

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СИНОВИАЛЬНОЙ ОБОЛОЧКИ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ

¹Л.А.Пашкевич, ¹М.Т.Мохаммади, ²М.А.Герасименко, ³С.И.Третьяк

¹ ГУ «РНПЦ травматологии и ортопедии», г.Минск, Республика Беларусь

² УО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»,
г.Минск, Республика Беларусь

³ УЗ «6-я городская клиническая больница», г.Минск, Республика Беларусь

Проведено иммуногистохимическое изучение синовиальной оболочки коленного сустава при ревматоидном артрите с CD20, CD45, CD68, CD79a и CD138. Проведенные исследования показывают, что данный метод позволяет определять клеточный фенотип воспалительного инфильтрата и можно применять его с целью дифференциальной диагностики иммунных и неиммунных артритов.

Ключевые слова: ревматоидный артрит, синовиальная оболочка, иммуногистохимия.

Введение. Биопсия синовиальной ткани легко осуществима посредством артроскопического метода, обеспечивающего забор адекватного материала ткани для диагностики большинства заболеваний суставов. В том числе она может помочь в диагностике некоторых суставных инфекций, а также нескольких редких синовиальных расстройств [1]. Более детальные исследования биопсийного материала синовиальной оболочки могут дать важную информацию для дифференциальной диагностики и оценки прогноза заболевания суставов. Кроме того, исследование на серийных образцах биопсии после терапии может помочь понять механизм действия конкретных терапевтических мероприятий [2].

Изучение синовиальной оболочки с использованием иммуногистохимических методов важно для понимания патогенеза воспалительных заболеваний, таких как ревматоидный артрит, спондилоартропатии и др. Использование иммуногистохимических методов исследования позволяют специфически определить фенотип воспалительного инфильтрата, экспрессию адгезивных молекул, цитокинов и металлопротеиназ в биопсийном материале больных ревматоидным артритом. Недавние зарубежные исследования показывают возможность использования этих методов исследования для дифференциальной диагностики ревматоидного артрита на ранних этапах заболевания, предотвращая агрессивное разрастание паннуса и синтез протеазы с последующим разрушением хряща. Ряд зарубежных авторов, используя иммуногистохимические методы, изучали ткань синовиальной оболочки больных ревматоидным артритом для выяснения фенотипа клеточного инфильтрата. Образцы синовиальной оболочки были

окрашены с использованием набора моноклональных антител к CD3, CD4, CD8, CD22 (В-клетки), CD138 (плазматиты), CD68 (макрофаги) и CD55 (фибробласто-подобные синовиоциты). Статистический анализ полученных результатов в образцах синовиальной оболочки данных пациентов по сравнению с контрольной группой показал высокий уровень экспрессии CD38+ плазматитов, CD68+ макрофагов, CD22+ В-клеток [3, 4].

Аналогичные результаты были представлены другой группой исследователей, которые оценивали иммунофенотип клеток воспалительного инфильтрата синовиальной оболочки больных остеоартрозом, ревматоидным артритом и артропатиями с использованием моноклональных антител к CD68, CD3, CD38 и CD20. Было выявлено, что при ревматоидном артрите наблюдается высокий уровень экспрессии данных маркеров воспаления, в 2,5 раза больше, чем в контрольной группе. Выявлена положительная корреляция между продолжительностью заболевания и плотностью клеточного инфильтрата. Отрицательная корреляция установлена между продолжительностью заболевания и числом CD68+ клеток. Количество и распределение клеток воспалительного инфильтрата зависит от стадии ревматоидного артрита. В начале острой фазы ревматоидного артрита преобладают моноциты, гранулоциты, в подострой фазе ревматоидного артрита присутствуют Т-клетки, а также плазматиты. Большинство хронических синовитов характеризуются присутствием большого числа Т-клеток и плазматитов в синовиальной оболочке [5, 6].

Методы и материалы исследования. Материалом исследования послужили ткани биоптатов синовиальной оболочки, полученные при ар-

троскопии коленного сустава у 50 пациентов в молодом возрасте. Средний возраст на момент биопсии коленного сустава – $19,38 \pm 2,13$ года (от 10 до 30 лет). Доля женщин составила 31 (65%) и доля мужчин – 19 (35%).

