλοιώσεις είναι το συμμετρικό οίδημα των μαλακών μορίων πέριξ της άρθρωσης, ο υπερτροφικός αρθρικός υμένας και το ύδραρθρο. Η υπεραιμία του αρθρικού υμένα και η επακόλουθη της αχρησίας ατροφία είναι δυνατό να προκαλέσουν περιαρθρική οστεοπενία. Το ύδραρθρο αναγνωρίζεται από τη μετακίνηση των λιπωδών σωμάτων του θυλάκου και τη διεύρυνση του αρθρικού διαστήματος.



Επόμενο χρονικά, ακτινολογικό εύρημα είναι η διάβρωση στο διαχωριστικό όριο αρθρικού υμένα-οστού, όπου δεν επικαλύπτεται αυτό από

τον αρθρικό χόνδρο. Καθώς οι λοιμώδεις εξεργασίες λαμβάνουν χώρα, ο φλεγμονώδης ιστός (pannus) εισχωρεί μεταξύ αρθρικού χόνδρου και οστού, προκαλώντας καταστροφή του χόνδρου και του υποχονδρίου, σπογγώδους οστού, ίδια σε περιοχές που υποδέχονται το βάρος του σώματος. Ακτινολογικά, οι παθολογικές αυτές αλλοιώσεις αναγνωρίζονται ως κεντρική διάβρωση με διακοπή της λευκής γραμμής του αρθρικού φλοιού, εύρημα ενδεικτικό σηπτικής αρθρίτιδας. Περαιτέρω καταστροφή του αρθρικού χόνδρου, η οποία αφορά το σύνολο των αρθρικών επιφανειών, συνεπάγεται στένωση του μεσάρθριου διαστήματος. Σε μεταγενέστερα στάδια της ενδοαρθρικής λοίμωξης είναι δυνατό να παρατηρηθεί αγκύλωση της άρθρωσης.

Στη χρόνια σηπτική αρθρίτιδα, υπάρχουν στοιχεία οστεομυελίτιδας των παρακείμενων οστών, με περισστίτιδα και οστική καταστροφή [97].

Στη φυματιώδη αρθρίτιδα, η τριάδα των ακτινολογικών ευρημάτων, γνωστή ως τριάδα του Phemister, είναι χαρακτηριστική:

- περιαρθρική οστεοπόρωση,
- περιφερική οστική διάβρωση και
- απουσία ή ήπια στένωση του αρθρικού διαστήματος.

Σχηματισμός απολύματος στην περιφέρεια της αρθρικής επιφάνειας δεν είναι σπάνιος, ενώ σφηνοειδούς σχήματος απολύματα στις δύο παρακείμενες αρθρικές επιφάνειες της μηροκνημιαίας διάρθρωσης του γόνατος δίνουν την εικόνα των φιλούμενων απολυμάτων (“kissing sequestra”). Περισστίτιδα με συνοδό οστική παραγωγή δεν είναι τόσο διακεκριμένη, όσο στη βακτηριακή αρθρίτιδα. Σταδιακά, η προσβεβλημένη άρθρωση αγκυλώνεται από ινώδη στοιχεία, χωρίς όμως οστεοποίηση, γεγονός που παρατηρείται συχνά σε βακτηριακή προσβολή.

Οι ακτινολογικές εκδηλώσεις της μυκητιασικής αρθρίτιδας είναι όμοιες με εκείνες της μυκοβακτηριδιακής.

Η χρόνια αρθρίτιδα του Lyme, στα αρχικά της στάδια εμφανίζει χαρακτηριστική οίδηματώδη αλλοίωση του επιγονατιδικού λιπώδους σώματος. Αργότερα, προσομοιάζει στη νεανική ρευματοειδή και τη συνοδό του συνδρόμου Reiter αρθρίτιδα με διάβρωση του χόνδρου και των παρακείμενων οστών [98].

Η κλασική ακτινολογία μπορεί να αποκαλύψει περιοστική αντίδραση, οστικές κύστες και εστιακή οστική απορρόφηση σε περιπτώσεις περιπροθετικών λοιμώξεων. Πρώιμη χαλάρωση των υλικών εγείρει την υποψία υποκείμενης –αδρανούς ή ελάχιστα δραστηκής– λοίμωξης. Τα ανωτέρω χαρακτηριστικά ακτινολογικά σημεία σπάνια ανευρίσκονται σε μολυσμένες αρθρώσεις μετά αρθροπλαστική. Ως εκ τούτου, ο ρόλος του συμβατικού ακτινολογικού ελέγχου είναι να αποκλείσει την άσηπτη χαλάρωση των υλικών ή το περιπροθετικό κάταγμα [99].

ΑΡΘΡΟΓΡΑΦΗΜΑ

Το αρthroγράφημα, η έγχυση σκιαγραφικού μέσου αντίθεσης εντός της αρθρικής κοιλότητας κατά την παρακέντηση της άρθρωσης, χρησιμοποιείται για:

- την επιβεβαίωση της δειγματοληψίας του αρθρικού υγρού,
- την ανάδειξη της έκτασης της αρθρικής και περιαρθρικής βλάβης και της παρουσίας υμενίτιδας και τέλος,
- την αποκάλυψη κοιλοτήτων και συριγγίων.

Συνδυάζεται είτε με συμβατική ακτινολογική απεικόνιση είτε με τομογραφικές τεχνικές (αξονική ή μαγνητική τομογραφία) [98, 100].

ΣΥΡΙΓΓΟΓΡΑΦΙΑ

Η έγχυση σκιαγραφικού διά του εξωτερικού στομίου ενός συριγγίου αποτελεί σημαντική εξέταση προκειμένου να χαρτογραφηθεί η πορεία του εντός των μαλακών μορίων και να διαπιστωθεί τυχούσα επικοινωνία με την άρθρωση [98].

ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

Η υπερηχογραφία, ευρέως διαθέσιμη και χωρίς κόστος, αποτελεί πολύτιμο εργαλείο για την εκτίμηση των μαλακών μορίων. Σε ό,τι αφορά στη διάγνωση της σηπτικής αρθρίτιδας, χρησιμοποιείται για:

- την ανίχνευση οιδήματος των περιαρθρικών μαλακών μορίων,
- ύδραρθρου,
- περιαρθρικών αποστημάτων ή
- περισοτικής αντίδρασης των παρακείμενων οστών και
- την κατευθυνόμενη παρακέντηση εν τω βάθει αρθρώσεων (λ.χ. ισχίου),
- ορογόνων θυλάκων ή
- αποστημάτων [19].

ΣΠΙΝΘΗΡΟΓΡΑΦΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ

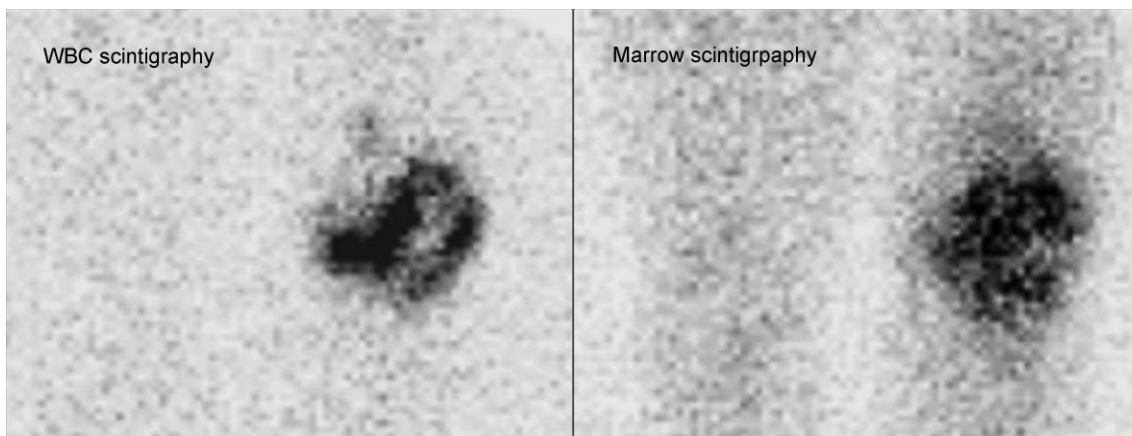
Στη σηπτική αρθρίτιδα, ο σπινθηρογραφικός έλεγχος των οστών (τριών ή τεσσάρων φάσεων) καταδεικνύει αυξημένη περιαρθρική πρόσληψη του ραδιοφαρμάκου από τον αρθρικό υμένα, τα μαλακά μόρια ή και τα δύο, διάρκεια των δύο πρώτων φάσεων, της αιματικής ροής και της συγκέντρωσης. Κατά την

τρίτη και τέταρτη, καθυστερημένες φάσεις, δεν σημειώνεται καμία σημαντική αύξηση της πρόσληψης από τα παρακείμενα οστά. Η εξέταση αυτή λοιπόν, παρότι ευαίσθητη, δεν είναι ειδική, αφού είναι σε θέση να διαφοροδιαγνώσει τη σηπτική από την άσηπτο, φλεγμονώδη αρθρίτιδα. Ο κύριος ρόλος της είναι ο αποκλεισμός συνοδού οστεομυελίτιδας **[19, 101]**.

Τρεις τεχνικές είναι ευρέως διαθέσιμες για τον σπινθηρογραφικό έλεγχο του μυοσκελετικού συστήματος, οι οποίες χρησιμοποιούν:

- Tc 99m (^{99m}Tc) MDP ή HDP - Διφωσφονικά σημασμένα με τεχνητό 99m
- Ga 67 (^{67}Ga) - Γάλλιο 67
- Λευκοκύτταρα σημασμένα με In 111 (^{111}In - ίνδιο 111) ή Tc 99m

Οι δύο τελευταίες φαίνεται ότι είναι πιο ειδικές σε ό,τι αφορά στην ανίχνευση λοιμώξεων, παρά το γεγονός ότι το ^{67}Ga προσλαμβάνεται από εστίες νευροπαθητικής νόσου, εκτός των φλεγμινουσών περιοχών. Το σπινθηρογράφημα με ^{111}In έχει 83% ευαισθησία και 94% ειδικότητα, με ακρίβεια της τάξεως του 88% **[98]**.



Ο σπινθηρογραφικός έλεγχος αποτελεί τη μέθοδο εκλογής για τη διάγνωση περιπροθετικής λοίμωξης. Σάρωση του σκελετού και ανίχνευση του καθηλωμένου ^{99m}Tc MDP θεωρείται καθοριστικής σημασίας για την περαιτέρω εξέλιξη της διαγνωστικής διαδικασίας, αφού απουσία πρόσληψης του

ραδιοφαρμάκου αποκλείει την πιθανότητα λοίμωξης (33% ευαισθησία και 86% ειδικότητα, με 30% θετική και 88% αρνητική προγνωστική αξία). Ωστόσο, διάκριση με τη βοήθεια σπινθηρογραφήματος, μεταξύ μίας φυσιολογικής διαδικασίας ενσωμάτωσης και μίας παθολογικής κατάστασης είναι δύσκολη τους 12 πρώτους μήνες μετά αρθροπλαστική, ιδιαίτερα εάν έχει χρησιμοποιηθεί στυλεός πρόθεσης χωρίς τσιμέντο [102].

Συνήθως εφαρμόζεται τεχνική διπλής ανίχνευσης, ^{99m}Tc MDP και σημασμένων λευκοκυττάρων με ^{111}In ή ^{99m}Tc HMPAO (hexamethylpropylene amino oxine), η οποία βασίζεται στη σχετική διαφορά πρόσληψης των δύο ιχνηθετών. Ο συνδυασμός αυτός μειώνει το ποσοστό ψευδώς θετικών ευρημάτων και αυξάνει την ειδικότητα της μεθόδου. Η ακρίβεια της τεχνικής κυμαίνεται μεταξύ 89% και 98%. Βελτίωση της τεχνικής αποτελεί η χρήση σημασμένου με ^{99m}Tc θειούχου κολλοειδούς αντί ^{99m}Tc MDP [103, 104].

Νέες τεχνικές σπινθηρογραφικού ελέγχου εισάγονται διαρκώς:

- Μονοκύτταρα,
- μονοκλωνικά αντισώματα έναντι κοκκιοκυττάρων (anti-NCA 90, Sulesomab, Leukoscan),
- ειδικά για συγκεκριμένα βακτήρια αντισώματα
- πολυκλωνικά IgG αντισώματα,
- αντισώματα έναντι της e-selectin
- ανάλογα χημειοτακτικών πολυπεπτιδίων,
- CD4,
- κυττοκίνες,
- υποδοχείς σωματοστατίνης,

- σιπροφλοξασίνη και άλλες ουσίες, σημασμένες με ποικίλα ισότοπα (^{99m}Tc , ^{111}In ή ^{123}I) [98, 104].

Η συμβατική σπινθηρογραφική απεικόνιση είναι χαμηλής ανάλυσης, δισδιάστατη και ως εκ τούτου υπόκειται στο σφάλμα της επικάλυψης των επιπέδων. Η αξονική τομογραφία εκπομπής μονής δεσμίδας φωτονίων (single photon emission computed tomography - SPECT), χρησιμοποιώντας τεχνική ανάλογη της αξονικής τομογραφίας και περιστρεφόμενη πηγή εκπομπής, είναι σε θέση να εντοπίσει με μεγαλύτερη ακρίβεια τη βλάβη, διαχωρίζοντας το επίπεδο της δραστηριότητας του ιστού-στόχου από εκείνο υπερκείμενης φυσιολογικής δραστηριότητας [105].

ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ ΕΚΠΟΜΠΗΣ ΠΟΖΙΤΡΟΝΙΩΝ

(POSITRON EMISSION TOMOGRAPHY - PET)

Η τομογραφία εκπομπής ποζιτρονίων είναι μία λειτουργική απεικονιστική μέθοδος η οποία επιτρέπει τη χαρτογράφηση της μεταβολικής δραστηριότητας των ιστών in vivo με τη χρήση ραδιοϊσοτόπων που εκπέμπουν ποζιτρόνια. Ο συνδυασμός PET και αξονικής τομογραφίας (CT) έδωσε τη δυνατότητα ακριβούς προσδιορισμού των περιοχών μη φυσιολογικής πρόσληψης σε συγκεκριμένες ανατομικές δομές. Βάσει της μεθόδου, χρησιμοποιούνται ραδιοϊσότοπα τα οποία εκπέμπουν ποζιτρόνια με μικρό χρόνο ημιζωής και παράγονται σε επιτόπιο κυκλικό επιταχυντή σωματιδίων - κύκλοτρο. Ως εκ τούτου, μόνο πρόσφατα έγινε ευρέως διαθέσιμη η τεχνολογία αυτή [105]. Η fluorodeoxyglucose F 18 (^{18}FDG) είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη ουσία, λόγω της διαθεσιμότητας και του επιθυμητού χρόνου ημίσειας ζωής των 110 λεπτών. Η πρόσληψή της αντανακλά το ποσό της γλυκόζης που καταναλώνεται

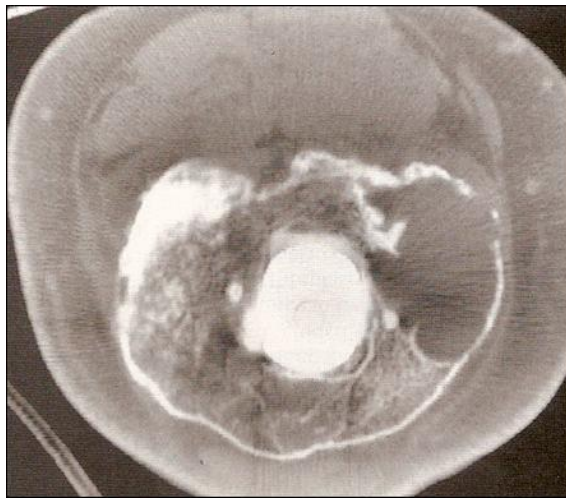
σε ένα ιστό και κατά συνέπεια αποτελεί δείκτη της ιστικής μεταβολικής δραστηριότητας. Όταν εισέλθει το ισότοπο εντός του κυττάρου, φωσφορυλιώνεται σε deoxyglucose-6-phosphate, η οποία πλέον παγιδεύεται στο ενδοκυττάριο περιβάλλον, χωρίς να μεταβολίζεται περαιτέρω για ικανό χρονικό διάστημα. Ενεργοποιημένα μακροφάγα και ουδετερόφιλα σε εστίες λοίμωξης ή φλεγμονής παρουσιάζουν αυξημένη πρόσληψη της ^{18}F FDG [106].

Έλεγχος με FDG PET έχει 95% ευαισθησία και 93% ειδικότητα όσον αφορά στη διάγνωση περιπρωθετικής λοίμωξης, με αρκετά χαμηλή ειδικότητα σε σχέση με τις περιπτώσεις σηπτικής αρθρίτιδας που δεν επιπλέκουν αρθροπλαστικές [84, 105]. Εκτός μίας μελέτης η οποία αναφέρει μεγαλύτερη ειδικότητα του συνδυασμένου σπινθηρογραφήματος με $^{99\text{m}}\text{Tc}$ - ^{111}In από την FDG PET, όλες οι υπόλοιπες καταδεικνύουν την ανωτερότητα της τελευταίας [103, 107]. Παρά ταύτα, η συχνότητα των ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων πρέπει να συνεκτιμάται, ειδικότερα σε φλεγμαίνοντες ιστούς από συσσώρευση σωματιδίων φθοράς περιπρωθετικά, όπου συρρέουν μακροφάγα. Αυξημένη λοιπόν πρόσληψη του ισότοπου από φλεγμονώδη κύτταρα στη διεπιφάνεια οστού-πρόθεσης, χωρίς ανάλογη πρόσληψη από τα περιβάλλοντα μαλακά μέρη αποτελεί ένδειξη λοίμωξης [84].

ΑΞΟΝΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ

Η αξονική τομογραφία (συμβατική ή ελικοειδής - spiral), δεν έχει σημαντική διαγνωστική αξία σε ό,τι αφορά στις ενδαρθρικές ή περιπρωθετικές λοιμώξεις. Η συμβολή της έγκειται στην επιβεβαίωση οστικής συμμετοχής και τη διαπίστωση πρώιμων οστικών διαβρώσεων [19, 98].

Πρόσφατη εξέλιξη της απεικονιστικής αυτής μεθόδου αποτελεί η MDCT (multidetector computed tomography), η οποία χρησιμοποιεί 16 ανιχνευτές αντί ενός. (Σύντομα θα είναι διαθέσιμοι τομογράφοι με 32-40 ανιχνευτές με ακόμη μεγαλύτερη αναλυτική ικανότητα.) Η MDCT προσφέρει υψηλής ποιότητας απεικόνιση λεπτομερειών των οστικών δομών και της άρθρωσης, ακόμη και παρουσία μεταλλικών υλικών [108].



ΜΑΓΝΗΤΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ

Η απεικόνιση της σηπτικής αρθρίτιδας με τη χρήση μαγνητικής τομογραφίας είναι μη ειδική. Παρόμοια ευρήματα είναι δυνατό να παρατηρηθούν σε φλεγμονώδεις αρθροπάθειες και νευροπαθητικές αρθρώσεις. Η μαγνητική τομογραφία συνεισφέρει κυρίως στη διάγνωση των επιπλοκών της ενδαρθρικής λοίμωξης, οστεομυελίτιδας, αποστημάτων και συριγγίων. Η διαφοροδιάγνωση της οστεομυελίτιδας από το μη ειδικό, αντιδραστικό οίδημα του μυελού των οστών μπορεί να είναι προβληματική στα αρχικά στάδια της νόσου, με αποτέλεσμα ψευδώς θετικά αποτελέσματα [109-111]. Η χρήση ενδοφλέβιων, παραμαγνητικών ουσιών, όπως το γαδολίνιο, οι οποίες ενισχύουν την αντίθεση των απεικονίσεων, επιτρέπει την ευχερέστερη διάκριση μεταξύ οστεομυελίτιδας

και οιδήματος του μυελού των οστών, αποστήματος και κυτταρίτιδας ή φλέγμονα των μαλακών μορίων **[98]**.

VI. Διαγνωστική αρθροσκόπηση

Η αρθροσκόπηση αποτελεί χρήσιμο εργαλείο, διαγνωστικό και θεραπευτικό για την αντιμετώπιση της σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος. Δείγματα ιστού είναι δυνατό να ληφθούν από πολλαπλά σημεία της άρθρωσης διά του αρθροσκοπίου, ενώ καλλιέργεια τεμαχίων του αρθρικού υμένα θεωρείται πιο ευαίσθητη από τις καλλιέργειες του αρθρικού υγρού, ιδιαίτερα σε ό,τι αφορά σε μικρόβια τα οποία χρήζουν ιδιαίτερων συνθηκών, προκειμένου να απομονωθούν [112].

Εκτός των άλλων, ποικίλλα αρθροσκοπικά ευρήματα είναι δυνατό να παρατηρηθούν διάρκεια βακτηριακής προσβολής της άρθρωσης. Ο Gächter το 1985 πρότεινε ένα σύστημα σταδιοποίησης της σηπτικής αρθρίτιδας βάσει των αρθροσκοπικών αυτών ευρημάτων:

Στάδιο I

- Ημιδιαφανές, κυτταροβριθές αρθρικό υγρό.
- Αρχόμενη υμενίτιδα, με υπεραιμία του υμένα και μικρές πετέχειες κατά τόπους [113].

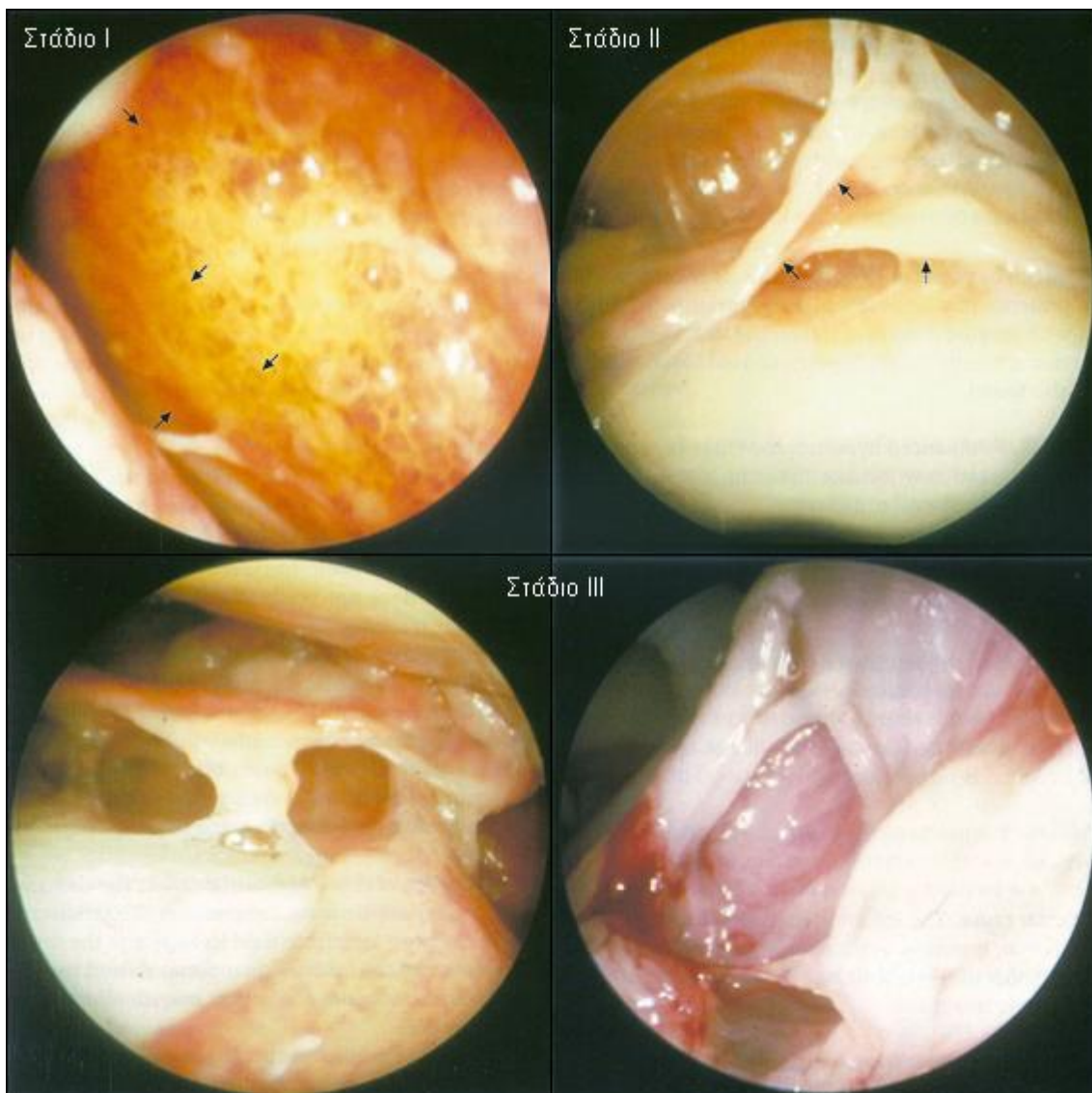
Η διαφορική διάγνωση του οξέως ερεθισμού της άρθρωσης από τα αρχικά στάδια μίας λοίμωξης κρίνεται ως ιδιαίτερως δυσχερής. Η βιοψία του αρθρικού υμένα είναι δυνατό να αναδείξει συρροή ουδετερόφιλων κοκκιοκυττάρων σε περίπτωση βακτηριακής προσβολής της άρθρωσης. Σημαντικά λιγότερα ουδετερόφιλα ανευρίσκονται σε μη ειδικό, μηχανικό ερεθισμό, ρευματοειδή αρθρίτιδα ή εκφυλιστικά νοσήματα με συνοδό υμενίτιδα, ακόμη και όταν η κυτταροβρίθεια του αρθρικού υγρού είναι αυξημένη [114].

Στάδιο II

- Πυογόνος φάση.

- Πυώδες ή θολερό αρθρικό υγρό.
- Εκσεσημασμένη υμενίτιδα, με υπερτροφία του υμένα, αιμορραγικές πετέχειες και εναπόθεση ινικής και θρόμβων αίματος.
- Απουσία μακροσκοπικών αλλοιώσεων του αρθρικού χόνδρου.
- Καμία ακτινολογική μεταβολή [113].

Η εύρεση πυώδους εξιδρώματος στο στάδιο αυτό επιβεβαιώνει την παρουσία ενδαρθρικής λοίμωξης [114].



Στάδιο III

- Λαχνοοζώδης υμενίτιδα. Σπογγιώδης μετασχηματισμός του υμένα με πάχυνση αυτού, νέκρωση κατά τόπους και συμφύσεις (εικόνα κηρήθρας).
- Σχηματισμός κοιλοτήτων και διαμερισματοποίηση της άρθρωσης εξαιτίας ινώδους ιστικής αντίδρασης.
- Αρχόμενη καταστροφή του αρθρικού χόνδρου.
- Κανένα ακτινολογικό εύρημα όσον αφορά στις οστικές δομές **[113]**.

Η εκσεσημασμένη υπερτροφία και πάχυνση του υμένα και οι πολλαπλές συμφύσεις δυσχεραίνουν την αρθροσκόπηση της άρθρωσης. Παρά ταύτα, επιβάλλεται ο εξονυχιστικός έλεγχος όλης της επιφάνειας του αρθρικού χόνδρου προκειμένου να διαπιστωθούν τυχούσες αλλοιώσεις αυτού και να εκτιμηθεί η έκτασή τους **[114]**.

Στάδιο IV

- Ανάπτυξη του υμένα κατά μήκος της επιφάνειας του αρθρικού χόνδρου, καθώς και στο όριο χόνδρου - υποχονδρίου οστού κατά την περιφέρεια αυτού και καταστροφή του χόνδρου (υμενική κακοήθεια).
- Ακτινολογικά ευρήματα οστικής συμμετοχής στη λοίμωξη, όπως διαβρώσεις και οστικές κύστες.
- Διεγχειρητικά, κατά τόπους αποφλοίωση του χόνδρου από το υποκείμενο οστόν **[113]**.

3.5. ΔΙΑΦΟΡΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ

Η διαγνωστική προσέγγιση ασθενούς με οξεία μονοαρθρίτιδα της άρθρωσης του γόνατος οπωσδήποτε περιλαμβάνει τη λήψη λεπτομερούς ιστορικού και την ενδελεχή κλινική εξέταση. Ωστόσο, στην πλειονότητα των περιπτώσεων δεν είναι αρκετά **[9, 17, 19]**. Παρά ταύτα, από το ιστορικό αντλούνται επιβοηθητικά για τη διαγνωστική διαδικασία στοιχεία, όπως:

- παράγοντες κινδύνου που αφορούν στον εν λόγω ασθενή (συστηματικοί, τοπικοί, σχετικοί με την ηλικία, κοινωνικοοικονομικοί –βλ. πίνακα 3.1),
- σημείο έναρξης των συμπτωμάτων (οξεία ή χρόνια αρθρίτιδα) **[79]**,
- ακριβής εντόπιση των συμπτωμάτων (ενδοαρθρικά ή εξωαρθρικά - περιαρθρικά),
- παρουσία συστηματικών ή εξωαρθρικών συμπτωμάτων που σχετίζονται με την αρθρίτιδα,
- μηχανικό ή φλεγμονώδες αίτιο,
- μονοαρθρική ή πολυαρθρική εντόπιση **[115]**.

Δυστυχώς, δεν υπάρχει κανένα ειδικό για τη σηπτική αρθρίτιδα, φυσικό εύρημα προκειμένου να τεθεί η τελική διάγνωση. Ο απεικονιστικός έλεγχος δε σπανίως είναι επιβοηθητικός **[9, 19, 79, 80]**. Η κατάσταση περιπλέκεται έτι περαιτέρω, καθώς λοιμώξεις από μικρόβια με μικρότερη λοιμογόνο δύναμη, όπως ο *S.epidermidis*, σε ξενιστές με διαταραγμένη ανοσία είναι δυνατό να εμφανίζουν άτυπη κλινική εικόνα με σημαντική καθυστέρηση. Ομοίως, σημεία και συμπτώματα σήψης της άρθρωσης υποκρύπτονται σε ασθενείς οι οποίοι έλαβαν προηγουμένως αντιβιοτική αγωγή για οιονδήποτε λόγο είτε και σε ατελώς θεραπευθείσες περιπτώσεις σηπτικής αρθρίτιδας **[116]**.

Μέχρι σήμερα, η διάγνωση της σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος εξαρτάται από την κλινική κρίση του ιατρού και συγκεκριμένες εργαστηριακές εξετάσεις:

- ορολογικές, όπως η ταχύτητα καθίζησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων (Τ.Κ.Ε.), ο ποσοτικός προσδιορισμός της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) και ο αριθμός των λευκών αιμοσφαιρίων (WBC) στη γενική κυτταρολογική εξέταση του αίματος
- ανάλυση του αρθρικού υγρού μετά παρακέντηση, καθώς και μετά διεγχειρητική λήψη
- ιστοπαθολογική εξέταση τεμαχίων ιστών που λαμβάνονται διεγχειρητικά.

Δεν υπάρχει μία μοναδική εξέταση με απόλυτη ακρίβεια σε ό,τι αφορά στην εν λόγω διάγνωση. Ως εκ τούτου η τελευταία βασίζεται σε συνδυασμό ευρημάτων, παρά στην παρουσία ή απουσία ενός συγκεκριμένου [80]. Η παρακέντηση της άρθρωσης και λήψη αρθρικού υγρού προς εξέταση αποτελεί πάγια πρακτική. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης του αρθρικού υγρού ερμηνεύονται βάσει της αδρής, μακροσκοπικής εμφάνισης, του χρώματος, του ιξώδους, της παρουσίας κρυστάλλων, του αριθμού των λευκοκυττάρων, του τύπου, της κατά Gram χρώσης και της καλλιέργειας (αερόβιας και αναερόβιας) [9, 19, 79, 80].

Η θετική καλλιέργεια του αρθρικού υγρού αποδεικνύει την παρουσία λοίμωξης εντός της αρθρώσεως. Η χρήση της όμως, ως χρυσού κανόνα ενέχει κινδύνους, αφού αναφέρεται ευαισθησία της μεθόδου η οποία κυμαίνεται μεταξύ 75% και 95%. Έτσι προτείνεται η υιοθέτηση επιπρόσθετων κριτηρίων, όπως η θετική κατά Gram χρώση, η θετική καλλιέργεια αίματος, η παρακέντηση μακροσκοπικώς εμφανούς πύου από την άρθρωση, παρά την αδυναμία

απομόνωσης κάποιου παθογόνου μικροοργανισμού ή ακόμη η θετική ανταπόκριση στη χορήγηση αντιβιοτικών ουσιών **[9]**.

Η διαφορική διάγνωση της οξείας φλεγμονώδους αρθρίτιδας κρίνεται λοιπόν ως ιδιαίτερα δυσχερής. Οι τρεις πιο πιθανές αιτίες είναι η λοίμωξη, η κρυσταλλογενής αρθρίτιδα και η έναρξη μίας δυνητικά χρόνιας, φλεγμονώδους αρθροπάθειας. Κάθε μία από τις διαταραχές αυτές είναι δυνατό να εκδηλωθεί με εκρηκτική εμφάνιση εντοπισμένης στην άρθρωση του γόνατος φλεγμονής. Η υπεροξεία όμως αντίδραση είναι τυπική της σηπτικής και της κρυσταλλογενούς αρθρίτιδας **[115]**.

Πίνακας 3.11**Περιορθρικά του γόνατος σύνδρομα [115]**

Θυλακίτιδα του χηνείου ποδός	Νεόπλασμα
Προεπιγονατιδική θυλακίτιδα	Οστεομυελίτιδα
Κάκωση μηνίσκου	
Συνδεσμική ρήξη ή χαλάρωση	
Κύστη Baker	

Πίνακας 3.12**Διαφορική διάγνωση οξείας μονοαρθρίτιδας [12, 115, 116]**

Συνήθως μονοαρθρική
Σηπτική αρθρίτιδα
Βακτηριακή
Μυκοβακτηριδιακή
Μυκητιασική
Νόσος του Lyme
Εξωαρθρική λοίμωξη
Νόσος εναπόθεσης κρυστάλλων
Ουρική
Ψεύδο-ουρική αρθρίτιδα
Εναπόθεση κρυστάλλων υδροξυαπατίτη
Ισχαιμική νέκρωση - Οστεονέκρωση
Αίμαρθρο
<i>Αιμοσφαιρινοπάθειες</i>
Δρεπανοκυττάρωση
<i>Διαταραχή πήκτικότητας</i>
Κουμαρινικά αντιπηκτικά
Αιμορροφιλία
Μηχανικά αίτια
Ενδοαρθρικό τραύμα (κάταγμα, ρήξη μηνίσκου, ρήξη χιαστών συνδέσμων)
Σύνδρομο υπέρχρησης
Κάταγμα εκ κοπώσεως
Περιοαρθριδικό σύνδρομο
Διαχωριστική οστεοχονδρίτιδα
Αρθροϊνωση
Ελεύθερα σώματα
Ολιγοαρθρική νεανική ρευματοειδής αρθρίτιδα
Αντιδραστική αρθρίτιδα
Σύνδρομο παλίνδρομου ρευματικής νόσου
Οικογενής Μεσογειακός πυρετός

Γιγαντοκυτταρική αρτηρίτιδα
Νόσος Behçet
Νευροπαθητική αρθροπάθεια (άρθρωση Charcot)
CRPS (Complex Regional Pain Syndrome - αντανακλαστική συμπαθητική δυστροφία)
Τοπική μεταναστευτική οστεοπόρωση
Νόσος Paget με αρθρική εντόπιση
Οστεομυελίτιδα
Οστεοσάρκωμα
Μεταστατικός όγκος
Συγγενής δυσπλασία του ισχίου
Μεταναστευτική υμενίτιδα του ισχίου
Υμενική οστεοχονδρομάτωση
Μελαγχρωστική λαχνοοζώδης υμενίτιδα
Υμενίτιδα από άκανθα φυτών
Υμενικό σάρκωμα
Υμενική μετάσταση
Διαλείπον ύδραρθρο
Νέκρωση παγκρεατικού λίπους
Νόσος Gaucher
Αμυλοείδωση (πολλαπλό μύελωμα)
Εν τω βάθει φλεβική θρόμβωση
Αντίδραση ξένου σώματος
Συνήθως πολυαρθρική (κοινά αίτια)
Οστεοαρθρίτιδα
Ρευματοειδής αρθρίτιδα
Ψωριασική αρθροπάθεια
Σύνδρομο Reiter (ιδιοπαθές ή στα πλαίσια HIV λοίμωξης)
Η πλειονότητα των περιπτώσεων νεανικής ρευματοειδούς αρθρίτιδας και η νεανική σπονδυλίτιδα
Οζώδες ερύθημα
Πορφύρα Henoch-Schönlein

Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος
Αδιαφοροποίητη νόσος του συνδετικού ιστού
Νόσος από εναπόθεση κρυστάλλων πυροφωσφορικού ασβεστίου
Άλλες κρυσταλλογενείς αρθροπάθειες
Χρόνια ενδοαρθρική αιμορραγία
Ορονοσία
Οξεία ηπατίτιδα Β
Ερυθρά
Παρβοϊοί
Νόσος του Lyme
Αρθροπάθεια σχετική με χρόνια αιμοκάθαρση
Συνήθως πολυαρθρική (σπάνια αίτια)
Νόσος του Still
<i>Εντεροπαθητική νόσος</i> Ελκώδης κολίτιδα Τοπική εντερίτιδα (νόσος Crohn) Αρθρίτιδα σχετική με παράκαμψη του γαστρεντερικού συστήματος Νόσος Whipple
Ρευματικός πυρετός
Υπερλιπιδαιμία τύπου II και IV
Υποτροπιάζουσα πολυχονδρίτιδα
Γαγγραινώδες πυόδερμα
Πνευμονική υπερτροφική οστεοαρθροπάθεια
Σύνδρομα ομοιάζοντα της χονδρασβέστωσης Ρευματική πολυμυαλγία λόγω ωχρονοσίας Αιμοχρωμάτωση
Νόσος Wilson
Χρόνια σαρκοείδωση
Παρανεοπλασματικά σύνδρομα

3.5.1. ΡΕΥΜΑΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

Η ρευματικής αιτιολογίας αρθρίτιδα χαρακτηρίζεται από χρόνια υπερτροφική υμενίτιδα, με εκσεσημασμένη υπερπλασία - πάχυνση του επιθηλίου, διήθηση φλεγμονωδών κυττάρων και νεοαγγείωση του υμενικού στρώματος [117]. Η χρόνια ιστική φλεγμονή η οποία παρατηρείται σε ρευματικά νοσήματα είναι αποτέλεσμα δράσης κυτοκινών που ενεργοποιούνται σε αντιδράσεις της έμφυτης και επίκτητης ανοσίας. Ο καταρράκτης της φλεγμονής λοιπόν ενεργοποιείται κατά τον ίδιο τρόπο είτε σε σηπτική είτε σε άσηπτη αρθρίτιδα του γόνατος. Ωστόσο, η χρονιότητα της φλεγμονής συντηρείται από τη συνεχή παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών, αν και πιο ήπιας σε σχέση με εκείνη παρουσία κάποιου λοιμογόνου παράγοντα [118].

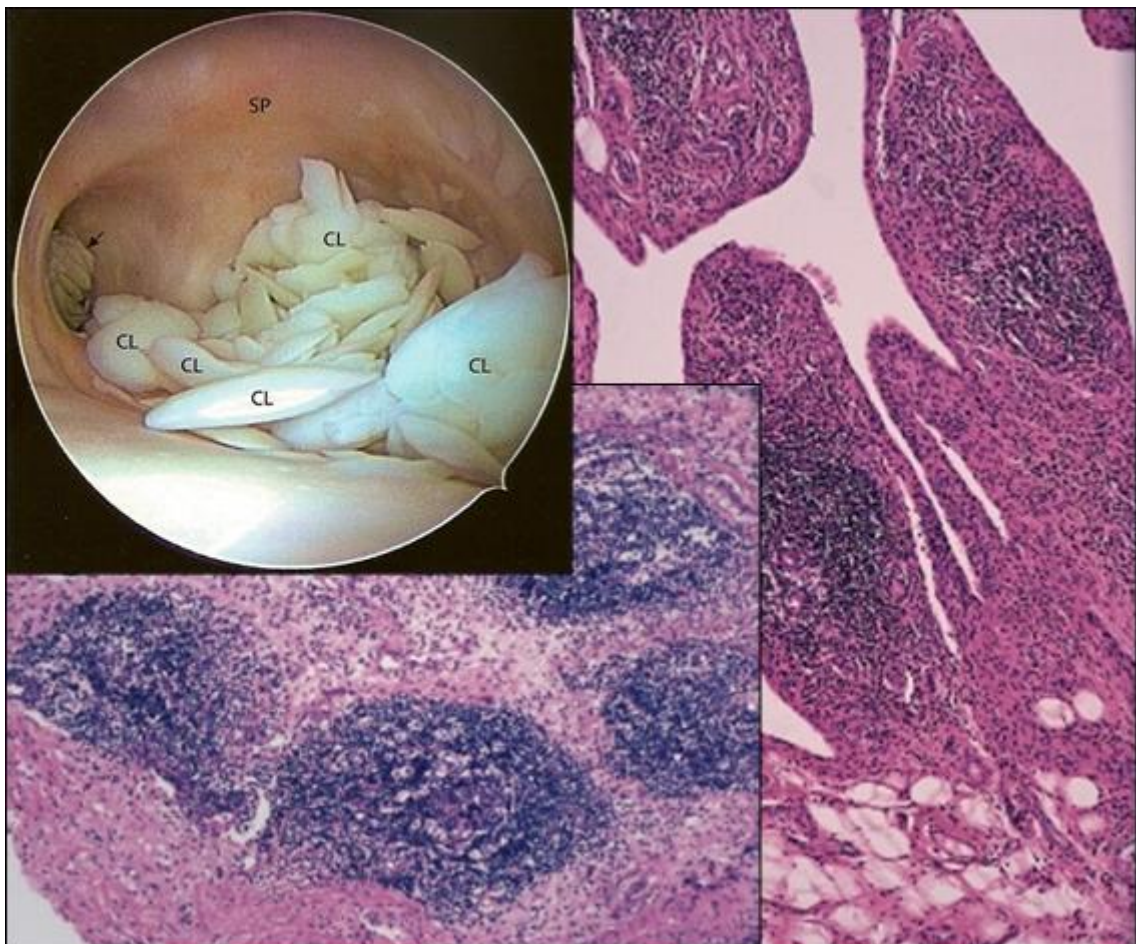
Η έναρξη μίας δυνητικά χρόνιας, φλεγμονώδους αρθροπάθειας με εντόπιση την άρθρωση του γόνατος προσομοιάζει στη σηπτική προσβολή αυτής:

- Παρά το γεγονός ότι η **νεανική ρευματοειδής αρθρίτιδα** στην πλειονότητα των περιπτώσεων εμφανίζεται ως μονοαρθρική νόσος, σταδιακά προσβάλλει κι άλλες αρθρώσεις. 25% των ασθενών όμως, πάσχουν από μεμονωμένη μονοαρθρίτιδα η οποία υποτροπιάζει περιοδικά κατά την ενήλικη ζωή.
- Η **ρευματοειδής αρθρίτιδα** είναι δυνατό να παρουσιαστεί ως οξεία ή υποξεία μονοαρθρίτιδα. Ένα πιο λεπτομερές ιστορικό συνήθως αποκαλύπτει σταδιακή έναρξη συμπτωμάτων, όπως καχεξίας ή αρθραλγίας, ενώ η φυσική εξέταση αναδεικνύει προσβολή κι άλλων αρθρώσεων.

- Οι **οροαρνητικές σπονδυλοαρθροπάθειες** προσβάλλουν τυπικά μεγάλες αρθρώσεις των κάτω άκρων και ιδιαίτερα τις αρθρώσεις του γόνατος. Συνοδεύονται συνήθως από δυσκαμψία και άλγος του αξονικού σκελετού [89]. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει την **αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα**, την **ψωριασική αρθροπάθεια**, το **σύνδρομο Reiter** (αρθρίτιδα, ουρηθρίτιδα, επιπεφυκίτιδα), την **αντιδραστική αρθρίτιδα** (μετά προσβολή του ουροποιογεννητικού συστήματος από *Chlamydia trachomatis* ή του γαστρεντερικού από *Salmonella*, *Yersinia* ή *Campylobacter*) και την **εντεροπαθητική αρθροπάθεια** [119].
- Στα πλαίσια εντεροπαθητικής αρθροπάθειας, η **νόσος του Whipple**, αν και σπάνια, μπορεί να εμφανιστεί ως μονοαρθρίτιδα, προτού εκδηλωθούν συμπτώματα εντερικής συμμετοχής. Η **τοπική εντερίτιδα (νόσος του Crohn)** και η **ελκώδης κολίτιδα** είναι πιο πιθανό να είναι συμπτωματικές, όταν αναπτυχθεί αρθρίτιδα. Τέλος, η **κοιλιοκάκη** σχετίζεται με ρευματικά νοσήματα, συμπεριλαμβανομένης της ρευματοειδούς αρθρίτιδας και του λύκου, με προσβολή μεγάλων αρθρώσεων.
- Ο **συστηματικός ερυθματώδης λύκος** σπανίως παρουσιάζεται ως προσβολή μίας μοναδικής άρθρωσης, με την πολυαρθρική προσβολή μικρών αρθρώσεων να είναι περισσότερο συνήθης.
- Θεωρητικά, αρκετά άλλα συστηματικά νοσήματα είναι δυνατό να προσβάλουν την άρθρωση του γόνατος, χωρίς όμως να δημιουργείται ιδιαίτερο διαγνωστικό πρόβλημα.

Κοινό χαρακτηριστικό γνώρισμα όλων των ρευματικών προσβολών είναι η δυσκαμψία της άρθρωσης, προεξάρχουσα ιδίως τις πρωινές ώρες, καθώς και μετά περίοδο αδράνειας [115].

Ο αρθρικός υμένας είναι ο κύριος ιστός-στόχος [118]. Σε οξεία έναρξη ρευματικής νόσου, η πρώιμη ιστοπαθολογική βλάβη είναι η υμενίτιδα. Ο υμένας είναι εξοιδημένος και λαχνωτός. Υπάρχει αθρόα διήθηση και αύξηση του αριθμού ιδίως, χρόνιων φλεγμονωδών κυττάρων του υμενικού στρώματος [119]. Ο υπερπλαστικός ρευματικός υμένας λοιπόν περιέχει λεμφοκύτταρα, πλασματοκύτταρα, δενδριτικά κύτταρα και μονοκύτταρα και μακροφάγα. Ουδετερόφιλα σπανίως ανιχνεύονται [118]. Συχνά, παρατηρείται εξίδρωμα το υγρό του οποίου διαχέεται στην αρθρική κοιλότητα, ενώ η ινική αποτίθεται στην επιφάνεια του υμένα, καθώς και τις αρθρικές (κόκκοι ρυζιού) [118, 119]. Ακόμη, είναι δυνατό να υπάρχει έντονη εξοίδηση των μαλακών μορίων που περιβάλλουν την άρθρωση, εξαιτίας της φλεγμονώδους αυτής διεργασίας.



Με την πάροδο του χρόνου, επέρχεται καταστροφή του αρθρικού χόνδρου, καθώς από τα όρια της άρθρωσης αναπτύσσεται αγγειοβριθής, κοκκιώδης ιστός ο οποίος επεκτείνεται προς την επιφάνεια του χόνδρου και προκαλεί χονδρόλυση. Εν τέλει, ο χόνδρος καταστρέφεται τελείως και αντικαθίσταται από ινώδη ιστό. Το υποκείμενο οστόν παρουσιάζει οστεολυτικές διαβρώσεις και ο αρθρικός υμένας έντονη πάχυνση και χρόνια φλεγμονή. Η απώλεια της επαλληλίας των αρθρικών επιφανειών εξαιτίας της αποφλοίωσης του χόνδρου οδηγεί σε δευτερογενείς οστεοαρθριδικές αλλοιώσεις, ιδίως σε βεβαρυμένες αρθρώσεις όπως του γόνατος [119].

3.5.2. ΚΡΥΣΤΑΛΛΟΓΕΝΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

Η αρθροπάθεια από εναπόθεση κρυστάλλων συνήθως εκδηλώνεται ως οξεία μονοαρθρίτιδα. Η διάγνωση αυτής είναι πιθανή όταν υπάρχει ιστορικό υποτροπών, ενώ οι φλεγμονώδεις προσβολές είναι αυτοπεριοριζόμενες και αφορούν στην ίδια άρθρωση [115]. Η πιο κεραυνοβόλος μορφή, η ουρική αρθρίτιδα διαγιγνώσκεται με σχετική ευχέρεια και αξιοπιστία. Κρύσταλλοι ουρικού μονονατρίου μπορεί να αναγνωριστούν στο αρθρικό υγρό του 95% των περιπτώσεων με οξέως αναπτυσσόμενο οίδημα της άρθρωσης και σε ορισμένες ασυμπτωματικές αρθρώσεις [120]. Σε αντιδιαστολή με τα ανωτέρω, κρύσταλλοι πυροφωσφορικού ασβεστίου συχνά δεν ανιχνεύονται κατά την αρχική προσπέλαση ασθενών στους οποίους αργότερα τίθεται η διάγνωση της ψεύδο-ουρικής αρθρίτιδας [121]. Οι κρύσταλλοι υδροξυαπατίτη αναγνωρίζονται μόνο με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου ή ερυθράς χρώσης αλιζαρίνης (alizerin red), γεγονός το οποίο καθιστά την ανίχνευσή τους ιδιαίτερα προβληματική, αν και χωρίς συνέπειες στη διαγνωστική προσέγγιση ενός ασθενούς με οξεία μονοαρθρίτιδα, μιας και τα συμπτώματα είναι ιδιαίτερα αβληχρά. Σπανίως, σε ασθενείς με νεφρική ανεπάρκεια και οξεία μονοαρθρίτιδα ανευρίσκονται κρύσταλλοι οξαλικού ασβεστίου μετά μικροσκοπική εξέταση του αρθρικού υγρού [115]. Η αναγνώριση κρυστάλλων δεν αποδεικνύει απουσία συνυπάρχουσας λοίμωξης [88].

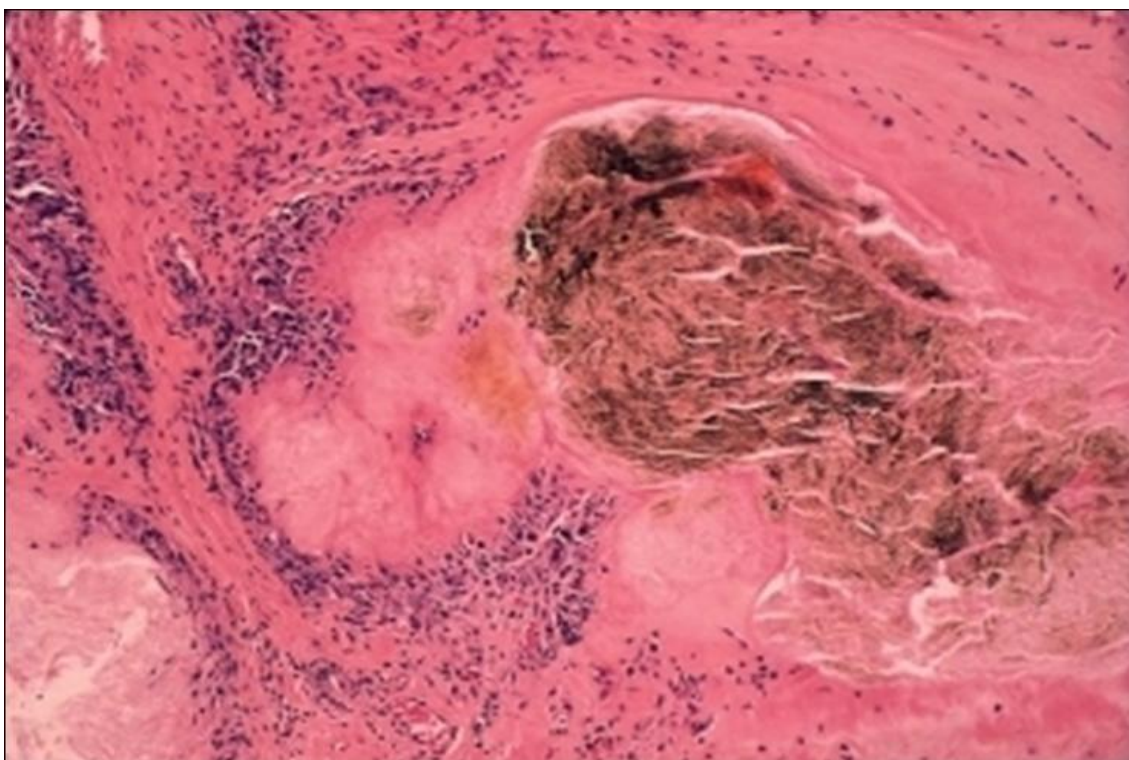
Η εναπόθεση κρυστάλλων στην αρθρική κοιλότητα και τα περιβάλλοντα μαλακά μόρια προκαλεί φλεγμονώδη αντίδραση, εξαιτίας χημικού ερεθισμού. Η αντίδραση αυτή έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη χρόνιας αρθρίτιδας με χαρακτηριστικά οστεοαρθρίτιδας (δευτεροπαθής οστεοαρθρίτιδα) [119].

I. Ουρική αρθρίτιδα

Η διάγνωση της ουρικής αρθρίτιδας τίθεται με βεβαιότητα όταν ανιχνευθούν ενδοκυτταρίως, ισχυρής διπλοδιαθλαστικότητας, βελονοειδείς κρύσταλλοι (ουρικού μονονατρίου) σε αρθρικό υγρό (positive LR, 567; 95% CI, 35.5-9053) ή πιστοποιηθεί η ύπαρξή τους σε τόφους (positive LR, 40.0; 95% CI, 21.1-75.8) **[88, 115]**. Σε περίπτωση που οι κρύσταλλοι είναι εξωκυτταριοί, η διάγνωση είναι απλά πιθανή. Το πλέον χαρακτηριστικό κλινικό εύρημα αποτελεί η εξαιρετικά οξεία έναρξη έντονου άλγους και φλεγμονής, με επέκταση της φλεγμονώδους εξεργασίας στους περιβάλλοντες ιστούς και εμφάνιση κυτταρίτιδας. Απολέπιση του υπερκείμενου δέρματος είναι δυνατό να παρατηρηθεί κατά την αποδρομή της προσβολής. Η ποδάγρα είναι χαρακτηριστική, αλλά όχι παθογνωμονική για τη νόσο **[115]**. Τέλος, παρά το γεγονός ότι η παρουσία υπερουριχαιμίας συνιστά σημαντικό διαγνωστικό κριτήριο, δεν επιβεβαιώνει ούτε αποκλείει την πιθανότητα ουρικής αρθρίτιδας (positive LR, 9.7; 95% CI, 7.5-12.7): αρκετοί ασθενείς με υπερουριχαιμία δεν πάσχουν από ουρική αρθρίτιδα και αντίστροφα, διάρκεια οξείας κρίσης, τα επίπεδα ουρικού οξέως στον ορό του αίματος μπορεί να είναι φυσιολογικά **[88, 118]**.

Η εναπόθεση κρυστάλλων ουρικού οξέως στην αρθρική κοιλότητα, τον υμένα και τα περιαρθρικά μαλακά μόρια προκαλεί την έκλυση κυττοκινών - μεσολαβητών της φλεγμονής. Ουδετερόφιλα και μακροφάγα φαγοκυτταρώνουν τους κρυστάλλους. Στο εσωτερικό της άρθρωσης οι κρύσταλλοι αποτίθενται στην επιφάνεια του αρθρικού χόνδρου ως επίθεμα λευκού κονιορτού, υπό το οποίο ο χόνδρος σταδιακά αλλοιώνεται **[119]**. Μετά πολλαπλές υποτροπές και τη συνεχιζόμενη εναπόθεση κρυστάλλων, τόφοι, κοκκιωματώδη συσσωματώματα κρυστάλλων, σωρεύονται στον αρθρικό ιστό, προκαλώντας

ακτινοδιαυγαστικές διαβρώσεις του υποχονδρίου οστού στα όρια της άρθρωσης. Παρά τη σημαντική οστική απορρόφηση, η ανατομία αυτής διατηρείται ακόμη και σε τελικά στάδια της νόσου [118]. Μάζες από άμορφο – λευκωπό ή γκρίζο– ίζημα, ομοιάζον με κιμωλία, ημίρρευστης σύστασης και περιστοιχιζόμενες από μονοκύτταρα και γιγαντοκύτταρα, σχηματίζονται σε θέσεις του αρθρικού υμένα και των περιαρθρικών ιστών [118, 119]. Με την πάροδο του χρόνου, ο αρθρικός υμένας παχύνεται, ο χόνδρος καταστρέφεται και καθίστανται εμφανείς δευτεροπαθείς αλλοιώσεις οστεοαρθρίτιδας [119]. Εξ ου και η συσχέτιση της ουρικής αρθρίτιδας με άλλες αρθροπάθειες από εναπόθεση κρυστάλλων, κυρίως πυροφωσφορικού ασβεστίου και υδροξυαπατίτη [118]. Μία παρατήρηση η οποία αξίζει να σημειωθεί αφορά στην συσχέτιση της νόσου με μείζονες επεμβάσεις, με την αρθροπλαστική του γόνατος μεταξύ άλλων και την οστεονέκρωση, με μηχανισμό μη κατανοητό για την ώρα (διαφορική διάγνωση περιπροθετικής λοίμωξης) [122].



Πίνακας 3.13**Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση ουρικής αρθρίτιδας [18, 88]**

	Σχετικός κίνδυνος
Οικογενειακό ιστορικό	
Δημογραφικοί λόγοι	
Άρρεν φύλο	7,6 (7,5 - 7,8)
Συμπαρομαρτούντα νοσήματα	
Σακχαρώδης διαβήτης	1,1 (1,1 - 1,2)
Υπέρταση	3,9 (1,6 - 9,7)
Παχυσαρκία	3,8 (1,2 - 11,8)
Καρδιοαγγειακή νόσος	1,8 (1,7 - 1,8)
Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια	5, 0 (4,3 - 5,7)
Δίαιτα & φαρμακευτική αγωγή	
Διουρητικά	1,7 (1,7 - 1,8)
<i>Δίαιτα πλούσια σε πουρίνες</i>	
Κρέας	1,4 (1,1 - 1,9)
Θαλασσινά	1,5 (1,2 - 2,0)
Αλκοόλ (ανά 10 gr ημερήσιας κατανάλωσης)	1,2 (1,1 - 1,2)

Πίνακας 3.14**Διαγνωστικά κριτήρια της Αμερικανικής Ρευματολογικής Εταιρείας για την οξεία πρωτοπαθή ουρική αρθρίτιδα [123]**

Η παρουσία 7 ή περισσότερων από τα κατωτέρω κριτήρια απαιτείται για τη διάγνωση της οξείας ουρικής αρθρίτιδας:
Περισσότερες της μίας προσβολές οξείας αρθρίτιδας.
Το μέγιστο της φλεγμονώδους αντίδρασης αναπτύσσεται εντός μίας ημέρας.
Προσβολή μίας μοναδικής άρθρωσης.
Ερυθρότητα της περιοχής της άρθρωσης.
Επώδυνη και οίδηματώδης 1 ^η μεταταρσοφαλαγγική άρθρωση.
Μονόπλευρη προσβολή της 1 ^{ης} μεταταρσοφαλαγγικής άρθρωσης.
Μονόπλευρη προσβολή της άρθρωσης του τάρσους.
Υποψία ή ύπαρξη τόφων.
Υπερουριχαιμία.
Ακτινολογικά ασύμμετρο οίδημα μίας άρθρωσης.
Υποχόνδριες κύστες, χωρίς διαβρώσεις σε ακτινογραφικό έλεγχο.
Εύρεση μικροκρυστάλλων ουρικού μονοϋδρικού μονονατρίου σε αρθρικό υγρό διάρκεια προσβολής μίας άρθρωσης.
Αρνητική καλλιέργεια αρθρικού υγρού διάρκεια προσβολής μίας άρθρωσης.

II. Ψεύδο-ουρική αρθρίτιδα

Κρύσταλλοι διϋδρικού πυροφωσφορικού ασβεστίου (calcium pyrophosphate dihydrate - CPPD) είναι δυνατό να σωρευθούν στον αρθρικό χόνδρο και τους μηνίσκους κατά κύριο λόγο, αλλά και τον υμενικό ιστό, σε συνδέσμους και τένοντες της διάρθρωσης του γόνατος [124]. Η χονδρασβέστωση μπορεί να είναι τελείως ασυμπτωματική, αν και ήπια, τοπική φλεγμονώδης αντίδραση στα σημεία συσσώρευσης των κρυστάλλων παρατηρείται συχνά [118, 119].

Η εναπόθεση κρυστάλλων CPPD σχετίζεται με την εκδήλωση οξείας ή χρόνιας φλεγμονώδους αρθρίτιδας σε ένα ήδη οστεοαρθριτικό υπόστρωμα. Η διάγνωση της ψεύδο-ουρικής αρθρίτιδας τίθεται με την ανεύρεση ασθενώς θετικής διπλοδιαθλαστικότητας, ρομβοειδούς σχήματος κρυστάλλων στο εσωτερικό λευκοκυττάρων του αρθρικού υγρού. Αυτό επιτυγχάνεται μόνο στο 50% των παρακεντήσεων ασθενών που πάσχουν από μονοαρθρίτιδα λόγω εναπόθεσης κρυστάλλων CPPD. Ωστόσο, η παρουσία τους δεν αποκλείει τη λοίμωξη. Η χαρακτηριστική λοιπόν περιγραφή πάσχοντος από ψεύδο-ουρική αρθρίτιδα είναι ένα ηλικιωμένο άτομο, με οξεία μονοαρθρίτιδα του γόνατος και χονδρασβέστωση στον ακτινολογικό έλεγχο, χωρίς κάποιο προφανή λόγο υποψίας λοίμωξης [115].

3.5.3. ΟΣΤΕΟΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

Η οστεοαρθρίτιδα εκδηλώνεται συχνά ως μονοαρθρίτιδα, ίδια του γόνατος. Ηλικιωμένα άτομα, πάσχοντα από οστεοαρθρίτιδα, είναι δυνατό να εμφανίζουν φλεγμονώδες αρθρικό υγρό (1000-2000 WBC/mm³) το οποίο περιέχει κρυστάλλους πυροφωσφορικού ασβεστίου [115]. Ο αρθρικός υμένας, τουλάχιστον στα αρχικά στάδια, δεν φαίνεται να συμμετέχει στην παθολογία. Οι κύριες βλάβες αφορούν στον αρθρικό χόνδρο (διάβρωση και σταδιακή αποφλοίωση) και το υποχόνδριο οστού (σχηματισμός υποχόνδριων κύστεων και σκλήρυνση, με εναπόθεση νέας οστέινης ουσίας - οστεοφύτων στην περιφέρεια της άρθρωσης) [118]. Σε μικροσκοπικό επίπεδο, παρατηρείται μείωση της περιεκτικότητας της βασικής πρωτεογλυκάνης, της aggrecan, μεταβολή του μεγέθους και της δομής των κολλαγόνων ινιδίων και αύξηση της σύνθεσης και αποικοδόμησης μορίων της θεμέλιας ουσίας [125]. Παρά το ότι ο υμένας μπορεί να είναι υπερπλαστικός, η υπερπλασία είναι ελάχιστη και μη ειδική. Υμενίτιδα, εάν υπάρχει, είναι περιορισμένης έκτασης σε θέσεις πλησίον του αρθρικού χόνδρου.

Παραλλαγή της εκφυλιστικής αρθροπάθειας αποτελεί μία φλεγμονώδης μορφή αυτής, η οποία χαρακτηρίζεται από λεμφοκυτταρική διήθηση και υπερπλασία του υμένα και ταχεία εκφύλιση - καταστροφή της άρθρωσης με εκτεταμένη απόθεση χόνδρινων και οστέινων συγκριμάτων [118].

Πίνακας 3.15**Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση οστεοαρθρίτιδας του γόνατος****[126]**

Ηλικία
Θήλυ φύλο
Φυσική δραστηριότητα
Δείκτης μάζας σώματος
Οστική πυκνότητα
Προηγούμενος τραυματισμός
Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης
Βιταμίνη D
Κάπνισμα (προστατευτικός ρόλος)
Διαταραχές του μηροκνημιαίου άξονα - ραιβότητα
Μυική ισχύς του τετρακεφάλου
Έντονη αθλητική δραστηριότητα

Πίνακας 3.16**Αίτια δευτεροπαθούς οστεοαρθρίτιδας [126]**

Μεταβολικά
Κρυσταλλογενής αρθρίτιδα (ουρική, ψεύδο-ουρική, αρθροπάθεια από εναπόθεση κρυστάλλων πυροφωσφορικού ασβεστίου)
Ακρομεγαλία
Ωχρονοσία
Αιμοχρωμάτωση
Νόσος Wilson
Ανατομικά
Επιφυσιολίσθηση
Επιφυσιακή δυσπλασία
Νόσος Blount
Νόσος Legg-Calvè-Perthes
Συγγενές εξάρθημα ισχίου
Ανισοσκελία
Σύνδρομα υπερκινητικότητας των αρθρώσεων
Τραυματικά
Μείζων αρθρικός τραυματισμός
Ενδοαρθρικό κάταγμα ή οστεονέκρωση
Χειρουργική επέμβαση (π.χ. μηνισκεκτομή)
Χρόνιος τραυματισμός (επαγγελματική αρθροπάθεια)
Φλεγμονώδη
Σηπτική αρθρίτιδα
Οποιαδήποτε φλεγμονώδης αρθροπάθεια

3.6. ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Μέχρι τώρα δεν υπάρχει κάποιο καθολικά αποδεκτό σύστημα ταξινόμησης των αρθρικών λοιμώξεων. Μία τροποποίηση της κατάταξης των Cierny-Mader το οποίο αφορά στην οστεομυελίτιδα, προτείνεται για την αξιολόγηση παραγόντων κινδύνου και λοιπών πτυχών της λοίμωξης και την ορθολογικότερη αντιμετώπιση αυτής. Το εν λόγω τροποποιημένο σύστημα, κατατάσσει τις λοιμώξεις με βάση τρεις παράγοντες:

- τη θέση και έκταση της ιστικής συμμετοχής (ανατομικός τύπος)
- την κατάσταση –τοπική και συστηματική– του ασθενούς (κατάσταση ξενιστή)
- τη διάρκεια των συμπτωμάτων και τη λοιμογόνο δύναμη του μικροοργανισμού (κλινικό περιβάλλον).

Λοίμωξη ανατομικού τύπου I, με περιαρθρική προσβολή των μαλακών μορίων, χωρίς σηπτική αρθρίτιδα, είναι δυνατή σε μετεγχειρητικές εν τω βάθει λοιμώξεις. Κατά τον τύπο II, η πυώδης συλλογή περιορίζεται εντός της αρθρικής κοιλότητας. Κατά τον τύπο III, παρατηρείται ταυτόχρονη προσβολή της άρθρωσης και των περιαρθρικών μαλακών μορίων, όπως σε μετεγχειρητικές εν τω βάθει λοιμώξεις και σηπτικές ορογονίτιδες. Δεν υπάρχει οστική συμμετοχή στον τύπο III. Οστεομυελίτιδα κατά συνέχεια ιστού από παρακείμενη εστία σηπτικής αρθρίτιδας κατατάσσεται ως τύπος IV.

Ασθενής του οποίου η γενική κατάσταση βαθμολογείται ως κατάσταση ξενιστή τάξης A, είναι μεταβολικά και ανοσολογικά φυσιολογικός. Ο ασθενής τάξης B εμφανίζει χαρακτηριστικά, τοπικά (B_L) ή συστηματικά (B_S), τα οποία ευνοούν τις λοιμώξεις. Τοπικοί ευνοϊκοί παράγοντες είναι η παραμονή μη

απορροφήσιμων ραμμάτων ή άλλων υλικών, η ακτινοβολία, η ουλοποίηση από πολλαπλές επεμβάσεις, το λεμφοίδημα, ενώ συστηματικοί, η προχωρημένη ηλικία, μία χρόνια νόσος ή οποιαδήποτε κατάσταση προκαλεί ανοσοκαταστολή. Σε ασθενή τάξης C, οι κίνδυνοι οι οποίοι απορρέουν από την επιθετική αντιμετώπιση μίας σηπτικής κατάστασης υπερτερούν των αρνητικών συνεπειών αυτής.

Οι δύο παράγοντες που καθορίζουν το κλινικό περιβάλλον είναι η διάρκεια των συμπτωμάτων και η επιθετικότητα του μικροοργανισμού. Στην ομάδα 1, η εμφάνιση των συμπτωμάτων χρονολογείται από μικρότερο των 5 ημερών διάστημα, ενώ η άρθρωση προσβάλλεται από μικρόβιο με σχετικά μικρή λοιμογόνο δύναμη. Στην ομάδα 2, είτε απομονώνεται υψηλής λοιμογόνου ισχύος μικροοργανισμός είτε η διάρκεια των συμπτωμάτων ξεπερνά τις 5 ημέρες [127]. Η διάρκεια των 5 ημερών προτείνεται ως ορόσημο, καθώς μελέτες έδειξαν ότι η εμμονή μίας σηπτικής κατάστασης σε μία άρθρωση πέραν του διαστήματος αυτού, προκαλεί μη αντιστρεπτές βλάβες [62]. Άλλωστε, λιγότερο επιθετικοί μικροοργανισμοί προκαλούν μικρότερη βλάβη του αρθρικού χόνδρου. Μία πειραματική μελέτη σε ζώα έδειξε ότι ο *S.epidermidis* προκαλεί ελάχιστη ή καμία βλάβη του χόνδρου, εκτός εάν ο ξενιστής είναι ανοσοκατεσταλμένος [128]. Οι μεγάλης λοιμογόνου δύναμης μικροοργανισμοί ποικίλλουν ανά νοσηλευτικό ίδρυμα και γεωγραφική περιοχή, περιλαμβάνοντας συνήθως τον ανθεκτικό στη μεθικιλίνη *S.aureus* (MRSA), αρνητικούς κατά Gram βακίλους, ανθεκτικούς στη βανκομυκίνη εντερόκοκκους (VRE) και κλωστηρίδια [112, 127].

