



**ПІВДЕННОУКРАЇНСЬКИЙ
МЕДИЧНИЙ
НАУКОВИЙ ЖУРНАЛ**

Науковий журнал

22 (22) ЛЮТИЙ 2019

Одеса
2019

Дзевульская И. В.

доктор медицинских наук, профессор кафедры анатомии человека
Национального медицинского университета имени А. А. Богомольца

Маликов А. В.

кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека
Национального медицинского университета имени А. А. Богомольца

НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ОСОБЕННОСТЕЙ СИНОВИАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ

Аннотация: В данной статье определяется попытка на основании изучения артросиндесмологии проанализировать современные данные, а также изложить собственную позицию в отношении закономерностей состава и функций синовиальной жидкости. Именно синовиальная жидкость – компонент синовиальной среды суставов, как единой функциональной органоспецифической системы, обеспечивает нормальные условия работы суставов, обменные процессы между суставной полостью и сосудами, а также их иннервацию. Важным стимулом к более детальному изучению синовиальной жидкости являются постоянные и настойчивые запросы практической медицины. Таким образом, морфологам и клиницистам требуется чёткое и ясное представление о составе и функциях синовиальной жидкости в здоровых суставах и сопоставление полученных данных с наличием в них патологических изменений.

Анотація: У даній статті визначається спроба на підставі вивчення артросиндесмології проаналізувати сучасні дані, а також висвітлити власну позицію щодо закономірностей складу і функцій синовіальної рідини. Саме синовіальна рідина – компонент синовіального середовища суглобів, як єдиної функціональної органоспецифічної системи, забезпечує нормальні умови для роботи суглобів, обмінні процеси між суглобовою порожниною і судинами, а також їх іннервацію. Важливим стимулом до більш детального вивчення синовіальної рідини є постійні і наполегливі запити практичної медицини. Таким чином, морфологам і клініцистам потрібно чітке і зрозуміле уявлення про склад і функції синовіальної рідини у здорових суглобах і співставлення отриманих даних з наявністю в них патологічних змін.

Summary: In this article the attempt on the basis of studying of an artrosindesmologiya to analyse modern data and also to state own position concerning regularities of structure and functions of sinovial liquid is defined. Sinovial liquid – a component of the sinovial environment of joints as uniform functional organospecific system, provides normal operating conditions of joints, exchange processes between an articulate cavity and vessels and also their innervation. An important incentive to more detailed studying of sinovial liquid are continuous and persistent inquiries of applied medicine. Thus, morphologists and clinical physicians need a clear and fair idea of structure and functions of sinovial liquid in healthy joints and comparison of the obtained data with existence in them of pathological changes.

Вступление. Обменные процессы между суставной полостью и сосудистыми руслами организма теснейшим образом связаны с составом и свойствами синовиальной жидкости.

Если, с одной стороны, характер обмена в суставе определяется состоянием синовиальной жидкости, то в той же мере состав самой синовиальной жидкости

обусловлен поступлением веществ из крови и интенсивностью всасывания из суставной полости в кровеносные и лимфатические сосуды.

Синовиальная жидкость, тонко реагирующая изменениями своего состава и свойств на малейшие нарушения функции сустава, интересует специалистов как важнейший тест в дифференциальной диагностике суставных

заболеваний. В широком общебиологическом аспекте изучение синовиальной жидкости имеет принципиальное значение для современной характеристики свойств тканей мезенхимного происхождения [1].

Целью работы было проанализировать данные современных знаний о составе синовиальной жидкости и её значении для организма здорового человека с целью дальнейшего сопоставления имеющихся данных с данными, получаемых в процессе изучения патологических изменений в суставах. Изучение свойств и функциональных особенностей синовиальной жидкости показало, что она является не инертной бесструктурной системой, а подвижным структурированным динамическим образованием [2].

