

## ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ЭЛЕКТРЕТНО-ТЕРМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Л.С. Пинчук<sup>1</sup>, Ю.М. Чернякова<sup>2</sup>, Ж.В. Кадолич<sup>1</sup>, В.И. Николаев<sup>2</sup>, Е.Д. Белоенко<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Институт механики металлополимерных систем им. В. А. Белого, Гомель;

<sup>2</sup> Гомельский государственный медицинский университет;

<sup>3</sup> Белорусский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии, Минск (Белорусия)

*Методом электретно-термического анализа изучено структурное состояние синовиальной жидкости (СЖ), взятой из здоровых и патологически измененных суставов. Установлено, что СЖ проявляет свойства квазиэлектрета, демонстрируя спектры термостимулированных токов. Сделано заключение, что низкотемпературные токовые пики на спектрах в диапазоне температур 35–50 °С соответствуют термически стимулированному разрушению связей в гидратных оболочках, окружающих полярные компоненты СЖ, и перестройке содержащихся в СЖ жидкокристаллических структур на основе производных холестерина. Среднетемпературный пик (80–100 °С) соответствует разрушению комплексных белково-полисахаридных соединений и надмолекулярных белковых образований. Пик в диапазоне 110–120 °С связан с фазовым переходом, вызванным деструкцией белковых макромолекул, испарением воды и образованием твердой фазы в образцах СЖ. Обнаруженные взаимосвязи спектра термостимулированных токов и патологии суставов свидетельствуют о трансформации структурных составляющих СЖ при заболеваниях суставов. Структурные изменения подтверждены результатами трибологических испытаний и анализом текстур высушенных проб СЖ.*

*Structural state of synovia (S) from healthy and pathologically changed joints was studied using the method of electret-thermal analysis. It is detected that S exhibits the properties of quasi-electret demonstrating the spectra of thermally stimulated currents. The conclusion is made that low-temperature current peaks (temperature range from 35 to 50 °C) result from thermally stimulated destruction of bonds in hydrate membranes that surround polar components of synovia (S), as well as from the reconstruction of S liquid-crystal structures on the base of cholesterol derivatives. Middle-temperature peak (80–100 °C) corresponds to the destruction of complex protein-polysaccharide compounds and permolecular structures. Peak within 110 to 120 °C is associated with the phase transformation caused by the destruction of protein macromolecules, evaporation of water and formation of a solid phase in the S samples. This correlation between thermally stimulated currents spectra and joint pathology evidences of the transformation of S structural components in joint pathology. Structural changes are confirmed by the results of tribologic testing and texture analysis of dry S tests.*

Снижение трения и износа хрящевых поверхностей костей, находящихся в подвижном контакте в суставах, является одной из основных функций синовиальной жидкости (СЖ) [5]. Эффект смазывания реализуется благодаря специфическому биохимическому составу СЖ (белки, полисахариды, антифрикционные компоненты — гиалуронаты, жидкокристаллические соединения холестерина и др.) и иерархически упорядоченной пространственной организации составляющих этой вязкой коллоидной системы. При заболеваниях суставов

изменяются клеточные и биохимические характеристики СЖ, количественные параметры которых в ряде случаев используются для диагностики в травматологии и ортопедии [1]. Однако они позволяют лишь косвенно оценить отклонения структуры СЖ от нормального состояния, обеспечивающего удовлетворительную смазку суставов.

В физике диэлектриков разработан метод электретно-термического анализа (ЭТА), позволяющий определять механизмы и параметры электрической поляризации вещества. В ранее проведенных

методом ЭТА исследованиях [7, 8, 10] обнаружен эффект, подобный электретному, у биологических субстанций — коллагена, миоглобина, полисахаридов, крови человека и др.

Цель настоящей работы состояла в исследовании методом ЭТА структурных изменений СЖ, сопутствующих заболеваниям суставов, и выявлении закономерностей ухудшения смазочной способности СЖ при патологических изменениях суставов.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

СЖ для экспериментальных исследований получена от пациентов, проходивших обследование и лечение в Гомельской областной клинической больнице, во время проведения лечебно-диагностических пункций или операций на коленных суставах (предварительно пациентами было дано согласие на дальнейшее экспериментальное изучение биологического материала).

