

## Сравнительное исследование механического поведения суставной жидкости человека и полиакриламидных гидрогелей в зависимости от давления

В. В. ЛОПАТИН, В. Н. БЕЛОНЕНКО, В. В. ЗАР, А. А. АСКАДСКИЙ

ИНЭОС РАН

Целью настоящего исследования является изучение физико-механических свойств суставной жидкости (СЖ) для оценки возможной частичной ее замены на полиакриламидный гидрогель. Известно [1–2], что указанный биологический объект работает в экстремальных условиях: больших нагрузках, деформациях и скоростях изменения деформаций. По существу, сустав представляет собой пример упруго-гидродинамического контакта (УГДК), созданного природой и в котором развиваются значительные контактные и гидродинамические давления. При изменении давления такие свойства СЖ как сжимаемость, плотность, вязкость и др., изменяются и при этом могут происходить такие структурные изменения как кристаллизация и выпадение отдельных компонент, смещение химического равновесия реакций, деструкция, что необходимо учитывать при диагностике, лечении, выборе и получении лекарств.

В настоящей работе в первую очередь предприняты попытки воссоздать реальные условия эксплуатации СЖ в суставе человека с помощью разработанной принципиально новой системы Микро-PVT [3] и изучить особенности поведения СЖ в сравнении с другими объектами. Ценность такого рода исследований заключается еще и в том, что СЖ является идеальным смазочным материалов и синтез подобных ей смазок для технических целей, как и синтез искусственной синовиальной жидкости, невозможен без знания ее свойств при изменении PVT параметров.

### Экспериментальная часть.

Экспериментальные результаты по удельному объему жидкости получены в диапазоне давлений от 0.1 до 500 МПа и интервале температур от 25 до 37°C с помощью системы Микро-PVT [3]. Детальное описание измерительной аппаратуры и принципа ее действия приведено ниже.

На рис. 1 представлены разрез измерительной ячейки высокого давления и блок-схема электронной части системы. Пресс высокого давления (см. рис. 1) представляет собой электромеханическое устройство, содержащее измерительную ячейку 1, датчик температуры 2, объема 3, давления 4 и шаговый двигатель 5, на который подаются импульсы управления с программно-управляемого генератора импульсов. С помощью шагового двигателя 5 осуществляется поступательно-вращательное движение штока 6, сжимающего исследуемую жидкость в измерительной ячейке.

Исследуемый образец 7 помещается сверху в измерительную ячейку 1, выполненную из особо прочной нержавеющей стали, и герметично закрывается пробкой 8 с помощью гайки. В пробку 8 вмонтирован датчик температуры, позволяющий измерять температуру исследуемого образца 7 в процессе его сжатия и разгрузки с точностью до 0.02°C.

Сжатие и разгрузка образца 7 осуществляется посредством перемещения поступательно-вращательного штока 6, положение которого регистрируется датчиком объема с точностью 0,1 мкм. Гидростатическое давление в измерительной ячейке определяется с точностью 0,5 МПа по деформации калиброванной пружины. Специально разработанный узел уплотнения 9 обеспечивает герметичность измерительной ячейки до давлений 500 МПа в интервале температур от –40 до 250°C. Вращение штока 6 при поступа-

тельном движении минимизирует трение в уплотнениях 9.

