



O LÍQUIDO SINOVIAL

Rui Gomes Melo

RESUMO

O autor introduz o mecanismo da formação do líquido sinovial e a origem dos seus constituintes bioquímicos normais. Depois, descreve a importância clínica da sua análise, após a artrocentese com a classificação de não inflamatório e inflamatório, referindo a necessidade de se descartar infecção isolada ou acompanhante doutra patologia como a Artrite Reumatóide ou Artropatia microcristalina. Aborda também os seguintes temas: os cuidados na colheita e manipulação do líquido sinovial, o seu aspecto macroscópico com as características nalgumas patologias, o preparo para o estudo microbiológico, a contagem global e específica das suas células e as particularidades citoplasmáticas e noções de microscopia de luz polarizada para a pesquisa dos cristais de Monourato do Sódio e os de Pirofosfato de Cálcio. Revê a dificuldade na pesquisa da Apatita e a importância da pesquisa dos seguintes outros cristais: Colesterol e outros lípidos, Oxalato de Cálcio, Charcot Leyden, Imunoglobulinas, Hemoglobina e Hematoidina e dos Corticosteróides de Depósito Sintéticos. No final, descreve a vantagem e a facilidade da pesquisa da Substância Amilóide no líquido sinovial e a etiologia dos Corpos Riziformes.

Palavras-Chave: Líquido Sinovial; Artrocentese; Citologia; Microscopia de Luz Polarizada; Identificação de Cristais.

ABSTRACT

The author presents this article relating the formation of biochemical constituents of normal synovial fluid. Next, reviews the clinical importance of its analysis, immediately after arthrocentesis, which can be classified as inflammatory or non inflammatory, referring to the need of discarding isolated infection or association with another pathology, such as Rheumatoid Arthritis or microcrystal deposition diseases. This study concerns the handling of synovial fluid, its physical aspects and specific characteristics, microbiological study, global and specific cellular counting, cytoplasmatic peculiarities and notions about polarized light microscopy, regarding special searching of Monosodium Urate and Calcium Pyrophosphate Dihydrate Crystals. Also, emphasize the difficult of searching for apatite and the importance for the others crystals as Cholesterol and crystalline lipids, Calcium Oxalate, Charcot-Leyden, Immunoglobulin, Hemoglobin, Hematoidin and Synthetic Depot Corticosteroid. Finally, relates the useful management of the Amyloid substance in synovial fluid and the etiology of Rice Bodies.

Key-Words: Sinovial Fluid; Arthrocentesis; Cytology; Polarized Light Microscopy; Crystal Identification.

O LÍQUIDO SINOVIAL

Rui Gomes Melo*

O líquido sinovial é um ultra filtrado do plasma, enriquecido com moléculas de alto peso molecular, ricas em sacarídeos, sendo a mais importante, o hialuronato, produzido pelas células sinoviais (sinoviócitos tipo B fibroblastos-*like*). O hialuronato forma um eixo central de agregados de proteoglicanos indispensáveis para a constituição da cartilagem. É o responsável pelas propriedades visco-elásticas do líquido sinovial e pela nutrição da cartilagem articular. A formação do líquido sinovial ocorre de forma idêntica ao dos outros fluidos intersticiais. O fluxo de líquido plasmático atravessa a parede capilar condicionado pela diferença de pressão nesta e no meio exterior, segundo a lei de Starling ou gradiente de pressão coloidosmótica. Pequenas moléculas fisiológicas e de massa molecular inferior a 10 KDa estão em equilíbrio com o plasma e o interstício e, as maiores, como as proteínas, têm o acesso limitado ao último ou líquido sinovial normal. O conteúdo proteico do líquido sinovial é de 13 mg/l (comparado à concentração sérica de 65 à 80 mg/l), sendo a maioria, de albumina, pois as outras proteínas de peso molecular superior, como o fibrinogénio, estão excluídas. A formação do líquido sinovial está equilibrada com a sua remoção, através do sistema linfático sinovial, que não depende do tamanho da molécula e não é atingido por patologia sinovial^{1,2}. A superfície da sinóvia e da cartilagem articular não são cobertas por uma camada intacta e contínua de células. Assim, tanto a matriz da cartilagem como a sinóvia estão em contacto com o líquido sinovial, permitindo um ambiente homogéneo dentro da articulação. Por causa deste arranjo histológico, melhor será considerar o líquido sinovial um verdadeiro tecido, mais do que um simples líquido da cavidade corporal³. Contém poucas células, principalmente condrócitos e sinoviócitos, transferidos da cartilagem e da sinóvia e também alguns leucócitos mi-

grados. As outras moléculas de baixo peso, filtradas do plasma e cuja concentração no líquido sinovial reflecte as mesmas daquele, são a glicose, os aminoácidos, o ácido úrico, a bilirrubina e algumas enzimas. O processo inflamatório pode aumentar a permeabilidade vascular capilar e permitir que moléculas maiores, como o fibrinogénio, atravessem, ocasionando a coagulação das amostras de líquido sinovial obtidas das articulações comprometidas e reduz a difusão das moléculas menores¹.

A Análise do Líquido Sinovial

A análise do líquido sinovial está entre os mais importantes testes para complementar a avaliação dum doente com patologia articular. Pode fornecer um diagnóstico específico e orientar o tratamento⁴. Porém, não há um consenso em relação ao que constitui uma «rotina» de análise do líquido sinovial⁵.

O líquido sinovial pode ser obtido por aspiração da articulação com agulha acoplada à seringa (artrocentese) ou cirurgia aberta e/ou artroscópica.

A maior parte das amostras são obtidas da articulação do joelho, das mais atingidas nas artrites, e também, a mais fácil de aspirar. A técnica tem que ser asséptica e devem usar-se luvas estéreis, sem partículas lubrificantes, como grânulos de talco ou amido. É de evitar o traumatismo da sinóvia ou outra estrutura ao introduzir a agulha, o que pode ocasionar contaminação da amostra, por sangramento ou por pequenos fragmentos do tecido sinovial e da cartilagem⁶. A contaminação da amostra deve sempre ser evitada durante e depois da aspiração.

Os riscos de uma artrocentese são: introdução de infecção na pele, tecido subcutâneo ou intra articular, reacções alérgicas à povidona e anestésicos e, também, o desconforto para o doente durante o procedimento⁴.

A maior indicação para realizar uma artrocentese é despistar uma possível infecção⁴. Um teste de Gram positivo pode direccionar a terapia dentro

*Interno Complementar de Reumatologia
Serviço de Medicina III – Reumatologia
Hospitais da Universidade de Coimbra

de minutos; uma cultura positiva dá um diagnóstico definitivo e oferece a oportunidade de testar antibióticos diferentes para o microorganismo identificado. A cultura do líquido sinovial é o teste mais sensível e específico para o diagnóstico de uma artrite séptica⁷.

Outra importante investigação etiológica, obtida pela análise do líquido sinovial, respeita ao diagnóstico das artrites induzidas por cristais, uma das causas mais comuns de sinovite^{4,5}. A Gota Úrica é causada pelo depósito de cristais de monourato de sódio e a Pseudo gota, por cristais de pirofosfato de cálcio dihidratado. Ambas podem ter uma apresentação clínica sobreponível a outras formas de artrite, incluindo a séptica. Esta última pode coexistir com a patologia por microcristais e assim sendo, é sempre uma urgência, descartar artrite séptica. A única forma de comprovar o diagnósti-

co de Gota ou Pseudo gota é através da identificação, na presença da artrite, destes cristais no líquido sinovial⁸. A pesquisa de cristais sob luz polarizada deve sempre ser realizada, tendo uma sensibilidade que embora não atingindo os 100% é alta (cerca de 90% a 95% para a Gota e de 75% a 85% para a Pseudo gota). A exclusão de concomitante infecção e o efeito terapêutico da aspiração são, por si só, motivos para se realizar a artrocentese⁴.

A análise do líquido sinovial permite caracterizar o processo patológico articular como **inflamatório** e **não inflamatório**, baseado na inspeção e na contagem celular (leucócitos) do líquido. Uma contagem acima de 2.000 células por mm³ indica **inflamação**. De acordo com a contagem, associada às características físicas, classifica-se o líquido sinovial patológico em três grupos:

Uma contagem leucocitária no líquido sinovial

Tabela 1. Características do Líquido Sinovial

Características	Normal	Grupo I (não inflamatório)	Grupo II (inflamatório)	Grupo III (séptico)
Volume (joelho) (ml)	<3.5	>3.5	>3.5	>3.5
Viscosidade	Muito alta	Alta	Baixa	Variável
Coloração	Amarelo-palha	Amarelo-palha	Amarelo-palha ou opalescente	Variável com o microorganismo-verde-oliva
Aspecto	Transparente	Transparente	Translúcido ou turvo	Turvo
Contagem de leucócitos	200	200-2.000	2.000-50.000	> 50.000 ou > 100.000
Percentagem de polimorfo nucleares	<25%	25%	> 50% Usualmente	>75%

*Adaptado de Gattar⁹

Tabela 2. Exemplo de Patologias que Podem Alterar o Líquido Sinovial e sua Classificação por Grupos⁴:

Grupo I (não inflamatório)	Grupo 2 (inflamatório)	Grupo 3 (infeccioso)	Grupo 4 (hemorrágico)
Osteoartrose	Artrite Reumatóide	Artrite séptica bacteriana	Trauma (especialmente lesão do menisco ou ligamento, fractura)
Trauma Lúpus Eritematoso Sistémico	Espondiloartropatias Artrite viral	Tuberculose articular	Coagulopatia Tumor ou doença mieloproliferativa Uso de anticoagulantes
Artrite Reumatóide «inicial»	Febre Reumática	Artropatia de Charcot (neuroartropatia)	Hemoglobinopatia falciforme Prótese articular

superior a 50.000 por mm^3 sugere uma artrite de origem bacteriana, mas pode também ser encontrada na Artrite Reumatóide, Artrite induzida por cristais e Artrite Reactiva. Krey e Bailen num estudo de 388 líquidos sinoviais, de 310 doentes com um diagnóstico definitivo, verificou que 75% dos doentes com infecção documentada por cultura do líquido, tinham contagem celular $> 50.000 \text{ mm}^3$ e valores da mesma ordem ocorreram em 12,5% dos que tinham Gota, 10% com Pseudo gota e 4% com Artrite Reumatóide¹⁰.