Μία άλλη κατάταξη αφορά στις μετεγχειρητικές λοιμώξεις και χαρακτηρίζει ως:

- οξεία, εκείνη κατά την οποία η εμφάνιση των συμπτωμάτων δεν απέχει χρονικά περισσότερο από 2 εβδομάδες από το γενεσιουργό αίτιο,
- υποξεία, εκείνη κατά την οποία η εμφάνιση των συμπτωμάτων απέχει περισσότερο από 2 εβδομάδες και έως 2 μήνες από το γενεσιουργό αίτιο και τέλος,
- καθυστερημένη, εκείνη κατά την οποία η εμφάνιση των συμπτωμάτων απέχει περισσότερο από 2 μήνες από το γενεσιουργό αίτιο.

Η κατάσταση αυτή συχνά χρησιμοποιείται για να περιγράψει εκτός των μετεγχειρητικών, μετατραυματικές και ιατρογενείς ενδοαρθρικές λοιμώξεις. Σε αρκετές περιπτώσεις υποξείας ή καθυστερημένης σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος είναι πιθανή η εξάπλωση της λοίμωξης από μία εξωαρθρική θέση [116].

Πίνακας 3.17**Κατάταξη σηπτικής αρθρίτιδας [127]**

Ανατομικός τύπος	Περιγραφή
I	Λοίμωξη περιαρθρικών μαλακών μορίων, χωρίς σηπτική αρθρίτιδα.
II	Μεμονωμένη σηπτική αρθρίτιδα.
III	Σηπτική αρθρίτιδα με επέκταση της λοίμωξης σε περιαρθρικά μαλακά μόρια, χωρίς οστεομυελίτιδα.
IV	Σηπτική αρθρίτιδα με οστεομυελίτιδα κατά συνέχεια ιστού.
Κατάσταση ξενιστή	
A	Φυσιολογική ανοσολογική κατάσταση.
B	Διαταραχή της ανοσίας.
B_L	Διαταραχή της ανοσίας σε τοπικό επίπεδο.
B_s	Συστηματική ανοσολογική διαταραχή.
C	Επιθετική αντιμετώπιση της λοίμωξης συνιστά αδικαιολόγητη πράξη.
Κλινικό περιβάλλον	
1	Διάρκεια συμπτωμάτων μικρότερη των 5 ημερών· οργανισμός χαμηλής λοιμογόνου ισχύος.
2	Διάρκεια συμπτωμάτων 5 ημερών ή μεγαλύτερης· οργανισμός υψηλής λοιμογόνου ισχύος.

3.7. ANTIMETΩΠΙΣΗ

Η αντιμετώπιση της σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος ξεκινά αμέσως μετά την ολοκλήρωση της κλινικής εκτίμησης και αφού έχουν ληφθεί οι απαραίτητες καλλιέργειες. Καθυστέρηση αυτής επιτρέπει εδραίωση της λοίμωξης στον ενδοαρθρικό χώρο και την επακόλουθη πρόκληση μόνιμων βλαβών του αρθρικού χόνδρου. Χωρίς θεραπεία, είναι δυνατή η εξάπλωση του λοιμογόνου αιτίου σε περιαρθρικούς ιστούς (τοπική) αλλά και άλλες περιοχές του σώματος, αιματογενώς (συστηματική), με αποτέλεσμα να δυσχεραίνεται ο έλεγχος της βακτηριακής προσβολής **[19]**.

Οι αρχές αντιμετώπισης μίας ενδοαρθρικής λοίμωξης είναι κοινές με εκείνες της αντιμετώπισης λοίμωξης μίας οποιασδήποτε κοιλότητας του σώματος, κατά τις οποίες κατάλληλη αντιβιοτική αγωγή (ει δυνατόν ειδική για το συγκεκριμένο παθογόνο-αιτιολογικό παράγοντα) συνδυάζεται με επαρκή παροχέτευση του μολυσμένου κλειστού διαμερίσματος **[14, 19, 104]**. Στόχος είναι η εκρίζωση του μικροβιακού παράγοντα και η διατήρηση της λειτουργικότητας της άρθρωσης. Παρά την πρόοδο που έχει σημειωθεί σε ό,τι αφορά στις ορθοπαιδικές λοιμώξεις, δεν υπάρχει ομοφωνία ως προς τον τρόπο αντιμετώπισης της σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος **[116]**.

Πίνακας 3.18**Αρνητικοί προγνωστικοί παράγοντες σηπτικής αρθρίτιδας [19]**

Ηλικία μεγαλύτερη των 65 ετών.
Προϋπάρχουσα αρθρίτιδα, ίδια ρευματοειδής.
Παρουσία υλικών (TKR).
Καθυστέρηση διάγνωσης ή αναζήτησης ιατρικής βοήθειας – μακρά διάρκεια συμπτωμάτων.
Πολυαρθρική προσβολή – περισσότερων των 3 αρθρώσεων και μεταξύ αυτών, των μικρών αρθρώσεων της άκρας χειρός.
Παρουσία βακτηριαιμίας.
Λοιμώξεις από μεγάλης λοιμογόνου δύναμης μικρόβια (S.aureus, Pseudomonas aeruginosa ή αρνητικοί κατά Gram βάκιλοι).
Ασθενείς που λαμβάνουν ανοσοκατασταλτική αγωγή.
Σοβαρά υποκείμενα νοσήματα (ηπατική, νεφρική, καρδιακή ανεπάρκεια, σακχαρώδης διαβήτης).
Περιφερική λευκοκυττάρωση κατά την εμφάνιση.
Επιδεινούμενη νεφρική λειτουργία.
Ανοικτή χειρουργική παροχέτευση – αρθροτομή.

3.7.1. ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Ιδεατά, η επιλογή του κατάλληλου αντιμικροβιακού παράγοντα βασίζεται στην αναγνώριση συγκεκριμένου παθογόνου και το αντιβιογράμμα του τελευταίου [112]. Ωστόσο, επί υποψίας λοίμωξης της άρθρωσης δικαιολογείται έναρξη χορήγησης αντιβιοτικής αγωγής, ακόμη και χωρίς την επιβεβαίωση θετικής καλλιέργειας [19, 114]. Σε αρκετές περιπτώσεις δεν είναι δυνατή απομόνωση κάποιου μικροοργανισμού, οπότε η εμπειρική αγωγή εισάγεται βάσει της πιθανότητας προσβολής από συγκεκριμένα βακτήρια [112]. Ποικίλα κλινικά στοιχεία και εργαστηριακά δεδομένα συνεπικουρούν στην απόφαση αυτή (παράγοντες του ξενιστή, εξωαρθρικές εστίες λοίμωξης, κατά Gram χρώση του αρθρικού υγρού, διαθέσιμες θεραπευτικές επιλογές) [19, 112].

Μία ανθεκτική στην πενικιλινάση, αντισταφυλοκοκκική ουσία αποτελεί την συνήθη αρχική επιλογή για την αντιμετώπιση μίας τυπικής λοίμωξης από θετικούς κατά Gram κόκκους. Οι κεφαλοσπορίνες α' γενεάς προτιμώνται στις Η.Π.Α. ακριβώς λόγω της χαμηλής τοξικότητας και κόστους [112]. Βανκομυκίνη χρησιμοποιείται σε περίπτωση που το παθογόνο ενδέχεται να είναι σταφυλόκοκκος ανθεκτικός στη μεθικιλίνη (MRSA) [11]. Το ενδεχόμενο αυτό είναι περισσότερο πιθανό όταν η επίπτωση του MRSA στην κοινότητα είναι μεγαλύτερη του 10%. Σε περιπρωθετικές λοιμώξεις, τα γλυκοπεπτιδία χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με ριφαμπικίνη ή φουσιδικό οξύ, λόγω της πτωχής διείσδυσης των γλυκοπεπτιδίων σε οστά και αρθρώσεις. Η κλινδαμυκίνη αποτελεί μία καλή εναλλακτική λύση για την αντιμετώπιση λοιμώξεων από στελέχη ευαίσθητα στις μακρολίδες, αφού η βιοδιαθεσιμότητά της σε οστά και αρθρώσεις είναι άριστη [129].

Η αντοχή έναντι των γλυκοπεπτιδίων (glycopeptide-intermediate *S.aureus* - GISA) και η δυσανεξία αρκετών ασθενών στις ουσίες αυτές, οδήγησε στη χρήση νέων παραγόντων έναντι των θετικών κατά Gram μυοσκελετικών λοιμώξεων, όπως η λινεζολίδη και η δαπτομυκίνη. Μέχρι στιγμής δεν έχουν πραγματοποιηθεί τυχαίοποιημένες μελέτες οι οποίες να παραβάλλουν την αποτελεσματικότητα και ασφάλεια των εν λόγω αντιβιοτικών ουσιών με άλλες που παραδοσιακά χρησιμοποιούνται σε μυοσκελετικές λοιμώξεις **[130]**. Η λινεζολίδη είναι βακτηριοστατικός παράγοντας, με δυνατότητα να χορηγηθεί από του στόματος, λόγω της βιοδιαθεσιμότητάς της (100%). Θεραπεία μεγαλύτερης διάρκειας από τις 2 εβδομάδες συσχετίζεται με σημαντικό κίνδυνο αντιστρεπτής καταστολής του μυελού των οστών και περιφερικής νευροπάθειας και μικρότερο, αλλά ανησυχητικό κίνδυνο οπτικής νευροπάθειας **[131]**. Η δαπτομυκίνη είναι λίποπεπτίδιο, με βακτηριοκτόνο δράση ακόμη και έναντι μικροβίων σε στατική φάση ανάπτυξης, η οποία όμως συσχετίζεται με τοξικότητα του μυϊκού ιστού σε 0,4-2,5% των περιπτώσεων **[132]**.

Μία κεφαλοσπορίνη γ' γενεάς είναι επιλογή εκλογής σε περίπτωση απομόνωσης αρνητικού κατά Gram βακίλου **[11]**. Προβληματική θεωρείται η εμφάνιση ολοένα μεγαλύτερου αριθμού πολυανθεκτικών εντεροβακτηριακών στελεχών (extended-spectrum β -lactamases - ESBL), η οποία επιβάλλει τη χρήση μίας καρβαπενέμης (imipenem, meropenem) στο αντιβιοτικό σχήμα **[27, 133]**. Εάν ο ασθενής είναι ανοσοκατεσταλμένος ή πάσχει από νοσοκομειακή λοίμωξη επιβάλλεται η προσθήκη μίας αμινογλυκοσίδης για την κάλυψη της *P.aeruginosa*. Το αρχικό αντιβιοτικό σχήμα πρέπει να καλύπτει τον *S.aureus* και την *P.aeruginosa* σε ασθενή-χρήστη ενδοφλεβίως ναρκωτικών ουσιών. Υποψία γονοκοκκικής αρθρίτιδας εγείρεται σε νέο, σεξουαλικά ενεργό ασθενή με

αρνητική χρώση του αρθρικού υγρού, οπότε και προκρίνεται η επιλογή της κεφτριαξόνης ως εμπειρικής αγωγής [112]. Σε ηλικιωμένα άτομα, με συμπαρομαρτούντα προβλήματα και οξεία μονοαρθρίτιδα του γόνατος, αρνητική χρώση του αρθρικού υγρού και απουσία επιβεβαίωσης κάποιας εξωαρθρικής λοιμώδους εστίας, η αρχική αγωγή πρέπει να είναι ευρέως φάσματος. Σε αυτή περιλαμβάνεται ένας αντισταφυλοκοκκικός παράγοντας, μία αμινογλυκοσίδη έναντι των αρνητικών κατά Gram βακίλων και μία αντιψευδομοναδική πενικιλίνη ή μία κεφαλοσπορίνη γ' γενεάς [19].

Όταν τεθούν σε διαθεσιμότητα μικροβιολογικά δεδομένα, η ταυτότητα και ευαισθησία του μικροοργανισμού-αίτιου της σηπτικής αρθρίτιδας, το φάσμα της αντιβιοτικής κάλυψης περιορίζεται, ώστε να επιτευχθεί μέγιστη θεραπευτική αποτελεσματικότητα, με παράλληλη μείωση του κινδύνου συστηματικής τοξικότητας και κόστους [19, 112]. Συνιστάται λοιπόν η ενδεδειγμένη θεώρηση των ιδιαίτερων χαρακτηριστικών των ταυτοποιημένων παθογόνων, η ευαισθησία - αντοχή συγκεκριμένων στελεχών που ανήκουν στη χλωρίδα του νοσηλευτικού ιδρύματος όπου αντιμετωπίζεται η σηπτική κατάσταση, καθώς και η διαρκής εξέλιξη των αντιμικροβιακών παραγόντων και του φάσματος αυτών [112].

Ο τρόπος χορήγησης των αντιβιοτικών ουσιών –από του στόματος ή παρεντερική– αποτελεί σημείο διαμάχης. Δεν υπάρχει κάποια άρτια σχεδιασμένη, τυχαιοποιημένη, τυφλή μελέτη μαρτύρων - ασθενών, η οποία να καταδεικνύει ισοδύναμη αποτελεσματικότητα από του στόματος και παρεντερικής αντιβιοτικής αγωγής για την αντιμετώπιση της σηπτικής αρθρίτιδας [134, 135]. 80% των ρευματολόγων και 82% των ορθοπαιδικών χειρουργών οι οποίοι ρωτήθηκαν στα πλαίσια εκτεταμένης έρευνας που διενεργήθηκε στη Μεγάλη Βρετανία, προτείνουν διάρκεια συνολικής αγωγής 6

εβδομάδων, ενώ 73% του συνόλου προτείνει αρχική παρεντερική χορήγηση αντιβιοτικών ουσιών 1-2 εβδομάδων ακολουθούμενη από per.os χορήγηση [136]. Παραδοσιακά, χορηγούνται ενδοφλεβίως αντιμικροβιακοί παράγοντες επί 2 εβδομάδες και εν συνεχεία από του στόματος για άλλες 4 [134]. Σε καμία περίπτωση δεν συνιστάται η ενδοαρθρική έγχυση διαλυμάτων αντιβιοτικών [19, 104]. Συμπτώματα, σημεία και ανοσολογικές αντιδράσεις οξείας φάσης αποτελούν χρήσιμα εργαλεία για τη λήψη αποφάσεων που αφορούν στη μετατροπή της παρεντερικής σε από του στόματος αγωγή ή τη διακοπή της [112, 134].

Τα πλεονεκτήματα της per.os χορήγησης αντιβιοτικών ουσιών είναι δεδομένα:

- ευκολία χορήγησης,
- άνεση ασθενούς,
- μείωση χρόνου νοσηλείας και
- μικρό κόστος.

Ο ασθενής πρέπει να αξιολογείται πριν την έξοδό του, ώστε να εξασφαλίζεται επαρκής συγκέντρωση του αντιμικροβιακού παράγοντα στον ορό. Βακτηριοκτόνος τίτλος της τάξεως του 1:8 θεωρείται επαρκής. Κίνδυνοι οι οποίοι σχετίζονται με την από του στόματος αντιβιοτική αγωγή, μετά την έξοδο από κάποιο νοσηλευτικό ίδρυμα, αφορούν στη μη τήρηση των ιατρικών οδηγιών και μη συμμόρφωση του ασθενούς και τη δυσχέρεια πρόσβασης στην εν λόγω φαρμακευτική ουσία. Κατά συνέπεια, ο ασθενής οφείλει να κατανοήσει επακριβώς τη σημασία της ολοκλήρωσης της αγωγής, καθώς και τις οδηγίες σε σχέση με τη δοσολογία και το ωράριο λήψης της αντιμικροβιακής αγωγής [112]. Εναλλακτικά, είναι δυνατή η χορήγηση παρεντερικής αντιβιοτικής αγωγής σε

εξωτερικούς ασθενείς με χρήση αντιβιοτικών ουσιών μακρού χρόνου ημίσειας ζωής. Ο τρόπος αυτός χορήγησης επιτρέπει ταχύτερη έξοδο από το νοσοκομείο και καλύτερη παρακολούθηση του ασθενούς, ίδια σε περιπτώσεις που δεν υπάρχει κάποια κατάλληλη από του στόματος θεραπευτική επιλογή **[134]**.

Η βέλτιστη διάρκεια της αντιβιοτικής αγωγής δεν έχει ακόμη διευκρινισθεί **[19, 112, 134, 135]**. Στην πλειονότητα των περιπτώσεων εξαρτάται από το παθογόνο, τη γενική κατάσταση του ασθενούς και τις συνοδές θεραπευτικές επιλογές και κυμαίνεται από 2 εβδομάδες σε μη επιπλεγμένες λοιμώξεις από ευαίσθητους μικροοργανισμούς έως 4-6 εβδομάδες σε εκτεταμένες λοιμώξεις σε ανοσοκατεσταλμένους ξενιστές **[19, 112]**. Αγωγή 7-10 ημερών είναι επαρκής για την αντιμετώπιση γονοκοκκικής σηπτικής αρθρίτιδας, ενώ χρειάζονται 2-3 εβδομάδες για τον έλεγχο λοιμώξεων από στρεπτόκοκκους ή *H.influenzae* **[14]**. Σε περίπτωση προσβολής της άρθρωσης του γόνατος από πιο επιθετικά βακτήρια, όπως ο *S.aureus*, ο πνευμονιόκοκκος ή αρνητικοί κατά Gram βάκιλοι, απαιτείται στοχευμένη αντιμικροβιακή αγωγή διάρκειας 4-6 εβδομάδων **[14, 26]**. Επίσης, ανοσοκατεσταλμένοι ή ασθενείς με αργή κλινική ανταπόκριση χρήζουν αγωγής 6 εβδομάδων, προκειμένου να επιτευχθεί εκρίζωση του παθογόνου **[112]**.

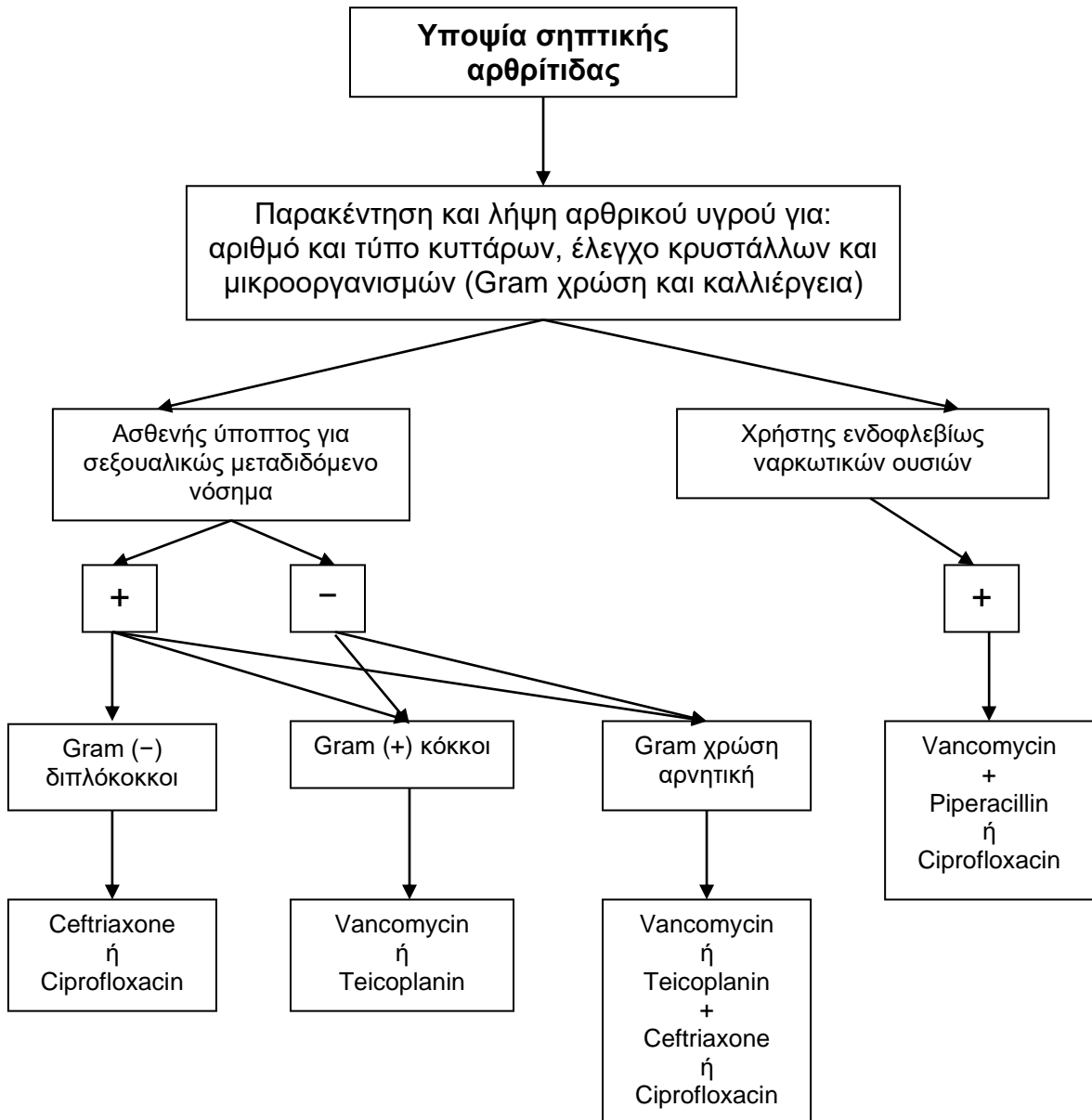
Πίνακας 3.19**Εμπειρική αντιβιοτική αγωγή για την αντιμετώπιση της σηπτικής αρθρίτιδας σε ενήλικες [12, 19, 104, 137]**

Αποτέλεσμα χρώσης κατά gram ή κλινική κατάσταση	Πιθανός μικροοργανισμός	Προτεινόμενος αντιμικροβιακός παράγοντας & εναλλακτικοί
Θετικοί κατά Gram κόκκοι (συσσωματώματα)	S.aureus ευαίσθητος στη μεθικιλίνη	Συνθετική πενικιλίνη ανθεκτική στην πενικιλινάση (PRSP) Nafcillin / oxacillin Κεφαλοσπορίνη α' γενεάς Cefazolin
		<i>Vancomycin</i> <i>Linezolid</i> <i>Daptomycin</i>
	S.aureus ανθεκτικός στη μεθικιλίνη	Vancomycin
		<i>Linezolid</i> <i>Daptomycin</i> <i>Tigecycline</i>
Θετικοί κατά Gram κόκκοι (αλυσίδες)	Streptococci	Πενικιλίνη Ampicillin
		<i>Clindamycin</i> Κεφαλοσπορίνη α' γενεάς <i>Vancomycin</i>
Αρνητικοί κατά Gram διπλόκοκκοι ή αρνητική χρώση σε υγιή, σεξουαλικά ενεργό ασθενή	N.gonorrhoeae	Κεφαλοσπορίνη γ' γενεάς Ceftriaxone
		<i>Κινολόνη</i>
Αρνητικοί κατά Gram βάκιλοι	P.aeruginosa	Αντιψευδομοναδική πενικιλίνη Piperacillin + αμινογλυκοσίδη
		Κεφαλοσπορίνη δ' γενεάς <i>Cefepime</i> + αμινογλυκοσίδη <i>Κινολόνη</i>
	Εντεροβακτηριακά (E.coli, Proteus, Serratia)	Κεφαλοσπορίνη γ' γενεάς
		<i>Πενικιλίνη ευρέως φάσματος</i>

		<i>Κινολόνη</i> <i>Trimethoprim-</i> <i>sulfamethoxazole</i>
Θετικοί κατά Gram βάκιλοι	<i>P.acnes</i>	Πενικιλίνη G
		<i>PRSP</i> <i>Vancomycin</i>
Πολυμικροβιακή λοίμωξη Μείζων υποκείμενη νόσος Ανοσοκαταστολή Ενδονοσοκομειακή λοίμωξη	<i>S.aureus</i> Εντεροβακτηριακά <i>P.aeruginosa</i> Streptococci	<i>Vancomycin</i> + Κεφαλοσπορίνη γ' γενεάς Ceftriaxone
		<i>Vancomycin</i> + <i>Κινολόνη</i>
Ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών ουσιών	<i>S.aureus</i> <i>P.aeruginosa</i> Serratia	<i>Vancomycin</i> + Αντιψευδομοναδική πενικιλίνη Piperacillin
		<i>Vancomycin</i> + <i>Κινολόνη</i>
Περιπρωθετική λοίμωξη	<i>S.epidermidis</i> <i>S.aureus</i> Εντεροβακτηριακά <i>P.aeruginosa</i>	<i>Vancomycin</i> + Imipenem

Πίνακας 3.20

Αλγόριθμος εμπειρικής θεραπείας [12, 19, 104, 137]

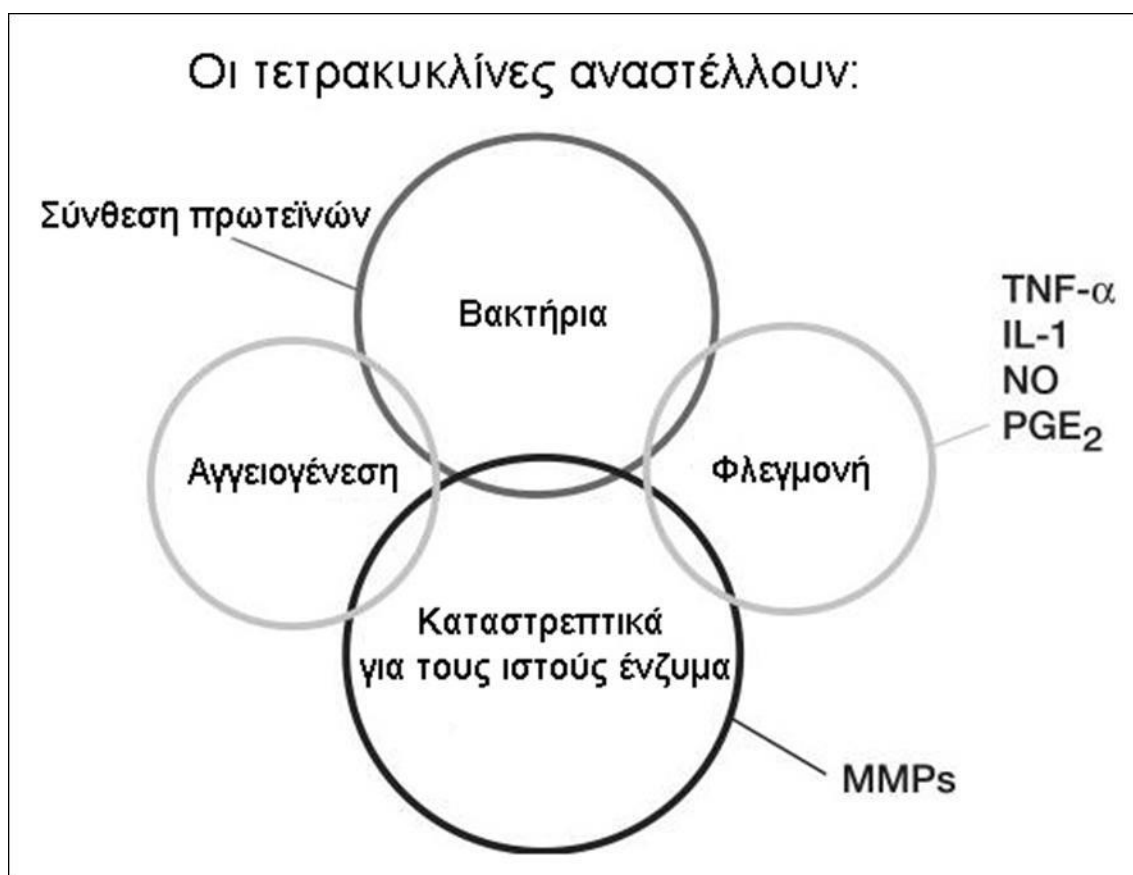


3.7.2. ΑΝΤΙΦΛΕΓΜΟΝΩΔΕΙΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Η αποστείρωση και έκπλυση της άρθρωσης δεν είναι ικανή να απομακρύνει το σύνολο των βακτηριακών προϊόντων. Αποστειρωμένα μικροβιακά θραύσματα και ποικίλοι διαμεσολαβητές της φλεγμονής είναι δυνατό να προάγουν μία διαρκή φλεγμονώδη αντίδραση (μεταλοιμώδης υμενίτιδα), ακόμα και μετά το πέρας της σηπτικής εξεργασίας, προκαλώντας χονδρόλυση [112, 116]. Μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) και ιδιαίτερα η ναπροξένη, μείωσαν την απώλεια γλυκοζαμινογλυκάνης και κολλαγόνου του αρθρικού χόνδρου, σε συγχορήγηση με αντιβιοτική αγωγή, σε ζωικό υπόδειγμα σταφυλοκοκκικής σηπτικής αρθρίτιδας [71]. Παρά ταύτα, δεν πρέπει να προστίθενται άμεσα κατά τη φυσική πορεία της νόσου στη χορηγούμενη αγωγή, διότι η δράση τους μπορεί να υποκρύψει μία πτωχή ανταπόκριση σε έναν αντιμικροβιακό παράγοντα. Ο προτεινόμενος χρόνος έναρξης χορήγησης ΜΣΑΦ είναι 4-5 ημέρες μετά την έναρξη της αντιβιοτικής αγωγής [112].

Καταστολή μίας υπερβολικής ανοσολογικής αντίδρασης με κορτικοστεροειδή, παράλληλα με την αποστείρωση της άρθρωσης μέσω αντιμικροβιακών παραγόντων, είναι ικανή να μειώσει την έκταση, ένταση και θνησιμότητα σταφυλοκοκκικής σηπτικής αρθρίτιδας σε μύες (ποντίκια) [138]. Μία μελέτη η οποία αφορά παιδικό πληθυσμό κατέδειξε μειωμένη διάρκεια πορείας της νόσου, έκταση αρθρικής καταστροφής και δυσλειτουργίας σε σχέση με τη συνδυασμένη χορήγηση δεξαμεθαζόνης και αντιβιοτικής αγωγής [139]. Αντίστοιχη μελέτη δεν έχει διεξαχθεί ακόμη σε ενήλικες, προκειμένου να αναδειχθούν και να αξιολογηθούν πιθανές ανεπιθύμητες ενέργειες των κορτικοστεροειδών, όπως η μειωμένη αποτελεσματικότητα των αντιμικροβιακών παραγόντων [130].

Σε μία άλλη πειραματική εργασία, αγωγή με διφωσφονικά σε συνδυασμό με αντιμικροβιακούς παράγοντες είχε ως αποτέλεσμα μειωμένη οστική απορρόφηση και καταστροφή [140]. Παρά το γεγονός ότι τα διφωσφονικά αναστέλλουν άμεσα την οστική απορρόφηση, είναι πιθανό μέρος της δράσης τους να οφείλεται στην **αναστολή των μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs)** διά σχηματισμού χηλικών ενώσεων με κατιόντα ψευδαργύρου [141, 142]. Προσθήκη κορτικοστεροειδών στο θεραπευτικό σχήμα βελτίωσε έτι περαιτέρω τις υπό μελέτη παραμέτρους [140].



Οι τετρακυκλίνες, διαθέτουν αρκετές ιδιότητες, εκτός της αντιμικροβιακής [143]. Η δοξυκυκλίνη θεωρείται ότι αναχαιτίζει την προκαλούμενη από τα λευκοκύτταρα ιστική καταστροφή μέσω αναστολής των μεταλλοπρωτεϊνών. Πέραν της δέσμευσης ιόντων ψευδαργύρου, οι τετρακυκλίνες αναστέλλουν τις μεταλλοπρωτεϊνάσες σε επίπεδο γονιδιακής έκφρασης εμποδίζοντας την

ενεργοποίηση των αντίστοιχων γονιδίων μέσω του καταρράκτη της φλεγμονής ή ενεργών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species - ROS) [144, 145]. Χημικά τροποποιημένα μόρια έχουν αναπτυχθεί, προκειμένου να αποφευχθούν ανεπιθύμητες ενέργειες σε ό,τι αφορά στην ενδογενή μικροβιακή χλωρίδα, με παράλληλη διατήρηση της ανασταλτικής των MMPs δράσης [146, 147]. Το ίδιο είναι δυνατό να επιτευχθεί με χαμηλές δόσεις εμπορικά διαθέσιμων τετρακυκλινών (20 mg x 2/ημέρα, αγωγή χαμηλών δόσεων δοξυκυκλίνης) [148, 149].

Τα τελευταία έτη, η παραγωγή συνθετικών αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών, όπως η batimastat ή η marimastat, προκάλεσε το ενδιαφέρον των ερευνητών. Παρά ταύτα, οι εφαρμογές αυτών είναι περιορισμένες, λόγω των ανεπιθύμητων ενεργειών που αφορούν κυρίως στη λειτουργικότητα των αρθρώσεων, μιας και παρεμβαίνουν στην ομοίωση και ανακύκλωση των πρωτεϊνών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας. Η ενδοαρθρική έγχυση των παραγόντων αυτών ίσως αποτελεί μία νέα θεραπευτική προσέγγιση, χωρίς τις παρενέργειες της συστηματικής χορήγησης [150].

Η φυσιολογία της σηπτικής αρθρίτιδας υποδηλώνει τη σημασία βακτηριακών λοιμογόνων παραγόντων, καθώς και κυττοκινών της ανοσολογικής απάντησης του ξενιστή. Η εξουδετέρωση λοιπόν, λοιμογόνων παραγόντων ή και η προσθήκη TNF-α ανταγωνιστών και ανασυνδυασμένης IL 10 και 12 στην αγωγή είναι δυνατό να βελτιώσει την πρόγνωση της νόσου [30-32, 151, 152]. Ωστόσο, καμία από τις τελευταίες θεραπευτικές προσεγγίσεις δεν έχει αξιολογηθεί σε ασθενείς-πάσχοντες από οξεία βακτηριακή προσβολή της άρθρωσης του γόνατος, όποτε η χρήση τους προς το παρόν περιορίζεται σε πειραματικές μόνο μελέτες.

3.7.3. ΕΚΚΕΝΩΣΗ ΚΑΙ ΑΠΟΣΥΜΠΙΕΣΗ ΤΗΣ ΑΡΘΡΩΣΗΣ

Αποτελεσματική αντιμετώπιση της σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος προϋποθέτει αποστείρωση και άμεση (επείγουσα) αποσυμπίεση της άρθρωσης, με απομάκρυνση φλεγμονωδών κυττάρων, λυσοσωμιακών και πρωτεολυτικών ενζύμων και ινώδους υλικού [112]. Υπάρχουν δύο διαφορετικές σχολές σε ό,τι αφορά στην προτιμώμενη μέθοδο για τον έλεγχο λοιμώξεων που δεν σχετίζονται με κάποια επέμβαση. Η μία υποστηρίζει τις κατ' επανάληψη κλειστές αναρροφήσεις διά βελόνης της άρθρωσης ως μέσο επαρκούς παροχέτευσης, ενώ η άλλη το χειρουργικό καθαρισμό, σε συνδυασμό πάντα με τη χορήγηση αντιμικροβιακών παραγόντων [130, 153]. Σε κάθε περίπτωση η σηπτική άρθρωση παροχετεύεται όσο συχνά απαιτείται προκειμένου να αποφευχθεί περαιτέρω συλλογή πύου εντός της αρθρικής κοιλότητας [130, 134].

Εντυπωσιακό είναι το γεγονός ότι οι ρευματολόγοι παρουσιάζονται πιο επιθετικοί ως προς την αντιμετώπιση των ενδοαρθρικών λοιμώξεων, καθώς το 77% αυτών προτείνουν χειρουργική παροχέτευση της άρθρωσης έναντι 66% των ορθοπαιδικών. Άλλωστε μόνο το 65% των τελευταίων πιστεύει ότι η σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος πρέπει να αντιμετωπίζεται από τους ίδιους [136].

Πίνακας 3.21

Σύγκριση μεθόδων αποσυμπίεσης για την αντιμετώπιση σπηπτικής αρθρίτιδας [112]

	Μέθοδος			
	Παρακέντηση	Σύστημα συνεχούς έκπλυσης	Αρθροσκόπηση	Αρθροτομή
Υπό εξέταση παράγοντας	Παρακέντηση	Σύστημα συνεχούς έκπλυσης	Αρθροσκόπηση	Αρθροτομή
Τόπος διεξαγωγής	Επί κλίνης	Επί κλίνης	Χειρουργική αίθουσα	Χειρουργική αίθουσα
Αναισθησία	Τοπική	Τοπική	Περιοχική ή γενική	Περιοχική ή γενική
Πρόσβαση σε αρθρώσεις	Σε όλες τις αρθρώσεις (επαναλαμβανόμενες παρακεντήσεις μόνο σε μεγάλες, επιφανειακές αρθρώσεις)	Μόνο σε μεγάλες, επιφανειακές αρθρώσεις	Μόνο σε μεγάλες αρθρώσεις	Σε όλες τις αρθρώσεις
Δυνατότητα παροχέτευσης	Μέτρια	Μέτρια	Άριστη	Άριστη
Λύση συμφύσεων	Όχι	Όχι	Ναι	Ναι
Υμενεκτομή	Όχι	Όχι	Ναι	Ναι
Θνησιμότητα	Μικρή	Μικρή	Μέτρια	Σημαντική

Πίνακας 3.22

Ενδείξεις για θεραπεία σηπτικής αρθρίτιδας ενηλίκων με αρθροσκοπική ή ανοικτή χειρουργική παροχέτευση, έναντι επαναλαμβανόμενων παρακεντήσεων [112]

Διάρκεια συμπτωμάτων τουλάχιστον 5 ημερών πριν την έναρξη θεραπείας
<u>Παρουσία επιθετικού μικροοργανισμού:</u> Ανθεκτικός στη μεθικιλίνη S.aureus Αρνητικός κατά Gram βάκιλος Εντερόκοκκος Κλωστηρίδια Βακτήρια τα οποία παράγουν γλυκοκάλυκα (βιομεμβράνη)
Ηλικία μεγαλύτερη των 75 ετών
<u>Ανοσοκατεσταλμένος ασθενής:</u> Ανοσοκατασταλτική αγωγή Χρόνια εξουθενωτική νόσος Κακοήθεια Σύνδρομο επίκτητης ανοσοανεπάρκειας Κακή θρέψη
Διαγνωστικό δίλημμα το οποίο απαιτεί ιστική βιοψία
<u>Σχετικές καταστάσεις:</u> Ρευματοειδής αρθρίτιδα Οστεοαρθρίτιδα Περιαρθρική οστεομυελίτιδα
Μετεγχειρητική λοίμωξη
<u>Αποτυχία επαναλαμβανόμενων παρακεντήσεων:</u> Καμία ή μικρή κλινική βελτίωση Εμμένουσα εκροή μετά 5 με 7 ημέρες θεραπείας

I. Επαναλαμβανόμενες παρακεντήσεις

Λόγοι για τους οποίους προτείνεται η κλειστή αναρρόφηση διά βελόνης της άρθρωσης είναι οι εξής:

- αποφυγή χειρουργικής παρέμβασης με ό,τι αυτή συνεπάγεται,
- παρατεταμένη νοσηλεία,
- επιπλοκές που αφορούν στο χειρουργικό τραύμα και
- αναισθησιολογικοί κίνδυνοι **[20]**.

Μόνο μία αναδρομική μελέτη συγκρίνει αποτελέσματα αντιμετώπισης βακτηριακής αρθρίτιδας με επαναλαμβανόμενες παρακεντήσεις έναντι ανοικτής χειρουργικής παροχέτευσης - αρθροτομής. Σύμφωνα με αυτήν, η κλειστή παροχέτευση της άρθρωσης διά βελόνης, φαίνεται ότι είναι προτιμότερη από τη χειρουργική με 67% καλά αποτελέσματα ως προς τη μετέπειτα λειτουργικότητα έναντι 42%, αντίστοιχα. Η διαφορά στερείται στατιστικής σημαντικότητας, ενώ παρατηρήθηκε υψηλότερη θνησιμότητα στην πρώτη ομάδα (12% έναντι 5% αντίστοιχα). Πιθανή εξήγηση της ανωτέρω θνησιμότητας είναι τα συμπαρομαρτούντα νοσήματα των ασθενών σε σχέση με τη γενικότερη κατάσταση εκείνων για τους οποίους, ως περισσότερο υγιείς, επελέγη η ανοικτή χειρουργική παροχέτευση **[153]**. Παρά το γεγονός ότι η μοναδική αυτή μελέτη διεξήχθη το 1975, εντούτοις καθιέρωσε την παρακέντηση του γόνατος ως αποδεκτή και επαρκή μέθοδο παροχέτευσης της άρθρωσης στη συνείδηση της ιατρικής κοινότητας, ώστε ακόμη και σήμερα το 22% των ρευματολόγων και το 27% των ορθοπαιδικών κάνουν χρήση της πρακτικής αυτής **[136]**.

Η παρακέντηση της άρθρωσης του γόνατος πραγματοποιείται υπό άσηπτες συνθήκες με τη χρήση βελόνας ευρείας διαμέτρου. Κριτικής σημασίας θεωρείται η πλήρης παροχέτευση της άρθρωσης **[112]**. Προκειμένου αυτό να

επιτευχθεί, συνιστάται επανάληψη της παρακέντησης κάθε 24 ή ακόμη και κάθε 12 ώρες, μέχρις αρνητικοποίησης των καλλιιεργειών και εξάλειψης οιασδήποτε συλλογής **[104]**. Επί αποτυχίας, προτείνεται αρθροσκοπική παροχέτευση **[134]**.

II. Αρθροσκοπική παροχέτευση

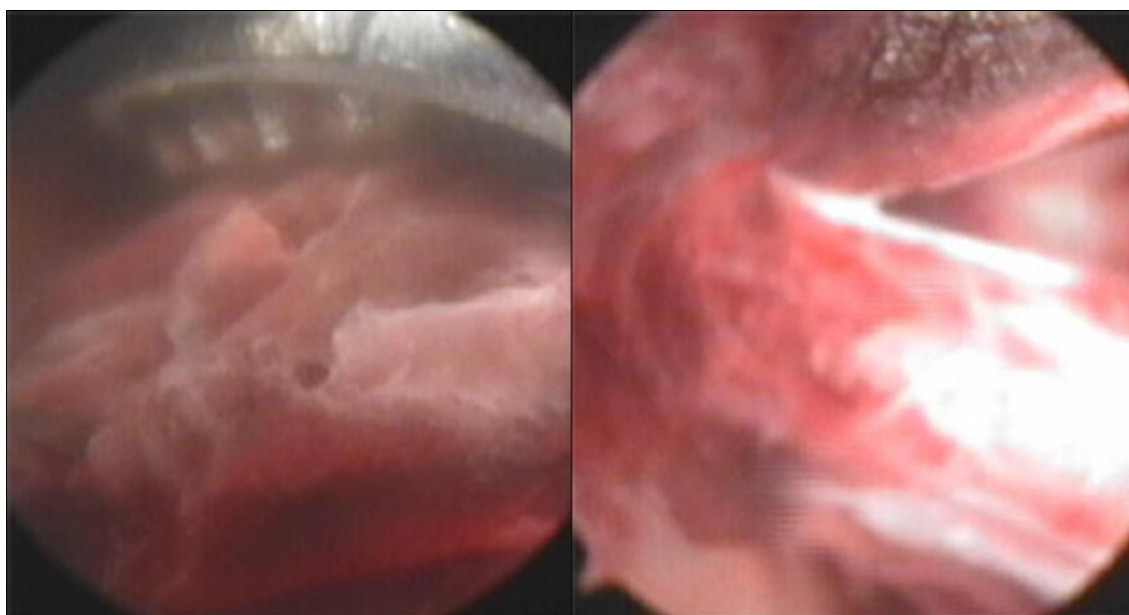
Οι θιασώτες της χειρουργικής παροχέτευσης της άρθρωσης αποφεύγουν τις επαναλαμβανόμενες αρθροκεντήσεις λόγω:

- ανεπαρκούς εκκένωσης του πυώδους υλικού διά βελόνης εξαιτίας συμφύσεων ή σχηματισμού κρυστών,
- άλγους το οποίο σχετίζεται με την επανάληψη της διαδικασίας αυτής και
- κινδύνου ιατρογενούς ενοφθαλμισμού βακτηρίων διά της βελόνης στο υποχόνδριο οστούν **[112]**.

Η αρθροσκόπηση αποτελεί μέσο το οποίο σαφώς υπερέχει της ανοικτής αρθροτομής, λόγω χαμηλότερης νοσηρότητας και ταχύτερης αποκατάστασης **[154]**. Επιτρέπει άμεση επισκόπηση της άρθρωσης, απαραίτητη για την εκτίμηση της έκτασης της νόσου. Σε περίπτωση άτυπης ή αμφιλεγόμενης λοίμωξης, είναι δυνατή η λήψη βιοψιών. Παράλληλα, επιτυγχάνει επαρκή παροχέτευση, ενδεδεχθή καθαρισμό και έκπλυση της άρθρωσης, με αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου νοσηλείας. Η άμεση έναρξη ασκήσεων εύρους κίνησης μετά αρθροσκοπική επέμβαση συμβάλλει έτι περαιτέρω στη διατήρηση της λειτουργικότητας του γόνατος **[112]**. Τα ανωτέρω επιβεβαιώνονται από αναδρομικές μελέτες οι οποίες αναφέρουν έως και 80% ίαση, με τα καλύτερα αποτελέσματα να συμβαδίζουν με την κατά το δυνατό πιο άμεση αρθροσκοπική παροχέτευση της σηπτικής άρθρωσης **[155]**. Εφόσον πραγματοποιηθεί εντός 5 ημερών από την έναρξη των συμπτωμάτων πλεονεκτεί της αρθροτομής σε στατιστικά σημαντικό βαθμό **[156]**.

Αρθροσκόπηση λοιπόν πραγματοποιείται χωρίς καθυστέρηση οποτεδήποτε υπάρχει έστω υποψία ενδοαρθρικής λοίμωξης **[114]**. Εκτός των κλασικών, η έξω και έσω υπερεπιγονατιδική και η οπίσθια έσω αρθροσκοπική

πύλη είναι δυνατό να χρησιμοποιηθούν **[157]**. Σε περίπτωση που η λοίμωξη αποτελεί επιπλοκή αρθροσκοπικής επέμβασης και οι αρχικές πύλες παρουσιάζουν διαβροχή και φλεγμονώδεις αλλοιώσεις (ερυθρά όρια, ρυπαρό επίχρισμα), επιβάλλεται η διάνοιξη νέων. Οι αρχικές εκτέμνονται με φειδώ και απομονώνονται με τη χρήση μεμβράνης. Εάν αυτές έχουν επουλωθεί χωρίς σημεία ερεθισμού μπορεί να χρησιμοποιηθούν ξανά. Επί αμφιβολίας, είναι προτιμότερη η δημιουργία νέων αρθροσκοπικών πυλών. Μετά την εισαγωγή της σωληνωτής θήκης του αρθροσκοπίου (sheath) εντός της άρθρωσης, το ρέον αρθρικό υγρό αποστέλλεται για ανάλυση, ενώ ξεκινά η αντιβιοτική αγωγή **[114]**.



Η σταδιοποίηση κατά Gächter είναι καθοριστικής σημασίας για τον προσανατολισμό της αρθροσκοπικής αντιμετώπισης **[158, 159]**. Κατά το στάδιο I, άφθονη έκπλυση της άρθρωσης με τουλάχιστον 15-20 lt υγρού είναι αρκετή. Κάθε ένα τμήμα της επισκοπείται και καθαρίζεται, ιδιαίτερα το οπίσθιο έσω και οπίσθιο έξω. Εφόσον έχει προηγηθεί επέμβαση που αφορά στα οπίσθια στοιχεία της άρθρωσης, επιβάλλεται η χρήση της οπίσθιας έσω πύλης προκειμένου να επιτευχθεί επαρκής καθαρισμός των οπισθίων τμημάτων.

Ινώδεις εναποθέσεις του υμένα απομακρύνονται με λαβίδα, προσεκτική απόξεση ή καταιονισμό υγρού. Ομοίως απομακρύνονται θρόμβοι αίματος, καθώς αποτελούν άριστο θρεπτικό μέσο για τα βακτήρια.

Κατά το στάδιο II, εκτός των προηγούμενων αφαιρείται κάθε περιοχή του υμένα η οποία παρουσιάζει αλλοιώσεις, ενώ κατά το στάδιο III απαιτείται εκτεταμένη υμενεκτομή (near total) με απομάκρυνση νεκρωτικών ιστών και συμφύσεων που τυχόν έχουν σχηματιστεί. Κάθε τμήμα ασταθούς χόνδρου αφαιρείται, ενώ η αρθρική επιφάνεια εξομαλύνεται. Σε περίπτωση οστικής συμμετοχής ο αρθροσκοπικός καθαρισμός δεν επαρκεί [114].

Πίνακας 3.23**Πλεονεκτήματα αρθροσκοπικής υμενεκτομής [157]**

Πιο ολοκληρωμένη υμενεκτομή
Ελάχιστα επεμβατική μέθοδος
Διατήρηση ακεραιότητας τετρακεφάλου
Ελαττωμένη συχνότητα αίμαρθρου
Διατήρηση ή αύξηση εύρους κίνησης
Άριστη σχέση κόστους - αποτελεσματικότητας
Άμεση έναρξη μετεγχειρητικά φυσιοθεραπείας
Διατήρηση μηνίσκων
Υψηλή αποδοχή ασθενούς

III. Ανοικτή χειρουργική παροχέτευση - Αρθροτομή

Ιστορικά, σε οξεία σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος είχε ένδειξη η πρόσθια έσω αρθροτομή. Σε πιο επιπλεγμένες περιπτώσεις πρόσθια παροχέτευση επιτυγχάνεται με παράλληλες τομές 7,5-10 cm εκατέρωθεν της επιγονατίδας και του επιγονατιδικού τένοντα και έλξη αυτής για καλύτερη πρόσβαση. Διατέμνεται ο αρθρικός θύλακος και υμένας, εκκενώνεται η αρθρική κοιλότητα από το πυώδες υλικό και αφαιρούνται οιοσδήποτε συμφύσεις **[160]**. Η άρθρωση εκπλένεται επιμελώς, ενώ καθαρίζονται όλες οι προσβεβλημένες δομές – οστικές, χόνδρινες και υμενικές **[114, 160]**. Ο υμένας αφήνεται ανοικτός, αλλά ο θύλακος και το δέρμα συρράπτονται χαλαρά με τοποθέτηση πολλαπλών παροχετεύσεων **[160]**. Εναλλακτικά, τα τραύματα αφήνονται ανοικτά, καλύπτονται με αποστειρωμένες γάζες και συρράπτονται σε δεύτερο χρόνο μετά τελικό καθαρισμό και επισκόπηση της άρθρωσης, συνηθέστερα την 4^η-7^η ημέρα **[116, 161]**. Εν συνεχεία, οι ασθενείς τοποθετούνται σε πρηνή θέση αρκετές ώρες της ημέρας προκειμένου να παροχετεύεται επαρκώς η άρθρωση ή εναλλακτικά εκτελούν πρώιμες ενεργητικές ασκήσεις εύρους κίνησης ή συνεχή παθητική κίνηση αυτής. Ο καθαρισμός επαναλαμβάνεται επί εμμένουσας λοίμωξης.

Σε περίπτωση συμμετοχής των οπισθίων στοιχείων του γόνατος στη σηπτική εξεργασία, οι παράλληλες πρόσθιες τομές συνδυάζονται με οπίσθια έξω και οπίσθια έσω τομή (Henderson). Εάν είναι δυνατό αποφεύγεται οπίσθια παροχέτευση της άρθρωσης εξαιτίας της πιθανότητας επέκτασης της λοίμωξης στο μηρό και την κνήμη κατά μήκος των περιτονιών. Παρά ταύτα, όταν οι ανωτέρω τομές αδυνατούν να παροχετεύσουν επαρκώς το οπίσθιο διαμέρισμα, η προσέγγιση αυτή είναι αναπόφευκτη. Μέση οπίσθια προσπέλαση έχει

εγκαταλειφθεί, καθώς εκθέτει τα ιγνυακά αγγεία σε σηπτικές συνθήκες και πίεση από τοποθετούμενες παροχετεύσεις, ενώ δημιουργεί δυνητικά προβληματική ουλή κατά μήκος της άρθρωσης. Παροχετεύσεις, εφόσον χρησιμοποιούνται, αφαιρούνται σε 24 με 48 ώρες από το χειρουργείο **[160]**.

IV. Συστήματα συνεχούς έκπλυσης

Ανοικτή ή αρθροσκοπική τοποθέτηση συστημάτων συνεχούς έκπλυσης-παροχέτευσης της άρθρωσης θεωρείται προβληματική παρουσία λοίμωξης λόγω:

- Φαινόμενου 'οδού ταχείας κυκλοφορίας' (Highway effect). Το φαινόμενο αυτό αναφέρεται σε οδούς ελάχιστης αντίστασης που αναπτύσσονται σε προσβεβλημένες αρθρώσεις και διοχετεύουν το υγρό της έκπλυσης κατά μήκος συγκεκριμένων καναλιών. Ως εκ τούτου, ακόμη κι όταν το σύστημα συνεχούς έκπλυσης έχει τοποθετηθεί ορθά, το υγρό δεν φθάνει περιοχές μακράν των καναλιών αυτών, με αποτέλεσμα να μην επιτυγχάνεται πλήρης και ικανοποιητική έκπλυση της άρθρωσης. Ενδοαρθρικές συμφύσεις και φαινόμενο 'οδού ταχείας κυκλοφορίας' είναι δυνατό να αποφευχθούν με περιοδική φραγή της παροχέτευσης και μέγιστη διαστολή της αρθρικής κοιλότητας, κάτι το οποίο απαιτεί χρόνο και προσωπικό.
- Απόφραξης της παροχέτευσης.
- Πτωχής μόνωσης των πυλών εισόδου και εξόδου του συστήματος. Η αναπόφευκτη διαρροή υγρών σε επιδερμικό υλικό είναι δυνατό να προκαλέσει διαβροχή του δέρματος και προβλήματα αποστείρωσης με δευτερεύουσες λοιμώξεις των πυλών στα σημεία διαρροής.
- Απαιτήσεων διατήρησης, περιλαμβανομένων της συνεχούς παροχής υγρού έκπλυσης, της τακτικής εκκένωσης του περιεχομένου των δοχείων συλλογής και ελέγχου των παροχετεύσεων για πιθανή απόφραξη.
- Δυσχερούς πρώιμης κινητοποίησης [114].

3.7.4. ΤΟΠΙΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ

ΑΝΤΙΜΙΚΡΟΒΙΑΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ

Η ενδοαρθρική συγκέντρωση αντιμικροβιακών παραγόντων είναι δυνατό να αυξηθεί με την τοποθέτηση υλικού εμπλουτισμένου με αντιβίωση εντός της αρθρικής κοιλότητας. Η αλυσίδα σφαιριδίων τσιμέντου (PMMA) η οποία παραδοσιακά χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση οστικών λοιμώξεων, προκαλεί πολλαπλές ενδοαρθρικές βλάβες διάρκειας κινητοποίησης και φόρτισης του σκέλους. Ως εκ τούτου η χρήση της δεν προτείνεται πλέον. Άλλωστε, η αφαίρεσή της απαιτεί δεύτερη επέμβαση σε μία ήδη βεβαρημένη άρθρωση κατά την οποία κάποια σφαιρίδια μπορεί να αποκολληθούν.

Εναλλακτική επιλογή αποτελεί η ενδοαρθρική τοποθέτηση εμποτισμένου με αντιβίωση κολλαγονικού βιοαπορροφήσιμου υλικού. Το υλικό αυτό κόβεται σε στενές λωρίδες (1×3 cm), ενυδατώνεται και τοποθετείται σε διάφορες εσοχές της άρθρωσης του γόνατος (παραμηνισκικές, οπίσθια έσω, οπίσθια έξω εσοχή, υπερεπιγονατιδική πτυχή) με τη βοήθεια λαβίδας υπό αρθροσκοπική όραση. Περαιτέρω μελέτες απαιτούνται προκειμένου να διευκρινιστεί εάν το εμποτισμένο με αντιβίωση κολλαγόνο προκαλεί ουλοποίηση και περαιτέρω δημιουργία συμφύσεων.

Απαγορεύεται αυστηρά οιαδήποτε ενδοαρθρική χρήση αντισηπτικών διαλυμάτων λόγω της τοξικότητας η οποία προκαλεί εκτεταμένη χημική υμενίτιδα, ενώ παράλληλα καταστρέφει τον προσβεβλημένο χόνδρο [114].

3.7.5. ΞΕΝΑ ΣΩΜΑΤΑ

Η ύπαρξη ξένων σωμάτων - υλικών σε μία φλεγμαίνουσα άρθρωση είναι επιβαρυντική. Ακόμη και μετά αποστείρωση, είναι δυνατό να συντηρούν τη λοίμωξη, καθώς στην επιφάνειά τους σχηματίζονται φωλεές μικροβίων, συχνά επικαλυπτόμενες από γλυκοκάλυκα (βιομεμβράνη - biofilm) [162]. Υλικά λοιπόν τα οποία έχουν υποστεί χαλάρωση, αφαιρούνται. Πλήρως ενσωματωμένα υλικά τα οποία συνεισφέρουν στη σταθερότητα είτε καθεαυτής της άρθρωσης (υλικά καθήλωσης μοσχευμάτων) είτε κατεαγόντων οστικών τεμαχίων (υλικά οστεοσύνθεσης), αρχικά διατηρούνται, μιας και η αστάθεια θεωρείται επίσης παράγοντας συντήρησης μικροβιακής φλεγμονής. Βεβαίως, σε περίπτωση εμμόνης της σηπτικής αρθρίτιδας, απαιτείται πλέον ριζικός καθαρισμός [116, 163].

Ειδική μνεία γίνεται σε ό,τι αφορά στα μοσχεύματα που χρησιμοποιούνται για την πλαστική αποκατάσταση των χιαστών και άλλων συνδέσμων του γόνατος. Αλλομοσχεύματα ή αυτομοσχεύματα αρχικά συνιστούν μη ζώντες ιστούς οι οποίοι είναι δυνατό να αποικισθούν από βακτήρια (ίδια, χαμηλής λοιμογόνου δύναμης) για μεγάλες περιόδους, μέχρις ότου ολοκληρωθεί η ενσωμάτωσή τους –αντικατάσταση από νεοσχηματιζόμενο ιστό του ξενιστή. Συνεπώς, αντιμετωπίζονται ως ξένα σώματα, παρά το ότι υπάρχουν αρκετά σημεία τα οποία δεν έχουν πλήρως διευκρινιστεί από τη διεθνή βιβλιογραφία [116].

Η περιγραφή της αντιμετώπισης των περιπροθετικών λοιμώξεων του γόνατος δεν αποτελεί αντικείμενο της διατριβής αυτής και ως εκ τούτου παραλείπεται.

Πίνακας 3.24

Ενδείξεις αφαίρεσης μοσχευμάτων μετά πλαστική αποκατάσταση συνδέσμων του γόνατος [161, 164, 165, 166*, 167*]

Εμμένουσα λοίμωξη της άρθρωσης (\pm βλάβες του αρθρικού χόνδρου).
Μόσχευμα ασταθές, χωρίς τάση και συνεπώς μη λειτουργικό διάρκεια κλινικής ή αρθροσκοπικής εκτίμησης, το οποίο προκαλεί αστάθεια ή block της άρθρωσης.
Επικάλυψη του μοσχεύματος από κολλώδες, παχύρρευστο, πυώδες εξίδρωμα το οποίο είναι αδύνατο να αφαιρεθεί χωρίς καταστροφή αυτού.
Αυτόπεψη του μοσχεύματος.
Οστική συμμετοχή κνημιαίου ή μηριαίου καναλιού ή οστικού τεμαχίου του μοσχεύματος.
Λοίμωξη από <i>S.aureus</i> και καθυστέρηση της αντιμετώπισης κατά 48 ή και 24* ώρες.

3.7.6. ΦΥΣΙΚΗ ΑΠΟΚΑΤΑΣΤΑΣΗ

Η άρθρωση αρχικά ακινητοποιείται σε λειτουργική θέση **[112]**. Ακριβώς επειδή ο αρθρικός χόνδρος τρέφεται από το αρθρικό υγρό κατά τις διάφορες κινήσεις του γόνατος, η έναρξη παθητικών και ενεργητικών, υποβοηθούμενων ασκήσεων εύρους κίνησης με την υποχώρηση των οξέων συμπτωμάτων ή την αφαίρεση των παροχτεύσεων και την επούλωση των θέσεων (πυλών) παροχέτευσης θεωρείται κριτικής σημασίας **[168]**. Για το λόγο αυτό προτείνεται διαρκής παθητική κίνηση της άρθρωσης στα όρια του πόνου κατά την άμεση μετεγχειρητική περίοδο (συνεδρίες διάρκειας 10-15 min, τρις ή τετράκις ημερησίως), μέχρι να επιτευχθεί πλήρης έκταση και κάμψη 120° του γόνατος και ασκήσεις ενδυνάμωσης του τετρακεφάλου με ανάπαυση σε λειτουργική θέση στα μεσοδιαστήματα **[114, 165, 166, 169]**. Δεν υπάρχει ομοφωνία σε σχέση με τη φόρτιση του σκέλους άμεσα μετεγχειρητικά. Παρά ταύτα, συνιστάται πλήρης φόρτιση με εφαρμογή λειτουργικού νάρθηκα έως ότου ενδυναμωθεί επαρκώς ο τετρακέφαλος (4-6 εβδομάδες), συνηθέστερα μετά τον πλήρη έλεγχο των συμπτωμάτων **[169]**, ενώ δε λείπουν πιο συντηρητικές απόψεις **[114, 165, 166]**.

3.8. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ

Αρκετοί βιολογικοί δείκτες έχουν μελετηθεί ως προς τη δυνατότητα διαφορικής διάγνωσης της σηπτικής αρθρίτιδας από άλλες φλεγμονώδεις αρθροπάθειες είτε και πρόγνωσης της κατάστασης αυτής. Επίπεδα tumor necrosis factor- α (TNF- α) σε αρθρικό υγρό μεγαλύτερα των 36,2 pg/ml θεωρήθηκαν διαγνωστικά για βακτηριακή ενδοαρθρική προσβολή με 95% ευαισθησία και 71% ειδικότητα (LR, 3.3; 95% CI, 2.1-5.0). Η ευαισθησία των IL-6 και IL-1 β του αρθρικού υγρού ήταν επίσης υψηλή, με πτωχή όμως ειδικότητα (specificity, 3%-53%) [170]. Άλλες κλινικές μελέτες παρουσιάζουν μία σχετικά υψηλή ειδικότητα της προκαλσιτονίνης του ορού [171-175] και του αρθρικού υγρού [172]. Μείωση του διαγνωστικού για τη σηπτική αρθρίτιδα ορίου σε επίπεδα προκαλσιτονίνης της τάξεως του 0,25-0,3 ng/ml είναι δυνατό να αυξήσει την ευαισθησία αυτής [172, 174, 175]. Ωστόσο, δεν υπάρχουν ακόμη επαρκή στοιχεία τα οποία να δικαιολογούν τη χρήση του εν λόγω δείκτη ως εξέταση ρουτίνας [176]. Δοκιμασίες για την ανίχνευση IL-8, granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) ή του παράγοντα 3 α του συμπληρώματος έχουν εξεταστεί χωρίς ξεκάθαρο διαγνωστικό ρόλο [9, 177]. Δυστυχώς, οι βιολογικοί δείκτες σπανίως αλλάζουν τη διαγνωστική σκέψη του κλινικού ιατρού σε ό,τι αφορά στην οξεία αρθρίτιδα του γόνατος, καθώς συχνά είναι μη ειδικοί, στερούνται επαρκούς ευαισθησίας και/ή είναι δυσχερής ο ακριβής ποσοτικός προσδιορισμός τους και η ερμηνεία των αποτελεσμάτων [178].

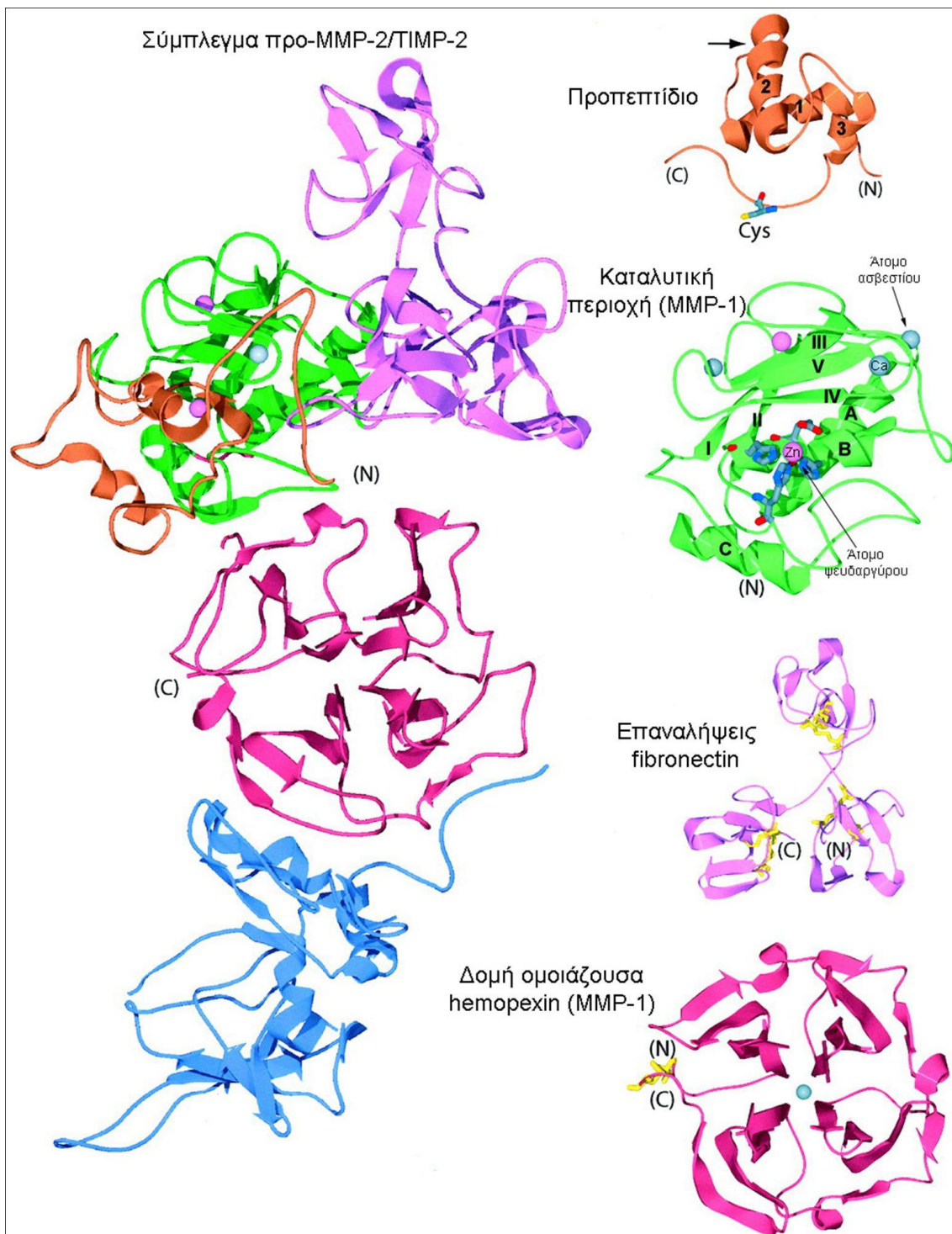
4. ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΕΣ (gelatinases)

4.1. ΣΤΡΩΜΑΤΙΚΕΣ ΜΕΤΑΛΛΟΠΡΩΤΕΪΝΑΣΕΣ

Εκσεσημασμένη ενεργοποίηση φλεγμονώδους εξεργασίας μετά ενδαρθρική λοίμωξη είναι μάλλον υπεύθυνη για την παρατηρηθείσα ιστική καταστροφή. Οι στρωματικές μεταλλοπρωτεΐνάσες (matrix metalloproteinases - MMPs) εμπλέκονται σαφώς στην αιτιοπαθογένεια της ανοσολογικής αυτής αντίδρασης [60, 179]. Επιταχύνοντας την επιστράτευση αποτελεσματικών κυττάρων συμβάλλουν στην εξόντωση των παθογόνων και εξάλειψη της λοίμωξης, την υποχώρηση της φλεγμονής και την ακόλουθη ιστική ανακατασκευή [60]. Οι μεταλλοπρωτεΐνάσες είναι ψευδαργυρικές ενδοπεπτιδάσες οι οποίες διασπούν πεπτιδικούς δεσμούς με τη μεσολάβηση μορίου νερού, παρουσία δισθενών μεταλλικών ιόντων σε ουδέτερο pH.

