

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ
УЗБЕКИСТАН**

ТАШКЕНТСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ

*Н.У. Исламова, Ф.Х. Иноятова, М.Ю. Каримов,
Исмаилов Н.У*

**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ СИНОВИТАХ**

(методические рекомендации)

Ташкент-2025

Главный разработчик: Ташкентская Медицинская Академия

Составители:

Иноятова Феруза Хидоятовна:

д.б.н., профессор кафедры Медицинской и биологической химии Ташкентской медицинской академии.

Каримов Мурод Юлдашевич :

д.м.н профессор кафедры Травматологии, ортопедии и ВПХ Ташкентской медицинской академии.

Исламова Нодира Улуғбековна:

Ассистент кафедры Медицинской и биологической химии Ташкентской медицинской академии.

Исмаилов Нурхон

Ассистент кафедры травматологии, ортопедии и ВПХ Ташкентской медицинской академии

Рецензенты:

Хужаназаров Илхом Эшкулович

д.м.н., доцент кафедры РесНИИ кафедра Травматологии и ВПХ медико педагогического факультета

Эргашев Адхам Тожимуродович

к.м.н., доцент кафедры медицинской и биологической химии Ташкентской медицинской академии.

Методическая рекомендация разработана и внедрена на кафедрах медицинской и биологической химии, травматологии, ортопедии и ВПХ, ЦНИЛ Ташкентской медицинской академии

Методическая рекомендация рассмотрена на заседании Ученого совета Ташкентской медицинской академии.

Протокол №__ от _____ г.

Проректор по научной работе и инновациям Ташкентской медицинской академии,

д.м.н.. профессор

Азизова Ф.Л.

Учёный секретарь Ташкентской медицинской академии,

д.м.н., профессор

Исмаилова Г.А.

Методическая рекомендация предназначена для биохимиков, травматологов, специалистов фундаментальной медицины, врачей-лаборантов, докторантов, независимых исследователей. Область применения: экспериментальная биология и медицина.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АСЛО	–	антистрептолизин О
ГАГ	–	глюкозаминогликаны
ИК	–	иммунный комплекс
ИЛ	–	интерлейкин
КК	–	контроль качества
ПВУС	–	пигментированный ворсинчато-узловой синовит
ПГ	–	посттравматический гемартроз
РА	–	ревматоидный артрит
СЖ	–	синовиальная жидкость
СКВ	–	системная красная волчанка
СРБ	–	С – реактивный белок
ЭДТА	–	этилендиаминтетраацетат
CD	–	кластер дифференцировки лимфоцитов
Ig	–	иммуноглобулин
CPPD	–	дигидропирофосфат кальция
MSUM	–	урат натрия

ВВЕДЕНИЕ

Высокая распространенность заболеваний суставов сопровождается обострением ряда медико-социальных проблем – повышение инвалидности, снижение трудоспособного возраста, изменение качества жизни и т.д. Так, в последние годы частота синовитов прогрессивно возрастает в связи с увеличением травм различного генеза, воспалительными заболеваниями суставов, поражением суставов при различных соматических заболеваниях, хирургических вмешательствах и введении различных препаратов в синовиальную полость [...]. Среди них коленный сустав занимает особое место, так как является наиболее травматичным и сложным суставом. По данным Всемирной Организации Здравоохранения, «...травмы коленных суставов среди травм частей тела занимают второе место (9%), а среди травм всех суставов - третье (до 50%)» (Зуби Ю.Х., Сайдалин Д.М., Курбансупиев М.Д., Сайдалина М.С., Алиходжаев С.С. Артроскопия коленного сустава при травмах // Вестник КазНМУ.-2015.- №2.-С. 305-308). В связи с особенностями внутренних структур суставов и проявлением различных клинических проявлений данные больные получают «...ежедневно до 50% медицинской помощи» (Kuikka P.I., Sillanpää P., Mattila V.M., Niva M.H., Pihlajamäki H.K. Magnetic resonance imaging in acute traumatic and chronic meniscal tears of the knee: a diagnostic accuracy study in young adults // Medicina (Kaunas),-2019. -Vol. 55, 10.P.45-55.). Согласно результатам, после артроскопического вмешательства, в 60-70% травм коленного сустава встречается повреждение хрящевого покрова (Aroen A., 2004). Частоты изолированных хрящевых повреждений составляет 30%, а сочетанное повреждение хряща и других внутрисуставных структур коленного сустава достигает 70%, в 35-58% случаев повреждение внутрисуставного хряща является результатом травматического, бесконтактного механизма травмы (Widuchowski W., 2007).

Все заболевания и повреждения коленного сустава сопровождающиеся синовитом, часто принимают хроническое течение [...]. Улучшение результатов лечения повреждений коленного сустава при наличии гемартроза зависит от точной и быстрой диагностики внутрисуставных повреждений и последующем выборе адекватного метода лечения. Биохимический анализ гемосиновиальной жидкости при острых травмах коленного сустава позволяет выявить нарушение в системе перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы (ПОЛ-АОС) в доклиническом этапе, прогнозировать исход заболевания и использовать оптимальную тактику лечения (...). Определение некротических субстанций в гемосиновиальной жидкости является прогностическим маркером тяжести повреждения структурных компонентов коленного сустава (...).

Однако исследование синовиальной жидкости (СЖ) до сих пор не нашло широкого применения, что, на наш взгляд, диктует необходимость создания методической рекомендации по изучению СЖ в травматологии и ортопедии. С другой стороны, высокая частота поражений коленного сустава

требует разработки диагностических и лечебных мероприятий по профилактике осложнений. Несмотря на разнообразие методов восстановления повреждений анатомических связок и внутренних структур, а также активное развитие хирургического подхода, остаются актуальными проблемы, такие как разработка прогностических маркеров оценки развития посттравматического остеоартрита, выбор сроков выполнения хирургических вмешательств и исхода заболевания. В связи с развитием диагностической артроскопии возможность получения СЖ, оценка биохимического ее состава и на их основе разработка диагностических критериев исхода синовитов коленного сустава является одной из актуальных проблем клинической медицины и лабораторной диагностики.

