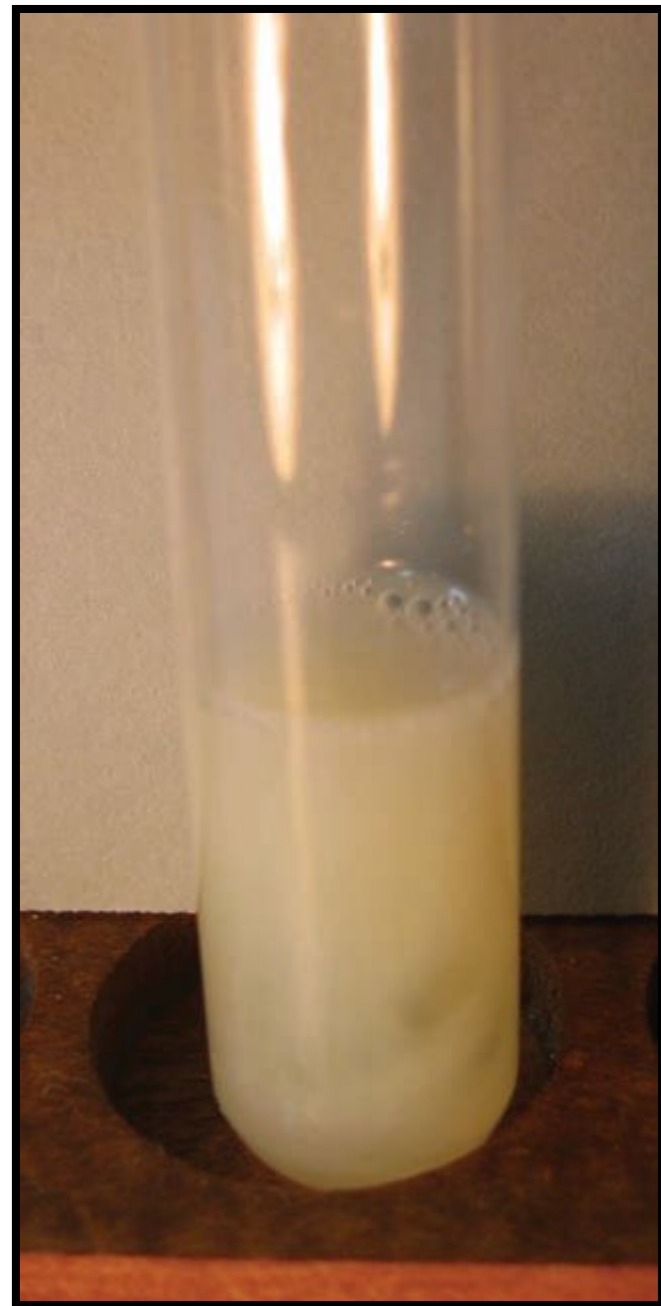


Общеклиническое исследование суставного выпота.

*Что мы можем?
Что мы должны?
Как у нас и как у них.*

Кулешова С.В. svkul@list.ru



Синовиальная жидкость

- Слово «синовиальный» происходит от латинского слова «ovum», означающего «яйцо», так как нормальная синовиальная жидкость напоминает яичный белок.
- Синовиальная жидкость, часто также называемая «суставной жидкостью», находится во всех суставах или диартрозах.
- Биохимически, синовиальная жидкость представляет собой ультрафильтрат плазмы через синовиальную мембрану, обогащенный различными соединениями, продуцируемыми синовиоцитами.
- В физиологических условиях биохимический состав синовиальной жидкости аналогичен плазменному. При патологических состояниях лабораторная оценка синовиальной жидкости дает информацию о причине патологического состояния, поражающего сустав. Показания включают оценку воспаления, инфекции, травм и дегенеративных заболеваний суставов.

Введение

- В строении коленного сустава все предусмотрено для защиты от повреждения. Он окружен суставной капсулой, которая является достаточно гибкой, чтобы не ограничивать движения, но и достаточно прочной, чтобы обеспечивать целостность сустава. Капсула изнутри выстлана синовиальной тканью, которая вырабатывает синовиальную жидкость, служащую для смазки сустава.
- **Воспаление синовиальной оболочки, сопровождающееся скоплением жидкости (выпота) в суставе, называется синовитом.**

33	25256	125256	Микроскопическое исследование уретрального отделяемого и (или) сока простаты	0,35	0,10	A09.21.003 A09.21.005 A26.21.012	25256	125256	Исследование сока простаты	
34	25258	125258	Исследование эякулята (спермограмма)	4,00	0,15	A09.21.001 A09.21.007	25258	125258	Исследование эякулята (спермограмма)	
35	25266	125266	Исследование уровня глюкозы в моче	0,05	0,15	A09.28.011	25266	125266	Определение глюкозы в моче	
36	25268	125268	Исследование одной пробы синовиальной жидкости	0,10	0,10	A09.04.003 A09.04.004 A09.04.005 A09.23.008	25267	125267	Обнаружение кристаллов мочевой кислоты в синовиальной жидкости	КОМПЛЕКСНАЯ УСЛУГА (при оказании этой услуги, все в неё вошедшие услуги выполняются единым целым)
							25268	125268	Определение количества клеточных элементов (цитоза) и их дифференцированный подсчет в синовиальной жидкости	
37	25270	125270	Исследование одной пробы на общий анализ мокроты	1,00	0,75	A09.09.001 A09.09.005 A09.09.006 A09.09.007 A09.09.010	25244	125244	Определение количества, цвета, характера, консистенции, запаха мокроты	КОМПЛЕКСНАЯ УСЛУГА (при оказании этой услуги, все в неё вошедшие услуги выполняются единым целым (количество микроскопических препаратов зависит от качества и количества биматериала))
							25245	125245	Микроскопическое исследование мокроты в нативном препарате	
							25249	125249	Обнаружение гемосидерина в мокроте	
							25269	125269	Микроскопическое исследование мокроты в окрашенном препарате - 1 препарат	
							25270	125270	Микроскопическое исследование мокроты в окрашенном препарате - 2 препарата	
							25271	125271	Микроскопическое исследование мокроты в окрашенном препарате - 3 препарата	
							25272	125272	Микроскопическое исследование мокроты в окрашенном препарате - 4 препарата	
							25273	125273	Микроскопическое исследование мокроты в окрашенном препарате - 5 препаратов	
38	25275	125275	Микроскопическое исследование соскоба с кожи на клещей (Исследование на демодекс)	1,10	0,50	A26.01.018	25275	125275	Исследование на демодекс	
39	25276	125276	Исследование на акантолитические клетки	0,50	0,15	A09.01.001 A09.01.003	25276	125276	Исследование на акантолитические клетки	

Согласовано Заместитель руководителя Департамента здравоохранения города Москвы

Согласовано Главный внештатный специалист по лабораторной диагностике Департамента здравоохранения города Москвы



Е.Ю. Хавкина

А.Н. Цибин

Synovial Fluid Workshop

● Introduction

- Gross examination
- Save sterile fluid for cultures or research
- Microscopic examination
 - Wet preparations
 - Regular light
 - Polarized light
 - Stained smears. May not be needed
- Leukocyte count. Not always needed.

Обратите
внимание



- Синовиальную жидкость из полости сустава забирают с диагностической и лечебной целью путем пункции в асептических условиях без предварительной местной анестезии, так как новокаин разрушает хроматин клеточных ядер.
- *Лабораторный анализ предусматривает определение физико-химических характеристик СЖ, а также проведение микроскопического, бактериологического, биохимического и иммунологического исследований.*
- Определяют количество, цвет, прозрачность, вязкость, муциновый сгусток, рН, оптическую плотность.

- Визуальную оценку состояния СЖ и ее вязкости делают уже во время пункции.
- Измененная СЖ (особенно при воспалении сустава) выглядит мутной или гнойной, имеет желтый или желто-зеленый цвет.
- Вследствие снижения вязкости она вытекает из иглы свободно.
- Для количественного определения вязкости используют вискозиметр. Снижение вязкости сопровождается нарушением образования муцинового сгустка, которое определяют путем добавления нескольких капель ледяной уксусной кислоты.
- Определение рН СЖ экспресс-методом проводится с помощью индикаторных полосок или методом сухой химии.
- Нормальный показатель рН СЖ находится в пределах 7,3—7,6.

Сбор «артроцентез» и обработка.

Количество жидкости может варьироваться и связано с размером сустава и степенью накопления жидкости в суставе. Как пример, нормальное количество жидкости в колене взрослого менее 3,5 мл, но может увеличиться до более чем 25 мл при воспалительных процессах.