Исследованы СЖ, взятые из суставов: условно здоровых людей (при проведении диагностической артроскопии патологических изменений в суставе не обнаружено), пациентов с дегенеративно-дистрофическим заболеванием, с острым воспалительным процессом, болезнью Бехтерева, ревматоидным артритом.

Для проведения ЭТА пробу СЖ (~0,2 мл) помещали на обезжиренный латунный электрод и накрывали обработанной этиловым спиртом тефлоновой прокладкой, на которую накладывали второй электрод. Нагревание образцов проводили с постоянной скоростью 5 °С/мин. Регистрировали зависимость тока  $I$ , возникающего при нагревании образца, от температуры  $T$  — спектры термостимулированных токов (ТСТ). Тефлоновые прокладки, подвергнутые предварительному обжигу, не обнаруживали собственных ТСТ. Закономерности изменения спектров ТСТ позволяют судить о механизмах, ответственных за проявление электретного эффекта. Каждый из приведенных ниже результатов является средним не менее чем 7 измерений.

Для объективной оценки смазочной способности СЖ использовали трибометр маятникового типа, имитирующий трение в металлополимерной паре эндопротеза сустава. Принцип действия прибора основан на оценке коэффициента трения по измеряемым параметрам затухающих колебаний маятника. Точность измерения коэффициента трения очень высока благодаря тому, что прибор содержит единственную — исследуемую — пару трения. Последняя состояла из опоры, выполненной из сверхвысокомолекулярного полиэтилена, и установленной в ее канавке несущей маятник треугольной призмы (сталь марки 12Х18Н9). Опорная грань призмы имела закругление с радиусом  $r = 2,5$  мм. Площадь контакта трущихся поверхностей составляла 1 см<sup>2</sup>. Исследуемую СЖ объемом 0,5 мл помещали в канавку, после чего маятник приводили в движение. Испытания выполняли в режиме трения скольжения при массе маятника  $m = 2,0$  кг и скорости скольжения  $v = 1,0$  м/с.

Для моделирования биофизического поля сустава круглую опору маятника помещали в соленоид (наружный диаметр  $D = 21$  мм, диаметр медной проволоки  $d = 0,07$  мм, количество витков  $n = 600 \pm 2$ ), соединенный с источником постоянного тока. Напряженность магнитного поля на поверхности трения опоры составляла в среднем  $H = 1,2$  кА/м, что соответствует диапазону оптимальных напряженностей постоянных магнитных полей, применяемых в магнитотерапии суставов [6].

Структурные различия проб СЖ, полученных путем высушивания каплей исследуемых СЖ на предметных стеклах при температуре 18 °С, оценивали визуально с помощью оптического микроскопа.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все исследованные образцы СЖ, не подвергавшиеся никакой предварительной электрической обработке, в диапазоне температур 20–140 °С обнаруживают спектры ТСТ, различающиеся количеством, расположением и интенсивностью пиков.

Спектр ТСТ «условно здоровой» СЖ (рис.1, а) имеет три пика: низкотемпературный, среднетемпературный и высокотемпературный.

Низкотемпературный пик релаксации отрицательного заряда располагается в температурном диапазоне 35–50 °С. Он соответствует термически стимулированному разрушению координационных структур, которые состоят из белковых образований, окруженных гидратными оболочками. Последние образуются в результате присоединения молекул воды посредством водородных связей к полярным фрагментам макромолекул [8]. Энергию активации процесса релаксации заряда, соответствующего этому пику, определяли методом Гарлика—Гибсона [11] по наклону начального участка  $I(T)$ . Она составляет  $W = 0,25–0,45$  эВ, что соизмеримо с энергией водородных связей. Ранее показано [4], что этому же температурному диапазону соответствует высвобождение зарядов, происходящее при тепловой перестройке жидкокристаллических структур СЖ, основу которых составляют производные холестерина [2].

Среднетемпературный пик ( $T = 80–100$  °С) релаксации положительного заряда, по-видимому, соответствует разрушению белково-полисахаридных комплексных соединений, надмолекулярных белковых образований, а также необратимым изменениям третичной и частично вторичной структуры белка, не сопровождающимся разрывом полипептидной цепи. Энергия активации релаксации заряда, соответствующего этому пику, практически совпадает с энергией активации вышеупомянутых процессов и находится в пределах  $W = 0,5–0,7$  эВ [9].

