



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ÚSTAV KONSTRUOVÁNÍ

INSTITUTE OF MACHINE AND INDUSTRIAL DESIGN

Tření a mazání kloubní chrupavky

FRICITION AND LUBRICATION OF ARTICULAR CARTILAGE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Pavel Hilšer

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Martin Vrbka, Ph.D.

BRNO 2020

Zadání diplomové práce

Ústav: Ústav konstruování
Student: **Bc. Pavel Hilšer**
Studijní program: Strojní inženýrství
Studijní obor: Konstrukční inženýrství
Vedoucí práce: **doc. Ing. Martin Vrbka, Ph.D.**
Akademický rok: 2019/20

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma diplomové práce:

Tření a mazání kloubní chrupavky

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Zdravá kloubní chrupavka zajišťuje pohyb kloubů člověka s velmi nízkým součinitelem tření. S postupným prodlužováním délky života a zvyšující se pohybovou aktivitou však narůstá počet onemocnění, kde mezi nejčastější patří artróza. Překročí-li poškození chrupavky určitou mez, je nutné provést implantaci kloubní náhrady, což je velký zásah do těla pacienta. Znalost součinitele tření a režimu mazání kloubní chrupavky může přitom výrazně přispět k porozumění tribologických procesů, které povedou k efektivní léčbě artrózy, např. pomocí viskosuplementace.

Typ práce: výzkumná

Výstup práce: publikační výsledek (J, D)

Projekt: GAČR

Cíle diplomové práce:

Hlavním cílem je experimentální popis vývoje součinitele tření mezi kloubními povrchy s využitím pin-on-plate simulátoru. Práce bude zaměřena především na ověření, jakým způsobem ovlivňuje přítomnost fosfolipidů a kyseliny hyaluronové tření na modelovém rozhraní chrupavka–sklo a chrupavka–slída v kontextu optimalizace složení viskosuplementů.

Dílčí cíle diplomové práce:

- provést kritickou rešerši aktuálních vědeckých publikací,
- navrhnout podmínky experimentů a způsob vyhodnocení součinitele tření pro různé kontaktní dvojice,
- experimentálně popsat vývoj součinitele tření při zohlednění koncentrace jednotlivých složek synoviální kapaliny, zejména fosfolipidů a kyseliny hyaluronové,
- posoudit přínos viskosuplementů fungujících na synergii fosfolipidů a kyseliny hyaluronové,
- konfrontovat získané poznatky s dosud publikovanými studiemi zabývajícími se mazáním a třením synoviálních kloubů.

Požadované výstupy: průvodní zpráva.

Rozsah práce: cca 72 000 znaků (40 – 50 stran textu bez obrázků).

Časový plán, struktura práce a šablona průvodní zprávy jsou závazné:

<http://ustavkonstruovani.cz/texty/magisterske-studium-ukonceni/>

Seznam doporučené literatury:

SEROR, Jasmine, Linyi ZHU, Ronit GOLDBERG, Anthony J. DAY and Jacob KLEIN. Supramolecular synergy in the boundary lubrication of synovial joints. *Nature Communications*. 2015, 6(1), 1-7. DOI: 10.1038/ncomms7497. ISSN 2041-1723.

MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Nobuo SAKAI, Kazuhiro NAKASHIMA, Tetsuo YAMAGUCHI and Yoshinori SAWAE. Importance of adaptive multimode lubrication mechanism in natural synovial joints. *Tribology International*. 2017, 113, 306-315. DOI: 10.1016/j.triboint.2016.12.052. ISSN 0301679X.

FORSEY, Richard, John FISHER, Jonathan THOMPSON, Martin STONE, Carol BELL and Eileen INGHAM. The effect of hyaluronic acid and phospholipid based lubricants on friction within a human cartilage damage model. *Biomaterials*. 2006, 27(26), 4581-4590. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2006.04.018. ISSN 01429612.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2019/20

V Brně, dne

L. S.

prof. Ing. Martin Hartl, Ph.D.
ředitel ústavu

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan fakulty

ABSTRAKT

Práce se zabývá způsobem, jak přítomnost kyseliny hyaluronové a fosfolipidů ovlivňuje tření a mazání synoviální chrupavky s důrazem na optimalizaci viskosuplementů. Toho je docíleno pomocí analýzy součinitele tření pro různá maziva na pin-on-plate tribometru. Chrupavka je mazána modelovou synoviální kapalinou, konvekčním viskosuplementem a optimalizovaným viskosuplementem s fosfolipidy. Pro pozorování, jak viskosuplementy ovlivňují součinitel tření chrupavky v lidském těle, jsou smíchány v příslušném poměru s modelovou synoviální kapalinou, která se v lidských kloubech nachází. Měřením bylo zjištěno, že chrupavka mazaná konvenčním viskosuplementem má relativně vysoký součinitel tření a oproti tomu optimalizovaný viskosuplement s fosfolipidy má tření nižší. To samé platí, když jsou viskosuplementy smíchány s modelovou synoviální kapalinou, což může vést k vývoji nového, lepšího viskosuplementu na bázi kyseliny hyaluronové a fosfolipidů.

KLÍČOVÁ SLOVA

Biotribologie, kloubní chrupavka, viskosuplementace, hydratační mazání, synoviální kapalina

ABSTRACT

The main goal of this diploma thesis is to determine the role of hyaluron acid and phospholipids on friction and lubrication of articular cartilage in regard to optimization of viscosupplements. This is carried out by measuring the coefficient of friction of the articular cartilage with several lubricants. Cartilage is lubricated particularly by a conventional viscosupplement, optimized viscosupplementation with phospholipids and model synovial fluid. In order to observe the function of those viscosupplements in the human body, both are mixed with the model synovial fluid, ubiquitous in human joints, in given ratio. Experiments revealed high friction when it comes to convectional viscosupplementation as opposed to low friction of the optimized viscosupplement with phospholipids. The same situation occurs when cartilage is lubricated with those viscosupplements mixed with model synovial fluid which might lead to development of a new, better, viscosupplementation based on hyaluron acid and phospholipids.