1. СИНОВИАЛЬНАЯ ЖИДКОСТЬ И ЕЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Синовиальная жидкость, как один из основных органоспецифичных компонентов каждого сустава, чутко реагирует изменением своего состава и свойств на любые внутрисуставные процессы. На современном этапе развития медицинской диагностики изучение изменений СЖ лабораторными методами остается наиболее информативным и доступным. Обобщая многочисленные литературные данные о диагностической ценности тех или иных методик исследований СЖ при различных заболеваниях как суставов, так и организма в целом, необходимо определить наиболее значимые. Первые упоминания о синовии в медицинской литературе можно найти в работах Авиценны (1020). С тех пор число публикаций, посвященных этой биологической жидкости, постоянно растет. В настоящее время исследование СЖ используется в следующих областях: диагностика (дифференциальная) заболеваний суставов, оценка активности патологического процесса в суставе, оценка динамики патологического процесса в суставе, оценка эффективности терапии внутрисуставной, решение исследовательских задач.

СЖ образуется из трех источников: 1) содержащий воду транссудат крови, электролиты, протеины; 2) продукты секреции синовиальных клеток покровного слоя оболочки — гиалуроновую кислоту и протеолитические ферменты; 3) продукты изнашивания и смены клеток и основного вещества синовиальной оболочки — в основном протеогликаны и гликопротеиды, постоянно поступающие в полость сустава в процессе его нормальной жизнедеятельности. К основным функциям СЖ относятся метаболическая, локомоторная и трофическая. Метаболическая заключается в осуществлении обмена между содержимым полости сустава и сосудистым руслом, а также в уничтожении чужеродных и ряда аутоантигенов. Локомоторная функция связана с выделением биологической «смазки» суставов, что обеспечивает идеальное скольжение суставных поверхностей. Трофическая функция заключается в транспортировке важнейших энергетических веществ в хрящевую ткань. Синовиальная жидкость отражает процессы, происходящие в хряще и синовиальной оболочке, очень тонко реагирует на малейшие

нарушения в сочленении изменением своих физико-химических характеристик и клеточного состава. Поэтому лабораторное исследование СЖ имеет принципиальное значение в диагностике заболеваний суставов и при хроническом синовите. Особенно важно подчеркнуть, что нередко типичные изменения в СЖ появляются до развития определенной клинической картины. В связи с этим комплексное лабораторное изучение СЖ, составляющей синовиальную среду сустава, является залогом для понимания сущности происходящих в нем изменений.

Лабораторный анализ предусматривает определение физико-химических характеристик СЖ, а также проведение микроскопического, цитологического, биохимического, бактериоскопического, бактериологического, иммуноферментного и других исследований. Определяют количество, цвет, прозрачность, вязкость, муциновый сгусток, рН, оптическую плотность. Визуальную оценку состояния СЖ и ее вязкости делают уже во время пункции. Вследствие утраты или снижения вязкости она вытекает из иглы свободно. Органолептическая оценка свойств синовиальных выпотов дает лишь ориентировочное представление о характере патологии, поскольку схожие изменения.

В норме количество СЖ в суставе невелико, и это вызывает определенные проблемы в ее изучении. При заболеваниях суставов объем синовиальной жидкости увеличивается, образуя суставной выпот. 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, целесообразно применять местные анестетики, или во время артроскопических исследований. Для получения адекватного результата проведение анализа СЖ должно проводиться как можно скорее после ее получения. Возможно хранение СЖ в шприце с минимальным количеством воздуха в холодильнике до суток без существенного изменения многих параметров, а для более длительного хранения необходимо ее замораживание при -70°C .

Лабораторное исследование синовиальной жидкости

Собственно лабораторное исследование синовиальной жидкости (аналитический этап) проводится по всем правилам, принятым в клинической лабораторной диагностике при анализе любых экссудатов. Стандартное лабораторное исследование синовиальной жидкости включает в себя следующие этапы:

- биохимический анализ
- иммуноферментный
- макроскопический анализ (оценка физико-химических свойств: объем, цвет, характер, вязкость, мутность, рН, муциновый сгусток),
- подсчет количества клеток,
- микроскопия нативного препарата,
- цитологическое исследование окрашенного препарата.

Физические свойства синовиальной жидкости. Нормальная СЖ имеет

соломенно-желтый цвет, ее окраска может оставаться желтой при артритах, болезни Бехтерева. В условиях патологии цвет синовии меняется в зависимости от характера суставного выпота (серозный, геморрагический, фибринозный, смешанный). При вторичных синовитах она приобретает янтарный цвет, а при ревматоидном и псориатическом артрите изменяется от желтого до зеленого. Желто-зеленой СЖ может быть при инфекционных и подагрических поражениях суставов. В случаях септического или травматического повреждения окраска синовии приобретает кровавистый цвет различной степени выраженности. При пигментированном ворсинчато-узловом синовите суставной выпот имеет коричнево-красный цвет. В динамике процесса отмечается восстановление окраски СЖ. В отличие от простого кровоизлияния при гемартрозе пунктат содержит капельки жира, сливкообразный характер синовиальной жидкости наблюдается при внутрисуставных переломах, а золотистый ее оттенок свидетельствует о наличии в нем холестерина.

В норме СЖ прозрачна и сохраняется такой при некоторых заболеваниях. Мутность характерна для ревматоидного, псориатического или септического артритов. Мутность можно определить визуально, нефелометрически или спектрофотометрически, с последующей бальной оценкой: 1 - прозрачность, 2 - легкая мутность, 3 - мутность.