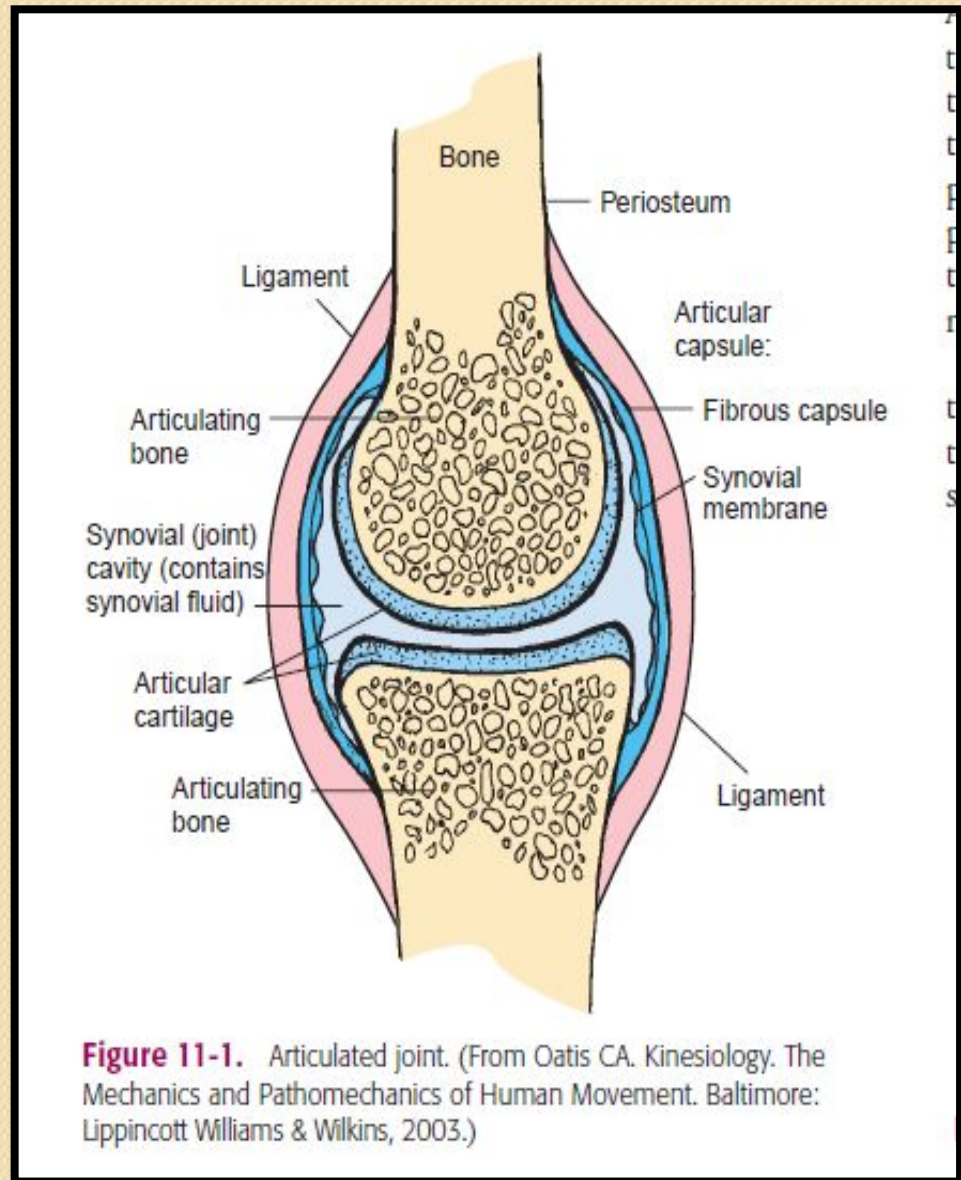
Иногда эвакуация может быть сложной, потому что только несколько капель жидкости получены, но они все еще могут быть использованы для микроскопии, пцр или культивирования. Жидкость из больного сустава может содержать фибриноген, что может привести к самопроизвольному свертыванию. Чтобы избежать этой ситуации, жидкость должна быть собрана в шприц, который был смочен гепарином натрия.

Собранные пробирки должны быть доставлены в лабораторию без промедления. Пробирки

- стерильная гепаринизированная пробирка для микробиологических исследований
- Гепарин натрия или этилендиаминтетрауксусная кислота(ЭДТА) для подсчета клеток и оценки морфологии
- фторида натрия для анализа глюкозы
- пробирка без антикоагулянта для других тестов
- Порошкообразные антикоагулянты не следует использовать, потому что они могут привести к появлению артефактов, которые могут помешать диф.анализу кристаллов.
- Если можно ожидать значительную задержку в транспортировке, образец должен быть охлажден. В идеале, все испытания должны быть выполнены быстро для предотвращения лизиса клеток и возможных изменений в морфологии кристаллов.

АНАТОМИЯ И СОСТАВ

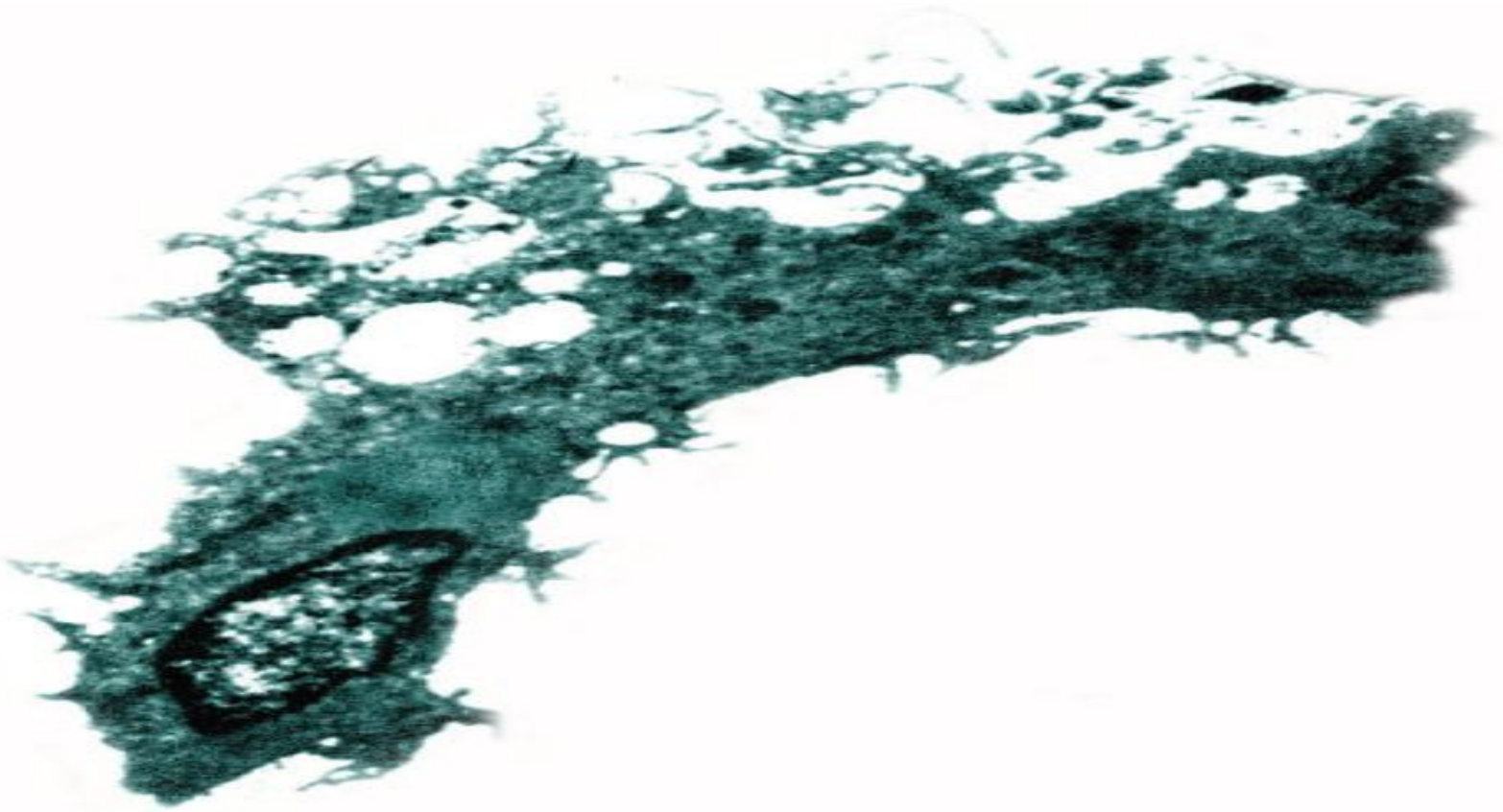
Синовиальная жидкость представляет собой вязкую жидкость, обнаруживаемую в полостях подвижных или синовиальных суставов. Наличие этой жидкости необходимо для поддержания надлежащей функции суставов путем обеспечения структурной поддержки и подачи необходимых питательных веществ в окружающий хрящ. Синовиальная жидкость в основном состоит из двух типов клеток, **специализированных макрофагоподобных синовиальных клеток и синовиоцитов (фибробластоподобных клеток)**, которые важны для поддержания гомеостаза внутреннего сустава.



Синовиоциты

- секретируют мукополисахарид, содержащий гиалуроновую кислоту и небольшое количество белка. Большие молекулы гиалуроната способствуют заметной вязкости синовиальной жидкости.
- Фильтрация неселективна, за исключением исключения белков с высокой молекулярной массой. Поэтому большинство химических компонентов, хотя и редко имеют клиническое значение, имеют концентрации, подобные значениям в плазме

Український ревматологічний журнал • № 2 (3 2) • 2 0 0
8 Синяченко Олег Владимирович
83003, Донецк, просп. Ильича, 16, Национальный медицинский
университет им. Максима Горького, кафедра пропедевтики
внутренних болезней Синовиоциты, ×4500

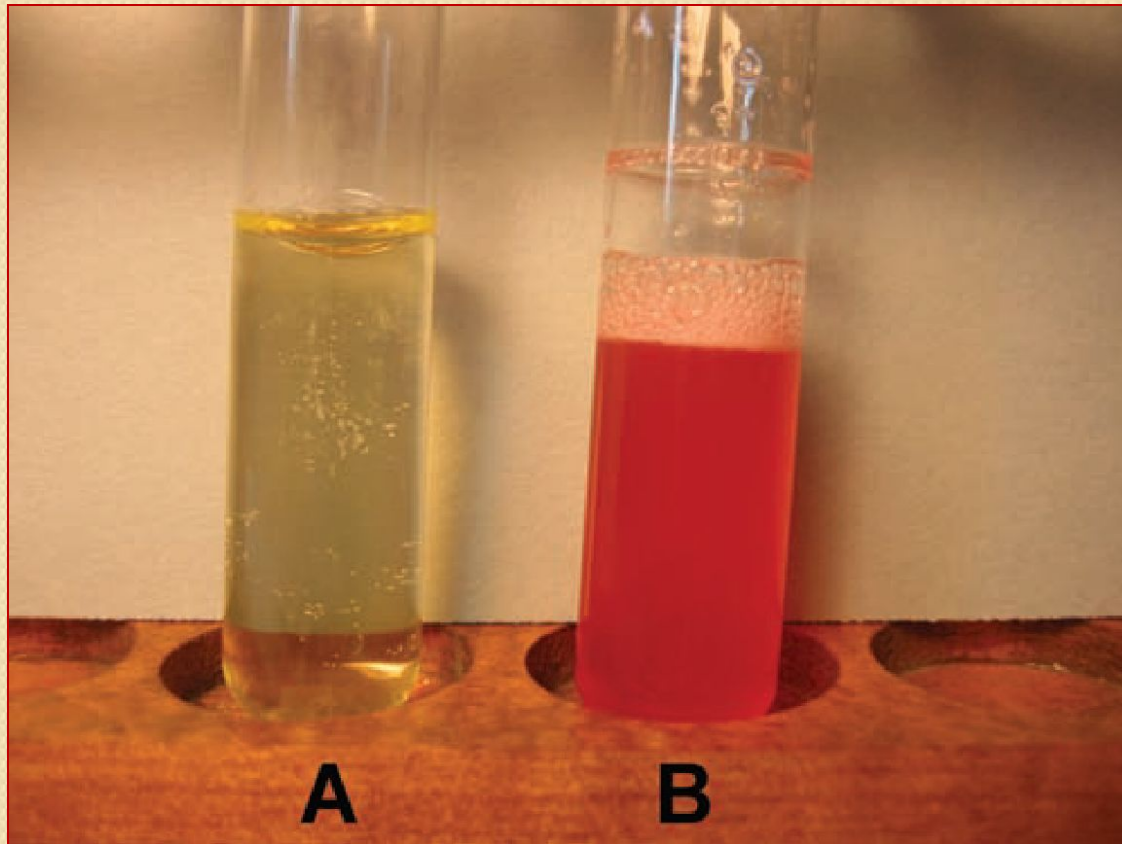


Объем. Цвет и прозрачность.