KEYWORDS

Biotribology, articular cartilage, viscosupplementation, hydration lubrication, synovial fluid

BIBLIOGRAFICKÁ CITACE

HILŠER, Pavel. *Tření a mazání kloubní chrupavky*. Brno, 2020, 94 s. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124194>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav konstruování. Vedoucí práce doc. Ing. Martin Vrbka, Ph.D.

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval doc. Martinu Vrbkovi za cenné rady a za ochotu při vypracovávání této diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat celé biotribologické skupině z Ústavu konstruování za pomoc při provádění experimentů.

PROHLÁŠENÍ AUTORA O PŮVODNOSTI PRÁCE

Prohlašuji, že diplomovou práci jsem vypracoval samostatně, pod odborným vedením doc. Ing. Martina Vrbky, Ph.D. Současně prohlašuji, že zdroje obrázkových a textových informací, ze kterých jsem čerpal, jsou řádně citovány v seznamu použitých zdrojů.

.....

podpis autora

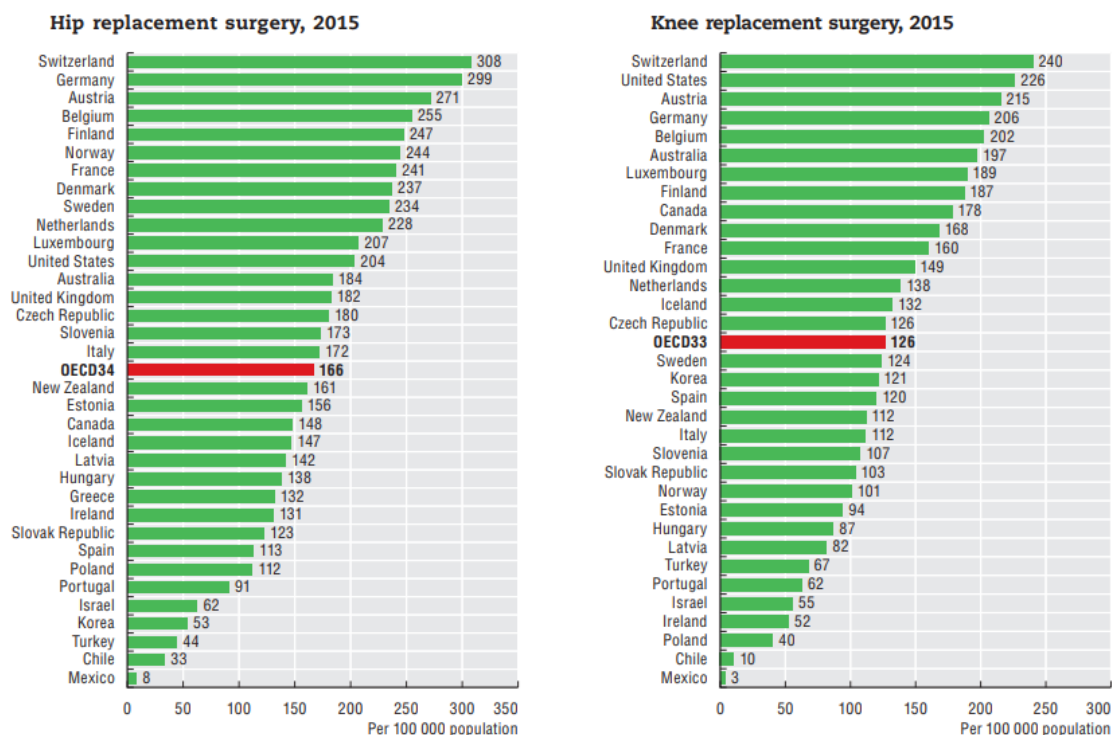
OBSAH

1	ÚVOD	15
2	PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ	17
2.1	Složení kloubní chrupavky	17
2.1.1	Pevná fáze chrupavky	18
2.1.2	Kapalná fáze chrupavky	18
2.1.3	Zóny chrupavky	19
2.2	Onemocnění kloubní chrupavky a její léčba	20
2.2.1	Složení synoviální kapaliny	20
2.2.2	Léčba osteoartrózy pomocí viskosuplementace	22
2.3	Mazání kloubní chrupavky	23
2.3.1	Režim mazání weeping	23
2.3.2	Režim mazání boosted	24
2.3.3	Mezné mazání – hydratační mazání	24
2.4	Metody měření tření chrupavky	25
2.4.1	Stacionární kontaktní oblast	25
2.4.2	Migrační kontaktní oblast	26
2.5	Vliv složení synoviální kapaliny na mazání a tření chrupavky	27
3	ANALÝZA PROBLÉMU A CÍLE PRÁCE	43
3.1	Analýza problému	43
3.2	Analýza a zhodnocení řešerše	43
3.3	Cíle práce	45
4	MATERIÁL A METODY	46
4.1	Postup řešení	46
4.2	Měření součinitele tření	47
4.3	Měření smáčivosti povrchů	49
4.4	Plán experimentů	49
4.4.1	První sada experimentů – ověření hydratačního režimu mazání	50
4.4.2	Druhá sada experimentů – tření a mazání kloubní chrupavky	51
4.4.3	Třetí sada experimentů – porovnávání viskosuplementů	54
4.5	Metodika odběru vzorků chrupavky	55