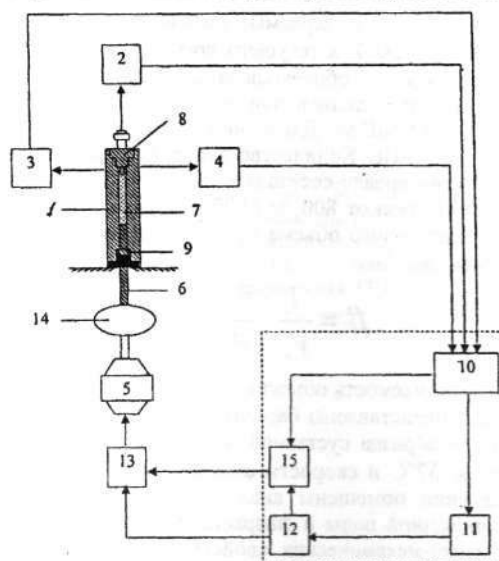


Рис. 1. Разрез измерительной ячейки и блок-схема электронной части системы Микро-PVT. 1 – цилиндр высокого давления, 2 – датчик измерения температуры, 3 – датчик давления, 4 – датчик объема, 5 – шаговый двигатель, 6 – шток, 7 – исследуемый образец, 8 – пробка с термодатчиком, 9 – уплотнения, 10 – блок предварительной обработки данных, 11 – персональный компьютер, 12 – блок задания условий эксперимента, исполнительное устройство, 14 – редуктор, 15 – система обратной связи.

Блок-схема системы Микро-PVT поясняет принцип ее работы. Электрические сигналы с датчиков температуры 2, объема 3 и давления 4 поступают в блок приема, усиления и предварительной обработки данных 10. Эти данные дополнительно обрабатываются персональным компьютером 11 и отображаются в графическом и цифровом виде. С блока задания условий эксперимента 12 на исполнительное устройство 13 подаются сигналы управления двигателем. Двигатель 5 через редуктор 14 осуществляет режим поступательно-вращательного движения поршня 6, при этом реализуются различные скорости сжатия и разгрузки образца, обеспечивается изохорный, изобарный изотермический процесс измерений. Система обратной связи 15 позволяет осуществить перечисленные выше моды путем подачи сигнала ошибки на исполнительное устройство 13.

Блоки 10, 11, 12, 15 увязаны в программно-управляемый комплекс, позволяющий управлять процессом исследования, производить съем опытных данных в реальном масштабе времени с последующей обработкой и визуализацией полученных результатов. Экран программно-управляемого комплекса представлен в виде панели виртуального прибора.

Таким образом, системы Микро-PVT разработана в рамках концепции виртуальных устройств и дает возможность пользователю работать в стандартной среде проведения физико-химического эксперимента, в реальном масштабе времени.

В данной работе исследована суставная жидкость из колennого сустава пациентки 15 лет. Забор образцов осуществлялся пункцией колennого сустава в клинике и представ-

лял собой смесь синовиальной жидкости с воспалительным экссудатом. Исследуемые образцы помещались в герметичную измерительную камеру системы Микро-PVT, давление которой изменялось с заданной скоростью путем перемещения в ней поршня. Температура образца измерялась с точностью 0,02°C с помощью полупроводникового терморезисторного датчика температуры, выполненного из платиниридиевого состава, конструкции Карманова В.Г. Стабильность температуры в камере поддерживалась с помощью специально разработанного электронного термостата с точностью до 0,1°C. Измеряемые значения объема  $V$ , давления  $P$ , температуры  $T$  и текущего времени  $t$  автоматически записывались в файл и обрабатывались в стандартной форме.

Измерения проводились при двух скоростях изменения давления: 0,5 и 5 МПа/с. Давление в жидких образцах изменялось до 500 МПа. Количество экспериментальных точек на заданном интервале составляло в зависимости от скорости сжатия образца от 800 до 6000. По барической зависимости относительного объема  $V_r = V/V_0$  исследуемой жидкости по формуле:

$$\beta = \frac{1}{V_r} \cdot \frac{\partial V_r}{\partial P} \quad (1)$$

находится сжимаемость объекта.

