



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta strojního inženýrství
Ústav konstruování

Brno University of Technology
Faculty of Mechanical Engineering
Institute of Machine and Industrial Design

EXPERIMENTÁLNÍ STUDIUM UTVÁŘENÍ MAZACÍHO FILMU V SYNOVIÁLNÍM KLOUBU

ČÍPEK PAVEL

Pojednání ke státní doktorské zkoušce
Discourse on the Dissertation Thesis

Brno 2018



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta strojního inženýrství
Ústav konstruování

Brno University of Technology
Faculty of Mechanical Engineering
Institute of Machine and Industrial Design

EXPERIMENTÁLNÍ STUDIUM UTVÁŘENÍ MAZACÍHO FILMU V SYNOVIÁLNÍM KLOUBU

**EXPERIMENTAL STUDY OF LUBRICATION FILM FORMING IN
SYNOVIAL JOINT**

Ing. Čípek Pavel

Autor práce
Author

doc. Ing. Martin Vrbka, Ph.D.

Vedoucí práce
Supervisor

Pojednání ke státní doktorské zkoušce
Discourse on the Dissertation Thesis

Brno 2018

OBSAH

1	Úvod	7
2	Vymezení řešené problematiky a předběžného cíle disertační práce	8
3	Shrnutí současného stavu poznání Chyba! Záložka není definována. Chyba! Záložka není definována.	
3.1	Tribologie synoviálního kloubu	11
3.2	Analýza mazání v synoviálním kloubu	29
4	Analýza, interpretace a zhodnocení poznatků získaných na základě kritické rešerše	43
4.1	Výzkum v oblasti tribologických vlastností synoviálního kloubu	43
4.1.1	Vliv provozních podmínek na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu	43
4.1.2	Vliv stavu vzorků tkáně chrupavky na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu	43
4.1.3	Vliv druhu pohybu při experimentu na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu	44
4.1.4	Vliv velikosti vzorků tkáně chrupavky na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu	44
4.1.5	Vliv materiálů v kontaktu synoviálního kloubu s tkání chrupavky na součinitel smykového tření	44
4.1.6	Vliv rehydratace tkáně chrupavky na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu	44
4.1.7	Metodologie odběru tkáně chrupavky na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu	44
4.2	Výzkum v oblasti mazání synoviálního kloubu	45
4.2.1	Struktura tkáně chrupavky	45
4.2.2	Režim mazání v synoviálním kloubu	45
4.2.3	Použití fluorescenční mikroskopie při vizualizaci kontaktu synoviálního kloubu	47
4.2.4	Numerické simulace proudění kapaliny v kontaktu synoviálního kloubu	48
4.3	Shrnutí a závěry plynoucí z rešeršní analýzy	48
5	Vymezení cíle disertační práce a návrh způsobu jejího řešení	49
5.1	Cíl disertační práce	49
5.2	Vědecká otázka	49
5.3	Pracovní hypotéza	49
5.3.1	Zdůvodnění hypotéz	49
5.4	Návrh způsobu řešení a použité metody	50
5.4.1	Krok 1 – metodika odběru vzorků	51
5.4.2	Krok 2 – Experimentální zařízení	51
5.4.3	Krok 3 – Implementace metody	52
5.4.4	Krok 4 – Experimentální analýza in situ kontaktu	54
6	Současný stav řešení disertační práce	56
6.1	Návrh a ověření metodiky odběru vzorků chrupavky	56
6.2	Návrh, konstrukce a výroba experimentálního zařízení	58

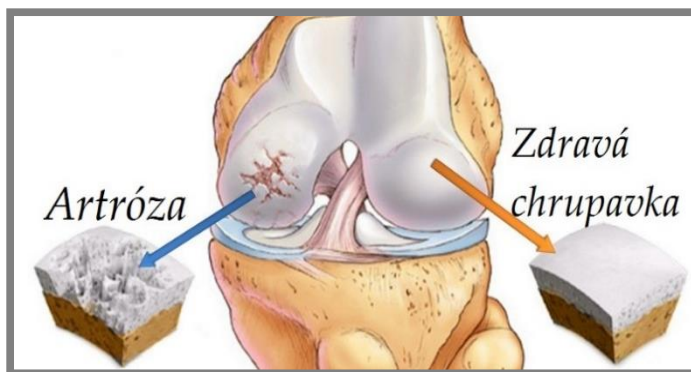
6.3 Implementace metody fluorescenční mikroskopie pro použití na poddajný kontakt synoviálního kloubu.....	64
7 Závěr	67
8 Bibliografie	68
Seznam obrázků	73
Seznam tabulek	76

1 ÚVOD

Pojednání ke státní doktorské zkoušce se zabývá studiem mazání živých kloubů, resp. studiem utváření mazacího filmu v synoviálním kloubu. Bezproblémový a bezbolestný chod pohybového aparátu je pro člověka velmi důležitým faktorem zaručujícím aktivní a bezstarostný život. Pohybový aparát tvoří klouby a svaly. Samotný kloub je tvořen dvěma kostmi proti sobě zakončenými kloubní chrupavkou a celý kloub je uložen v kloubním pouzdře, které udržuje styčné plochy kloubu stále zaplavené mazivem, resp. synoviální kapalinou. Klouby jsou velmi často zasaženy různými onemocněními, která vyvolají bolesti a omezí pohyblivost kloubů. Příkladem onemocnění kloubů je chondropatie, osteoartritida či artróza, viz obr. 1-1. V případě onemocnění kloubů dnešní medicína nabízí několik variant léčby, která závisí na rozsahu poškození zasaženého kloubu. Pokud je onemocnění kloubu vážné, je přistoupeno k výměně kloubu za kloubní náhradu, resp. totální endoprotézu. S tímto zákrokem je však spojena vážná komplikace, a tou je omezená životnost kloubních náhrad. Z tohoto důvodu je po určitém čase potřeba kloubní náhradu opět vyměnit za novou, což významně snižuje životní komfort. V případě menšího rozsahu onemocnění kloubů se přistupuje k tzv. neinvazivní léčbě, která nijak chirurgicky nezasahuje do kloubů. Příkladem je léčba pomocí viskosuplementací. Tímto způsobem lze zpomalit či stabilizovat vývoj onemocnění a tím i oddálit nutnost operace totální endoprotézy.

Účinek podpůrných suplementů není medicínou zatím nijak zaručený a u každého pacienta má viskosuplementace účinek jiný, někdy i žádný. Obecnou snahou je co nejvíce oddálit nutnost operace totální endoprotézy, resp. zlepšit a zaručit účinky viskosuplementací. Podstatou účinku těchto suplementů je podpůrný efekt mazacího procesu v kloubu, resp. reaktivace mazacích procesů v kloubu.

Výzkum se tribologií synoviálního kloubu zabývá už od 70. let minulého století, ale zatím stále ještě není zcela jasné, jak mazací procesy v kloubech fungují a co je ovlivňuje. Vzhledem k tomu, že účinky viskosuplementací jsou založeny na tribologii, je nad míru důležité pochopit principy mazání kloubů a tím napomoci k vývoji podpůrných suplementů sloužících k léčbě a stabilizaci onemocněním poškozených kloubů.



Obr. 1-1 Srovnání zdravého a nemocného synoviálního kloubu

2 VYMEZENÍ ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY A PŘEDBĚŽNÉHO CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

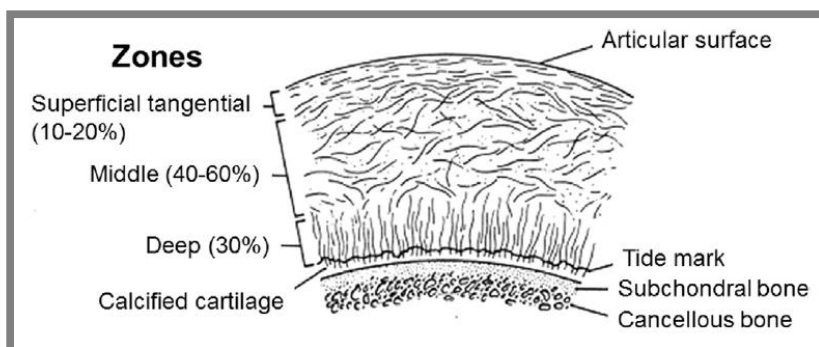
Problematika onemocnění velkých kloubů u člověka je v dnešní době často diskutované téma. Medicína nabízí několik možností léčby těchto onemocnění, avšak volba konkrétního přístupu léčby vždy závisí na typu a rozsahu onemocnění. Mezi první přístupy k léčbě onemocněním poškozených kloubů patřily kloubní náhrady, které se poprvé objevily přibližně v polovině minulého století. U těchto prvních typů náhrad se také objevil problém zejména s materiálem náhrad, který byl tehdy na nesrovnatelně nižší úrovni, než jsou materiály náhrad dnes. První náhrady byly vyrobeny ze dřeva a asi o 50 let později byla pro výrobu náhrad použita slonovina. Dnes se kloubní náhrady vyrábějí nejčastěji v kombinaci dvou materiálů, a to hlavice z chromové oceli CoCrMo, nebo keramické a jamky z polyethylenu s vysokou molekulovou hmotností. Dle průzkumů se životnost náhrad pohybuje od 10 do 20 let, což je pouze zlomek života člověka. Počet pacientů s totální endoprotézou se zvyšuje a z důvodu omezené životnosti je zvláště u mladších pacientů potřeba, aby byla opotřebovaná kloubní náhrada po vyčerpání životnosti vyměněna za novou. Tato komplikace je velké omezení životního komfortu a velký zásah do lidského organismu. Lidské tělo nesnese neomezený počet reoperací kloubní náhrady zejména z důvodu vnášení částic opotřebení do těla. Obecnou snahou je tedy co nejvíce oddálit vůbec potřebu totální endoprotézy a najít vhodnou alternativu, léčbu, kterou by bylo možné poškozené klouby vyléčit, nebo alespoň udržet v pohybu schopném stavu.

Novinkou v medicíně jsou teď umělé tkáně, tedy umělé chrupavky, které slouží jako přímá náhrada poškozené 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 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. Je třeba vyřešit tyto nedostatky, resp. další fáze výzkumu by měla obsahovat zejména výzkum a vývoj v oblasti tribologie umělých a reálných chrupavek.

Problematika onemocnění a funkce kloubů je úzce spjata i s mazáním kloubů. První vědecké články v oblasti mazání kloubů se objevily v 70. letech minulého století, kde byly práce většinou zaměřeny na zjištění součinitele smykového tření, (dále jen CoF). Experimenty byly prováděny na vzorcích chrupavky v kombinaci s různými dalšími materiály (ocel, sklo, plast, ...), protože pokusy *in vitro* jsou v tomto případě absolutně nereálné. Dnešní práce jsou zaměřeny i na určení režimů mazání při určitých podmínkách. V problematice mazání např. kyčelních náhrad byl vizualizován mazací film a změřena tloušťka mazacího filmu, což u mazání synoviálních kloubů zatím chybí.

Důležitým aspektem v problematice mazání synoviálních kloubů je struktura tkáně chrupavky, která je tvořena z 60–80 % vodou, neobsahuje cévy, obsahuje pouze malé množství buněk (2–10 %) [1]. Matrice (ECM) chrupavky se skládá zejména z kolagenových vláken a proteoglykanu. 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. 2-1. První povrchní vrstva ECM má kolagenová vlákna uspořádaná rovnoběžně s povrchem a obsahuje kolagenová vlákna typu II [2]. Povrchová vrstva je tedy schopna odolávat smykovým silám. 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 [3]. Kolageny jsou zde uspořádány kolmo k povrchu. Struktura chrupavky je schematicky znázorněna na obr. 2-1.



Obr. 2-1 Povrchové zóny tkáně chrupavky [3]

Hydratace tkáně chrupavky klesá s každou zónou. V povrchové oblasti je obsaženo hodně vody a dalších molekul s menší velikostí, která je natažena do struktury chrupavky. Tkáň v povrchové vrstvě 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 [4]. Do struktury vnikají pouze menší molekuly. Velikost molekul, které se dostanou pod povrch, 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 [5]. Modul pružnosti chrupavky se pohybuje v rozmezí od 1 do 20 MPa [6, 7] v závislosti na typu kloubu a místě na povrchu kloubní hlavice.

V oblasti výzkumu mazání kloubů jsou často používány různé optické metody, které poskytují náhled do místa kontaktu, což umožňuje monitorovat procesy a děje v kontaktu nastalé. Na řešitelském pracovišti této práce, jsou optické metody poměrně pokročilé a rozvinuté. Používají se pro vizualizaci mazacího filmu a měření jeho tloušťky. Je k dispozici optická interferometrie a fluorescenční mikroskopie. Každá z těchto metod má své využití u konkrétních typů kontaktů a aplikací. Tato práce je zaměřena na propojení optických metod řešitelského pracoviště a klasického měření CoF (viz publikace) a tím vizualizovat a popsat tvorbu mazacího filmu v synoviálním kloubu. Nové poznatky v oblasti mazání synoviálního kloubu by mohli významně přispět k vývoji nových vhodných látek pro např. konzervační léčbu, nebo nemoc stabilizovat a tím co možná nejvíce oddálit nutnost operace totální endoprotézy. Bylo prokázáno, že špatně mazané klouby u živočichů způsobují degeneraci populace [8,

9]. Je tedy nadmíru důležité, aby byly lidské klouby v dobré kondici a zajišťovali lidem dostatečné možnosti k aktivnímu životu a životnému komfortu.

Velmi důležitým krokem v řešení tématu je zvolení si vhodné experimentální metody. Postup i aspekty ovlivňující tuto volbu budou podrobně popsány dále v této práci. V tomto případě, kdy se jedná o biologický materiál, jak mazivo, tak i vzorky, je zcela nemožná numerická simulace. Na začátek je třeba nadefinovat předpokládané měřené a pozorované proměnné. Jak již bylo řečeno, ideálním stavem by bylo experimentálně ověřovat teorie *in vivo*, ale to bohužel není možné. Proto se přistupuje k nejbližší možné konfiguraci poskytující požadované experimentální záměry:

- Kvantifikovat CoF při recipročním pohybu v řádu tisícín až desetin
- Pozorovat chování jednotlivých složek synoviální kapaliny při formování mazacího filmu v průběhu experimentů

Vzhledem k tomu, že testované vzorky budou vyráběny z tkáňovitého materiálu chrupavky, která má specifické vlastnosti, je potřeba, aby zvolená metoda počítala těmito aspekty:

- Nízký modul pružnosti vzorků
- Velmi nízká odrazivost povrchu vzorků
- Nízká elektrická vodivost kontaktu

Dále je potřeba zvolit si vhodný koncept konfigurace experimentálního zařízení. V pracích [10 - 20] se objevují tyto koncepty:

- Tribometr konfigurace pin-on-disk s recipročním pohybem
- Tribometr konfigurace pin-on-plate s recipročním pohybem
- Kyvný tribometr

Vzhledem k tomu, že tato práce je zaměřena na vizualizaci mazacího filmu v kontaktu synoviálního kloubu, vyvstávají další požadavky:

- Náhled do kontaktu
- Plně zaplavený kontakt
- Temperování mazací lázně na teplotu lidského těla

Po zvážení všech uvedených požadavků jak na experimenty, experimentální podmínky, tak i na experimentální vybavení byly zvoleny tyto závěry:

- Zvolená metoda – fluorescenční mikroskopie
- Tribometr konfigurace pin-on-plate s recipročním pohybem

Nejvhodnější vizualizační metodou se zdá být fluorescenční mikroskopie, a to především kvůli typu kontaktu – poddajný, neodrazivý povrch vzorku. Na rozdíl od optické interferometrie závisí vizualizace na intenzitě emitovaného světla z fluorescenčně obarveného maziva v kontaktu. Tato metoda navíc poskytuje možnost pozorovat v kontaktu jednotlivé složky maziva, které kontaktem procházejí, což umožňuje vyhodnotit vliv jednotlivých složek maziva na formování mazacího filmu. Fluorescenční mikroskopie na pracovišti již zavedena je, ale bude třeba ji jen mírně upravit a implementovat na daný typ kontaktu.

Práce je založena na kombinaci optické vizualizační metody a konvenčního měření tření, čímž do oblasti vědy vnáší nové souvislosti a poznatky.

3 SHRNUTÍ SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ

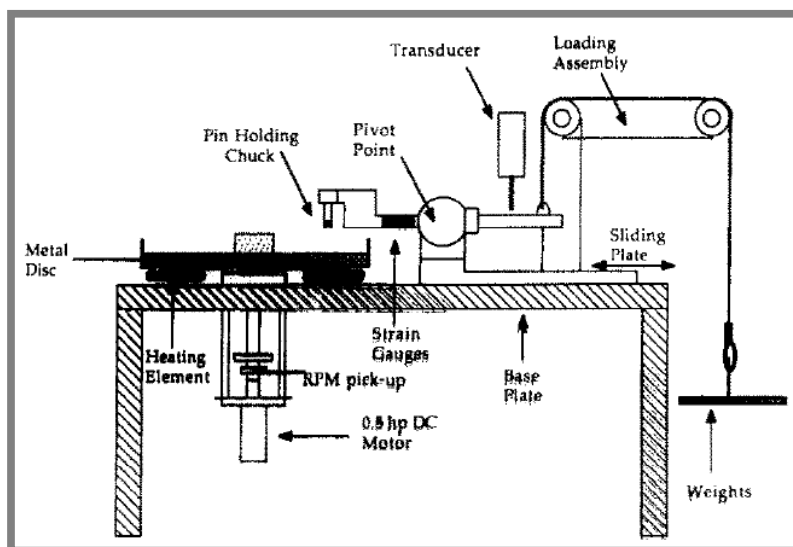
3

3.1 Tribologie synoviálního kloubu

3.1

[10] 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.

Autor se zabývá experimenty, které jsou zaměřené na zjištění CoF a opotřebení v synoviálním kloubu. Pro experiment si autor zvolil tribometr v konfiguraci pin-on-disk, viz obr. 3-1. Použitý pin byl vyroben z chrupavky a disk z nerezové oceli s povlakem CLA. Drsnost povrchu disku byla 0,07 μm .



Obr. 3-1 Tribometr pin-on-disk [10]

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

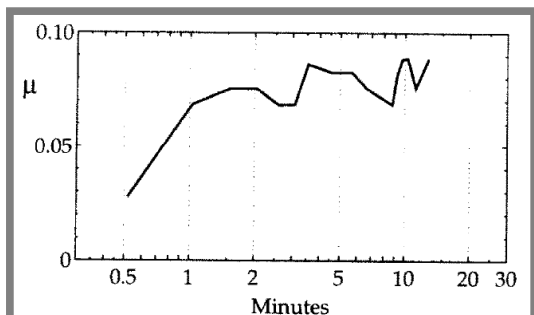
- Experiment s chrupavkou bez maziva
- Experiment se synoviální kapalinou
- Experiment se solným roztokem
- Experiment se solným roztokem a velkým zatížením

Teplota experimentu byla zvolena 38 °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.

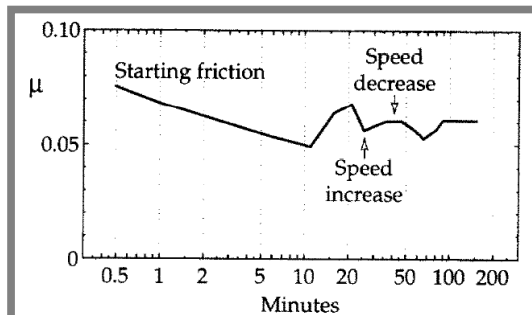
Výsledky a závěry

Naměřený CoF se pohyboval od 0,025 do 0,08 a s nabývajícím časem rostl, viz obr. 3-2. Bylo tedy zjištěno, že se chrupavka v suchém kontaktu 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. 3-3. Při experimentu mazaného synoviální kapalinou byla zjištěna nejmenší hodnota CoF, která se pohybovala okolo hodnoty 0,018 a opěť se s časem zvyšuje.



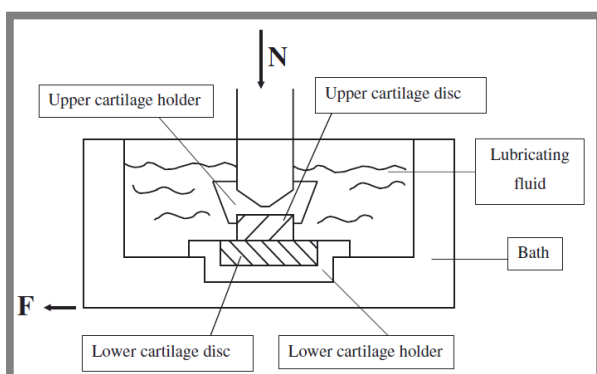
Obr. 3-3 Naměřené hodnoty CoF v suchém kontaktu chrupavka-ocelový disk. Zatížení 2,7 N, teplota 38 °C, rychlost 40 mm/s [10]



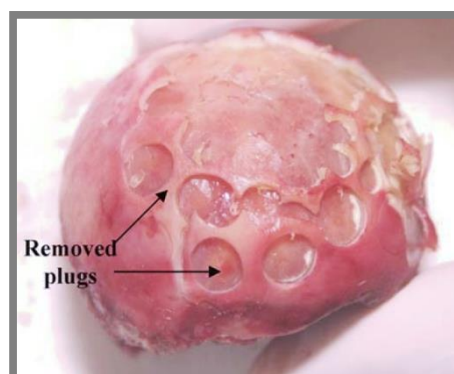
Obr. 3-2 Naměřené hodnoty CoF v kontaktu chrupavka-ocelový disk, mazáno solným roztokem 0,9 mg/100ml. Zatížení 4,9 N, teplota 38 °C, rychlost 40 mm/s [11]

[11] 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.

Práce se zabývala experimenty s lidskou chrupavkou v konfiguraci pin-on-disk, a to buď v konfiguraci pin i disk z lidské chrupavky, nebo lidská chrupavka pin disk z kovu, viz obr. 3-4. Pohyb tribometru byl reciproční. Vzorky chrupavky byly získávány z lidského kyčelního kloubu viz obr. 3-5. 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.



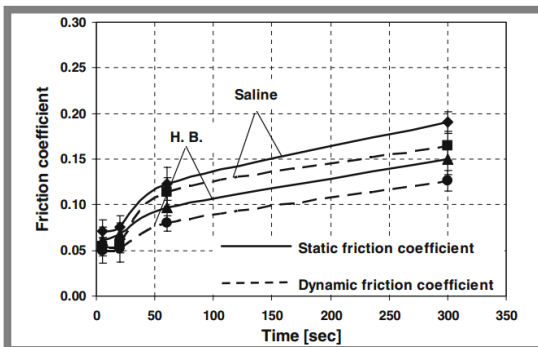
Obr. 3-4 Schematické znázornění použité konfigurace tribometru z publikace [11]



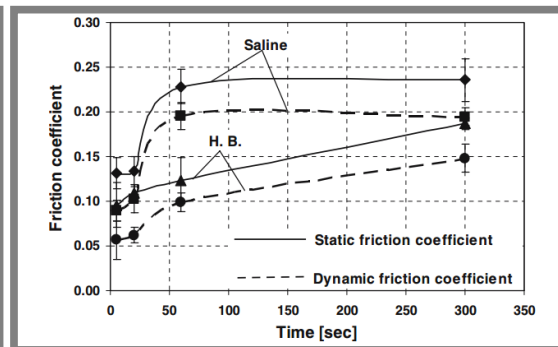
Obr. 3-5 Kyčelní kloub po odběru vzorků chrupavky pro experiment [11]

Výsledky a závěry

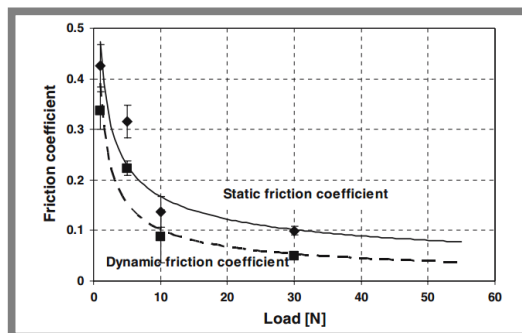
Výsledky byly podobné jak v předešlé publikaci, také ukazují na zvyšující se CoF při postupující době testování. Naměřené výsledky jsou ukázány na obr. 3-6 a obr. 3-7. Dále byla zjištěna závislost zatížení na CoF, viz obr. 3-8. Se zvyšujícím se zatížením se CoF statický i dynamický snižuje. Na posledním obrázku, obr. 3-9, 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.



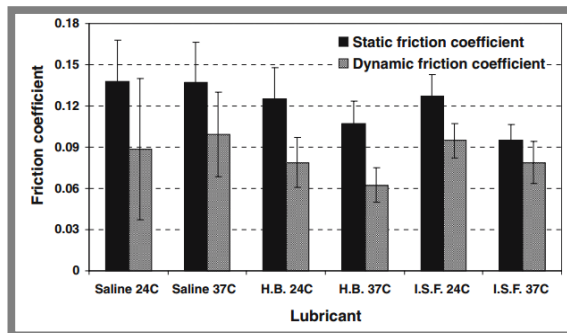
Obr. 3-7 Závislost statického a dynamického CoF na čase. Zatížení 30 N a teplota 37 °C. [11]



Obr. 3-6 Závislost statického a dynamického CoF na čase. Zatížení 10 N a teplota 37 °C. [11]



Obr. 3-9 Závislost statického a dynamického CoF a zatížení. Čas experimentu 5 s a teplota 24 °C. [11]



Obr. 3-8 Závislost statického a dynamického CoF a druhu maziva. Teplota 24 a 37 °C. [11]

[12] 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.

Práce pojednává o experimentech zaměřených na zjištění CoF u 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.

Materiál a metody

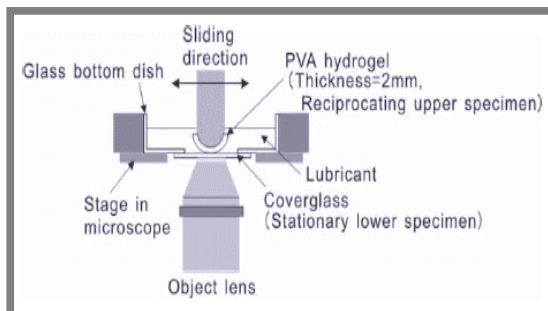
Bylo připraveno 5 konfigurací roztoků. Použité roztoky jsou uvedeny v tab. 3-10.