Патоморфологическое исследование материала осуществлялось по общепринятой гистологической методике изучения мягких тканей. Из парафиновых блоков изготавливали серийные срезы и окрашивали гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое исследование проводили с первичными антителами к CD20, CD45, CD68, CD79a и CD138 (Dako, LSAB+Kit, HRP, Liquid DAB+).

Результаты исследования. При иммуногистохимическом исследовании с целью выяснения характера воспалительного инфильтрата синовиальной оболочки при синовитах ревматоидного генеза нами применены следующие моноклональные антитела: CD45 (маркер общего лейкоцитарного ряда), CD20 (наилучший маркер зрелых В-клеток), CD79a (маркер В-клеточной линии, экспрессирующий на всех стадиях дифференцировки В-клеток, что является наиболее специфичным, но менее чувствительным), CD68 (маркер макрофагов), CD138 (маркер плазматических клеток).

Иммуногистохимическое исследование состава воспалительного клеточного инфильтрата с общим лейкоцитарным маркером CD45 в биопсийном материале синовиальной оболочки коленного сустава выявило переменное количество иммунопозитивных клеток в различных участках. При детальном рассмотрении видно, что в гиперплазированном покровном слое поверхностные ряды клеток, интимно соприкасающиеся с синовиальной жидкостью, состоят из иммунопозитивных клеток, а последующие ряды – из иммуноне-

гативных синовиоцитов. Далее прямо под покровным слоем выявляются сплошные поля лимфоидных клеток (рис.1).

Иммуногистохимическая окраска с CD20 показала некоторые своеобразия в экспрессии CD20-позитивных В-лимфоцитов в синовитах ревматоидного генеза. Из отличительных признаков CD20-положительных клеток при ревматоидном синовите отмечается гнездное скопление данных клеток с формированием структур по типу фолликулярных узелков в субинтимае, указывающих на заинтересованность иммунной реакции в процессе. При применении окраски с CD20 нами выявлено, что в случаях ревматоидного синовита данное антитело экспрессирует чаще в клетках, находящихся в центре фолликулярных узелков и, в меньшей степени, периваскулярно, и еще реже – в виде одиночно разбросанных CD20-позитивных клеток в строме субинтимы (рис.2).

При иммуногистохимическом исследовании синовиальной оболочки с антителом CD79a в случаях ревматоидного генеза выявлено, что экспрессия CD79a-позитивных клеток по сравнению с CD20-позитивными имеет более диффузный характер распространения в субинтимае. При ревматоидных синовитах, если CD20 экспрессирует в центральной части лимфоидных фолликулярных узелков, то CD79a-позитивные клетки наблюдаются чаще по периферии этих узелков (рис.3).

Анализ экспрессии макрофагального маркера CD68 в биопсийном материале синовиальной оболочки показывает более выраженную экспрессию CD68-позитивных клеток по сравнению с В-позитивными клетками. При окраске на выявление макрофагов при ревматоидных синовитах отмечается их экспрессия, как в покровном слое, так и диффузное распределение в субинтималь-

