

# Особенности патоморфологической диагностики микрокристаллических артропатий в практике исследования операционного материала

Мигалкин Н.С., Ступина Т.А., Каминский А.В., Моховиков Д.С.,  
Шабалин Д.А., Камшилов Б.В., Кирсанова А.Ю.

ФГБУ «Национальный  
медицинский  
исследовательский  
центр травматологии  
и ортопедии имени  
академика  
Г.А. Илизарова»  
Минздрава России,  
Курган, Россия  
640014, Курган,  
ул. М. Ульяновой, 6

Academician  
G.A. Ilizarov Research  
Center for Traumatology  
and Orthopedics,  
Ministry of Health of  
Russia, Kurgan, Russia  
6, M. Ulyanova Street,  
Kurgan 640014

## Контакты:

Татьяна Анатольевна  
Ступина;  
StupinaSTA@mail.ru

## Contact:

Tatiana Stupina;  
StupinaSTA@mail.ru

Поступила 05.02.2020

Наиболее часто развитие микрокристаллических артритов связано с образованием кристаллов моноурата натрия (КМУН) и пирофосфата кальция (КПФК). Их выявление имеет решающее значение в распознавании этих заболеваний.

**Цель исследования** – определить возможности и оценить эффективность гистологических методов выявления КМУН и КПФК.

**Материал и методы.** Исследовано 24 блока ткани от 7 пациентов (фрагменты пораженных участков локтевого сустава, межфалангового сустава II пальца кисти, тазобедренного сустава). Парафиновые срезы окрашивали 0,5% спиртовым раствором эозина, а также гематоксилином и эозином. Исследование и оцифровку гистологических препаратов проводили с помощью стереомикроскопа AxioScope.A1 с программным обеспечением Zenblue (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия).

**Результаты и обсуждение.** При окраске срезов тканей гематоксилином и эозином микрокристаллы не визуализируются, основная часть КМУН растворилась во время фиксации и окрашивания, а КПФК замаскированы гематоксилином в виде очаговых базофильных скоплений. Применение методики окраски спиртовым раствором эозина и короткая фиксация в формалине (в течение 12 ч) позволили избежать растворения КМУН и визуализировать как КМУН, так и КПФК, определить их форму и цвет.

**Заключение.** Световая микроскопия гистологических срезов, окрашенных спиртовым раствором эозина с короткой фиксацией в формалине, является надежным методом, позволяющим дифференцировать КМУН и КПФК. У пациентов, которым проводится эндопротезирование, значимость данной методики патоморфологического исследования операционного материала заключается в оценке воспалительной активности и в исключении такого заболевания, как микрокристаллическая артропатия.

**Ключевые слова:** подагра; псевдоподагра; патогистология; световая микроскопия.

**Для ссылки:** Мигалкин НС, Ступина ТА, Каминский АВ и др. Особенности патоморфологической диагностики микрокристаллических артропатий в практике исследования операционного материала. Научно-практическая ревматология. 2020;58(3):286-289.

## FEATURES OF THE PATHOMORPHOLOGICAL DIAGNOSIS OF MICROCRYSTALLINE ARTHROPATHIES IN THE PRACTICE OF SURGICAL MATERIAL EXAMINATION

Migalkin N.S., Stupina T.A., Kaminsky A.V., Mokhovikov D.S., Shabalin D.A., Kamshilov B.V., Kirsanova A.Yu.

The development of microcrystalline arthritides is most frequently associated with the formation of monosodium urate (MSU) and calcium pyrophosphate (CPP) crystals. Their identification is of crucial importance in recognizing these diseases.

**Objective:** to determine the possibilities of histological techniques in identifying MSU and CPP crystals and to evaluate the effectiveness of the techniques.

**Subjects and methods.** Twenty-four tissue blocks (fragments of the affected areas of the elbow joint, the interphalangeal joint of the index finger, and hip joint) from 7 patients were examined. Paraffin sections were stained with a 0.5% alcohol solution of eosin, as well as with hematoxylin and eosin. Tissue specimens were examined and digitized using an AxioScope.A1 stereo microscope with Zenblue software (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Germany).