Locais de Acesso para a Realização da Artrocentese

A artrocentese por agulha pode ser realizada em qualquer articulação diartrodial ou espaço da bolsa sinovial (bursa). Algumas são mais fáceis de abordar que outras, como o ombro, o cotovelo, o punho, a tibiotársica, a bursa olecraneana e a pré-patelar, enquanto que a punção da coxo-femoral deve ser guiada por radioscopia. As pequenas articulações como as interfalângicas, as metacarpofalângicas e as társicas, apresentam maior dificuldade para a entrada das agulhas¹.

A artrocentese

O material necessário para a aspiração do líquido sinovial é mínimo:

- Uma seringa estéril de 5 ml para introdução do anestésico;
- Uma seringa de 20 ml pode ser necessária para a aspiração de grandes volumes;
- Uma seringa de 5 ml é suficiente para a injeção de corticosteróides intra articular ou intra bursa;
- Uma agulha pequena de 25G – $0,5 \times 16 \text{ mm}$ é adequada para anestesiar a pele e ou para entrar nas pequenas articulações;
- Uma agulha maior de 22G – $0,7 \times 40 \text{ mm}$ é suficiente para a aspiração do joelho, tibiotársica, ombro e punho; a agulha 18G – $1,2 \times 50 \text{ mm}$ pode ser útil quando o líquido é muito viscoso.

O local da entrada em cada articulação deve ser marcado com a ponta da capa da agulha ou de uma caneta. A área será, então, limpa com álcool e uma solução anti séptica, como a povidona (Betadine®). A pele é anestesiada com cloreto de etilo ou fluormetano *spray* ou administrado uma injeção intra dérmica de lidocaína a 1%, criando um botão. Quando a pele estiver totalmente anestesiada, o tecido subcutâneo é então

abordado. Aguardam-se uns segundos para o efeito anestésico e introduz-se a agulha de 22G – $0,7 \times 40 \text{ mm}$ na cápsula e no espaço articular.

A aspiração pode ser difícil se o líquido estiver loculado ou for muito viscoso. Se houver uma forte suspeita de infecção e o líquido não puder ser retirado, a articulação deve ser irrigada com solução estéril e reaspirada. Caso a agulha salte do espaço, quando a cápsula articular contrai durante a aspiração, esta não deve ser reintroduzida.

Colheita e Manipulação do Líquido Sinovial

Sempre que possível, a análise do líquido sinovial deve ser realizada logo após a artrocentese. Para evitar problemas da baixa contagem de leucócitos e o risco de má interpretação «*bordeline*» de um líquido inflamatório, pois os leucócitos podem-se agregar e/ou desintegrar após duas horas¹¹. A dissolução dos cristais de pirofosfato de cálcio dihidratado pode ocorrer dentro de algumas horas ou poucos dias. Os cristais de monourato de sódio podem diminuir em número, alterar o seu formato e a birrefringência⁵. Podem formar-se outros cristais, como os de fosfato básico de cálcio e os de oxalato, estes últimos em consequência do crescimento bacteriano; cristal de partículas lipídicas com birrefringência positiva por desintegração celular e cristais de hematoïdina que são formados pela degradação da hemoglobina¹².

A amostra recolhida na seringa deve ser distribuída em frascos de plástico e estéreis. Para avaliar as características físicas pela inspecção, deve-se utilizar um frasco de vidro. Para o **estudo microbiológico**, uma porção da amostra é inoculada directamente num frasco de hemocultura (para aeróbios ou anaeróbios, quando se justificar), o que aumenta a sensibilidade na detecção de microorganismos^{13,14}; os sistemas comerciais de frascos de hemocultura, por exemplo, «BACTEC plus Aerobic/F» médium, aumentam a probabilidade de cultura positiva para aeróbios no líquido sinovial, principalmente nos doentes sob antibioticoterapia¹⁵; a outra parte, deve ser deixada na seringa, protegida por uma capa plástica, para a realização da coloração de Gram e, se necessário, pesquisa de BAAR, cultura para micobactérias e fungos¹⁶. A **contagem total e diferencial** de leucócitos, assim como o **estudo citológico** complementar e a **pesquisa de cristais**, devem ser realizados, o mais precoce possível, pois os leucócitos podem-se agregar e obscurecer os cristais, a não ser que a amostra seja colocada num frasco heparinizado, com alguns incon-

venientes do ponto de vista técnico: não deve se utilizar EDTA que facilita a quelação de íons de cálcio e podem dissolver-se cristais; alguns frascos anticoagulantes com heparinato de sódio, que são partículas birrefringentes, podem-se misturar aos cristais do líquido sinovial; se a amostra necessitar ser armazenada por algumas horas, utilizar anticoagulantes que contenham sais de lítio, como o heparinato de lítio, apesar dos cristais de heparinato de lítio simularem os de pirofosfato de cálcio desidratado, falseando a análise^{17,18}.

Características Macroscópicas do Líquido Sinovial

O volume normal de líquido sinovial presente no joelho, por exemplo, é inferior a 3,5 ml. Deve-se, portanto, anotar o *volume* de líquido aspirado de cada articulação ou estrutura periarticular.

O *aspecto* do líquido tem valor diagnóstico. Podem-se registar as seguintes características: límpido, opalescente, turvo e purulento. Dieppe quantifica o aspecto da turvação em: 1=clara, 2=turva moderada, 3=muito turva⁵. Schumacher e Regina-to dividem o aspecto em oito categorias e apresentam as patologias relacionadas com cada uma: *claro* ou «*não inflamatório*», *turvo* ou *inflamatório*, *purulento*, *hemorrágico*, *quiloso* ou *gorduroso*, *aspecto de giz*, *cinzento* ou *escuro* e com *corpos rici-formes* e outras partículas¹⁹. A transparência normal do líquido sinovial está diminuída devido ao aumento de leucócitos e à presença de cristais, lipídios, fibrina, substância amilóide e corpos rici-formes (partículas de fibrina e colágeno, brancas e brilhosas, derivadas das vilosidades sinoviais degeneradas). Todavia, a turvação sugere inflamação, mas não é de diagnóstico absoluto, pois é possível, no início da inflamação, que inclui as infecções, a presença de líquido claro.

A *coloração* do líquido varia do amarelo-palha (devido a presença de bilirrubina), a cor natural de um líquido sinovial normal, ao amarelo claro, nos processos inflamatórios. O líquido séptico pode ser amarelo, amarelo-esverdeado ou castanho. A presença de colesterol pode dar uma coloração dourada. O líquido branco ou amarelo-cremoso (aspecto de dentifício) deve-se à presença de uratos ou cristais de apatita. O xantocrômico, vermelho ou hemorrágico, de acordo com a presença de eritrócitos por artrocentese traumática ou outras causas de hemartroses²⁰. Líquidos turvos com partículas acastanhadas sugerem Ocronose²¹ e os de coloração cinza ou preta, presença de partículas plásticas ou de metal proveniente das próteses

articulares. Na história de traumatismo articular, o líquido deve ser centrifugado, pois uma camada de gordura, se presente e levada ao microscópio, pode conter espículas de medula óssea com células lipídicas (*fat cells*)²².

A *viscosidade* do líquido é avaliada ao observar a sua consistência na passagem da seringa para os tubos de vidro. Dieppe quantifica a viscosidade em 1=muito viscosa, 2=viscosa moderada, 3=aguada (quase água)⁵. Viscosidade diminuída sugere inflamação e, o contrário, ocorre no Hipotireoidismo, Acromegalia e nos líquidos obtidos dos ganglions ou quistos sinoviais na Osteoartrose.

