



Tvorba mazacího filmu v kontaktu synoviálního kloubu v závislosti na smykové rychlosti

Projekt dizertační práce

Ing. Pavel Čípek

Brno 2017

1 NÁZEV V ČEŠTINĚ A ANGLIČTINĚ

1

Název

Tvorba mazacího filmu v kontaktu synoviálního kloubu v závislosti na smykové rychlosti

Title

Formation of the lubricating film in synovial joint contact in relation to shear rate

2 KLÍČOVÁ SLOVA ČESKY A ANGLICKY

Klíčová slova

Režim mazání, tření, opotřebení, tloušťka mazacího filmu, fluorescenční mikroskopie, chrupavka, synoviální kapalina

Keywords

Lubriaction mode, friction, wear, lubrication film tickness, fluorescence microscopy, cartilage, synovial fluid

3 ANOTACE

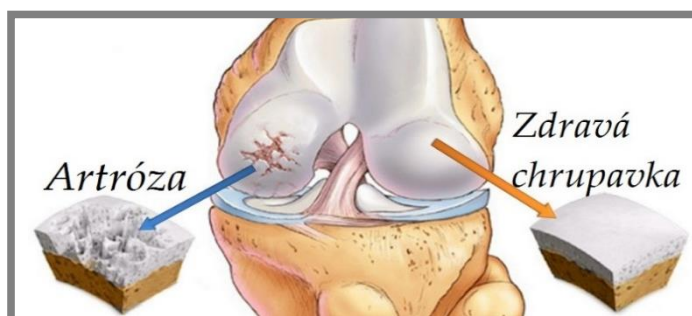
3

Práce se zabývá tribologickým testováním synoviálního kloubu. Jsou popsány používané metody, zařízení a veličiny, které se pro testování vzorků chrupavek používají. Dále je popsána metoda fluorescenční mikroskopie pro určování tloušťky mazacího filmu u poddajných kontaktů, kterou se práce snaží upravit a implementovat tak, aby bylo možné popsat pohyb částic v mazacím filmu a následně odvodit principy utváření mazacího filmu u synoviálního kloubu. Doposud zveřejněné práce zatím tento proces nepopsaly.

4 ÚVOD

Bezbolestný pohyb kloubů je jedním z nejdůležitějších předpokladů pohodlného a aktivního života. Synoviální kloub se skládá ze dvou styčných ploch, které představují kosti zakončené chrupavkami. Toto spojení zajišťuje pohyb a přenos zatížení v organismu, a to téměř bez tření. Funkci maziva v synoviálních kloubech plní synoviální kapalina.

Bohužel mnoho lidí trpí různým onemocněním kloubů, což vnáší do života značné nepříjemnosti a obtíže. Příkladem onemocnění je chondropatie, osteoartritida či artróza kloubů, viz obr. 4-1. Jedním z možností léčby onemocnění velkých kloubů artrózou či chondropatií u člověka je viskosuplementace, která zpomalí degradaci chrupavek a dočasně nastartuje mazací proces mezi chrupavkami kloubu. Vždy, když rozsah poškození nemocí kloubu přesáhne danou mez, je třeba provést implantaci totální endoprotézy, což je výměna poškozeného kloubu za kloub umělý, který je po většinu případů v dnešní době tvořen kloubní hlavicí a protikus tvoří kloubní jamka. Tato dvojice je nejčastěji vyráběna z kobalt-chromové oceli kloubní hlavice a jamka z vysocesiťovaného polyethylenu. Problém těchto konvenčních implantátů je životnost, která se pohybuje řádově od 10 do 20 let. Další možností, jak vyřešit nemocné a již nefunkční pohybové klouby je výměna chrupavky za chrupavku umělou. V této oblasti byly provedeny v poslední době velké pokroky, a to zejména v oboru tkáňového inženýrství, které má snahu o nalezení umělé funkční synoviální tkáně. Vlastnosti dosavadních umělých chrupavek se blíží reálným živým chrupavkám. Jedná se zejména o mechanické vlastnosti, jako je pevnost v tlaku. Navzdory tomu, že umělé chrupavky se mechanickými vlastnostmi blíží reálným a vývoj v této oblasti hodně pokročil, byla při vývoji a výzkumu opomenuta jedna z nejdůležitějších vlastností živé chrupavky. Tímto nedostatkem jsou myšleny tribologické vlastnosti. Tyto vlastnosti byly v minulosti ve výzkumu zanedbávány, protože nebyly považovány za tak důležité jako vlastnosti mechanické. Prioritně bylo od umělých chrupavek požadováno, aby přenesly požadované zatížení. Je třeba vyřešit tyto nedostatky, resp. další fáze výzkumu by bezpodmínečně měla obsahovat také výzkum a vývoj v oblasti tribologie umělých a reálných chrupavek. Porozumění tribologických vlastností u reálných kloubů je velmi důležitá, neboť by pak bylo možné aplikovat získané poznatky do oboru umělých tkání a tím zajistit u nemocných kloubů optimální umělou náhradu, či vhodnou konzervační léčbu a tím nemoc stabilizovat a oddálit nutnost implantace totální endoprotézy, popřípadě optimální umělé chrupavky. Bylo prokázáno, že špatně mazané klouby u živočichů způsobují degeneraci populace [1, 2]. Je tedy nadmíru důležité, aby umělé tkáně splňovaly nejen mechanické, ale i tribologické vlastnosti, aby mohly správně fungovat v těle jedince a plnou mírou zajistit doživotní náhradu za nemocí poškozený kloub.



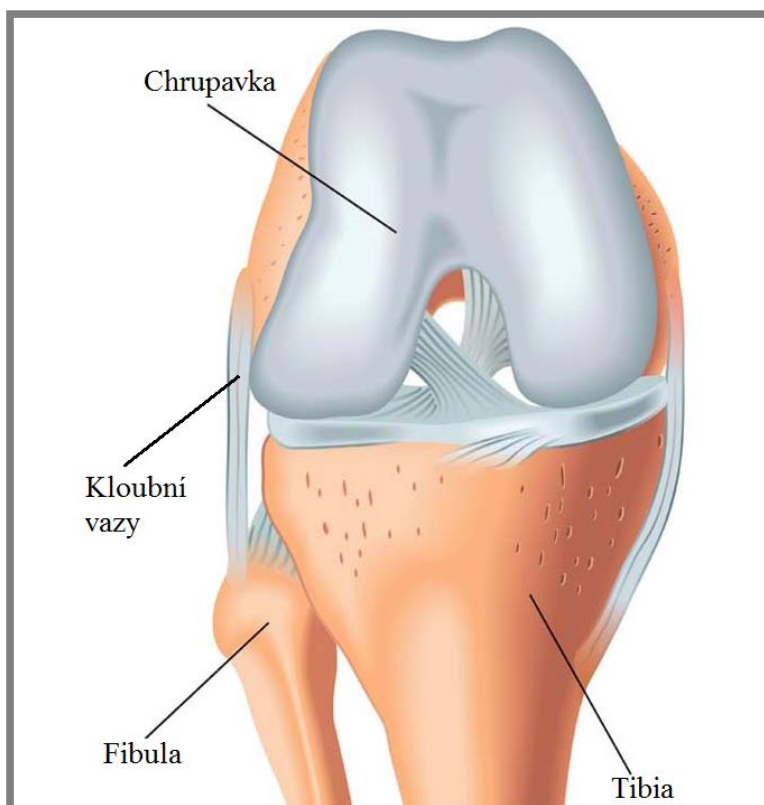
Obr. 4-1 Srovnání zdravého a nemocného synoviálního kloubu

Tato práce je zasazena do kontextu výzkumu tribologických vlastností reálných kloubů. Jak již bylo řečeno, pokud budou pochopeny principy mazání reálných kloubů, je možné poznatky implementovat do vývoje umělých kloubů a tím vyvinout optimální umělou chrupavku, která zajistí náhradu nemocí degradovaného kloubu do konce života jedince. Výzkum v oblasti tribologie reálných kloubů, resp. experimenty se vzorky z chrupavek započali již v minulém století v 70. letech, kde autoři nejdříve zkoumali třecí vlastnosti chrupavky, dále pak i opotřebení a mazání, které je v dnešní době na počátku poznání. V následující kapitole budou popsány stávající výzkumy v této oblasti a dále v práci budou také zmíněny cíle a přesné zaměření této práce.

5 SHRNU TÍ SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ ODBORNÉ PROBLEMATIKY V DANÉ VĚDNÍ OBLASTI

5.1 Synoviální kloub

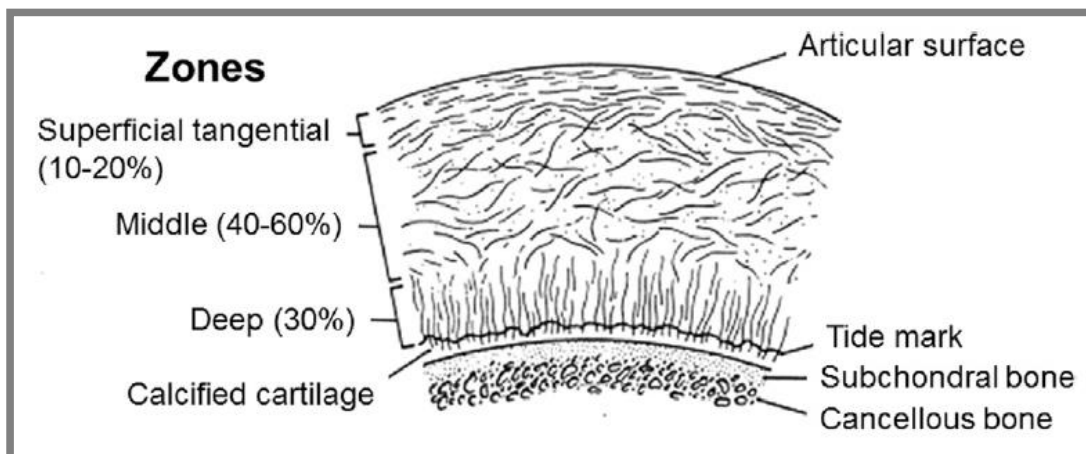
Synoviální kloub v živém organismu tvoří vždy dvě kosti zakončené chrupavkami proti sobě, viz obr. 5-1. Kloub je uložen v tzv. kloubním pouzdře, ve kterém je udržován v mazací lázni synoviální kapalinou.



Obr. 5-1 Synoviální kloub

Tkáň chrupavky je tvořena z 60–80 % vodou. Neobsahuje cévy, obsahuje pouze malé množství buněk (2–10 %) a je bohatá na extracelulární matici (ECM) [3]. Matrice se skládá zejména z kolegonových vláken typu II a proteoglykanu. Dále ECM obsahuje oligomerní proteiny (COMP), hyaluronan, biglykan a decorin. ECM je udržována v ustáleném stavu pomocí chondrocytů, které enzymaticky degradují a vylučují matici. Chrupavka obsahuje pouze 2 – 10% buněk a buněčná hustota chrupavky klesá s věkem [4]. Buňky mají nízkou regenerační schopnost, protože příjem živin je zprostředkován pouze pomocí difuze. Přeprava živin a regenerace chrupavky je ztížena cyklickým zatěžováním při pohybu jedince. Chrupavka je anizotropní a heterogenní tkáň, jejíž struktura se mění po hloubce. Má tři hloubkové zóny, viz obr. 5-2. První povrchní vrstva ECM má kolagenová vlákna uspořádaná rovnoběžně s povrchem a obsahuje kolagenová vlákna typu II [5]. Povrchová vrstva je tedy schopna odolávat smykovým silám, které vyvozuje druhý souzabírající kloub. Tato povrchní vrstva má největší hustotu buněk a chondrocyty mají zploštěný tvar. Z celkového objemu chrupavky je povrchová část asi 30%. 40-60% z objemu je střední zóna, která obsahuje taktéž

kolageny typu II, ale jsou náhodně uspořádány. Poslední „hloubková“ část chrupavky zabírá zbylých cca 30% objemu. Je rozhraním mezi mineralizovanou a unmineralizovanou oblastí ECM [6]. Kolageny jsou zde uspořádány kolmo k povrchu.



Obr. 5-2 Povrchové zóny tkáně chrupavky

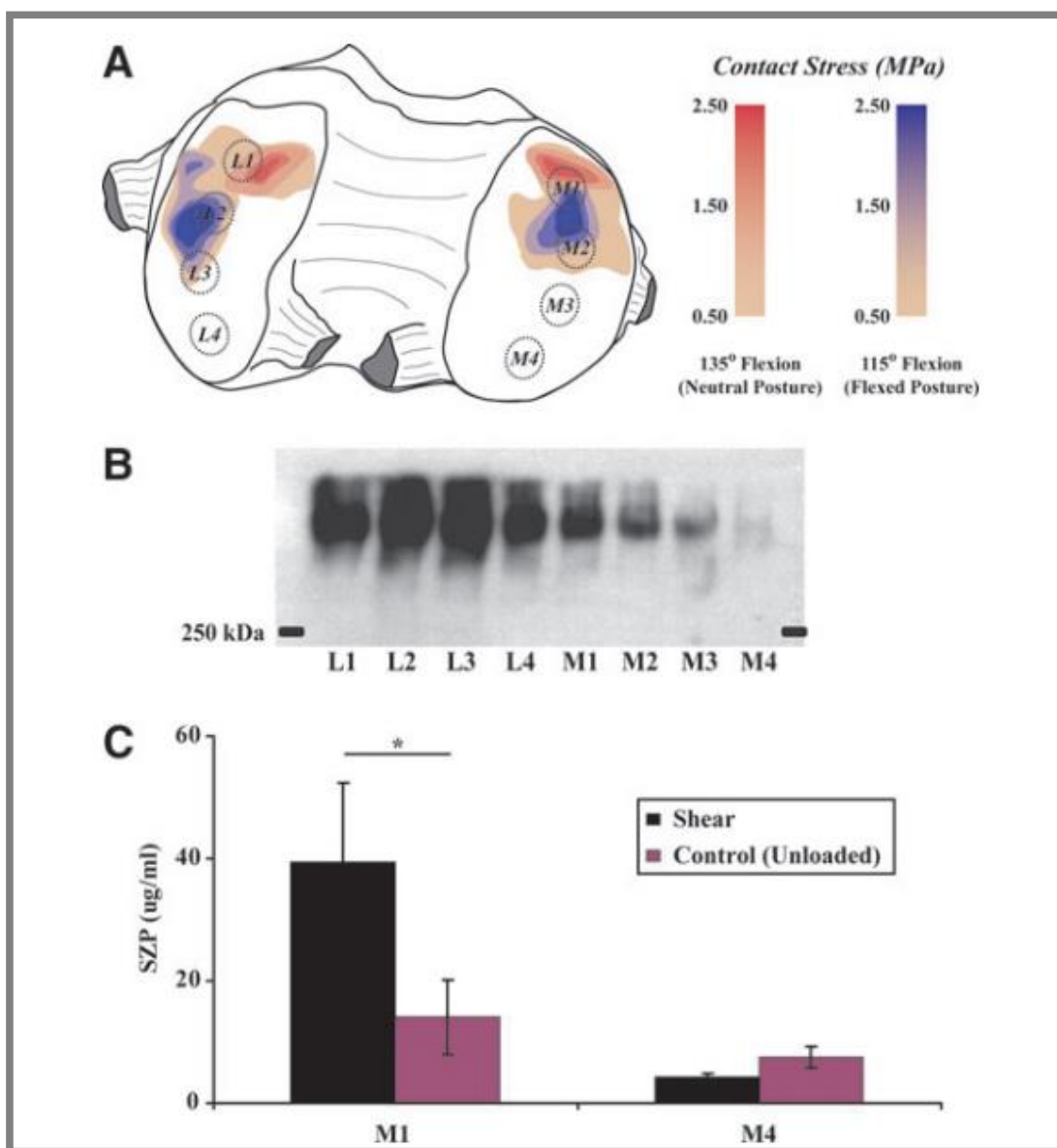
Hydratace klesá s každou zónou. V povrchové oblasti je obsaženo hodně vody a dalších molekul s menší velikostí, která je natažena do struktury chrupavky. Obsahuje modifikované proteoglykany s negativně nabitými glykosylaminoglykany (GAG), což způsobuje natahování kationtů do struktury chrupavky. Tento jev má za důsledek osmotický tlak, který je důvodem odolnosti chrupavky proti stlačení [7]. Do struktury vnikají pouze menší molekuly. Velikost molekul je závislá na velikosti pórů chrupavky. Zbylé molekuly, které jsou obsaženy v synoviální kapalině, zůstávají na povrchu chrupavky a utváří tzv. gelovou vrstvu, která má následně velký význam při mazání chrupavky. Chrupavka je mechanicky robustní materiál, který musí vydržet napětí až 18 MPa, které vzniká v kyčelním kloubu [8]. Modul pružnosti chrupavky se pohybuje v rozmezí od 1 do 20 MPa [9, 10].

5.1.1 Synoviální kapalina

Synoviální kapalina plní v synoviálním kloubu funkci maziva. Je to silně ne-Newtonovská kapalina, která obsahuje fyziologické látky. Hlavní mazací složkou synoviální kapaliny je směs kyseliny hyaluronové, proteinů, lubricinu a aktivních fosfolipidů. Dále se synoviální kapalina skládá z vody a dalších příměsí. Kyselina hyaluronová (HA) je nesulfátovaná GAG složená z opakujících se cukrů glukuronové kyseliny a N-acetylglukosaminu. HA hraje velkou roli v mazání styčných ploch kloubu, poskytuje synoviální kapalině potřebnou viskozitu [50], [51]. Některé studie potvrdily, že pokud se ze synoviální kapaliny odebere HA, tak dojde ke snížení viskozity, ale nedojde k žádné rapidní změně v tření a mazání [52], [53]. Dále bylo zjištěno, že HA váže na povrch chrupavky potřebné mazivo a tím se snižuje tření v kontaktu [54]. Dále bylo také zjištěno, že HA zajišťuje spíše snížení opotřebení, nežli snížení součinitele smykového tření. Pro hlubší prozkoumání role HA v synoviální kapalině je třeba ještě dalšího výzkumu. Další důležitou složkou synoviální kapaliny jsou fosfolipidy. Fosfolipidy se váží na povrch chrupavky [55], [56], [10], [57]. Různé studie se od sebe liší názorem významu SAPLs v synoviální kapalině. Některé říkají, že SAPLs má vliv na tření a snižuje jej, jiné zase, že SAPLs na tření žádný vliv nemá.

5.1.1

Jediné, na čem se autoři shodnou je, že se SAPLs váže na povrch chrupavky při mazání. Značně významnou roli v mazání hraje i lubricin (PRG4) a povrchové shluky proteinů (SZP). Všichni autoři se shodují, že SZP je rozhodující mazivo pro chrupavku. SZP lze určitým způsobem modifikovat a to obsahem interleukinů a faktorem nekrózy nádorů. Tato konfigurace významně snižuje tření. Na obr. 5-3 je zobrazeno rozložení tlaku u skotu. Na kolenní chrupavce jsou umístěny primárně zatížené části M1 a nezatěžované části M4. Části chrupavek z těchto zatížených a nezatížených částí chrupavky byly zkoumány v práci [58]. Byla zkoumána mechanická regulace SZP. Regulace byla prováděna pomocí mechanických a tlakových sil. Chrupavky byly lisovány po dobu 1 den pod tlakem 6 – 100 kPa nebo byly zatěžovány pomocí kmitavého recipročního pohybu 0,01 Hz pod tlaky 3 – 10 kPa a 3 – 300 kPa. Při zatěžování byl pozorován pokles SZP. Při odstranění ovládacích prvků a setrvání pouze v tlaku 3 – 300 kPa byl pozorován nárůst o 46% sekrece SZP po jednom dni.



Obr. 5-3 Rozložení tlaku v kolenním synoviálním kloubu u skotu [60]

5.2 Analýza mazání v synoviálním kloubu

Některé práce se v oblasti biotribologie zabývají i mechanismy mazání v kontaktech synoviálních kloubů. Synoviální klouby jsou mazány pomocí synoviální kapaliny, která obsahuje povrchově aktivní látky, které ulpívají na površích chrupavek a vytvářejí tak mezivrstvu mezi povrchy chrupavek, která zajišťuje přenos zatížení a pohybu s minimálním odporem. Jedná se především o proteiny, lubricin, fosfolipidy, kyselinu hyaluronovou (HA) a glycosaminoglycany (GAG). Tato mezivrstva chrání povrchy chrupavek proti opotřebení a dává synoviálním kloubům jedinečné tribologické vlastnosti. Na samotném povrchu chrupavky je vytvořen gelový film z proteoglykanů, který chrání povrch chrupavky proti poškození. Na povrchu tohoto gelového filmu se vytváří adsorbovaný film, který se skládá z dvojvrstvy fosfolipidů a vláknitých molekul.

Celý mechanismus mazání je založen na vlastnostech jak maziva, v tomto případě synoviální kapaliny, ale také na vlastnostech a struktuře mazaných objektů, resp. tkání chrupavek. V práci [40] autor popisuje strukturu a funkci chrupavky v kontaktu. Struktura chrupavky je byfázová. Skládá se ze 70 – 80% z vody. Zbytek 60 – 80 % suché hmotnosti tvoří kolagenová vlákna a proteoglykany. Proteoglykany jsou záporně nabitě a váží se s kyselinou hyaluronovou a v této kombinaci vysoce hydrofilní směs přitahující vodu. Tato směs je zapletena do povrchové vrstvy kolagenových vláken a vytváří gelovou vrstvu na povrchu chrupavky. Póry chrupavky jsou průměrem řádově menší než průměry kolagenových vláken. Voda jimi teče, nebo difunduje. Nejmenší póry mají průměr cca 10 nm. Při stlačení chrupavky, póry zmenšují svůj průměr, a tak zamezují průtoku vody chrupavkou, resp. voda je pak uvězněna uvnitř tkáně chrupavky, což způsobuje natlakování chrupavky. Tlak intersticiální kapaliny v chrupavce pak významně pomáhá při přenosu zatížení v kontaktu chrupavky. Pevná frakce chrupavky je silná v tahu, ale v tlaku má horší vlastnosti. Pokud je tkáň chrupavky natlakována, tlak intersticiální kapalina uvězněné díky stlačení uvnitř struktury chrupavky udržuje pevnou vláknitou matici tkáně chrupavky v tahovém režimu. Pokud kontaktní tlak přesáhne určitou hodnotu, pak struktura začne kolabovat a intersticiální kapalina se začne vytlačovat z porů chrupavky, které se ztrátou tlaku v chrupavce otevřou. K modelování deformací tkáně chrupavky se používají dva přístupy modelů:

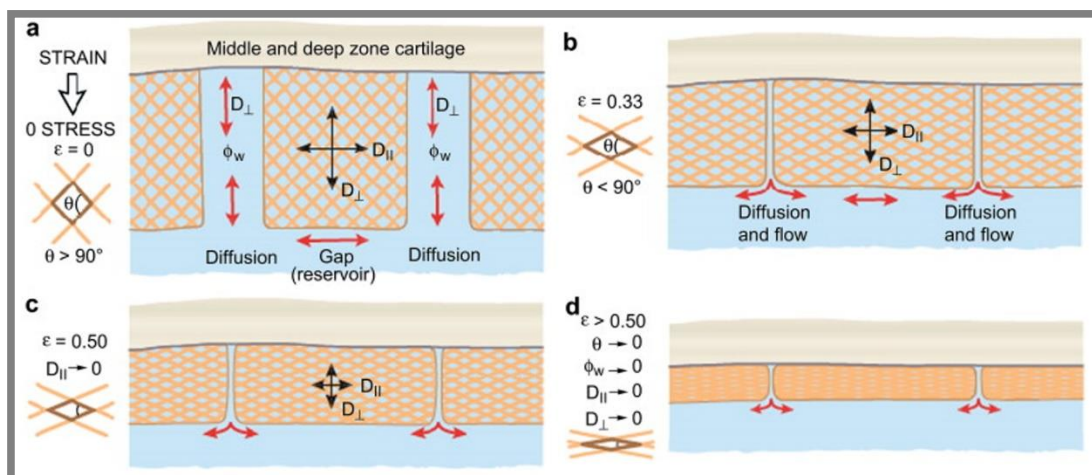
- Viskoelastický model
- Póroelastický model

Oba modely mají dobrou shodu s realitou, ale lépe deformace chrupavky a proudění intersticiální kapaliny v pórech tkáně reprezentuje model póroelastický.

U póroelastického modelu zvláště závisí na distribuci, struktuře a geometrii porů v pevné matici tkáně. Každá malá odlišnost může vést k velkému ovlivnění směru toku intersticiální kapaliny. Tento jev je především důležitý ve spojitosti s weeping režimem mazání, který je dosti závislý na směru toku intersticiální kapaliny. V případě boosted režimu mazání je kapalina z porů vytlačována do kontaktní oblasti, kde vytváří tenký mazací film a režim mazání vede k elastohydrodinamickému režimu. Tento režim by nemohl nastat, pokud by nebyla struktura tkáně chrupavky anizotropní. Anizotropní struktura tedy určuje směry toku kapaliny a mechanické vlastnosti tkáně chrupavky v různých směrech. Vlastnosti jsou závislé na stavbě makro a mikro struktury pevné matrice tkáně chrupavky.

Autor pro svoje experimenty použil vzorky odebrané z vepřového kolene z kolenního kloubu z vrchní části prostřední vrstvy tkáně chrupavky do max. 3. dnů po porážce a následně zamražený na $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vzorek byl umístěn mezi dvě safírová sklíčka, z nichž je jedno pohyblivé a zajišťuje kontaktní tlak. Kapalina byla naočkována fluorescenčním barvivem, které je nasáknuto do tkáně chrupavky. Po stlačení vzorku horním safírovým sklem je pomocí fluorescenční mikroskopie pozorován pohyb kapaliny z chrupavky. Kontakt je excitován laserem a je pozorována světelná emise proudící kapaliny. Intenzita emitujícího světla je přímo úměrná počtu fluoreskujících molekul kapaliny.

Autor v práci popisuje proudění a difuzi kapaliny v tkáni chrupavky v průběhu deformování. Tkáň chrupavky obsahuje dva druhy pórů. Jedny jsou kolmé k povrchu a jsou tvořeny prázdným objemem a dále jsou v chrupavce přítomny menší horizontální póry. V tomto stavu je umožněna difuze kapaliny jak ve směru horizontálním, tak i ve směru vertikálním. Tkáň chrupavky má v tomto klidovém stádiu bez zatížení (obr. 5-4a) poměrně velký modul pružnosti, takže je k její deformaci zapotřebí poměrně velké síly. Dále v klidovém stavu je plocha horizontálních pórů poměrně malá. Při deformaci (obr. 5-4b) se začnou horizontální póry roztahovat na úkor pórů vertikálních, které se tímto zužují. Při tomto jevu započiná vytlačování kapaliny z tkáně chrupavky, resp. z vertikálních pórů. Při další deformaci (obr. 5-4c) je modul pružnosti malý a deformace jednoduchá. Horizontální póry jsou značně roztaheny a zploštěny, tok difuzí je značně omezen. Nastává další fáze, kdy modul pružnosti chrupavky narůstá a deformace je opět složitější. Nastává stav, kdy dojde ke styku kolagenových vláken a ty na sebe začnou tlačit. Tok kapaliny je minimální, a to ve směru jak vertikálním, tak i horizontálním.



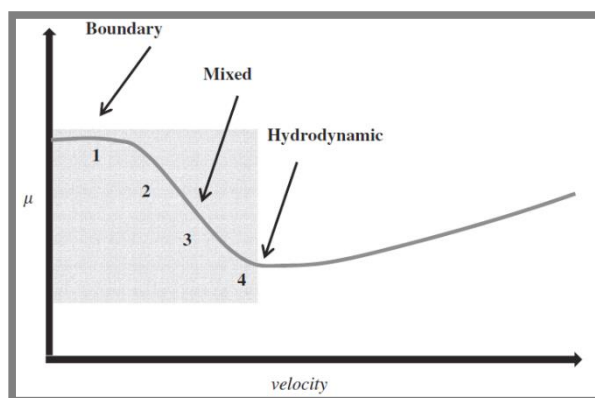
Obr. 5-4 Tok strukturou chrupavky při deformaci [40].

Při počáteční deformaci chrupavky díky stlačování pórů a následného vytlačování kapaliny z těchto pórů, dochází mezi chrupavkami ke kapalinovému filmu, tedy stlačování pórů funguje jako čerpadlo kapaliny z tkáně do kontaktu mezi chrupavkami. Toto stlačování pórů a vytlačování kapaliny z chrupavky je zdrojem pro tzv. „weeping“ režim mazání. Tento režim mazání v kontaktu chrupavky je popsán v práci [41 a 42]. Weeping mechanism mazání, který je založený na vytlačování synoviální kapaliny z pórů tkáně chrupavky do samotného kontaktu mezi chrupavkami, kde

následně utváří kapalinový film a tím odděluje stýkající se povrchy určitou tloušťkou maziva. Mazivo je vytlačováno z tkáně chrupavky, která má pouze omezený objem. Postupem času je tento zásobník maziva uvězněného v chrupavce vyčerpán a mazací film mezi chrupavkami ochuzen. Tento jev autor dává za důvod, proč při experimentech s chrupavkou s rostoucím časem narůstá COF. Pokud je vyčerpán zásobník maziva uvězněného v chrupavce, dojde ke styku povrchů chrupavek, kde je přítomen pouze zachycený gelový film a tloušťka maziva mezi povrchy klesne.

Dále autor uvádí mechanismus „boosted“ kdy tkáň chrupavky proupuští do svých pórů pouze kapaliny s nízkou molekulovou hmotností jako je voda a další příměsy synoviální kapaliny, ale kyselina hyaluronová do tkáně vpuštěna není. Kapaliny a molekuly s větší molekulovou hmotností pak utváří na povrchu chrupavky gelovou vrstvu, která poté plní funkci hraničního maziva.

V práci [42] byly provedeny smykové testy s recipročním pohybem a následně byly provedeny i simulace experimentů. Experimenty byly provedeny se zaměřením na různé mazací režimy. Parametry režimů byly zvoleny podle Stibeckovy křivky, viz obr. 5-5 a podmínky pro režimy 1, 2, 3 a 4 byly zvoleny podle tab. 5-6.

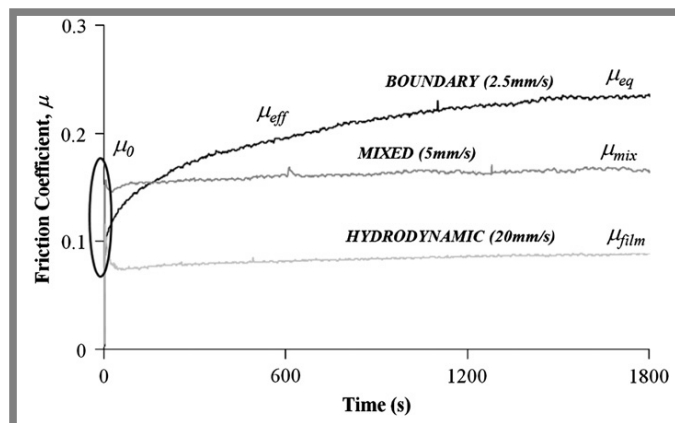


Obr. 5-5 Stribeckova křivka [42].

Tab. 5-6 Parametry experimentů pro jednotlivé režimy [42].

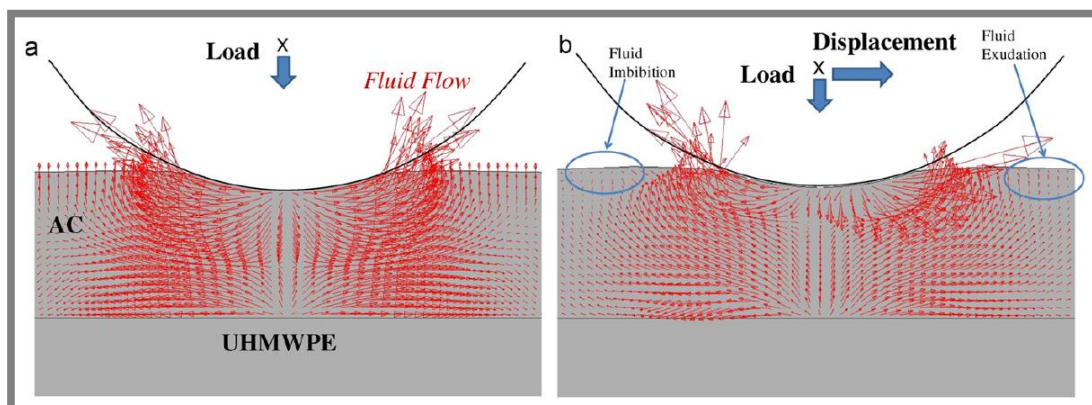
Režim	Zdvih [mm]	Frekvence [Hz]	Rychlost [mm/s]
1	0,25	10	2,5
2	0,5	10	5
3	1	10	10
4	2	10	20

Výsledky experimentů ukazují, že nejvyšší COF vykazuje režim boundary (1), dále režim mixed (3) a nejmenší COF vykazuje režim hydrodynamický (4), viz obr. 5-7.



Obr. 5-7 Závislost COF na čase pro režimy 1, 3 a 4 [42].

Numerické simulace byly provedeny s nižším zatížením a menší frekvencí pohybu, protože stanovené podmínky způsobily problémy s konvergencí numerické úlohy. Simulace byly prováděny pomocí softwaru Abaqus a byl použit dvoufázový model tkáně chrupavky. Umožňuje vyjádření nelineární pružnosti, propustnosti kapalinou. Vlákna byla modelována jako homogenní materiál. Model tedy umožňuje reálné chování tkáně chrupavky, kdy se propustnost tkáně snižuje při stlačení, nárůstu tlaku. Póry v matici se zmenšují a tím se snižuje propustnost tkáně chrupavky. Model byl pro zjednodušení výpočtu převeden do 2D prostředí. Kontaktní těleso je modelováno jako elastické. Mazacímu médiu bylo umožněno vstupovat a vystupovat z tkáně chrupavky pouze mimo kontaktní oblast. Zatížení bylo aplikováno na referenční bod kontaktního tělesa, a to 0,5 N, což vyvozuje průměrný tlak v kontaktu cca 0,5 MPa. Je sice mimo rozsah experimentu, ale umožňuje vyhnout se problému s konvergencí výpočtu. Problémy s konvergencí byly způsobeny velkými deformacemi modelu tkáně chrupavky při vyšším zatížení. Výsledky ze simulací jsou uvedeny na obr. 5-8, kde je znázorněn tok intersticiální kapaliny při zatížení bez pohybu, obr. 5-8a a při pohybu se zatížením, obr. 5-8b.



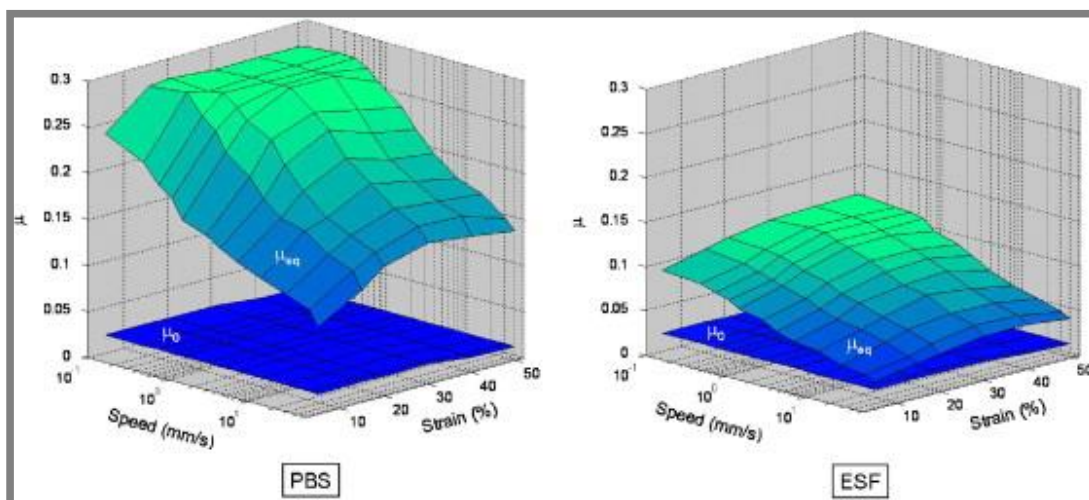
Obr. 5-8 Proudění intersticiální kapaliny v kontaktu chrupavka – ocel vypočtené pomocí simulace v práci [42].

Další část experimentů byla zaměřena na zkoumání vlivu času statického zatížení před experimentem. Vždy před zahájením posuvného pohybu byl kontakt zatížen na určitou dobu a poté byl měřen rozběhový součinitel smykového tření. Čím delší dobu byl kontakt před pohybem zatížen, tím bylo vykazováno vyšší rozběhové tření. Důvodem

je vytlačování intersticiální kapaliny z pórů chrupavky, a tím oslabení mazacího filmu ve statickém kontaktu.

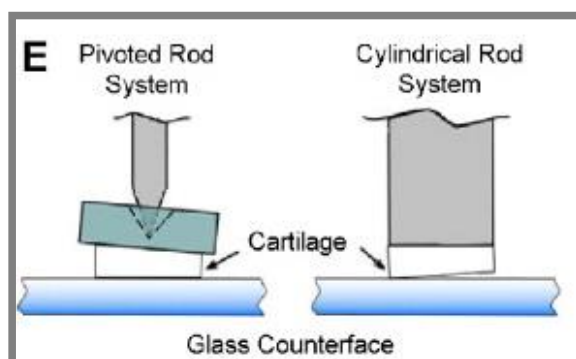
Další práce, která je zaměřena na poznávání a popis režimů mazání v kontaktu chrupavky je práce od Gleghorn a kol. [43] z roku 2008. Autor se zabýval sestrojením Stribeckových ploch pomocí experimentů. V experimentu použil hovězí chrupavky. Po vytvoření vzorků byly vzorky zamražené na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a jako mazadlo byl použit roztok PBS, hovězí synoviální kapaliny (BSF) a koňské synoviální kapaliny (ESF).

V práci byly provedeny experimenty zaměřené na měření třecích, normálových sil a následně určení COF. Bylo určeno i přetvoření chrupavky v tlaku. Z těchto naměřených a vypočtených veličin byla sestrojena Stribeckova plocha a určena hranice mezi přechodem z boundary režimu mazání do mixed režimu. Na obr. 5-9 jsou znázorněny Stribeckovy plochy pro experimenty smazivem PBS a ESF. V případě experimentů prováděných s PBS byl naměřen podstatně vyšší COF μ_{eq} (COF naměřený při experimentu po ustálení). Počáteční COF μ_0 (COF hned po zatížení vzorku chrupavky) se u experimentů s PBS a ESF příliš nemění. Plocha režimu boundary je rozsáhlejší a následný přechod do režimu mixed je strmější.



Obr. 5-9 Stribeckovy plochy sestrojené pomocí experimentů s PBS a ESF [43].

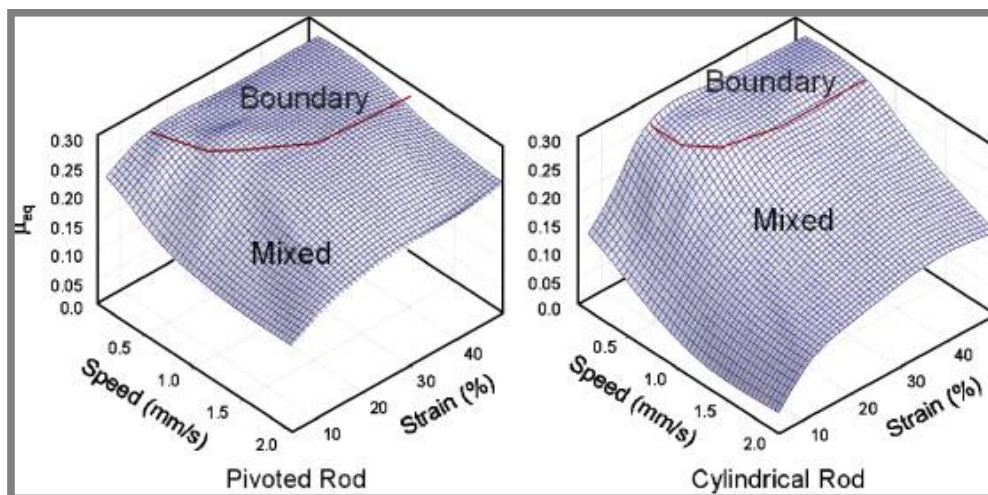
Experimenty byly prováděny v různých konfiguracích uchycení vzorku, viz obr. 5-10.