Основанием для такого заключения стало выявление в синовиальной жидкости белково-полисахаридных комплексов, представляющих собой объемные агрегаты гиалуроновой кислоты и протеинов. В настоящее время считается бесспорным, что белково-полисахаридные комплексы в силу своей высокой электроотрицательности в растворах стремятся к сферической конфигурации. Впервые структуры такой формы размером 100–1000 нм (как в образцах синовии, так и на поверхности хрящей) были обнаружены с помощью сканирующей электронной микроскопии в конце 1960-х годов. На основании экспериментов было выдвинуто предположение о том, что обнаруженные на трущихся поверхностях хрящей глобулы имеют белковую природу и играют важную роль во фрикционном взаимодействии суставных хрящей по механизму трения качения с возвратно-поступательным перемещением [3]. Данная гипотеза получила подтверждение и была предложена молекулярная модель смазки. Согласно этой модели, сеть молекул гиалуроновой кислоты окружает сферические частицы протеина, подобно обойме шарикоподшипника. Частицы протеина могут свободно перемещаться

вокруг 13 Південноукраїнський медичний науковий журнал своей оси, подобно вращающимся элементам шарикоподшипника.

На сегодня считается доказанным, что протеины синовиальной жидкости идентичны протеинам плазмы. Однако суммарная концентрация белка и соотношение различных белков в синовиальной жидкости значительно отличаются от такового в плазме крови. Содержание общего белка в синовиальной жидкости в 3 раза ниже, чем в плазме крови [4]. Соотношение альбумина (относительная молекулярная масса – 69000) и глобулина (относительная молекулярная масса – 16000) в синовиальной жидкости выражается как 3/1 или 4/1, в то время как в плазме это отношение составляет 1/1. Содержание α 2-глобулина в синовиальной жидкости почти в 3 раза меньше, чем в плазме [5].

Синовиальная жидкость содержит также трансферрин, относительная молекулярная масса которого 99000, серомуцин, гаптоглобин и в отличие от плазмы не содержит фибриноген.

Показатели относительной молекулярной массы некоторых протеинов достаточно убедительно свидетельствуют, что различие в белковом составе синовиальной жидкости и плазмы объясняется барьерными функциями синовиальной оболочки и свойствами самой синовиальной жидкости: она легче пропускает протеины с низкой относительной молекулярной массой из крови в сустав, чем высокомолекулярные белки и не проницаема для белковых молекул, относительная молекулярная масса которых больше 160000.

Другим важнейшим отличием синовиальной жидкости от плазмы крови является присутствие в ней протеогликана – гиалуроновой кислоты. Как известно, гиалуроновая кислота (гиалуронат) – это не содержащий сульфатных групп, содержащий уроновые кислоты глюкозаминогликуронан [6].

Вязкость синовиальной жидкости определяется в 5,7 усл. ед., в то же время вязкость крови в 4,7 усл. ед. Она значительно колеблется в зависимости от таких условий как pH среды, концентрация солей, температура, степень полимеризации гиалуроната. Все эти факторы тесно взаимосвязаны. Есть отдельные данные о гормональной регуляции изменения вязкости синовиальной жидкости, а следовательно – концентрации гиалуроната.

Согласно современным данным, механическая роль синовиальной жидкости, а именно её способность служить «смазочным» материалом в суставах, обеспечивается свойством гиалуроната в условиях высокой его концентрации формировать трёхмерный молекулярный комплекс, обладающий консистенцией геля и высокой эластичностью [7; 8]. Гиалуронат синовиальной жидкости в виде такого геля образует ту необходимую прослойку между суставными поверхностями сочленяющихся костей, физические свойства которой в совокупности со свойствами суставного хряща обеспечивают функциональную конгруэнтность поверхностей при движениях.

Для полноты биохимической характеристики синовиальной жидкости суставов необходимо подчеркнуть присутствие в ней таких ингредиентов как ферменты, а также хрящевой протеин полисахарид, источником которого служат элементы деградирующего и разрушающегося суставного хряща.

Ферментный состав синовиальной жидкости значительно сходен с таковым плазмы крови, а возможность поступления ферментов через гемосиновиальный барьер в настоящее время не оспаривается. Можно предположить, что источником ферментов могут быть синовиальные клетки покровного слоя, в цитоплазме которых эти ферменты вырабатываются.

Количество синовиальной жидкости, которое можно взять из нормального подвижного сустава человека невелико: 1-2 мл. При извлечении жидкости из интактного сустава

удаётся получить далеко не всю синовиальную жидкость, находящуюся в данный момент в суставной полости.

Синовиальная жидкость в нормальном суставе человека содержит лейкоциты (моноциты, лимфоциты, нейтрофилы) и синовиальные клетки.

