

# Vliv viskosuplementace na tření a mazání kloubních chrupavek

**Ing. David Rebenda**

**Vedoucí: doc. Ing. Martin Vrbka, Ph.D.**

Ústav konstruování

Fakulta strojního inženýrství

VUT v Brně

9MOP – Obhajoba projektu disertační práce  
27. 6. 2017

# Obsah

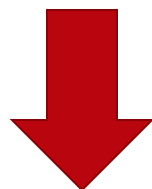
- Motivace pro řešení daného problému
- Přehled současného stavu poznání
- Podstata a cíle disertační práce
- Vědecká otázka a pracovní hypotéza
- Postup řešení
- Spolupráce s jinými institucemi
- Výstupy práce



# Motivace pro řešení daného problému

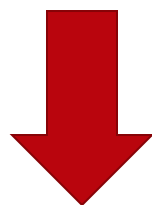
- 15 % populace trpí degenerativními nemocemi kloubů – artróza, chondropatie, ...

Omezená schopnost regenerace

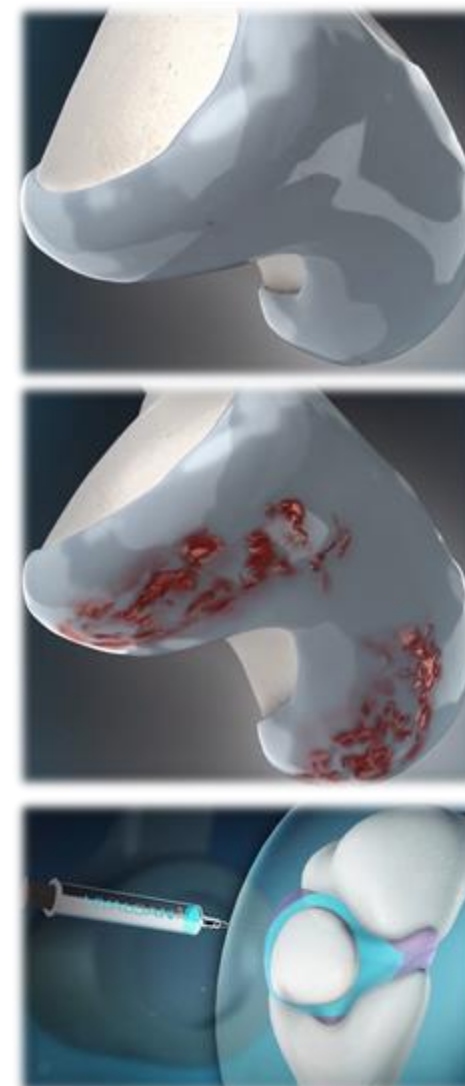


Zvýšená poptávka pro léčebných metodách

- Jednou z neinvazivních metod je viskosuplemenatce
  - Injekce s kyselinou hyaluronové (kortikosteroidů) do kloubního pouzdra
  - Značné rozdíly v účinnostech u pacientů



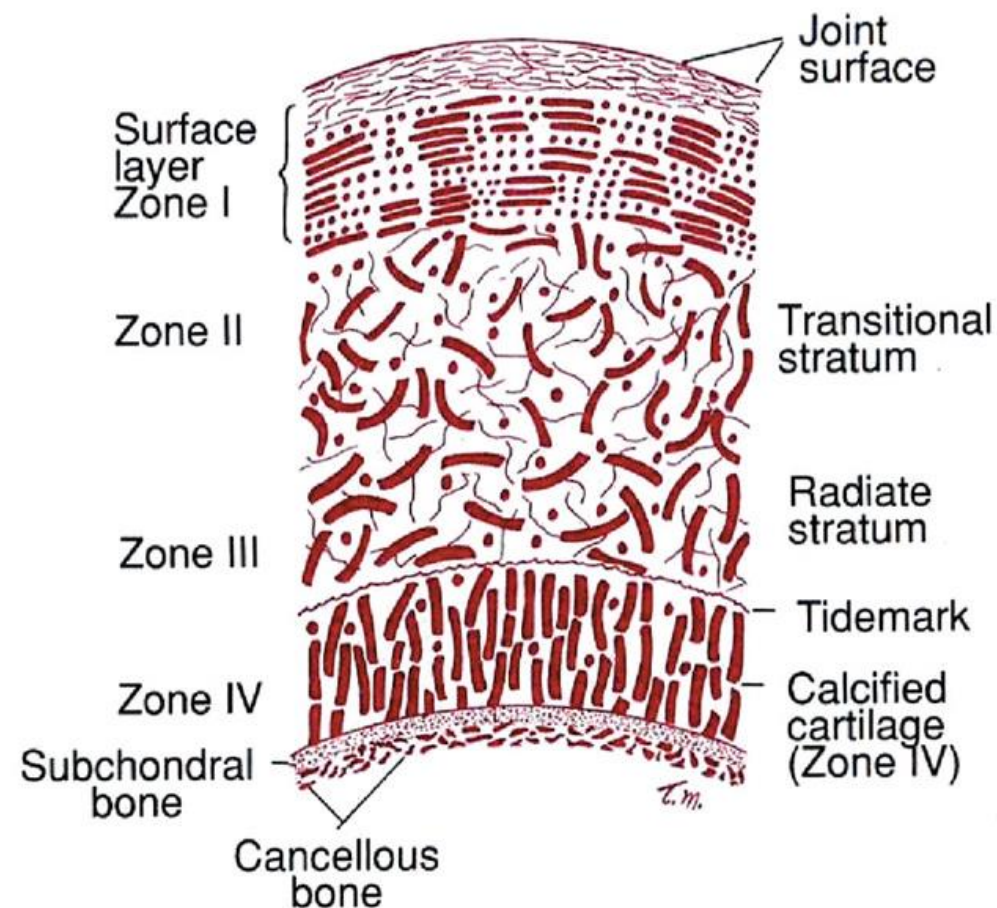
Potřeba objasnit procesy, ke kterým dochází  
při viskosuplementaci v kloubu