Obr. 5-10 Varianty uchycení při experimentu [43].

Výsledky experimentů s uchycením typu pivot rod a cylindrical rod jsou na Stribeckových plochách znatelné zásadními rozdíly ve strmosti přechodu z režimu

boundary režimu do režimu mixed viz obr. 5-11. Důvod autor práce uvádí nejspíše vznikající klínovou mezeru u uchycení typu cylindrical rod, která v kontaktu při vyšších rychlostech generuje hydrodynamický tlak. Autor v práci také zmiňuje, že s tkání chrupavky nelze dosáhnout plného hydrodynamického režimu mazání, a to díky propustné tkáňovité struktuře chrupavky, která vznikající hydrodynamický tlak snižuje propouštěním kapaliny přes strukturu chrupavky ven z kontaktu.

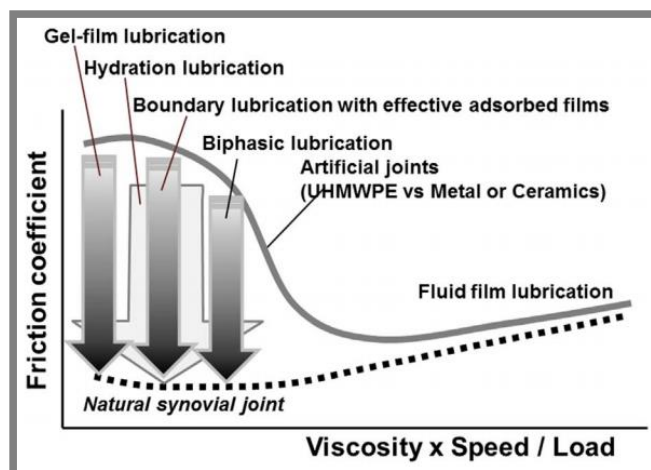


Obr. 5-11 Stribeckovy plochy sestavené pro experimenty s uchycením vzorku typu pivot rod a cylindrical rod [43].

Práce [44] se autor zabývá popisem zejména režimů při malých smykových rychlostech v boundary režimu. Přichází s dalšími možnostmi režimů, které by lépe popisovali tribologické chování chrupavky v kontaktu. Uvádí, že klouby pracují při nízkých smykových rychlostech v multimode režimu mazání, který je formou boundary režimu a při vyšších smykových rychlostech se mazací režim mění na soft-EHD nebo micro-EHD. Tyto kapalinové režimy nastávají pouze při pohybu kloubů, tedy při chůzi, nebo běhu. Multimode režim mazání nastává při stálé zátěži synoviálního kloubu, nebo při malých smykových rychlostech mezi klouby. Při těchto podmínkách nemají kapalinové režimy mazání téměř žádný vliv. Multimode režim mazání je adaptivní a přizpůsobuje se podle daných podmínek, aby vždy zajistil pohyb kloubu s velmi malým třením a minimálním opotřebením chrupavek. Podle toho, jaké podmínky v kloubu nastanou adaptivní multimode režim mazání se přizpůsobí do následujících možných režimů:

- Gel-film mazání
- Boundary mazání
- Dvoufázové mazání
- Hydratační mazání

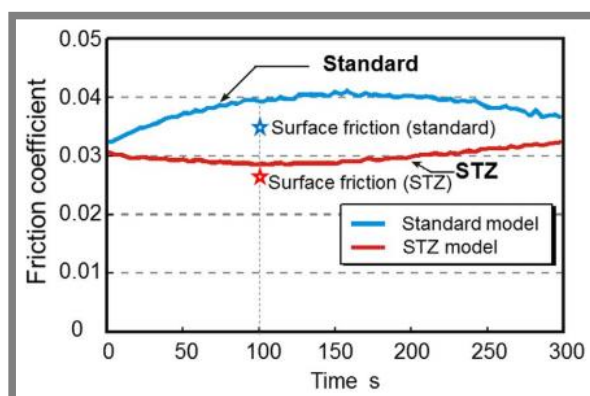
Adaptivita multimode režimu mazání se řídí podle hodnoty podílu vztahu viskozita \times rychlost/zatížení, viz obr. 5-12.



Obr. 5-12 Stribekova křivka pro multimode mazání [44].

Zatím není známo, jaká pravidla platí pro multimode režim mazání, při jakých podmínkách nastává jeho adaptace.

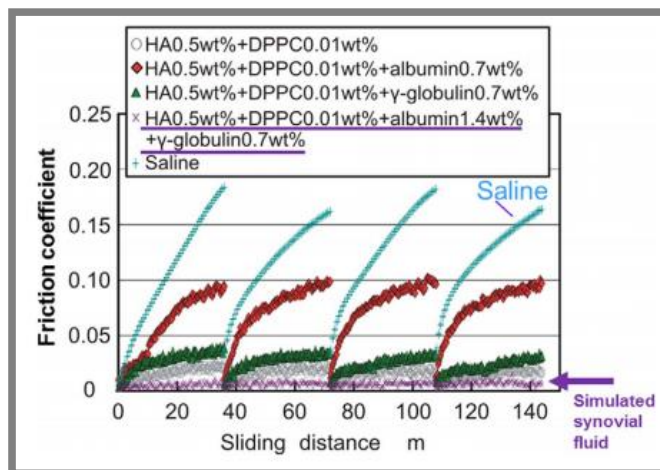
V práci byly provedeny numerické analýzy statického kontaktu chrupavky a kontaktu on-off, kdy docházelo k cyklickému zatěžování a odtěžování. Autor uvádí, že při těchto režimech nastává režim dvoufázového mazání. Byly vytvořeny dva numerické modely, jeden standardní a druhý modifikovaný, kdy byla upravena povrchová vrstva chrupavky na tangenciální s vyšší propustností kapaliny (STZ) model. U obou byly provedeny výpočty dvou uvedených stavů. Standardní model vykazoval vyšší vypočtené tření a STZ model vykazoval tření nižší, viz obr. 5-13.



Obr. 5-13 Závislost součinitele tření na čase standardního a STZ modelu [44].

Autor numericky určil von Mises napětí a intersticiální tlak kapaliny v chrupavce. Výsledky ukázaly, že před kontaktem nastává v chrupavce podtlak, který napomáhá rehydrataci chrupavky. Tento jev byl nalezen pouze u STZ modelu.

V práci byly provedeny i experimenty zaměřené na určení COF pro různé mazací roztoky. Konfigurace experimentu byla pin-on-plate s recipročním pohybem. Experiment byl prováděn s odtižením po 5 min testu. Byla vytvořena umělá synoviální kapalina, která obsahovala proteiny albumin, γ -globulin, dále HA a DPPC. Byly testovány i další roztoky, ale žádný neobsahoval kombinaci obou proteinů. Nejlepší třecí vlastnosti vykazovala umělá synoviální kapalina, viz obr. 5-14.

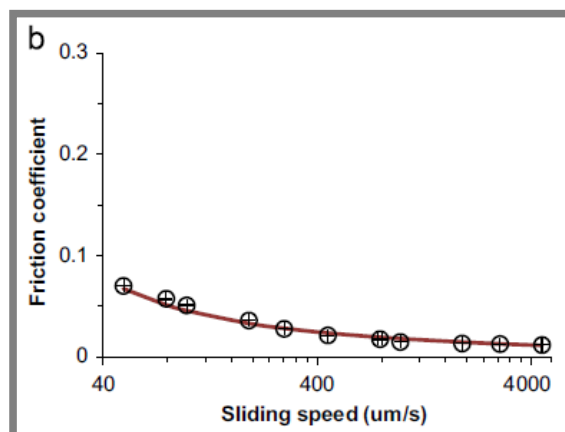


Obr. 5-14 Závislost součinitele tření na čase, pro různé mazací roztoky [44].

Výsledky experimentů ukazují, že rehydratace chrupavky má velký vliv na naměřené hodnoty COF. Stejně závěry vyvodil i autor z uvedené práci [29].

Práce uvádí experiment na AFM, kdy autoři zkoumali vliv povrchových vrstev chrupavky. Pod AFM provedli reciproční test a pozorovali, kdy kontaktní tělíčko pronikne adsorbovanou vrstvou a gelovou vrstvou. Hodnoty COF při těchto událostech byly zaznamenány a byly vytvořeny AFM snímky povrchu chrupavky. Byl proveden experiment se synoviální kapalinou a bez maziva. Při experimentu se synoviální kapalinou bylo zjištěno, že po proniknutí gelovou vrstvou se vrstva díky synoviální kapalině obnoví.

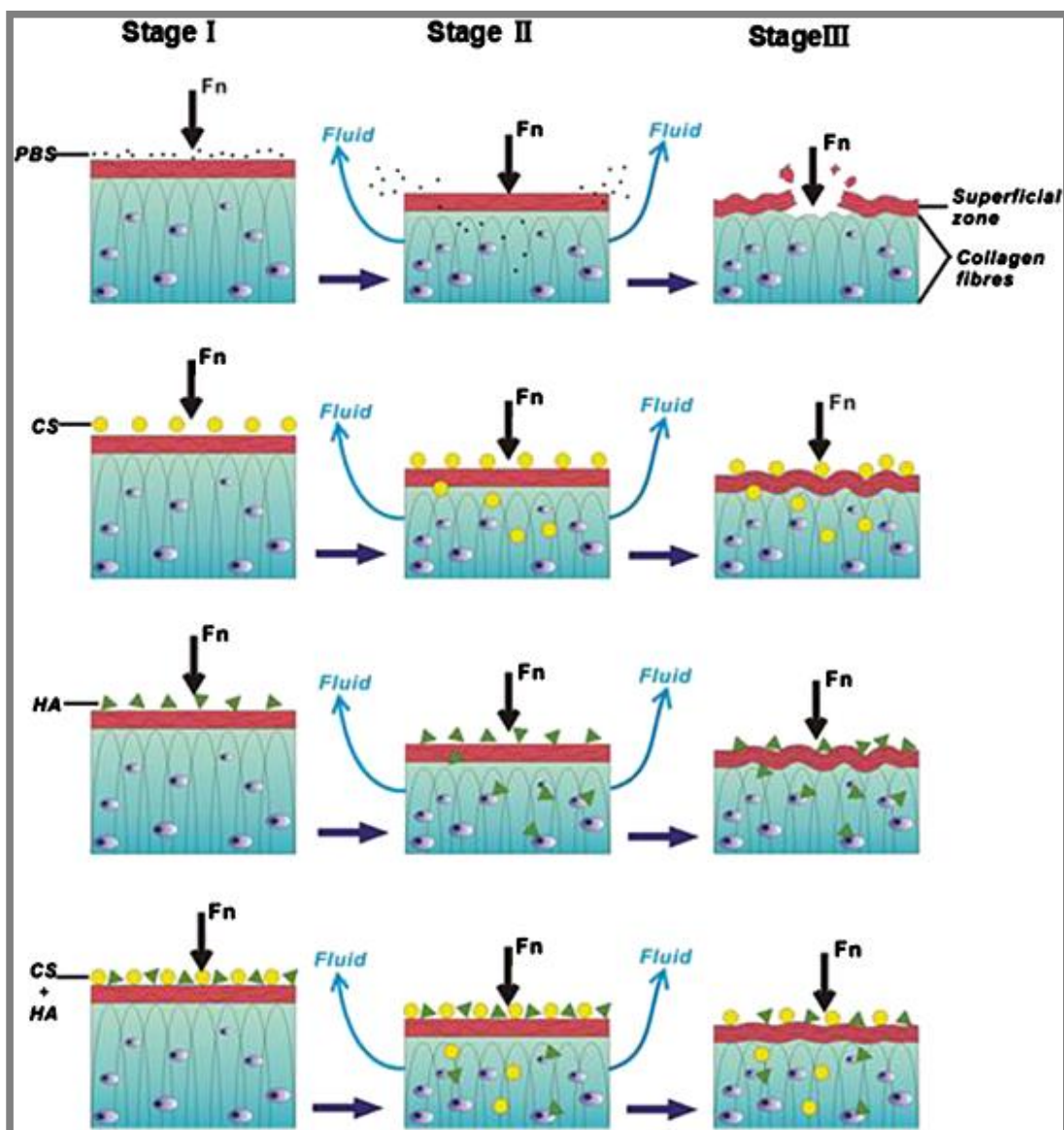
Moore a kol. [45] ve své práci zveřejnil zdokonalený model chrupavky pro simulaci mazání. Model obsahuje i kolagenová vlákna, které dřívější studie neobsahovaly. Model pak byl srovnán s experimenty a vykazuje velmi dobrou shodu, viz obr. 5-15. Černá kolečka ukazují experiment a červená křivka ukazuje numerický model.



Obr. 5-15 Závislost COF na kluzné rychlosti, srovnání numerického modelu a experimentu [45].

V práci [46] autor popisuje mechanismy boundary mazacího režimu při použití různých mazadel. Byl použit PBS roztok, dále kyselina hyaluronová (HA) a chondroitin sulfát (CS) a naposledy jejich směs (HA+CS). Mechanismy jsou graficky

znázorněny na obr. 5-16, kde jsou uvedeny 3 stavy zatěžování. 1. stav je bez zatížení, 2. stav normální zatížení a stav 3. je přetížení. Je zřejmé, že PBS nemůže plnit funkci hraničního maziva. Důvodem je, že má nízkou viskozitu, malé molekuly s nízkou molekulovou hmotností, které nedokáží na povrchu chrupavky vytvořit gelovou vrstvu, která by plnila funkci hraničního maziva, a tak poskytovala potřebnou ochranu proti opotřebení. U ostatních skupin byly použity roztoky s velkými molekulami, které ulpívají na povrchu a tvoří poměrně odolnou mezní gelovou vrstvu maziva na povrchu chrupavky, která následně chrání samotný povrch chrupavky proti opotřebení. Nejlepší výsledky vykazovala směs HA+CS, kde kontakt jevil nejmenší známky porušení.

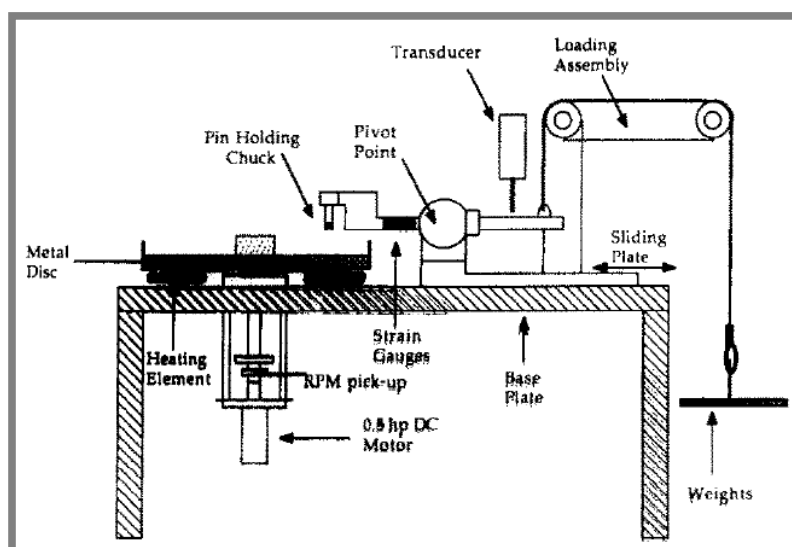


Obr. 5-16 Schematický popis tvoření mezní mazací vrstvy pomocí různých mazadel [46].

5.3 Tribologie synoviálního kloubu

Tribologické testování synoviálního kloubu není novou problematikou, o zjištění tribologického chování chrupavky se pokoušeli již v druhé polovině minulého století. První vědecké články popisující tribologické chování chrupavky se objevili v 70. letech minulého století. Nejčastěji jsou vědecké práce v tomto oboru zaměřené na zjištění součinitele smykového tření (dále už jen COF) v synoviálním kloubu a na zjišťování opotřebení chrupavky. V novějších pracích lze najít i práce zaměřené na zkoumání průběhu mazání, resp. jak se utváří mazací film v synoviálním kloubu.

Práce G. W. Stachowiaka a kol. [11] z roku 1994 se zabývá experimentem zaměřeným na zjištění tření a opotřebení v synoviálním kloubu. Pro experiment si autor zvolil tribometr v konfiguraci pin-on-disk, viz obr. 5-17. Použitý pin byl vyroben z chrupavky a disk z nerezové oceli s povlakem CLA. Drsnost povrchu disku byla 0,07 μm .



Obr. 5-17 Tribometr pin-on-disk [11]

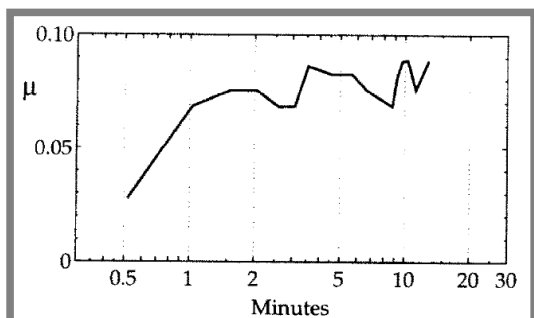
Podmínky experimentu byly zvoleny tak, aby odpovídali podmínkám v organismu. Byly zvoleny tři varianty experimentu:

- Experiment s chrupavkou bez maziva
- Experiment se synoviální kapalinou
- Experiment se solným roztokem
- Experiment se solným roztokem a velkým zatížením

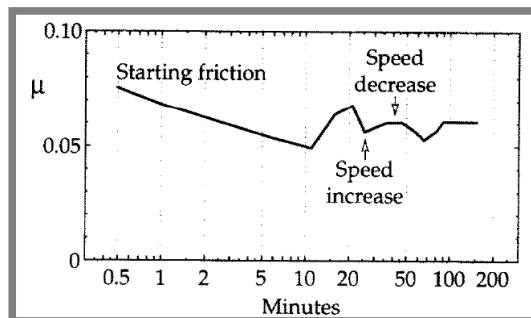
Teplota experimentu byla zvolena 38 $^{\circ}\text{C}$, Otáčky disku 20 min^{-1} při rádiu kontaktu 39 mm, což odpovídá kluzné rychlosti 40 mm/s. Zatížení se pohybovalo dle konfigurace od 2,7 N do 4,9 N. Plocha kontaktu při těchto podmínkách byla změřena na 4,9 mm^2 při kruhovém obrazci o poloměru 1,3 mm. Tlak vyvozený těmito podmínkami odpovídal cca 1 MPa. Naměřené COF se pohybovaly od 0,025 do 0,08 a s nabývajícím časem roste, viz obr. 5-18. Bylo tedy zjištěno, že chrupavka v suchém kontaktu se dokáže chovat po určitou dobu jako samomazná.

Při experimentu se solným roztokem se COF pohyboval okolo hodnoty 0,065 a při zvyšující smykové rychlosti klesá, viz obr. 5-19. Při experimentu mazaného synoviálního

kapalinou byla zjištěna nejmenší hodnota COF, která se pohybovala okolo hodnoty 0,018 a opět se s časem zvyšuje.

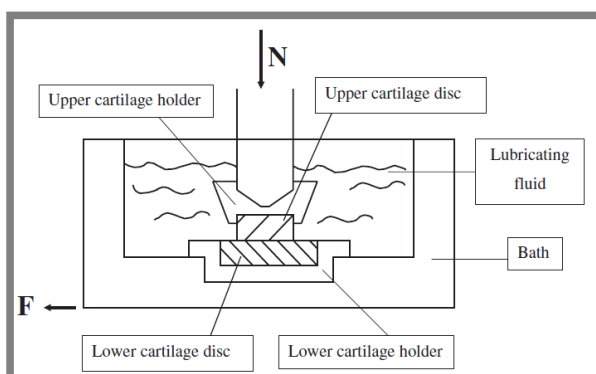


Obr. 5-19 Naměřené hodnoty COF v suchém kontaktu chrupavka-ocelový disk. Zatížení 2,7 N, teplota 38 °C, rychlost 40 mm/s [11]

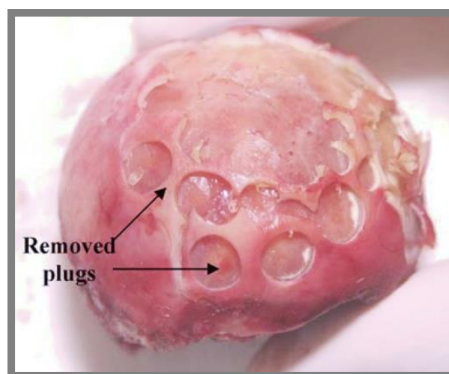


Obr. 5-18 Naměřené hodnoty COF v kontaktu chrupavka-ocelový disk, mazáno solným roztokem 0,9 mg/100ml. Zatížení 4,9 N, teplota 38 °C, rychlost 40 mm/s [11]

V roce 2006 Y. Markher a kol [12] publikoval práci zabývající se experimentem s lidskou chrupavkou v konfiguraci pin-on-disk, a to buď když byl pin i disk z lidské chrupavky, nebo lidská chrupavka pin disk z kovu, viz obr. 5-20. Pohyb tribometru byl reciproční. Vzorky chrupavky byly získávány z lidského kyčelního kloubu viz obr. 5-21. Cílem této publikace bylo získat závislost statického a dynamického tření na čase, závislost zatížení na statickém a dynamickém tření a vliv maziva na statický a dynamický COF. Zatížení experimentu bylo stanoveno v rozsahu 1 – 30 N při teplotě 24 – 37 °C. Doba trvání experimentů se pohybovala mezi 5 a 300 s. Jako mazivo byla použita intersticiální synoviální kapalina – I.F.S., „histidine buffer“ – H.B. a solný roztok.

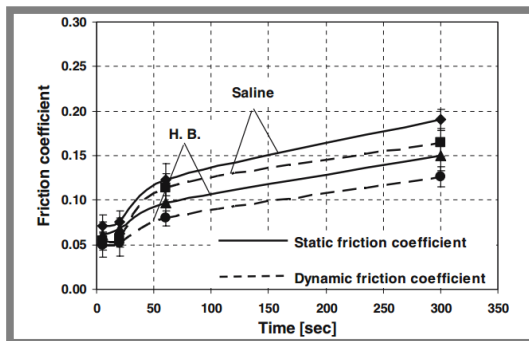


Obr. 5-20 Schematické znázornění použité konfigurace tribometru z publikace [12]

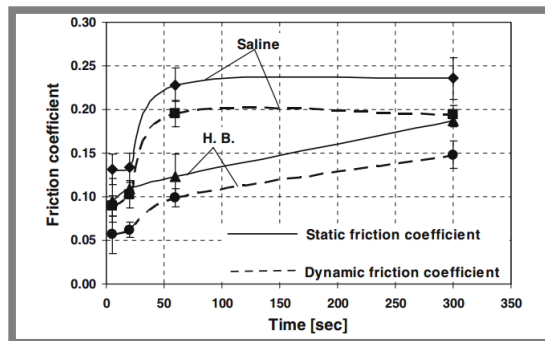


Obr. 5-21 Kyčelní kloub po odběru vzorků chrupavky pro experiment [12]

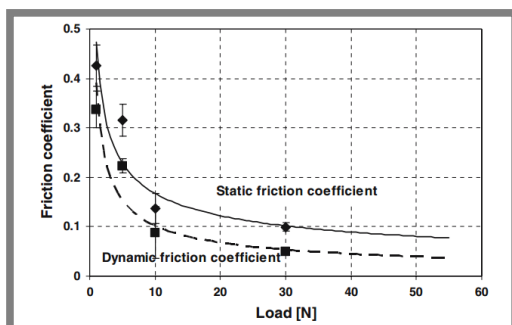
Výsledky byly podobné jak v předešlé publikaci, také ukazují na zvyšující se COF při postupující době testování. Naměřené výsledky jsou ukázány na obr. 5-22 a obr. 5-23. Dále byla zjištěna závislost zatížení na COF, viz obr. 5-24. Se zvyšujícím se zatížením se COF statický i dynamický snižuje. Na posledním obrázku, obr. 5-25, je zobrazena závislost statického a dynamického COF na druhu maziva. Výsledky připomínají závěry předešlého článku. Nejnižší COF vykazují experimenty za použití I.F.S a H.B.



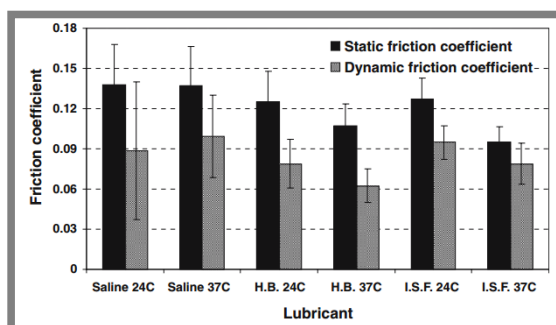
Obr. 5-23 Závislost statického a dynamického COF na čase. Zatížení 30 N a teplota 37 °C. [12]



Obr. 5-22 Závislost statického a dynamického COF na čase. Zatížení 10 N a teplota 37 °C. [12]

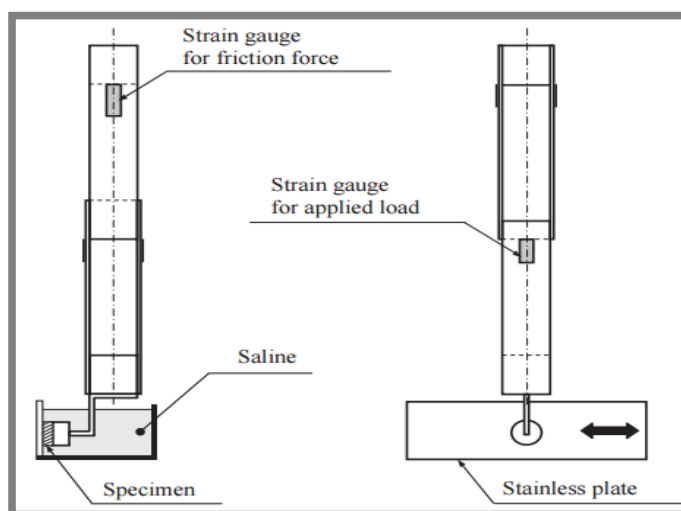


Obr. 5-24 Závislost statického a dynamického COF a zatížení. Čas experimentu 5 s a teplota 24 °C. [12]



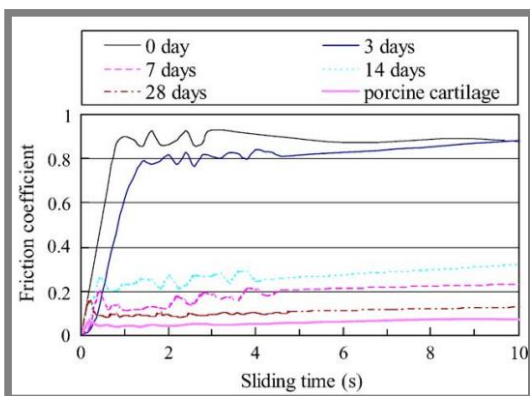
Obr. 5-25 Závislost statického a dynamického COF a druhu maziva. Teplota 24 a 37°C. [12]

Y. Morita a kol. v roce 2006 [13] zveřejnili publikaci, která experimentálně zkoumá regenerovanou chrupavku. Chrupavky byly odebrány ze 4. týdenního bílého japonského králíka z kolenního kloubu. Experimenty měly zjistit, jaký vliv má čas na COF u regenerované chrupavky. Chrupavka byla naočkovávána buňkami do hloubky cca 1 mm v koncentraci 5×10^7 buněk/ml. Dále byla chrupavka ponechána k regeneraci v roztoku $\text{CO}_2 - 95\%$. Chrupavka byla poté testována na tribometru konfigurace pin-on-plate s recipročním pohybem desky, viz obr. 5-26. Parametry experimentu byly zvoleny následovně: styková síla 0,03 N, délka zdvihu 20 mm s rychlostí 0,8 mm/s.

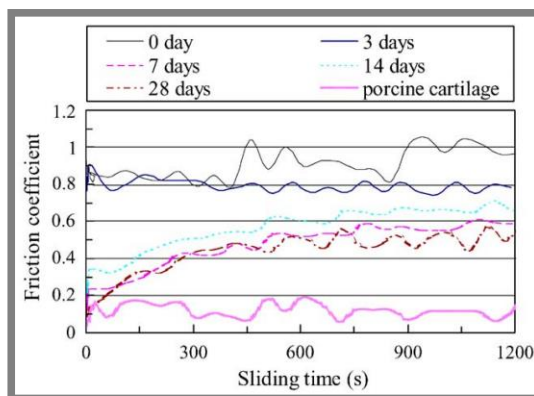


Obr. 5-26 Schematické znázornění tribometru z publikace Y. Morita a kol. [13]

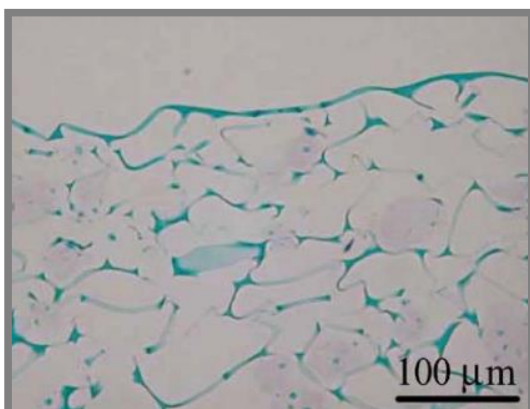
COF se s rostoucím časem regenerace zmenšoval a s rostoucím časem testování zvětšoval, viz obr. 5-27 a 5-28, stejně jako v předešlých studiích [11, 12]. Pokles tření s postupem regenerace objasňuje autor tvořící se hydrofilní vrstvou na povrchu chrupavky. Tato vrstva narůstá postupem času od počátku naočkování buňkami. Postup nárůstu hydrofilní vrstvy je zobrazen na obr. 5-29 až 5-32.



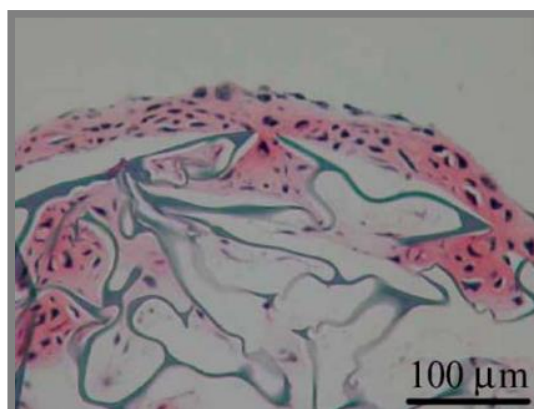
Obr. 5-28 COF po 10 s testování s 30 s stabilním zátěží předem. [13]



Obr. 5-27 COF v průběhu 20 min testování s 30s stabilním zátěží předem. [13]



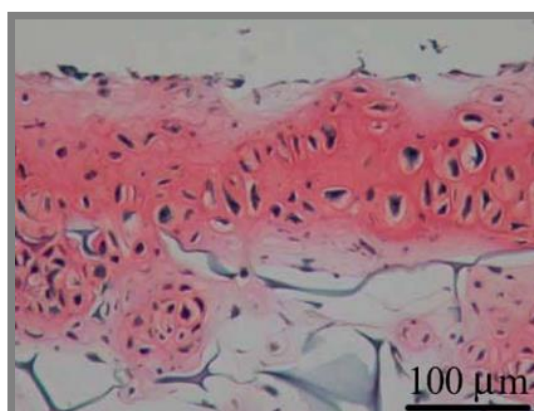
Obr. 5-30 Histologický mikrosnímek chrupavky po 3 dnech regenerace. [13]



Obr. 5-29 Histologický mikrosnímek chrupavky po 7 dnech regenerace. [13]



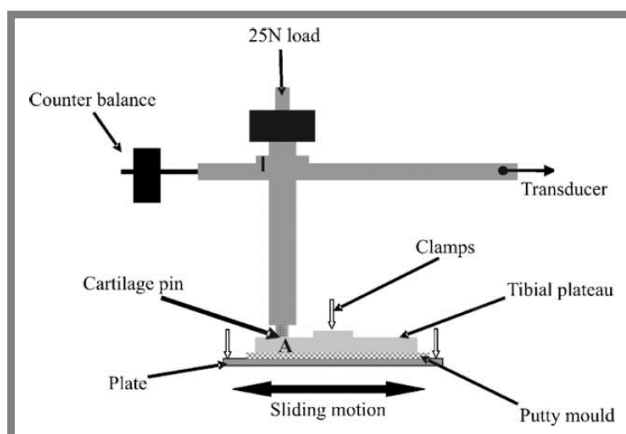
Obr. 5-32 Histologický mikrosnímek chrupavky po 14 dnech regenerace. [13]



Obr. 5-31 Histologický mikrosnímek chrupavky po 28 dnech regenerace. [13]

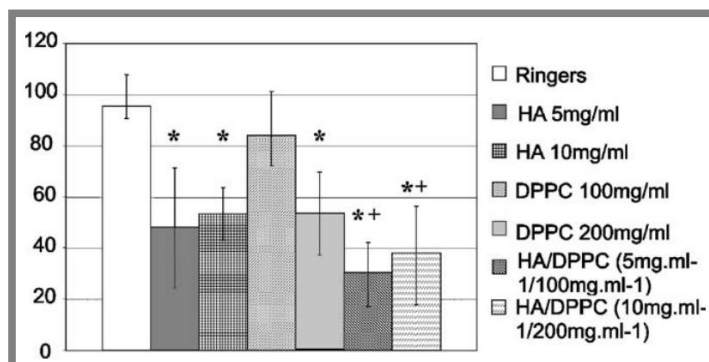
Publikace v této oblasti se zabývali nejen experimenty s chrupavkou synoviálního kloubu a hodnocením tribologických vlastností různých mazacích roztoků. Výzkum byl proveden i v oblasti testování umělých náhrad chrupavek, např. hydrogelů. Další oblast, ve které v této době autoři prováděli experimentální výzkum je hodnocení tribologických vlastností kapalin podporující proces mazání v synoviálních kloubech, tzv. viskosuplementace. Práce W. Forsey a kol. [14] a práce od T. Murakami a kol. [15], obě z roku 2006, pojednávají o výše zmíněné problematice.

První z uvedených prací [14] se zabývá hodnocením mazacích schopností viskosuplementací s vysokou molekulovou hmotností. Jedná se zejména o kyselinu hyaluronovou (HA), dipalmitoylfosfatidylcholin (DPCC), anebo směs těchto dvou látek. Experimenty byly provedeny se vzorky lidské chrupavky v konfiguraci pin-on-plate s recipročním pohybem. Schéma konfigurace tribometru je na obr. 5-33. Pin tvořil vzorek chrupavky o $\varnothing 5$ mm. Zatížení bylo zvoleno na 25 N, což vyvozuje kontaktní tlak cca 1,3 MPa a kluzná rychlost byla zvolena 4 mm/s.



Obr. 5-33 Schéma tribometru pin-on-plate z publikace W. Forsey a kol. [14]

Bylo zjištěno, že oba tyto roztoky snižují tření a podporují mazací vlastnosti, které jsou dále závislé na koncentraci těchto roztoků. Silnější závislost mezi snížením tření a koncentrací roztoku byla objevena u DPCC. HA dle výsledků slibuje obnovení viskoelasticity synoviální kapaliny a chrání povrch chrupavky proti opotřebení. Při kombinaci DPCC s HA jsou dle naměřených dat slibovány ještě lepší výsledky než za použité samotné HA. Výsledky jsou ukázány na obr. 5-34, kde je procentuální porovnání snížení tření v závislosti na druhu mazacího roztoku.



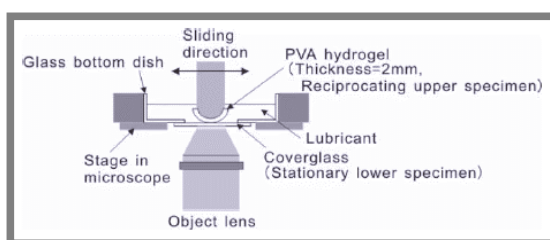
Obr. 5-34 Procentuální srovnání snížení tření v závislosti na druhu mazacího roztoku. [14]

Druhá z výše uvedených publikací [15] pojednává o experimentech zaměřených na zjištění COF u polyvinylalkoholových hydrogelů (PVA hydrogelů) v závislosti na složení mazacího média. Byl zkoumán zejména absorbovaný film v povrchu umělé chrupavky, který zlepšuje tribologické vlastnosti. Byly použity různé konfigurace mazacích roztoků, které se mezi sebou lišili koncentrací proteinů Albuminu a γ -Globulinu. Bylo připraveno 5 konfigurací roztoků, viz tab. 5-35.

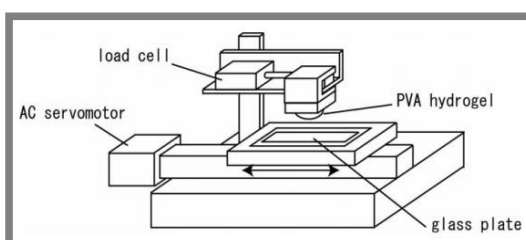
Tab. 5-35 Konfigurace roztoků pro experimenty z publikace [15]

Mazivo	Albumin wt%	γ -Globulin wt%
A	0,7	0
B	0	0,7
C	0,7	1,4
D	1,4	0,7
E	1,4	1,4

Experimenty byly provedeny na tribometru v konfiguraci pin-on-plate s recipročním pohybem. Pin byl tvořen vzorkem z PVA hydrogelu proti skleněné desce. Přes transparentní skleněnou desku byl kontakt pozorován pomocí fluorescenční mikroskopie. Vzorek, pin, měl rádius 7 mm a tloušťku 2 mm. Schematické sestavení tribometru – viz obr. 5-36 a 5-37. Zatížení kontaktu bylo zvoleno 0,736 N, což v kontaktu vyvozuje tlak 0,1 MPa. Byla použita malá kluzná rychlost 0,2 mm/s při zdvihu zařízení 4 mm.

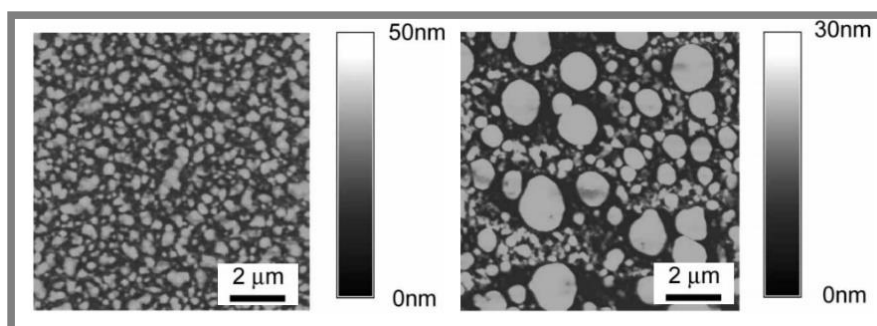


Obr. 5-37 Konfigurace tribometru z publikace T. Murakami a kol. – umístění vzorku [15]

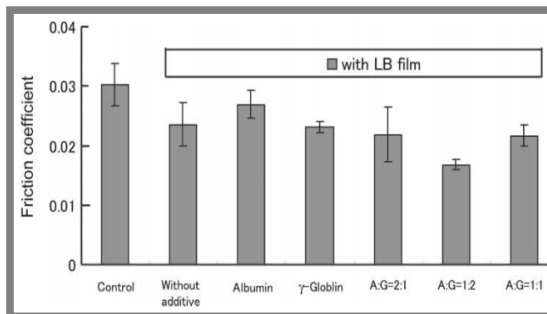


Obr. 5-36 Konfigurace tribometru pro třecí test z publikace T. Murakami a kol. [15]

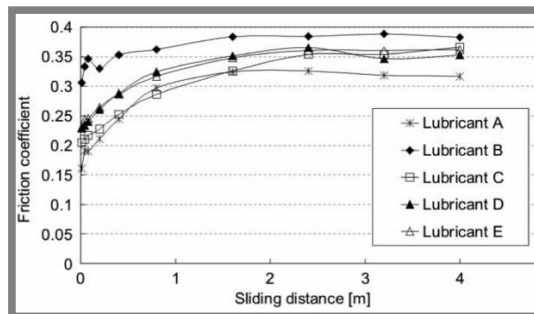
Bylo zjištěno, že vhodná kombinace koncentrací jednotlivých proteinů vede k stabilitě tvorby absorbovaného mezního mazacího filmu tvořeného proteiny a ke snížení COF, viz obr. 5-39. Dále bylo zjištěno, že COF s časem, resp. s rostoucí ujetou dráhou vzorku po skle roste, viz obr. 5-40. Na obr. 5-38 jsou snímky absorbovaného proteinového filmu na skleněné desce z mikroskopu atomárních sil (dále už jen AFM).