Число клеток в норме в 1 мл синовиальной жидкости человека колеблется от 13 до 200.

В синовиальной жидкости нормальных подвижных суставов (к примеру – коленных) человека всегда содержится значительное количество клеточных элементов, которые качественно характеризуются как клетки самой синовиальной оболочки – синовиоциты и гистиоциты, а также лейкоциты крови – лимфоциты и моноциты. Другие клеточные элементы в синовиальной жидкости случайны и непостоянны [9].

Клетки синовиальной жидкости как тканевого, так и кровяного происхождения находятся на различных стадиях своего жизненного цикла: одни из них полностью жизнеспособны, другие находятся в состоянии разрушения и распада.

Значительному количеству синовиальных клеток в жидкости, судя по отчётливо положительной реакции на РНК, свойственен активный белковый обмен. То же можно сказать и о макрофагах кровяного происхождения. В то же время совершенно очевидно, что большинство клеток в синовиальной жидкости находятся в состоянии разрушения и растворения: об этом свидетельствует общая морфология этих клеток (пикноз, вакуолизация и др.), а также отрицательная реакция на РНК, нарушение ультраструктурных компонентов и др.

Синовиальная жидкость в процессе жизнедеятельности суставов образуется и постоянно пополняется за счёт веществ, трансудирующих из крови (первый источник) и за счёт активной секреции клеток покровного слоя оболочки (второй источник). В процессе трансудации в синовиальную жидкость поступает вода, электролиты и

протеины. Интенсивность этих процессов обеспечивается структурными особенностями покровного слоя синовиальной оболочки: отсутствием базальной мембраны, непосредственным контактом матрикса покровного слоя с полостью, особенностями эндотелия кровеносных капилляров.

Регуляция выхода в сустав протеинов плазмы обеспечивается присутствием в матриксе покровного слоя оболочки и в самой синовиальной жидкости гиалуроновой кислоты в составе белковополисахаридных комплексов. Физические параметры этого компонента таковы, что тормозят свободное проникновение протеинов из кровеносных капилляров, их динамическое равновесие осуществляет тонкую регуляцию поступления протеинов в оболочку и суставную щель [10].

Продукцию и секрецию гиалуроновой кислоты синовиальными клетками покровного слоя – синовиоцитами все современные исследователи считают вполне доказанным источником образования синовиальной жидкости.

Всё известное о структурных и функциональных особенностях синовиальной жидкости говорит в пользу того, что в суставном содержимом находятся (и не могут находиться) вещества, входящие в состав клеток и матрикса пограничных слоёв оболочки и хряща. В результате физиологической смены в процессе нормальной жизнедеятельности сустава они постоянно поступают в суставную полость. Известно также, что эти вещества удаляются из полости лишь в результате их растворения и всасывание в лимфатическое русло сустава. Также погибшие клетки суставного хряща могут рассасываться в его пределах и не попадать в суставную полость. В отношении синовиальной оболочки такие данные не приводились. Во всяком случае принципиальная возможность лизиса и рассасывания корпускул клеток, белковых агрегатов с высокой относительной молекулярной массой, поступающих в синовиальную полость, обеспечивается

специфической функцией значительной части клеток покровного слоя (содержание протеолитических ферментов, пиноцитоз, фагоцитоз) и живых синовиоцитов в суставном содержимом. А это значит, что в составе синовиальной жидкости могут находиться продукты изнашивания и смены клеток и матрикса оболочки: белковые и полисахаридные вещества, в том числе хрящевой протеинполисахарид. Это и есть третий возможный источник образования синовиальной жидкости, снабжающий её полисахаридами и протеинами. Об этом свидетельствуют присутствие в синовии протеолитических ферментов [11].

Особенности синовиальной жидкости делают очевидной возможность их активного участия в иммунологических реакциях организма.

В суставной синовиальной жидкости здорового взрослого человека лимфоциты составляют 40% от общего числа клеток; 1/5 из них это живые, функционирующие клетки. Общий белок содержится в количестве 2,5 г/л. Одна треть (33%) приходится на долю глобулинов; в свою очередь 2/3 всех глобулинов – это γ -глобулины. Среди них в норме присутствуют IgG, IgA и не обнаруживается IgM.