Вязкость обеспечивает нормальную подвижность сустава, снижает трение и обеспечивает функциональную конгруэнтность. Она значительно колеблется в зависимости от рН, концентрации солей, степени полимеризации гиалуроновой кислоты, температуры. В норме вязкость достаточно высока, также как и при травматическом артрите, системной красной волчанке, при наличии геберденовских узелков. Этот параметр снижается при ревматизме, ревматоидном, подагрическом и псориатическом артрите, болезни Рейтера, артрозах, анкилозирующем спондилоартрите, в меньшей степени – при посттравматических артритах. Вязкость можно определить и количественно, выражая ее изменения в условных единицах: 1 - высокая вязкость, 2 - умеренная вязкость, 3 - крайне низкая вязкость.

Одним из важных свойств СЖ является ее способность к образованию муцинового сгустка после смешивания с уксусной кислотой. Существует несколько типов его формирования – от плотного («очень хорошего») до рыхлого («бедного»), что зависит от концентрации муцинов и муциноподобных веществ, которая увеличивается при воспалений. Поэтому рыхлый сгусток всегда указывает на наличие воспалительного процесса в суставе (ревматоидный артрит и другие заболевания), хотя следует отметить, что существуют более совершенные его индикаторы (лейкоцитоз).

Цитологическое исследование. Микроскопическому исследованию подвергают как нативный, так и окрашенный препараты. Техника их приготовления стандартная. Исследование нативного препарата позволяет ориентировочно оценить содержание клеточных элементов, выявить рагоциты и неклеточные частицы. Неклеточные частицы СЖ могут быть подразделены на экзогенные - шипы растений, иглы животных, фрагменты

искусственных кристаллов (компонентов эндопротезов при их имплантации: метилметакрилат, углеродистые волокна и другая металлическая пыль), суспензии лекарственных препаратов (кортикостероиды), и эндогенные - фрагменты хряща, менисков. Следует отметить, что появление компонентов эндопротезов в СЖ является прогностическим признаком развития его нестабильности. Среди эндогенных компонентов СЖ важнейшим элементом, имеющим принципиальное клиничко-диагностическое значение, являются кристаллы урата натрия, пирофосфата кальция, холестерина, липидов, оксалата кальция, гематоидина, цистина, криоглобулинов, Шарко-Лейдена. В СЖ могут встретиться амилоидные тельца, капли нейтрального жира. Для их идентификации при необходимости используют специальные методы окраски.

Существенное диагностическое значение имеет подсчет числа клеток в СЖ, который проводится по общепринятым правилам и составляет в норме 10-100 клеток/мкл. Определение цитоза можно проводить ручным (подсчет в камере Горяева) или автоматическим способами с использованием анализаторов. Для этих целей использовать целесообразно использовать свежие образцы (Salinas M. et al., 1997). Содержание клеток в СЖ невелико и колеблется от 13 до 180 в 1 мм³ [11, 12, 20]. Клетки синовии происходят из клеток самой синовиальной оболочки и крови (их соотношение — 51/49). По данным работы [11], клетки СЖ находятся на различных стадиях жизненного цикла: одни из них жизнеспособны, другие — в состоянии распада. 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 синовиоцитогаммы.

Цитоз является одним из наиболее чувствительных диагностических критериев, позволяющих дифференцировать «воспалительные» и «невоспалительные» заболевания и оценивать динамику патологического процесса (Freemont A.J., 1996). Повышение числа лейкоцитов в синовиальной жидкости характерно для острого периода любого воспалительного артрита, умеренный цитоз отмечен при псевдоподагре, синдроме Рейтера, псориатическом и других артритах. Если в СЖ цитоз превышает 50000 клеток/мкл наблюдается бактериальная обсемененность и указывает на инфекционный (бактериальный) артрит, поэтому целесообразным является проведение бактериологического посева. В то же время в случае, если СЖ прозрачна, цитоз составляет менее 2000 клеток/мкл как правило оказывается отрицательными результаты бактериологического.

Синовиоциты - клетки покровного слоя синовиальной оболочки, которые гистогенетически относятся к фибробластам. Это крупные клетки (9x17 мкм) неправильной формы с овальным или округлым ядром, имеющим глыбчатую структуру хроматина. Цитоплазма ортохромна, иногда содержит зернистость в перинуклеарной зоне. Данный вид клеток характеризуется определенным морфо-функциональным полиморфизмом. Различают три вида синовиоцитов: типа А (макрофагальные синовиоциты, способнее к

фагоцитозу), типа В (синовиальные фибробласты, способные к синтезу и секреции гиалуроновой кислоты) и смешанные (переходные) формы, сочетающие эти оба свойства.

Гистиоциты - клетки крупных размеров с округлым компактным ядром, мелкозернистой цитоплазмой. Их содержание при пигментированном ворсинчато-узловом синовите (ПВУС) достигает 32-39%. В редких случаях выявляются тучные клетки, уровень этих клеток повышается при остеоартрите. Содержание лаброцитов коррелирует с объемом суставного выпота, их наличие придает клетке «ячеистый» вид, увеличение их количества о развитии ревматоидного артрита (РА). Единичные рагоциты могут встречаться при септических артритах и воспалительных артропатиях. При РА содержание гранулоцитов достигает 90%, тогда как содержание лимфоцитов снижается, составляя менее 10%, особенно при серопозитивном варианте течения заболевания (Насонова В.А. и соавт., 1989, Захарова М.М. и соавт., 1988). Такую же картину можно наблюдать и при анкилозирующем спондилоартрите (Яковлева А. А., 1991), а при токсико-аллергических синовитах, синовиальной форме туберкулеза, артритах паранеопластической природы в синовиальной жидкости в больших количествах выявляются мононуклеары, при артритах вирусной этиологии появляется атипичные лимфоциты, содержание которых достигает 20% (Torisu T. Et al., 1992).