A Contagem dos Leucócitos

Técnica de Preparação da Amostra e Contagem Global

Não se deve centrifugar o líquido, à exceção dos

Tabela 3-1. Algumas Patologias que Podem Causar Derrame Articular de Causa «não inflamatória»¹⁹

- Acromegalia
- Amiloidose
- Necrose asséptica
- Artropatia de Charcot
- Gota
- Doença crónica por deposição de cristais de pirofosfato de cálcio dihidratado
- Desmame de corticosteróides
- Síndrome de Ehlers-Danlos
- Displasia epifisiária
- Eritema nodoso
- Doença de Gaucher
- Hemocromatose
- Hiperparatiroidismo
- Osteoartropatia hipertrófica pulmonar
- Carcinoma metastático
- Ocronose
- Osteoartrose
- Osteocondrite dissecante
- Oxalose
- Doença de Paget
- Pancreatite
- Doença falciforme
- Artrite traumática
- Sinovite vilonodular, tumores
- Doença de Wilson

Tabela 3-2. Algumas Patologias que Podem Causar Derrame Articular Inflamatório¹⁹

Artrite pós <i>bypass</i> ileal Agamaglobulinemia Espondilite Anquilosante Doença de Behcet Carcinóide Doenças do tecido conjuntivo: Policondrite Polimiosite Artrite Reumatóide (adulto e juvenil) Esclerose Sistémica Lúpus Eritematoso Sistémico Vasculites	Artrite infecciosa: Bacteriana (estafilocócica, gonocócica, tuberculosa e outras) Fúngica Micoplasmica Parasítica Treponemica Virusal (hepatites, rubéola, caxumba, vírus da imunodeficiência adquirida e outras) Leucemias Doença de Lyme Reticulohistocitose multicêntrica Reumatismo palindrômico Polimialgia reumática
Artrite induzida por cristal Após injeção intra-articular de corticosteróides Apatita Gota Cristais de lípidos Oxalose Pseudogota Síndrome de Stevens-Johnson Eritema nodoso Febre familiar do Mediterrâneo Sinovite por corpo estranho Dislipoproteinemias	Artrite reactiva Salmonella Shigella Yersinia Artrite psoriática Enterite regional Síndrome de Reiter Febre reumática Sarcoidose Doença do soro Síndrome de Sjögren Endocardite subaguda bacteriana Colite ulcerativa Doença de Whipple

hemorrágicos e quilosos².

A contagem é realizada numa câmara vítrea específica para contagem de leucócitos, a câmara de Neubauer^{11,23}.

Deve-se cobrir a área central da câmara com uma lamela limpa e, com o auxílio de uma pipeta plástica para contagem de células, colocar uma gota de líquido sobre a parte superior e inferior da lamela sem formar bolha de ar. Aguardar alguns segundos para o total preenchimento dos espaços.

Com o microscópio óptico comum, localizar, sob a objectiva de 10x, o centro da câmara, e observar os quatro quadrantes laterais. Mudar a objectiva para 40x e iniciar a melhor visualização de cada um (16 quadrados em cada quadrante). Iniciar a contagem das células nos quadrantes e, no final, multiplicar pelo factor 50, sendo o resultado expresso como células por mm³. A câmara também pode ser utilizada para a contagem de

cristais. Com o auxílio da objectiva de 100x, podem-se visualizar detalhes das células, como inclusões citoplasmáticas de partículas como lípidos, fragmentos de cromatina fagocitados, bactérias, cristais e também fragmentos de fibrina, cartilagem, partículas de corpo estranho como poeiras, cristais de talco das luvas, cristais de anticoagulantes, vilosidades sinoviais e, mais raramente, cartilagem pigmentada de castanho como na Ocronose²². A presença de um número pequeno de eritrócitos é comum em todos os derrames articulares e os eritrócitos falciformes são vistos nos doentes portadores da Doença Falciforme ou seu traço²⁴.

A contagem automatizada nos aparelhos Coulter[®], pode dar valores erradamente altos na presença de células degeneradas (debris), gotas lipídicas ou aglomerados de cristais que são confundidos com células.

Tabela 3-3. Algumas Patologias que Podem Causar Derrame Articular Purulento¹⁹

- Artrite Séptica
- Artrite Fúngica
- Gota
- Doença de Lyme
- Pseudo gota
- Artrite Psoriática
- Síndrome de Reiter
- Artrite Reumatóide
- Artrite Tuberculosa

Tabela 3-4. Causas de Hemartrose¹⁹

- Artrite séptica
- Terapia anticoagulante
- Qualquer inflamação intensa com congestão vascular
- Fístulas arteriovenosas
- Artropatia de Charcot ou outra destruição articular intensa
- Hemangioma
- Hemofilia ou outro distúrbio da coagulação
- Hemartrose idiopática
- Metástases
- Doença mieloproliferativa ()
- Sinovite vilonodular pigmentada
- Ruptura de aneurisma
- Escorbuto
- Trombocitopenia
- Traumatismos com ou sem fracturas
- Tumores
- Doença de von Willebrand

Contagem diferencial leucocitária e citologia

A contagem diferencial deve ser realizada sempre e independente do líquido estar classificado como «não inflamatório» na contagem global. Na presença de uma contagem baixa de leucócitos, algumas técnicas são utilizadas para concentrar células, como a centrifugação da amostra por 20 minutos numa velocidade de rotação de 800 rpm e posterior coloração do sedimento resuspenso, apesar da recuperação das células ser variável e ocorrer lesão das mesmas, o que prejudica, no final, a qualidade da contagem específica²³.

A amostra pode ser preparada de duas maneiras, de acordo com o método de coloração que

Tabela 3-5. Algumas Patologias que Podem Ocasionalmente Causar Derrame Articular Quiloso¹⁹

- Filariose
- Dislipidémias
- Paniculite associada a doença pancreática
- Artrite Reumatóide
- Fractura Subcondral
- Lúpus Eritematoso Sistémico (incomum)
- Infecção Crónica

Tabela 3-6. Algumas Situações Clínicas que Podem Ocasionalmente Causar Derrame Articular com Aspecto de «giz»¹⁹

- Doença por depósito de apatita
- Gota
- Injeções repetidas de corticosteróides intra-articular

se pretenda utilizar: **fixa** ou **a fresco**. Na fixa, utiliza-se a **coloração de Wright** com a desvantagem das células serem lesadas durante a preparação com alteração da morfologia e, nas amostras não inflamatórias, haver um número insuficiente de células. Na preparação a fresco – **coloração supra vital**, utiliza-se uma gota da amostra sobre uma lâmina, já corada comercialmente (Testsimplets®; Boehringer Mannheim Company, Mannheim, Germany), preparada com o acetato de cristal de violeta 2.1 ug/cm² e o azul de neometileno 1.0 µg/cm²; cobre-se, a seguir, com uma lamela que permite a dispersão do líquido, com o cuidado de não utilizar um volume maior de líquido e causar formação de bolhas de ar. Esta última coloração tem sido descrita como ideal para a visualização da morfologia celular com resultados mais precisos na contagem diferencial. Schumacher tem-na utilizado na diferenciação celular dos líquidos não inflamatórios e, também, para a pesquisa de cristais durante a contagem diferencial²³. Permite, também, a coloração de células tumorais e fragmentos de cartilagem.

O estudo morfológico das células do líquido sinovial e, que devem ser contadas, estão divididas em **5 grupos**: (1) **Polimorfonucleares (PMN)**: estas têm um diâmetro de 8-10 micras e são semelhantes aos polimorfonucleares do sangue periférico. O citoplasma é rosa com grânulos róseo-arroxeados. O núcleo é roxo escuro e lobulado. (2) **Linfócitos**

(L): estas têm um diâmetro de 6-8 micras. O núcleo é concêntrico, arredondado e roxo escuro com uma cromatina nuclear densa. O citoplasma é azul ou azul arroxeadado sem grânulos. A relação núcleo-citoplasma é maior que 1. (3) **Monócitos (Mo)**: estas células têm um diâmetro de 12-15 micras. O núcleo é excêntrico, em forma de ferradura e com uma fina cromatina reticular. O citoplasma é róseo e granular e contém granulação arroxeadada. A relação núcleo-citoplasma é “comumente” menor que 1. (4) **Grandes células mononucleares fagocíticas, macrófagicas ou células sinoviais tipo A (Gmo)**: estas são as maiores do líquido sinovial, têm um diâmetro de 15-20 micras. O núcleo é excêntrico e similar ao núcleo do monócito. O citoplasma é rosa azulado e contém granulação arroxeadada. A relação núcleo-citoplasma é menor que 1. (5) **Células sinoviais tipo B (CS)**: estas células têm um diâmetro de 12-18 micras. O núcleo é excêntrico, redondo e com uma cromatina reticular. O citoplasma é róseo-azulado ou azul (sinoviócito basófilo) sem granulações. A relação núcleo-citoplasma é menor que 1²⁵.