**Results and discussion.** When staining the tissue sections with hematoxylin and eosin, microcrystals were not visualized; the major portions of MSU crystals were dissolved during fixation and staining, whereas CPP crystals were masked with hematoxylin as focal basophilic aggregates. The staining technique with an alcohol solution of eosin and short formalin fixation (within 12 hours) made it possible to avoid dissolution of MSU crystals and to visualize both MSU and CPP crystals, and to determine their shape and color.

**Conclusion.** Light microscopy of the tissue sections stained with an alcohol solution of eosin along with short formalin fixation is a reliable method to differentiate MSU and CPP crystals. In patients undergoing endoprosthetic replacement, the significance of this technique for the pathomorphological study of surgical material consists in assessing inflammatory activity and in eliminating a disease, such as microcrystalline arthropathy.

**Keywords:** gout; pseudogout; pathohistology; light microscopy.

**For reference:** Migalkin NS, Stupina TA, Kaminsky AV, et al. Features of the pathomorphological diagnosis of microcrystalline arthropathies in the practice of surgical material examination. Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice. 2020;58(3):286-289 (In Russ.).

doi: 10.14412/1995-4484-2020-286-289

Микрокристаллические артриты – группа метаболических заболеваний, характеризующихся отложением в тканях сустава и парарткулярных структурах кристаллов различного происхождения и химического состава [1–4].

Наиболее частыми вариантами микрокристаллических артритов являются подагра, связанная с образованием кристаллов моноурата натрия (КМУН) [3, 5], и пирофосфатная артропатия (псевдоподагра, хондрокальци-

ноз), обусловленная накоплением кристаллов пирофосфата кальция (КПФК) [1]. Подагра и псевдоподагра занимают существенное место среди заболеваний суставов [6, 7].

Решающее значение в их распознавании имеет выявление соответствующих кристаллов, депонирующихся в тканях суставов, с учетом разнообразия их состава, формы, цвета и размеров. «Золотым стандартом» диагностики микрокристаллических артритов является поляризационная микроскопия. Вместе с тем, несмотря на дешевизну и простоту, она не вполне отвечает современным требованиям, предъявляемым к качеству и воспроизводимости диагностических методов [8].

Клиническая симптоматика подагры может быть вариативной ввиду возможного сходства с другими формами артропатий, как метаболических, так и воспалительных, а также с некоторыми опухолевыми поражениями параартикулярных, в первую очередь синовиальных, структур. Патоморфологическими признаками подагры являются КМУН и гранулематозное воспаление [9, 10]. При подагре развивается патогномичный практически однотипный тканевый комплекс. В составе тофуса есть агрегаты КМУН, расположенные в центральной зоне и окаймленные гранулемой, которая содержит гистиоциты, гигантские многоядерные клетки, а также тучные клетки, В- и Т-лимфоциты. Вал гранулематозного воспаления составляет корону тофуса, которая по периферии ограничена фиброваскулярной зоной [11].

Наиболее часто в патоморфологической практике собственно подагру – болезнь отложения КМУН – необходимо дифференцировать от псевдоподагры, обусловленной депозитами КПФК [4, 12]. Они характеризуются слабым положительным двойным лучепреломлением или совсем не преломляют свет, что затрудняет их выявление с помощью поляризационной микроскопии [13]. При окраске гистологических срезов гематоксилином КПФК могут быть замаскированы и теряют положительное двойное лучепреломление [14].

КМУН водорастворимы, что затрудняет их исследование с помощью данного метода. Обнаружение микрокристаллов с помощью рентгеновского структурного анализа [15] требует применения дорогостоящего оборудования.

**Цель** исследования – определить возможности гистологических методов выявления КМУН и КПФК и оценить их эффективность.

#### Материал и методы

Исследован операционный материал от 7 пациентов (6 мужчин и одной женщины, средний возраст – 50,42±3,89 года).

**Критерии включения:** возраст старше 18 лет, верифицированный диагноз подагры, болезни депонирования КПФК, подписанное информированное согласие.