Самый интенсивный пик соответствует температурам 110–120 °С. Он частично взаимно перекрывается со среднетемпературным пиком, образуя двойной пик, и соответствует фазовому переходу в белковой составляющей СЖ, приводящему к образованию твердой фазы. Термоокислительная деструкция белковых макромолекул сопровождается высвобождением зарядов, обуславливающих появление этого пика.

Спектр ТСТ СЖ при дегенеративно-дистрофическом заболевании (рис. 1, б) характеризуется отсутствием низкотемпературного и появлением слабоинтенсивных средне- и высокотемпературных пиков (75, 100 и 120 °С). Известно [1], что хроническое воспаление сустава сопровождается сни-

жением молекулярной массы белковых макромолекул СЖ. В зависимости от молекулярно-массового распределения макромолекулы белка образуют несколько типов надмолекулярных структур, каждому из которых соответствует индивидуальный пик на спектре ТСТ. Отсутствие низкотемпературного пика свидетельствует о том, что дегенеративно-дистрофический процесс в синовиальных суставах сопровождается разрушением гидратных оболочек и разупорядочением жидкокристаллических структур СЖ.

Спектр ТСТ СЖ при остром воспалении сустава (рис. 1, в) содержит четыре пика положительного тока в области средних и высоких температур (60, 70, 90 и 120 °С). Острый синовит обуславливает резкое снижение молекулярной массы макромолекул белка и гиалуроновой кислоты в СЖ. Логично предположить, что пики на спектре ТСТ соответствуют разрушению четырех типов надмолекулярных белково-полисахаридных образований, состоящих из различных по длине макромолекул.

При болезни Бехтерева (рис. 1, г) пики ТСТ зафиксированы в тех же температурных диапазонах, что и в СЖ из условно здорового сустава, но низко- и среднетемпературные пики имели разнонаправленную полярность. Это может быть вызвано присутствием в СЖ патологических белковых фракций (С-реактивный белок, фибриноген, серомукоид), имеющих измененную конформацию.

Спектр ТСТ СЖ при ревматоидном артрите (рис. 1, д) отличается от спектра здоровой СЖ отсутствием низкотемпературного пика и смещением высокотемпературного в область более высоких температур (140 °С). Первое свидетельствует о разрушении гидратных оболочек вокруг полярных структур СЖ и перестройке жидкокристаллической мезофазы. Аномально высокая интенсивность высокотемпературного пика, по-видимому, обусловлена повышенным содержанием белка, в том числе наличием его патологических фракций. Последние образуют с гиалуроновой кислотой более прочные, чем в здоровой СЖ, надмолекулярные структуры. Для их теплового разрушения требуется повышенная температура, при этом высвобождается большее количество энергии.

В трибологическом эксперименте изученные образцы СЖ продемонстрировали следующие начальные значения коэффициента трения: наименьшие (0,065) — в пробах здорового обследуемого и больного ревматоидным артритом, 0,066 — при болезни Бехтерева, 0,078 — при дегенеративно-дистрофическом процессе и наибольший (0,082) — при остром воспалении сустава. Вместе с тем по зависимости коэффициента трения от времени воздействия магнитного поля на узел трения маятникового трибометра исследованные образцы СЖ разделились на три группы. В первой из них коэффициент трения обнаруживал чувствительность к полю, но практически не изменялся; во второй — снижался; в третьей — увеличивался со временем