A *coloração de Wright* é realizada com a seguinte técnica: coloca-se uma gota do líquido sinovial sobre uma lâmina e, com uma lamela, desliza-se sobre a lâmina, em forma de um esfregaço; deixar secar ao ar ambiente; colorir a lâmina com o corante de Wright por dois minutos; adicionar tampão com água destilada até o aparecimento de um brilho metálico; deixar em repouso por dois minutos; lavar com água corrente e secar ao ar ambiente. Permite a contagem diferencial dos leucócitos, assim como a observação de algumas *características citológicas* que podem auxiliar no diagnóstico como a presença de *células LE* (leucócito polimorfonuclear ou monócito contendo grandes ou pequenas inclusões de material nuclear fagocitado com cromatina não identificável) que podem existir no derrame articular de doentes portadores de Lúpus Eritematoso Sistémico e, raramente, nos de Artrite Reumatóide; *ragócitos* (células fagocíticas polimorfonucleares, monocíticas, sinoviócitos e, raramente, linfócitos) contendo *inclusões citoplasmáticas* (provável complexos imunes fagocitados), maiores que o normal e facilmente visíveis sob microscopia óptica pelo fechamento, quase completo, do condensador e diafragma (*contraste de fase*), o que dá uma coloração verde-maçã àquelas e que podem estar presentes no derrame articular dos doentes com Artrite Reumatóide; *células de Reiter* (monócito gigante fagocitário de células

polimorfonucleares, com visualização de partículas picnóticas no citoplasma) que não são específicos, pois podem estar presentes nos doentes com Artrite Séptica, Artrites Reactivas, Artrite Crónica Juvenil, Artrite Psoriática, Doença de Lyme e Artrite induzida por cristais; *fragmentos da medula óssea* e, raramente, *células malignas* (metástases para as articulações)²³.

Os eosinófilos são raramente encontrados no líquido sinovial. Considera-se eosinofilia no líquido sinovial, quando eles constituem mais de 2% da contagem leucocitária total²⁶. Ropes e Bauer, num estudo de 1.500 amostras de líquidos sinoviais de doentes com várias doenças, presenciou eosinofilia em somente 13 e Amor e autores encontraram 11 em 4.277 amostras^{27,28}. Podell e colaboradores descreveram um caso de monoartrite, cujo líquido sinovial continha 83% de eosinófilos numa contagem de 10.000 leucócitos sem haver eosinofilia no sangue periférico e manifestações sistémicas²⁸. Casos semelhantes foram relatados^{26,29,31}.

O predomínio de **linfócitos** é encontrado em alguns doentes com Artrite Reumatóide inicial e em outros com a doença já estabelecida, porém sob tratamento apenas com anti-inflamatórios não esteróides. Pode ser observado em associação com Artrite Tuberculosa e outras infecções crónicas, Artrites Virais, Artrites não classificadas, Lúpus Eritematoso Sistémico e outras collagenoses²³.

Os monócitos podem ser observados nos doentes com Artrite Viral, Reacções de hipersensibilidade, Sinovite Transitória não classificada, na Artrite Microcristalina e na Osteoartrose. Apresentam uma particularidade tintorial, isto é, coram-se positivamente com o corante *negro do Sudão* (grânulos intracitoplasmáticos negros) o que permite a sua diferenciação das células sinoviais derivadas dos fibroblastos. O seu predomínio é acentuado nos doentes portadores de Retículo-Histiocitose Multicêntrica, onde o diâmetro é bastante aumentado. Nos derrames quilosos, nalgumas bursites e na Artrite Reumatóide, eles aparecem com o citoplasma carregado de gotículas lipídicas²³.

As **células neoplásicas**, identificadas no líquido sinovial pela coloração de Papanicolau e Wrigth, são encontradas raramente. A maioria dos casos é de metástases²³. Estas células estão agregadas e têm um núcleo mais disforme que as células benignas. Dresner encontrou células leucémicas no líquido sinovial em um de quatro doentes com Leucemia aguda e sintomas articu-

Tabela 3-7. Doenças Associadas com Eosinofilia no Líquido Sinovial³²

- Doenças reumáticas
 - Artrite Reumatóide
 - Artrite Psoriática
- Síndrome Hipereosinofílica
- Artrite Infeciosa
 - Artrite Tuberculosa
 - Doença de Lyme
- Doença Alérgica com artrite
 - Angioedema
 - História de atopia
 - Dermatografismo
 - Urticária
- Artrite «Reactiva» por parasitas
 - Ascaris lumbricoides*
 - Dracunculus medinensis*
 - Enterobius vermicularis*
 - Giardia lamblia*
 - Loa loa filariasis*
 - Strongyloides stercoralis*
 - Taenia saginata*
 - Trichuris trichiura*
- Derrames hemorrágicos
 - Adenocarcinoma metastizado para a sinóvia
 - Protusão acetabular pós irradiação pélvica
- Pós artrografia
- Pós pneumoartrografia
- Idiopático

lares³³. Não se sabe o mecanismo da metastização do carcinoma para o tecido sinovial; o mais certo é que ocorram, primeiro, metástases para o osso periarticular e, secundariamente, envolvimento sinovial. Moutsopoulos e colaboradores descrevem o caso de monoartrite de joelho causada por metástase de um carcinoma da mama e diagnosticado por citologia do líquido sinovial³⁴. Murray e colaboradores descrevem o caso de artrite da esternoclavicular como apresentação de um carcinoma metastático da mama e cuja citologia do líquido sinovial revelou aglomerados de células neoplásicas³⁵.

As **células sinoviais** maiores podem colorir-se positivamente com o corante *azul da Prússia* que é específico para detectar depósitos intracitoplasmáticos de ferro. Isto pode ocorrer nos doentes portadores de Hemocromatose, Hemartrose ou Sinovite Pigmentada Vilonodular²³.

Pesquisa de Cristais

McCarty e Hollander introduziram a microscopia óptica sob luz polarizada, que é o método sensível para a identificação dos cristais de monourato de sódio e de pirofosfato de cálcio dihidratado ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) nos líquidos sinoviais dos doentes de Gota e Condrocálcinose (Pseudo gota), respectivamente³⁶.

Vários cristais podem ser encontrados nos líquidos sinoviais. Os mais comuns são os de **monourato de sódio** e os de **pirofosfato de cálcio**¹⁷. Dos cristais de **fosfato básico de cálcio** também presentes, citamos, sobretudo a **apatita – hidroxapatita de cálcio** ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), a «**monetita**» (fosfato dicálcico anidro), a «**brushita**» ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), a «**whitelockite**» (Ca_3PO_4) ou **fosfato tricálcico**, a **fluorapatita**, o **fosfato otocálcico** ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)³⁷. Os de **oxalato de cálcio** e, mais raramente, os de **colesterol**, os **derivados cortisônicos**, os **lípidos (cruz de Malta)**, os **cristais de Charcot – Leyden**, a **hematoidina** e os de **imunoglobulinas**³⁸.

O material necessário para se executar a pesquisa dos cristais é o seguinte:

1. Pipetas de Pasteur plásticas,
2. Lâminas e lamelas de vidro,
3. Microscópio de luz polarizada equipado com polarizador, compensador e analisador³⁹.

É imprescindível o cuidado na manipulação da amostra para evitar a sua contaminação com partículas positivamente. O local de trabalho deve estar o mais limpo possível. As lâminas e as lamelas devem ser limpas com etér, a fim de retirar resíduos de lípidos, assim como as objectivas do microscópio⁵.

A preparação da lâmina inicia-se com a aspiração da amostra com a pipeta de Pasteur, após o tubo ter sido agitado e invertido algumas vezes para que ocorra a suspensão das partículas. McCarty não vê vantagem em centrifugar a amostra, mas Freemont utiliza o depósito, após a centrifugação, para a realização da pesquisa de cristais pois defende que melhora a concentração dos mesmos. A centrifugação pode ocasionar o desaparecimento dos cristais de pirofosfato de cálcio, a cristalização «*in vitro*» de brushita e até mesmo do monourato de sódio⁵⁻³⁹. Adiciona-se uma gota da amostra sobre a lâmina e, sobre esta, a lamela, sem pressão e/ou formação de gotículas de ar e, imediatamente, coloca-a sobre a mesa (porta-objecto) do microscópio, a fim de evita a sua

Tabela 3-8. Características Morfológicas dos Cristais Associados com Artrite³⁶

Cristal	Tamanho (micras)	Morfologia	Sinais de Birrefringência	Patologias Associadas
Monourato de Sódio	2 - 20	Agulhas, varetas	Negativa, intensa	Gota
Pirofosfato de Cálcio Dihidratado	2 - 10	Bastões, rombóide	Positiva, fraca	Doença por depósito de Pirofosfato de cálcio dihidratado
Grumos de Apatita	5 - 20	Aglomerados redondos, irregulares	Nenhuma	Calcificação periarticular, Calcinose, Osteoartrose
Oxalato de Cálcio	2 - 10	Bipiramidal	Positiva, intensa ou fraca	Oxalose primária ou secundária
Colesterol	10 - 80	Rectangular, «paralelos» aderidos pelos cantos	Negativa ou positiva	Tumefacções crónicas na Artrite Reumatóide
Corticosteróides de depósito sintéticos	4 - 15	Varetas, rombóides, grumos	Positiva intensa ou negativa	«Flare» articular pós-injecção iatrogénico)
Cristais líquidos de lipídeos	2 - 8	Cruz de malta	Positiva intensa	Artrites, Bursites
Fosfolipase ou Charcot – Leyden	17 - 25	Bipiramidal- hexagonal	Positiva e negativa	Sinovite eosinofílica
Imunoglobulinas	3 - 60	Polimorfos: varetas, poligonal, quadrado	Positiva e negativa	Mieloma múltiplo, Crioglobulinemia

desidratação, o que pode ocasionar a formação de artefactos ópticos que podem ser confundidos com cristais. Lembrar sempre do preparo de duas lâminas.

