

Диагностика микрокристаллической патологии суставов методом поляризационной микроскопии (трактовка и методические рекомендации к исследованию)

В.Г. Барскова, М.С. Елисеев, С.А. Владимиров

НИИ ревматологии РАМН, Москва

Изложены основные принципы диагностики микрокристаллических артритов при помощи поляризационной микроскопии. Уделено внимание значению определения кристаллов моноурата натрия и пирофосфата кальция для диагностики микрокристаллических артритов, а также техникам поляризационной микроскопии и пункции суставов.

Ключевые слова: кристаллы моноурата натрия, кристаллы пирофосфата кальция, исследование синовиальной жидкости, подагра, пирофосфатная артропатия.

Контакты: Виктория Георгиевна Барскова barskova@irramn.ru

DIAGNOSIS OF MICROCRYSTALLINE JOINT DISEASES BY POLARIZATION MICROSCOPY: INTERPRETATION AND GUIDELINES FOR THEIR STUDY

V.G. Barskova, M.S. Eliseyev, S.A. Vladimirov

Institute of Rheumatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

The paper describes the basic principles of diagnosis of microcrystalline arthritis by polarization microscopy. Emphasis is laid on the importance of determination of the crystals of sodium monourate and calcium pyrophosphate for the diagnosis of microcrystalline arthritis and on the techniques of polarization microscopy and puncture of joints.

Key words: sodium monourate crystals, calcium pyrophosphate crystals, synovial fluid study, gout, pyrophosphate arthropathy.

Contact: Viktoria Georgiyevna Barskova barskova@irramn.ru

Написать эту статью нас побудило письмо Инессы Валерьевны Девальд, ассистента кафедры терапии медицинской академии г. Челябинска, с просьбой помочь внедрить в больницы поляризационную микроскопию. Это говорит о том, что диагностика подагры в нашей стране непременно достигнет, а в некоторых местах уже достигла должного уровня. Выражаем огромную благодарность И.В. Девальд за интерес к этой проблеме.

Первая идентификация кристаллов, образующихся в суставах, относится к XVII в., когда Антони Ван Левенгук создал микроскоп (линзы с большим увеличением) и рассматривал с его помощью различные субстанции. Он увидел игольчатые образования в содержимом тофуса больного подагрой, зарисовал их, и этот рисунок положил начало развитию науки о кристаллах.

В отличие от кристаллов моноурата натрия (МУН) кристаллы при другом микрокристаллическом артрите — пирофосфатной артропатии (ПФА) — были открыты значительно позже, уже после того как хондрокальциноз был описан рентгенологически. Их удалось обнаружить только после внедрения поляризационной микроскопии, окраски на кальций и применения рентгеновской дифракции. Это объясняется тем, что кристаллы пирофосфата кальция (ПФК) плохо отражают проходящий в микроскопе свет и для их визуализации требуются дополнительные методики.

В данной статье описан современный подход к выявлению двух типов кристаллов: МУН и ПФК, хотя известно по меньшей мере 5 типов кристаллов, определяемых в синовиальной жидкости (СЖ) при различных артритах (табл. 1).

Почему именно кристаллы МУН и ПФК привлекают внимание исследователей?

1. Именно эти фенотипы кристаллов напрямую отвечают за развитие патологии суставов. В 1960-е годы были проведены эксперименты по введению обоих типов кристаллов в суставы здоровых животных и людей. Были продемонстрированы их высокая патогенность и способность вызывать локальное воспаление [1–4]. Учитывая постулаты Коха, эти кристаллы расценили как ключевые этиологические факторы двух микрокристаллических болезней, что в дальнейшем неоднократно подтвердилось [5, 6].

2. Значение других типов кристаллов не столь очевидно. Так, кристаллы холестерина не имеют самостоятельного диагностического значения, представляют собой феномен в СЖ, встречаются редко и в основном у больных серопозитивным ревматоидным артритом с ревматоидными узлами [7]. То же можно сказать и об основных кристаллах кальция: ассоциируясь с тяжелым остеоартрозом, они имеют значение для патогенеза и клинической картины [8], но не для диагностики этого заболевания, как и кристаллы оксалата кальция, встречающиеся у больных, получающих гемодиализ.