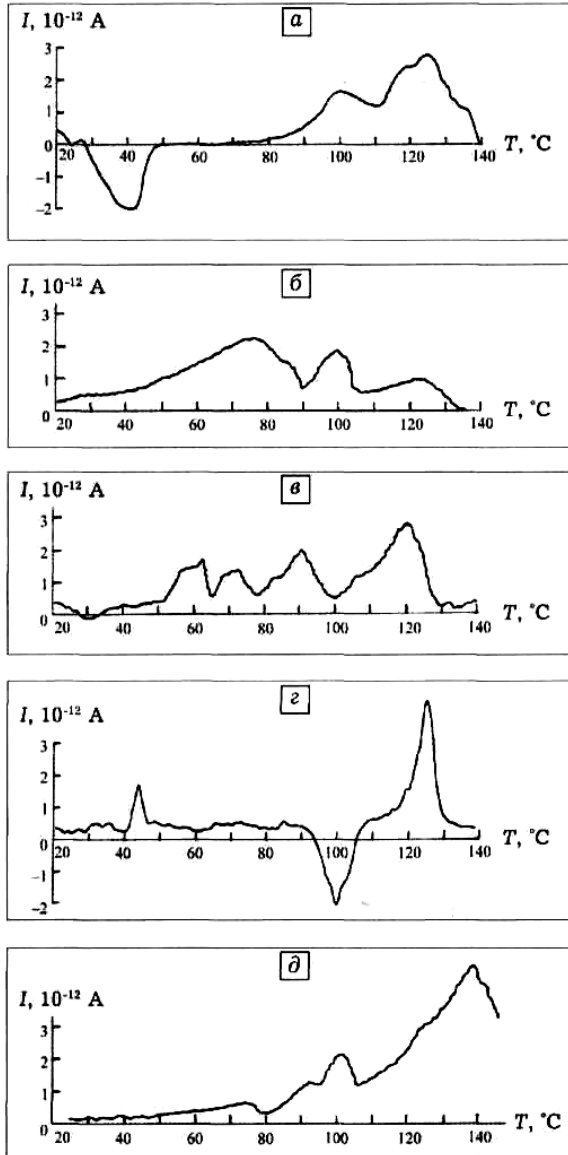
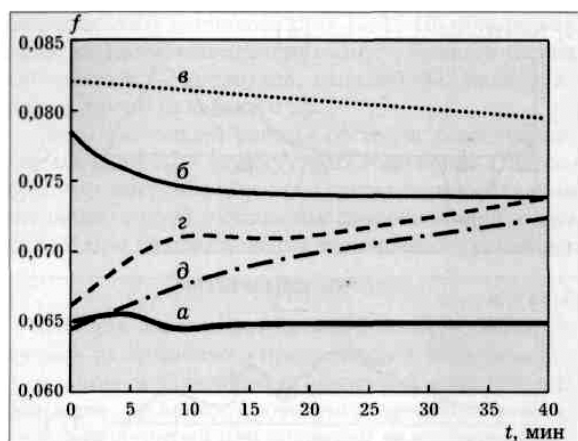


Рис. 1. Спектры ТСТ образцов синовиальной жидкости из коленных суставов.

а — условно здоровый сустава; б — пораженный дегенеративно-дистрофическим заболеванием; в — с острым воспалительным процессом; г — пораженный болезнью Бехтерева; д — пораженный ревматоидным артритом.

(рис. 2). При смазке опоры маятника физиологическим раствором (0,9% водный раствор хлорида натрия) исследуемый узел трения не реагировал на магнитное поле.

К первой группе относится СЖ, взятая из условно здорового сустава. При выбранных нами режимах трения и напряженности поля она практически не меняет свою смазочную способность и служит эталоном для сравнительной оценки других проб (рис. 2, а). Снижение коэффициента трения под воздействием поля соленоида при смазке образца