# Přehled současného stavu poznání

## Kloubní chrupavka

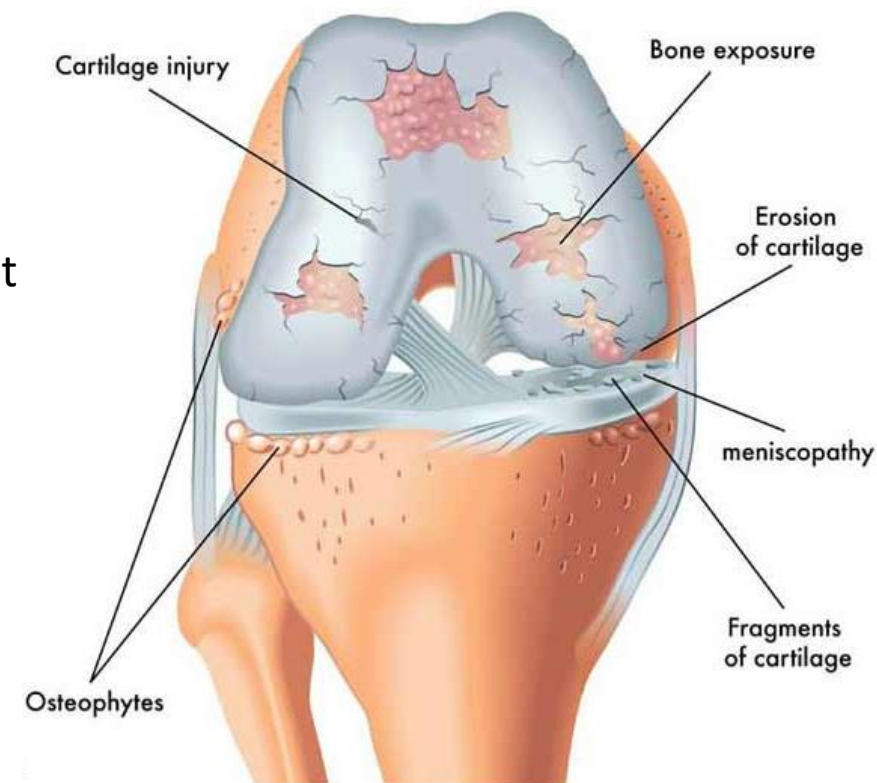
- Tvoří třecí povrchy synoviálních kloubů
- Bifázová struktura
  - Extracelulární matrice tvořena vlákny kolagenu, proteoglykany a chondrocyty
  - Podle uspořádání kolagenu a proteoglykanů rozlišujeme 4 vrstvy
  - Struktura vyplněna vodou, proteiny, ionty, ...
- Viskoelastická, anizotropní tkáň
- Modul pružnosti 1 – 20 MPa
- Nízké tření, odolnost proti opotřebení
- Avaskulární tkáň → omezená schopnost regenerace