O microscópio de luz polarizada difere do microscópio óptico convencional nos seguintes aspectos: 1) contém dois idênticos prismas polarizadores ou filtros – o **polarizador**, que está acoplado entre o condensador (a fonte de luz) e o porta-objecto ou platina e o **analisador**, inserido num ponto acima das objectivas. 2) o porta-objecto giratório ou platina rotatória, que permite a rotação num eixo vertical coincidente com o centro do campo focalizado sobre uma partícula. 3) um **compensador** removível, inserido entre as objectivas e o analisador. A luz não pode atingir os olhos se estiver entre os dois filtros, uma objecto ou partícula que a desvie, a chamada **birrefringência**. Os micros cristais são birrefringentes e vão aparecer, sob estas condições, brilhantes sob um fundo negro, a não ser que se utilize o compensador de filtro vermelho, onde este fundo aparecerá róseo. De forma muito esquemática, pode se dizer que o compensador tem a capacidade de desviar a luz e de seleccionar certos componentes das partículas birrefringentes e isto traduz – se de duas maneiras: aqueles que são de birrefringência positiva ou ne-

gativa. Esta propriedade física manifesta – se pelo efeito de cores particulares, que são obtidas com relação a posição do eixo do cristal ao do compensador. A direcção do compensador, habitualmente situa-se do sudoeste ao nordeste e está indicada por uma marca linear, a letra grega gama, sobre o compensador. Os cristais de birrefringência negativa, como os de monourato de sódio, aparecem amarelos, se estão alinhados ao eixo do compensador e, azuis, se perpendiculares. O inverso ocorre com os cristais positivamente birrefringentes, como os de pirofosfato de cálcio, que são azuis quando paralelos e amarelos, se perpendiculares. O porta-objecto giratório permite modificar a orientação do cristal de acordo com o eixo do compensador até a extinção e mudança da sua cor^{5,40,41,42,43}.

A maior dificuldade inicial com a microscopia refere-se com a focalização da amostra, pois são, algumas vezes, tão claras ou transparentes com um número diminuto de células ou partículas. Utilizar a objectiva de 10x, localizar as bordas das lamelas, reter o foco e varrer a amostra até o encontro de leucócitos, tiras de fibrina e ou cristais³⁹.

Os cristais de **monourato de sódio** têm uma forma habitual de agulhas finas, de extremidades pontiaguda ou romba, de 2 a 20 micras de compri-

mento e, muito raramente, na forma de pequenas esferas. Apresentam uma forte birrefringência negativa sob a luz polarizada e a leitura, sobre um fundo negro, facilita sua identificação, pois aparecem na forma de agulhas brilhantes ou estrelas. É comum o seu aparecimento extra ou intra – celular nos leucócitos polimorfonucleares ou mononucleares e também junto dos debrís celulares ou fibrina. Também podem ser encontrados nos líquidos não inflamatórios. Algumas vezes podem ser de pequeno tamanho e num número reduzido, o que deve conduzir a sua pesquisa de forma mais minuciosa e além dos 10 minutos. Não esquecer que estes cristais podem vir associados a bactérias e outros cristais^{5,36,38,45}.

Os cristais de **pirofosfato de cálcio dihidratado** aparecem sob duas formas: monoclinica: cubóides ou retangulares e na forma triclinica: bastões rombóides com ponta romba ou quadrada. Lembrar que quando se identifica um cristal, as características: forma, tamanho e o «sinal» óptico (birrefringência positiva ou negativa) devem ser apontadas, pois alguns cristais de pirofosfato de cálcio são, algumas vezes, não-birrefringentes (formas monoclinicas). Apresentam, como características principais, tamanho pequeno, um brilho fraco entre o cruzamento dos polarizadores (sob o fundo negro), uma coloração pálida e uma quase insignificante mudança de cor sob o efeito do compensador (fraca birrefringência positiva). A pesquisa destes cristais no interior dos leucócitos polimorfonucleares, tem um grande significado clínico, assim como aderidos a fragmentos de fibrina e de cartilagem^{5,17,38,39,40,47}.

A **apatita** é um composto mineral do osso, sob a forma de cristais constituídos por cálcio e fósforo. Além do tecido ósseo, ela pode ser encontrada, sob condições patológicas, em três localizações principais:

- Nas inserções tendinosas (periartrite calcificante);
- Nos tecidos subcutâneos (Esclerose Sistémica, Miosite Ossificante, Calcínose Tumoral, Dermatiosite)
- Nas articulações (cápsula articular, líquido sinovial), por exemplo: Síndrome do Ombro de Milwaukee.

O chamado «reumatismo da apatita», ou «doença das calcificações tendinosas múltiplas», caracteriza-se pelas manifestações articulares e periarticulares devido a precipitação dos seus cristais. Clinicamente, a maioria dos casos são assin-

tomáticos, porém a fagocitose destes microcristais pelos macrófagos, pode desencadear uma crise inflamatória^{37,38}.

Os cristais da apatita são muito pequenos para serem visualizados na microscopia óptica. Apresentam-se sob a forma de massas agregadas e não birrefringentes. Numa preparação a fresco, sob microscopia de contraste de fase, pode-se distinguir estes agregados de cristais sob a forma de pequenos corpúsculos brilhantes, sem birrefringência e diâmetro de 1 a 5 micras. O corante Vermelho de Alizarina S é utilizado para a detecção dos agregados do apatita numa amostra de líquido de sinovial. É um corante com propriedades tintoriais para o cálcio e não específico para os cristais do apatita. Os outros cristais cálcicos, como os de oxalato e pirofosfato de cálcio, também são coloridos pelo Vermelho de Alizarina S e não são reconhecidos pela sua morfologia, pois os cristais de pirofosfato de cálcio podem ser tão pequenos e invisíveis individualmente sob microscopia óptica. A coloração depende do pH, da filtração e do armazenamento (ver detalhes da preparação no apêndice). A leitura da preparação, isto é, pingar uma gota do corante sobre a amostra do líquido sinovial numa lâmina e cobri-la com uma lamela, deve ser feita o mais rápido possível e dentro de um minuto, pois a mistura pode predispor a formação de precipitados que são indistinguíveis dos grumos cálcicos coloridos. Os agregados de apatita corados pelo vermelho, aparecem, microscopicamente, como formações arredondadas, de tamanho variado (2 a 10 micras de diâmetro), de coloração vermelho-laranja vivo, que contrasta nitidamente com um halo róseo circundante e o resto da preparação de coloração rosa lilás ténue. A observação microscópica óptica convencional é feita, inicialmente, com a menor objectiva para estimar o número das formações arredondadas por campo óptico, a seguir, com a maior objectiva, verificar a aparência detalhada daquelas e o seu tamanho. A contagem é variável, a média para uma contagem positiva é o encontro de pelo menos um ou mais formações por campo^{5,44,45,47,48,49,50}.

Os cristais de **oxalato de cálcio**, presentes no líquido sinovial dos doentes com insuficiência renal crónica sob diálise no contexto de uma oxalose primária ou secundária a insuficiência renal, apresentam-se, microscopicamente, sob duas formas: a monohidratada ou «*whewellite*» – a mais frequente, onde os cristais são muito polimorfos e podem assumir o formato de bastonetes e a forma

dihidratada ou «*weddellite*» – onde os cristais são piramidais ou em forma de envelopes e com birrefringência positiva. Encontrados nos líquidos articulares paucicelulares e o seu papel flogógeno é descrito: podem induzir tenosinovite ou artrite (gota oxálica)^{51,52}.

Os cristais de **colesterol** são raramente encontrados. Presentes em 3 amostras de líquido sinovial numa amostragem de 1.000. Dão uma coloração amarelo-palha a leitosa, aspecto turvo e consistência espessa a semi-sólida ao líquido. Microscopicamente, são, mais comumente, extracelulares, tamanho grande (aproximadamente 50 micras), formas rectangulares, planas, de conformação dum envelope e que podem estar empilhados, isto é, fortemente aderentes um ao outro, muito birrefringentes e, sob luz polarizada com compensador, adquirem coloração amarela e azul^{36,45,51,52,53,54}. São observados nos líquidos dos doentes portadores de Artrite Reumatóide de longa evolução, erosiva, nodular e fortemente seropositiva; igualmente presentes nas tenosinovites crónicas, nos líquidos das bursites, principalmente nodulares, na poliartrose mutilante (Retículo-Histiocitose Multicêntrica e raramente, nas situações de Espondilite Anquilosante, Osteoartrose e associadas ao cristais de monourato de sódio num tofo gotoso. A origem dos cristais é local, tendo os nódulos um papel importante na sua génese. Têm uma propriedade flogística mínima, devido ao seu grande tamanho e outras propriedades físico-químicas, e são, provavelmente, o resultado de um processo inflamatório local (excessiva destruição tecidual, hemorragia intra articular com defeituosa remoção dos resíduos eritrocitários) que, propriamente, os agentes desencadeantes do mesmo^{55,56,57}.

Os **cristais lipídicos** na forma de **cruz de Malta** são lipossomas arredondados (microesférulas), fortemente birrefringentes e constituídos por fosfolípidos das membranas celulares provenientes da apoptose e fagocitose. São considerados como patogénicos, pois são encontrados intracelularmente. Há descrição de casos de artrite aguda por estes lipossomas; a injeção de sangue, intra-articular, em coelhos, desencadeou uma sinovite transitória com a visualização das inclusões de cruz de Malta no líquido sinovial; também foram observados nos líquidos hemorrágicos na Sinovite Vilonodular e artrites pós-traumáticas. Estes relatos sugerem que tais “cristais líquido-lipídicos” possam ser derivados da degradação dos eritrócitos^{12,45,51,52}.