3. SHRUTÍ SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ

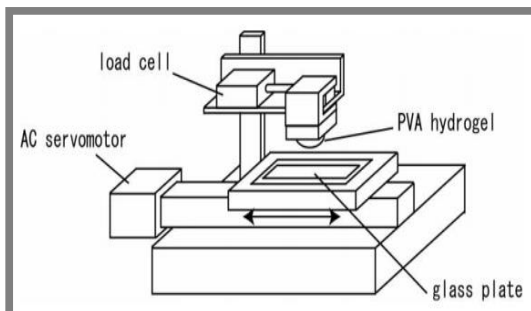
Tab. 3-10 Konfigurace roztoků pro experimenty z publikace [12]

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. 3-11 a 3-12. Zatížení kontaktu bylo zvoleno 0,736 N, což v kontaktu vyvozuje tlak 0,1 MPa. Byla použita malá klzná rychlost 0,2 mm/s při zdvihu zařízení 4 mm.



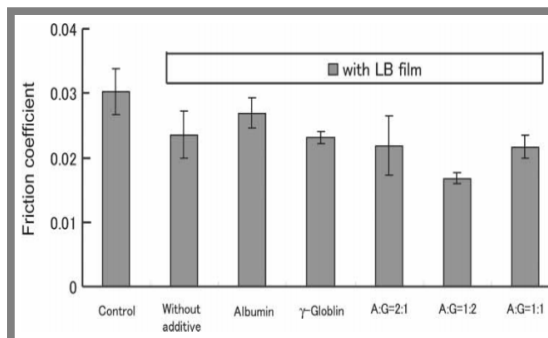
Obr. 3-12 Konfigurace tribometru z publikace T. Murakami a kol. – umístění vzorku [12]



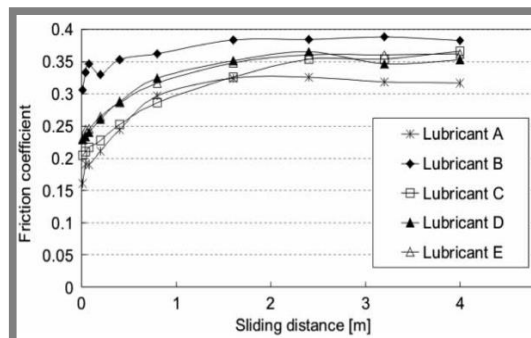
Obr. 3-11 Konfigurace tribometru pro třecí test z publikace T. Murakami a kol. [12]

Výsledky a závěry

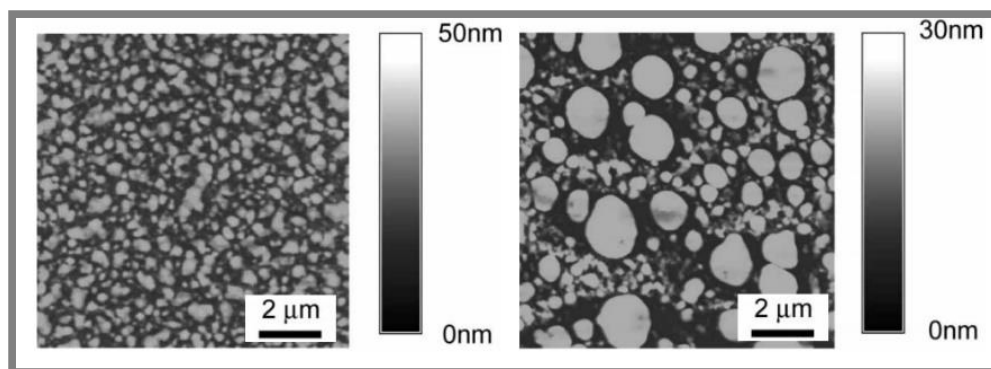
Bylo zjištěno, že vhodná kombinace koncentrací jednotlivých proteinů vede k stabilitě tvorby absorbovaného mezního mazacího filmu tvořeného proteiny a ke snížení CoF, viz obr. 3-14. Dále bylo zjištěno, že CoF s časem, resp. s rostoucí ujetou dráhou vzorku po skle roste, viz obr. 3-13. Na obr. 3-15 jsou snímky absorbovaného proteinového filmu na skleněné desce z mikroskopu atomárních sil (dále už jen AFM).



Obr. 3-14 CoF v závislosti na složení roztoku. [12]



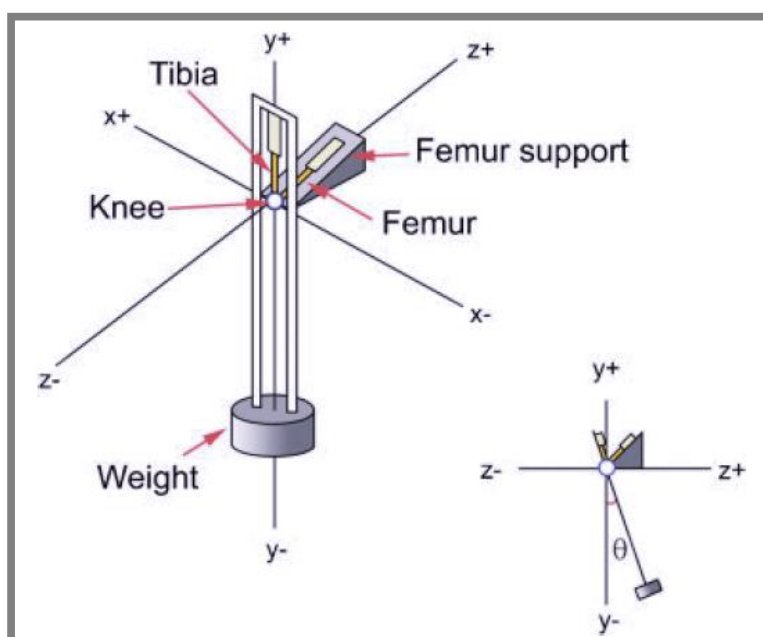
Obr. 3-13 CoF v závislosti na ujeté dráhy vzorkem, resp. na čase. [12]



Obr. 3-15 Snímky z AFM mikroskopu absorbovaného filmu [12]

[13] 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.

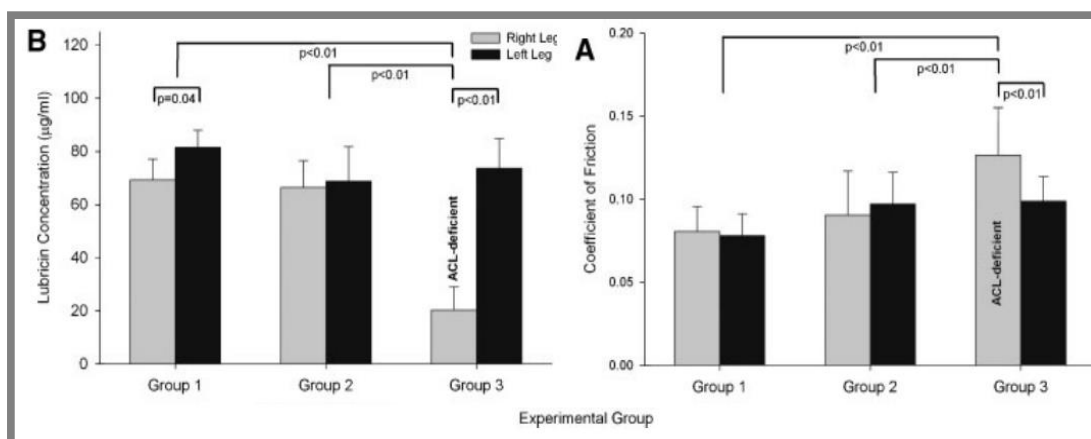
Autor pozoroval tribologické chování kloubů postižených různým stádiem osteoartritidy (OA). Byl zkoumán vliv rozsahu nemoci na COoF. Vzorky byly preparovány z morčat ze zadního kolene. Experimentu byly podrobeny obě končetiny, pravá i levá. Vzorky reprezentující kloub bez OA, skupina 1, byly preparovány z morčat s věkem 3 měsíce, dále byly pořízeny vzorky z kloubů morčat s mírnou OA, skupina 2, morčata se stáří 12 měsíců. Jako vzorky kloubů s rozsáhnou 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. 3-16 a jako mazivo byla použita synoviální kapalina. Vždy před a po testu byla synoviální kapalina z daného kloubu vyhodnocena na celkový obsah lubricinu. Stav chrupavky byl hodnocen pomocí histologických metod.



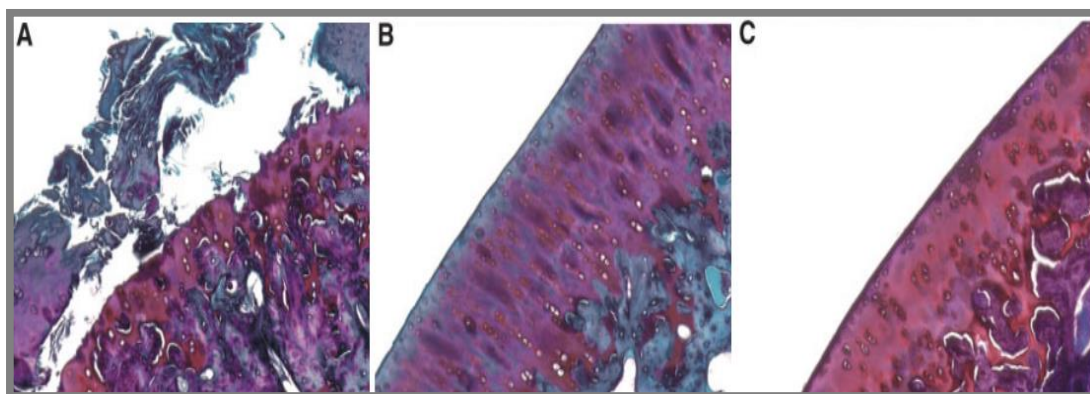
Obr. 3-16 Experimentální zařízení z publikace [13] – kyvadlo.

Výsledky a závěry

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 lubricinu. 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. 3-17. Na obr. 3-18 jsou snímky chrupavek kloubů s různým stádiem OA. Obr. 3-18 A je kolenní kloub bez ACL vazů, resp. rozsáhlá OA, dále na obr. 3-18 B je tkáň chrupavky s mírným poškozením od OA a obr. 3-18 C je chrupavka zdravá.



Obr. 3-17 Vlevo – celkový obsah lubricinu v kloubu u různě poškozených kloubů OA, Vpravo – závislost CoF na rozsahu poškození kloubu od OA. [13]



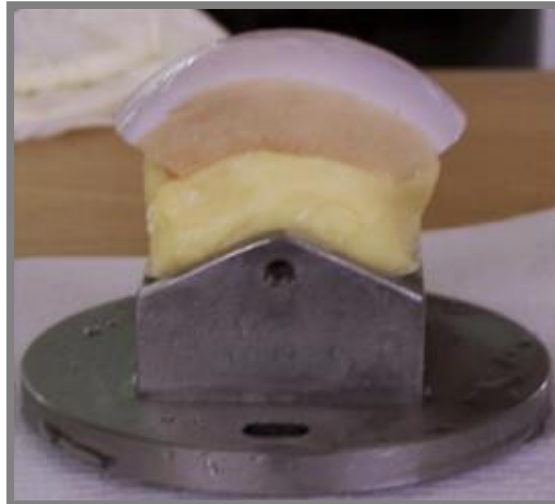
Obr. 3-18 A – velký rozsah OA, B – mírný rozsah OA, C – zdravá chrupavka bez OA. [13]

[14] 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.

V práci L. McCanna a kol. 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. Připravené vzorky chrupavky jsou na obr. 3-19 a 3-20.



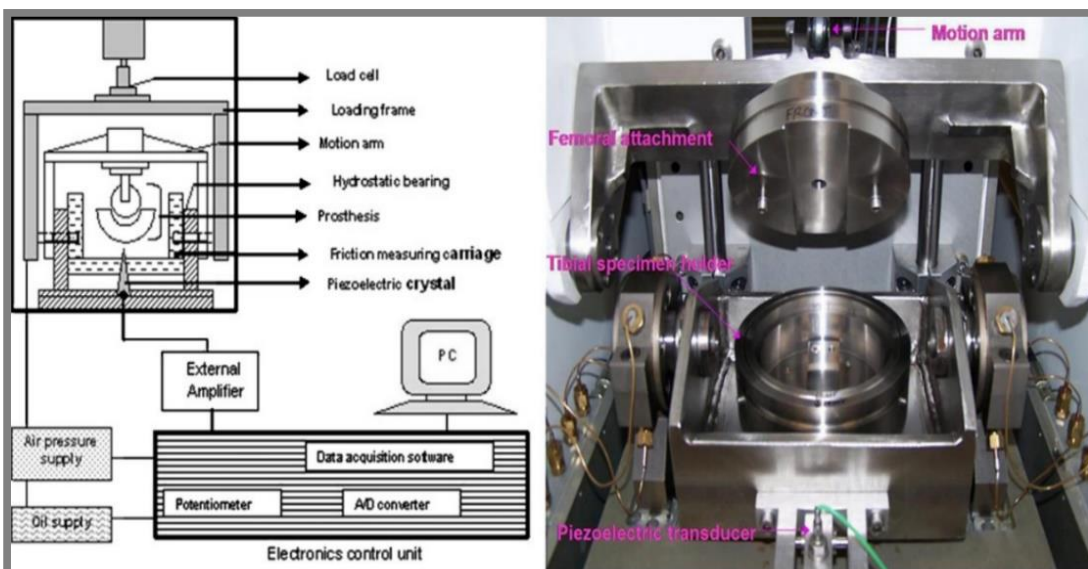
Obr. 3-19 Připravený vzorek chrupavky pro experiment – spodní část [14]



Obr. 3-20 Připravený vzorek chrupavky pro experiment – horní část. [14]

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. Tento cyklus odpovídá režimu chůze, kdy se kondyly kloubu kolene nacházejí v zatíženém a nezatíženém stavu. 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.

Experimentální zařízení bylo postaveno z nerezové oceli. Pohyb simulátoru byl kyvný. Popis částí a funkce je zobrazen na obr. 3-21 vlevo. Na obr. 3-21 vpravo je fotografie samotného simulátoru.



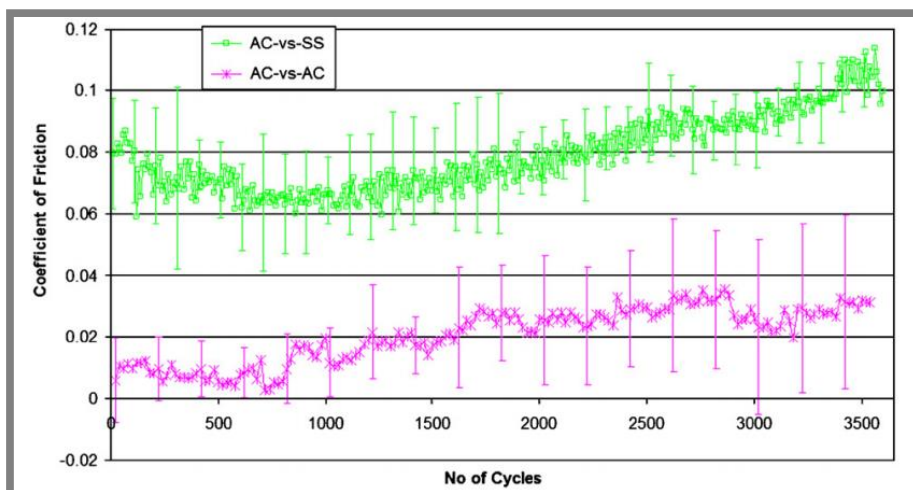
Obr. 3-21 Vlevo – schematické znázornění simulátoru, vpravo – fotografie simulátoru. [14]

Výsledky a závěry

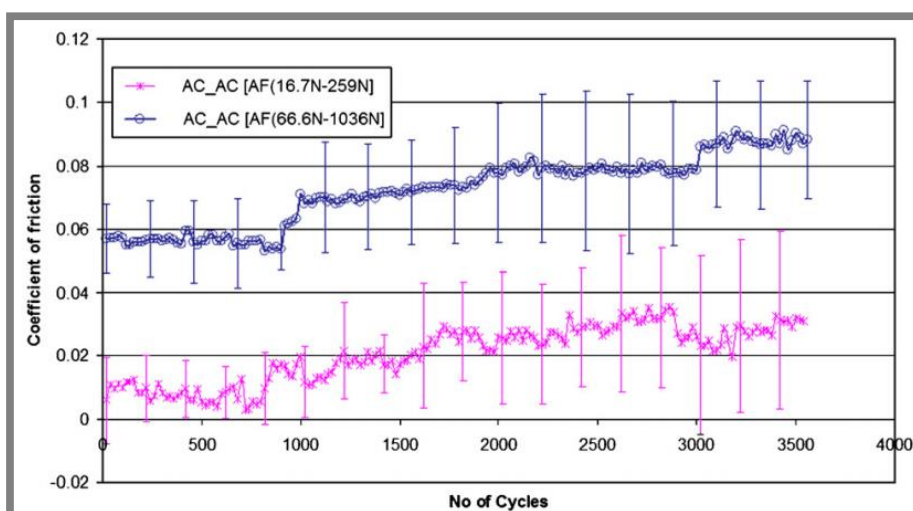
Při experimentech v konfiguraci AC – AC bylo zjištěno, že obě testované chrupavky nevykazují žádné známky opotřebení. Naměřený CoF byl při nižších zatíženích 0,01 – 0,03 a pro vyšší zatížení 0,06 – 0,09. Tyto naměřené CoF neodpovídají závěrům uvedeným v pracích [10, 11]. Obě varianty jsou zaneseny v grafu na obr. 3-22. Při konfiguraci AC – SS bylo zjištěno, že opotřebení chrupavky je vážné, resp. až do morku kosti, cca po 300 cyklech testování, viz obr. 3-23. Oblast chrupavky vykazující opotřebení byla cca 1 cm² velká. CoF u této kontaktní dvojice byl naměřen 0,06 – 0,11. Na obr. 3-24 je porovnání CoF pro dvojice AC-AC a AC-SS.



Obr. 3-23 Opotřebená chrupavka z konfigurace AC - SS. [14]



Obr. 3-22 Průběh CoF, kontaktní dvojice AC – AC pro malé i velké zatížení. [14]



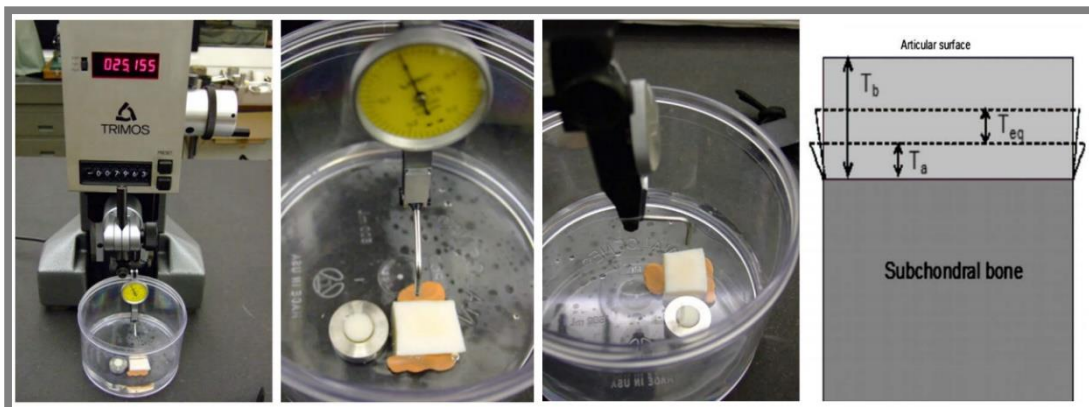
Obr. 3-24 Průběh CoF, kontaktní dvojice AC – AC a AC – SS pro maximální zatížení 259N. [14]

[15] 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.

Autor 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 zdvíhu 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 zdvíhu 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 pohlít 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 zmražení vzorků chrupavek v PBS nedochází k žádným významným změnám jejich vlastností [15]. 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. 3-25, 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.

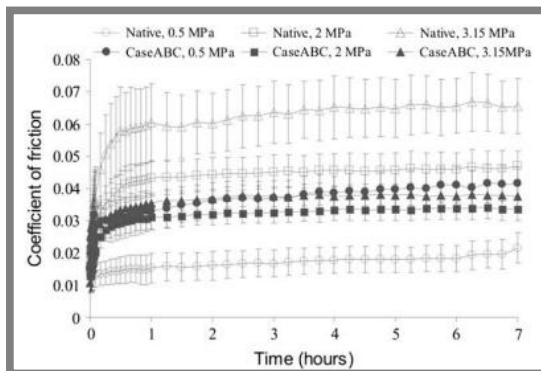


Obr. 3-25 Měření deformace chrupavky před a po experimentu. [15]

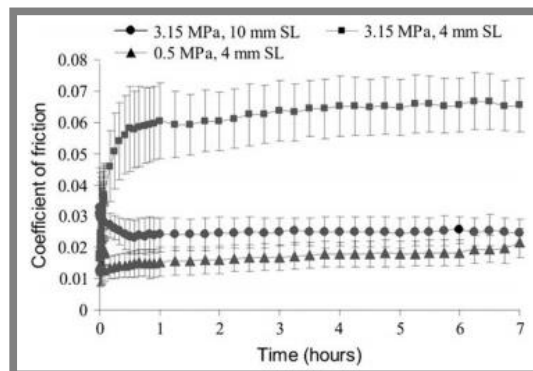
Výsledky a závěry

Ukázalo se, 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. 2-26. 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. 3-27. 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. 3-26 Závislost CoF na čase experimentu pro vzorky přirozené a s deficitem GAG. [15]

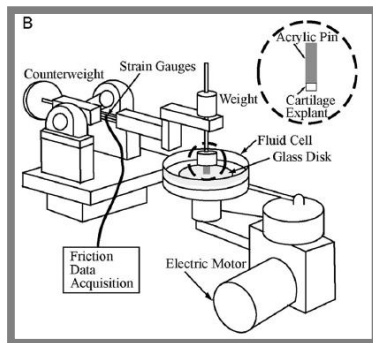


Obr. 3-27 Závislost COoF na čase experimentu a na délce zdvihu. [15]

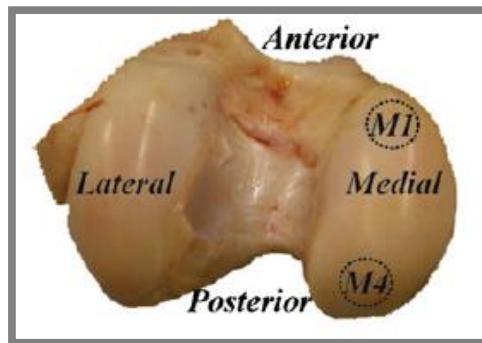
[16] CHAN, S.M.T., C.P. NEU, K. KOMVOPOULOS a A.H. REDDI. The role of lubricant entrapment at biological interfaces: Reduction of friction and adhesion in articular cartilage. *Journal of Biomechanics* [online]. Elsevier, 2011, **44**(11), 2015-2020 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2011.04.015. ISSN 00219290.

Práce pojednává o experimentech na tribometru konfigurace pin-on-disk a zkoumá 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. 3-29. 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.

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. 3-28. Postup získávání vzorků a úpravy před experimentem taktéž stejný jako u předchozí publikace



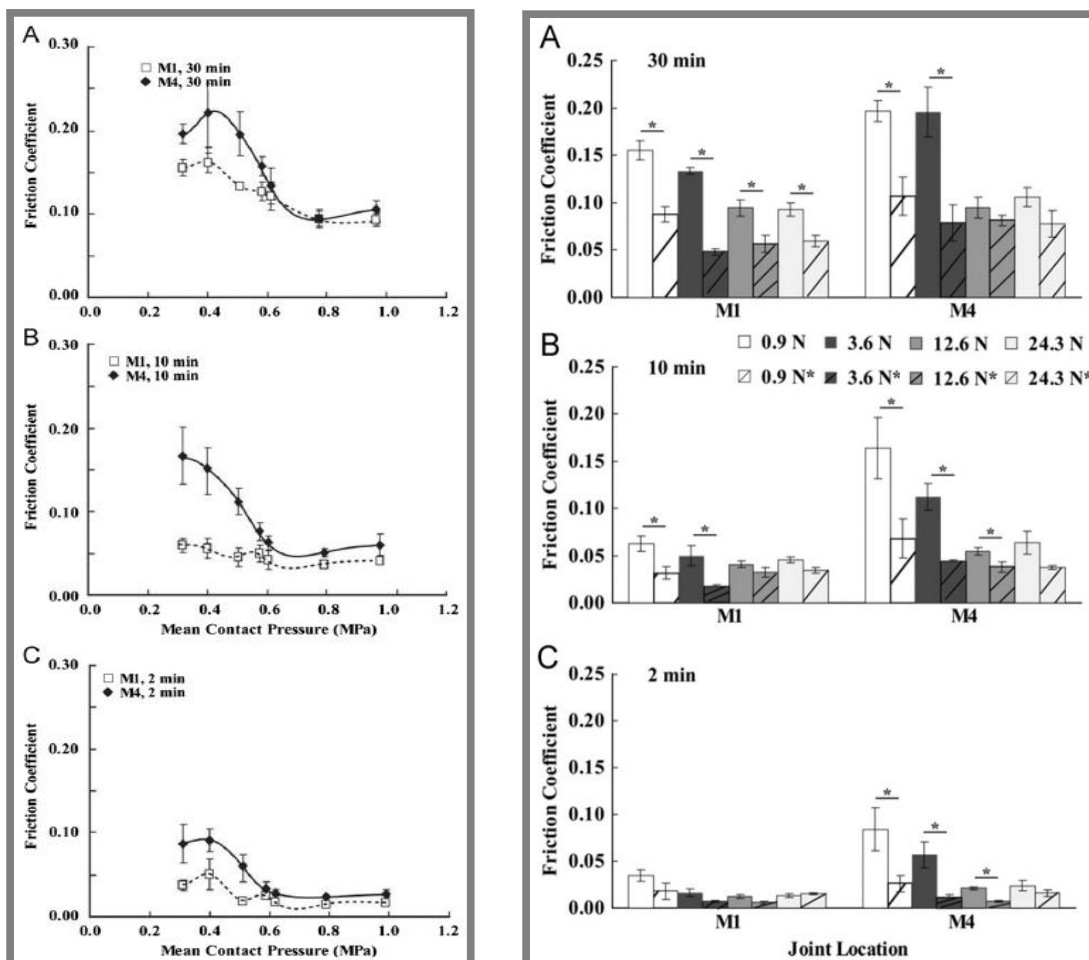
Obr. 3-29 Schéma tribometru z práce [16]



Obr. 3-28 Vzorky ze zatěžované části kolen M1 a z nezatěžované části M4 [16]

Výsledky a závěry

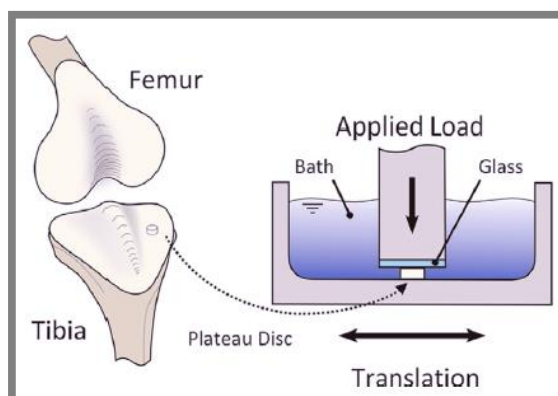
Výsledky ukazují, že při narůstajícím čase testování stoupá CoF, viz obr. 3-30. Stejně trendy publikovali i autoři v uvedených pracích výše. [10 - 12, 14, 15]. Byl proveden i experiment s rehydratací po každém cyklu experimentu, kde autor naměřil data, která se zcela neshodují se závěry jiných autorů, např. v práci [15]. V této práci autor uvádí, že odlehčování, resp. rehydratace chrupavky má záporný vliv na CoF a autor z práce [185] tvrdí opak. Výsledky tohoto experimentu jsou ukázány na obr. 3-30, výsledky označené hvězdičkou znázorňují experimenty s odlehčením chrupavky. Z obr. 3-30 je patrné, že CoF klesá se zvyšujícím se zatížením, což opět potvrzuje závěry z prací [11], které jsou uvedeny výše.