Obr. 5-38 Snímky z AFM mikroskopu absorbovaného filmu [15]

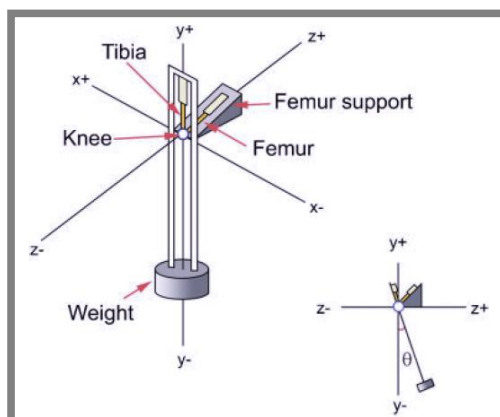


Obr. 5-39 COF v závislosti na složení roztoku. [15]



Obr. 5-40 COF v závislosti na ujeté dráhy vzorkem, resp. na čase. [15]

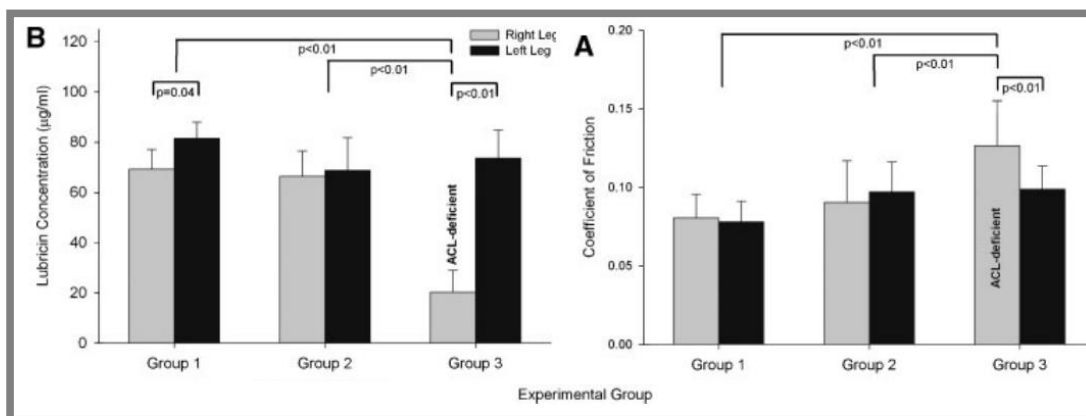
Některé studie v oblasti biotribologie se zabývají vyšetřováním synoviálních kloubů s onemocněním osteoartritidou (OA). Tato nemoc poškozují chrupavky kloubů a tím zhoršuje mazací schopnosti a zvyšuje COF mezi chrupavkami. Touto problematikou se experimentálně zabýval E. Teeple a kol. [16] v publikaci vyšlé roku 2007. Byly porovnávány tribologické vlastnosti kloubů s OA v různém stádiu. Byl zkoumán vliv rozsahu nemoci na COF. Vzorky byly preparovány z morčat ze zadního kolene. Experimentu byly podrobeny obě končetiny, pravá i levá. Vzorky reprezentující kloub bez OA, skupina 1, byly preparovány z morčat s věkem 3 měsíce, dále byly pořízeny vzorky z kloubů morčat s mírnou OA, skupina 2, morčata se stářím 12 měsíců. Jako vzorky kloubů s rozsáhlou OA, skupina 3, byly použity klouby z morčat věku 12 měsíců, u kterých ve 3 měsících jejich věku byly odstraněny kolenní vazy ACL. Jako experimentální zařízení bylo použito kyvadlo, viz obr. 5-41 a jako mazivo byla použita synoviální kapalina. Vždy před a po testu byla synoviální kapalina z daného kloubu vyhodnocena na celkový obsah lubričinu. Stav chrupavky byl hodnocen pomocí histologických metod.



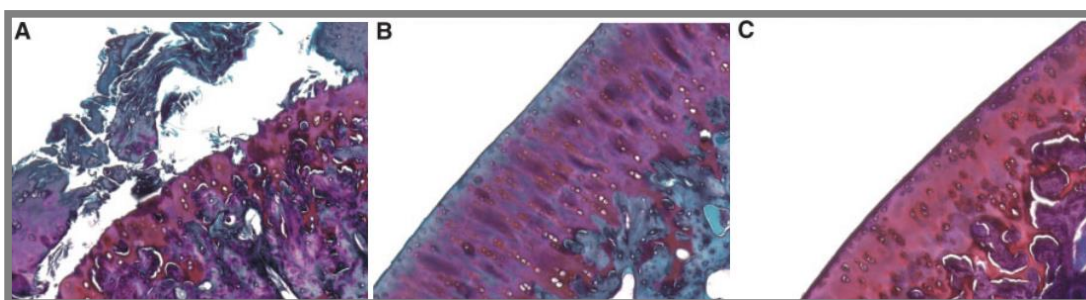
Obr. 5-41 Experimentální zařízení z publikace [16] – kyvadlo.

U kloubů, které byly postiženy rozsáhlou OA, bylo zjištěno, že vykazují podstatně vyšší COF než klouby, které měly OA jen mírnou či žádnou. Mezi klouby s mírnou a žádnou OA nebyly zjištěny žádné zásadní rozdíly jak v COF, tak i v celkovém obsahu lubričinu. COF u kloubů s pokročilou OA se pohybuje okolo hodnoty 0,01 a u plně zdravého kloubu a u kloubu s mírným poškozením od OA byla zjištěna hodnota COF okolo 0,001. Výsledky naměřených COF v závislosti na rozsahu OA jsou shrnuty na

obr. 5-42. Na obr. 5-43 jsou snímky chrupavek kloubů s různým stádiem OA. Obr. 5-43 A je kolenní kloub bez ACL vazů, resp. rozsáhlá OA, dále na obr. 5-43 B je tkáň chrupavky s mírným poškozením od OA a obr. 5-43 C je chrupavka zdravá.



Obr. 5-42 Vlevo – celkový obsah lubricinu v kloubu u různě poškozených kloubů OA, Vpravo – závislost COF na rozsahu poškození kloubu od OA. [16]

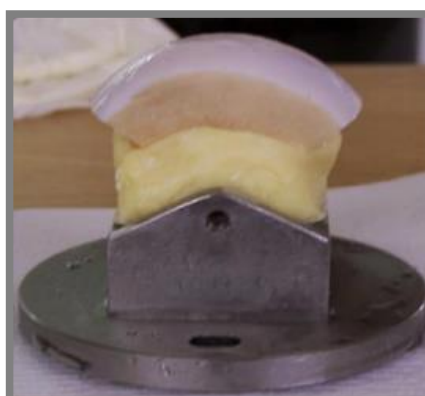


Obr. 5-43 A – velký rozsah OA, B – mírný rozsah OA, C – zdravá chrupavka bez OA. [16]

V práci L. McCanna a kol. [17] vyšlé roku 2008 se autoři zabývali konstrukcí tribometru pro simulaci kontaktu kolene a tribologickým měřením tohoto kontaktu v různých konfiguracích. Byly testovány konfigurace chrupavka proti chrupavce (AC-AC) a chrupavka proti nerezové oceli (AC-SS). Vzorky chrupavek byly odebrány ze skotu ve věku 18 a 24 měsíců, kdy byly odebrány 24 a 48 hodin po porážce jedince. Přípravené vzorky chrupavky jsou na obr. 5-44 a 5-45.

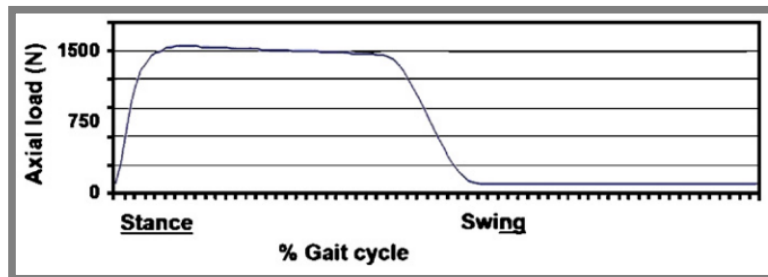


Obr. 5-45 Přípravený vzorek chrupavky pro experiment – spodní část [17]

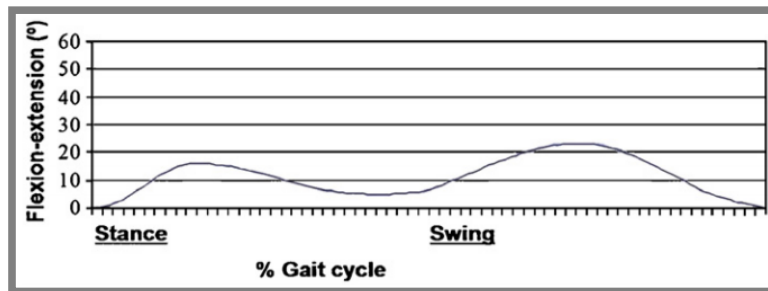


Obr. 5-44 Přípravený vzorek chrupavky pro experiment – horní část. [17]

Parametry experimentu byly navoleny následovně: zatížení bylo zvoleno na základě odborné literatury, kde se použilo 2588 N, při předpokladu zatížení obou kondyl kolene. Proto bylo maximální zatížení pro experiment zvoleno 1,5 kN. Cyklus zatížení byl vždy průběžně rozdělen na část s malým zatížením a část s velkým zatížením, viz obr. 5-46. Tento cyklus odpovídá režimu chůze, kdy se kondyl kloubu kolene nacházejí v zatíženém a nezatíženém stavu. Profil zatěžovací síly a profil natočení simulátoru je zobrazen na obr. 5-46 a 5-47. Pro dvojici AC – AC bylo zvoleno maximální zatížení 259 a 1036 N, což vyvolává kontaktní tlak 2,8 a 4,9 MPa. V kontaktní dvojici AC – SS při stejném zatížení vzniká tlak 8,9 a 31,3 MPa. Maximální úhel natočení simulátoru byl zvolen 25 °, viz obr. 5-47.

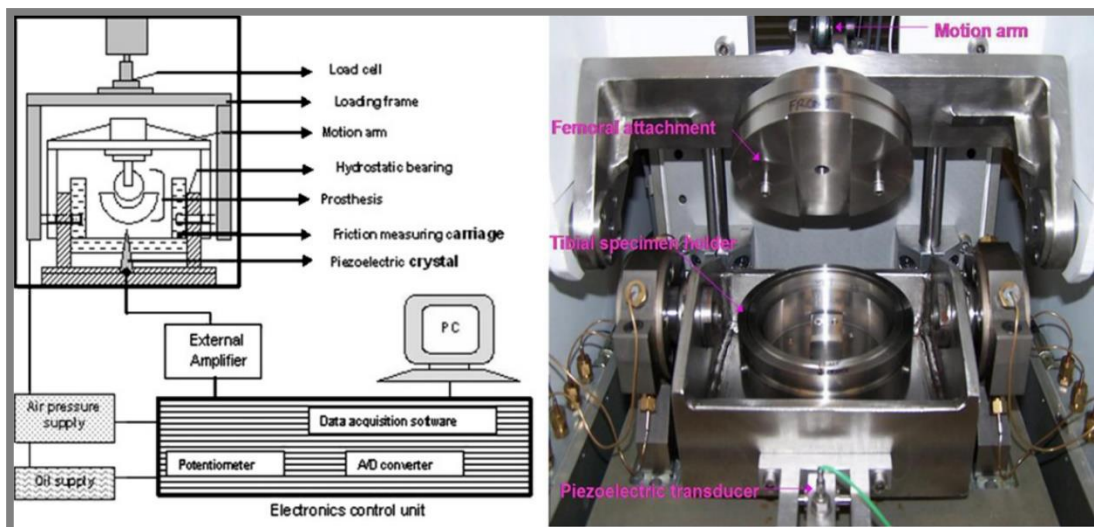


Obr. 5-46 Průběh zatěžovací síly při experimentu. [17]



Obr. 5-47 Průběh natočení simulátoru v průběhu experimentu. [17]

Experimentální zařízení bylo postaveno z nerezové oceli. Pohyb simulátoru byl kyvný. Popis částí a funkce je zobrazen na obr. 5-48 na jeho schematickém znázornění. Na obr. 5-48 je také fotografie samotného simulátoru.

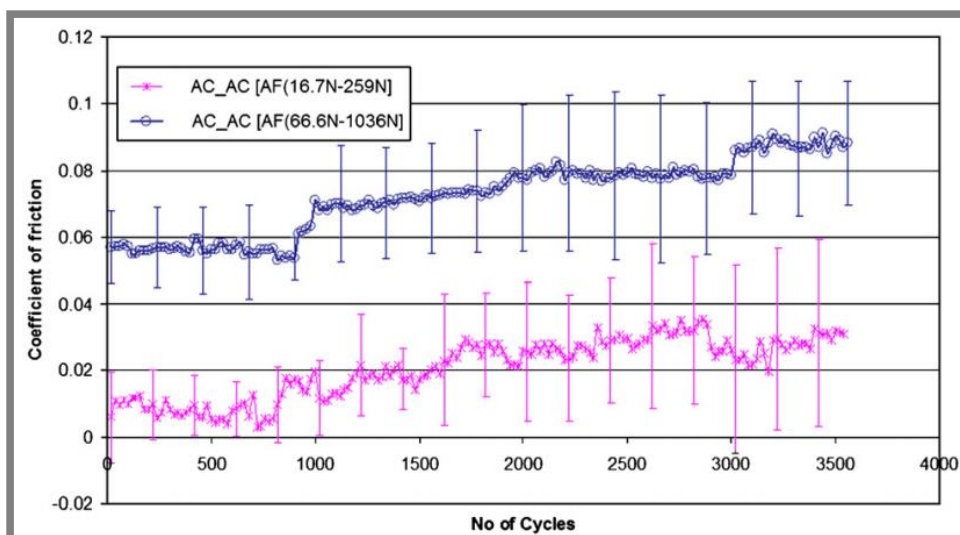


Obr. 5-48 Vlevo – schematické znázornění simulátoru, vpravo – fotografie simulátoru. [17]

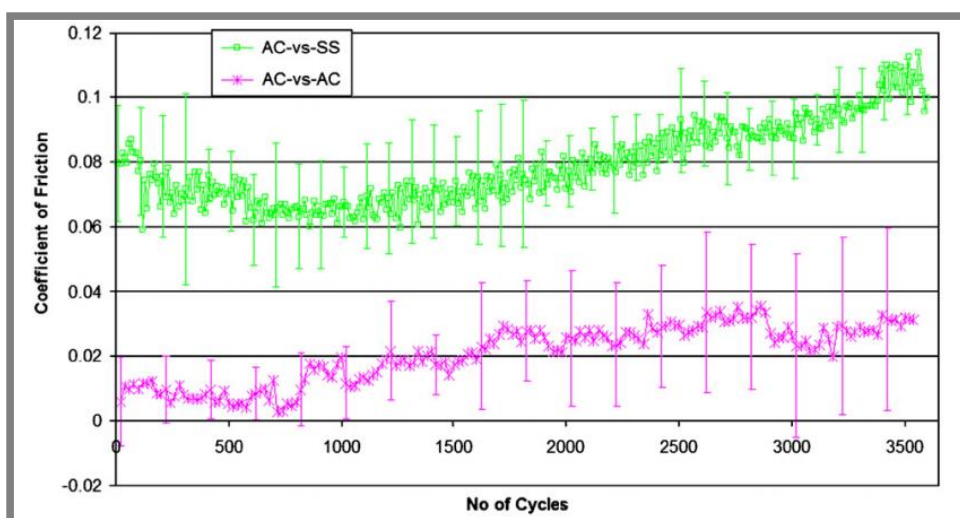
Při experimentech v konfiguraci AC – AC bylo zjištěno, že obě testované chrupavky nevykazují žádné známky opotřebení. Naměřený COF byl při nižších zatíženích 0,01 – 0,03 a pro vyšší zatížení 0,06 – 0,09. Tyto naměřené COF neodpovídají závěrům uvedeným v pracích [11–13]. Obě varianty jsou zaneseny v grafu na obr. 5-49. Při konfiguraci AC – SS bylo zjištěno, že opotřebení chrupavky je vážné, resp. až do morku kosti, cca po 300 cyklech testování, viz obr. 5-50. Oblast chrupavky vykazující opotřebení byla cca 1 cm² velká. COF u této kontaktní dvojice byl naměřen 0,06 – 0,11. Na obr. 5-51 je porovnání COF pro dvojice AC – AC a AC – SS.



Obr. 5-49 Opotřebená chrupavka z konfigurace AC - SS. [17]



Obr. 5-50 Průběh COF, kontaktní dvojice AC – AC pro malé i velké zatížení. [17]

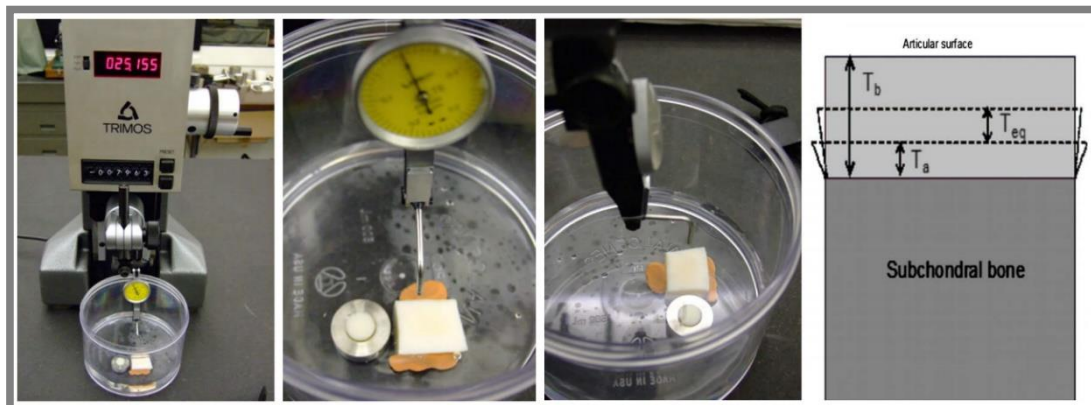


Obr. 5-51 Průběh COF, kontaktní dvojice AC – AC a AC – SS pro maximální zatížení 259N. [17]

Další uvedená práce se zabývá testováním chrupavky při nízkých zatíženích. Autor J. Katta a kol. [18] v roce 2009 vydal práci, která se zaměřuje na odůvodnění zvyšování COF s narůstajícím časem testování. Zaměřuje se na vliv hladiny glykosaminoglykanů (GAG) v chrupavce a jejich vlivem na COF, dále na vliv velikosti zatížení na COF a velikost zdvihu na COF.

Experimenty byly prováděny na tribometru pin-on-plate s chrupavkou na pozici plate. Zatížení bylo zvoleno tak, aby vyvozovalo kontaktní tlak 0,5, 2 a 3,15 MPa. Kluzná rychlost byla stanovena na 4 mm/s při zdvihu 4 mm. Experimenty byly provedeny při zaplaveném kontaktu v „phosphate buffered saline“, (dále už jen PBS). Vzorky chrupavky byly získávány ze skotu o věku 18 měsíců, z jeho kolenního kloubu. Byly odebrány do 24 hodin po porážce jedince. Rozměry vzorků byl 20×25×10 mm plate a pin o Ø 9 mm. Byly připraveny dva druhy vzorků, vzorky chrupavky nijak neupravené a vzorky uměle upravené tak, aby měly nízký obsah GAG. Nízkého obsahu GAG ve vzorku chrupavky bylo docíleno naočkováním vzorků enzymy, které pohltí cca 50% obsahu GAG ve vzorku chrupavky. Očkování proběhlo po dobu 24 h. Tyto upravené vzorky jsou v práci označeny jako „CaseABC“.

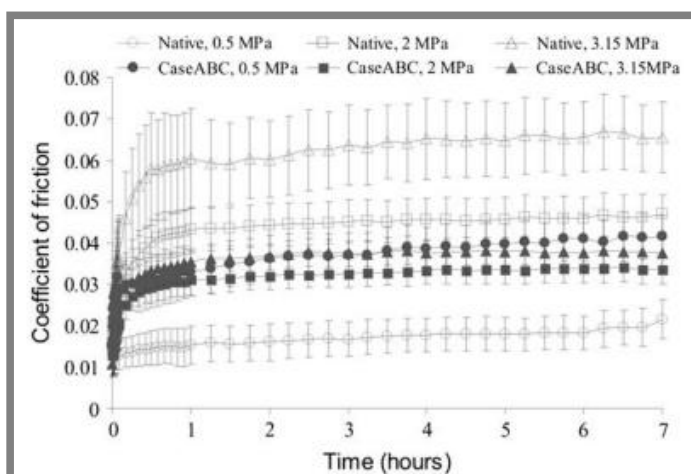
Odebrané vzorky byly skladovány v PBS za teploty -20°C . Některé studie potvrzují, že při zmrazení vzorků chrupavek v PBS nedochází k žádným významným změnám jejich vlastností [18–21]. Vždy před testem a po testu byla měřena drsnost povrchu chrupavky a deformace. Deformace byla měřena pomocí Nikonu V - 16D profiloprojektoru s přesností 1 μm , viz obr. 5-52, a měření drsnosti bylo provedeno pomocí Talysurf Series 6 stylus profilometru s přesností na 20 nm. Po testu bylo vyhodnocováno mazivo, a to na obsah GAG. Bylo odlito 15 ml použitého maziva a odstředěno 40 000 RCF po dobu 30 min a při teplotě 4°C . Poté byl vzorek zmražen na -70°C . Dále byl vzorek vystaven tlaku 1 milibar po dobu 48 hodin při teplotě -40°C a následně byl rozmražen pomocí 1 ml destilované vody. Nakonec byly do vzorku zaneseny indikační látky, které ukazují obsah GAG.



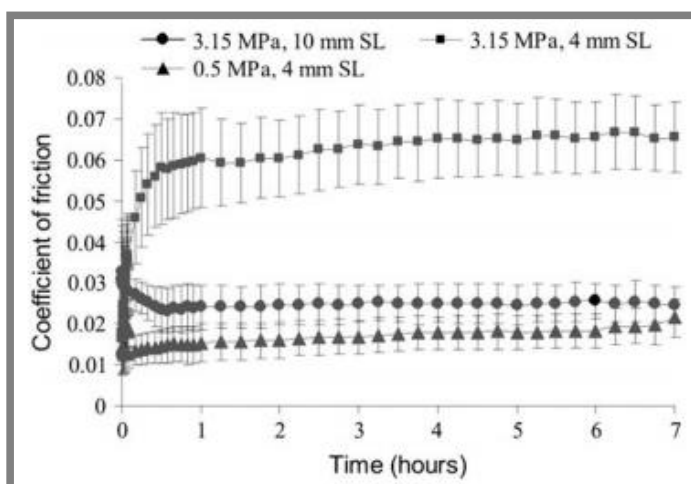
Obr. 5-52 Měření deformace chrupavky před a po experimentu. [18]

Výsledky ukazují, že chrupavka zdravá, resp. přirozená bez deficitu GAG, při nízkém zatížení 0,5 MPa vykazuje nižší tření než chrupavka s deficitem GAG, resp. vzorky označené „CaseABC“. Vzorky s deficitem GAG vykazují všechny přibližně stejný COF i přes rozdílné zatížení, přičemž vzorky bez deficitu GAG vykazují při rostoucí zátěži zvýšení COF (vyšší než vzorky s deficitem GAG). Tyto výsledky ukazuje obr. 5-53. Dále byl vyšetřen vliv délky zdvihu na COF. Byl proveden experiment se zatížením 0,5 a 3,15 MPa a zdvihem 4 a 10 mm. Vzorky byly použity z přirozené

chrupavky bez GAG deficitu. Výsledky jsou překvapivé a ukazují, že při zatížení 0,5 MPa, zdvihu 4 mm a zatížení 3,15 MPa a zdvihu 10 mm jsou značně podobné, ale při zmenšení zdvihu z 10 mm na 4 mm u zatížení 3,15 MPa COF násobně naroste. Výsledky z tohoto experimentu jsou uvedeny na obr. 5-54. Autor tento jev vysvětluje tím, že při stejném zatížení a rychlosti při zmenšení zdvihu z 10 mm na 4 mm dojde ke zkrácení časového intervalu a chrupavka nemá dostatek času k rehydrataci, tím pádem dojde ke zvýšení COF.



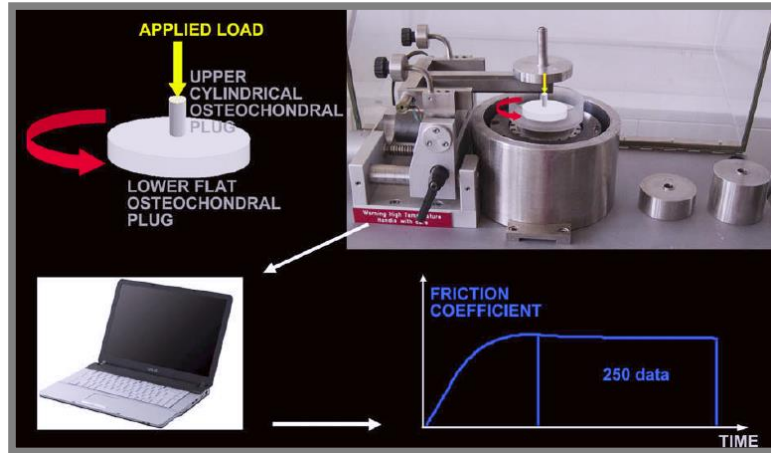
Obr. 5-53 Závislost COF na čase experimentu pro vzorky přirozené a s deficitem GAG. [18]



Obr. 5-54 Závislost COF na čase experimentu ve a na délce zdvihu. [18]

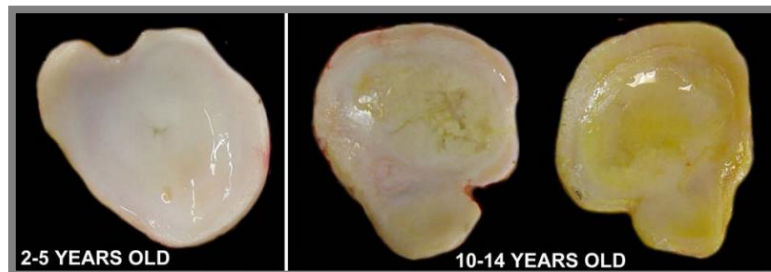
Experimenty s chrupavkou se provádí se vzorky mnoha zvířat. P. Noble a kol. [22] se zaměřil ve své publikaci vyšlé roku 2010 na zkoumání koňských chrupavek v závislosti na věku koně. Stejně jako u chrupavek jiných jedinců, i koňské klouby s věkem ztrácejí svoje vlastnosti. Experiment byl proveden na tribometru v konfiguraci pin-on-disk, viz obr. 5-55. Kluzná rychlost byla nastavena na 5 mm/s se zatížením 2 N, 5 N a 10 N. Tyto zatížení vyvozují kontaktní tlak 0,1 MPa, 0,25 MPa a 0,5 MPa. Celý experiment byl prováděn při zaplaveném kontaktu v synoviální kapalině při teplotě 20°C. Doba trvání experimentu byla 180 s. Vzorky pin i disk byly vyrobeny z koňské chrupavky a byly odebrány z kyčelních kloubů předních nohou koní o věku 2 – 5 a 10 – 14 let. Pin o \varnothing 5 mm a délce cca 15 mm a disk o \varnothing 20 mm. Při

odebírání vzorků, resp. při vrtání, z čerstvě poraženého koně byla chrupavka stabilně zalévána fyziologickým roztokem a taktéž odebrané vzorky byly okamžitě po odebrání hydratovány fyziologickým roztokem, aby nedocházelo k dehydrataci a degradaci chrupavky. Experimenty byly prováděny téměř ihned po odebrání vzorků, a to do 1 h.

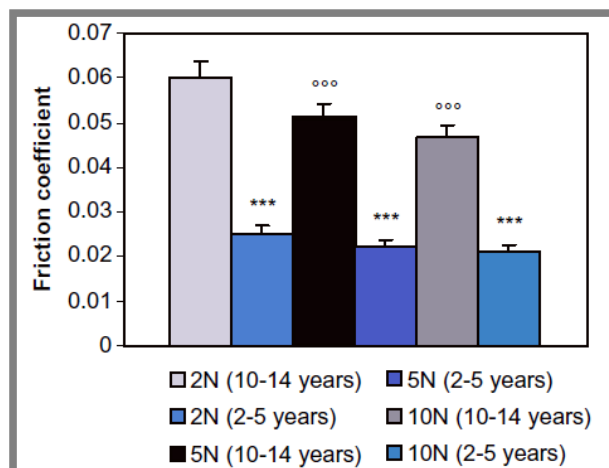


Obr. 5-55 Závislost COF na čase experimentu ve a na délce zdvihu. [22]

Výsledky odpovídaly předpokladům, které vychází z předešlých prací např. [16]. U starších koňských chrupavek byl naměřen vyšší COF a při vzrůstu zatížení klesá COF, což potvrzuje výsledky z předešlých studií, které uváděly, stejné trendy průběhu COF [11-13]. Závislost COF na zátěži a věku koňské chrupavky z této práce je zobrazena na obr. 5-57. Vzorky koňských chrupavek různého stáří jsou ukázány na obr. 5-56 [22]. Výsledky korelují s výsledky publikace Y. Markhera a kol. z roku 2006 [12].



Obr. 5-56 Vzorky koňských chrupavek v ranném a pozdějším věku. [22]

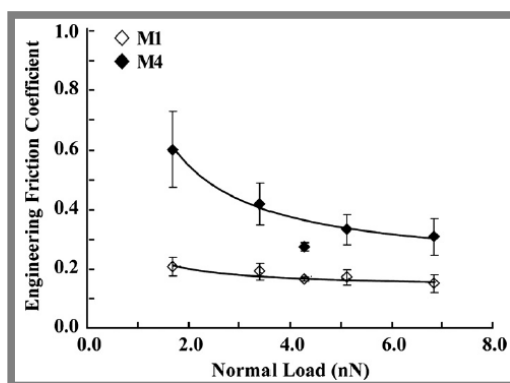


Obr. 5-57 Závislost COF věku koně a zátěži. [22]

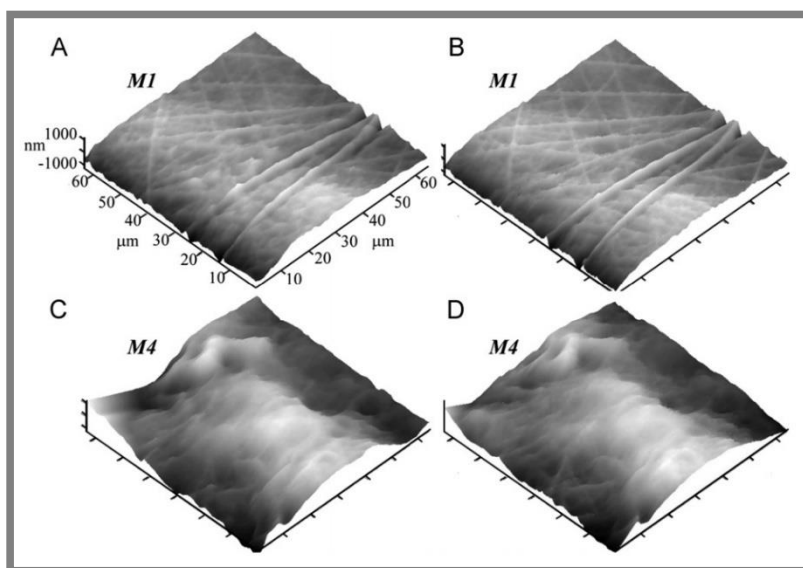
V roce 2011 byly publikovány 2 studie s podobnou tématikou od stejného autora S. M. T. Chana [23] a [24]. První publikace se zabývá studiem adhezivních vlastností chrupavky v zatíženém i nezatíženém stavu, a to pomocí AFM [23] a druhá ze zmíněných publikací je zaměřena na objasnění vlivu změny kontaktního tlaku na COF a adhezi ve zvířecí chrupavce [24].

První práce se tedy zabývá studiem adhezivních a třecích sil u zvířecí chrupavky pomocí AFM typu MFP-3D-CF. Zatěžovací síla byla měněna od 1,7 do 6,8 nN a zdvih pohybu od 2 do 5 nm. Kontaktní tlak vyvozený těmito silami se pohyboval od 1,9 do 3 MPa. Vzorky pro experiment byly odebírány ze skotu o věku 1 – 3 týdny z kolenního kloubu. Vzorky byly odebírány z vnitřní strany chrupavky z části reprezentující zatěžovanou část M1 a nezatěžovanou část M4. Dále byly chrupavky skladovány po dobu 12 h a teplotě 37°C v 5 % roztoku CO₂. Před testem byly vzorky ořezány na požadovanou velikost.

Byla prozkoumána závislost COF na velikosti zatížení, která opět potvrdila klesající COF při zvyšujícím zatížení, což uvádí i výše zmíněné publikace [11 - 13 a 22]. Závislost COF na velikosti zatížení je uvedena na obr. 5-58. Na obr. 5-59 jsou ukázány snímky z AFM profilu drsnosti vzorků z M1 a M4 po experimentu pro malé a velké zatížení.

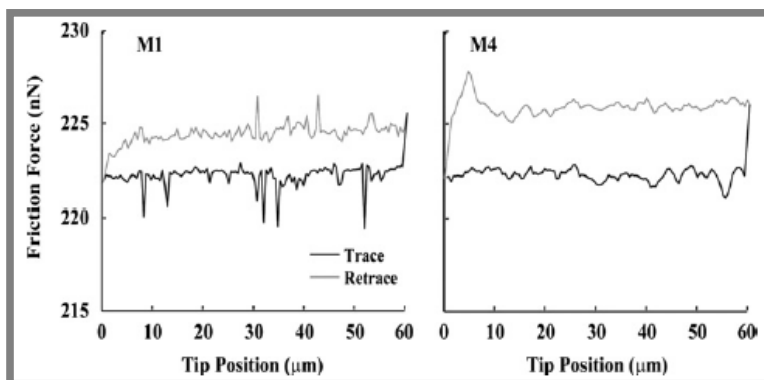


Obr. 5-58 Závislost COF zatížení pro vzorky chrupavek z části M1 a M4. [23]

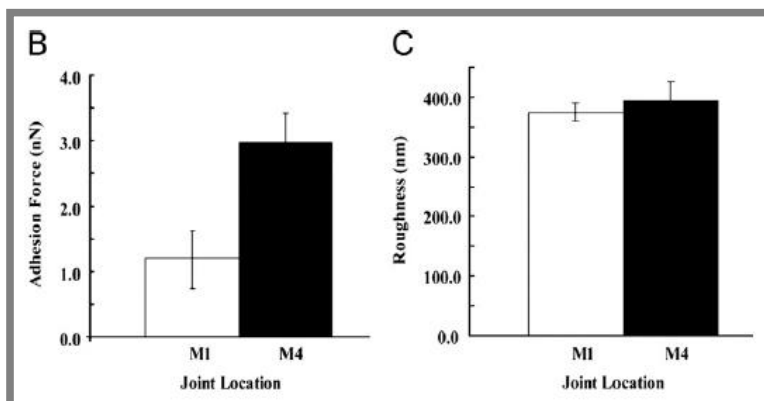


Obr. 5-59 AFM snímky po experimentu na tření pro vzorky z části chrupavky M1 a M4. A, C – zatížení 1,7 nN, B, D – zatížení 6,8 nN. [23]

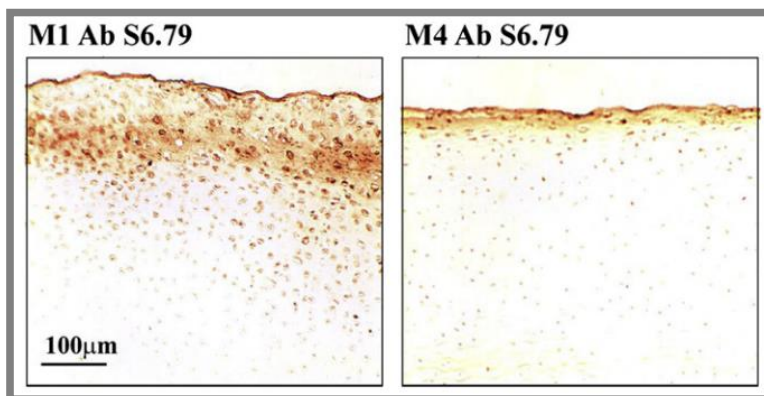
Dále byla zaznamenávána třecí síla po povrchu vzorku. Měření bylo provedeno pro vzorky z obou částí chrupavky M1 i M4. Třecí síla byla vždy měřena při pohybu na jednu stranu a pak zpět. Závislost třecí síly na pozici na vzorku je uvedena na obr. 5-60. Nakonec byla zkoumána závislost mezi typem vzorku a adhezními silami a drsností. Z výsledků vyplývá, že vzorky M1, resp. vzorky ze zatěžované části kondyly kolenního kloubu, vykazují podstatně nižší adhezní síly než vzorky z části M4. Tento jev je graficky znázorněn na obr. 5-61 B. Jev autor zdůvodňuje vyšší úrovní „boundary lubrication“, tedy chrupavka má v sobě více vtlačeného maziva a na povrchu proteinovou vrstvu, viz obr. 5-62. Byla vyhodnocena i drsnost povrchů obou druhů vzorků, která se příliš nelišila, viz obr. 5-61 C.



Obr. 5-60 Závislost třecí síly na pozici na vzorku pro vzorky z části chrupavky M1 a M4 při pohybu vpřed a zpět. [23]

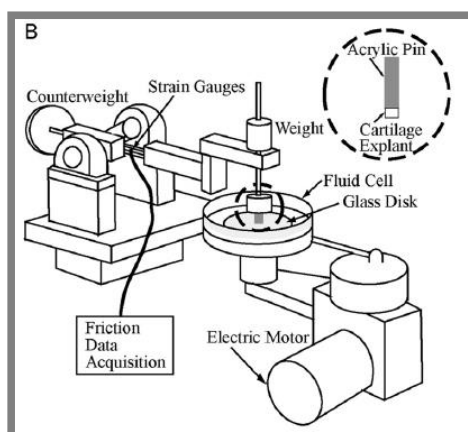


Obr. 5-61 Závislost adhezní síly a drsnosti na vzorku. [23]



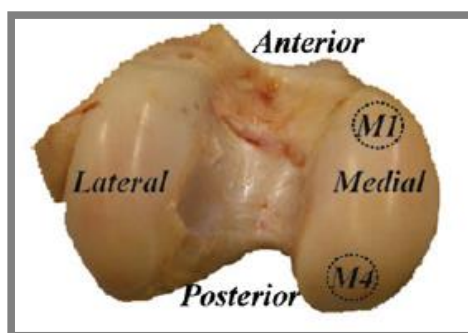
Obr. 5-62 Snímky chrupavky s povrchovou zónou proteinů. [23]

Druhá práce od S. M. T. Chana [24] pojednává o experimentech na tribometru konfigurace pin-on-disk a zkoumá stejně jak v jeho předešlém článku vliv kontaktního tlaku na adhezní síly a tření. V první práci se zaměřil na experimenty v nanorozměrech, v této práci jsou experimenty již v klasických velikostech používaných v této oblasti výzkumu. Experimenty probíhaly na vzorcích zvířecí chrupavky stejně jako v předešlé práci. Experimentální zařízení je schematicky vyobrazeno na obr. 5-63. Parametry experimentů byly zvoleny následovně: zatížení se pohybovalo v rozsahu 0,9 – 24,3 N postupně po krocích, což způsobí kontaktní tlak 0,32 až 0,96 MPa, kluzná rychlost byla stanovena na 0,5 mm/s se recipročním pohybem disku o zdvihu 7,85 mm a doba experimentu byla vždy 60 s. Experiment byl proveden při zaplaveném kontaktu roztokem PBS.