4.5.1	Uchování vzorků	56
4.6	Opakovatelnost měření a statistické metody	56
4.6.1	Směrodatná odchylka	57
4.6.2	Střední chyba průměru	58
5	VÝSLEDKY	59
5.1	První sada měření – ověření hydratačního mazání	59
5.1.1	Měření smáčivosti povrchů	59
5.1.2	Měření součinitelů tření	61
5.2	Druhá sada experimentů – tření a mazání chrupavky	64
5.2.1	Chrupavka – sklo	66
5.2.2	Chrupavka – slída	69
5.2.3	Srovnání součinitelů tření pro různé povrchy	71
5.3	Třetí sada experimentů – srovnání viskosuplementů	74
6	DISKUSE	77
6.1	Vliv smáčivosti povrchů na mazání modelových tkání	77
6.2	Vliv smáčivosti na tření a mazání kloubní chrupavky	77
6.2.1	Tření a mazání chrupavky vůči sklu	78
6.2.2	Tření a mazání chrupavky vůči slídě	79
6.3	Srovnání viskosuplementů	83
7	ZÁVĚR	85
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	86
9	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK, SYMBOLŮ A VELIČIN	90
10	SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ A GRAFŮ	91
11	SEZNAM TABULEK	94

1 ÚVOD

Totální náhrada velkých kloubů je jedním z největších úspěchů medicíny posledního století. Jak je uvedeno na obr. 1-1, v České republice bylo v roce 2015 provedeno 126 totálních náhrad kolenního kloubu a 180 totálních náhrad kyčelního kloubu na sto tisíc obyvatel [1]. Ve světě lze obecně pozorovat stoupající trend počtu operací totálních náhrad. To je zapříčiněno především aktivním životním stylem a tím, že roste průměrná délka života.



obr. 1-1 Statistika počtu totálních náhrad endoprotéz kolen a kyčlí [1].

Výměna kloubu za umělý je zatím jediné řešení, když už pacient s osteoartrózou nemůže chodit nebo má velké bolesti. Není to však úplně ideální řešení, protože tento zákrok je pro lidské tělo mimořádně náročný a životnost náhrady je omezena na 10–20 let, nejen podle životního stylu pacienta. Proto je snaha operaci co nejvíce oddálit.

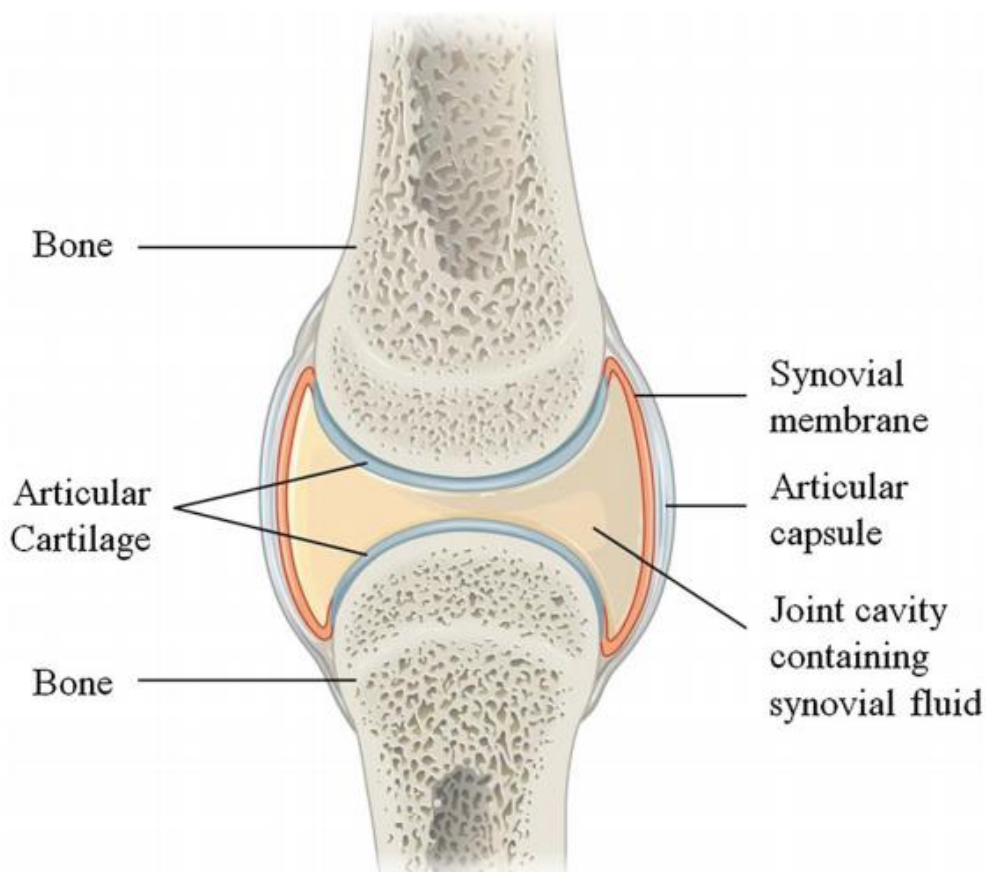
Chrupavka, která bývá osteoartrózou postižená, je houbovitá tkáň a nachází se v kloubech na povrchu dvou stýkajících se kostí. Je mazána synoviální kapalinou, všudypřítomnou v kloubech, a je zodpovědná, společně s chrupavkou, za mimořádně nízký součinitel tření (setiny až tisíce [4]) i při velkých zatíženích. Regenerační schopnost této tkáně je však velmi nízká, neboť k ní nevedou žádné cévy, které by ji mohly vyživovat, a jakékoli poškození chrupavky je tedy trvalé. Neschopnost regenerace pak u pacientů vede k osteoartróze, a tedy i k velkým bolestem a nutnosti náhrady kloubu. Oddálení těchto extrémních případů je žádoucí a lze toho docílit viskosuplementací.