На рис.2 представлены барическая зависимость сжимаемости  $\beta$  для образца суставной жидкости, полученная при температуре 37°C и скорости сжатия 0,5 МПа/с. Здесь же для сравнения помещены аналогичные зависимости для дистиллированной воды и физраствора (0,9% NaCl). Сравнение физико-механических свойств суставной жидкости, воды и физраствора вполне закономерно, если учесть, что СЖ человека подобна крови, но отличается от нее меньшим содержанием белков и присутствием специфического компонента гиалуроновой кислоты (ГУК), которая позволяет в растворах создавать сложные пространственные структуры, связывающие значительные количества воды, а также взаимодействовать с катионами многих молекул [1]. Как видно из рис. 2, сжимаемость суставной жидкости больше сжимаемости воды и несколько меньше сжимаемости физраствора. Кроме того, зависимость сжимаемости  $\beta$  суставной жидкости от давления  $P$  выражена слабее, чем для воды и физраствора.

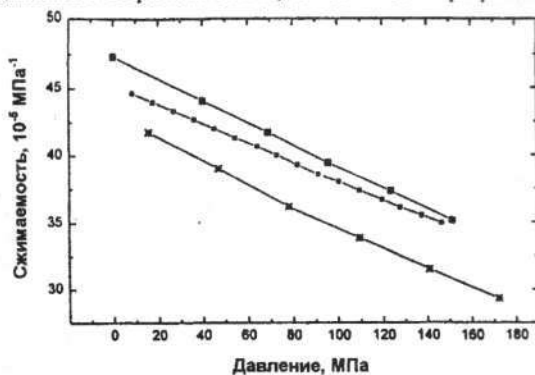


Рис. 2. Зависимость сжимаемости от давления. Измерения проведены при 37°C. 1 – синовиальная жидкость, 2 – вода, 3 – физраствор.

На рис. 3 показана температурная зависимость изотермической сжимаемости СЖ, полученная при давлении 100 МПа. Известно, что вода проявляет аномальные свойства в исследуемом интервале температур: температурная зависимость изотермической сжимаемости воды проходит через минимум при температуре 46°C [4–5]. Аналогичные аномалии в поведении сжимаемости, как видно из рис.3, наблюдаются и в физрастворе. Напротив, для суставной жидкости

наблюдается температурная стабильность сжимаемости. Из рис. 3 видно, что при давлении 100 МПа температурная зависимость сжимаемости суставной жидкости практически отсутствует в исследованном интервале температур.

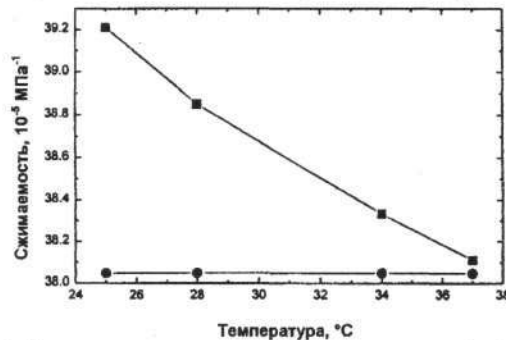


Рис. 3. Зависимость сжимаемости от температуры. 1 – физраствор, 2 – синовиальная жидкость.

Можно предположить, что именно благодаря высокой температурной стабильности физико-механических параметров суставной жидкости при их значительной барической зависимости и объясняются уникальные физиологические свойства суставной жидкости. Известно, что наличие биополимера гиалуроновой кислоты наделяет СЖ неньютоновскими свойствами. Так, для системы хрящ-синовия характерна лабильность, то есть способность быстро и тонко реагировать на изменения скорости движения и нагрузок. Считается [6], что большую роль в обеспечении лабильности играют жидкокристаллические включения, роль которых могут выполнять, например, термотропные жидкие кристаллы холестерина.

Надежным критерием неньютоновского поведения жидкостей служит наличие в них объемной вязкости. Ранее было показано [7], что объемная вязкость смазочных жидкостей оказывает положительное влияние на эксплуатационные характеристики узлов трения, улучшая демпфирующие свойства и сопротивление износу. Разумно сделать предположение о неньютоновском поведении суставной жидкости и существовании в ней объемной вязкости. С помощью созданной Системы Микро-PVT нам впервые удалось измерить реальные значения объемной вязкости жидкостей и, в частности, в суставной жидкости.