- Количество жидкости, содержащейся в суставах обычно маленькое. Коленный сустав обычно содержит до 4 мл жидкости.
- Цвет и прозрачность.
- Нормальная синовиальная жидкость бесцветна и прозрачна.
- Другие появления могут указывать на различные заболевания (состояния) .
- Желтые / прозрачные синовиальные жидкости типичны для невоспалительных выпотов, тогда как желтые / мутные жидкости обычно вовлекают воспалительные процессы.
- Белый/мутный цвет синовиальной жидкости может говорить о наличии кристаллов; и синовиальная жидкость, красная, коричневая или ксантохромная указывают на кровоизлияние в сустав.
- Кроме того, синовиальная жидкость может содержать различные типы включений.
- Сгустки фибрина могут выглядеть как рисовые тела. Охронотические осколки – это фрагменты из металла и пластика из протеза. Эти осколки похожи на молотый перец.1 Рисунок 11-5 сравнивает нормальную и синовиальную кровавую жидкости, в то время как Рисунок 11-6 демонстрирует появление включений синовиальной жидкости.■

НОРМАЛЬНЫЙ И ПАТОЛОГИЧЕСКИЙ ЦВЕТ

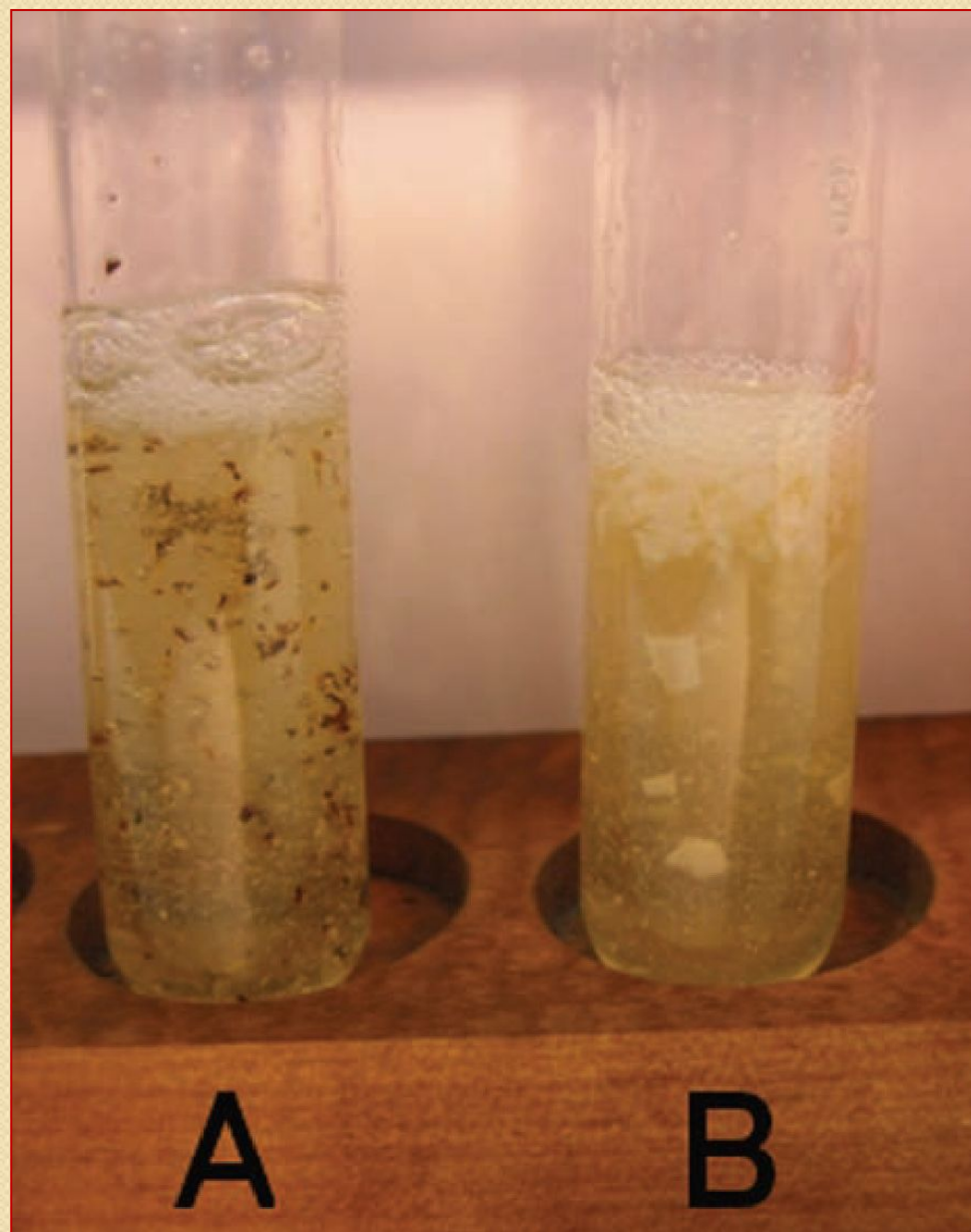
Figure 11-5. Synovial fluid. **A.** Normal. **B.** Bloody.



ВКЛЮЧЕНИЯ В СУСТАВНОМ ВЫПОТЕ

Figure 11-6. Synovial fluid inclusions. **A.** “Ground pepper”
молотый перец при
охлаотическая артропатия

B. “Rice bodies” фибрин в
синовиальной жидкости



Нормальная синовиальная жидкость выглядит прозрачной и бесцветной или бледно-желтой

- Цвет становится более глубоким желтым при наличии невоспалительных выпотов и может иметь зеленоватый оттенок при бактериальной инфекции
- Если присутствует кровь, цвет варьируется от красного до коричневого или ксантохромного.
- Нужно различать кровь от геморрагического артрита и травматической аспирации. Это достигается в первую очередь путем наблюдения за неравномерным распределением крови. Мутность является сильным показателем воспалительных состояний. Облачно-желтые образцы указывают на воспаление в основном из-за наличия лейкоцитов (WBC); однако, синовиальный клеточный детрит, фибрин также вызывают помутнение. Жидкость может выглядеть беловатой и молочный, когда присутствуют кристаллы.



Вязкость

- Синовиальная жидкость очень вязкая из-за высокой концентрации полимеризованного гиалуроната.
- Тест, который может быть использован для оценки уровня вязкости синовиальной жидкости. После снятия иглы или колпачка с шприца, синовиальная жидкость переносится в пробирку одновременно, одним нажатием на поршень.
- Нормальная синовиальная жидкость образует «Нить» длиной около 5 см (4-6 см) перед разрывом. Кроме того, жидкость может прилипнуть к стороне пробирки, а не стекать на дно.
- Артрит влияет как на выработку гиалуроновой кислоты, так и на её способность полимеризоваться, тем самым уменьшая вязкость жидкости.
- Полуколичественное измерение осадков может проводиться с использованием теста на сгусток муцина. При добавлении в раствор 2–5% уксусной кислоты, нормальная синовиальная жидкость образует твердый сгусток, окруженный прозрачной жидкостью. Как способность полимеризации гиалуроновой кислоты уменьшается, сгусток становится менее твердым, и окружающая жидкость становится более мутной. Варианты ответов описываются как «положительный» (твердый сгусток), «удовлетворительный» (мягкий сгусток), «низкий» (рыхлый сгусток) и «отрицательный» (без сгустка).

Химический анализ.

Белок. Глюкоза.

- Эти высокомолекулярные белки включают фибриноген, бета 2 макроглобулин и альфа 2 макроглобулин
- Нормальный диапазон для белка синовиальной жидкости составляет 10-30 г / л.
- Уровень глюкозы в синовиальной жидкости следует интерпретировать используя уровни глюкозы в сыворотке.
- Обычно уровень глюкозы в синовиальной жидкости меньше чем на 10 мг / дл ниже уровня сыворотки.

- Заболевания суставов которые классифицируются как инфекционные, демонстрируют более выраженные снижения уровня глюкозы в синовиальной жидкости, по сравнению с уровнем в сыворотке.
- Мочевая кислота.
- Уровни мочевой кислоты в синовиальной жидкости обычно колеблется от 6 до 8 мг / дл. Присутствие мочевой кислоты в синовиальной жидкости крайне важна в диагностике подагры.
- Обычно идентификация кристаллов лежит в основе диагностики, однако в лабораториях без возможности работы с поляризационным светом биохимические маркеры незаменимы.
- Молочная кислота.
- Молочная кислота редко измеряется в синовиальной жидкости, но может быть полезным в диагностике септического артрита.
- Обычно лактат синовиальной жидкости составляет менее 25 мг / дл. но при септическом артрите может достигать 1000 мг / дл
- Лактатдегидрогеназа.
- Лактатдегидрогеназа (ЛД) может быть повышенным в синовиальной жидкости, в то время как уровень сыворотки остается обычным. Уровень LD синовиальной жидкости обычно повышается при РА, инфекционном артрите и подагре. Нейтрофилы которые увеличиваются во время острой фазы этих расстройств могут способствовать этому повышению уровня LD.
- Ревматоидный фактор.
- Ревматоидный фактор (РФ) представляет собой антитело к иммуноглобулинам. РФ присутствует в сыворотке крови у большинства пациентов с РА, тогда как чуть более половины этих пациентов будут демонстрировать RF в синовиальной жидкости.