У пациентов с подагрой были получены 16 блоков ткани (фрагменты пораженных участков локтевого сустава и межфалангового сустава II пальца кисти). У одного из больных диагноз был установлен ранее (M10.0 по Международной классификации болезней 10-го пересмотра – МКБ-10), у остальных он был поставлен по результатам гистологического исследования (M10.9 по МКБ-10). У двух пациентов (8 блоков ткани, фрагменты тазобедренного и коленного суставов) рентгенологические признаки болезни депонирования КПФК не выявлены, диагноз псевдоподагры поставлен по результатам гистологического исследования (M11.2 по МКБ-10).

Исследование проводилось в соответствии с этическими стандартами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации с поправками 2013 г., одобрено этическим комитетом учреждения [протокол заседания № 2 (57) от 17.05.2018 г.].

Доставленный операционный материал варьировал по размерам, форме и представлял собой либо резецированные очаги деструкции, либо опухолеподобные разрастания, а также полноразмерные сегменты патологически измененных костей и суставов. Все образцы операционного материала (блоки мягких тканей и блоки с костной тканью) фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение 24 ч и более, за исключением двух наблюдений подагры (7 блоков ткани) с коротким периодом фиксации (не более 12 ч). Блоки с костной тканью декальцинировали в смеси соляной и муравьиной кислот. Затем материал дегидратировали в спиртах (от 70° до 100°), пропитывали уплотняющей смесью и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 5–7 мкм готовили на санном микротоме фирмы Reichard (Германия). Срезы окрашивали 0,5% спиртовым раствором эозина [15], а также гематоксилином и эозином. Исследование и оцифровку гистологических препаратов проводили с помощью стереомикроскопа AxioScore.A1 с цифровой камерой AxioCam в комплекте с программным обеспечением Zenblue (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия). На основе гистологических признаков и клинических данных весь материал разделен на две группы: 1-я группа – подагра (n=5); 2-я группа – псевдоподагра (n=2).

#### Результаты

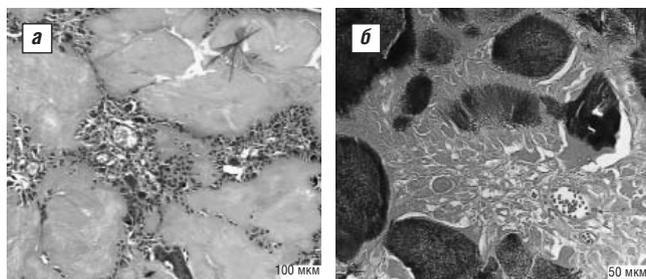
Клинически в 1-й группе отмечали покраснение, припухлость, локальную гипертермию, болезненность пораженных суставов, ограничение функции. Показанием к оперативному лечению послужила необходимость коррекции функциональных нарушений.

Во 2-й группе были пациенты с остеоартритом коленного и тазобедренного суставов. Показаниями к эндопротезированию являлись болевой синдром, резистентный к консервативному лечению, ограничение подвижности конечности, данные рентгенологического исследования.

При гистологическом исследовании в 1-й группе при окрашивании срезов синовиальной оболочки гематоксилином и эозином микрокристаллы не выявлены, большинство их растворилось во время фиксации в формалине (время фиксации – 24 ч и более) и окрашивания. В микротофусах – аморфный сине-фиолетовый матрикс, в котором хорошо видны слепки кристаллов (рис. 1, а). Вокруг участков с отложениями микрокристаллов ярко выражена воспалительная реакция с инфильтратом из лимфоидных, плазматических клеток, гистиоцитов и большого числа гигантских многоядерных клеток (см. рис. 1, а).

При окраске срезов синовиальной оболочки спиртовым раствором эозина (с периодом фиксации в формалине менее 12 ч) были выявлены многочисленные желто-коричневые микрокристаллы игольчатой формы, расположенные в виде лучей и «стожков сена» (рис. 1, б), окруженные гранулематозным воспалением и гигантскими многоядерными клетками.

Во 2-й группе в срезах синовиальной оболочки и суставного хряща, окрашенных гематоксилином и эозином, выявлены массивные очаговые базофильные скопления округлой или неправильной формы гранулярного типа (рис. 2, а), кристаллы не визуализировались. При окраске



**Рис. 1.** Многочисленные подагрические микротофусы: *а* – аморфные отложения, видны слепки кристаллов, гранулематозное воспаление (зона короны) по периферии, обилие гигантских многоядерных клеток и гистиоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 250; *б* – в микротофусах – желто-коричневые кристаллы игольчатой формы. Окраска спиртовым раствором эозина. Ув. 500

спиртовым раствором эозина в суставном хряще определялись многочисленные мелкие кристаллы голубого цвета прямоугольной и ромбовидной формы (рис. 2, б). Кристаллы располагались как по ходу волокон, так и в очагах некроза.