Содержание комплемента – 11 ед (одновременно в сыворотке крови 28-44 ед.).

В синовиальной оболочке, в волокнистых слоях, всегда присутствуют продуценты антител – плазматические клетки. Рагоциты не встречаются или единичны. Ревматоидный фактор, как показывает само название, не характерен для нормальной синовиальной жидкости.

Существенным изменением глобулиновой части белкового состава синовиальной жидкости соответствует интенсивная пролиферация иммунокомпетентных клеток в синовиальной оболочке, появление их в крови, возбуждение очагов лимфопоза в лимфатических узлах и тимусе [12].

Таким образом, синовиальная жидкость содержит, как и кровь, клетки и

экстрацеллюлярную жидкую субстанцию. Последняя по своим биохимическим и физическим показателям имеет значительное сходство с плазмой крови, но существенно отличается от неё меньшим содержанием белков и присутствием специфического компонента: протеогликана – гиалуроновой кислоты.

Протеины синовиальной жидкости идентичны протеинам плазмы. Гиалуронат имеет особенности в своей молекулярной и надмолекулярной структуре: феномен исключённого объёма, способность связывать и удерживать воду, способность в качестве полианиона соединяться с катионами многих молекул, высокую вязкость, тенденцию формировать трёхмерные молекулярные комплексы с консистенцией геля и высокой эластичностью. Все эти особенности специфического компонента синовиальной жидкости – гиалуроната характеризуют её как весьма реактивную, лабильную, полифункциональную часть синовиальной среды, всегда тонко и быстро реагирующую на изменения в суставах и организме в целом.

Клетки синовиальной жидкости человека относятся к двум основным генерациям – это клетки самой синовиальной оболочки (синовиоциты и гистиоциты) и клетки крови (лимфоциты и моноциты).

Во многих участках синовиальные покровные клетки в обычных условиях не обнаруживают гранул метакроматического материала. Он характерен лишь для небольших групп клеток в зонах, богатых складками и ворсинами. В то же время в условиях экспериментального воспаления вся поверхность синовиальной оболочки, за исключением сухожилия четырёхглавой мышцы и переходных зон на границе с сочленовными поверхностями костей, усеяна клетками, заполненными метакроматическим материалом.

Следовательно потенциальная возможность продуцировать гиалуронат реализуется в

норме одновременно не всеми клетками покровного слоя.

Для клеточного состава синовиальной жидкости характерно присутствие как живых полноценных клеток, так и клеток, заканчивающих свой жизненный цикл, дистрофически изменённых, гибнущих [13; 14].

Общее количество и процентное соотношение клеток синовиальной жидкости, так же, как и показатели её жидкого содержимого, связаны с видовой принадлежностью, характером локомоций, функциональной нагрузкой и индивидуальными особенностями организма. Как компонент сино- 15 Південноукраїнський медичний науковий журнал виальній середі сугавов синовиальная жидкость быстро, тонко и адекватно отражает состояние синовиальной оболочки, хряща, сосудистого русла, микроциркуляции в суставе в конкретный период его жизнедеятельности.

Помимо клеточных элементов, в синовиальной жидкости присутствуют частицы износа тканей суставов. Система идентификации частиц износа хряща на основе сканирующей электронной микроскопии позволила дифференцировать количественные параметры изнашивания в зависимости от патологического процесса в суставе. Частицы, выделенные методом феррографии и обработанные с помощью сканирующей электронной микроскопии, оценивают по 17 параметрам (площадь, периметр, главная ось, длина волокна, периметр упругой нити, выпуклая площадь, выпуклость, скручивание, фактор формы, округлость, округлость волокна, твердость, отношение сторон, отношение волокна, отношение площадь/периметр, фрактальный размер, фрактальный размер поверхности). Зависимость числовых параметров от морфологии частиц иллюстрирует следующее: частицы износа в нормальных суставах имеют неровную поверхность и более выпуклы, что связано с большим содержанием в СЖ клеток и мягких тканей

(меньше – коллагеновых частиц); частицы из остеоартритных суставов имеют неровные границы, что обусловлено большим содержанием коллагена в хрящевых частицах. Разработана компьютерная система анализа параметров хрящевых частиц, использующая ряд показателей для описания границ частиц износа. Система анализа позволяет идентифицировать тенденции изменения числовых параметров для частиц износа в нормальных и остеоартритных суставах [15].