Клеточный анализ

- Для подсчета клеток образец должен быть собран с применением антикоагулянтов, либо используя гепарин, либо ЭДТА.
- Общее количество (цитоз) является наиболее часто выполняемым тестом.
- Эритроциты (количество не часто запрашивается).
- Доступная литература показывает, что общее количество WBC уменьшается со временем, что может приводить к ошибочным результатам, мешающим правильному диагнозу пациента. Поэтому крайне важно провести эти анализы без задержки, как только образцы были получены.
- Ручные подсчеты из тщательно перемешанных образцов синовиальной жидкости выполняются с использованием счетной камеры.
- Обычно прозрачные жидкости можно считать, не разбавляя их, но разбавления необходимы, когда жидкости мутные или кровавые. Если необходимо лизировать РБК, используется гипотонический солевой раствор (0,3%) или солевой раствор, содержащий сапонины являются подходящими разбавителями. Метиленовый синий добавлен в изотонический солевой раствор окрасит ядра WBC, позволяя различать РБК и WBC при подсчете образцов, содержащих РБК.

- Содержание клеток в СЖ невелико и колеблется от 13 до 180 (150) в 1 мм³.
- Клетки синовии происходят из клеток самой синовиальной оболочки и крови (их соотношение — 51/49).
- В синовии здорового человека лимфоциты составляют 40% общего числа клеток, 1/5 часть из них — функционирующие. Дифференциальный количественный учет клеточных элементов является реальным тестом при оценке состояния сустава и сводится к составлению синовиоцитограммы.
- В норме СЖ представлена синовиальными покровными клетками — синовиоцитами (34,2—37,8%), гистиоцитами (8,9—12,5%), лимфоцитами (37,4—42,6%), моноцитами (1,8—3,2%), нейтрофилами (1,2—2,0) и неклассифицированными клетками (8,3—10,1%).

Клинические и физико-химические показатели СЖ при норме и у больных артритом

Показатель	Норма	Больные						
		ОА	РА	АС	ПсА	ПА	ПФА	СеА
Цвет	сол.	янт.	зел.	жел.	зел.	жел.	жел.	крас.
Прозрачность	+++	++	--	-	--	--	+/-	---
pH	~7,5	~7,3	~6,7	~7,0	~6,8	~6,6	~7,4	~6,9
Вязкость, мП·с	~20	~12	~3	~7	~5	~15	~15	~10
ВЭ, мН/м	~50	~45	~35	~40	~35	~50	~45	~45
ВР, с	~300	~350	~500	~420	~450	~400	~350	~350
ПН, мН/м	~50	~45	~35	~30	~40	~30	~45	~30
Муциновый сгусток	+++	+/-	---	++	++	--	+	-
Лейкоциты, 10 ¹⁰ /мл	<2	<10	<25	<8	<20	<25	<5	<100
Общий белок, г/л	~15	~30	~55	~35	~45	~40	~35	~55

Глюкоза, ммоль/л	<5,5	<5,0	<2,5	<4,0	<3,0	<5,0	<4,5	<2,0
Мочевая кислота, мкмоль/л	~25	~25	~35	~30	~45	~55	?	?
Молочная кислота, ммоль/л	~3,5	~4,0	~5,0	~4,4	~5,0	~5,0	~4,0	~5,0
Уроновые кислоты, ммоль/л	~6,5	~4,5	~5,5	~5,5	~5,0	~6,0	~5,0	~6,0
Нитриты, мкмоль/л	~4,5	~4,5	~6,5	~5,5	~7,5	~3,5	~4,5	~3,5
Ревматоидный фактор	-	-	+	+ / -	+ / -	-	-	-
Рагоциты	-	-	+++	++	+	-	-	-
Обрывки хряща	-	+++	-	-	-	+	++	-
Кристаллы	-	+	-	-	-	+++	++	-

Цвет: сол. – соломенный, жел. – желтый, зел. – зеленоватый, крас. – красноватый.

ВЗГЛЯД РЕВМАТОЛОГА

- ▶ Исследование синовиальной жидкости.
- ▶ Наиболее полезно при моноартрите коленного сустава.

	патология	норма
цитоз	$>10\ 000$ в $1\ \text{мм}^3$	< 200
рагоциты	$>30 - 40\%$	-
вязкость	низкая	высокая
РФ	+	-
муциновый сгусток	рыхлый	плотный

Рагоциты.

- Рагоциты - это макрофаги, содержащие в своей цитоплазме резко преломляющие свет гранулы, размер которых больше, чем размер внутриклеточной зернистости в цитоплазме этих клеток.
- Эти гранулы могут быть бесцветные, зеленоватые или черные, в зависимости от преломления проходящего через них света. Размер гранул варьирует от 0,20 до 0,33 мкм.
- За счет этих гранул размер рагоцитов несколько больше нейтрофилов, моноцитов, макрофагов, не содержащих этой зернистости. Эти гранулы содержат иммунные комплексы, в состав которых входит ревматоидный фактор, а также иммуноглобулины и антинуклеолярный фактор.



Кристаллы

- Исследование синовиальной жидкости на наличие кристаллов - это насущная необходимость.
- Анализ кристаллов чаще всего используется для диагностики подагры по наличию мононатрийурата кристаллов.
- *Кристаллы при подагре в синовиальной жидкости, обычно тонкие, игольчатые кристаллы.*
- Кристаллы **поляризуют свет** и имеют отрицательное двойное лучепреломление (кристаллы, совмещенные с фильтром компенсатора).

Table 11-2 Classification of Synovial Fluids

GROUP	CATEGORY	VISUAL	VISCOSITY	MUCIN CLOT	CELL COUNT	GLUCOSE BLOOD: SF	OTHER
	Normal	Colorless—straw Clear	High	Good	<150 WBCs <25% neutrophils	0-10	
I	Noninflammatory	Yellow Slightly cloudy	Decreased	Fair	<1,000 WBCs <30% neutrophils	0-10	
II	Inflammatory	White, gray, yellow Cloudy, turbid	Absent	Poor	<100,000 WBCs >50% neutrophils	0-4	
III	Septic	White, gray, yellow, or green Cloudy, purulent	Absent	Poor	50,000-200,000 WBCs >90% neutrophils	20-100	Positive cultures
IV	Crystal induced	White Cloudy, turbid, opaque, milky	Absent	Poor	500-200,000 WBCs <90% neutrophils	0-80	Crystals present
V	Hemorrhagic	Sanguinous, xanthochromic, red, or brown Cloudy	Absent	Poor	50-10,000 WBCs <50% neutrophils	0-20	RBCs present

Исследование синовиальной жидкости (СЖ) имеет большое значение при:

- - диагностике и дифференциальной диагностике заболеваний суставов,
- - установлении степени местной воспалительной активности и характера воспалительного процесса,
- - наблюдении за динамикой патологического процесса в суставах,
- - оценке эффективности вне- и, особенно, внутрисуставной терапии

лабораторный анализ синовиальной жидкости осуществляется по общепринятой в мировой практике методике и обычно включает:

- - макроскопическую оценку с описанием цвета, прозрачности, наличия осадка;
- - измерение количества СЖ;
- -микроскопическое исследование нативного препарата, определение цитоза и исследование препарата, окрашенного азур-эозином, с подсчетом процентного соотношения клеток (синовиоцитограммы).
- Кроме этого в синовиальной жидкости могут быть проведены и другие виды исследований: биохимические исследования (определение общего белка, глюкозы, мочевой кислоты и др.), микробиологические, иммунологические и цитологические (при подозрении на прораствание опухоли из мягких тканей и костей) исследования.

Микроскопическое исследование синовиальной жидкости

- В настоящее время для взятия биологических жидкостей выпускаются вакуумные пробирки, содержащие антикоагулянт (ЭДТА), который является также консервантом для клеточных элементов и не влияет на их морфологию.
- ***Синовиальную жидкость, стабилизированную К₂ЭДТА нельзя использовать для обнаружения рагоцитов.***
- Проводится три вида микроскопического исследования:
- подсчет клеток в нативной синовиальной жидкости в камере Горяева или слайд-планшете (цитоз), исследование нативного препарата и окрашенного азур-эозином препарата с подсчетом синовиоцитограммы.

Изучение препарата

- начинают с малого увеличения (ок. $\times 7$, 10 или $\times 20$, об. $\times 10$) для общего обзора и более детального изучения препарата на большом увеличении (ок $\times 10$ и об. $\times 40$.)
- ***Для достоверного обнаружения рагоцитов в нативном препарате рекомендуется использовать фазово-контрастную микроскопию, или исследовать препарат с иммерсией. Для идентификации кристаллов рекомендуется использовать поляризационный микроскоп.***
- В нативном препарате при увеличении $\times 70$, $\times 100$ или $\times 200$ можно получить только ориентировочное представление о лейкоцитах, обнаружить эритроциты и тканевые клеточные элементы. При увеличении $\times 400$ перечисленные клеточные элементы видны более четко. При микроскопии на этих увеличениях удобно поднять до упора конденсор и максимально закрыть диафрагму. Такой режим работы обеспечивает большую четкость нативных клеточных элементов.
- Эритроциты, содержащие гемоглобин, при увеличении $\times 400$ по форме похожи на двояко вогнутые линзы желтовато-розоватого цвета. Это неизменные эритроциты они сохраняют форму и гемоглобин благодаря рН синовиальной жидкости, которая колеблется в пределах от 7,0 до 8,5. Эритроциты попадают в синовиальную жидкость при травмах суставов или во время пункции.
- Лейкоциты при воспалении суставов представлены в синовиальной жидкости нейтрофилами. Нейтрофилы бесцветные или сероватые, мелкозернистые правильной круглой формы клетки. Иногда (при аллергических состояниях) можно обнаружить в синовиальной жидкости эозинофилы, которые отличаются от нейтрофилов по характерной равномерной, сферической, желтоватого цвета зернистости, но дифференцировать лейкоциты в нативных препаратах не следует.