Obr. 5-63 Schéma tribometru z práce [24]

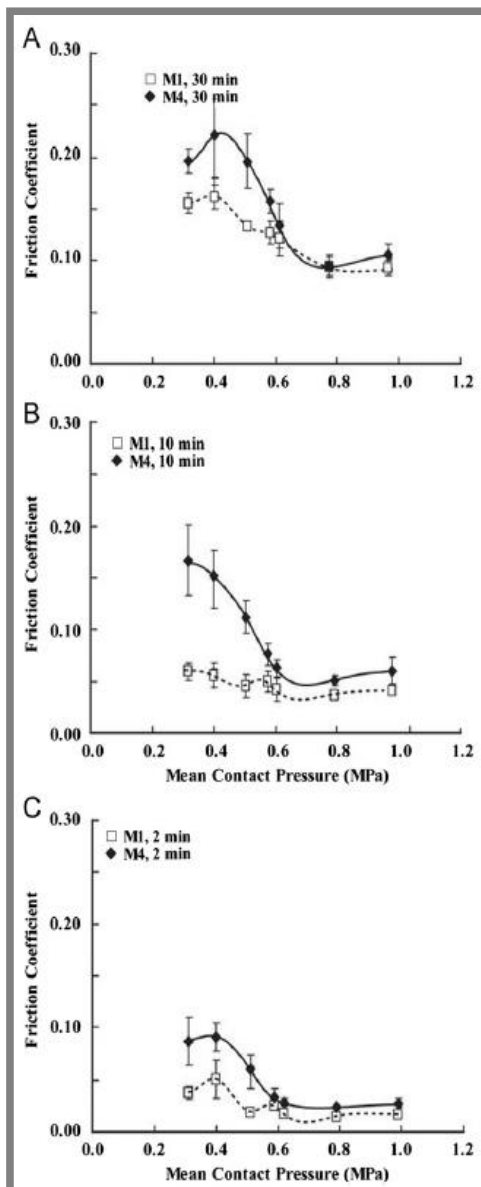
Vzorky byly získávány opět ze skotu, z lýtkové kosti. Stáří skotu pro odběr vzorků bylo 1 – 3 týdny. Stejně jako v předešlé práci byly také zvoleny dva druhy vzorků, a to z části kondyly kolenního kloubu M1 a M4, reprezentující zatěžovanou a nezatěžovanou část vnitřní kondyly kolene, viz obr. 5-64. Postup získávání vzorků a úpravy před experimentem taktéž stejný jako u předchozí publikace.



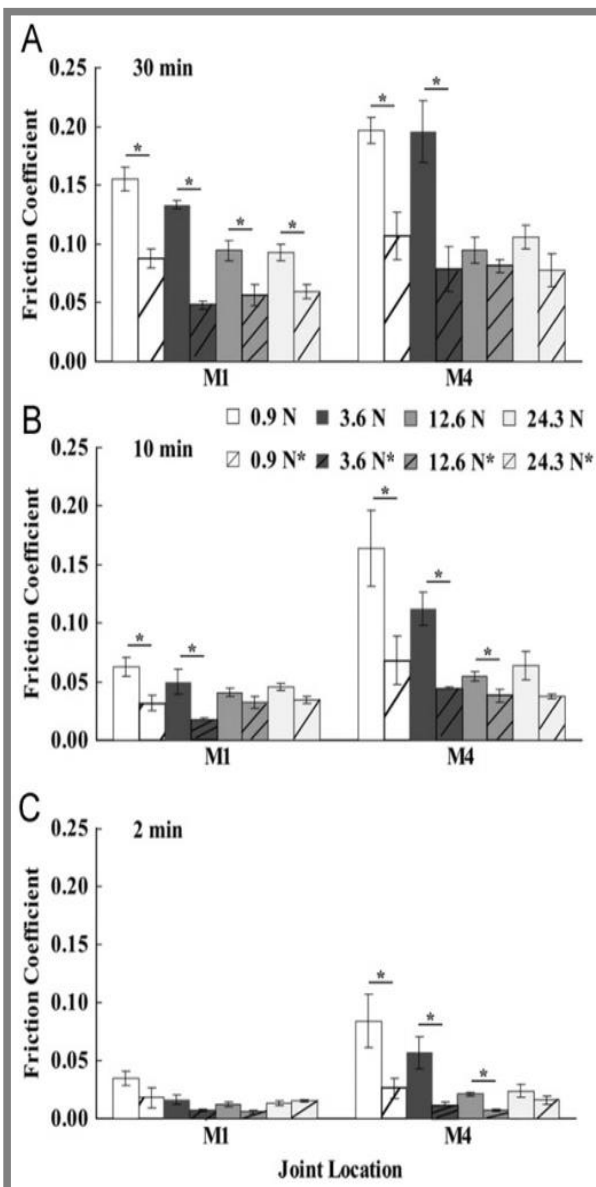
Obr. 5-64 Vzorky ze zatěžované části kolen M1 a z nezatěžované části M4 [24]

Výsledky ukazují, že při narůstajícím čase testování stoupá COF, viz obr. 5-65 a obr. 5-66. Stejně trendy publikovali i autoři v uvedených pracích výše. [11 – 13, 15, 17, 18]. Byl proveden i experiment s odlehčováním zátěže po každém cyklu experimentu, kde autor naměřil data, která se zcela neshodují se závěry jiných autorů, např. v práci [18]. V této práci autor uvádí, že odlehčování, resp. rehydratace

chrupavky má záporný vliv na COF a autor z práce [18] tvrdí opak. Výsledky tohoto experimentu jsou ukázány na obr. 5-65, výsledky označené hvězdičkou znázorňují experimenty s odlehčením chrupavky. Z obr. 5-66 je patrné, že COF klesá se zvyšujícím se zatížením, což opět potvrzuje závěry z prací [12], [22] a [23], které jsou uvedeny výše.



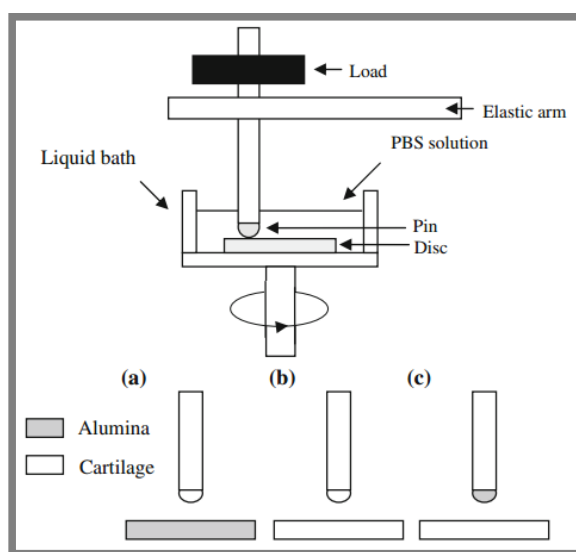
Obr. 5-65 Závislost COF na zatěžujícím tlaku, čase a druhu vzorku [24]



Obr. 5-66 Závislost COF na druhu vzorku a čase testování [24]

Autor L. Shi a kol. [25] v roce 2011 zveřejnil práci zabývající se vlivem konfigurace měření a maziva na COF. Tribologické experimenty probíhaly na zařízení v konfiguraci pin-on-disk. Autor zvolil 3 konfigurace kontaktů pro experimenty. První konfigurace se vzorkem chrupavky jako pin a disk vyroben z hliníkové slitiny (konfigurace CA), dále vzorky chrupavky umístěné jako pin i disk (CC) a pin vyroben z hliníkové slitiny a disk jako vzorek chrupavky (AC). Experimentální zařízení je

schematicky znázorněno na obr. 5-67. U maziva byly zvoleny 4 konfigurace a to PBS, dále polyethylenglykol (PEG) s molekulovou hmotností (MW) 10 000, PEG s 100 000 MW a chondroitinsulfát (CS). Všechna použitá maziva byla v koncentraci 100 mg/mL. Experimentální podmínky byly nastaveny tak, aby byly podobné jako podmínky v živém organismu, stejně jako ve výše uvedených pracích. Zatížení bylo zvoleno na hodnotu 2 N, které v kontaktu vyvodí tlak 0,63 MPa. Zatížení se vždy aplikuje 5 s před zahájením experimentu. Dále byly zvoleny různé rychlosti 0,2, 0,5, 1 a 5 mm/s. Všechny experimenty byly provedeny s pinem umístěným na disku na $r = 3$ mm. Experimenty, kde bylo použito mazivo PBS byly vyhodnocovány vždy po 100 otáčkách disku, což je 1885 mm uražené vzdálenosti pinu po disku. S mazivem PEG nebo CS byl experiment přerušen již po 20 otáčkách, což odpovídá ujeté dráze 377 mm.

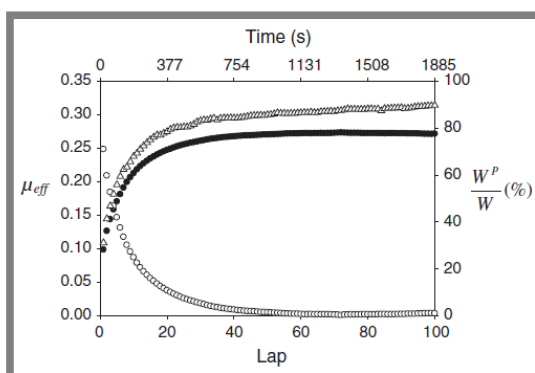


Obr. 5-67 Experimentální zařízení z publikace [25],
a) CA, b) CC, c) AC

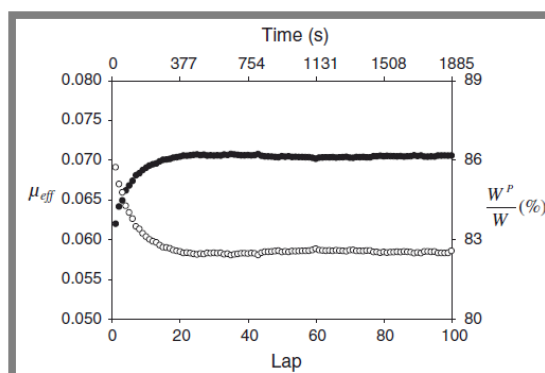
Vzorky chrupavek byly odebrány opět z kolenních kloubů skotu, stejně jako v jiných publikacích, zde uvedených. Poražený skot byl 15–30 měsíců starý. Kolenní klouby byly dodány k odebrání vzorků do 3 dnů po porážce a byly skladovány při teplotě 4°C. Před odběrem vzorků byla provedena kontrola drsnosti a poškození chrupavek. Následně byly z kloubních chrupavek vyřezány vzorky s $\varnothing 12$ mm pomocí „biopsy punches“. Tloušťka vzorků byla upravena na 1,3 mm. Takto připravené vzorky byly zmrazeny na teplotu -20 °C v roztoku PBS. Před experimentem byly vzorky rozmrazeny a oříznuty pro disk na $\varnothing 10$ mm a pro pin na $\varnothing 2$ mm.

Vyhodnocením experimentů bylo zjištěno, že při použití maziva PBS se zmenšuje COF. Autor tento jev vysvětluje tím, že se PBS je vtlačováno do pórů chrupavky a tím se sníží tření. Dále autor podotýká, že na velikost COF mají vliv i další parametry jako je kluzná rychlost, doba experimentu, zatěžovací rychlost, velikost zatížení, opotřebení a mnoho dalších. Mnoho z těchto vlivů bylo již popsáno v uvedených publikacích. Nejzásadnější vliv má ovšem samotná přítomnost maziva. Dále autor podotýká, že chrupavka vykazuje heterogenní složení, viz publikace [5] a [6]. Bylo zjištěno, že konfigurace AC vykazuje podstatně nižší COF než konfigurace CA. Autor tento jev opodstatňuje rehydratací chrupavky na disku, pokud je chrupavka umístěná na pinu,

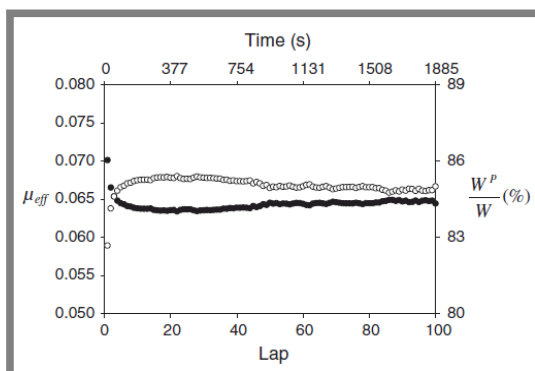
k rehydrataci nedochází. Závěrem jde tedy říci, že naměřený COF silně závisí na použité konfiguraci měření. Obr. 5-68 až 5-70 popisují průběhy COF v závislosti na čase. Obr. 5-68 popisuje konfiguraci CA, plné kroužky reprezentují konfiguraci, kdy je pin i se subchondrální kostí, prázdné trojúhelníky reprezentují konfiguraci, kdy je pin chrupavky nalepen na plochem kovovém pinu. Obr. 5-69 popisuje konfiguraci CC, plné kroužky reprezentují konfiguraci, kdy je pin i se subchondrální kostí. Obr. 5-70 popisuje konfiguraci AC, kdy prázdné kroužky reprezentují piny z hliníkové slitiny. W^P/W udává procentuální rozložení zatížení do stačeného mazacího filmu. Na obr. 5-71 je znázorněn průběh ustáleného COF v závislosti na rychlosti. Hnědá barva reprezentuje PBS mazivo, oranžová 10 000 MW PEG v PBS, žlutá 100 000 MW PEG v PBS a zelená CS v PBS.



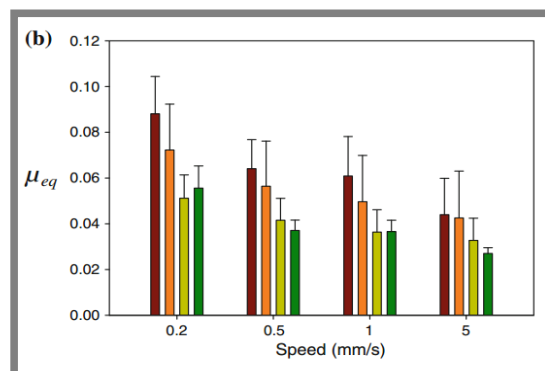
Obr. 5-69 COF v závislosti na čase, konfigurace CA, mazivo PBS [25]



Obr. 5-68 COF v závislosti na čase, konfigurace CC, mazivo PBS [25]



Obr. 5-70 COF v závislosti na čase, konfigurace AC, mazivo PBS [25]

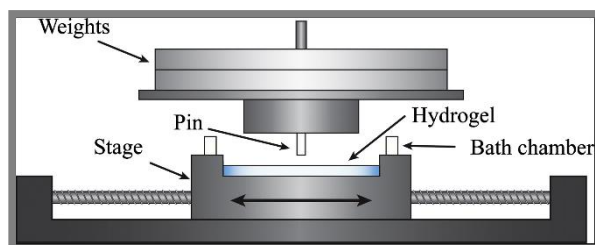


Obr. 5-71 COF v závislosti na rychlosti, konfigurace AC [25]

Jak již zde bylo zmíněno v publikaci [15] hydrogely slouží pro výrobu umělých chrupavek, aby nahradily chrupavky nemocné a poškozené. Docílí se tak oddálení nutnosti implantátu totální endoprotézy.

Tribologickým testováním různých druhů hydrogelů se zabývá M. M. Blum [26] ve své práci vyšlé roku 2012. Experimentálně testoval a srovnával „boundary lubricant functionalized“ (BLF) hydrogely a polyvinylalkoholové (PVA) hydrogely. Byl zkoumán vliv prodloužení uhlíkových řetězců na tribologické vlastnosti hydrogelu. Experimenty byly prováděny na tribometru typu pin-on-flat s recipročním pohybem. Zařízení schematicky zobrazeno na obr. 5-72. Flat, deska byla vyrobena z hydrogelů a měla vždy rozměr 35×26×3 mm. Deska byla uložena ve vaně a zaplavena roztokem

PBS. Vana se pohybovala recipročním pohybem o rychlosti 4 mm/s se zdvihem 12,7 mm. Pin byl zhotoven buď z uhlíkové oceli, nebo z hovězí chrupavky. Délka pinu se pohybovala mezi 13 a 16 mm a \varnothing pinu byl 4,63 mm. Zatížení kontaktu bylo stanoveno na 22,24 N, což vyvede v kontaktu tlak 1,04 MPa. Testy probíhaly po 200, 500, 1000, 2000 cyklech.

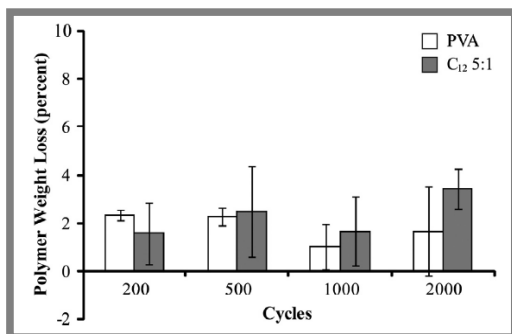


Obr. 5-72 Zařízení použité pro testování hydrogelů z práce [26].

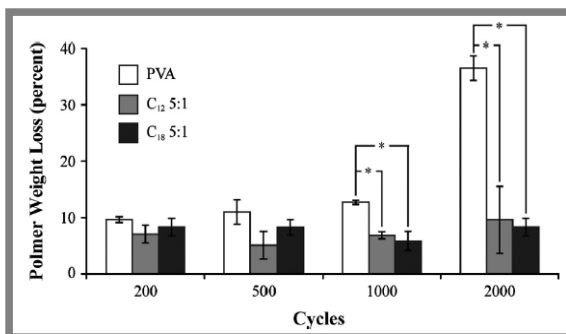
Vzorky byly získávány z kondyl kolenního kloubu a po odebrání byly skladovány zmrazeny v roztoku PBS při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, podobně jako v ostatních zde uvedených publikacích. Vždy po rozmrazení před experimentem byly vzorky na 8 h hydratovány a až poté testovány.

Funkcionalizované hydrogely byly získávány funkcionalizací PVA změnou molárního poměru. PVA se rozpustí v methylypyrrolidonu a poté se směs zahřeje na $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ a přidá se lauroylchlorid (C12) nebo stearylchlorid (C18) čímž dojde k modifikaci struktury a prodloužení uhlíkových řetězců. Látka byla ponechána, aby ztuhla a pak byla promývána deionizovanou vodou po dobu 72 h. Dále byla sušena ve vakuu po dobu 24 h. PVA hydrogely nebo BLF hydrogely byly poté vytvořeny rozpuštěním PVA nebo BLF v roztoku DMSO v koncentraci 50 %. Poté byly při teplotě 90°C odlity vzorky o $\varnothing 60$ nebo 15 mm o tloušťce 7,5 mm a na této teplotě byly udrženy po dobu 6 h. Vzorky byly poté zesíťovány zamrazováním a rozmrazováním. Nakonec byl pomocí deionizované vody DMSO roztok odstraněn.

Výsledky ukázaly, že PVA hydrogel vykazuje nižší polymerní ztrátu a BLF hydrogel vykazuje vyšší odolnost proti opotřebení. Opotřebení hydrogelů bylo vyhodnoceno pomocí optické mikroskopie a ukázalo se, že PVA hydrogely vykazují abrazivní opotřebení, zatímco hydrogely BLF vykazují snížené opotřebení adhezivní. Největší odolnost proti opotřebení se ukázala u hydrogelů BLF s nejdelšími uhlíkovými řetězci. Na obr. 5-73 je graficky znázorněna závislost hmotnostního úbytku díky opotřebení na počtu cyklů pro hydrogel PVA a BLF C12. Experiment byl proveden v mazadle PBS a pinem vyrobeným z chrupavky. Na následujícím obrázku obr. 5-74 je znovu ukázána závislost hmotnostního úbytku díky opotřebení na počtu cyklů pro hydrogel PVA a BLF C12 a C18. Jako mazadlo byla použita deionizovaná voda a pin byl vyroben z uhlíkové oceli. Z grafů vyplývá, že významný vliv na opotřebení má také volba mazacího roztoku a materiál pinu.



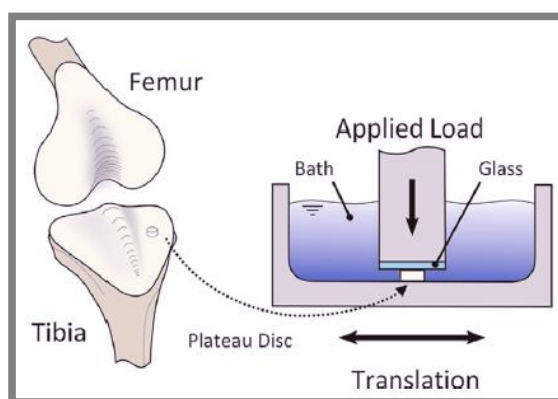
Obr. 5-74 Závislost hmotnostního úbytku opotřebením na počtu cyklů experimentu [26].



Obr. 5-73 Závislost hmotnostního úbytku na počtu cyklů experimentu [26].

V roce 2015 byly publikovány dvě experimentální práce zabývající se testováním chrupavky. První z prací od autora S. R. Oungouliaana a kol. [27] prováděla experimenty v konfiguraci zvířecí chrupavka na sklo, popřípadě kov. Cílem bylo ověřit chování chrupavky proti sklu a kovům, které se používají pro výrobu endoprotéz. Dále autor porovnával opotřebení a poničení chrupavek po daných konfiguracích experimentu. Druhá práce, jejímž autorem byl A. C. Cilingir a kol. [28], se zabývá testováním zvířecích chrupavek v kontaktu chrupavka na chrupavku. Cílem bylo srovnat rozdíl mezi rotačním recipročním pohybem kolem osy vzorku a rotačním recipročním pohybem s osou rotace mimo osu vzorku. Dále autor určoval koeficient opotřebení a COF v konfiguraci experimentu s mazivem, nebo bez něj.

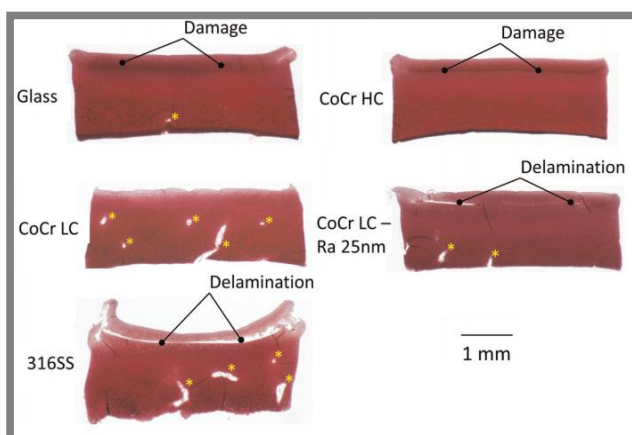
S. R. Oungouliaana a kol. [27] své experimenty prováděl na zařízení typu pin-on-disk, v opačném složení, než je obvyklé. Schéma zařízení je ukázáno na obr. 5-75. Disk byl vyroben z chrupavky a pin buď ze skla, nebo různých kovových materiálů. Bylo použito optické sklo, dále chrom-kobaltová ocel nízkouhlíková (CoCrLC), chrom-kobaltová ocel s vysokým obsahem uhlíku (CoCrHC) a ocel nerezová vyráběná ve vakuu (316SS). Chrom-kobaltová ocel se používá pro výrobu endoprotéz. Vzorky chrupavek byly odebírány z chrupavky kolene 2–3 měsíčních telat, viz obr. 5-75. Tloušťka vzorků byla 1,6 mm a Ø4 mm.



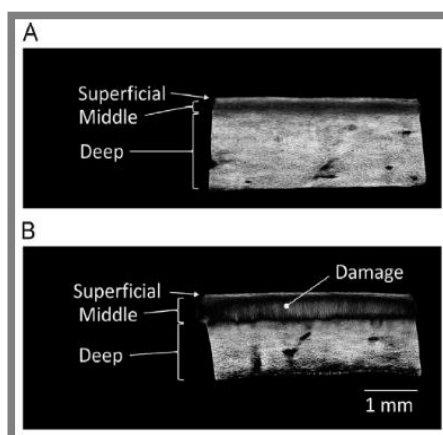
Obr. 5-75 Experimentální zařízení z práce [27].

Experimentální podmínky byly stanoveny následovně. Kontakt byl zatížen silou 2,2 N, což vyvozuje kontaktní tlak cca 0,18 MPa. Rychlost recipročního pohybu byla stanovena na 1 mm/s se zdvihem ± 5 mm.

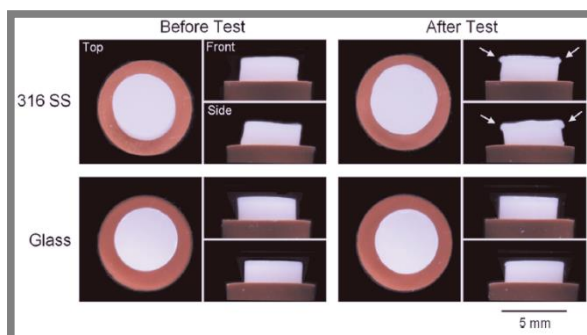
Bylo zjištěno, že chrupavka vykazuje největší poškození po experimentech s ocelí 316SS a nejmenší s optickým sklem, viz obr. 5-76. CoCr vykazuje větší poškození, když má větší drsnost povrchu. Na obr. 5-77 jsou snímky pořízené polarizovaným světlem. Je zde porovnán vzorek před a po testu. Lze si všimnout, že opotřebené vzorky mají větší rozsah i hustotu kolagenových vláken orientovaných 90° k povrchu chrupavky. Opotřebením vykazuje tzv. „creep“, kdy se tento stav objevuje při větším poškození tkáně chrupavky. Na obr. 5-79 jsou fotografie porovnávající stav vzorku tkáně chrupavky před a po experimentu, kdy jsou srovnány dva experimenty, a to se sklem a s ocelí 316SS. S opotřebením a poškozením vzorků chrupavky se váže i opotřebením protikusů. Drsnosti použitých vzorků jsou uvedeny na obr. 5-78. Na obr. 5-80A je porovnání minimálního COF pro různé konfigurace pinu, plate zůstává pro všechny konfigurace chrupavka. Na obr. 5-80B je porovnání COF v čase 98% creepu a po 4 h experimentu, což je celkový čas experimentu.



Obr. 5-77 Poškození chrupavky po experimentu [27].



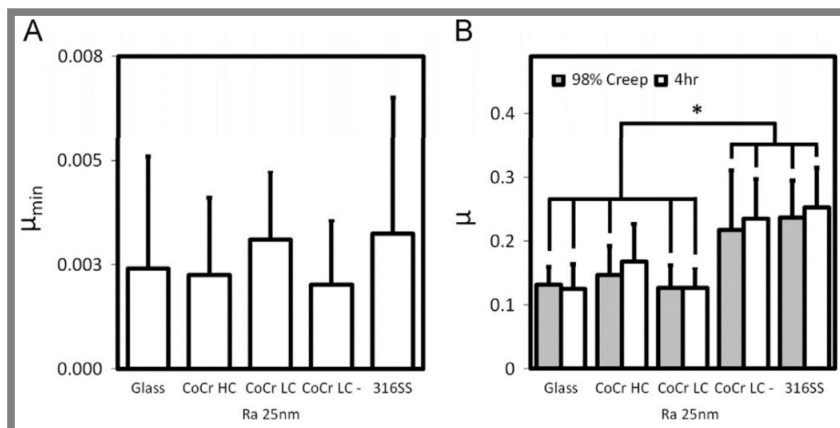
Obr. 5-76 Poškození chrupavky po experimentu – snímky polarizovaným světlem [27].



Obr. 5-79 Stav vzorků chrupavky před a po experimentu s optickým sklem a ocelí 316SS [27].

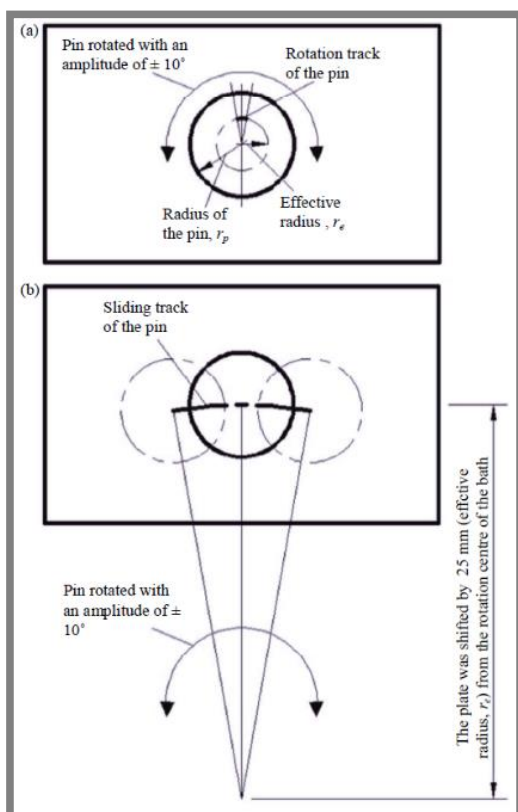
Roughness-Ra		Glass	CoCrHC	CoCrLC
Before test	(nm)	8.4 ± 4.6	11.3 ± 4.1	12.8 ± 3.3
After test	(nm)	9.4 ± 3.4	11.9 ± 3.4	12.3 ± 2.1
Roughness-Ra		CoCrLC- Ra25 nm	316SS	
Before test	(nm)	26.9 ± 9.6	10.4 ± 3.7	
After test	(nm)	25.4 ± 8.4	11.6 ± 4.9	

Obr. 5-78 Drsnosti vzorků plate před a po experimentu s chrupavkou [27].

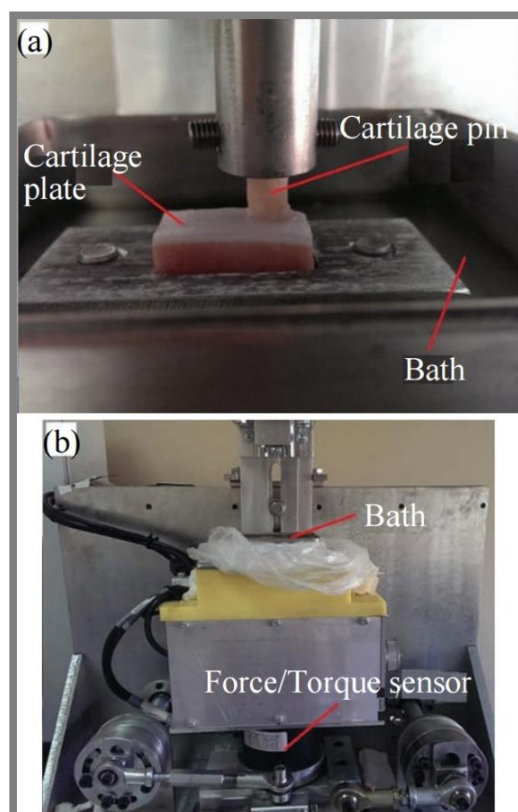


Obr. 5-80 A – minimální COF pro různé konfigurace kontaktu, B – porovnání COF pro různé konfigurace kontaktu v čase 98 % creepu a po skončení testu [27].

Druhá uvedená experimentální práce od A. C. Cilingir a kol. [28] byla prováděna v konfiguraci zařízení pin-on-plate. Fotografie zařízení jsou ukázány na obr. 5-81. Byly zvoleny dvě konfigurace pohybů, při kterých byly prováděny experimenty. První konfigurace uvažuje rotující pin kolem své osy, a to v rozmezí $\pm 10^\circ$ frekvencí 1 Hz. Rychlost pohybu je mezi 1,15 a 17,45 mm/s, dle narůstajícího poloměru vzorku. Druhá konfigurace uvažuje taktěž recipročně rotující pin v rozmezí $\pm 10^\circ$, ale kolem osy vzdálené 25 mm od osy vzorku. Frekvence pohybu byla nastavena taktěž na 1 Hz. Zmíněné konfigurace jsou schematicky znázorněné na obr. 5-82. Kontakt byl zatížen statickou silou 60 N, která v kontaktu vyvozuje kontaktní tlak 1,8 MPa. Experimenty byly prováděny ve 3 konfiguracích maziva. První varianta byla bez maziva „na sucho“ a dále byl použit zaplavený kontakt buď PBS nebo hovězím sérem (BS).

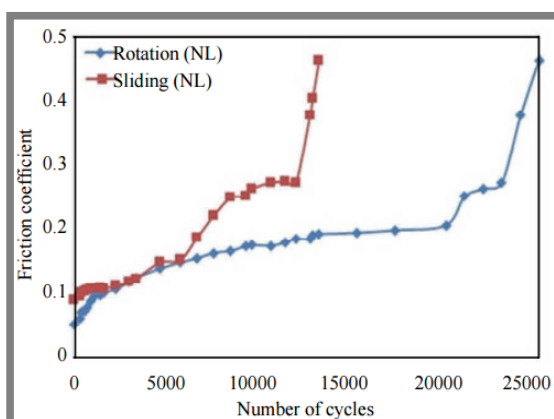


Obr. 5-82 Schéma konfigurací pohybů z [28].

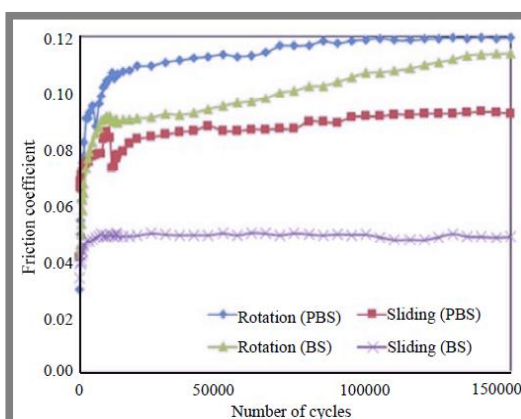


Obr. 5-81 Experimentální zařízení z práce [28].

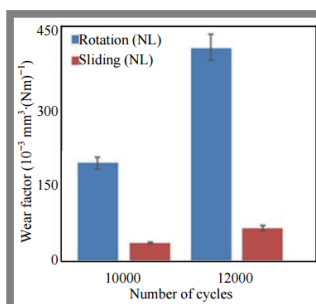
Vzorky chrupavky pin i plate byly odebrány ze skotu o věku 2–5 let do 24 h od porážky a poté byly zamrazeny na teplotu -18°C . Po rozmražení byly vyrobeny vzorky a následně opět zmrazeny. Pin byl vyráběn dutým vrtákem o vnitřním $\text{Ø}6,6$ mm a délce 20 mm. Plate, resp. deska o rozměrech $25 \times 15 \times 15$ mm byla vyráběna motorovou pilou. Před experimentem byly vzorky hydratovány v PBS při teplotě 4°C po dobu 24 h. Ve všech případech výsledky ukázaly značný rozdíl COF mezi rotačním pohybem a posuvným pohybem. V případě experimentu bez maziva byl naměřen vyšší COF u konfigurace s pohybem posuvným, viz obr. 5-83. U mazaných konfigurací tomu bylo naopak. Autor tuto skutečnost u nemazaného kontaktu vysvětluje cca $15\times$ větší uraženou vzdáleností pinu než u pohybu rotačního. V případě experimentů s mazivem v obou případech výsledky ukázali nižší COF při použití mazadla BS, viz obr. 5-84. Ukázalo se, že mazaný rotační kontakt vykazuje vyšší COF než kontakt posuvný. Autor tento jev obhájí tím, že při rotačním pohybu se třecí plochy nemění a mazivo se do kontaktu příliš neodstává a zůstává mimo kontakt, avšak v případě pohybu posuvného vždy při reverzaci se mazivo dostane do kontaktu a tím se sníží tření. Dále byl vyhodnocován také koeficient opotřebení, který je definován jako množství materiálu na jednotku zátěže a délku pohybu. Větší koeficienty se vyskytují u kontaktu mazaného PBS než u kontaktu mazaného BS. Největší koeficient opotřebení je u kontaktu bez maziva, viz obr. 5-85. Rozdíl mezi koeficienty opotřebení při experimentu s pohybem rotačním a posuvným je extrémní. Koeficient opotřebení je několikanásobný v případě rotačního pohybu. Tento vztah platí u kontaktu bez maziva, mazaného PBS i BS. Koeficient opotřebení je graficky znázorněn na obr. 5-86 a 5-87.



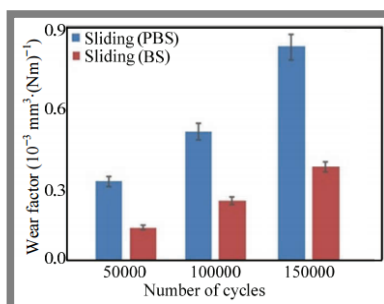
Obr. 5-84 Závislost COF na počtu cyklů pro suchý kontakt, rotační a posuvný pohyb [28].



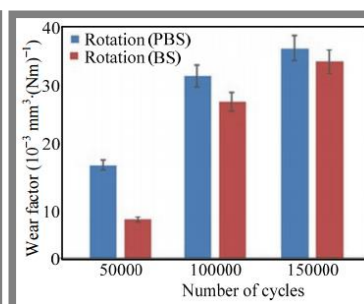
Obr. 5-83 Závislost COF na počtu cyklů pro mazaný kontakt, rotační a posuvný pohyb [28].



Obr. 5-85 Koeficient opotřebení za sucha [28].

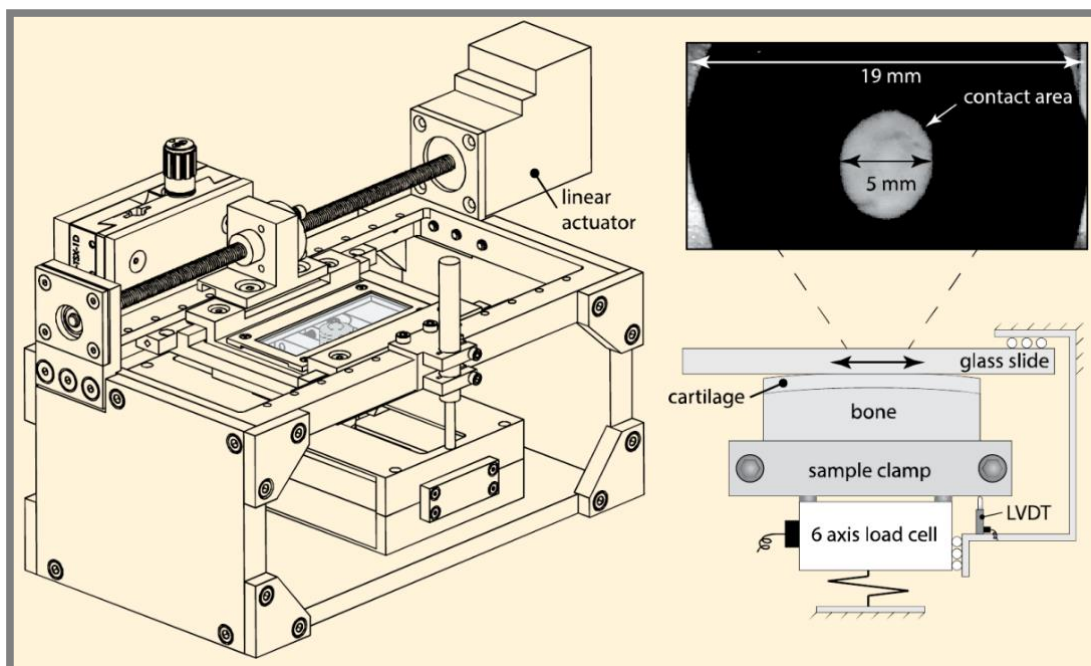


Obr. 5-86 Koeficient opotřebení pro translační pohyb [28].