Для оценки активности воспалительного процесса на основе цитологических данных предложена формула P.Stiehl (1981):

$$A = \text{цитоз}/2000 + \text{нейтрофилы}/10 + \text{рагоциты}/10$$

При показателе активности (А) менее 1,5 - 0 степень активности, при значении А от 1,5 до 5,0 – 1-я степень, при значении 5-18 – 2-я степень, а при показателе выше 18 – 3-я степень активности процесса. В ряде случаев цитологическое исследование СЖ может ограничиться лейкоцитарной формулой. Рекомендуются также подсчет в количества жизнеспособных и разрушенных клеток. В норме количество разрушенных клеток достаточно велико. Их можно дифференцировать с помощью суправитальной окраски нейтральным красным. Жизнеспособные клетки способны накапливать в цитоплазме гранулы красителя, а ядро и контуры клетки при этом не окрашиваются, тогда как разрушающиеся клетки диффузно окрашиваются в красный цвет. В норме их количество составляет 20-40%. Подсчет клеточных элементов и их соотношений является одним из важнейших компонентов лабораторного обследования пациента с суставной патологией.

Элементы злокачественных новообразований обнаруживают в виде однотипных или полиморфных клеток разных размеров, в цитоплазме которых выявляется вакуолизация или жировая инфильтрация. Цитоплазма атипичных клеток окрашивается базофильно. В зависимости от рака или саркомы клеточные элементы могут располагаться в виде скоплений либо в виде компактных округлых или сосочковидных групп. Некоторые клетки злокачественных новообразований выглядят как перстневидные. Выявление в нативном или окрашенном препарате фагоцитов свидетельствует об имеющем место ревматоидном процессе [3]. Фагоциты обнаруживаются в

95% случаев заболевания и представляют собой поли- или мононуклеары, цитоплазма которых содержит гранулезные включения (от 3 до 10), подобные виноградным зернам. Такие включения содержатся в лейкоцитах (2—90%). Изменение количественного соотношения клеток СЖ не является специфическим, однако оно позволяет дифференцировать воспалительный и невоспалительный процесс, а также судить о степени воспаления. О воспалительных изменениях в синовии свидетельствуют увеличение содержания нейтрофилов (50-93%), низкое содержание лимфоцитов (0-8%). При исследовании СЖ больных ПВУС [17] обнаружено значительное количество лимфоцитов (свыше 28%) и низкое содержание нейтрофилов (до 10%), от 15 до 55% гистиоцитов, что позволяет предположить иммунный характер заболевания. В дегенеративно измененных суставах в отсутствие обострения синовиоцитогамма приближается к нормальной.

Важно при этом отмечать и клеточные элементы, не содержащиеся в нормальной синовии. К ним относят, например, атипичные клетки, LE-клетки и некоторые другие. LF-клетки – нейтрофилы, содержащие фагоцитированный гомогенный ядерный материал и встречаются при системной красной волчанке (СКВ) примерно у половины больных (Shumacher H.R. et al., 1995). Атипичные клетки (лейкозные клетки) в СЖ встречаются довольно редко, однако содержание их возрастает при лейкоемических артритах. Они образуют инфильтраты в синовиальной оболочке. Выявление таких лимфоцитов непрямым иммунофлуоресцентным методом полезно для ранней диагностики лейкоемического синовита или артрита (Fam A.G. et al., 1991, Fort J.G. et al., 1992).

Тонким и точным индикатором глубины и активности патологического процесса служит цитохимическая активность СЖ. В активной фазе РА резко повышена активность щелочной и кислой фосфатаз, миелопероксидазы и снижен уровень катионных белков. Эффективное лечение сопровождается восстановлением цитохимических показателей нейтрофилов синовии. О мнении Фишер А.А. и соавт. (1990), цитохимические исследования более чувствительны и специфичны, чем рутинные клинико-лабораторные показатели.

Идентификация кристаллов в синовиальной жидкости. В последние годы при исследовании СЖ особое значение уделяется выявлению в ней кристаллов. В биологических жидкостях и тканях организма может быть идентифицировано большое количество разнообразных кристаллических образований. Однако принципиальное диагностическое значения при исследовании СЖ имеют только два типа: кристаллы урата натрия (MSUM) и дигидропирофосфата кальция (CPPD). Кристаллы уратов обычно обнаруживаются при подагре, дигидрофосфата кальция - при псевдоподагре (Swan A. et al., 1995). Эти кристаллы могут быть выявлены при микроскопии нативного препарата синовии в поляризованном свете. При идентификации кристаллов отмечают их форму, размер, длину и оптические характеристики (двулучепреломление). Кристаллы необходимо выявлять в свежих (нативных) образцах СЖ, особенно после центрифугирования, так как

кристаллы выходят из фагоцитов.

Ураты натрия (MSUM) имеют вид длинных игл или пучков прутьев, длиной 1–20 мкм, часто выявляются в нейтрофилах, где их число наиболее значительно увеличивается при острых атаках подагры. Кристаллы дигидропирофосфата кальция (CPPD) имеют разнообразную форму и очень мелкие размеры. Иногда кристаллы могут образовывать сферические агрегаты в виде «пляжного мяча». К другим кристаллическим образованиям относят: кристаллы гидроксиапатита, холестерина и липидных капель, оксалата кальция, кристаллы гемоглобина и гематоидина, криоглобулинов и Шарко-Лейдена. Кристаллы гидроксиапатита играют важную патогенетическую роль и диагностическое значение при остеоартрозе (Carroll G.J. et al., 1991); холестерол и липидные капли выявляются при нарушениях липидного обмена (Fam A.G. et al., 1981); оксалат кальция обнаруживается при почечной недостаточности (Hoffman G.C. et al., 1982), кристаллы гемоглобина и гематоидина – при гемартритах; кристаллы криоглобулинов – при эозинофильном артрите, кристаллы Шарко-Лейдена образуются с участием эозинофильной фосфолипазы при аллергических (эозофильных) синовитах. В последние годы делаются попытки оценивать содержание кристаллов в СЖ с использованием счетных камер типа Нейбауэра.