Определение цитоза

- Подсчет количества клеточных элементов в 1 мкл синовиальной жидкости камере Горяева или слайд-планшете .
- Исследование проводят в нативной или стабилизированной K_2 ЭДТА синовиальной жидкости.
- В пробирку налить 0,4 мл изотонического или гипотонического раствора NaCl.
- С помощью семплера или микропипетки внести 20 мкл СЖ (разведение 1:20).
- Содержимое пробирки аккуратно без пены размешать.
- Заполнить камеру Горяева и подсчитать количество клеточных элементов в 40 больших квадратах.
- Расчет произвести по формуле: , где
- А – количество клеточных элементов в 40 больших квадратах камеры Горяева; 250 – $1/250$ – объем одного большого квадрата камеры; 20 – степень разведения СЖ.
- $X = A \times 250 \times 20 / 40$. Окончательный вариант формулы $X = A \times 125$
- При разведении в 200 раз окончательный расчет проводят по формуле: $X = A \cdot 1250$

Расчет для слайд-планшета

- Если в планшете два комплекта окружностей по 9 окружностей в каждом, то заполнив слайд-планшет подсчитывают количество клеток в любых 9 окружностях.
- Полученное значение умножают на 200 (20-степень разведения и 10 это 1 мкл) . Таким образом, получают количество клеток в 1 мкл.
- Если при микроскопии нативного препарата СЖ обнаружено, что клетки покрывают все поля зрения или СЖ имеет высокую вязкость, необходимо разведение - 1: 200 (4 мл изотонического или гипотонического раствора NaCl и 20 мкл исследуемой СЖ).
- Для разведения СЖ используется изотонический 0,9% (150ммоль/л) раствор NaCl. Если в СЖ необходимо лизировать эритроциты, используется гипотонический 0,3% (50ммоль/л) раствор NaCl.
- Изотонический и гипотонический растворы NaCl можно подкрашивать 3% раствором метиленового синего или метилвиолета.
- В нормальной СЖ число клеток варьирует и составляет $0.1 - 0.5 \times 10^9 / \text{л}$.
- При суставной патологии цитоз увеличивается, свидетельствуя о нарастании воспалительного процесса. При дегенеративных заболеваниях и посттравматическом артрите цитоз в СЖ составляет $2 - 2,5 \times 10^9 / \text{л}$. При воспалительных заболеваниях суставов (РА, РеА, анкилозирующий спондилоартрит, псориатический артрит, подагра, псевдоподагра) цитоз варьирует от 3 до $75 \times 10^9 / \text{л}$, при септических артритах превышает $80 \times 10^9 / \text{л}$.

Изменения синовиальной жидкости при различных патологических процессах

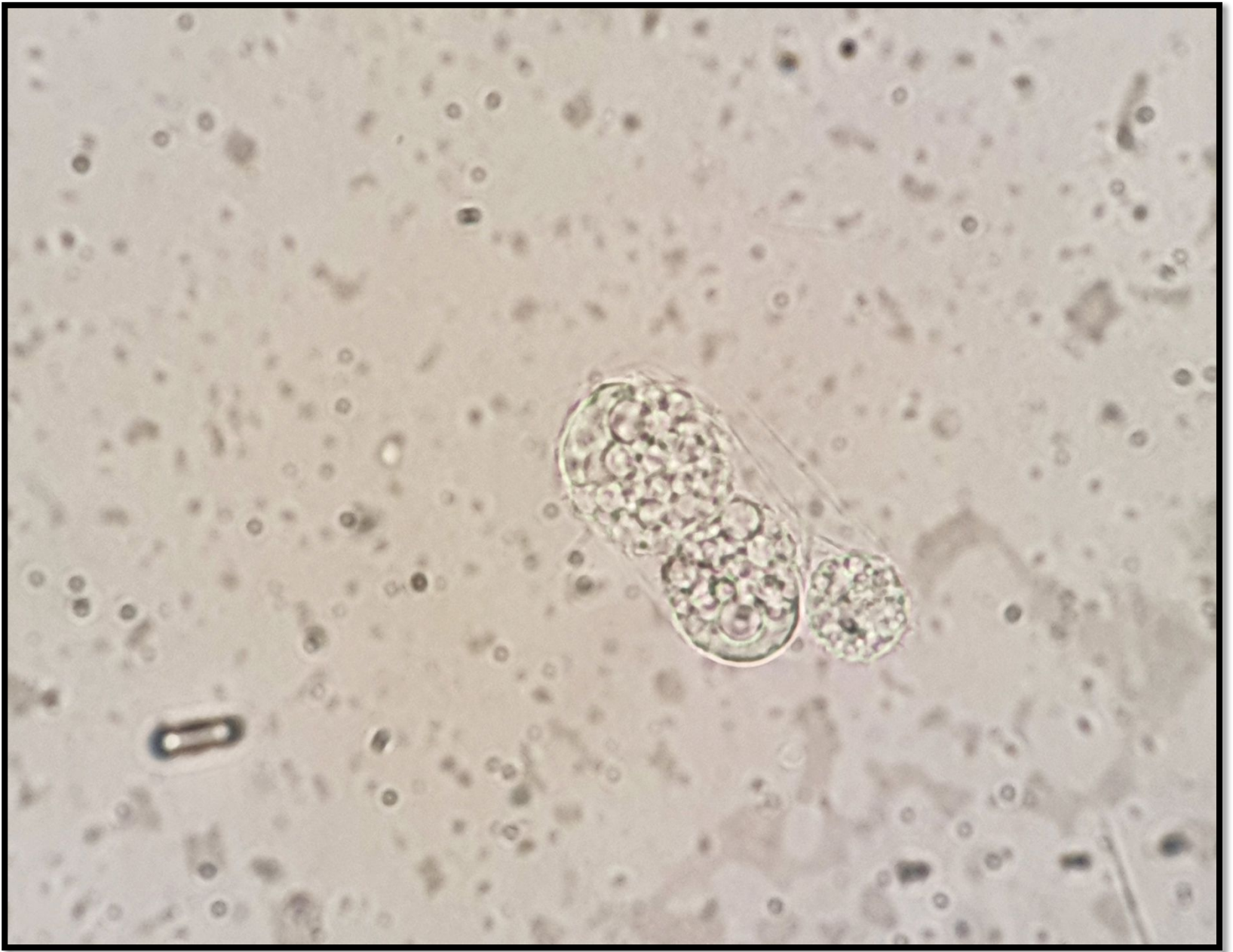
Признак	Тип изменений		
	<u>Невоспалительный</u>	Воспалительный	Септический
Цвет	Соломенно-желтый	Желтый	Варьируется
Прозрачность	Прозрачная	Полупрозрачная	Мутная
Лейкоциты, в 1 мкл	200 – 2 000	2 000 – 75 000	> 75 000
Нейтрофилы, %	< 25	40-75	> 75
Кристаллы	Нет	Иногда	Нет
Бактериологическое исследование	Отрицательное	Отрицательное	Иногда положительное
Заболевания	<u>Остеоартроз</u> , травматический артроз, асептический некроз, системная красная волчанка	<u>Ревматоидный артрит</u> , подагра, <u>псевдоподагра</u> , системная красная волчанка, <u>серонегативные спондилоартропатии</u>	Гонококковый артрит, туберкулезный артрит, инфекционный артрит (стафилококковый и стрептококковый)

Изменения синовиальной жидкости при артрите и артрозе

Признак	Артрит	Артроз
Количество клеток	> 10 000 в 1 мкл	< 400 в 1 мкл
Доминирующий тип клеток	Полинуклеары, плазмоциты	Лимфоциты, моноциты, плазмоциты
Фагоциты	6-80 % и выше	Меньше 5 %
Концентрация белка	Значительно повышена (> 6 г/ %)	Умеренно повышена (< 4 г/ %)

Рагоциты.