Viskosuplementace je proces vstříkávání viskosuplementu přímo do synoviální membrány (váčku, ve kterém se klouby nacházejí) a tím se zlepšují tribologické a reologické procesy uvnitř kloubů [12]. Je dokázáno, že lidé trpící osteoartrózou mají jiné složení a viskozitu synoviální kapaliny než ti zdraví [7]. Nutno však zdůraznit, že v mnohých případech funguje viskosuplementace pouze jako placebo efekt [14]. Mechanismus, jak viskosuplementace napomáhá, není úplně známý. Správné pochopení těchto mechanismů však může vést k vyvinutí kvalitnějších viskosuplementů. V této diplomové práci bude zkoumán především vliv fosfolipidů a jejich synergické účinky společně s kyselinou hyaluronovou na mazání tření kloubní chrupavky.

2 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ

2.1 Složení kloubní chrupavky

Chrupavka je v lidském těle zastoupena v několika formách. Může být klasifikována jako hyalinní (kloubní chrupavka), fibroelastická (meniskus), vazivová (meziobratlová ploténka) a elastická chrupavka (ušní boltec) [2]. V případě synoviálních kloubů jsou konce stýkajících se kostí pokryty tenkou vrstvou kloubní chrupavky. Jedná se o bílou, lesklou a pórovitou tkáň. Například u lidského kolene je její tloušťka průměrně okolo 2 mm [2]. Celý kloub je uzavřen v kloubním pouzdře, které je obklopeno synoviální membránou (viz obr. 2-1), která vylučuje tekutinu známou jako synoviální kapalina. Relativně malé množství této kapaliny (u lidského kolene cca 4 ml [7]) je spolu s chrupavkou zodpovědné za mimořádně nízké tření [4,17].



obr. 2-1 Synoviální kloub [10].

Kloubní chrupavka se skládá ze dvou fází: pevné a kapalné. Pevná část chrupavky je tvořena hlavně extracelulární maticí. Kapalná fáze chrupavky je tvořena synoviální kapalinou.

2.1.1 Pevná fáze chrupavky

Pevná fáze chrupavky tvoří 20–30 % celkové hmotnosti chrupavky. Extracelulární matrice je složená z proteoglykanů, kolagenních vláken a chondrocytů [2,5,6]. Chondrocyty jsou buňky nacházející se ve zdravé chrupavce a jejich obsah v chrupavce je okolo 2 % [6]. Úloha těchto buněk je opravovat poškozenou extracelulární matici [6]. Kolagen je skleroprotein, který tvoří přibližně 60–70 % suché hmotnosti chrupavky. Nejvyšší zastoupení zde má kolagen typu 2, který je zastoupen 90–95 %. Kolagenní struktura se liší podle hloubky tkáně [2,5,6], viz obr. 2-2.

Přibližně 30–40 % suché hmotnosti chrupavky tvoří proteoglykany [5]. Mezi proteoglykany patří i nekolagenní glykoprotein lubricin [32]. Jedná se o makromolekuly, které jsou schopny na sebe vázat vodu. Nejvíce jsou obsaženy ve střední vrstvě chrupavky a méně v horních vrstvách chrupavky, viz obr. 2-2. Tím pádem se nejvíce kapaliny nachází blízko povrchu, což má za následek příznivější tribologické procesy uvnitř chrupavky. Mimo to jsou proteoglykany schopné na sebe vázat kyselinu hyaluronovou [2] (dále HA, z anglického „Hyaluron Acid“) a tím snížit opotřebení kloubní chrupavky [3].