Obr. 3-30 Závislost CoF na zatěžujícímu tlaku, čase a druhu vzorku [16]

[17] 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.

Práce je zaměřená na 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. Autor své experimenty prováděl na zařízení typu pin-on-disk, v opačném složení, než je obvyklé. Schéma zařízení je ukázáno na obr. 2-31. 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. 3-31. Tloušťka vzorků byla 1,6 mm a Ø4 mm.



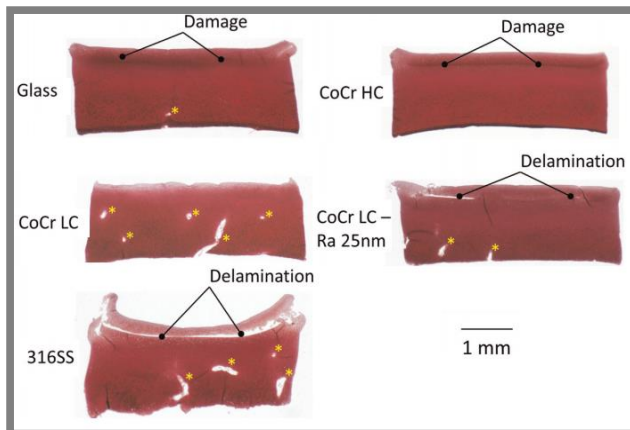
Obr. 3-31 Experimentální zařízení z práce [17].

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.

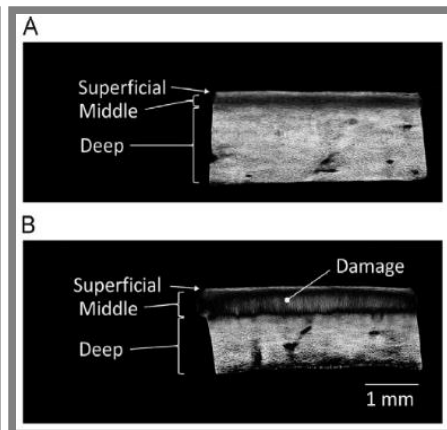
Výsledky a závěry

Bylo zjištěno, že chrupavka vykazuje největší poškození po experimentech s ocelí 316SS a nejmenší s optickým sklem, viz obr. 3-33. CoCR vykazuje větší poškození, když má větší drsnost povrchu. Na obr. 3-32 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. Opotřebení vykazuje tzv. „creep“, kdy se tento stav objevuje při větším poškození tkáně chrupavky. Na obr. 3-35 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 opotřebení protikusu. Drsnosti použitých vzorků jsou uvedeny na obr. 3-34. Na obr. 3-36 A je porovnání minimálního CoF pro různé konfigurace pinu, plate zůstává pro všechny konfigurace chrupavka. Na obr. 3-36 B je porovnání CoF v čase 98% creepu a po 4 h experimentu, což je celkový čas experimentu.

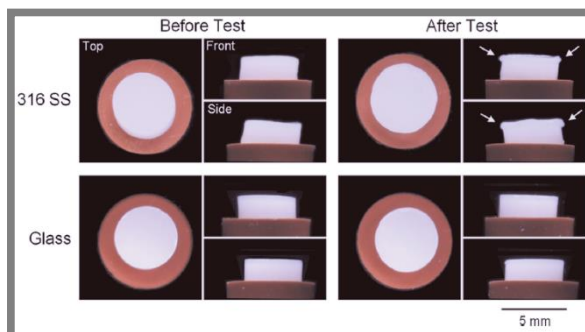
3. SHRUTÍ SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ



Obr. 3-33 Poškození chrupavky po experimentu [17].



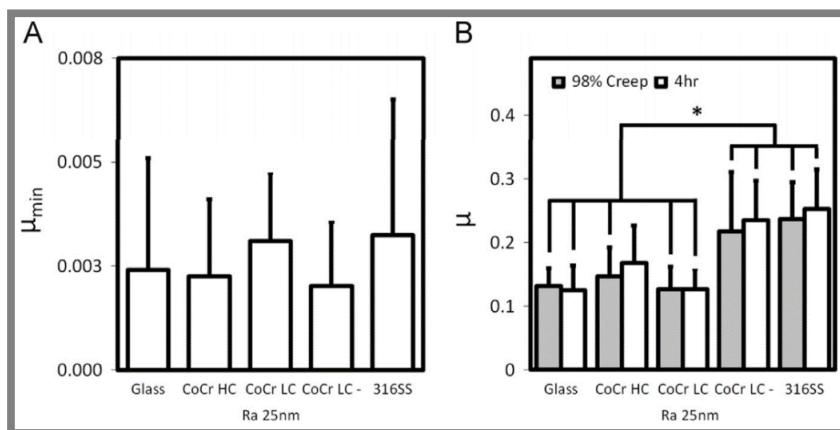
Obr. 3-32 Poškození chrupavky po experimentu – snímky polarizovaným světlem [17].



Obr. 3-35 Stav vzorků chrupavky před a po experimentu s optickým sklem a ocelí 316SS [17].

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. 3-34 Drsnosti vzorků plate před a po experimentu s chrupavkou [17].

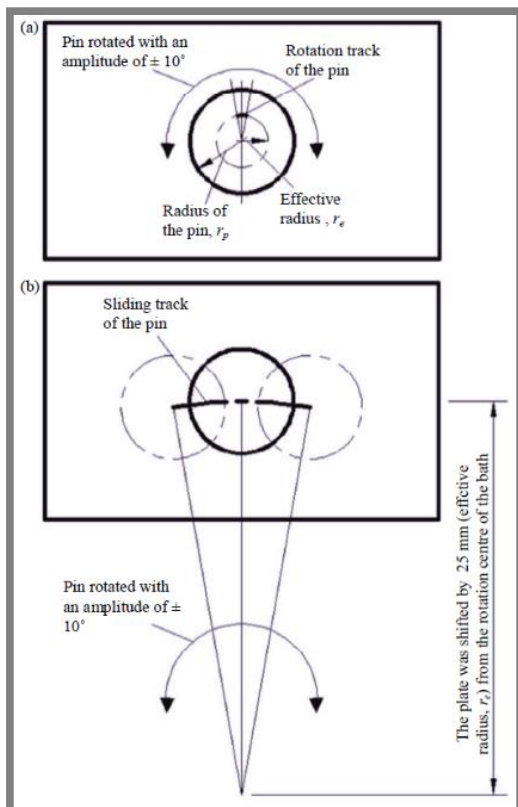


Obr. 3-36 A – minimální CoF pro různé konfigurace kontaktu, B – porovnání CoF pro různé konfigurace kontaktu v čase 98 % creepu a po skončení testu [17].

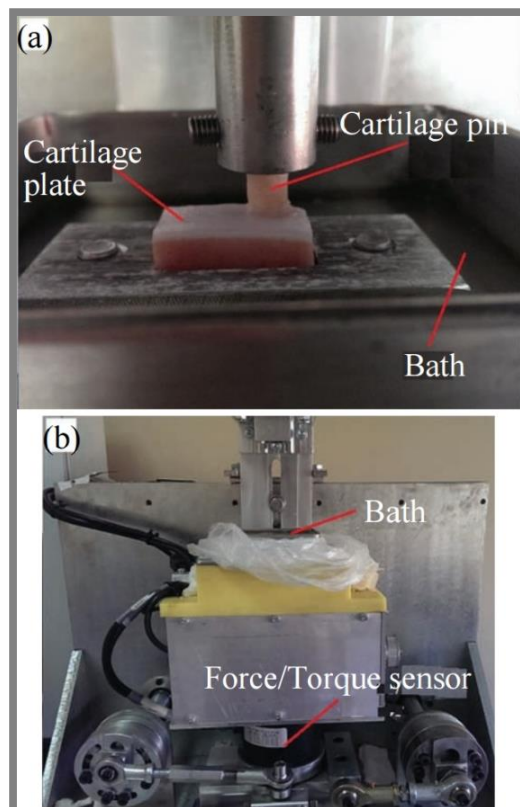
[18] CILINGIR, Ahmet C. Effect of Rotational and Sliding Motions on Friction and Degeneration of Articular Cartilage under Dry and Wet Friction. *Journal of Bionic Engineering* [online]. Elsevier, 2015, 12(3), 464-472 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1016/S1672-6529(14)60137-2. ISSN 16726529.

Cílem této práce 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. Třecí dvojice byla chrupavka na chrupavku a konfigurace zařízení pin-on-plate.

Fotografie zařízení jsou ukázány na obr. 3-37. 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. 3-38. Kontakt byl zatížen statickou silou 60 N, která v kontaktu vyvoluje 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. 3-38 Schéma konfigurací pohybů z [18].



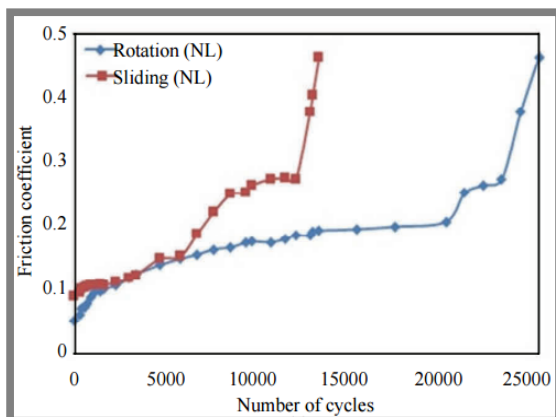
Obr. 3-37 Experimentální zařízení z práce [18].

Vzorky chrupavky pin i plate byly odebírány 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.

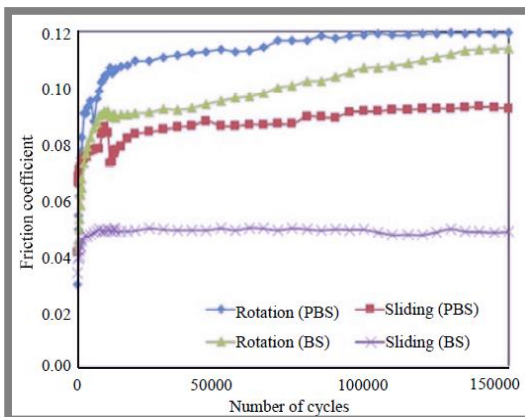
Výsledky a závěry

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. 3-39. 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. 3-40. Ukázalo se, že mazaný rotační kontakt vykazuje vyšší CoF než kontakt posuvný. Autor

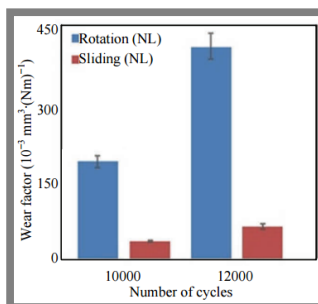
tento jev obhajuje tím, že při rotačním pohybu se třecí plochy nemění a mazivo se do kontaktu příliš neodstává a zůstává mimo kontakt, avšak v případě pohybu posuvného vždy při reverzaci se mazivo dostane do kontaktu a tím se sníží tření. Dále byl vyhodnocován také koeficient opotřebení, který je definován 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. 3-41. 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. 3-42 a 3-43.



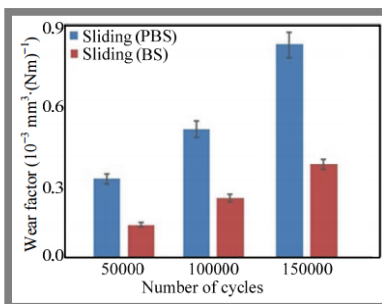
Obr. 3-40 Závislost CoF na počtu cyklů pro suchý kontakt, rotační a posuvný pohyb [18].



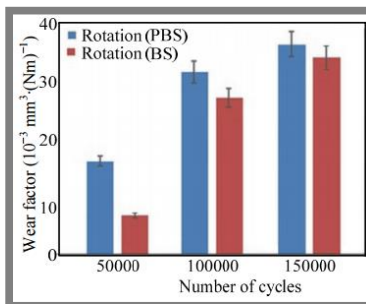
Obr. 3-39 Závislost CoF na počtu cyklů pro mazaný kontakt, rotační a posuvný pohyb [18].



Obr. 3-43 Koeficient opotřebení za sucha [18].



Obr. 3-42 Koeficient opotřebení pro translační pohyb [18].



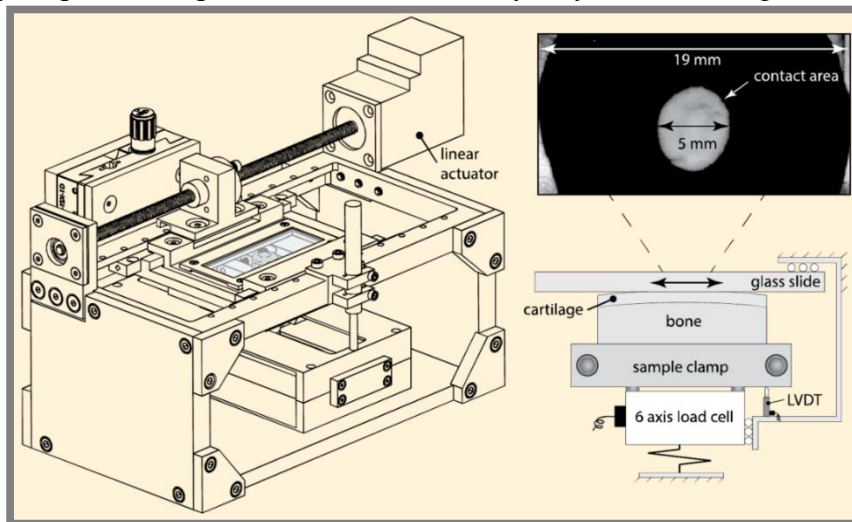
Obr. 3-41 Koeficient opotřebení pro rotační pohyb [18].

[19] **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.

Následující práce 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. 3-44. 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 umísťuje 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.

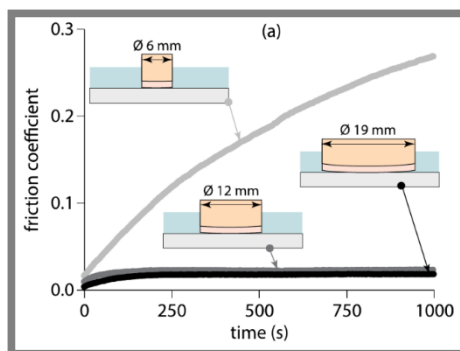
Vzorky byly odebrány z chrupavek kondyl kolenního kloubu vyspělého skotu. Rozměry vzorků byly stanoveny na 19, 12 a 6 mm. Po odebrání byly vzorky uloženy v PBS při teplotě 4 °C po dobu maximálně 4 dny, aby nedošlo k degradaci chrupavky.



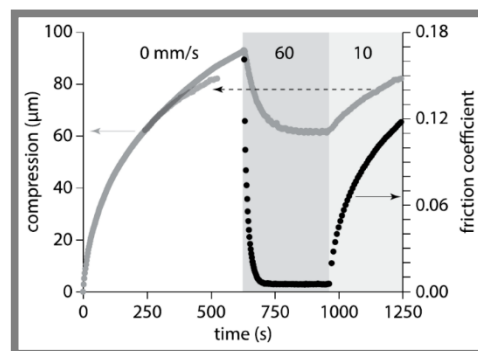
Obr. 3-44 Experimentální zařízení z práce [19].

Výsledky a závěry

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. 3-45. 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. 3-46. 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. klzná rychlost má významný vliv na CoF.

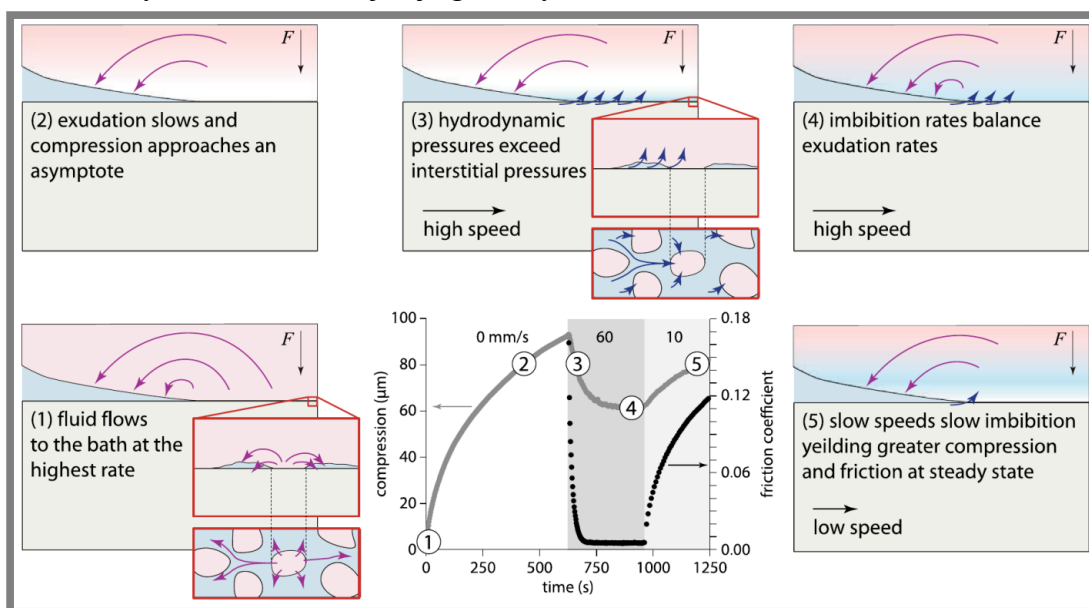


Obr. 3-45 Závislost CoF na čase pro různé velikosti vzorků [19].



Obr. 3-46 Závislost stlačení a CoF na čase u start-stop testu [19].

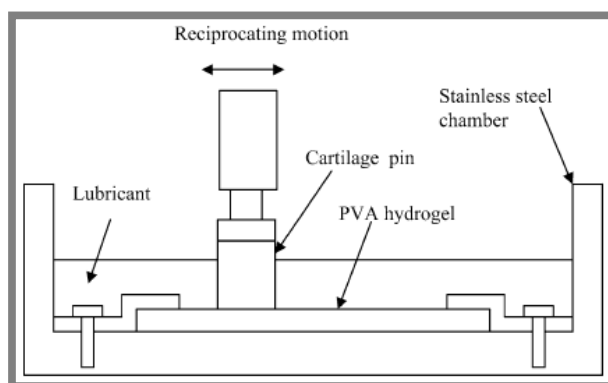
Autor uvedl hypotézu, kterou popsal jev, který způsobuje pokles CoF při přechodu ze statického kontaktu na dynamický. V první fázi se kontakt natlakuje zatěžující silou a kapalina je vtlačována do povrchu chrupavky cestami nejmenšího odporu. S rostoucím tlakem v chrupavce se snižuje tlakový poměr, až 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. 3-47.



Obr. 3-47 Popis jevu rehydratace chrupavky [19].

[20] 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.

Uvedená práce se zabývá vyhodnocením vlivu vstupních parametrů v kontaktní dvojici chrupavka a hydrogel. Experimenty byly prováděny na tribometru typu pin-on-plate s recipročním pohybem, kdy vzorek tkáň chrupavky představoval pin a plate byl vzorkem hydrogelu. Experimentální zařízení je schematicky ukázáno na obr. 3-48.



Obr. 3-48 Schematický popis experimentálního zařízení z práce [20].

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

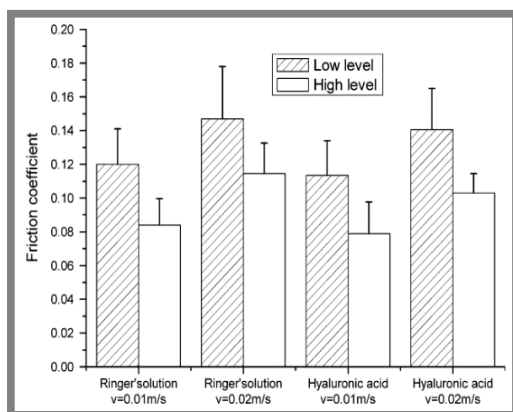
- Low level test – zatížení 10 N, rychlost 10 mm/s, mazivo – Ringer' solution
- High level test – zatížení 22 N, rychlost 20 mm/s, mazivo – HA 2,5 g/l
- Long term test – mazivo Ringer' solution, zatížení 22 N, rychlost 10 mm/s
- Long term test – mazivo HA 2,5 g/l, zatížení 22 N, rychlost 10 mm/s

Mazivo Ringer' solution je solný roztok s upraveným pH tak, aby byl snesitelný pro živý organismus. Vzorky tkáně chrupavky byly odebrány 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 [38, 39], kde bylo dokázáno, že při skladování vzorků ve zmíněném roztoku při dané teplotě po dobu 4 dnů nedojde k ovlivnění naměřených výsledků.

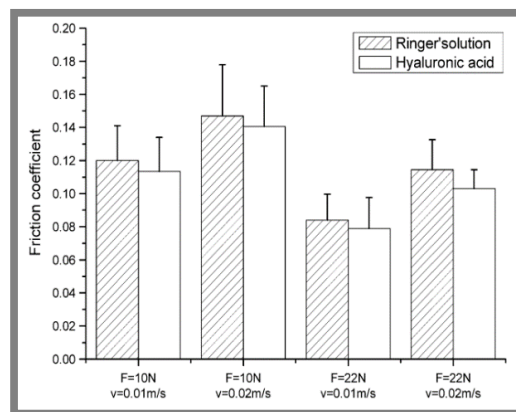
Pro experiment byly použity vzorky z PVA hydrogelu, které byly připraveny z demethylsulfoxidu (DMSO) a PVA roztoku. Postup přípravy byl následující. Prvním krokem bylo rozpuštění DMSO ve vodě o koncentraci 80 hm%. Dále bylo do koncentrátu přidáno práškového PVA v objemu 15 hm%. Tato směs byla míchána 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.

Výsledky a závěry

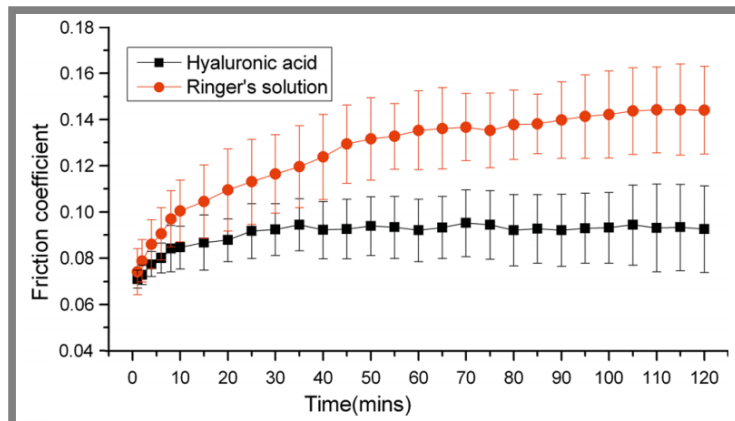
Autor vyhodnocoval vlivy zatížení, kluzné rychlosti a volbu mazadla na CoF, viz obr. 3-49. Výsledky ukazují, že při zvýšení zátěže poklesne CoF. Stejně výsledky vykazovali i výše uvedené práce [10, 11, 16]. Byla zjištěna rostoucí závislost mezi rychlostí a CoF a dále bylo zjištěno, že při použití HA vykazuje kontakt nižší CoF než při použití Ringer' solution, viz obr. 3-50. 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. 3-51. 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. 3-50 Závislost zatížení na CoF pro různé rychlosti a maziva [20].



Obr. 3-49 Závislost mazadel na CoF pro různé rychlosti a zatížení [20].



Obr. 3-51 Závislost CoF na čase pro různá maziva [20].

3.2 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.

[21] 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.

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 pórů 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.