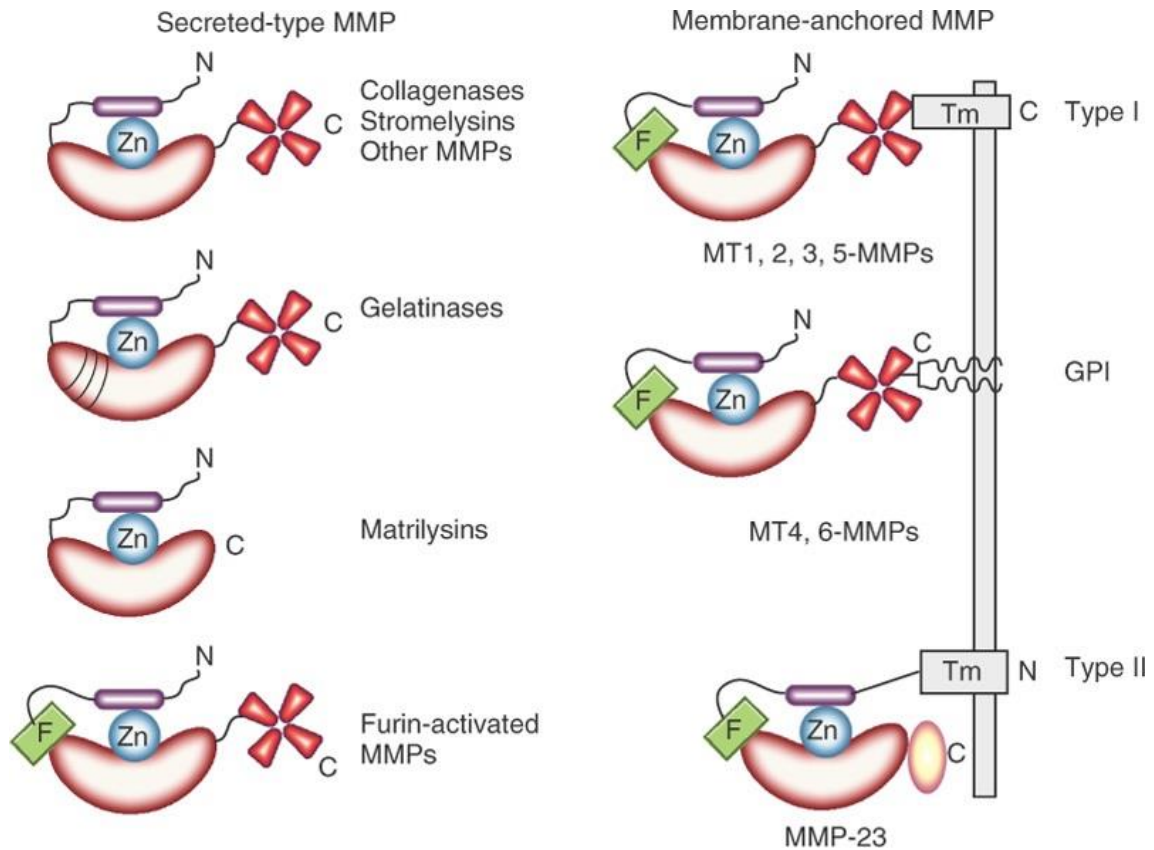
Η ανθρωπεία οικογένεια των MMPs συνίσταται από 24 διαφορετικά μέλη τα οποία κατηγοριοποιούνται σε δύο μείζονες υποομάδες: τις εκκρινόμενες και τις μεμβρανικές. Οι περισσότερες εκκρινόμενες MMPs αποτελούνται από τρεις βασικές δομές –προπεπτιδίο, καταλυτική και hemorexin-ομοιάζουσα– των οποίων προηγούνται υδρόφοβα, σηματοφόρα πεπτιδία [117]. Το άμινο-τελικό άκρο του προπεπτιδίου εμπεριέχει ένα μόριο κυστεΐνης χωρίς δεσμό σε μία συντηρητική αλληλουχία PRCGXPD («διακόπτης κυστεΐνης»). Το μόριο αυτό αλληλεπιδρά με το απαραίτητο για την ενεργότητα του ενζύμου άτομο ψευδαργύρου της καταλυτικής περιοχής, εμποδίζοντας έτσι τη δέσμευση μορίου νερού από το τελευταίο και διατηρώντας το προ-ένζυμο σε μία αδρανή κατάσταση [180, 181]. Η καταλυτική περιοχή περιλαμβάνει τη δεσμεύουσα

ψευδάργυρο αλληλουχία **HEXGHXXGXXH**, της οποίας τα τρία μόρια ιστιδίνης συγκρατούν το άτομο του ψευδαργύρου.



Η καρβόξυ-τελική, hemorexin-ομοιάζουσα δομή έχει σχήμα τεσσάρων λεπίδων. Συνδέεται με την καταλυτική περιοχή με γέφυρα πλούσια σε προλίνη και αλληλεπιδρά με την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. Με τον τρόπο αυτό συντείνει

στον καθορισμό της ειδικότητας αρκετών μεταλλοπρωτεϊνών σε σχέση με το υπόστρωμα. Οι ζελατινάσες έχουν επιπρόσθετες επαναλήψεις fibronectin οι οποίες δεσμεύουν κολλαγόνο τύπου II εντός της καταλυτικής περιοχής, ενώ η MMP-9 διαθέτει εκτός των άλλων, κολλαγόνο V-ομοιάζουσα περιοχή μεταξύ καταλυτικής και hemorexin-ομοιάζουσας δομής αυτής [117].



Πίνακας 4.1

Ανθρώπινα οικογένεια των στρωματικών μεταλλοπρωτεϊνών (human MMPs) [117, 182, 183]

Ομάδα	MMP	Μοριακό βάρος
Εκκρινόμενες		
<u>Collagenases</u>		
Collagenase 1 (διάμεσου ιστού)	MMP-1	52/56*
Collagenase 2 (ουδετεροφιλική)	MMP-8	75*
Collagenase 3	MMP-13	65
Collagenase 4	MMP-18	
<u>Gelatinases</u>		
Gelatinase A	MMP-2	72
Gelatinase B	MMP-9	92*
<u>Stromelysins</u>		
Stromelysin 1	MMP-3	57/59*
Stromelysin 2	MMP-10	56
<u>Matrilysins</u>		
Matrilysin 1	MMP-7	28
Matrilysin 2	MMP-26	28
<u>Ενεργοποιούμενες από furin MMPs</u>		
Stromelysin 3	MMP-11	58
Epilysin	MMP-28	56
<u>Άλλες εκκρινόμενες MMPs</u>		
Metalloelastase	MMP-12	54
RASI-1 (rheumatoid arthritis synovial inflammation)	MMP-19	57
Enamelysin	MMP-20	54
	MMP-21	Άγνωστο

	MMP-27	Άγνωστο
Μεμβρανικές		
<u>Τύπου I διαμεμβρανικές MMPs</u>		
MT1-MMP	MMP-14	66
MT2-MMP	MMP-15	68
MT3-MMP	MMP-16	64
MT5-MMP	MMP-24	63
<u>GPI-συνδεδεμένες MMPs</u>		
MT4-MMP	MMP-17	Άγνωστο
MT6-MMP	MMP-25	Άγνωστο
<u>Τύπου II διαμεμβρανικές MMPs</u>		
	MMP-23	Άγνωστο

Οι MMP-4, MMP-5 και MMP-6 είναι όμοιες με άλλες MMPs.

Η MMP-22 ανιχνεύεται σε όρνιθες.

* Γλυκοζυλιωμένη μορφή

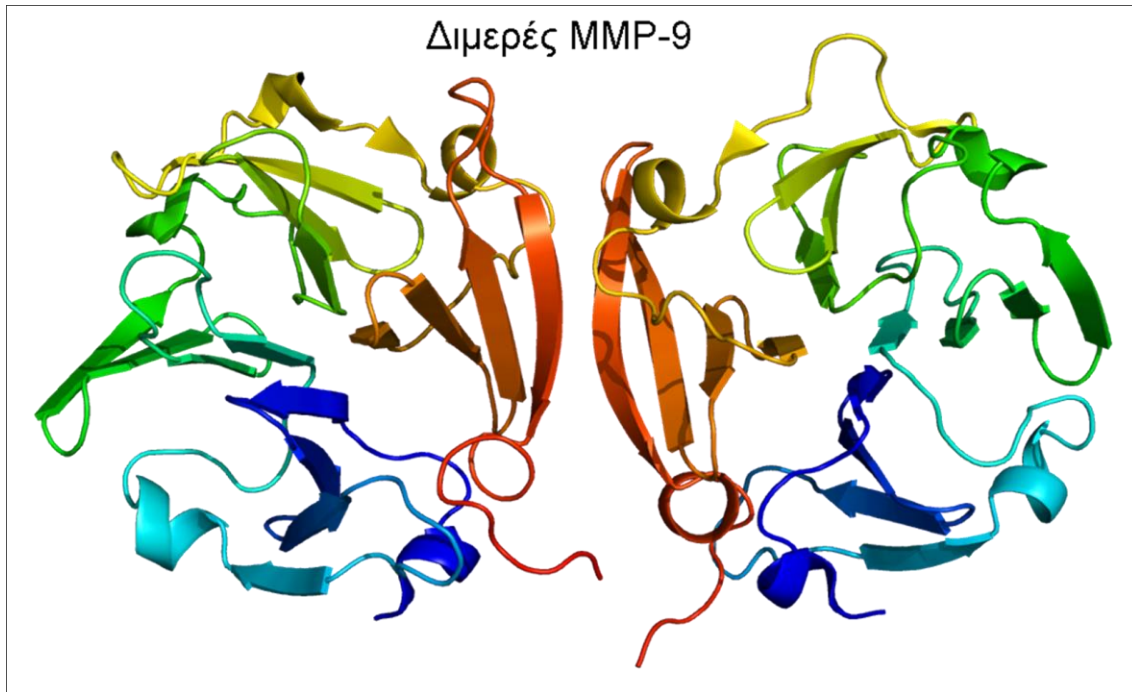
4.2. ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΕΣ

Η MMP-2 (gelatinase A) και η MMP-9 (gelatinase B) ανήκουν στην υποομάδα των ζελατινασών. Αποικοδομούν ζελατίνες και διασπούν κολλαγόνο τύπου IV και V [184 - 186]. Ελαστίνη, aggrecan και συνδετική του χόνδρου πρωτεΐνη (cartilage link protein) αποτελούν επίσης υποστρώματα των ζελατινασών.



Παρά το γεγονός ότι μοιράζονται κοινά υποστρώματα, η δράση τους σε αρκετά μακρομόρια της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας είναι διαφορετική. Μόνο η MMP-2 αποικοδομεί fibronectin και laminin [184], ενώ κολλαγόνο τύπου III και α2 αλυσίδες κολλαγόνου τύπου I διασπώνται μόνο από την MMP-9 [185]. Εκτός των άλλων, οι ζελατινάσες μετατρέπουν άμεσα τον αυξητικό παράγοντα μετασχηματισμού (transforming growth factor - TGF)-β στην ενεργό μορφή του, ενώ διασπούν υποδοχείς του ινοβλαστικού αυξητικού παράγοντα (fibroblast growth factor) τύπου I και υποδοχείς της ιντερλευκίνης IL-2 τύπου α. Ακόμη, με κατάλληλη επεξεργασία η MMP-9 απελευθερώνει ως διαλυτό τον παράγοντα kit

[187]. Τέλος, η MMP-2 παράγει θραύσμα της χημειοτακτικής πρωτεΐνης των μονοκυττάρων (monocyte chemoattractant protein - MCP)-3, αποκόπτοντας 4 αμινοξέα από το άμινο-τελικό άκρο της, το οποίο μπορεί και συνδέεται με τους CC-υποδοχείς χυμοκινών των λευκοκυττάρων ως ανταγωνιστής χυμοκινών ευρέως φάσματος [188].



Πίνακας 4.2**Ανθρώπιες ζελατινάσες [117]**

Gelatinases	Πηγή	Αναστολέας
Gelatinase A (MMP-2)	Ινοβλάστες, χονδροκύτταρα, μακροφάγα, μεσαγγειακά, ενδοθηλιακά κύτταρα.	TIMPs, RECK
Gelatinase B (MMP-9)	Ουδετερόφιλα, μακροφάγα, T λεμφοκύτταρα, οστεοκλάστες, τροφοβλαστικά, καρκινικά κύτταρα.	TIMPs

RECK: πρωτεΐνη, επαγωγέας της αναστροφής, πλούσια σε κυστεΐνη με αλληλουχίες Kazal.

Πίνακας 4.3**Υποστρώματα των ανθρώπινων ζελατινών [117, 186, 189, 190]**

Gelatinases	Υποστρώματα της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας	Υποστρώματα που δεν ανήκουν στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία
Gelatinase A (MMP-2)	Gelatin, collagens I, II, III, IV, V, VII, X, XI, laminin, fibronectin, elastin, entactin, vitronectin, tenascin, osteonectin, aggrecan, link protein, galectin-3, versican, decorin, myelin basic protein, β -amyloid protein precursor, fibrillin, fibulins.	α_1 -PI, α_2 -macroglobulin, α_1 -antichymotrypsin, IL-1 β , pro-TNF- α , IGF-BP-3, IGF-BP-5, substance P, serum amyloid A, proMMP-1, proMMP-2, proMMP-9, proMMP-13, latent TGF- β , FGFr I, MCP-3, endothelin-1, plasminogen.
Gelatinase B (MMP-9)	Gelatin, collagens III, IV, V, XI, XIV, elastin, vitronectin, laminin, osteonectin, aggrecan, entactin, link protein, galectin-3, versican, decorin, myelin basic protein, fibrillin.	α_2 -macroglobulin, ovostatin, α_1 -PI, pro-TNF- α , substance P, casein, carboxymethylated-transferrin, angiotensin I & II, plasminogen, pro-TGF- β_2 , IL-2r α , Kit-L, IGF-BP-3, IL-1 β , release of VEGF.

4.3. ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΖΕΛΑΤΙΝΑΣΩΝ

Όλες οι στρωματικές μεταλλοπρωτεΐνάσες συντίθενται ως προ-πρόενζυμα, ενώ πολλές εκκρίνονται από τα κύτταρα ως πρόενζυμα. Τα ζυμογόνα της πλειονότητας αυτών είναι δυνατό να ενεργοποιηθούν από πρωτεΐνάσες και μη-πρωτεολυτικές ενώσεις, όπως

SH τροποποιητικά αντιδραστήρια:

- HgCl₂, 4-aminophenylmercuricacetate - APMA και άλλες ενώσεις υδραργύρου
- iodoacetamide
- N-ethylmaleimide
- υποχλωριώδες οξύ
- οξειδωμένη γλουταθειόνη

μετουσιωτικοί παράγοντες:

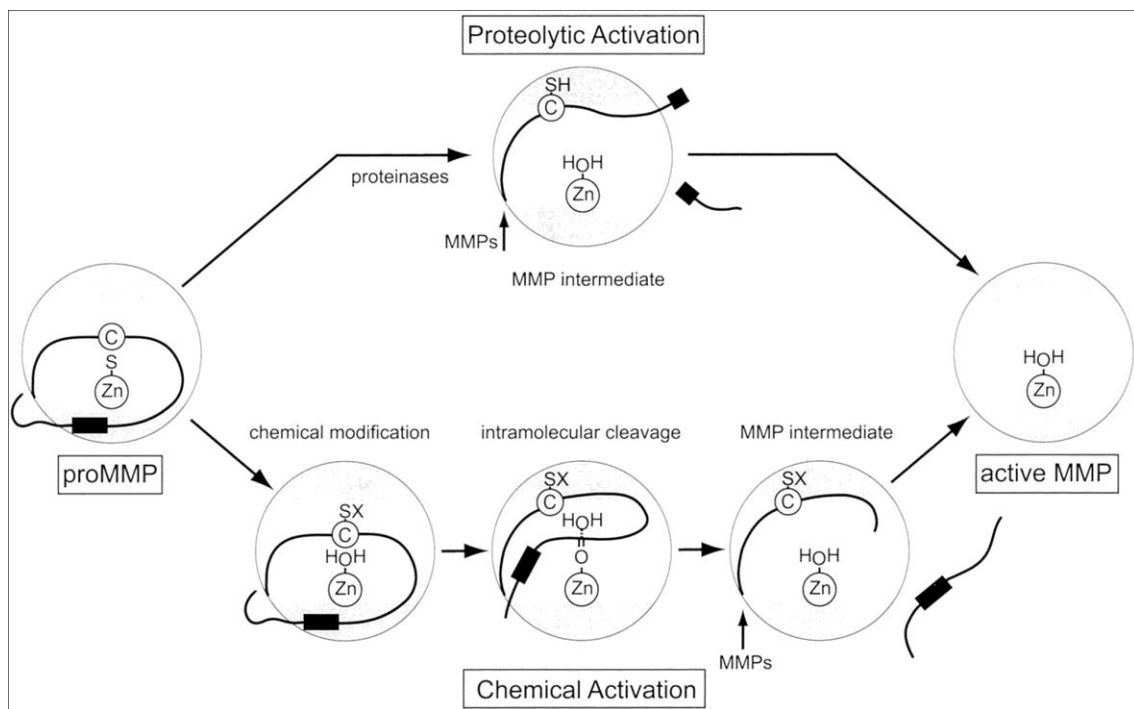
- ουρία,
- sodium dodecyl sulphate - SDS,
- NaSCN,

άλλοι χαστροπικοί παράγοντες,

ενεργείς μορφές οξυγόνου (reactive oxygen species - ROS) και φυσικούς παράγοντες, όπως η έκθεση σε θερμότητα και όξινο περιβάλλον [186, 189, 191]. Είναι πιθανό η ενεργοποίηση των MMPs του ξενιστή από βακτηριακά οξέα να επιτείνει έτι περαιτέρω την καταστροφή της άρθρωσης [192].

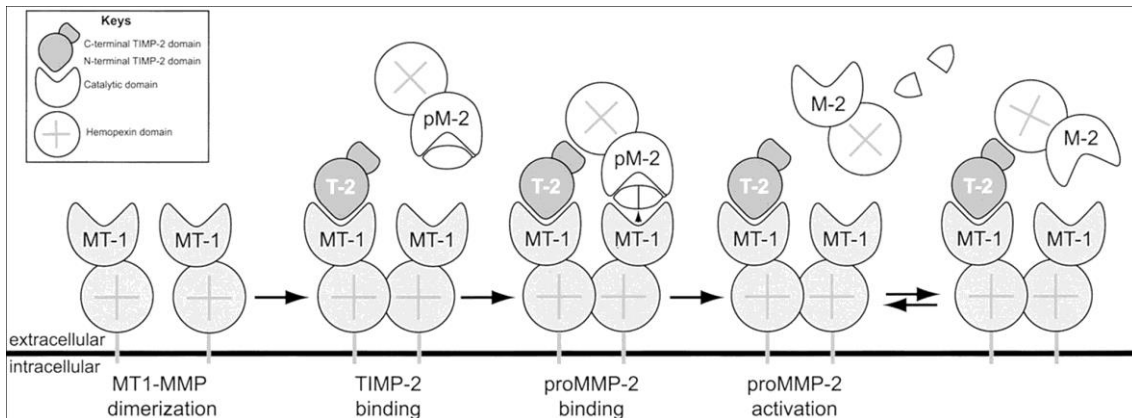
Η ενεργοποίηση των προζελατινασών πραγματοποιείται σε στάδια και απαιτεί πρωτεολυτική απομάκρυνση του προπεπτιδίου. Υπάρχουν δύο οδοί ενεργοποίησης –η εξωκυτάρια και η περικυτάρια. Η εξωκυτάρια έχει ως

αφετηρία τη διακοπή της αλληλεπίδρασης κυστεΐνης του προπεπτιδίου και ιόντος ψευδαργύρου της καταλυτικής περιοχής (Cys-Zn^{+2}) και ολοκληρώνεται με αυτοκαταλυτική επεξεργασία [186, 189]. Αρχικά, μία πρωτεΐνάση επιτίθεται ενάντια μίας περιοχής «δολώματος» ('bait' region) στο μέσο του προπεπτιδίου. Παρουσία APMA ή άλλων παραγόντων, η αρχική απομάκρυνση του αμινοτελικού άκρου του προπεπτιδίου πραγματοποιείται με ενδομοριακή αντίδραση [193, 194]. Το τελικό βήμα προϋποθέτει τη δράση μίας MMP ή ενός ενδιάμεσου μερικώς ενεργού μορίου αυτής [194, 195]. Σε ό,τι αφορά στην προζελατινάση B (proMMP-9), αναφέρεται ενεργοποίησή της διά S-nitrosylation με τη μεσολάβηση μονοξειδίου του αζώτου (NO) [196].



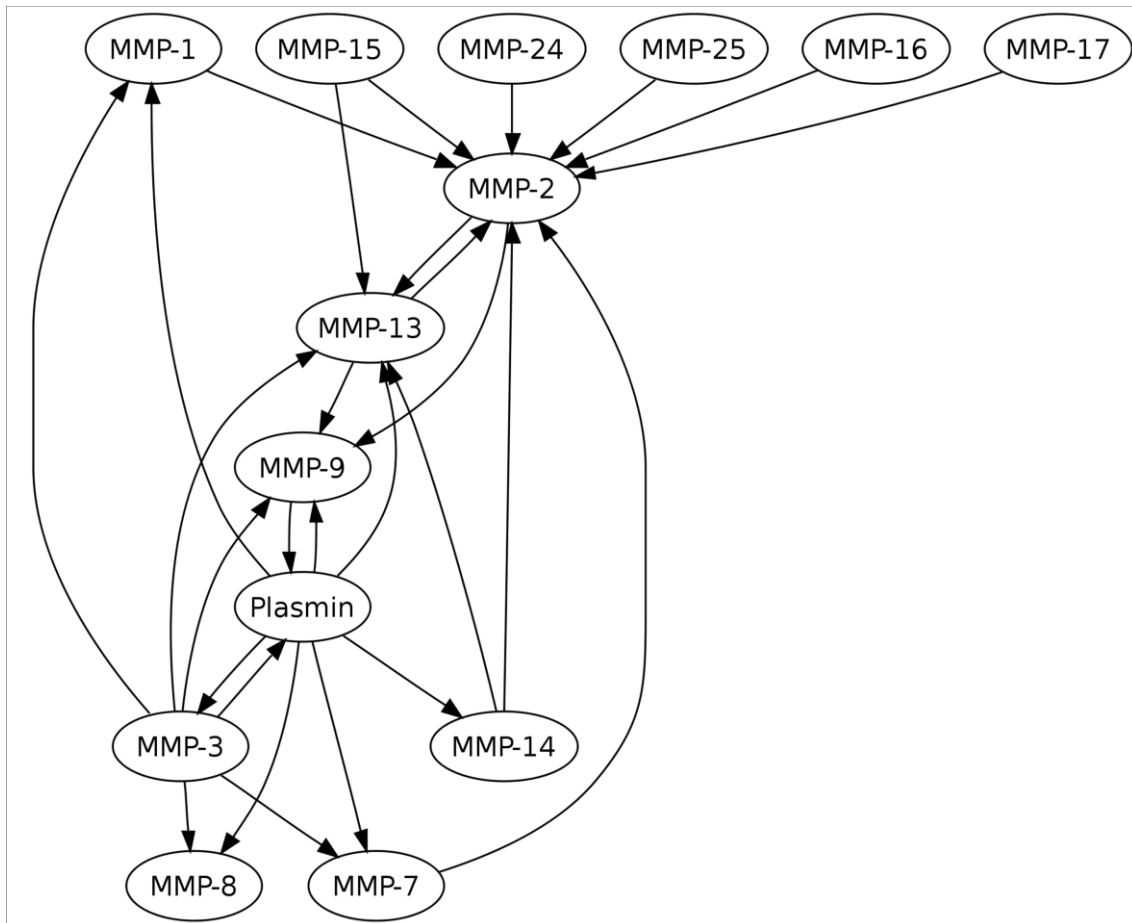
Η προζελατινάση A (proMMP-2) ξεχωρίζει μεταξύ των MMPs, καθώς ενεργοποιείται περικυτταρίως από τις μεμβρανικές MT1-MMP, MT2-MMP, MT3-MMP, MT5-MMP και MT6-MMP και όχι από τις συνήθεις ενδοπεπτιδάσες (πρωτεΐνάσες σερίνης και άλλες MMPs) [184, 197]. Η MT1-MMP διασπά το δεσμό μεταξύ $\text{Asn}_{[37]}$ - $\text{Leu}_{[38]}$ του προπεπτιδίου της proMMP-2, προκαλώντας τη

δημιουργία μίας ενδιάμεσης μορφής η οποία μετατρέπεται στο πλήρως ενεργοποιημένο ένζυμο με ενδομοριακό αυτοκαταλυτικό μηχανισμό [198]. Απαραίτητη προϋπόθεση για την αποτελεσματική περικυτάρια ενεργοποίηση της proMMP-2 από την MT1-MMP είναι η δημιουργία συμπλόκου proMMP-2/TIMP-2 (tissue inhibitor of metalloproteinase-2) [199, 200] και ο διμερισμός της MT1-MMP με αλληλεπίδραση των καρβόξυ-τελικών, ομοιάζουσων hemopexin δομών [201]. Η MT1-MMP συλλαμβάνει την proMMP-2 στην επιφάνεια κυτταρικών μεμβρανών, διά σχηματισμού τριμοριακού συμπλέγματος μεταξύ καταλυτικής περιοχής της ίδιας και του άμινο-τελικού άκρου του TIMP-2 του συμπλόκου. Με τον τρόπο αυτό, το τριαδικό σύμπλεγμα δρα ως μέσο συμπύκνωσης του υποστρώματος και παρουσίασης αυτού σε γειτονικά ενεργά μόρια MT1-MMP που δεν αναστέλλονται από TIMPs [199, 200].



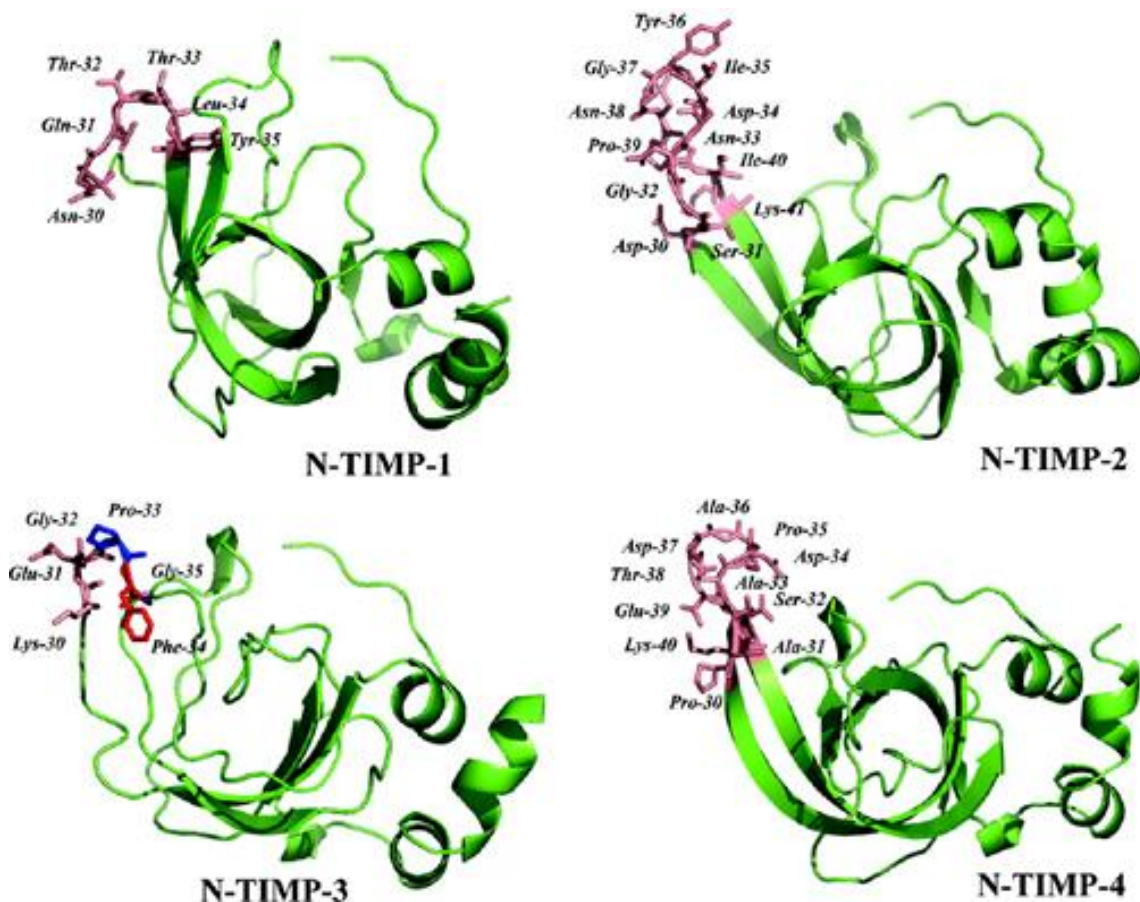
Πίνακας 4.4**Ενεργοποίηση των προζελατινασών [186, 202-209]**

Ζυμογόνο	Ενεργοποίηση	
	Αρχικό στάδιο	Τελικό στάδιο
proMMP-2	MMP-1, MT1-MMP, MT2-MMP, MT3-MMP, MT5-MMP, MT6-MMP	MMP-2, MMP-7
proMMP-9	MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-10, MMP-13, θρυψίνη, χυμοθρυψίνη, καθεψίνη G, ιστική καλλικρεΐνη	MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-7, MMP-10, MMP-13

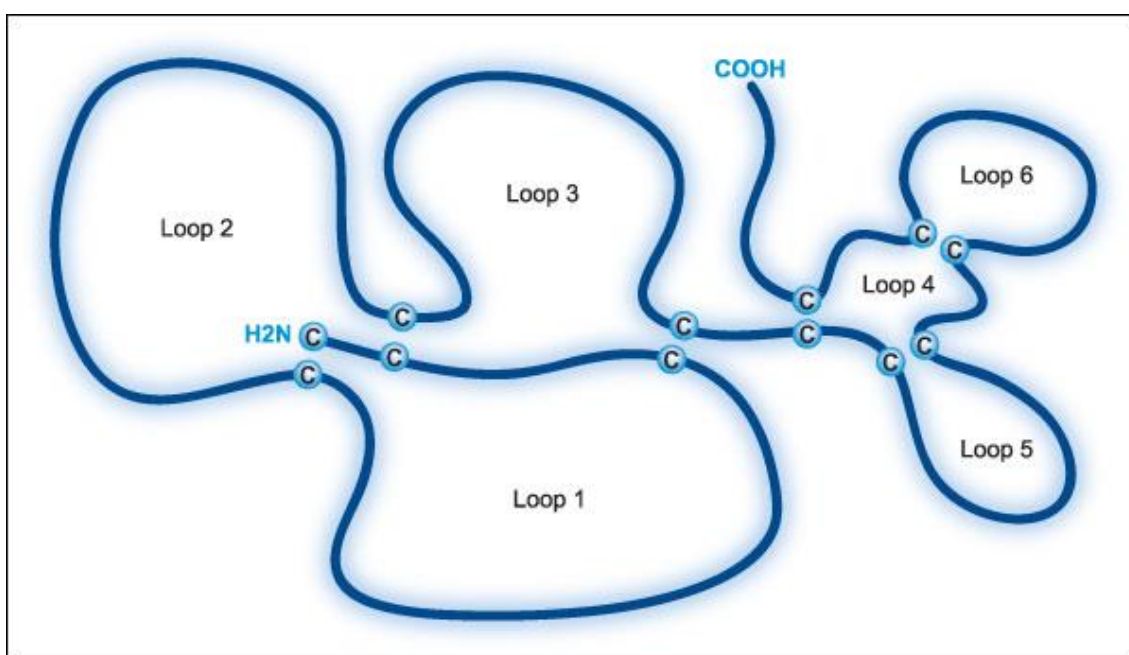


4.4. ΕΝΔΟΓΕΝΕΙΣ ΑΝΑΣΤΟΛΕΙΣ ΠΡΩΤΕΪΝΑΣΩΝ

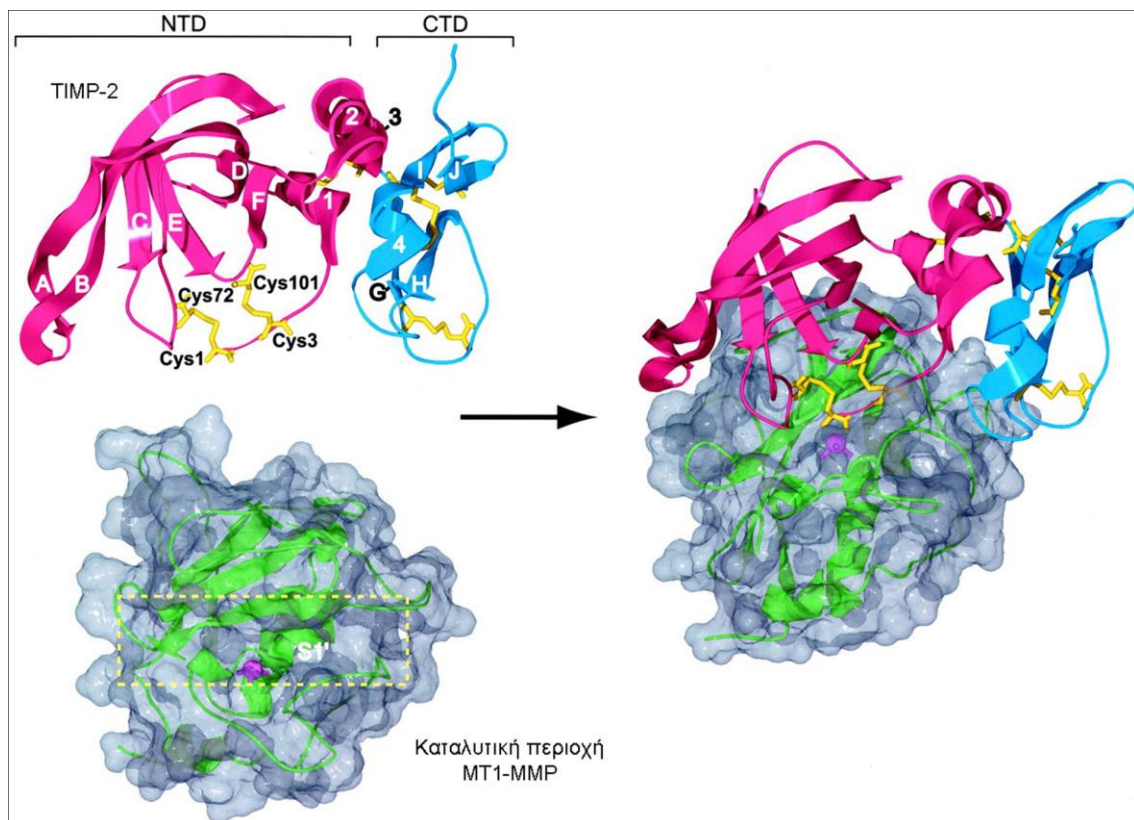
Οι ενδογενείς αναστολείς των πρωτεϊνάσων ρυθμίζουν τη δράση των ενζύμων αυτών *in vivo*. Οι αναστολείς προέρχονται από το πλάσμα ή κύτταρα τοπικών ιστών. Στην πλειονότητά τους είναι ειδικοί για συγκεκριμένη τάξη, εκτός της α₂-μακροσφαιρίνης (α₂-macroglobulin) η οποία αναστέλλει τη δράση σχεδόν όλων των πρωτεϊνάσων. Εξαιτίας του μεγάλου μοριακού βάρους (~725 kDa, αποτελούμενη από 4 όμοιες υπομονάδες των 180 kDa), η α₂-μακροσφαιρίνη δεν είναι παρούσα σε μη φλεγμονώδες αρθρικό υγρό. Μόνο διάρκεια φλεγμονής του αρθρικού υμένα είναι δυνατή η είσδυση αυτής εντός της αρθρικής κοιλότητας [117]. Αναστέλλει τις MMPs παγιδεύοντας αυτές μέσα στο μόριό της, ενώ το σύμπλεγμα καθαίρεται άμεσα με ενδοκύτωση με τη μεσολάβηση συγκεκριμένων υποδοχέων (LDL receptor-related protein-1) [210].



Οι ιστικοί αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών (tissue inhibitors of metalloproteinases - TIMPs) συνιστούν μία γονιδιακή οικογένεια η οποία αποτελείται από τέσσερα διαφορετικά μέλη με ομοιότητα αλληλουχιών της τάξεως του 40% με 50% και μοριακά βάρη που κυμαίνονται μεταξύ 21 και 28 kDa στο ανθρώπινο είδος (TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 και TIMP-4) [189, 211 - 214]. Οι TIMPs είναι εκκρινόμενες πρωτεΐνες· είναι πιθανή όμως, η ανίχνευσή τους σε κυτταρικές επιφάνειες συνδεδεμένες με άλλες διαμεμβρανικές πρωτεΐνες (TIMP-2, TIMP-3 & TIMP-4/MT1-MMP) [215]. Εξάιρεση αποτελεί ο TIMP-3 ο οποίος περιορίζεται στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία ενωμένος με θειικές γλυκοζαμινογλυκάνες (θειική ηπαράνη και πιθανώς, θειική χονδροϊτίνη) [216]. Πρακτικά, όλοι οι TIMPs αναστέλλουν τη δράση των MMPs, δεσμεύοντας τα ενεργά μόρια σε μοριακή αναλογία 1:1, προκειμένου να σχηματίσουν ισχυρά ετεροπολικά συνδεδεμένα συμπλέγματα. Τα μόρια των TIMP αποτελούνται από δύο διακριτές δομικές περιοχές: την άμινο-τελική η οποία περιλαμβάνει τις αγκύλες 1 έως 3 και την καρβόξυ-τελική (αγκύλες 4 έως 6). Το άμινο-τελικό άκρο είναι υπεύθυνο για την ανασταλτική των MMPs δράση.



Εκτός των άλλων, οι TIMP-1 και TIMP-2 σχηματίζουν συμπλέγματα με τις proMMP-9 και proMMP-2 αντίστοιχα (proMMP-9/TIMP-1 & proMMP-2/TIMP-2). Παρόμοιος σχηματισμός συμπλέγματος έχει παρατηρηθεί μεταξύ TIMP-4 και proMMP-2. Ακριβώς επειδή τα μόρια συνδέονται με αλληλεπίδραση των καρβόξυ-τελικών άκρων τους, οι TIMPs των εν λόγω συμπλεγμάτων διατηρούν την ανασταλτική τους δράση έναντι των MMPs [211]. Αντιθέτως, η ενεργοποίηση των proMMP-9 και proMMP-2 καταστέλλεται στις σύμπλοκες μορφές, αποτελώντας ρυθμιστική δικλείδα ασφαλείας [185].



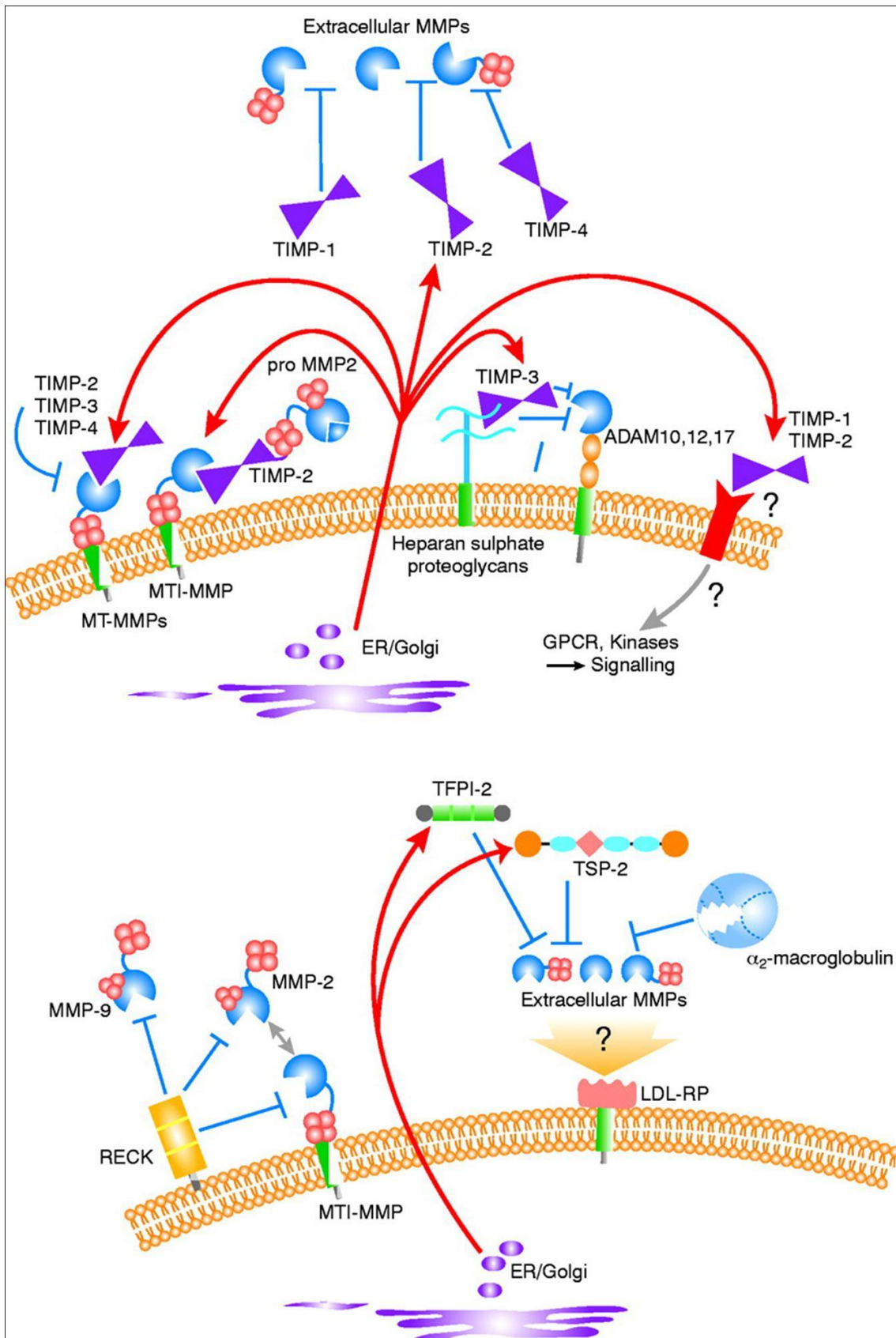
Ένας ακόμη σχετικά νέος αναστολέας των MMPs είναι ο RECK (πρωτεΐνη, επαγωγέας της αναστροφής, πλούσια σε κυστεΐνη με αλληλουχίες Kazal). Η GPI (glycophosphatidylinositol)-γλυκοπρωτεΐνη αυτή διαθέτει τρεις ενεργείς περιοχές (αναστολέα πρωτεϊνών, σερίνης-ομοιάζουσες) και αναστέλλει τη δράση της MMP-2, MMP-9 και MT1-MMP [216].

Ως αναστολείς κύρια της MMP-2 αναφέρονται οι διαλυτές μορφές της α_1 -αντιθρυψίνης και της πρόδρομης πρωτεΐνης του β -αμυλοειδούς [182, 210]. Η θρομβοσπονδίνη-2 σχηματίζει συμπλέγματα με την MMP-2, τα οποία διευκολύνουν την κάθαρση της τελευταίας με ενδοκύτωση (scavenger receptors) [215]. Παρομοίως, η θρομβοσπονδίνη-1 αναστέλλει την ενεργοποίηση των proMMP-2 και proMMP-9, ενώ φαίνεται ότι ρυθμίζει την παραγωγή MMP-2 [218]. Τέλος, ένας αριθμός πρωτεϊνών οι οποίες περιέχουν αλληλουχίες με κάποια ομοιότητα ως προς το άμινο-τελικό άκρο των TIMPs (TIMP-like molecules) είναι δυνατό να δρουν ως αναστολείς των MMPs:

- netrins,
- secreted frizzled-related proteins,
- type I collagen C-proteinase enhancer protein (PCPE),
- tissue factor pathway inhibitor 2 (TFPI-2) [215].

Πίνακας 4.5

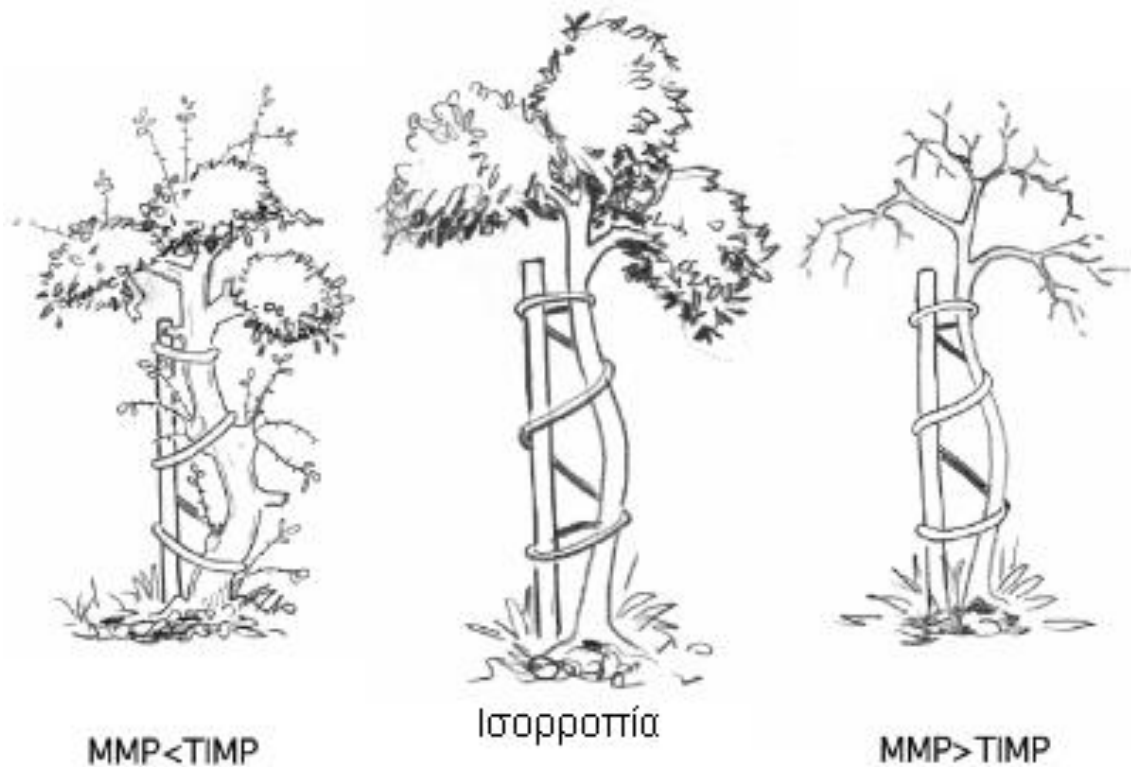
Αναστολείς των μεταλλοπρωτεϊνών [117]



Αναστολέας	Μοριακό βάρος (kD)	Πηγή	Ένζυμο-στόχος
α ₂ -μακροσφαιρίνη	725	Πλάσμα (ήπαρ), μακροφάγα, ινοβλάστες.	Η πλειονότητα των πρωτεϊνών
TIMP-1	28	Κύτταρα συνδετικού ιστού, μακροφάγα.	MMPs
TIMP-2	22	Κύτταρα συνδετικού ιστού, μακροφάγα.	MMPs
TIMP-3	21/24	Ινοβλάστες, κύτταρα αρθρικού υμένα.	MMPs, ADAMs, ADAMTS
TIMP-4	21	Καρδιά, εγκέφαλος, όρχεις.	MMPs
RECK	Άγνωστο	Κύτταρα πολλών ιστών, ινοβλάστες.	MMP-2, MMP-9, MT1-MMP

4.5. ΡΥΘΜΙΣΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΡΑΣΗΣ ΤΩΝ ΠΡΩΤΕΪΝΑΣΩΝ

Η δράση των αποικοδομούντων την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία πρωτεΐναςών στους ιστούς ρυθμίζεται από την ισορροπία μεταξύ πρωτεΐναςών και των αναστολέων τους.

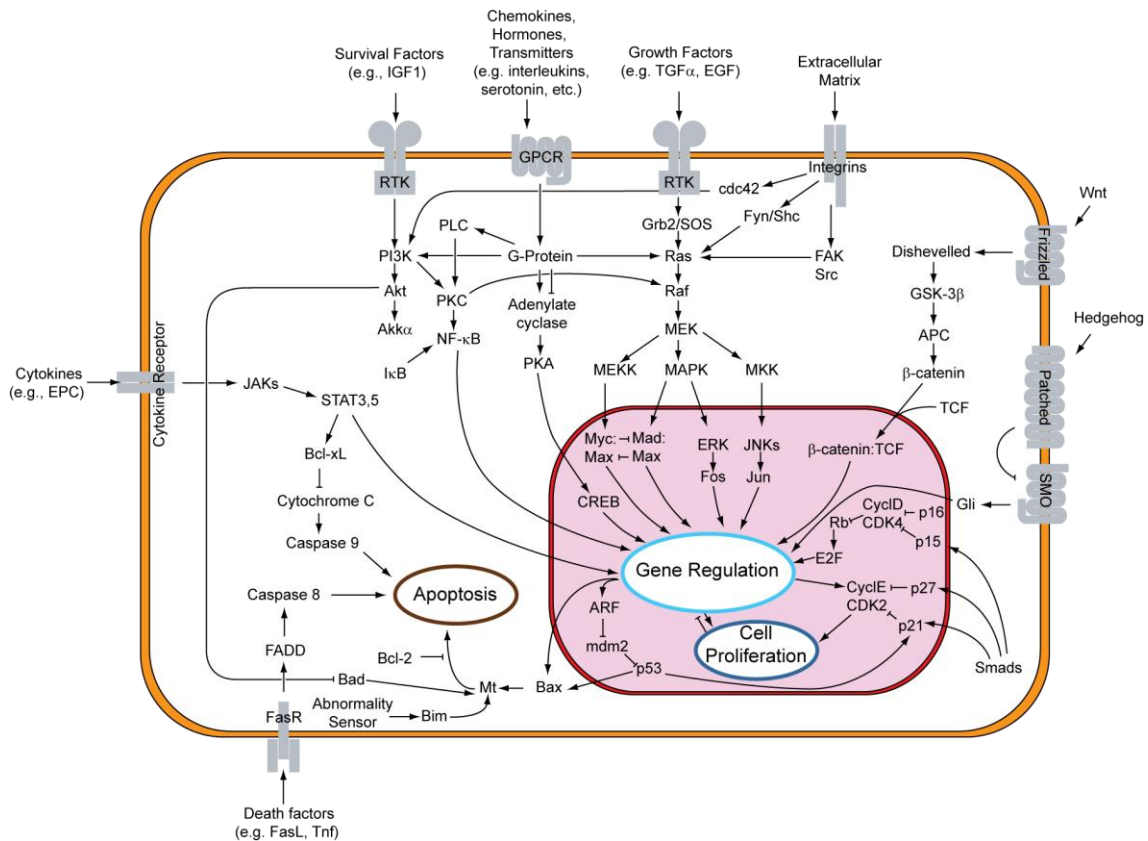


Η ισορροπία αυτή, τοπικά, εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες, συμπεριλαμβανομένου:

- του ρυθμού παραγωγής πρωτεΐναςών και αναστολέων,
- της έκκρισης αυτών,
- της ενεργοποίησης των προενζύμων και
- των συστημάτων πρόσδεσης των ενεργοποιημένων πρωτεΐναςών σε κυτταρικές και άλλες επιφάνειες.

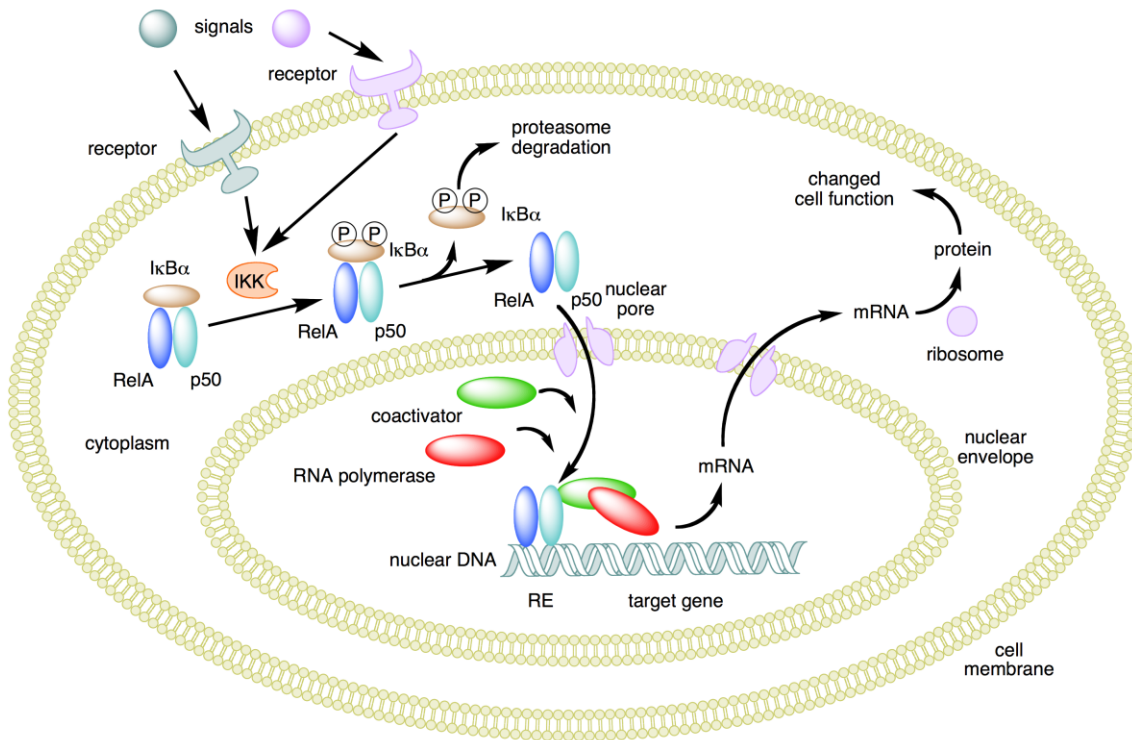
Κύριος ρυθμιστικός μηχανισμός του ενδοκυττάριου ρυθμού παραγωγής πρωτεΐναςών και αναστολέων αποτελεί η γονιδιακή τους έκφραση. Κανένας

τύπος κυττάρου, εκτός των φλεγμονωδών, δεν παράγει MMPs ή TIMPs υπό κανονικές συνθήκες [117]. Παρά ταύτα, η έκφραση αυτών διεγείρεται σε παθολογικές καταστάσεις από πλήθος παραγόντων, όπως κυτοκίνες, αυξητικοί παράγοντες, χημικά και φυσικά ερεθίσματα, αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρων ή μεταξύ κυττάρων και εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας [117, 182].



Η μεταγραφή της MMP-9, βασικού μορίου της επίκτητης και ενδογενούς ανοσίας [219] υπόκειται στον κανονιστικό ρόλο της AP-1 (activator protein-1) και του NF-κB (nuclear factor-κB). Η AP-1 αποτελείται από δύο DNA-δεσμεύουσες υποομάδες -c-jun και c-fos [179]. Οι παράγοντες αυτοί της AP-1 ενεργοποιούνται διά μεταγωγής σημάτων με τη μεσολάβηση ενεργοποιούμενης από μιτογόνα πρωτεϊνικής κινάσης (mitogen-activated protein kinase - MAPK), παρά το ότι η συμμετοχή άλλων οδών, όπως εκείνη της προσταγλανδίνης E2 (PGE2)/κυκλικού AMP δεν αποκλείεται [67, 220]. Ο NF-κB εντοπίζεται στο κυτταρόπλασμα προσδεσμένος στον αναστολέα του, IκB. Ποικιλία

ερεθισμάτων, συμπεριλαμβανομένων βακτηριακών προϊόντων και κυττοκινών, είναι δυνατόν να οδηγήσουν σε αποικοδόμηση του IκB. Ο ενεργοποιημένος πλέον NF-κB εισέρχεται στον πυρήνα, δεσμεύεται σε συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA (GGGGYNNCCY) και ενεργοποιεί τη μεταγραφή [221].



Η πρόδρομη και ενεργοποιημένη μορφή της MMP-2 και η proMMP-9 μπορούν και συνδέονται με θειικές γλυκοζαμινογλυκάνες, ιδιαίτερα τη θειική ηπαράνη. Με τον τρόπο αυτό:

- παρεμποδίζεται οποιαδήποτε απώλεια εκκρινόμενης ποσότητας ενζύμου στον εξωκυττάριο χώρο,
- παρέχεται δεξαμενή αδρανούς ενζύμου για επακόλουθη, άμεση χρήση,
- διευκολύνεται η κυτταρική αλληλεπίδραση με το περιβάλλον και ρύθμιση των επιπέδων των ενζύμων μέσω υποδοχέων και ιντεγκρινών.

Εκτός των άλλων, οι ζελατινάσες δεσμεύονται από πρωτεΐνες επιφανείας των κυτταρικών μεμβρανών –η MMP-2 από ανβ3 ιντεγκρίνη και caveolin-1 [222, 223] και η MMP-9 από CD44 [224]. Ο μηχανισμός πρόσδεσης των ενζύμων σε κυτταρικές επιφάνειες χρησιμοποιείται από τα κύτταρα προκειμένου να κατευθύνουν τη δράση τους έναντι συγκεκριμένων μορίων ή και ιστών-στόχων [190, 225]. Ως εκ τούτου, οι MMPs είναι δυνατό να συμβάλουν στη ρύθμιση πρωτεϊνών της κυτταρικής επιφανείας και την κινητοποίηση - μετανάστευση των κυττάρων μέσω αποικοδόμησης συνδετικών πρωτεϊνών και συμπλεγμάτων προσκόλλησης στο κολλαγονικό υπόστρωμα, εμποδίζοντας περαιτέρω συγκέντρωση αυτών στο άμεσο κυτταρικό περιβάλλον [190]. Επίσης, αύξηση συγκέντρωσης MMPs στην επιφάνεια των κυττάρων συνεπάγεται ενεργοποίηση άλλων ή των αδρανών μορίων από άλλες πρωτεΐνάσες. Τέλος, η MMP-2 και MMP-9 δεσμεύουν ηπαρίνη διά της hemorexin-ομοιάζουσας δομής προάγοντας αλληλεπιδράσεις μεταξύ των MMPs διάρκεια ενεργοποίησης των πρόδρομων μορφών [225].

Πίνακας 4.6

Παράγοντες οι οποίοι διαφοροποιούν τη σύνθεση των ζελατινών και των αναστολέων τους [117]

Ένζυμο ή TIMP	Παράγων διέγερσης	Παράγων καταστολής
MMP-2	TGF-β, concanavalin A, H-ras μετασχηματισμός, extracellular MMP inducer (EMMPRIN/CD147/basigin/M6 antigen).	Αδενοϊός E1A.
MMP-9	IL-1, TNF-α, EGF, TGF-β, TPA, H-ras, v-Src, SPARC (osteonectin/BM40).	Ρετινοϊκό οξύ, αδενοϊός E1A.
TIMP-1	IL-1, IL-6, IL-11, TPA, TGF-β, TNF-α, ρετινοϊκό οξύ, LPS, προγεστερόνη, οιστρογόνα, ογκογενετικός μετασχηματισμός, ιογενής λοίμωξη.	Εξωκυττάρια θεμέλια ουσία, cytochalasins.
TIMP-2	Προγεστερόνη.	TGF-β, LPS.
TIMP-3	EGF, TGF-β, TPA, TNF-α, γλυκοκορτικοειδή, oncostatin M.	Άγνωστοι.

TPA: 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate

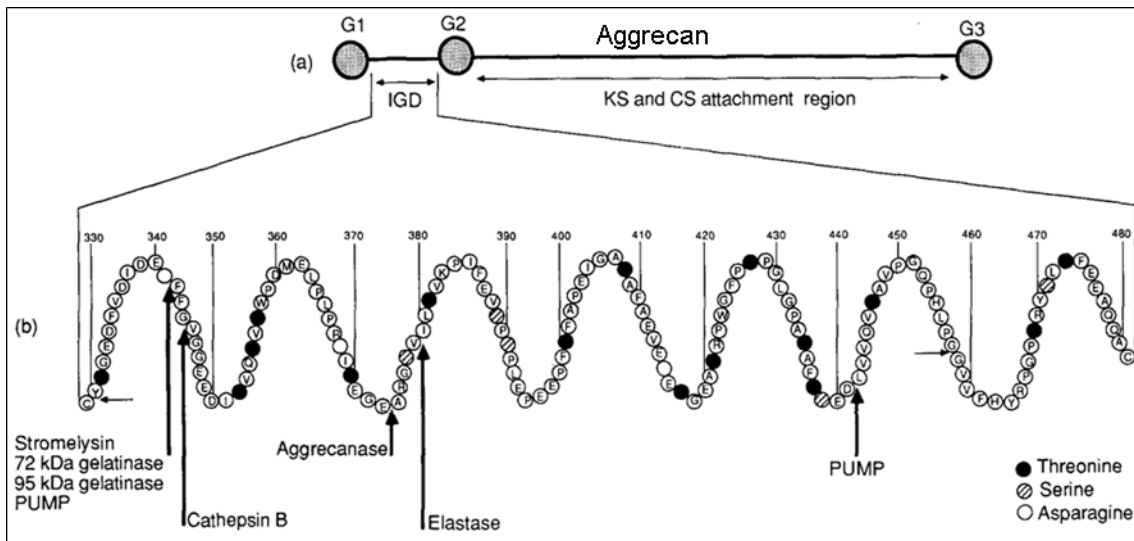
5. ΣΗΠΤΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΚΑΙ ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΕΣ

5.1. ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΞΩΚΥΤΤΑΡΙΑΣ ΘΕΜΕΛΙΑΣ ΟΥΣΙΑΣ ΣΤΟΝ ΑΡΘΡΙΚΟ ΧΟΝΔΡΟ

Κατά την καταστρεπτική εξέλιξη μίας σηπτικής αρθρίτιδας, ο αρθρικός χόνδρος είναι ο κύριος ιστός-στόχος. Η εκσεσημασμένη αποικοδόμηση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας αυτού από πρωτεΐνες θεωρείται κριτικής σημασίας. Ιστολογικά, συνήθης αρχική μεταβολή αποτελεί η εξάλειψη των πρωτεογλυκανών, ακολουθούμενη από διάσπαση των ινιδίων του κολλαγόνου. Ως εκ των ανωτέρω, παρατηρείται δευτερογενής θυσσανοποίηση και δημιουργία ρωγμών στις αρθρικές επιφάνειες, εξαιτίας της καταστροφής του δομικού σκελετού των ινιδίων [117].

Η aggrecan, βασική πρωτεογλυκάνη του αρθρικού χόνδρου, αποικοδομείται ευχερώς από τις ζελατινάσες. Ακριβώς επειδή η MMP-2 και MMP-9 διασπούν κατά προτίμηση το δεσμό Asn_[341]-Phe_[342] ο οποίος εντοπίζεται στο εσωτερικό της σφαιρικής δομής G1-G2 των aggrecans, μετά τη διάσπαση, τμήματα που φέρουν τη μεγαλύτερη μάζα γλυκοζαμινογλυκανών αποκολλώνται από τη θέση δέσμευσης του υαλουρονικού οξέως (G1 περιοχή) και απελευθερώνονται από τη θεμέλια ουσία του χόνδρου [226, 227]. Παρά ταύτα, δεν είναι ακόμη σαφές εάν οι MMPs και οι ADAMTS (a disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs), μία άλλη τάξη πρωτεϊνών, παίζουν διαφορετικό ή συμπληρωματικό ρόλο σε ό,τι αφορά στην αποικοδόμηση των aggrecans. Εκτός των άλλων, η MMP-2 διασπά την decorin, μία πανταχού παρούσα στο εξωκυττάριο περιβάλλον πρωτεογλυκάνη, πλούσια

σε επαναλήψεις λευκίνης, η οποία αποτελείται από έναν πρωτεϊνικό πυρήνα συνδεδεμένο με μία μοναδική αλυσίδα γλυκοζαμινογλυκάνης θειικής δερματάνης ή χονδροϊτίνης [228]. Περιορισμένες πληροφορίες είναι διαθέσιμες σχετικά με την αποικοδόμηση άλλων πρωτεογλυκανών του αρθρικού χόνδρου [fibromodulin, lumican, biglycan, PRELP (πλούσια σε επαναλήψεις αργινίνης και λευκίνης πρωτεΐνη), chondroadherin, syndecan].

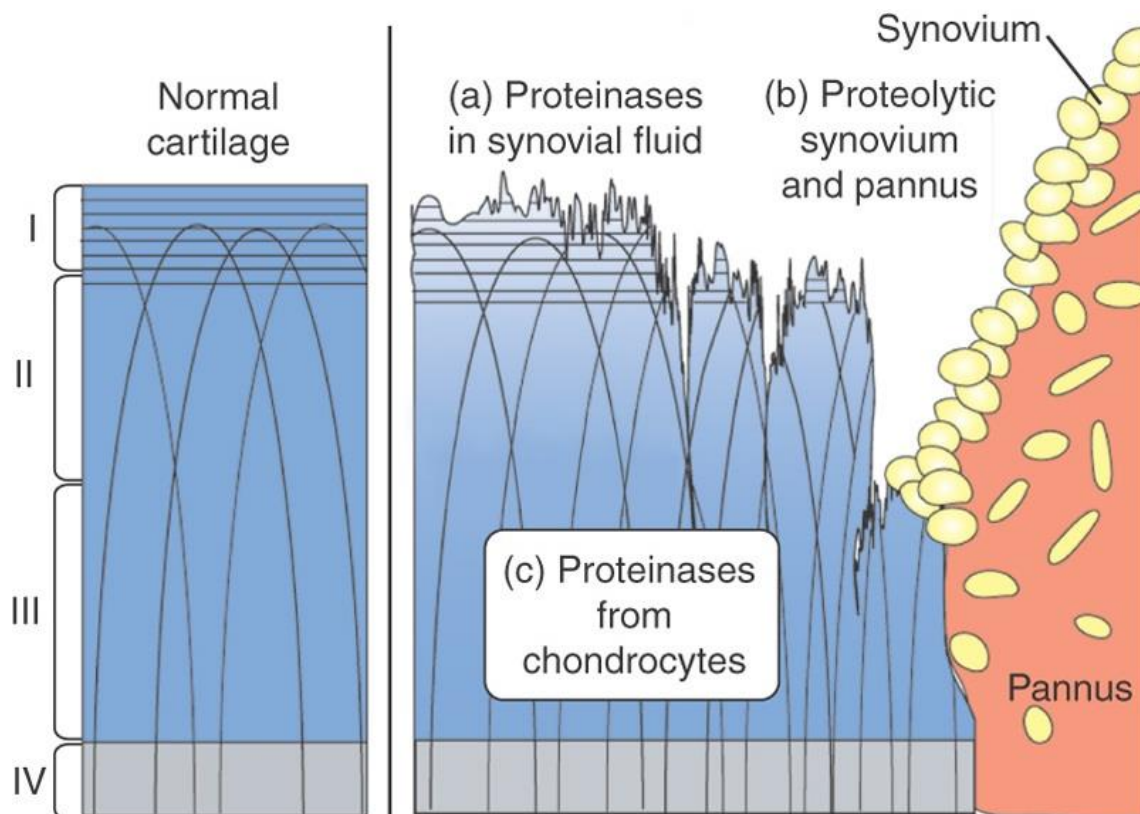


Η πλειοψηφία των ινιδίων κολλαγόνου του διάμεσου ιστού (κολλαγόνο τύπου I, II και III) είναι εξαιρετικά ανθεκτική έναντι των περισσότερων πρωτεϊνών, λόγω της τριπλής ελικοειδούς δομής τους. Εντούτοις, το κολλαγόνο τύπου III διασπάται από την MMP-9 [185]. Η απομάκρυνση των τελοπεπτιδίων χάριν της δράσης τελοπεπτιδάσης της MMP-9 κρίνεται απαραίτητη για τον αποπολυμερισμό των διασταυρούμενων ινιδίων [117]. Όταν συμβεί, οι ελικοειδείς δομές αυτών ξετυλίγονται στους 37°C (θερμοκρασία σώματος) και μετουσιώνονται σε ζελατίνες οι οποίες πέπτονται σε μικρότερου μεγέθους πεπτιδία από τις ζελατινάσες (MMP-2 και MMP-9). Κολλαγόνο τύπου V αποικοδομείται από την MMP-2 και την MMP-9 [184, 185], ενώ τύπου X και XI μόνο από την MMP-2. Τέλος, η fibronectin διασπάται από την MMP-2, ενώ η συνδετική πρωτεΐνη και από τις δύο.

5.2. ΠΗΓΗ ΤΩΝ ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΩΝ

Σε περίπτωση μικροβιακής προσβολής μίας άρθρωσης, ο αρθρικός χόνδρος καταστρέφεται από πρωτεϊνάσες με τρεις τρόπους:

- καταστροφή της αρθρικής επιφάνειας από πρωτεϊνάσες παρούσες στο αρθρικό υγρό,
- καταστροφή διά της άμεσης επαφής του χόνδρου με τον πρωτεολυτικό αρθρικό υμένα ή τον επιθετικό, φλεγμονώδη ιστό (pannus) και
- ενδογενής καταστροφή από πρωτεϊνάσες που προέρχονται από χονδροκύτταρα [117].



Παρά το γεγονός ότι άμεση διάβρωση της αρχιτεκτονικής της άρθρωσης από βακτηριακά πρωτεολυτικά ένζυμα-τοξίνες δεν αποκλείεται, η συνεχιζόμενη αποικοδόμηση συστατικών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας ακόμη και μετά εξάλειψη της λοίμωξης και απομάκρυνση των συγκριμάτων από την αρθρική

κοιλότητα υποδηλώνει την πιθανότητα πρωτεάσης του ξενιστή να είναι υπόλογες για την αναφερόμενη παθολογία [67]. Η εμμένουσα δράση των πρωτεασών αυτών ανιχνεύεται στον αρθρικό χόνδρο επί τουλάχιστον 11 ημέρες μετά την εκρίζωση του λοιμογόνου αιτίου με τη χρήση αντιβιοτικών και ευθύνεται για τη στείρα μεταλοιμώδη αρθρίτιδα που ακολουθεί [229]. Παραγωγή ζελατινασών έχει διαπιστωθεί σε φλεγμονώδη κύτταρα, πολυμορφοπύρρηνα ουδετερόφιλα, μονοκύτταρα του αίματος, μακροφάγα και T λεμφοκύτταρα, κύτταρα του αρθρικού υμένα και ινοβλάστες, χονδροκύτταρα και οστεοκλάστες [61, 69, 230-237]. Ενώ η MMP-9 παράγεται και εκκρίνεται από όλα τα ανωτέρω κύτταρα, η MMP-2 εκκρίνεται τοπικά από αυτόχθονα των αρθρώσεων κύτταρα, μακροφάγα, υμενικούς ινοβλάστες και χονδροκύτταρα [61, 238]. Εναλλακτικά, είναι δυνατό να προέρχεται από κύτταρα τύπου A του αρθρικού υμένα [239].