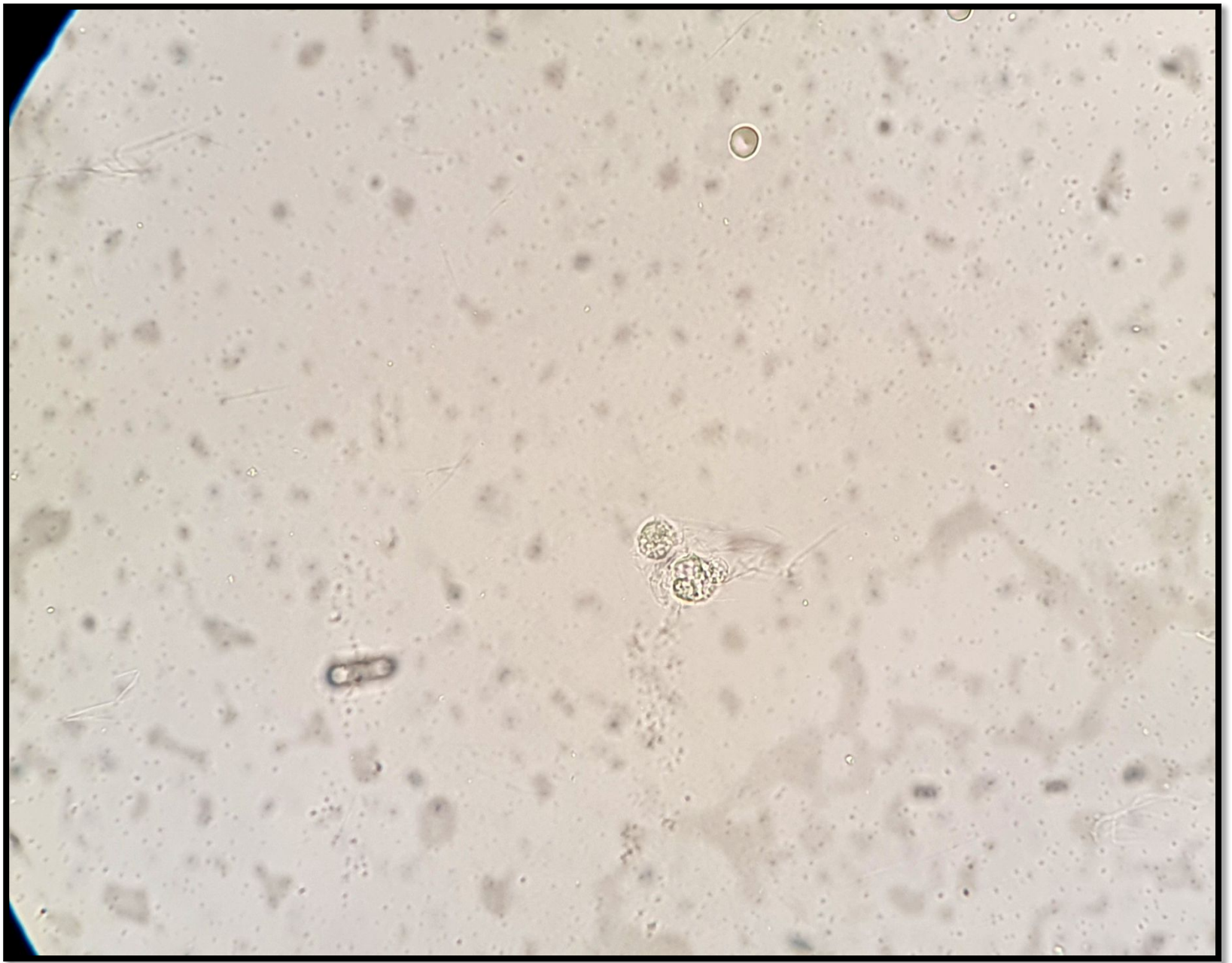
- Рагоциты - это макрофаги, содержащие в своей цитоплазме резко преломляющие свет гранулы, размер которых больше, чем размер внутриклеточной зернистости в цитоплазме этих клеток. Эти гранулы могут быть бесцветные, зеленоватые или черные, в зависимости от преломления проходящего через них света. Размер гранул варьирует от 0,20 до 0,33 мкм. За счет этих гранул размер рагоцитов несколько больше нейтрофилов, моноцитов, макрофагов, не содержащих этой зернистости. Эти гранулы содержат иммунные комплексы, в состав которых входит ревматоидный фактор, а также иммуноглобулины и антинуклеоллярный фактор.
- *Обнаружение и подсчет рагоцитов, производятся в нативном препарате с использованием фазово-контрастной микроскопии или иммерсии .*
- На покровное стекло, которое покрывает нативный препарат, наносят каплю иммерсионного масла и устанавливают иммерсионный объектив, получая увеличение х900 или х1000. Подсчитывают 100 клеточных элементов (лейкоцитов, рагоцитов и тканевых клеток) и отмечают, сколько процентов из них составляют рагоциты
- **П р и м е ч а н и е 1** — При ревматоидном артрите количество рагоцитов может достигать 50% клеточного состава.