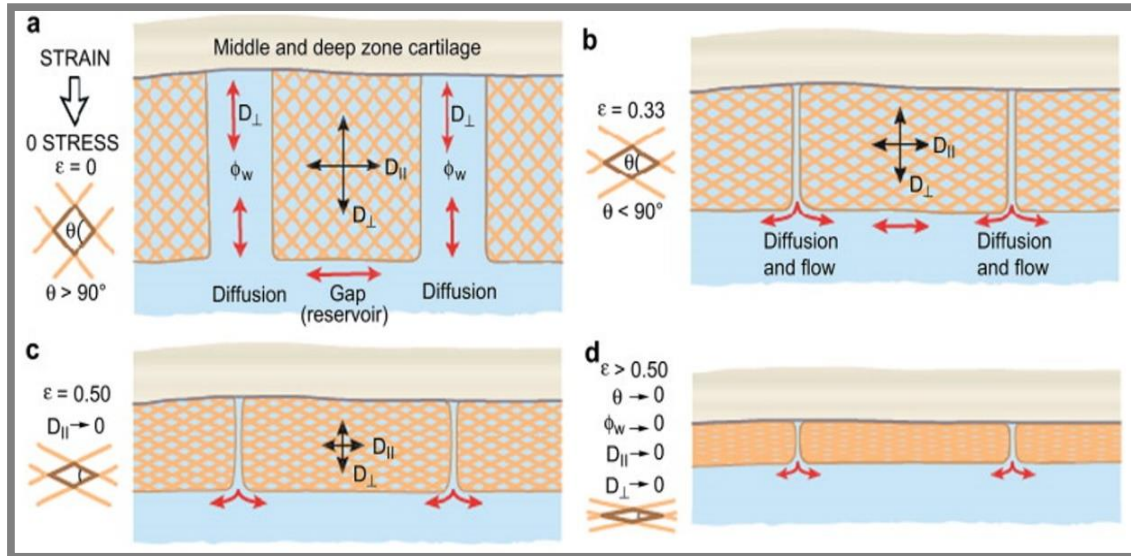
U póroelastického modelu zvláště závisí na distribuci, struktuře a geometrii pórů v pevné matici tkáně. Každá malá odlišnost může vést k velkému ovlivnění směru toku intersticiální kapaliny. Tento jev je především důležitý ve spojitosti s weeping režimem mazání, který je dosti závislý na směru toku intersticiální kapaliny. V případě boosted režimu mazání je kapalina z pórů vytlačována do kontaktní oblasti, kde vytváří tenký mazací film a režim mazání vede k elasto hydrodinamickému 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.

Materiál a metody

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 °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.

Výsledky a závěry

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. 3-52a) 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. 3-52b) 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. 3-52c) je modul pružnosti malý a deformace jednoduchá. Horizontální póry jsou značně roztažené a zploštěné, 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. 3-52 Tok strukturou chrupavky při deformaci [21].

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.

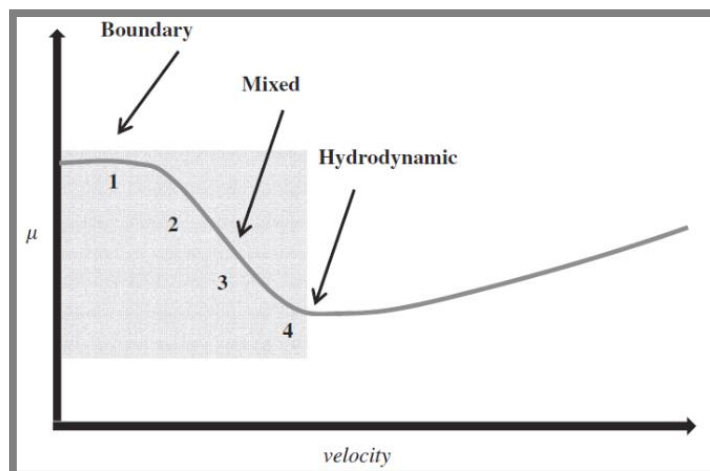
[22] ACCARDI, Mario Alberto, Daniele DINI a Philippa M. CANN. Experimental and numerical investigation of the behaviour of articular cartilage under shear loading—Interstitial fluid pressurisation and lubrication mechanisms. *Tribology International* [online]. Elsevier, 1105, **44**(5), 565-578 [cit. 2017-03-03]. DOI: 10.1016/j.triboint.2010.09.009. ISSN 0301679X.

Autor se v práci zabývá popisem mazacích režimů „weeping“ a „boosted“. Weeping mechanismus 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.

Materiál a metody

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 Stribeckovy křivky, viz obr. 3-53 a podmínky pro režimy 1, 2, 3 a 4 byly zvoleny podle Tab. 3-54.



Obr. 3-53 Stribeckova křivka [22].

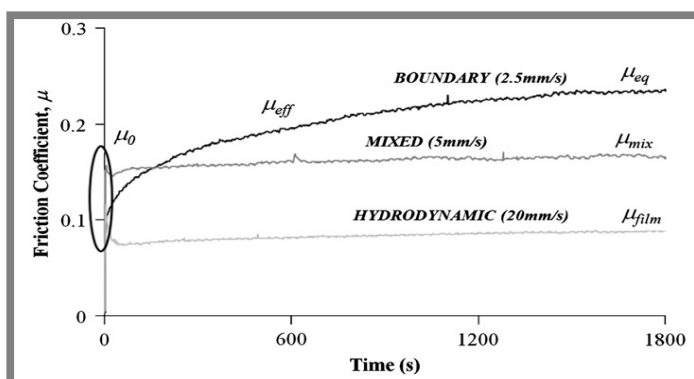
Tab. 3-54 Parametry experimentů pro jednotlivé režimy [22].

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

Součástí práce je i numerický model kontaktního problému. 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 matrici 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 vyvoluje 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 a závěry

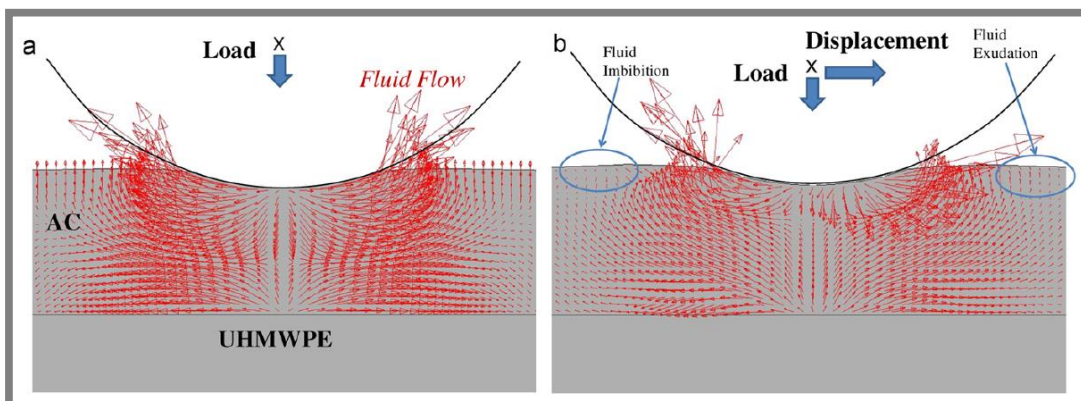
Výsledky experimentů ukazují, že nejvyšší CoF vykazuje režim boundary (1), dále režim mixed (3) a nejmenší CoF vykazuje režim hydrodynamický (4), viz obr. 3-55.



Obr. 3-55 Závislost CoF na čase pro režimy 1, 3 a 4 [22].

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.

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 matrici 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. 3-56, kde je znázorněn tok intersticiální kapaliny při zatížení bez pohybu, obr. 3-56a a při pohybu se zatížením, obr. 3-56b.



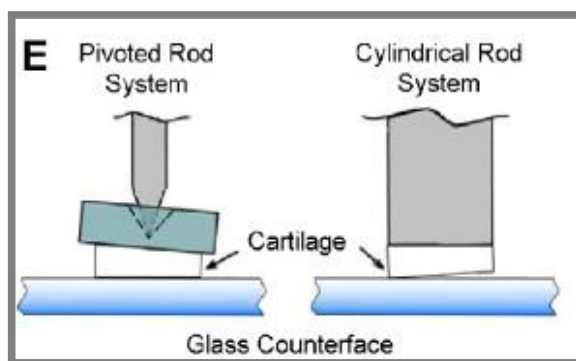
Obr. 3-56 Proudění intersticiální kapaliny v kontaktu chrupavka – ocel. Simulace [22].

[23] 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.

Autor se zabýval sestrojením Stribeckových ploch pomocí experimentů. 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. Dále se práce zabývá rozdílem tvaru Stribeckových ploch v případech když je vzorek chrupavky uchycen volně na hrotu (Pivoted Rod System), nebo pevně (Cylindrical Rod System). Obě varianty jsou znázorněny níže na Obr. 3-51.

Materiál a metody

V experimentu použil hovězí chrupavky. Po vytvoření vzorků byly vzorky zamrazeny na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ a jako mazadlo byl použit roztok PBS, hovězí synoviální kapaliny (BSF) a koňské synoviální kapaliny (ESF). Experimenty byly prováděny v různých konfiguracích uchycení vzorku, viz obr. 3-57.

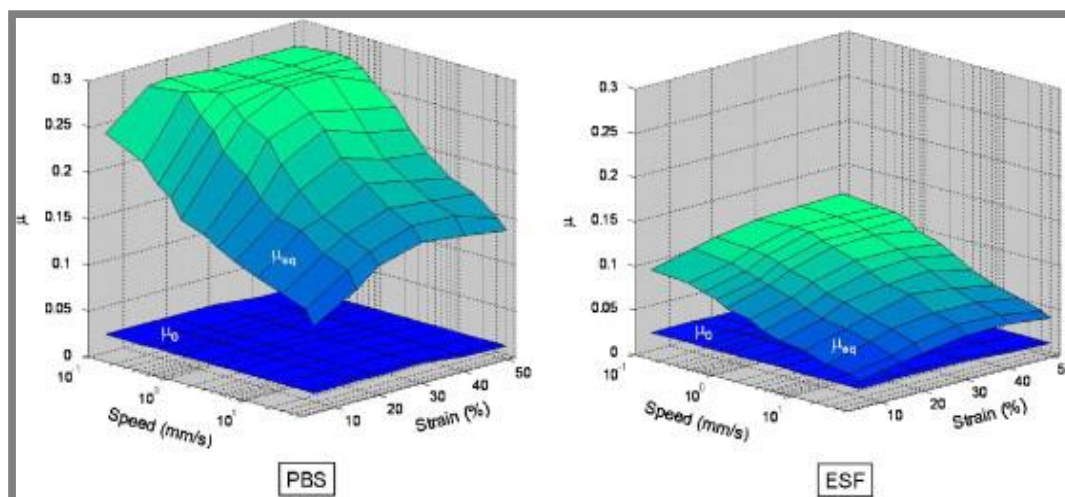


Obr. 3-57 Varianty uchycení při experimentu [23].

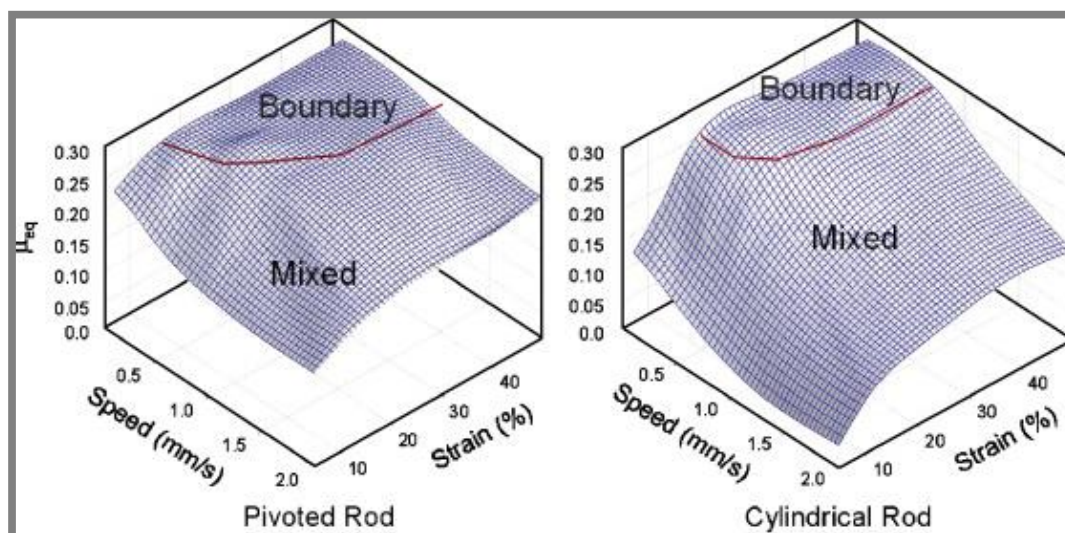
Na obr. 3-58 jsou znázorněny Stribeckovy plochy pro experimenty smazivem PBS a ESF. V případě experimentů prováděných s PBS byl naměřen podstatně vyšší CoF μ_{eq} (CoF naměřený při experimentu po ustálení). Počáteční CoF μ_0 (CoF hned po zatížení vzorku chrupavky) se u experimentů s PBS a ESF příliš nemění. Plocha režimu boundary je rozsáhlejší a následný přechod do režimu mixed je strmější.

Výsledky a závěry

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. 3-59. 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. 3-58 Stribeckovy plochy sestavené pomocí experimentů s PBS a ESF [23].



Obr. 3-59 Stribeckovy plochy sestavené pro experimenty s uchycením vzorku typu pivoted rod a cylindrical rod [23].

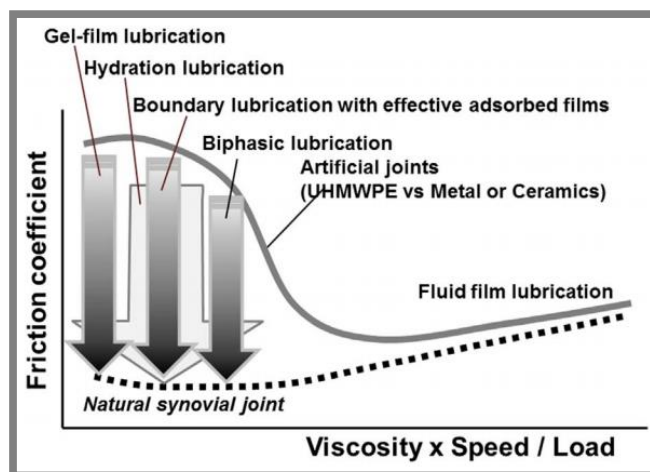
[24] MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Nobuo SAKAI, Kazuhiro NAKASHIMA, Tetsuo YAMAGUCHI a Yoshinori SAWAE. Importance of adaptive multimode lubrication mechanism in natural synovial joints. *Tribology International* [online]. Elsevier, 2017 [cit. 2017-03-03]. DOI: 10.1016/j.triboint.2016.12.052. ISSN 0301679X.

Práce se zabývá popisem zejména režimů mazání při malých smykových rychlostech v boundary režimu. Přichází s dalšími možnostmi teorií 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, resp. podle místních podmínek v subkontaktů v kontaktu, 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
- Dvofázové mazání
- Hydratační mazání

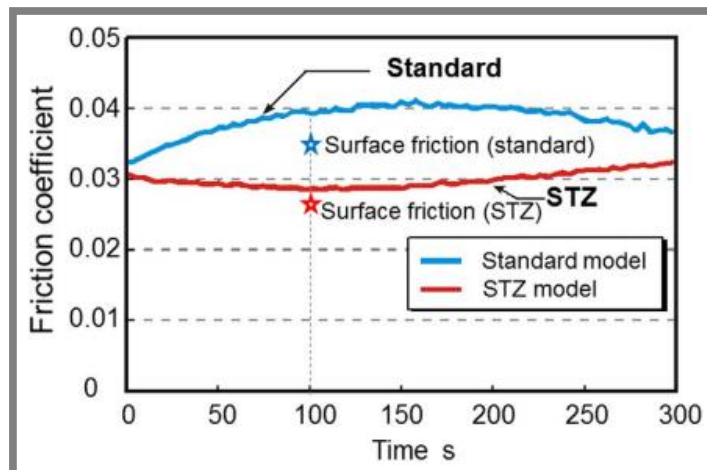
Adaptivita multimode režimu mazání se řídí podle hodnoty podílu vztahu viskozita \times rychlost/zatížení, viz obr. 3-60.



Obr. 3-60 Stribekova křivka pro multimode mazání [24].

Materiál a metody

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 dvofázového 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. 3-61. Autor numericky určil von Mises napětí a intersticiální tlak kapaliny v chrupavce.



Obr. 3-61 Závislost součinitele tření na čase standardního a STZ modelu [24].

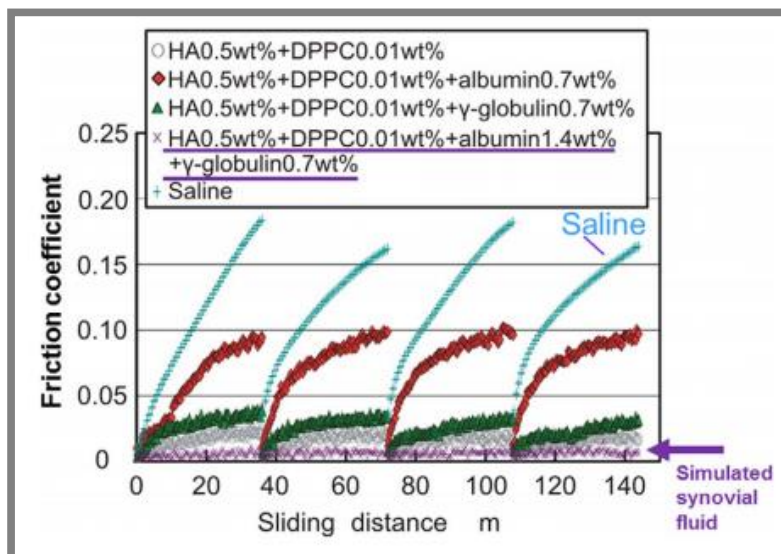
V práci byly provedeny i experimenty zaměřené na určení CoF pro různé mazací roztoky. Konfigurace experimentu byla pin-on-plate s recipročním pohybem. Experiment byl prováděn s odtížením po 5 min testu. Byla vytvořena umělá synoviální kapalina, která obsahovala proteiny albumin, γ -globulin, dále HA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

Výsledky a závěry

U numerických simulací výsledky ukázaly, že před kontaktem nastává v chrupavce podtlak, který napomáhá rehydrataci chrupavky. Tento jev byl nalezen pouze u STZ modelu.

Nejlepší třecí vlastnosti vykazovala umělá synoviální kapalina, viz obr. 3-62. Výsledky experimentů ukazují, že rehydratace chrupavky má velký vliv na naměřené hodnoty CoF. Stejně závěry vyvodil i autor z uvedené prací [19].

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.



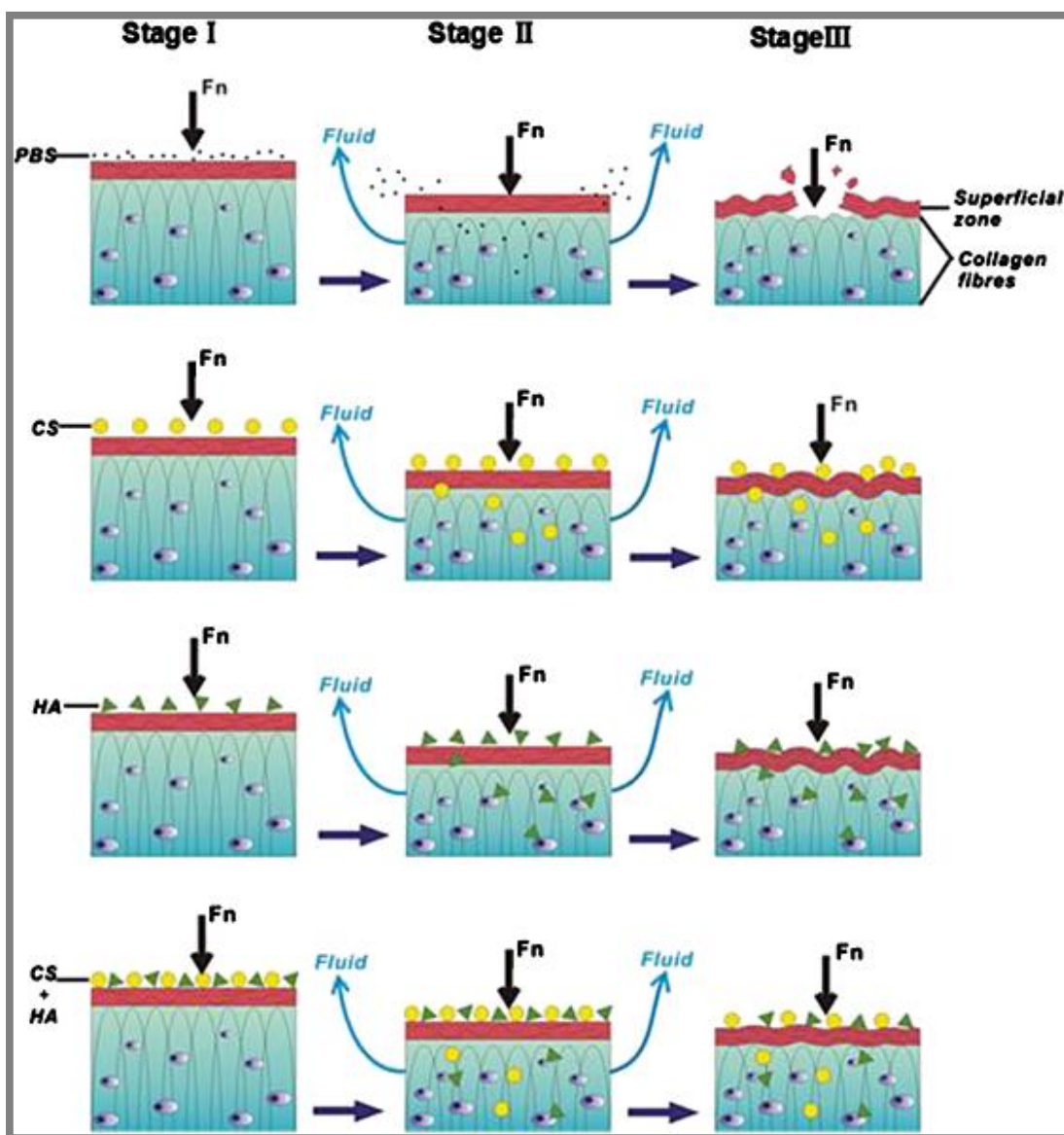
Obr. 3-62 Závislost součinitele tření na čase, pro různé mazací roztoky [24].

[25] 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/lis.1253. ISSN 09540075.

Práce 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. 3-63, kde jsou uvedeny 3 stavy zatěžování. 1. stav je bez zatížení, 2. stav normální zatížení a stav 3. je přetížení.

Výsledky a závěry

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. 3-63 Schematický popis tvoření mezní mazací vrstvy pomocí různých mazadel [25].

[26] 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. 2018-07-20]. DOI: 10.1016/j.triboint.2008.11.005. ISSN 0301-679X.

Práce zkoumá tvorbu absorbovaného filmu na povrchu umělé chrupavky z PVA hydrogelu pomocí fluorescenční mikroskopie. Použitá kontaktní dvojice byla v konfiguraci pin-on-plate, kde pin zhotovený z hydrogelu byl pohyblivým vzorkem a plate vyrobený ze skla byl stacionární. Rádus pinu byl 7 mm a tloušťka hydrogelové vrstvy byla 2 mm. Vzorek z hydrogelu byl připravený metodou zmrazování - rozmrazování s pětinasobným opakováním. Modul pružnosti vzorku byl 1,2 MPa. Procentuální podíl vody v hydrogelu činil 79%. Povrch hydrogelových vzorků byl maximálně $R_{\max} = 10 \mu\text{m}$. Pro experimenty byl zvolen reciproční třecí test s rychlostí 0,2 mm/s a zdvihem 4mm. Zatížení bylo nastaveno tak, aby byl vyvozen tlak v kontaktu 0,104 MPa. Maziva zvolená pro testování jsou uvedeny v Tab 3-64. Autor v práci provedl ještě experimenty zaměřené na observaci absorpce HA. Experimentální podmínky i postup experimentů byly stejné jen s rozdílem použitého maziva. Použité mazivo je zobrazeno v Tab. 3-65.

Tab. 3-64 Definice a koncentrace maziv použitých v první fázi pro experimenty [26].

Lubricant	Albumin (wt%)	Y-globulin (wt%)	Alexa 488 labeled	
			IgG (mol/L)	Albumin (mol/L)
A	0	0,7	$1,0 \times 10^{-9}$	0
B	0	1,4		
C _G	0,7	1,4		
D _G	1,4	1,4		
E	0,7	0	0	$1,0 \times 10^{-9}$
F	1,4	0		
C _A	0,7	1,4		
D _A	1,4	1,4		

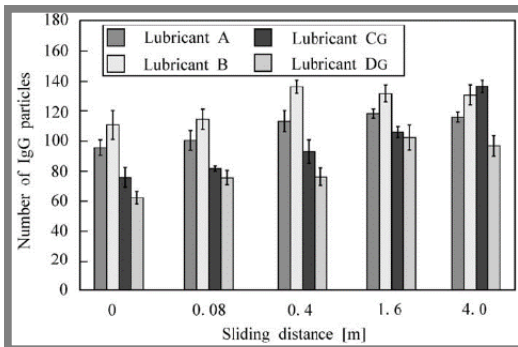
Tab. 3-65 Definice a koncentrace maziv použitých v druhé fázi pro experimenty [26].

Lubricant	HA (wt%)	Albumin (wt%)	Y-globulin (wt%)
G	0,5 (HA:FITC – HA=44:1)	0,7	0
H		0	0,7
I		0,7	1,4
J		1,7	1,4
K		0	0

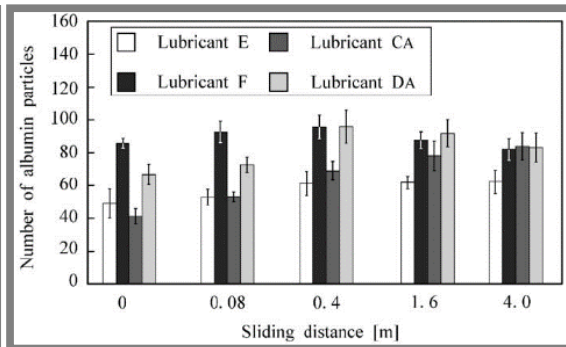
Sledování kontaktu pomocí fluorescenční mikroskopie probíhalo na dvě fáze. V první fázi byl proveden třecí test a ihned po něm byl opotřeбенý vzorek (sklo) vložen pod TIRFM (total internal reflection fluorescence microscopy) a zkoumán střední bod recipročního pohybu. Záměrem zkoumání byl proteinový boundary film a chování absorbovaných proteinů. Poté byl test opakován a po stanoveném intervalu byly pořizovány snímky v průběhu testu (po 180 s). Tímto způsobem byl pozorován absorbovaný film na vzorku hydrogelu. Pořízené snímky byly následně spostprocesovány.