5.3. ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΤΩΝ ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΩΝ

Ρύθμιση λευκοκυτταρικής διαπίδυσης και φαγοκυττάρωσης

Η MMP-9 διασπά όχι μόνο ζελατίνες, αλλά και μετουσιωμένο κολλαγόνο τύπου IV σε βασικές μεμβράνες [232]. Η ιδιότητά της αυτή θεωρείται σημαντική σε σχέση με τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων στη λοιμογόνο εστία [232, 240-244]. Η MMP-9 λοιπόν χρησιμοποιείται από φλεγμονώδη κύτταρα, προκειμένου τα τελευταία να διασπάσουν φραγμούς της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, ακολουθώντας χημειοτακτικούς παράγοντες σε περιοχές όπου έχουν ενοφθαλμιστεί βακτήρια, εντός της αρθρικής κοιλότητας [242]. Σε ένα πειραματικό ζωικό πρότυπο, η ανεπάρκεια MMP-9 θεωρήθηκε υπεύθυνη για την εκσεσημασμένη ένταση φαινομένων αρθρίτιδας μετά σταφυλοκοκκικό ενοφθαλμισμό [232]. MMP-9 +/- μύες επέδειξαν μειωμένη επιστράτευση λευκοκυττάρων στη λοιμογόνο εστία [245], με αποτέλεσμα την ανίχνευση μεγαλύτερου αριθμού βακτηρίων στις αρθρώσεις [232]. Ένα μεγαλύτερο βακτηριακό φορτίο εξαιτίας διαταραχής της βακτηριακής κάθαρσης σε αρχικά στάδια της λοίμωξης εξηγεί την αυξημένη βαρύτητα της εν λόγω σταφυλοκοκκικής σηπτικής αρθρίτιδας [179, 232]. Ως εκ των ανωτέρω, η MMP-9 φαίνεται ότι εμπλέκεται στην εξέλιξη της ενδοαρθρικής σήψης, ελέγχοντας κυρίως τον αριθμό των βακτηρίων [232, 245, 246]. Άλλωστε, αναστολή των παραγόντων μεταγραφής NF-κB και AP-1, οι οποίοι προάγουν τη μεταγραφή των MMPs μετά διέγερση από προ-φλεγμονώδεις κυττοκίνες και προσταγλανδίνες, έχει ως αποτέλεσμα μείωση της φαγοκυττάρωσης και/ή της ενδοκυττάριας εξόντωσης των παθογόνων από τα φαγοκύτταρα και μεταβολή του περιβάλλοντος των κυττοκινών [179, 246]. Το αυτό μπορεί να ισχύει και σε

περιπτώσεις προσβολής από *S.pneumoniae* [247]. Πρόσφατα τεκμηριώθηκε ότι η σταφυλοκοκκική, υπεραντιγόνο-ομοιάζουσα πρωτεΐνη 5 (staphylococcal superantigen-like protein 5 - SSL5), μία εξωπρωτεΐνη η οποία επιδεικνύει δομικές ομοιότητες με υπεραντιγόνα και εντεροτοξίνες, αλλά χωρίς δράση υπεραντιγόνου, δεσμεύει ειδικά την MMP-9 και αναστέλλει την ενζυμική δράση της. Επομένως, η SSL5 ίσως παίζει ρόλο σε ό,τι αφορά στη διαφυγή της ανοσίας, καθώς αναστέλλει τις MMPs παρεμβαίνοντας στην λευκοκυτταρική διακίνηση [248]. Παρά ταύτα, μία παλαιότερη μελέτη υποδηλώνει ότι η MMP-9 δεν είναι απαραίτητη για τη μετανάστευση των λευκοκυττάρων [249]. Τέλος, η batimastat, ένας συνθετικός αναστολέας των MMPs, δεν εμποδίζει την επαγόμενη από LPS διαπίδυση φλεγμονωδών κυττάρων [250].

Επεξεργασία κυττοκινών και χυμοκινών

Εκτός της αποικοδόμησης της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, οι MMPs ρυθμίζουν ανοσία και φλεγμονώδεις διαδικασίες, επιδρώντας σε προφλεγμονώδεις κυττοκίνες και χυμοκίνες και μεταβάλλοντας τη κυκλοφορούσα συγκέντρωση των μεσολαβητών αυτών [241]. Η κατεργασία συγκεκριμένων κυττοκινών από τις ζελατινάσες αυξάνει τη δραστηριότητά τους ως προς την επαγωγή φαινομένων φλεγμονής [242]. Η ενεργός MMP-9 αποκόπτει το αμινοτελικό άκρο της IL-8[1-77], μετατρέποντας αυτή σε μόριο 10 φορές ισχυρότερο (IL-8[7-77]) όσον αφορά στη διέγερση αποκοκκίωσης των ουδετερόφιλων και απελευθέρωσης επιπρόσθετων ποσοτήτων MMP-9 [251]. Ενεργοποίηση της αδρανούς πρόδρομης μορφής της IL-1β διά της απομάκρυνσης του προπεπτιδίου με τη μεσολάβηση της MMP-9, ενισχύει την ενδογενή ανοσολογική απόκριση [252]. Ομοίως, η προσδεδεμένη, 233-αμινοξέων μορφή

του TNF-α υπόκειται σε πρωτεολυτική επεξεργασία προς μία ενεργοποιημένη, 157-αμινοξέων, διαλυτή μορφή [253]. Χωρίς περαιτέρω τροποποίηση, πολλοί από τους μεσολαβητές της φλεγμονής ίσως δεν ενεργοποιούνται πλήρως. Οι ζελατινάσες δε, είναι σε θέση να επηρεάζουν τα επίπεδα κυττοκινών σε τοπικό επίπεδο, διασπώντας μόρια επιφανείας των κυτταρικών μεμβρανών [228, 254, 255].

Επιπροσθέτως, η MMP-9 συμβάλλει στην εξέλιξη της φλεγμονώδους διαδικασίας μέσω απελευθέρωσης νεοεπιτόπων και άλλων διαλυτών μεσολαβητών αυτής που συνήθως ευρίσκονται δεσμευμένοι στο εξωκυττάριο περιβάλλον [242, 256]. Παράδειγμα του τύπου αυτού ρυθμιστικού ελέγχου που ασκεί αποτελεί η αποδέσμευση συγκεκριμένων προ-φλεγμονωδών πρωτεογλυκανών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας - syndecans [257]. Εκτός των άλλων, θραύσματα συστατικών της τελευταίας φαίνεται ότι δρουν ως χημειοτακτικά πεπτίδια, προσελκύοντας δραστικά κύτταρα (ουδετερόφιλα και μακροφάγα) στην λοιμογόνο εστία [258]. Σύμφωνα με την τρέχουσα βιβλιογραφία, κολλαγόνο τύπου I και πιθανώς τύπου IV, elastin, laminin και fibronectin, υποστρώματα των ζελατινιών, καθίσταται χημειοτακτικά μετά αποικοδόμησή τους από MMP-9 και MMP-2 [259-263].

Προαγωγή της λοίμωξης

Η ικανότητα προσκόλλησης του *S.aureus* σε συστατικά της θεμέλιας ουσίας ενισχύεται κατά την εξέλιξη της φλεγμονώδους εξεργασίας με τη μεσολάβηση της δεσμεύουσας κολλαγόνο πρωτεΐνης (Extracellular adherence protein - Eap), η οποία συνδέεται με ινίδια κολλαγόνου τύπου I, μετά αποπολυμερισμό και μετουσίωση αυτών από MMPs [264]. Εκτός των άλλων, η αποικοδόμηση της

εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας από τις ζελατινάσες έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή διαλυτών αντιγόνων του ξενιστή τα οποία δεσμεύονται σε πρωτεΐνες της κυτταρικής επιφάνειας γειτονικών βακτηρίων, συμβάλλοντας στη διαφυγή των τελευταίων από ενδογενείς αμυντικούς μηχανισμούς. Ο σχηματισμός δε ινώδους θωρακίζει έτι περαιτέρω τα βακτηριακά κύτταρα από το ανοσοποιητικό σύστημα. Τέλος, σημαντικά συστατικά της ανοσολογικής απόκρισης, όπως οι πρωτεΐνες οξείας φάσεως και παράγοντες του συμπληρώματος διασπώνται από τις MMP-2 και MMP-9 (αντιφλεγμονώδης δράση) **[265]**.

5.4. ΑΥΞΗΣΗ ΕΚΦΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗΣ

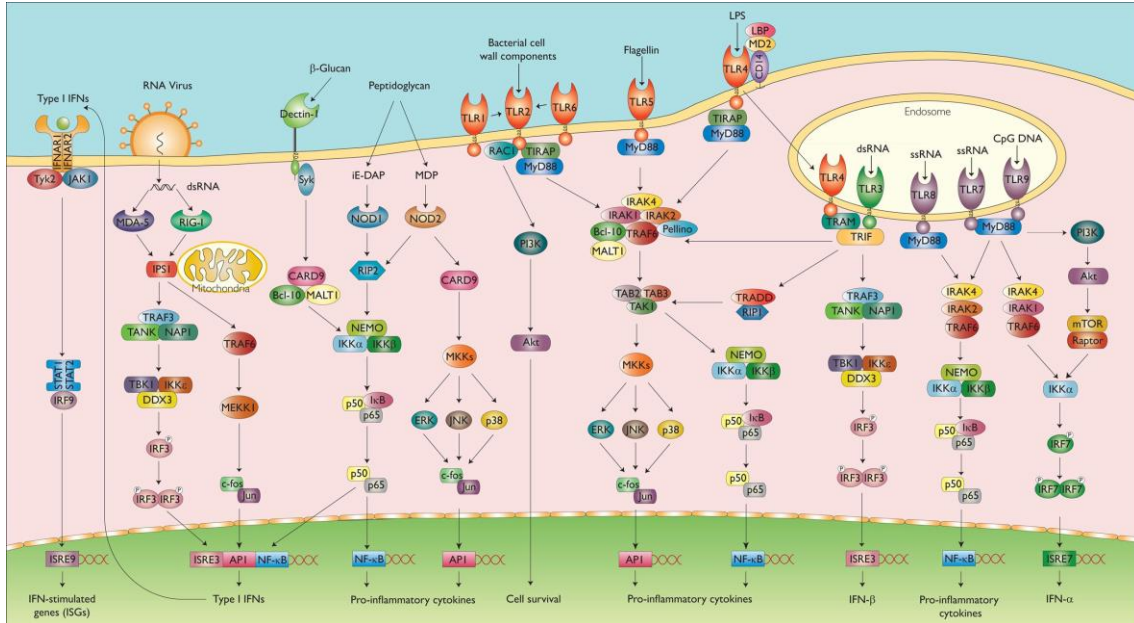
Συγκέντρωση ζελατινασών αρθρικού υγρού

Υψηλά επίπεδα πρόδρομων και ενεργοποιημένων μορφών των MMPs ανιχνεύονται σε δείγματα αρθρικού υγρού από αρθρώσεις με επιβεβαιωμένη βακτηριακή λοίμωξη (θετικές καλλιέργειες), [266-268]. Παρά την αποστείρωση των αρθρικών κοιλοτήτων, MMP-2 και MMP-9 –πρόδρομες και ενεργοποιημένες μορφές αυτών– εξακολουθούν το καταστρεπτικό τους έργο [266, 269]. Δράση MMP-2 παρατηρείται σε φυσιολογικό και μη αρθρικό υγρό [61]. Οι ινοβλάστες του αρθρικού υμένα φαίνεται ότι είναι υπεύθυνοι για τη συνεχή έκφραση της μεταλλοπρωτεϊνάσης αυτής στο αρθρικό διαμέρισμα, ανεξάρτητη του αριθμού των πολυμορφοπύρηνων και παρόμοια με εκείνη του πλάσματος [179, 266]. Η συγκέντρωση της MMP-9 αυξάνεται σημαντικά σε σηπτικό αρθρικό υγρό [61, 267, 270]. Η συγκέντρωση αυτή σχετίζεται με την έκταση της λευκοκυτταρικής διήθησης, ίδια εκείνης των πολυμορφοπύρηνων [246, 266, 271, 272] καθώς και τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) [246, 271].

Αύξηση έκφρασης

Φλεγμονώδεις κυττοκίνες, όπως η IL-1β και ο TNF-α, συμβάλλουν στην υπερέκφραση των MMPs, τουλάχιστον κατά την αρχική φάση της λοίμωξης [67, 273]. Η παρουσία πεπτιδογλυκάνης, κύριου συστατικού του τοιχώματος θετικών κατά Gram βακτηρίων, σχετίζεται με αύξηση της δεσμευτικής ικανότητας του πυρηνικού παράγοντα μεταγραφής NF-κΒ και φωσφορυλίωσης της υπομονάδας c-Jun της AP-1 πρωτεΐνης διά της δράσης της Jun-N-terminal

kinase (JNK). Ο NF-κB και η AP-1 εμπλέκονται στη ρύθμιση της μεταγραφής της MMP-9 ενισχύοντας την υπόθεση ότι η πεπτιδογλυκάνη επάγει τη σύνθεση της τελευταίας [274-276].



Ενεργοποίηση ζελατινασών

Κατά τη βακτηριακή προσβολή μίας άρθρωσης ανιχνεύεται περίσσεια ενεργού ενζύμου καθ' υπέρβαση οποιοδήποτε αναστολέα [61, 243, 277]. Το γεγονός αυτό ίσως εξηγεί την ταχεία κλινική εξέλιξη που παρατηρείται σε ορισμένες περιπτώσεις [61]. Η παρουσία ενεργών μορίων MMPs σε υψηλές συγκεντρώσεις πολυμορφοπύρηνων στο αρθρικό υγρό υποδεικνύει είτε αυτό-ενεργοποίηση είτε άλλες εναλλακτικές οδούς ενεργοποίησης, όπως το σύστημα ενεργοποίησης του πλασμινογόνου, το σύστημα του συμπληρώματος και ουδετεροφιλικές πρωτεάσες (μυελοϋπεροξειδάση και ουδετεροφιλική ελαστάση), μετά κορεσμό της ενδογενούς ανασταλτικής ικανότητας (TIMPs) [69, 186, 278-284]. Σε ένα πειραματικό πρότυπο βακτηριακής μηνιγγίτιδας,

ουδετερόφιλα ενεργοποιούν MMP-9 διά ενεργών μορφών οξυγόνου (reactive oxygen species - ROS) [236].

Υμενικοί ινοβλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα, μονοκύτταρα και μακροφάγα απαντούν με εκσεσημασμένη παραγωγή ενεργοποιητή του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (u-PA) μετά διέγερση από προφλεγμονώδεις κυττοκίνες ή αυξητικούς παράγοντες [285]. Ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης έχει επισημανθεί ως δυνητικός χημειοτακτικός παράγοντας των κοκκιοκυττάρων *in vivo*, ίδια των ουδετεροφίλων σε συνέργεια με την IL-8 [286]. Με απλή διάσπαση, ο u-PA και η πλασμίνη παράγουν ενεργείς μορφές των ζελατινασών οι οποίες συνεισφέρουν στην αποικοδόμηση του αρθρικού χόνδρου [287]. Άλλωστε, η *Borrelia burgdorferi* δεσμεύοντας πλασμίνη στην επιφάνειά της, πρωτεολύει συστατικά της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας είτε άμεσα είτε ενεργοποιώντας την MMP-9 και άλλες MMPs [69, 288-291]. Παρά το γεγονός ότι η MMP-9 ενδεχομένως παίζει κάποιο ρόλο σε σχέση με την εξάπλωση της *Borrelia burgdorferi* από το σημείο ενοφθαλμισμού σε άλλες θέσεις του ξενιστή στην αρθρίτιδα του Lyme, δεν αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση αυτής [241].

Από την άλλη, βακτήρια είναι δυνατό να εκκρίνουν πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία ενεργοποιούν την proMMP-2 και proMMP-9, με χαρακτηριστικό παράδειγμα την οικογένεια της thermolysin (*Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholera*) [292, 293]. Η σουλφυδρυλική πρωτεΐνάση του *S.pyogenes*, γνωστή και ως εξωτοξίνη B, επάγει την αποτελεσματική πρωτεολυτική ενεργοποίηση των δύο ζελατινασών συμβάλλοντας στην εισβολή του παθογόνου σε ιστούς του ξενιστή και την καταστροφή αυτών [294]. Τέλος, η ψευδαργυρική μεταλλοπρωτεΐνάση του πνευμονιόκοκκου, καθώς και πρωτεάσες του

παθογόνου της στοματικής κοιλότητας *Porphyromonas gingivalis* διασπούν, ενεργοποιώντας με τον τρόπο αυτό την MMP-9 [283, 295]. Επιπροσθέτως, μετατροπές του N-τελικού άκρου του TIMP-1 και άλλων TIMPs από συγκεκριμένα βακτήρια αδρανοποιούν τα ένζυμα ως αναστολείς των MMPs με συνέπεια εκτεταμένη ιστική καταστροφή [296]. Εξάλλου, μυελοϋπεροξειδάση και ουδετεροφιλική ελαστάση αναστέλλουν επίσης τον TIMP-1, ειδικό αναστολέα της proMMP-9 [297, 298].

5.5. ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΩΝ ΑΝΑ ΚΥΤΤΑΡΙΚΟ ΤΥΠΟ

5.5.1. ΟΥΔΕΤΕΡΟΦΙΛΑ

Η ουδετεροφιλική MMP-9 παράγεται διάρκεια της όψιμης ωρίμανσης των κοκκιοκυττάρων η οποία λαμβάνει χώρα στο μυελό των οστών και εν συνεχεία αποθηκεύεται σε αζουρόφιλα κοκκία [117, 299]. Αποτελεί μέρος μίας μη ειδικής απάντησης των ουδετεροφίλων σε ποικίλα βακτηριακά και ενδογενή ερεθίσματα που περιλαμβάνει εκτός των άλλων απελευθέρωση πρωτεολυτικών ενζύμων, κυττοκινών και δημιουργία ενεργών μορφών οξυγόνου και αζώτου [275]. Μετά διέγερση λοιπόν από LPS, πεπτιδογλυκάνη, IL-8, TNF-α και G-CSF, παρατηρείται αποκοκκίωση και άμεση απελευθέρωση MMP-9 [67, 231, 275, 300-302].

Ο ρόλος του κώδωνα-ομοιάζοντος υποδοχέα (toll-like receptor) TLR2 ως υποδοχέα μεταβίβασης ενδοκυττάρων σημάτων μετά πρόσδεση πεπτιδογλυκάνης αμφισβητείται τελευταία [303, 304]. Υποδοχείς οι οποίοι αναγνωρίζουν μονομερή της πεπτιδογλυκάνης MDP (muramyl dipeptide), οι NOD (nucleotide-binding oligomerization domain)-like receptors στο κυτταρόπλασμα των ουδετεροφίλων φαίνεται ότι εξυπηρετούν τη λειτουργία αυτή. Οι NOD1 αναγνωρίζουν μουροπεπτιδία προερχόμενα από αρνητικά κατά Gram βακτήρια, ενώ οι NOD2 από θετικά [305]. Η εμπλοκή των πρωτεϊνών αυτών στην ενεργοποίηση των ουδετεροφίλων και την επακόλουθη αύξηση της εξωκυττάριας συγκέντρωσης της MMP-9 υποστηρίζεται από ορισμένους ερευνητές [275].

Η επαγόμενη από πεπτιδογλυκάνη απελευθέρωση MMP-9 εξαρτάται από την p38 ενεργοποιούμενη από μιτογόνα πρωτεϊνική κινάση (MAPK), μιας

και αναστέλλεται σχεδόν πλήρως (95%) από αναστολείς της εν λόγω κινάσης. Εξουδετέρωση της δράσης άλλων κινασών, όπως οι κλασικές MAPK, ERK(extracellular-signal-regulated kinases)1/2 - p42/p44 MAPK, οι κινάσες της phosphatidylinositol 3 (PI3-kinases) και οι Src κινάσες της τυροσίνης, φαίνεται ότι μειώνει τα επίπεδα της MMP-9 κατά 50% **[275]**. Επιπροσθέτως, ενεργοποίηση των A2A υποδοχέων της αδενοσίνης, μέλους της οικογένειας των συνεζευγμένων με G-πρωτεΐνη υποδοχέων, αναχαιτίζει την έκκριση MMP-9 από τα ουδετερόφιλα διά της οδού του cAMP **[306]**.

5.5.2. ΜΑΚΡΟΦΑΓΑ / ΜΟΝΟΚΥΤΤΑΡΑ

Η υπεροχή μακροφάγων και μονοκυττάρων σε εστίες φλεγμονής είναι αποτέλεσμα προσέλκυσης αυτών από ποικίλους μεσολαβητές, όπως τα λευκοτριένια, οι χυμοκίνες και τα προϊόντα διάσπασης παραγόντων του συμπληρώματος [307]. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα δε συμβάλλουν στην εξέλιξη της σηπτικής αρθρίτιδας διά της σύνθεσης και απελευθέρωσης προφλεγμονωδών κυττοκινών, χυμοκινών, αυξητικών παραγόντων, ενεργών μορφών οξυγόνου και αζώτου και εικοσανοειδών [308]. Προκαλούν λοιπόν εκτεταμένη ιστική καταστροφή με τουλάχιστον δύο τρόπους:

- Άμεσα, εκκρίνουν πρωτεΐνάσες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και αναστολείς τους.
- Έμμεσα, παράγουν κυττοκίνες οι οποίες ρυθμίζουν την γονιδιακή έκφραση των πρωτεϊνών αυτών και των αναστολέων τους στα ίδια τα κύτταρα, αλλά και άλλες κυτταρικές σειρές (αυτοκρινής και παρακρινής δράση) [309].

Μακροφάγα και μονοκύτταρα συνθέτουν de novo MMP-2 και MMP-9 [236]. Κυττοκίνες, όπως η IL-1β, ο TNF-α, ο TGFβ και η IL-8 είναι γνωστό ότι διεγείρουν την παραγωγή MMP-9. Ως εκ τούτου, η ανίχνευση MMP-9 σε μεταγενέστερες χρονικές περιόδους είναι πιθανόν δευτερογενές αποτέλεσμα μεταβίβασης πληροφοριών-σημάτων μέσω κυττοκινών [67, 236, 297, 310].

Η LPS πάλι, καθώς και συστατικά του *S.aureus* επάγουν την απελευθέρωση MMP-9 από μακροφάγα [236, 309, 311]. Ορισμένες δε μελέτες κατέδειξαν τη συνεργιστική αλληλεπίδραση μεταξύ LPS και πεπτιδογλυκάνης [312, 313]. Η πεπτιδογλυκάνη και το λιποτεϊχοϊκό οξύ (lipoteichoic acid - LTA), κύρια συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος θετικών κατά Gram βακτηρίων,

επαυξάνουν τη φαγοκυτταρική έκκριση MMP-9 κυρίως μέσω ενεργοποίησης του κώδωνα-ομοιάζοντος υποδοχέα (toll-like receptor) TLR2 **[314-316]**. Η ενεργοποίηση του TLR2 αποτελεί την αφετηρία μίας αλληλουχίας γεγονότων:

- c-Src-εξαρτώμενη ενεργοποίηση της οδού των υποδοχέων του αυξητικού παράγοντα των αιμοπεταλίων (PDGFr),
- ενεργοποίηση των οδών ERK1/2 - p42/p44 MAPK και PI3-kinase/AKT (πρωτεϊνική κινάση B),
- ενεργοποίηση του παράγοντα μεταγραφής NF-κB **[316]**.

Η υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης πολλαπλασιάζει έτι περαιτέρω την επαγόμενη από λιποτεϊχοϊκό οξύ έκκριση MMP-9 **[317]**. Αύξηση των επιπέδων γλυκόζης σχετίζεται με αντίστοιχη ελάττωση των πυρηνικών υποδοχέων PPAR γ (peroxisome proliferators-activated receptors gamma), με αποτέλεσμα εκσεσημασμένη παραγωγή μεσολαβητών της φλεγμονής λόγω μειωμένης αναστολής των παραγόντων μεταγραφής AP-1 και NF-κB **[318, 319]**. Αντιθέτως, αναστολή της ERK1/2 - p42/p44 MAPK οδού μπλοκάρει τη χρόνο-εξαρτώμενη αυτή δράση του λιποτεϊχοϊκού οξέος επί των μακροφάγων/μονοκυττάρων, ενώ αναστολή της κινάσης του άμινο-τελικού άκρου της c-Jun (Jun-N-terminal kinase - JNK) ή της p38 MAPK οδού δεν έχει κανένα αποτέλεσμα. Εκτός των άλλων, εκλεκτικοί ανταγωνιστές των υποδοχέων της αδενosίνης A2A και A2B, γνωστών για τις αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους, αυξάνουν την επαγόμενη από λιποτεϊχοϊκό οξύ έκφραση και έκκριση της MMP-9. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει την εμπλοκή των υποδοχέων αυτών των μακροφάγων/μονοκυττάρων σε έναν αυτοκρινή ρυθμιστικό μηχανισμό με συμμετοχή της οδού του cAMP, όπως έχει περιγραφεί μετά

έκθεση φαγοκυττάρων σε LPS. Καμία επίδραση του λιπoteϊχοϊκού οξέος δεν έχει αναγνωριστεί ως προς την έκφραση και έκκριση MMP-2 [320].

Το υλικό της κάψας των στρεπτοκόκκων και ιδιαίτερα η χολίνη, ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις επάγει την παραγωγή PGE2 και MMP-9 από μακροφάγα και υμενικά κύτταρα [321-323]. Αντιθέτως, καμία επίδραση δεν παρατηρείται ως προς την έκφραση και έκκριση MMP-9 μετά έκθεση σε συστατικά του κεκαθαρμένου κυτταρικού τοιχώματος [321]. Διέγερση δε μακροφάγων από συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος *peptostreptococcus* προκαλεί σημαντική αύξηση της έκκρισης MMP-9, με αντίστοιχη ενεργοποίηση πολλαπλών οδών μεταβίβασης ενδοκυττάρων σημάτων [cAMP-dependent protein kinase (PKA), G protein-coupled receptor kinase and p38, ERK2, JNK MAPK] [324]. Τέλος, το *Propionibacterium acnes* επάγει την έκφραση TLR-2 (και -4) και MMP-9 σε μονοκύτταρα, αυξάνοντας την έκκριση της εν λόγω MMP [325].

Μυκοβακτηριαδιακή σηπτική αρθρίτιδα και μακροφάγα

Το μυκοβακτηρίδιο της φυματιώσεως, το κύριο αντιγόνο, LAM, καθώς και άλλα συστατικά, όπως τα lipomannans διεγείρουν την άμεση φαγοκυτταρική έκκριση MMP-9. Εν συνεχεία μακροφάγα και μονοκύτταρα διά της απελευθέρωσης κυττοκινών (IL-1β και TNF-α), επιστρατεύουν υμενικά κύτταρα προκειμένου να ενισχυθεί η δράση των ζελατινιτών, με τελικό αποτέλεσμα την ολοσχερή καταστροφή της άρθρωσης [244, 277, 326-330]. Πειραματικές μελέτες με χρήση αντισωμάτων εξουδετέρωσης υποδοχέων, υποδεικνύουν έναν TLR1/TLR2 και CD14-εξαρτώμενο μηχανισμό μεταβίβασης ενδοκυττάρων σημάτων [329, 331]. Η ενεργοποίηση του ανωτέρω μηχανισμού προκαλεί αύξηση της

φωσφορυλίωσης των p38, ERK και JNK MAPKs (οδών ανεξάρτητων των προσταγλανδινών) και τελικά της DNA-δεσμευτικής ικανότητας του AP-1 μεταγραφικού παράγοντα [330, 332, 333]. Αναστολή της IL-1β μειώνει τη δράση των MAPKs και την επακόλουθη έκκριση MMP-9 από φαγοκύτταρα και υμενικά κύτταρα, γεγονός που δεν παρατηρείται μετά αναστολή του TNF-α [330, 333]. Παρουσία δε IFN-γ πολλαπλασιάζεται (κατά 7 φορές) η δράση της MMP-9, ενώ αντίστοιχα καταστέλλεται η έκκριση TIMP-1 και -2 [332, 334]. Η δεξαμεθαζόνη, καθώς και ο αποκλεισμός της οδού της Janus-activated kinase-2/Signal transducer and activator of transcription-3 (JAK-2/STAT3) καταργούν τη συνεργιστική αυτή δράση IL-1β και IFN-γ [332]. Επιπρόσθετα, τα lipomannans φαίνεται ότι μειώνουν την έκφραση του TIMP-1, κύριου αναστολέα της MMP-9, καθώς και άλλων TIMPs (TIMP-2, -3 και -4), μέσω της οδού της p38 MAPK [329, 335-337]. Σε κοκκιωματώδεις ιστούς, ώριμα πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα, παράγουν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις MMP-9 σε σχέση με τα μακροφάγα/μονοκύτταρα, ενώ δεν ανιχνεύεται TIMP-1 [338]. Η χορήγηση 1,25 διϋδροξυ-βιταμίνης D₃ καταστέλλει την παραγωγή MMP-9 και αυξάνει τα επίπεδα TIMP-1, καταδεικνύοντας μία πιθανή θεραπευτική προσέγγιση της φυματιώδους αρθρίτιδας διά της μετατροπής της σχέσης MMP/TIMP [334].

Ομοίως, σε λοιμώξεις από *M.avium*, *M.bovis* και *M.leprae* παρατηρείται αυξημένη φαγοκυτταρική έκφραση MMP-9 [331, 339, 340]. Ιδιαίτερα σε ό,τι αφορά στο *M.avium*, η ενεργοποίηση μίας COX-2-εξαρτώμενης οδού θεωρείται κριτικής σημασίας για την περαιτέρω διέγερση των AP-1 και NF-κB [341].

Αναστολή της φαγοκυτταρικής έκκρισης MMP-9

Σε αντίθεση με τα όσα διαδραματίζονται σε μυκοβακτηριδιακές λοιμώξεις, η IFN- γ αναστέλλει τη επαγόμενη από LPS ή *S.aureus* δράση της MMP-9 [310]. Ενώ λοιπόν βακτηριδιακά συστατικά και IFN- γ απαιτούνται για την πλήρη ενεργοποίηση και μετατροπή μακροφάγων/μονοκυττάρων σε έναν μικροβιοκτόνο κυτταρικό τύπο, ο τύπος αυτός φαίνεται ότι χάνει την ικανότητα να αποικοδομεί την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία [342]. Η IL-4, προϊόν και αυτή ενεργοποιημένων Th₂ λεμφοκυττάρων, αναστέλλει επίσης τη φαγοκυτταρική έκφραση MMP-9, χωρίς να επηρεάζει τη σύνθεση του TIMP-1 [343, 344]. Τέλος, η IL-10, η οποία παράγεται από λεμφοκύτταρα και φαγοκύτταρα, έχει την ίδια επίδραση σε ό,τι αφορά στην παραγωγή MMP-9, με τη διαφορά ότι επάγει τη σύνθεση TIMP-1 σε πρωτεϊνικό και γονιδιακό επίπεδο. Ως εκ τούτου, η εν λόγω ιντερλευκίνη επιδεικνύει ισχυρή αντιφλεγμονώδη δράση εξουδετερώνοντας διαλυτικές των ιστών ενέργειες μακροφάγων και μονοκυττάρων και μεταβάλλοντας την ισορροπία πρωτεϊνών/αναστολέων προς όφελος της διατήρησης της θεμέλιας ουσίας [312]. Η φαινομενικά παράδοξη αυτή μείωση της παραγωγής MMPs καταργεί τη δυνατότητα ενεργοποιημένων φαγοκυττάρων να μεταναστεύουν περαιτέρω διαμέσου των ιστών. Από τη στιγμή που εισέρχονται σε μία λοιμώδη εστία, η ικανότητα διαπίδυσης αυτών ελαττώνεται, προκειμένου να απομακρύνουν αντιγόνα σε άμεση γεινίαση [310].

5.5.3. ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΑ

Διάρκεια λοίμωξης, T και B λεμφοκύτταρα συρρέουν στους φλεγμαίνοντες ιστούς [312]. CD4⁺ T λεμφοκύτταρα, ενεργοποιημένα από *S.aureus*, επιδεικνύουν έναν Th₁ προ-φλεγμονώδη φαινότυπο συμμετέχοντας στην επιστράτευση MMP-9⁺ κυττάρων της ανοσίας [345]. Επιπλέον, διεγείρουν τη φαγοκυτταρική παραγωγή μεταλλοπρωτεϊνών με μηχανισμό ο οποίος ενέχει την έκφραση μίας ή περισσότερων γλυκοπρωτεϊνών επιφανείας και απώτερο σκοπό την άμεση διακυτταρική επικοινωνία [346]. Φαίνεται λοιπόν ότι τα λεμφοκύτταρα χρησιμοποιούν την έκκριση κυττοκινών καθώς και την άμεση διακυτταρική επαφή-επικοινωνία ως στρατηγικές προκειμένου να επηρεάζουν, αρνητικά ή θετικά, τη δυνατότητα παρακείμενων φαγοκυττάρων να αποικοδομούν την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία [312].

5.5.4. ΥΜΕΝΙΚΑ ΚΥΤΤΑΡΑ - ΙΝΟΒΛΑΣΤΕΣ

Κύτταρα της ανοσίας εισβάλλουν στο αρθρικό υγρό απελευθερώνοντας ποσότητες MMPs και TIMPs και κυττοκινών, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την παρακρινή διέγερση άλλων κυτταρικών σειρών, συμπεριλαμβανομένων των υμενικών κυττάρων [246, 310, 347]. Η έκκριση proMMP-9 και proMMP-2 από κύτταρα του αρθρικού υμένα αυξάνεται παρουσία ορισμένων παθογόνων της στοματικής κοιλότητας, όπως το *Fusobacterium necrophorum* [348], η *Porphyromonas gingivalis* [238, 349] και η *Eikenella corrodens* αντίστοιχα [238]. Αντίθετα, η LPS ή η *B.burgdorferi* δεν φαίνεται ότι επάγουν in vitro την έκφραση οποιασδήποτε MMP σε υμενικά κύτταρα και χονδροκύτταρα, παρά μόνον παρουσία TNF-α [271, 272]. Η φωσφολιπάση C, πιθανός λοιμογόνος παράγοντας αρκετών παθογόνων βακτηρίων, προκαλεί αύξηση της υμενικής παραγωγής MMP-9 και MMP-2 (παρότι ασθενέστερη). Η επίδραση αυτή της φωσφολιπάσης C αναστέλλεται από τη νεομυκίνη, αναστολέα της οδού των PI3-kinases [350]. Επίσης, το *Propionibacterium acnes* επάγει την έκφραση και έκκριση MMP-9 σε υμενικά κύτταρα [351]. Η παραγωγή πρωτεϊνών από τα μολυσμένα κύτταρα (μέσω ενεργοποίησης κύρια, της p38 MAPK) αποτελεί γεγονός καθοριστικής σημασίας όσον αφορά στην περικυτάρια ιστική καταστροφή και κυτταρική μετανάστευση [348]. Η πρωτεολυτική δράση της MMP-9 και MMP-2 είναι απαραίτητη για τη διάσπαση πρωτεϊνών της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας και άρση των ιστικών ορίων, επιτρέποντας την εισβολή υμενικών κυττάρων και τη διάβρωση της αρθρικής επιφανείας και του υποχονδρίου οστού [352].

Η πεπτιδογλυκάνη του *S.aureus* διεγείρει υμενικούς ινοβλάστες, πιθανώς μέσω TLR-2, με αποτέλεσμα αύξηση της έκφρασης ιντεγκρινών,

προφλεγμονωδών κυττοκινών και MMPs (MMP-2 και MMP-9) [67]. Παρουσία IL-1β και TNF-α, η αύξηση αυτή γίνεται ακόμη μεγαλύτερη [67, 326]. Στελέχη *S.aureus* τα οποία στερούνται του staphylococcal accessory regulator (Sar) A και του accessory gene regulator (Agr) προκαλούν πιο ήπιες μορφές σηπτικής αρθρίτιδας, ακριβώς λόγω της επαγωγής υψηλών επιπέδων TIMP-1, -2 και -3 mRNAs σε υμενικούς ινοβλάστες [67]. Τέλος, ο TGFβ αναστέλλει την παραγωγή MMP-9, ενώ ευνοεί τη σύνθεση TIMP-1 στα αντίστοιχα κύτταρα [353].

5.5.5. ΧΟΝΔΡΟΚΥΤΤΑΡΑ

Αυξημένες συγκεντρώσεις MMP-2 ανιχνεύονται σε σηπτικό αρθρικό υγρό. Η MMP-2 πιθανότατα προέρχεται από χονδροκύτταρα και απελευθερώνεται στο αρθρικό υγρό από την αρθρική επιφάνεια [61]. Παρά τις αρχικές ενδείξεις περί του αντιθέτου [271], η LPS φαίνεται ότι διεγείρει την έκφραση MMP-2 σε χονδροκύτταρα [354]. Άλλωστε, η επαγόμενη από σταφυλοκόκκους απελευθέρωση πρωτεογλυκανών από την αρθρική επιφάνεια εξαρτάται άμεσα από το μεταβολισμό των χονδροκυττάρων, τη γονιδιακή έκφραση και επακόλουθη σύνθεση πρωτεϊνών με δράση ζελατινάσης [229].

5.5.6. ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΕΣ

MMP-9 παράγεται επίσης από οστεοκλάστες, μετά διέγερση από IL-1β και TNF-α, με αποτέλεσμα την καταστροφή του αρθρικού χόνδρου και του υποχονδρίου οστού [187, 231].

Β. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΛΙΚΟ - ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Από το Νοέμβριο του 2006 έως τον Ιούλιο του 2009 περισυνελέγησαν δείγματα αρθρικού υγρού από είκοσι επιλεγμένους ασθενείς οι οποίοι προσήλθαν στο Τμήμα Επειγόντων του Γενικού Νοσοκομείου Αθηνών «Ο Ευαγγελισμός» με οξεία μονοαρθρίτιδα και δέκα με οστεοαρθρίτιδα του γόνατος προ επεμβάσεως ολικής αρθροπλαστικής, η οποία πραγματοποιήθηκε στο Α' Ορθοπαιδικό Τμήμα του οικείου νοσοκομείου. Όλοι οι ασθενείς που εμφανίστηκαν στο Τμήμα Επειγόντων με μία οξείως επώδυνη και οίδηματώδη άρθρωση και υποψία λοίμωξης, υπεβλήθησαν σε παρακέντηση του γόνατος. Οι πάσχοντες από σηπτική αρθρίτιδα, βεβαιωμένη με θετική κατά Gram χρώση και καλλιέργειες του αρθρικού υγρού, περιελήφθησαν στη μελέτη (n_{SA}=10). Εξαιρέθηκαν εκείνοι οι οποίοι παρουσίασαν λοίμωξη επί εδάφους ολικής αρθροπλαστικής ή γνωστού ιστορικού ρευματικής πάθησης **[Πίνακας 1]**. Δέκα ασθενείς εκ των υπολοίπων, στους οποίους τέθηκε η διάγνωση ρευματικής νόσου για πρώτη φορά (ρευματοειδούς αρθρίτιδας και σπονδυλοαρθροπαθειών) **[Πίνακας 2]** (n_{RA}=10) και δέκα με οστεοαρθρίτιδα (n_{OA}=10) επελέγησαν με τυχαιοποιημένο τρόπο από ανεξάρτητους της μελέτης κλινικούς ιατρούς. Σε κάθε περίπτωση η διάγνωση τέθηκε με βάση τα κριτήρια της Αμερικανικής και Ευρωπαϊκής Ρευματολογικής Εταιρείας **[Πίνακας A & B Παραρτήματος]** **[356, 357]**. Ο **Πίνακας 3** και το **Σχήμα 1** **[Σχήμα A Παραρτήματος]** συνοψίζουν κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα των ασθενών που περιελήφθησαν στη μελέτη, 14 ανδρών και 16 γυναικών με μέση ηλικία τα 62 έτη (17-86). Πολλαπλά δείγματα αρθρικού υγρού (τουλάχιστον δύο) ελήφθησαν από τον κάθε ασθενή (82 δείγματα: 30 σηπτικά-**SA**, 30 ρευματικά-**RA**, 22 οστεοαρθριτιδικά-**OA**). Όλοι οι

ασθενείς οι οποίοι έπασχαν από σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος έδωσαν, κατόπιν ενημέρωσης, τη συγκατάθεσή τους, προκειμένου να ενταχθούν στο πρωτόκολλο της εν λόγω μελέτης, ενώ οι λοιποί συμφώνησαν με την επεξεργασία και ανάλυση των δειγμάτων για ερευνητικούς σκοπούς.

Πίνακας 1**Χαρακτηριστικά ασθενών της ομάδας της σηπτικής αρθρίτιδας (SA)**

	Φύλο/ηλικία	Αίτιο	Καλλιέργεια
S1	♂ (58)	Ενδοαρθρική έγχυση	<i>S. aureus</i>
S2	♂ (23)	Πρόσφατο χειρουργείο (Συνδεσμοπλαστική προσθίου χιαστού συνδέσμου)	<i>S. epidermidis</i>
S3	♂ (54)	Πρόσφατο χειρουργείο (Οστεοτομία εγγύς μετάφυσης κνήμης + συνδεσμοπλαστική ΠΧΣ)	Πολυμικροβιακή
S4	♂ (17)	Πρόσφατο χειρουργείο (Συνδεσμοπλαστική ΠΧΣ)	<i>S. paucimobilis</i>
S5	♂ (50)	Αιματογενής διασπορά (AIDS)	<i>Streptococcus pyogenes</i>
S6	♀ (72)	Αιματογενής διασπορά (Σακχαρώδης διαβήτης)	<i>S. hominis</i>
S7	♀ (67)	Ενδοαρθρική έγχυση	<i>S. aureus</i>
S8	♀ (50)	Πρόσφατο χειρουργείο (Αρθροσκόπηση)	<i>S. aureus</i>
S9	♂ (37)	Αιματογενής διασπορά (Ενδοφλέβια χρήση ουσιών)	<i>Enterococcus faecium</i>
S10	♂ (55)	Μόλυνση κατά μήκος βελονών εξωτερικής οστεοσύνθεσης (Κάταγμα εγγύς επίφυσης κνήμης)	Πολυμικροβιακή

Πίνακας 2

Χαρακτηριστικά ασθενών της ομάδας της αρθρίτιδας ρευματικής αιτιολογίας (RA)

	Φύλο/ηλικία	Αίτιο
R1	♀ (64)	Ρευματοειδής αρθρίτιδα
R2	♂ (51)	Αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα
R3	♂ (62)	Αδιαφοροποίητη σπονδυλοαρθροπάθεια
R4	♀ (28)	Αρθροπάθεια συνοδεύουσα τις φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου (Ελκώδης κολίτιδα)
R5	♀ (60)	Ρευματοειδής αρθρίτιδα
R6	♂ (44)	Ψωριασική αρθρίτιδα
R7	♀ (65)	Αρθροπάθεια συνοδεύουσα τις φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου (Ελκώδης κολίτιδα)
R8	♀ (65)	Ρευματοειδής αρθρίτιδα
R9	♂ (23)	Σύνδρομο Reiter
R10	♂ (62)	Αγκυλοποιητική σπονδυλίτιδα

Πίνακας 3

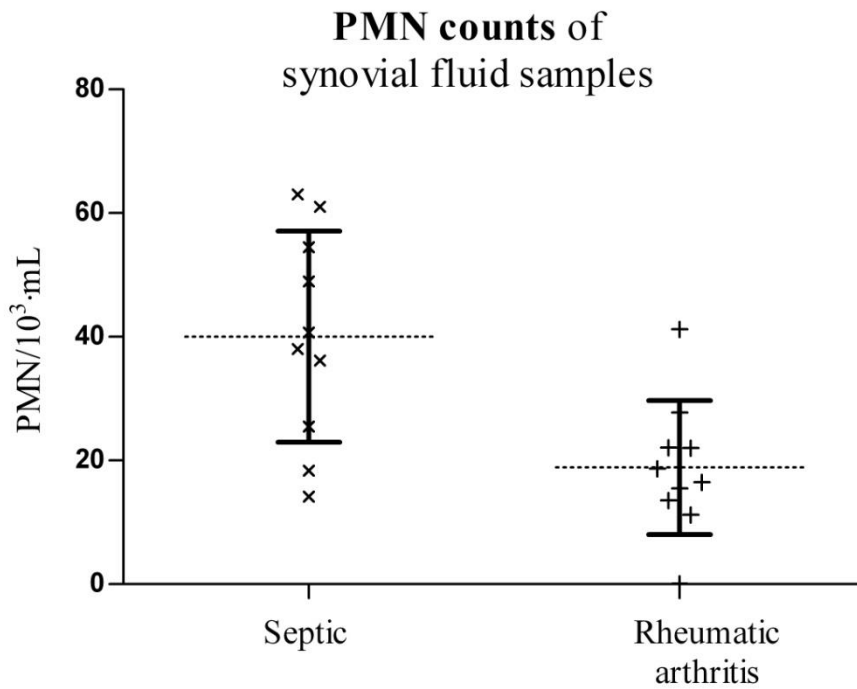
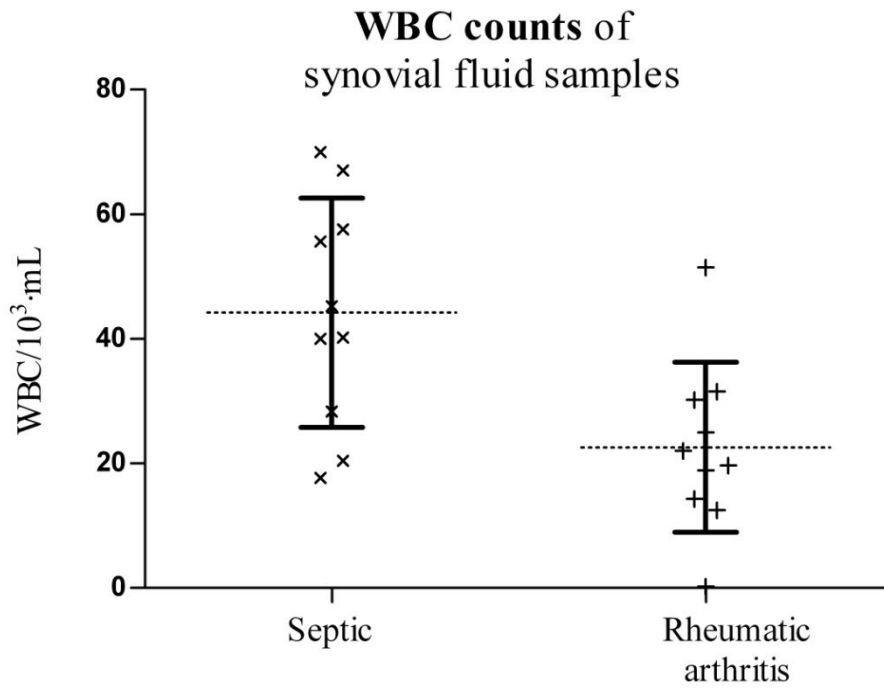
Κλινικά και εργαστηριακά δεδομένα των ασθενών που περιελήφθησαν στη μελέτη

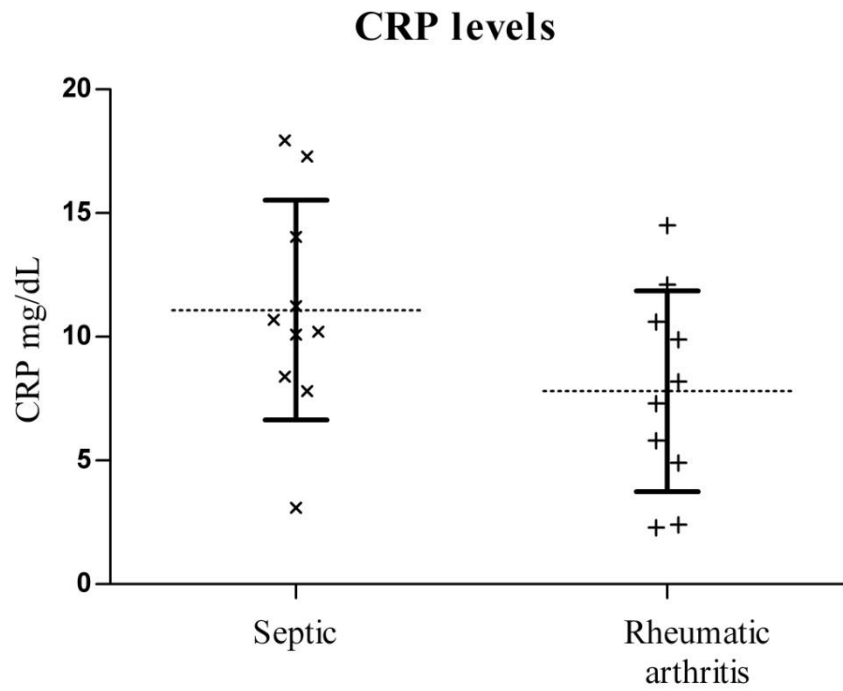
		Αρθρικό υγρό		
	Ηλικία	WBC/mL	Neutrophils/mL	Protein gr/dl
Οστεοαρθρίτιδα (n=10)	50 – 86 (69.8)	0 – 1150 (300)	0 – 150 (40)	2.1 – 5.2 (3.2)
Ρευματική αρθρίτιδα (n=10)	23 – 65 (52.4)	260 – 51,500 (22,590)	80 – 41,200 (18,870)	1.9 – 5.8 (4.4)
Σηπτική αρθρίτιδα (n=10)	17 – 72 (48.3)	17,700 – 70,000 (44,200)	14,160 – 63,000 (40,035)	1.8 – 6.0 (4.7)

Τα αποτελέσματα εμφανίζονται ως εύρος τιμών (μέσος όρος).

Σχήμα 1

Εργαστηριακά δεδομένα των ασθενών που περιελήφθησαν στη μελέτη





Τα αποτελέσματα εμφανίζονται ως μέσος όρος \pm τη σταθερή απόκλιση.

1.1. ΛΗΨΗ ΚΑΙ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Παρακέντηση πραγματοποιήθηκε με άσηπτη τεχνική διά βελόνης 19-gauge στον υπερεπιγονατιδικό θύλακο μέσω άνω-έξω προσπέλασης του γόνατος (βάσει πρωτοκόλλου το οποίο περιγράφεται στο κεφάλαιο του γενικού μέρους 3.4.2.II.). Δείγματα αρθρικού υγρού εξετάστηκαν ως προς όλες τις συμβατικές εργαστηριακές παραμέτρους φλεγμονής.

Άμεσα μετά τη λήψη, προκειμένου να ανασταλεί η δράση των μεταλλοπρωτεϊνών, προστέθηκε κρύο διάλυμα 1 mM Na₂EDTA, pH 8.0. Εν συνεχεία τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν για 10 λεπτά στις 3000 στροφές και σε θερμοκρασία 4°C και τα υπερκείμενα της φυγοκέντρησης, όπου περιέχονται οι εκκρινόμενες πρωτεΐνες διατηρήθηκαν στους -20°C. Κατά τη διαχείριση των δειγμάτων διατηρείται χαμηλή θερμοκρασία (4°C), ώστε να μειωθεί η δραστηριότητα των πρωτεολυτικών ενζύμων.

1.2. ΖΥΜΟΓΡΑΦΙΑ ΖΕΛΑΤΙΝΗΣ

Η ζυμογραφία ζελατίνης είναι μία παραλλαγή της κλασικής μεθόδου της ηλεκτροφόρησης [358] με την οποία ανιχνεύονται οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs).

Ηλεκτροφόρηση SDS-PAGE

Ηλεκτροφόρηση είναι η μετανάστευση ηλεκτρικά φορτισμένων σωματιδίων ή ιόντων υπό την επίδραση ηλεκτρικού πεδίου. Βιολογικά μόρια, όπως αμινοξέα, πεπτίδια, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα μετακινούνται είτε προς την άνοδο είτε προς την κάθοδο και διαχωρίζονται. Η ηλεκτροφόρηση των πρωτεϊνών σε πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου αποτελεί μέθοδο διαχωρισμού με βάση το μέγεθός τους. Ο διαχωρισμός γίνεται σε *πήκτωμα πολυακρυλαμιδίου/N,N-μεθυλενοδισακρυλαμιδίου* (N,N-methylene bisacrylamide, bis), εντός του οποίου αλυσίδες πολυμερισμένου ακρυλαμιδίου διασυνδέονται μεταξύ τους βοήθεια του bis, σχηματίζοντας πόρους κατάλληλου μεγέθους. Το μέγεθος των πόρων του πηκτώματος εξαρτάται από τη συγκέντρωση του ακρυλαμιδίου και του bis και μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 3-30%. Η συγκέντρωση του ακρυλαμιδίου καθορίζει το μέσο μήκος της αλυσίδας του πολυμερούς και εκείνη του bis, την έκταση των δεσμών μεταξύ των αλυσίδων (cross-links). Ως εκ τούτου, και οι δύο ουσίες θεωρούνται κριτικής σημασίας για τον καθορισμό των φυσικών ιδιοτήτων του πηκτώματος: πυκνότητα, ελαστικότητα, μηχανική αντοχή, μέγεθος πόρων. Για τον πολυμερισμό του ακρυλαμιδίου προστίθεται *υπερθειικό αμμώνιο* (ammonium persulphate, APS), το οποίο παρέχει ελεύθερες ρίζες και *N,N,N',N'-τετραμεθυλοαιθυλενοδιαμίνη* (N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine, TEMED) που δρα ως καταλύτης της αντίδρασης. Το πήκτωμα του πολυακρυλαμιδίου

μπορεί να είναι συνεχές ή ασυνεχές. Στη δεύτερη περίπτωση, που είναι και η συνηθέστερη, το πήκτωμα αποτελείται από το πήκτωμα επιστοίβαξης (stacking gel) με μεγάλο μέγεθος πόρων και το πήκτωμα διαχωρισμού (resolving/separating gel) με κατάλληλο μέγεθος πόρων. Τα δείγματα των πρωτεϊνών αναδιαλύονται σε κατάλληλο διάλυμα που περιέχει τη χρωστική κυανό της βρωμοφαινόλης, προκειμένου να είναι ευδιάκριτες και εν συνεχεία εισάγονται στο πήκτωμα επιστοίβαξης με το διάλυμα φόρτωσης που περιέχει γλυκερόλη, προκειμένου να τοποθετηθούν με ευκολία. Τα δείγματα συμπιέζονται στο πήκτωμα επιστοίβαξης υπό την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου και εισάγονται ταυτόχρονα στο πήκτωμα διαχωρισμού, όπου διαχωρίζονται με βάση το μέγεθός τους.

Η ηλεκτροφόρηση πραγματοποιείται υπό μη αναγωγικές συνθήκες, ώστε να μην καταστραφεί η ενεργότητα των πρωτεϊνών-ένζυμων, αλλά παρουσία *δωδεκυλο-θειικού νατρίου* (sodium dodecyl sulphated, SDS), ισχυρού ανιονικού απορρυπαντικού, το οποίο αποδιατάσσει και απενεργοποιεί τα ένζυμα. Το αρνητικά φορτισμένο SDS προσδένεται στις αποδιαταγμένες πολυπεπτιδικές αλυσίδες σε αναλογία μάζας 1,4:1 (1,4 gr SDS ανά gr πρωτεΐνης) και τους προσδίδει ισχυρό αρνητικό φορτίο. Οι ισχυρά αρνητικά φορτισμένες πολυπεπτιδικές αλυσίδες κινούνται υπό την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου προς την κάθοδο με διαφορετική ταχύτητα, η οποία εξαρτάται από το μέγεθός τους, καθώς πρωτεΐνες μικρότερου μεγέθους κινούνται ταχύτερα σε σχέση με εκείνες ενός μεγαλύτερου μεγέθους.

Από το διάγραμμα της συνάρτησης $\log MB=f(R_f)$, όπου R_f είναι ο λόγος της απόστασης που έχει διανύσει η πρωτεΐνη προς την ολική απόσταση που έχει διανύσει το μέτωπο της ηλεκτροφόρησης, υπολογίζεται το μοριακό βάρος

μίας άγνωστης πρωτεΐνης, όταν αυτή ηλεκτροφορηθεί παρουσία δύο ή περισσότερων άλλων πρωτεϊνών γνωστού μοριακού βάρους, με σφάλμα 5-10%.

Ζυμογραφία ζελατίνης

Το πλεονέκτημα της ζυμογραφίας ζελατίνης συγκριτικά με την απλή ηλεκτροφόρηση είναι ότι επιτρέπει την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό της ενζυμικής δραστηριότητας των ζελατινασών. Η μέθοδος βασίζεται στο συμπολυμερισμό του πολυακρυλαμιδίου με ζελατίνη που αποτελεί υπόστρωμα των εν λόγω ενζύμων. Στο πήκτωμα διαχωρισμού περιεκτικότητας 10% σε ακρυλαμίδιο προστίθεται ζελατίνη 0,1%. Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης, το SDS απομακρύνεται από το πήκτωμα βοήθεια ρυθμιστικού διαλύματος που περιέχει Triton X-100. Με την απομάκρυνση του απορρυπαντικού SDS, τα ένζυμα επαναδιατάσσονται. Το πήκτωμα επωάζεται σε κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα, το οποίο περιέχει ιόντα ασβεστίου, απαραίτητα για τη δράση των ενζύμων αυτών. Ως εκ των άνω, οι μεταλλοπρωτεΐνάσες ενεργοποιούνται ξανά και καθίστανται ενζυμικά δραστικές. Η αποικοδόμηση της ζελατίνης έχει ως αποτέλεσμα τα σημεία του πηκτώματος όπου έχει πρωτεολυθεί η ζελατίνη να μη βάφονται μετά χρώση με Coomassie Brilliant Blue R-250. Η εν λόγω χρωστική προσδένεται σε κατάλοιπα αμινοξέων που φέρουν βασικές πλευρικές ομάδες, όπως αργινίνη, ιστιδίνη, λυσίνη ή αρωματικές πλευρικές ομάδες, όπως τυροσίνη, τρυπτοφάνη και φαινυλαλανίνη. Η δέσμευση της χρωστικής στην πρωτεΐνη γίνεται μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, δεσμών Van der Waals και υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων. Το σχηματιζόμενο σύμπλοκο σε όξινο περιβάλλον σχηματίζει έγχρωμο προϊόν με μέγιστο απορρόφησης στα 595 nm. Η ένταση των αποχρωματισμένων

ζωνών αντιστοιχεί στη συγκέντρωση και την ενεργότητα των MMPs και προσδιορίζεται πυκνομετρικά.

Πειραματικό πρωτόκολλο [Διαλύματα Παραρτήματος]

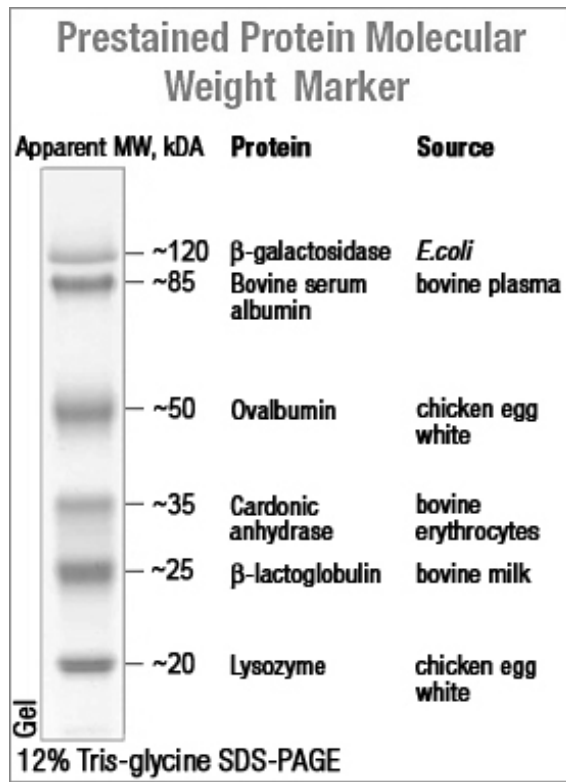
Η ζυμογραφία ζελατίνης πραγματοποιήθηκε με βάση πρωτόκολλο το οποίο ανέπτυξαν οι Kleiner και Stetler-Stevenson [359]. Στην παρούσα μελέτη η ανάλυση των πρωτεϊνών έγινε σε συσκευή κάθετης ηλεκτροφόρησης [**Mini-PROTEAN Tetra Electrophoresis System, BioRad Laboratories**], όπου σχηματίζεται ασυνεχές πήκτωμα ανάμεσα σε υάλινες πλάκες, καθαρισμένες με αιθανόλη. Πριν τον πολυμερισμό του πηκτώματος διαχωρισμού τοποθετήθηκε στην επιφάνεια νερό, προκειμένου αυτό να σχηματιστεί ομοιόμορφα και να ευθυγραμμιστεί. Μετά τον πολυμερισμό το νερό απομακρύνθηκε και προστέθηκε το πήκτωμα επιστοίβαξης, στο οποίο τοποθετήθηκε κατάλληλο εργαλείο για το σχηματισμό των φρεατίων, όπου εισάγονται τα πρωτεϊνικά δείγματα. Σε κάθε διαχωρισμό χρησιμοποιήθηκαν ισόποσα δείγματα αρθρικού υγρού:

- 50 μL κάθε δείγματος διαλύθηκαν σε 950 μL διαλύματος 50 mM Tris-HCl, pH 7.6.
- Σε 10 μL του τελικού διαλύματος 1:20 προστέθηκε διάλυμα φόρτωσης (sample buffer) και ακολούθησε η τοποθέτηση στα αντίστοιχα φρεάτια του πηκτώματος επιστοίβαξης.

Παράλληλα με τα δείγματα χρησιμοποιήθηκε στο ίδιο πήκτωμα μίγμα πρωτεϊνικών δεικτών γνωστού μοριακού βάρους και ποσότητας [**Prestained protein molecular weight marker, SM0441, Fermentas Life Sciences, Thermo Fisher Scientific**], προκειμένου να γίνει ταυτοποίηση του μεγέθους των υπό εξέταση πρωτεϊνών [**Σχήμα 2**]. Η ηλεκτροφόρηση έγινε σε ρυθμιστικό

διάλυμα με σταθερή εφαρμοζόμενη τάση 80 Volts όσο τα δείγματα βρίσκονταν στο πήκτωμα επιστοίβαξης και 120 Volts όταν αυτά εισάγονταν στο πήκτωμα διαχωρισμού. Ο τερματισμός της ηλεκτροφόρησης εξαρτάται από τις υπό εξέταση πρωτεΐνες και ρυθμίζεται με τη βοήθεια της χρωστικής.

Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης, το πήκτωμα διαχωρισμού εκπλύθηκε τρεις φορές για 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου σε ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης και εν συνεχεία επώαστηκε για 24 ώρες στους 37°C στο αντίστοιχο διάλυμα επώασης. Ακολούθησε βαφή του πηκτώματος με Coomassie Brilliant Blue R-250 για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου και αποχρωματισμός με νερό. Οι αποχρωματισμένες ζώνες που εμφανίζονται αντιστοιχούν όχι μόνο στις ανενεργές μορφές των MMP-2 και MMP-9, αλλά και στις ενεργοποιημένες μορφές τους, αφού με την αποδιάταξη και επακόλουθη επαναδιάταξη ενεργοποιούνται. Ο συγκριτικός ποσοτικός προσδιορισμός μεταξύ των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με πυκνομετρική ανάλυση, χρησιμοποιώντας υπολογιστικό πρόγραμμα επεξεργασίας εικόνας [*ImageJ* 1.44, NIH].

Σχήμα 2**Πρωτεϊνικοί δείκτες γνωστού μοριακού βάρους**

1.3. ΑΝΑΛΥΣΗ WESTERN BLOT

Η μέθοδος ανίχνευσης πρωτεϊνών της ανοσοαποτύπωσης εκτελείται σε τρία στάδια:

1. Διαχωρισμός των πρωτεϊνών ενός μίγματος με ηλεκτροφόρηση.
2. Μεταφορά των διαχωρισμένων πρωτεϊνών σε μεμβράνες νιτροκυτταρίνης.
3. Εντοπισμός των πρωτεϊνών με τη βοήθεια ειδικών σημασμένων αντισωμάτων.

1. Ηλεκτροφόρηση SDS-PAGE. Οι πρωτεΐνες που πρόκειται να διαχωριστούν υφίστανται βρασμό προκειμένου να αποδιαταχθούν και επεξεργασία με χρήση αναγωγικών παραγόντων όπως η β-μερκαπτοαιθανόλη προκειμένου να διασπαστούν οι δισουλφιδικοί δεσμοί. Η πλήρης αποδιάταξη των πρωτεϊνών επιτυγχάνεται με τη θέρμανση των πρωτεϊνικών δειγμάτων για 5 λεπτά στους 100°C, παρουσία όλων των αποδιατακτικών παραγόντων (SDS και β-μερκαπτοαιθανόλης).

Πειραματικό πρωτόκολλο [Διαλύματα Παραρτήματος]

Σε αραιωμένα δείγματα αρθρικού υγρού (1:10) 10 μL, προστέθηκε διάλυμα φόρτωσης με 5% β-μερκαπτοαιθανόλη. Ακολούθησε βρασμός για 5 λεπτά στους 100°C και τοποθέτηση αυτών στα αντίστοιχα φρεάτια του πήκτωματος επιστοίβαξης. Η ηλεκτροφόρηση έγινε με σταθερή εφαρμοζόμενη τάση 80 Volts όσο τα δείγματα βρίσκονταν στο πήκτωμα επιστοίβαξης και 150 Volts όταν εισάγονταν στο πήκτωμα διαχωρισμού.

2. Μεταφορά σε μεμβράνη νιτροκυτταρίνης. Η μεταφορά των πρωτεϊνών από το πήκτωμα του πολυακρυλαμιδίου στη μεμβράνη νιτροκυτταρίνης πραγματοποιείται με τη βοήθεια ηλεκτρικού πεδίου, ενώ οι πρωτεΐνες

μεταφέρονται και αποτυπώνονται στη μεμβράνη όπως ακριβώς έχουν διαχωριστεί στο πήκτωμα της ηλεκτροφόρησης. Η μεμβράνη πλεονεκτεί διότι είναι απλή στο χειρισμό και διότι τα μόρια των πρωτεϊνών βρίσκονται στην επιφάνειά της, οπότε είναι εύκολο να τα επεξεργαστούμε με κατάλληλα διαλύματα, σε αντίθεση με το πήκτωμα της ηλεκτροφόρησης, όπου οι πρωτεΐνες βρίσκονται εντός του πλέγματος του πολυακρυλαμιδίου. Συνήθως χρησιμοποιούνται μεμβράνες νιτροκυτταρίνης οι οποίες είναι υδρόφιλες και επιτρέπουν την ακινητοποίηση των πρωτεϊνών, αν και μπορεί να χρησιμοποιηθούν και υδρόφοβες μεμβράνες. Οι πρωτεΐνες δεσμεύονται ισχυρά στις μεμβράνες κυρίως με υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις. Η διαδικασία της μεταφοράς εξυπηρετεί την ανίχνευση συγκεκριμένων πρωτεϊνών ακινητοποιημένων σε μεμβράνες με τη χρήση κατάλληλων αντισωμάτων **[360]**. Οι ακινητοποιημένες πρωτεΐνες διατηρούν τις ιδιότητες τους, ώστε όταν επωαστούν με ειδικά αντισώματα που τις αναγνωρίζουν δημιουργούνται ανοσοσυμπλέγματα αντιγόνου-αντισώματος που επιτρέπουν τον εντοπισμό τους με τη χρήση κατάλληλων ιχνηθετών. Οι ιχνηθέτες μπορεί να είναι ραδιενεργοί (^{131}I) ή ενζυμικοί (υπεροξειδάση).

Το πήκτωμα λοιπόν επωάζεται για 10 λεπτά σε κατάλληλο διάλυμα μεταφοράς το οποίο περιέχει μεθανόλη, οπότε απομακρύνεται το SDS από το πήκτωμα και αυξάνεται η ικανότητα πρόσδεσης των πρωτεϊνών στη μεμβράνη. Το pH του ρυθμιστικού διαλύματος είναι αρκετά αλκαλικό (~8.3), ώστε οι πρωτεΐνες να είναι αρνητικά φορτισμένες και να μετακινούνται υπό την επίδραση του ηλεκτρικού πεδίου προς την κάθοδο όπου είναι τοποθετημένη η μεμβράνη νιτροκυτταρίνης.

Πειραματικό πρωτόκολλο [Διαλύματα Παραρτήματος]

Η ηλεκτρομεταφορά των πρωτεϊνών έγινε σύμφωνα με τους εργαστηριακούς οδηγούς που δίδονται συμπληρωματικά με τη μεμβράνη νιτροκυτταρίνης [**0.45 nitrocellulose membrane, Hybond-ECL, Amersham Biosciences**] και τη συσκευή ηλεκτρομεταφοράς [**Mini Trans-Blot Cell, BioRad Laboratories**] αντίστοιχα και βασίζονται σε τροποποιήσεις ήδη δημοσιευμένων πρωτοκόλλων. Μετά το πέρας της ηλεκτροφόρησης το πήκτωμα διαχωρισμού, χαρτί Whatman στο μέγεθος του πηκτώματος, οι σπόγγοι της συσκευής και η μεμβράνη νιτροκυτταρίνης επωάστηκαν για 10 λεπτά στο ρυθμιστικό διάλυμα μεταφοράς. Ακολούθως τοποθετήθηκαν μεταξύ των σπόγγων στη συσκευή ηλεκτρομεταφοράς από την άνοδο προς την κάθοδο ως εξής: χαρτί Whatman, μεμβράνη νιτροκυτταρίνης, πήκτωμα διαχωρισμού, χαρτί Whatman. Η ηλεκτρομεταφορά έγινε με την εφαρμογή ηλεκτρικού ρεύματος έντασης 390 mA για 90 λεπτά στους 4°C υπό συνεχή ανάδευση, ενώ η ανίχνευση των πρωτεϊνών στη μεμβράνη νιτροκυτταρίνης όπου δεσμεύτηκε το κατάλληλο αντίσωμα με τη χρήση συστήματος χημειοφωταύγειας.