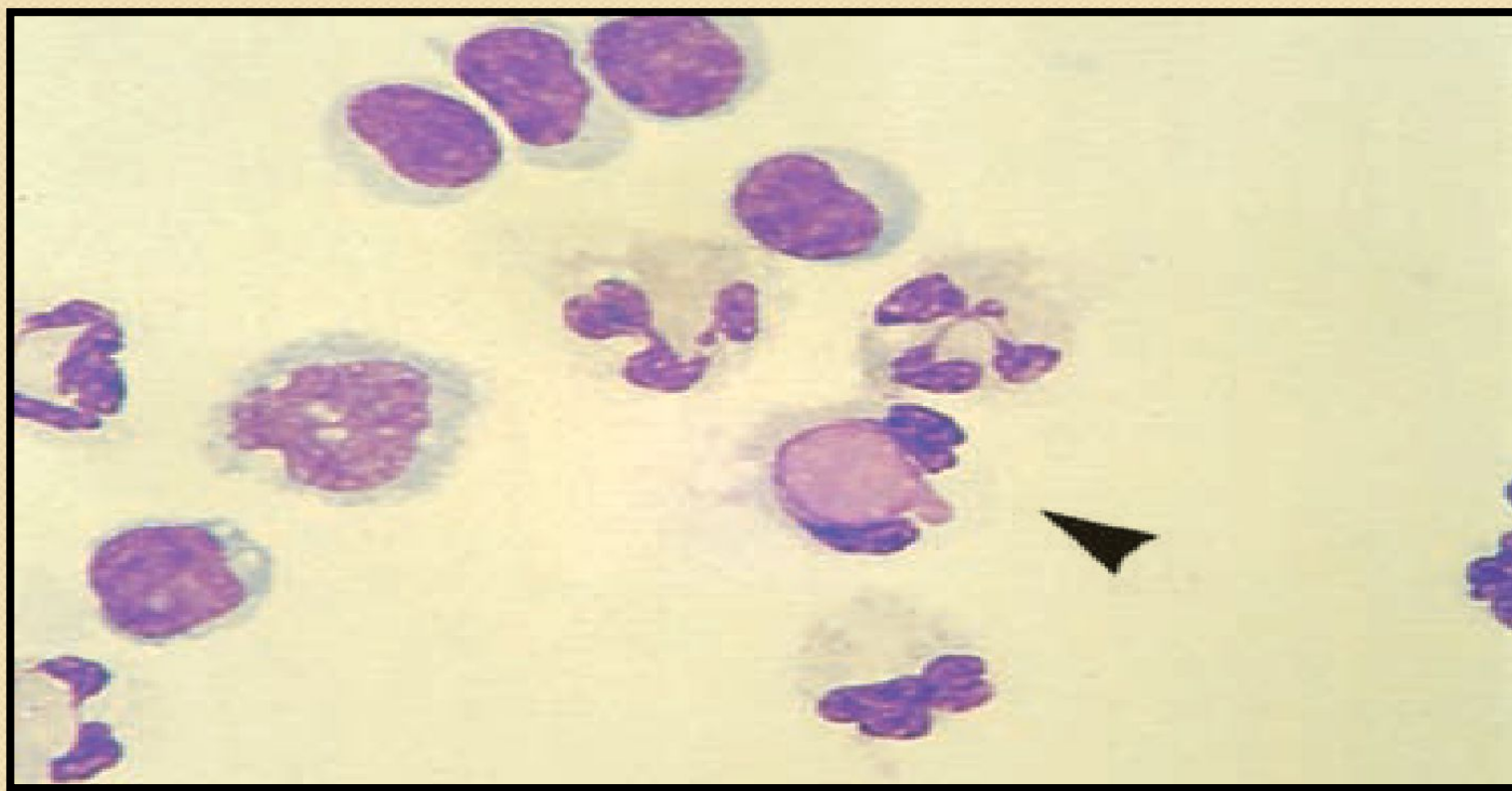






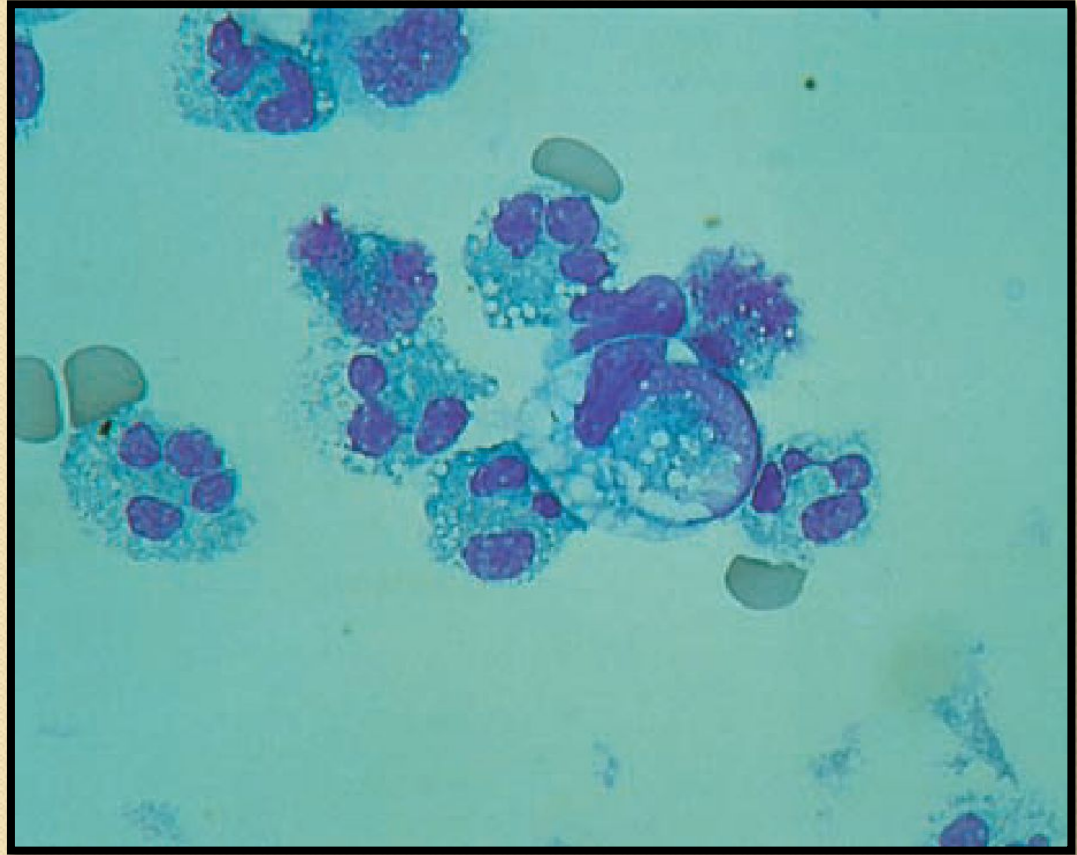


LE КЛЕТКА

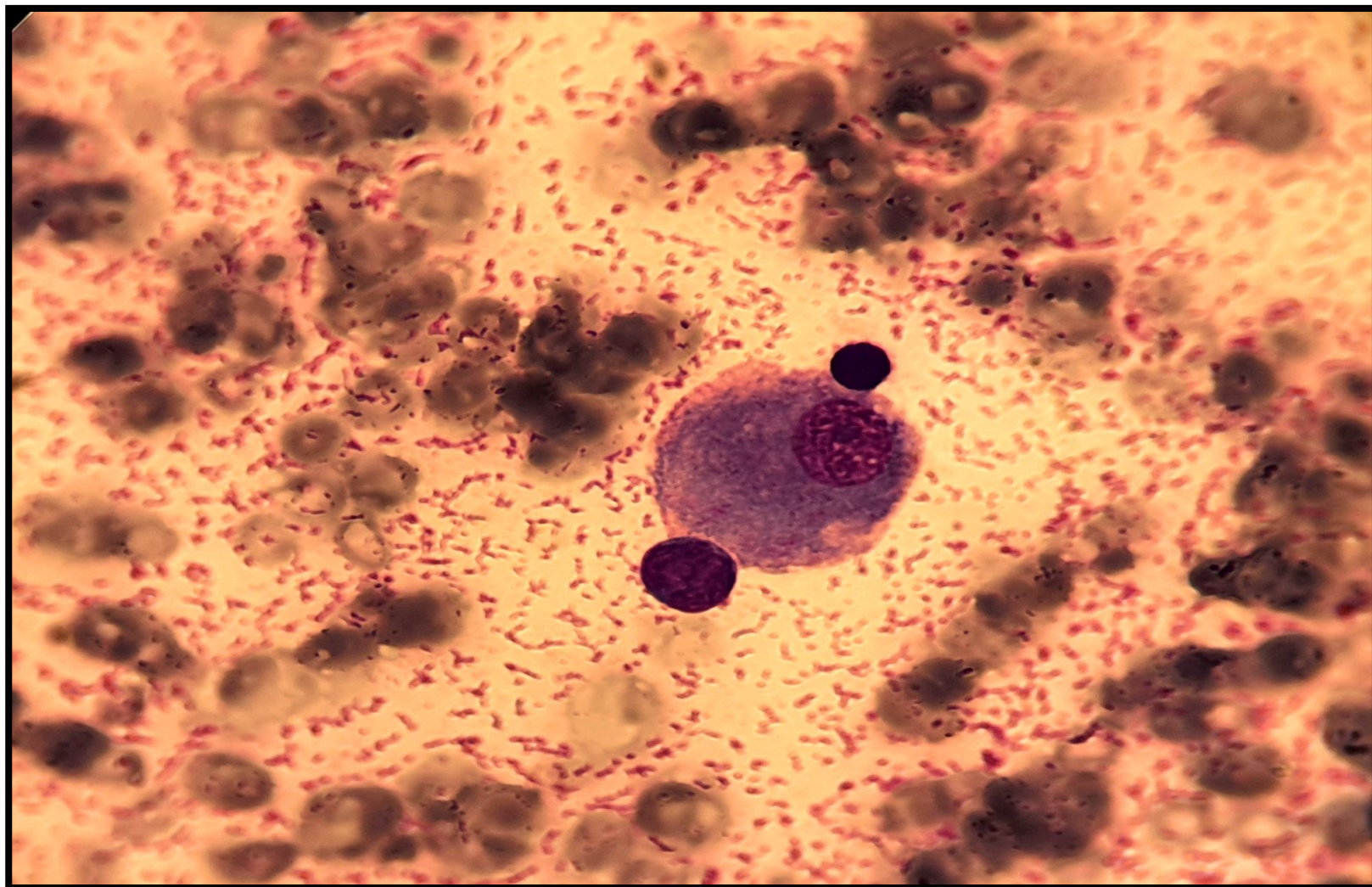


(FROM MCCLATCHEY
KD. CLINICAL
LABORATORY
MEDICINE. 2ND ED.
PHILADELPHIA:
LIPPINCOTT
WILLIAMS & WILKINS,
2002.)

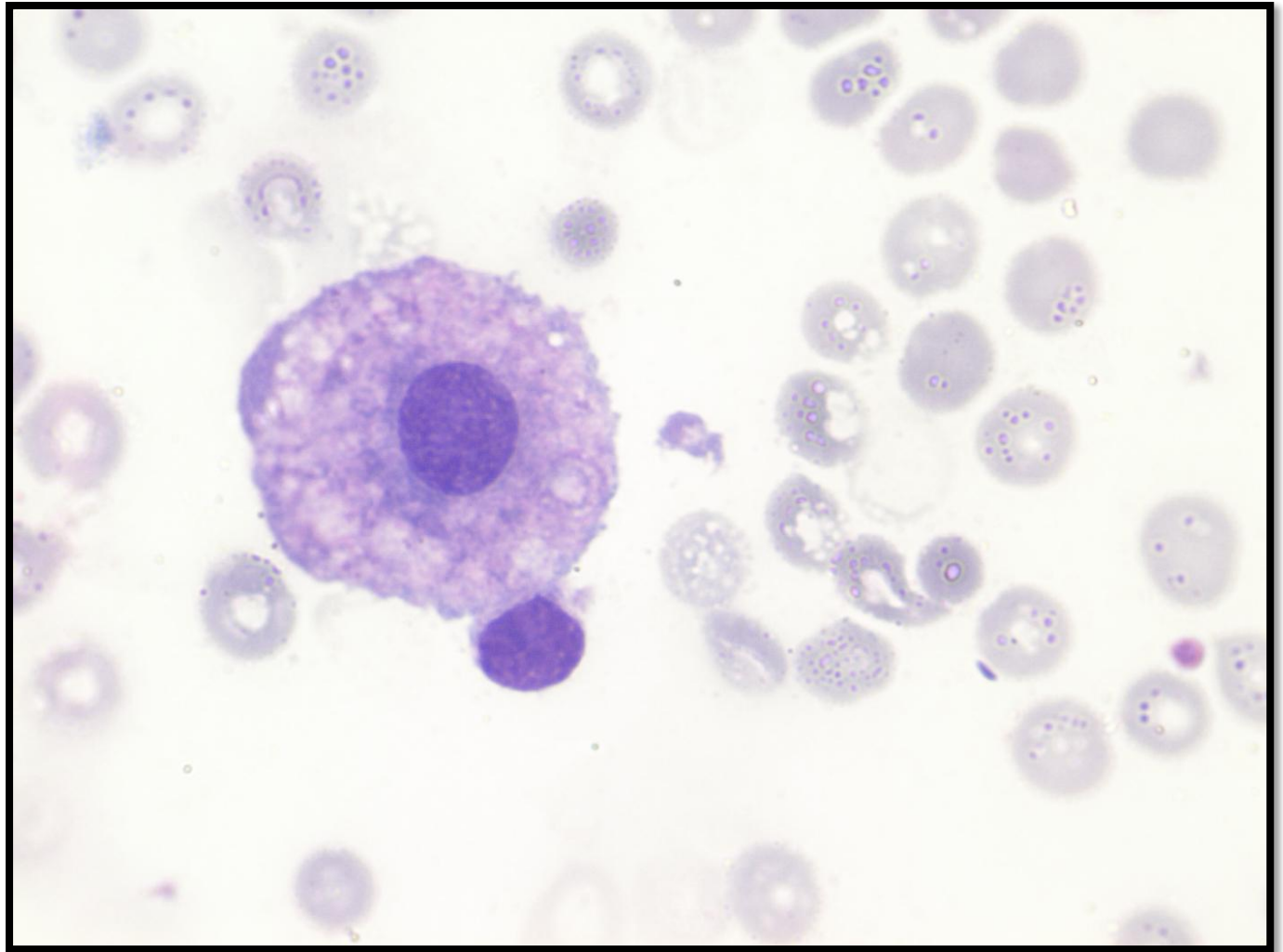
Figure 11-13. Reiter cell (center) is a macrophage that has phagocytosed one or more neutrophils. This finding is not specific for Reiter syndrome.



Как назовем эти клетки?



Синовиоцит и лимфоцит



Нити фибрина



Кристаллы

- Ряд других артритных состояний может напоминать подагру, но дифференцировать подагру позволяет определение характерных кристаллов уратов в лейкоцитах из синовиальной жидкости пораженных суставов. Большинство псевдоподагрических состояний связано с отложением кристаллов пирофосфата кальция. Диагноз подагры также может подтверждаться определением высоких уровней уратов в сыворотке пациентов. Вместе с тем необходимо помнить, что определение в сыворотке нормальных уровней уратов не исключает подагры, так как гиперурикемия может развиваться позднее.

Кристаллы

- В нативных препаратах СЖ при микроскопии в контрастной фазе у больных подагрой и суставным хондрокальцинозом выявляют микрокристаллы уратанатрия и пирофосфата кальция .
- Кристаллы уратов выглядят длинными, тонкими и острыми, кристаллы пирофосфата кальция более короткие и имеют форму параллелепипедов. В периоде приступа подагры кристаллы обычно располагаются внутриклеточно.

ПОДАГРА

— хроническое заболевание, связанное с нарушением обмена мочевой кислоты, повышением содержания ее в крови (гиперурикемией) и отложением в тканях кристаллов ее натриевой соли (уратов), клинически проявляющееся рецидивирующим острым артритом и образованием подагрических узлов (тофусов). Достаточным признаком для диагностики подагры является выявление кристаллов моноурата натрия в синовиальной жидкости или тофусе. Формирование кристаллов моноурата натрия является основным звеном в патогенезе болезни.