Obr. 5-87 Koeficient opotřebení pro rotační pohyb [28].

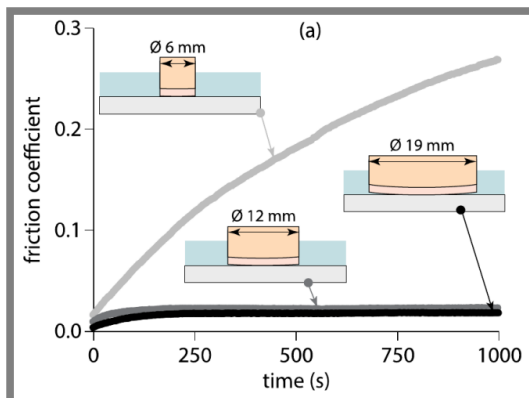
V roce 2016 A. C. Moore a kol. [29] zveřejnili zajímavou práci, která se snaží popsat proces mazání kontaktu realizovaného mezi chrupavkou a sklem. Experimenty byly provedeny na zařízení typu pin-on-plate, kdy pin představuje vzorek chrupavky a plate optické sklo. Přes sklo bylo nahlíženo do kontaktu a zjišťovány velikosti kontaktních oblastí. Experimentální zařízení je na obr. 5-88. Konstrukce tribometru se skládala ze dvou hlavních částí, z pohybové části a ze zatěžovací části. Pohybová část zajišťuje reciproční pohyb segmentu, ve kterém je uloženo sklo pomocí pohybového šroubu napojeného na lineární motor. Zatěžovací část umisťuje vzorek chrupavky do kontaktu se sklem. Zatěžování je realizováno ručně přes nůžkový mechanismus a síla je snímána siloměrem. Na konstrukci je umístěn LVDT snímač pro měření stlačení chrupavky. Každý vzorek byl „run-in“, resp. zaběhnut ještě před započítáním experimentu po dobu 2 min zatížením 5 N při rychlosti 60 mm/s délkou zdvihu 20 mm. Poté byly vzorky uvolněny a po dobu 5 min hydratovány v PBS. Následně byl vzorek opět upnut do zařízení a byl započat experiment. Kontakt byl zatížen normálovou silou o velikost 5 N, zdvih recipročního pohybu byl 20 mm s rychlostí 60 nebo 10 mm/s. Vzorky byly odebírány z chrupavek kondyl kolenního kloubu vyspělého skotu. Rozměry vzorků byly stanoveny na 19, 12 a 6 mm. Po odebrání byly vzorky uloženy v PBS při teplotě 4 °C po dobu maximálně 4 dny, aby nedošlo k degradaci chrupavky.



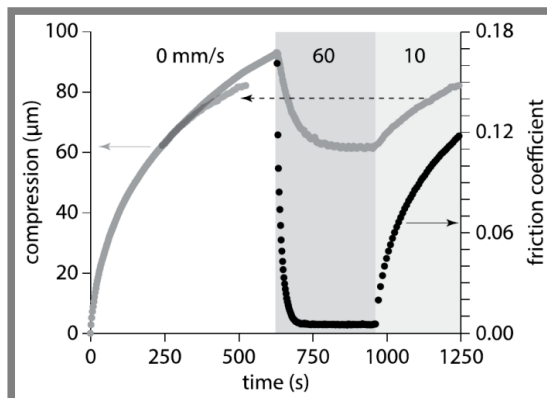
Obr. 5-88 Experimentální zařízení z práce [29].

Byl naměřen COF a stlačení vzorků v průběhu testu. V případě vzorků o $\varnothing 19$ a 12 mm nebyly zpozorovány žádné zásadní změny v průběhu COF, ale pokud byl použit vzorek o $\varnothing 6$ mm, byl zaznamenán významný vzrůst COF v závislosti na čase, viz obr. 5-89. Autor tuto situaci odůvodňuje tím, že u malého vzorku nevzniká v kontaktu dostatečně velká klínová mezera, a tím nedochází v kontaktu k dostatečnému nárůstu HD tlaku. Dále byl proveden stop-start test, kdy byl vzorek nejdříve staticky zatížen a stlačen o 60 μm po dobu 600 s a poté byl spuštěn pohyb rychlostí 60 mm/s, viz obr. 5-90. Při prvním cyklu byl naměřen COF 0,16, ale po dalších cyklech COF spadl až k hodnotě 0,005. Autor jev vysvětluje tím, že při prvním cyklu nebyl ještě vytvořen

mazací film, resp. že kontakt nebyl ještě natlakován HD tlakem. Po ustálení COF byla zmenšena rychlost na 10 mm/s, což způsobilo okamžitý nárůst COF o 0,005 – 0,02. Tento jev ukazuje, že EHD tlak má významný vliv na COF, resp. kluzná rychlost má významný vliv na COF.

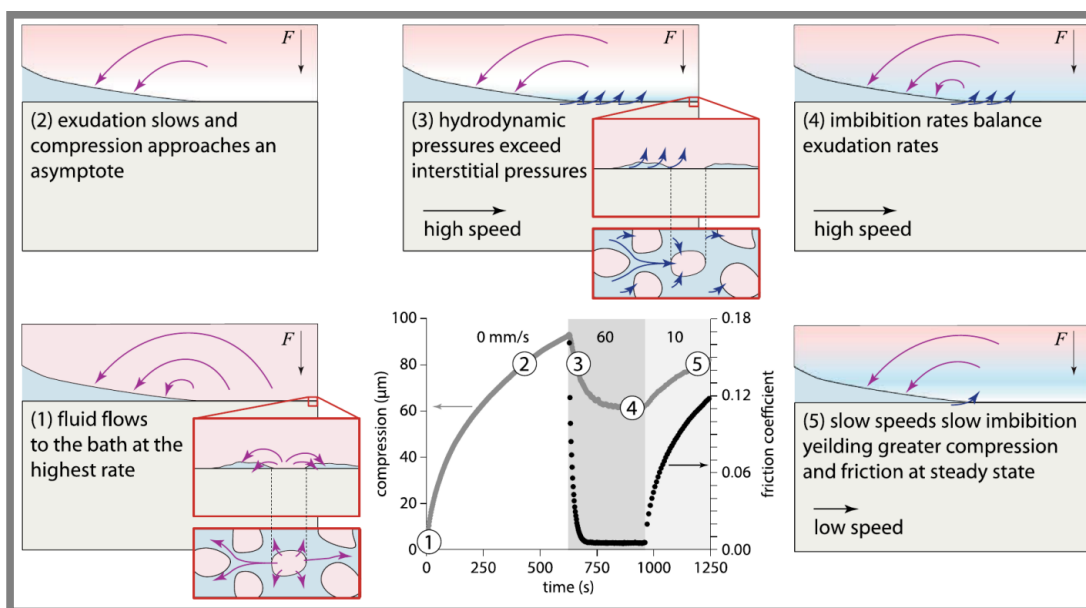


Obr. 5-90 Závislost COF na čase pro různé velikosti vzorků [29].



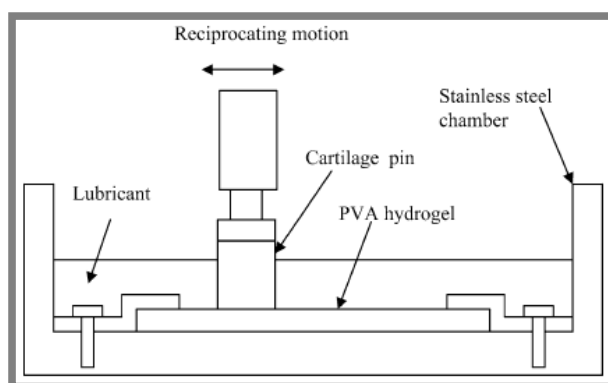
Obr. 5-89 Závislost stlačení a COF na čase u start-stop testu [29].

Autor uvedl hypotézu, kterou popsal jev, který způsobuje pokles COF při přechodu ze statického kontaktu na dynamický. V první fázi se kontakt natlakuje zatěžující silou a kapalina je vtlačována do povrchu chrupavky cestami nejmenšího odporu. S rostoucím tlakem v chrupavce se snižuje tlakový poměr, až se vyrovná. V další fázi při kluzném pohybu vzniká mezi chrupavkou a sklem klínová mezera, která má za následek zvýšení HD tlaku v kontaktu, resp. vtlačuje do porézního povrchu chrupavky více kapaliny, což snižuje tření, protože se povrch chrupavky zpevní a vyrovná. Pokud poklesne kluzná rychlost, v kontaktu poklesne tlak a z chrupavky se uvolní část maziva, což vede ke zvýšení COF. Tento jev je graficky znázorněn na obr. 5-91.



Obr. 5-91 Popis jevu rehydratace chrupavky [29].

F. Li a kol [30] provedli experimentální výzkum se zaměřením na kontaktní kombinaci hydrogelu a tkáně chrupavky. V roce 2016 zveřejnili publikaci, která se zabývala vyhodnocením vlivu vstupních parametrů, jako je zatížení, kluzná rychlost, opotřebení a použité mazivo v kontaktní dvojici. Experimenty byly prováděny na tribometru typu pin-on-plate s recipročním pohybem, kdy vzorek tkáně chrupavky představoval pin a plate byl vzorkem hydrogelu. Experimentální zařízení je schematicky ukázáno na obr. 5-92.



Obr. 5-92 Schematický popis experimentálního zařízení z práce [30].

Testy byly prováděny při zatížení 10 a 22 N, které v přepočtu vyvodí kontaktní tlak cca 0,4 MPa. Konfigurace podmínek byly určeny následovně:

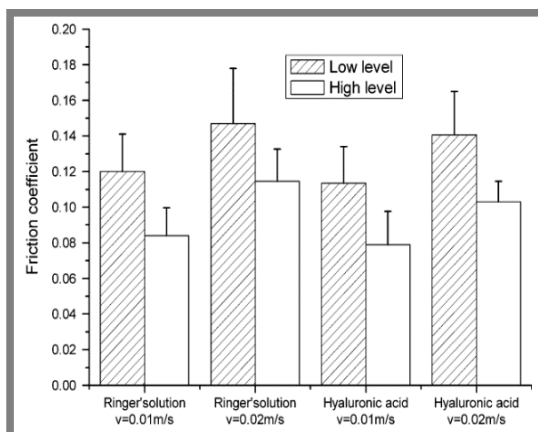
- Low level test – zatížení 10 N, rychlost 10 mm/s, mazivo – Ringer' solution
- High level test – zatížení 22 N, rychlost 20 mm/s, mazivo – HA 2,5 g/l
- Long term test – mazivo Ringer' solution, zatížení 22 N, rychlost 10 mm/s
- Long term test – mazivo HA 2,5 g/l, zatížení 22 N, rychlost 10 mm/s

Mazivo Ringer' solution je solný roztok s upraveným pH tak, aby byl snesitelný pro živý organismus. Vzorky tkáně chrupavky byly odebírány z chrupavky kolenního kloubu skotu o věku 18 měsíců. Odběr vzorků proběhl pomocí dutého vrtáku s vnitřním Ø9 mm. Po odebrání byly vzorky zamrazeny v roztoku Ringer' solution na teplotu -20 °C po dobu 36 h. Autor cituje práce [31, 32], kde bylo dokázáno, že při skladování vzorků ve zmíněném roztoku při dané teplotě po dobu 4 dnů nedojde k ovlivnění naměřených výsledků.

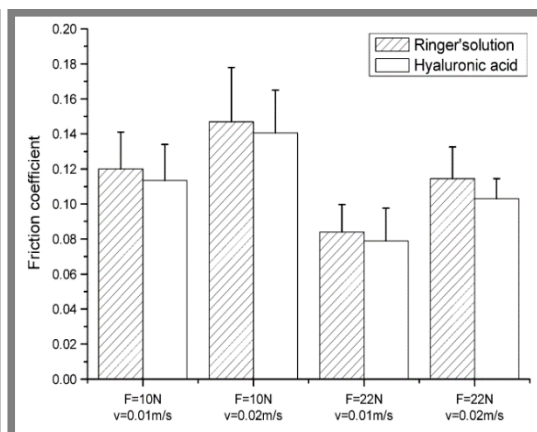
Pro experiment byly použity vzorky z PVA hydrogelu, které byly připraveny z demethylsulfoxidu (DMSO) a PVA roztoku. Postup přípravy byl následující. Prvním krokem bylo rozpuštění DMSO ve vodě o koncentraci 80 hm%. Dále bylo do koncentrátu přidáno práškového PVA v objemu 15 hm%. Tato směs byla míchána při teplotě 90 °C po dobu 2 h, než se vytvoří homogenně viskózní směs. Směs se nechá odstát pro odstranění bublin a následně se odleje a ochladí na teplotu -20 °C po dobu 24 h. Před testem se pomocí destilované vody odstraní z hydrogelu DMSO a vzorek se ořízne na rozměry 20×40 mm o tloušťce 4 mm.

Autor vyhodnocoval vlivy zatížení, kluzné rychlosti a volbu mazadla na COF, viz obr. 5-93. Výsledky ukazují, že při zvýšení zátěže poklesne COF. Stejně výsledky vykazovali i výše uvedené práce [11 - 13, 22 - 24]. Byla zjištěna rostoucí závislost mezi rychlostí a COF a dále bylo zjištěno, že při použití HA vykazuje kontakt nižší COF než při použití Ringer' solution, viz obr. 5-94. U experimentu s delším časem

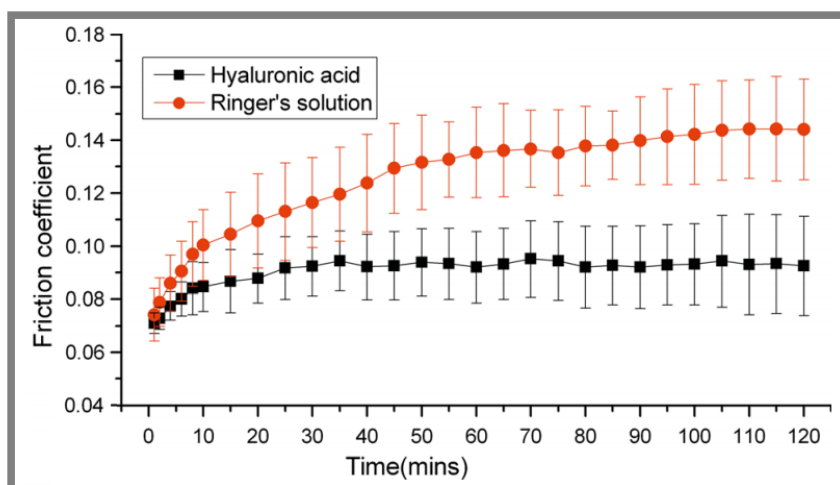
trvání - „Long term test“ byly porovnány obě maziva a byly potvrzeny výsledky z první části této práce. Kontakt mazaný HA vykazuje nižší COF než při použití Ringer' solution. Tento rozdíl se zvyšuje s časem, viz obr. 5-95. Struktura povrchu byla po experimentech vyhodnocována pomocí „environmental scanning electron microscopy“ (ESEM) kdy bylo použito zařízení od výrobce Philips typového označení XL30. U vzorků tkáně chrupavky nebyly zpozorovány žádné známky poškození po experimentu, nicméně u PVA hydrogelu byly známky opotřebení zjevné. Povrchové vrstvy hydrogelu byly poškozeny a ulpávaly na povrchu chrupavky.



Obr. 5-93 Závislost zatížení na COF pro různé rychlosti a maziva [30].



Obr. 5-94 Závislost mazadel na COF pro různé rychlosti a zatížení [30].



Obr. 5-95 Závislost COF na čase pro různá maziva [30].

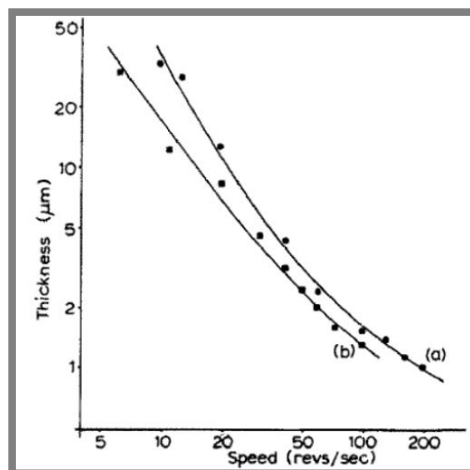
5.4 Analýza tloušťky mazacího filmu u poddajných kontaktů

Tloušťka mazacího filmu je jedním ze zásadních aspektů v tribologii. S pojmem tloušťka mazacího filmu jsou často v tribologii spojovány i další pojmy jako je COF, nebo opotřebenění materiálů v kontaktu. V případě, že se jedná o analýzu tloušťky mazacího filmu (dále jen ATMF) u kontaktů jako je tkáň chrupavky, je třeba zmínit vlastnosti kontaktu, které značně ovlivňují správnou volbu metody. Kontakt mezi tkáněmi chrupavky se považuje za poddajný a vyznačuje se těmito vlastnostmi:

- Nízký modul pružnosti.
- Nízká odrazivost povrchu.
- Nízká elektrická vodivost.

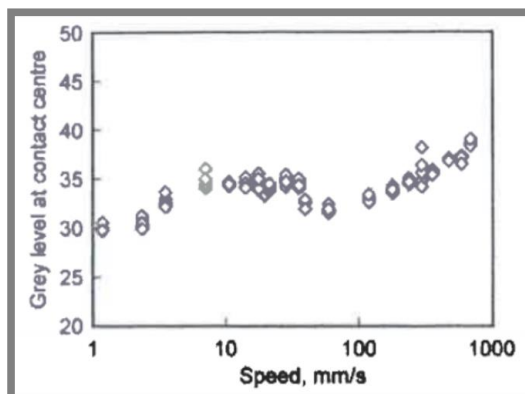
Bohužel vlastnosti poddajných kontaktů značně omezují použití některých metod pro ATMF. Díky jejich nízké odrazivosti povrchů nelze použít metody založené na principu optické interferometrie a díky nízké elektrické vodivosti nelze použít ani metody elektrické. H. A. Spikes vydal přehledovou práci o metodách ATMF, kde uvedl metody konvenční i nekonvenční [31]. Z poznatků z této práce a s ohledem na vlastnosti kontaktů, na které je tato práce zaměřena, vyplývá, že nejvhodnější metoda pro ATMF, kdy zkoumaný kontakt bude tvořit vzorek z tkáně chrupavky, bude metoda založená na principu fluorescenční mikroskopie. I přes všechna omezení, která klade samotný zkoumaný kontakt tvořený tkání chrupavky, je dle závěrů z práce [31] tato metoda vyhovující. Další část této práce bude tedy věnována problematice spojené s ATMF pomocí fluorescenční mikroskopie.

První zmínky o této metodě se objevili roku 1974, kdy A. E. Smerť a kol. [32] zveřejnil práci, která byla zaměřena na ATMF na rotujícím válci. Tloušťka filmu přímo v kontaktu mezi dvěma tělesy však měřena nebyla. Toto omezení plyne z dat této práce, kdy bylo vybavení i metody značně omezené. Jako zdroj světla byla použita rtuťová lampa. Podle autorů je metodou fluorescenční mikroskopie možno analyzovat filmy o tloušťce 0,1 μm až 1 mm, avšak tato hodnota je značně závislá na použitém vybavení a kalibraci zařízení. V této práci byly měřeny tloušťky filmu cca od 0,8 do 35 μm . Byly zvoleny otáčky válce 10 000 min^{-1} při průměru válce 73,5 mm. Zaznamenaná teplota při experimentu byla 20°C. Jako mazivo pro experiment byl použit olej pro parní turbíny s označením Castrol 3C. Byly zvoleny dvě konfigurace povrchu válců, a to buď s ocelovým povrchem, nebo s povrchem chromovaným. Výsledky ukazují, že naměřená tloušťka filmu, která ulpívala na povrchu válce, se pohybuje v závislosti na otáčkách v rozsahu od 1 μm do 30 μm , viz obr. 5-96. Bylo zjištěno, že v této konfiguraci by v kontaktu nedocházelo k dostatečnému oddělení povrchů mazacím filmem, resp. mazací film by byl příliš tenký a docházelo by k hladovění kontaktu.



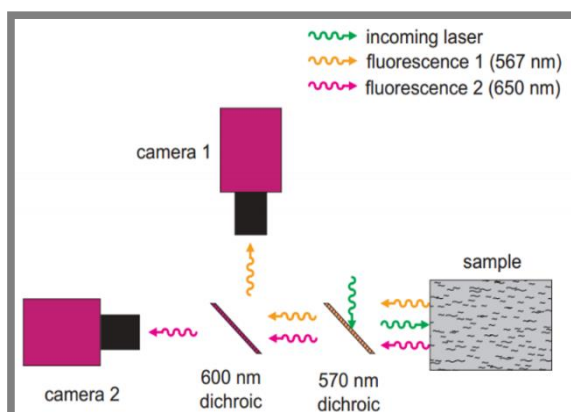
Obr. 5-96 Závislost tloušťky mazacího filmu na otáčkách pro a) ocelový válec, b) pochromovaný válec [32].

Poprvé byla metoda fluorescenční mikroskopie použita na tribometru o konfiguraci ball-on-disk v roce 2000. J. Sugimura a kol. [33] vydali publikaci, která je zaměřena na ATMF, ale i principem měření a problémy, které se u experimentů a jejich vyhodnocování objevují, a ještě nebyly zmíněny ostatními autory. Byly měřeny velmi malé tloušťky filmu pod 30 nm. Jako zdroj světla byla použita opět rtuťová lampa. Kontakt byl pozorován a snímán CCD kamerou. Jako mazivo byl zvolen olej s označením H60 a P500. Do minerálních olejů byl přidáván pyren, protože minerální oleje při ozařování UV světlem emitují záření, a to i ve viditelném spektru, což bylo potlačováno zmíněnou přísadou, aby nebylo následně ovlivněno měření. Přísady byly do olejů přidány v objemu až 2 hm%. Jak už bylo zmíněno, byl použit tribometr o konfiguraci ball-on-disk, kdy kulička byla ocelová a disk skleněný. Byl nastaven čistý prokluz, kdy se kulička neotáčela a otáčel se pouze skleněný disk. Autor zvolil dvě konfigurace experimentu. První z experimentů byl proveden s kuličkou o drsnosti $R_a = 80$ nm a zatížením 2,5 N. Teplota byla stanovena na 28 °C a rozsah skluzových rychlostí na 2,4 – 350 mm/s. Použitý olej byl P500. Druhá konfigurace experimentů byla provedena s kuličkou o drsnosti 1 μm při skluzových rychlostech 53 mm/s. Teplota při experimentu byla 25 °C a zatížení 0,9 N – 3,6 N. Použitý olej byl H60. Autor vyhodnocoval profil mazacího filmu pomocí hodnoty stupňů šedi ze snímků pořízených fluorescenční mikroskopii, viz obr. 5-97. V práci byly uvedeny problémy, které autory potkávaly při řešení experimentů, první z nich byl problém s interferencí při počáteční kalibraci. Tento problém byl vyřešen tak, že při kalibraci byla použita místo ocelové kuličky skleněná čočka. Tento postup není zcela relevantní, protože v pozdějších pracích se objevuje názor, že použití předmětů s jinými optickými vlastnostmi při kalibraci ovlivňuje následně obdržené výsledky. Další problém, které autor zmiňuje je emitace záření z pozadí. Řešitelům se tento nepříznivý jev nepodařilo zcela odstranit, ale po vyhodnocení experimentů se ukázalo, že nemá žádný zásadní vliv na výsledky.

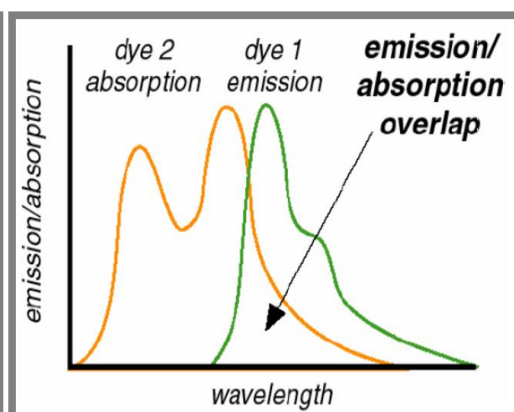


Obr. 5-97 Závislost stupně šedi na rychlosti [33].

Další práce z roku 2000, kterou zveřejnil autor H. Carlos a kol. [34] přinesla významný pokrok a rozšíření v oblasti ATMF pomocí fluorescenční mikroskopie. Autor přináší možnost zaznamenávat dva druhy emitujícího světla. Auto zavádí pojem laserem indukovaná fluorescence s duální emisí (dále jen DELIF), princip znázorněn na obr. 5-99. Tato metoda tedy umožňuje pozorovat vzájemný poměr emise mezi dvěma fluorescenčními barvivy. Bohužel v souvislosti s duální emisí dvou fluorescenčních barviv nastává problém, který autor nazývá reabsorbce emise laserem indukované fluorescence (dále jen ERLIF). Při použití dvou fluorescenčních barviv má každé barvivo svoji vlnovou délku emise. Pokud vlnová délka emise barviva 1 je blízká vlnové délce emise barviva 2, barvivo 1 je excitováno vnějším zdrojem, a navíc emitovaným světlem od barviva 2. Princip tohoto negativního jevu je graficky znázorněn na obr. 5-98. Tento jev způsobuje ponížení intenzity emitovaného záření barviva 2 oproti barvivu 1. Při vyhodnocování experimentů je třeba s tímto jevem počítat.



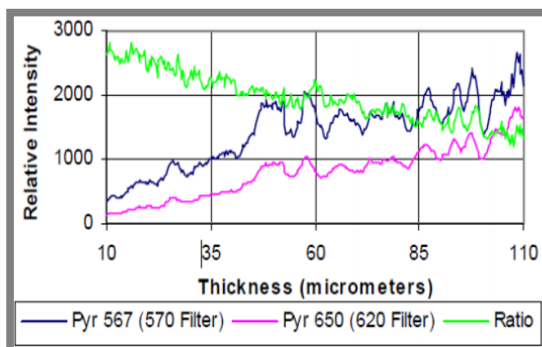
Obr. 5-99 Princip DELIF [34].



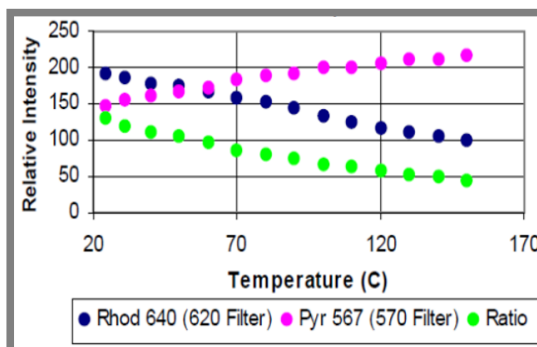
Obr. 5-98 Princip ERLIF [34].

Cílem experimentů v této práci je nalézt závislost mezi tloušťkou mazacího filmu a intenzitou záření dvou fluorescenčních barviv. Kalibrace zařízení pro tloušťku mazacího filmu proběhla pomocí klínové mezery o známé geometrii, kdy autor dokáže přiřadit v určitém místě klínové mezery tloušťku filmu, resp. intenzitu emitovaného záření z maziva. Dále autor zkoumal závislost mezi teplotou oleje a intenzitou emitovaného záření. Pro experiment byl namíchan olej s dvěma fluorescenčními barvivy, a to s barvivem Pyromethen 567, 640 a 650. Pro stanovení závislosti tloušťky

mazacího filmu na intenzitě emitovaného záření byl použit olej s příměsí Pyromethenu 567 a 650 a pro stanovení závislosti intenzity emitovaného světla na teplotě oleje byl použit olej s příměsí Pyromethenu 567 a 640. Výsledky jsou ukázány na obr. 5-100 a 5-101. Autor do vyhodnocení zahrnuje i jev reabsorbce, který je poměrně složitý na matematický popis. Celá matematická interpretace vyhodnocení je v práci detailně popsána.

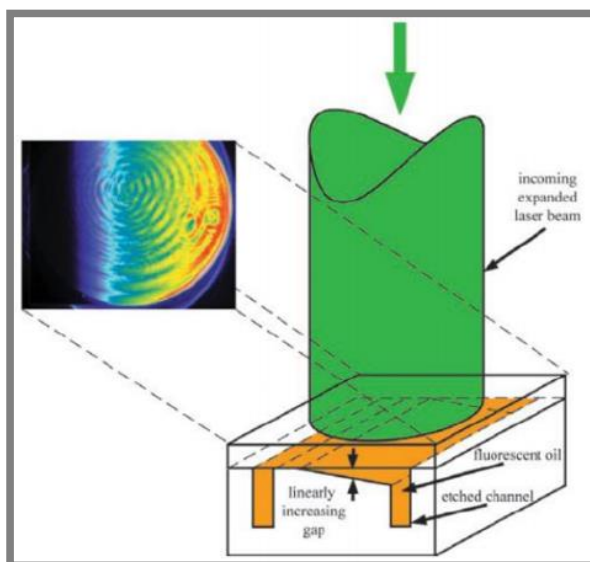


Obr. 5-101 Závislost relativní intenzity záření na tloušťce mazacího filmu [34].

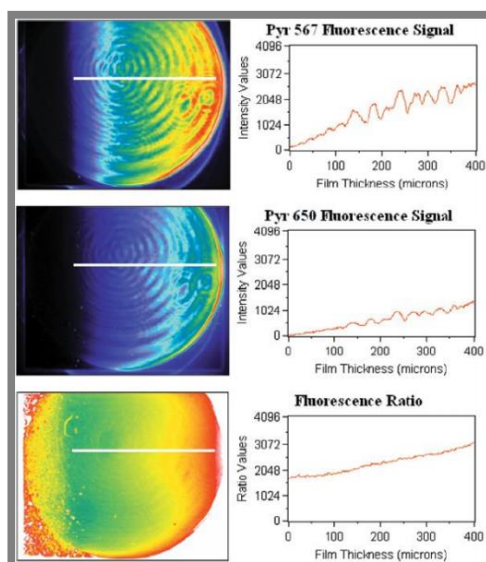


Obr. 5-100 Závislost relativní intenzity záření na teplotě [34].

O rok později zveřejnil C. H. Hidrovo a kol. [35] práci, kde fluorescenční mikroskopii používá k určení topografie povrchů, přes určení tloušťky filmu mezi sklem a povrchem. Stejně jako v práci [34] autor používá princip DELIF a jako fluorescentní barviva používá taktéž Pyromethen 567 a 650. Kalibrace byla provedena taktéž za použití klínové mezery o známé geometrii, kdy byla dané intenzitě emitovaného záření přiřazena daná tloušťka filmu. Při kalibraci byla uvažována i reabsorbce. Na obr. 5-102 je schéma kalibrační konfigurace a na obr. 5-103 je postup kalibrace.



Obr. 5-103 Konfigurace pro pořízení kalibračního snímku [35].



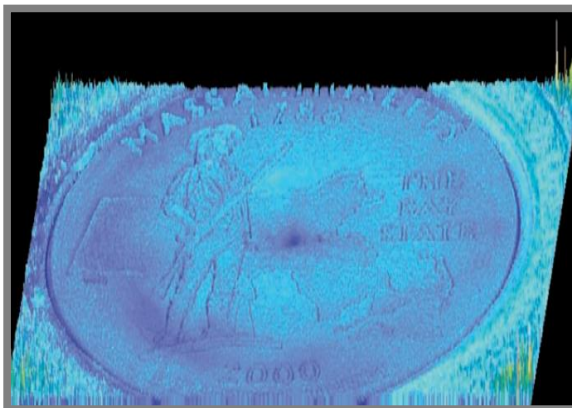
Obr. 5-102 Postup vyhodnocení kalibračních snímků pro více

autor v práci dobře popsal vyhodnocení tloušťky filmu se vstupy s více fluorescentními barvivy. V práci byly změřeny tloušťky filmu v rozsahu 5 – 400 μm s chybou cca 1%. U tlouštěk nad 5 μm (v práci označeno jako opticky tvrdé systémy) je třeba reabsorbci při vyhodnocování uvažovat, protože značně ovlivňuje výsledky,

avšak pro tloušťky pod $5 \mu\text{m}$ (v práci označeno jako opticky měkké systémy) jsou výsledky reabsorbce téměř neovlivněné a lze reabsorbci zanedbat. Autoři pomocí fluorescenční mikroskopie zmapovali povrch mince, viz obr. 5-104 a 5-105.

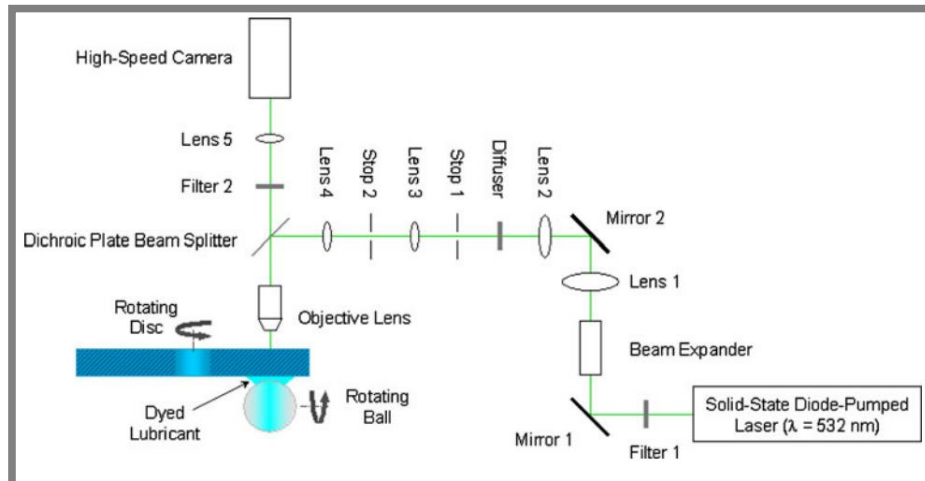


Obr. 5-105 Topografie povrchu mince [35].



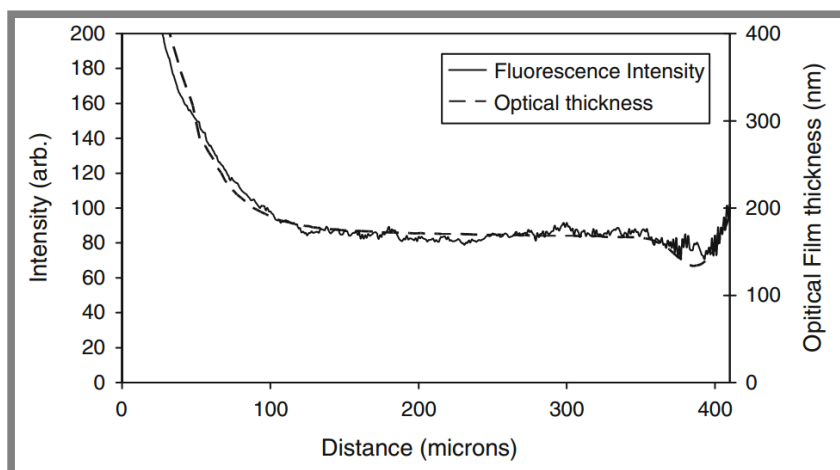
Obr. 5-104 Topografie povrchu mince [35].

Fluorescenční mikroskopie lze využít i ke zkoumání formování mazacího filmu. Touto problematikou se zabývá T. Reddyhoff a kol. [36] ve své práci zveřejněné roku 2010. Použil tuto metodu na zkoumání formování mazacího filmu, aby potom bylo možné predikovat součinitel smykového tření. Experimenty byly prováděny na tribometru typu ball-on-disk, kdy kulička byla ocelová a disk skleněný. Konfigurace experimentálního zařízení je zobrazena na obr. 5-106.



Obr. 5-106 Konfigurace měřicího aparátu [36].

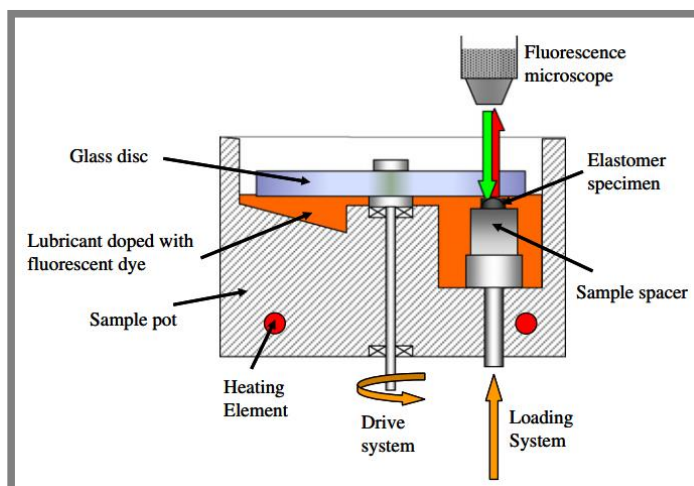
Zátěžná síla byla použita 20 N a mezi kuličkou a diskem bylo nastaveno čisté valení s rychlostí 75 mm/s. Jako mazivo byl použit glycerol, do kterého bylo přidáno fluorescenční barvivo eosin o koncentraci 0,04 hm%. Teplota při experimentu byla 23°C. Jako excitační zdroj světelného záření byl použit laser o vlnové délce $\lambda = 532 \text{ nm}$. V první fázi experimentu byla provedena kalibrace pomocí optické interferometrie, kdy byla použita stejná konfigurace zařízení se stejnými podmínkami, a byly naměřeny tloušťky filmu. K naměřeným tloušťkám byly následně přiřazeny intenzity emitovaného záření při experimentu pomocí fluorescenční mikroskopie, viz obr. 5-107.



Obr. 5-107 Průběh tloušťky filmu v kontaktu v ose y v závislosti na intenzitě emitovaného záření, kalibrace [36].

Dále byla pozorována tvorba mazacího filmu v kontaktu. Postupně bylo do kontaktu přidáváno mazivo s příměsí fluorescenčního barviva a byla pozorována hranice, kde se dělí obarvené a neobarvené mazivo.

Téhož roku byla vydána další práce ze stejného institutu Imperial college, avšak autorem byl C. Myant a kol. [37]. Práce byla zaměřena na ATMF v poddajném kontaktu. Konfigurace tribometru použitého pro experimenty byla pin-on-disk, kdy pin tvořil elastomerový (PDMS) polokulový vzorek o poloměru 12,7 mm a disk byl skleněný. Schéma konfigurace tribometru je ukázáno na obr. 5-108.

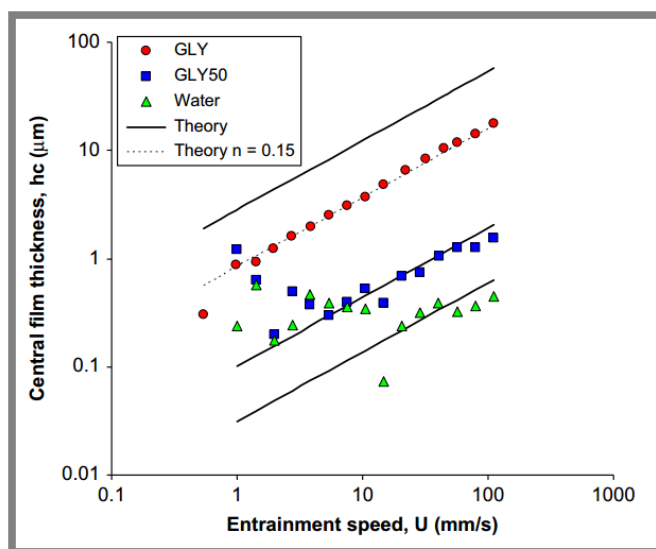


Obr. 5-108 Konfigurace experimentálního zařízení [37].