Os **lóbulos lipídicos** ou gotículas de gordura podem ser encontrados nos líquidos sinoviais de doentes com história de traumatismo articular, fractura óssea, traumatismo do menisco ou lesão ligamentar grave, necrose asséptica ou sinovite após transplante renal. Apresentam-se, microscopicamente, sob diferentes formas: varetas, agulhas, rectângulos, nas formas de rosetas e estrelas e com forte birrefringência dupla o que pode confundir com cristais de monourato de sódio, pirofosfato de cálcio dihidratado e colesterol. São constituídos por triglicéridos, a forma essencial de armazenamento dos lipídios nos adipócitos. Sua presença no líquido sinovial é de origem medular ou, mesmo, sinovial. Estes lóbulos são libertados da gordura medular após fractura ou traumatismo articular e podem desencadear um processo inflamatório com tumefacção articular marcada^{51,52,54}.

Os cristais de **Charcot-Leyden** são grandes cristais birrefringentes, em forma de losango bipiramidal, intra ou extra celular. São o resultado da cristalização intracitoplasmática da fosfolipase A, uma proteína presente nos polimorfonucleares neutrófilos e principalmente eosinófilos. São melhor visualizados nas preparações a fresco e sob o efeito da microscopia com contraste de fase. São obtidos «*in vitro*» pela ruptura dos eosinófilos e encontrados nos tecidos e exsudatos dos doentes com uma variedade de condições associadas a hipereosinofilia, incluindo Sinovite Eosinofílica, Síndrome Hipereosinofílica e Vasculite com eosinofilia. Os doentes com o Síndrome Hipereosinofílica podem ter depósito de cristais de Charcot-Leyden em múltiplos órgãos. O papel flogógeno é discutível^{38,52,58,59,60,61}.

Os cristais de **imunoglobulina** e **crioglobulina** podem se cristalizar intracelularmente nas células plasmáticas dos doentes portadores de Mieloma Múltiplo e Crioglobulinemia. Cristais similares, independentes das células plasmáticas, podem ser encontrados em diferentes órgãos destes doentes, como nos glómerulos, túbulos renais, pulmões, pele, fígado, baço, gânglios linfáticos, adrenais, testículos, córnea e articulações. Estes depósitos podem estar associados com um certo grau de falência daqueles órgãos. Eles podem também existir nas coronárias e artérias renais e induzir trombose e enfarto. Depósitos vasculares de imunoglobulina cristalizadas têm sido observados nas lesões purpúricas e necróticas da pele e, também no líquido sinovial e na sinóvia dos doentes com crioglobulinemia. São descritos alguns casos de

Tabela 3-9. Principais Cristais de Corticosteróides Sintéticos⁶⁶

Cristal	Forma	Tamanho	Birrefringência	Semelhança com Outros Cristais
Acetato de metilprednisolona	Pleomórfico, tendência a formar grumos	Minúsculo <5 micras	Negativa	Pirofosfato de cálcio dihidratado, oxalato de cálcio
Fosfato de dipropionato de betametasona	Varetas 10 a 20 micras	Curto	Negativa	Monourato de sódio
Hexacetoneo de triamcinolona	Varetas com ponta romba	<5 micras	Negativa	Monourato de sódio

poliartrite erosiva em que há presença de crioprecipitados séricos e cristais de crioglobulina no líquido sinovial e na sinóvia. Estes cristais são de um tamanho que varia dos 3 aos 60 micras de comprimento e de diferentes formas: hexagonal, em forma de diamante, poligonais, rectangulares, rombóides ou agulhas e com fraca ou forte birrefringência; se coram com o corante de Wright^{36,38,62,63,64}.

Os cristais de **hemoglobina e hematoidina** podem ser encontrados, ocasionalmente, no líquido sinovial dos doentes com hemartrose e Sinovite Pigmentada Vilonodular⁵². Os cristais de hemoglobina são rectangulares, de 10 a 12 micras de comprimento, uma dupla birrefringência e presentes no interior dos eritrócitos ou extracelular. Estes cristais podem surgir como artefactos, se houver atraso na leitura da amostra, isto é, resultantes da degradação celular. Uma alta concentração proteica e o pH ácido, associado a um processo inflamatório, podem favorecer a formação dos cristais de hemoglobina intra-articular na presença de hemartrose. A Hematoidina é um pigmento cristalino formado pela degradação da hemoglobina sob uma baixa tensão de oxigénio (os eritrócitos são extravasados para o espaço tecidual e fagocitados pelos macrófagos e a hemoglobina degradada). Depois da remoção da globina, o ferro se combina com a apoferritina, formando hemossiderina. O porfirínico residual se abre, formando biliverdina, que sob uma baixa tensão de oxigénio, resulta na formação de hematoidina cristalina. Prováveis cristais de hematoidina têm sido encontrados no líquido sinovial de três doentes com hemartrose e como cristais de artefactos numa amostra hemorrágica armazenada no frigorífico por 4 semanas. Estes cristais descritos têm, microscopicamente, uma apresentação diversa de vários tamanhos e formas, sendo a rombóide a mais característica,

mas também podem ser como agulhas de 2 a 25 micras ou até 100 micras de comprimento ou esferóides; têm uma coloração dourada ou amarelo-acastanhado, quando observados com luz ordinária e, sob luz polarizada, mostram uma dupla birrefringência. A importância destes cristais de hemoglobina e derivados na indução do processo inflamatório articular é desconhecida, mas o mais correcto, é saber reconhecê-los e evitar a sua confusão com os outros cristais como os de pirofosfato de cálcio dihidratado¹².

Os cristais de **corticosteróides de depósito** são polimorfos e apresentam uma forte birrefringência positiva, variável com o produto utilizado⁶⁵. Podem persistir na articulação várias semanas ou até meses após a infiltração, sendo que esta retenção ocorre mais quando o produto é injectado no tecido periarticular que no interior da articulação. Apresentam propriedade flogógena e são capazes de desencadear uma artrite aguda dentro de algumas horas, após sua administração, o que se caracteriza por um líquido fortemente inflamatório (leucocitose), porém estéril. Observar, microscopicamente, a presença destes cristais que se apresentam extra ou intracelularmente e que são confundidos, por técnicos inexperientes, com cristais de monourato de sódio e/ou pirofosfato de cálcio dihidratado. Vários esteres de corticosteróides sintéticos podem produzir cristais de variados tamanhos, formas e birrefringência⁶⁶.

Outras partículas associadas com sinovite e que podem ser visualizadas na microscopia são várias. A introdução de partículas no interior das articulações, bainhas tendinosas, tecido mole periarticular e bem como o uso de partículas metálicas nos implantes articulares, pode desencadear uma sinovite por corpo estranho (monoartrite da mão ou joelho). Preparações a fresco do líquido sinovial pode evidenciar fragmentos birrefringentes de es-

pinhos de plantas, de polietileno ou polimetilmetacrilato ou partículas não birrefringentes como fibras de vidro, fragmentos metálicos e silicone. Podem ser facilmente interpretados como artefactos e ignorados pela sua raridade⁵¹.

Outros Aspectos a Ter em Conta

Tipo de microscópio.

Para a realização da análise citológica, a microscopia **sob contraste de fase** é útil na observação dos elementos intra celulares pela produção de focos de luz e sombras nas margens da célula. O microscópio deve estar equipado com uma fonte de luz Kohler, uma objectiva e um condensador de fase⁵.

Solução de Vermelho de Alizarina S

2.0 g de Vermelho de Alizarina S e 100 ml de água destilada. Ajustar a solução ao pH 4.1-4.5 ao adicionar hidróxido de amónia, gota a gota, enquanto se agita. A suspensão é filtrada através de um filtro de 0,22 micras (Millipore S.A.). Conservar a solução num frasco escuro para evitar fotodecomposição, filtrar sempre que for utilizar e verificar o pH^{5,45,67}.

Corante Negro do Sudão (111) para grânulos lipídicos nos neutrófilos polimorfonucleares e monócitos.

Solução de etanol a 70% é saturada com Negro do Sudão B e deixada para equilibrar por 8 dias. Uma gota de líquido sinovial é adicionada sobre uma lâmina de vidro e a seguir uma gota do negro do Sudão 111. Depois da mistura, uma lamela é colocada sobre esta. Os glóbulos lipídicos ir-se-ão corar de negro^{5,68}.

A pesquisa da substância amilóide no líquido sinovial

- O trabalho de Lakhanpal e colaboradores detectou a presença de substância amilóide no líquido sinovial de 7 doentes portadores de amiloidose primária com atingimento clínico articular, cuja biópsia sinovial era comprovativa da doença. Utilizou-se como grupo controlo 98 doentes que tinham outras formas de artrites. A amostra do líquido sinovial foi centrifugada a 1.000 rpm, por 6 minutos. Preparou-se uma lâmina com o sedimento e o corante específico Vermelho Congo. A observação, sob microscopia de luz polarizada, revelou um material amorfo de birrefringência verde-maçã típica. O líquido sinovial foi lido sem

o conhecimento do diagnóstico e nenhuma substância amilóide foi encontrada nas amostras do grupo controlo⁶⁹.