Výsledky a závěry

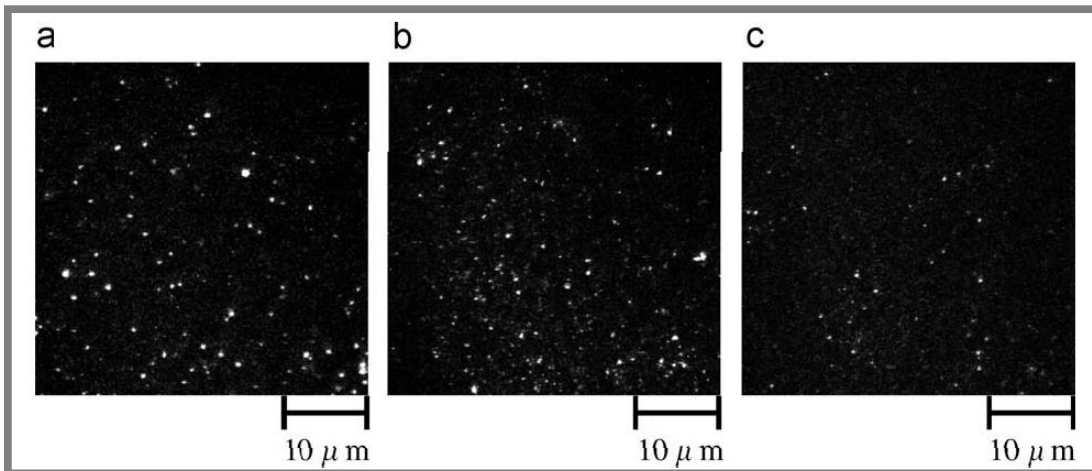
Výsledky ukazují, že u většiny použitých maziv narůstá počet částic absorbovaných v kontaktu postupem času průběhu testu. Tento fakt ukazuje Obr. 3-66, 3-67.



Obr. 3-67 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - D_G [26].

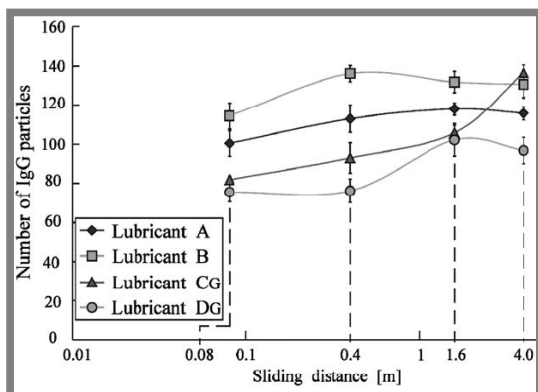


Obr. 3-66 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - D_G [26].

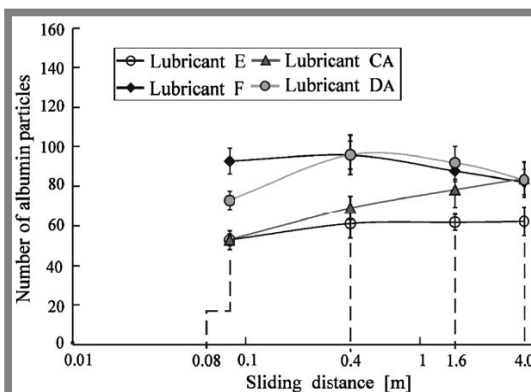


Obr. 3-68 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - D_G [26].

Nejlepší výsledky však ukazuje vždy použité mazivo označené C_G a C_A. Tyto maziva jsou stejná, jen s tím rozdílem, že ve variantě C_G je označený protein γ -globulin a ve variantě C_A je fluorescenčně obarvený protein albumin. Z výsledků vyplývá, že nejprve se v kontaktu uchytává γ -globulin a až na něj se po určitém čase uchytává albumin. Takto vytvořený film s časem podle počtu uchycených částí narůstá na tloušťce, ale pouze v koncentraci 0,7 wt% albumin a 1,4 wt% γ -globulin. Tyto výsledky ukazují obr. 3-68.



Obr. 3-70 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - D_G [26].

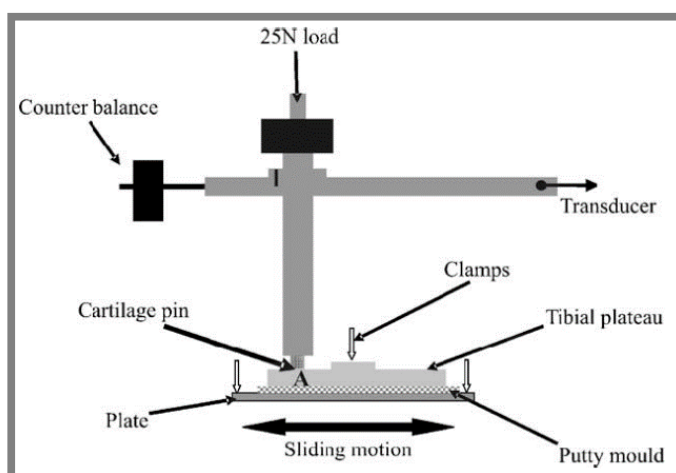


Obr. 3-69 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - D_G [26].

V případě, že se koncentrace albuminu zvýší na stejnou úroveň jako γ -globulinu, dojde po určitém čase k desorpci absorbovaného filmu. Z výsledku vychází, že klíčovým faktorem pro tvorbu absorbovaného filmu v kontaktu je γ -globulin a jeho správná koncentrace celkově i ve vztahu k ostatním složkám maziva, zvláště albuminu.

[27] 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. 2018-07-20]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.04.018. ISSN 0142-9612.

Práce je zaměřená na tribologické testování vzorků chrupavky při různých kombinacích maziva. V druhé části, pro disertační práci důležitější, autoři zkoumají penetraci povrchu vzorku chrupavky fluorescenčně označenou HA. Pro tribologické testy byla zvolena klasická konfigurace experimentálního zařízení, která se pro účely testování vzorků chrupavek používá, reciproční tribometr v konfiguraci pin-on-plate. Experimentální zařízení je zobrazeno na obr. 3-71.



Obr. 3-71 Schéma experimentálního zařízení z práce [27].

Podmínky experimentů byly zvoleny opět blízké podmínkám v reálných kloubech, zatížení kontaktu 25 N při rychlosti 4 mm/s. Maziva určená pro experimenty byly také zvoleny v různých variantách a kombinacích, viz tab. 3-72.

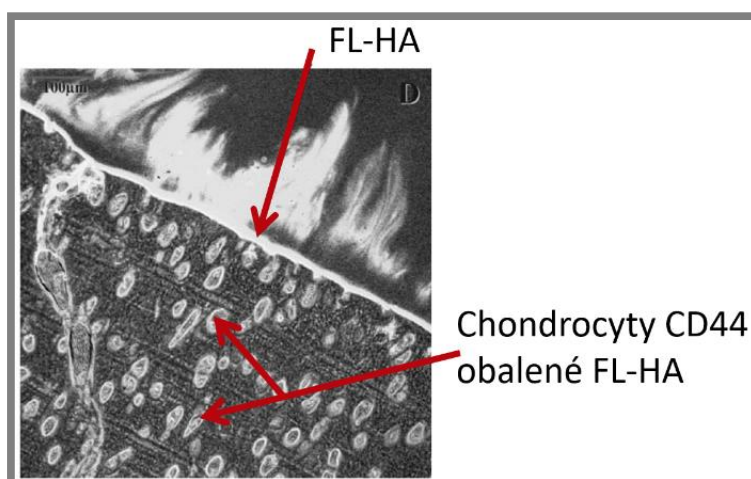
Tab. 3-72 Definice použitých pro experimenty [27].

Lubricant	Formulation
A (control)	Ringers solution
B	HA 5 mgml ⁻¹
C	HA 10mg ml ⁻¹
D	DPPC 100mg ml ⁻¹
E	DPPC 200mg ml ⁻¹
F	HA/DPPC 5mgml ⁻¹ /100mg ml ⁻¹
G	HA/DPPC 10mg ml ⁻¹ /200mg ml ⁻¹

Pro řešitelskou práci jsou zajímavější výsledky pořízené z druhé části publikace. Vzorek chrupavky byl vložen do fluorescenčně označeného roztoku HA (FL-HA) a byl tam ponechán po dobu 48 h a 4 °C. Poté byl vzorek rozřezán a zkoumán pomocí fluorescenčního mikroskopu.

Výsledky a závěry

Výsledky ukázali, že na povrchu vzorku se vytvořila gelová vrstva vytvořená z HA a část HA pronikla i pod povrch vzorku cca do hloubky 300 μm, kde obalila chondrocyty ve struktuře tkáně, obr. 3-73. Tento jev ukazuje, že menší molekuly HA, které se dostanou do struktury tkáně, jsou přitahovány chondrocyty typu CD44 a následně obalují jejich povrch.



Obr. 3-73 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - D_G [27].

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

Problematika onemocnění lidských kloubů je v poslední době často diskutovaným tématem. Při neinvazivní léčbě nemocných kloubů, hraje jejich mazání zásadní roli. Problematika mazání kloubů je velmi komplexní a složitá problematika, a to zejména díky specifické struktuře tkáně chrupavky. V důsledku tohoto aspektu nastávají specifické podmínky v kontaktu, které vyvolávají i specifické režimy mazání. Fundamentální vliv na pokrok ve výzkumu v této oblasti má vhodná volba metody pro výzkum. Dle zmíněných prací [21, 26] se jako nejvhodnější jeví metoda založená na principu fluorescenční mikroskopie, která umožňuje:

- Vizualizovat kontakty s nízkým modulem pružnosti
- Vizualizovat kontakty s nízkou odrazivostí povrchů
- Pozorovat vliv jednotlivých složek na formování mazacího filmu

Metody založené na principu fluorescenční mikroskopie se poprvé objevili v 70. letech 20. století [28, 29]. První studie se zabývaly základy této metody, jako je vliv zdroje světla, rozlišitelnost, měřicí rozsah, atd. Z počátků byly studie zaměřené na kontakty s vysokým modulem pružnosti (ball-on-disk), ale později se objevili i publikace zaměřené na poddajné kontakty [30 - 32]. Práce jsou zaměřeny na vizualizaci mazacího filmu a následnou analýzu utváření filmu. Kontakt byl po většinou v konfiguraci pin-on-disc, o-kroužek na disku, nebo o-kroužek v konformně zakřiveném povrchu.

4.1 Výzkum v oblasti tribologických vlastností synoviálního kloubu

4.1

4.1.1 Vliv provozních podmínek na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu

4.1.1

V práci [10] 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 [11, 12, 14, 15, 18 a 20]. Dále v této práci autor zjistil, že nejmenší součinitel smykového tření se vykytuje v kontaktu za použití synoviální kapaliny, což opět podpořila další práce [11]. V práci [11] bylo zjištěno, že při navyšování zatěžující síly při stejných podmínkách klesá CoF. Tento výsledek byl zjištěn i dalšími pracemi [12, 14, 15]. Práce [20] dospěla k závěru, že HA snižuje součinitel smykového tření, což potvrzují i práce předešlé.

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

4.1.2

Další práce [13] se zabývají vyšetřováním synoviálních kloubů postižených onemocněním osteoartridou (OA), 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 CoF. Rapidní zvýšení CoF nastane až při velkém rozsahu onemocnění. Práce [16] 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 CoF než vzorky odebírané z částí chrupavky, které jsou celý život téměř bez zátěže.

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

Práce [18] srovnává pohyb reciproční, kdy vzorek rotuje kolem své vlastní osy a pohyb reciproční. Autor zjistil, že menší CoF 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 [19] zkoumá vliv kluzné rychlosti na CoF, kdy bylo zjištěno, že menší CoF vykazují kontakty s vyšší smykovou rychlostí. Autor přidává ještě vysvětlení pomocí teorie zvyšujícího se HD tlaku v kontaktu při vyšších kluzných rychlostech.

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

V práci [19] je zmíněn experiment se vzorky různých průměrů. Závěr je takový, že při překročení minimální hodnoty průměru vzorku dojde k nárůstu CoF. V tomto případě to byl vzorek o \varnothing 6 mm. Průměr vzorku by měl být vždy větší, než kontaktní oblast jím vyvozená.

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

V práci [12] 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, kde bylo zjištěno, že nejnižší opotřebení vykazují hydrogely s nejdelšími uhlíkovými řetězci. Práce [15] byla zaměřena na odůvodnění, proč se COoF s rostoucím časem testování zvyšuje. Byl vyhodnocován obsah glykosaminoglykanů (GAG) před a po experimentu. Bylo zjištěno, že při nižším obsahu GAG kontakty vykazují vyšší CoF.

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

Důležitým jevem zmíněným v pracích je rehydratace, při níž se tkáň chrupavky hydratuje, tedy nasává mazivo z okolní lázně do své struktury. V práci [16] 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 CoF. Opačná tvrzení však uvádí práce [19], tedy že při pravidelné hydrataci chrupavky dochází ke snížení CoF.

4.1.7 Metodologie odběru tkáně chrupavky na součinitel smykového tření v kontaktu synoviálního kloubu

Autoři ve svých pracích zmiňují i původ vzorků pro experimenty. Většina autorů odebírala vzorky chrupavek z kolenního kloubu skotu [14, 15, 17 - 19]. V práci [13] byly testovány kloubní chrupavky morčete, v práci [11] lidské chrupavky. Stěžejním problémem při odběru vzorků je následná možnost vzorky uchovat tak, aby byly zachovány tribologické vlastnosti. Většina autorů vzorky odebírala do několika hodin po porážce jedince a vyrobené vzorky uchovávala ve zmraženém stavu v roztoku PBS [15, 18] při teplotách -18°C až -20°C . Byly uvedeny studie [40 a 41], které dokazují, že při zamražení vzorků v PBS nedochází k jejich degradaci a změnám vlastností, které by ovlivňovaly výsledky. Autor v práci [20] vzorky skladoval taktéž zamražené, ale v roztoku Ringer' solution při teplotě -20°C .

4.2 Výzkum v oblasti mazání synoviálního kloubu

4.2

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, které 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.

4.2.1 Struktura tkáně chrupavky

4.2.1

Chrupavka je bifázový materiál s většinou podílem vodní fáze. Pevnou maticí tvoří kolagenová vlákna a proteoglykany. V režimu mazání hraje nejdůležitější roli 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 [21, 25]. 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 [2, 3]. Nasáknutá kapalina následně natlakovává tkáň chrupavky a udržuje strukturu v tahovém režimu, kde má lepší mechanické vlastnosti.

4.2.2 Režim mazání v synoviálním kloubu

4.2.2

V dnešní době existuje již několik teorií, které se snaží popsat a objasnit jevy, nastalé v kontaktu kloubu. Některé práce publikují různé teorie režimů mazání, jiné se snaží sestavit Stribeckovy křivky, resp. plochy a tak odhalit jednotlivé oblasti. Touto problematikou se zabývala práce [23], jejíž autor sestavil Stribeckovy plochy z naměřených dat pro různá uchycení vzorků ve stroji, čím dále objasňoval, že přítomnost klínové mezery v kontaktu vyvozuje v kontaktu hydrodynamický tlak. Stribeckovy plochy pak ukazují strmý přechod mezi režimy boundary a mixed, jehož důvodem je právě hydrodynamický tlak v kontaktu. Některé práce představují teorie mazání, v minulosti byly představeny zejména dvě teorie, které se snažily popsat režim mazání, a to režim weeping a boostet [22]. Oba tyto režimy jsou založeny na vytlačování a proudění kapaliny z a skrz tkáň chrupavky. Další stěžejní práci v této oblasti je jedna z nejnovějších prací od Murakami a kol. [24], kde autor v práci uvádí další teorie režimů mazání, které jsou zaměřeny především na nízké, nebo nulové rychlosti v kontaktu. Nazývá je multimode režim mazání, který se podle nastalých podmínek v kontaktu mění do několika variant, ovšem všechny náležejí oblasti boundary.

- 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. Oblast multimode režim mazání se pohybuje v oblasti s malým zatížením a s malými smykovými rychlostmi, nebo v případě kdy je smyková rychlost nulová. Autor v práci [44] uvádí, že 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 proteiny. K samotnému kontaktu dochází až na rozhraní těchto absorbovaných filmů.

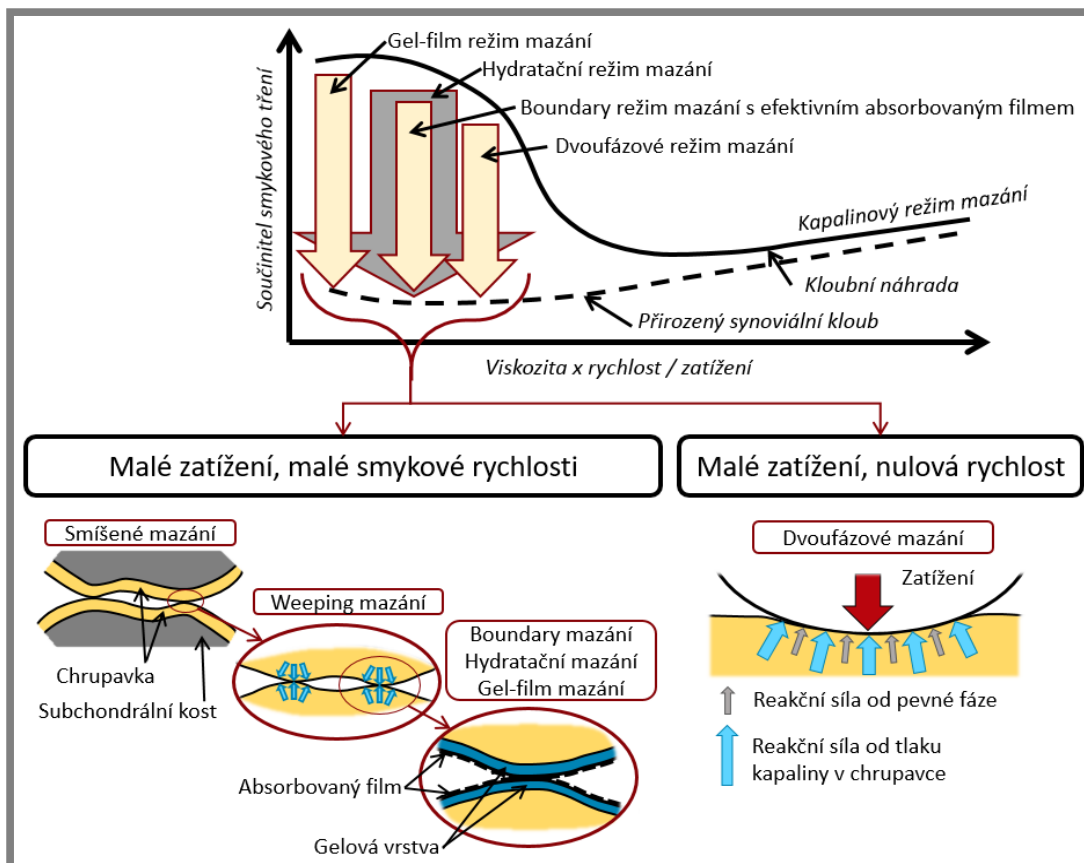
- **Hydratační režim mazání**

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 je v práci uvedeno, že při on/off zatěžování bez pohybu nastává:

- **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. 4-1 Adaptivní multimode režim mazání [44].

4.2.3 Použití fluorescenční mikroskopii při vizualizaci kontaktu synoviálního kloubu

4.2.3

Fluorescenční mikroskopie se v této oblasti používá pro vizualizaci mazacího filmu synoviálního kloubu a pro určení vlivů jednotlivých složek maziva. Tuto aplikaci použil autor práce [26]. Byly testovány různá maziva s různými koncentracemi proteinů a HA. Vždy byla fluorescenčně označena pouze jedna složka maziva a následně vyhodnocována četnost částic v kontaktu. Z výsledků vyplývá, že nejlepší mazací film tvoří kombinace albuminu a γ -globulinu v jedinečné koncentraci 0,7/1,4 wt%. γ -globulin vytváří základový film na gelové vrstvě uchycené na povrchu chrupavky a albumin se váže ke γ -globulinu. Pokud je koncentrace albuminu vzhledem ke γ -globulinu příliš vysoká, dochází ke strhávání filmu. Fluorescenční mikroskopii použil také autor práce [27], kde pomocí této metody zjišťoval, které složky maziva se dostávají pod povrch chrupavky. Po recipročním třecím testu byl vzorek chrupavky rozřezán a pod fluorescenčním mikroskopem analyzován. Povrch tkáně byl pokryt vrstvou velkých molekul HA, malé molekuly HA se dostávají cca 300 μm pod povrch. Tyto malé molekuly jsou přitahovány chondrocyty CD44 a následně obalují jejich povrch. Stejnou metodu použil i auto v práci [21] kdy pomocí označených částic maziva monitoroval tok maziva uvnitř struktury chrupavky. Na základě výsledků autor vytvořil teorii, kdy uvažuje, že při deformaci má chrupavka v různých fázích odlišné moduly pružnosti, což je způsobeno vytlačováním kapaliny z tkáně a styku samotné struktury chrupavky, resp. kolagenových vláken mezi sebou. Po vytlačení veškeré kapaliny z tkáně chrupavky dochází ke styku povrchů chrupavky, resp. gelové vrstvy, která ulpívá na povrchu chrupavky.

4.2.4 Numerické simulace proudění kapaliny v kontaktu synoviálního kloubu

V práci [24] byly prováděny také numerické simulace, které by měli predikovat proudění kapaliny v kontaktu. Podobnou problematikou se zabývá i práce [22], 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. V práci [25] autor popisuje tvorbu mezní gelové mazací vrstvy na povrchu chrupavky pro různá mazadla. Z výsledků vyplývá, že mezní gelovou vrstvu 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

4.3 Shrnutí a závěry plynoucí z rešeršní analýzy

Z poznatků získaných na základě kritické rešerše vyplývá, že v minulosti byly práce zaměřeny spíše na tribologické vlastnosti synoviálního kloubu a jak vstupní parametry ovlivňují CoF synoviálního kloubu. Závěry jsou následující:

- CoF narůstá s časem [10, 11, 14, 15, 18, 20]
- CoF klesá s rostoucím zatížením [11, 14, 15]
- CoF klesá s rostoucí smykovou rychlostí [19]
- Nejnižší CoF vykazuje kontakt mazaný synoviální kapalinou [11]
- HA napomáhá snížení CoF [20]
- Velký rozsah OA způsobuje nárůst CoF [13]
- Malý obsah GAG v tkáni chrupavky způsobuje nárůst CoF [15]
- CoF je ovlivněn místem odběru vzorku [16]
- CoF je ovlivněn druhem pohybu [18]
- Rehydratace vzorku chrupavky ovlivňuje CoF [19]

Práce poskytují i ověřené postupy pro odběr a skladování vzorků chrupavek, které neovlivňují tribologické vlastnosti. Vzorky jsou skladovány v zamraženém stavu při $-18\text{ }^\circ\text{C}$ v PBS [13 - 15].

Novější práce směřují k analýze mazání v kontaktu synoviálního kloubu, avšak zatím jsou popsány pouze teoreticky a nejsou ověřeny [21 - 24]. Pro experimentální analýzu mazacího filmu se používají metody založené na principu fluorescenční mikroskopie [21, 26, 27]. Bylo prokázáno, že struktura chrupavky má zásadní vliv na CoF a mazání kontaktu synoviálního kloubu [21, 25, 2, 3]. V pracích se objevují i zmínky o numerických simulacích kontaktů synoviálního kloubu, ale zatím nebylo dosaženo simulace na reálných provozních podmínkách z důvodu problémů s konvergencí úloh [22, 24, 25].

Závěrem analýzy současného stavu poznání je absence experimentální práce, která by kombinovala měření CoF v synoviálním kloubu a vizualizaci pomocí optických metod v rámci jednoho měření a tím získala ucelený náhled na utváření mazacího filmu v synoviálním kloubu.

5 VYMEZENÍ CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE A NÁVRH ZPŮSOBU JEJÍHO ŘEŠENÍ

5

5.1 Cíl disertační práce

5.1

Hlavním cílem disertační práce je provést experimentální analýzu utváření mazacího filmu v kontaktu synoviálního kloubu s využitím fluorescenční mikroskopie a měření součinitele smykového tření a s cílem popsat vliv jednotlivých složek synoviální kapaliny na formování mazacího filmu.

Dílčí cíle disertační práce:

- Návrh, konstrukce a výroba experimentálního zařízení.
- Návrh a ověření metodologie odběru, úpravy a uchovávání vzorků chrupavek.
- Kalibrace zařízení a reprodukce úvodních experimentů zaměřených na měření tření z prací [16, 19] za účelem prokázání validity výsledků.
- Implementace metody fluorescenční mikroskopie pro vizualizaci mazacího filmu poddajného kontaktu synoviálního kloubu.
- Experimentální verifikace metody fluorescenční mikroskopie.
- Experimentální analýza in situ kontaktu synoviálního kloubu.
- Pozorování utváření mazacího filmu a objasnění vlivů jednotlivých složek synoviální kapaliny na utváření mazacího filmu.
- Vyhodnocení a porovnání výsledků.
- Zobecnění vyplývajících poznatků pro použití v praxi.

5.2 Vědecká otázka

5.2

Jaký vliv mají jednotlivé složky synoviální kapaliny na utváření mazacího filmu a součinitel smykového tření v synoviálním kloubu?

5.3 Pracovní hypotéza

5.3

Hlavní roli ve tvorbě mazacího filmu v kontaktu chrupavka-sklo bude hrát protein γ -globulin, avšak v závislosti na jeho koncentraci a poměru vůči ostatním složkám maziva (albumin, kyselina hyaluronová, fosfolipidy).