Zatížení použité při experimentu bylo nastaveno na 40 mN a kluzná, resp. unášivá rychlost se pohybovala v rozsahu 1 – 100 mm/s. Stejně jako v předchozí práci byl jako excitační zdroj záření použit laser o vlnové délce $\lambda = 532$ nm. Teplota zaznamenaná při měření byla 22 °C. Byly použity 3 konfigurace maziva, čistý glycerol, dále glycerol naředěný destilovanou vodou v poměru 1:1 a čistá destilovaná voda. Do těchto maziv byla vždy přidána fluorescenční barviva o koncentraci 0,4 hm%. Experiment byl prováděn při plně zaplaveném kontaktu. Kalibrace byla provedena na rozdíl od

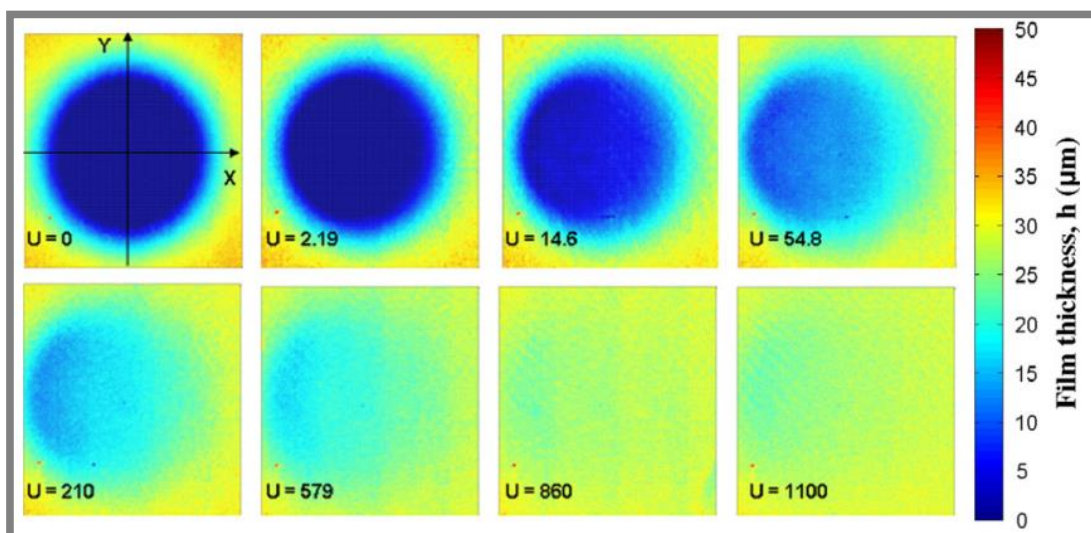
předchozích prací přímo na kontaktu, který byl posléze měřen, tudíž byly eliminovány všechny případné nepřesnosti vnášené do měření.

Byla stanovena závislost centrální tloušťky mazacího filmu na unášivé rychlosti, kdy pro čistý glycerol je tato závislost zcela lineární, avšak u zbylých dvou maziv tato závislost lineární není, viz obr. 5-109. Je to jev nejspíše způsobený viskozitou. Byla provedena predikce centrální tloušťky mazacího filmu a následně byly naměřené hodnoty s touto predikcí srovnány.



Obr. 5-109 Závislost centrální tloušťky mazacího filmu na unášivé rychlosti, srovnání predikce a experimentu [37].

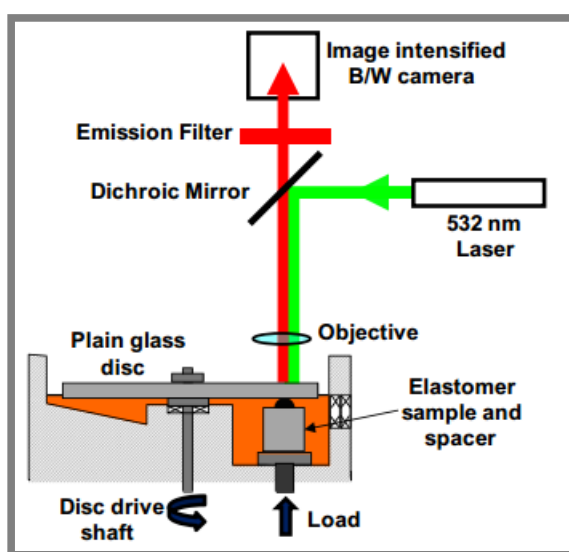
Na obr. 5-110 jsou znázorněny snímky kontaktní oblasti se zvyšující se kluznou rychlostí, resp. závislost tloušťky mazacího filmu na kluzné rychlosti.



Obr. 5-110 Závislost tloušťky mazacího filmu na zvyšující se unášivé rychlosti [37].

Další dvě práce jsou opět ze stejného pracoviště Imperial college v Londýně a na obou spolupracoval autor C. Myant a s ním M. T. Fowell. Obě práce byly zveřejněny roku 2014. První práce [38] použila zařízení o stejné konfiguraci jako v předešlé práci [37],

pin-on-disk, kdy pin je vzorkem z PDMS a disk z optického skla BK7. Zaměření práce bylo na pozorování efektu rostoucího nebo klesajícího zrychlení. Proto byly stanoveny dvě testovací sekvence, a to sekvence startovací a sekvence náhlého zastavení. Tyto případy poskytují konfigurace testu s kladným a záporným zrychlením maziva v kontaktu. Při startovací sekvenci bylo nastaveno zrychlení od $5 \text{ mm} \times \text{s}^{-2}$ do $1000 \text{ mm} \times \text{s}^{-2}$. V případě experimentu se sekvencí náhlého zastavení byl disk nejdříve roztočen tak, aby v kontaktu nastala unášivá rychlost od 10 mm/s do 75 mm/s. Disk byl ponechán v běhu několik minut, čímž se vytvořil a stabilizoval mazací film. Následně byl z uvedené rychlosti náhle zastaven motor a byly pozorovány děje, které následovaly. Kontakt byl vždy zatížen silou 0,8 N, což vyvozovalo tlak 0,3 MPa. Zaznamenaná teplota při experimentu byla 22°C . Schéma experimentálního zařízení je na obr. 5-111.



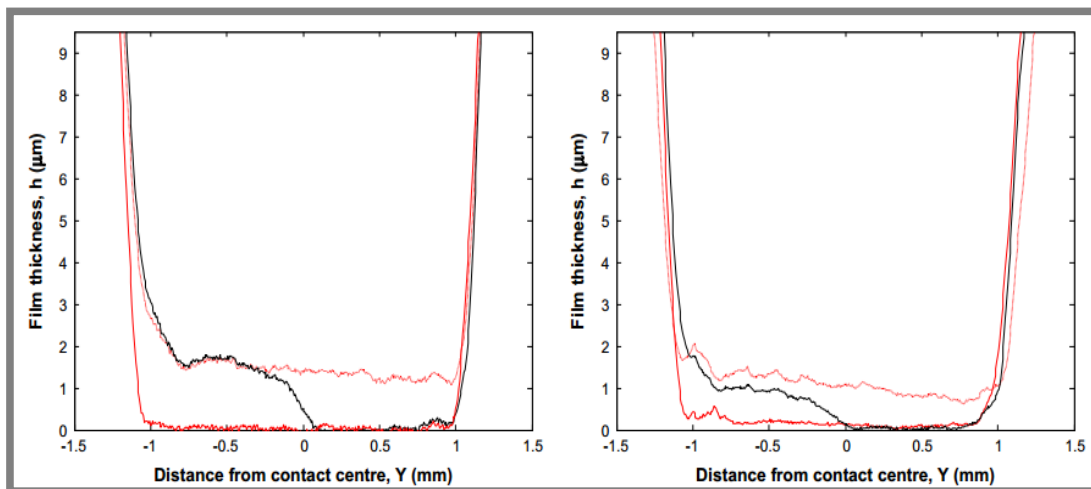
Obr. 5-111 konfigurace experimentálního zařízení [38].

Jedním z cílů této práce bylo stanovit vhodnou koncentraci fluorescenčního barviva tak, aby nebyla intenzita záření od šumu pozadí větší než intenzita záření pozorovaného jevu, resp. maziva. S tímto předpokladem lze následně docílit relevantních a přesných výsledků. Aby byl tento předpoklad podpořen, byl použit fotoaparát, který má nízkou hladinu šumu na pozadí. Jako mazivo byl použit opět glycerol, který byl ředěn s vodou v poměru 9:1. Glycerol je pro fluorescenci vhodný, protože má vhodnou polaritu a lze v něm rozpouštět různá fluorescenční barviva. Bylo zjištěno, že při startovací sekvenci lze probíhající děje v kontaktu rozdělit do 4 fází:

- Prvotní kontaktní deformace – dochází k ní okamžitě po roztočení disku a trvá asi 0,3 s. Tloušťka filmu se nemění, mění se pouze tvar kontaktu.
- Separace povrchů – tloušťka filmu narůstá skokově.
- Tvorba plného filmu – plný film se vytvoří, když projde čelo vlny skrz kontakt. Následně dochází k nárůstu tloušťky filmu.
- Relaxace filmu – tloušťka filmu se stabilizuje.

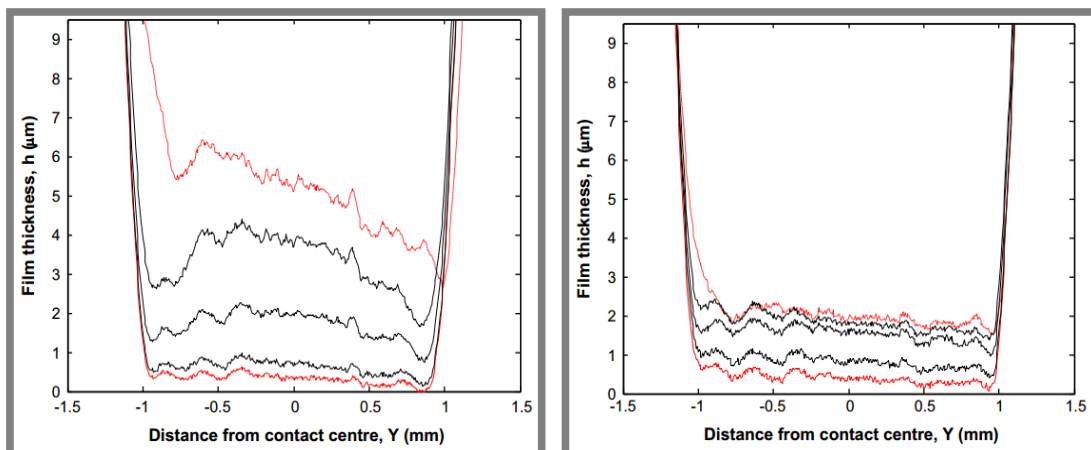
Na obr. 5-112 je zobrazena závislost tloušťky filmu v kontaktu na počátku a na konci děje při zrychlení $5 \text{ mm} \times \text{s}^{-2}$ a $1000 \text{ mm} \times \text{s}^{-2}$ v ose y. Červená křivka reprezentuje stav

na počátku a na konci děje, resp. s nulovou rychlostí a s maximální rychlostí. Černá křivka reprezentuje vlnu procházející kontaktem.



Obr. 5-112 závislost tloušťky filmu na průřezu kontaktem v ose y. Vlevo pro zrychlení $1000 \text{ mm} \times \text{s}^{-2}$, vpravo pro zrychlení $5 \text{ mm} \times \text{s}^{-2}$ [38].

Při experimentu se sekvencí náhlého zastavení byla pozorována prudká změna tvaru i tloušťky mazacího filmu, v krátkém intervalu téměř ihned (cca po 0,065 s) po zastavení motoru. Tato změna je graficky znázorněna na obr. 5-113 a 5-114. Obr. 5-113 znázorňuje experiment s počáteční rychlostí 75 mm/s a obr. 5-114 s počáteční rychlostí 10 mm/s. Červené křivky opět reprezentují počáteční a konečný stav a křivky černé reprezentují postupné snižování tloušťky filmu.

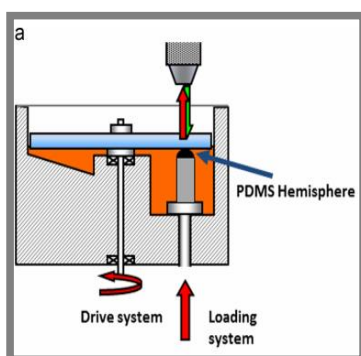


Obr. 5-114 Průběh snižování tloušťky filmu při náhlém zastavení, počáteční rychlost 75 mm/s [38] Obr. 5-113 Průběh snižování tloušťky filmu při náhlém zastavení, počáteční rychlost 10 mm/s [38]

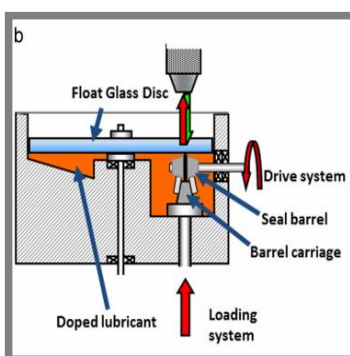
Druhá uvedená práce z roku 2014 z pracoviště Imperial college, jejímž autorem je M. T. Fowell a kol. [38] se zaměřuje na optimalizaci optického systému, aby bylo možno měřit i malé tloušťky filmů. Práce uvádí, že lze na měřicím aparátu zkoumat tloušťky filmu od 50 nm do 100 μm . Byly sestaveny 3 konfigurace experimentálního zařízení:

- Bodový kontakt – klasická konfigurace pin-on-disk, kde pin je polokoule z PDMS s poloměrem 12,7 mm a disk skleněný. Obr. 5-115.
- Eliptický kontakt mezi skleněným diskem a elastomerovým O-kroužkem (FKM). Jedná se tedy o nekonformní kontakt. Poloměr o-kroužku v ose x 10,4 mm a v ose y 1,31 mm. Eliptický kontakt měl pak parametr elipticity $a/b = 3,9$. Obr. 5-116
- Eliptický kontakt mezi skleněnou čočkou o podobném zakřivení jako o-kroužek. Jedná se o konformní kontakt, kde čočka je zakřivena pod poloměrem 12,96 mm a o-kroužek 10,4 mm. Parametr elipticity kontaktu se pak rovná $a/b = 10,6$. Obr. 5-117.

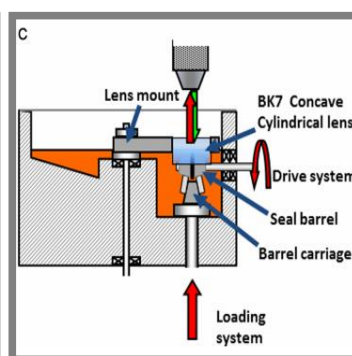
Všechny uvedené konfigurace použité při experimentu jsou zobrazeny na obr. 5-115, obr. 5-116 a obr. 5-117.



Obr. 5-117 Konfigurace PDMS pin proti skleněnému disku [39].



Obr. 5-116 Konfigurace O-kroužek proti skleněnému disku [39].



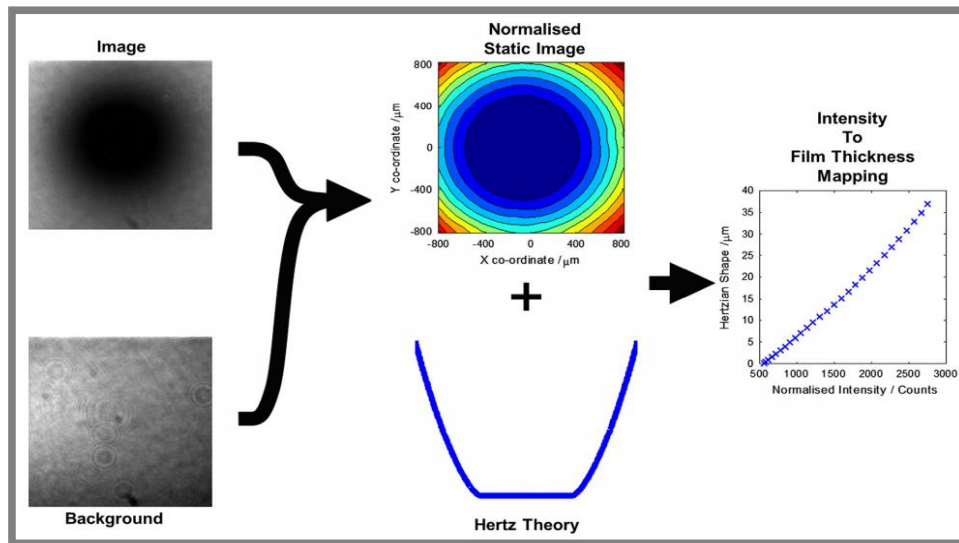
Obr. 5-115 Konfigurace O-kroužek proti konformně zakřivené čočce [39].

Jako mazivo byla opět použita směs glycerolu s destilovanou vodou a to v poměru 75 hm% glycerolu a 25 hm% vody. Do této směsi bylo přidáno fluorescenční barvivo Rhodamine 6G a to v koncentraci 0,01 hm%. Teplota při experimentu byla 25°C. Přehled konfigurací kontaktu je k nahlédnutí v tab. 2-118.

Tab. 5-118 Konfigurace kontaktu experimentů [39].

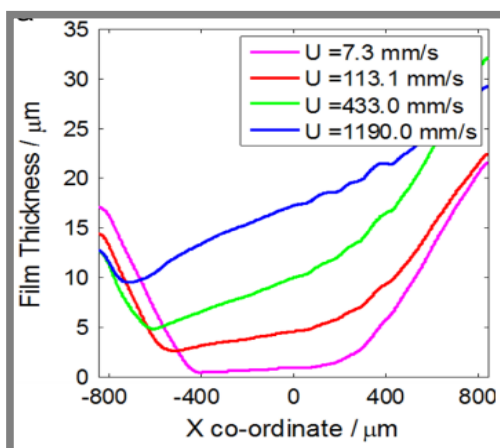
Konfigurace	Podmínky		Kontaktní parametry		Parametry elastomeru		
	Rychlost [mm/s]	Zatížení [N]	a/b	P [kPa]	Typ	E [MPa]	Ra [nm]
Polokoule-disk	2,4 – 1190	23,5	1	89	PDMS	3,8	< 10
Polokoule-disk	2,4 – 221	11	1	69	PDMS	3,8	< 10
O-kroužek-disk	5,5 – 1080	5400	3,9	2100	FKM	7,3	800±50
O-kroužek-čočka	9,8 – 105	4800	10,6	1400	FKM	7,3	800±50
O-kroužek-čočka	9,8 – 105	3630	10,6	1300	FKM	7,3	800±50

Postup získání tloušťky mazacího filmu z fluorescenčních obrazů je schematicky znázorněn na obr. 5-119.

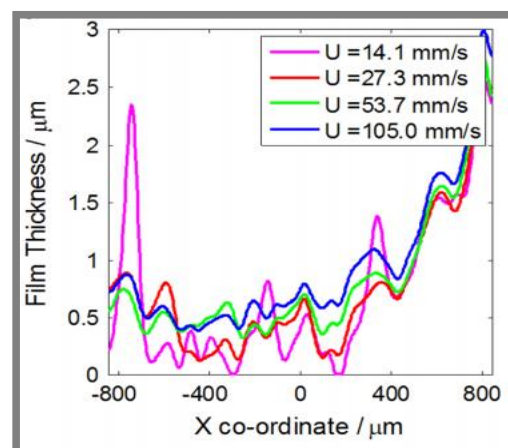


Obr. 5-119 Schematicky znázorněný postup pro získání tloušťky mazacího filmu z fluorescenčních snímků [39].

V případě bodového kontaktu PDMS polokoule proti skleněnému disku je mapa mazacího filmu ve tvaru půlměsíce. Na rozdíl od EHD režimu nebyly pozorovány žádné boční laloky u ztenčeného filmu. U dvourozměrných kontaktů byla potvrzena oblast výstupní konstrikce, resp. ztenčení filmu na výstupu. Nebyla zjištěna konstantní tloušťka centrálního filmu, namísto toho byl zjištěn konvergující klín. Pokud je tento klín významný, jde použít teorie HD mazání. U eliptického kontaktu, při čistém valení je centrální film poměrně konstantní, ale nachází se velmi blízko bodu samotného kontaktu. Zjištěná tloušťka maziva byla podstatně menší než teoreticky předpovězená. Konformní kontakt o-kroužek proti skleněné čočce nevykazuje ve filmu oblast redukce filmu na okrajích kontaktu a mapa tloušťky filmu odhalila nespojitosti filmu v kontaktní oblasti. Při rozběhu dojde v kontaktu k poklesu tloušťky maziva a vznikne drsnější povrch, což následně způsobuje nárůst HD tlaku v kontaktu. Na obr. 5-120 a 5-121 jsou zobrazeny zjištěné tloušťky filmu pro různé rychlosti.



Obr. 5-121 Zjištěné tloušťky mazacího filmu pro různé rychlosti, polokoule – sklo, zatížení 23,5 mN [39].



Obr. 5-120 Zjištěné tloušťky mazacího filmu pro různé rychlosti, o-kroužek – skleněná čočka, zatížení 4,8 N [39].

6 ANALÝZA, INTERPRETACE A ZHODNOCENÍ POZNATKŮ ZÍSKANÝCH NA ZÁKLADĚ KRITICKÉ REŠERŠE

6

Klouby jsou u živých organismů jednou z nejdůležitějších částí pohybového ústrojí. Kloub je sestaven ze dvou styčných ploch, resp. ze dvou kostí zakončených chrupavkami. Toto spojení zajišťuje jejich vzájemný pohyb a přenos zatížení, a to téměř bez odporu. Samotná tkáň chrupavky tvoří nejdůležitější část synoviálního kloubu. Jako všechny pohyblivé části ve strojích, tak i v organismech je třeba je v průběhu jejich života mazat, aby se omezilo jejich opotřebení, a tak se prodloužila jejich životnost. Funkci maziva plní v synoviálním kloubu synoviální kapalina, kterou tvoří směs vody, proteinů a dalších látek. Bohužel, postupem času se i tkáň chrupavky opotřebí, stárne, nebo onemocní a dochází k její degradaci, čímž dojde ke zhoršení mazacích vlastností. Pokud dojde k degradaci chrupavky onemocněním do takové míry, že kloub přestane zcela plnit svoji funkci, přistoupí se k jeho náhradě totální endoprotézou.

Úkolem výzkumu v této oblasti je porozumět mazacím procesům, které v synoviálním kloubu nastávají. S pojmem mazání synoviálního kloubu úzce souvisí i další pojmy, jako jsou tření, opotřebení, tloušťka mazacího filmu atd. V předchozí kapitole byly představeny problémy, které byly v této oblasti řešeny, způsoby, jakými autoři dané problémy vyřešili a k jakým závěrům se pomocí svých experimentů dopracovali.

První práce, které se zabývaly problematikou tribologie, resp. biotribologie v oblasti tkáně chrupavky, zkoumaly tření a opotřebení v různých kontaktních dvojicích. Podmínky byly vždy nastaveny podobné, jako byly zjištěny v reálném synoviálním kloubu; zatížení tak, aby na styku vznikala kontaktní tlak maximálně 18 MPa, jako se děje při špičkách v kyčelním kloubu [8]. Dále teploty blízké se teplotě v živém organismu a smykové rychlosti také podobné, jako se vyskytují v reálných kloubech. Práce se mezi sebou liší zejména nastavovanými podmínkami pro experimenty, kde je následně zkoumán vliv různých vstupních parametrů na výsledky.

6.1 Výzkum v oblasti tribologických vlastností synoviálního kloubu

6.1

6.1.1 Vliv použitého maziva na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu

6.1.1

V práci [11] autor testoval kontaktní dvojici tvořenou vzorkem chrupavky proti kovovému disku a byla zjištěna rostoucí závislost součinitele smykového tření na čase, kterou následně potvrdily i další práce [12, 13, 15, 17, 18, 25, 28 a 30]. Dále v této práci autor zjistil, že nejmenší součinitel smykového tření se vykytuje v kontaktu za použití synoviální kapaliny, což opět podpořila další práce [12]. V práci [12] bylo zjištěno, že při navyšování zatěžující síly při stejných podmínkách klesá COF. Tento výsledek byl zjištěn i dalšími pracemi [13, 15, 17, 18, 22 a 23]. U dalších prací byl zkoumán vliv použitého maziva na výsledný součinitel smykového tření či opotřebení. V práci [14] autoři prováděli experimenty s viskosuplementací. Výsledky ukázaly, že kyselina hyaluronová (HA) snižuje tření, ale ještě lepší výsledky byly zjištěny při kombinaci HA a dipalmitoylfosfatidylcholinu (DPCC), a to cca o 10 %. Závěr, že HA snižuje součinitel smykového tření, potvrdil i článek [30]. Zkoumání vlivu maziva na tribologické vlastnosti kontaktu proběhly i se vzorky hydrogelů. V práci [15] byl pozorován dopad procentuálního zastoupení proteinů albumin a γ -globulin v mazacím

roztoku na součinitel smykového tření. Zde bylo zjištěno, že zastoupení γ -globulinu v mazacím roztoku má větší vliv než zastoupení albuminu.

6.1.2 Vliv stavu vzorků tkáně chrupavky na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu

Práce [13] popisuje vliv regenerované chrupavky na součinitel smykového tření. Autor uvádí, že s rostoucí dobou regenerace chrupavky se součinitel smykového tření snižuje díky narůstající hydrofilní vrstvě na povrchu chrupavky. Další práce [16 a 22] se zabývají vyšetřováním synoviálních kloubů postižených onemocněním osteoartritidou (OA). V práci [16], kde byly testovány kolenní klouby morčat, bylo zjištěno, že mezi plně zdravými klouby a mírně poškozenými klouby onemocněním není žádný zásadní rozdíl v naměřených hodnotách součinitele smykového tření. Rapidní zvýšení součinitele smykového tření nastane až při velkém rozsahu onemocnění. Podobné závěry autor uvádí i v práci [22], kde byly zkoumány synoviální klouby koní s různým stádiem OA. Autor potvrzuje, že při vyšším věku jedince vykazují klouby rozsáhlejší poškození od OA a nastává zvýšení součinitele smykového tření. Práce [24] uvádí rozdíly mezi vzorky odebranými z různých míst kolenní chrupavky. Pokud je vzorek odebrán z části, která je v průběhu života jedince častěji zatěžovaná, vykazuje tento vzorek nižší součinitel smykového tření než vzorky odebírané z částí chrupavky, které jsou celý život téměř bez zátěže. Tyto závěry potvrzuje i práce [23]. V práci [27] je zkoumán vliv volby materiálu pro kontakt se vzorkem tkáně chrupavky. Bylo zjištěno, že nejmenší poškození vykazuje vzorek chrupavky tehdy, když je v kontaktu se sklem, či broušenou ocelí CoCr s vysokým obsahem uhlíku. Pokud je použita ocel s nižším obsahem uhlíku, opotřebení chrupavky roste a pokud je použit vzorek oceli s vyšší drsností povrchu, opotřebení chrupavky se zvýší rapidně.

6.1.3 Vliv druhu pohybu při experimentu na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu

Některé práce se zabývají vlivem druhu pohybu mezi vzorky při experimentu. Práce [28] srovnává pohyb reciproční, kdy vzorek rotuje kolem své vlastní osy o hodnotu $\pm 10^\circ$ a pohyb reciproční, kdy vzorek rotuje s výchylkou taktéž $\pm 10^\circ$, ale kolem osy vzdálené 25 mm od osy vzorku, resp. pohyb translační. Autor zjistil, že menší součinitel smykového tření vykazuje kontakt, kdy je pohyb mezi vzorky spíše translační než recipročně rotační, ale pouze v případě, když je kontakt zaplaven mazivem. Pokud je kontakt suchý, závěry jsou opačné. Práce [25] zkoumá vliv kluzné rychlosti na součinitel smykového tření, kdy bylo zjištěno, že menší součinitel smykového tření vykazují kontakty s vyšší smykovou rychlostí. Stejný závěr uvedl i autor v práci [29], kde ho i vysvětluje pomocí teorie zvyšujícího se HD tlaku v kontaktu při vyšších kluzných rychlostech.

6.1.4 Vliv velikosti vzorků tkáně chrupavky na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu

V práci [29] je zmíněn experiment se vzorky různých průměrů. Závěr je takový, že při překročení minimální hodnoty průměru vzorku dojde k nárůstu součinitele smykového tření. V tomto případě to byl vzorek o \varnothing 6 mm. Průměr vzorku by měl být vždy větší, než kontaktní oblast jím vyvozená.

6.1.5 Vliv materiálů v kontaktu synoviálního kloubu s tkání chrupavky na součinitel smykového tření

6.1.5

V práci [25] byly zkoušeny různé kombinace kontaktních dvojic, ale vždy alespoň jeden ze vzorků byl z tkáně chrupavky. Byly testovány dvojice hliníková slitina proti chrupavce a chrupavky proti chrupavce. Nižší součinitel smykového tření byl vždy naměřen v kombinaci chrupavka na chrupavku. V práci [26] byla testována kontaktní dvojice sestavená ze vzorků hydrogelu a chrupavky. Byly testovány hydrogely s různou délkou uhlíkových řetězců a následně bylo vyhodnocováno opotřebení jednotlivých konfigurací. Bylo zjištěno, že nejnižší opotřebení vykazují hydrogely s nejdelšími uhlíkovými řetězci. Práce [18] byla zaměřena na odůvodnění, proč se COF s rostoucím časem testování zvyšuje. Byl vyhodnocován obsah glykosaminoglykanů (GAG) před a po experimentu. Bylo zjištěno, že při nižším obsahu GAG kontakty vykazují vyšší součinitel smykového tření.

6.1.6 Vliv rehydratace tkáně chrupavky na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu

6.1.6

Důležitým jevem zmíněným v pracích je rehydratace, při níž tkáň chrupavky nasává mazivo z okolní lázně. Tuto problematiku uvádí práce [24, 25 a 29]. V práci [24] autor tento jev simuluje odlehčením kontaktu po každém cyklu, tudíž vždy dojde k nasátí maziva zpět do tkáně chrupavky. Autorovy výsledky ukazují, že rehydratace má záporný vliv na součinitel smykového tření. Opačná tvrzení však uvádí práce [25 a 29]. V práci [25] tímto jevem autor vysvětluje snížení součinitele smykového tření při použití vzorku chrupavky na pozici disk a pin kovový místo konfigurace opačné, která vykazovala součinitel smykového tření větší. Práce [29] uvádí taktéž, že rehydratace má kladný vliv na součinitel smykového tření.

6.1.7 Vliv metodologie odběru tkáně chrupavky na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu

6.1.7

Autoři ve svých pracích zmiňují i původ vzorků pro experimenty. Většina autorů odebírala vzorky chrupavek z kolenního kloubu skotu [17, 18, 23 - 29], některé práce se zabývaly zkoumáním chrupavek jiných zvířat, např. koňských [22], v práci [13] byly testovány chrupavky japonského králíka a v práci [16] kloubní chrupavky morčete. V některých pracích se testují i lidské chrupavky [12]. Stěžejním problémem při odběru vzorků je následná možnost vzorky uchovat, aniž by ztratily své vlastnosti, a tím ovlivnily získané výsledky. Většina autorů vzorky odebírala do několika hodin po porážce jedince a vyrobené vzorky uchovávala ve zmraženém stavu v roztoku PBS [18, 25, 26 a 28] při teplotách $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Byly uvedeny studie [20 a 21], které dokazují, že při zamražení vzorků v PBS nedochází k jejich degradaci a změnám vlastností, které by ovlivňovaly výsledky. Autor v práci [30] vzorky skladoval taktéž zamražené, ale v roztoku Ringer' solution při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. I zde své postupy obhajuje dalšími pracemi [31 a 32], které dokazují, že nedojde k degradaci vzorků při zmrazení a rozmrazení vzorků, a nedojde tedy k ovlivnění výsledků.

6.2 Výzkum v oblasti mazání synoviálního kloubu

6.2

Některé práce se zaměřují kromě experimentů s chrupavkou zaměřených na tření také na kvantifikaci jevů odehrávajících se v kontaktu chrupavky a následné dedukce a stanovení teorií, které se snaží co nejdříve popsat a vystihnout režimy mazání,

keré mohou nastávat v kontaktu chrupavky. Na tribologické chování, resp. režim mazání má vliv mazadlo, v případě reálných kloubů je to synoviální kapalina, dále podmínky a velký vliv má také struktura a stavba samotné chrupavky.

6.2.1 Struktura tkáně chrupavky

Chrupavka je bifázový materiál s většinovým podílem vodní fáze. Pevnou matici tvoří kolagenová vlákna a proteoglykany. V režimu mazání hraje nejdůležitější roly nasákavost a natlakování tkáně chrupavky. Tyto vlastnosti jsou následně klíčové pro stanovení režimů, které v kontaktu nastávají spolu se složením synoviální kapaliny. Struktura tkáně chrupavky je pórovitá a umožňuje určitým způsobem průtok synoviální kapaliny skrz tkáň. Matrice tkáně chrupavky je složena z kolagenových vláken, které jsou zapleteny do proteoglykanů, a tato kombinace vytváří vysokou elektronegativitu, resp. vysoce hydrofilní směs, která následně váže kyselinu hyaluronovou (HA) na povrch chrupavky a přitahuje vodu a molekuly s malou molekulovou hmotností dovnitř chrupavky. Nasáknutá kapalina následně natlakovává tkáň chrupavky a udržuje strukturu v tahovém režimu, kde má lepší mechanické vlastnosti.

6.2.2 Natlakování a proudění maziva v tkáni chrupavky

Natlakování je závislé na průtoku kapaliny skrz tkáň chrupavky, které popisuje autor v práci [40]. V práci je popsán experiment, z kterého následně autor dedukoval teorii, jakým způsobem je řízen průtok kapaliny skrz tkáň chrupavky. Při deformaci má chrupavka v různých fázích odlišné moduly pružnosti, což je způsobeno vytlačněním kapaliny z tkáně a styku samotné struktury chrupavky, resp. kolagenových vláken mezi sebou. Po vytlačnění veškeré kapaliny z tkáně chrupavky dochází ke styku povrchů chrupavky, resp. gelové vrstvy, která ulpívá na povrchu chrupavky.

6.2.3 Režim mazání v synoviálním kloubu

V dnešní době existuje již několik teorií, které se snaží popsat a objasnit jevy, které v kontaktu synoviálního kloubu nastávají. V minulosti byly představeny zejména dvě teorie, které se snažily popsat režim mazání, a to režim weeping a boostet [41 a 42]. Oba tyto režimy jsou založeny na vytlačování a proudění kapaliny z a skrz tkáň chrupavky. Zmíněný režim mazání weeping autor popisuje v práci [41 a 42] spolu s dalším režimem boostet, které se od sebe liší v orientaci směru proudění kapaliny. Další stěžejní prací v této oblasti je jedna z nejnovějších prací od Murakami a kol. [44]. Autor v práci uvádí další teorie režimů mazání, které mohou vznikat v kontaktu chrupavky. Jsou zaměřeny především na nízké, nebo nulové rychlosti v kontaktu. Uvádí několik režimů mazání, které jsou v oblasti boundary režimu. Nazývá je multimode režim mazání, který se podle nastalých podmínek v kontaktu mění do několika variant:

- Teorie mazacího režimu weeping

Režim weeping je založen na podobném principu jako je hydrostatické mazání u klasických ložisek, kde je do kontaktu vháněno mazivo vnějším zdrojem. Vnější zdroj je v případě chrupavky samotná tkáň, která uvolňuje při stlačování kapalinu do kontaktu, a tak je mezi styčnými povrchy generován mazací film o určité tloušťce.

- Teorie mazacího režimu boostet

Druhý zmíněný režim boostet je založen na podobném principu, ale je uváděno, že struktura chrupavky propouští pouze kapaliny a molekuly s nízkou molekulovou hmotností a ostatní látky zůstávají zachyceny na povrchu chrupavky a tvoří gelový hraniční film, který chrupavku chrání před porušením a opotřebením. Tento film je tvořen převážně kyselinou hyaluronovou.

- Teorie mazacího režimu adaptivní multimode

Adaptivní multimode režim mazání vychází z již dříve zmíněného režimu weeping, jen s tím rozdílem, že tento režim se zaměřuje na menší, elementárnější, kontaktní oblast, která je v rámci již popsané teorie režimu weeping. Tento režim popisuje samotný kontakt jednotlivých, stýkajících se výstupků. Schéma je zobrazeno na obr. 6-1. Jak již bylo řečeno, tento adaptivní režim mazání se mění podle okamžitých podmínek nastalých v kontaktu synoviálního kloubu. Oblast multimode režim mazání se pohybuje v rámci oblasti režimu weeping, tedy při podmínkách s malými smykovými rychlostmi, nebo v případě kdy je smyková rychlost nulová. Autor v práci [44] uvádí, že při malých smykových rychlostech a zatíženích mohou nastat tyto režimy:

- Gel-film režim mazání

Dochází ke styku povrchů chrupavky, které jsou opatřeny gelovou vrstvou, resp. dochází ke styku této gelové vrstvy. Tato povrchová gelová vrstva je tvořena zejména kyselina hyaluronovou, která má velké molekuly a vysokou molekulovou hmotnost. Na povrchu ulpívají i další látky, které mají velkou molekulovou hmotnost a velké molekuly. Tyto látky nejsou vpuštěny do pórů chrupavky. Tato gelová vrstva chrání samotný povrch chrupavky před poškozením.

- Boundary režim mazání

Na gelové vrstvě se zachytává absorbovaný film, který je tvořen zejména protejny. K samotnému kontaktu dochází až na rozhraní těchto absorbovaných filmů.

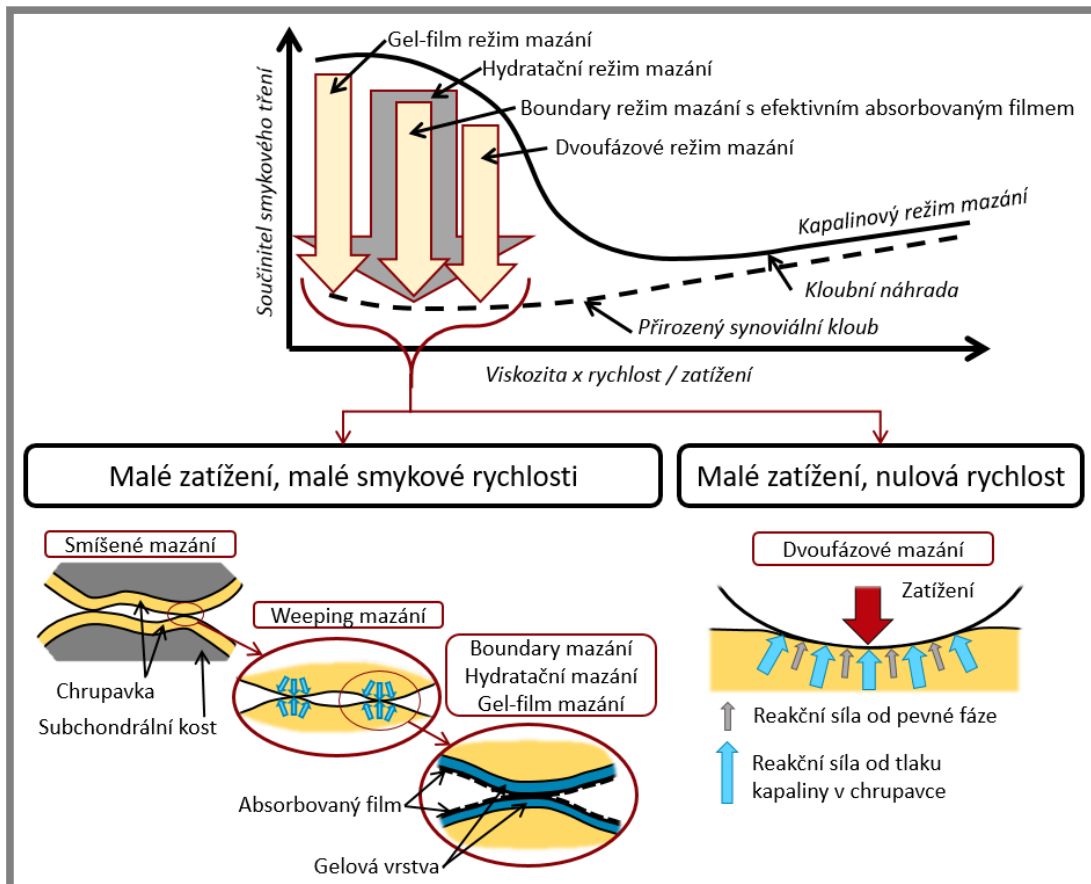
- Hydratační režim mazání

U tohoto režimu nedochází ke styku povrchů chrupavek, protože jsou odděleny mazacím filmem vytvořeným hydratací chrupavky. Princip je podobný jako u režimu weeping, tedy do kontaktu je vytlačována tlaková kapalina z pórů tkání chrupavky. Tento proces v kontaktu generuje mazací film oddělující povrchy chrupavek.