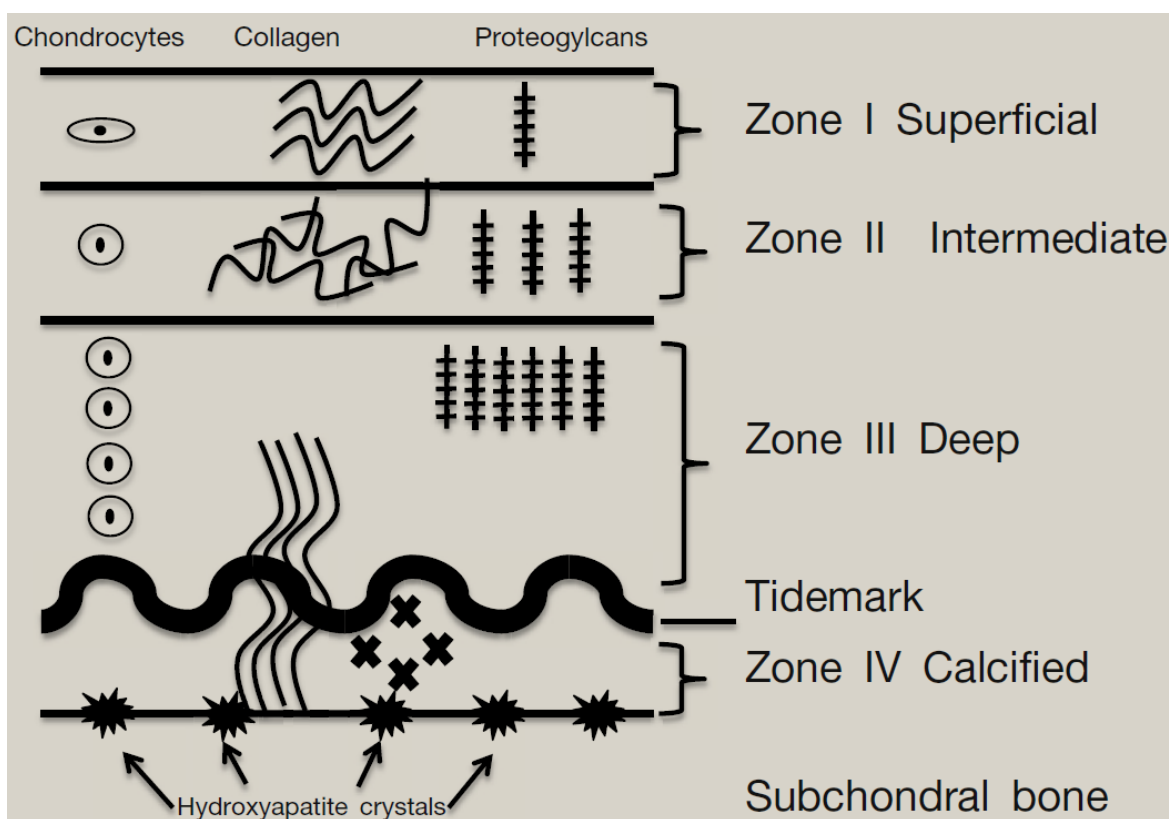
2.1.2 Kapalná fáze chrupavky

Ve tkáni se nachází okolo 65–80 % kapalné fáze, z celkové hmotnosti [5,6]. Největší množství je v pórech extracelulární matrice. Jen malé množství je navázáno na chondrocyty a okolo 30 % vody je pak navázáno na kolagen [6]. Veškerá kapalná fáze je zastoupena v podobě synoviální kapaliny.

Synoviální kapalina je nažloutlá látka, která připomíná vaječný bílek (*synovia* z latinského „připomínající bílek“) a vzniká v synoviální membráně kloubů [2]. Skládá se zejména z vody, fosfolipidů (dále PS, z anglického *phospholipids*), kyseliny hyaluronové, proteinů albumin a γ -globulin. Obsah proteinů je přibližně stejný jako u krevní plasmy. Kyselina hyaluronová je zodpovědná za relativně vysokou viskozitu [10,11]. Vlivy jednotlivých složek na tribologické procesy v kloubech budou podrobně diskutovány v kapitole 2.5.

2.1.3 Zóny chrupavky

Jak je patrné z obr. 2-2, chrupavka je tvořena čtyřmi zónami. Ty se liší zejména smyslem orientace kolagenových vláken, množstvím a tvarem chondrocytů a množstvím proteoglykanů. První zóna se nachází na povrchu a má 1–3 vrstvy spíše plochých chondrocytů [5]. Kolagenní vlákna jsou rovnoběžná s povrchem, což umožňuje přenášet vyšší smyková zatížení [5]. Proteoglykanů je zde jen malé množství. Ve druhé vrstvě se nachází o poznání více proteoglykanů. Chondrocyty jsou zde kulaté. Kolagenní vlákna jsou náhodně uspořádána, což má za následek lepší odolnost vůči tlakovému zatížení. Třetí zóna je největší ze všech. Vyznačuje se nejvyšší koncentrací proteoglykanů a chondrocytů. Ty jsou uspořádány nad sebou a jsou opět kulaté. Kolagenní vlákna jsou orientována kolmo ke kosti a pronikají do tzv. tidermarku. To je vrstva zcela bez buněk. Odděluje pravou chrupavku od pozůstatků dětské chrupavky. Poslední, čtvrtá vrstva před kostí se vyznačuje především tím, že v ní dominuje kolagen typu X [5,6].

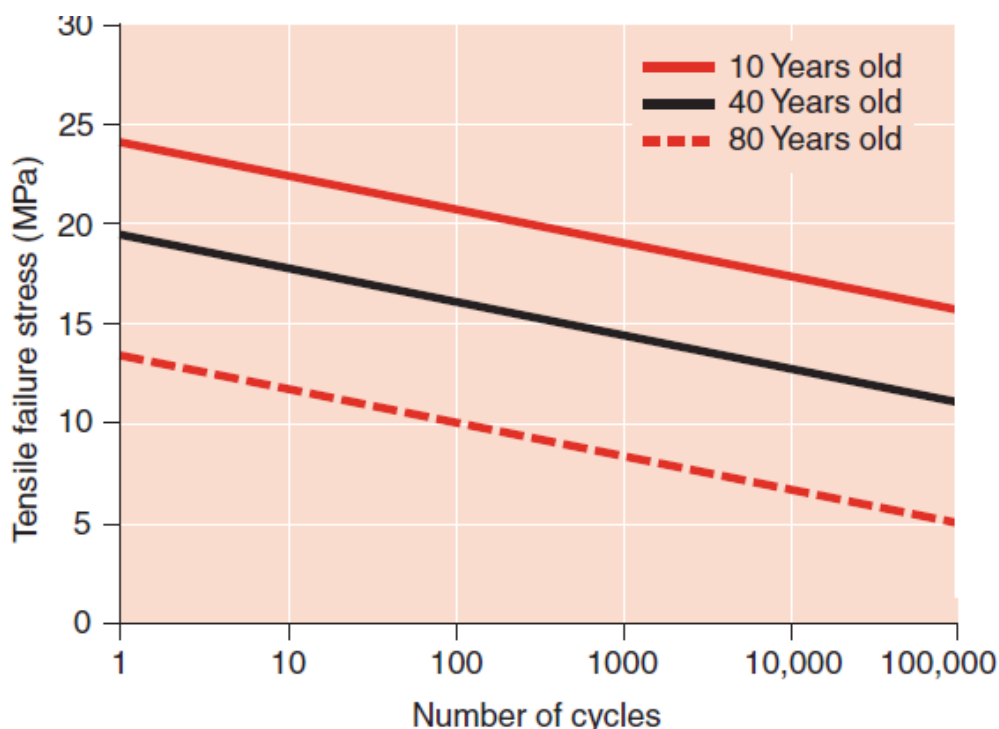


obr. 2-2 Jednotlivé zóny chrupavky [5].