Микробиологическое исследование. Микробиологическое исследование включает в ориентировочный тест - бактериоскопию препаратов, окрашенных по Грамму, и классические культуральные методики. Бактериоскопия имеет лишь вспомогательное значение, поскольку при подозрении на микробный характер воспаления требуется выполнение стандартного бактериологического исследования. В то же время при микроскопии мазка СЖ могут быть обнаружены гонококки при гонококковом артрите; грамположительных кокков, объединенных в гроздь, - при стафилококковой инфекции; стрептококки, грамотрицательные палочки и другие - инфекционных артритов; при грибковых артритов - мицелий грибка (кандидамикоз, аспергиллез). Для исключения туберкулезного характера процесса осадок СЖ может быть окрашен карболовым фуксином по Цилю-Нильсену или подвергнут иммунолюминесцентному исследованию. Для выявления различных микроорганизмов можно применять иммуноферментные методы и молекулярно-биологическая диагностика (полимеразная цепная реакция).

Иммунологическое исследование. В последние годы синовиальную среду сустава (вместе с синовиальными оболочками) рассматривают в качестве одного из периферических звеньев иммунной системы. В СЖ можно определить таких иммунологические параметры, как АСЛО, ревматоидный фактор, комплемент, С-реактивный белок (СРБ), иммуноглобулины (Ig) и других при заболеваниях суставов, что связано с «местной» продукцией этих факторов (табл. 2). Так, СРБ является одним из важнейших острофазовых реактантов и его уровень при заболеваниях суставов повышается как в сыворотке, так и СЖ, особенно при ревматоидном и реактивном артритов, микрокристаллических синовитах.

Иммуноглобулины в нормальной СЖ содержатся в незначительном количестве, их уровень повышается при воспалительных процессах, а снижается – при остеоартрозе. Целесообразным является рассчитывать соотношение СРБ/IgG, которое существенно снижается при РА (Shine B, et al, 1991). Причем при развитии патологического процесса происходит уменьшение количества α -глобулинов и увеличение содержания γ - и β -глобулинов [18]. В СЖ пациентов с гонартрозом обнаружены Ig всех трех классов в значениях, приближающихся к нижней границе нормы для сыворотки крови [15]. Наличие IgM, который не определяется в синовиальной среде здоровых суставов, обусловлено постоянной аутоиммунной реакцией характера трудовой деятельности, оценку уровня физической активности [23].

Биохимические исследования. При воспалительных заболеваниях наблюдается увеличение концентрация общего белка в суставном ликворе, что приводит к снижению поверхностного натяжения СЖ и изменению ее адсорбционно-реологических свойств [6]. Так как СЖ является неньютоновской жидкостью, которая состоит из крупных молекул гиалуроновой кислоты, обеспечивающих ее вязкость и эластовискозные свойства. При всех заболеваниях суставов наблюдается снижение вязкости СЖ, что связано с деполимеризацией гиалуроновой кислоты или же с образованием низкополимерных гиалуронатов вследствие нарушения процессов синтеза [6]. В первую очередь процессы деполимеризации вызываются действием лизосомальных ферментов и перекисных радикалов.

В ряде работ отмечается, что при гонартрозе в СЖ больных наблюдается изменение электролитного состава [24, 9, 15]. Результаты исследования показали снижение концентрации фосфат-ионов на 40% относительно нормы, понижение концентрации ионов кальция на 24-29% в зависимости от стадии остеоартроза в коленном суставе и повышение на 20% интегрального показателя Ca^{2+}/PO_4^{3-} . При этом статистически значимо отличались от нормы – содержание фосфат ионов и соотношение Ca^{2+}/PO_4^{3-} [9].

Таким образом, при развитии дегенеративно-дистрофического процесса в суставах отмечается изменение физико-химических свойств СЖ, поэтому их оценка может служить как критерием развития хронического синовита коленного сустава.

В связи с этим, **целью данной методической разработки** явилось на основе изучения биохимических показателей синовиальной жидкости больных с хроническим синовитом коленного сустава разработать диагностические критерии прогнозирования исхода патологии.

Материалы и методы исследования.

В исследования были включены 50 пациентов с синовитами коленного сустава, поступившие в отделение травматологии 2-й клиники ТМА. Среди с острым процессом было 24 (48%), хроническим синовитом коленного сустава 26 (52%). Из общего количества больных мужчин было 28 (56%) и 22

(44%) женщин. Пациенты были в возрасте от 25 до 69 лет, средний возраст составил при остром процессе $42,42 \pm 2,15$ лет, хроническом – $49,46 \pm 2,60$ лет. Распределение пациентов по возрасту и полу проводили в соответствии с рекомендациями ВОЗ (2018): в основном преобладали лица пожилого возраста. В группе пациентов с острым синовитом было 14 (58,3%) мужчин (из них 85,7% среднего возраста) и 10 (41,7%) женщин (все 100% женщин были пожилого возраста). В группе пациентов с хроническим синовитом было 14 (53,8%) мужчин (57,1% мужчин среднего возраста) и 12 (46,2%) женщин (33,3% женщин среднего возраста и 66,7% пожилого возраста). Как видно из приведенных данных, острые синовиты коленного сустава в основном были характерны для мужчин среднего возраста, тогда как хронические – для мужчин как среднего, так и пожилого возраста, у женщин – пожилого возраста.