Таблица 1. Классификация кристаллов

Тип кристалла	Заболевание или состояние, при которых выявляются кристаллы	Метод идентификации	Характеристика	Размер
Кристаллы МУН	Подагра	Поляризационная микроскопия	Сильное двулучепреломление	1—20 мкм
Кристаллы ПФК	Пирофосфатная артропатия	Поляризационная микроскопия осложнена, повышает чувствительность окраска	Слабое двулучепреломление	1—20 мкм
Основные кристаллы кальция	Остеоартроз	Поляризационная микроскопия осложнена, повышает чувствительность окраска ализариновым красным S Электронная микроскопия	Не обладают двулучепреломлением	1 нм
Кристаллы холестерина	Хронический артрит	Поляризационная микроскопия	Обладают двулучепреломлением	20 мкм
Кристаллы оксалата кальция	У больных, находящихся на гемодиализе	Поляризационная микроскопия	Слабое двулучепреломление	15—20 мкм

Подагра и ПФА занимают существенное место среди заболеваний суставов. Считается, что не менее 4% мужчин страдают подагрой [9, 10] и не менее 7—10% старше 60 лет имеют рентгенологический признак ПФА — хондрокальциноз [11]. Поскольку хондрокальциноз — поздний симптом болезни (депозиты кальция видны на рентгенограммах только при достижении определенных размеров и концентрации рентгенпозитивного кальция), частота ПФА, по мнению экспертов, значительно занижена. Диагноз ПФА ставится поздно, в лучшем случае при появлении рентгенологических признаков хондрокальциноза, или чаще не ставится вообще. Если учесть, что болезнь, как правило, маскируется остеоартрозом, ревматоидным артритом и подагрой, ложная диагностика может иметь место в большом проценте случаев.

Зная подходы к диагностике этих двух микрокристаллических заболеваний и владея методикой поляризационной микроскопии с окраской на кальций (в случае ПФА), можно значительно улучшить распознавание артритов. В табл. 2 и 3 приведены диагностические критерии подагры и ПФА. Определение кристаллов при обеих болезнях имеет ключевое значение. Без выявления кристаллов невозможно поставить диагноз ни в одном случае. Европейская антиревматическая лига настоятельно рекомендует пунктировать суставы при любом недифференцированном артритом для постановки диагноза подагры [12] или ПФА (материалы в работе, не опубликовано). Более того, определение кристаллов МУН и ПФК у больного с подозрением на микрокристаллическую артропатию, а также любым недифференцированным артритом является обязательной диагностической процедурой [12].

Определение кристаллов при этих двух болезнях имеет большое значение.

1. Микрокристаллические артриты характеризуются присутствием в СЖ и суставных тканях, особенно в синовиальной оболочке, кристаллов МУН. Это облигатный признак болезни: без образования кристаллов подагра или ПФА протекать не могут.

2. Отсутствие кристаллов в исследуемом образце не исключает диагноз микрокристаллического артрита, а вот наличие кристаллов делает диагноз достоверным. Однако кристаллы выявляются не всегда, об этом мы расскажем ниже.

3. Кристаллы определяются в СЖ как во время приступа артрита, так и в межприступный период, и на этом основана диагностика данных состояний в межприступный период. Синовиальную жидкость для исследования можно получать из сустава, даже если он никогда не воспалялся.

Пунктирование сустава в межприступный период

Длительное время считалось, что необходимо исследовать СЖ исключительно из воспаленного сустава во время приступа артрита. Эти заблуждения основывались, прежде всего, на данных, полученных при внутрисуставном введении животным и людям кристаллов. Развивался типичный приступ острого артрита, свойственного подагре [1, 2]. Поэтому считали: кристаллы, как микробы, являясь патогенными, попадают в сустав «извне», формируясь в близлежащих тканях, или же мочевиная кислота (МК), кристаллизуясь в суставе вновь и вновь, приводит к развитию синовита. Казалось естественным, что наличие в полости сустава кристаллов, оказывающих воспалительное действие, всегда будет сопровождаться развитием артрита, а в межприступный период СЖ должна быть от них свободна [13]. Из этого был сделан вывод, что для диагностики подагры микроскопическое исследование СЖ, полученной из клинически интактного сустава, нецелесообразно.