2.2 Onemocnění kloubní chrupavky a její léčba

Osteoartróza je jedním z nejčastějších ortopedických onemocnění [1]. Vyznačuje se krom jiného nevratným poškozením kloubní chrupavky. Vzhledem k tomu, že k chrupavce nevedou žádná cévní zakončení, schopnost její regenerace je velmi omezená [5].

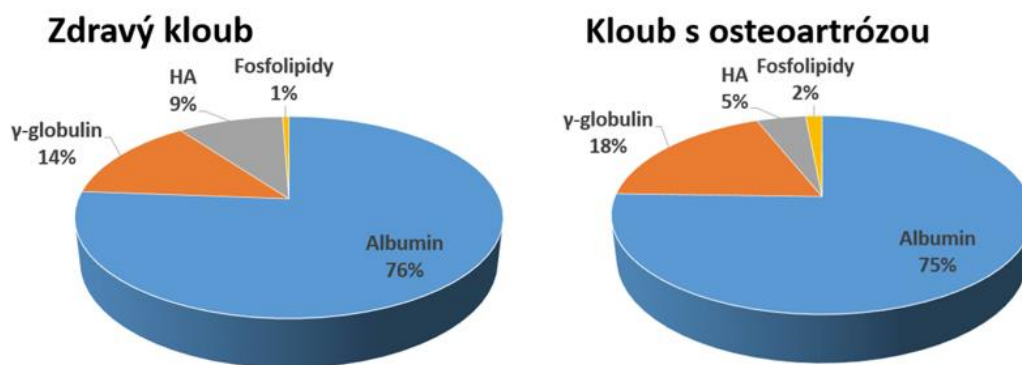
Studie ukazují, že věk je jeden z hlavních faktorů při poškození chrupavky [2,8]. Obsah vody se s věkem snižuje, protože se snižuje i množství proteoglykanů, které na sebe vážou kyselinu hyaluronovou a vodu. To vede ke snížení permeability tkáně a ke snížení modulu pružnosti chrupavky [2]. Chondrocyty se zvětšují, ovšem jejich počet je menší [5]. Tyto faktory mají významný vliv na degeneraci chrupavky. Na obr. 2-4 je vidět, že kritický tlak, který vede k poškození, klesá s počtem zatěžovacích cyklů a s věkem.



obr. 2-3 Zatížení, u kterého dochází k nevratnému poškození chrupavky [2].

2.2.1 Složení synoviální kapaliny

Složení synoviální kapaliny je každého pacienta individuální, ale lze říct, že jedinci postižení osteoartrózou mají vyšší viskozitu této kapaliny a rozdílné složení oproti lidem, kteří osteoartrózou netrpí [7]. Tento fakt ilustruje obr. 2-4, který udává procentní zastoupení jednotlivých látek v synoviální kapalině. V tab. 2-1 jsou pak uvedeny konkrétní koncentrace synoviálních kapaliny zdravého kloubu a kloubu s osteoartrózou. Tyto hodnoty byly převzaty z literatury [7].

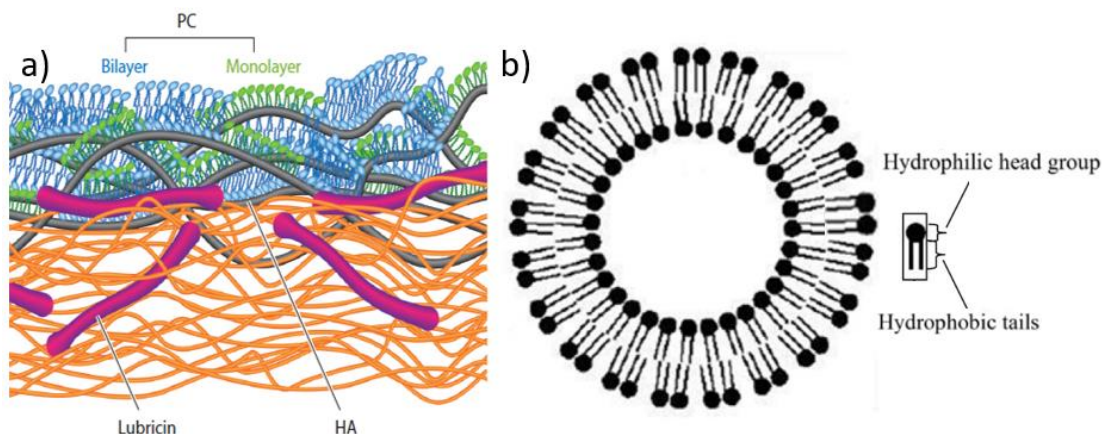


obr. 2-4 Procentuální zastoupení jednotlivých složek v synoviální kapalině [7].

tab. 2-1 Složení synoviálních kapalin.