### Обсуждение

Единственный специфический патоморфологический признак подагры и псевдоподагры – это соответственно КМУН и КПФК. При их наличии может быть установлен достоверный диагноз [16, 17].

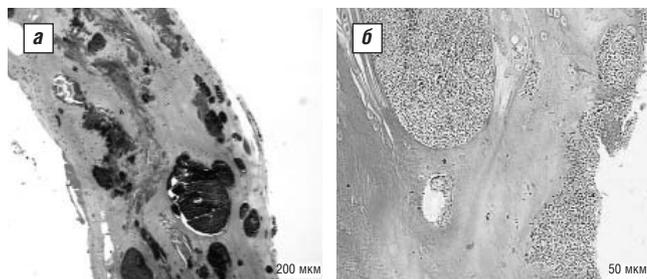
Клинические симптомы и инструментальные признаки (гиперурикемия, поражение I плюснефалангового сустава, рентгенологический симптом пробойника, ультразвуковой феномен двойного контура хряща) помогают в диагностике, но уступают микроскопии в диагностической значимости [13].

КМУН имеют форму палочек или игл, могут располагаться одиночно или в виде скоплений, чаще внеклеточно, формируя тофусы в хрящах, сухожилиях, синовиальной жидкости и подкожной ткани [18].

Пирофосфатная артропатия характеризуется множественным обызвествлением суставных и околоуставных тканей, главным образом суставного хряща (хондрокальциноз). В отличие от КМУН, КПФК толще и короче, имеют форму прямоугольников с тупыми концами или ромбов, а также обладают слабым положительным двойным лучепреломлением [19].

Длина большинства КМУН и КПФК составляет от 3 до 20 мкм; чтобы дифференцировать КПФК, их окрашивают ализариновым красным S (для выявления кальция) [8].

В клинической практике (при исследовании операционного материала) необходим относительно простой и доступный метод визуализации кристаллов, с достаточной чувствительностью и специфичностью. На сегодняшний день поляризационная микроскопия доступна далеко не всем специализированным центрам по разным причинам. КПФК плохо визуализируются из-за слабого лучепреломления, что затрудняет диагностику при помощи данного метода [18]. Рентгенография не имеет достаточной чувствительности и позволяет визуализировать кальций только при высокой его концентрации в исследуемых участках, когда депозиты достигают крупных размеров [20]. В связи с этим диагностика псевдоподагры не проводится активно, КПФК чаще являются находкой при морфологическом исследовании материала, полученного при эндопротезировании суставов [18].



**Рис. 2.** Депозиты КПФК в тканях сустава: *а* – гиперплазированная синовиальная оболочка с базофильными скоплениями округлой или неправильной формы гранулярного типа. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 125; *б* – разволокненный суставной хрящ с депозитами кристаллов голубого цвета прямоугольной и ромбовидной формы. Окраска спиртовым раствором эозина. Ув. 500

Поскольку КПФК не растворяются в воде, фиксация формалином не препятствует их обнаружению, но окраска гематоксилином маскирует кристаллы [14]; это показало и наше исследование. КМУН растворяются в воде [13]. В настоящем исследовании мы применили методику окрашивания спиртовым раствором эозина [19] и короткую (в течение 12 ч) фиксацию в формалине. Исключение водных красителей (использование спиртового раствора эозина) позволило избежать растворения КМУН и визуализировать как КМУН, так и КПФК (определить их форму, цвет). Чтобы избежать потери КМУН в водных фиксаторах, таких как формалин, V. Shidham и соавт. [19] рекомендуют фиксировать образцы тканей в спирте.

### Заключение

Световая микроскопия гистологических срезов, окрашенных спиртовым раствором эозина с короткой фиксацией в формалине, является надежным методом, позволяющим дифференцировать КМУН и КПФК. У пациентов, которым проводится эндопротезирование, значимость данной методики патоморфологического исследования операционного материала заключается в оценке воспалительной активности или в исключении такого заболевания, как микрокристаллическая артропатия.