Определяли индекса массы тела (ИМТ) пациента, длительность хронического синовита, предыдущие травмы пораженного сустава, наследственную отягощенность остеоартритом (ОА) и наличие каждого из них выражали в баллах. Диагноз хронический синовит коленного сустава устанавливали совместно с травматологами на основании клинико-анамнестических данных, МРТ-исследования и артроскопически, позволяющие судить о наличии внутрисуставной патологии. Для оценки состояния хрящевого покрова коленного сустава использовалась описанная выше классификация Bauer-Jackson. При оценке повреждений менисков использовалась классификация ISAKOS.

Материалом исследования служила периферическая кровь больного и синовиальная жидкость, взятая вовремя артроскопии. Было проведено биохимическое определение содержания общего белка, альбуминов, СРБ на биохимическом анализаторе с использованием биотестов фирмы ЛАХЕМА, а также его клеточный состав путем микроскопии. Для выяснения молекулярных механизмов повреждения суставного хряща также мы определили содержания гипоксией индуцированного фактора-1-альфа (HIF-1 α) и провоспалительного цитокина фактора некроза опухоли-альфа (TNF α) в сыворотке крови и синовиальной жидкости иммуноферментным методом на иммуноферментном анализаторе ELIZA с использованием тест-систем фирмы производителя. В качестве сравнения мы использовали данные литературы и референтные значения производителей тест-систем. Цифровой материал обработан методом вариационной статистики с использованием пакета программ Statistika.

Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования показали некоторые различия изучаемых показателей в зависимости от течения синовита. Так, если изменение окраски СЖ с переходом в красный при ОСКС наблюдался у 50% обследованных и было связано с механической травмой и развитием гемосиновита, то при хроническом течении 30,8% случаях он был красный, в 7,7% - молочный и в

61,5% - соломенно-желтый. При этом если при остром синовите в 33,3% СЖ была мутной, то при хроническом течении в 46,2% случаях оказалась мутной. В норме СЖ должна быть светло-желтой и прозрачной. Следует отметить, что выявленные изменения физических параметров СЖ при остром и хроническом течении связаны с тем, в отличие от простого кровоизлияния при гемартрозе пунктат содержит капельки жира, так как у большинства больных с хроническим синовитом был диагностирован также артроз коленного сустава. Сливкообразный характер синовиальной жидкости у двух пациенток был связан инвалидностью несмотря на молодой возраст, отмечена высокая концентрация холестерина и выявлены кристаллы Шарко-Лейдига и высокая клеточность.

В норме с СЖ количество лейкоцитов не должно превышать 200 в 1 мкл. В наших исследованиях количество лейкоцитов колебалось в широких пределах (120:16840 в 1 мкл, в среднем составляя $3816,4 \pm 1348,7$ в 1 мкл), при этом в 12,5% количество их было до 200 в 1 мкл, в 62,5% от 200 до 2000 в 1 мкл, свидетельствуя о невоспалительном генезе, в 25% - свыше 2000 в 1 мкл – о наличии воспалительного генеза. При хроническом синовите содержание лейкоцитов колебалось с 320 до 24200 в 1 мкл, составляя в среднем $6909,1 \pm 1555,7$ в 1 мкл. У 61,5% пациентов количество лейкоцитов в СЖ составило от 200 до 2000 в 1 мкл, в 38,5% случаях - свыше 2000 в 1 мкл. Следует сказать, что значительное увеличение количества лейкоцитов совпадало с высокой мутностью СЖ обследованных пациентов.

В нормальной СЖ не должны быть эритроциты. У пациентов с острым течением синовита коленного сустава количество эритроцитов в СЖ колебалось от 3 до 364 в 1 мкл, составляя в среднем $73,50 \pm 26,42$ в 1 мкл. При этом в 66,7% случаях их содержание не превышало 20 в 1 мкл, в 16,7% случаях достигало до 100 и в 16,7% случаях превышало эти значения, свидетельствуя о наличии гемосинусита. У пациентов с хроническим течением синовита коленного сустава количество эритроцитов в СЖ колебалось от 4 до 3200 в 1 мкл, составляя в среднем $439,27 \pm 213,19$ в 1 мкл. При этом в 76,9% случаях их содержание не превышало 20 в 1 мкл, в 3,8% случаях достигало до 100 и в 19,2% случаях превышало эти значения. У пациентов с острым течением синовита коленного сустава в СЖ в 25% единичные полинуклеары, рагоциты (25%), гистиоциты (33,3%) и макрофаги (16,7%), тогда как при хроническом течении они выявлялись чаще (полинуклеары, рагоциты, гистиоциты и макрофаги в 38,5; 57,7; 46,1 и 38,5%, соответственно) и в значительных количествах. Наряду с этим выявлялись различные кристаллы: при остром течении у 83,3% (оксалаты – 16,7%, кристаллы мочевой кислоты – 66,7%), при хроническом течении у 100% (оксалаты – 7,7%, кристаллы мочевой кислоты – 84,6%, кристаллы Шарко-Лейдига – 7,7%).

Согласно данным литературы, в норме в СЖ содержание общего белка не превышает 10-20 г/л, составляя в среднем $14,9 \pm 1,22$ г/л. В основном он представлен альбуминами и глобулинами, альбуминово-глобулиновый коэффициент составляет 0,5-2,0 (Матвеева...). Проведенные нами

исследования показали, что в СЖ пациентов с острым течением синовита коленного сустава содержание общего белка составило в среднем $38,12 \pm 1,92$ г/л, варьируя от 11,3 г/л до 48,9 г/л. Если только у 8,8% пациентов данный показатель был в пределах 20 г/л, то у остальных 91,2% больных превышал нормативные значения. В то же время у пациентов с хроническим течением синовита содержание общего белка составило $45,55 \pm 2,57$ г/л, варьируя в пределах от 20 г/л до 71,2 г/л. При этом у 7,7% пациентов он был до 20 г/л, у 50% - от 21 до 50 г/л и у 42,3% свыше 50 г/л. Это явление объясняется не только повышенной проницаемостью синовиальной оболочки при воспалении, но и усилением продукции γ -глобулинов синовиальными клетками. Увеличение содержания белка выше 30 г/л отмечено при подавляющем большинстве заболеваний, протекающих с явлениями синовита. Уровень общего белка в СЖ также повышается при дегенеративных заболеваниях и посттравматических артритах. Увеличение концентрации белка в СЖ наблюдается и в процессе деградации суставного хряща (Myges S.L. et al., 1996).