Ранее [8] величину объемной вязкости  $\eta_v$  определяли по данным ультразвуковых измерений, по превышению величины экспериментально измеренного поглощения  $\alpha_e$  ультразвуковых волн над классической (стоксовской) частью  $\alpha_k$  поглощения:

$$\eta_v = \frac{4}{3} \left( \frac{\alpha_e - \alpha_c}{\alpha_c} \right) \eta_s \quad (2)$$

где  $\eta_s$  – сдвиговая вязкость жидкости. При этом измерения поглощения ультразвука ограничивались снизу, как правило, частотами 1 МГц и, таким образом, вопрос о поведении коэффициента поглощения на частотах порядка 1 Гц оставался открытым. Система Микро-PVT позволяет производить сжатие жидкости до давлений 500 МПа за период порядка 20 сек. и более, то есть с характерной частотой воздействия на материал порядка  $10^{-2}$  Гц. В этом случае, как результат влияния вязкого напряжения на величину внутреннего давления материала при сжатии начинает проявляться объемная вязкость  $\eta_v$ .

Суть измерений объемной вязкости на системе Микро-PVT заключается в следующих основных шагах:

– измерение барической зависимости относительного объема  $V_r$  образца жидкости при двух различных скоростях

- сжатия  $q_1$  и  $q_2$  в реальном масштабе времени;
- нахождении временных производных изменения относительного объема  $\partial V_r/\partial t$  жидкости при сжатии также при двух скоростях сжатия  $q_1$  и  $q_2$ ;
- нахождение разницы значений давления  $(\sigma_2 - \sigma_1)$  и временных производных  $(\partial V_r/\partial t)_2 - (\partial V_r/\partial t)_1$  изменения относительного объема  $V_r$  для двух циклов сжатия при положении поршня в точках с равными координатами;
- оценка значения второго коэффициента вязкости жидкости по формуле:

$$\eta = \frac{P_1 - P_2}{\frac{\partial}{\partial t}(V_r)_1 - \frac{\partial}{\partial t}(V_r)_2} \quad (3)$$

Действительно, шток 6 системы Микро-PVT равномерно перемещается посредством шагового двигателя и образует с внутренней поверхностью цилиндра высокого давления плунжерную пару. При указанной схеме эксперимента реологическое уравнение выглядит следующим образом:

$$\sigma = -p + \eta \cdot \text{div}U \quad (4)$$

где  $\sigma$  – внутреннее напряжение, измеряемое с помощью датчиков давления,  $p$  – гидростатическое давление,  $U$  – линейная скорость поступательного движения поршня,  $\eta$  – коэффициент второй вязкости, представляющий собой линейную комбинацию объемной  $\eta_v$  и сдвиговой  $\eta_s$  вязкости ( $\eta = \eta_v - 2/3\eta_s$ ).

При одномерном движении уравнение (4) будет выглядеть так:

$$\sigma = -p(\rho, T) + \eta \cdot U/L \quad (5)$$

где  $L$  – линейный размер цилиндра высокого давления. С учетом того, что  $U/L = \partial(\Delta V/V)/\partial t$ , уравнение (5) принимает вид

$$\sigma = -p(\rho, T) + \eta \frac{\partial}{\partial t} \left( \frac{\Delta V}{V} \right) \quad (6)$$

Рассмотрим изотермический процесс измерения ( $T = \text{const}$ ). В этом случае реологические уравнения для двух скоростей сжатия  $U_1$  и  $U_2$  будут выглядеть так:

$$\sigma_1 = -p_1(\rho, T) + \eta \frac{\partial}{\partial t} \left( \frac{\Delta V}{V} \right)_1$$

$$\sigma_2 = -p_2(\rho, T) + \eta \frac{\partial}{\partial t} \left( \frac{\Delta V}{V} \right)_2$$