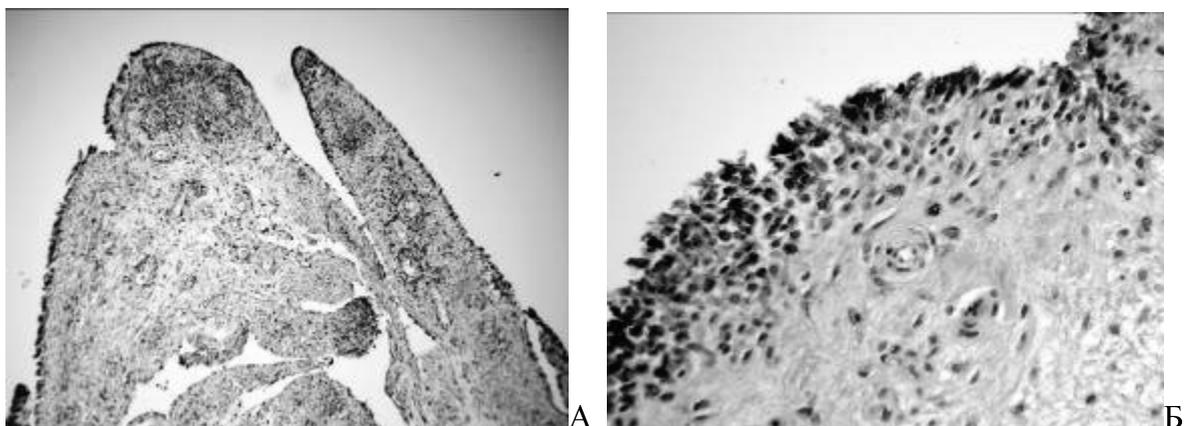


Рис. 1. Ревматоидный синовит. Иммуногистохимическая окраска синовиальной оболочки с CD45. Виллезная гиперплазия синовиальной оболочки с выраженным воспалительным инфильтратом на поверхности интимального слоя и в строме субинтимального слоя. Окраска CD45. А ув. $\times 100$, Б ув. 400.

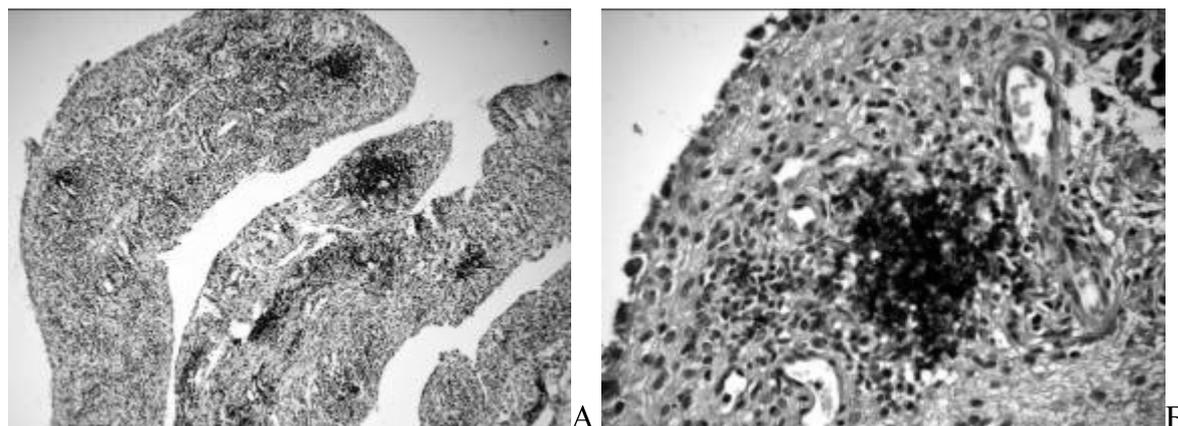


Рис. 2. Ревматоидный синовит. Иммуногистохимическая окраска синовиальной оболочки с CD20 на выявление зрелых В-лимфоцитов. Выраженная villous гиперплазия синовиальной оболочки с многочисленными фолликулярными узелками в субинтимальном слое. Экспрессия CD20-положительных клеток в центре фолликулярных узелков. А ув. $\times 100$, Б ув. $\times 400$.