# Přehled současného stavu poznání

## Osteoartróza

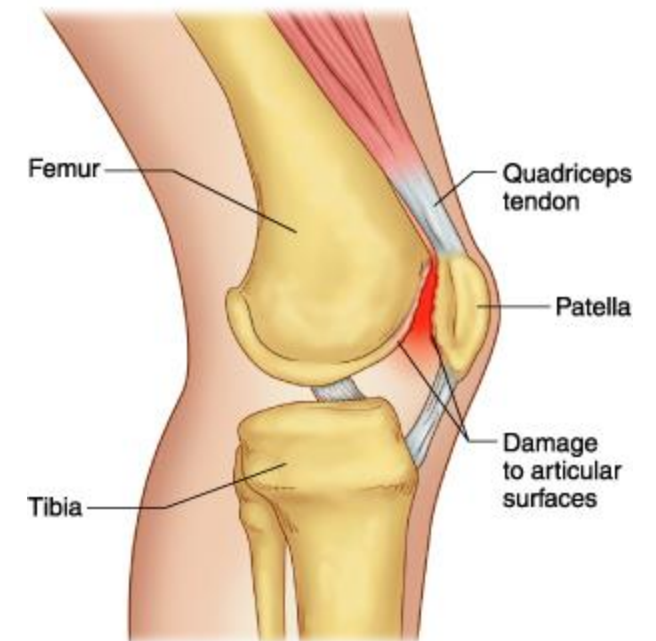
- Nerovnováha mezi syntézou a degenerací chrupavky → nadměrné opotřebení
- Nadměrné zatížení zvýší aktivitu chondrocytů, které začnou produkovat enzymy rozkládající strukturu chrupavky
- Změkčení chrupavky, rozvláknění kolagenové struktury, trhliny, eroze → odhalení subchondrální tkáně, tvorba otěrových částic
- Rozrušení bifázového mazání a nárůst tření, zhoršení elasticity a pevnosti v tlaku
- Vyšší obsah vody, nižší koncentrace a molekulová hmotnost HA → ztráta schopnosti absorbovat rázy



# Přehled současného stavu poznání

## Chondropatie

- Odchyly v anatomii dolní končetiny (zvětšený mediální kondyl) a špatná funkce extenzního aparátu → styk mediální fasety pately a mediální kondyly femuru při flexi/extenzi
- Faseta je vystavena velkému kontaktnímu tlaku a stříhovým silám
- Změny v hluboké radiální vrstvě
- Úbytek proteoglykanů, rozvláknění kolagenové struktury a změknutí chrupavky → poškození povrchových vrstev



# Přehled současného stavu poznání

## Neinvazivní metody léčby

### Kortikosteroidy

- Protizánětlivé účinky
- Snížení bolesti
- + Rychlý nástup účinku
- Krátkodobé účinky

### Kyselina hyaluronová

- Mechanické účinky
  - Obnovení reologických vlastností SF
  - Zlepšení mazání a schopnosti absorbovat rázy
- Fyziologické účinky
  - Podpora syntézy endogenní HA, chondrocytů
  - Snížení aktivity zánětlivých buněk
- + Účinky až 6 měsíců po aplikaci
- Účinnost a délka účinku kolísá v závislosti na stavu pacient



# Přehled současného stavu poznání

## Viskosuplementy

- Podle stuktury
  - Hyaluronany - lineární polymery N-acetyl glykosaminu a kys. glukorové
  - Hylany – řetězce hyaluronanů pospojované příčnými vazbami → výrazné zvýšení molekulové hmotnosti
- Podle molekulové hmotnosti
  - S malou (<700 kDa)
  - Se střední (800 - 1500 kDa)
  - S vysokou (>1500 kDa)

	Objem účinné látky	Počet injekcí	Obsah kyseliny hyaluronové v 1 injekci	Molekulová hmotnost
Synvisc	2 ml	1-2	16 mg	6 000 kDa
Synvisc One	6 ml	1	48 mg	6 000 kDa
Erectus	2 ml	3	24 mg	1 100 kDa
Go-On	2,5 ml	3	25 mg	800-1 500 kDa
Hyalone	4 ml	3	60 mg	1 500-2 000 kDa
Hyalgan	2 ml	3-5	20 mg	500-730 kDa
Jointex	2 ml	3	16 mg	800-1 200 kDa
RenehaVis	0,7 + 0,7 ml	1-3	15,4 mg/ 7 mg	1 000/2 000 kDa
Sinovial	2 ml	3	16 mg	800-1 200 kDa
Suplasyn One Shot	6 ml	1	60 mg	500-1 000 kDa
Synochrom	2 ml	5	20 mg	1 600 kDa
Synochrom Forte	2 ml	3	40 mg	2 100 kDa