Особое значение имеет увеличение концентрации острофазовых белков: СРБ, α -антитрипсина, церулоплазмина и др. (Карей Хю., 1990; Масленникова Е.Ю. и соавт., 1985; Найденов Т. и соавт., 1985). Согласно данным литературы и нормативным величинам производителей тест-систем, содержание СРБ в СЖ составляет от 0 до 6 мг/л. Проведенные нами исследования показали, что в СЖ больных с острым синовитом коленного сустава данный показатель возрос до $65,03 \pm 12,51$ мг/л, варьируя от 12 мг/л до 240 мг/л. У 41,7% пациентов содержание СРБ не превышало 50 мг/л, у 41,7% - от 51 до 100 мг/л, а у 16,7% пациентов составил свыше 100 мг/л и это были тяжелые травмы коленного сустава с повреждением мениска, высокой степенью мутности с высоким содержанием лейкоцитов и белка. При анализе СЖ больных с хроническим синовитом содержание СРБ в среднем составило $90,42 \pm 10,60$ мг/л, варьируя от 25,3 мг/л до 198 мг/л. У 30,8% пациентов содержание СРБ не превышало 50 мг/л, у 23,1% - от 51 до 100 мг/л, а у 46,2% пациентов составил свыше 100 мг/л и это были тяжелые двухсторонние остеоартриты 2-4 степени выраженности, дегенеративные изменения медиальных менисков, хондромалиция хряща, Пателло феморальный артроз. Окраска СЖ приобретала молочно-сливовый оттенок с высоким содержанием лейкоцитов, белка и кристаллов, особенно уратов. Согласно данным литературы, СРБ является одним из важнейших острофазовых реактантов и его уровень при заболеваниях суставов повышается как в сыворотке, так и в СЖ, особенно при ревматоидном и реактивном артрите, микрокристаллических синовитах (...).

Подтверждением вышесказанному является также изменение уровня TNF- α в СЖ обследованных больных. Согласно рекомендациям фирмы-производителя его уровень в СЖ не должен превышать 10 пг/мл. В наших исследованиях его значения при остром синовите коленного сустава возросли до $85,63 \pm 7,81$ пг/мл, варьируя от 26,1 пг/мл до 158 пг/мл. У 25% пациентов содержание TNF- α не превышало 50 пг/мл, у 50% - от 51 до 100

пг/мл, а у 25% пациентов составил свыше 100 пг/мл и это были тяжелые травмы коленного сустава с повреждением мениска, высокой степенью мутности с высоким содержанием лейкоцитов и белка. При анализе СЖ больных с хроническим синовитом содержание TNF- α в среднем составило $103,9 \pm 9,5$ пг/мл, варьируя от 30,6 пг/мл до 195 пг/мл. У 15,4% пациентов содержание TNF- α не превышало 50 пг/мл, у 38,5% - от 51 до 100 пг/мл, а у 46,1% пациентов составил свыше 100 пг/мл и это были тяжелые двухсторонние остеоартриты 2-4 степени выраженности, дегенеративные изменения медиальных менисков, хондромалиция хряща, Пателло феморальный артроз. Окраска СЖ приобретала молочно-сливовый оттенок с высоким содержанием лейкоцитов, белка и кристаллов, особенно уратов. По сравнению с СРБ диагностическая значимость TNF- α была несколько выше.

Другим важным параметром, характеризующим состояние СЖ, является уровень глюкозы. Это более специфичный, но менее чувствительный индикатор воспаления суставов, так как уровень глюкозы в СЖ заметно падает при воспалительных артропатиях (Shmerling R.H. et al., 1990). Согласно данным литературы, данный показатель в среднем составляет 3,5 – 5,5 ммоль/л. В наших исследованиях у пациентов с острым синовитом коленного сустава в СЖ содержание глюкозы составило $3,91 \pm 0,15$ ммоль/л, варьируя от 2,2 ммоль/л до 4,52 ммоль/л. При этом уровень глюкозы до 3,5 ммоль/л был установлен у 16,7% пациентов и выше 3,5 ммоль/л – у 83,3% больных. У пациентов с хроническим синовитом коленного сустава уровень глюкозы в крови в среднем составил $4,01 \pm 0,30$ ммоль/л, варьируя от 1,23 ммоль/л до 6,24 ммоль/л. При этом уровень глюкозы до 3,5 ммоль/л был установлен у 38,5% пациентов и выше 3,5 ммоль/л – у 46,1% больных, у 7,7% пациентов превышал верхние границы нормы. Учитывая, что в суставной хрящ представляет бессосудистую зону, то в ней преобладает анаэробный гликолиз. Выявленное нами снижение уровня глюкозы в СЖ до 3,5 ммоль/л указывает на наличие воспалительного процесса с развитием дегенеративных процессов, то у 2 пациентов с высоким уровнем глюкозы был диагностирован сахарный диабет 2 типа.

Хорошо известно, что суставной хрящ представляет собой бессосудистую ткань, которая получает питание и снабжение кислородом путем диффузии из синовиальной жидкости и субхондральной кости. Хондроциты на суставной поверхности подвергаются воздействию приблизительно от 6 до 10% O₂, тогда как хондроциты в самых глубоких слоях суставного хряща могут иметь доступ только к 1-6% O₂ или меньше (...). В связи с этим суставные хондроциты способны извлечь до 75% от их потребности АТФ из анаэробного гликолиза, обеспечивая их адаптации к низкому O₂ в окружающей среде (...).