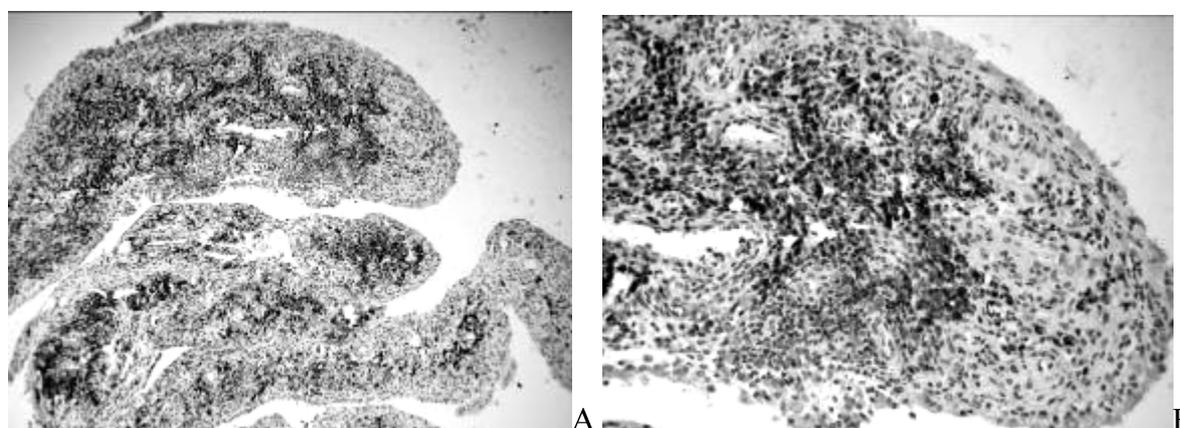


Рис. 3. Ревматоидный синовит. Иммуногистохимическая окраска синовиальной оболочки с CD79a на выявление В-лимфоцитов. Выраженная villous гиперплазия синовиальной оболочки с многочисленными фолликулярными узелками в субинтимальном слое. CD79a-положительные клетки в субинтиме располагаются диффузно и по периферии фолликулярных узелков. А ув. $\times 200$ и Б ув. $\times 400$.

ном слое. В покровном слое макрофаги образуют сплошную линию из 1–2 и более рядов поверхностных клеток, непосредственно соприкасающихся с суставной жидкостью (рис.4).

Иммуногистохимическое исследование образцов ткани синовиальной оболочки с CD138 с целью выявления плазматических клеток показало, что значительное количество иммунокомпетентных клеток среди клеточной воспалительной массы при синовитах ревматоидного генеза, является плазмочитами. Также отмечается разница в локализации плазматических клеток в синовиальной оболочке по сравнению с другими иммунопозитивными клетками. При ревматоидных синовитах выявляется огромное количество диффузно распространенных CD138-положительных клеток, вместе с тем, данные клетки отсутствуют в покровном слое и в центральной части лимфоидных фолликулярных узелков (рис.5).

Заключение

Данные патоморфологических исследований с применением иммуногистохимических методов изучения синовиальной оболочки при ревматоидном артрите позволяют определять фенотип воспалительного инфильтрата. Также их можно применять с целью дифференциальной диагностики иммунных и неиммунных артритов. Воспалительный процесс в синовитах ревматоидного генеза отличается своеобразием интенсивности и распространенности иммунокомпетентных клеток. Анализ полученных результатов иммуногистохимических исследований с CD45 (маркер общего лейкоцитарного ряда), CD68 (маркер макрофагов), CD138 (маркер плазматических клеток), CD79a (общий маркер В-клеточной линии), CD20 (маркер зрелых В-клеток) у больных с синовитом ревматоидного генеза дает четкое представление о количественной выраженности и локализации иммунокомпетентных клеток в синовиаль-