# Přehled současného stavu poznání

## Mechanismus viskosuplementace

- Teorie od Balazse a Denlingera hovoří o obnově reologických vlastností
  - Pozitivní výsledky lze pozorovat i po vymizení viskosuplementu
- Útlum zánětlivých mediátorů
- Imunoregulační schopnosti (snížení produkce enzymů rozkládajících chrupavku)
- HA s nízkou molekulovou hmotností proniká do tkáně chrupavky
  - Ochrana a stimulace chondrocytů prostřednictvím receptorů CD44 → tvorba endogenní HA
  - Receptory CD44 nejlépe stimulují fragmenty s molekulovou hmotností 500 – 1500 kDa
- Velké molekuly HA ulpívají na povrchu tvoří gelový ochranný film
  - Vlivem zatěžování dochází ke zkracování řetězců a HA proniká do struktury → pomalejší nástup, delší účinky



# Přehled současného stavu poznání

## Reologie synoviální kapaliny a viskosuplementu

Zhang a kol. [2014]

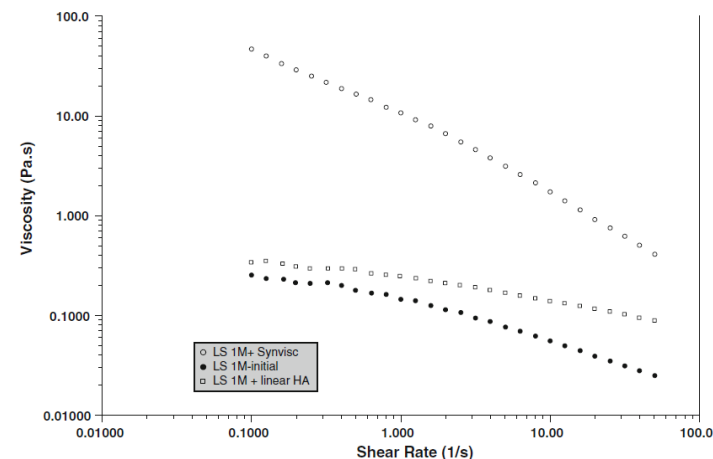
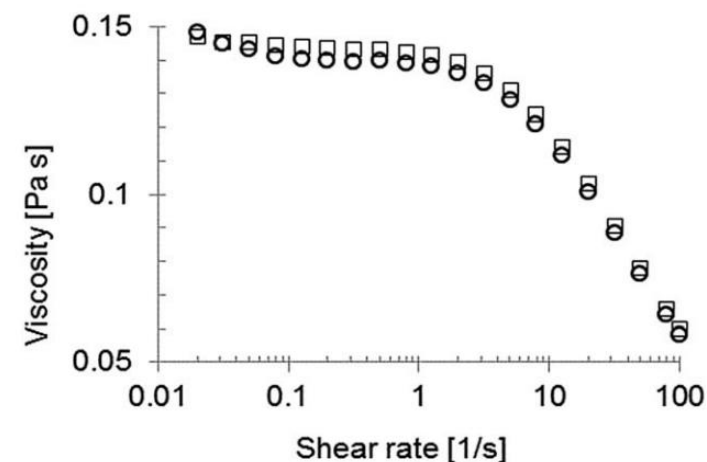
- $\gamma$ -globulin nemá na reologii zásadní vliv
- chování synoviální kapaliny je kombinací chování HA a albuminu

Zhang a kol. [2015]

- HA je primární složka ovlivňující viskozitu synoviální kapaliny

Mathieu a kol. [2015]

- Vliv lineární a síťované HA na reologii
- Síťovaná HA způsobuje výrazný nárůst viskozity a výraznější neneutonské chování
- Lineární mírný nárůst a zmírnění neneutonského chování