Анализ синовиальной жидкости, выполненный с помощью применяемого в физике диэлектриков метода термостимулированной деполяризации, позволил обнаружить удивительный феномен: при нагревании пробы синовиальной жидкости, не подвергавшейся никакому электрическому воздействию, регистрируются электрические токи (порядка 10-12 А), что объясняется разрушением структуры жидкокристаллических соединений и белково-полисахаридных комплексов [16; 17]. Температурная зависимость термостимулированных токов имеет вид спектров, соответствующих ее состоянию во время исследования. Ранее возникновение термостимулирующих токов зарегистрировано на твердых биологических объектах. Затем метод был применен при изучении гидратации молекул коллагена, лизоцима и некоторых других биополимеров. Таким образом, подтверждается электромолекулярная теория, выдвинутая в середине XIX в. немецким физиологом Э. Г. Дюбуа-Реймоном: синовиальной жидкости, как и любой другой живой материи, присущи естественная электрическая поляризация и наличие квазиполярного биоэлектрического поля [18].

На основании современных данных можно назвать три источника образования синовиальной жидкости суставов: транссудат крови, приносящий в синовиальную жидкость воду, электролиты, протеины; продукты секреции синовиальных клеток покровного слоя оболочки – гиалуронат и

протеолитические ферменты; продукты изнашивания и смены клеток и основного вещества синовиальной оболочки – в основном протеогликаны и гликопротеины, постоянно поступающие в полость в процессе нормальной жизнедеятельности суставов и подвергшиеся лизису и рассасыванию [19, 20].

Все перечисленные характеристики синовиальной жидкости позволяют следующим образом определить её основные функции.

Локомоторная функция – обеспечение вместе с суставным хрящом благодаря упруговязким и эластическим свойствам протеогликана – гиалуроновой кислоты, свободного перемещения контактных поверхностей костей.

Метаболическая функция – участие вместе с тканью синовиальной оболочки и хряща в интенсивных процессах обмена между содержимым сустава и сосудистым руслом организма, участие в перемещении и ферментативном распаде клеток и крупномолекулярных соединений, образующихся в суставном содержимом в процессе жизнедеятельности сустава, что является неременным условием их удаления из полости сустава через лимфатическое русло.

Трофическая функция, особенно по отношению к периферическим бессосудистым слоям суставного хряща, доказательством чего является длительное существование и даже рост свободных хрящевых тел в суставах (суставные «мышцы»).

Барьерная (защитная) функция – участие ферментов синовиальной жидкости, её живых клеток и иммунокомпетентных агентов (вместе с активными в этом отношении компонентами синовиальной оболочки) в интернировании, растворении, ингибировании чужеродных клеток и веществ, проникающих в сустав из крови или при повреждении суставной капсулы [21; 22].

Заключение. На основании вышеизложенных данных изучение и исследование синовиальной жидкости является одним из важных показателей для суждения о норме или патологии суставов, о наличии и отсутствии ряда системных заболеваний соединительной ткани.