### Прозрачность исследования

*Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.*

### Декларация о финансовых и других взаимоотношениях

*Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и в написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами. Авторы не получили гонорар за статью.*

*Работа поддержана программой Минздрава России в рамках государственного задания ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова» для выполнения НИР на 2018–2020 гг.*

*The investigation was supported by the program of the Ministry of Health of Russia as part of the state assignment of the Academician G.A. Ilizarov National Medical Research Center for Traumatology and Orthopedics to perform the 2018–2020 researches.*

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Zhang W, Doherty M, Bardin T, et al. European League Against Rheumatism recommendations for calcium pyrophosphate deposition. Part I: terminology and diagnosis. *Ann Rheum Dis*. 2011;70:563. doi: 10.1136/ard.2010.139360
- Gibson T. Hyperuricemia, gout and the kidney. *Curr Opin Rheumatol*. 2012 Mar;24(2):127-31. doi: 10.1097/BOR.0b013e32834f049f
- Gonzalez EB. An update on the pathology and clinical management of gouty arthritis. *Clin Rheumatol*. 2012 Jan;31(1):13-21. doi: 10.1007/s10067-011-1877-0
- Елисеев МС, Желябина ОВ. Сочетание подагры и болезни депонирования пирофосфатов кальция: трудности диагностики и лечения. *PMЖ. Медицинское обозрение*. 2017;(1):44-7. [Eliseev MS, Zhelyabina OV. The combination of gout and the disease of calcium pyrophosphate deposition: the difficulties of diagnosis and treatment. *RMZh. Meditsinskoe Obozrenie*. 2017;(1):44-7 (In Russ.).]
- Денисов ИС, Елисеев МС, Барскова ВГ. Исходы подагры. Обзор литературы. Часть I. Эпидемиология подагры, факторы риска и течение заболевания с развитием хронической тофусной формы. *Научно-практическая ревматология*. 2013;51(5):569-73. doi: 10.14412/1995-4484-2013-1550 [Denisov IS, Eliseev MS, Barskova VG. Gout outcomes. A review of literature. Part I. Gout: Epidemiology, risk factors, course of the disease with the development of chronic tophus form. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2013;51(5):569-73. doi: 10.14412/1995-4484-2013-1550 (In Russ.).]
- Sidari A, Hill E. Diagnosis and treatment of gout and pseudogout for everyday practice. *Prim Care*. 2018 Jun;45(2):213-36. doi: 10.1016/j.pop.2018.02.004
- Елисеев МС, Желябина ОВ, Чикина МН. Возрастные особенности болезни депонирования кристаллов пирофосфата кальция. *Научно-практическая ревматология*. 2019;57(6):651-6. doi: 10.14412/1995-4484-2019-651-656 [Eliseev MS, Zhelyabina OV, Chikina MN. Age-related features of calcium pyrophosphate deposition disease. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2019;57(6):651-6. doi: 10.14412/1995-4484-2019-651-656 (In Russ.).]
- Барскова ВГ, Елисеев МС, Владимиров ВА. Диагностика микрокристаллической патологии суставов методом поляризационной микроскопии (трактовка и методические рекомендации к исследованию). *Современная ревматология*. 2010;4(1):84-8. doi: 10.14412/1996-7012-2010-594 [Barskova VG, Eliseev MS, Vladimirov SA. Diagnosis of microcrystalline joint diseases by polarization microscopy: interpretation and guidelines for their study. *Sovremennaya Revmatologiya = Modern Rheumatology Journal*. 2010;4(1):84-8. doi: 10.14412/1996-7012-2010-594 (In Russ.).]
- Макаренко ЕВ. Подагра: современные принципы диагностики и лечения. *Вестник ВГМУ*. 2017;16(6):7-22. doi: 10.22263/2312-4156.2017.6.7 [Makarenko EV. Gout: modern principles of diagnosing and treatment. *Vestnik VGMU*. 2017;16(6):7-22. doi: 10.22263/2312-4156.2017.6.7 (In Russ.).]