Однако постепенно стали накапливаться данные о том, что кристаллы МУН могут выявляться как в невоспаленных, но пораженных суставах, так и в суставах, никогда не вовлекавшихся в патологический процесс [14—20]. Так, в исследовании E. Pascual у 36 из 37 больных подагрой, не получающих уратснижающую терапию, кристаллы МУН были идентифицированы в жидкости, полученной при пункции невоспаленного, но пораженного

Таблица 2. Классификационные критерии подагры

А. Наличие характерных монокристаллических уратных кристаллов в СЖ
В. Тофус, подтвержденный химическим анализом или поляризационной микроскопией
С. Наличие 6 из 12 клинических, лабораторных и рентгенологических признаков: <ol style="list-style-type: none"> 1. Максимальное воспаление сустава в 1-й день 2. Наличие более чем одной атаки артрита 3. Моноартрит 4. Покраснение суставов 5. Боль и воспаление I плюснефалангового сустава 6. Асимметричное воспаление плюснефаланговых суставов 7. Одностороннее поражение тарзальных суставов 8. Подозрение на тофусы 9. Гиперурикемия 10. Асимметричное воспаление суставов 11. Субкортикальные кисты без эрозий при рентгенологическом исследовании 12. Отсутствие микроорганизмов в культуре синовиальной жидкости

Таблица 3. Критерии диагноза ПФА

1 — определение кристаллов ПФК в тканях или СЖ доказательным способом (рентгеновская дифракция, химический анализ)
2А — выявление моноклинных или триклинных кристаллов, не обладающих или обладающих слабой способностью лучепреломления с помощью компенсированной поляризационной световой микроскопии
2Б — наличие типичных рентгенологических признаков кальцификации
3А — острый артрит, особенно крупных суставов
3Б — хронический артрит, в первую очередь коленных, тазобедренных суставов, суставов кистей, запястья, пястно-фаланговых, локтевых, плечевых суставов, особенно сопровождающийся острыми вспышками
Следующие признаки могут помочь отличить ПФА от остеоартроза: <ul style="list-style-type: none"> — вовлечение необычных суставов (плечевые, локтевые, запястье, пястно-фаланговые) — рентгенологические признаки сужения щели лучезапястных суставов или пателлофemorального пространства, формирования субхондральных кист — тяжесть дегенерации сустава: быстро прогрессирующая с субхондральным коллапсом кости и фрагментацией с формированием внутрисуставных рентгенпозитивных тел — остеофиты: вариабельность — кальцификация сухожилий (ахиллова, трицепса и др.)
Определенный диагноз: критерии 1 или 2А + 2Б; вероятный: критерии 2А или 2Б. Признаки 3А и 3Б должны настораживать врача в отношении возможной ПФА.

Таблица 4. Размеры игл

Размер	Внутренний диаметр, мм	Цвет канюли
27G	0,4	Серый
25G	0,5	Оранжевый
23G	0,6	Голубой
21G	0,8	Зеленый

ранее коленного сустава [21]. Кроме того, в 26% случаев (у 7 из 37 больных) кристаллы МУН выявлялись из сустава, ранее не вовлекавшихся в патологический процесс.

Дальнейшие исследования подтвердили, что большее значение для выявления кристаллов имеет уратснижающая терапия, а не период болезни. Назначение такой терапии параллельно снижению уровня урикемии уменьшает частоту обнаружения в СЖ кристаллов МУН [17], а при стойком сывороточном уровне МК <360 мкмоль/л кристаллы МУН могут полностью из нее исчезнуть [22].

Технические особенности пункции

Проще всего получить СЖ из крупного сустава, например коленного, который легко пунктировать. Для исследования достаточно одной капли СЖ на предметном стекле.

Как правило, проводят исследование СЖ из коленного сустава, потому что этот сустав поражается почти при всех артропатиях; это самый крупный синовиальный сустав и это самый простой сустав для аспирации.