Opět všechny tyto režimy jsou poprány jen okrajově a pouze teoreticky. Nejsou nijak ověřeny. Dále ve stejné práci autor uvádí, že při on/off zatěžování, tedy v případě, kdy se v kontaktu nevyskytuje smyková rychlost, nastává tento mazací režim:

- Dvoufázový režim mazání

V tomto případě dochází ke styku povrchů chrupavek a zatěžující síla je absorbována pomocí dvou reakčních sil. První reakční síla je od pevné matrice chrupavky a druhá reakční síla je od tlaku, který vyvozuje tlaková kapalina uvězněná v pórech chrupavky.



Obr. 6-1 Adaptivní multimode režim mazání [44].

6.2.4 Numerické simulace proudění kapaliny v kontaktu synoviálního kloubu

V práci [44] byly prováděny numerické simulace, které by měli predikovat proudění kapaliny skrz kontakt a tím určovat nastalý režim mazání. Touto problematikou se zabývala i práce [45]. V práci [46] autor popisuje tvorbu mezní gelové mazací vrstvy na povrchu chrupavky pro různá mazadla. Z výsledků vyplývá, že mezní gelovou vrstvou na povrchu chrupavky mohou tvořit jen viskózní kapaliny, které obsahují poměrně velké molekuly s velkou molekulovou hmotností. Tato vrstva utvořená na povrchu chrupavky následně chrání samotný povrch chrupavky před poškozením a opotřebením. Simulacemi se zabývá i práce [42], kde autor uvádí simulaci proudění kapaliny v kontaktu chrupavky při zatěžování a při pohybu se zatížením. Simulace jsou ještě nedokonalé a nezahrnují reálné podmínky při experimentu kvůli problémům s konvergencí numerické úlohy. Další práce [43] zabývající se problematikou mazání kontaktů tvořených chrupavkou je zaměřena na sestavení Stribeckových ploch z naměřených dat z experimentů. Jedná se o naměřený COF, rychlost recipročního pohybu a deformace chrupavky a následné vynesení do 3D grafu. Experimenty byly provedeny s různými konfiguracemi maziv a uchycení vzorků do přístroje. Sestrojené Stribeckovy plochy ukazují strmější přechod mezi režimem boundary a mixed v případě použití PBS roztoku na rozdíl od použití koňské synoviální kapaliny. Další rozdíl je v sestrojených Stribeckových plochách pro pevné uchycení, které umožňuje klínovou mezeru při pohybu a pro částečně volné uchycení, které zaručí vždy kontakt plné plochy vzorku chrupavky, resp. klínová mezeru v kontaktu je eliminována ve všech směrech možného pohybu. Stribeckova plocha pro uchycení, které umožňuje

klínovou mezeru, ukazuje strmější přechod z režimu boundary do režimu mixed, což ukazuje význam hydrodynamického tlaku vzniklého pomocí klínové mezery v kontaktu při režimu mazání v kontaktu chrupavky.

6.3 Vizualizace mazacího filmu pomocí fluorescenční mikroskopie

6.3

Druhá část rešeršní kapitoly se zabývá metodami, kterými lze vizualizovat kontakt tvořený poddajnými materiály a určit tloušťka mazacího filmu u poddajných kontaktů. Mezi poddajné kontakty lze zařadit i kontakty realizované mezi chrupavkami, nebo kontakty, kde alespoň jeden z členů kontaktu je vzorkem chrupavky. Poddajné kontakty mají specifické vlastnosti, kterými následně znemožňují pro vizualizaci kontaktu a analýzu tloušťky mazacího filmu (AFM) použití dalších konvenčních metod. Zejména se jedná o nízký modul pružnosti, nízkou odrazivost povrchu a nízkou elektrickou vodivost. Tyto vlastnosti vylučují použití metod založených na optické interferometrii a metod elektrických. V práci [31] jsou shrnuty všechny dostupné metody pro ATMF. Z jejich závěrů vyplývá, že pro kontakty, kde figuruje chrupavka, jsou vhodné metody založené na principech fluorescenční mikroskopie.

První zmínka o metodě fluorescenční mikroskopie se objevila v práci [32] roku 1974, kde byla měřena tloušťka filmu na samostatně rotujícím válci. Autor uvádí, že je možno touto metodou analyzovat filmy o tloušťkách 0,1 μm až 1 mm. U prvních prací byla jako excitační zdroj záření použita rtuťová lampa [32 a 33] a u novějších prací byl použit laser o vlnové délce $\lambda = 532 \text{ nm}$ [34 - 39]. Důležitý převrat přinesla práce [34] kdy byla zavedena metoda s duální emisí. Je tak možno pozorovat dvě fluoreskující barviva zároveň a určovat poměry jejich emisí. S tímto objevem přichází i určité problémy. Autor tento problém nazývá reabsorbce. Při použití dvou fluorescenčních barviv, které emitují záření v blízkých vlnových délkách, nastává excitace jednoho z barviv kromě excitačního zdroje i zářením, které emituje druhé barvivo. S tímto jevem je třeba počítat při vyhodnocování naměřených dat. V práci [34] autor fluorescenční mikroskopii určuje topografii povrchu. Topografie povrchu je určována z naměřených tlouštěk maziva, které se nachází mezi povrchem měřeného předmětu a sklem na které je předmět přiložen. Je zde také uveden postup kalibrace, který je pro tuto metodu velice důležitý. Kalibrace v této práci vychází z klínové mezery o známé geometrii, kde je možné přiřadit danému bodu tloušťku maziva, resp. intenzitu emitujícího záření. Práce [35] používá pro kalibraci optickou interferometrii. Na tribometru o konfiguraci ball-on-disk byla změřena tloušťka mazacího filmu pomocí optické interferometrie a následně při naprosto shodných podmínkách byla změřena intenzita emitujícího záření pomocí fluorescenční mikroskopie. Po naměření oběma metodami byly tyto dva experimenty porovnány a daným intenzitám byly přiřazeny tloušťky filmu. V pracích [36 - 39] je ve většině případů použit jako mazivo glycerol, důvodem je jeho vhodná polarita, která umožňuje rozpouštět v něm různá fluorescenční barviva. Práce [38] zkoumá jevy odehrávající se v kontaktu při rozběhu a při náhlém zastavení experimentu. Při rozběhu autor uvádí 4 fáze tvorby filmu. V práci [39] jsou zkoumány 3 druhy kontaktů a autor vyhodnocuje procesy mazání, které se na těchto kontaktech odehrávají. Byly použity dva nekonformní kontakty, jeden bodový, druhý eliptický a dále jeden konformní, eliptický. Pro uvedené kontakty byly určeny tloušťky filmu při experimentech s různými rychlostmi.

7 PODSTATA A CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Disertační práce je zaměřena na popis dějů, které se odehrávají v synoviálním kloubu. Práce se bude konkrétně zabývat popisem pohybu částic v mazacím filmu, z čehož bude odvozen popis formování mazacího filmu v kontaktu realizovaného mezi vzorkem tkáně chrupavky a sklem. Jedná se o experimentální práci, která by se měla odehrávat na tribometru konfigurace pin-on-plate. Takto specifické experimentální zařízení není na pracovišti řešitele práce k dispozici, proto musí být toto zařízení v rámci této práce navrženo a realizováno. Zřízení bude koncipováno tak, aby bylo možné při experimentu měřit třecí síly a vyhodnocovat součinitel smykového tření. Dále zařízení musí umožnit vhléd do zkoumaného kontaktu, aby bylo možné kontakt pozorovat a nastalé děje klasifikovat. Podmínky experimentů budou stanoveny na základě podmínek, které se vyskytují v živých kloubech. V kontaktu chrupavky bude zejména hodnocen pohyb maziva, resp. jejich jednotlivých složek a z těchto závěrů budou odvozeny principy formování mazacího filmu. Na základě stávajících prací je zřejmé, že v kontaktu nastane pohyb maziva, i když se kontakt nachází v blízkosti režimu boundary. Díky specifické pórovité struktuře tkáně chrupavky dochází vždy k vytlačování a proudění maziva z a skrz strukturu chrupavky, což zajistí tok maziva i v tomto režimu. Další aspekt, který naznačuje, že v kontaktu synoviálního kloubu bude přítomen mazací film je časová závislost součinitele smykového tření. Při experimentech zmíněných v publikovaných pracích se autoři setkávají s rostoucí závislostí součinitele smykového tření na čase. Pokud by v kontaktu nebyl přítomen žádný mazací film, nedocházelo by ke změně součinitele smykového tření v čase. Tato teorie, resp. přítomnost pohybu maziva v kontaktu chrupavky bude nejdříve ověřena pomocí jednoduchého experimentu a metody fluorescenční mikroskopie. Před zahájením experimentů je ještě třeba navrhnout a ověřit metodologii při odběru vzorků chrupavek a implementovat metodu fluorescenční mikroskopii pro daný specifický kontakt.

Tato práce je nová v tom, že na základě pohybu jednotlivých složek maziva kontaktem popíše formování mazacího filmu v synoviálního kloubu v závislosti na smykové rychlosti, které zatím ještě žádná publikovaná práce nepopsala.

Hlavním cílem disertační práce je popsat formování mazacího filmu při nízkém zatížení a stanovit jeho vliv na smykové rychlosti.

Dílčí cíle disertační práce:

- Návrh, konstrukce a výroba experimentálního zařízení.
- Návrh a ověření metodologie odběru, úpravy a uchování vzorků
- Implementace metody fluorescenční mikroskopie pro daný kontakt
- Experimentální verifikace metody

Výsledkem práce bude popis formování mazacího filmu v synoviálním kloubu na základě popisu pohybu jednotlivých složek maziva při konstantním malém zatížení v závislosti na rostoucí smykové rychlosti. Při experimentech budou zaznamenávány i třecí síly z nichž bude následně vyhodnocován i součinitel smykového tření. Ostatní podmínky experimentu budou stanoveny s ohledem na standardní podmínky, které se vyskytují u živých synoviálních kloubů.

8 VĚDECKÁ OTÁZKA A PRACOVNÍ HYPOTÉZY

Vědecká otázka:

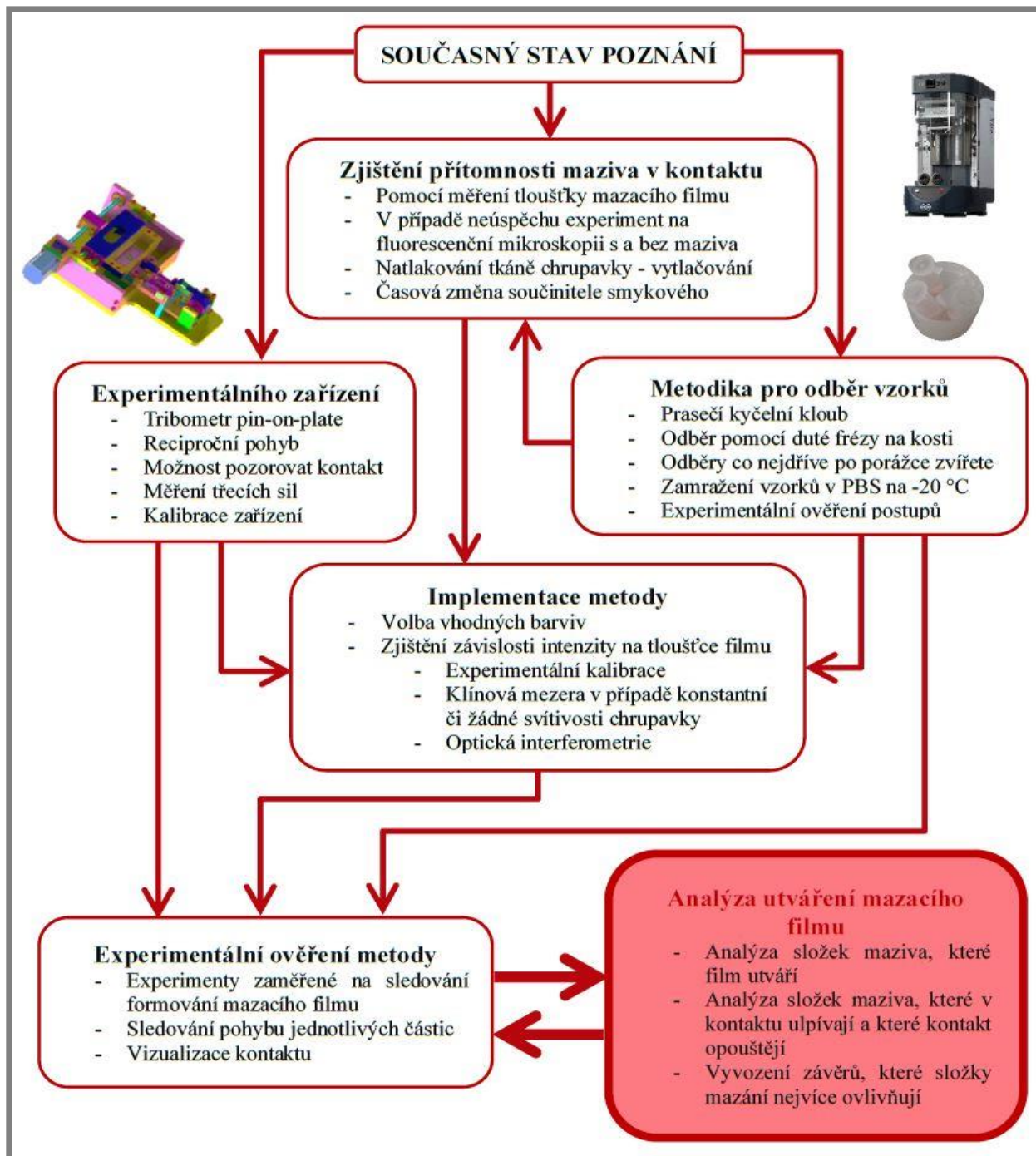
Jaký vliv bude mít kluzná rychlost na utváření mazacího filmu?

Hypotéza:

Podle A. C. Moora [29] struktura chrupavky funguje jako pohlcovač hydrodynamického tlaku, proto lze předpokládat, že se zvyšující smykovou rychlostí bude klesat tloušťka mazacího filmu, což bude mít za následek zvýšení součinitele smykového tření.

9 ZPŮSOB ŘEŠENÍ A POUŽITÉ VĚDECKÉ METODY ZKOUMÁNÍ

Aby byla disertační práce vyřešena a zodpovězeny všechny otázky, je třeba postupně vyřešit jednotlivé kroky. Schéma řešení je zobrazeno na obr. 9-1.



Obr. 9-1 Schéma předpokládaného postupu řešení

Jednotlivé kroky, viz schéma na obr. 9-1, budou teď níže postupně podrobněji popsány a rozebrány, aby bylo konkrétněji nastíněno předpokládané řešení. Budou popsány i další záložní řešení, která jsou uvažována v případě selhání stávajících řešení.

Celé řešení vyplývá ze současného stavu poznání, které je základem pro celou koncepci jednotlivých kroků. První krok má čtyři části, které je možné z velké části řešit nezávisle na sobě, a jsou potřeba ke vstupu do další fáze řešení této práce:

- Experimentální zařízení – návrh a konstrukce experimentálního zařízení, které na pracovišti řešitele této práce není k dispozici
- Metodika pro odběr vzorků – je třeba navrhnout a verifikovat metodiku odběru vzorků, která zaručí relevantnost a opakovatelnost jednotlivých experimentů
- Zjištění přítomnosti maziva v kontaktu – abychom mohli sledovat procesy a pohyb částic, které se odehrávají v kontaktu, resp. v mazacím filmu, je potřeba ověřit, zdali je v kontaktu dostatečná tloušťka maziva.
- Implementace metody – práce uvažuje použití metody fluorescenční mikroskopie, která zatím nebyla použita pro tento typ kontaktu. Je třeba metodu upravit a implementovat pro daný typ kontaktu.

Po splnění těchto 4 kroků lze posunout řešení k nejdůležitější části, a to finální experimentální:

- Experimentální ověření metody – v této fázi proběhnou finální experimenty zaměřené na pozorování pohybu částic a vizualizaci kontaktu za konstantního zatížení a proměnné rychlosti.

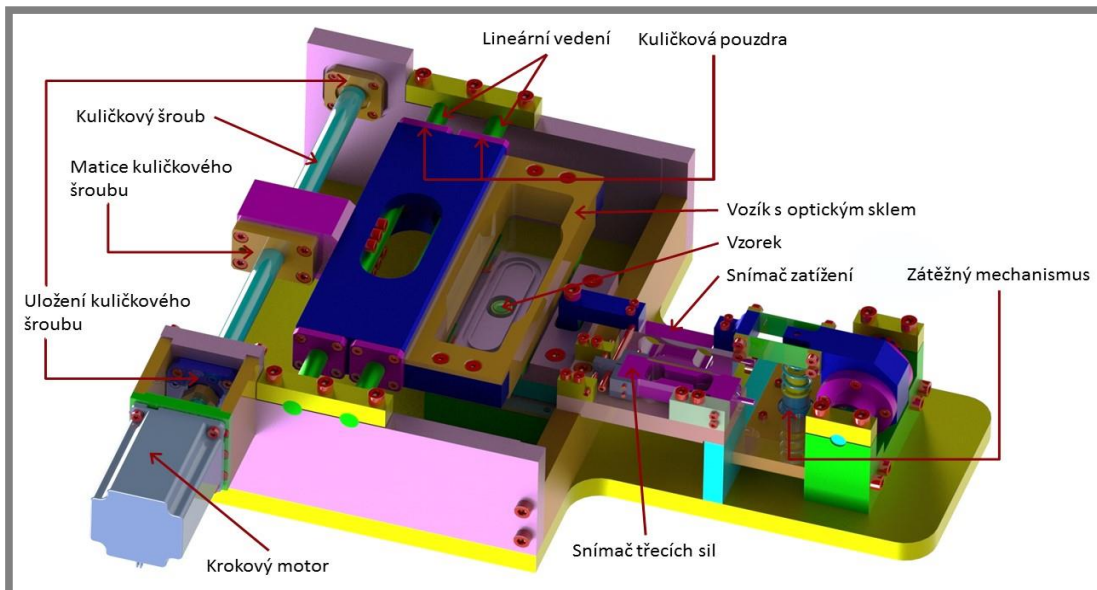
Poslední a nejtěžejší částí je:

- Analýza utváření mazacího filmu – v této fázi budou analyzovány výsledky z experimentální části a budou popsán pohyb jednotlivých složek maziva kontaktem a následně vyvozeny principy, které mazací film utvářejí.

9.1 Experimentální zařízení

9.1

Tento krok řešení patří do první fáze spolu s dalšími dvěma kroky. Na základě zmíněné literatury v kapitole současného stavu poznání bylo zjištěno, že nejvhodnějším zařízením pro testování tkáně chrupavky je tribometr typu pin-on-plate s recipročním pohybem. Tato volba vychází ze skutečných pohybů, které se odehrávají v synoviálních kloubech. Vzorek chrupavky bude umístěn na pozici pin a bude v kontaktu se sklem. Tato volba je nezbytná, protože jedním z požadavků je vizualizace kontaktu, takže je důležité, aby do kontaktu byl vizuální přístup. Reciproční pohyb bude vykonávat skleněná deska a pin bude statický. Zatěžování bude probíhat také přes pin a bude vzhledem k desce umístěn zespod, aby byla možná vizualizace kontaktu shora. Experimenty budou prováděny při zaplaveném kontaktu synoviální kapalinou či modelovými kapalinami a podmínky budou zvoleny tak, aby odpovídaly podmínkám objevujícím v reálných synoviálních kloubech (viz uvedenou literaturu v kapitole 5). Zařízení bude koncipováno tak, aby na něm bylo možné zaznamenávat třecí a zatěžující sílu, resp. vyhodnocovat součinitel smykového tření, vizualizovat kontakt. Zařízení by mělo umožňovat řízení všech vstupních veličin v reálném čase, tzn. možnost řízení zátěže kontaktu, smykové rychlosti, zdvihu a teploty mazací lázně kontaktu. Na návrh experimentálního zařízení byly a jsou zaměřeny studentské projekty a bakalářské práce. Jeden z prvních návrhů experimentálního zařízení je zobrazen na obr. 9-2.



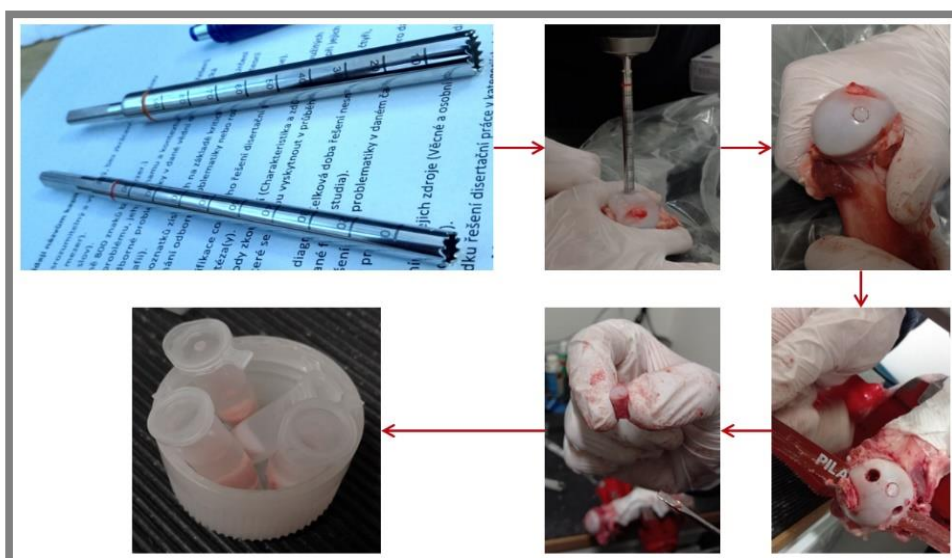
Obr. 9-2 Návrh experimentálního zařízení.

Na obr. 9-2 je poslední, nejnovější koncept návrhu experimentálního zařízení. Řešení uvažuje pohon krokovým motorem přes kuličkový šroub. Tento šroub je uložen na straně u motoru v radiálně-axiálním ložisku a na druhé straně v radiálním ložisku. Tato kombinace zajišťuje zachycení jak radiálních, tak axiálních sil. Matice je pevně spojena s vozíkem a je předepnuta kvůli odstranění nežádaných vůlí. Do vozíku je montováno sklo, které bude v kontaktu se vzorkem chrupavky. Celý vozík je veden na vodičích tyčích v kombinaci s kuličkovými pouzdry. Sklo je uloženo v odnímatelném rámečku. Vzorek chrupavky je upnut v kleštině a montován do páky, která je zatěžována také přes krokový motor. Tento krokový motor je v konfiguraci lineárního aktuátoru. Mezi zakončením motoru a pákou je pružina, která má funkci vyrovnávání případných náhlých výkyvů zatěžující síly. Pokud by se objevila mírná nerovnost na optickém skle, vyvolá to poměrně velkou změnu normálové síly, což by měla tato pružina odstranit. Páka je uložena na kuličkových ložiscích, které jsou vůči sobě předepnuty, aby byly vymezeny vůle. Dále je na páce namontován deformační člen, který zajistí dostatečně nízkou tuhost ve směru měření třecích sil, které budou velmi malé. Snímač třecích sil, tenzometr je uložen paralelně s pákou kvůli poškození při montáži, demontáži páky. Tento snímač má i mechanickou pojistku vůči přetížení. Páka je osazena také snímačem normálové síly, který slouží jako zpětná vazba pro zatěžovací krokový motor. Vzorek je pevně spojen s pákou, která má specifický tvar tak, aby zajišťovala plné zaplavení kontaktu. Je uložena s potřebnou vůlí ve vaničce, která je uložena na přesném vedení a zajištěna několika šrouby. Tato kombinace zajistí, že vždy při montáži se vanička a optické sklo dostanou do stejné polohy. Těsnění mezi vaničkou a sklem je řešeno pomocí X-kroužku. Mazivo bude při experimentu zahříváno na teplotu těla, 37 °C pomocí topných patron zabudovaných do vany. Teplota bude řízena externě mimo řídicí okruh samotného zařízení. Celá konstrukce bude vyrobena z nerezové oceli, jen pohyblivé části, vozík, do kterého je upnutý rámeček s optickým sklem, bude vyroben z duralu, kvůli hmotnosti, která by způsobila velké setrvačné síly.

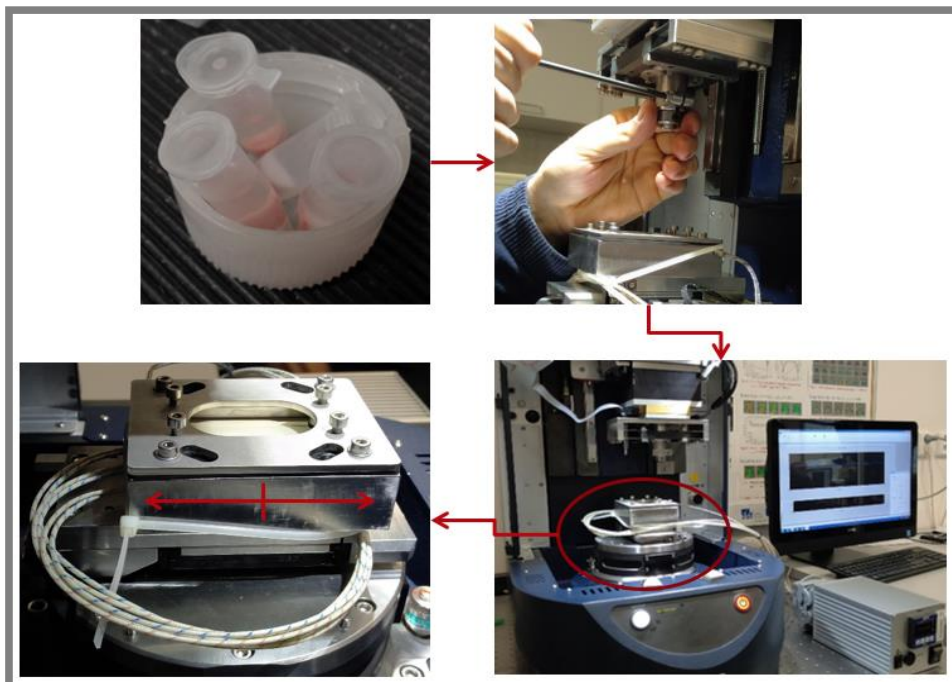
9.2 Metodika pro odběr vzorků

Současně s procesem návrhu experimentálního zařízení probíhá i návrh metodiky pro odběr vzorků chrupavek. Pro experimenty budou použity vzorky ze zvířecích chrupavek, nejlépe z prasečích. Vzorky budou odebírány z vepřové kyčle či kolena. Vepřové klouby jsou jedny z nejpodobnějších kloubů s lidskými klouby. Je třeba stanovit místo na povrchu kloubní chrupavky, kde se budou vzorky odebírat, aby nedocházelo k odběru vzorků z různých míst na povrchu chrupavky. Důvodem jsou odlišné vlastnosti tkáně chrupavky v závislosti na místě odběru vzorků. Tento fakt je zmiňován i v rešeršní části např. v práci [24]. K odběru budou použity speciální duté frézy na odběr vzorků chrupavek i se subchondrální kostí od firmy MEDIN, viz obr. 9-3. Vzorky budou vyráběny o průměrech 5,7 mm a 9,7 mm. Tyto rozměry jsou dány vnitřním průměrem duté frézy. Vzorky budou vždy odebírány co nejdříve po obdržení zvířecích kloubních hlavic, aby nedocházelo k degradaci tkání a experimenty byly tak co nejbližším přiblížením skutečného stavu v synoviálním kloubu. Odebrané vzorky budou následně zamrazeny v roztoku PBS při teplotě $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Postup výroby vzorků je znázorněn na obr. 9-3.

Celý postup odběru vzorků bude experimentálně ověřen na konvenčních tribometrech, které jsou k dispozici na pracovišti řešitele práce. Jedná se Universální tribometr Bruker TriboLAB budou zaměřeny na zjištění součinitele smykového tření při stejných podmínkách u vzorků, které budou testovány ihned po odběru, a u vzorků, které budou testovány po zmražení a rozmražení. Bude zjištěna i rychlost degradace odebraných vzorů, a to tak, že proběhnou experimenty taktéž zaměřené na zjištění součinitele smykového tření a to u vzorků ihned po odběru a následně v určitých časových intervalech po odběru. Pro tyto účely byl vypsán studentský projekt, který vyřešil potřebné konstrukční úpravy zmíněných konvenčních tribometrů na ÚK. V rámci tohoto projektu byly navrženy a vyrobeny potřebné doplňky k těmto zařízením a byly provedeny ověřovací experimenty. Provedené experimenty byly porovnány s publikovanými pracemi a trendy i hodnoty závislosti součinitele smykového tření na čase se shodovali. Zvolený postup výroby vzorků byl již podle literatury (viz současný stav poznání) použit. V pracích se vyskytovali odkazy na práce, které nezávadnost tohoto postupu dokazují. Tyto práce říkají, že zmražení v roztoku PBS a následné rozmražení nijak neovlivňuje vlastnosti chrupavky. Ověřovací experiment, který byl proveden v této práci, je zobrazen na obr. 9-3.



Obr. 9-3 Postup výroby vzorků tkáně chrupavky potřebných k experimentům

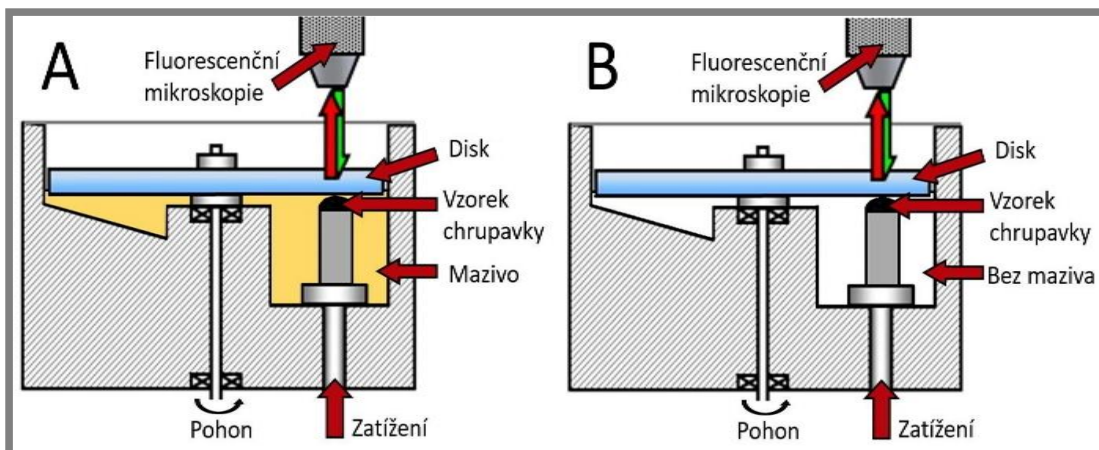


Obr. 9-4 Experimenty pro ověření metodologie odběru vzorků

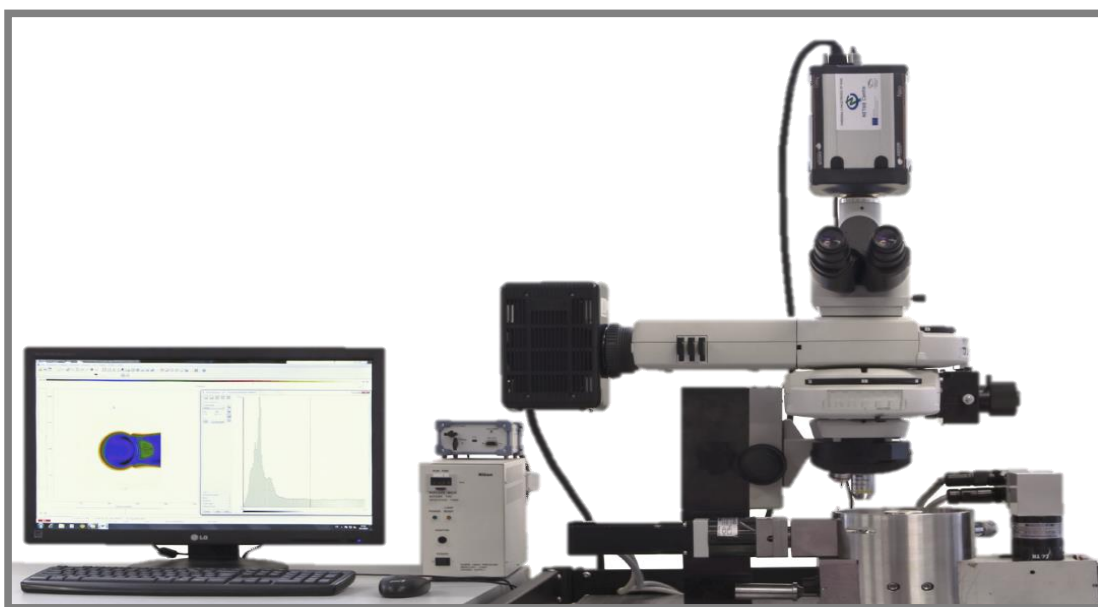
9.3 Zjištění přítomnosti maziva v kontaktu

Třetí částí první fáze řešení je zjistit, zdali je mazivo při stanovených podmínkách vůbec přítomno v kontaktu. Tato část řešení úzce souvisí s následujícím krokem. Při zjištění, že mazivo v kontaktu přítomno není selhává celé řešení této práce. Podle zmíněných prací v současném stavu poznání je řečeno, že synoviální kloub pracuje při nízkých smykových rychlostech a zatíženích v blízkosti režimu boundary, což by znamenalo, že mazací film by byl jen velmi tenký, řádově na velikost molekul, což je prakticky nezjistitelná hodnota tloušťky mazacího filmu. Další studie však říkají, že celý systém mazání je založen na proudění synoviální kapaliny skrz strukturu tkáně chrupavky. Mazivo se při odtíženém stavu nasává do pórů chrupavky a tvoří díky osmotickému tlaku natlakování tkáně. Toto tlakové médium uvězněné uvnitř pórů chrupavky tvoří zásobník maziva pro následující cyklus pohybu a díky zatížení vytlačuje mazivo zpět do kontaktu. To naznačuje přítomnost mazacího filmu v kontaktu synoviálního kloubu. Další aspektem, který naznačuje přítomnost mazacího filmu v kontaktu synoviálního kloubu je časová změna (nárůst) součinitele smykového tření při vzájemném pohybu chrupavek, viz několik studií z kapitoly současný stav poznání. Pokud by v kontaktu mazací film přítomný nebyl, k žádnému nárůstu součinitele smykového tření by nedošlo.

K zjištění této důležité informace postačí jednoduchý experiment vzorku chrupavky na tribometru, který je k dispozici na pracovištích ÚK. Jedná se o tribometr ball/pin-on-disk, kde bude použita metoda fluorescenční mikroskopie a proveden experiment se vzorkem chrupavky. K provedení tohoto experimentu bude třeba jen nepatrná úprava stávajícího zařízení. Je třeba navrhnout a vyrobit přípravek pro upínání vzorků na pozici pin, protože stávající zařízení tuto konfiguraci neumožňuje. Na obr. 9-5 je schematicky znázorněna konfigurace experimentů. Na obr. 9-6 je zobrazeno dosavadní zařízení, které je k dispozici v laboratořích na ÚK.



Obr. 9-5 Schéma experimentu pro zjištění přítomnosti maziva v kontaktu



Obr. 9-6 Zařízení osazeno optickou metodou fluorescenční mikroskopie dostupné v laboratořích ÚK

V této konfiguraci budou následně provedeny dva experimenty:

- Experiment za přítomnosti obarveného maziva – bude použita synoviální kapalina, která bude fluorescenčním barvivem obarvena jako celek
- Experiment bez přítomnosti maziva

Výsledky budou následně porovnány z hlediska kvantity intenzity emitovaného světla z kontaktu. Pokud výsledky ukáží změnu intenzity emitovaného světla mezi těmito dvěma experimenty, dokazuje to přítomnost maziva v kontaktu. Předpoklad je, že mazivo v kontaktu bude tvořit mazací film.

9.4 Implementace metody

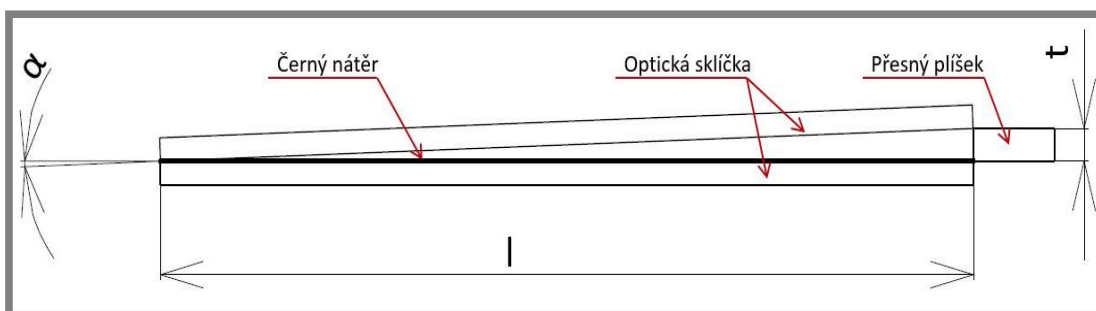
Další, čtvrtá fáze řešení je implementace a úprava metody fluorescenční mikroskopie tak, aby bylo možné vizualizovat a pozorovat kontakt realizovaný mezi chrupavkou a sklem. Tato metoda na pracovišti řešitele práce již použita byla, ale jen k experimentálnímu výzkumu poddajných kontaktů nebo v klasické konfiguraci ball-on-disk s ocelovou kuličkou. Problematika kontaktu synoviálního kloubu je

poddajným kontaktům velmi blízko. Další optické metody pro tuto problematiku nelze použít, nebo jen s velkými obtížemi. Fluorescenční mikroskopie dává navíc možnost označovat barvivem jen konkrétní složky maziva a následně pozorovat, jak se v kontaktu chovají a pohybují. V práci se uvažuje i kvantitativní posuzování tloušťky mazacího filmu v kontaktu. Aby bylo možné tloušťku mazacího filmu posuzovat, je potřeba metodu na daný kontakt skalibrovat. Kalibraci lze provést několika způsoby:

- Pomocí klínové mezery
- Pomocí jiných metod – optické interferometrie

9.4.1 Kalibrace pomocí klínové mezery

Pro kalibraci pomocí klínové mezery je třeba navrhnout a vyrobit přípravek, který zajistí přesnou a známou geometrii, ze které bude následně odvozena závislost intenzity emitujícího světla na tloušťce mazacího filmu (viz kapitola 5.4). V tomto případě by přípravek vypadal následovně. Budou připravena dvě optická sklíčka, jedno s černým potěrem jedné strany a druhé sklíčko neupravované, průhledné. Dále bude připraven přesný tenký plíšek, který se vloží na jednu stranu mezi sklíčka, což zaručí vytvoření přesné geometrie klínové mezery, viz obr. 9-7. Následně se tato mezera zaplní obarveným mazivem (synoviální kapalinou) a pomocí jednoduchého geometrického výpočtu lze na každém místě určit výšku klínové mezery a té následně přiřadit intenzitu emitovaného světla z maziva. Kalibrace tímto způsobem lze použít, pokud vzorek chrupavky sám nebude při ozáření emitovat žádné světlo, nebo bude toto záření konstantní (matematicky popsitelná funkce závislosti intenzity vyzařujícího světla na čase).