- Newberry SJ, FitzGerald JD, Motala A, et al. Diagnosis of gout: A systematic review in support of an American College of Physicians clinical practice guideline. *Ann Intern Med*. 2017;166(1):27-36. doi: 10.7326/M16-0462
- Liu-Bryan R, Terkeltaub R. Chapter 5: Tophus Biology and Pathogenesis of Monosodium Urate Crystal-Induced Inflammation. In: *Gout & Other Crystal Arthropathies*. Elsevier; 2012. P. 59-71. doi: 10.1016/B978-1-4377-2864-4.10005-3
- Ankli B, Kyburz D, Hirschmann A, et al. Calcium pyrophosphate deposition disease: a frequent finding in patients with long-standing erosive gout. *Scand J Rheumatol*. 2018;47(2):127-30. doi: 10.1080/03009742.2017.1332239
- Барскова ВГ, Мукагова МВ, Северинова МА и др. Диагностика подагры. *Сибирский медицинский журнал*. 2012;(5):132-5. [Barskova VG, Mukagova MV, Severinova MA, et al. Gout diagnostics. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2012;112(5):132-5 (In Russ.).]
- Sissons HA, Steiner GC, Bonar F, et al. Tumoral calcium pyrophosphate deposition disease. *Skeletal Radiol*. 1989;18(2):79-87. doi: 10.1007/bf00350651
- Кабалык МА, Дубиков АИ, Петрикеева ТЮ. Методы обнаружения кристаллов в суставном хряще: Часть 2. *Научно-практическая ревматология*. 2012;50(4):88-90. doi: 10.14412/1995-4484-2012-1118 [Kabalyk MA, Dubikov AI, Petrikeyeva TYu. Methods for detection of joint crystals: Status praesens. Part II. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya = Rheumatology Science and Practice*. 2012;50(4):88-90. doi: 10.14412/1995-4484-2012-1118 (In Russ.).]
- Dalbeth N, So A. Hyperuricaemia and gout: state of the art and future perspectives. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(10):1738-43. doi: 10.1136/ard.2010.136218
- Барскова ВГ. Рекомендации Европейской антиревматической лиги по терминологии и диагностике болезни депонирования кристаллов пирофосфата кальция: комментарии эксперта. *Современная ревматология*. 2011;5(2):6-8. doi: 10.14412/1996-7012-2011-661 [Barskova VG. European League Against Rheumatism recommendations for terminology and diagnosis of calcium pyrophosphate crystal deposition disease: Expert comment. *Sovremennaya Revmatologiya = Modern Rheumatology Journal*. 2011;5(2):6-8. doi: 10.14412/1996-7012-2011-661 (In Russ.).]
- Барскова ВГ. Диагностика болезни депонирования кристаллов пирофосфата кальция (пирофосфатной артропатии). *Русский медицинский журнал*. 2012;20(7):350. [Barskova VG. Diagnosis of the disease of deposition of crystals of calcium pyrophosphate (pyrophosphate arthropathy). *Russkiy Meditsinskiy Zhurnal*. 2012;20(7):350 (In Russ.).]
- Shidham V, Chivukula M, Basir Z, Shidman G. Evaluation of crystals in formalin fixed, paraffin embedded tissue sections for the differential diagnosis of pseudogout, gout, and tumoral calcinosis. *Mod Pathol*. 2001;14:806-10. doi: 10.1038/modpathol.3880394
- Шостак НА. Пирофосфатная артропатия — подходы к диагностике. *Русский медицинский журнал*. 2015;25:1518-9. [Shostak NA. Pyrophosphate arthropathy — approaches to diagnosis. *Russkiy Meditsinskiy Zhurnal*. 2015;25:1518-9 (In Russ.).]

Мигалкин Н.С. <https://orcid.org/0000-0002-7502-5654>

Ступина Т.А. <https://orcid.org/0000-0003-3434-0372>

Каминский А.В. <https://orcid.org/0000-0001-8647-4044>

Моховиков Д.С. <https://orcid.org/0000-0002-9041-173X>

Шабалин Д.А. <https://orcid.org/0000-0002-8827-9530>

Камшилов Б.В. <https://orcid.org/0000-0002-3511-7300>

Кирсанова А.Ю. <https://orcid.org/0000-0002-6282-1272>