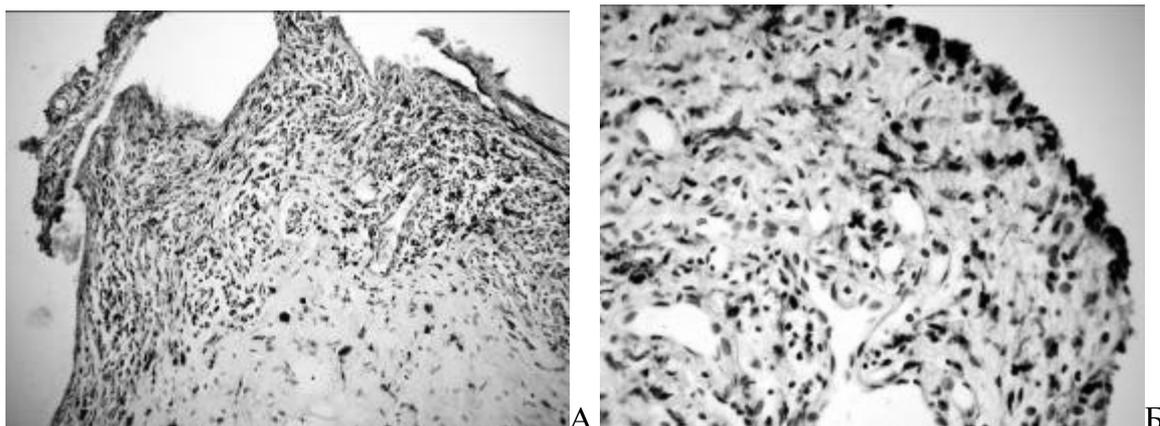


Рис. 4. Ревматоидный синовит. Иммуногистохимическая окраска синовиальной оболочки с CD68 на выявление макрофагов. Макрофаги выстраиваются в 1-2 ряда на поверхности покровного слоя, и также видна диффузная экспрессия CD68-положительных клеток в субинтимальном слое. А ув. $\times 200$. Б ув. $\times 400$.

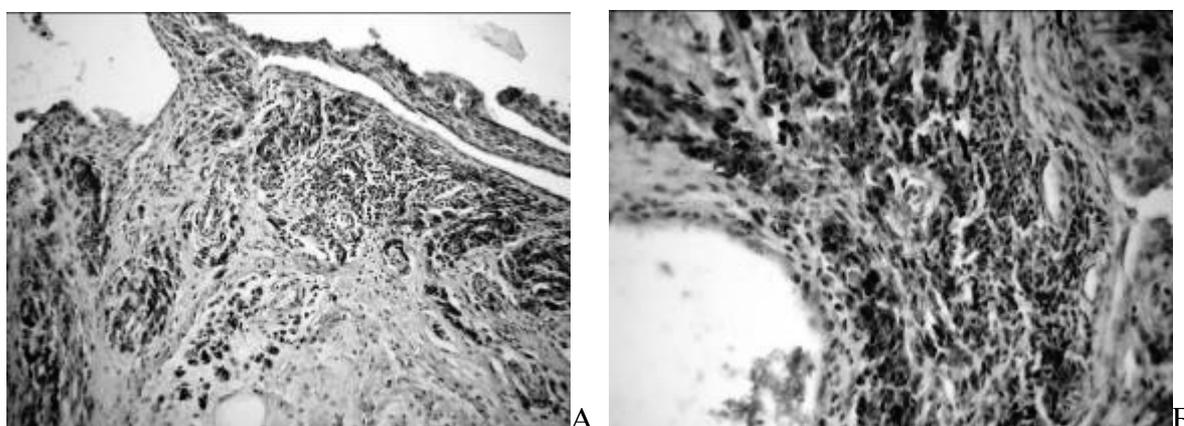


Рис. 5. Ревматоидный синовит. Иммуногистохимическая окраска синовиальной оболочки с плазмацитарным маркером CD138. А ув. $\times 200$ и Б ув. $\times 400$.

ной оболочке. Экспрессия CD45-иммунопозитивных клеток показала более высокий уровень положительных клеток по сравнению с другими, более специфическими, антителами. CD138-положительные клетки занимают второе место по выраженности экспрессии в синовитах ревматоидного генеза. Количественная оценка CD138-положительных клеток (плазмацитов) в синовитах может являться ценным дифференциально-диагностическим признаком при ревматоидном артрите.

Учитывая локализацию иммунокомпетентных клеток, было показано, что CD45-положительные клетки способны локализоваться диффузно по всей поверхности синовиальной оболочки, за исключением глубоких клеточных рядов интимального слоя. CD20-положительные клетки обнаруживаются в центральной части лимфоидных узелков. CD79a-положительные клетки диффузно распределены в строме субинтимального слоя и по периферии лимфоидных узелков. В отличие от макрофагального маркера CD68, у которого из-

любленным местом локализации являются поверхностные ряды клеток интимы синовиальной оболочки (фронтальная линия обороны), CD79a-положительные клетки локализуются под покровным слоем, т.е. формируют следующую поддерживающую линию защиты. Макрофагальные CD68-положительные клетки также располагаются разрозненно в строме субинтимального слоя. Плазмацитарные CD138-положительные клетки локализируются диффузно в строме субинтимы.