5.3.1 Zdůvodnění hypotéz

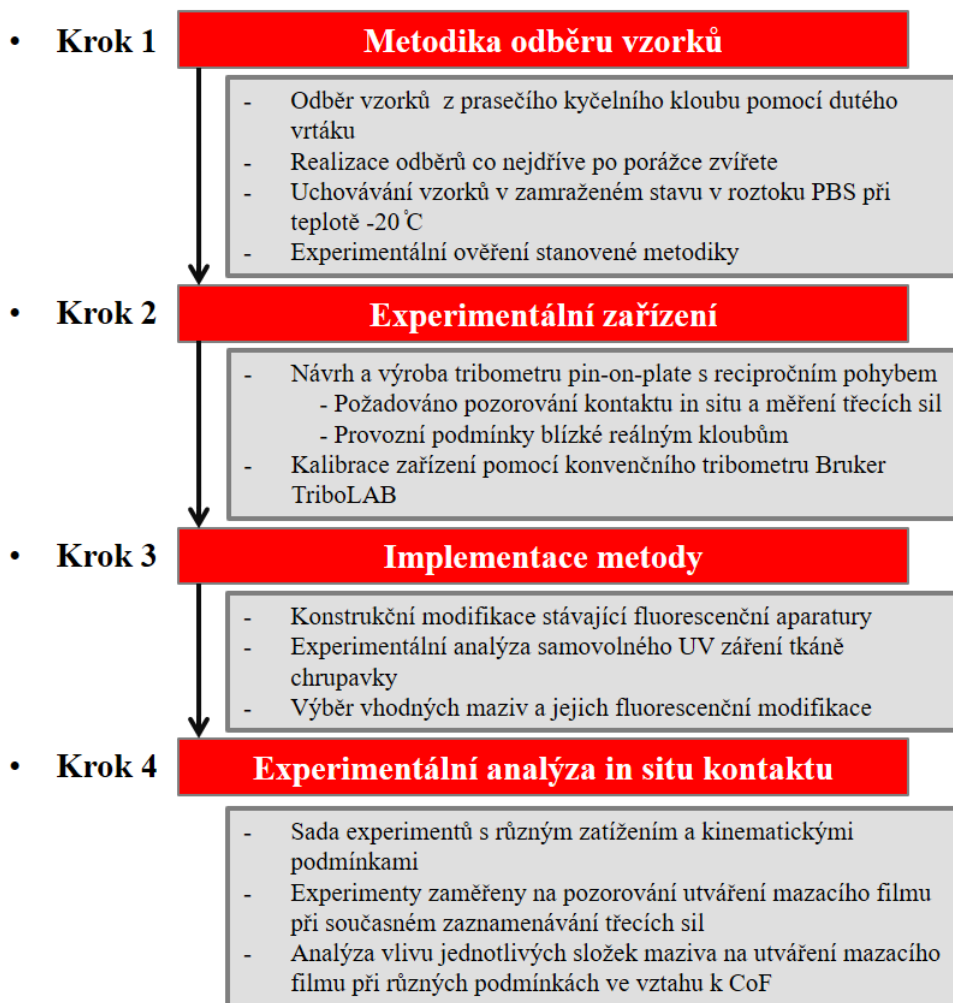
5.3.1

Problematika utváření mazacího filmu v synoviálním kloubu je poměrně nové téma a doposud byly publikovány práce zaměřené pouze na analýzu utváření mazacího filmu pomocí fluorescenční mikroskopie v kontaktu umělých chrupavek, hydrogelů [26]. Při utváření mazacího filmu v synoviálním kloubu lze očekávat velmi podobné procesy a průběhy mazacích procesů, a to z důvodu podobných vlastností chrupavky a hydrogelu, zejména se jedná o vlastnosti tribologické, strukturální a mechanické. Hydrogel vykazuje velmi podobný součinitel smykového tření jako chrupavka [12, 17, 19, 20, 26], což značí podobnost tribologických vlastností. Dále hydrogel i chrupavka obsahují pórovitou strukturu [19, 21, 22, 25] což způsobuje natahování kapaliny do pórů struktury vzorku a následné vytlačování kapaliny do kontaktu v případě zatížení a pohybu. Tento jev je pro mazání synoviálního kloubu zásadní. Oba dva materiály

jsou poddajné s velmi nízkým modulem pružnosti [6, 7], řádově v jednotkách MPa. Z těchto důvodů lze dedukovat podobnost vzniklých mazacích procesů jak u hydrogelů, tak i u chrupavek. Práce [26] uvádí, že mazací film u hydrogelů tvoří zejména γ -globulin, který se uchytává na vzniklém gelovém povrchu chrupavky, který je tvořen zejména kyselinou hyaluronovou a až na γ -globulin se uchytávají molekuly albuminu. V případě příliš vysoké koncentrace proteinu albumin se začne albumin díky smykovému namáhání vyplývajícího z recipročního pohybu experimentu strhávat a díky vzniklým vazbám mezi albuminem a γ -globulinem se spolu s albuminem strhne i γ -globulin. Podobné mechanismy jsou očekávány i u mazání synoviálního kloubu za použití vzorku chrupavky na místo vzorku hydrogelu.

5.4 Návrh způsobu řešení a použité metody

Pro úspěšné dosažení stanovených cílů této práce je třeba správně zvolit použité metody a postupy řešení. Z dílčích cílů vyplývá, že metoda, již by bylo vhodné použít již na pracovišti řešitele zavedena je, jen je nutné ji mírně modifikovat. Vhodné zařízení bohužel k dispozici ale není, tudíž je nutné experimentální zařízení navrhnout dle kladených požadavků a nechat vyrobit. Pro implementaci metody, experimentální ověření a kalibraci nového zařízení je taktéž nutné navrhnout a ověřit metodiku pro výrobu vzorků. Tyto tři dílčí cíle je nutné bezpodmínečně splnit, jinak by nebylo možné přistoupit k samotné realizaci nosných experimentů. Jednoduché schéma postupu řešení je znázorněno na obr. 5. 1.



Obr. 5-1 Schéma postupu řešení

5.4.1 Krok 1 – metodika odběru vzorků

Z důvodů, že se jedná o biologický materiál, kde hrozí velmi rychlá degradace tkání vyrobených vzorků, je nutné navrhnout, odladit a verifikovat metodiku, která zajistí věrohodné reprezentační vzorky vypovídající skutečným živým kloubů, aniž by byly ovlivněny zejména tribologické vlastnosti. Z nabitých poznatků z kritické rešerše [13 - 15] byl stanoven stejný postup, který bude následně experimentálně ověřen. Vzorky budou odebírány z prasečího kyčelního kloubu, přičemž bude pevně stanovena poloha odbíraných vzorků, aby byla zaručena co největší podobnost všech vzorků. Jak bylo uvedeno v rešerši [16] tribologické vlastnosti se mohou významně lišit v závislosti na místě odběru vzorků. Vlastnosti jsou závislé zejména na tom, které místo na povrchu kloubu je nejčastěji zatěžováno. Vzorky z tohoto místa pak vykazují nejlepší tribologické vlastnosti, resp. nejnižší CoF. Proto bylo i v případě návrhu metodiky odběru vzorků v této práci zvoleno místo, které je nejčastěji v kontaktu s kloubní jamkou.

Aby byly vzorky opravdu reprezentačními vzhledem k reálné situaci v synoviálním kloubu, musejí být vzorky odebírány co nejdříve po porážce zvířete, aby nedošlo k degradaci tkání a buněk, což by mohlo značně ovlivnit naměřená data. Z tohoto důvodu byl navrhnout postup, kdy se vzorky vyrábějí co nejdříve po porážce zvířete a při převozu kostí určených na výrobu vzorků, jsou kloubní hlavice udržovány při teplotě 4 °C. Ihned po převozu kloubních hlavic je přistoupeno k výrobě vzorků pomocí dutého vrtáku určeného na kosti. Postup výroby je tedy následující:

- 1) Co nejrychlejší odběr vzorků z určeného místa kloubní hlavice s ohledem na řezné rychlosti tak, aby nedošlo ke zbytečnému tepelnému ovlivnění vzorků od tření vrtáku s kloubní hlavicí a tak došlo k degradaci tkáně chrupavky.
- 2) Co nejrychlejší uložení odebraných vzorků do zkumavek naplněných roztokem PBS a umístění do hlubokého mrazu -20 °C.
- 3) Těsně před experimenty jsou vzorky rozmrazeny za pokojové teploty a přistupuje se k experimentům.

Přesto, že tento postup byl zmiňován v pracích uvedených v kritické rešerši, bylo rozhodnuto jej pro zdejší podmínky znovu ověřit. Pro tyto účely je stanoven plán porovnávacích experimentů. Experimenty proběhnou na konvenčním tribometru, který je k dispozici v laboratořích řešitelského pracoviště. Zařízení bude třeba mírně upravit a navrhnout přípravek, který tyto experimenty umožní. Následně proběhne sada experimentů nejdříve se vzorky čerstvými, ihned po jejich výrobě, které jsou vyrobeny co nejdříve po převozu kloubních hlavic a následně se vzorky zamraženými a znovu rozmraženými. Porovnávacím kritériem bude naměřený CoF při podmínkách pro všechny experimenty stejných. Podmínky byly stanoveny na základě předešlých prací. Výsledky budou porovnány jak mezi sebou, tak i s předešlými pracemi.

5.4.2 Krok 2 – Experimentální zařízení

Provozní podmínky v reálném kloubu jsou značně odlišné od podmínek ve strojívěnství. Jedná se o kontakty, kde vzorek vykazuje velmi nízký modul pružnosti, řádově max. 20 MPa [6, 7], přičemž závisí na místě na povrchu kloubní hlavice a na

druhu kloubu. Co se týče zatížení, klouby jsou provozovány při stykovém tlaku maximálně 18 MPa [5], kdy se jedná o kyčelní kloub. V přepočtu na zatížení se jedná řádově o jednotky až desítky Newtonů. Kontakt je provozován za čistého recipročního skluzu, kdy smykové rychlosti dosahují řádově taktéž jednotek mm/s. Dle zmíněných prací v rešerši jsou měřené hodnoty CoF velmi malé, řádově v setinách, což ukazuje na velmi malé třecí síly vyskytující se v kontaktu. Jak se zmiňují cíle této práce, jedná se o práci zaměřenou na pozorování mazacího filmu v kontaktu synoviálního kloubu, což znamená, že kontakt musí být plně zaplaven mazivem. Aby bylo možné pozorovat mazací procesy, je třeba přímý vzhled do kontaktu. Tento problém je zmíněn již v některých pracích [19], kde ho autoři elegantně vyřešili transparentní skleněnou deskou v kontaktu se vzorkem chrupavky. Vzorek byl umístěn pod deskou, takže byl možný náhled přímo do kontaktu. Aby bylo dosaženo co nejbližších podmínek reálným, musí být mazací lázeň vyhřívána na teplotu těla.

Pro zmíněné podmínky není k dispozici na pracovišti řešitele žádné vhodné zařízení. Zařízení musí být navrženo speciálně pro zmíněné specifické podmínky tak, aby umožňovalo:

- Měření velmi malých třecích a zatěžujících sil
- Pozorování in situ kontaktu pomocí fluorescenční mikroskopie
- Plně zaplavený vyhříváný kontakt
- Reciproční pohyb s malými smykovými rychlostmi a zatížením

Z uvedených požadavků a vycházejíce ze zmíněných publikovaných prací v kritické rešerši byly stanoveny požadované provozní podmínky navrhovaného zařízení:

- Reciproční pohyb s kluznou rychlostí pohybu: 1 – 40 mm/s
- Zdvih recipročního pohybu: 1 – 30 mm
- Zatížení kontaktu: 1 – 20 N
- Měřitelnost CoF: 0,01 – 0,5
- Objem mazací lázně: max. 25 ml
- Vyhřívání lázně na teplotu 37 °C

Aby bylo zařízení použitelné pro experimentální výzkum, resp. aby bylo možné považovat naměřené výsledky za věrohodné, musí proběhnout ještě kalibrace a verifikace zařízení. I pro tuto situaci je stanoven plán experimentů. Kalibrovat bude potřeba pouze dva senzory, které zařízení bude obsahovat, snímač třecí síly a snímač zatěžující síly. Oba tyto snímače budou nakalibrovány až po montáži do zařízení a kalibrace proběhne z místa kontaktu pomocí závaží, stejně jak probíhá kalibrace např. MTM. Verifikace proběhne s materiálovou dvojicí, z které je možno vyrobit pokud možno dva stejné vzorky, ale mělo by jít o poddajný kontakt. Proběhne série měření zaměřených na zjištění CoF na nově vyrobeném zařízení a následně ty samá měření proběhnou na konvenčním tribometru Bruker TriboLAB. Obě série měření budou mezi sebou porovnány a hodnocena shoda. Všechny měření proběhnou vždy s trojnásobným opakováním, kdy bude hodnocena i opakovatelnost měření.

5.4.3 Krok 3 – Implementace metody

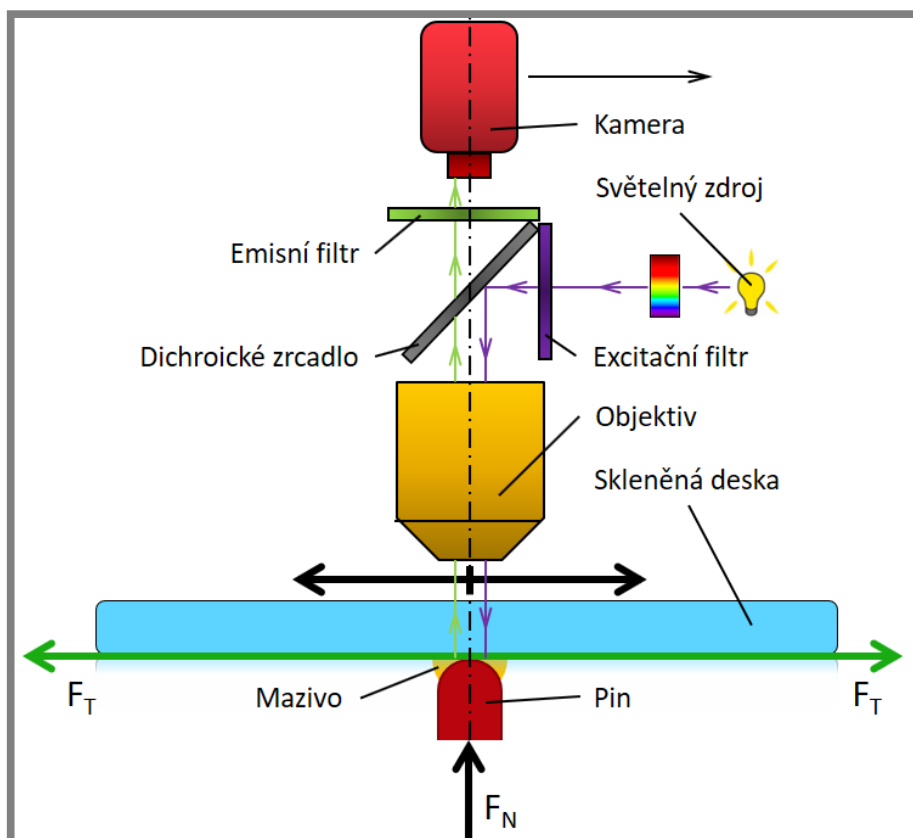
Jak již bylo zmíněno, jako nejvhodnější metoda pro vizualizaci mazacího filmu synoviálního kloubu byla určena fluorescenční mikroskopie. Tato metoda je již na pracovišti řešitele zavedena a byla použita již v mnohých pracích [27 - 33]. Aplikace, ve kterých byla tato metoda použita, byly odlišné od řešeného problému v této práci.

Většinou se jednalo o kontaktu s velkým modulem pružnosti (ball-on-disk) s ocelovou kuličkou a později byly zkoumány i poddajné kontakty tvořené např. gumovou kuličkou. V případě kontaktu vzorku chrupavky se sklem, se jedná o poddajný kontakt s velmi malým modulem pružnosti, z čehož plyne, že kontaktní oblast bude násobně větší než u klasických kontaktů ball-on-disk s ocelovou kuličkou. Aby bylo možné kontakt vizualizovat, je nutné mikroskopem snímkovat pokud možno celou kontaktní oblast, která je v tomto případě o průměru cca 5 mm, dle práce [19]. Pro tuto aplikaci není teď fluorescenční mikroskop uzpůsoben a je třeba jej doplnit o objektiv s malým zvětšením, aby bylo možné zaostřit pokud možno celou kontaktní oblast.

Při aplikaci fluorescenční mikroskopie v biooblasti v kombinaci s živými tkáněmi hrozí riziko, že bude tkáň vzorku chrupavky při excitaci pomocí UV světla zářit. Aby bylo možné vizualizovat mazací film v kontaktu, pozorovat jednotlivé složky maziva procházející kontaktem, musí případně označované složky maziva při excitaci přesvítit samovolnou emisi tkáně chrupavky. Aby bylo možné kvantitativně porovnávat jednotlivá měření, je zapotřebí, aby byla samovolná emise tkáně nějakým způsobem popsána. Z tohoto hlediska může nastat několik situací:

- Vzorek chrupavky nebude světlo emitovat vůbec – nejideálnější stav problému. V kontaktu budou emitovat světlo pouze označované složky maziva, což značně zjednodušuje situaci.
- Vzorek chrupavky bude emitovat světlo málo a konstantně po určitý čas – pořád lze bez větších komplikací provést experimenty. Je zapotřebí lépe odladit aparaturu a upravit světlost snímkovaného kontaktu tak, aby bylo možné co nejlépe rozpoznat jednotlivé označované částice pohybuující se skrz kontakt. Doba konstantní emise světla musí být vždy delší než samotná doba experimentu.
- Vzorek chrupavky bude emitovat světlo málo, ale bude se vysvěcovat – z důvodu, že jde pouze o vizualizaci kontaktu, tudíž není zapotřebí kvantitativně porovnávat intenzitu vyzářeného světla z kontaktu, měnící se světelná emise tkáně chrupavky by neměla činit žádný problém. Je potřeba v průběhu experimentů s tímto faktem počítat. Pokud by nastala situace, že vysvěcování vzorku chrupavky by bylo velmi rychlé, nejlepší řešení by bylo tuto dobu počkat, než se vzorek vysvítlí a experimenty zahájit až potom.
- Vzorek chrupavky bude emitovat světlo s větší intenzitou, než označené složky maziva – tato situace by způsobila vážné komplikace v průběhu experimentů, prakticky by se stal kontakt této konfigurace neměřitelným. Ale i tento problém má řešení. Lze zvolit vhodnou kombinaci fluorescenčních barviv a ozařujícího světla tak, aby daná barva monochromatického světla byl odlišná od světla, při kterém tkáň světlo emituje. Fluorescenční mikroskopie v této oblasti již použita byla [21, 26, 27], což značí, že by vážné problémy nastat neměly.

Schéma zařízení po implementaci je zobrazeno na obr. 5-2.



Obr. 5-2 Schéma metody fluorescenční mikroskopie po implementaci nového zařízení

5.4.4 Krok 4 – Experimentální analýza in situ kontaktu

Tento krok je vyvrcholením a cílem celé práce. V této fázi budou sestaveny plány měření. Mezi jednotlivými experimenty bude rozdíl v provozních podmínkách, budou se tedy měnit tyto parametry:

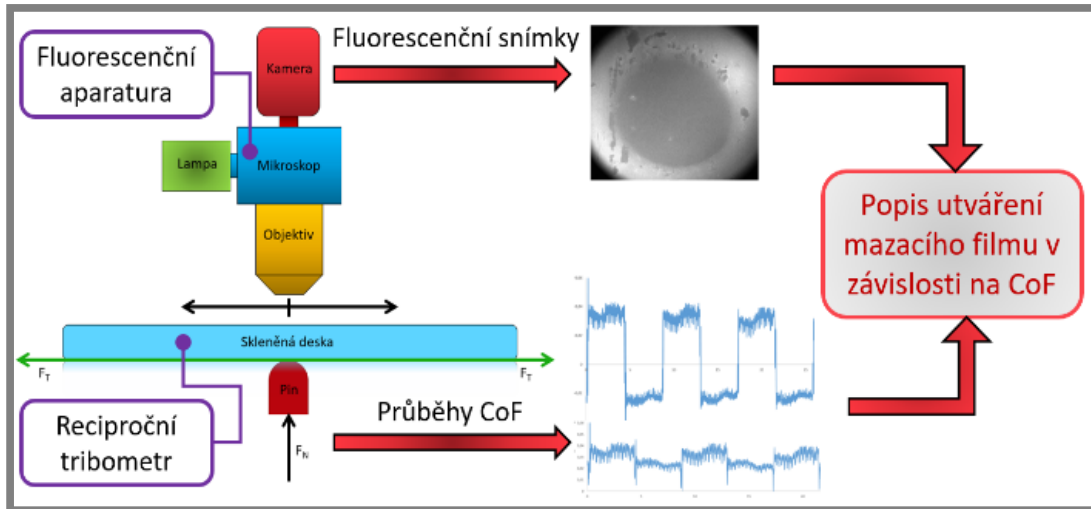
- Zatížení
- Rychlost pohybu

Experimenty budou zaměřeny na:

- Vizualizaci kontaktu pomocí fluorescenční mikroskopie
- Měření zatěžující síly
- Měření třecí síly
- Určení CoF

Tato práce přichází s kombinací optických metod a měřením třecích sil, což zatím žádná práce nekombinuje. Princip experimentů je schematicky znázorněn na obr. 5-3. Mazivo bude mít několik konfigurací, vždy bude označena jedna složka maziva. Experimenty proběhnou se všemi variantami maziva a výsledky se budou při analýze spolu integrovat, což poskytne výsledky, které konkrétní složky maziva a jak, utváření mazací film. Při každém měření bude k dispozici záznam průběhu CoF (viz schéma na obr. 5-3), tudíž bude možné vyhodnotit, který mazací film vykazuje nejmenší tření a který mazací film vykazuje největší tření. Tento stav bude vyhodnocován na základě četnosti označovaných částic v kontaktu a jejich pohybu. Experimenty proběhnou tedy za různých zatížení a kinematických podmínkách, a výsledkem práce bude popis,

jak, v jaké konkrétní situaci a na základě jakých složek maziva se film utváří, a to vše ve vztahu k velikosti CoF.



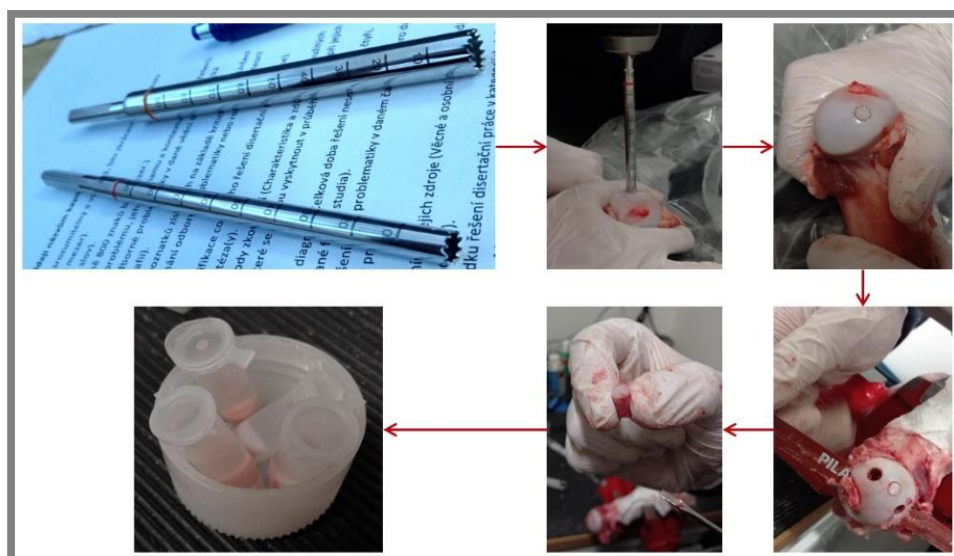
Obr. 5-3 Schéma sestavení experimentů

6 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÍ DISERTAČNÍ PRÁCE

V současné době je řešení rozpracované a některé body uvedené v předchozí kapitole jsou již hotové. V této kapitole budou popsány kroky a postupy úkonů jednotlivých řešení, které jsou již v této době hotovy. Řešení se nachází přibližně v polovině 3. kroku.

6.1 Návrh a ověření metodiky odběru vzorků chrupavky

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. 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 [16]. Proto byla vybrána lokace na povrchu kloubní hlavice, kde je samotný kloub nejčastěji ve styku s kloubní jamkou. Zde by měly vzorky být nejvyšší s nejlepšími vlastnostmi, viz druhý krok na obr. 6-1. K odběru budou použity speciální duté frézy na odběr vzorků chrupavek i se subchondrální kostí od firmy MEDIN, viz první krok na obr. 6-1. Vzorky budou vyráběny o průměrech 5,7 mm a 9,7 mm. Tyto rozměry jsou dány vnitřním průměrem duté frézy. Průměry byly zvoleny na základě empirické zkušenosti z práce [19], kdy požadavkem je, aby průměr vzorku byl větší než průměr kontaktní oblasti. Z práce [19] vyplývá, že průměr kontaktní oblasti se pohybuje okolo 5mm. Proto jsou oba duté vrtáky větší než 5 mm. Použité vrtáky jsou vždy před jednotlivými kroky desinfikovány a očištěny, aby se na vzorky nedostávalo nežádoucích nečistot. Navrtnané kruhové piny jsou z kloubní hlavice vypreparovány pomocí pilového plátu a pinzety a ihned potom uloženy do roztoku PBS. Vzorky budou vždy odebírány co nejdříve po dovozu zvířecích kloubních hlavice, aby nedocházelo k degradaci tkání a experimenty byly tak co nejblíže skutečnému stavu v synoviálním kloubu. Odebrané vzorky budou následně zamraženy v roztoku PBS při teplotě -20 °C. Postup výroby vzorků je znázorněn na obr. 6-1.



Obr. 6-1 Postup výroby vzorků

Celý postup odběru vzorků byl experimentálně ověřen na konvenčním tribometru, který je k dispozici na pracovišti řešitele práce. Jedná se o tribometr MTM. Sada experimentů bude zaměřena na zjištění CoF 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 CoF a to u vzorků ihned po odběru a následně v určitých časových intervalech po odběru. Použité zařízení je na obr. 6-2.