3. Εντοπισμός των πρωτεϊνών με χρήση χημειοφωταύγειας. Ο εντοπισμός της υπό εξέταση πρωτεΐνης γίνεται με τη χρήση κατάλληλου αντισώματος και ανοσολογικών μηχανισμών. Η τεχνολογία παρασκευής αντισωμάτων επιτρέπει την ανίχνευση παρόμοιων δομικά πρωτεϊνών, όπως πρωτεΐνες που ανήκουν στην ίδια οικογένεια ή πρωτεΐνες που διαφέρουν στη φωσφορυλίωση ενός ή περισσότερων αμινοξέων. Ο εντοπισμός πραγματοποιείται έμμεσα με τη χρήση κατάλληλου πρωτογενούς αντισώματος το οποίο αναγνωρίζει και δεσμεύεται ειδικά σε συγκεκριμένο επίτοπο της πρωτεΐνης-αντιγόνου και δευτερογενούς αντισώματος το οποίο αναγνωρίζει και προσδένεται στη σταθερή περιοχή Fc

του πρώτου. Το δεύτερο αντίσωμα είναι συνεζευγμένο με το ένζυμο υπεροξειδάση (Horseradish peroxidase, HRP), προκειμένου να ανιχνευθεί η υπό εξέταση πρωτεΐνη. Η ανίχνευση του συμπλέγματος αντιγόνου-αντισώματος βασίζεται στην αρχή της ενισχυμένης χημειοφωταύγειας. Στο σχηματιζόμενο σύμπλοκο αντιγόνου-πρώτου αντισώματος-δεύτερου αντισώματος προστίθεται το αντιδραστήριο χημειοφωταύγειας, αποτελούμενο από H_2O_2 και λουμινόλη, σε αναλογία 1:1. Κατά την αντίδραση χημειοφωταύγειας, η HRP οξειδώνεται παρουσία H_2O_2 και η οξειδωμένη μορφή του ενζύμου αντιδρά με το υπόστρωμά της, τη λουμινόλη, προκαλώντας οξειδωση της λουμινόλης και ταυτόχρονη παραγωγή φωτός με εκπομπή φωτονίων. Η παραγωγή φωτός αποτυπώνεται ως μαύρη ζώνη σε φιλμ αυτοραδιογραφίας, ενώ η θέση όπου εμφανίζεται η μαύρη ζώνη στο φιλμ αντιστοιχεί στη θέση του συμπλόκου αντιγόνου-αντισωμάτων στη μεμβράνη νιτροκυτταρίνης. Ακόμη, η πυκνότητα της ζώνης εξαρτάται από την πυκνότητα της πρωτεΐνης-αντιγόνου και επομένως, επιτρέπει τον ποσοτικό προσδιορισμό της υπό εξέταση πρωτεΐνης [361]. Εναλλακτικά, ο εντοπισμός του συμπλόκου αντιγόνου-αντισωμάτων μπορεί να γίνει με την προσθήκη του υποστρώματος της υπεροξειδάσης παρουσία χρωμογόνου, όπως η διαμινοβενζιδίνη (DAB), η οποία ανάγεται και παράγει έγχρωμο προϊόν που κατακρημνίζεται στις θέσεις όπου βρίσκεται το σύμπλοκο.

Πειραματικό πρωτόκολλο [Διαλύματα Παραρτήματος]

Η ανοσοαποτύπωση της MMP-9 και του ειδικού αναστολέα της, TIMP-1 έγινε βάσει της αρχής της ενισχυμένης χημειοφωταύγειας, σύμφωνα με τον εργαστηριακό οδηγό που δίδεται συμπληρωματικά με τη σειρά έτοιμων αντιδραστηρίων χημειοφωταύγειας [**ECL Detection System, Amersham Biosciences**]. Συγκεκριμένα, μετά την ολοκλήρωση της ηλεκτρομεταφοράς των

πρωτεϊνών στη μεμβράνη νιτροκυτταρίνης τα φίλτρα επωάστηκαν σε διάλυμα κορεσμού για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου, προκειμένου να κορεστούν τυχόν ελεύθερες θέσεις και να εμποδιστεί μη ειδική δέσμευση στη μεμβράνη. Ακολούθησε επώαση για 16 ώρες στους 4°C υπό ήπια ανάδευση των αντίστοιχων βάσει μοριακού βάρους τμημάτων της μεμβράνης με το διάλυμα που περιείχε τα αντισώματα έναντι των MMP-9 [**Mouse Anti-MMP-9 monoclonal antibody, near C-terminus, MAB3309, Millipore**] και TIMP-1 [**Mouse Anti-bovine TIMP-1 monoclonal antibody, MAB3300, Millipore**] σε κατάλληλες αραιώσεις (1:1000 και 1:2000 αντίστοιχα). Μετά τρεις εκπλύσεις των 10 λεπτών, πραγματοποιήθηκε επώαση των τμημάτων της μεμβράνης με το διάλυμα που περιείχε το δεύτερο συνεζευγμένο με HRP αντίσωμα [**ECL Mouse IgG, HRP-Linked secondary antibody, Amersham Biosciences**] για 1 ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Για την εμφάνιση των πρωτεϊνικών ζωνών στο φιλμ αυτοραδιογραφίας [**Agfa films**] η μεμβράνη επωάστηκε μετά άλλες τρεις εκπλύσεις με το μίγμα έτοιμων αντιδραστηρίων χημειοφωταύγειας που περιείχε H₂O₂ και λουμινόλη για 5 λεπτά. Η έκθεση της μεμβράνης σε φιλμ αυτοραδιογραφίας εντός κατάλληλης κασέτας αποτυπώνει την παραγωγή φωτονίων, οπότε επιτρέπει την ανίχνευση των υπό εξέταση πρωτεϊνών. Ο χρόνος έκθεσης στο φιλμ εξαρτάται από την ένταση της ζώνης του συμπλόκου και καθορίζεται από τα επίπεδα έκφρασης της πρωτεΐνης στο σύστημα και τη συγγένεια που παρουσιάζει το πρώτο αντίσωμα για την πρωτεΐνη. Εν συνέχεια για την εμφάνιση του φιλμ και τη σταθεροποίηση του σήματος, το φιλμ επωάστηκε σε διάλυμα εμφάνισης και στερέωσης [**Tetenal developer & fixer**]. Ο συγκριτικός ποσοτικός προσδιορισμός μεταξύ των δειγμάτων

πραγματοποιήθηκε με πυκνομετρική ανάλυση, χρησιμοποιώντας υπολογιστικό πρόγραμμα επεξεργασίας εικόνας [*ImageJ 1.44, NIH*].

1.4. ELISA

Πειραματικό πρωτόκολλο

Υιοθετήθηκε κατά γράμμα το πρωτόκολλο που αναγράφεται στο συνοδευτικό φύλλο οδηγιών του έτοιμου συστήματος ανοσοαποτύπωσης [**MMP-9 ELISA Kit, Calbiochem**]. Ένα ειδικό έναντι της proMMP-9 αντίσωμα είναι καθηλωμένο στην επιφάνεια προπαρασκευασμένων φρεατίων. Τα δείγματα σε κατάλληλες αραιώσεις (1:10, 1:20, 1:40, 1:100, 1:200), καθώς και το ένα δεύτερο αντίσωμα έναντι της proMMP-9 συνεζευγμένο με βιοτίνη προστέθηκε στα αντίστοιχα φρεάτια και αφέθηκαν προς επώαση για 2 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Κατά το χρονικό διάστημα αυτό, το ζυμογόνο δεσμεύεται από καθηλωμένα και ελεύθερα αντισώματα. Μη δεσμευμένες ουσίες ξεπλένονται από τα φρεάτια (τρεις εκπλύσεις) και προστίθεται υπεροξειδάση συνεζευγμένη με στρεπταβιδίνη η οποία δεσμεύει τη βιοτίνη του δεύτερου αντισώματος. Μετά επώαση 30 λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου, ακολούθησαν άλλες τρεις εκπλύσεις. Η HRP καταλύει τη μετατροπή ενός χρωμογόνου υποστρώματος, της τετρα-μεθυλοβενζιδίνης (tetra-methylbenzidine, TMB) από μία άχρωμη αρχικά ουσία σε ένα κυανούν προϊόν (ή κίτρινο μετά προσθήκη ενός ανασχετικού αντιδραστηρίου), η ένταση του οποίου είναι ανάλογη της συγκέντρωσης της MMP-9 στο δείγμα και μετράται με φασματοφωτόμετρο ρυθμισμένο σε διπλό μήκος κύματος 450/540 nm. Στα φρεάτια προστέθηκε λοιπόν TMB και αφέθηκαν προς επώαση για 30 λεπτά στο σκοτάδι σε θερμοκρασία δωματίου. Εν συνεχεία προστέθηκε ανασχετικό της χρωμογόνου αντίδρασης ρυθμιστικό διάλυμα. Ποσοτικοποίηση επετεύχθη με την κατασκευή πρότυπης καμπύλης χρησιμοποιώντας γνωστές συγκεντρώσεις MMP-9 (20,10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0

ng/ml), η οποία παρέχεται λυοφιλοποιημένη. Σύγκριση της απορρόφησης ενός δείγματος το οποίο περιέχει άγνωστη ποσότητα MMP-9 με εκείνη των πρότυπων διαλυμάτων, προσδιορίζει τη συγκέντρωση της MMP-9 του δείγματος.

1.5. ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΑΣΘΕΝΩΝ ΠΑΣΧΟΝΤΩΝ ΥΠΟ ΣΗΠΤΙΚΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ ΤΟΥ ΓΟΝΑΤΟΣ

Οι ασθενείς που έπασχαν από σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος ($n_{SA}=10$) αντιμετωπίστηκαν βάσει συγκεκριμένου πρωτοκόλλου το οποίο περιελάμβανε:

1. Άμεσο, εκτενή αρθροσκοπικό καθαρισμό και έκπλυση του γόνατος με τουλάχιστον 15 lt διαλύματος φυσιολογικού ορού 0.9% υπό πίεση. Βαθμολόγηση του σταδίου της σηπτικής αρθρίτιδος κατά Gächter.
2. Συμπληρωματική υμενεκτομή, αναλόγως του σταδίου (όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο του γενικού μέρους 3.7.3.II.).
3. Παροχέτευση της άρθρωσης για 24 ώρες.
4. Επανάληψη αρθροσκόπησης με επιμονή των κλινικοεργαστηριακών ευρημάτων κάθε 48 ώρες έως τρεις.
5. Αφαίρεση τυχόν ξένων σωμάτων με ανοικτό χειρουργικό καθαρισμό της άρθρωσης σε περίπτωση αποτυχίας της αρθροσκοπικής αντιμετώπισης.
6. Συστηματική χορήγηση αντιβιοτικών για δύο τουλάχιστον εβδομάδες. Σε περίπτωση θετικής καλλιέργειας αρθρικού υγρού, χορηγήθηκε αγωγή σύμφωνη με το αντιβιογράμμα. Σε σηπτική αρθρίτιδα αρχικά άγνωστης αιτιολογίας χορηγήθηκε συνδυασμός βανκομικίνης και κινολόνης.
7. Χορήγηση από του στόματος σιπροφλοξασίνης και ριφαμπικίνης για τουλάχιστον άλλες τέσσερις εβδομάδες ή μέχρις ότου οι δείκτες φλεγμονής λάβουν φυσιολογικές τιμές ($CRP < 0.5 \text{ mg/dL}$).
8. Διαρκής παθητική κίνηση της άρθρωσης στα όρια του πόνου κατά την άμεση μετεγχειρητική περίοδο (συνεδρίες διάρκειας 10-15 min, τρεις ή τετράκις ημερησίως), μέχρι να επιτευχθεί πλήρης έκταση και κάμψη 120° του γόνατος

και ασκήσεις ενδυνάμωσης του τετρακεφάλου με ανάπαυση σε λειτουργική θέση στα μεσοδιαστήματα.

9. Πλήρης φόρτιση του σκέλους με εφαρμογή λειτουργικού νάρθηκα έως ότου ενδυναμωθεί επαρκώς ο τετρακέφαλος (4-6 εβδομάδες), συνηθέστερα μετά τον πλήρη έλεγχο των συμπτωμάτων.

10. Παρακολούθηση των ασθενών με βάση κλινικά και εργαστηριακά κριτήρια προκειμένου να πιστοποιηθεί η εξάλειψη της λοίμωξης.

Όλες οι επεμβάσεις πραγματοποιήθηκαν από την ίδια χειρουργική ομάδα.

1.6. ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΩΝ ΑΣΘΕΝΩΝ ΤΗΣ ΟΜΑΔΑΣ ΤΗΣ ΣΗΠΤΙΚΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

Οι ασθενείς της ομάδας της σηπτικής αρθρίτιδας παρέμειναν υπό παρακολούθηση για διάστημα τουλάχιστον ενός έτους από της εξάλειψης της λοίμωξης του γόνατος, ενώ η δραστηριότητά τους στο τέλος του διαστήματος αυτού αξιολογήθηκε με βάση την κλίμακα Knee injury and Osteoarthritis Outcome score (KOOS) *[Πίνακας Γ Παραρτήματος]* **[362]**. Εκτός των άλλων περιευνελέγησαν στοιχεία εκ του κλινικού και εργαστηριακού ελέγχου, καθώς επίσης στοιχεία που αφορούσαν στις επιπλοκές, τα υποκειμενικά ενοχλήματα, την ικανότητα συμμετοχής σε καθημερινές ή και αθλητικές δραστηριότητες, την ποιότητα ζωής για την εξαγωγή χρηστικών συμπερασμάτων. Στα πλαίσια της ταξινόμησης των ασθενών αυτών με βάση κλινικά κυρίως στοιχεία υιοθετήθηκε το σύστημα των Cierny-Mader με ορισμένες τροποποιήσεις του συγγραφέα, προκειμένου να διευκολυνθεί η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων *[Πίνακας4]* **[127]**.

Πίνακας 4

Τροποποίηση του συγγραφέα του συστήματος ταξινόμησης Cierny-Mader για τη σηπτική αρθρίτιδα [127]

Ανατομικός τύπος	Μεμονωμένη σηπτική αρθρίτιδα.	II	0
	Σηπτική αρθρίτιδα με επέκταση της λοίμωξης σε περιαρθρικά μαλακά μόρια, χωρίς οστεομυελίτιδα.	III	+1
	Σηπτική αρθρίτιδα με οστεομυελίτιδα κατά συνέχεια ιστού.	IV	+2
Κατάσταση ξενιστή	Φυσιολογική ανοσολογική κατάσταση.	A	0
	Διαταραχή της ανοσίας σε τοπικό επίπεδο.	B_L	+1
	Παρουσία ξένου σώματος.		+1
	Συστηματική ανοσολογική διαταραχή.	B_s	+2
Κλινικό περιβάλλον	Διάρκεια συμπτωμάτων μικρότερη των 5 ημερών ή οργανισμός χαμηλής λοιμογόνου ισχύος.	1	0
	Διάρκεια συμπτωμάτων 5 ημερών ή μεγαλύτερης.	2	+1
	Οργανισμός υψηλής λοιμογόνου ισχύος.		+1
			Σ

1.7. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η σύγκριση των τριών ομάδων ως προς τη δράση της MMP-2 εντός της αρθρικής κοιλότητας του γόνατος έγινε με τη χρήση του μη παραμετρικού Kruskal-Wallis test. Το Mann-Whitney U-test χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση του αριθμού των λευκοκυττάρων, των ουδετεροφίλων, των επιπέδων CRP, MMP-9 και TIMP-1 μεταξύ σηπτικής και άσηπτης, φλεγμονώδους αρθρίτιδας. Το Fisher's exact test χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να αξιολογηθεί η παρουσία ενεργοποιημένων και μη μορφών των ζελατινών στα προς εξέταση δείγματα. Ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης (linear regression analysis) και συσχέτισης κατά Spearman πραγματοποιήθηκε με στόχο την πιστοποίηση πιθανής σχέσης μεταξύ αριθμού λευκοκυττάρων/ουδετεροφίλων και επιπέδων MMP-9, καθώς και την αξιολόγηση της συνέπειας των αποτελεσμάτων μεταξύ των διαφορετικών πειραματικών μεθόδων. Τέλος, ανάλυση συσχέτισης κατά Pearson και Spearman χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση σχέσεων μεταξύ κλινικών και εργαστηριακών δεδομένων. Ως επιθυμητό επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε το 5%. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια ειδικού υπολογιστικού προγράμματος [**GraphPad Prism version 5.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com**].

2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

2.1. ΔΕΔΟΜΕΝΑ ΑΣΘΕΝΩΝ ΠΟΥ ΠΕΡΙΕΛΗΦΘΗΣΑΝ ΣΤΗ ΜΕΛΕΤΗ

Ο αριθμός των λευκοκυττάρων (WBC) και των ουδετεροφίλων (PMN) σε δείγματα αρθρικού υγρού ήταν στατιστικώς σημαντικά αυξημένος στην ομάδα της σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος (mean WBC_{SA}=44.200, PMN_{SA}=40.035 cells/mL) σε σχέση με τη ρευματική (WBC_{RA}=22.590, PMN_{RA}=18.870 cells/mL) (**P_{WBC}=0.0147**, **P_{PMN}=0.0115**, *Ανάλυση A & B Παραρτήματος*), ενώ οι αντίστοιχες τιμές στην ομάδα της οστεοαρθρίτιδας ήταν σημαντικά χαμηλότερες (WBC_{OA}=300, PMN_{OA}=40 cells/mL). Παρά ταύτα, τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) κατά την εισαγωγή των ασθενών δεν διέφεραν μεταξύ των δύο ομάδων (σηπτικής και ρευματικής αρθρίτιδας) [*Ανάλυση Γ Παραρτήματος*]. Όλα τα σηπτικά δείγματα είχαν εμφανή στροφή του τύπου προς τα αριστερά με περιεκτικότητα ουδετεροφίλων $\geq 90\%$. Θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ του αριθμού των λευκοκυττάρων (WBC) και των ουδετεροφίλων (PMN) του αρθρικού υγρού με τα επίπεδα της C-αντιδρώσας πρωτεΐνης (CRP) στο ολικό αίμα των υπό εξέταση ασθενών (**P<0.0001**, *Σχήμα B & Ανάλυση Δ Παραρτήματος*).

2.2. ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΔΡΑΣΗΣ ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΗΣ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΑΡΘΡΙΚΟΥ ΥΓΡΟΥ

Η ζυμογραφία ζελατίνης επιτρέπει τη μέτρηση της ζελατινολυτικής δράσης στο σύνολό της, καθώς τα συστατικά του πηκτώματος ενεργοποιούν τα ζυμογόνα και οι TIMPs αποδεσμεύονται από τα ένζυμα. Επιπλέον, παρέχει πληροφορίες σχετικές με την ταυτότητα κάθε μίας εκ των ζελατινών (MMP-2 & MMP-9), βάσει του μοριακού βάρους αυτών και το σχετικό συγκριτικό ποσοτικό προσδιορισμό της δράσης τους μεταξύ των δειγμάτων [363].

Δράση ζελατινάσης ανιχνεύθηκε σε “κεκαθαρμένες” ζώνες οι οποίες αντιστοιχούσαν σε περίπου 72, 92, 130 και 225 kDa [Σχήμα 3]. Όλα τα δείγματα περιείχαν proMMP-2 (72 kDa), ενώ δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων [Σχήμα Γ & Ανάλυση Ε Παραρτήματος]. Αντιθέτως, η ενεργοποιημένη μορφή της MMP-2 (68 kDa) εμφανίστηκε σε 1/10 πάσχοντα από άσηπτη και 4/10 πάσχοντες από σηπτική αρθρίτιδα, υποδηλώνοντας αυξημένη ενεργοποίηση της πρόδρομης μορφής στη σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος ($P=0.0021$, Πίνακας 5, Ανάλυση ΣΤ Παραρτήματος).

Η ανθρώπινη MMP-9 –προερχόμενη κυρίως από τα ουδετερόφιλα– είναι γνωστό ότι διαχωρίζεται σε τρεις ζώνες δράσης που αντιστοιχούν:

- στη μονομερή πρόδρομη μορφή (92 kDa),
- μία διμερή μορφή με αυξημένο μοριακό βάρος (~225 kDa) και
- μία των 130 kDa, ένα σύμπλοκο με μία μικροσφαιρίνη, τη lipocalin 2, από την οποία δεν αποδεσμεύεται διάρκεια της ζυμογραφίας [364].

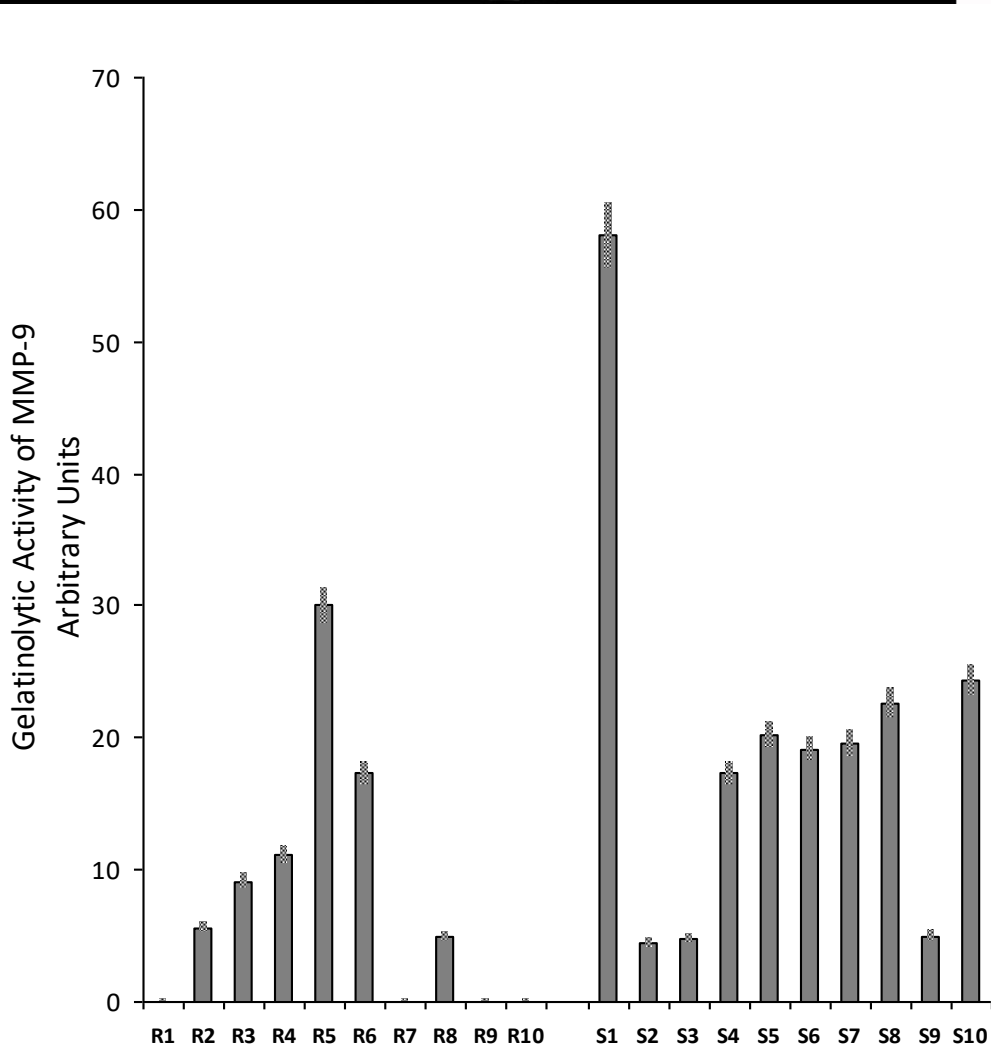
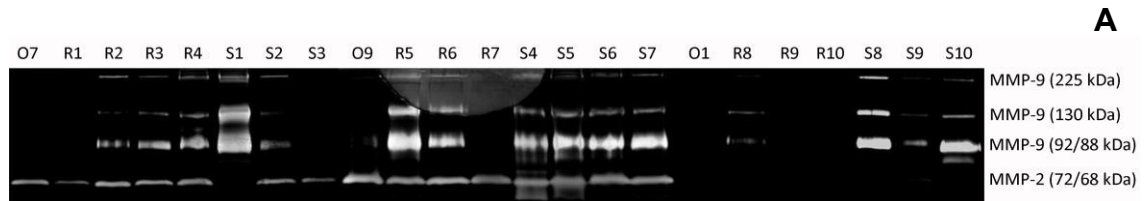
Καμία από τις ζώνες αυτές δεν ήταν παρούσα σε δείγματα αρθρικού υγρού από ασθενείς-πάσχοντες από οστεοαρθρίτιδα του γόνατος. Σε 4/10 ασθενείς

της ομάδας της ρευματικής αρθρίτιδας ανιχνεύθηκαν ίχνη μόνον MMP-9 δράσης, ενώ υψηλότερα επίπεδα αυτής (225, 130 kDa και πρόδρομης μορφής-92 kDa) ανιχνεύθηκαν σε όλα τα σηπτικά δείγματα. Δράση ζελατινάσης στα 225 και 130 kDa παρατηρήθηκε σε όλα τα δείγματα αρθρικού υγρού, των οποίων οι καλλιέργειες απέβησαν θετικές για βακτηριακή λοίμωξη (**P=0.0003**, *Πίνακας 5, Ανάλυση Z Παραρτήματος*). Επίσης, τα μισά από τα σηπτικά (5/10 ασθενείς) και δείγματα εκ των 2/10 ασθενών-πασχόντων από ρευματική νόσο περιείχαν πρόσθετες, πρωτεολυμένες-“ενεργοποιημένες” μορφές της MMP-9 με χαμηλότερα μοριακά βάρη (86 & 88, 110, <225 kDa) (**P=0.015**, *Πίνακας 5, Ανάλυση H Παραρτήματος*). Ως εκ των ανωτέρω, δείγματα της ομάδας της σηπτικής αρθρίτιδας επέδειξαν στατιστικώς σημαντικά αυξημένη MMP-9 δράση (πρόδρομη και ενεργοποιημένη μορφή), σε σχέση με εκείνα της ομάδας της άσηπτης, φλεγμονώδους αρθρίτιδας (**P=0.0444**, *Σχήμα 3, Ανάλυση Θ Παραρτήματος*).

Σχήμα 3

A: Ισόποσα δείγματα αρθρικού υγρού από ασθενείς πάσχοντες από σηπτική (S1-10), ρευματική (R1-10) και οστεοαρθρίτιδα (O1-10) του γόνατος ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα SDS-PAGE το οποίο περιείχε 0,1% ζελατίνη, υπό μη αναγωγικές συνθήκες

B: Πυκνομετρική ανάλυση της MMP-9 ζελατινολυτικής δράσης. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε αυθαίρετες μονάδες ως μέσος όρος \pm τη σταθερή απόκλιση ($mean \pm SD$) μεταξύ διαδοχικών αναλύσεων πολλαπλών δειγμάτων του ίδιου ασθενούς από διαφορετικές λήψεις (τουλάχιστον δύο) και πολλαπλών επαναλήψεων της ίδιας ανάλυσης (τρεις επαναλήψεις)



Πίνακας 5

Ζυμογραφικά δεδομένα από την ανάλυση δειγμάτων των τριών ομάδων: σηπτικής (SA), ρευματικής (RA) και οστεοαρθρίτιδας (OA)

	SA	RA	OA
proMMP-2 (72 kDa)	Παρούσα σε όλα τα δείγματα	Παρούσα σε όλα τα δείγματα	Παρούσα σε όλα τα δείγματα
Ενεργός MMP-2 (68 kDa)	Παρούσα σε 13/30 δείγματα (4/10 ασθενείς)	Παρούσα σε 2/30 δείγματα (1/10 ασθενή)	Απούσα
proMMP-9 (92 kDa) + σύμπλοκο με λιποκαλίνη (130 kDa), διμερής μορφή (225 kDa)	Παρούσα σε όλα τα δείγματα + + +	Παρούσα σε 19/30 δείγματα (6/10 ασθενείς) + +	Απούσα
Ενεργός MMP-9 (88, 86 kDa + πρόσθετες πρωτεολυμένες μορφές 110, <225 kDa)	Παρούσα σε 16/30 δείγματα (5/10 ασθενείς)	Παρούσα σε 6/30 δείγματα (2/10 ασθενείς)	Απούσα

2.3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ MMP-9 ΚΑΙ TIMP-1

Προκειμένου να επιβεβαιωθούν τα αποτελέσματα της ζυμογραφίας ζελατίνης και να προσδιοριστούν τα επίπεδα έκφρασης MMP-9 και TIMP-1 στη σηπτική και άσηπτη αρθρίτιδα του γόνατος, πραγματοποιήθηκε ανάλυση western blot. Δείγματα αρθρικού υγρού γόνατος ασθενών-πασχόντων από σηπτική αρθρίτιδα επέδειξαν στατιστικώς σημαντικά, υψηλότερα επίπεδα MMP-9 σε σχέση με εκείνα της ομάδας της ρευματικής (**P=0.0052, Σχήμα 4, Ανάλυση I Παραρτήματος**). Αντιθέτως, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά σε ό,τι αφορά στα επίπεδα του TIMP-1 (**Σχήμα 5, Ανάλυση IA Παραρτήματος**). Παρά ταύτα, ο λόγος MMP-9/TIMP-1 σε σηπτικά δείγματα ήταν σημαντικά υψηλότερος σε σχέση με τον εκτιμώμενο λόγο σε άσηπτα (**P=0.0029, Σχήμα 5, Ανάλυση IB Παραρτήματος**).

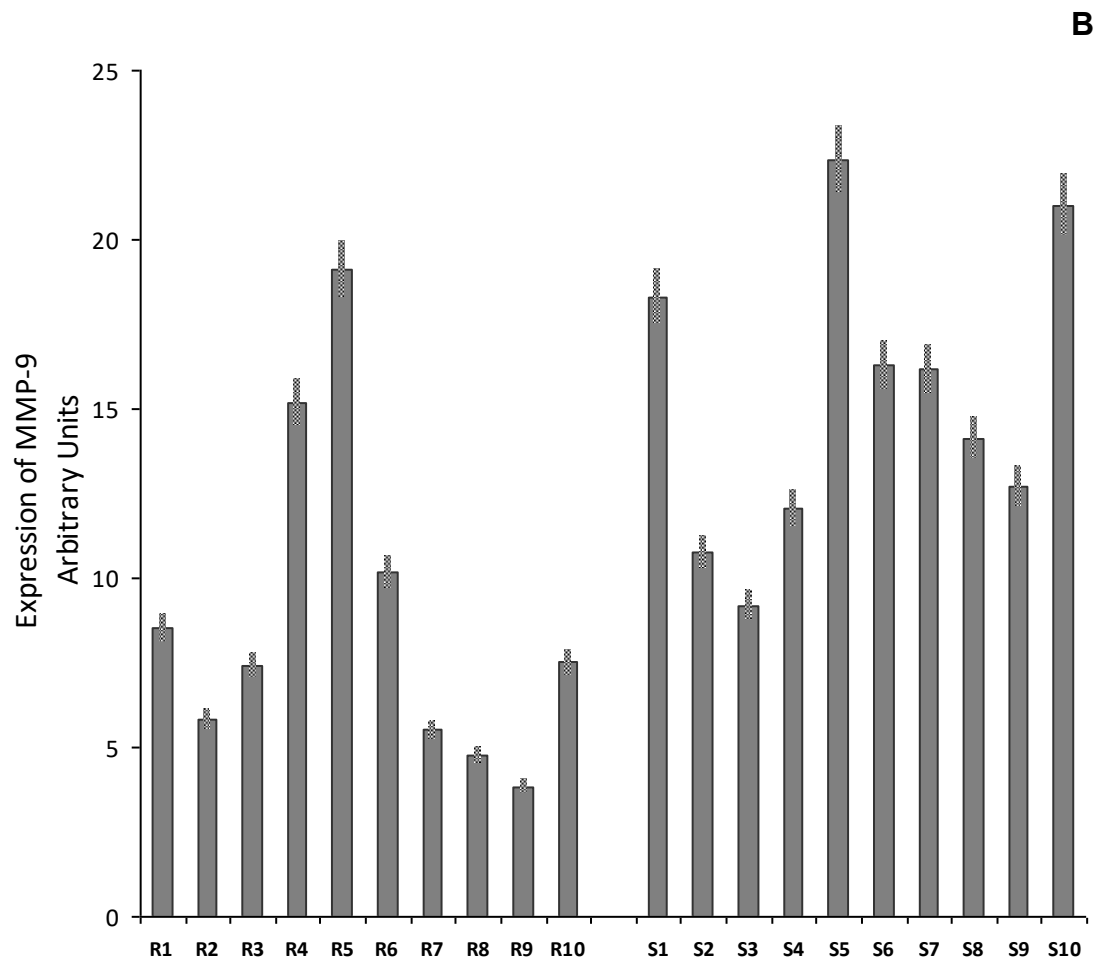
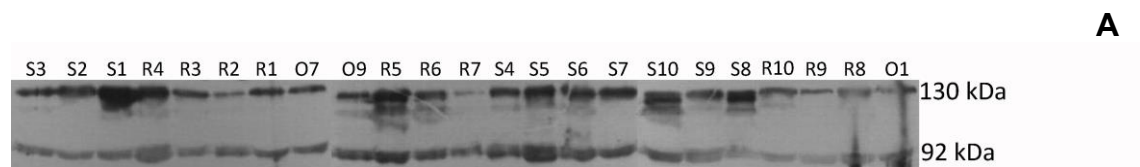
Θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ επιπέδων έκφρασης της MMP-9 και ζελατινολυτικής MMP-9 δράσης (**P<0.0001, Σχήμα Δ & Ανάλυση IΓ Παραρτήματος**). Επιπροσθέτως, με τη χρήση ανάλυσης γραμμικής παλινδρόμησης (linear regression analysis) τα επίπεδα έκφρασης της MMP-9 συσχετίστηκαν με τον αριθμό των λευκοκυττάρων και ουδετεροφίλων του αρθρικού υγρού στη σηπτική (**P=0.049, Σχήμα 6, Ανάλυση ID Παραρτήματος**), αλλά και άσηπτη αρθρίτιδα του γόνατος (**P_{WBC}=0.0058, P_{PMN}=0.0047, Σχήμα 6, Ανάλυση ID Παραρτήματος**). Κάποια τέτοια σχέση δεν πιστοποιήθηκε μεταξύ αυτών και των επιπέδων CRP, τουλάχιστον σε ό,τι αφορά στη σηπτική αρθρίτιδα [**Ανάλυση IE Παραρτήματος**]. Τέλος, καμία συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των επιπέδων έκφρασης του TIMP-1 ή του λόγου MMP-9/TIMP-1 και των ανωτέρω παραμέτρων (αριθμός λευκοκυττάρων και

ουδετεροφίλων αρθρικού υγρού και επίπεδα CRP) [Πίνακας Δ Παραρτήματος].

Σχήμα 4

A: Ισόποσα δείγματα αρθρικού υγρού από ασθενείς πάσχοντες από σηπτική (S1-10), ρευματική (R1-10) και οστεοαρθρίτιδα (O1-10) του γόνατος ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα SDS-PAGE, υπό αναγωγικές συνθήκες και ακολούθως πραγματοποιήθηκε ανίχνευση MMP-9 με χρήση αντισώματος σε διάλυση 1:1000

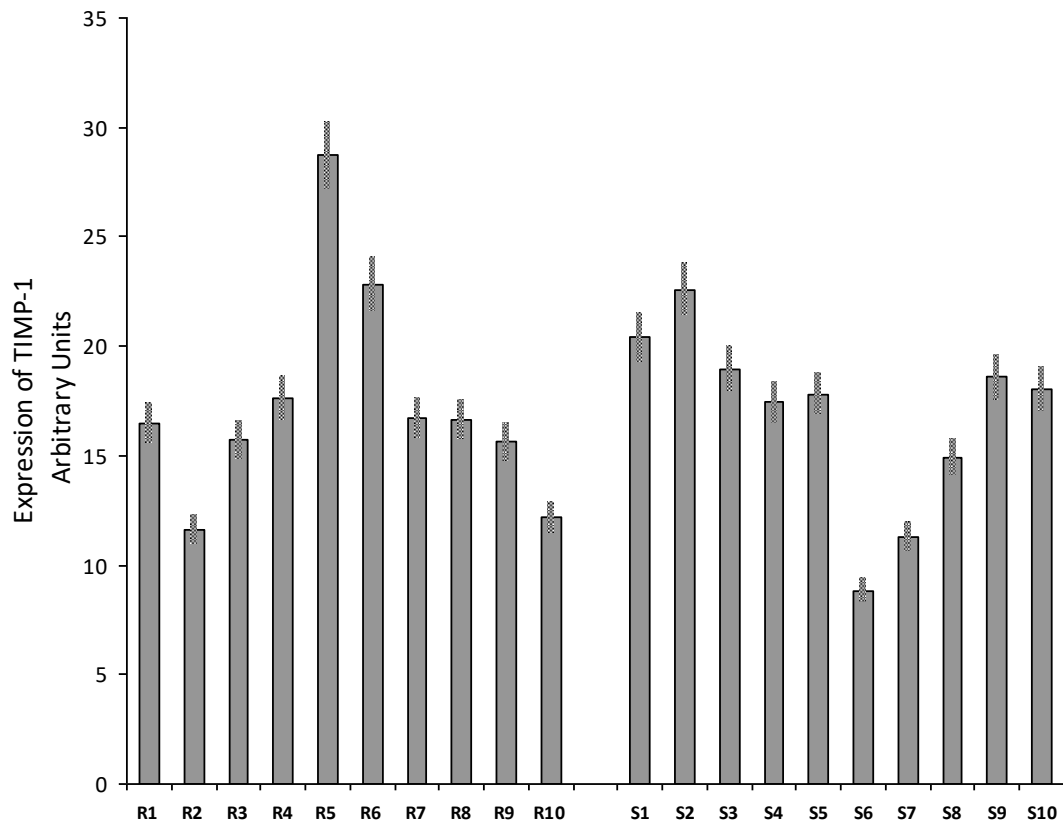
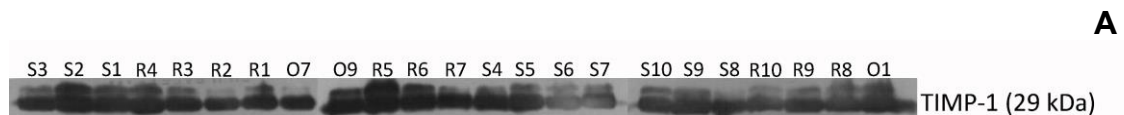
B: Πυκνομετρική ανάλυση της έκφρασης της MMP-9. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε αυθαίρετες μονάδες ως μέσος όρος \pm τη σταθερή απόκλιση ($mean \pm SD$)

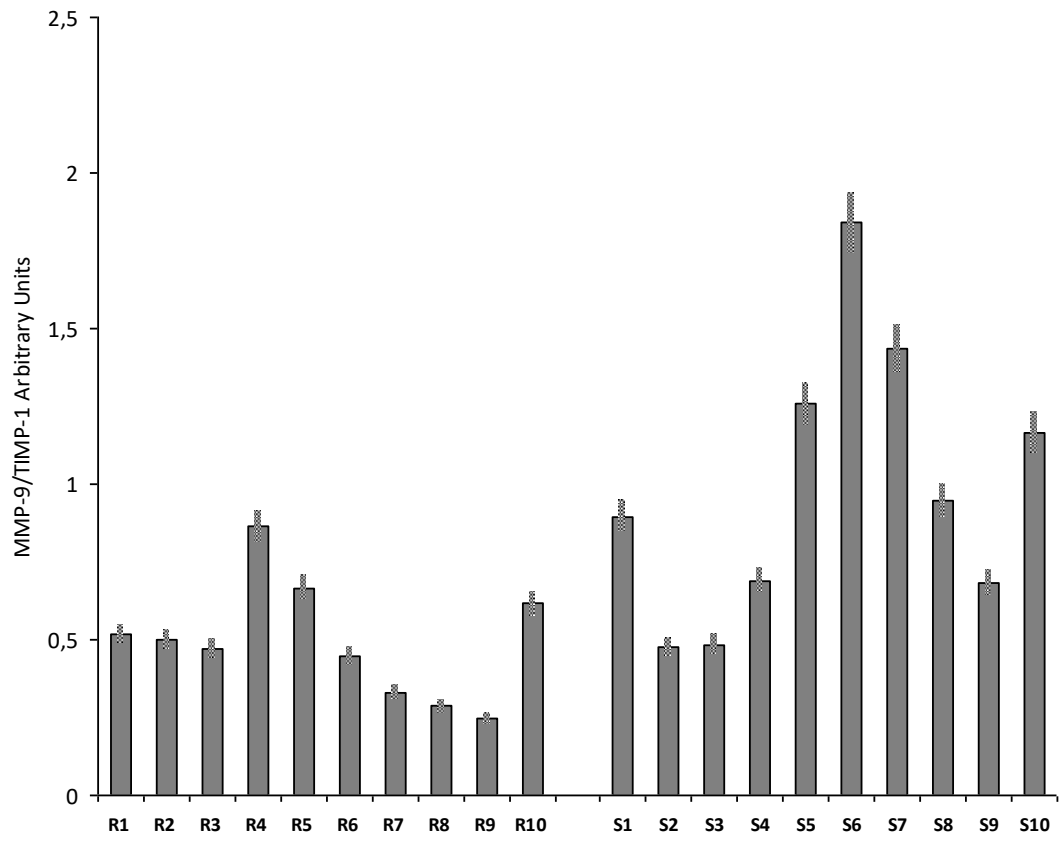


Σχήμα 5

A: Ισόποσα δείγματα αρθρικού υγρού από ασθενείς πάσχοντες από σηπτική (S1-10), ρευματική (R1-10) και οστεοαρθρίτιδα (O1-10) του γόνατος ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα SDS-PAGE, υπό αναγωγικές συνθήκες και ακολούθως πραγματοποιήθηκε ανίχνευση TIMP-1 με χρήση αντισώματος σε διάλυση 1:2000

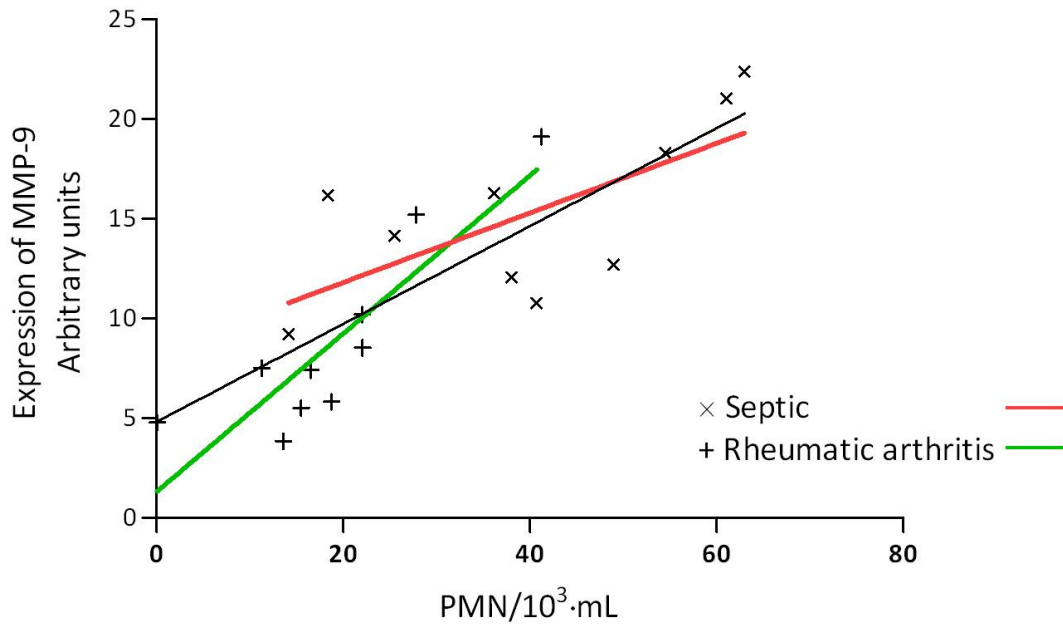
B, Γ: Πυκνομετρική ανάλυση της έκφρασης του TIMP-1 με υπολογισμό του λόγου MMP-9/TIMP-1. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται σε αυθαίρετες μονάδες ως μέσος όρος \pm τη σταθερή απόκλιση ($mean \pm SD$)





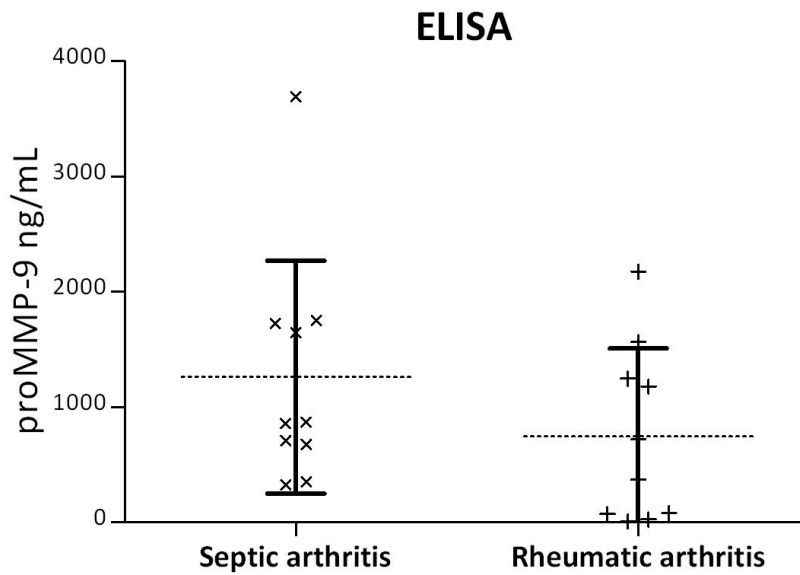
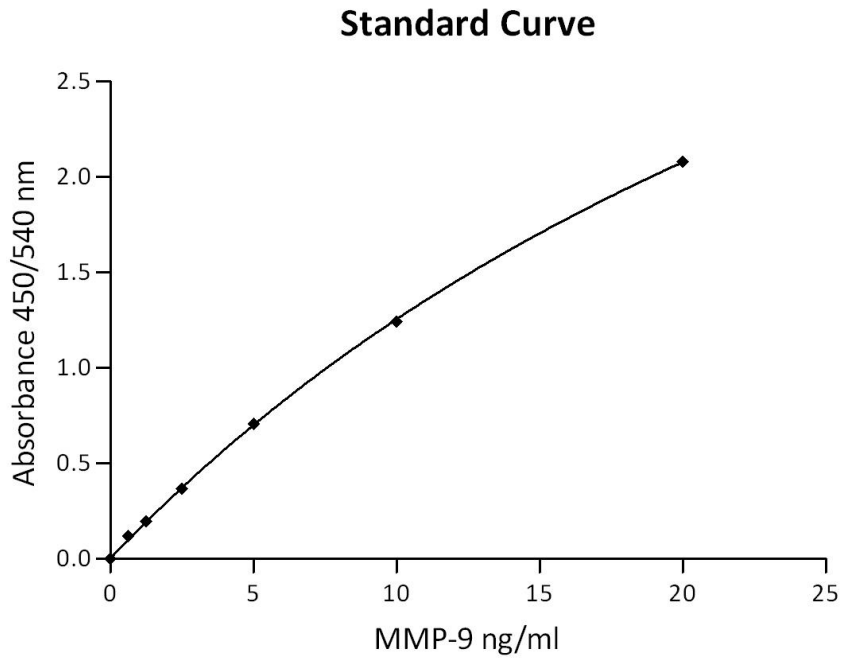
Σχήμα 6**Linear regression analysis**

**Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων έκφρασης MMP-9 και αριθμού ουδετεροφίλων σε σηπτική και άσηπτη αρθρίτιδα του γόνατος
($Y=4.82+0.2454X$, $r^2=0.5988$, $P<0.0001$)**



2.4. ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ proMMP-9

Η ζυμογραφίας ζελατίνης και η ανάλυση western blot αποτελούν ημιποσοτικές μεθόδους προσδιορισμού των πρωτεϊνών. Προκειμένου να υπάρξει μία απόλυτη και όχι συγκριτική ποσοτική μέτρηση, τουλάχιστον της proMMP-9, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ELISA. Ατυχώς, δεν παρατηρήθηκε κάποια σημαντική διαφορά ως προς την έκφραση της proMMP-9 μεταξύ των ομάδων της σηπτικής και της άσηπτης αρθρίτιδας του γόνατος [**Σχήμα 7, Πίνακας E & Ανάλυση ΙΣΤ Παραρτήματος**]. Ωστόσο, θετική συσχέτιση παρατηρήθηκε μεταξύ επιπέδων proMMP-9 και ζελατινολυτικής δράσης και έκφρασης της MMP-9, αυξάνοντας με τον τρόπο αυτό την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων [**Σχήμα E & Ανάλυση ΙΖ Παραρτήματος**].

Σχήμα 7**Πειραματικά δεδομένα ποσοτικού προσδιορισμού proMMP-9 με ELISA**

2.5. ΚΛΙΝΙΚΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Δέκα ασθενείς-πάσχοντες από σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος (επτά άνδρες και τρεις γυναίκες) αντιμετωπίστηκαν με βάση συγκεκριμένο πρωτόκολλο (όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο του ειδικού μέρους **1.5**) με μέση ηλικία τα **52 έτη** (17-72 έτη). Όλοι οι ασθενείς παρέμειναν υπό παρακολούθηση επί **45,8 μήνες** κατά μέσο όρο (45.8 ± 5.712).

Στις μισές περιπτώσεις (5/10), η σηπτική αρθρίτιδα ήταν μετεγχειρητικής αιτιολογίας:

- τρεις μετά συνδεσμοπλαστική προσθίου χιαστού συνδέσμου (στον ασθενή S3 αυτή συνδυάστηκε με οστεοτομία εγγύς μετάφυσης κνήμης) [**S2**, **S3**, **S4**],
- μία μετά αρθροσκοπική μερική έσω μηνισκεκτομή [**S8**] και
- μία μετά λανθασμένη τοποθέτηση βελονών δακτυλίου υβριδικού μηχανισμού εξωτερικής οστεοσύνθεσης κατάγματος εγγύς μετάφυσης κνήμης ενδαρθρικά και ακόλουθη επιμόλυνση κατά μήκος των βελονών (pin track infection) [**S10**].

Ίσχαιμος περίδεση χρησιμοποιήθηκε σε όλες τις αρθροσκοπικές επεμβάσεις, χωρίς ο χρόνος αυτής να υπερβαίνει τα 90 λεπτά. Οι δε λοιμώξεις παρουσιάστηκαν κατά το άμεσα μετεγχειρητικό διάστημα, χωρίς σημαντική απόκλιση μεταξύ εκλυτικού αιτίου και αιτιατού. Σε τρεις περιπτώσεις (3/10), υπήρξε αιματογενής διασπορά μικροβιακού παράγοντα από απομακρυσμένη εστία [**S5**, **S6**, **S9**], ενώ σε δύο (2/10) παρατηρήθηκε μετά ενδαρθρική έγχυση είτε κορτικοστεροειδούς [**S1**] είτε υαλουρονικού οξέος [**S7**].

Σύμφωνα με την κατάταξη κατά Cierny-Mader, η πλειονότητα των ασθενών έπασχαν από σηπτική αρθρίτιδα (ανατομικός τύπος II), ενώ οι δύο εξ αυτών (2/10) παρουσίασαν ταυτόχρονη προσβολή των περιαρθρικών μαλακών μορίων, χωρίς όμως οστική συμμετοχή (ανατομικός τύπος III). Όλες οι λοιμώξεις αφορούσαν ξενιστές τάξης B.

4/10 **B_L**:

3/10_Παρουσία μοσχεύματος-ξένου σώματος [**S2, S3, S4**] [**162**]

1/10_Ενδοαρθρική έγχυση κορτικοστεροειδούς [**S1**]

6/10 **B_s**:

4/10_Σακχαρώδης διαβήτης [**S6, S7, S8, S10**]

1/10_AIDS [**S5**]

1/10_Ενδοφλέβια χρήση ουσιών [**S9**]

Μόνο δύο ασθενείς (2/10) προσεβλήθησαν από μικρόβιο με μικρή λοιμογόνο δύναμη και η διάρκεια των συμπτωμάτων χρονολογούνταν από μικρότερο των 5 ημερών διάστημα [**S1, S5**] [**Πίνακας 6**]. Ο μέσος όρος της χρονικής διάρκειας μεταξύ έναρξης των συμπτωμάτων και εισαγωγής - αντιμετώπισης ήταν **5,2 ημέρες**.

Τα κλινικά σημεία και συμπτώματα που παρουσίασαν οι ασθενείς της ομάδας της σηπτικής αρθρίτιδας κατά την εισαγωγή τους συνοψίζονται στον **Πίνακα 7**. Τα πλέον σταθερά ευρήματα ήταν ο πόνος με συνοδό περιορισμό του εύρους κίνησης της άρθρωσης, η θερμότητα και το οίδημα. Πυρετός (>38°C) απουσίαζε σε τρεις ασθενείς (3/10) [**S3, S7, S8**]. Σε δύο περιπτώσεις (2/10), η παρακέντηση του γόνατος απέδωσε αιμορραγικό αρθρικό υγρό, ενώ παρατηρήθηκαν εκχυμώσεις πέριξ της άρθρωσης [**S2, S10**]. Τέλος, εκροή

υγρού (πυώδους, οροπυώδους ή πυοαιματηρού) από χειρουργικό τραύμα παρουσιάστηκε σε δύο ασθενείς (2/10) [**S3, S10**].

Σε ό,τι αφορά στο είδος των μικροβίων που απομονώθηκαν από δείγματα αρθρικού υγρού των ασθενών αυτών, παρατηρήθηκαν έξι (6/10) λοιμώξεις από *Staphylococcus species* [**S1, S2, S3, S6, S7, S8**] (οι δύο εξ αυτών από MRSA [**S3, S7**]) και δύο (2/10) πολυμικροβιακές [**S3, S10**] [*Πίνακας ΣΤ Παραρτήματος*].

Χρειάστηκαν κατά μέσο όρο **1,6 επεμβάσεις/ασθενή** (1.6 ± 0.6992 , εύρος τιμών 1-3) προκειμένου να αντιμετωπιστεί επιτυχώς η ενδοαρθρική λοίμωξη [*Πίνακας 8*]. Εκτός του αρθροσκοπικού καθαρισμού - έκπλυσης (±μυελεκτομής), στον ασθενή **S3** πραγματοποιήθηκε επιπρόσθετα, διάνοιξη και καθαρισμός του χειρουργικού τραύματος της κνήμης που παρουσίασε εκροή, ενώ στον ασθενή **S10** αναθεώρηση του υβριδικού συστήματος εξωτερικής οστεοσύνθεσης με αφαίρεση των βελονών του δακτυλίου οι οποίες παραβίαζαν την αρθρική κοιλότητα του γόνατος και δια των οποίων επεκτάθηκε η λοίμωξη εντός αυτής. Μοσχεύματα και υλικά σταθεροποίησης αυτών (κοχλίες κνημιαίου καναλιού) στις περιπτώσεις συνδεσμοπλαστικής του προσθίου χιαστού συνδέσμου [**S2, S3, S4**], καθώς και υλικά εσωτερικής οστεοσύνθεσης της οστεοτομίας της εγγύς μετάφυσης της κνήμης [**S3**] δεν αφαιρέθηκαν, αφού τα μεν μοσχεύματα βρέθηκαν σταθερά και λειτουργικά τα δε λοιπά υλικά χωρίς ένδειξη χαλάρωσης. Άλλωστε, δεν παρατηρήθηκε καμία οστική συμμετοχή του κνημιαίου ή μηριαίου καναλιού, του οστικού τεμαχίου του μοσχεύματος ή και των τμημάτων της οστεοτομίας στη λοίμωξη. Όλοι οι ασθενείς ήταν σταδίου II κατά Gächter, εκτός των **S6** και **S8** οι οποίοι

εμφάνισαν εικόνα λαχνοοζώδους υμενίτιδας με πάχυνση του υμένα, νέκρωση κατά τόπους και συμφύσεις (στάδιο III) **[Πίνακας 8]**.

Σε όλους τους ασθενείς επετεύχθη εξάλειψη της λοίμωξης με σταδιακή υποχώρηση των συμπτωμάτων και επαναφορά των τιμών της CRP και της Τ.Κ.Ε σε φυσιολογικά επίπεδα. Η ομαλοποίηση των επιπέδων της CRP πραγματοποιήθηκε εντός **38,875 ημερών** κατά μέσο όρο (38.875 ± 16.841) **[Σχήμα 8, Σχήμα ΣΤ Παραρτήματος]**. Καμία υποτροπή δεν παρατηρήθηκε.

Ένας ασθενής **[S7]** υπεβλήθη σε επέμβαση ολικής αντικατάστασης της άρθρωσης του γόνατος, οπότε για την αξιολόγηση του χρησιμοποιήθηκαν στοιχεία προ της τελικής επεμβάσεως. Κατά την επανεξέταση των ασθενών, ο μέσος όρος του ελλείμματος κάμψης του γόνατος ήταν **10°** (εύρος τιμών 0-30°). Ο ακτινολογικός έλεγχος υπό φόρτιση αποκάλυψε:

- ήπιες αρθριτιδικές αλλοιώσεις (μείωση του μεσάρθριου διαστήματος) σε τέσσερις ασθενείς (4/10) **[S1, S4, S5, S9]** και
- εκτεταμένες (σκλήρυνση, οστικές κύστες και σχηματισμός οστεοφύτων) σε πέντε (5/10) **[S3, S6, S7, S8, S10]**.

Οι περισσότερες προϋπήρχαν των επεισοδίων ενδοαρθρικής σήψης. Επιδείνωση λοιπόν της ακτινολογικής εικόνας παρατηρήθηκε σε έξι περιπτώσεις (6/10) **[S3, S4, S6, S8, S9, S10]**.

Ο μέσος όρος του KOOS score των ασθενών κατά το τέλος της περιόδου παρακολούθησης ήταν **59,36** (59.36 ± 27.3 , εύρος τιμών 29.8-96.2) **[Σχήμα 8]**. Αναλυτικότερα, ένας ασθενής (1/10) **[S10]** ανέφερε επεισόδια έντονου άλγους της άρθρωσης, ενώ τέσσερις (4/10) μέτριου **[S3, S6, S7, S8]**. Οι ίδιοι (5/10) ήταν εκείνοι που ανέφεραν τις περισσότερες ενοχλήσεις και περιορισμούς κατά τη συνήθη, αλλά και αθλητική δραστηριότητα (ίδια ο **S8**),

ενώ ένας (1/10) ακόμη παρουσίασε ήπια ενοχλήματα κατά την άθληση **[S9]**.

Όσον αφορά στα αποτελέσματα:

- μόνο δύο ασθενείς (2/10) ήταν ικανοποιημένοι από το τελικό επίπεδο δραστηριότητας **[S1, S5]**,
- δύο (2/10) μετρίως ικανοποιημένοι **[S2, S9]**,
- με τους λοιπούς να δηλώνουν δυσαρεστημένοι.

Κατά την προσπάθεια συσχέτισης κλινικών και εργαστηριακών δεδομένων *[Πίνακας Z Παραρτήματος]*, βρέθηκε στατιστικώς σημαντική σχέση μεταξύ ταξινόμησης κατά Cierny-Mader, όπως αυτή έχει τροποποιηθεί από τον συγγραφέα και αριθμού επεμβάσεων που απαιτήθηκε προκειμένου να εξαλειφθεί η ενδοθωρακική λοίμωξη (**P=0.0478**, *Ανάλυση IH Παραρτήματος*). Επίσης, ισχυρή συσχέτιση ανεδείχθη μεταξύ της πρώτης και του KOOS score (**P=0.001**, *Ανάλυση IO Παραρτήματος*).

Πίνακας 6

Κατάταξη των ασθενών της ομάδας της σηπτικής αρθρίτιδας κατά την τροποποιημένη από τον συγγραφέα κλίμακα Cierny-Mader*

	Κατάσταση ξενιστή	Ανατομικός τύπος	Κλινικό περιβάλλον		*
S1	BL	II	1		1
S2	BL	II	2	Multiresistant-CNS	2
S3	BL	III	2	MRSA, multiresistant Gram- negative bacteria (A.baumannii)	3
S4	BL	II	2	Multiresistant Gram- negative bacteria (S.paucimobilis)	2
S5	Bs	II	1		2
S6	Bs	II	2	Delay of treatment	3
S7	Bs	II	2	MRSA Delay of treatment	4
S8	Bs	II	2	Delay of treatment	3
S9	Bs	II	2	Multiresistant enterococcus	3
S10	Bs	III	2	Multiresistant Gram- negative bacteria (K.pneumoniae)	4

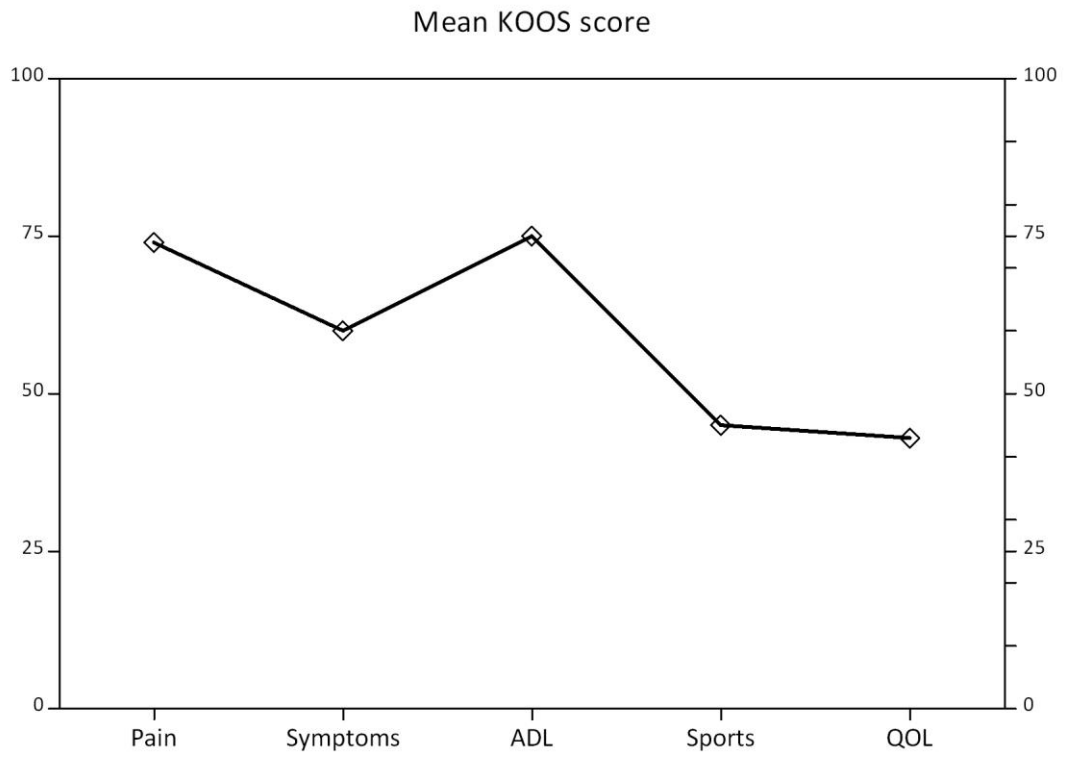
Πίνακας 7**Κλινικά σημεία-συμπτώματα κατά την εισαγωγή**

	Πυρετός >38°C	Άλγος	Θερμότητα	Οίδημα	Αιμορραγία	Εκχύμωση	Εκροή
S1	+	+	+	+	-	-	-
S2	+	+	+	+	+	+	-
S3	-	+	+	+	-	-	+
S4	+	+	+	+	-	-	-
S5	+	+	+	+	-	-	-
S6	+	+	+	+	-	-	-
S7	-	+	+	+	-	-	-
S8	-	+	+	+	-	-	-
S9	+	+	+	+	-	-	-
S10	+	+	+	+	+	+	+

Πίνακας 8

**Αρθροσκοπική σταδιοποίηση της σηπτικής αρθρίτιδας κατά Gächter και
σύνολο επεμβάσεων/ασθενή**

	Στάδιο	Επεμβάσεις/ασθενή
S1	II	1
S2	II	1
S3	II	2
S4	II	2
S5	II	1
S6	III	1
S7	II	2
S8	III	2
S9	II	1
S10	II	3

Σχήμα 8**ΚΟΟΣ score κατά το τέλος της περιόδου παρακολούθησης**

3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Το πιο σημαντικό ίσως εύρημα της παρούσας διδακτορικής διατριβής αποτελεί η αυξημένη έκφραση και ενεργοποίηση της MMP-9 στο αρθρικό υγρό ασθενών-πασχόντων από σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος.

Η παρουσία της 72 kDa MMP-2 σε όλα τα δείγματα, ανεξαρτήτως αριθμού ουδετεροφίλων, πιθανώς αντιπροσωπεύει μία συνεχή ινοβλαστική έκφραση της εν λόγω MMP στο αρθρικό διαμέρισμα, παρόμοια με εκείνη του πλάσματος [61, 266]. Καμία σημαντική διαφορά δεν σημειώθηκε σε ό,τι αφορά στην proMMP-2 δράση μεταξύ των ομάδων, υποδηλώνοντας ότι η MMP-2 δεν εμπλέκεται μόνο σε οξείες λοιμώξεις των αρθρώσεων, αλλά και χρόνιες διαταραχές αυτών [61, 266, 268].

Επιπροσθέτως, τα επίπεδα της MMP-9 (πρόδρομων και ενεργοποιημένων μορφών) στα σηπτικά δείγματα ήταν στατιστικώς σημαντικά υψηλότερα από εκείνα των άσηπτων, δεδομένα τα οποία επιβεβαιώθηκαν με ζυμογραφία ζελατίνης και ανάλυση western blot. Η παρατηρηθείσα αυξημένη έκφραση και ενεργοποίηση της MMP-9 στη σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος βρίσκεται σε απόλυτη ευθυγράμμιση με αποτελέσματα προηγούμενων μελετών [61, 266-268]. Ο Arican και οι συνεργάτες του κατέδειξαν αυξημένη MMP-9 δράση σε αρθρικό υγρό βοοειδών με σηπτική αρθρίτιδα σε σύγκριση με φυσιολογικές αρθρώσεις, χρησιμοποιώντας ζυμογραφία ζελατίνης και ELISA [61]. Ο Chu και οι συνεργάτες του, κάνοντας χρήση ζυμογραφίας ζελατίνης, διαπίστωσαν υψηλότερα επίπεδα πρόδρομης MMP-9 και ενεργοποιημένων μορφών MMP-2 και MMP-9 σε δείγματα αρθρικού υγρού από αρθρώσεις προσβεβλημένες από μικροβιακό παράγοντα σε σχέση με δείγματα από

αρθρώσεις-πάσχουσες από άσηπτη αρθρίτιδα [267]. Δύο ακόμη εργασίες επιβεβαιώνουν τα ανωτέρω αποτελέσματα σε ίππους και βοοειδή [268, 269]. Τέλος, οι Makowski και Ramsby, αποκάλυψαν ότι η MMP-9 του αρθρικού υγρού σχετίζεται με την έκταση της διαπίδυσης των λευκοκυττάρων και ειδικότερα των ουδετεροφίλων στους διάφορους τύπους αρθρίτιδας [266]. Θετική συσχέτιση μεταξύ αριθμού λευκοκυττάρων και ουδετεροφίλων και επιπέδων MMP-9 βρέθηκε και στην παρούσα εργασία. Παρά ταύτα, η διαφορά της στατιστικής σημαντικότητας της αυτής συσχέτισης μεταξύ των ομάδων σηπτικής και ρευματικής αρθρίτιδας ($P_{SA}=0.049$ έναντι $P_{RA}=0.0047$) είναι ενδεικτική του γεγονότος ότι εκτός των ουδετεροφίλων, η λοιμογόνος δύναμη των βακτηρίων παίζει σημαντικό ρόλο στην αυξημένη έκφραση και ενεργοποίηση της MMP-9. Εξάλλου διαφορετικά μικροβιακά στελέχη και είδη έχουν διαφορετικό αντίκτυπο όσον αφορά στην έκκριση και ενεργοποίηση των MMPs [246].

Η ουδετεροφιλική MMP-9 παράγεται διάρκεια της όψιμης περιόδου ωρίμανσης των κοκκιοκυττάρων στο μυελό των οστών και αποθηκεύεται σε αζουρόφιλα κοκκία [117, 299]. Μετά διέγερση από LPS ή πεπτιδογλυκάνη, προκαλείται αποκοκκίωση και άμεση απελευθέρωση MMP-9 ως μέρος μίας μη ειδικής απάντησης των ουδετεροφίλων [276, 301]. Στα πλαίσια αυτής της απάντησης, εκκρίνονται εκτός των άλλων, μυελοϋπεροξειδάση και ουδετεροφιλική ελαστάση, αναστέλλοντας τον TIMP-1 [297]. Μονοκύτταρα και μακροφάγα συνθέτουν de novo MMP-2 και MMP-9. Η LPS και η πεπτιδογλυκάνη προάγουν συνεργιστικά την έκκριση MMP-9 από τα μακροφάγα [236]. Μη παράλληλη διέγερση της έκφρασης του TIMP-1, συνεισφέρει σε έναν υψηλό λόγο MMP-9/TIMP-1 [365]. Το λιποτεϊχοϊκό οξύ, άλλο ένα συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των θετικών κατά Gram

βακτηρίων, αυξάνει επίσης τη φαγοκυτταρική έκκριση MMP-9 [317]. Συστατικά της κάψας, καθώς και του κυτταρικού τοιχώματος των στρεπτοκόκκων, μεταξύ των οποίων η χολίνη, ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, διεγείρουν σθεναρά την παραγωγή MMP-9 από μακροφάγα και κύτταρα του αρθρικού υμένα [321, 323, 324]. Τέλος, το *Propionibacterium acnes* επάγει την έκφραση και έκκριση MMP-9 σε μονοκύτταρα-μακροφάγα [325]. Άλλες μελέτες υπαινίσσονται ότι η φωσφολιπάση C, ένας πιθανός λοιμογόνος παράγοντας αρκετών παθογόνων βακτηρίων ή και άλλα παθογόνα της στοματικής κοιλότητας, όπως η *Porphyromonas gingivalis*, το *Fusobacterium necrophorum* και η *Eikenella corrodens* επάγουν την παραγωγή ζελατινασών σε υμενικά κύτταρα και ινοβλάστες.

Τα ζυμογόνα της πλειονότητας των MMPs ενεργοποιούνται κατά την έκθεση σε όξινο περιβάλλον. Θεωρείται λοιπόν πιθανό ότι η ενεργοποίηση της proMMP-9 από βακτηριακά οξέα παίζει καθοριστικό ρόλο στην καταστροφή της άρθρωσης [192]. Επιπροσθέτως, βακτήρια εκκρίνουν πρωτεολυτικά ένζυμα, όπως η οικογένεια της thermolysin (*Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholera*) που ενεργοποιούν τις proMMP-2 και proMMP-9 [292, 293]. Η σουλφυδρυλική πρωτεΐνάση του *S.pyogenes* επάγει την αποτελεσματική πρωτεολυτική ενεργοποίηση των ζελατινασών [294]. Η ψευδαργυρική μεταλλοπρωτεΐνάση του πνευμονιόκοκκου, καθώς και πρωτεάσες του παθογόνου της στοματικής κοιλότητας, *Porphyromonas gingivalis*, διασπούν, ενεργοποιώντας με τον τρόπο αυτό την MMP-9 [283, 295]. Από την άλλη, τροποποιήσεις του N-τελικού άκρου του TIMP-1 αλλά και των λοιπών TIMPs από συγκεκριμένα βακτήρια αδρανοποιούν τα εν λόγω ένζυμα, με αποτέλεσμα την εκτεταμένη ιστική καταστροφή [296].