- A solução de Vermelho Congo deve estar saturada em álcool a 0.19%; alcalinizar com 1% de NaOH antes de ser utilizada (100 microlitro de Vermelho Congo + 1 microlitro de NaOH) e filtrar para remover partículas residuais do corante; uma gota do corante é adicionada a uma gota do líquido sinovial sobre uma lâmina clara e limpa de vidro, após a mistura, cobrir com uma lamela. A substância amilóide irá aparecer vermelha com a luz ordinária do microscópio e se tornará verde-maçã sob o efeito do polarizador⁴⁵.

- O atingimento articular tem sido descrito nos doentes com Amiloidose primária e não é uma característica da Amiloidose secundária ou familiar⁶⁹. A artropatia amilóide deve ser considerada nos doentes portadores de poliartrite seronegativa quando o diagnóstico é duvidoso e, particularmente, nos que têm ou já tiveram Síndrome do Túnel Cárpico⁷⁰. A presença de nódulos subcutâneos na ausência do factor reumatóide deve alertar para este diagnóstico⁷¹. Aproximadamente 5% dos doentes com Mieloma Múltiplo desenvolvem artropatia por depósito de substância amilóide⁷². Nos doentes portadores de Insuficiência Renal Crónica, sob tratamento dialítico de longa duração, podem desenvolver quadros articulares inflamatórios por depósito de Beta-2 microglobulina que têm características congofílicas.

- Esta técnica de análise do sedimento do líquido sinovial com coloração directa a fresco é simples, sensível e provavelmente específica para o diagnóstico da artropatia por amilóide. Pode substituir a técnica de inoculação da amostra num bloco de parafina com cortes micrométricos para coloração com o Vermelho Congo^{73,74}.

Corpos Riziformes do Líquido Sinovial.

Os corpos riziformes, originalmente descritos no contexto de Artrite tuberculosa, constituem um grupo heterogéneo de partículas semelhantes a fibrina e que podem ser encontrados no líquido sinovial da artrite crónicas, incluindo a tuberculosa, Artrite Piogénica, Artrite Crónica Juvenil e Artrite Reumatóide. Esta denominação deriva do seu aspecto macroscópico, similar aos grãos de arroz polidos⁷⁵.

A maior parte dos corpos riziformes são constituídos por fibrinogénio/fibrina e fibronectina, conhecidos como tipo I por Berg e autores. Con-

têm células mononucleares de predomínio macrofágico na aparência e, na microscopia ultraestrutural, semelhança aos sinoviócitos tipo B. Menos frequente, no seu interior, pode haver polimorfonucleares, eritrócitos e linfócitos⁷⁶.

A origem, o mecanismo de formação e significado destes corpos com relação a patologia articular, permanece controverso⁷⁷.

No trabalho de Gálvez e colaboradores que estudaram, microscopicamente, 306 sedimentos do líquido sinovial de 216 doentes com variadas artropatias agudas e crônicas, encontraram corpos riziformes em 53 (17.3%) das amostras estudadas, e destas, 45 (84.9%) eram de doentes com Artrite Reumatóide num total de 129 amostras (34,9%). A maior parte destes era composta por material fibrinoso, parcial ou totalmente, hialinizado e no interior, havia um predomínio de células mononucleares com o aspecto macrofágico e, menos frequentemente, áreas de fibrose. Os resultados sugeriram que os corpos riziformes são partículas de fibrina derivadas do acúmulo de células no líquido sinovial inflamatório na forma de uma malha densa⁷⁸.

Endereço para correspondência:

Rua da Escola, Lote 2 A, Esquerdo
3515-125 Abraveses
Viseu
E-mail: rui.melo.3@netvisao.pt

Referências Bibliográficas

- Lawrence HJ. Joint Fluid. In: Maddison PJ, Isenberg DA, Woo P, Glass DN. Oxford Textbook of Rheumatology. Oxford: Oxford University, 1998: 667-685.
- Freemont AJ. Synovial fluid analysis. In: Klippel JH, Dieppe PA. Rheumatology. London: Mosby International and Limited, 1998: 11.1-11.4.
- Freemont AJ. Role of cytological analysis of synovial fluid in diagnosis and research. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 120-123.
- Shmerling RH. Synovial Fluid Analysis, a critical reappraisal. *Rheum Dis Clin North Am*. 1994;20:503-512.
- Dieppe P, Pascual E, Swan A. The Identification of Crystals in Arthritic Synovial Fluid. <http://www.eular.org/synovial/page-i.htm>.
- Safety guidelines for performing arthrocentesis. Concil on Rheumatologic care. American College of Rheumatology. <http://www.rheumatology.org/position/safetyguide.html>.
- Pérez LC. Septic arthritis. *Balliere's Clin Rheum* 1999; 13 (1): 37-58.
- Agudelo CA. It's the Synovial Fluid, Stupid: The Importance of Synovial Fluid Analysis. *J Clin Rheum* 1998; 4: 175-176.
- Gattar RA, Shumacher HR. Clinical Significance of Joint Fluid Findings. In: Gattar RA, Schumacher HR. A practical handbook of joint fluid analysis. Philadelphia. Lea and Febiger 1991, 85-96.
- Krey PR, Bailen DA. Synovial Fluid Leukocytosis: A Study of Extremes. *Am J Med*. 1979; 67: 436-442.
- Kerolus G, Clayburne G, Jr. Schumacher HR. Is it mandatory to examine synovial fluids promptly after arthrocentesis? *Arthritis Rheu* 1989; 92: 271-278.
- Tate GA, Jr. Schumacher HR, Reginato AJ, Algeo SB, Gratwick CM, Di Battista WT. Synovial fluid crystals derived from degradation products. *J Rheumatol* 1992; 19: 1111-1119.
- Carro A, Battle E, Pascual E et al. Blood cultures flasks for synovial fluid culture: a more sensitive method for the isolation of bacteria from synovial fluid, particularly brucella mellitensis. *British Journal of Rheumatology* 1988; 27 (supplement 2): 19.
- Von Essen R, Holtta A. Improved method of isolating bacteria from joint fluid by use of blood culture bottles. *Ann Rheum Dis* 1986; 45: 454-457.
- Sarlin P, Mansoor I, Daygaran C, Struelens MJ. Comparison of resin-containing BACTEC plus Aerobic/F* medium, with conventional methods for culture of normally sterile body fluids. *J Med Microbiol* 2000; 7: 787-791.
- Swan A, Amer H, Dieppe P. The value of synovial fluid assays in the diagnosis of joint disease: a literature survey. *Ann Rheum Dis*; 2002; 61: 493-498.
- McCarty DJ. Crystal Identification in Human Synovial Fluids. *Rheu Dis Clin North Am* 1988; 14:253-267.
- Schumacher HR. Intracellular crystals in synovial fluid anticoagulated with oxalate. *The New Eng J Med* 1966; 16: 1372-1373
- Jr. Schumacher HR, Reginato AJ. Gross appearance and viscosity. In: Atlas of synovial fluid analysis and crystal identification. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991; 2: 7-26.
- Harris BJ, Ross HA. Hemarthrosis as Presenting Manifestation of Myeloproliferative Disease. *Arthritis Rheum* 1974; 17: 969-970.
- Lawrence C, Seife B. Bone marrow in joint fluid: a clue to fracture. *Ann Int Med* 1971; 74: 740-792.
- Reginato AJ, Schumacher HR, Martinez VA. Ochronotic arthropathy with calcium pyrophosphate crystal deposition: a light and electron microscopic study. *Arthritis Rheum* 1973; 16: 705-714.
- Jr Schumacher HR, Reginato AJ. Stained Preparations. In: Atlas of synovial fluid analysis and crystal identification. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991;5: 57-87
- Jr Schumacher HR, Reginato AJ. Wet Preparations. In: Atlas of synovial fluid analysis and crystal identification. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991;4: 31-56
- Louthrenoo W, Sieck M, Clayburne G, Rothfuss S, Jr. Schumacher HR. Supravital Staining of Cells in Non-inflammatory Synovial Fluids: Analysis of the Effect of Crystals on Cell Populations. *J Rheumatol* 1991; 18: 409-413.
- Luzar MJ, Friedman BM. Acute Synovial Fluid Eosinophilia. *J Rheumatol* 1982; 9: 961-962