Obr. 9-7 Schematické zobrazení použití klínové mezery při kalibraci

Při použití kalibrace pomocí klínové mezery je třeba brát v úvahu některé možné problémy, které mohou nastat a kalibraci buď znemožnit, nebo ztížit. Je třeba tedy před samotným zahájením uvažovat několik zásadních faktů:

- Živé tkáně při ozáření světlem samovolně světlo emitují
- Emitace světla většinou nebývá konstantní po delší dobu
- Emitace světla může být velmi nelineární a rychle klesající
- Geometrie a mechanické vlastnosti tkáně chrupavky

Z uvedených několika bodů může při kalibraci pomocí klínové mezery nastat 5 situací:

- Vzorek chrupavky nebude světlo emitovat vůbec – nejideálnější stav
Kalibrace lze provést bez jakéhokoli problému tak, jak je uvedeno na obr. 9-7. Není třeba při kalibraci uvažovat žádné změny intenzity, které by do experimentu vnášela samovolná emitace světla z tkáně chrupavky.

- Vzorek chrupavky bude emitovat světlo konstantně určitý čas – pořád lze provést kalibraci, jen je třeba brát v úvahu přičtení či odečtení přídavného záření od tkáně chrupavky. Doba konstantní emitace světla musí být vždy delší než samotná doba experimentu.
- Vzorek chrupavky bude emitovat světlo, ale bude se vysvěcovat – pořád lze provést kalibraci, ale jen za předpokladu, že bude nalezena popsateľná závislost intenzity emitujícího světla z tkáně chrupavky na čase. Následně se opět přičte či odečte tato časová závislost od intenzity při kalibraci. Tento postup je značně složitější, ale pořád lze tato kalibrace provést.
- Vzorek chrupavky bude emitovat světlo, ale rychle se vysvíťí a dál emitovat světlo nebude – pořád lze provést kalibraci
V tomto případě dochází k příliš rychlému oslabování intenzity emitovaného světla z tkáně chrupavky, které nelze matematicky popsat. Tuto situaci lze řešit vysvícením tkáně ještě před samotnou kalibrací do stavu, když již nebude při ozáření emitovat žádné světlo a dále pak pokračovat podle postupu uvedeného v bodě 1.
- Vzorek chrupavky bude emitovat světlo, ale mezi intenzitou emitovaného světla a časem nebude nalezena žádná závislost – nelze provést kalibraci
Pokud nelze nijak popsat časovou závislost intenzity emitujícího světla je třeba použít jiné metody pro měření tloušťky filmu. I kdyby byla provedena kalibrace jiným způsobem, nebude nikdy možné přiřadit při experimentech konkrétní intenzity emitovaného světla konkrétním tloušťkám mazacího filmu. Je potřeba přistoupit k alternativním řešením a metodu fluorescenční mikroskopie použít pouze pro vizualizaci kontaktu a sledování pohybu jednotlivých složek maziva kontaktem a vyhodnocování tloušťky mazacího filmu ponechat na jiných metodách, např. pomocí optické interferometrie.

9.4.2 Kalibrace pomocí optické interferometrie

9.4.2

Další metodou, jak skalibrovat fluorescenční mikroskopii pro měření tloušťky mazacího filmu je možnost použití jiné optické metody, a to optické interferometrie. V případě přístoupení k tomuto postupu je nutné provádět kalibraci na tribometru, který má stejnou konfiguraci jako následující experimenty. Je tedy potřeba, aby bylo již vyrobené a zprovozněné experimentální zařízení popsané v kapitole 9.1. Následující postup kalibrace by tedy byl:

- Určení tloušťky mazacího filmu pomocí optické interferometrie
Byly provedeny experimenty se vzorky chrupavek na tribometru konfigurace pin-on-plate, které by byly zaměřeny na zjištění tloušťky mazacího filmu při určitých podmínkách. V tomto případě je zatížení konstantní a proměnnou by byla smyková rychlost. Výsledkem by byla závislost tloušťky mazacího filmu na smykové rychlosti.
- Určení intenzity emitujícího světla při stejných podmínkách pomocí fluorescenční mikroskopie
Byly by provedeny experimenty s naprosto stejnými podmínkami, na stejném zařízení, jen s tím rozdílem, že cílem by bylo zjistit závislost intenzity emitujícího světla na smykové rychlosti.

- Přiřazení závislosti smykové rychlosti na tloušťce mazacího filmu k závislosti intenzity emitujícího světla na smykové rychlosti.
V poslední fázi, kdy jsou známi obě rychlostní závislosti je třeba je spojit a následně přiřadit tloušťku mazacího filmu konkrétní intenzitě emitujícího světla.

Kalibrace pomocí optické interferometrie je přesnější než kalibrace pomocí klínové mezery. Bohužel i zde je třeba brát v úvahu možné potíže či problémy související se specifickými vlastnostmi tkáně chrupavky. Zejména jde o tyto vlastnosti:

- Nízký modul pružnosti tkáně chrupavky
- Nízká odrazivost povrchu chrupavky

Z těchto dvou specifických vlastností plynou některé možné problémy, které by mohli zapříčinit nemožnost provedení kalibrace pomocí této metody. Jedná se o tyto problémy:

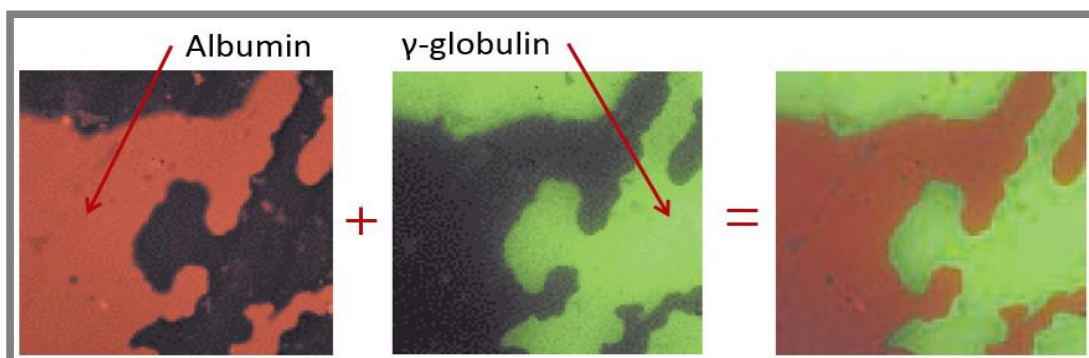
- Nízký modul pružnosti vzorku tkáně chrupavky způsobuje poddajný kontakt, které je komplikované vyhodnocovat pomocí optické interferometrie, protože se u nich vyskytuje mezný film.
- Nízká odrazivost povrchu chrupavky způsobí, že selže základní princip optické interferometrie, která je založena na odrazivosti povrchu kontaktního tělíška. V kontaktu je vždy skleněný disk, či deska, která je pokovena ze strany kontaktu chromovou vrstvou. Tato vrstva propustí jen část paprsků a zbytek odrazí. Zbývá, propuštěná část světelného paprsku se odrazí od kontaktního tělíška a následně se určuje vlnový posun těchto dvou odražených paprsků. V případě, že by povrch kontaktního tělíška byl neodrazivý, tato metoda nelze použít.

9.5 Experimentální ověření metody

Stěžejní část této práce je experimentální ověření vyvinutých metod. Tato část řešení je vyvrcholením všech předchozích kroků. Proběhne několik experimentů, které budou zaměřeny na vizualizaci a kontaktu a sledování pohybu a chování jednotlivých složek maziva v kontaktu. Experimenty budou probíhat za konstantního malého zatížení, cca 5 N a proměnnou bude smyková rychlost, které se bude od malých hodnot stupňovat k větším. Bude tedy zjištěna závislost smykové rychlosti na dějích, které se odehrávají v mazacím filmu. Postup bude následující. Stanoví se jedna kombinace vstupních parametrů a v použitém mazivu bude označena pouze jedna složka. Bude proveden experiment a kontakt bude v průběhu nasnímkován. Následně bude vzat další vzorek maziva, ale stejného složení a bude v něm označena další složka maziva. Experiment se bude opět opakovat za stejných podmínek. Tento postup bude pokračovat až takto budou otestovány všechny složky daného maziva. Dále bude zvolena další kombinace parametrů a experimenty se budou se stejným postupem opakovat. Všechny experimenty budou prováděny se vzorky, které budou odebrány z jednoho typu kloubu a z co nejlépe definovaného místa na povrchu chrupavky. Tento postup by měl zajistit to, že všechny vzorky budou mít velmi podobné vlastnosti a neovlivní tak výsledky. Při všech experimentech bude zaznamenávána i hodnota součinitele smykového tření a mazací lázeň vzorku bude vyhřívána na 37 °C.

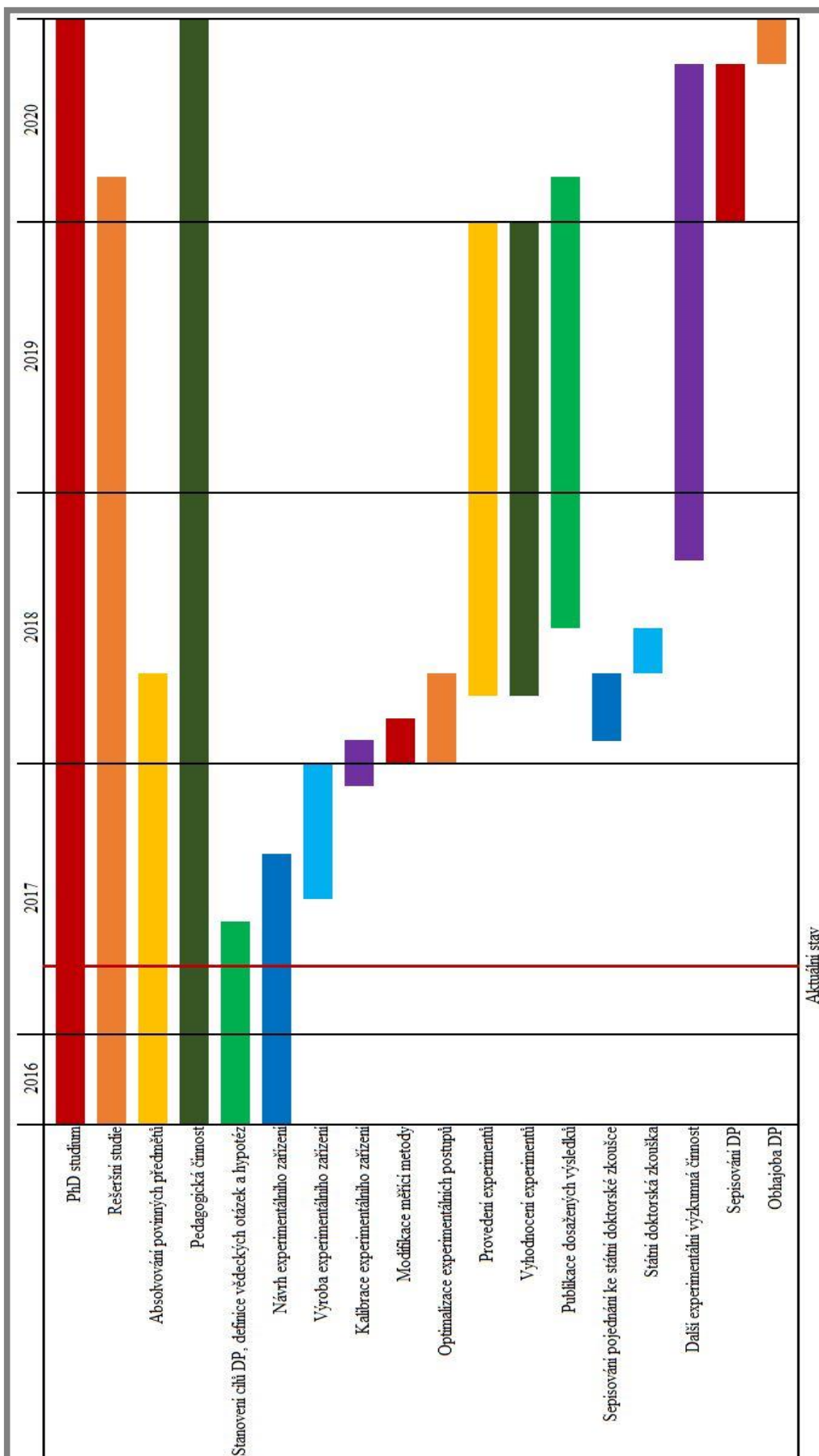
9.6 Analýza utváření mazacího filmu

Tato finální část řešení uzavírá celou práci. V této fázi budou shromážděna data ze všech experimentů a budou posuzována. Budou vyhodnocovány jednotlivá měření a analyzován pohyb jednotlivých složek maziva. Bude vyhodnocena trasa jednotlivých složek, jestli kontakt plynule opouštějí nebo v kontaktu zůstávají. Tento postup byl použit již v publikovaných pracích, viz obr. 9-8. Po jednotlivém posouzení všech složek budou tyto data shrnuty a vyvozen závěr, jak se mazací film utváří a které složky v mazivu na tento proces mají největší vliv.



Obr. 9-8 Obrazy z fluorescenční mikroskopie

10 ČASOVÝ PLÁN A ETAPY ŘEŠENÍ



11 ODŮVODNĚNÍ NUTNOSTI A POTŘEBNOSTI ŘEŠENÍ DANÉ PROBLEMATIKY V DANÉM ČASE

11

Jak vyplývá z kapitoly 6, kde byly shrnuty poznatky z rešeršní části práce, kontakt chrupavek v synoviálním kloubu nebyl zatím dostatečně popsán. Mezi publikovanými pracemi jsou značné mezery v poznání mazání synoviálního kloubu a obecně v pochopení jevů, které se v synoviálních kloubech vyskytují. Jak již bylo řečeno v předchozích kapitolách, synoviální kloub tvoří jednu z nejdůležitějších částí pohybového ústrojí vyšších živých organismů. Synoviální kloub se skládá ze dvou styčných ploch, které představují kosti zakončené chrupavkami. Toto spojení zajišťuje jejich pohyb a přenos zatížení v organismu, a to téměř bez tření. Funkci maziva v synoviálních kloubech plní synoviální kapalina. Bohužel i toto pohybové ústrojí stárne nebo může onemocnět, a tím ztrácí své mazací vlastnosti. V případě, že chrupavka kloubu je díky onemocnění poškozená tak, že je její stav již neúnosný, je třeba ji vyměnit. V dnešní době k tomu účelu slouží implantát totální endoprotézy, který na určitý čas zajistí bezproblémový chod pohybového ústrojí. Tyto implantáty mají však jen omezenou životnost, cca 10 % života člověka. Po překročení životnosti, kdy implantát přestane plnit svoji funkci, je třeba implantát vyměnit, reoperovat.

Používá se mnoho druhů kloubních náhrad. Náhrady mohou být vyrobeny z oceli, polymerů, keramiky i dalších materiálů. Tyto materiály se používají pro konvenčně používané totální endoprotézy např. kyčelního kloubu v konfiguraci kloubní hlavice - kloubní jamka. Věda pokročila i ve vývoji materiálů umělých chrupavek, konkrétně obor tkáňového inženýrství, který vyvinul materiály schopné chrupavku nahradit z hlediska jejich mechanických vlastností, avšak s přetrvávající nemožností reálné chrupavce konkurovat svými tribologickými vlastnostmi. Při vývoji byl kladen důraz hlavně na vlastnosti mechanické, přičemž byly vlastnosti tribologické opomenuty. Budoucí výzkum v této oblasti by měl bezpochyby obsahovat i řešení těchto nedostatků.

Obecnou snahou tribologie je zlepšovat mazací podmínky kontaktů a tím prodlužovat životnost komponent. Taktéž je tomu i v biotribologii. Snahou je vyvinout umělé klouby, které budou mít dostačující životnost s ohledem na délku života člověka. Je třeba detailně porozumět jevům a mechanismům mazání v živých synoviálních kloubech, aby pak bylo možné získané poznatky reflektovat a použít při vývoji kloubů umělých, které budou věrohodně nahrazovat onemocněním znehodnocené klouby.

12 SPOLUPRÁCE S JINÝMI INSTITUCEMI

Vzhledem k tématu a cílům disertační práce je možné navázat spolupráci s následujícími institucemi:

- Fakultní nemocnice Olomouc – nástroje pro odebírání vzorků chrupavky, vzorky synoviální kapaliny
- Medin, a.s. – nástroje pro odběr vzorků chrupavky
- Fakulta veterinárního lékařství, Masarykova univerzita – metodika odběru a uchovávání vzorků chrupavky
- Contipro – vzorky synoviálních kapalin

13 PŘEDPOKLÁDANÉ NÁKLADY SPOJENÉ S ŘEŠENÍM A JEJICH ZDROJE

Finanční obnos potřebný k pokrytí řešení disertační práce lze rozdělit do následujících etap:

• Výroba experimentálního zařízení	150 000 Kč
• Programátorské práce na experimentálním zařízení	50 000 Kč
• Úprava a implementace fluorescenční mikroskopie	50 000 Kč
• Vzorčky chrupavek a synoviálních kapalin	10 000 Kč
• Laboratorní materiál	50 000 Kč
• Spotřební materiál	5 000 Kč
• Prezentace výsledků na tuzemských konferencích	10 000 Kč
• Prezentace výsledků na tuzemských konferencích	50 000 Kč
• Platové ohodnocení řešitele včetně odvodů (4 roky)	975 000 Kč
CELKEM	1 350 000 Kč

Vzhledem k tomu, že na téma disertační práce nebyl vypsán a přijatý žádný projekt, bude financování probíhat z rozpočtu pracoviště.

14 CHARAKTERISTIKA PŘEDPOKLÁDANÉHO VÝSLEDKU ŘEŠENÍ DISERTAČNÍ PRÁCE V KATEGORIÍCH DEFINOVANÝCH PRO ZÁKLADNÍ VÝZKUM V SOULADU S PLATNOU METODIKOU HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ VÝZKUMU A VÝVOJE

Výsledky řešení dizertační práce budou publikovány formou 3 článků v impaktovaných časopisech (dle platné Metodiky hodnocení výsledků výzkumu a vývoje výstup typu J_{imp}). Případně prezentovány na odborných konferencích (výsledek typu D).

Časopisy vhodné pro možnou publikaci výsledků této práce byly vybrány na základě uvedených publikovaných prací v rešeršní části této práce. Časopisy vhodné pro publikaci jsou tedy následující:

- Osteoarthritis and Cartilage (IF 4,535)
- Tissue engineering. Part B, Reviews (IF 3,892)
- Annals of Biomedical Engineering (IF 2,887)
- Jurnal of Orthopaedic Research (IF 2,807)
- Journal of Biomechanics (IF 2,431)
- Tribology International (IF 2,259)
- Tribology Letters (IF 1,758)

15 BIBLIOGRAFIE

- [1] JOSE MARCELINO, JOHN D. CARPTEN, WAFAA M. SUWAIRI, et al. CACP, encoding a secreted proteoglycan, is mutated in camptodactyly-arthropathy-coxa vara-pericarditis syndrome. *Nature Genetics* [online]. Nature Publishing Group, 1999, 23(3), 319 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1038/15496. ISSN 10614036.
- [2] JAY, Gregory D, Jahn R TORRES, David K RHEE, et al. Association between friction and wear in diarthrodial joints lacking lubricin. *Arthritis and Rheumatism* [online]. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2007, 56(11), 3662-3669 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1002/art.22974. ISSN 00043591.
- [3] KNOBLOCH, T, S MADHAVAN, J NAM a S AGARWAL. Regulation of Chondrocytic Gene Expression by Biomechanical Signals. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression* [online]. 2008, 18(2), 139-150 [cit. 2017-03-02]. ISSN 10454403.
- [4] QUINN, Thomas M., Ernst B. HUNZIKER a Hans-Jörg HÄUSELMANN. Variation of cell and matrix morphologies in articular cartilage among locations in the adult human knee. *Osteoarthritis and Cartilage* [online]. Elsevier, 2005, 13(8), 672-678 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.joca.2005.04.011. ISSN 10634584.
- [5] BECERRA, José, José ANDRADES, Enrique GUERADO, Plácido ZAMORANAVAS, José LÓPEZ-PUERTAS a A REDDI. Articular Cartilage: Structure and Regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews* [online]. New Rochelle: Mary Ann Liebert, 2010, 16(6), 617-27 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1089/ten.teb.2010.0191. ISSN 19373368.
- [6] DARLING, Eric M. a Kyriacos A. ATHANASIOU. Rapid phenotypic changes in passaged articular chondrocyte subpopulations. *Journal of Orthopaedic Research* [online]. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2005, 23(2), 425-432 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.orthres.2004.08.008. ISSN 07360266.
- [7] LIN, Z, C WILLERS a M-H ZHENG. The Chondrocyte: Biology and Clinical Application. *Tissue Engineering* [online]. 2006, 12(7), 1971-1984 [cit. 2017-03-02]. ISSN 10763279.
- [8] HODGE, W A, R S FIJAN, K L CARLSON, R G BURGESS, W H HARRIS a R W MANN. Contact pressures in the human hip joint measured in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [online]. 1986, 83(9), 2879 [cit. 2017-03-02]. ISSN 00278424.

- [9] ALMARZA, Alejandro a Kyriacos ATHANASIOU. *Design Characteristics for the Tissue Engineering of Cartilaginous Tissues. Annals of Biomedical Engineering* [online]. New York: Kluwer Academic Publishers-Plenum Publishers, 2004. n. 1., 32(1), 2-17 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1023/B:ABME.0000007786.37957.65. ISSN 00906964.
- [10] CHAN, S.M.T., C.P. NEU, G. DURAINÉ, K. KOMVOPOULOS a A.H. REDDI. Atomic force microscope investigation of the boundary-lubricant layer in articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage* [online]. Elsevier, 2010, 18(7), 956-963 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.joca.2010.03.012. ISSN 10634584.
- [11] STACHOWIAK, G.W., A.W. BATCHELOR a L.J. GRIFFITHS. Friction and wear changes in synovial joints. *Wear* [online]. Elsevier B.V, 1994, 171(1), 135-142 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/0043-1648(94)90356-5. ISSN 00431648.
- [12] MERKHER, Y., S. SIVAN, I. ETSION, A. MAROUDAS, G. HALPERIN a A. YOSEF. A rational human joint friction test using a human cartilage-on-cartilage arrangement. *Tribology Letters* [online]. New York: Kluwer Academic Publishers-Plenum Publishers, 2006, 22(1), 29-36 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1007/s11249-006-9069-9. ISSN 10238883.
- [13] MORITA, Yusuke, Naohide TOMITA, Hideyuki AOKI, Masato SONOBE, Shigeyuki WAKITANI, Yasushi TAMADA, Toru SUGURO a Ken IKEUCHI. Frictional properties of regenerated cartilage in vitro. *Journal of Biomechanics* [online]. Elsevier, 2006, 39(1), 103-109 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2004.10.031. ISSN 00219290.
- [14] FORSEY, Richard W., John FISHER, Jonathan THOMPSON, Martin H. STONE, Carol BELL a Eileen INGHAM. The effect of hyaluronic acid and phospholipid based lubricants on friction within a human cartilage damage model. *Biomaterials* [online]. Elsevier, 2006, 27(26), 4581-4590 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.04.018. ISSN 01429612.
- [15] MURAKAMI, T, Y SAWAE, K NAKASHIMA, S YARIMITSU a T SATO. Micro- and nanoscopic biotribological behaviours in natural synovial joints and artificial joints. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers J, Journal of Engineering Tribology* [online]. 2007, 221(3), 237-245 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1243/13506501JET245. ISSN 13506501.
- [16] TEEPLE, Erin, Khaled A. ELSAID, Braden C. FLEMING, Gregory D. JAY, Koosha ASLANI, Joseph J. CRISCO a Anthony P. MECHREFE. Coefficients of friction, lubricin, and cartilage damage in the anterior cruciate ligament-deficient guinea pig knee. *Journal of Orthopaedic Research* [online]. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2008, 26(2), 231-237 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1002/jor.20492. ISSN 07360266.

- [17] MCCANN, L., I. UDOFIA, S. GRAINDORGE, E. INGHAM, Z. JIN a J. FISHER. Tribological testing of articular cartilage of the medial compartment of the knee using a friction simulator. *Tribology International* [online]. Elsevier, 2008, **41**(11), 1126-1133 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.triboint.2008.03.012. ISSN 0301679X.
- [18] KATTA, J., Z. JIN, E. INGHAM a J. FISHER. Effect of nominal stress on the long term friction, deformation and wear of native and glycosaminoglycan deficient articular cartilage. *Osteoarthritis and Cartilage* [online]. Elsevier, 2009, **17**(5), 662-668 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.joca.2008.10.008. ISSN 10634584.
- [19] FORSTER, H a J FISHER. The influence of continuous sliding and subsequent surface wear on the friction of articular cartilage. *Proceedings Of The Institution Of Mechanical Engineers Part H-Journal Of En* [online]. SAGE PUBLICATIONS, 1999, **213**(H4), 329-345 [cit. 2017-03-02]. ISSN 09544119.
- [20] NORTHWOOD, Ewen a John FISHER. A multi-directional in vitro investigation into friction, damage and wear of innovative chondroplasty materials against articular cartilage. *Clinical Biomechanics* [online]. Elsevier, 2007, **22**(7), 834-842 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.clinbiomech.2007.03.008. ISSN 02680033.
- [21] PICKARD, J.E., J. FISHER, E. INGHAM a J. EGAN. Investigation into the effects of proteins and lipids on the frictional properties of articular cartilage. *Biomaterials* [online]. Elsevier, 1998, **19**(19), 1807-1812 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/S0142-9612(98)00147-1. ISSN 01429612.
- [22] NOBLE, Prisca, Bernard COLLIN, Jacqueline LECOMTE-BECKERS, Adrien MAGNÉE, Jean M. DENOIX a Didier SERTEYN. An equine joint friction test model using a cartilage-on-cartilage arrangement. *The Veterinary Journal* [online]. Elsevier, 2010, **183**(2), 148-152 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.tvjl.2008.12.003. ISSN 10900233.
- [23] CHAN, S.M.T., C.P. NEU, K. KOMVOPOULOS a A.H. REDDI. Dependence of nanoscale friction and adhesion properties of articular cartilage on contact load. *Journal of Biomechanics* [online]. Elsevier, 2011, **44**(7), 1340-1345 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2011.01.003. ISSN 00219290.
- [24] CHAN, S.M.T., C.P. NEU, K. KOMVOPOULOS a A.H. REDDI. The role of lubricant entrapment at biological interfaces: Reduction of friction and adhesion in articular cartilage. *Journal of Biomechanics* [online]. Elsevier, 2011, **44**(11), 2015-2020 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2011.04.015. ISSN 00219290.

- [25] SHI, Liu, Vassilios SIKAVITSAS a Alberto STRIOLO. Experimental Friction Coefficients for Bovine Cartilage Measured with a Pin-on-Disk Tribometer: Testing Configuration and Lubricant Effects. *Annals of Biomedical Engineering* [online]. Boston: Springer US, 2011, **39**(1), 132-146 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1007/s10439-010-0167-3. ISSN 00906964.
- [26] BLUM, Michelle M. a Timothy C. OVAERT. Investigation of friction and surface degradation of innovative boundary lubricant functionalized hydrogel material for use as artificial articular cartilage. *Wear* [online]. Elsevier B.V, 2013, **301**(1-2), 201-209 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.wear.2012.11.042. ISSN 00431648.
- [27] OUNGOULIAN, Sevan R., Krista M. DURNEY, Brian K. JONES, Christopher S. AHMAD, Clark T. HUNG a Gerard A. ATESHIAN. Wear and damage of articular cartilage with friction against orthopedic implant materials. *Journal of Biomechanics* [online]. Elsevier, 2015, **48**(10), 1957-1964 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2015.04.008. ISSN 00219290.
- [28] CILINGIR, Ahmet C. Effect of Rotational and Sliding Motions on Friction and Degeneration of Articular Cartilage under Dry and Wet Friction. *Journal of Bionic Engineering* [online]. Elsevier, 2015, **12**(3), 464-472 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/S1672-6529(14)60137-2. ISSN 16726529.
- [29] MOORE, Axel a David BURRIS. New Insights Into Joint Lubrication. *Tribology & Lubrication Technology* [online]. Park Ridge: Society of Tribologists and Lubrication Engineers, 2016, **72**(5), 26-30,32 [cit. 2017-03-02]. ISSN 1545858X.
- [30] LI, Feng, Anmin WANG a Chengtao WANG. Analysis of friction between articular cartilage and polyvinyl alcohol hydrogel artificial cartilage. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* [online]. New York: Springer US, 2016, **27**(5), 1-8 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1007/s10856-016-5700-y. ISSN 09574530.
- [31] SPIKES, Ha. Thin films in elastohydrodynamic lubrication: the contribution of experiment. *Proceedings Of The Institution Of Mechanical Engineers Part J- Journal Of En* [online]. SAGE PUBLICATIONS, 1999, **213**(J5), 335-352 [cit. 2017-03-02]. ISSN 13506501.
- [32] SMART, A.E. a R.A.J. FORD. Measurement of thin liquid films by a fluorescence technique. *Wear* [online]. Elsevier B.V, 1974, **29**(1), 41-47 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/0043-1648(74)90132-X. ISSN 00431648.
- [33] SUGIMURA, J., M. HASHIMOTO a Y. YAMAMOTO. Study of elastohydrodynamic contacts with fluorescence microscope. *Tribology Series* [online]. 2000, **38**, 609-617 [cit. 2017-03-02]. ISSN 01678922.

- [34] HIDROVO, Carlos H. a Douglas P. HART. Dual Emission Laser Induced Fluorescence technique (DELIF) for oil film thickness and temperature measurement. *American Society of Mechanical Engineers, Fluids Engineering Division (Publication) FED* [online]. 2000, **253**, 175-182 [cit. 2017-03-02]. ISSN 08888116.
- [35] CARLOS H HIDROVO. Emission reabsorption laser induced fluorescence (ERLIF) film thickness measurement. *Measurement Science and Technology* [online]. 2001, **12**(4), 467-477 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1088/0957-0233/12/4/310. ISSN 09570233.
- [36] REDDYHOFF, T., J. CHOO, H. SPIKES a R. GLOVNEA. Lubricant Flow in an Elastohydrodynamic Contact Using Fluorescence. *Tribology Letters* [online]. Boston: Springer US, 2010, **38**(3), 207-215 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1007/s11249-010-9592-6. ISSN 10238883.
- [37] MYANT, C., T. REDDYHOFF a H.A. SPIKES. Laser-induced fluorescence for film thickness mapping in pure sliding lubricated, compliant, contacts. *Tribology International* [online]. Elsevier, 2010, **43**(11), 1960-1969 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.triboint.2010.03.013. ISSN 0301679X.
- [38] MYANT, Connor, Mark FOWELL a Philippa CANN. The effect of transient motion on Isoviscous-EHL films in compliant, point, contacts. *Tribology International* [online]. Elsevier, 2014, **72**, 98-107 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.triboint.2013.11.019. ISSN 0301679X.
- [39] FOWELL, M.T., C. MYANT, H.A. SPIKES a A. KADIRIC. A study of lubricant film thickness in compliant contacts of elastomeric seal materials using a laser induced fluorescence technique. *Tribology International* [online]. Elsevier, 2014, **80**, 76-89 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.triboint.2014.05.028. ISSN 0301679X.
- [40] GREENE, George W., Bruno ZAPPONE, Boxin ZHAO, Olle SÖDERMAN, Daniel TOPGAARD, Gabriel RATA a Jacob N. ISRAELACHVILI. Changes in pore morphology and fluid transport in compressed articular cartilage and the implications for joint lubrication. *Biomaterials* [online]. Elsevier, 2008, **29**(33), 4455-4462 [cit. 2017-04-23]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2008.07.046. ISSN 01429612.
- [41] ATESHIAN, Gerard A. The role of interstitial fluid pressurization in articular cartilage lubrication. *Journal of Biomechanics* [online]. Elsevier, 2009, **42**(9), 1163-1176 [cit. 2017-04-23]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2009.04.040. ISSN 00219290.

- [42] ACCARDI, Mario Alberto, Daniele DINI a Philippa M. CANN. Experimental and numerical investigation of the behaviour of articular cartilage under shear loading—Interstitial fluid pressurisation and lubrication mechanisms. *Tribology International* [online]. Elsevier, 1105, **44**(5), 565-578 [cit. 2017-03-03]. DOI: 10.1016/j.triboint.2010.09.009. ISSN 0301679X.
- [43] GLEGHORN, Jason P. a Lawrence J. BONASSAR. Lubrication mode analysis of articular cartilage using Stribeck surfaces. *Journal of Biomechanics* [online]. Elsevier, 2008, **41**(9), 1910-1918 [cit. 2017-04-23]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2008.03.043. ISSN 00219290.
- [44] MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Nobuo SAKAI, Kazuhiro NAKASHIMA, Tetsuo YAMAGUCHI a Yoshinori SAWAE. Importance of adaptive multimode lubrication mechanism in natural synovial joints. *Tribology International* [online]. Elsevier, 2017 [cit. 2017-03-03]. DOI: 10.1016/j.triboint.2016.12.052. ISSN 0301679X.
- [45] MOORE, A.C. a D.L. BURRIS. An analytical model to predict interstitial lubrication of cartilage in migrating contact areas. *Journal of Biomechanics* [online]. Elsevier, 2014, **47**(1), 148-153 [cit. 2017-03-03]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2013.09.020. ISSN 00219290.
- [46] WU, Ting-Ting, Xue-Qi GAN, Zhen-Bing CAI, Min-Hao ZHU, Meng-Ting QIAO a Hai-Yang YU. The lubrication effect of hyaluronic acid and chondroitin sulfate on the natural temporomandibular cartilage under torsional fretting wear. *Lubrication Science* [online]. 1501, **27**(1), 29-44 [cit. 2017-04-23]. DOI: 10.1002/ls.1253. ISSN 09540075.
- [47] NAKASHIMA, K., Y. SAWAE a T. MURAKAMI. Study on wear reduction mechanisms of artificial cartilage by synergistic protein boundary film formation. *JSME International Journal, Series C: Mechanical Systems, Machine Elements and Manufacturing* [online]. 2006, **48**(4), 555-561 [cit. 2017-05-24]. DOI: 10.1299/jsmec.48.555. ISSN 13447653.
- [48] YARIMITSU, Seido, Kazuhiro NAKASHIMA, Yoshinori SAWAE a Teruo MURAKAMI. Influences of lubricant composition on forming boundary film composed of synovia constituents. *Tribology International* [online]. Elsevier, 2009, **42**(11), 1615-1623 [cit. 2017-05-24]. DOI: 10.1016/j.triboint.2008.11.005. ISSN 0301679X.
- [49] MURAKAMI, T, Y SAWAE, K NAKASHIMA, S YARIMITSU a T SATO. Micro- and nanoscopic biotribological behaviours in natural synovial joints and artificial joints. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology* [online]. SAGE Publications, 7031, **221**(3), 237-245 [cit. 2017-05-24]. DOI: 10.1243/13506501JET245. ISSN 13506501.

- [50] ERIC L. RADIN, DAVID A. SWANN a PAUL A. WEISSER. Separation of a Hyaluronate-free Lubricating Fraction from Synovial Fluid. *Nature* [online]. Nature Publishing Group, 1970, **228**(5269), 377 [cit. 2017-06-19]. DOI: 10.1038/228377a0. ISSN 00280836.
- [51] LINN, F C a E L RADIN. Lubrication of animal joints. 3. The effect of certain chemical alterations of the cartilage and lubricant. *Arthritis and rheumatism* [online]. 6810, **11**(5), 674 [cit. 2017-06-19]. ISSN 00043591.
- [52] CHANG, Debby, Nehal ABU-LAIL, Farshid GUILAK, Gregory JAY a Stefan ZAUSCHER. Conformational Mechanics, Adsorption, and Normal Force Interactions of Lubricin and Hyaluronic Acid on Model Surfaces. *Langmuir* [online]. 2008, **24**(4), 1183-1193 [cit. 2017-06-19]. DOI: 10.1021/la702366t. ISSN 07437463.
- [53] TADMOR, Rafael, Nianhuan CHEN a Jacob N. ISRAELACHVILI. Thin film rheology and lubricity of hyaluronic acid solutions at a normal physiological concentration. *Journal of Biomedical Materials Research* [online]. New York: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2002, **61**(4), 514-523 [cit. 2017-06-19]. DOI: 10.1002/jbm.10215. ISSN 00219304.
- [54] SCHMIDT, Tannin A., Nicholas S. GASTELUM, Quynhhoa T. NGUYEN, Barbara L. SCHUMACHER a Robert L. SAH. Boundary lubrication of articular cartilage: Role of synovial fluid constituents. *Arthritis & Rheumatism* [online]. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 0703, **56**(3), 882-891 [cit. 2017-06-19]. DOI: 10.1002/art.22446. ISSN 00043591.
- [55] SCHWARZ, I. M. a B. A. HILLS. Surface-active phospholipid as the lubricating component of lubricin. *Rheumatology* [online]. 1998, **37**(1), 21-26 [cit. 2017-06-19]. DOI: 10.1093/rheumatology/37.1.21. ISSN 14620324.
- [56] JAY, Gregory D. a Chung-Ja CHA. The effect of phospholipase digestion upon the boundary lubricating ability of synovial fluid. *Journal of Rheumatology* [online]. 1999, **26**(11), 2454-2457 [cit. 2017-06-19]. ISSN 0315162X.
- [57] KLEIN, Jacob. Hydration lubrication. *Friction* [online]. Beijing: Tsinghua University Press, 1303, **1**(1), 1-23 [cit. 2017-06-19]. DOI: 10.1007/s40544-013-0001-7. ISSN 22237690.
- [58] SCHUMACHER, Barbara L., Tannin A. SCHMIDT, Michael S. VOEGTLIN, Albert C. CHEN a Robert L. SAH. Proteoglycan 4 (PRG4) synthesis and immunolocalization in bovine meniscus. *Journal of Orthopaedic Research* [online]. Hoboken: Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 0505, **23**(3), 562-568 [cit. 2017-06-19]. DOI: 10.1016/j.orthres.2004.11.011. ISSN 07360266.

- [59] NUGENT, Ge, T SCHMIDT, B SCHUMACHER, W VOEGTLIN, K BAE, Ge JADIN a GE NUGENT. Static and dynamic compression regulate cartilage metabolism of PRoteoGlycan 4 (PRG4). *Biorheology* [online]. 2006, **43**(3,4), 191-200 [cit. 2017-06-19]. ISSN 0006355X.
- [60] MCNARY, Sean, Kyriacos ATHANASIOU a A REDDI. Engineering Lubrication in Articular Cartilage. *Tissue Engineering Part B: Reviews* [online]. New Rochelle: Mary Ann Liebert, 2012, **18**(2), 88-100 [cit. 2017-06-19]. DOI: 10.1089/ten.teb.2011.0394. ISSN 19373368.

16 VĚDECKÝ ŽIVOTOPIS

Vzdělání

2014 – 2016: Magisterský studijní program Konstrukční inženýrství, fakulta strojního inženýrství, VUT v Brně

2011 – 2014: Bakalářský studijní program Strojní inženýrství, fakulta strojního inženýrství, VUT v Brně

Odborná praxe

2014 – 2016: ČKD Blansko Holding, a.s., Gellhornova 1, Blansko: Konstruktor uzávěrů

16.1 Vědecká činnost

2015 – 2016: V rámci diplomové práce

STRECKER, Z.; ČÍPEK, P.; ROUPEC, J.; MACHÁČEK, O.; KUBÍK, M. *Testing of Car Suspension With Fast MR Damper, Controlled by Modified Groundhook Algorithm*. In Engineering Mechanics 2016. Engineering mechanics 2014. First edition. Prague: Institute of Thermomechanics Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i., 2016. s. 526-529. ISBN: 978-80-87012-59- 8. ISSN: 1805-8248.