Пункция бессимптомных коленных и первых плюснефаланговых суставов технически проста и за небольшим исключением может быть выполнена без особого дискомфорта для пациента. Бессимптомные, но минимально воспаленные суставы обычно содержат увеличенное количество СЖ, что позволяет получить ее при пункции.

Коленный сустав

Для пункции коленного сустава используют 1- или 2-миллилитровые шприцы, которые в отличие от шприцев большего объема создают малый вакуум и уменьшают вероятность втягивания синовиальной оболочки в конические и окклюзионные иглы (табл. 4). Синие и оранжевые иглы (диаметр 0,4—0,6 мм) предпочтительнее, чем зеленые (диаметр 0,8 мм), хотя иглы большей длины могут быть необходимы для пункции коленных суставов у крупных пациентов, имеющих избыточную массу тела. Пункцию осуществляют через медиальный подход (рис. 1), на 1 см выше верхушки надколенника, по касательной линии к передней поверхности бедра иглой попадают в верхний заворот сустава с латеральной стороны. Альтернативный метод: левой рукой смещают надколенник кнаружи, а правой — находят середину надколенника и, отступив на 0,3—0,5 см книзу от нижнего края надколенника, вводят иглу в полость сустава в проксимальном направлении. При этом возможно ощущение «провала» иглы в полость. Можно использовать симметричный доступ и с внутренней стороны.

I плюснефаланговый сустав

Это исследование может быть проведено на медиальной поверхности, с использованием оранжевой иглы и 1-миллилитрового шприца. Для этого нужно определить среднюю линию и немного размять ноги пациента (рис. 2). Это откроет среднюю линию, делая ее более ощутимой и видимой. Иглу вставляют в верхнюю сторону совместной линии ниже разгибателей сухожилий. Если среднюю линию



Рис. 1. Пункция коленного сустава



Рис. 2. Пункция I плюснефалангового сустава

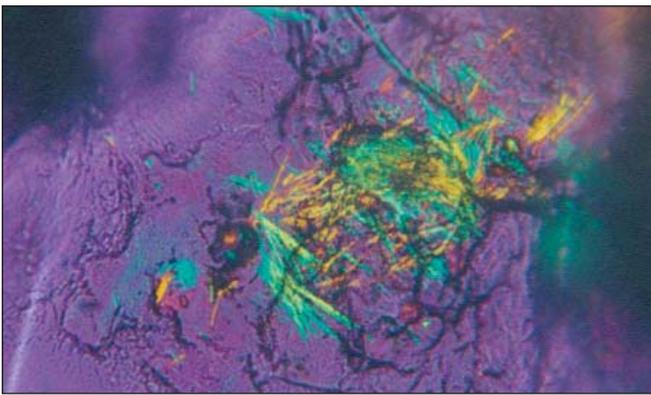


Рис. 3. Кристалл МУН при поляризационной микроскопии

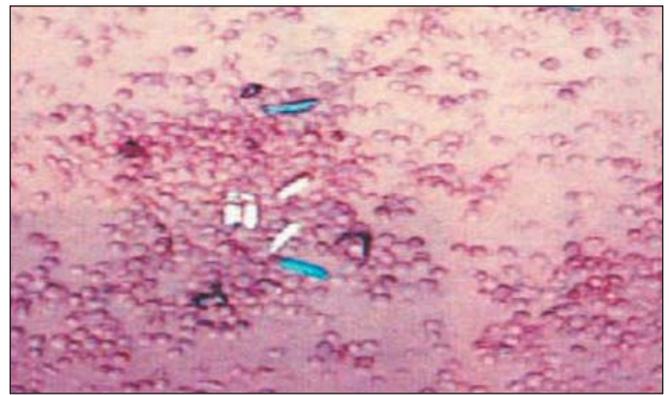


Рис. 4. Кристаллы ПФК в поляризационном свете

нелегко определить, нужно пальпировать дистальный метафиз I плюсневой кости и вставить иглу дистальнее этого ориентира, перемещая ее немного, если встречается костное сопротивление.