Διμερισμός της MMP-9 συμβαίνει σε περίσσεια της εν λόγω MMP έναντι των TIMPs [366]. Ως εκ τούτου, παρουσία της διμερούς μορφής υποδηλώνει ίσως αυξημένη ζελατινολυτική MMP-9 δράση. Διάρκεια ζυμογραφίας ζελατίνης, οι MMPs διαχωρίζονται από τους αναστολείς τους. Η μέθοδος αυτή λοιπόν είναι ενδεικτική της παρουσίας των ζελατινολυτικών, αλλά όχι της πραγματικής δράσης αυτών σε κάθε ένα δείγμα. Η ανίχνευση της MMP-9 και του ειδικού αναστολέα αυτής, TIMP-1 με ανάλυση western blot απέδειξε την ύπαρξη εκσεσημασμένων ποσοτήτων ενεργού ενζύμου καθ' υπέρβαση οιαδήποτε αναστολέα στη σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος (υψηλός λόγος MMP-9/TIMP-1). Το γεγονός αυτό πιθανώς εξηγεί την ταχεία κλινική επιδείνωση που παρατηρείται σε ορισμένες περιπτώσεις [61]. Στη διεθνή βιβλιογραφία δεν υπάρχει κάποια συσχέτιση μεταξύ MMP-9 και TIMP-1 όσον αφορά στην κλινική τους σημασία στη σηπτική αρθρίτιδα. Ωστόσο, υπάρχουν αναφορές οι οποίες καταδεικνύουν την ανισορροπία MMP-9/TIMP-1 προς όφελος της ζελατινολυτικής δράσης σε περιπτώσεις βακτηριακής μηνιγγίτιδας, πνευμονίας και περιοδοντίτιδας [246, 365, 367]. Σε μία πολυκεντρική μελέτη, ο Lorente και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν ελάττωση του λόγου MMP-9/TIMP-1 σε αποβιώσαντες σηπτικούς ασθενείς [368]. Το εύρημα αυτό βρίσκεται σε απόλυτη συμφωνία με τον προστατευτικό ρόλο της MMP-9, ο οποίος υποδεικνύεται από ένα πειραματικό ζωικό υπόδειγμα σηπτικής αρθρίτιδας και σήψης [232]. Πάρα την εκτεταμένη ιστική καταστροφή που προκαλεί τοπικά, η MMP-9 φαίνεται ότι –άμεσα ή έμμεσα– ανακόπτει τον καταρράκτη της συστηματικής φλεγμονώδους αντίδρασης της σήψης, χωρίς να λείπουν βεβαίως και κάποιες αντικρουόμενες απόψεις [369].

Η αρθροπάθεια από εναπόθεση κρυστάλλων πολύ συχνά εκδηλώνεται ως οξεία μονοαρθρίτιδα του γόνατος. Το γεγονός ότι η παρούσα μελέτη δεν περιλαμβάνει ασθενείς-πάσχοντες από ουρική/ψεύδο-ουρική αρθρίτιδα αποτελεί βασική αδυναμία αυτής. Πόσο μάλλον όταν η κρυσταλλογενής αρθρίτιδα είναι μία μορφή άσηπτης αρθρίτιδας η οποία σχετίζεται με εκσεσημασμένη φλεγμονή των αρθρώσεων και αντίστοιχη παραγωγή ζελατινών. Παρά ταύτα, αρκετές μελέτες υποδηλώνουν ομοιότητες σε ό,τι αφορά στην ζελατινολυτική MMP-2 και MMP-9 δράση μεταξύ ουρικής και άλλων μορφών μη βακτηριακής φλεγμονώδους αρθρίτιδας [266, 267].

Άλλος περιορισμός της διατριβής αυτής είναι η χρήση ημιποσοτικών μεθόδων, η οποία κρίνεται από ορισμένους ερευνητές ως ανεπαρκής. Άλλωστε, η αυστηρή ποσοτική ανάλυση δεδομένων ζυμογραφίας ή ανοσοαποτύπωσης (western blotting) θεωρείται χαμηλής ευαισθησίας εξαιτίας της μεταβλητότητας μεταξύ των πηκτωμάτων. Η μεταβλητότητα αυτή δυσχεραίνει έτι περαιτέρω τη σύγκριση στοιχείων από πολλαπλά πηκτώματα. Προκειμένου να αρθούν οποιοιδήποτε ενδοιασμοί σε σχέση με τη χρήση των μεθόδων αυτών πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές επαναλήψεις της πειραματικής διαδικασίας, ενώ καταβλήθηκε προσπάθεια ανάδειξης της στατιστικά σημαντικής διαφοράς στην έκφραση της MMP-9 μεταξύ των ομάδων σηπτικής και ρευματικής αρθρίτιδας με ποσοτικό προσδιορισμό της proMMP-9. Το γεγονός της αποτυχίας πιστοποίησης της εν λόγω διαφοράς με τη χρήση ELISA οφείλεται κύρια στο ότι το αντίσωμα που χρησιμοποιήθηκε είναι ειδικό έναντι της proMMP-9, αδυνατώντας να δεσμεύσει τις λοιπές ενεργοποιημένες μορφές της MMP-9, αλλά και τα προϊόντα αυτόπεψης αυτών και δευτερευόντως στο μικρό αριθμό δειγμάτων των ομάδων. Ο τελευταίος, καθώς και η ετερογένεια των υπό

σύγκριση ομάδων καθιστούν αναγκαία τη διεξαγωγή μελετών μεγαλύτερων σειρών.

Ειδικότερα, ο μικρός αριθμός των ασθενών-πασχόντων από σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος υπονομεύει την οποιαδήποτε απόπειρα αξιολόγησης του πρωτοκόλλου αντιμετώπισης όπως αυτό περιγράφεται στο κεφάλαιο του ειδικού μέρους 1.5., παρά την αδιαμφισβήτητη επιτυχία του. Ακόμη, η χρήση της MMP-9 ή του λόγου της προς τον TIMP-1 ως προγνωστικού δείκτη είναι μάλλον καταδικασμένη για τον ίδιο λόγο. Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί η ισχυρή συσχέτιση μεταξύ ταξινόμησης κατά Cierny-Mader, όπως αυτή τροποποιήθηκε από τον συγγραφέα και αριθμού επεμβάσεων που απαιτήθηκαν για την εξάλειψη της ενδοαρθρικής λοίμωξης, καθώς και του KOOS score κατά το τέλος της παρακολούθησης των ασθενών. Το γεγονός ότι η συσχέτιση αυτή είναι ασθενέστερη σε ό,τι αφορά στον αριθμό των επεμβάσεων (**P=0.0478**), οφείλεται όχι σε αδυναμία του συστήματος βαθμονόμησης, αλλά στην περισσότερη του δέοντος συντηρητική αντιμετώπιση ορισμένων περιστατικών ή την απροθυμία της χειρουργικής ομάδας για πιο επιθετική αντιμετώπιση ορισμένων άλλων για λόγους μη ιατρικούς. Τελευταία, έγινε μία προσπάθεια περιεκτικής κατάταξης των λοιμώξεων του μυοσκελετικού [370]. Ίσως όμως κινείται προς λανθασμένη κατεύθυνση μία κατάταξη η οποία περιλαμβάνει στο σύνολό τους οντότητες τόσο ανόμοιες μεταξύ τους. Η σηπτική αρθρίτιδα, κατά τη γνώμη του γράφοντος, αποτελεί χωριστή οντότητα με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά και παθοφυσιολογία. Η ταξινόμηση λοιπόν κατά Cierny-Mader εξακολουθεί να είναι η ταξινόμηση αναφοράς και η προτεινόμενη τροποποίηση με σκοπό την ποσοτικοποίηση της κλίμακας για στατιστικούς λόγους μάλλον επιτυχημένη.

4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Παρά τους περιορισμούς και τις αδυναμίες της διατριβής αυτής, αν μη τι άλλο αναδεικνύει τη MMP-9 και το λόγο αυτής προς τον αναστολέα της, TIMP-1 (MMP-9/TIMP-1) ως πολλά υποσχόμενους υποψήφιους βιολογικούς δείκτες ενδαρθρικής λοίμωξης. Η εφαρμογή μοριακών μεθόδων ανίχνευσης των ζελατινασών και των αναστολέων τους, αν και εξεζητημένες για το μέσο κλινικό ιατρό, είναι δυνατό να συνεισφέρει στη διαφορική διάγνωση μεταξύ σηπτικής και άσηπτης φλεγμονώδους αρθρίτιδας. Η παρουσία υψηλών επιπέδων έκφρασης MMP-9 με έναν αυξημένο λόγο MMP-9/TIMP-1 και των ενεργοποιημένων μορφών της MMP-2 και MMP-9 σε δείγματα αρθρικού υγρού, ανεξαρτήτως του περιεχομένου αριθμού των ουδετεροφίλων, αποτελούν ισχυρές ενδείξεις βακτηριακής προσβολής.

Περαιτέρω έρευνα απαιτείται προκειμένου να κατοχυρωθεί η κλινική σημασία της δράσης των MMPs και των αναστολέων τους στη σηπτική αρθρίτιδα και να διευκρινιστεί κατά πόσο η μέτρηση της σχετικής έκφρασης της MMP-9 μπορεί να γίνει μέρος της καθημερινής ιατρικής πρακτικής, χρήσιμη ως προς τη διάγνωση περιπρωθετικών ή μετεγχειρητικών ενδαρθρικών λοιμώξεων, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις αρνητικών καλλιιεργειών. Τέλος, θα ήταν ενδιαφέρον να αξιολογήσει κανείς την MMP-9 ή το λόγο αυτής προς τον TIMP-1 ως προγνωστικούς δείκτες σε περιπτώσεις σήψης είτε ακόμη και πολλαπλού τραύματος, καθώς οι ομοιότητες μεταξύ των δύο καταστάσεων είναι πασιφανείς.

5. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός: Σε περίπτωση σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος, παρατηρείται υπεροχή των στρωματικών μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs) σε βάρος των ιστικών αναστολέων τους (TIMPs), εξαιτίας αυξημένης, επαγόμενης από βακτήρια, έκφρασης και ενεργοποίησης αυτών σε σύγκριση με την αυτοάνοσης αρχής ή εκφυλιστικού τύπου αρθρίτιδα. Ο σκοπός της εργασίας αυτής είναι ο προσδιορισμός των επιπέδων έκφρασης της ζελατινάσης MMP-9 και του ειδικού αναστολέα της, TIMP-1, σε αρθρικό υγρό από πάσχουσες αρθρώσεις και η διερεύνηση της πιθανότητας χρήσης τους ως διαγνωστικού κριτηρίου κατά την προσέγγιση της οξείας μονοαρθρίτιδας του γόνατος.

Υλικό & Μέθοδος: Ζυμογραφία ζελατίνης και ανάλυση western blot πραγματοποιήθηκε σε δείγματα αρθρικού υγρού από γόνατα ασθενών πασχόντων από σηπτική (**SA**/10 ασθενείς), ρευματική (**RA**/10 ασθενείς) και οστεοαρθρίτιδα (**OA**/10 ασθενείς).

Αποτελέσματα: Η ζυμογραφία αποκάλυψε έκφραση proMMP-2 σε όλα τα δείγματα αρθρικού υγρού, ενώ η ενεργοποιημένη μορφή της ήταν παρούσα σε περισσότερα σηπτικά. MMP-9 δεν ανιχνεύθηκε σε οστεοαρθριδικά δείγματα. Ίχνη μόνον MMP-9 δράσης ανιχνεύθηκε σε 4/10 ασθενείς με RA, ενώ υψηλότερα επίπεδα MMP-9 πιστοποιήθηκαν σε όλα τα σηπτικά δείγματα (**P=0.0444**). Στις δοκιμασίες ανοσοαποτύπωσης, δείγματα από ασθενείς με SA επέδειξαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα MMP-9 σε σχέση με εκείνα από ασθενείς με RA (**P=0.0052**), επιβεβαιώνοντας τα αποτελέσματα της ζυμογραφίας. Παρά το γεγονός ότι δεν στοιχειοθετήθηκε σημαντική διαφορά

μεταξύ των επιπέδων TIMP-1, ο εκτιμώμενος λόγος MMP-9/TIMP-1 των σηπτικών δειγμάτων ήταν υψηλότερος σε σύγκριση με άσηπτα (**P=0.0029**).

Συμπεράσματα: Τα στοιχεία τα οποία παρουσιάστηκαν υποδεικνύουν αυξημένη έκφραση και ενεργοποίηση της MMP-9 στη σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος σε σχέση με την άσηπτη, φλεγμονώδη αρθρίτιδα. Παρουσία ενεργοποιημένων μορφών των ζελατινών και υψηλών επιπέδων MMP-9 με παράλληλη αύξηση του λόγου MMP-9/TIMP-1 στο αρθρικό υγρό, ανεξαρτήτως του αριθμού των ουδετεροφίλων, ίσως είναι ενδεικτική λοίμωξης.

6. ABSTRACT

CLINICAL SIGNIFICANCE OF GELATINASES, MMP-2 & MMP-9, IN SEPTIC ARTHRITIS OF THE KNEE

Vasileios Ch. Fotopoulos

Purpose: In cases of septic knee arthritis there is excess of matrix metalloproteinases (MMPs) over tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs), due to enhanced expression and activation which are induced by bacteria in comparison to rheumatic or degenerative arthritis. The aim of this study was to explore the expression levels of synovial gelatinase MMP-9 and its specific inhibitor TIMP-1 in septic and aseptic arthritis and their potential use as additional aids to clinical investigation.

Methods: Gelatin zymography and western blot analysis were applied in effusions from knees of patients with septic (**SA**/10 patients), rheumatic (**RA**/10 patients) and osteoarthritis (**OA**/10 patients).

Results: Zymographic analysis revealed that all samples contained latent MMP-2 activity, albeit activated MMP-2 appeared in more of the septic than aseptic effusions. Activated MMP-9 was not detected in osteoarthritic synovial fluid samples. Only trace amounts of MMP-9 activity were detected in 4/10 patients with RA, whereas higher MMP-9 levels were evident in all samples from SA (**P=0.0444**). In immunoblotting assays, samples from SA showed significantly higher levels of MMP-9 compared to samples from RA (**P=0.0052**), confirming zymographic results. Although no significant difference in TIMP-1

levels was observed, the estimated MMP-9/TIMP-1 ratio of septic effusions was significantly higher compared to aseptic ones (**P=0.0029**).

Conclusions: The data presented suggest enhanced expression and activation of MMP-9 in septic native knee arthritis compared to aseptic. The presence of high levels of MMP-9 with concomitantly increased MMP-9/TIMP-1 ratio and activated gelatinases in effusions, independent of neutrophilic counts, may be indicative for infection.

Key words: septic, knee, arthritis, MMP-9, TIMP-1, gelatinases.

Γ. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

I. ΠΙΝΑΚΕΣ

Πίνακας Α

Αναθεώρηση του 1988 των διαγνωστικών κριτηρίων κατάταξης της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας από την Αμερικανική Ρευματολογική Εταιρεία [356]

Κριτήρια	Ορισμός
1. Πρωινή δυσκαμψία	Πρωινή δυσκαμψία εντός και πέριξ των αρθρώσεων, η οποία διαρκεί τουλάχιστον μία ώρα πριν τη μέγιστη κλινική βελτίωση.
2. Προσβολή ≥ 3 αρθρώσεων	Οίδημα μαλακών μορίων ή ύδραρθρο σε τουλάχιστον τρεις αρθρώσεις ταυτόχρονα κατά την κλινική εξέταση (όχι μόνον σχηματισμός οστεοφύτων). (Οι 14 πιθανές εντοπίσεις είναι [δεξιά ή αριστερά] οι ΕΦΦ, οι ΜΚΦ, ο καρπός, ο αγκώνας, το γόνατο, η ΠΔΚ, και οι ΜΤΦ αρθρώσεις.)
3. Προσβολή αρθρώσεων των άκρων χειρών	Τουλάχιστον μία προσβεβλημένη άρθρωση αφορά στον καρπό, τις ΜΚΦ ή τις ΕΦΦ.
4. Συμμετρική προσβολή	Ταυτόχρονη προσβολή κοινών εντοπίσεων στις δύο πλευρές του σώματος (αμφοτερόπλευρη προσβολή των ΕΦΦ, ΜΚΦ ή ΜΤΦ αρθρώσεων, χωρίς απόλυτη συμμετρία είναι αποδεκτή).

5. Ρευματοειδή οζία	Υποδόρια οζία ύπερθεν οστικών προεξοχών, σε εκτατικές επιφάνειες ή σε περιαρθρικές θέσεις.
6. Παρουσία Ρευματοειδούς Παράγοντα στον ορό	Ανίχνευση μη φυσιολογικών επιπέδων Ρευματοειδούς Παράγοντα στον ορό με οποιαδήποτε μέθοδο.
7. Ακτινολογικές αλλοιώσεις	Αλλοιώσεις τυπικές RA σε PA ακτινογραφίες άκρων χειρών και ΠΧΚ, μεταξύ των οποίων, διαβρώσεις ή μονόπλευρη οστική απορρόφηση με εντόπιση ή πιο εκσεσημασμένη σε θέσεις παρακείμενες των προσβεβλημένων αρθρώσεων (οστεοαρθριτιδικές αλλοιώσεις μόνον δεν αρκούν)

Προκειμένου σε έναν ασθενή να τεθεί η διάγνωση της Ρευματοειδούς Αρθρίτιδας πρέπει να πληροί τουλάχιστον τέσσερα από τα επτά κριτήρια. Τα κριτήρια 1 έως 4 πρέπει να είναι παρόντα για τουλάχιστον έξι εβδομάδες. Ασθενείς με δύο κλινικές διαγνώσεις δεν αποκλείονται.

Πίνακας Β

Διαγνωστικά κριτήρια κατάταξης της Ευρωπαϊκής Ομάδας Μελέτης των Σπονδυλοαρθροπαθειών [357]

Φλεγμονώδες άλγος σπονδυλικής στήλης ή
Υμενίτιδα (ασύμμετρη, προεξάρχουσα στα κάτω άκρα) και
Οποιοδήποτε ένα από τα παρακάτω (ευαισθησία 77%, ειδικότητα 89%)
Θετικό οικογενειακό ιστορικό
Ψωρίαση
Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου
Εναλλασσόμενο άλγος των γλουτών
Ενθεσοπάθεια
Συν της ιερολαγονίτιδας (ευαισθησία 86%, ειδικότητα 87%)

Πίνακας Γ**Knee injury and Osteoarthritis Outcome score (KOOS) [362]****KOOS KNEE SURVEY**

Today's date: ____/____/____ Date of birth: ____/____/____

Name: _____

INSTRUCTIONS: This survey asks for your view about your knee. This information will help us keep track of how you feel about your knee and how well you are able to perform your usual activities.

Answer every question by ticking the appropriate box, only one box for each question. If you are unsure about how to answer a question, please give the best answer you can.

Symptoms

These questions should be answered thinking of your knee symptoms during the **last week**.

S1. Do you have swelling in your knee?

Never Rarely Sometimes Often Always

S2. Do you feel grinding, hear clicking or any other type of noise when your knee moves?

Never Rarely Sometimes Often Always

S3. Does your knee catch or hang up when moving?

Never Rarely Sometimes Often Always

S4. Can you straighten your knee fully?

Always Often Sometimes Rarely Never

S5. Can you bend your knee fully?

Always Often Sometimes Rarely Never

Stiffness

The following questions concern the amount of joint stiffness you have experienced during the **last week** in your knee. Stiffness is a sensation of restriction or slowness in the ease with which you move your knee joint.

S6. How severe is your knee joint stiffness after first wakening in the morning?

None Mild Moderate Severe Extreme

S7. How severe is your knee stiffness after sitting, lying or resting **later in the day**?

None Mild Moderate Severe Extreme

Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), English version LK1.0

Pain

P1. How often do you experience knee pain?

Never Monthly Weekly Daily Always

What amount of knee pain have you experienced the **last week** during the following activities?

P2. Twisting/pivoting on your knee

None Mild Moderate Severe Extreme

P3. Straightening knee fully

None Mild Moderate Severe Extreme

P4. Bending knee fully

None Mild Moderate Severe Extreme

P5. Walking on flat surface

None Mild Moderate Severe Extreme

P6. Going up or down stairs

None Mild Moderate Severe Extreme

P7. At night while in bed

None Mild Moderate Severe Extreme

P8. Sitting or lying

None Mild Moderate Severe Extreme

P9. Standing upright

None Mild Moderate Severe Extreme

Function, daily living

The following questions concern your physical function. By this we mean your ability to move around and to look after yourself. For each of the following activities please indicate the degree of difficulty you have experienced in the **last week** due to your knee.

A1. Descending stairs

None Mild Moderate Severe Extreme

A2. Ascending stairs

None Mild Moderate Severe Extreme

Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), English version LK1.0

For each of the following activities please indicate the degree of difficulty you have experienced in the **last week** due to your knee.

A3. Rising from sitting

None Mild Moderate Severe Extreme

A4. Standing

None Mild Moderate Severe Extreme

A5. Bending to floor/pick up an object

None Mild Moderate Severe Extreme

A6. Walking on flat surface

None Mild Moderate Severe Extreme

A7. Getting in/out of car

None Mild Moderate Severe Extreme

A8. Going shopping

None Mild Moderate Severe Extreme

A9. Putting on socks/stockings

None Mild Moderate Severe Extreme

A10. Rising from bed

None Mild Moderate Severe Extreme

A11. Taking off socks/stockings

None Mild Moderate Severe Extreme

A12. Lying in bed (turning over, maintaining knee position)

None Mild Moderate Severe Extreme

A13. Getting in/out of bath

None Mild Moderate Severe Extreme

A14. Sitting

None Mild Moderate Severe Extreme

A15. Getting on/off toilet

None Mild Moderate Severe Extreme

Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS), English version LK1.0

For each of the following activities please indicate the degree of difficulty you have experienced in the **last week** due to your knee.

A16. Heavy domestic duties (moving heavy boxes, scrubbing floors, etc)

None Mild Moderate Severe Extreme

A17. Light domestic duties (cooking, dusting, etc)

None Mild Moderate Severe Extreme

Function, sports and recreational activities

The following questions concern your physical function when being active on a higher level. The questions should be answered thinking of what degree of difficulty you have experienced during the **last week** due to your knee.

SP1. Squatting

None Mild Moderate Severe Extreme

SP2. Running

None Mild Moderate Severe Extreme

SP3. Jumping

None Mild Moderate Severe Extreme

SP4. Twisting/pivoting on your injured knee

None Mild Moderate Severe Extreme

SP5. Kneeling

None Mild Moderate Severe Extreme

Quality of Life

Q1. How often are you aware of your knee problem?

Never Monthly Weekly Daily Constantly

Q2. Have you modified your life style to avoid potentially damaging activities to your knee?

Not at all Mildly Moderately Severely Totally

Q3. How much are you troubled with lack of confidence in your knee?

Not at all Mildly Moderately Severely Extremely

Q4. In general, how much difficulty do you have with your knee?

None Mild Moderate Severe Extreme

Thank you very much for completing all the questions in this questionnaire.

Πίνακας Δ

Στατιστικά δεδομένα συσχέτισης επιπέδων έκφρασης TIMP-1 & λόγου MMP-9/TIMP-1 σε σηπτική και άσηπτη αρθρίτιδα του γόνατος

		P values	
		TIMP-1	MMP-9/TIMP-1
Septic arthritis	WBC	0.4483	0.7589
	PMN	0.3487	0.8651
	CRP	0.2957	0.4918
Rheumatic arthritis	WBC	0.1049	0.0603
	PMN	0.1049	0.0390
	CRP	0.1049	0.0603

Πίνακας Ε**Πειραματικά δεδομένα ELISA**

Standard curve proMMP-9		
ng/mL	Mean absorbance 450/540 nm	Corrected values
0	0.048	0
0.625	0.168	0.12
1.25	0.244	0.196
2.5	0.416	0.368
5	0.756	0.708
10	1.291	1.243
20	2.129	2.081

Sample	Absorbance	ng/mL	Dilution	ProMMP-9 ng/mL
R1	1.076	8.272182	1:10	82.722
R2	1.99	18.74583	1:20	374.917
R3	1.939	18.03869	1:40	721.548
R4	1.758	15.66378	1:100	1566.378
R5	1.341	10.88726	1:200	2177.452
R6	1.427	11.8012	1:100	1180.12
R7	0.194	1.267512	1:10	12.675
R8	1.491	12.50167	1:100	1250.167
R9	0.539	3.735824	1:20	74.716
R10	0.427	2.9019345	1:10	29.019
S1	1.969	18.4523	1:200	3690.46
S2	1.141	8.885923	1:40	355.437
S3	1.073	8.245497	1:40	329.82
S4	1.918	17.74516	1:40	709.806
S5	1.071	8.218812	1:200	1643.762

S6	1.111	8.599066	1:100	859.907
S7	1.881	17.2515	1:100	1725.15
S8	1.121	8.699133	1:100	869.913
S9	0.911	6.777852	1:100	677.785
S10	1.901	17.51835	1:100	1751.835

Πίνακας ΣΤ**Αντιβιογράμματα των ασθενών της ομάδας της σηπτικής αρθρίτιδας**

Ασθενής #1		
Staphylococcus aureus		
+Amoxicillin/CA	S	
Ampicillin/sulbactam	S	<2
+Cefaclor	S	
+Cefotaxime	S	
+Ceftriaxone	S	
+Cefuroxime – Sodium	S	
Ciprofloxacin	S	<0.5
Clindamycin	S	<0.25
Erythromycin	S	<0.25
Fosfomycin	S	<8
Fucidic Acid	S	<0.5
Gentamicin	S	<0.5
Imipenem	S	<1
Oxacillin	S	<0.25
Penicillin-G	R	>0.5
Rifampin	S	<0.5
Teicoplanin	S	<0.5
Tetracycline	S	<1
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	S	<10
Vancomycin	S	<1
+Azithromycin	S	
+Clarithromycin	S	
Oxacillin Screen	S	
Quinupristin/Dalfopristin	S	<0.25
Linezolid	S	2
Moxifloxacin	S	<0.25

Ασθενής #2		
Staphylococcus epidermidis		
+Amoxicillin/CA	R	
Ampicillin/sulbactam	R	<2
+Cefaclor	R	
+Cefotaxime	R	
+Ceftriaxone	R	
+Cefuroxime – Sodium	R	
Ciprofloxacin	I	2
Clindamycin	S	<0.25
Erythromycin	R	>8
Fosfomycin	S	<8
Fucidic Acid	I	4
Gentamicin	R	>16
Imipenem	R	<1
Oxacillin	R	>4
Penicillin-G	R	>0.5
Rifampin	S	<0.5
Teicoplanin	S	8
Tetracycline	R	>16
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	S	<10
Vancomycin	S	2
+Azithromycin	R	
+Clarithromycin	R	
Oxacillin Screen	R	
Quinupristin/Dalfopristin	S	<0.25
Linezolid	S	1
Moxifloxacin	S	1

Ασθενής #3		
Πολυμικροβιακή προσβολή		
Staphylococcus aureus (MRSA)		
+Amoxicillin/CA	R	
Ampicillin/sulbactam	R	<2
+Cefaclor	R	
+Cefotaxime	R	
+Ceftriaxone	R	
+Cefuroxime – Sodium	R	
Ciprofloxacin	S	<0.5
Clindamycin	S	<0.25
Erythromycin	R	
Fosfomycin	S	<8
Fucidic Acid	S	<0.5
Gentamicin	S	<0.5
Imipenem	R	<1
Oxacillin	R	>4
Penicillin-G	R	>0.5
Rifampin	S	<0.5
Teicoplanin	S	<0.5
Tetracycline	S	<1
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	S	<10
Vancomycin	S	<1
+Azithromycin	R	
+Clarithromycin	R	
Oxacillin Screen	R	
Quinupristin/Dalfopristin	S	<0.5
Linezolid	S	2
Moxifloxacin	S	<0.25

Acinetobacter baumannii		
Amikacin	R	>64
Amoxicillin/CA	R	>32
Ampicillin	R	>32
Aztreonam	R	>64
Cefepime	R	32
Cefixime	R	>4
Cefotaxime	R	>64
Cefoxitin	R	>64
Ceftazidime	R	>64
Ceftriaxone	R	>64
Cefuroxime – Axetil	R	>64
Cefuroxime – Sodium	R	>64
Cephalothin	R	>64
Ciprofloxacin	R	>4
Gentamicin	I	8
Imipenem	S	<1
Meropenem	S	1
Nalidixic Acid	R	>32
Netilmicin	R	>32
Ofloxacin	R	>8
Pefloxacin	R	>16
Piperacillin	R	>128
Piperacillin/tazobactam	I	64
Tetracycline	R	>16
Ticarcillin	R	>128
Ticarcillin/CA	R	>128
Tobramycin	I	8
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	R	>320
Cefpirome	R	>64
Colistin	S	<0.5
Moxifloxacin	R	>8

Ασθενής #4		
Sphingomonas paucimobilis		
Amikacin	S	<2
Amoxicillin/CA	S	<2
Ampicillin	R	>32
Aztreonam	R	>64
Cefepime	R	32
Cefixime	R	>4
Cefotaxime	R	>64
Cefotetan	S	<4
Cefoxitin	S	<4
Ceftazidime	R	>64
Ceftriaxone	R	>64
Cefpodoxime	R	>8
Cefuroxime – Axetil	R	>64
Cefuroxime – Sodium	R	>64
Cephalothin	S	<2
Ciprofloxacin	S	<0.25
Gentamicin	S	<1
Imipenem	S	<1
Isepamicin	S	<1
Meropenem	S	<0.25
Nalidixic Acid	R	>32
Netilmicin	S	<1
Nitrofurantoin	S	<16
Norfloxacin	S	2
Ofloxacin	S	1
Pefloxacin	S	1
Piperacillin	R	>128
Piperacillin/tazobactam	S	<4
Tetracycline	S	<1

Ticarcillin	R	>128
Ticarcillin/CA	S	<8
Tobramycin	S	<1
Trimethoprim	S	<0.5
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	S	<20
Cefpirome	R	>64
Colistin	S	1
Moxifloxacin	S	<0.25

Ασθενής #5		
Streptococcus pyogenes		
Cefotaxime	S	
Chloramphenicol	S	
Clindamycin	S	
Erythromycin	S	
Penicillin-G	S	
Teicoplanin	S	
Tetracycline	S	
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	S	
Vancomycin	S	
Levofloxacin	S	
Ofloxacin	S	
Quinupristin/Dalfopr	S	
Linezolid	S	

Ασθενής #6		
Staphylococcus hominis		
Ampicillin/sulbactam	S	<2
Ciprofloxacin	S	<0.5
Clindamycin	S	<0.25
Erythromycin	R	>8
Gentamicin	S	<0.5
Imipenem	S	<1
Oxacillin	S	0.064
Penicillin-G	R	>0.5
Teicoplanin	S	1
Tetracycline	S	<1
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	S	<10
Vancomycin	S	2
+Azithromycin	R	
+Clarithromycin	R	
Quinupristin/Dalfopr	S	0.5
Linezolid	S	0.5
Moxifloxacin	S	<0.25

Ασθενής #7		
Staphylococcus aureus (MRSA)		
+Amoxicillin/CA	R	
Ampicillin/sulbactam	R	<2
+Cefaclor	R	
+Cefotaxime	R	
+Ceftriaxone	R	
+Cefuroxime – Sodium	R	
Ciprofloxacin	S	<0.5
Clindamycin	S	<0.25
Erythromycin	S	<0.25
Fosfomicin	S	<8
Fucidic Acid	S	<0.5
Gentamicin	S	<0.5
Imipenem	R	2
Oxacillin	R	>4
Penicillin-G	R	0.12
Rifampin	S	<0.5
Teicoplanin	S	<0.5
Tetracycline	S	<1
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	S	<10
Vancomycin	S	<1
+Azithromycin	S	
+Clarithromycin	S	
Oxacillin Screen	R	
Quinupristin/Dalfopristin	S	0.5
Linezolid	S	4
Moxifloxacin	S	<0.25

Ασθενής #8		
Staphylococcus aureus		
+Amoxicillin/CA	S	
Ampicillin/sulbactam	S	<2
+Cefaclor	S	
+Cefotaxime	S	
+Ceftriaxone	S	
+Cefuroxime – Sodium	S	
Ciprofloxacin	S	<0.5
Clindamycin	S	<0.25
Erythromycin	R	>8
Fosfomycin	S	<8
Fucidic Acid	S	<0.5
Gentamicin	S	<0.5
Imipenem	S	<1
Oxacillin	S	<0.25
Penicillin-G	R	>0.5
Rifampin	S	<0.5
Teicoplanin	S	1
Tetracycline	S	<1
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	S	<10
Vancomycin	S	2
+Azithromycin	R	
+Clarithromycin	R	
Oxacillin Screen	S	
Quinupristin/Dalfopristin	S	<0.25
Linezolid	S	0.5
Moxifloxacin	S	<0.25

Ασθενής #9		
Enterococcus faecium		
Ampicillin	R	>32
Ampicillin/sulbactam	R	>32
Ciprofloxacin	R	>8
Clindamycin	R	>8
Erythromycin	R	>8
Imipenem	R	>16
Teicoplanin	S	<0.5
Tetracycline	R	>16
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	R	<10
Vancomycin	S	1
Gentamicin High Level	R	SYN-R
Streptomycin High Level	R	SYN-R
Quinupristin/Dalfopr	S	0.5
Linezolid	S	2
Moxifloxacin	R	>8

Ασθενής #10		
Πολυμικροβιακή προσβολή		
Streptococcus pyogenes		
Ampicillin	S	<0.25
Ampicillin/sulbactam	S	<2
Ciprofloxacin	S	<0.5
Clindamycin	S	<0.25
Erythromycin	S	<0.25
Imipenem	S	<1
Tetracycline	R	>16
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	S	20
+Azithromycin	S	
+Clarithromycin	S	
Quinupristin/Dalfopristin	S	<0.25
Linezolid	S	2
Moxifloxacin	S	<0.25
Klebsiella pneumoniae		
Amikacin	R	>64
Amoxicillin/CA	R	>32
Ampicillin	R	>32
Ampicillin/sulbactam	R	>32
Aztreonam	R	>64
Cefepime	R	>64
Cefixime	R	>4
Cefotaxime	R	>64
Cefoxitin	R	>64
Ceftazidime	R	>64
Ceftriaxone	R	>64
Cefuroxime – Axetil	R	>64
Cefuroxime – Sodium	R	>64

Cephalothin	R	>64
Ciprofloxacin	R	>4
Chloramphenicol	R	>64
Doripenem	R	>8
Gentamicin	S	4
Imipenem	R	>16
Levofloxacin	R	>8
Meropenem	R	>16
Minocycline	R	>16
Nalidixic Acid	R	>32
Netilmicin	R	>32
Nitrofurantoin	R	>512
Norfloxacin	R	>16
Ofloxacin	R	>8
Piperacillin	R	>128
Piperacillin/tazobactam	R	>128
Tetracycline	R	>16
Ticarcillin	R	>128
Ticarcillin/CA	R	>128
Tobramycin	R	>16
Trimethoprim/Sulfamethoxazole	R	>320
Tigecycline	S	<0.5
Colistin	R	>16
Moxifloxacin	R	>8

Πίνακας Z**Στατιστικά δεδομένα συσχέτισης κλινικών και εργαστηριακών δεδομένων**

P-values	Ηλικία	Ταξινόμηση*	Επεμβάσεις (n)	MMP-9/ TIMP-1	ΚΟΟΣ
Ηλικία		0.2325	0.8916	0.5135	0.3304
Ταξινόμηση*	0.2325		0.0667 (0.0478)	0.4069	0.0016 (0.001)
Επεμβάσεις (n)	0.8916	0.0667 (0.0478)		0.2044	0.0347 (0.0285)
MMP-9/ TIMP-1	0.5135	0.4069	0.2044		0.3679
ΚΟΟΣ	0.3304	0.0016 (0.001)	0.0347 (0.0285)	0.3679	

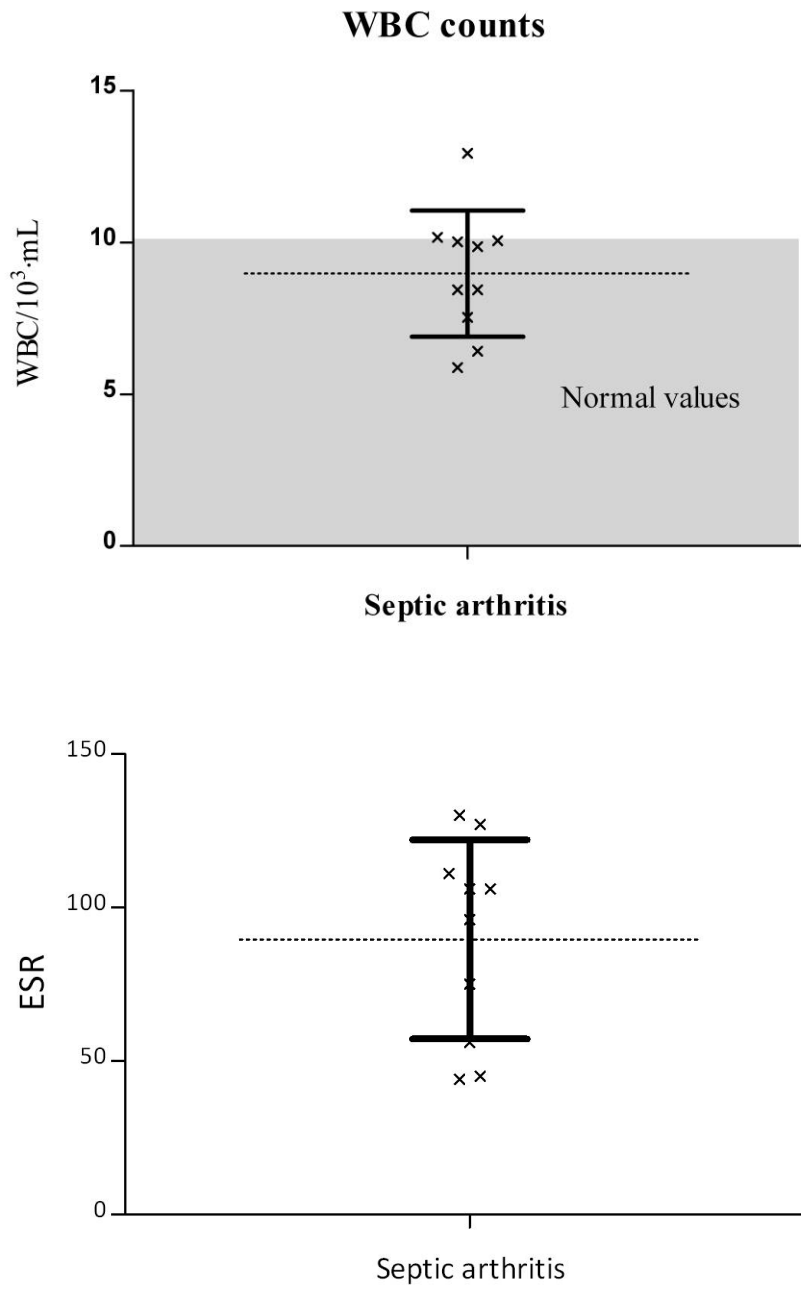
*Τροποποιημένη από το συγγραφέα κλίμακα Cierny-Mader

Οι τιμές εντός παρενθέσεων αναφέρονται σε ανάλυση συσχέτισης κατά Pearson. Οι λοιπές τιμές αναφέρονται σε αντίστοιχη ανάλυση κατά Spearman.

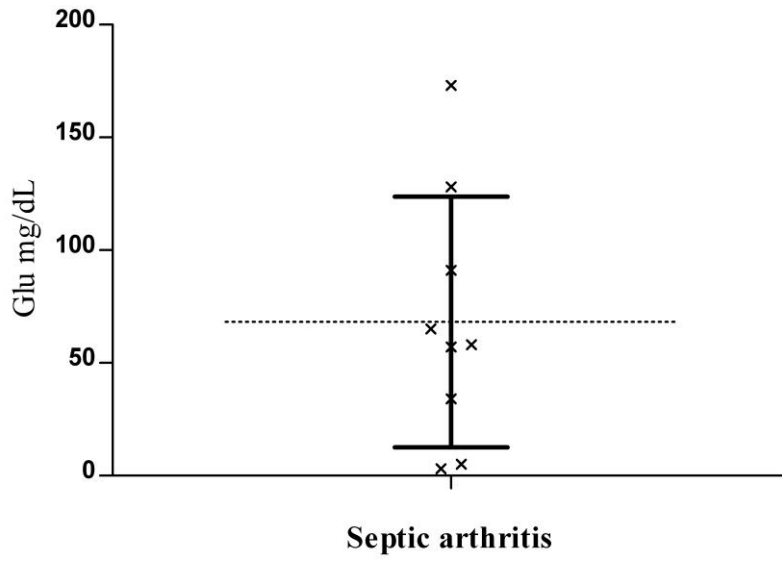
II. ΣΧΗΜΑΤΑ

Σχήμα Α

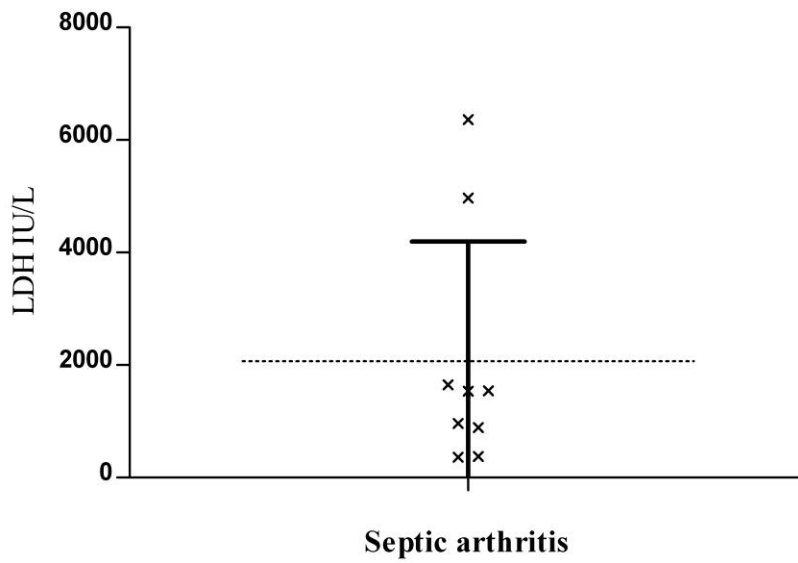
Εργαστηριακά δεδομένα των ασθενών της ομάδας της σηπτικής αρθρίτιδας (SA)



Glu of synovial fluid samples

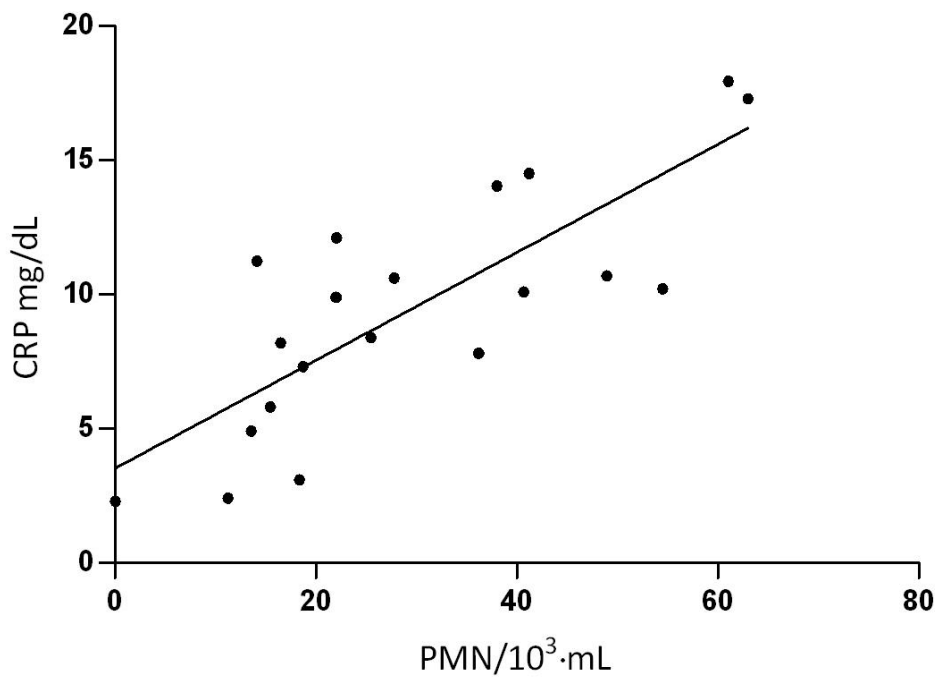
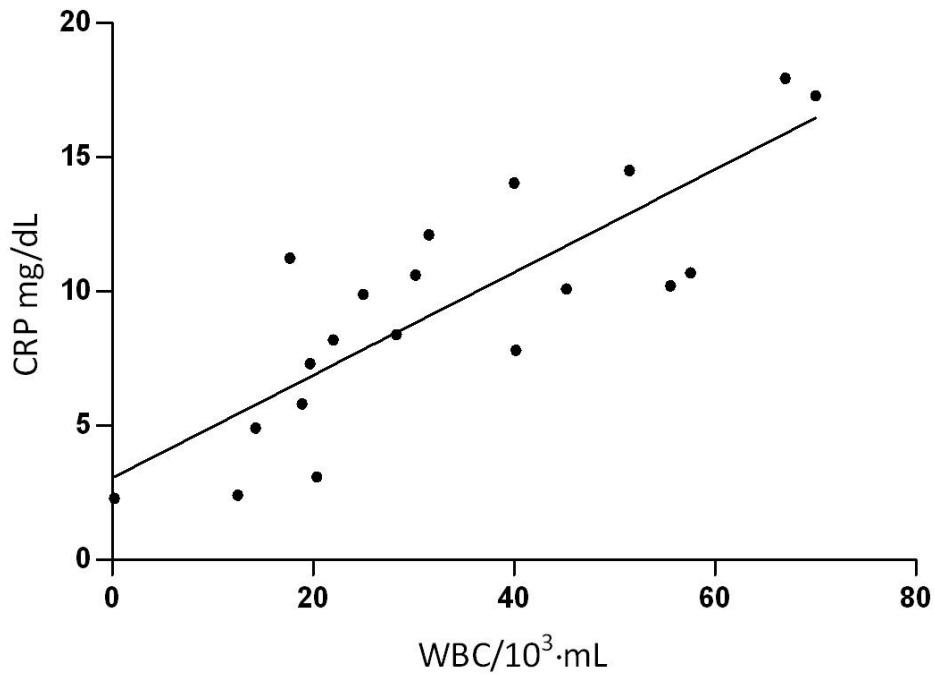


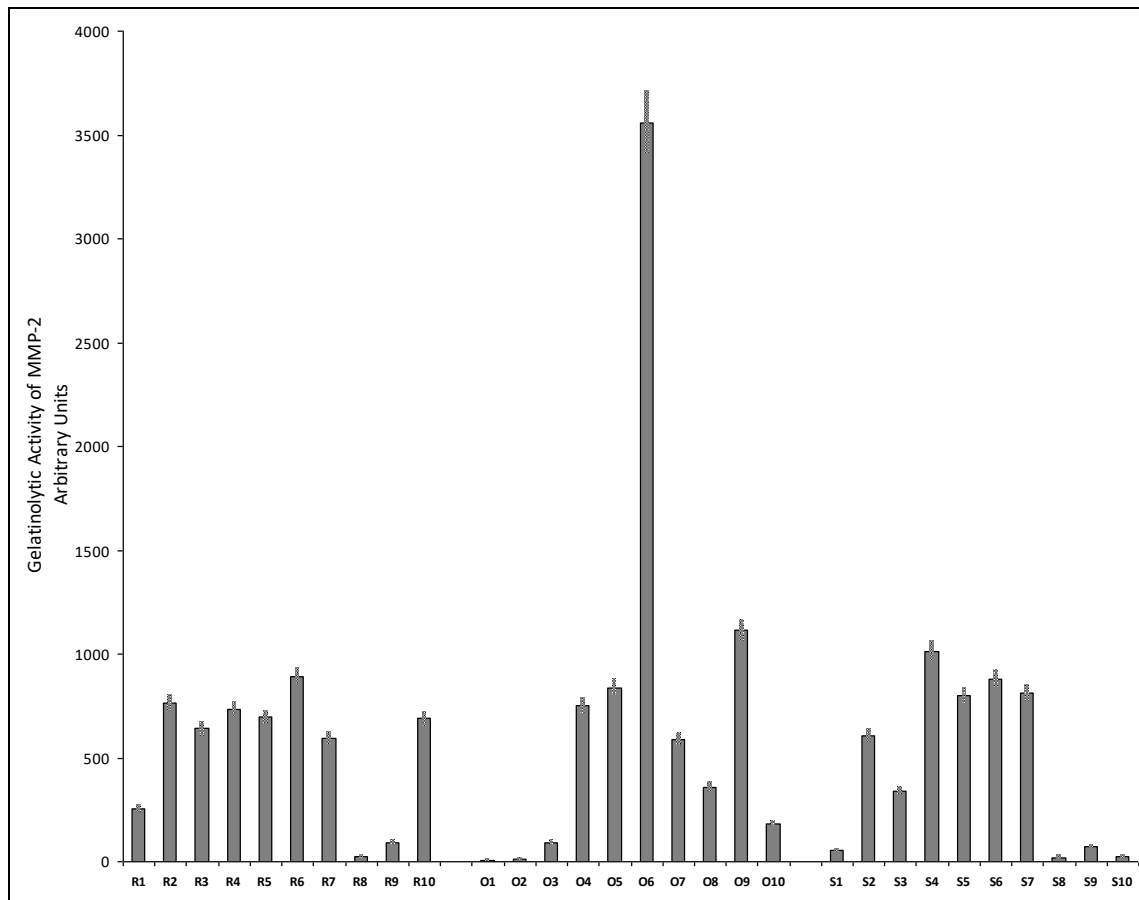
LDH of synovial fluid samples



Σχήμα Β

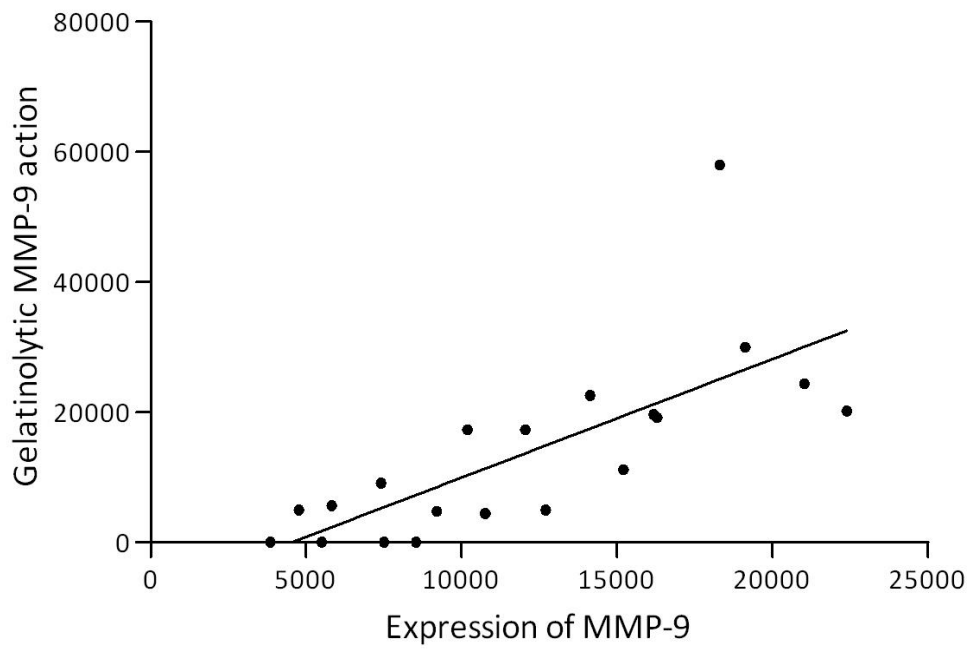
Linear regression analysis των επιπέδων CRP σε σχέση με τις τιμές WBC & PMN του αρθρικού υγρού στις ομάδες SA & RA [Ανάλυση Δ Παραρτήματος]



Σχήμα Γ**Πυκνομετρική ανάλυση της MMP-2 ζελατινολυτικής δράσης**

Σχήμα Δ

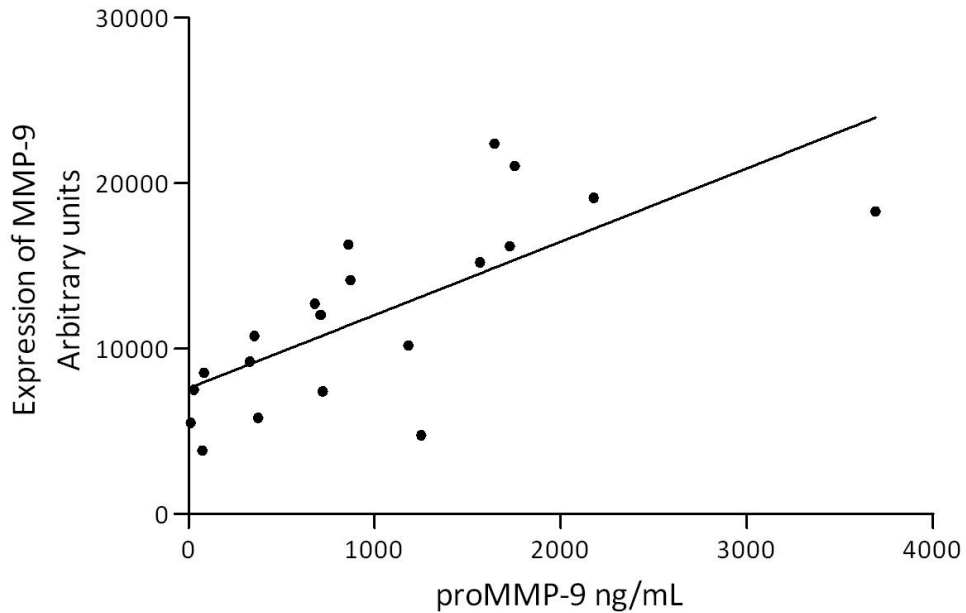
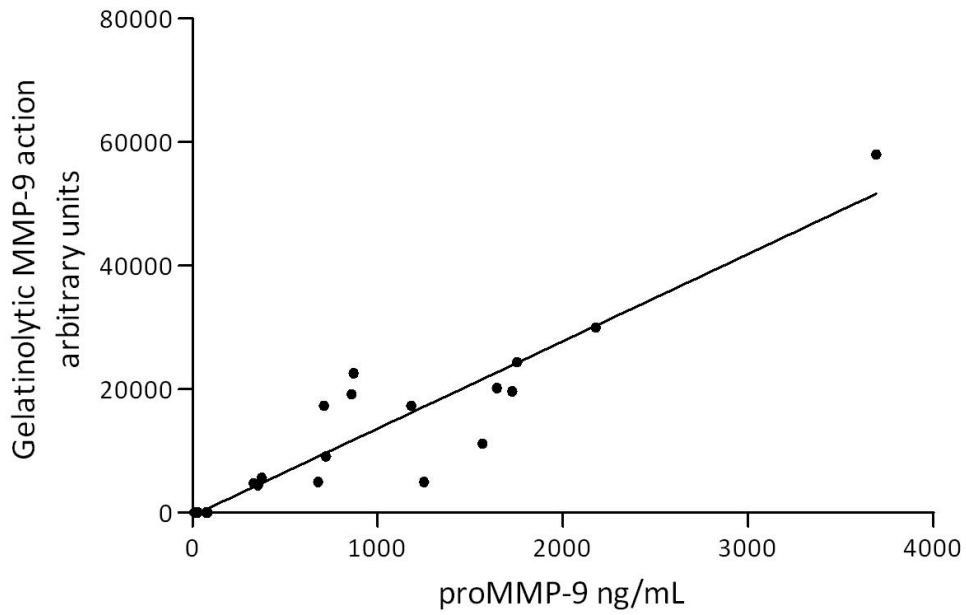
Linear regression analysis της ζελατινολυτικής MMP-9 δράσης σε σχέση με τα επίπεδα έκφρασης αυτής στις ομάδες SA & RA [Ανάλυση ΙΓ Παραρτήματος]



Σχήμα Ε

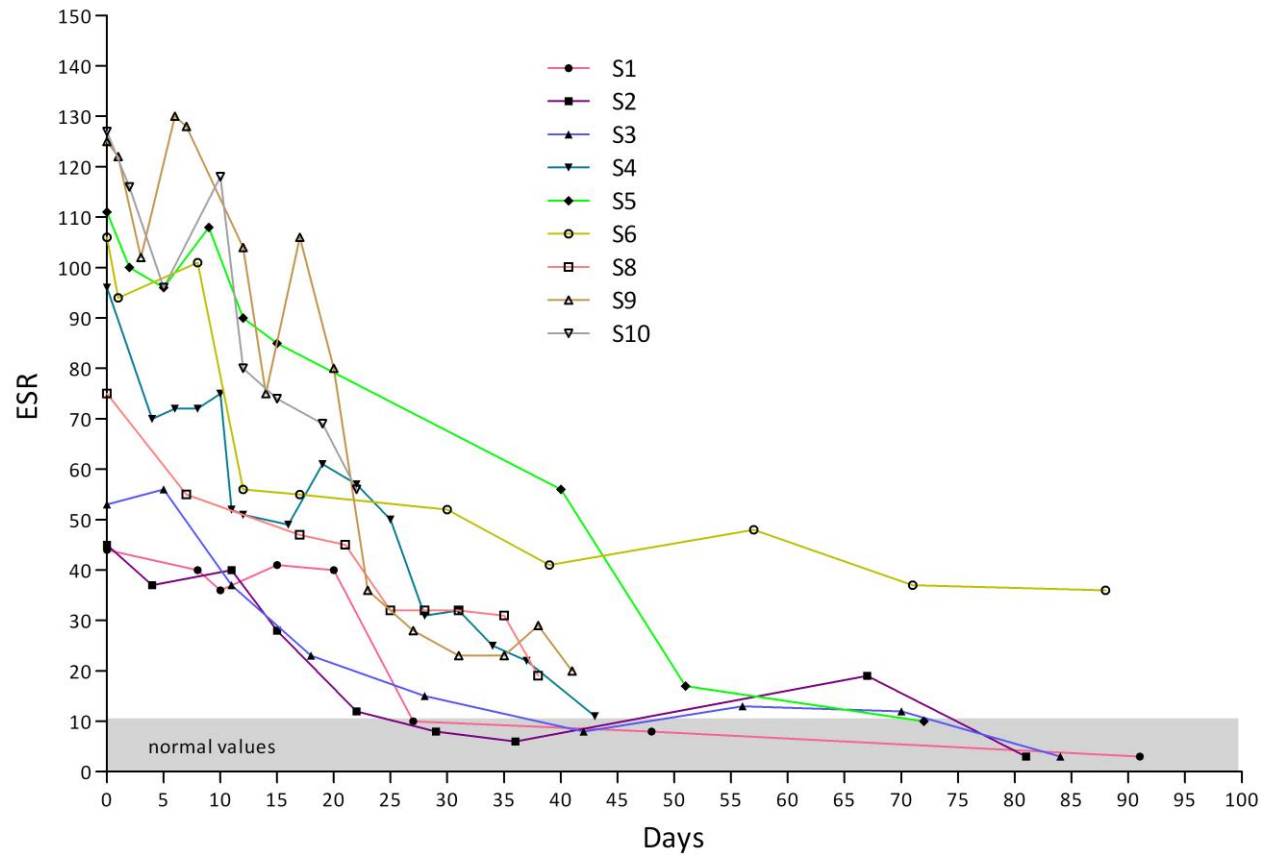
Linear regression analysis της ζελατινολυτικής MMP-9 δράσης και των επιπέδων έκφρασης αυτής με τα επίπεδα proMMP-9 στις ομάδες SA & RA

[Ανάλυση IZ Παραρτήματος]



Σχήμα ΣΤ

Εξέλιξη των τιμών της Τ.Κ.Ε. κατά την εφαρμογή του πρωτοκόλλου αντιμετώπισης της σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος



III. ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

ΖΥΜΟΓΡΑΦΙΑ ΖΕΛΑΤΙΝΗΣ

Πήκτωμα επιστοίβαξης 5% (stacking gel)

0.125 M Tris-HCl, pH 6.8

5% w/v Acrylamide / Bis-acrylamide

1% Ammonium persulphate, APS

0.1% Sodium dodecyl sulphate, SDS

0.1% N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine, TEMED

Πήκτωμα διαχωρισμού 10% (resolving/separating gel)

0.1% ζελατίνη

0.375 M Tris-HCl, pH 8.8

10% w/v Acrylamide / Bis-acrylamide

0.1% Sodium dodecyl sulphate, SDS

0.1% Ammonium persulphate, APS

0.04% N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine, TEMED

Διάλυμα φόρτωσης (sample buffer)

50 mM Tris-HCl, pH 6.8

2% w/v SDS

0.1% w/v Bromophenol Blue

10% v/v Glycerol

Ρυθμιστικό διάλυμα ηλεκτροφόρησης

250 mM Tris-HCl, pH 8.3

192 mM γλυκίνη

0.1% w/v Sodium dodecyl sulphate, SDS

Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης

50 mM Tris-HCl, pH 7.5

5 mM CaCl₂

1 μM ZnCl₂

2.5% Triton X-100

Ρυθμιστικό διάλυμα επώασης

50 mM Tris-HCl, pH 7.5

5 mM CaCl₂

1 μM ZnCl₂

0.02% NaN₃

Διάλυμα χρώσης ζυμογραφήματος

0.25% w/v Coomassie Brilliant Blue R-250

30% μεθανόλη

10% οξικό οξύ

ΑΝΑΛΥΣΗ WESTERN BLOTΠήκτωμα επιστοίβαξης 5%

(Βλ. Ζυμογραφία ζελατίνης)

Πήκτωμα διαχωρισμού 10%

(Βλ. Ζυμογραφία ζελατίνης)

- 0.1% ζελατίνη

Διάλυμα φόρτωσης

(Βλ. Ζυμογραφία ζελατίνης)

+ 5% β-μερκαπτοαιθανόλη

Ρυθμιστικό διάλυμα μεταφοράς

25 mM Tris-HCl, pH 8.3

192 mM γλυκίνη

20% v/v μεθανόλη

Ρυθμιστικό διάλυμα TBS

20 mM Tris-HCl, pH 7.6

137 mM NaCl

Διάλυμα κορεσμού

TBS

5% άπαχο γάλα

0.1% Tween-20

Διάλυμα έκπλυσης

TBS

0.1% Tween-20

Διάλυμα επώασης

TBS

5% άπαχο γάλα

IV. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Ανάλυση Α**Σύγκριση αριθμού WBC του αρθρικού υγρού μεταξύ των ομάδων SA & RA**

	SA	RA
Number of values	10	10
Minimum	17,7	0,26
25% Percentile	26,33	13,85
Median	42,7	20,85
75% Percentile	59,95	30,54
Maximum	70	51,5
Mean	44,2	22,59
Std. Deviation	18,41	13,63
Std. Error	5,823	4,309
Lower 95% CI of mean	31,03	12,84
Upper 95% CI of mean	57,37	32,34
Sum	442	225,9

Parameter	
Table Analyzed	WBC
Column A	SA
vs.	vs.
Column B	RA
Mann Whitney test	
P value	0,0147
Exact or approximate P value?	Exact

P value summary	*
Are medians significantly different? ($P < 0.05$)	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A/B	137/73
Mann-Whitney U	18

Ανάλυση Β**Σύγκριση αριθμού PMN του αρθρικού υγρού μεταξύ των ομάδων SA & RA**

	SA	RA
Number of values	10	10
Minimum	14,16	0,078
25% Percentile	23,69	13
Median	39,34	17,61
75% Percentile	56,13	23,51
Maximum	63	41,2
Mean	40,04	18,87
Std. Deviation	17,09	10,82
Std. Error	5,404	3,423
Lower 95% CI of mean	27,81	11,13
Upper 95% CI of mean	52,26	26,61
Sum	400,4	188,7

Parameter	
Table Analyzed	PMN
Column A	SA
vs.	vs.
Column B	RA
Mann Whitney test	
P value	0,0115
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	*
Are medians significantly different? (P < 0.05)	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed

Sum of ranks in column A/B	138/72
Mann-Whitney U	17

Ανάλυση Γ**Σύγκριση επιπέδων CRP μεταξύ των ομάδων SA & RA**

	SA	RA
Number of values	10	10
Minimum	3,1	2,3
25% Percentile	8,25	4,275
Median	10,46	7,75
75% Percentile	14,86	10,98
Maximum	17,94	14,5
Mean	11,08	7,8
Std. Deviation	4,448	4,053
Std. Error	1,406	1,282
Lower 95% CI of mean	7,9	4,9
Upper 95% CI of mean	14,26	10,7
Sum	110,8	78

Parameter	
Table Analyzed	CRP
Column A	SA
vs.	vs.
Column B	RA
Mann Whitney test	
P value	0,1051
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Are medians significantly different? (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed

Sum of ranks in column A/B	127/83
Mann-Whitney U	28

Ανάλυση Δ**Συσχέτιση μεταξύ αριθμού WBC & PMN του αρθρικού υγρού και επιπέδων****CRP στις ομάδες SA & RA**

Linear regression analysis	WBC/CRP
Best-fit values	$Y = 3.039 + 0.1917X$
Slope	0,1917 ± 0,03078
Y-intercept when X=0.0	3,039 ± 1,179
X-intercept when Y=0.0	-15,85
1/slope	5,216
95% Confidence Intervals	
Slope	0,1270 to 0,2564
Y-intercept when X=0.0	0,5606 to 5,517
X-intercept when Y=0.0	-42,09 to -2,256
Goodness of Fit	
R square	0,683
Sy.x	2,586
Is slope significantly non-zero?	
F	38,79
DFn/DFd	1,000/18,00
P value	< 0,0001
Deviation from zero?	Significant
Data	
Number of X values	20
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	20
Number of missing values	0

Parameter	WBC/CRP
Number of XY Pairs	20
Spearman r	0,7835
95% confidence interval	0,5115 to 0,9128

P value (two-tailed)	< 0,0001
P value summary	****
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Linear regression analysis	PMN/CRP
Best-fit values	Y = 3.509 + 0.2014X
Slope	0,2014 ± 0,03617
Y-intercept when X=0.0	3,509 ± 1,234
X-intercept when Y=0.0	-17,42
1/slope	4,965
95% Confidence Intervals	
Slope	0,1254 to 0,2774
Y-intercept when X=0.0	0,9166 to 6,102
X-intercept when Y=0.0	-46,99 to -3,421
Goodness of Fit	
R square	0,6326
Sy.x	2,784
Is slope significantly non-zero?	
F	31
DFn, DFd	1,000, 18,00
P value	< 0,0001
Deviation from zero?	Significant
Data	
Number of X values	20
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	20
Number of missing values	0

Parameter	PMN/CRP
Number of XY Pairs	20
Spearman r	0,7744

95% confidence interval	0,4943 to 0,9088
P value (two-tailed)	< 0,0001
P value summary	****
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Ανάλυση E

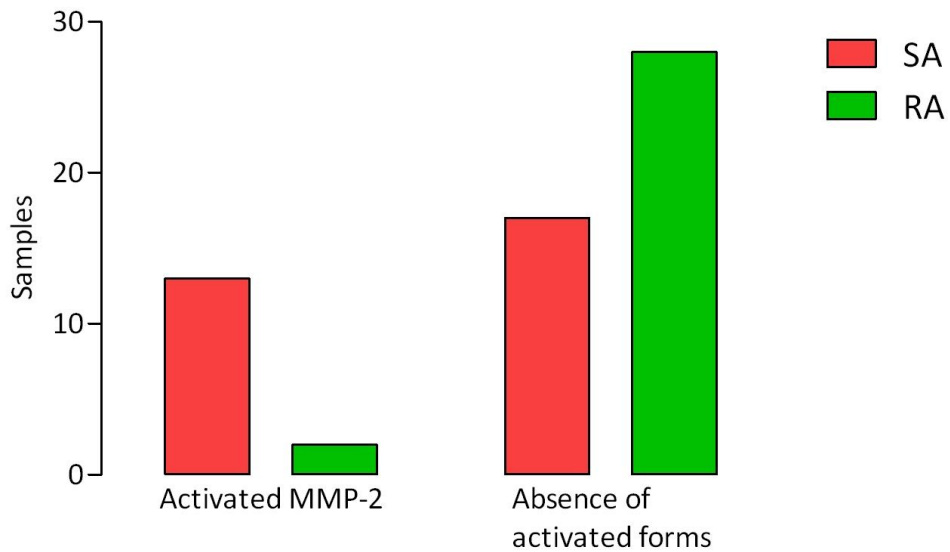
Σύγκριση επιπέδων ζελατινολυτικής MMP-2 δράσης μεταξύ των τριών ομάδων, SA, RA & OA

Parameter	
Table Analyzed	MMP-2
Kruskal-Wallis test	
P value	0,946
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
P value summary	ns
Do the medians vary significantly (P < 0.05)	No
Number of groups	3
Kruskal-Wallis statistic	0,111

	SA	RA	OA
Number of values	10	10	10
Minimum	21,2	24,2	6,5
25% Percentile	44,43	213,8	71,63
Median	472,2	664,5	473,7
75% Percentile	828,7	739,4	906,9
Maximum	1011	888,9	3559
Mean	461,2	537,1	750,2
Std. Deviation	402,5	301,1	1057
Std. Error	127,3	95,22	334,4
Lower 95% CI	173,2	321,7	-6,199
Upper 95% CI	749,1	752,5	1507