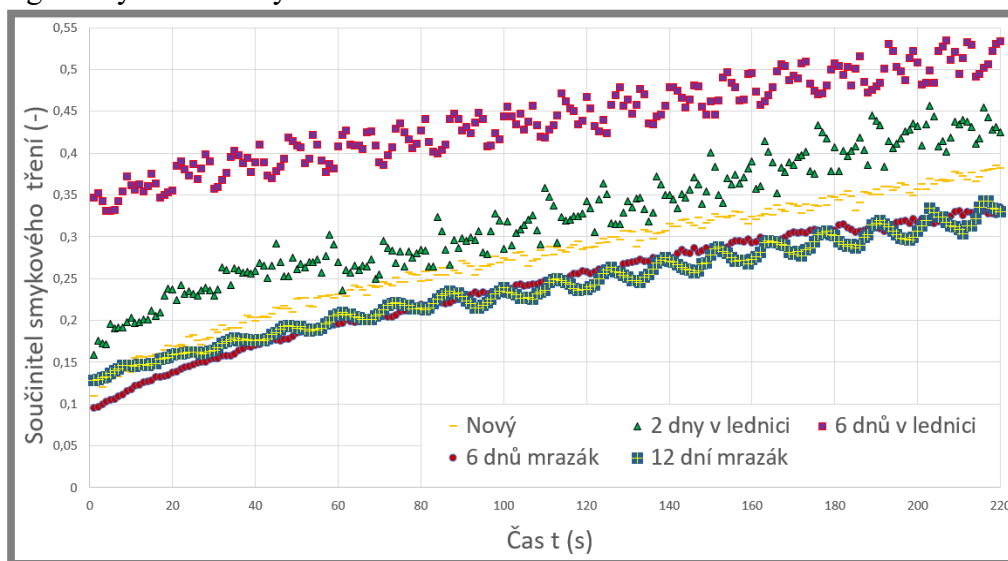


Obr. 6-2 Konvenční tribometr MTM

Následně byl vytvořen plan experimentů a stanoveny podmínky na základě experimentů provedených v publikaci [19], zatížení 5 N, zdvih 20 mm a skluzná rychlost 10 mm/s. Pro tyto podmínky byly testovány vzorky:

- Nové – testované ihned po odebrání
- 2 dny uskladněné v lednici
- 6 dnů uskladněné v lednici
- 6 dnů uskladněných v mrazáku
- 12 dnů uskladněných v mrazáku

Provedené experimenty byly porovnány s publikovanými pracemi a trendy i hodnoty závislosti CoF na čase se shodovali. Zvolený postup výroby vzorků byl již podle literatury [40, 41] použit a verifikován, což vychází i z výsledků experimentů této práce. Výsledky experimentů provedených pro verifikaci metodologie odběru vzorků jsou graficky znázorněny na obr. 6-3.

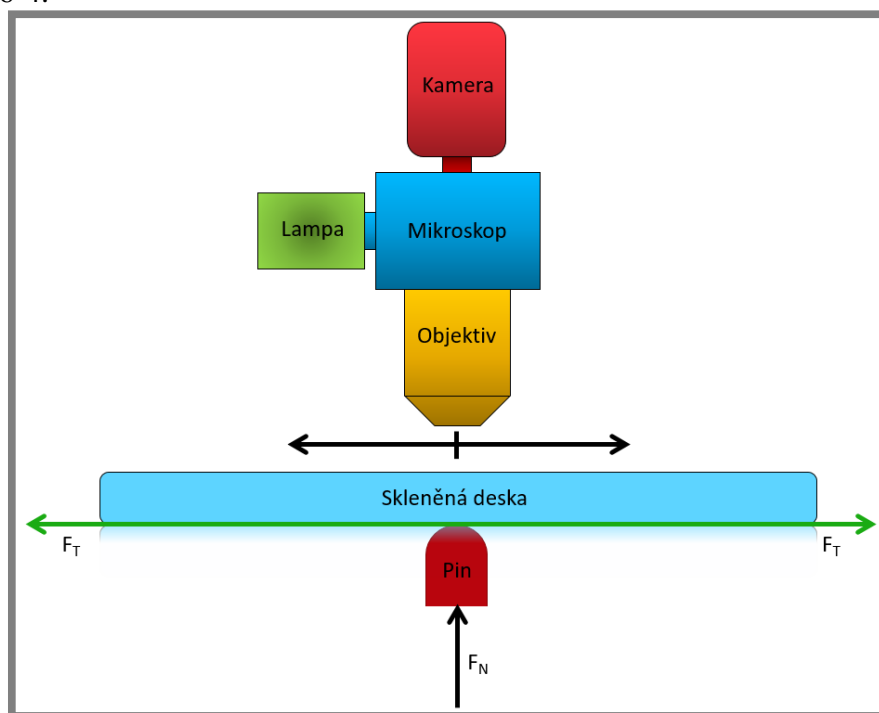


Obr. 6-3 Výsledky experimentů pro ověření metodologie odběru vzorků

Jak je možné vidět na obr. 6-3, tak čerstvě vyrobený vzorek vykazuje prakticky stejný CoF jako vzorky zmražené a rozmražené, bez ohledu na to, jak dlouho zmraženy byly. Pokud jsou vzorky uloženy pouze do chladu o teplotě 4°C (do lednice) vzorek po 2 dnech vykazuje znatelné zvýšení CoF a po 6 dnech téměř dvojnásobné zhoršení v naměřených hodnotách CoF. Ve srovnání s uvedenými publikacemi jsou výsledky také téměř identické [12, 15, 19].

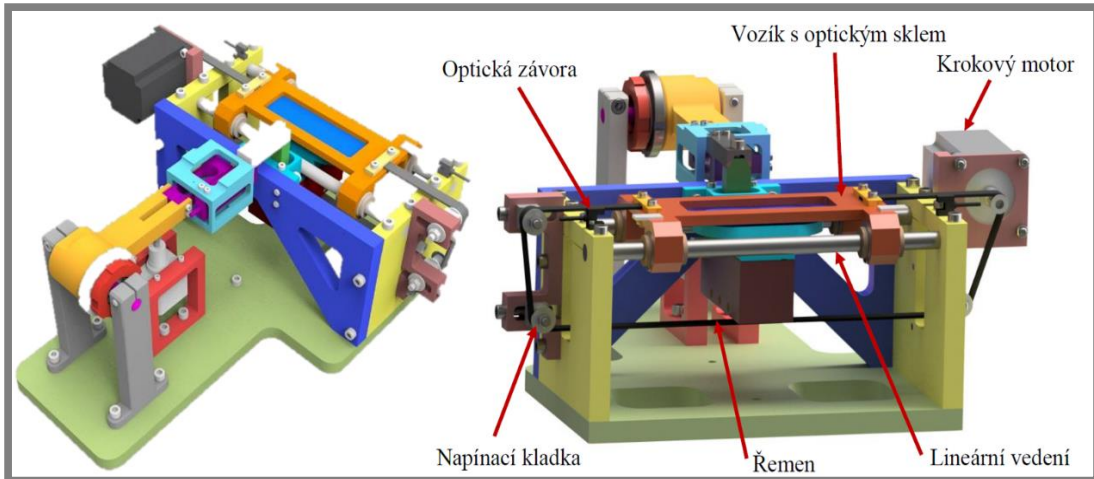
6.2 Návrh, konstrukce a výroba experimentálního zařízení

Proces návrhu byl započat současně s návrhem metodologie. Veškeré požadavky na zařízení vycházejí z empirické zkušenosti načerpané na základě kritické rešerše a zařízení, které byly v uvedených publikacích použity. Dále do požadavků vstupují parametry, které jsou určovány cílem a zaměřením práce. Všechny požadavky jsou již uvedeny v kapitole 5.4.2. Prvním krokem návrhu bylo vytvoření obecného schématu zařízení a diskuse další konstrukce tak, aby bylo dosaženo všech kladených požadavků a dodrženy všechny limity. Schéma zobrazující základní principy zařízení je zobrazeno na obr. 6-4.



Obr. 6-4 Základní schéma navrhovaného recipročního tribometru

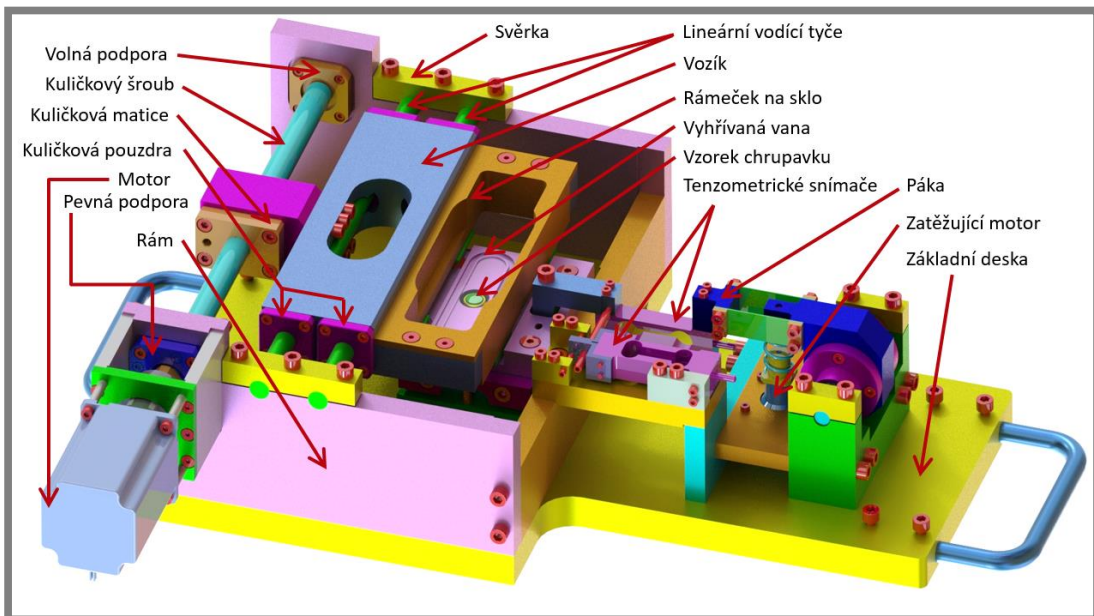
Kontakt synoviálního kloubu je simulován kontaktem pinu (vzorku chrupavky) a skleněné desky, a to zejména proto, že je kladen požadavek na pozorování in situ kontaktu, tudíž je nezbytně nutné, aby bylo přímo do kontaktu vidět. Umístění pinu dole pod deskou je určeno již daným konstrukčním uspořádáním fluorescenčního mikroskopu na pracovišti řešitele. Kontakt musí být zaplaven, aby byl zajištěn přísun maziva do kontaktu, to znamená, že mazací lázeň musí být utěsněna a pro dosažení reálných podmínek i vyhřívána. V kontaktu musí být měřena zatěžující a třecí síla, z čehož se následně spočítá CoF. Pro prvotní návrh konstrukce nového tribometru byl vypsán konstrukční studentský projekt. Výsledkem byl návrh, avšak dnešní vyrobené zařízení se od prvotního návrhu značně liší. První návrh experimentálního zařízení je uveden na obr. 6-5.



Obr. 6-5 Prvotní návrh experimentálního zařízení

Tento návrh byl následně významně upraven a přepracován a to zejména z důvodu vyrobitelnosti některých součástí, opakovatelnosti sestavení odnímatelných dílů, tuhosti rámu a přesnosti a opakovatelnosti recipročního pohybu. Největším problémem bylo však nutnost rozmontovat celý pohon a odmontovat celou vanu aby bylo možné vyměnit vzorek, což by mohlo značně ovlivňovat přesnost a reprodukovatelnost výsledků.

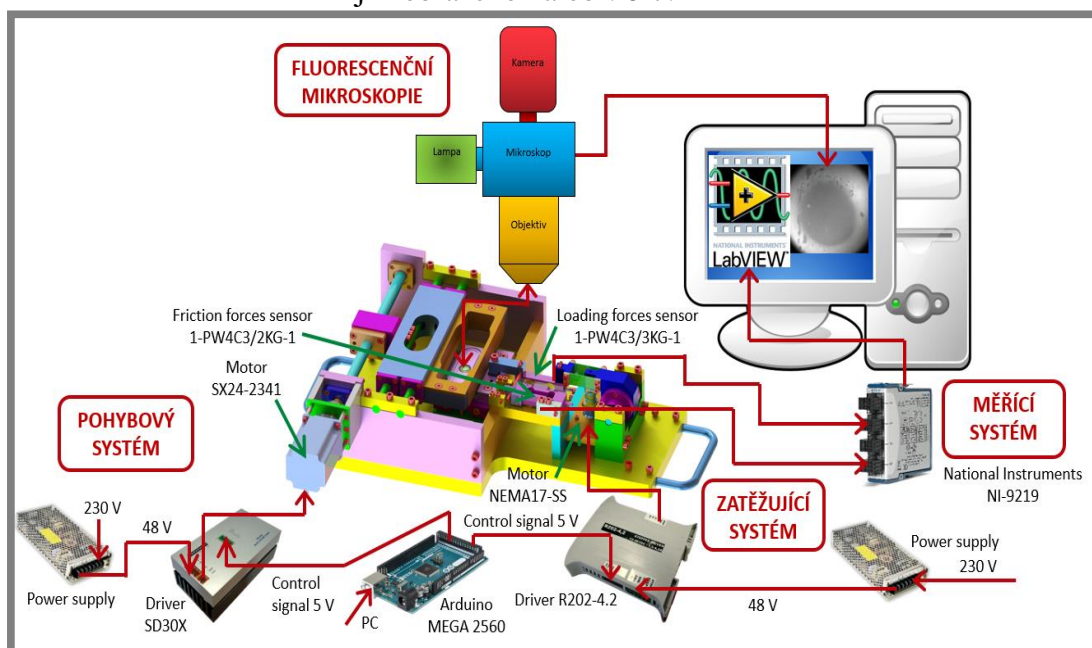
Uložení na vodících tyčích bylo zvoleno pomocí vysoce přesných kuličkových pouzder místo kluzných a pohon vozíku pomocí kuličkového šroubu místo řemene. Rotační pohon pomocí krokového motoru byl zachován jak pro pohyb vozíku, tak i pro zatěžování. Konečný návrh zařízení včetně popisků je zobrazen na obr. 6-6.



Obr. 6-6 Konečný návrh nového experimentálního zařízení

Na obr. 6-6 je poslední, nejnovější koncept návrhu experimentálního zařízení, do kterého byly zahrnuty všechny nedostatky předešlého konceptu. 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 předepnutá kvůli odstranění nežádáných vůlí. Do vozíku je montováno sklo, které bude v kontaktu se vzorkem chrupavky. Celý vozík je veden na vodících tyčích v kombinaci s kuličkovými pouzdry, což poskytuje v kombinaci s kuličkovým šroubem vysoce přesný a dobře opakovatelný pohyb. Sklo je uloženo v odnímatelném rámečku. Vzorek chrupavky je upnut v kleštině a montován na páku, která je zatěžována ve 4 ložiscích mezi sebou předepnutých, což by opět mělo zaručit pohyb bez vůlí. Zatížení je realizováno přes krokový motor. Tento krokový motor je v konfiguraci vysoce přesného lineárního aktuátoru a zatížení je realizováno přes páku. 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. Dále je na páce namontován deformační člen, který zajistí dostatečně nízkou tuhost ve směru měření třecích sil, které budou velmi malé a vysokou tuhost ve směru zatěžující síly. Snímač třecích sil, tenzometr je uložen paralelně s pákou kvůli zabránění poškození při montáži, demontáži páky (má velmi nízký měřicí rozsah). 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 vyhřívané vaně, která je uložena na přesném vedení a zajištěna několika šrouby. Tato kombinace zajistí, že vždy při montáži se vana a optické sklo dostanou do stejné polohy. Těsnění mezi vanou 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. Řízení pohyblivých os zařízení je řešeno pomocí Arudiona a krokových motorů. Měřicí řetězec pro snímání zatěžující a třecí síly je řešen pomocí měřicí karty a dvou snímačů osazených na zařízení. Program pro záznam je vytvořen v LabVIEW. Schéma řídicího a měřicího řetězce je zobrazeno na obr. 6-7.

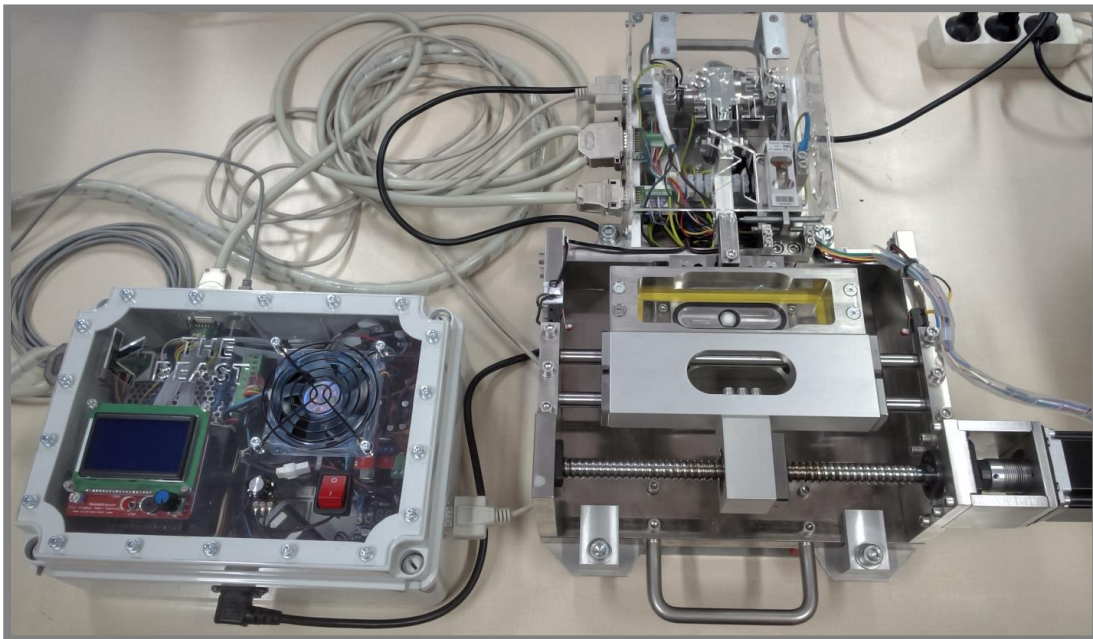


Obr. 6-7 Řídicí a měřicí řetězec experimentálního zařízení

Jak je vidět z obr. 6-7 celý systém se skládá ze dvou částí:

- Řídicí systém
- Měřicí systém

Řídicí systém obsahuje dva krokové motory, z čehož jeden ovládá pojezd vozíku, tedy zajišťuje reciproční pohyb a druhý zajišťuje zatížení kontaktu. Oba dva motory jsou řízené přes drivery a Arduino. Pohybový krokový motor byl napočítán a zvolen tak, aby dokázal překonat pasivní odpory zejména mezi těsněním a skleněnou deskou a dále i v kuličkové matici. Potřebný krouticí moment byl 1 Nm. Byl zvolen nejbližší vyšší krokový motor SX24-2341 od firmy Microcon s krouticím momentem 1,2 Nm. Zatěžující motor byl zvolen vysoce přesný lineární krokový aktuátor od firmy Servo-Drive. Tento motor zajišťuje velmi přesný lineární pohyb, který je převeden přes páku na sledovaný kontakt. Typ motoru byl zvolen NEMA17-SS-233-CA-00609-12,7-09DEG. Při volbě bylo bráno v potaz maximální přepočtené zatížení, které bude v tomto místě páky působit. Motor je řízen opět přes driver a Arduino. Tento kompletní pohybový systém tvoří úplně oddělenou a samostatnou část zařízení. Pro Arduino byl vytvořen řídicí skript, který pracuje nezávisle na měřících metodách a lze ovládat externě z displeje na řídicí skříni, kde je uložena veškerá elektronika potřepaná k chodu zařízení. Tato skříň lze vidět na obr. 6-8 vlevo.



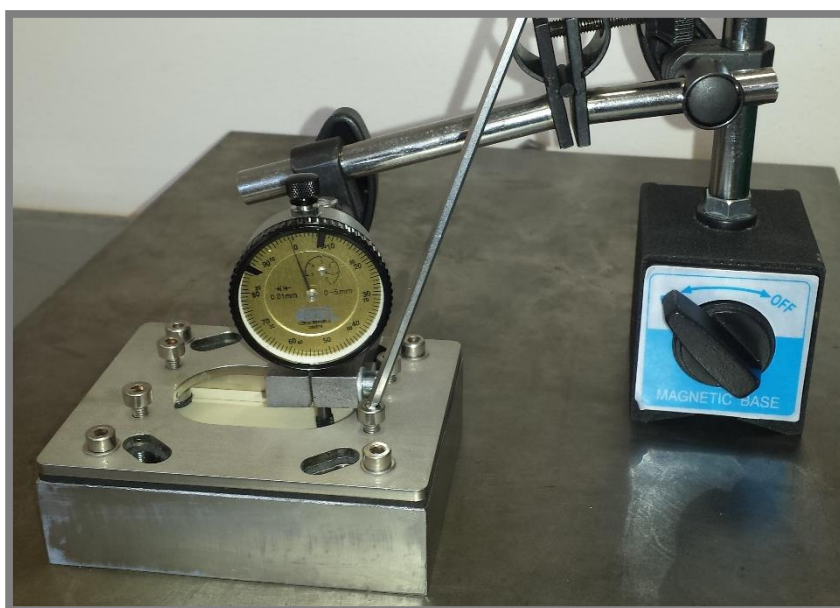
Obr. 6-8 Vyrobené zařízení včetně řídicí elektroniky

Měřicí systém je tvořen dvěma senzory, měřicí kartou a softwarem v PC. První senzor zajišťuje snímání zatěžující síly a byl zvolen na základě maximálního možného požadovaného zatížení. Byl vybrán od firmy HBP měřicí technika s maximální zatížitelností 30 N. Bylo zvoleno vážní číslo tenzometrický snímač v konfiguraci singlepoint, který zaručuje přesné měření zatěžující síly i mimo kontakt. Byl zvolen model 1-PW4C3/3KG-1. Snímač pro měření třecí síly byl zvolen s označením 1-PW4C3/2KG-1, který má rozlišitelnost 0,02N, což by mělo být dostatečné s ohledem na velmi nízké CoF a zatížení. Tento snímač byl vybrán z důvodu, že pokud by byl namontován ještě menší snímač, mohlo by dojít velmi rychle k jeho poškození. Oba

snímače jsou připojeny k měřicí kartě od značky National Instruments s označením USB-6003 16-BIT. Měřicí karta je načtena do LabVIEW a je zde vytvořen i program na zaznamenávání průběhů obou sil. Následně jsou hodnoty exportovány do programu EXCEL. Měřicí karta je také uložena v řídicí skříni viz obr. 6-8 vlevo.

Celé takto hotové zařízení se namontuje na posuvný stůl pod fluorescenční mikroskop. Hotové zařízení je zobrazeno na obr. 6-8 včetně řídicí skříně.

Aby byla zaručena správnost a relevantnost výsledků získaných pomocí nového zařízení, musí proběhnout ještě kalibrace a verifikace experimentálního zařízení. Kalibrace samotných snímačů proběhla pomocí zavěšování závaží z místa umístění vzorku. Závaží byly nejdříve zvaženy laboratorní váhou s přesností na setiny gramu a následně postupně zavěšovány od nejtěžších po nejtěžší a tím vznikala kalibrační křivka. Stejný postup byl použit u obou snímačů. Až byly snímače nakalibrovány bylo přikročeno k verifikačním měřením. Byly porovnávány měření zaměřená na CoF z nového experimentálního zařízení a z konvenčního zařízení Bruker TriboLAB. Aby bylo možné experimenty provést, bylo třeba navrhnout a vyrobit přípravek určený pro konvenční tribometr Bruker TriboLAB. Tento úkol byl vyřešen ve spolupráci se studentským projektem. Byly navrženy doplňky pro tribometr, přípravek na upnutí vzorků a vyhřívaná vana s možností upnout sklo. Hotový přípravek je zobrazen na obr. 6-9.