Существует другой тип микрокристаллической артропатии - пирофосфатная артропатия (ПАП), связанная с отложением пирофосфатов. Иногда это состояние называют псевдоподагра. Отложения кристаллов пирофосфата кальция в хрящевой ткани вызывают нарушения ее структуры и функции. Эти изменения, как правило, не сопровождаются клиническими проявлениями. Даже в случае массивных отложений кристаллов, проявляющихся на рентгенограммах хондрокальцинозом суставов, клинические симптомы нередко отсутствуют. Для их появления необходимо проникновение кристаллов из хряща в полость сустава. Только в этих случаях возникает воспаление, что обусловлено поглощением кристаллов фагоцитирующими клетками синовиальной оболочки и внутрисуставной жидкости, этот процесс сопровождается выделением протеолитических ферментов и активизацией ряда других факторов воспаления. Фагоцитоз кристаллов сопровождается выделением медиаторов воспаления (простагландины, коллагеназа и др.).

ПИРОФОСФАТ

представляет собой важнейший промежуточный метаболит при синтезе протеогликанов и коллагена. Он в больших количествах образуется хондроцитами, но быстро разрушается пирофосфатазой. Полагают, что при хондрокальцинозе в суставном хряще происходит локальное нарушение обмена пирофосфата, например повышение его образования или снижение активности пирофосфатазы. В результате формируются кристаллы дигидрата пирофосфата кальция, которые откладываются первоначально в толще суставного хряща, затем на его поверхности, а в последующем — в синовиальной оболочке и периартикулярных тканях. Свободные кристаллы пирофосфата кальция активируют систему комплемента и выступают в качестве хемотаксического фактора для нейтрофильных лейкоцитов, вызывая их приток в синовиальную оболочку и суставную полость. При фагоцитозе кристаллов нейтрофилами из клеток выделяются лизосомальные ферменты и медиаторы воспаления, а также резко усиливается секреция ими кислородных радикалов. В результате в синовиальной оболочке возникает воспалительная реакция. Инкрустация хряща кристаллами пирофосфата кальция постепенно приводит к разрушению его матрикса, гибели хондроцитов, дегенеративным изменениям хряща и формированию вторичного остеоартроза.

Получение синовиальной жидкости из крупного сустава позволяет выполнить поляризационную микроскопию в целях поиска вида кристаллов. При наличии клинических предпосылок для проведения дифференциации ПАП с подагрой ключевым моментом является поляризационная микроскопия синовиальной жидкости, с помощью которой выявляют характерные оптические свойства кристаллов при которой оба вида хорошо визуализируются. Диагноз пирофосфатной артропатии считают достоверным, если у больного обнаруживают кристаллы пирофосфата кальция в синовиальной жидкости. Описано обнаружение обоих видов кристаллов у одного и того же больного. В 90% случаев ПАП наиболее поражаемыми являются коленные суставы и плечевые суставы, а также мелкие суставы кистей. Если с подагрой ассоциируется артрит плюснефалангового сустава (ПФС) первого пальца, то с ПАП – чаще артрит коленного сустава.

Нужно уметь дифференцировать

- Кристаллы урата натрия (моноурат, кислый мочекислый натр)
- Пирофосфат кальция
- Холестерин
- Жирные кислоты
- Оксалаты кальция
- Гематоидин
- Цистин
- Шарко-Лейдена







ИТОГ

- В здоровом суставе синовиальная жидкость является прозрачной. При ревматоидном, псориатическом или септическом артрите происходит ее помутнение.
- Цвет жидкости в норме светло-желтый. При воспалении он меняется в зависимости от характера изменений в синовиальной оболочке, например, при ревматоидном и псориатическом артрите окраска колеблется от желтого до зеленого цветов.
- Число клеток в препарате в норме – до 200 клеток/мкл. Увеличение количества клеток (цитоз) позволяет дифференцировать воспалительные и дистрофические заболевания и оценивать динамику воспалительного процесса. Выраженный цитоз (30 000 – 50 000) характерен для острого периода воспаления при любых артритах, умеренный цитоз (до 20 000 – 30 000) отмечен при псевдоподагре, синдроме Рейтера, псориатическом артрите. Незначительный цитоз характерен преимущественно для микрокристаллических артритов. Цитоз более 50 000 в большинстве случаев указывает на наличие бактериального артрита.
- В синовиальной жидкости может быть идентифицировано большое количество разнообразных кристаллов. Однако диагностическую ценность представляют только два типа из них. Кристаллы урата натрия являются признаком подагры, а кристаллы дигидропирофосфата кальция обнаруживаются при псевдоподагре. Эти кристаллы могут быть выявлены при поляризационной микроскопии.

- В норме в синовиальной жидкости обнаруживаются и клетки тканевого происхождения (синовиоциты, гистиоциты), а также элементы крови. Это преимущественно лимфоциты, реже – нейтрофилы и моноциты. При воспалении в синовиальной жидкости могут встречаться особые формы нейтрофилов – рагоциты. Их клетки имеют "ячеистый" вид за счет включения иммунных комплексов в цитоплазму. Это наиболее характерные признаки при ревматоидном артрите. При некоторых состояниях (аллергические синовиты, туберкулезный процесс, артриты на фоне новообразований) в синовиальной жидкости преобладают мононуклеары.

Признак	Тип изменений		
	Невоспалительный	Воспалительный	Септический
Цвет	Соломенно-желтый	Желтый	Варьируется
Прозрачность	Прозрачная	Полупрозрачная	Мутная
Лейкоциты, в 1 мкл	200 – 2 000	2 000 – 75 000	> 75 000
Нейтрофилы, %	< 25	40-75	> 75
Кристаллы	Нет	Иногда	Нет
Бактериологическое исследование	Отрицательное	Отрицательное	Иногда положительное
Заболевания	Остеоартроз, травматический артроз, асептический некроз, системная красная волчанка	Ревматоидный артрит, подагра, псевдоподагра, системная красная волчанка, серонегативные спондилоартропатии	Гонококковый артрит, туберкулезный артрит, инфекционный артрит (стафилококковый и стрептококковый)

Table 2 Characteristics of crystals found in synovial fluid

Crystal	Shape		Cause
Monosodium urate (MSU)		Needles	Gout
Calcium pyrophosphate		Rhombic squares and rods	Pseudogout
Cholesterol		Notched, rhombic plates	High levels of blood cholesterol
Corticosteroid		Flat, variably shaped plates	Injections
Calcium oxalate		Envelopes	Renal dialysis
Apatite (calcium phosphate)		Small particles	Osteoarthritis

Нормальная цитограмма (Базарный В.В. 1999г)

Клеточные элементы	%%
Синовиоциты	5-30
Гистиоциты/макрофаги	5-10
Лимфоциты	8-50
Моноциты	1-5
Нейтрофилы	1-2
Недиф. клетки	1-10

Таблица 17

Характерные изменения основных показателей синовиальной жидкости при разных типах патологических процессов в суставах

Показатель	Норма	Невоспалительный тип	Воспалительный тип	Септический тип	Травматический тип
Объем	До 3,5 мл	>3,5 мл	До 80 мл	>3,5 мл	>3,5 мл
Прозрачность	Прозрачная	Прозрачная	Мутная или мутноватая	Мутная	Мутная
Цвет	Слегка желтоватый	Желтый	Желтый, зелено-серый	Серовато-желтый	Кремове-желтый, кровавистый
pH	7,31–7,64	7,25–7,54	6,85–7,41	Неоднозначное изменение	–
Лейкоциты/мкл	<200	<2000	6000–40 000	<200 000	<2000
Нейтрофилы	<25%	<25%	75%	80–95%	25%
Бактерии (посев)	Отрицат.	Отрицат.	Отрицат.	Положит.	Отрицат.
Общий белок	10–30 г/л	Норма	>40 г/л	30–60 г/л	20–30 г/л
Мочевая к-та	170–420 мкмоль/л	Норма	Норма	Норма	Норма
Глюкоза	3,3–5,3 ммоль/л	Норма	Снижена	1,1–1,7 ммоль/л	Норма
Кристаллы	Нет	Нет	Есть или нет	Нет	Нет
ЛДГ	<200 МЕ/л	Норма	>200 МЕ/л	>300 МЕ/л	<200 МЕ/л
Ревматоидный фактор	Отрицат.	Отрицат.	Положит./ отрицат.	Отрицат.	Отрицат.
Иммуноглобулины	≈ ½ значения плазмы	≈ ½ значения плазмы	Увеличены	Увеличены	В 2 раза выше нормы

- https://www.sysmex.co.uk/fileadmin/media/fioo/SEED/Sysmex_SEED_Body_fluid_cell_counts.pdf
- Чтобы устранить эти недостатки, мы впервые в литературе разработали микрофлюидную платформу (Synovial Chip) для обеспечения повторяемого, экономически эффективного и стандартизированного цитологического анализа синовиальной жидкости на основе специфических маркеров клеточной поверхности. Микрожидкостные каналы, функционализированные антителами против специфических антигенов клеточной поверхности, соединяют последовательно для захвата субпопуляций WBC, включая клетки CD4 +, CD8 + и CD66b +, одновременно из крошечных объемов (100 мкл) аспириатов синовиальной жидкости. Специфичность захвата клеток оценивали флуоресцентным мечением изолированных клеток в микроканалах и составляли около 90% для всех трех субпопуляций WBC. Кроме того, мы исследовали влияние вязкости синовиальной жидкости на эффективность захвата в микрофлюидных каналах и использовали обработку ферментом гиалуронидазой для снижения вязкости и повышения эффективности захвата клеток (> 60%) из образцов синовиальной жидкости. Synovial Chip позволяет эффективно и стандартизировать изоляцию и анализ субпопуляций лейкоцитов в крошечных объемах образцов синовиальной жидкости пациента в клинике.

- Лабораторные исследования синовиальной жидкости сложны и требуют высокой квалификации специалиста, изучающего биоматериал.
- Отсутствие алгоритмов и четких стандартов исследования синовиальной жидкости частично объясняется тем, что в рутинную работу данный тест не входит.
- Автоматизация лабораторных процедур может способствовать улучшению стандартизации производительности тестирования и сокращению не только времени выполнения работ, но и интерпретационных ошибок

Спасибо за внимание.

И пусть девизом вашей работы
будет:

- *Fais ce que dois, advienne, que
pourra*
- — *Делай, что должно, и будь, что
будет.*