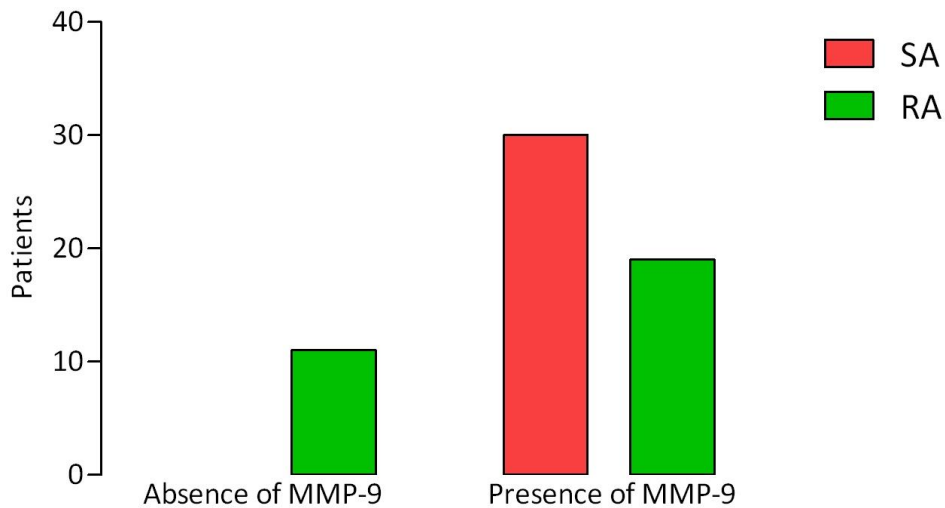
Ανάλυση ΣΤ**Σύγκριση παρουσίας ενεργοποιημένης MMP-2 μεταξύ των ομάδων SA &****RA**

Fisher's exact test			
P value	0,0021		
P value summary	**		
One- or two-sided	Two-sided		
Statistically significant? (alpha<0.05)	Yes		
Data analyzed	SA	RA	Total
Activated MMP-2	13	2	15
No activated forms of MMP-2	17	28	45
Total	30	30	60



Ανάλυση Z**Σύγκριση παρουσίας MMP-9 μεταξύ των ομάδων SA & RA**

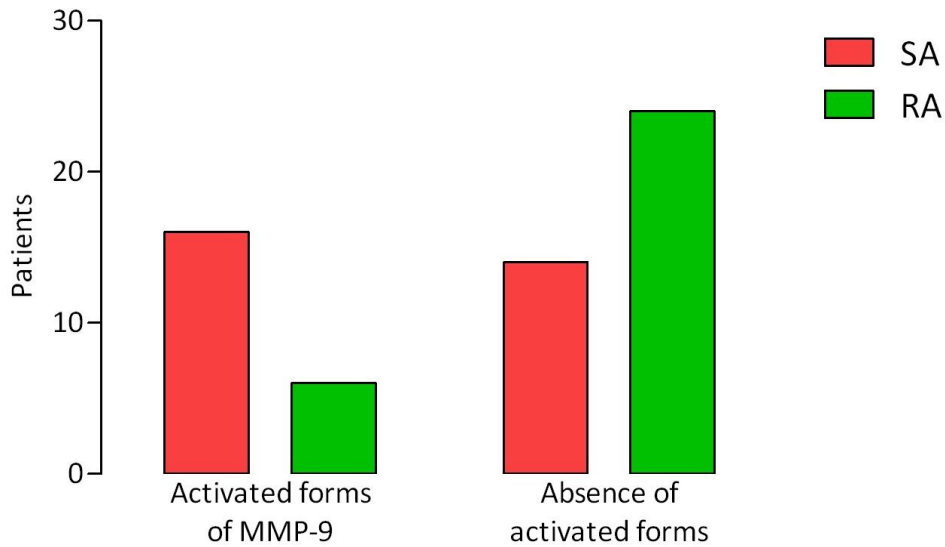
Fisher's exact test			
P value	0,0003		
P value summary	***		
One- or two-sided	Two-sided		
Statistically significant? (alpha<0.05)	Yes		
Data analyzed	SA	RA	Total
MMP-9 absent	0	11	11
Presence of MMP-9	30	19	49
Total	30	30	60



Ανάλυση H

Σύγκριση παρουσίας ενεργοποιημένων μορφών της MMP-9 μεταξύ των ομάδων SA & RA

Fisher's exact test			
P value	0,015		
P value summary	*		
One- or two-sided	Two-sided		
Statistically significant? (alpha<0.05)	Yes		
Data analyzed	SA	RA	Total
Activated forms of MMP-9	16	6	22
No activated forms	14	24	38
Total	30	30	60



Ανάλυση Θ**Σύγκριση επιπέδων ζελατινολυτικής MMP-9 δράσης μεταξύ των ομάδων****SA & RA**

	SA	RA
Number of values	10	10
Minimum	4,458	0
25% Percentile	4,926	0
Median	19,38	5,284
75% Percentile	23,02	12,71
Maximum	57,99	29,99
Mean	19,54	7,815
Std. Deviation	15,54	9,73
Std. Error	4,916	3,077
Lower 95% CI	8,416	0,8541
Upper 95% CI	30,66	14,78

Parameter	
Table Analyzed	MMP-9
Column A	SA
vs.	vs.
Column B	RA
Mann Whitney test	
P value	0,0444
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
P value summary	*
Are medians significantly different? (P < 0.05)	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed

Sum of ranks in column A/B	132/78
Mann-Whitney U	23

Ανάλυση I**Σύγκριση επιπέδων έκφρασης MMP-9 μεταξύ των ομάδων SA & RA**

	SA	RA
Number of values	10	10
Minimum	9,205	3,849
25% Percentile	11,72	5,324
Median	15,16	7,46
75% Percentile	18,98	11,44
Maximum	22,38	19,12
Mean	15,3	8,792
Std. Deviation	4,347	4,872
Std. Error	1,375	1,541
Lower 95% CI	12,19	5,307
Upper 95% CI	18,41	12,28

Parameter	
Table Analyzed	MMP-9
Column A	SA
vs.	vs.
Column B	RA
Mann Whitney test	
P value	0,0052
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	**
Are medians significantly different? (P < 0.05)	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A/B	141/69
Mann-Whitney U	14

Ανάλυση ΙΑ**Σύγκριση επιπέδων έκφρασης TIMP-1 μεταξύ των ομάδων SA & RA**

	SA	RA
Number of values	10	10
Minimum	8,845	11,61
25% Percentile	14	14,76
Median	17,94	16,54
75% Percentile	19,33	18,92
Maximum	22,6	28,72
Mean	16,89	17,41
Std. Deviation	4,149	5,013
Std. Error	1,312	1,585
Lower 95% CI	13,92	13,82
Upper 95% CI	19,86	20,99

Parameter	
Table Analyzed	TIMP-1
Column A	SA
vs.	vs.
Column B	RA
Mann Whitney test	
P value	0,6305
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Are medians significantly different? (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A/B	112/98
Mann-Whitney U	43

Ανάλυση IB**Σύγκριση λόγων MMP-9/TIMP-1 μεταξύ των ομάδων SA & RA**

	SA	RA
Number of values	10	10
Minimum	0,476	0,246
25% Percentile	0,6335	0,3185
Median	0,9225	0,4865
75% Percentile	1,301	0,6285
Maximum	1,84	0,862
Mean	0,9876	0,4944
Std. Deviation	0,4392	0,187
Std. Error	0,1389	0,05914
Lower 95% CI	0,6734	0,3606
Upper 95% CI	1,302	0,6282

Parameter	
Table Analyzed	MMP-9/TIMP-1
Column A	SA
vs.	vs.
Column B	RA
Mann Whitney test	
P value	0,0029
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	**
Are medians significantly different? (P < 0.05)	Yes
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A/B	143/67
Mann-Whitney U	12

Ανάλυση ΙΓ**Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων έκφρασης MMP-9 και ζελατινολυτικής MMP-9****δράσης στις ομάδες SA & RA**

Parameter	MMP-9w/MMP-9z
Number of XY Pairs	20
Spearman r	0,8152
95% confidence interval	0,5735 to 0,9263
P value (two-tailed)	< 0,0001
P value summary	****
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Linear regression analysis	MMP-9w/MMP-9z
Best-fit values	Y = -10748 + 1.909X
Slope	1,909 ± 0,4190
Y-intercept when X=0.0	-10748 ± 5541
X-intercept when Y=0.0	5630
1/slope	0,5238
95% Confidence Intervals	
Slope	1,029 to 2,789
Y-intercept when X=0.0	-22389 to 892,6
X-intercept when Y=0.0	-809,3 to 8605
Goodness of Fit	
R square	0,5356
Sy.x	10224
Is slope significantly non-zero?	
F	20,76
DFn, DFd	1,000, 18,00
P value	0,0002
Deviation from zero?	Significant

Data	
Number of X values	20
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	20
Number of missing values	0

Ανάλυση ΙΔ

Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων έκφρασης MMP-9 και αριθμού WBC & PMN του αρθρικού υγρού σε σηπτική και άσηπτη αρθρίτιδα του γόνατος

Linear regression analysis	MMP-9w/WBC_SA
Best-fit values	Y = 8,393 + 0,1563X
Slope	0,1563 ± 0,06256
Y-intercept when X=0.0	8,393 ± 2,973
X-intercept when Y=0.0	-53,7
1/slope	6,398
95% Confidence Intervals	
Slope	0,01203 to 0,3006
Y-intercept when X=0.0	1,536 to 15,25
X-intercept when Y=0.0	-1229 to -5,272
Goodness of Fit	
R square	0,4383
Sy.x	3,456
Is slope significantly non-zero?	
F	6,242
DFn, DFd	1,000, 8,000
P value	0,037
Deviation from zero?	Significant
Data	
Number of X values	10
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	10
Number of missing values	0

Parameter	MMP-9w/WBC_SA
Number of XY Pairs	10
Spearman r	0,6485
P value (two-tailed)	0,049

P value summary	*
Exact or approximate P value?	Exact
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Linear regression analysis	MMP-9w/WBC_RA
Best-fit values	$Y = 1,847 + 0,3074X$
Slope	0,3074 ± 0,06454
Y-intercept when X=0.0	1,847 ± 1,680
X-intercept when Y=0.0	-6,007
1/slope	3,253
95% Confidence Intervals	
Slope	0,1586 to 0,4563
Y-intercept when X=0.0	-2,027 to 5,721
X-intercept when Y=0.0	-34,20 to 4,684
Goodness of Fit	
R square	0,7394
Sy.x	2,638
Is slope significantly non-zero?	
F	22,69
DFn, DFd	1,000, 8,000
P value	0,0014
Deviation from zero?	Significant
Data	
Number of X values	10
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	10
Number of missing values	0

Parameter	MMP-9w/WBC_RA
Number of XY Pairs	10
Spearman r	0,8182
P value (two-tailed)	0,0058

P value summary	**
Exact or approximate P value?	Exact
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Linear regression analysis	MMP-9w/WBC
Best-fit values	$Y = 4,031 + 0,24X$
Slope	0,2400 ± 0,03857
Y-intercept when X=0.0	4,031 ± 1,478
X-intercept when Y=0.0	-16,79
1/slope	4,166
95% Confidence Intervals	
Slope	0,1590 to 0,3211
Y-intercept when X=0.0	0,9262 to 7,135
X-intercept when Y=0.0	-43,52 to -2,975
Goodness of Fit	
R square	0,6827
Sy.x	3,24
Is slope significantly non-zero?	
F	38,74
DFn, DFd	1,000, 18,00
P value	< 0,0001
Deviation from zero?	Significant
Data	
Number of X values	20
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	20
Number of missing values	0

Parameter	MMP-9w/WBC
Number of XY Pairs	20
Spearman r	0,8241
95% confidence interval	0,5914 to 0,9301

P value (two-tailed)	< 0,0001
P value summary	****
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Linear regression analysis	MMP-9w/PMN_SA
Best-fit values	Y = 8,316 + 0,1745X
Slope	0,1745 ± 0,06544
Y-intercept when X=0.0	8,316 ± 2,827
X-intercept when Y=0.0	-47,67
1/slope	5,732
95% Confidence Intervals	
Slope	0,02356 to 0,3254
Y-intercept when X=0.0	1,798 to 14,83
X-intercept when Y=0.0	-610,7 to -5,697
Goodness of Fit	
R square	0,4705
Sy.x	3,355
Is slope significantly non-zero?	
F	7,108
DFn, DFd	1,000, 8,000
P value	0,0285
Deviation from zero?	Significant
Data	
Number of X values	10
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	10
Number of missing values	0

Parameter	MMP-9w/PMN_SA
Number of XY Pairs	10
Spearman r	0,6485

P value (two-tailed)	0,049
P value summary	*
Exact or approximate P value?	Exact
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Linear regression analysis	MMP-9w/PMN_RA
Best-fit values	Y = 1,317 + 0,3962X
Slope	0,3962 ± 0,07556
Y-intercept when X=0.0	1,317 ± 1,623
X-intercept when Y=0.0	-3,324
1/slope	2,524
95% Confidence Intervals	
Slope	0,2219 to 0,5704
Y-intercept when X=0.0	-2,427 to 5,060
X-intercept when Y=0.0	-21,75 to 4,459
Goodness of Fit	
R square	0,7746
Sy.x	2,454
Is slope significantly non-zero?	
F	27,49
DFn, DFd	1,000, 8,000
P value	0,0008
Deviation from zero?	Significant
Data	
Number of X values	10
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	10
Number of missing values	0

Parameter	MMP-9w/PMN_RA
Number of XY Pairs	10
Spearman r	0,8303

P value (two-tailed)	0,0047
P value summary	**
Exact or approximate P value?	Exact
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Linear regression analysis	MMP-9w/PMN
Best-fit values	Y = 4,82 + 0,2454X
Slope	0,2454 ± 0,04734
Y-intercept when X=0.0	4,820 ± 1,615
X-intercept when Y=0.0	-19,64
1/slope	4,075
95% Confidence Intervals	
Slope	0,1459 to 0,3448
Y-intercept when X=0.0	1,427 to 8,212
X-intercept when Y=0.0	-54,30 to -4,289
Goodness of Fit	
R square	0,5988
Sy.x	3,643
Is slope significantly non-zero?	
F	26,87
DFn, DFd	1,000, 18,00
P value	< 0,0001
Deviation from zero?	Significant
Data	
Number of X values	20
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	20
Number of missing values	0

Parameter	MMP-9w/PMN
Number of XY Pairs	20
Spearman r	0,7338

95% confidence interval	0,4198 to 0,8910
P value (two-tailed)	0,0002
P value summary	***
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Ανάλυση ΙΕ

Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων έκφρασης MMP-9 και CRP σε σηπτική και άσηπτη αρθρίτιδα του γόνατος

Parameter	MMP-9w/CRP_SA
Number of XY Pairs	10
Spearman r	0,1879
P value (two-tailed)	0,6073
P value summary	ns
Exact or approximate P value?	Exact
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	No

Linear regression analysis	MMP-9w/CRP_RA
Best-fit values	Y = 1,413 + 0,9461X
Slope	0,9461 ± 0,2622
Y-intercept when X=0.0	1,413 ± 2,280
X-intercept when Y=0.0	-1,493
1/slope	1,057
95% Confidence Intervals	
Slope	0,3416 to 1,551
Y-intercept when X=0.0	-3,845 to 6,670
X-intercept when Y=0.0	-18,44 to 2,626
Goodness of Fit	
R square	0,6195
Sy.x	3,188
Is slope significantly non-zero?	
F	13,02
DFn, DFd	1,000, 8,000
P value	0,0069
Deviation from zero?	Significant
Data	
Number of X values	10

Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	10
Number of missing values	0

Parameter	MMP-9w/CRP_RA
Number of XY Pairs	10
Spearman r	0,8182
P value (two-tailed)	0,0058
P value summary	**
Exact or approximate P value?	Exact
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Ανάλυση ΙΣΤ**Σύγκριση επιπέδων proMMP-9 μεταξύ των ομάδων SA & RA**

	SA	RA
Number of values	10	10
Minimum	329,8	12,68
25% Percentile	597,2	63,29
Median	864,9	548,2
75% Percentile	1732	1329
Maximum	3690	2177
Mean	1261	747
Std. Deviation	1008	763,4
Std. Error	318,9	241,4
Lower 95% CI	540,1	200,8
Upper 95% CI	1983	1293

Parameter	
Table Analyzed	proMMP-9
Column A	SA
vs.	vs.
Column B	RA
Mann Whitney test	
P value	0,2176
Exact or approximate P value?	Exact
P value summary	ns
Are medians significantly different? (P < 0.05)	No
One- or two-tailed P value?	Two-tailed
Sum of ranks in column A/B	122/88
Mann-Whitney U	33

Ανάλυση IZ

Συσχέτιση μεταξύ επιπέδων έκφρασης MMP-9 – ζελατινολυτικής MMP-9 δράσης και επιπέδων proMMP-9 στις ομάδες SA & RA

Parameter	ProMMP-9/MMP-9z
Number of XY Pairs	20
Spearman r	0,9011
95% confidence interval	0,7568 to 0,9617
P value (two-tailed)	< 0,0001
P value summary	****
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Linear regression analysis	ProMMP-9/MMP-9z
Best-fit values	Y = -512,2 + 14,13X
Slope	14,13 ± 1,427
Y-intercept when X=0.0	-512,2 ± 1911
X-intercept when Y=0.0	36,25
1/slope	0,07078
95% Confidence Intervals	
Slope	11,13 to 17,13
Y-intercept when X=0.0	-4528 to 3503
X-intercept when Y=0.0	-298,0 to 279,2
Goodness of Fit	
R square	0,8449
Sy.x	5657
Is slope significantly non-zero?	
F	98,04
DFn, DFd	1,000, 18,00
P value	< 0,0001
Deviation from zero?	Significant

Data	
Number of X values	20
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	20
Number of missing values	0

Parameter	ProMMP-9/MMP-9w
Number of XY Pairs	20
Spearman r	0,7519
95% confidence interval	0,4524 to 0,8990
P value (two-tailed)	0,0001
P value summary	***
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes

Linear regression analysis	ProMMP-9/MMP-9w
Best-fit values	$Y = 7594 + 4,434X$
Slope	$4,434 \pm 1,006$
Y-intercept when X=0.0	7594 ± 1348
X-intercept when Y=0.0	-1713
1/slope	0,2255
95% Confidence Intervals	
Slope	2,320 to 6,548
Y-intercept when X=0.0	4762 to 10426
X-intercept when Y=0.0	-4256 to -767,9
Goodness of Fit	
R square	0,5189
Sy.x	3989
Is slope significantly non-zero?	
F	19,42
DFn, DFd	1,000, 18,00
P value	0,0003

Deviation from zero?	Significant
Data	
Number of X values	20
Maximum number of Y replicates	1
Total number of values	20
Number of missing values	0

Ανάλυση IH

Συσχέτιση μεταξύ κατάταξης κατά Cierny-Mader, όπως τροποποιήθηκε από τον συγγραφέα και αριθμού επεμβάσεων που απαιτήθηκε για την εξάλειψη της ενδοαρθρικής λοίμωξης

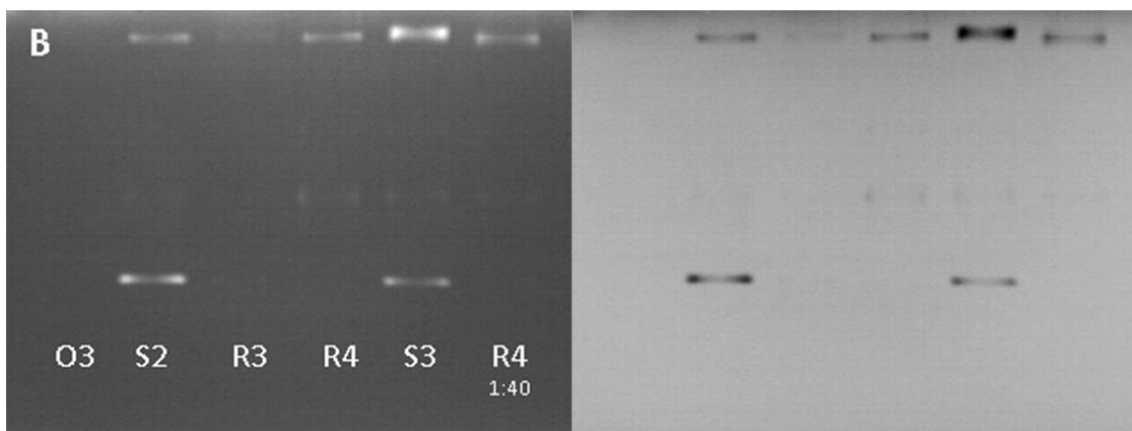
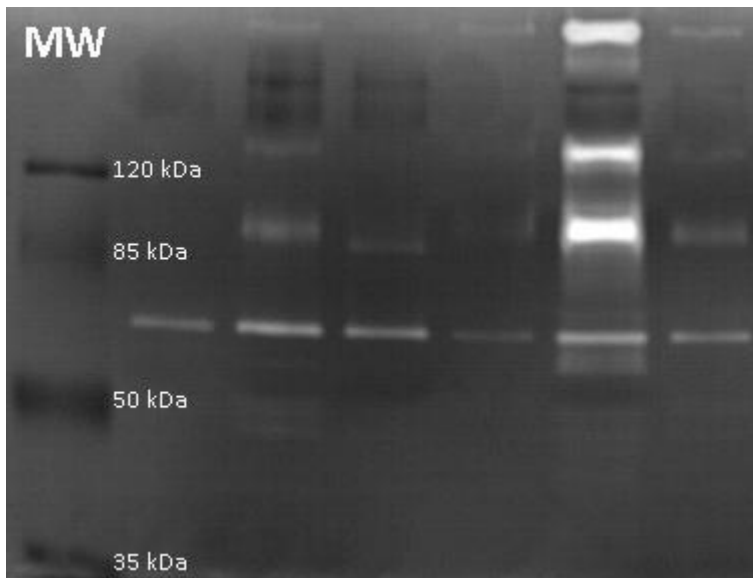
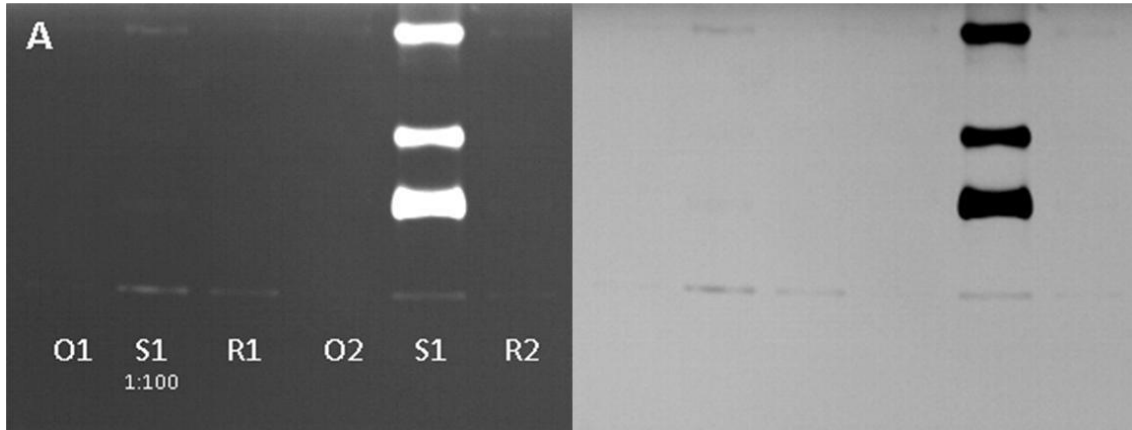
Number of XY Pairs	10
Pearson r	0,6365
95% confidence interval	0,01133 to 0,9039
P value (two-tailed)	0,0478
P value summary	*
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes
R square	0,4052

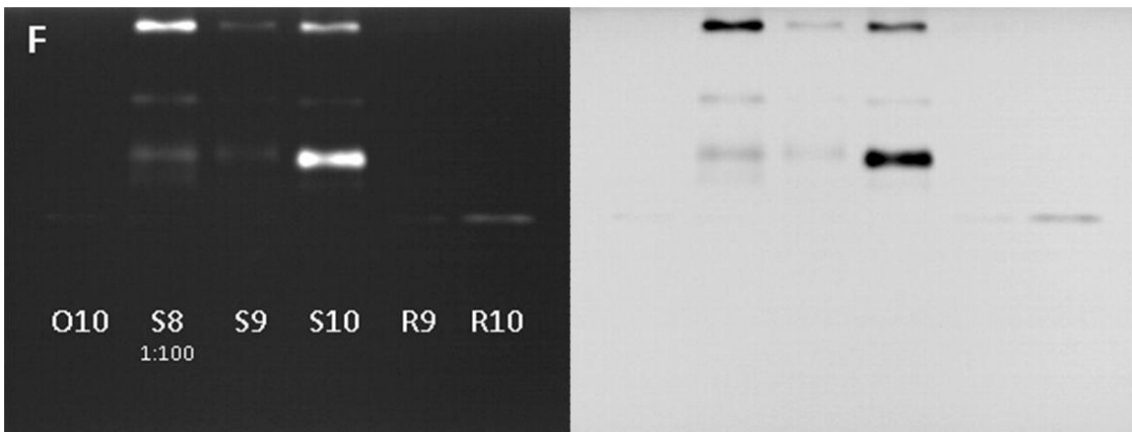
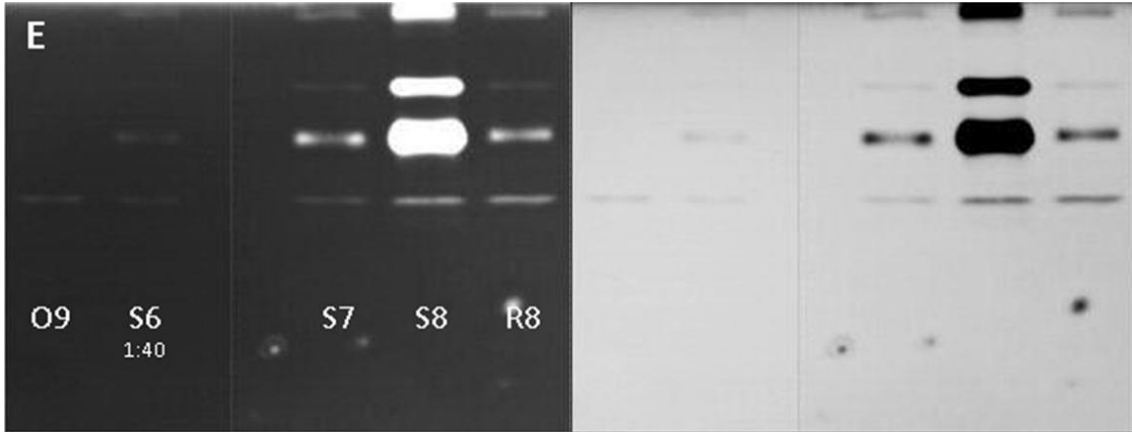
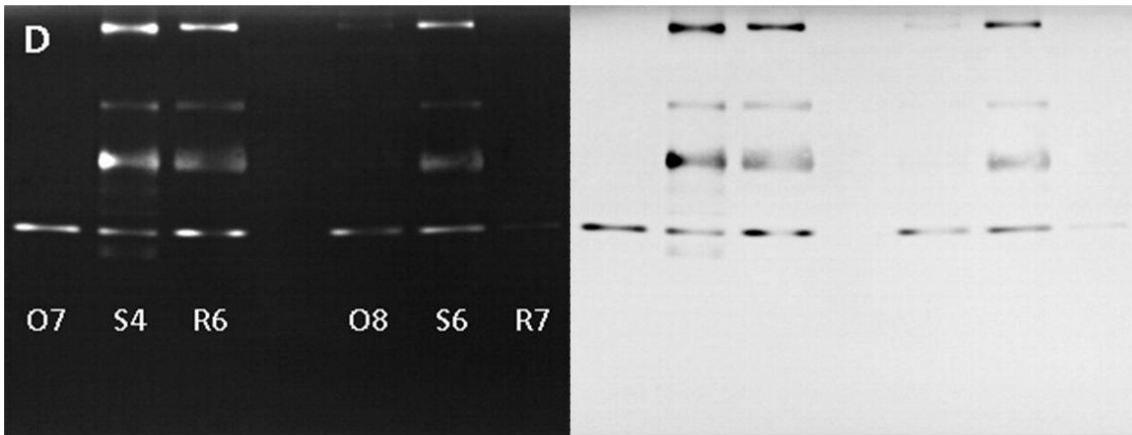
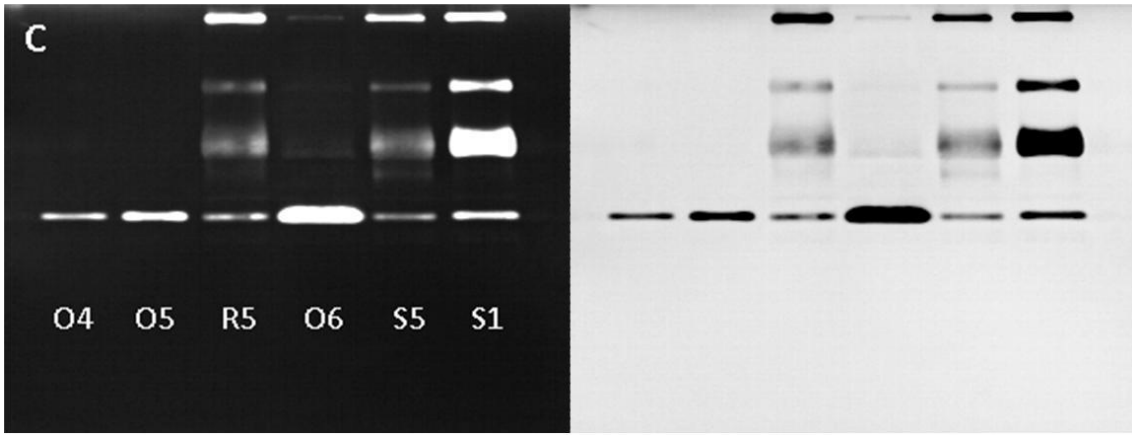
Ανάλυση ΙΘ

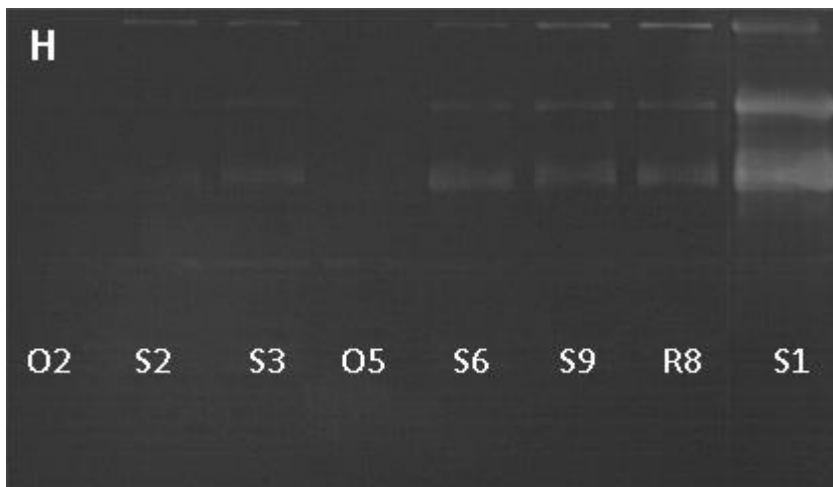
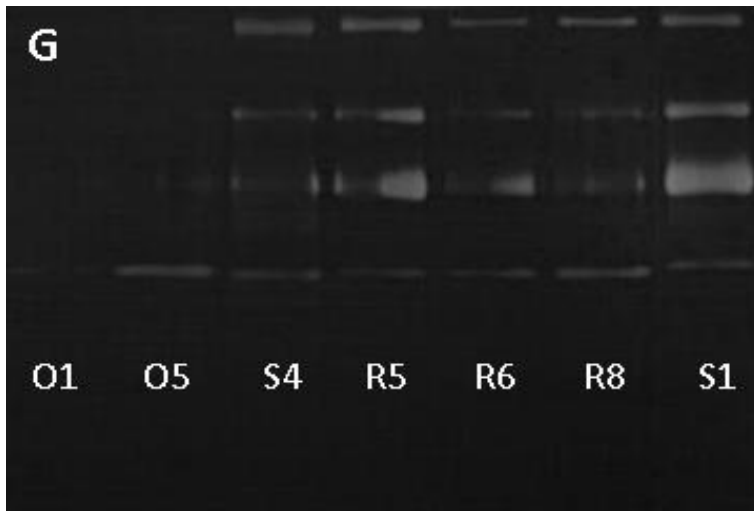
Συσχέτιση μεταξύ κατάταξης κατά Cierny-Mader, όπως τροποποιήθηκε από τον συγγραφέα και KOOS score

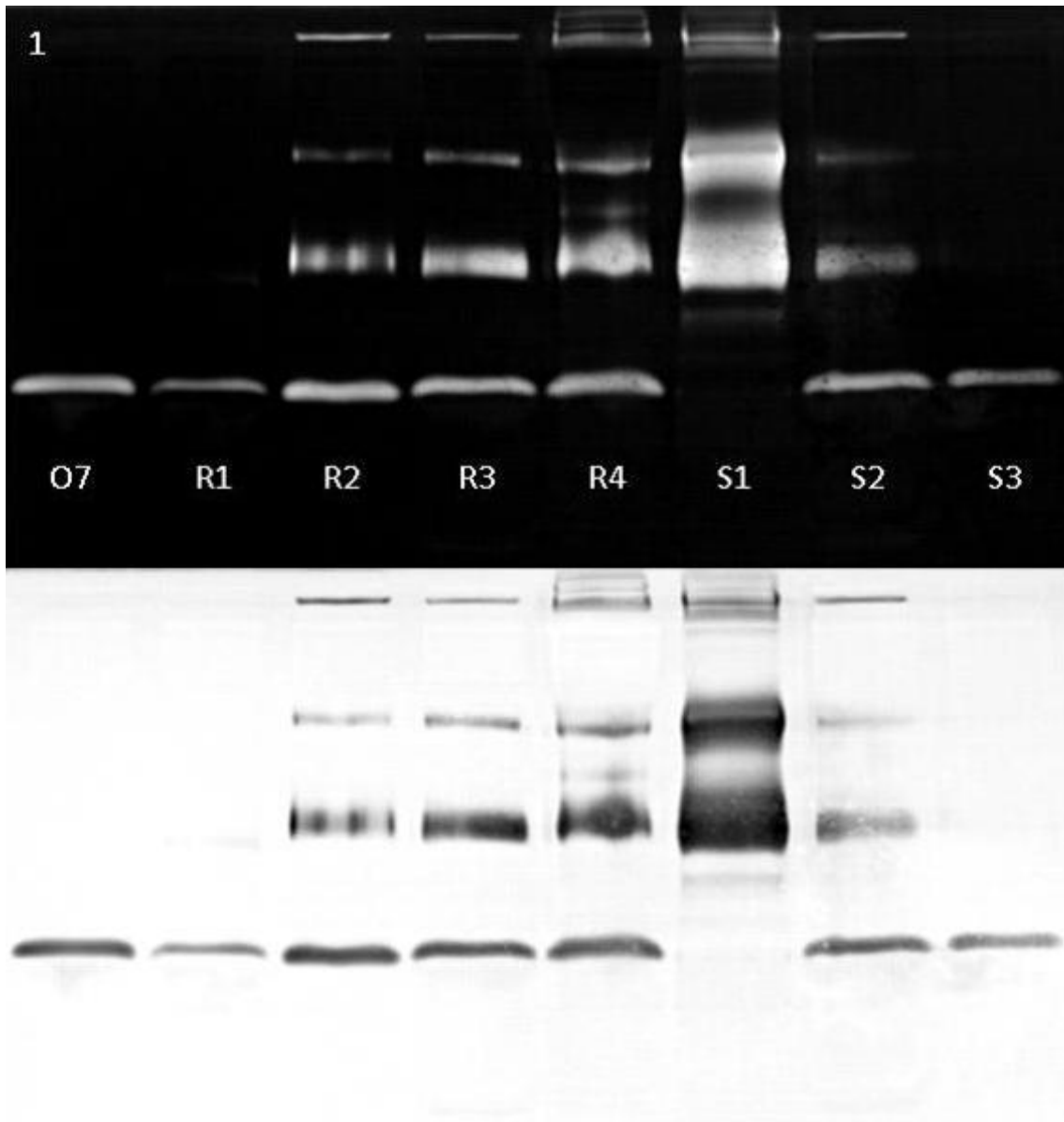
Number of XY Pairs	10
Pearson r	-0,8717
95% confidence interval	-0,9693 to -0,5364
P value (two-tailed)	0,001
P value summary	**
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	Yes
R square	0,7598

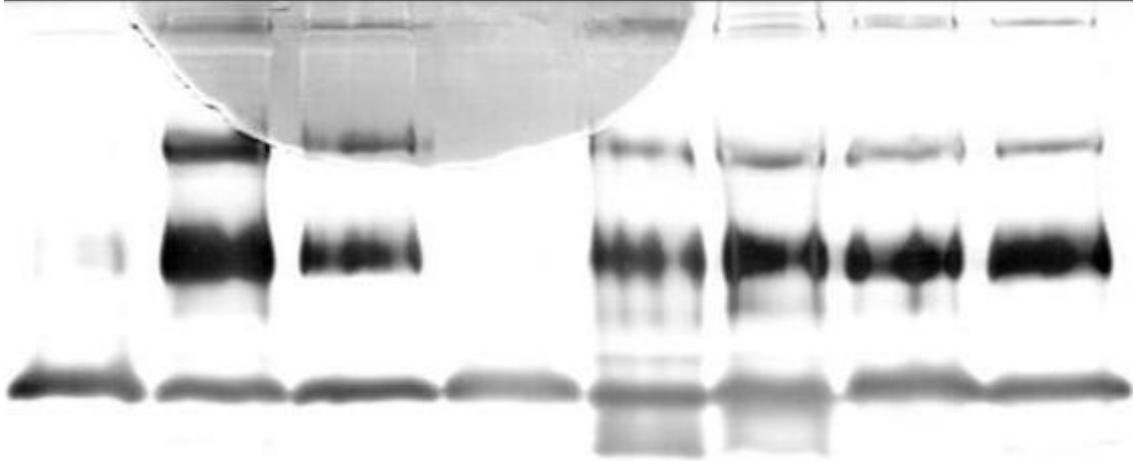
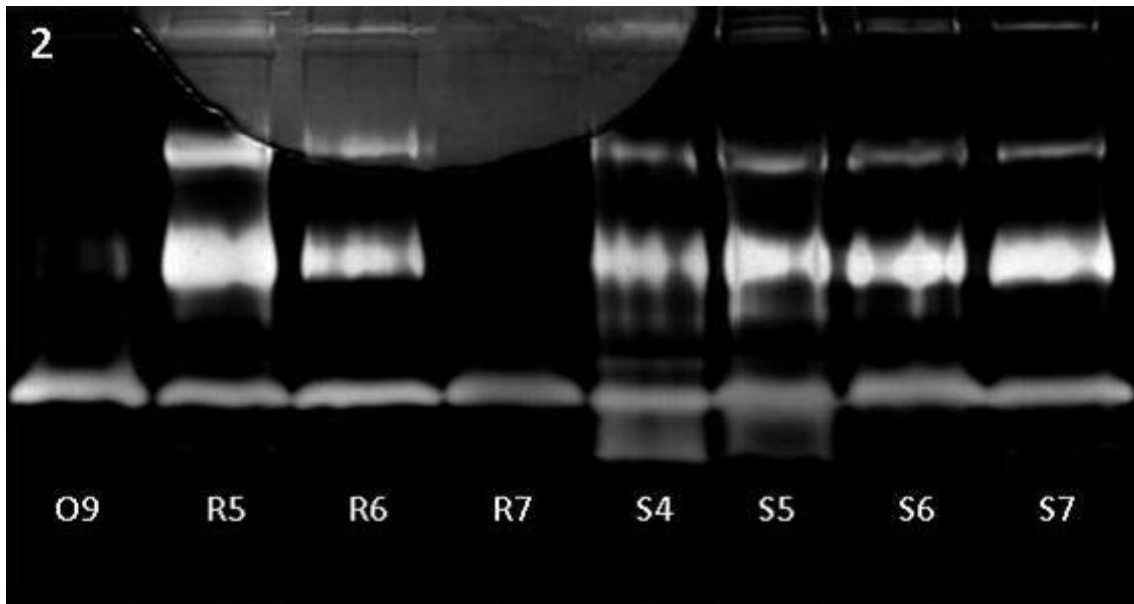
V. ΕΙΚΟΝΕΣ

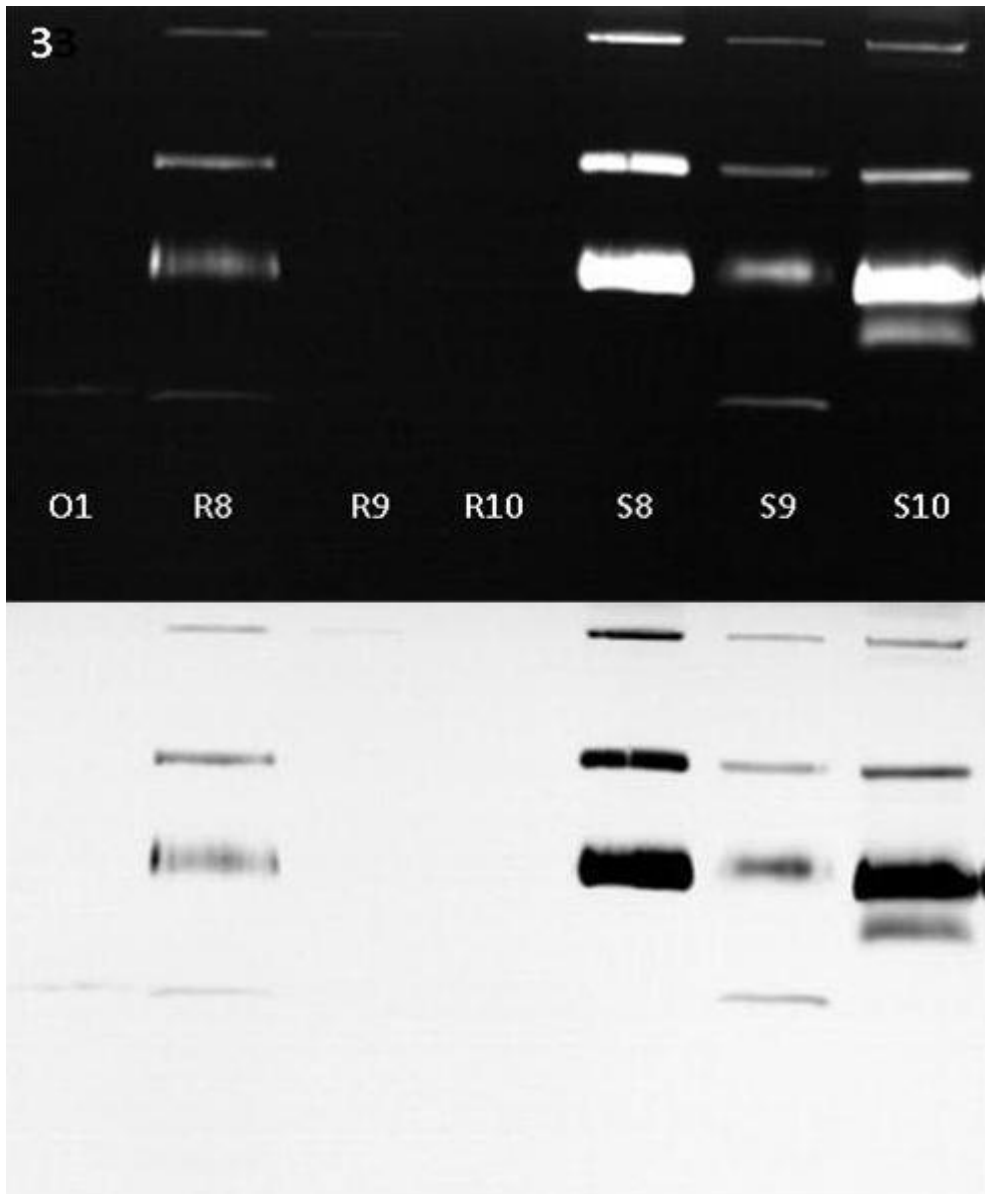
Ζυμογραφήματα



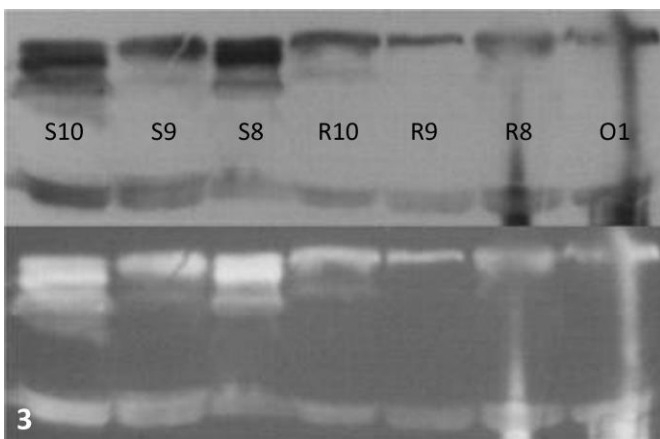
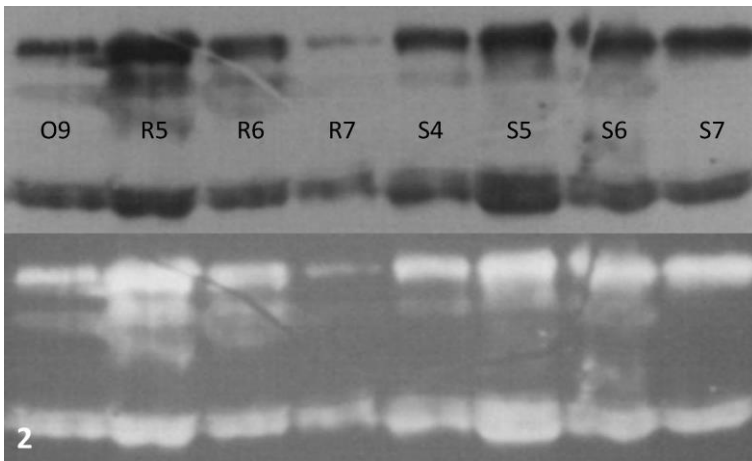
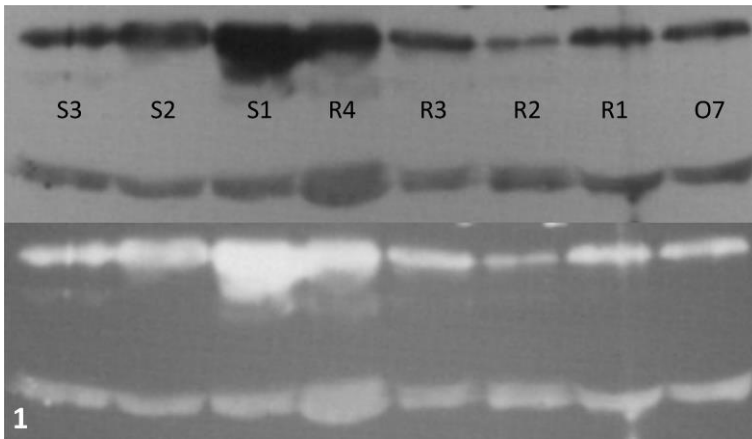




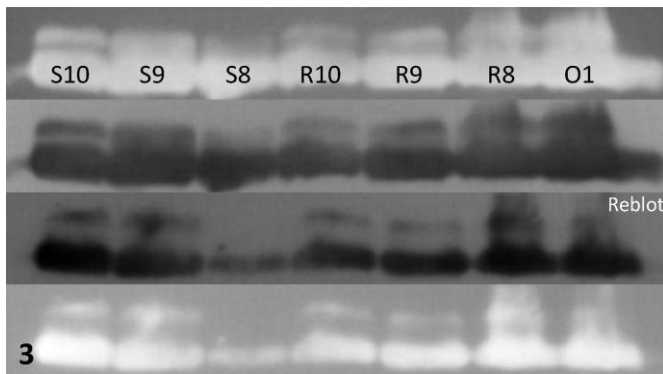
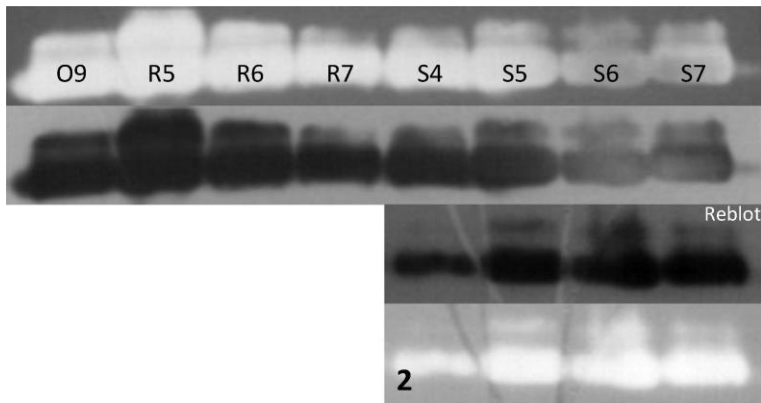
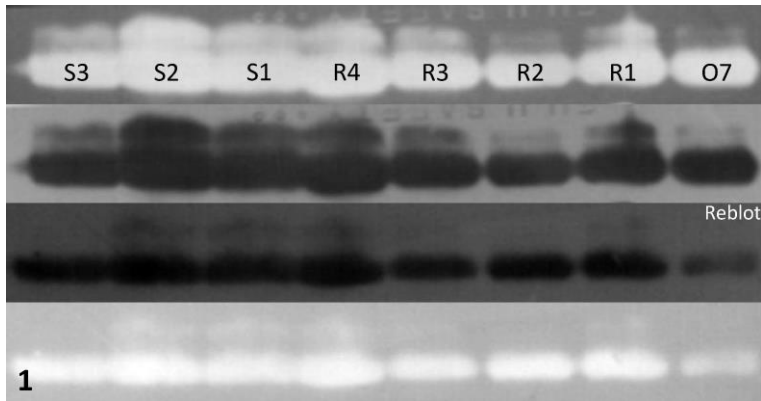




Western blotting – MMP-9



Western blotting – TIMP-1



Δ. Βιβλιογραφία

1. Platzer W. Μυοσκελετικό σύστημα. Kahle W., Leonhardt H., Platzer W. Εγχειρίδιο ανατομικής του ανθρώπου με έγχρωμο άτλαντα. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας 1985. σελ. 1-432.
2. Κατρίτσης ΕΔ, Παπαδόπουλος ΝΙ. Ανατομική του ανθρώπου. Τόμος Ι. Γενικό μέρος. Οστεολογία – Αρθρολογία. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας 1986. σελ. 1-191.
3. Stevens A, Lowe J. Ιστολογία. Μυοσκελετικό σύστημα. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδη 1993. σελ. 226-49.
4. Junqueira LC, Carneiro J, Kelley RO. Βασική ιστολογία. Χόνδρινος, Οστίτης ιστός. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδη 1989. σελ.173-217.
5. Buckwalter JA, Amendola A, Clark CR. Articular cartilage and meniscus: Biology, biomechanics and healing response. Insall JN & Scott WN Surgery of the knee. Churchill Livingstone. 4th edition 2006. p. 307-16.
6. Goldring SR, Goldring MB. Structure and function of bone, joints, and connective tissue. Biology of the normal joint. Firestein GS, Budd RC, Harris EDJr et al. Kelley's Textbook of Rheumatology. Saunders. 8th edition 2009. p. 1-22.
7. Goldenberg DL. Septic arthritis. Lancet 1998; 351:197-202.
8. Margaretten ME, Kohlwes J, Moore D, Bent S. Does this patient have septic arthritis? JAMA 2007; 297(13):1478-88.

9. Kaandorp CJE, Dinant HJ, van de Laar MAFJ et al. Incidence and sources of native and prosthetic joint infection: A community based prospective survey. *Ann Rheum Dis* 1997; 56:470-5.
10. Ross JJ. Septic arthritis. *Infect Dis Clin North Am* 2005; 19:799-817.
11. Garcia-De La Torre I. Advances in the management of septic arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 2003; 29:61-75.
12. Mehta P, Schnall SB, Zalavras CG. Septic arthritis of the shoulder, elbow and wrist. *Clin Orthop Relat Res* 2006; 451:42-5.
13. Smith JW, Chalupa P, Hasan MS. Infectious arthritis: Clinical features, laboratory findings and treatment. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12:309-314.
14. Kaandorp CJ, Van Schaardenburg D, Krijnen P et al. Risk factors for septic arthritis in patients with joint disease: A prospective study. *Arthritis Rheum* 1995; 38:1819-25.
15. Gillespie WJ. Epidemiology in bone and joint infection. *Infect Dis Clin North Am* 1990; 4:361-76.
16. Hogan CJ, Fang GD, Scheld WM et al. Inhibiting the inflammatory response in joint sepsis. *Arthroscopy* 2001; 17:311-315.
17. Siva C, Velazquez C, Moby A et al. Diagnosing acute monoarthritis in adults: a practical approach for the family physician. *Am Fam Physician* 2003; 68:83-90.
18. Ho GJr, Siraj DS, Cook PP. Bacterial arthritis. Infection and arthritis. Firestein GS, Budd RC, Harris EDJr et al. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. Saunders. 8th edition 2009. p. 1701-14.

19. Ma L, Cranney A, Holroyd-Leduc JM. Acute monoarthritis: What is the cause of my patient's painful swollen joint? *CMAJ* 2009; 180(1):59-65.
20. Esterhai JL Jr, Gelb I. Adult septic arthritis. *Orthop Clin North Am* 1991; 22:503-14.
21. Armstrong RW, Bolding F, Joseph R. Septic arthritis following arthroscopy: Clinical syndromes and analysis of risk factors. *Arthroscopy* 1992; 8:213-23.
22. Septic arthritis following anterior cruciate ligament reconstruction using tendon allografts. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2001; 50:1081-1083.
23. Dubost JJ, Soubrier M, De Champs C et al. No changes in the distribution of organisms responsible for septic arthritis over a 20 year period. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:267-9.
24. Ross JJ, Davidson L. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* septic arthritis: An emerging clinical syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2005; 44:1197-1198.
25. Al-Nammari SS, Bobak B, Venkatesh R. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* versus Methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* adult hematogenous septic arthritis. *Arch Orthop Trauma Surg* 2007; 127:537-542.
26. Ross JJ, Saltzman CL, Carling P, Shapiro DS. Pneumococcal septic arthritis: Review of 190 cases. *Clin Infect Dis* 2003; 36:319-27.
27. Schelenz S, Bramham K, Goldsmith D. Septic arthritis due to extended spectrum beta lactamase producing *Klebsiella pneumoniae*. *Joint Bone Spine* 2007; 74:275-278.

28. Rosenthal J, Giles G, Bole WDR. Acute nongonococcal infectious arthritis: Evaluation of risk factors, therapy and outcome. *Arthritis Rheum* 1980; 23:889-896.
29. Scopelitis E, Martinez-Osuna P. Gonococcal arthritis. *Rheum Dis Clin North Am* 1993; 19:363-77.
30. Hultgren O, Eugster HP, Sedgwick JD et al. TNF/lymphotoxin-alpha double-mutant mice resist septic arthritis but display increased mortality in response to *Staphylococcus aureus*. *J Immunol* 1998; 161:5937-42.
31. Hultgren OH, Svensson L, Tarkowski A. Critical role of signaling through IL-1 receptor for development of arthritis and sepsis during *Staphylococcus aureus* infection. *J Immunol* 2002; 168:5207-12.
32. Gjertsson I, Hultgren OH, Tarkowski A. Interleukin-10 ameliorates the outcome of *Staphylococcus aureus* arthritis by promoting bacterial clearance. *Clin Exp Immunol* 2002; 130:409-14.
33. Hultgren O, Kopf M, Tarkowski A. Outcome of *Staphylococcus aureus*-triggered sepsis and arthritis in IL-4-deficient mice depends on the genetic background of the host. *Eur J Immunol* 1999; 29:2400-5.
34. Herrmann M, Vaudaux PE, Pittet D et al. Fibronectin, fibrinogen and laminin act as mediators of adherence of clinical staphylococcal isolates to foreign material. *J Infect Dis* 1988; 158:693-701.
35. Patti JM, Allen BL, McGavin MJ et al. MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu Rev Microbiol* 1994; 48:585-617.
36. Foster TJ, Hook M. Surface protein adhesions of *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 1998; 6:484-8.

37. Patti JM, Bremell T, Krajewska-Pietrasik D et al. The *Staphylococcus aureus* collagen adhesin is a virulence determinant in experimental septic arthritis. *Infect Immun* 1994; 62:152-61.
38. Greene C, McDevitt D, Francois P et al. Adhesion properties of mutants of *Staphylococcus aureus* defective in fibronectin-binding proteins and studies on the expression of *fnb* genes. *Mol Microbiol* 1995; 17:1143-52.
39. Nilsson IM, Patti JM, Bremell T et al. Vaccination with a recombinant fragment of collagen adhesin provides protection against *Staphylococcus aureus*-mediated septic death. *J Clin Invest* 1998; 101:2640-9.
40. Josefsson E, Hartford O, O'Brien L et al. Protection against experimental *Staphylococcus aureus* arthritis by vaccination with clumping factor A, a novel virulence determinant. *J Infect Dis* 2001; 184:1572-80.
41. Silverman GJ, Sasano M, Wormsley SB. Age-associated changes in binding of human B lymphocytes to a VH3-restricted unconventional bacterial antigen. *J Immunol* 1993; 151:5840-55.
42. Palmqvist N, Silverman GJ, Josefsson E et al. Bacterial cell wall-expressed protein A triggers supraclonal B-cell responses upon in vivo infection with *Staphylococcus aureus*. *Microb Infect* 2005; 7:1501-11.
43. Gemmell CG, Goutcher SC, Reid R et al. Role of certain virulence factors in a murine model of *Staphylococcus aureus* arthritis. *J Med Microbiol* 1997; 46:208-13.

44. Palmqvist N, Foster T, Tarkowski A, Josefsson E. Protein A is a virulence factor in *Staphylococcus aureus* arthritis and septic death. *Microb Pathog* 2002; 33:239-49.
45. Albus A, Arbeit RD, Lee JC. Virulence of *Staphylococcus aureus* mutants altered in type 5 capsule production. *Infect Immun* 1991; 59:1008-14.
46. Buxton TB, Rissing JP, Horner JA et al. Binding of a *Staphylococcus aureus* bone pathogen to type I collagen. *Microb Pathog* 1990; 8:441-8.
47. Novick RP, Muir TW. Virulence gene regulation by peptides in staphylococci and other gram-positive bacteria. *Curr Opin Microbiol* 1999; 2:40-5.
48. Winzer K, Williams P. Quorum sensing and the regulation of virulence gene expression in pathogenic bacteria. *Int J Med Microbiol* 2001; 291:131-43.
49. Vandenesch F, Projan SJ, Kreiswirth B et al. Agr- related sequences in *Staphylococcus lugdunensis*. *FEMS Microbiol Lett* 1993; 111:115-22.
50. Nilsson IM, Lee JC, Bremell T et al. The role of staphylococcal polysaccharide microcapsule expression in septicemia and septic arthritis. *Infect Immun* 1997; 65:4216-21.
51. Swaminathan A, Massasso D, Gotis-Graham I, Gosbell I. Fulminant methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* infection in a healthy adolescent, highlighting 'Panton-Valentine leukocidin syndrome'. *Intern Med J* 2006; 36:744-7.

52. Bremell T, Tarkowski A. Preferential induction of septic arthritis and mortality by superantigen-producing staphylococci. *Infect Immun* 1995; 63:4185-7.
53. Renno T, Hahne M, McDonald HR. Proliferation is a prerequisite for bacterial superantigen-induced T cell apoptosis in vivo. *J Exp Med* 1995; 181:2283-7.
54. Tissi L, Marconi P, Mosci P et al. Experimental model of type IV *Streptococcus agalactiae* (group B streptococcus) infection in mice with early development of septic arthritis. *Infect Immun* 1990; 58:3093-100.
55. Ram S, Mackinnon FG, Gulati S et al. The contrasting mechanisms of serum resistance of *Neisseria gonorrhoeae* and group B *Neisseria meningitidis*. *Mol Immunol* 1999; 36:915-28.
56. Goldenberg DL, Reed JI, Rice PA. Arthritis in rabbits induced by killed *Neisseria gonorrhoeae* and Gonococcal lipopolysaccharide. *J Rheumatol* 1984; 11:3-8.
57. Esterhai JLJr, Rao N. The epidemiology of musculoskeletal infections. Cierny GIII, McLaren AC, Wongworawat MD. *Orthopaedic Knowledge Update: Musculoskeletal Infection*. AAOS 2009. p. 3-14.
58. Riegels-Nielsen P, Frimodt-Moller N, Sorensen M, Jensen JS. Antibiotic treatment insufficient for established septic arthritis: *Staphylococcus aureus* experiments in rabbits. *Acta Orthop Scand* 1989; 60:113-115.
59. Smith RL, Schurman DJ, Kajiyama G et al. The effect of antibiotics on the destruction of cartilage in experimental infectious arthritis. *J Bone Joint Surg Am* 1987; 69:1063-1068.

60. Elkington PTG, O'Kane CM, Friedland JS. The paradox of matrix metalloproteinases in infectious disease. *Clin Exp Immunol* 2005; 142:12-20.
61. Arican M, Coughlan AR, Clegg PD, Carter SD. Matrix Metalloproteinases 2 and 9 activity in bovine synovial fluids. *J Vet Med* 2000; A47:449-456.
62. Riegels-Nielsen P, Frimodt-Moller N, Jensen J. Rabbit model of septic arthritis. *Acta Orthop Scand* 1987; 58:14-19.
63. Kimura M, Matsukawa A, Ohkawara S et al. Blocking of TNF-alpha and IL-1 inhibits leukocyte infiltration at early, but not at late stage of S.aureus-induced arthritis and the concomitant cartilage destruction in rabbits. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 82:18-25.
64. Bremell T, Abdelnour A, Tarkowski A. Histopathological and serological progression of experimental Staphylococcus aureus arthritis. *Infect Immun* 1992; 60:2976-2985.
65. Zhao YX, Ljungdahl A, Olsson T et al. In situ hybridization analysis of synovial and systemic cytokine messenger RNA expression in superantigen-mediated Staphylococcus aureus arthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39:959-967.
66. Smith RL, Schurman DJ. Comparison of cartilage destruction between infectious and adjuvant arthritis. *J Orthop Res* 1983; 1:136-143.

67. Kanangat S, Postlethwaite A, Hasty K et al. induction of multiple matrix metalloproteinases in human dermal and synovial fibroblasts by *Staphylococcus aureus*: Implications in the pathogenesis of septic arthritis and other soft tissue infections. *Arthritis Research & Therapy* 2006; 8(6):R176.
68. Zhao YX, Nilsson IM, Tarkowski A. The dual role of interferon-gamma in experimental *Staphylococcus aureus* septicemia versus arthritis. *Immunology* 1998; 93:80-5.
69. Hu LT, Eskildsen MA, Masgala C et al. Host Metalloproteinases in Lyme Arthritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44:1401-10.
70. Schurman DJ, Smith RL. Joint infection. *Acta Orthop Scand (Suppl)* 1998; 69:14-6.
71. Smith RL, Kajiyama G, Schurman DJ. Staphylococcal septic arthritis: antibiotic and nonsteroidal anti-inflammatory drug treatment in a rabbit model. *J Orthop Res* 1997; 15:919-26.
72. Deirmengian CA, Patel R. Clinical and laboratory evaluation. Cierny GIII, McLaren AC, Wongworawat MD. *Orthopaedic Knowledge Update: Musculoskeletal Infection*. AAOS 2009. p. 57-65.
73. Kortekangas P, Aro HT, Tuominen J, Toivanen A. Synovial fluid leukocytosis in bacterial arthritis vs. reactive arthritis and rheumatoid arthritis in the adult knee. *Scand J Rheumatol* 1992; 21:283-8.
74. Trampuz A, Piper KE, Hanssen AD et al. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein are useful preoperative predictors of the absence of prosthetic hip and knee infection. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(Suppl 2):526.

75. Botner F, Wegner A, Winkelmann W et al. Interleukin-6, procalcitonin and TNF-alpha: Markers of peri-prosthetic infection following total joint replacement. *J Bone Joint Surg Br* 2007; 89:94-9.
76. Saunders S, Longworth S. Injection techniques: The knee. Section III. Injection techniques of the lower limb. Injection techniques in Orthopaedics and Sports Medicine. Churchill – Livingstone. 3rd edition 2006. p. 102-21.
77. Franks AG, Mor A. Inflammatory arthritis of the knee. Miscellaneous conditions and treatment. Insall JN, Scott WN. *Surgery of the knee*. Churchill – Livingstone. 4th edition 2006. p. 989-1001.
78. Grayson M. Three infected injections from the same organism. *British Journal of Rheumatology* 1998; 37:592-3.
79. Visser S, Tupper J. Septic until proven otherwise. Approach to and treatment of the septic joint in adult patients. *Canadian Family Physician* 2009; 55:374-5.
80. Parvizi J, Ghanem E, Sharkey P et al. Diagnosis of infected Total Knee. *Clin Orthop Relat Res* 2008; 466:2628-33.
81. Hasselbacher P. Arthrocentesis, synovial fluid and synovial biopsy. Klippel JH, Weyland CM, Wortmann RL. *Primer on the rheumatologic diseases*. Arthritis Foundation. 11th edition 1997. p. 98-104.
82. Li SF, Cassidy C, Chang C et al. Diagnostic utility of laboratory tests in septic arthritis. *Emerg Med J* 2007; 24:75-77.
83. Trampuz A, Hanssen AD, Osmon DR et al. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. *Am J Med* 2004; 117:556-62.

84. Parvizi J, Ghanem E, Menashe S et al. Periprosthetic infection: What are the diagnostic challenges? *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88(Suppl 4): 138-47.
85. Swan A, Amer H, Dieppe P. The value of synovial fluid assays in the diagnosis of joint disease: A literature survey. *Ann Rheum Dis* 2002; 61:493-8.
86. Hughes JG, Vetter EA, Patel R et al. Culture with BACTEC Peds Plus/F bottle compared with conventional methods for detection of bacteria in synovial fluid. *J Clin Microbiol* 2001; 39:4468-71.
87. Trampuz A, Piper KE, Jacobson MJ et al. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. *N Engl J Med* 2007; 357:654-63.
88. Zhang W, Doherty M, Pascual E et al. EULAR evidence based recommendations for gout. Part I: Diagnosis. Report of a task force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT). *Ann Rheum Dis* 2006; 65:1301-11.
89. El-Gabalawy HS. Synovial fluid analysis, synovial biopsy and synovial pathology. *Diagnostic tests and procedures in rheumatic diseases.* Firestein GS, Budd RC, Harris EDJr et al. *Kelley's Textbook of Rheumatology.* Saunders. 8th edition 2009. p. 703-19.
90. McCarty DJ. Gout. Crystal-induced arthritides. *Musculoskeletal and connective tissue disorders.* Porter RS, Kaplan JL. *The Online Merck manual of diagnosis and therapy.* <http://www.merckmanuals.com/professional/sec04/ch035/ch035b.html>.

91. McLaren AC, Saubolle MA, Yu E, Feltis JT. The microbiologic and histopathologic diagnosis of orthopaedic infections. Cierny GIII, McLaren AC, Wongworawat MD. Orthopaedic Knowledge Update: Musculoskeletal Infection. AAOS 2009. p. 73-83.
92. Zimmerli W. Infection and musculoskeletal conditions: Prosthetic-joint-associated infections. Best Pract Res Clin Rheumatol 2006; 20:1045-63.
93. Atkins BL, Athanasou N, Deeks JJ et al. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infections at revision arthroplasty: The OSIRIS Collaborative Study Group. J Clin Microbiol 1998; 36:2932-9.
94. Patel R, Osmon DR, Hanssen AD. The diagnosis of prosthetic joint infection. Clin Orthop Relat Res 2005; 437:55-8.
95. Della Valle CJ, Bogner E, Desai P et al. The analysis of frozen sections of intraoperative specimens obtained at the time of reoperation after hip or knee resection arthroplasty for the treatment of infection. J Bone Joint Surg Am 1999; 81:684-9.
96. Lonner JH, Desai P, Decesare PE et al. The reliability of analysis of intraoperative frozen sections for identifying active infection during revision hip or knee arthroplasty. J Bone Joint Surg Am 1996; 78:1553-8.
97. Mitchell M, Howard B, Haller J et al. Septic arthritis. Radiol Clin North Am 1988; 26:1295-313.
98. Greenspan A. Infections. Orthopaedic imaging. A practical approach. Lippincott, Williams & Wilkins. 4th edition 2004. p. 775-809.

99. Tomas AD, Davidson D, Masri BA, Duncan CP. The management of peri-prosthetic infection in total joint arthroplasty. *J Bone Joint Surg Br* 2006; 88:149-55.
100. Goldman AB. Arthrography for rheumatic disease: When, why and for whom: Imaging of rheumatic diseases. *Rheum Dis Clin N Am* 1991; 17:505-42.
101. Tumeh SS, Tohmeh A. Nuclear medicine techniques in septic arthritis and osteomyelitis. *Rheum Clin Rheumatol* 1991; 17:559-83.
102. Levitsky KA, Hozack WJ, Balderston RA et al. Evaluation of the painful prosthetic joint: Relative value of bone scan, sedimentation rate, and joint aspiration. *J Arthroplasty* 1991; 6:237-44.
103. Palestro CJ, Swyer AJ, Kim CK, Goldsmith SJ. Infected knee prosthesis: Diagnosis with In-111 leukocyte, Tc-99m sulfur colloid, and Tc-99m MDP imaging. *Radiology* 1991; 179:645-8.
104. Κανελλακοπούλου Κ. Κατευθυντήριες οδηγίες για τη διάγνωση και την εμπειρική θεραπεία των οστικών λοιμώξεων. ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. - Επιστημονική Επιτροπή Νοσοκομειακών Λοιμώξεων. Κατευθυντήριες οδηγίες για τη διάγνωση και την εμπειρική θεραπεία των λοιμώξεων. Ελληνική Εταιρεία Λοιμώξεων 2007. σελ. 227-56.
105. Alparslan L, Weissman BN. Imaging modalities in rheumatic disease. Diagnostic tests and procedures in rheumatic diseases. Firestein GS, Budd RC, Harris EDJr et al. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. Saunders. 8th edition 2009. p. 777-831.