Роль кислорода как важного модулятора экспрессии генов в литературе хорошо известна. Основным регуляторным фактором гена, который реагирует на изменения в уровнях O₂ является HIF-1. HIF-1 α экспрессируется в нормальных хондроцитах человека (...). Он может быть дополнительно индуцирован в суставных хондроцитах гипоксией или при воздействии

TNF α . Согласно данным литературы, относительно высокая конститутивная экспрессия HIF-1 α хондроцитами может быть важной адаптацией к выживанию в бессосудистой гипоксической среде хряща, а модуляция уровней HIF-1 α с помощью TNF α может иметь важное значение для метаболизма хондроцитов во время дегенеративного заболевания суставов (...).

В синовиальной жидкости в норме согласно данным литературы и рекомендациям фирмы-производителя содержание HIF-1 α составляет менее 50 пг/мл. Проведенные нами исследования показали, что содержание HIF-1 α в у пациентов с острым синовитом составляет $98,99 \pm 9,01$ пг/мл, варьируя от 26,18 пг/мл до 172 пг/мл. При этом у 8,3% больных содержание HIF-1 α не превышало 50 пг/мл, у 50% - от 51 до 100 пг/мл и у 41,7% - свыше 100 пг/мл. У больных с хроническим синовитом составляет $174,37 \pm 34,98$ пг/мл, варьируя от 62,84 пг/мл до 646,17 пг/мл. При этом у всех пациентов уровень данного фактора превышал нормативные величины: у 38,5% больных содержание HIF-1 α было в пределах до 100 пг/мл, у 46,1% - от 100 до 300 пг/мл и у 15,4% - свыше 300 пг/мл. У этих больных диагностирован остеоартрит обоих коленных суставов 3-4 степени, дегенеративный разрыв медиальных менисков, хондромалиция 3-4 степени, дефект хряща, Пателло-фemorальный артроз обоих коленных суставов. В области бедра и голени вены варикозно расширены диаметром 5.0 мм без признаков тромбоза. В подколенной области лоцируется киста Бейкерава размерами 15.0-40.0 мм.

На основе проведенных исследований мы предлагаем использовать следующие показатели СЖ: уровень СРБ, TNF α и HIF-1 α , наиболее четко отражающие состояние компонентов суставного хряща. При этом, на наш взгляд, для оценки степени повреждения сустава необходимо определять выраженность повышения вышеперечисленных показателей.

Значения СРБ в синовиальной жидкости:

- 1) содержание СРБ 0 до 6 мг/л – нормальные показатели;
- 2) до 50 мг/л – умеренное повреждение;
- 3) от 51 до 100 мг/л – высокая степень повреждения+ остеоартроз;
- 4) свыше 100 мг/л – выраженные дегенеративные изменения.

Значения TNF- α в синовиальной жидкости:

- 1) содержание TNF- α от 0 до 10 пг/мл - норма;
- 2) до 50 пг/мл – умеренное воспаление;
- 3) от 51 до 100 пг/мл – выраженные изменения+остеоартроз;
- 4) свыше 100 пг/мл - выраженные дегенеративные изменения.

Содержание HIF-1 α в синовиальной жидкости:

- 1) от 0 до 50 пг/мл – норма;
- 2) от 51 до 100 пг/мл – умеренная гипоксия;
- 3) от 100 до 300 пг/мл – выраженные нарушения микроциркуляции и гипоксия;
- 4) свыше 300 пг/мл – венозный застой, дегенеративные процессы.

Расчет экономической эффективности

Достижения инновационных методов диагностики с использованием

СЖ, получаемой во время артроскопии, позволяют проводить раннюю диагностику степени выраженности воспалительного процесса и разработать дифференцированные подходы к лечению синовитов коленного сустава и прогнозировать исход лечения. Это позволит повысить качество жизни пациента, улучшить его трудоспособность и снизить показатели инвалидности. Это имеет важное социальное значение.

Выводы

1. Исследование синовиальной жидкости путем изучения традиционных физико-химических характеристик и клеточного состава не дают полной информации о состоянии хондроцитов коленного сустава, дифференцировать тяжесть артрита и риск развития артроза.
2. Более эффективным является определение содержания СРБ, TNF α и HIF-1 α , наиболее четко отражающие состояние компонентов суставного хряща, степень гипоксии нарушений микроциркуляторного русла.
3. Для оценки степени нарушений в коленном суставе необходимо учитывать степень увеличения вышерепечисленных показателей.

Практические рекомендации

На основе проведенных исследований мы предлагаем использовать следующие показатели СЖ: уровень СРБ, TNF α и HIF-1 α , наиболее четко отражающие состояние компонентов суставного хряща. Для оценки степени повреждения сустава необходимо определять выраженность повышения вышерепечисленных показателей.

Значения СРБ в синовиальной жидкости:

- содержание СРБ 0 до 6 мг/л – нормальные показатели;
- до 50 мг/л – умеренное повреждение;
- от 51 до 100 мг/л – высокая степень повреждения+ остеоартроз;
- свыше 100 мг/л – выраженные дегенеративные изменения.

Значения TNF- α в синовиальной жидкости:

- содержание TNF- α от 0 до 10 пг/мл - норма;
- до 50 пг/мл – умеренное воспаление;
- от 51 до 100 пг/мл – выраженные изменения+остеоартроз;
- свыше 100 пг/мл - выраженные дегенеративные изменения.

Содержание HIF-1 α в синовиальной жидкости:

- от 0 до 50 пг/мл – норма;
- от 51 до 100 пг/мл – умеренная гипоксия;
- от 100 до 300 пг/мл – выраженные нарушения микроциркуляции и гипоксия;
- свыше 300 пг/мл – венозный застой, дегенеративные процессы.

Рекомендуемая литература