Произведя почленное вычитание уравнений и учитывая, что при одной и той же координате при движении поршня члены  $p_1(\rho)$  и  $p_2(\rho)$  равны, для коэффициентов второй вязкости получим формулу:

$$\eta = \frac{\sigma_2 - \sigma_1}{\frac{\partial}{\partial t} \left( \frac{\Delta V}{V} \right)_2 - \frac{\partial}{\partial t} \left( \frac{\Delta V}{V} \right)_1} \quad (7)$$

Формулы (3) и (7) идентичны, если учесть, что  $\partial V_r/\partial t = \partial/\partial t(\Delta V/V)$ .

Таким образом, возможность измерения относительного объема  $V_r$  исследуемых жидкостей при нагружении в реальном масштабе времени позволяет рассчитать значение второго коэффициента вязкости от давления по формуле (7).

На рис. 4 представлена зависимость второго коэффициента вязкости от давления для суставной жидкости при температуре 28°C и при 37°C. Видно, что характер поведения второго коэффициента вязкости  $\eta$  в суставной жидкости при различных температурах существенно различается. Если при температуре 37°C, близкой к температуре человеческого тела и протекания биологических процессов, второй коэффициент

вязкости монотонно нарастает при увеличении давления, то при температуре 28°C объемная вязкость суставной жидкости приблизительно при 80 МПа проходит через максимум. Следует отметить, что величина коэффициентов второй вязкости для суставной жидкости более чем в  $10^9$  раз превышает ее сдвиговую вязкость, составляющую, как и для воды  $10^{-3}$  Па·с.

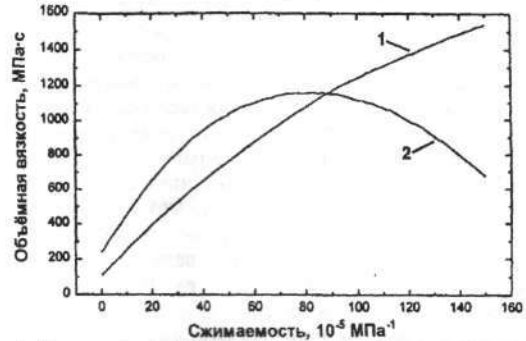


Рис. 4. Зависимость коэффициента второй вязкости от давления для суставной жидкости. 1 – температура эксперимента 27°C, 2 – температура эксперимента 37°C.

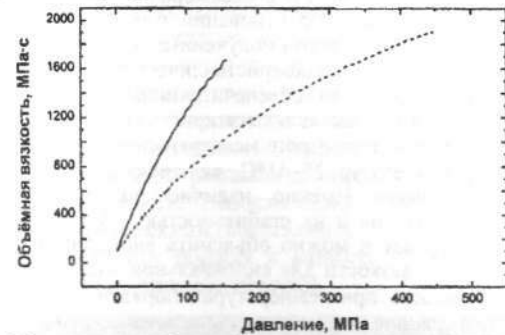


Рис. 5. Зависимость объемной вязкости от давления при температуре 37°C. 1 – синовиальная жидкость, 2 – физраствор.

На рис. 5 показаны барические зависимости объемной вязкости  $\eta_v$  для суставной жидкости и физраствора при температуре 37°C. Видим, что пьезокоэффициент вязкости для суставной жидкости значительно выше, чем для физраствора, что также объясняет высокую лабильность СЖ.