Как выглядят кристаллы МУН и ПА при поляризационной микроскопии

Кристаллы МУН обладают двойным лучепреломлением, имеют игловидную форму, голубую или желтую окраску в зависимости от расположения по отношению к лучу (рис. 3). Кристаллы ПФК обладают лишь слабым двулучепреломлением, имеют форму ромбов или палочек и в зависимости от их расположения по отношению к лучу проходящего света выглядят синими или белыми (рис. 4). Длина большинства кристаллов МУН и ПФК составляет от 3 до 20 мкм. Чтобы убедиться, что они содержат кальций, их можно окрасить ализариновым красным S (см. ниже).

Чувствительность и специфичность

Исследование СЖ в диагностике подагры характеризуется максимальной, 100% специфичностью при высокой чувствительности (63—78%) [23, 24].

Недавно проведенное исследование с участием специально обученных 4 независимых экспертов показало высокую чувствительность (95,3%) и специфичность (97,2%) выявления кристаллов МУН в СЖ [25]. Для кристаллов ПФК чувствительность составила 82%, специфичность — 78 % [26]. В то же время идентификация

кристаллов до сих пор не является рутинным методом и требует от исследователя большого опыта. Так, по данным Н.Р. Schumacher, исследование СЖ может давать и ошибочные результаты, о чем свидетельствует независимый анализ СЖ у 30 больных в 4 разных лабораториях. Кристаллы МУН обнаружили у 11 из 30 больных, причем противоречивые результаты были получены в 8 случаях. А на основании данных исследования СЖ у 34 больных с предполагаемым диагнозом подагра, у 9 он был изменен [27, 28].

К возможным причинам ложноположительных и ложноотрицательных результатов можно отнести следующие:

- мелкий размер кристаллов, которые неопытный специалист может не идентифицировать;
- низкая концентрация кристаллов в СЖ (порог для надежной идентификации кристаллов МУН и ПФК в СЖ — от 10 до 100 мкг/мл);
- ≥ 30 полей зрения, просматриваемых при микроскопии;
- артефакты, которые можно принять за кристаллы.

Предварительное центрифугирование увеличивает вероятность обнаружения в СЖ кристаллов [28].

Методика окраски ализариновым красным S

20 мкл СЖ смешивают на стекле с 20 мкл 2% раствора ализарина красного S и накрывают покровным стеклом. Большое значение имеет контроль pH отфильтро-

ванного раствора ализаринового красного S (оптимальный рН — 4,2) [26].

Таким образом, пункция суставов с последующим исследованием СЖ — незаменимый диагностический ме-