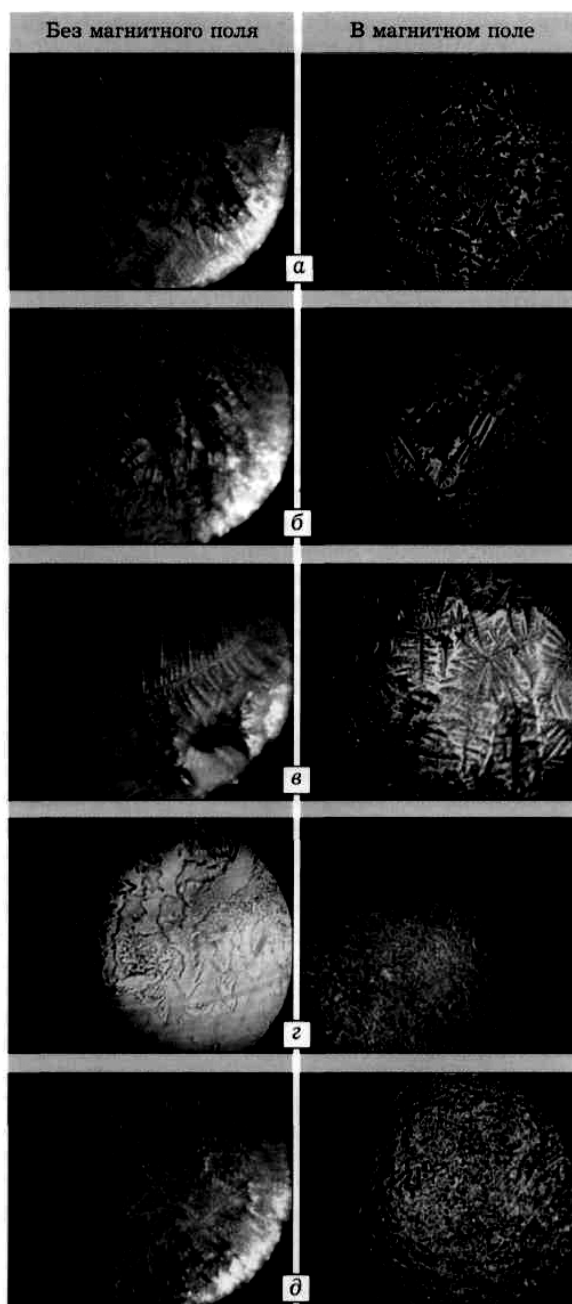
**Рис. 2.** Зависимости коэффициента трения ( $f$ ) в опоре маятникового трибометра от времени воздействия ( $t$ ) магнитного поля при смазке опоры синовиальной жидкостью.

$a$  — синовиальная жидкость из условно здорового сустава;  $b$  — из пораженного дегенеративно-дистрофическим заболеванием;  $в$  — из сустава с острым воспалительным процессом;  $з$  — из пораженного болезнью Бехтерева;  $д$  — из пораженного ревматоидным артритом.

ми СЖ второй группы — из суставов с дегенеративно-дистрофическим процессом ( $b$ ) и острым воспалением ( $в$ ) — можно объяснить восстановлением разрушенных гидратных оболочек вокруг полярных компонентов синовиальной жидкости. Их разрушение под действием теплоты трения происходит в том же диапазоне, что и температурные переходы жидкокристаллических производных холестерина [3, 4]. Третью группу составили пробы СЖ при болезни Бехтерева и ревматоидном артрите (рис. 2,  $з$ ,  $д$ ). Рост коэффициента трения при воздействии магнитного поля в исследованиях с этими пробами можно объяснить, во-первых, вырождением в таких СЖ жидкокристаллической фазы и, во-вторых, разрушением под действием поля слабых водородных связей в гидратных оболочках патологически измененных белковых структур СЖ.

Эти заключения подтверждены анализом текстуры высушенных проб СЖ. Как видно из рис. 3, текстуры состоят из кристаллических дендритных структур, распределенных в гомогенной белковой фазе. Предварительно на основе результатов рентгенологического микроструктурного анализа, согласующихся с данными С.Ф. Ермакова [3], было установлено, что дендритные кристаллы состоят преимущественно из минеральных солей (главным образом хлорида натрия) и гиалуроновой кислоты. Основу некристаллической части текстур составляют белковые надмолекулярные образования.

Анализ текстур, приведенных на рис. 3, позволяет сделать следующие заключения. СЖ является коллоидной системой на основе водного солевого раствора, в котором распределены координационно связанные белковые структуры. Текстура высушенных проб дает представление о распре-



**Рис. 3.** Текстура высушенных проб синовиальной жидкости.

$a$  — синовиальная жидкость из условно здорового сустава;  $b$  — из пораженного дегенеративно-дистрофическим заболеванием;  $в$  — из сустава с острым воспалительным процессом;  $з$  — из пораженного болезнью Бехтерева;  $д$  — из пораженного ревматоидным артритом.

лению белковых компонентов СЖ в объеме солевого раствора и о величине как самих координационных структур, так и их фрагментов. В пробе «здоровой» СЖ ( $a$ ) текстуры в виде дендритов хорошо выражены и равномерно распределены в бел-

ковой фазе. При дегенеративно-дистрофическом заболевании (б) в пробах присутствуют более мелкие дендриты, которые видны не так отчетливо. По-видимому, одной из причин этого является неодинаковое содержание белка в пробах а и б (15 и 24 г/л). Острое воспаление сустава (в) приводит к еще большему разупорядочению структур СЖ: размеры дендритов и включений некристаллической фазы неодинаковы на разных участках пробы. При болезни Бехтерева (г) и ревматоидном артрите (д) текстура высушенных проб схожа. Достаточно мелкие фрагменты текстуры распределены равномерно, что можно объяснить большим содержанием белка (35 и 53 г/л), присутствием его патологических фракций и снижением массы белковых молекул.