#### Обсуждение

Второй коэффициент вязкости связан простым соотношением с объемной и сдвиговой вязкостью  $\eta_s$ :

$$\eta = \eta_v - \frac{2}{3}\eta_s \quad (8)$$

Результаты исследования показали, что величина второго коэффициента вязкости  $\eta$  суставной жидкости приблизительно на 8 порядков больше соответствующей ей сдвиговой вязкости. Это означает, что столь высокие значения  $\eta$ , полученные в эксперименте (см. рис. 3), обусловлены именно вкладом объемной вязкости  $\eta_v$ . Наличие объемной вязкости суставной жидкости и ее величина играют большую роль в обеспечении надежной работы суставов. Действительно, как ранее сообщалось [1–2, 7], большие значения объемной вязкости в смазочных жидкостях приводят к режиму безыносного трения упругогидродинамического контакта, к увеличению несущей способности узлов трения и лучшему демпфированию контактных поверхностей при мгновенных нагрузках. Разумно предположить, что наличие объемной вязкости в суставной жидкости также приводит к улучшению трибологических свойств суставов человека при больших нагрузках.

Также видно, что при температуре человеческого тела (37°C) за счет возрастания  $\eta_v$  с увеличением давления обеспечивается лабильность суставной жидкости: быстрое из-

менение механических свойств при изменении нагрузки. Проведенные исследования подтверждают сильную зависимость объемной вязкости  $\eta_v$  от давления для суставной жидкости, значительно превышающую аналогичную зависимость  $\eta_v$  для физраствора, состоящего на 99,1% из воды (см. рис.5). Следует также указать, что для синовиальной жидкости и физраствора характерно явление насыщения: при больших давлениях увеличение  $\eta_v$  замедляется с ростом  $P$  более медленно, в отличие от сильновязких жидкостей, низкомолекулярных полимеров, глицерина и т.д., в которых объемная вязкость нарастает экспоненциально при увеличении давления.

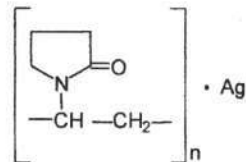
При температуре 28°C, далекой от температуры человеческого тела, наблюдается, по-видимому, деструкция суставной жидкости при высоких давлениях порядка 80 МПа (см. рис. 3). Можно предположить, что при температуре 28°C и давлениях выше 80 МПа происходит разрушение пространственных структур, обусловленных наличием компонента гиалуроновой кислоты, что и сопровождается уменьшением объемной вязкости.

Указанный вывод не противоречит результатам исследования синовиальной жидкости [6] методом поляризационной микроскопии в диапазоне температур 20–50°C, подтверждающего наличие в ней мезоморфных, жидкокристаллических соединений. На основании модельного эксперимента и детального анализа полученных данных сделан вывод о том, что таким жидкокристаллическим соединением в синовиальной жидкости, обеспечивающим низкий коэффициент трения в суставе являются кристаллы холестерина, а также некоторые термотропные включения с мезофазой в диапазоне температур 25–41°C, включающей температуру живого организма. Именно, наличием указанных термотропных включений и их стабильностью в узком температурном интервале и можно объяснить аномалии в поведении объемной вязкости для синовиальной жидкости: высокую лабильность при температурах порядка 37°C и деструкцию на границе указанного температурного интервала.

Следует отметить, что для исследований была использована суставная жидкость патологического больного, в которой и обнаружена деструкция при температуре 28°C. В норме же суставная жидкость обладает высокой вязкостью за счет полимеров гиалуроновой кислоты, является неньютоновской, эластичной и служит идеальной смазкой контактирующих суставных хрящей с наименьшим трением [9, 10]. В этой связи вопрос о поведении суставной жидкости здорового человека при температуре 28°C остается открытым. Можно ожидать резких изменений параметров суставной жидкости при патологии: уменьшении ее вязкости за счет деполимеризации, неньютоновский характер поведения реологических свойств и неспособность выполнения роли лубриканта и амортизатора.

Таким образом, настоящие исследования свидетельствуют о том, что для суставной жидкости характерна температурная стабильность физико-механических свойств и высокая лабильность: быстрое реагирование реологических свойств на величину приложенной нагрузки. Вместе с тем пространственные структуры на основе гиалуроновой кислоты остаются стабильными для суставной жидкости только при температурах жизнедеятельности человеческого организма вплоть до давлений 160 МПа, обеспечивая тем самым надежную работу суставов при высоких нагрузках.