# Přehled současného stavu poznání

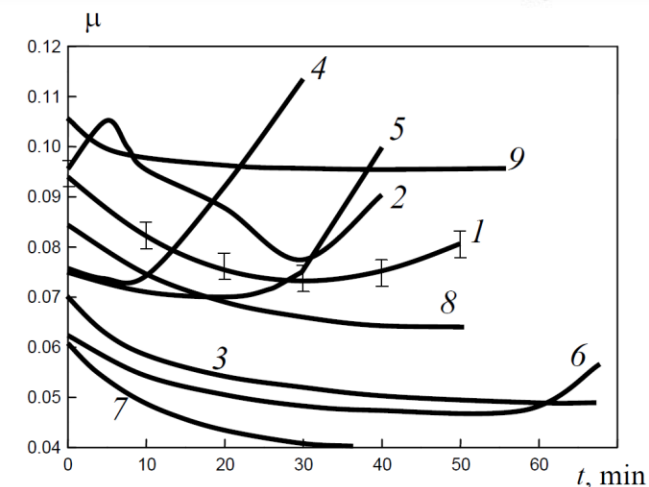
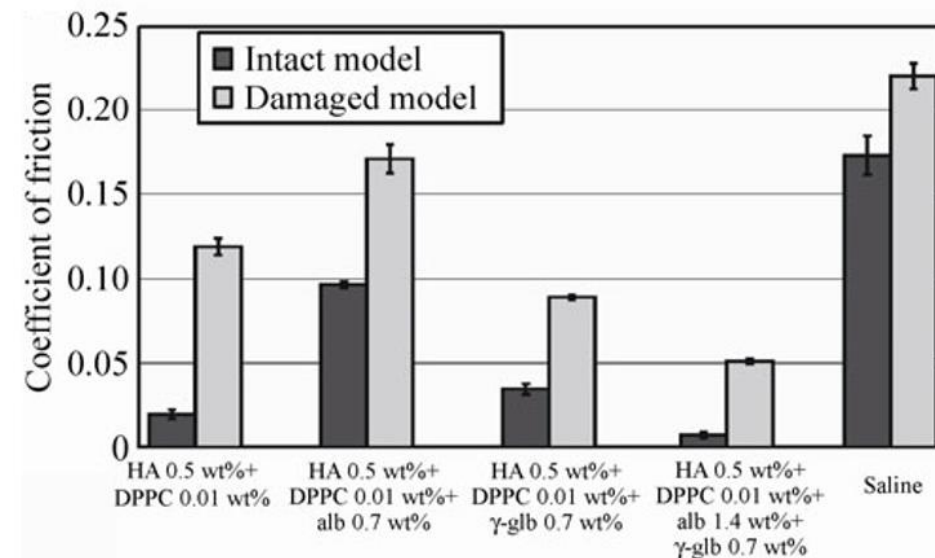
## Tření v kloubní chrupavce

### Murakami a kol.

- Tření v kontaktu chrupavky mazaném jednotlivými složkami SF
- Změny v součiniteli tření pro různé kombinace složek SF
- Netknutá vs. mechanicky poškozená chrupavky

### Cherniakova a Pinchuk

- Součinitel tření v kontaktu mazaném viskosuplementy
- U čistých viskosuplementů vyšší tření než u SF
- Data využita při vývoji nových viskosuplementů



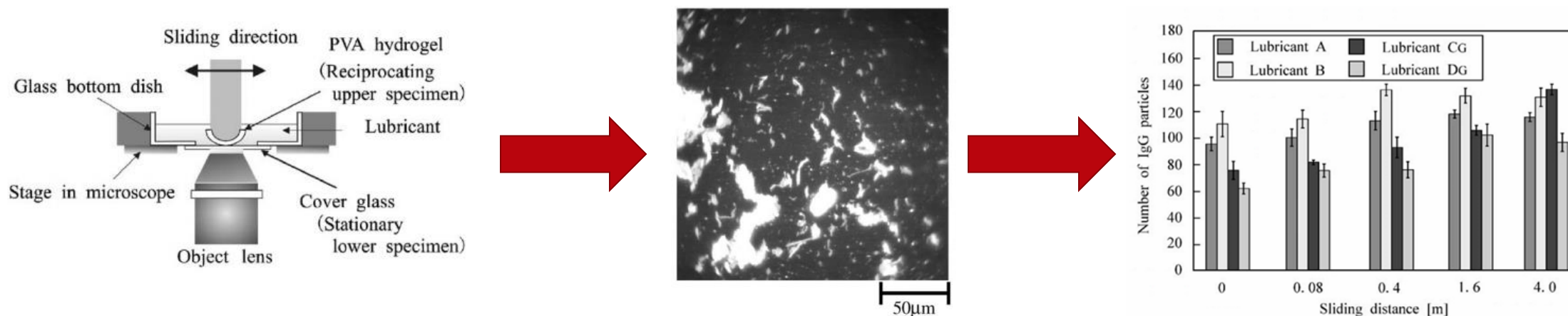
# Přehled současného stavu poznání

## Mazání kloubní chrupavky

- Články zabývající se měřením tloušťky mazacího filmu v chrupavce nebyly doposud publikovány

### Yarimitsu a kol.

- Nejvyšší adsorpce  $\gamma$ -globulin z čistého roztoku, zvýšení obsahu albuminu snižuje jeho adsorpci
  - Při vysokém poměru A:G dochází se snadné desorpci  $\gamma$ -globulin
- Adsorpce albuminu závislá na koncentraci bez výrazného rozdílu, jestli roztok obsahuje i  $\gamma$ -globulin
- HA a albumin se odpuzují, s  $\gamma$ -globulin tvoří komplexní struktury a zlepšuje se adsorpce HA



# Podstata a cíle práce

## Hlavní cíl

- Analýza vlivu molekulové hmotnosti a síťování HA, dodané do kloubu během viskosuplementace, na utváření mazacího filmu a na tření v kontaktu kloubních chrupavek v závislosti na složení synoviální kapaliny.