При прочих равных условиях в пробах СЖ, высушенных в магнитном поле (напряженностью  $H = 1,2$  кА/м), кристаллические фрагменты текстуры видны более четко, чем в исходных пробах. На текстурах высушенных в магнитном поле проб СЖ пациентов с заболеваниями неиммунного генеза (б, в) дендриты равновелики и по форме сходны с дендритами на текстурах СЖ из практически здорового сустава (а). Это подтверждает мнение, что терапевтическое воздействие магнитного поля на суставы состоит в восстановлении поврежденных координационных структур СЖ. Однако в случае иммунного воспаления электромагнитное влияние привело к полному разупорядочению элементов текстур и исчезновению дендритных образований (г, д). Полученные результаты согласуются с данными трибологического эксперимента.

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что СЖ является квазиэлектретной средой, демонстрирующей спектры ТСТ. Анализ спектров СЖ, взятой из патологически измененных суставов, дает информацию о целостности гидратных оболочек вокруг полярных компонентов СЖ, наличии жидкокристаллической фазы, относительной длине макромолекул белка, энергонасыщенности связей в белково-полисахаридных комплексах. С помощью метода ЭТА реализована возможность объективной оценки структурных изменений СЖ, определяющих качество ее смазочной функции.

Комплексная оценка образцов СЖ методом ЭТА и сопутствующими методами показала, что наи-

большее нарушение трибологической функции СЖ наблюдается в случае острого воспаления сустава, при котором разрушается жидкокристаллическая фаза синовиальной жидкости, а белковые надмолекулярные структуры с низкой молекулярной массой не могут обеспечить должный смазочный эффект. Подобные изменения структуры, выраженные значительно меньше, характерны и для СЖ при дегенеративно-дистрофическом процессе. Некоторая компенсация функциональных нарушений СЖ при болезни Бехтерева и ревматоидном артрите происходит благодаря наличию избыточного количества белковых фракций, образующих с гиалуроновой кислотой более прочные надмолекулярные структуры, для разрушения которых требуется большая энергия.

Таким образом, метод ЭТА дает информацию о структурно-функциональных изменениях СЖ. Использование его для медицинских целей позволит оптимизировать методы лечения патологии суставов путем контроля структуры СЖ.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Герасимов А.М., Фурцева Л.Н. Биохимическая диагностика в травматологии и ортопедии. — М., 1986. — С. 13–31.
2. Ермаков С.Ф., Родненков В.Г., Белоенко Е.Д., Купчинов Б.И. Жидкие кристаллы в технике и медицине. — Минск, 2002.
3. Ермаков С.Ф. Трибофизика жидкокристаллических материалов в металло- и биополимерных сопряжениях: Автореф. дис. ... д-ра тех. наук. — Гомель, 2001.
4. Кадолич Ж.В. Физическое модифицирование сопряжений полимер—металл для повышения их износостойкости на основе моделирования биофизических свойств естественных суставов: Автореф. дис. ... канд. тех. наук. — Гомель, 2002.
5. Павлова В.Н. Синовиальная среда суставов. — М., 1980.
6. Улащик В.С. Очерки общей физиотерапии. — Минск, 1994.
7. Capeletti R., Bridelli M.G. //Proc. Int. Symp. on Electrets, 10th. — Delphi, Athens, 1999. — P. 213–216.
8. Electrets /Ed. G.M. Sessler. — 3rd ed. — Vol. 1. — Laplacian Press, 1999.
9. Hauptman S., Graefe J., Remane H. Lehrbuch der Organischen Chemie. — Leipzig, 1979.
10. Pinchuk L.S., Goldade V.A., Sessler G.M. et al. //Med. Engin. Phys. — 2002. — Vol. 24. — P. 361–365.
11. Van Turnhout J. //Thermally stimulated discharge of polymer electrets. — Amsterdam, 1975. — P. 240.