Клеточный состав синовиальной жидкости, как один из её параметров, наиболее поддающийся дифференцированному количественному учёту, является реальным тестом для характеристики состояния сустава.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Олюнин Ю. А. Хронический синовит в ревматологии. Оценка активности и тактика лечения // Русский медицинский журнал. – 2005. – Том 13, № 8. – С. 548–551.
2. Аврунин А. С. Иерархия спиральной организации структур скелета. Взаимосвязь строения и функции / А. С. Аврунин, Р. М. Тихилов, В. Е. Мельников // Морфология. – 2010. – № 6. – С. 69–75.
3. Orr C. Synovial tissue research: a state-of-the-art review / C. Orr, E. Sousa, D. L. Boyle [et al.] // Nat Rev Rheumatol. – 2017. – Vol. 13 (8). – P. 463–475.
4. Ding J. Expression of synovial fluid biomarkers in patients with knee osteoarthritis and meniscus injury / J. Ding, X. Niu, Y. Su [et al.] // Exp Ther Med. – 2017. – Vol. 14 (2). – P. 1609–1613.
5. Кожанова Т. Г. Структурно-функциональная характеристика синовиальной оболочки коленного сустава в норме и патологии. / Т. Г. Кожанова // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17. – № 2. – С. 155–157.
6. Доценко Т. Г. Исследование синовиальной жидкости – клиническая значимость полученных результатов / Т. Г. Доценко, Г. И. Шликова, О. В. Теплякова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2016. – № 8. – С. 478–484.
7. Перфилова Л. В. Новые аспекты диагностики синовита коленного сустава у больных ревматоидным артритом / Л. В. Перфилова // Вісник ортопедії, травматології та протезування. – 2012. – № 2 (73). – С. 57–59.
8. Чернякова Ю. М. Синовиальная жидкость: состав, свойства, лабораторные методы исследования / Ю. М. Чернякова, Е. А. Сементовская // Медицинские новости. – 2005. – № 2. – С. 9–14.
9. Могила А. А. Определение зависимости выраженности синовита коленного сустава от степени мышечнотонического синдрома полуперепончатой и медиальной икроножной мышцы методом ультразвукового сканирования / А. А. Могила // Світ медицини та біології. – 2017. – № 2 (60). – С. 92–97.
10. Awisat A. Pseudoseptic Arthritis with Low Synovial Fluid Glucose in Familial Mediterranean Fever / A. Awisat, G. Slobodin, N. Jiries [et al.] // Isr Med Assoc J. – 2017. – Vol. 19 (7). – P. 461–462.
11. Мазуров В. И. Болезни суставов: руководство для врачей / В. И. Мазуров // – СПб.: Спецлит, – 2008. – 397 с.
12. Wu C.-L. Serum and synovial fluid lipidomic profiles predict obesity-associated osteoarthritis, synovitis, and wound repair / C.-L. Wu, K. A. Kimmerling, D. Little [et al.] // Sci Rep. – 2017. – N 7. – 44315 p.
13. Вагапова В. Ш. Внутренняя оболочка суставов. / В. Ш. Вагапова // Клиническая анатомия и экспериментальная хирургия – 2006. – Вып. 6. – С. 112–117.

14. Гумеров Р. А. Современные методы диагностики и лечения синовита коленного сустава / Р. А. Гумеров, А. А. Абзалилов // Казанский мед. журнал. – 2006. – Т. 87. – С. 30–31.
15. Albro M. B. Shearing of Synovial Fluid Activates Latent TGF- β / M. B. Albro, A. D. Cigan, R. J. Nims [et al.] // Osteoarthritis Cartilage. – 2012. – Vol. 20 (11). – P. 1374–1382.
16. Лукашенко Л. В. Сурфактантное состояние синовиальной жидкости у больных ревматоидным гонитом / Л. В. Лукашенко // Бол. суст. и позв. – 2013. – № 1 (09). – С. 25–29.
17. Павлова В. Н. Сустав: морфология, клиника, диагностика, лечение / В. Н. Павлова, Г. Г. Павлов, Н. А. Шостак // – М.: ООО «Медицинское информационное агенство», – 2011. – 552 с.
18. Матвеева Е. Л. Биохимические изменения в синовиальной жидкости при развитии дегенеративно-дистрофических процессов в коленном суставе: автореф. дисс. на соискание степени доктора биол. наук: спец. 03.00.04 «Биохимия» / Е. Л. Матвеева // – Курган, – 2007. – 24 с.
19. Павлова В. Н. Синовиальная среда сустава / В. Н. Павлова // – М.: Медицина, – 1980. – 296.
20. Буккуп К. Клиническое исследование костей, суставов и мышц / К. Буккуп // – М.: Медицинская литература, – 2007. – 320 с.
21. Могила А. А. Определение зависимости выраженности синовита коленного сустава от степени мышечнотонического синдрома полуперепончатой и медиальной икроножной мышцы методом ультразвукового сканирования / А. А. Могила // Світ медицини та біології. – 2017. – № 2 (60). – С. 92–97.
22. Tan W. M. Proteomic Analysis of Synovial Fluid Obtained From a Dog Diagnosed With Idiopathic ImmuneMediated Polyarthritis / W. M. Tan, S. F. Lau, M. Ajat [et al.] // Top Companion Anim Med. – 2017. – Vol. 32 (1). – P. 24–27.