## Dílčí cíle

- Metodika extrakce a uchování vzorků kloubních chrupavek
- Implementace optických metod pro analýzu utváření mazacího filmu v kontaktu chrupavka – sklo
- Experimentální analýza vlivu složení proteinových roztoků a modelových synoviálních kapalin na mazání a tření kloubních chrupavek
- Experimentální analýza vlivu změny tribologických/reologických vlastností synoviální kapaliny po viskosuplementaci na mazání a tření kloubních chrupavek



# Vědecká otázka a hypotéza

## Vědecká otázka

*Jaký je vliv molekulové hmotnosti a síťování kyseliny hyaluronové, dodané do kloubního pouzdra po viskosuplementaci, na tření a mazání kloubní chrupavky?*

## Hypotéza

*Viskosuplementy s vyšší molekulovou hmotností a s vyšší stupněm síťování způsobí výraznější pokles součinitele tření a výraznější nárůst tloušťky mazacího filmu než viskosuplementy s nesíťovanou HA o nízké molekulové hmotnosti.*

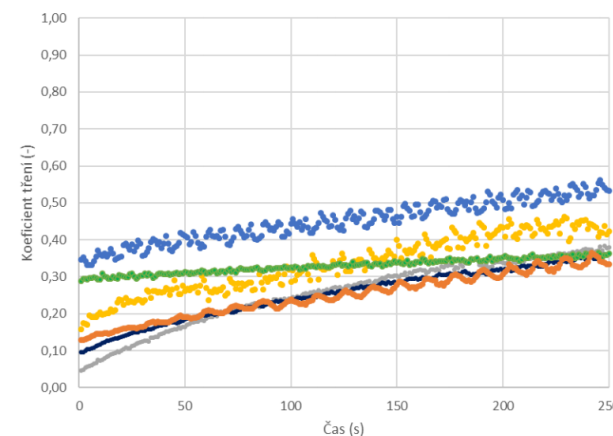


# Postup řešení

- Metodika extrakce a uchování chrupavek
- Vzorokly z hlavic vepřových femurů



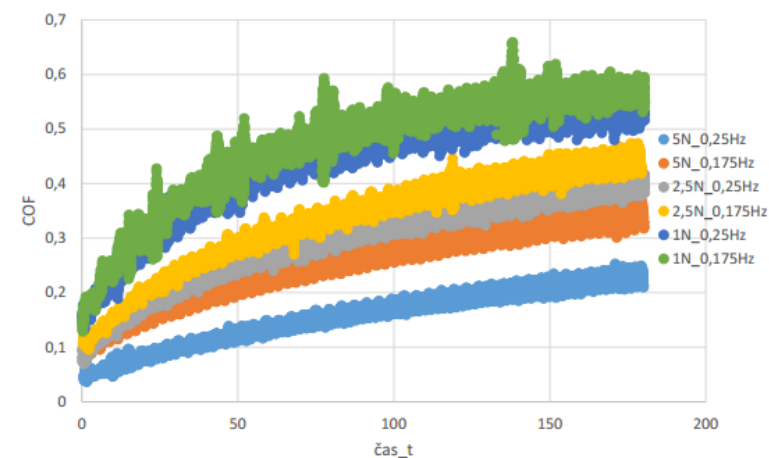
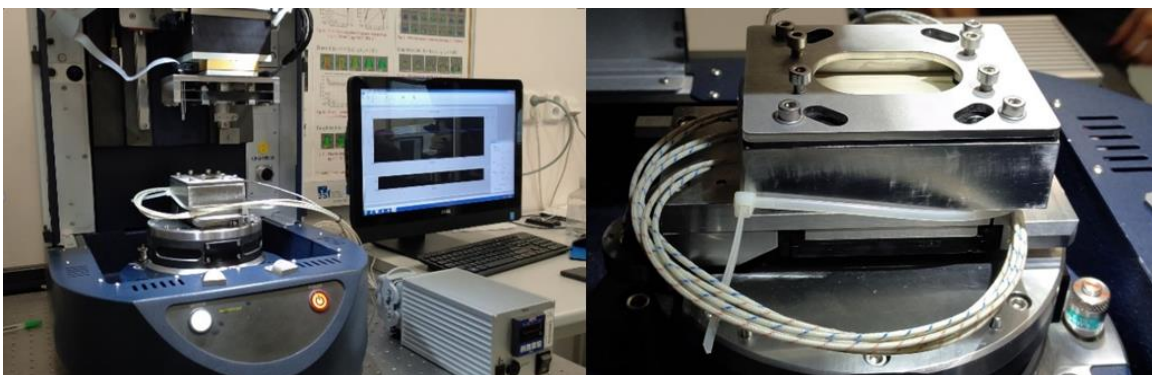
- Experimentální ověření metodiky
- Bakalářská práce: „*Experimentální studium součinitele tření kloubní chrupavky*“