Теперь необходимо сравнить механическое поведение синовиальной жидкости с поведением полакриламидных гидрогелей в тех же условиях эксперимента. На рис. 6 показаны зависимости относительного объема от давления (барические зависимости) для синовиальной жидкости и для геля "Аргиформ". Данный гель был синтезирован с целью предотвращения хронических осложнений при попадании внутренней инфекции в область, занятую гелем. В геле "Аргиформ" находится тонкая дисперсия серебра, обладающая бактерицидным действием, стабилизированная поливинилпирролидоном:



Видна практически полная аналогия в изменении относительного объема синовиальной жидкости человека и геля "Аргиформ" как при температуре 34°C (рис. 6, а), так и при температуре человеческого тела 37°C (рис. 6, б). Это создает предпосылки для успешного применения геля "Аргиформ" в качестве заменителя синовиальной жидкости, учитывая также, что именно этот гель обладает наилучшей способностью препятствовать воспалительным процессам.

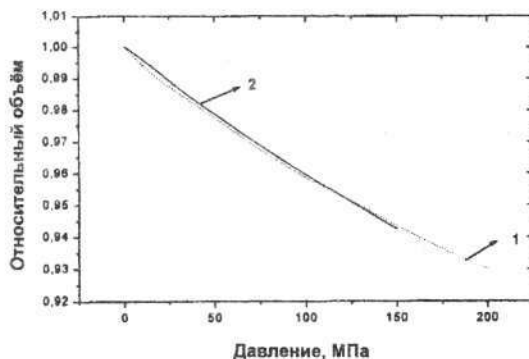
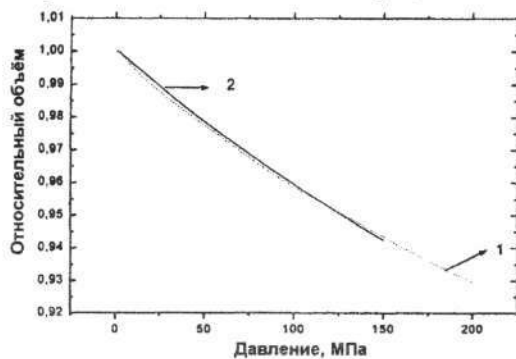


Рис. 6. Зависимость относительного объема от давления при температуре 34°C (а) и 37°C (б). 1 – "Аргиформ", 2 – синовиальная жидкость.

#### Литература

- Белый В.А., Купчинов Б.И., Родненков В.Г., Ермаков С.Ф., Трение и износ, т. 5, № 6, 983–987 (1984).
- Прохорова Т.А., Оганесян О.В., Михайлов В.К. Трение, износ и смазочные материалы, Труды международной научной конференции (ЕашПИ), Ташкент, т. 4, 15–16 (1985).
- Белоненко В. Н., Бюнау Е. К., Николашев В. Г., Мурин В. И., Андреев Г. П., Дорофеев И. И., Беляев Ю. Э., Кузьянов Н. А., Приборы и техника эксперимента, № 2, 166–167 (1998).
- Vedam R., Holton G., v. 43, № 1, 108–116 (1968).
- Chalikian T.V., Sarvazyan A.P., Breslauer K.J., Biophysical Chemistry, v. 51, 89–109 (1994).
- Купчинов Б.И., Родненков В.Г., Бобрышева С.Н., Ермаков С.Ф., Белый В.А., Докл. АН БССР, т. 29, № 5, 463–465 (1985).
- Belonenko V.N., Ultrasonic, v. 29, 101–118 (1991).
- Бергман Л. Ультразвук, М.: ИЛ, 1957, 726 стр.
- Dowson D., et al., J. Mech. Eng. Sci., v. 12, 384–390 (1970).
- Василенкайтис В., Стапонас В. Открытия. Изобретения, № 23, 5 (1978).