Мы считаем, что иммуногистохимические исследования синовиальной оболочки при синовитах могут быть применены не только для выявления генеза процесса и постановки диагноза, но и в целях прогнозирования исходов болезней и контроля динамики лечебных мероприятий. Поэтому целесообразно при обследовании пациентов с ранней стадией ревматоидного артрита и в спорных случаях включение иммуногистохимии синовиальной оболочки в перечень стандартных диагностических мероприятий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bresnihan, B. Are synovial biopsies of diagnostic value? / B.Bresnihan // Arthritis Research & Therapy. – Vol.5, No.6.
2. Tak, P.P. Commentary Current perspectives on synovitis / P.P.Tak, F.C.Breedveld // Arthritis Research. – Vol.1, No.1.
3. Kraan, C.M. Immunohistological analysis of synovial tissue for differential diagnosis in early arthritis / C.M.Kraan, J.J.Haringman, W.J.Post // Rheumatology. – 1999. – No.38 – P.1074-1080.
4. Pessler, F. The synovitis of «non-inflammatory» orthopaedic arthropathies: a quantitative histological and immunohistochemical analysis / F.Pessler, L.Dai, C.Diaz-Torne // Annals of the Rheumatic Disease. – 2008. – No.67. – P.1184-1187.
5. Konttinen, Y.T. Cellular immunohistopathology of acute, subacute, and chronic synovitis in rheumatoid arthritis / Y.T.Konttinen, V.Bergroth, D.Nordstrom // Annals of the Rheumatic Disease. – 1985. – No.44. – P.549-555.
6. Butrimiene, I. Tangled immunohistochemical differences between autoimmune and degenerative synovitis / I.Butrimiene, G.Kirdaite, N.Porvaneckas // Medicinos teorija ir practica. – 2008. – No.2. – P.128-134.

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF THE SYNOVIAL MEMBRANE IN RHEUMATOID ARTHRITIS

Pashkevich L.A.¹, Mohammadi M.T.¹, Gerasimenko M.A.², Tretyak S.I.³

¹ Republican Scientific and Practical Centre of Traumatology and Orthopedics, Minsk, Republic of Belarus; ² Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus; ³ City Clinical Hospital No.6, Minsk, Republic of Belarus

We performed immunohistochemical study of the synovial membrane of knee joint in rheumatoid arthritis with CD20, CD45, CD68, CD79a, and CD138. These studies show that this method allows for determining the cellular phenotype of the inflammatory infiltrate and can be used for differential diagnosis of immune and non-immune arthritis.

Keywords: rheumatoid arthritis, synovial membrane, immunohistochemistry.

ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ СОНОГРАФИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ ГИАЛИНОВОГО ХРЯЦА В РАННЕЙ СТАДИИ ПОДАГРИЧЕСКОГО АРТРИТА

¹ А.В. Петров, ¹ О.П. Прокопенко, ¹ А.А. Петров, ² В.А. Фурсова

¹ Медицинская академия им. С.И.Георгиевского ФГАОУВО
«Крымский федеральный университет имени В.И.Вернадского»
² ГБУЗ Республики Крым «Клиническая больница им. Н.А.Семашко»

В работе проведена оценка чувствительности и специфичности некоторых диагностических маркеров подагрического артрита у 104 больных с артритами с длительностью симптоматики не более 6 месяцев. Установлено, что в диагностике раннего ПА сонографически определяемые линейные гиперэхогенные включения в гиалиновом хряще воспаленных суставов имеют высокую специфичность (94,4%) и чувствительность (78,1%).

Ключевые слова: подагра, мочевая кислота, тофусы, сонография, внутрикостные кисты.

Введение. Диагностика подагрического артрита (ПА) остается актуальной проблемой ревматологии в связи со сложностью дифференциального диагноза в ранней стадии болезни. У части больных в дебюте заболевания отсутствуют некоторые типичные признаки ПА, такие как поражение плюснефаланговых суставов стоп, характерная приступообразность эпизодов артрита, под-

кожные тофусы, рентгенологически определяемые внутрикостные кисты и значительная гиперурикемия. Довольно часто синовиальный выпот в воспаленных суставах бывает очень скудным, что не позволяет собрать синовиальную жидкость для последующего анализа в поляризованном свете [1, с.11]. В ряде случаев наблюдаются атипичные формы ПА: ревматоидоподобная – с симметрич-