- NOVÝ PIN
- 6 DNÍ V LEDNICI
- 12 DNÍ V MRAZNIČCE
- 2 DNY V LEDNICI
- 6 DNÍ V MRAZNIČCE
- 12 DNÍ V MRAZNIČCE - ZNOVU ZMRAZENÝ

# Postup řešení

- Prvotní experimenty mapující vliv kinematických podmínek a zatížení na tření
  - Konstrukce modulů pro univerzální tribometry Brüker a Rtec
  - Týmový projekt: „*Návrh a konstrukce modulů pro univerzální tribometry Rtec a Bruker*“



- Volba složení modelových synoviálních kapalin a viskosuplementů
  - Spolupráce s FN Olomouc
  - Vzorke fyziologických a osteoartritických synoviálních kapalin (min. 5) charakterizujících spektrum pacientů podstupujících viskosuplementaci
  - Volba viskosuplementů na základě lékařských zkušeností a dostupnosti na trhu

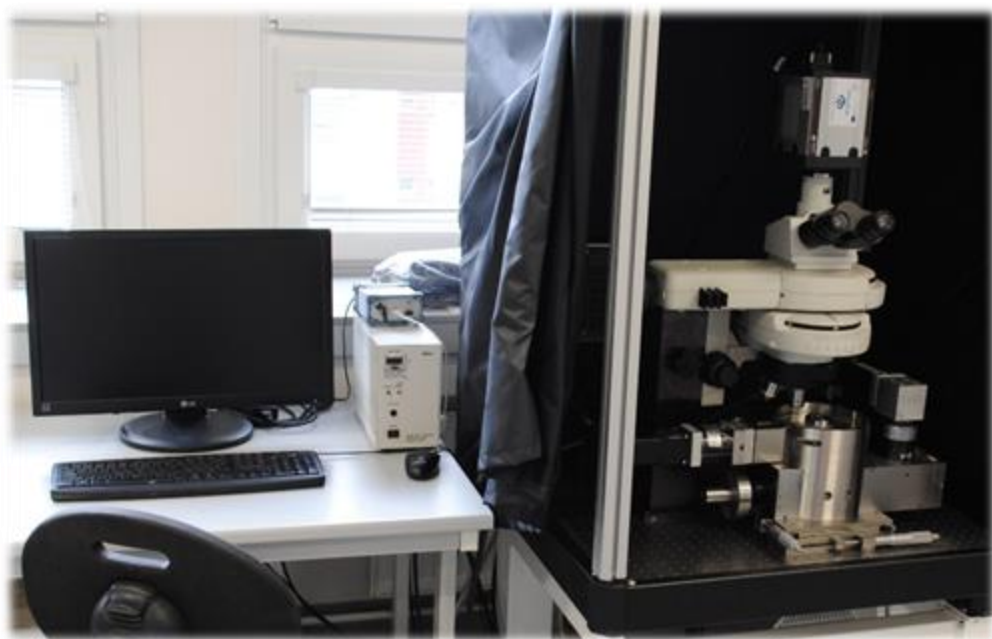
# Postup řešení

- Vliv složení synoviální kapaliny na součinitel tření
- Interakce viskosuplementů se synoviálními kapalinami
  - Analýza změn součinitele tření po přidání viskosuplementu do SF
  - Výdrž viskosuplementu v synoviální kapalině
- Analýza reologie synoviálních kapalin a viskosuplementů
  - Spolupráce s FN Olomouc
  - Analýza viskozit synoviálních kapalin a viskosuplementů
  - Měření viskózního a elastického modulu pružnosti kapalin