Jednotlivé složky	SK zdravého kloubu (mg/ml)	SK osteoartrického kloubu (mg/ml)
albumin	20	24,9
γ-globulin	3,6	6,1
kyselina hyaluronová	2,5	1,49
fosfolipidy	0,15	0,34

Proteiny albumin a γ -globulin jsou proteiny krevní plasmy. Kyselina hyaluronová je hydrofilní dlouhý polysacharidový řetězec, který chrání chrupavku před opotřebením [33]. Váže se na kolagenovou matici a proteoglykany [32]. Fosfolipidů je v synoviální kapalině zastoupeno poměrně málo. Ovšem na chrupavce jich může být přichyceno podstatně větší množství [32]. Fosfolipidy jsou tvořeny hydrofobní a hydrofilní částí, viz obr. 2-5 (b). V případě chrupavky se fosfolipidy přichytí na kyselinu hyaluronovou a formují lipidovou vrstvu [25–27,32], viz obr. 2-5 (a). Fosfolipidy mohou být seskupeny i do takzvaného lipozomu, kde je lipidová dvojvrstva formována do kulovité struktury, viz obr. 2-5 (b).



obr. 2-5 Fosfolipidy: (a) lipidová vrstva na chrupavce [32]; (b) lipozom [39].

2.2.2 Léčba osteoartrózy pomocí viskosuplementace

Kolenní a kyčelní klouby jsou osteoartrózou postiženy nejčastěji [1]. Prakticky jediný způsob řešení extrémní bolesti a nemožnosti pohybu pacienta je náhrada těchto kloubů umělými, což je mimořádně velká zátěž pro lidské tělo. Proto je snaha operaci co nejvíce oddálit, čehož lze do jisté míry docílit pomocí viskosuplementace, což je proces, při kterém se do synoviální membrány zavádí tzv. viskosuplement. To je látka, většinou na bázi kyseliny hyaluronové, která se aplikuje do kloubů injekcí (viz obr. 2-6). Kyselina hyaluronová má unikátní viskoelastické vlastnosti. V nezatíženém stavu je navázána na povrch chrupavky (na kolagenovou matici a proteoglykany) a je „zapletená do klubíčka“. V momentu, kdy je chrupavka zatížená a v pohybu, se tyto struktury začnou rozplétat [12]. Tento mechanismus by sice mohl zvyšovat součinitel tření v chrupavce, ale snižovat opotřebení [13]. Kromě mechanických účinků má viskosuplementace i biologické účinky. Působí například protizánětlivě, zachytává volné radikály a působí na CD44 receptory, což stimuluje tvorbu endogenní kyseliny hyaluronové, což z dlouhodobého hlediska zlepšuje reologii v kloubech, kde je viskosuplement aplikován [12].

Účinky viskosuplementů jsou však u každého pacienta individuální, ale udává se, že nejlépe působí 8–12 týdnů po aplikaci [12]. Účinek však může trvat až jeden rok. Často viskosuplementace funguje pouze jako placebo efekt [14].



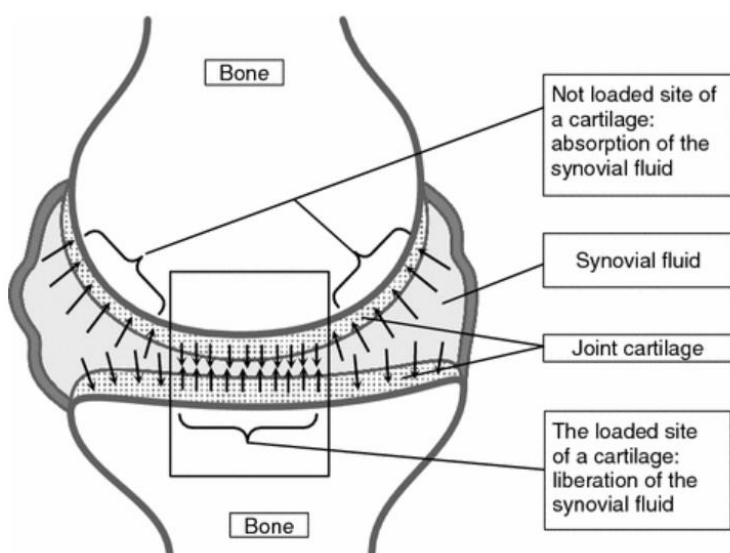
obr. 2-6 Aplikace viskosuplementu [33].

2.3 Mazání kloubní chrupavky

V klasické tribologii se rozlišují čtyři základní režimy mazání. Jedná se o mazání mezné, smíšené, elasto-hydrodynamické a hydrodynamické. V biotribologii kloubní chrupavky je situace poněkud jiná. Není znám přesný režim mazání, který v kloubech nastává a vede k unikátním tribologickým vlastnostem (řádově mohou být součinitele tření i okolo tisícín [4]). Ovšem literatura udává několik možných teoretických modelů mazání, které unikátní tribologické vlastnosti kloubů vysvětlují. Obecně se jedná o dva režimy mazání: intersticiální a mezné. Za intersticiální neboli mezitkáňové režimy lze považovat weeping a boosted a jeden z nejvýznamnějších mezných režimů se nazývá hydratační mazání.