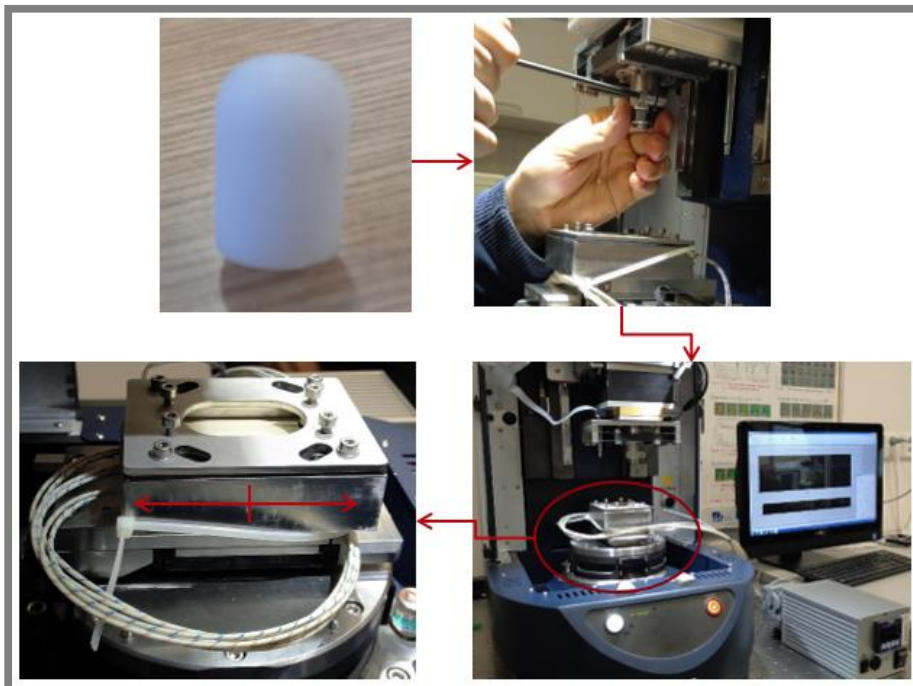


Obr. 6-9 Přípravek pro porovnávací experimenty metodiky odběru vzorků

Podmínky pro měření byly zvoleny na základě poznatků nabytých v kritické rešerši. Konfigurace podmínek byla zvolena následovně:

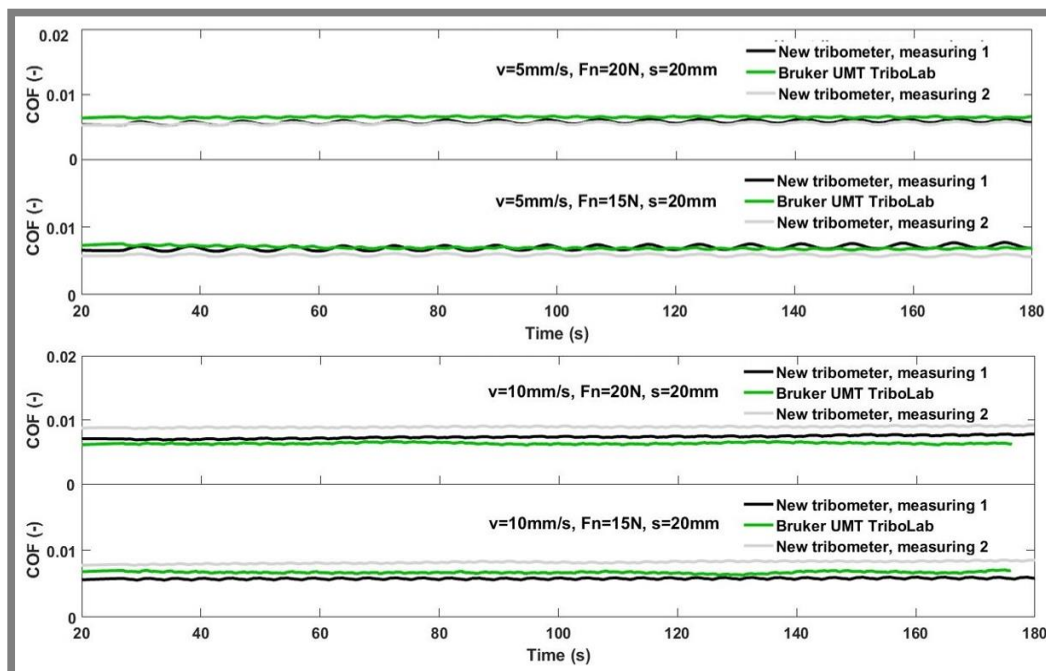
- Poddajný kontakt tvořený plastovým pinem vyrobeným z PTFE G400
- Mazivo PBS
- Provozní podmínky:
 - Zatížení 15 a 20 N
 - Kluzná rychlost 5 a 10 mm/s
 - Zdvih recipročního pohybu 20 mm
 - Teplota – pokojová 20°C

Přípravky byly namontovány do tribometru a byla provedena série měření. Kompletní experimentální zařízení je zobrazeno na obr. 6-10.



Obr. 6-10 Kompletní experimentální zařízení Bruker TriboLAB

Byly provedeny dvě sady experimentů při stanovených podmínkách. První sada experimentů byla provedena na tribometru Bruker TriboLAB a druhá na nově vyrobeném recipročním tribometru. Výsledky experimentů, resp. porovnané průběhy CoF z obou sad experimentů jsou na obr. 6-11. Mimo jiné byly vždy experimenty na novém tribometru opakovány, aby byla zjištěna opakovatelnost měření.



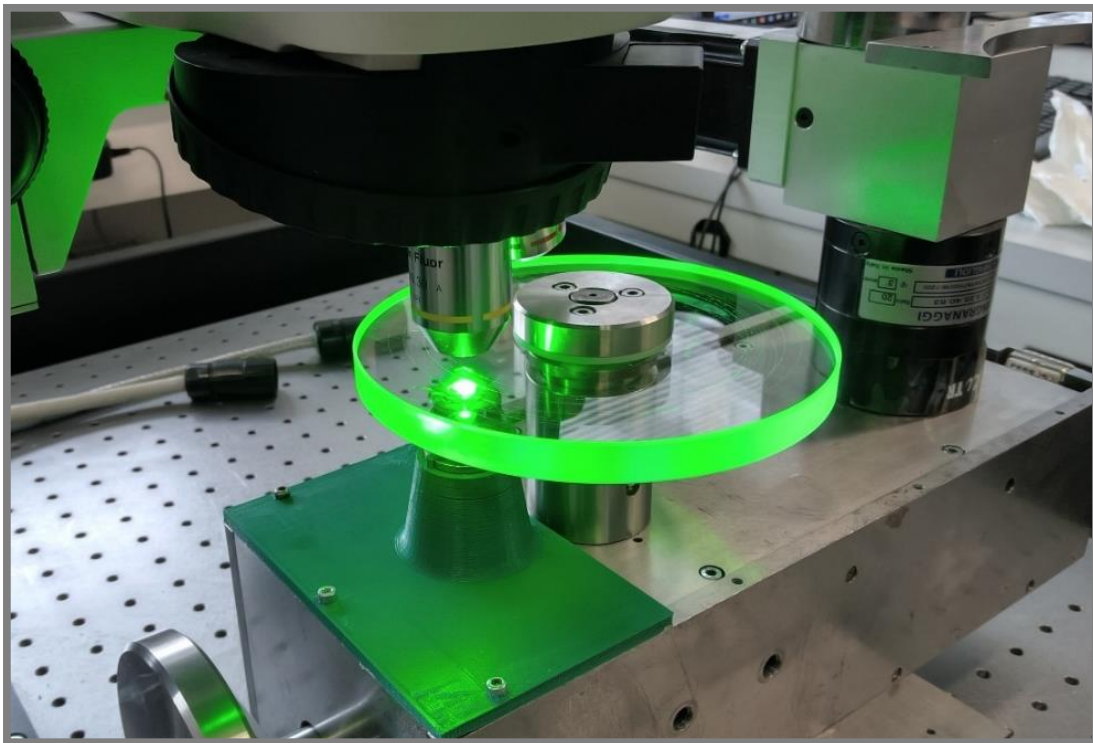
Obr. 6-11 Výsledky verifikačních měření nového tribometru

Z obr. 6-11 je patrné, že výsledky konvenčního tribometru a nového tribometru jsou velmi podobné a zároveň i opakovatelnost měření u nového tribometru je také dobrá. Odchylky se pohybují max. o 20%, což se dá pokládat vzhledem k velmi malým silám působícím v kontaktu za vyhovující.

Takto vyřešený stav práce byl prezentován na mezinárodní konferenci Engineering Mechanics 2018, z něhož vyjde příspěvek indexovaný ve vědecké databázi Scopus [42]. Byl prezentován odladěný postup výroby vzorků a verifikované nové experimentální zařízení.

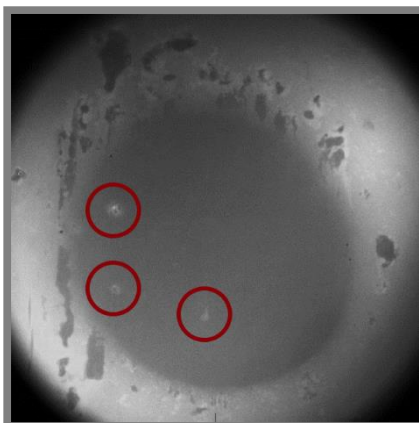
6.3 Implementace metody fluorescenční mikroskopie pro použití na poddajný kontakt synoviálního kloubu

Momentální stav práce je ve fázi rozpracování tohoto kroku. První experimenty započaly již současně s řešením předešlých fází. Cílem prvních pokusů bylo zjistit jak moc a s jakou závislostí emituje tkáň chrupavky při excitaci světlo. K tomuto účelu byl použit tribometr ball-on-disk jen mírně modifikován, tak aby bylo možné upnout vzorek chrupavky. Na tribometr byl navrhnout upínací přípravek následně vyrobený pomocí plastového 3D tisku. Experimentální zařízení je na obr. 6-12.



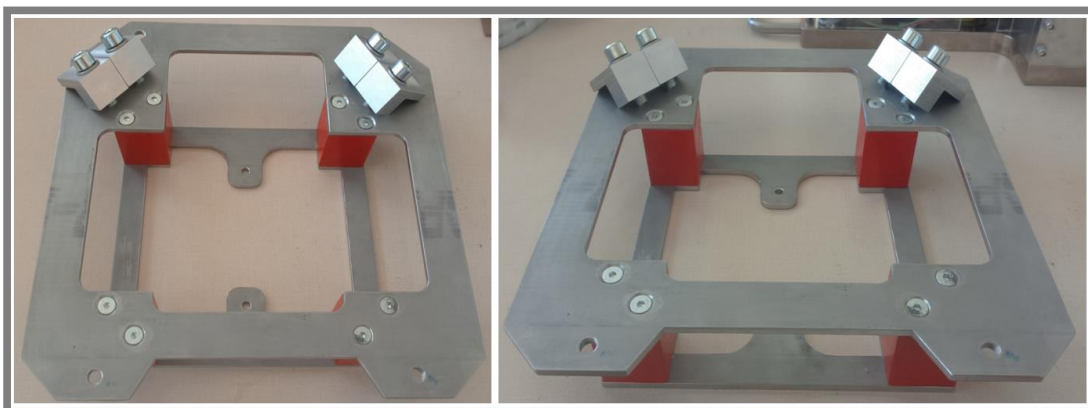
Obr. 6-12 Modifikovaný tribometr ball-on-disk na pin-on-disk

Na obr. 6-13 je snímek nasvíceného kontaktu mazaného modelovou kapalinou s označeným proteinem γ -globulin. Z obrázku lze vidět, že samotná chrupavka při ozařování také emituje světlo, ale i přes to jsou v kontaktu shluky proteinů znatelné. Při delším pozorování bylo zjištěno, že chrupavka svítí konstantní emisí, což je pozitivní zjištění a nebude komplikováno další měření.



Obr. 6-13 Snímek kontaktu chrupavky

Aby mohla být metoda fluorescenční mikroskopie použita v kombinaci s novým tribometrem, je třeba stanoviště s mikroskopem mírně upravit. Již od začátku bylo počítáno s tím, že se bude muset nový tribometr výškově optimalizovat tak, aby bylo dosaženo správné vzdálenosti kontaktu od objektivu, aby kontakt bylo možné zaostřit. Po první montáži tribometru byly odměřeny výškové rozdíly a byl navržen podkladový stolek pod tribometr, aby se kontakt nacházel ve správné výšce. Stolek se skládá z dvou výpalků (horní deska a dolní deska) a 4 přesně broušených kostek, které byly broušeny všechny společně, aby bylo dosaženo, co nelepší rovnoběžnosti horní a spodní desky. Vyroběný stolek je na obr. 6-14.

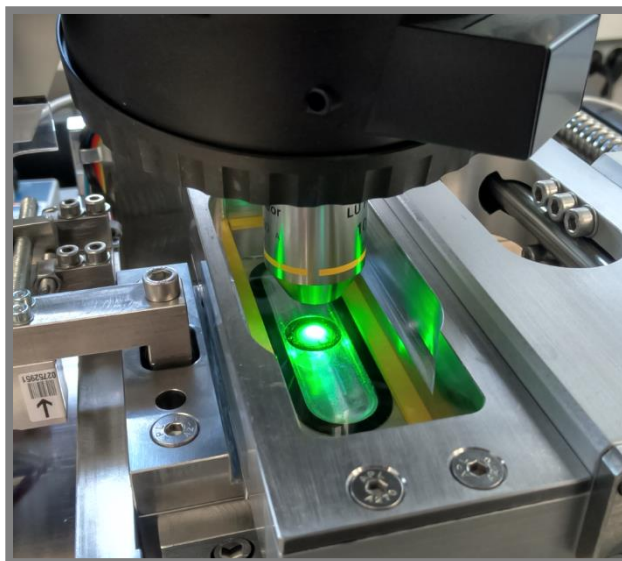


Obr. 6-14 Stolek pro montáž tribometru

Z důvodu velikosti kontaktní oblasti větší než 5 mm, což objektivy na pracovišti nedokáží zabrat, bylo třeba zakoupit objektiv nový. Po poradě s odborníky z firmy NIKON byl vybrán objektiv Nikon Plan UW 2x/0,06 s pracovní vzdáleností 7,5 mm. Zakoupený objektiv je na obr. 6-16. Momentálně se práce nachází ve fázi odladování fluorescenční mikroskopie v kombinaci přímo s novým recipročním tribometrem. Je potřeba odladit použití správných barev monochromatického světla excitace tak, aby byl kontakt co nejpřehlednější a jednotlivé označené složky co nejčitelnější. Lze ještě zvážit použití jiných barviv, aby se přenesla excitace fluorescenčních barviv v mazivu na jinou vlnovou délku, než při které vyzařuje i tkáň chrupavky. Na obr. 6-15 je zařízení namontované na stůl fluorescenčního mikroskopu ve fázi odladování metody.



Obr. 6-16 Objektiv Nikon Plan UW
2x/0,06, WD 7,5



Obr. 6-15 Nový tribometr namontovaný pod
fluorescenční mikroskop

7 ZÁVĚR

7

Pojednání ke státní doktorské zkoušce se zabývá tematikou mazání reálných kloubů. Práce shrnuje současný stav poznání v oblasti tribologického výzkumu synoviálních kloubů. Značná část práce se zabývá výzkumem zaměřeným na zjišťování tribologických vlastností synoviálního kloubu při různých podmínkách, další část shrnuje práce zaměřené přímo na výzkum procesu mazání v synoviálním kloubu a uvádí i teorie režimů mazání, které se snaží popsat velmi složité mechanismy a procesy, které v kontaktu synoviálního kloubu nastávají. Zejména druhé části prací je věnována velká pozornost a jsou detailně analyzovány, protože v této oblasti je stále velký potenciál vědeckého výzkumu, na kterém je postavena i tato práce. Na základě zhodnocení a shrnutí současného stavu poznání je definována vědecká otázka a k ní i pracovní hypotéza. Přístup k řešení práce je založen na empirické zkušenosti nabyté z kritické rešerše a na základě dostupných metod, které jsou k dispozici na pracovišti řešitele této práce. Poslední část práce se zabývá současným stavem řešení této práce, z kterého je patrné splnění některých dílčích cílů, které práci dávají kvalitní základ ke zdárnému vyřešení celé práce.

8 BIBLIOGRAFIE

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 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. 1, 32(1), 2-17 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1023/B:ABME.0000007786.37957.65. ISSN 00906964.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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.

- [10] 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.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] 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.
- [17] 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.

- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 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.

- [26] 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. 2018-07-20]. DOI: 10.1016/j.triboint.2008.11.005. ISSN 0301-679X.
- [27] 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. 2018-07-20]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.04.018. ISSN 0142-9612.
- [28] SMART, A. E. a R. A. J. FORD. Measurement of thin liquid films by a fluorescence technique. *Wear*. 1974, vol. 29, issue 1, s. 41-47. DOI: 10.1016/0043-1648(74)90132-x. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/004316487490132X>
- [29] FORD, R. A. J. a C. A. FOORD. Laser-based fluorescence techniques for measuring thin liquid films. *Wear*. 1978, vol. 51, issue 2, s. 289-297. DOI: 10.1016/0043-1648(78)90267-3. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0043164878902673>
- [30] 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.
- [31] MYANT, Connor, Mark FOWELL a Philippa CANN. The effect of transient motion on Ioviscous-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.
- [32] 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.
- [33] NECAS, David, Petr SPERKA, Martin VRBKA, Ivan KRUPKA a Martin HARTL. Film thickness mapping in lubricated contacts using fluorescence. *MM Science Journal* [online]. 2015, **2015**(04), 821-824 [cit. 2018-07-25]. DOI: 10.17973/MMSJ.2015_12_201524. ISSN 18031269.
- [34] NECAS, David, Tomáš JAROŠ, Kryštof DOCKAL, Petr ŠPERKA, Martin VRBKA, Ivan KRUPKA a Martin HARTL. The Effect of Kinematic Conditions on Film Thickness in Compliant Lubricated Contact. *Journal of Tribology* [online]. 2018, 140(5), 051501 [cit. 2018-07-25]. DOI: 10.1115/1.4039529. ISSN 0742-4787.

- [35] KOŠŤÁL, David, David NEČAS, Petr ŠPERKA, Petr SVOBODA, Ivan KŘUPKA a Martin HARTL. Lubricant Rupture Ratio at Elastohydrodynamically Lubricated Contact Outlet. *Tribology Letters* [online]. New York: Springer US, 2015, **59**(3), 1-9 [cit. 2018-07-25]. DOI: 10.1007/s11249-015-0565-7. ISSN 1023-8883.
- [36] NEČAS, David, Martin VRBKA, Filip URBAN, Ivan KŘUPKA a Martin HARTL. The effect of lubricant constituents on lubrication mechanisms in hip joint replacements. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. Elsevier, 2016, **55**, 295-307 [cit. 2018-07-25]. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2015.11.006. ISSN 1751-6161.
- [37] NEČAS, D., M. VRBKA, I. KŘUPKA, M. HARTL a A. GALANDÁKOVÁ. Lubrication within hip replacements – Implication for ceramic-on-hard bearing couples. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. Elsevier, 2016, **61**, 371-383 [cit. 2018-07-25]. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2016.04.003. ISSN 1751-6161.
- [38] 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.
- [39] 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.
- [40] 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.
- [41] 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.
- [42] ČÍPEK P., D. REBENDA, D. NEČAS, M.VRBK A I. KŘUPKA. Development of reciprocating tribometer for testing synovial joint. In: ENGINEERING MECHANICS 2018. Praha: Institute of Theretical and Applied Mechanics of the Czech Academy of Sciences, 2018, s. 169-172. DOI: 10.21495/91-8-169. ISBN 978-80-86246-88-8. ISSN 1805-8248.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1-1 Srovnání zdravého a nemocného synoviálního kloubu.....	7
Obr. 2-1 Povrchové zóny tkáně chrupavky [3].....	9
Obr. 3-1 Tribometr pin-on-disk [10]	11
Obr. 3-2 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]	12
Obr. 3-3 Naměřené hodnoty CoF v suchém kontaktu chrupavka-ocelový disk. Zatížení 2,7 N, teplota 38 °C, rychlost 40 mm/s [10].....	12
Obr. 3-4 Schematické znázornění použité konfigurace tribometru z publikace [11] 12	
Obr. 3-5 Kyčelní kloub po odběru vzorků chrupavky pro experiment [11].....	12
Obr. 3-6 Závislost statického a dynamického CoF na čase. Zatížení 10 N a teplota 37 °C. [11].....	13
Obr. 3-7 Závislost statického a dynamického CoF na čase. Zatížení 30 N a teplota 37 °C. [11].....	13
Obr. 3-9 Závislost statického a dynamického CoF a druhu maziva. Teplota 24 a 37°C. [11]	13
Obr. 3-8 Závislost statického a dynamického CoF a zatížení. Čas experimentu 5 s a teplota 24 °C. [11].....	13
Obr. 5-11 Konfigurace tribometru pro třecí test z publikace T. Murakami a kol. [12]	14
Obr. 5-12 Konfigurace tribometru z publikace T. Murakami a kol. – umístění vzorku [12]	14
Obr. 5-13 CoF v závislosti na ujeté dráhy vzorkem, resp. na čase. [12]	14
Obr. 5-14 CoF v závislosti na složení roztoku. [12].....	14
Obr. 5-15 Snímky z AFM mikroskopu absorbovaného filmu [12]	15
Obr. 3-16 Experimentální zařízení z publikace [13] – kyvadlo.	15
Obr. 3-17 Vlevo – celkový obsah lubricinu v kloubu u různě poškozených kloubů OA,	16
Vpravo – závislost CoF na rozsahu poškození kloubu od OA. [13]	16
Obr. 3-18 A – velký rozsah OA, B – mírný rozsah OA, C – zdravá chrupavka bez OA. [13]	16
Obr. 3-19 Připravený vzorek chrupavky pro experiment – spodní část [14].....	17
Obr. 3-20 Připravený vzorek chrupavky pro experiment – horní část. [14].....	17
Obr. 3-21 Vlevo – schematické znázornění simulátoru, vpravo – fotografie simulátoru. [14]	17
Obr. 3-22 Průběh COF, kontaktní dvojice AC – AC pro malé i velké zatížení. [14] 18	
Obr. 3-23 Opatřené chrupavky z konfigurace AC - SS. [14]	18
Obr. 3-24 Průběh COF, kontaktní dvojice AC – AC a AC – SS pro maximální zatížení 259N. [14].....	18
Obr. 3-25 Měření deformace chrupavky před a po experimentu. [15].....	19
Obr. 3-26 Závislost CoF na čase experimentu pro vzorky přirozené a s deficitem GAG. [15].....	20
Obr. 3-27 Závislost COoF na čase experimentu a na délce zdvihu. [15].....	20
Obr. 3-28 Vzorky ze zatěžované části kolen M1 a z nezatěžované části M4 [16]....	21
Obr. 3-29 Schéma tribometru z práce [16]	21
Obr. 3-30 Závislost COF na zatěžujícím tlaku, čase a druhu vzorku [16]	21
Obr. 3-31 Experimentální zařízení z práce [17].	22

Obr. 3-32 Poškození chrupavky po experimentu – snímky polarizovaným světlem [17].....	23
Obr. 3-33 Poškození chrupavky po experimentu [17].....	23
Obr. 3-34 Drsnosti vzorků plate před a po experimentu s chrupavkou [17].....	23
Obr. 3-35 Stav vzorků chrupavky před a po experimentu s optickým sklem a ocelí 316SS [17].	23
Obr. 3-36 A – minimální CoF pro různé konfigurace kontaktu, B – porovnání CoF pro různé konfigurace kontaktu v čase 98 % creepu a po skončení testu [17].	23
Obr. 3-37 Experimentální zařízení z práce [18].....	24
Obr. 3-38 Schéma konfigurací pohybů z [18].	24
Obr. 3-39 Závislost CoF na počtu cyklů pro mazaný kontakt, rotační a posuvný pohyb [18].....	25
Obr. 3-40 Závislost CoF na počtu cyklů pro suchý kontakt, rotační a posuvný pohyb [18].....	25
Obr. 3-41 Koeficient opotřebení pro rotační pohyb [18].	25
Obr. 3-42 Koeficient opotřebení pro translační pohyb [18].	25
Obr. 3-43 Koeficient opotřebení za sucha [18].....	25
Obr. 3-44 Experimentální zařízení z práce [19].....	26
Obr. 3-45 Závislost CoF na čase pro různé velikosti vzorků [19].	26
Obr. 3-46 Závislost stlačení a CoF na čase u start-stop testu [19].....	26
Obr. 3-47 Popis jevu rehydratace chrupavky [19].	27
Obr. 3-48 Schematický popis experimentálního zařízení z práce [20].....	27
Obr. 3-49 Závislost mazadel na COF pro různé rychlosti a zatížení [20].	28
Obr. 3-50 Závislost zatížení na COF pro různé rychlosti a maziva [20].	28
Obr. 3-51 Závislost COF na čase pro různá maziva [20].	29
Obr. 3-52 Tok strukturou chrupavky při deformaci [21].	31
Obr. 3-53 Stribeckova křivka [22].	32
Obr. 3-55 Závislost COF na čase pro režimy 1, 3 a 4 [22].	33
Obr. 3-56 Proudění intersticiální kapaliny v kontaktu chrupavka – ocel. Simulace [22].....	33
Obr. 3-57 Varianty uchycení při experimentu [23].	34
Obr. 3-58 Stribeckovy plochy sestrojené pomocí experimentů s PBS a ESF [23]... 35	35
Obr. 3-59 Stribeckovy plochy sestrojené pro experimenty s uchycením vzorku typu pívod rod a cylindrical rod [23].	35
Obr. 3-60 Stribekova křivka pro multimode mazání [24].....	36
Obr. 3-61 Závislost součinitele tření na čase standardního a STZ modelu [24].....	36
Obr. 3-62 Závislost součinitele tření na čase, pro různé mazací roztoky [24].....	37
Obr. 3-63 Schematický popis tvoření mezní mazací vrstvy pomocí různých mazadel [25].....	38
Obr. 3-66 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - DG [26].	40
Obr. 3-67 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - DG [26].	40
Obr. 3-68 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - DG [26].	40
Obr. 3-69 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - DG [26].	41
Obr. 3-70 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - DG [26].	41
Obr. 3-71 Schéma experimentálního zařízení z práce [27].....	41
Obr. 3-73 Počet fluorescenčně označených proteinů pro maziva A - DG [27].	42
Obr. 4-1 Adaptivní multimode režim mazání [44].	47
Obr. 5-1 Schéma postupu řešení	50

Obr. 5-2 Schéma metody fluorescenční mikroskopie po implementaci nového zařízení	54
Obr. 5-3 Schéma sestavení experimentů	55
Obr. 6-1 Postup výroby vzorků	56
Obr. 6-2 Konvenční tribometr MTM.....	57
Obr. 6-3 Výsledky experimentů pro ověření metodologie odběru vzorků.....	57
Obr. 6-4 Základní schéma navrhovaného recipročního tribometru.....	58
Obr. 6-5 Prvotní návrh experimentálního zařízení	59
Obr. 6-6 Konečný návrh nového experimentálního zařízení.....	59
Obr. 6-7 Řídící a měřicí řetězec experimentálního zařízení	60
Obr. 6-8 Vyrobené zařízení včetně řídicí elektroniky	61
Obr. 6-9 Přípravek pro porovnávací experimenty metodiky odběru vzorků.....	62
Obr. 6-10 Kompletní experimentální zařízení Bruker TriboLAB	63
Obr. 6-11 Výsledky verifikačních měření nového tribometru.....	63
Obr. 6-12 Modifikovaný tribometr ball-on-disk na pin-on-disk	64
Obr. 6-13 Snímek kontaktu chrupavky.....	65
Obr. 6-14 Stolek pro montáž tribometru	65
Obr. 6-15 Nový tribometr namontovaný pod fluorescenční mikroskop.....	66
Obr. 6-16 Objektiv Nikon Plan UW 2x/0,06, WD 7,5	66

SEZNAM TABULEK

Tab. 3-10 Konfigurace roztoků pro experimenty z publikace [12].....	14
Vpravo – závislost CoF na rozsahu poškození kloubu od OA. [13].....	16
Tab. 3-54 Parametry experimentů pro jednotlivé režimy [22].....	32
Tab. 3-64 Definice a koncentrace maziv použitých v první fázi pro experimenty [26].	39
Tab. 3-65 Definice a koncentrace maziv použitých v druhé fázi pro experimenty [26].	39
Tab. 3-72 Definice použitých pro experimenty [27].....	42