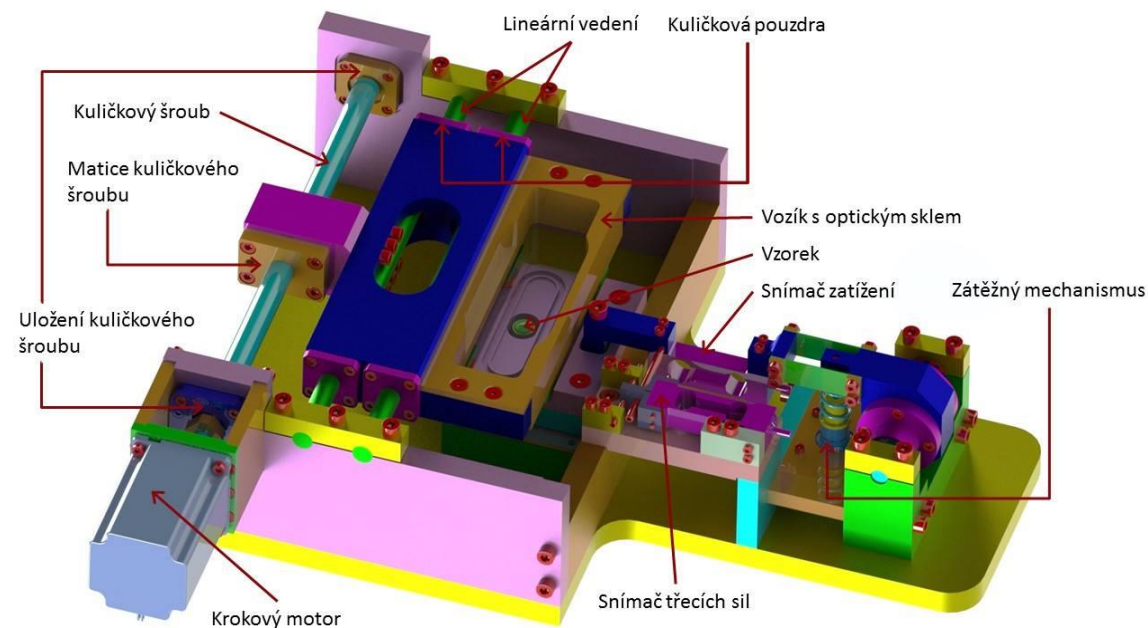


# Postup řešení

- Implementace fluorescenční mikroskopie pro vizualizaci kontaktu chrupavky-sklo
  - Kalibrace metody pro převod intenzity vyzářeného světla na tloušťku filmu
- Vliv složení synoviální kapaliny na utváření mazacího filmu
- Interakce různých viskosuplementů se synoviálními kapalinami a jejich vliv na tloušťku mazacího filmu



Fluorescenční aparatura



Tribometr pro vizualizaci poddajných kontaktů

# Analýza dat

## Tření

- Závislost součinitele tření na koncentraci složek modelových synoviálních kapalin
- Změny součinitele tření po viskosuplementaci v závislosti na molekulové hmotnosti a síťování HA
- Analýza časů, za který pojde k vyčerpání HA a obnovení původních hodnot součinitele tření

**Cíl:** popsat vliv molekulové hmotnosti (síťování) kyseliny hyaluronové na tření v osteoartritickém synoviálním kloubu

## Mazání

- Změny ve vývoji tloušťky mazacího filmu po viskosuplementaci
- Analýza pohybu a adsorpce HA v kontaktu (pod povrchem chrupavky)

**Cíl:** popsat změny ve formování mazacího filmu po viskosuplementaci

**Definovat vhodný viskosuplement pro konkrétního pacienta na základě složení SF.**



# Spolupráce s jinými institucemi

## prof. MUDr. Jiří Gallo, Ph.D.

- Ortopedická klinika Fakultní nemocnice Olomouc
- Vzorby lidských chrupavek, synoviálních kapalin, viskosuplementů
- Analýza reologie

## prof. Yoshinori Sawae

- Department of Mechanical Engineering, Kyushu University
- Konzultace výsledků

## Contipro a.s.

- Vzorby kyseliny hyaluronové
- Testování nových viskosuplementů



# Výstupy disertační práce

- Přílohová forma disertační práce
  - Publikace minimálně tři článků v impaktovaném časopise
    - Osteoarthritis and cartilage (IF: 4.535)
    - Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials (IF: 2.876)
    - Journal of Biomechanics (IF: 2.431)
    - Tribology Transactions (IF: 1.418)
    - Acta Chirurgiae Orthopaedicae et Traumatologiae Cechoslovaca (IF: 0.552)
  - Prezentace výsledků na (mezi)národních konferencích



Děkuji vám za pozornost

**Ing. David Rebenda**

[David.Rebenda@vut.cz](mailto:David.Rebenda@vut.cz)

<http://uk.fme.vutbr.cz/>