27. Ropes MV, Bauer W. *Synovial Fluid Changes in Joint Disease*. Cambridge, MA, Harvard University Press, 195
28. Amor B, Benhamou CL, Dougados M, Grant A. Arthrites a éosinophilies et revue générale de la signification de l'éosinophilie articulaire. *Rev Rhum Mal Osteoartic* 1983; 50: 659-664.
29. Podell TE, Ault M, Sullam P, Klinenberg JR. Synovial Fluid Eosinophilia. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 1060-1061.
30. Benhamou CL, Dougados M, Amor B. Monoarthrites à éosinophiles chez ces allergiques. *La Presse Médicale* 1984, 13: 44-45
31. Dabbagh AI, Irhayim B. Eosinophilic transient synovitis. *Ann Rheu Dis* 1983; 42: 462-465
32. Kay J, Eichenfield AH, Athreya BH, Doughty RA, Jr. Schumacher HR. Synovial Fluid Eosinophilia in Lyme disease. *Arthritis Rheum* 1988; 31: 1384-1389.
33. Dresner E. The bone and joint lesions in acute leukaemia and their response to folic acid antagonists. *Q J Med* 1950; 19: 339-352.
34. Moutsopoulos HM, Fye KH, Petronila IP, Shearn MA. Monoarthritic Arthritis Caused by Metastatic Breast Carcinoma: Value of Cytologic Study of Synovial Fluid. *JAMA* 1975; 234: 75-76.
35. Murray GC, Persellin RH. Metastatic Carcinoma Presenting as Monoarticular Arthritis: A Case Report and Review of the Literature. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 95-100
36. Jr Schumacher HR, Reginato AJ. Crystal Identification. In: *Atlas of sinovial fluid analysis and crystal identification*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991; 6: 89-102.
37. McCarty DJ, Lehr JR, Halverson PB. Crystal Populations in Human Synovial Fluid: Identification of Apatite, Octacalcium Phosphate and Tricalcium Phosphate. *Arthritis and Rheumatism* 1983; 26: 1220-1224.
38. Bravo EO. Arthropathies Microcristallines: examen du liquide articulaire dans les arthropathies microcristallines: *Rev Prat (Paris)* 1994; 44: 174-182
39. Phelps P, Steele AD, Jr, McCarty DJ. Compensated Polarized Light Microscopy: Identification of Crystals in Synovial Fluids From Gout and Pseudogout. *JAMA* 1968; 203: 166-170.
40. Jr. Duncan SO. A cheap and useful compensated polarizing microscope. *The New Eng J Med* 1971; 11: 1152.
41. Gatter RA. The Compensated Polarized Light Microscope in Clinical Rheumatology. *Arthritis and Rheumatism* 1974; 17: 253-254.
42. Fagan JT, Lidsky MD. Compensated Polarized Light Microscope using cellophane Adhesive Tape. *Arthritis and Rheumatism* 1974; 17: 256-262.
43. Gordon C, Swan A, Dieppe P. Detection of Crystals in Synovial Fluids by Light Microscopy: sensitivity and reliability. *Ann Rheu Dis* 1989; 48: 737-742.
44. Bardin T. Arthropathies Microcristallines: avant – propos. *Rev Prat (Paris)* 1994; 44: 153-154.
45. Bardin T, Bucki B. Microcristaux du liquide articulaire: techniques de recherche et intérêts pour le clinicien. *Feuillets de Biologie* 1989; vol III (171): 31- 37.
46. Markel SF, Hart WR. Arthropathy in Calcium Pyrophosphate Dihydrate Crystal Deposition Disease: Pathologic Study of 12 Cases. *Arch Pathol Lab Med* 1982; 106: 529-533.
47. Dieppe PA, Crocker P, Huskisson EC, Willoughby DA. Apatite Deposition Disease: A New Arthropathy. *Lancet* 1976; 266-268.
48. Schumacher HR, Cherian PV, Reginato A, Bardin T, Rothfuss. Intra-articular apatite crystal deposition. *Ann Rheum Dis* 1983; 42: Supplement: 54-59.
49. Bardin T, Bucki B, Lansaman, Bravo EO, Ryckewarert A, Dryll A. Coloration Par le Rouge Alizarine des Liquides Articulaires: Confrontation des résultats avec ceux de la microscopie électronique et avec les données cliniques. *Rev Rhum* 1987: 149-154.
50. Halverson PB, Cheung HS, McCarty DJ, Garancis J, Mandel N. "Milwaukee Shoulder" – Association of Microspheroids Containing Hydroxyapatite Crystals, Active collagenase, and neutral Protease with Rotator Cuff Defects: II. *Synovial Fluids Studies. Arthritis and Rheumatism* 1981; 24: 474-491.
51. Tourlière D, Benhamon CL. Microcristaux lipidiques et autres cristaux articulaires rares. *Rev Prat (Paris)* 1994; 44: 197-200.
52. Reginato AJ, Brenda K. Calcium Oxalate and Other Crystals Associated with Kidney Diseases and Arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1987; 16: 222-229.
53. Ettlinger RE, Hunder GG. Synovial Effusions Containing Cholesterol Crystals: Report of 12 Patients and Review. *Mayo Clin Proc* 1979; 54.
54. Wise CM, White RE, Agudelo CA. Synovial Fluid Lipid Abnormalities in Various Disease States: Review and Classification. *Semin Arthritis Rheum* 1987; 16: 222-230.
55. Lazarevic MB, Skosey JL, Vitic J, Mladenovic V, Myones BL, Popovic J, Swedler WI. Cholesterol Crystals in Synovial and Bursal Fluid. *Semin Arthritis Rheum* 1993, 23: 99-103.
56. Fam AG, Pritzker KPH, Cheng PT, Little AH. Cholesterol Crystals in Osteoarthritic Joint Effusions. *J Rheumatol* 1981; 8: 273-280.
57. Reginato AJ, Scumacher HR, Allan DA, Rabinowitz J: Acute monoarthritis associated with lipid crystals. *Ann Rheum Dis* 1985; 44: 537-643.
58. Dincsoy HP, Burton TJ, Vander Bel-Kahn JM: Circulating Charcot-Leyden crystals in hypereosinophilic syndrome. *Am J Clin Pathol* 1981; 75: 236-246.
59. Jr Schumacher HR, Reginato AJ. Charcot-Leyden Crystals. In: *Atlas of synovial fluid analysis and crystal identification*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991; 13: 189-191.
60. Menard HA, de Medicis R, Lussier A, et al: Charcot-Leyden crystals in synovial fluid. *Arthritis Rheum* 1981; 24: 1591-1592 (letter).
61. Brown JP, Rola-Pleszcynski, Menard HA: Eosinophilic synovitis: clinical observations on a newly recognized subset of patients with dermatografism. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 1147-1151.
62. Jr Schumacher HR, Reginato AJ. Immunoglobulin Crystals. In: *Atlas of sinovial fluid analysis and crystal identification*. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991; 14: 194-196

63. Jennette JC, Wilkman AS, Benson JD. IgD myeloma with intracytoplasmic crystalline inclusions. *Am J Clin Pathol* 1981; 75: 231-235
64. Dornan TL, Blundell JW, Morgan AG, et al. Widespread crystallization of paraprotein in myelomatosis. *Quart J Med* 1985; 222: 659-667.
65. Khan CB, Hollander JL, Schumacher HR. Corticosteroid Crystals in Synovial Fluid. *JAMA* 1970; 211: 807-809.
66. Jr Schumacher HR, Reginato AJ. Synthetic Depot Corticosteroid Crystals. In: Atlas of sinovial fluid analysis and crystal identification. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991; 12:183-187.
67. Jr Schumacher HR, Reginato AJ. Appendix. In: Atlas of sinovial fluid analysis and crystal identification. Philadelphia: Lea and Febiger, 1991; 241-249.
68. Lakhnpal S, Li CY, Gertz MA, Kyle RA, Hunder GG. Synovial Fluid Analysis for Diagnosis of Amyloid Arthropathy. *Arthritis Rheum* 1987; 30: 419-423.
69. Wiernik PH. Amyloid joint disease. *Medicine* 1972; 51: 465-479
70. Cohen AS, canoso JJ: Rheumatological aspects of amyloid disease. *Clin Rheum Dis* 1975; 1: 149-161.
71. Gordon DA, Pruzanski W, Ogryzlo MA, Little HA: amyloid arthritis simulating rheumatoid disease in five patients with multiple myeloma. *Am J Med* 1973; 55: 142-154.
72. Hickling P, Wilkins M, Newman GR, Pritchard MH, Jessop J, Wittaker J, Nuki G: A study of amyloid arthropathy in multiple myeloma. *Q J Med* 1981; 200: 417-433.
73. Gordon DA, pruzanski W, Ogryzlo MA. Synovial fluid examination for the diagnosis of amyloidosis. *Ann Rheum Dis* 1973; 32: 428-430.
74. Pras M, Itzchaki M, Prelli, Dollberg L, Frangione B. Amyloid arthropathy: characterization of the amyloid protein. *Clin Exp Rheumatol* 1985; 4: 212-217.
75. Berg E, Wainwright R, Barton B, et al. On the nature of rheumatoid rice bodies. *Arthritis Rheum* 1977; 20: 1343-1349
76. Scott DL, Walton KW. The significance of fibronectin in rheumatoid arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 1984; 13: 244-254.
77. Cheung HS, Ryan LM, Kozin F, McCarty DJ. Synovial origins of rice bodies in joint fluid. *Arthritis Rheum* 1980; 23: 72-76.
78. Galvez, J, Sola j, Ortuño G, Vicente J, Castillo JM, Vicente V, Castellon. Microscopic Rice Bodies in Rheumatoid Synovial Fluid Sediments. *J Rheumatol* 1992; 19:1851-1858.

Sociedade Portuguesa de Reumatologia

Conheça

Participe

Influencie

Os Caminhos da Reumatologia Portuguesa

em

www.spneumatologia.pt