тод, позволяющий в большинстве случаев при правильном методологическом подходе идентифицировать различные кристаллы и распознать подагру и ПФА даже в межприступный период.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Seegmeiller J.E., Howell R.R., Malawista S.E. The inflammatory reaction to sodium urate: its possible relationship to the genesis of acute gouty arthritis. *JAMA* 1962;180:469—75.
- Faires J.S., McCarty D.J. Acute synovitis in normal joints of man and dog produced by injection of microcrystalline sodium urate, calcium oxalate and corticosteroid esters. *Arthr Rheum* 1962;5:295—6.
- Faires J.S., McCarty D.J. Acute arthritis in man and dog after intrasynovial injection of sodium urate crystals. *Lancet* 1962;2:682.
- McCarty D.J., Phelps P., Pyenson J. Crystal-induced inflammation in canine joints. I. An experimental model with quantification of the host response. *J Exp Med* 1966;124:99—114.
- Wallace S.L., Robinson H., Masi A.T. et al. Preliminary criteria for the classification of the acute arthritis of primary gout. *Arthr Rheum* 1977;20:895—900.
- McCarty D.J. Calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition disease. *Arthr Rheum* 1976;19(Suppl. 3):275—85.
- McCarty D.J. Crystals and arthritis. *Dis Mon* 1994 Jun;40(6):255—99.
- Nalbant S., Martinez J.A., Kitumnuaypong T. et al. Synovial fluid features and their relations to osteoarthritis severity: new findings from sequential studies. *J Osteoarthr Cartilage* 2003;11:50—4.
- Terkeltaub R.A. Clinical practice. Gout. *N Engl J Med* 2003;349:1647—55.
- Saag K.G., Mikuls T.R. Recent advances in the epidemiology of gout. *Curr Rheumatol Rep* 2005;7:235—41.
- Richette P., Bardin T., Doherty M. An update on the epidemiology of calcium pyrophosphate dihydrate crystal deposition disease. *J Rheumatology* 2009 Jul;48(7):711—5.
- 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 (ESCIIT). *Ann Rheum Dis* 2006;65:1301—11.
- McCarty D.J. Crystal induced inflammation and its treatment. In McCarty D.J., ed. *Arthritis and allied conditions*, 10th edn. Philadelphia: Lea & Febiger 1985:1494—514.
- Pascual E., Jovani V. A quantitative study of the phagocytosis of urate crystals in the synovial fluid of asymptomatic joints of patients with gout. *Br J Rheumatol* 1995;34:724—6.
- Weinberger A., Schumacher H.R., Agudelo C.A. Urate crystals in asymptomatic metatarsophalangeal joints. *Ann Intern Med* 1979;91:56—7.
- Agudelo C.A., Weinberger A., Schumacher H.R. et al. Definitive diagnosis of gout by identification of urate crystals in asymptomatic metatarsophalangeal joints. *Arthr Rheum* 1979;22:559—60.
- Roualt T., Caldwell D.S., Holmes E.W. Aspiration of the asymptomatic metatarsophalangeal joint in gout patients and asymptomatic controls. *Arthr Rheum* 1982;25:209—12.
- Gordon T.P., Bertouch J.V., Walsh B.R. et al. Monosodium urate crystals in asymptomatic knee joints. *J Rheumatol* 1982;9:967—9.
- Bomalaski J.S., Lluberas G., Schumacher H.R. Monosodium urate crystals in the knee joints of patients with asymptomatic non-tophaceous gout. *Arthr Rheum* 1986;29:1480—4.
- Pascual E. Persistence of monosodium urate crystals, and low grade inflammation, in the synovial fluid of untreated gout. *Arthr Rheum* 1991; 34:141—5.
- Pascual E., Batlle-Gualda E., Martinez A. et al. Synovial fluid analysis for diagnosis of intercritical gout. *Ann Intern Med* 1999;131:756—9.
- Li-Yu J., Clayburne G., Sieck M. et al. Treatment of chronic gout. Can we determine when urate stores are depleted enough to prevent attacks of gout? *J Rheumatol* 2001; 28:577—80.
- Segal J.B., Albert D. Diagnosis of crystal-induced arthritis by synovial fluid examination for crystals: lessons from an imperfect test. *Arthr Care Res* 1999;12:376—80.
- 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.
- Lumbreras B., Pascual E., Frasset J. et al. Analysis for crystals in synovial fluid: training of the analysts results in high consistency. *Ann Rheum Dis* 2005;64(4):612—5.
- Gordon C., Swan A., Dieppe P. Detection of crystals in synovial fluids by light microscopy: sensitivity and reliability. *Ann Rheum Dis* 1989;48:737—42.
- Schumacher H.R. Synovial fluid analysis and synovial biopsy. In: Kelley W.N., Harris E.D., Ruddy S., Sledge C.B., eds. *Textbook of Rheumatology*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1993;562—78.
- Lane L. Request centrifuging of synovial fluid for accurate gout diagnosis. *Rev Prat* 1994;44(2):197—200.

СЪЕЗДЫ, СИМПОЗИУМЫ, КОНФЕРЕНЦИИ

30.03—2.04.10 VII Школа ревматологов
«Ранняя диагностика и лечение
ревматических заболеваний»
Москва, Россия

18—21.05.10 V Всероссийская конференция
«Системные ревматические болезни»
Тула, Россия

26—29.09.10 V Всероссийский конгресс по остеопорозу.
В рамках конгресса проводится Второе
русское совещание руководителей
региональных центров остеопороза:

круглый стол по генетике; конференция
общественного движения общества
пациентов «Жизнь без остеопороза
и переломов»
Санкт-Петербург, Россия

27—29.10.10 Ежегодная научно-практическая
конференция НИИР РАМН
«Совершенствование
специализированной
медицинской помощи больным
ревматическими заболеваниями»
Москва, Россия