106. Zhuang H, Yu JQ, Alavi A. Applications of fluorodeoxyglucose-PET imaging in the detection of infection and inflammation and other benign disorders. *Radiol Clin North Am* 2005; 43:121-34.
107. Love C, Marwin SE, Tomas MB et al. Diagnosing infection in the failed joint replacement: A comparison of coincidence detection 18F-FDG and 111In-labeled leukocyte/99mTc-sulfur colloid marrow imaging. *J Nucl Med* 2004; 45:1864-71.
108. Buckwalter KA, Rydberg J, Crow K et al. Musculoskeletal imaging with multislice CT. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 176:979-86.
109. Brower A. Septic arthritis. *Radiol Clin North Am* 1996; 34:293-309.
110. Graif M, Schweitzer ME, Deely D et al. The septic versus nonseptic inflamed joint: MRI characteristics. *Skeletal Radiol* 1999; 28:616-20.
111. Learch TJ, Farooki S. Magnetic resonance imaging of septic arthritis. *J Clin Imaging* 2000; 24:236-42.
112. Rao N, Esterhai JL Jr. Septic arthritis. Cierny GIII, McLaren AC, Wongworawat MD. *Orthopaedic Knowledge Update: Musculoskeletal Infection*. AAOS 2009. p. 155-63.
113. Gächter A. The joint infection [In German]. *Inform Arzt* 1985; 6:35-43.
114. Strobel MJ. Infection. Knee joint. *Manual of arthroscopic surgery*. Springer. 2008. p.663-9.
115. Golbus J. Monarticular arthritis. Evaluation of generalized and localized symptoms. Firestein GS, Budd RC, Harris ED Jr et al. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. Saunders. 8th edition 2009. p. 533-44.

116. Mouzopoulos G, Fotopoulos VC, Tzurbakis M. Septic knee arthritis following ACL reconstruction: a systematic review. *KSSTA* 2009; 17:1033-42.
117. Okada Y. Proteinases and matrix degradation. Structure and function of bone, joints and connective tissue. Firestein GS, Budd RC, Harris EDJr et al. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. Saunders. 8th edition 2009. p. 115-34.
118. Vigorita VJ. The synovium: Normal and pathological conditions. Miscellaneous conditions and treatment. Insall JN, Scott WN. *Surgery of the knee*. Churchill – Livingstone. 4th edition 2006. p. 1002-33.
119. Stevens A, Lowe J. Παθολογική ανατομική. Ορθοπαιδική και ρευματολογική παθολογοανατομία. Ιατρικές εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδη 1998. σελ. 476-95.
120. Bomalaski JS, Lluberas G, Schumacher HRJr. Monosodium urate crystals in the knee joint of patients with asymptomatic nontophaceous gout. *Arthritis Rheum* 1986; 29:1480.
121. Masuda I, Ishikawa K. Clinical features of pseudogout attack. A review of fifty cases. *Clin Orthop Relat Res* 1988; 229:123.
122. Archibech MJ, Rosenberg AG, Sheinkop MB et al. Gout induced arthropathy after total knee arthroplasty: a report of two cases. *Clin Orthop* 2001; 392:377.
123. Wallace SL, Robinson H, Masi AT et al. Preliminary criteria for the classification of the acute arthritis of primary gout. *Arthritis Rheum* 1977; 20:895-900.

124. Abreu M, Johnson K, Chung CB et al. Calcification in calcium pyrophosphate dehydrate (CPPD) crystalline deposits in the knee: Anatomic, radiographic, MR imaging, and histologic study in cadavers. *Skeletal Radiol* 2004; 33:392.
125. Liu W, Barton-Wurster N, Glant TT et al. Spontaneous and experimental osteoarthritis in dog: Similarities and differences in proteoglycan levels. *J Orthop Res* 2003; 21:730.
126. Sellam J, Berenbaum F. Clinical features of osteoarthritis. Cartilage, bone, and heritable connective tissue disorders. Firestein GS, Budd RC, Harris EDJr et al. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. Saunders. 8th edition 2009. p. 1547-61.
127. Cierny G, Mader JT, Pennick JJ. A clinical staging system for adult osteomyelitis. *Contemp Orthop* 1985; 10:17-37.
128. Schurman DJ, Johnson BL, Amstutz HC. Knee joint infections with *Staphylococcus aureus* and *Micrococcus* species. *J Bone Joint Surg Am.* 1975; 57:40-49.
129. Gemmell CG, Edwards DI, Fraise AP et al. Guidelines for the prophylaxis and treatment of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infections in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57:589-608.
130. Mathews CJ, Weston VC, Jones A et al. Bacterial septic arthritis in adults. *Lancet* 2010; 375:846-55.
131. Falagas ME, Siempos II, Papagelopoulos PJ, Vardakas KZ. Linezolid for the treatment of adults with bone and joint infections. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29:233-9.

132. Falagas ME, Giannopoulou KP, Ntziora F, Papagelopoulos PJ. Daptomycin for treatment of patients with bone and joint infections: a systematic review of the clinical evidence. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30:202-9.
133. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007; 59:165-74.
134. Weston V, Coakley G. Guideline for the management of the hot swollen joint in adults with a particular focus on septic arthritis. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58:492-3.
135. Stengel D, Bauwens K, Sehoul J et al. Systematic review and meta-analysis of antibiotic therapy for bone and joint infections. *Lancet Infect Dis* 2001; 1:175-88.
136. Butt U, Ammisah-Arthur M, Khattak F, Elsworth CF. What are we doing about septic arthritis? A survey of UK-based rheumatologists and orthopedic surgeons. *Clin Rheumatol* 2011 Jan 11 [Epub ahead of print].
137. Hughes RA, Keat AC. Reiter syndrome and reactive arthritis. A current view. *Semin Arthritis Rheum* 1994; 24:190-210.
138. Sakiniene E, Bremell T, Tarkowski A. Addition of corticosteroids to antibiotic treatment ameliorates the course of experimental *Staphylococcus aureus* arthritis. *Arthritis Rheum* 1996; 39:1596-605.
139. Odio CM, Ramirez T, Arias G et al. Double blind, randomized, placebo-controlled study of dexamethasone therapy for hematogenous septic arthritis in children. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22:883-8.

140. Verdrengh M, Carlsten H, Ohlsson C, Tarkowski A. Addition of bisphosphonate to antibiotic and anti-inflammatory treatment reduces bone resorption in experimental staphylococcus aureus-induced arthritis. *J Orthop Res* 2007; 25:304-10.
141. Hidalgo M, Eckhardt SG. Development of matrix metalloproteinase inhibitors in cancer therapy. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93:178-93.
142. Heikkila P, Teronen O, Moilanen M et al. Bisphosphonates inhibit stromelysin-1 (MMP-3), matrix metalloelastase (MMP-12), collagenase-3 (MMP-13) and enamelysin (MMP-20), but not urokinase-type plasminogen activator, and diminish invasion and migration of human malignant and endothelial cell lines. *Anticancer Drugs* 2002; 13:245-54.
143. Sapadin AN, Fleischmajer R. Tetracyclines: nonantibiotic properties and their clinical implications. *J Am Acad Dermatol* 2006; 54:258-65.
144. Golub LM, Lee HM, Ryan ME et al. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res* 1998; 12:12-26.
145. Peterson JT. Matrix metalloproteinase inhibitor development and the remodelling of drug discovery. *Heart Fail Rev* 2004; 9:63-79.
146. Golub LM, McNamara TF, D'Angelo G et al. A non-antimicrobial chemically-modified tetracycline inhibits mammalian collagenase activity. *J Dent Res* 1987; 66:1310-1314.
147. Paemen L, Martens E, Norga K et al. The gelatinase inhibitory activity of tetracyclines and chemically modified tetracycline analogues as measured by a novel microtiter assay for inhibitors. *Biochem Pharmacol* 1996; 52:105-111.

148. Emingil G, Atilla G, Sorsa T et al. The effect of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels in chronic periodontitis. *J Periodontol* 2004; 75:106-15.
149. Walker C, Preshaw PM, Novak J et al. Long-term treatment with sub-antimicrobial dose doxycycline has no antibacterial effect on intestinal flora. *J Clin Periodontol* 2005; 32:1163-9.
150. Hu LT, Van den Steen PE, Sang QX, Opdenakker G. Matrix metalloproteinase inhibitors as therapy for inflammatory and vascular diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2007; 6:480-98.
151. Puliti M, von Hunolstein C, Verwaerde C et al. Regulatory role of interleukin-10 in experimental group B streptococcal arthritis. *Infect Immun* 2002; 70:2862-8.
152. Puliti M, von Hunolstein C, Bistoni F et al. The beneficial effect of interleukin-12 on arthritis induced by group B streptococci is mediated by interferon-gamma and interleukin-10 production. *Arthritis Rheum* 2002; 46:806-17.
153. Goldenberg DL, Brandt KD, Cohen AS, Cathcart ES. Treatment of septic arthritis: Comparison of needle aspiration and surgery as initial modes of joint drainage. *Arthritis and Rheum* 1975; 18:83-9.
154. Parisien JS, Shafer B. Arthroscopic management of pyoarthrosis. *Clin Orthop* 1992; 275:243-7.
155. Thiery JA. Arthroscopic drainage in septic arthritides of the knee: a multicenter study. *Arthroscopy* 1989; 5:65-9.

156. Wirtz DC, Marth M, Miltner O et al. Septic arthritis of the knee in adults: treated by arthroscopy or arthrotomy. *Int Orthop* 2001; 25:239-41.
157. Ogilvie-Harris DJ, Basinski A. Arthroscopic synovectomy of the knee for rheumatoid arthritis. *Arthroscopy* 1991; 7:91.
158. Stutz G, Kuster MS, Kleinstuck F, Gächter A. Arthroscopic management of septic arthritis: stages of infection and results. *KSSTA* 2000; 8:270-4.
159. Vispo Seara JL, Barthel T, Schmitz H, Eulert J. Arthroscopic treatment of septic joints: prognostic factors. *Arch Orthop Trauma Surg* 2002; 122:204-11.
160. Park AL, Dlabach JA. Infectious arthritis. *Infections*. Canale ST. *Campbell's Operative Orthopaedics*. Mosby. 10th edition 2003. p. 685-711.
161. Schulz AP, Götze S, Schmidt HGK et al. Septic arthritis of the knee after anterior cruciate ligament surgery: a stage-adapted treatment regimen. *Am J Sports Med*. 2007; 35:1064-9.
162. Williams RJIII, Laurencin CT, Warren RF et al. Septic arthritis after arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction: diagnosis and management. *Am J Sports Med*. 1997; 25:261-7.
163. Zalavras CG, Patzakis MJ, Tibone J et al. Treatment of persistent infection after anterior cruciate ligament surgery. *Clin Orthop Rel Res*. 2005; 439:52-5.
164. Indelli PF, Dillingham M, Fanton G, Schurman DJ. Septic arthritis in postoperative anterior cruciate ligament reconstruction. *Clin Orthop Rel Res*. 2002; 398:182-8.

165. Van Tongel A, Stuyck J, Bellemans J, Vandenneucker H. Septic arthritis after anterior cruciate ligament reconstruction: a retrospective analysis of incidence, management and outcome. *Am J Sports Med.* 2007; 35:1059-63.
166. McAllister DR, Parker RD, Cooper AE et al. Outcomes of postoperative septic arthritis after anterior cruciate ligament reconstruction. *Am J Sports Med.* 1999; 27:562-70.
167. Fong SY, Tan JL. Septic arthritis after arthroscopic anterior cruciate ligament reconstruction. *Ann Acad Med Singapore.* 2004; 33:228-34.
168. Salter RB. The biologic concept of continuous passive motion of synovial joints. *Clin Orthop Relat Res* 1989; 242:12-25.
169. Judd D, Bottoni C, Kim D et al. Infections following anterior cruciate ligament reconstruction. *Arthroscopy.* 2006; 22:375-84.
170. Jeng GW, Wang CR, Liu ST et al. Measurement of synovial tumor necrosis factor-alpha in diagnosing emergency patients with bacterial arthritis. *Am J Emerg Med* 1997; 15:626-9.
171. Soderquist B, Jones I, Fredlund H et al. Bacterial or crystal-associated arthritis? Discriminating ability of serum inflammatory markers. *Scand J Infect Dis* 1998; 30:591-6.
172. Martinot M, Sordet C, Soubrier M et al. Diagnostic value of serum and synovial procalcitonin in acute arthritis: a prospective study of 42 patients. *Clin Exp Rheumatol* 2005; 23:303-10.
173. Butbul-Aviel Y, Koren A, Havely R et al. Procalcitonin as a diagnostic aid in osteomyelitis and septic arthritis. *Pediatr Emerg Care* 2005; 21:828-32.

174. Fottner A, Birkenmaier C, von Schulze Pellengahr C et al. Can serum procalcitonin help to differentiate between septic and nonseptic arthritis? *Arthroscopy* 2008; 24:229-33.
175. Hügler T, Schuetz P, Mueller B et al. Serum procalcitonin for discrimination between septic and non-septic arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 2008; 26:453-6.
176. Wang CH, Yen ZS. Best Evidence Topic report. BET3. Is there a role for serum procalcitonin in the differentiation between septic and non-septic arthritis? *Emerg Med J* 2010; 27:144-5.
177. Streit G, Alber D, Toubin MM et al. Procalcitonin, C-reactive protein and complement-3 α assays in synovial fluid for diagnosing septic arthritis: preliminary results. *Joint Bone Spine* 2008; 75:238-9.
178. Hoffmann U, Brueckmann M, Borggrefe M. Matrix metalloproteinases and their inhibitors: promising novel biomarkers in severe sepsis? *Critical Care* 2009; 13:1006.
179. Gjerdtsson I, Hultgren OH, Collins LV et al. Impact of transcription factors AP-1 and NF- κ B on the outcome of experimental *Staphylococcus aureus* arthritis and sepsis. *Microbes and Infection* 2001; 3:527-34.
180. Springman EB, Angelton EL, Birkedal-Hansen H, Van Wart HE. Multiple modes of activation of latent human fibroblast collagenase: evidence for the role of Cys₇₃ active-site zinc complex in latency and a 'cysteine switch' mechanism for activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:364-8.

181. Van Wart HE, Birkedal-Hansen H. The cysteine switch: A principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:5578-82.
182. Pasternak B, Aspenberg P. Metalloproteinases and their inhibitors – diagnostic and therapeutic opportunities in orthopaedics. *Acta Orthop* 2009; 80:693-703.
183. Foos MJ, Hickox JR, Mansour PG et al. Expression of matrix metalloprotease and tissue inhibitor of metalloprotease genes in human anterior cruciate ligament. *J Orthop Res* 2001; 19:642-9.
184. Okada Y, Morodomi T, Enghilld JJ et al. Matrix metalloproteinase 2 from human rheumatoid synovial fibroblasts: Purification and activation of the precursor and enzymic properties. *Eur J Biochem* 1990; 194:721-30.
185. Okada Y, Gonoji Y, Naka K et al. Matrix metalloproteinase 9 (92-kDa gelatinase/type IV collagenase) from HT 1080 human fibrosarcoma cells: Purification and activation of the precursor and enzymic properties. *J Biol Chem* 1992; 267:21712-9.
186. Nagase H. Activation mechanisms of matrix metalloproteinases. *Biol Chem* 1997; 378:151-60.
187. Heissig B, Hattori K, Dias S et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP-9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002; 109:625-37.

188. McQuibban GA, Gong JH, Tam EM et al. Inflammation dampened by gelatinase A cleavage of monocyte chemoattractant protein-3. *Science* 2000; 289:1202-6.
189. Visse R, Nagase H. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: Structure, function and biochemistry. *Circ Res* 2003; 92:827-39.
190. Bramono DS, Richmond JC, Weitzel PP et al. Matrix metalloproteinases and their clinical applications in Orthopaedics. *Clin Orthop Rel Res* 2004; 428:272-85.
191. Koklitis PA, Murphy G, Sutton C, Angal S. Purification of recombinant human prostromelysin. Studies on heat activation to give high-M_r and low-M_r active forms, and a comparison of recombinant with natural stromelysin activities. *Biochem J* 1991; 276:217-21.
192. Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T et al. The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *J Dent Res* 1998; 77:1622-9.
193. Nagase H, Enghild JJ, Suzuki K, Salvesen G. Stepwise activation of mechanisms of the precursor of matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) by proteinases and (4-aminophenyl) mercuric acetate. *Biochemistry* 1990; 29:5783-9.
194. Cameron PM, Marcy AI, Rokosz LL, Hermes JD. Use of an active-site inhibitor of stromelysin to elucidate the mechanism of prostromelysin activation. *Bioorg Chem* 1995; 23:415-26.

195. Okada Y, Harris EDJr, Nagase H. The precursor of a metalloendopeptidase from human rheumatoid synovial fibroblasts. Purification and mechanisms of activation by endopeptidases and 4-aminophenylmercuric acetate. *Biochem J* 1988; 254:731-41.
196. Gu Z, Kaul M, Yan B et al. S-nitrosylation of matrix metalloproteinases: Signaling pathway to neuronal cell death. *Science* 2002; 297:1186-90.
197. Ellerbroek SM, Wu YI, Overall CM, Stack MS. Functional interplay between type I collagen and cell surface matrix metalloproteinase activity. *J Biol Chem* 2001; 276:24833-42.
198. Will H, Atkinson SJ, Butler GS et al. The soluble catalytic domain of membrane-type 1 matrix metalloproteinase cleaves the propeptide of progelatinase A and initiates autoproteolytic activation. *J Biol Chem* 1996; 271:17119-23.
199. Kinoshita T, Sato H, Okada A et al. TIMP-2 promotes activation of progelatinase A by membrane-type 1 matrix metalloproteinase immobilized on agarose beads. *J Biol Chem* 1998; 273:16098-103.
200. Motoharu S. The cell surface: The stage for matrix metalloproteinase regulation of migration. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14:624-32.
201. Itoh Y, Takamura A, Ito N et al. Homophilic complex formation of MT1-MMP facilitates proMMP-2 activation on the cell surface and promotes tumour cell invasion. *EMBO J* 2001; 20:4782-93.
202. Nakamura H, Fujii Y, Ohuchi E et al. Activation of the precursor of human stromelysin 2 and its interactions with other matrix metalloproteinases. *Eur J Biochem* 1998; 253:67-75.

203. Sato H, Takino T, Okada Y et al. A matrix metalloproteinase expressed on the surface of invasive tumour cells. *Nature* 1994; 370:61-5.
204. Will H, Hinzmann B. cDNA sequence and mRNA tissue distribution of a novel human matrix metalloproteinase with a potential transmembrane segment. *Eur J Biochem* 1995; 231:602-8.
205. Takino T, Sato H, Shinagawa A, Motoharu S. Identification of the second membrane-type matrix metalloproteinase (MT-MMP-2) gene from a human placenta cDNA library: MT-MMPs form a unique membrane-type subclass in the MMP family. *J Biol Chem* 1995; 270:23013-20.
206. Shimada T, Nakamura H, Ohuchi E et al. Characterization of a truncated recombinant form of human membrane type 3 matrix metalloproteinase. *Eur J Biochem* 1999; 262:907-14.
207. Pei D. Identification and characterization of the fifth membrane-type matrix metalloproteinase MT5-MMP. *J Biol Chem* 1999; 274:8925-32.
208. Morrison CJ, Butler GS, Bigg HF et al. Cellular activation of MMP-2 (gelatinase A) by MT2-MMP occurs via a TIMP-2 independent pathway. *J Biol Chem* 2001; 276:47402-10.
209. Chakraborti S, Mandal M, Das S et al. Regulation of matrix metalloproteinases: an overview. *Mol Cell Biochem* 2003; 253:269-85.
210. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinase and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006; 69:562-73.
211. Murphy G, Willenbrock F. Tissue inhibitors of matrix metalloendopeptidases. *Methods Enzymol* 1995; 248:496-510.

212. Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. *Eur J Cell Biol* 1997; 74:111-22.
213. Bode W, Fernandez-Catalan C, Tschesche H et al. Structural properties of matrix metalloproteinases. *CMLS* 1999; 55:639-52.
214. Brew K, Dinakarandian D, Nagase H. Tissue inhibitors of metalloproteinases: Evolution, structure and function. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1477:267-83.
215. Baker AH, Edwards DR, Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *J Cell Sci* 2002; 115:3719-27.
216. Yu WH, Yu S, Meng Q et al. TIMP-3 binds to sulphated glycosaminoglycans of the extracellular matrix. *J Biol Chem* 2000; 275:31226-32.
217. Oh J, Takahashi R, Kondo S et al. The membrane-anchored MMP inhibitor RECK is a key regulator of extracellular matrix integrity and angiogenesis. *Cell* 2001; 107:789-800.
218. Egeblad M, Werb Z. New functions for the matrix metalloproteinases in cancer progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2:161-74.
219. Opdenakker G, Van den Steen PE, Van Damme J. Gelatinase B: a tuner and amplifier of immune functions. *Trends Immunol* 2001; 22:571-9.

220. Lai WC, Zhou M, Shankavaram U et al. Differential regulation of lipopolysaccharide-induced monocyte matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-9 by p38 and extracellular signal-regulated kinase 1/2 mitogen-activated protein kinases. *J Immunol* 2003; 170:6244-9.
221. Ghosh S, May MJ, Kopp EB. NF-kappa B and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses. *Annu Rev Immunol* 1998; 16:225-60.
222. Brooks PC, Stromblad S, Sanders LC et al. Localization of matrix metalloproteinase MMP-2 to the surface of invasive cells by interaction with integrin alpha v beta 3. *Cell* 1996; 85:683-93.
223. Puyraimond A, Fridman R, Lemesle M et al. MMP-2 colocalizes with caveolae on the surface of endothelial cells. *Exp Cell Res* 2001; 262:28-36.
224. Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF- β and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev* 2000; 14:163-76.
225. Yu W, Woessner JF Jr. Heparan sulphate proteoglycans as extracellular docking for matrilysin (matrix metalloproteinase 7). *J Biol Chem* 2000; 275:4183-91.
226. Fosang AJ, Neame PJ, Last K et al. The interglobular domain of cartilage aggrecan is cleaved by PUMP, gelatinases and cathepsin B. *J Biol Chem* 1992; 267:19470-4.

227. Fosang AJ, Last K, Maciewicz RA. Aggrecan is degraded by matrix metalloproteinases in human arthritis. Evidence that matrix metalloproteinase and aggrecanase activities can be independent. *J Clin Invest* 1996; 98:2292-9.
228. Imai K, Hiramatsu A, Fukushima D et al. Degradation of decorin by matrix metalloproteinases: identification of the cleavage sites, kinetic analyses and transforming growth factor- β 1 release. *J Biochem* 1997; 322:809-14.
229. Williams RJ III, Smith RL, Schurman DJ. Septic arthritis. Staphylococcal induction of chondrocyte proteolytic activity. *Arthritis Rheum* 1990; 33:533-41.
230. Summers KL, O'Donnell JL, Hoy MS et al. Monocyte-macrophage antigen expression on chondrocytes. *J Rheumatol* 1995; 22:1326-34.
231. Sato H, Kita M, Seiki M. v-Scr activates the expression of 92-kDa type IV collagenase gene through the AP-1 site and the GT box homologous to retinoblastoma control elements. A mechanism regulating gene expression independent of that by inflammatory cytokines. *J Biol Chem* 1993; 268:23460-8.
232. Calander A, Starckx S, Opdenakker G et al. Matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) deficiency leads to increased severity of *S.aureus*-triggered septic arthritis. *Microbes and Infection* 2006; 8:1434-9.
233. Opdenakker G, Masure S, Grillet B, Van Damme J. Cytokine-mediated regulation of human leukocyte gelatinases and role in arthritis. *Lymphokine Cytokine Res* 1991; 10:317-24.

234. Johnatty RN, Taub DD, Reeder SP et al. Cytokine and chemokine regulation of proMMP-9 and TIMP-1 production by human peripheral blood lymphocytes. *J Immunol* 1997; 158:2327-33.
235. Opdenakker G, Masure S, Proost P et al. Natural human monocyte gelatinase and its inhibitor. *FEBS Lett* 1991; 284:73-8.
236. Wang JE, Pettersen S, Stuestol JF et al. Peptidoglycan of *S.aureus* causes increased levels of matrix metalloproteinases in the rat. *Shock* 2004; 22:376-9.
237. Meli DN, Christen S, Leib SL. Matrix metalloproteinase-9 in Pneumococcal meningitis: activation via an oxidative pathway. *J Infect Dis* 2003; 187:1411-5.
238. Dahan M, Nawrocki B, Elkaim R et al. Expression of matrix metalloproteinases in healthy and diseased human gingival. *J Clin Periodontol* 2001; 28:128-36.
239. Goetzl EJ, Banda MJ, Leppert D. Matrix metalloproteinase in immunity. *J Immunol* 1996; 156:1-4.
240. Delclaux C, Delacourt C, d'Ortho MP et al. Role of gelatinase B and elastase in human polymorphonuclear neutrophil migration across basement membrane. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14:288-95.
241. Parks WC, Wilson CL, Lopez-Boado YS. Matrix metalloproteinases as modulators of inflammation and innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2004; 4:617-29.
242. Heilpern AJ, Wertheim W, He J et al. Matrix metalloproteinase-9 plays a key role in Lyme arthritis but not in dissemination of *Borrelia burgdorferi*. *Infect Immun* 2009; 77:2643-9.

243. Price NM, Farrar J, Tran TT et al. Identification of a matrix-degrading phenotype in human tuberculosis in vitro and in vivo. *J Immunol* 2001; 166:4223-30.
244. Friedland JS, Shaw TC, Price NM, Dayer JM. Differential regulation of MMP-1/9 and TIMP-1 secretion in human monocytic cells in response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Matrix Biol* 2002; 21:103-10.
245. Renckens R, Roelofs JJ, Florquin S et al. Matrix metalloproteinase-9 deficiency impairs host defence against abdominal sepsis. *J Immunol* 2006; 176:3735-41.
246. Schaaf B, Liebau C, Kurowski V et al. Hospital acquired pneumonia with high-risk bacteria is associated with increased pulmonary matrix metalloproteinase activity. *BMC Pulmonary Medicine* 2008; 8:12.
247. Bottcher T, Spreer A, Azeh I et al. Matrix metalloproteinase-9 deficiency impairs host defence mechanisms against *Streptococcus pneumoniae* in a mouse model of bacterial meningitis. *Neurosci Lett* 2003; 338:201-4.
248. Itoh S, Hamada E, Kamoshida G et al. Staphylococcal superantigen-like protein 5 inhibits matrix metalloproteinase 9 from human neutrophils. *Infect Immun* 2010; 78:3298-305.
249. Betsuyaku T, Shipley JM, Liu Z, Senior RM. Neutrophil emigration in the lungs, peritoneum, and skin does not require gelatinase B. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20:1303-9.
250. Corbel M, Boichot E, Lagente V. Role of gelatinases MMP-2 and MMP-9 in tissue remodelling following acute lung injury. *Braz J Med Biol Res* 2000; 33:749-54.

251. Van den Steen PE, Proost P, Wuyts A et al. Neutrophil gelatinase B potentiates interleukin-8 tenfold by aminoterminal processing, whereas it degrades CTAP-III, PF-4, and GRO- α and leaves RANTES and MCP-2 intact. *Blood* 2000; 96:2673-81.
252. Schonbeck U, Mach F, Libby P. Generation of biologically active IL-1 beta by matrix metalloproteinases: a novel caspase-1-independent pathway of IL-1 beta processing. *J Immunol* 1998; 161:3340-6.
253. Gearing AJ, Beckett P, Christodoulou M et al. Matrix metalloproteinases and processing of pro-TNF-alpha. *J Leukoc Biol* 1995; 57:774-7.
254. Arribas J, Coodly L, Vollmer P et al. Diverse cell surface protein ectodomains are shed by a system sensitive to metalloprotease inhibitors. *J Biol Chem* 1996; 271:11376-82.
255. Hooper NM, Karran EH, Turner AJ. Membrane protein secretases. *J Biochem* 1997; 321:1326-34.
256. Pearce WH, Shively VP. Abdominal aortic aneurysm as a complex multifactorial disease: interactions of polymorphisms of inflammatory genes, features of autoimmunity, and current status of MMPs. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1085:117-32.
257. Brule S, Charnaux N, Sutton A et al. The shedding of syndecan-4 and syndecan-1 from HeLa cells and human primary macrophages is accelerated by SDF-1/CXCL12 and mediated by the matrix metalloproteinase-9. *Glycobiology* 2006; 16:488-501.
258. Adair-Kirk TL, Senior RM. Fragments of extracellular matrix as mediators of inflammation. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40:1101-10.

259. Adair-Kirk TL, Atkinson JJ, Broekelmann TJ et al. A site on laminin $\alpha 5$, AQARSAASKVKVSMKF, induces inflammatory cell production of matrix metalloproteinase-9 and chemotaxis. *J Immunol* 2003; 171:398-406.
260. Clark RA, Winker NE, Doherty DE, Norris DA. Cryptic chemotactic activity of fibronectin for human monocytes resides in the 120-kDa fibroblastic cell-binding fragment. *J Biol Chem* 1988; 263:12115-23.
261. Giannelli G, Falk-Marzillier J, Schiraldi O et al. Induction of cell migration by matrix metalloproteinase-2 cleavage of laminin-5. *Science* 1997; 277:225-8.
262. Laskin DL, Kimura T, Sakakibara S et al. Chemotactic activity of collagen-like polypeptides for human peripheral blood neutrophils. *J Leukoc Biol* 1986; 39:255-66.
263. Senior RM, Griffin GL, Mecham RP. Chemotactic activity of elastin-derived peptides. *J Clin Investig* 1980; 66:859-62.
264. Hansen U, Hussain M, Villone D et al. The anchorless adhesion Eap (extracellular adherence protein) from *Staphylococcus aureus* selectively recognizes extracellular matrix aggregates but binds promiscuously to monomeric matrix macromolecules. *Matrix Biol* 2006; 25:252-60.
265. Saravia-Otten P, Gutierrez JM, Arvidson S et al. Increased infectivity of *Staphylococcus aureus* in an experimental model of snake venom-induced tissue damage. *J Infect Dis* 2007; 196:748-54.

266. Makowski GS, Ramsby ML. Zymographic analysis of latent and activated forms of matrix metalloproteinase-2 and -9 in synovial fluid: correlation to polymorphonuclear leukocyte infiltration and in response to infection. *Clin Chim Acta* 2003; 329:77-81.
267. Chu S, Yang S, Lue K et al. Clinical significance of gelatinases in septic arthritis of native and replaced knees. *Clin Orthop Rel Res* 2004; 427:179-83.
268. Fietz S, Einspanier R, Hoppner S et al. Determination of MMP-2 and -9 activities in synovial fluid of horses with osteoarthritic and arthritic joint diseases using gelatin zymography and immunocapture activity assays. *Equine Vet J* 2008; 40:266-71.
269. Francoz D, Desrochers A, Simard N et al. Relative expression of matrix metalloproteinase-2 and -9 in synovial fluid from healthy calves and calves with experimentally induced septic arthritis. *Am J Vet Res* 2008; 69:1022-8.
270. Murphy G. Matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Acta Orthop Scan suppl.* 1995; 266:55-60.
271. Gaudin P, Razakaboay M, Surla A et al. A study of metalloproteinases in fifty joint fluid specimens. *Rev Rheum Engl ed* 1997; 64:375-81.
272. Lin B, Kidder JM, Noring R et al. Differences in synovial fluid levels of matrix metalloproteinases suggest separate mechanisms of pathogenesis in Lyme arthritis before and after antibiotic treatment. *J Infect Dis* 2001; 184:174-80.

273. Chu S, Yang S, Lue K et al. Regulation of gelatinases expression by cytokines, endotoxin and pharmacological agents in the human osteoarthritic knee. *Connect Tissue Res* 2004; 45:142-50.
274. Yokoo T, Kitamura M. Dual regulation of IL-1 beta-mediated matrix metalloproteinase-9 expression in mesangial cells by NF-kappa B and AP-1. *Am J Physiol* 1996; 270:F123-30.
275. Bond M, Fabunmi RP, Baker AH, Newby AC. Synergistic upregulation of metalloproteinase-9 by growth factors and inflammatory cytokines: an absolute requirement for transcription factor NF-kappa B. *FEBS Lett* 1998; 435:29-34.
276. Wang YY, Myhre AE, Pettersen SJ et al. Peptidoglycan of *S.aureus* induces enhanced levels of matrix metalloproteinase-9 in human blood originating from neutrophils. *Shock* 2005; 24:214-8.
277. Price NM, Gilman RH, Uddin J et al. Unopposed matrix metalloproteinase-9 expression in human tuberculous granuloma and the role of TNF-alpha-dependent monocyte networks. *J Immunol* 2003; 171:5579-86.
278. Koolwijk PA, Miltenburg MM, van Erck MGM et al. Activated gelatinase-B (MMP-9) and urokinase-type plasminogen activator in synovial fluids of patients with arthritis. Correlation with clinical and experimental variables of inflammation. *J Rheumatol* 1995; 22:385-93.
279. Cawston TE, Weaver L, Coughlin RJ et al. Synovial fluids from infected joints contain active metalloproteinases and no inhibitory activity. *Br J Rheumatol* 1989; 28:386-92.

280. Okada Y, Nakanishi I. Activation of matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) and matrix metalloproteinase 2 ('gelatinase') by human neutrophil elastase and cathepsin G. *FEBS Lett* 1989; 249:353-6.
281. Ishiguro N, Ito T, Obata K et al. Determination of stromelysin-1, 72 and 92 kDa type IV collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1), and TIMP-2 in synovial fluid and serum from patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1996; 23:1599-604.
282. DiScipio RG, Schraufstatter IU, Sikora L et al. C5a mediates secretion and activation of matrix metalloproteinase 9 from human eosinophils and neutrophils. *Int Immunopharmacol* 2006; 6:1109-18.
283. Oggioni MR, Memmi G, Maggi T et al. Pneumococcal zinc metalloproteinase ZmpC cleaves human matrix metalloproteinase 9 and is a virulence factor in experimental pneumonia. *Mol Microbiol* 2003; 49:795-805.
284. Yamashiro S, Kamohara H, Wang JM et al. Phenotypic and functional change of cytokine-activated neutrophils: inflammatory neutrophils are heterogeneous and enhance adaptive immune responses. *J Leukoc Biol* 2001; 69:698-704.
285. Hamilton JA, Campbell IK, Wojta J, Cheung D. Plasminogen activators and their inhibitors in arthritic disease. *Ann N Y Acad Sci* 1992; 667:87-100.
286. Gudewicz PW, Gilboa A. Human urokinase-type plasminogen activator stimulates chemotaxis of human neutrophils. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 147:1176-81.

287. Mazzieri R, Masiero L, Zanetta L et al. Control of type IV collagenase activity by components of the urokinase-plasmin system: a regulatory mechanism with cell-bound reactants. *EMBO J* 1997; 16:2319-32.
288. Klempner MS, Noring R, Epstein MP et al. Binding of human urokinase-type plasminogen activator and plasminogen to *Borrelia* species. *J Infect Dis* 1996; 174:97-104.
289. Fuchs H, Wallich R, Simon M, Kramer M. The outer surface protein A of the spirochete *Borrelia burgdorferi* is a plasmin(ogen) receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91:12594-8.
290. Coleman JL, Roemer EJ, Benach JL. Plasmin-coated *Borrelia burgdorferi* degrades soluble and insoluble components of the mammalian extracellular matrix. *Infect Immun* 1999; 67:3929-36.
291. Haile WB, Coleman JL, Benach JL. Reciprocal upregulation of urokinase-type plasminogen activator and its inhibitor, PAI-2, by *Borrelia burgdorferi* affects bacterial penetration and host-inflammatory response. *Cell Microbiol* 2006; 8:1349-60.
292. Okamoto T, Akaike T, Suga M et al. Activation of human matrix metalloproteinases by various bacterial proteinases. *J Biol Chem* 1997; 272:6059-66.
293. Matsumoto K, Shams NBK, Hanninen LA, Kenyon KR. Cleavage and activation of corneal matrix metalloproteases by *Pseudomonas aeruginosa* proteases. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 1993; 34(6):1945-53.

294. Tamura F, Nakagawa R, Akuta T et al. Proapoptotic effect of proteolytic activation of matrix metalloproteinases by *Streptococcus pyogenes* thiol proteinase (*Streptococcus pyrogenic* exotoxin B). *Infect Immun* 2004; 72(8):4836-47.
295. DeCarlo AAJr, Windsor LJ, Bodden MK et al. Activation and novel processing of matrix metalloproteinases by a thiol-proteinase from the oral anaerobe *Porphyromonas gingivalis*. *J Dent Res* 1997; 76:1260-70.
296. Van Doren SR, Wei S, Gao G et al. Inactivation of N-TIMP-1 by N-terminal acetylation when expressed in bacteria. *Biopolymers* 2008; 89:960-8.
297. Taggart CC, Greene CM, Carroll TP et al. Elastolytic proteases: inflammation resolution and dysregulation in chronic infective lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 171:1070-6.
298. Wang Y, Rosen H, Madtes DK et al. Myeloperoxidase inactivates TIMP-1 by oxidizing its N-terminal cysteine residue: an oxidative mechanism for regulating proteolysis during inflammation. *J Biol Chem* 2007; 282:31826-34.
299. Cowland JB, Borregaard N. Isolation of neutrophil precursors from bone marrow for biochemical and transcriptional analysis. *J Immunol Methods* 1999; 232:191-200.
300. Pugin J, Widmer MC, Kossodo S et al. Human neutrophils secrete gelatinase B in vitro and in vivo in response to endotoxin and proinflammatory mediators. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20:458-64.

301. Aasen AO, Wang JE. Mediator responses in surgical infections. *Surg Infect* 2006; 7suppl2:S3-4.
302. Schrijver IA, Melief MJ, Markusse HM et al. Peptidoglycan from sterile human spleen induces T-cell proliferation and inflammatory mediators in rheumatoid arthritis patients and healthy subjects. *Rheumatology* 2001; 40(4):438-46.
303. Yoshimura A, Lien E, Ingalls RR et al. Cutting edge: recognition of gram-positive bacterial cell wall components by the innate immune system occurs via toll-like receptor 2. *J Immunol* 1999; 163:1-5.
304. Travassos LH, Girardin SE, Philpott DJ et al. Toll-like receptor 2-dependent bacterial sensing does not occur via peptidoglycan recognition. *EMBO* 2004; Rep5:1000-6.
305. Girardin SE, Travassos LH, Herve M et al. Peptidoglycan molecular requirements allowing detection by Nod1 and Nod2. *J Biol Chem* 2003; 278:41702-8.
306. Ernens I, Rouy D, Velot E et al. Adenosine inhibits matrix metalloproteinase-9 secretion by neutrophils: implication of A2a receptor and cAMP/PKA/Ca²⁺ pathway. *Circ Res* 2006; 99:590-7.
307. McCachren SS. Expression of metalloproteinases and metalloproteinase inhibitor in human arthritic synovium. *Arthritis Rheum* 1991; 34:1085-93.
308. Yan ZQ, Hansson GK. Innate immunity, macrophage activation and atherosclerosis. *Immunol Rev* 2007; 219:187-203.

309. Gottschall PE, Yu X, Bing B. Increased production of gelatinase B (matrix metalloproteinase-9) and interleukin-6 by activated rat microglia in culture. *J Neurosci Res* 1995; 42:335-342.
310. Wahl SM, Allen JB, Weeks BS et al. Transforming growth factor β enhances integrin expression and type IV collagenase secretion in human monocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90:4577-81.
311. Lacraz S, Nicod LP, Chicheportiche R et al. IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. *J Clin Invest* 1995; 96:2304-10.
312. Wang JE, Jorgensen PF, Ellingsen EA et al. Peptidoglycan primes for LPS-induced release of proinflammatory cytokines in whole human blood. *Shock* 2001; 16:178-82.
313. Wray GM, Foster SJ, Hinds CJ, Thiernemann C. A cell wall component from pathogenic and non-pathogenic gram-positive bacteria (peptidoglycan) synergises with endotoxin to cause the release of tumour necrosis factor-alpha, nitric oxide production, shock, and multiple organ injury/dysfunction in the rat. *Shock* 2001; 15:135-42.
314. Schwandner R, Dziarski R, Wesche H et al. Peptidoglycan- and lipoteichoic acid-induced cell activation is mediated by toll-like receptor 2. *J Biol Chem* 1999; 274:17406-9.
315. Wang JE, Dahle MK, McDonald M et al. Peptidoglycan and lipoteichoic acid in gram-positive bacterial sepsis: receptors, signal transduction, biological effects and synergism. *Shock* 2003; 20:402-14.

316. Hsieh HL, Wang HH, Wu CY et al. Lipoteichoic acid induces matrix metalloproteinase-9 expression via transduction of PDGF receptors and NF-kappaB activation in rat brain astrocytes. *Neurotox Res* 2010; 17(4):344-59.
317. Fernando de Souza L, Jardim FR, Sauter IP et al. High glucose increases RAW 264.7 macrophages activation by lipoteichoic acid from *S.aureus*. *Clin Chim Acta* 2008; 398:130-3.
318. Sartippour MR, Renier G. Differential regulation of macrophage peroxisome proliferator-activated receptor expression by glucose: role of peroxisome proliferator-activated receptors in lipoprotein lipase gene expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:104-10.
319. Szanto A, Roszer T. Nuclear receptors in macrophages: a link between metabolism and inflammation. *FEBS Lett* 2008; 582:106-16.
320. Fernando de Souza L, Jardim FR, Sauter IP et al. Lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* increases matrix metalloproteinase 9 expression in RAW 264.7 macrophages: modulation by A2A and A2B adenosine receptors. *Mol Immunol* 2009; 46:937-42.
321. Jobin MC, Gottschalk M, Grenier D. Upregulation of prostaglandin E2 and matrix metalloproteinase 9 production by human macrophage-like cells: synergistic effect of capsular material and cell wall from *Streptococcus suis*. *Microb Pathog* 2006; 40(1):29-34.
322. Tanabe S, Grenier D. Endothelial cell/macrophage cocultures as a model to study *Streptococcus suis*-induced inflammatory responses. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2009; 55(1):100-6.

323. Gehre F, Leib SL, Grandgirard D et al. Essential role of choline for pneumococcal virulence in an experimental model of meningitis. *J Intern Med* 2008; 264(2):143-54.
324. Tanabe S, Bodet C, Grenier D. Peptostreptococcus micros cell wall elicits a pro-inflammatory response in human macrophages. *J Endotoxin Res* 2007; 13(4):219-26.
325. Jalian HR, Liu PT, Kanchanapoomi M et al. All-trans retinoic acid shifts Propionibacterium acnes-induced matrix degradation expression profile toward matrix preservation in human monocytes. *J Invest Dermatol* 2008; 128(12):2777-82.
326. Chang JC, Wysocki A, Tchou-Wong KM et al. Effect of Mycobacterium tuberculosis and its components on macrophages and the release of matrix metalloproteinases. *Thorax* 1996; 51(3):306-11.
327. Kageyama Y, Kawakami S, Fujii Y et al. Bacillus Calmette-Guerin enhances production and secretion of type IV collagenases in peripheral blood mononuclear cells. *Jpn J Cancer Res* 1997; 88(3):281-8.
328. Rivera-Marrero CA, Schuyler W, Roser S, Roman J. Induction of MMP-9 mediated gelatinolytic activity in human monocytic cells by cell wall components of Mycobacterium tuberculosis. *Microb Pathog* 2000; 29(4):231-44.
329. Ellass E, Aubry L, Masson M et al. Mycobacterial lipomannan induces matrix metalloproteinase-9 expression in human macrophagic cells through a Toll-like receptor 1 (TLR1)/TLR2- and CD14-dependent mechanism. *Infect Immun* 2005; 73(10):7064-8.

330. Harris JE, Green JA, Elkington PT, Friedland JS. Monocytes infected with *Mycobacterium tuberculosis* regulate MAP kinase-dependent astrocytes MMP-9 secretion. *J Leukoc Biol* 2007; 81(2):548-56.
331. Chambers MA, Whelan AO, Spallek R et al. Non-acylated *Mycobacterium bovis* glycoprotein MPB83 binds to TLR1/2 and stimulates production of matrix metalloproteinase 9. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 400(3):403-8.
332. Harris JE, Fernandez-Vilaseca M, Elkington PT et al. IFN γ synergizes with IL-1 β to up-regulate MMP-9 secretion in a cellular model of central nervous system tuberculosis. *FASEB J* 2007; 21(2):356-65.
333. Elkington PT, Green JA, Emerson JE et al. Synergistic up-regulation of epithelial cell matrix metalloproteinase-9 secretion in tuberculosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 37(4):431-7.
334. Anand SP, Selvaraj P. Effect of 1,25 dihydroxyvitamin D(3) on matrix metalloproteinases MMP-7, MMP-9 and the inhibitor TIMP-1 in pulmonary tuberculosis. *Clin Immunol* 2009; 133(1):126-31.
335. Elkington PT, Emerson JE, Lopez-Pascua LD et al. *Mycobacterium tuberculosis* up-regulates matrix metalloproteinase-1 secretion from human airway epithelial cells via a p38 MAPK switch. *J Immunol* 2005; 175(8):5333-40.
336. Rand L, Green JA, Saraiva L et al. Matrix metalloproteinase-1 is regulated in tuberculosis by a p38 MAPK-dependent, p-aminosalicylic acid-sensitive signaling cascade. *J Immunol* 2009; 182(9):5865-72.

337. Green JA, Elkington PT, Pennington CJ et al. Mycobacterium tuberculosis upregulates microglial matrix metalloproteinase-1 and -3 expression and secretion via NF-kappaB- and Activator Protein-1-dependent monocyte networks. *J Immunol* 2010; 184(11):6492-503.
338. Zhu XW, Price NM, Gilman RH et al. Multinucleate giant cells release functionally unopposed matrix metalloproteinase-9 in vitro and in vivo. *J Infect Dis* 2007; 196(7):1076-9.
339. Dezzutti CS, Swords WE, Guenther PC et al. Involvement of matrix metalloproteinases in human immunodeficiency virus type 1-induced replication by clinical Mycobacterium avium isolates. *J Infect Dis* 1999; 180(4):1142-52.
340. Teles RM, Teles RB, Amadeu TP et al. High matrix metalloproteinase production correlates with immune activation and leukocyte migration in leprosy reactional lesions. *Infect Immun* 2010; 78(3):1012-21.
341. Basu S, Pathak S, Pathak SK et al. Mycobacterium avium-induced matrix metalloproteinase-9 expression occurs in a cyclooxygenase-2-dependent manner and involves phosphorylation- and acetylation-dependent chromatin modification. *Cell Microbiol* 2007; 9(12):2804-16.
342. Shapiro SD, Campbell EJ, Kobayashi DK, Welgus HG. Immune modulation of metalloproteinase production in human macrophages. *J Clin Invest* 1990; 86:1204-10.
343. Corcoran ML, Stetler-Stevenson WG, Brown PD, Wahl LM. Interleukin-4 inhibition of prostaglandin E₂ synthesis blocks interstitial collagenase and 92-kDa type IV collagenase/gelatinase production by human monocytes. *J Biol Chem* 1992; 267:515-9.

344. Lacraz S, Nicod LP, Galve-de Rochemonteix B et al. Suppression of metalloproteinase biosynthesis in human alveolar macrophages by IL-4. *J Clin Invest* 1992; 90:382-8.
345. Daniel D, Meyer-Morse N, Bergsland EK et al. Immune enhancement of skin carcinogenesis by CD4⁺ T cells. *J Exp Med* 2003; 197(8):1017-28.
346. Lacraz S, Isler P, Vey E et al. Direct contact between T lymphocytes and monocytes is a major pathway for the induction of metalloproteinase expression. *J Biol Chem* 1994; 269:22027-33.
347. Cawston T. Matrix metalloproteinases and TIMPs: properties and implications for the rheumatic diseases. *Mol Med Today* 1998; 4:130-7.
348. Uitto V, Baillie D, Wu Q et al. *Fusobacterium nucleatum* increases collagenase 3 production and migration of epithelial cells. *Infect Immun* 2005; 73(2):1171-9.
349. Fravallo P, Menard C, Bonnaure-Mallet M. Effect of *Porphyromonas gingivalis* on epithelial cell MMP-9 type IV collagenase production. *Infect Immun* 1996; 64:4940-5.
350. Firth JD, Putnins EE, Larjava H, Uitto VJ. Bacterial Phospholipase C upregulates matrix metalloproteinase expression by cultured epithelial cells. *Infect Immun* 1997; 65(12):4931-6.
351. Jugeau S, Tenaud I, Knol AC et al. Induction of toll-like receptors by *Propionibacterium acnes*. *Br J Dermatol* 2005; 153(6):1105-13.
352. Goldbach-Mansky R, Lee JM, Hoxworth JM et al. Active synovial matrix metalloproteinase-2 is associated with radiographic erosions in patients with early synovitis. *Arthritis Res* 2000; 2:145-53.

353. Overall CM, Wrana JL, Sodek J. Transcriptional and post-transcriptional regulation of 72 kDa gelatinase/type IV collagenase by transforming growth factor- β 1 in human fibroblasts. *J Biol Chem* 1991; 266:14064-71.
354. Lee MS, Ikenoue T, Trindade MCD et al. Protective effects of intermittent hydrostatic pressure on osteoarthritic chondrocytes activated by bacterial endotoxin in vitro. *J Orthop Res* 2003; 21:117-22.
355. Punzi L, Oliviero F, Plebani M. New biochemical insights into the pathogenesis of osteoarthritis and the role of laboratory investigations in clinical assessment. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2005; 42:279-309.
356. Harris EDJr, Firestein GS. Clinical features of Rheumatoid Arthritis. Rheumatoid arthritis. Firestein GS, Budd RC, Harris EDJr et al. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. Saunders. 8th edition 2009. p. 1087-118.
357. Dougados M, van der Linden S, Juhlin R et al. The European Spondyloarthropathy Study Group preliminary criteria for the classification of spondyloarthropathy. *Arthritis Rheum* 1991; 34:1218-27.
358. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970; 227:680-5.
359. Kleiner DE, Stetler-Stevenson WG. Quantitative Zymography: Detection of picogram quantities of gelatinases. *Analytical Biochemistry* 1994; 218:325-9.
360. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76:4350-4.

361. Thorpe GH, Kricka LJ, Gillespie E et al. Enhancement of the horseradish peroxidase-catalyzed chemiluminescent oxidation of cyclic diacyl hydrazides by 6-hydroxybenzothiazoles. *Anal Biochem* 1985; 145:96-100.
362. Roos EM, Roos HP, Lohmander LS et al. Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) – Development of a self-administered outcome measure. *J Orthop Sports Phys Ther* 1998; 28:88-96.
363. Snoek-van Beurden PA, von den Hoff JW. Zymographic techniques for the analysis of MMPs and their inhibitors. *Biotechniques* 2005; 38:73-83.
364. Triebel S, Blaser J, Reinke H et al. A 25 kDa alpha 2-microglobulin-related protein is a component of the 125 kDa form of human gelatinase. *FEBS Lett* 1992; 314:386-8.
365. Jotwani R, Eswaran SV, Moonga S, Cutler CW. MMP-9/TIMP-1 imbalance induced in human dendritic cells by *Porphyromonas gingivalis*. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2010; 58:314-21.
366. Goldberg GI, Strongin A, Collier IE et al. Interaction of 92-kDa type IV collagenase with TIMPs prevents dimerization, complex formation with interstitial collagenase, and activation of the proenzyme with stromelysin. *J Biol Chem* 1992; 267:4583-91.
367. Sellner J, Leib SL. In bacterial meningitis cortical brain damage is associated with changes in parenchymal MMP-9/TIMP-1 ratio and increased collagen type IV degradation. *Neurobiol Dis* 2006; 21:647-56.

368. Lorente L, Martin MM, Labarta L et al. Matrix metalloproteinase-9, -10, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-1 blood levels as biomarkers of severity and mortality in sepsis. *Crit Care* 2009; 13:R158.
369. Nakamura T, Ebihara I, Shimada N et al. Modulation of plasma metalloproteinase-9 concentrations and peripheral blood monocyte mRNA levels in patients with septic shock: effect of fiber-immobilized polymyxin B treatment. *Am J Med Sci* 1998; 316:355-60.
370. Romano CL, Romano D, Logoluso N, Drago L. Bone and joint infections in adults: a comprehensive classification proposal. *Eur Orthop Traumatol* 2011; 1:207-17.



ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ
ΤΕΚΜΗΡΙΩΣΗΣ
N A T I O N A L
DOCUMENTATION
C E N T R E

ΤΜΗΜΑ ΒΑΣΕΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Πληροφορίες: Παναγιώτης Σχίζας, τηλ. 210 7273982

ΑΡΙΘΜΟΣ ΕΓΓΡΑΦΟΥ _____
(συμπληρώνεται από το ΕΚΤ)

ΑΠΟΓΡΑΦΙΚΟ ΔΕΛΤΙΟ του ΕΘΝΙΚΟΥ ΑΡΧΕΙΟΥ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΩΝ ΔΙΑΤΡΙΒΩΝ

Ref: _____
(συμπληρώνεται από το ΕΚΤ)

ΚΩΔ ΑΒΕΚΤ: _____
(συμπληρώνεται από το ΕΚΤ)

Η αναγραφή όλων των πληροφοριών πρέπει να γίνει με δακτυλογραφημένα ή
ΚΕΦΑΛΑΙΑ ευανάγνωστα γράμματα

1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΙΤΛΟΥ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

1.1 ΤΙΤΛΟΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ (ΤΙΤ)

ΣΗΠΤΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΣ ΓΟΝΑΤΟΣ.
ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΑΡΘΡΟΣΚΟΠΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ.
ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΩΝ, MMP-2 & MMP-9, ΣΤΗ
ΣΗΠΤΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ ΤΟΥ ΓΟΝΑΤΟΣ

Συμπληρώστε τον τίτλο της Διατριβής.

1.2 ΓΛΩΣΣΑ ΤΙΤΛΟΥ (ΓΛΤ) ΕΛΛΗΝΙΚΗ

Συμπληρώστε τη γλώσσα στην οποία είναι γραμμένος ο τίτλος της Διατριβής

1.3 ΜΕΤΑΦΡΑΣΜΕΝΟΣ ΤΙΤΛΟΣ (ΜΕΤ)

SEPTIC KNEE ARTHRITIS.
DIAGNOSIS AND ARTHROSCOPICAL TREATMENT.
CLINICAL SIGNIFICANCE OF GELATINASES, MMP-2 & MMP-9, IN
SEPTIC KNEE ARTHRITIS.

Εάν η γλώσσα τίτλου (1.2) είναι ελληνική, ο μεταφρασμένος τίτλος (1.3) μπορεί να είναι στην Αγγλική, Γαλλική, Γερμανική, Ιταλική κλπ. Εάν η γλώσσα τίτλου (1.2) **δεν** είναι ελληνική τότε ο μεταφρασμένος τίτλος (1.3) να είναι απαραίτητα στην Ελληνική γλώσσα

1.4 ΓΛΩΣΣΑ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗΣ (ΓΛΜ) ΑΓΓΛΙΚΗ

Συμπληρώστε σε ποια γλώσσα είναι γραμμένος ο Μεταφρασμένος τίτλος της Διατριβής.

2. ΦΥΣΙΚΑ ΠΡΟΣΩΠΑ (ΦΥΠ)

2.1 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΑ (ρόλος 070)

2.1.1 ΕΠΩΝΥΜΟ: ΦΩΤΟΠΟΥΛΟΣ

2.1.2 ΟΝΟΜΑ: ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

2.1.3 ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ: ΧΡΗΣΤΟΣ

Συμπληρώστε με τη σειρά το ΕΠΩΝΥΜΟ, ΟΝΟΜΑ και το ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ του διδάκτορα

2.2 ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΜΕΛΩΝ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ (ΦΥΠ ρόλος 295)

2.2.1 ΕΠΩΝΥΜΟ	2.2.2 ΟΝΟΜΑ
2.2.1.1 ΓΕΩΡΓΟΥΛΗΣ	2.2.2.1 ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΣ
2.2.1.2 ΕΥΑΓΓΕΛΟΥ	2.2.2.2 ΑΓΓΕΛΟΣ
2.2.1.3 ΛΕΒΙΔΙΩΤΟΥ-ΣΤΕΦΑΝΟΥ	2.2.2.3 ΣΤΑΜΑΤΙΝΑ
2.2.1.4 ΜΠΕΡΗΣ	2.2.2.4 ΑΛΕΞΑΝΔΡΟΣ
2.2.1.5 ΚΑΛΦΑΚΑΚΟΥ	2.2.2.5 ΒΑΣΙΛΙΚΗ
2.2.1.6 ΓΚΑΡΤΖΟΝΙΚΑ	2.2.2.6 ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΑ
2.2.1.7 ΤΖΙΝΙΑ	2.2.2.7 ΑΘΗΝΑ
2.2.1.8	2.2.2.8
2.2.1.9	2.2.2.9
2.2.1.10	2.2.2.10
2.2.1.11	2.2.2.11

Συμπληρώστε τα ονόματα των μελών της εξεταστικής επιτροπής

3. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΧΟΡΗΓΟΥΝΤΟΣ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ (ΣΥΟ)

3.1 ΚΩΔΙΚΟΣ _____

(συμπληρώνεται από το ΕΚΤ)

3.2 ΑΝΩΤΑΤΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

3.3 ΣΧΟΛΗ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

3.4 ΤΜΗΜΑ
ΙΑΤΡΙΚΗ

Συμπληρώστε το εκπαιδευτικό ίδρυμα που χορήγησε το διδακτορικό με τη σειρά:

ΑΕΙ: π.χ. ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ: π.χ. ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ: π.χ. ΜΑΘΗΜΑΤΙΚΟ

3.5 ΧΩΡΑ: _____

Συμπληρώστε τη χώρα που χορήγησε το διδακτορικό. (Συμπληρώνεται **μόνο** από όσους απέκτησαν το διδακτορικό σε ΑΕΙ του εξωτερικού).

4. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΣΥΝΕΡΓΑΖΟΜΕΝΟΥ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ (ΣΥΟ)

4.1 ΚΩΔΙΚΟΣ _____
(συμπληρώνεται από το ΕΚΤ)

4.2 ΕΠΩΝΥΜΙΑ

ΕΘΝΙΚΟ ΚΕΝΤΡΟ ΕΡΕΥΝΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
«ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ» - ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ
ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ ΑΘΗΝΩΝ «Ο ΕΥΑΓΓΕΛΙΣΜΟΣ» - Α'
ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Να συμπληρωθεί, **μόνο** εφόσον η εκπόνηση της διατριβής έγινε σε κάποιο Ερευνητικό Ίδρυμα ή Εργαστήριο π.χ. ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ.

5. ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΑΠΟΝΟΜΗΣ ΤΙΤΛΟΥ ΤΟΥ ΔΙΔΑΚΤΟΡΟΣ (ΗΜΑ)

5.1 ΕΤΟΣ_2012 _____ 5.2 ΜΗΝΑΣ_06 _____

Συμπληρώστε το έτος και το μήνα που απονεμήθηκε το διδακτορικό π.χ. Έτος: 1996 Μήνας: 05

Ημερομηνία αποδέσμευσης

5.3 ΕΤΟΣ_2012 _____ 5.4 ΜΗΝΑΣ_09 _____

Βλέπε δήλωση Αποδέσμευσης της Διδακτορικής Διατριβής στην τελευταία σελίδα.

6. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΝΤΥΠΟΥ ΤΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

ΦΥΣΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ (ΦΠΕ)

6.1 ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΕΛΙΔΩΝ_392 _____
Συμπληρώστε τον αριθμό των σελίδων της διατριβής

6.2 ΠΡΟΣΑΡΤΗΜΑΤΑ (ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ) ΝΑΙ ΟΧΙ X
(π.χ. δισκέτες Η/Υ, χάρτες κλπ.)

Αριθμός δισκετών _____ Αριθμός χαρτών _____
Συμπληρώστε αν η διατριβή συνοδεύεται από δισκέτες, χάρτες κλπ.)

ΣΗΜΕΙΩΣΕΙΣ (ΣΗΜ)

6.3 ΑΡΙΘΜΟΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΩΝ ΑΝΑΦΟΡΩΝ_370 _____
Να γραφτεί το πλήθος των βιβλιογραφικών αναφορών που χρησιμοποιήσατε κατά την εκπόνηση της διατριβής π.χ. 142.

6.4 ΥΠΑΡΧΕΙ ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ; ΝΑΙ ΟΧΙ X
Να συμπληρωθεί αν υπάρχει ευρετήριο όρων, πινάκων, εικόνων, χαρτών κλπ

6.5 ΤΟΜΟΙ_1 _____
Από πόσους τόμους αποτελείται η διατριβή;

6.6 ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ ΝΑΙ ΟΧΙ
Υπάρχει ελληνική μετάφραση της διατριβής; (Συμπληρώνεται **μόνο** από όσους έχουν

αποκτήσει το διδακτορικό τους σε ΑΕΙ του εξωτερικού).

7. ΘΕΜΑΤΙΚΟ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΟ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

7.1 ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ (στα Ελληνικά)

7.1.1 ΣΗΠΤΙΚΗ

7.1.2 ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

7.1.3 ΓΟΝΑΤΟ

7.1.4 ΖΕΛΑΤΙΝΑΣΕΣ

7.1.5 MMP-2

7.1.6 MMP-9

7.1.7 TIMP-1

7.1.8

7.2 ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ (ξενόγλωσσες)

7.2.1 SEPTIC

7.2.2 ARTHRITIS

7.2.3 KNEE

7.2.4 GELATINASES

7.2.5 MMP-2

7.2.6 MMP-9

7.2.7 TIMP-1

7.2.8

Με τον όρο ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ χαρακτηρίζονται λέξεις ή εκφράσεις περισσότερες της μιας λέξης, που προσδιορίζουν το θέμα.

Παράκληση, οι λέξεις κλειδιά στα Ελληνικά να γραφούν στην ονομαστική πτώση ενικού ή πληθυντικού, εφόσον αποδίδουν το νόημα.

Κάθε λέξη κλειδί ή έκφραση να μην υπερβαίνει τους 60 χαρακτήρες.

7.3 ΠΕΡΙΛΗΨΗ (στα Ελληνικά)

Σκοπός: Σε περίπτωση σηπτικής αρθρίτιδας του γόνατος, παρατηρείται υπεροχή των στρωματικών μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs) σε βάρος των ιστικών αναστολέων τους (TIMPs), εξαιτίας αυξημένης, επαγόμενης από βακτήρια, έκφρασης και ενεργοποίησης αυτών σε σύγκριση με την αυτοάνοσης αρχής ή εκφυλιστικού τύπου αρθρίτιδα. Ο σκοπός της εργασίας αυτής είναι ο προσδιορισμός των επιπέδων έκφρασης της ζελατινάσης MMP-9 και του ειδικού αναστολέα της, TIMP-1, σε αρθρικό υγρό από πάσχουσες αρθρώσεις και η διερεύνηση της πιθανότητας χρήσης τους ως διαγνωστικού κριτηρίου κατά την προσέγγιση της οξείας μονοαρθρίτιδας του γόνατος.

Υλικό & Μέθοδος: Ζυμογραφία ζελατίνης και ανάλυση western blot πραγματοποιήθηκε σε δείγματα αρθρικού υγρού από γόνατα ασθενών πασχόντων από σηπτική (SA/10 ασθενείς), ρευματική (RA/10 ασθενείς) και οστεοαρθρίτιδα (OA/10 ασθενείς).

Αποτελέσματα: Η ζυμογραφία αποκάλυψε έκφραση proMMP-2 σε όλα τα δείγματα αρθρικού υγρού, ενώ η ενεργοποιημένη μορφή της ήταν παρούσα σε περισσότερα σηπτικά. MMP-9 δεν ανιχνεύθηκε σε οστεοαρθριδικά δείγματα. Ίχνη μόνον MMP-9 δράσης ανιχνεύθηκε σε 4/10 ασθενείς με RA, ενώ υψηλότερα επίπεδα MMP-9 πιστοποιήθηκαν σε όλα τα σηπτικά δείγματα (**P=0.0444**). Στις δοκιμασίες ανοσοαποτύπωσης, δείγματα από ασθενείς με SA επέδειξαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα MMP-9 σε σχέση με εκείνα από ασθενείς με RA (**P=0.0052**), επιβεβαιώνοντας τα αποτελέσματα της ζυμογραφίας. Παρά το γεγονός ότι δεν στοιχειοθετήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των επιπέδων TIMP-1, ο εκτιμώμενος λόγος MMP-9/TIMP-1 των σηπτικών δειγμάτων ήταν υψηλότερος σε σύγκριση με άσηπτα (**P=0.0029**).

Συμπεράσματα: Τα στοιχεία τα οποία παρουσιάστηκαν υποδεικνύουν αυξημένη έκφραση και ενεργοποίηση της MMP-9 στη σηπτική αρθρίτιδα του γόνατος σε σχέση με την άσηπτη, φλεγμονώδη αρθρίτιδα. Παρουσία ενεργοποιημένων μορφών των ζελατινασών και υψηλών επιπέδων MMP-9 με παράλληλη αύξηση του λόγου MMP-9/TIMP-1 στο αρθρικό υγρό, ανεξαρτήτως του αριθμού των ουδετεροφίλων, ίσως είναι ενδεικτική λοίμωξης.

Η περίληψη πρέπει να περιλαμβάνει τον στόχο, τη μεθοδολογία και τα αποτελέσματα - συμπεράσματα της διατριβής.

7.4 ΠΕΡΙΛΗΨΗ (ξενόγλωσση)

Purpose: In cases of septic knee arthritis there is excess of matrix metalloproteinases (MMPs) over tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs), due to enhanced expression and activation which are induced by bacteria in comparison to rheumatic or degenerative arthritis. The aim of this study was to explore the expression levels of synovial gelatinase MMP-9 and its specific inhibitor TIMP-1 in septic and aseptic arthritis and their potential use as additional aids to clinical investigation.

Methods: Gelatin zymography and western blot analysis were applied in effusions from knees of patients with septic (**SA/10** patients), rheumatic (**RA/10** patients) and osteoarthritis (**OA/10** patients).

Results: Zymographic analysis revealed that all samples contained latent MMP-2 activity, albeit activated MMP-2 appeared in more of the septic than aseptic effusions. Activated MMP-9 was not detected in osteoarthritic synovial fluid samples. Only trace amounts of MMP-9 activity were detected in 4/10 patients with RA, whereas higher MMP-9 levels were evident in all samples from SA (**P=0.0444**). In immunoblotting assays, samples from SA showed significantly higher levels of MMP-9 compared to samples from RA (**P=0.0052**), confirming zymographic results. Although no significant difference in TIMP-1 levels was observed, the estimated MMP-9/TIMP-1 ratio of septic effusions was significantly higher compared to aseptic ones (**P=0.0029**).

Conclusions: The data presented suggest enhanced expression and activation of MMP-9 in septic native knee arthritis compared to aseptic. The presence of high levels of MMP-9 with concomitantly increased MMP-9/TIMP-1 ratio and activated gelatinases in effusions, independent of neutrophilic counts, may be indicative for infection.

Η περίληψη πρέπει να περιλαμβάνει τον στόχο, τη μεθοδολογία και τα αποτελέσματα - συμπεράσματα της διατριβής.

ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ ΦΩΤΟΑΝΤΙΓΡΑΦΗΣΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΩΝ ΔΙΑΤΡΙΒΩΝ

Ο ΣΚΟΠΟΣ της δημιουργίας του Εθνικού Αρχείου Διδακτορικών Διατριβών είναι η **απρόσκοπτη ροή της πληροφόρησης** στην επιστημονική και ερευνητική κοινότητα της χώρας.

Παράλληλα η δεοντολογία επιβάλλει την **προστασία των πνευματικών δικαιωμάτων** των διδακτόρων στο έργο τους.

Μέχρι τη νομοθετική κάλυψη του ζητήματος, το ΕΚΤ έχει ορίσει τα εξής:

- **Για Διατριβές που εκπονήθηκαν σε ελληνικά Α.Ε.Ι.**

Ο διδάκτορας δηλώνει στο απογραφικό δελτίο, ημερομηνία αποδέσμευσης της διδακτορικής διατριβής του. Η ημερομηνία αυτή δεν μπορεί να υπερβαίνει τα τρία (3) χρόνια από την ημερομηνία χορήγησης της διδακτορικής διατριβής. Μετά την αποδέσμευση επιτρέπεται η αναπαραγωγή και διάθεση σε κάθε ενδιαφερόμενο ενός μόνο μέρους της διατριβής. Δεν επιτρέπεται η πλήρης αναπαραγωγή του διδακτορικού.

- **Για Διατριβές που εκπονήθηκαν σε ξένα Α.Ε.Ι.**

Ο διδάκτορας ορίζει στο απογραφικό δελτίο, ημερομηνία αποδέσμευσης της διδακτορικής διατριβής του. Η ημερομηνία αυτή δεν μπορεί να είναι μεγαλύτερη από την ημερομηνία αποδέσμευσης που ισχύει στο Πανεπιστήμιο που εκπονήθηκε - και σε καμία περίπτωση - μεγαλύτερη από τρία (3) χρόνια. Μετά την αποδέσμευση επιτρέπεται η αναπαραγωγή και διάθεση σε κάθε ενδιαφερόμενο ενός μόνο μέρους της διατριβής. Δεν επιτρέπεται η πλήρης αναπαραγωγή του διδακτορικού.

ΔΗΛΩΣΗ ΑΠΟΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΗΣ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ

Σήμερα στις ___/09/2012 παρέδωσα στο ΕΚΤ το παρόν απογραφικό δελτίο και ένα αντίτυπο του διδακτορικού μου για το Εθνικό Αρχείο Διδακτορικών Διατριβών. Με την παρούσα δήλωση:

1. Επιτρέπω στο ΕΚΤ να διαθέτει αντίγραφα της διδακτορικής διατριβής σε κάθε ενδιαφερόμενο από την ημέρα παραλαβής της διατριβής από το ΕΚΤ.*
2. Επιτρέπω στο ΕΚΤ να διαθέτει αντίγραφα της διδακτορικής διατριβής σε κάθε ενδιαφερόμενο, _____ μήνες μετά από την ημερομηνία χορήγησης της διδακτορικής διατριβής.
3. Επιτρέπω στο ΕΚΤ να διαθέτει αντίγραφα της διδακτορικής Διατριβής σε κάθε ενδιαφερόμενο μετά από τρία (3) χρόνια από την ημερομηνία χορήγησης του διδακτορικού.
4. Επιθυμώ κάθε ενδιαφερόμενος για τη διδακτορική διατριβή μου, να παραπέμπεται από το ΕΚΤ στην:

ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ

Οδός: ΖΑΚΥΝΘΟΥ _____ αριθμός: 27 _____

T.K. 16561 _____ Πόλη: ΓΛΥΦΑΔΑ _____

τηλ. 2106990781 / 6978777276 _____ FAX: _____

e-mail: fotova@yahoo.gr _____

Ο διδάκτορας

Βασίλειος Φωτόπουλος

* Εάν κανένα από τα τετραγωνίδια στις θέσεις 1, 2, 3 ή 4 δεν συμπληρωθεί, ισχύει το 1