2.3.1 Režim mazání weeping

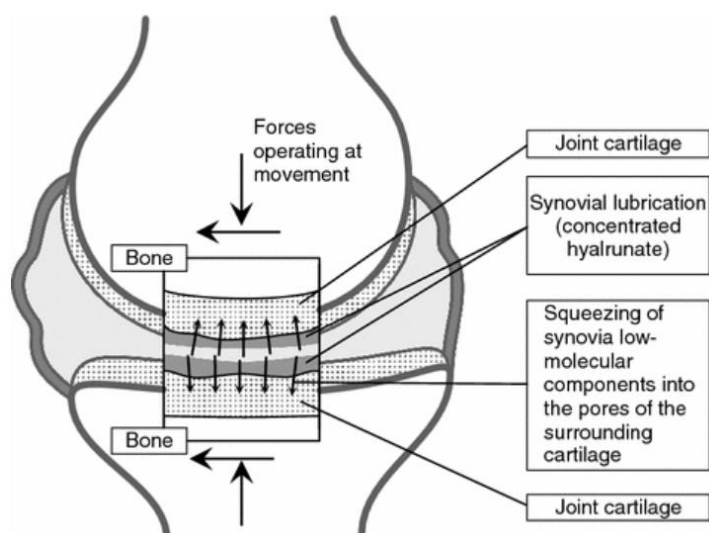
Teoretický model mazání weeping nastává při krátkodobém zatěžování chrupavky. Zatížení je přenášeno hlavně kapalinou. Velké množství vody navázané v extracelulární matici na chondrocyty se pohybuje v kolagenové matici díky působení tlakového gradientu, který v kloubech nastává. Veliké třecí síly mezi kapalinou a kolagenovou maticí tomuto toku brání a způsobují nízkou permeabilitu tkáně [15]. Tento režim je schematicky znázorněn na obr. 2-7. Díky tomu je kapalina schopna po určitou dobu přenést většinu zatížení v kloubech [6]. Právě proto se mnoho biotribologických studií zaměřuje na tzv. rehydrataci. To je proces, kdy při dlouhotrvajícím zatížení kapalina z chrupavky odteče, chrupavka přestává být hydrodynamicky mazána a dojde ke styku tkání a k meznému mazání.



obr. 2-7 Režim mazání weeping [15].

2.3.2 Režim mazání boosted

Režim mazání boosted je také intersticiální, ale jde o model odlišný od režimu weeping. Extracelulární matrice propouští dovnitř pouze vodu a látky s nízkou molekulární hmotností. Chrupavka tedy funguje jako filtr a na jejím povrchu jsou zachyceny větší molekuly, zejména kyselina hyaluronová, která funguje jako mazivo. Režim boosted je schematicky zobrazen na obr. 2-8. Naopak jako u režimu weeping je voda vháněna do chrupavky, nikoli z ní. Vznik tlakového gradientu stále platí jen s rozdílem, že vzniká vnikáním kapaliny do matrice a nikoli z ní [15]. Tření kapaliny o kolagenovou matrici je tedy zachováno, ovšem proud vody jde opačným směrem. Vliv rehydratace je taky zachován.

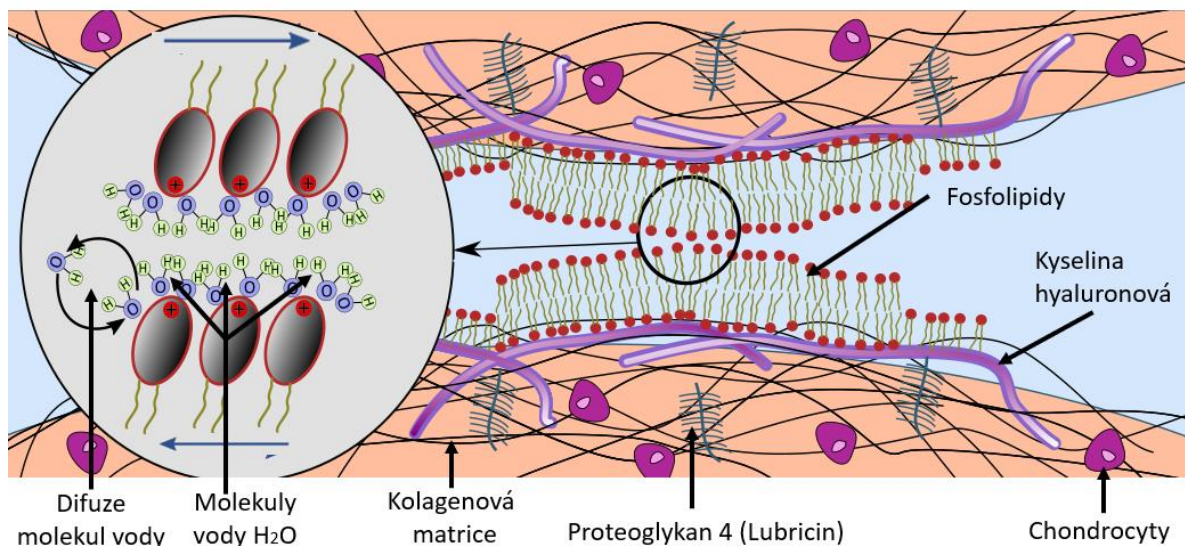


obr. 2-8 Režim mazání boosted [15].

2.3.3 Mezné mazání – hydratační režim mazání

Při dlouhodobém zatěžování, kdy je voda vytekla z extracelulární matrice, nastává mazání mezní. To je, v případě chrupavky, režim, u kterého se stýkají povrchy extracelulárních matic, což je nepříznivé kvůli opotřebení tkáně. Klouby jsou většinou zatěžovány dynamicky (kromě například dřepů s činkou), tudíž je dostatek času na to, aby se voda vrátila zpět do matrice, v případě weeping a v případě boosted z matrice ven [15]. Nicméně mezní mazání kloubů se předpokládá u pacientů s osteoartrózou. Zejména kvůli tomu že je chrupavka v horším stavu než u zdravých pacientů [32].

Jeden z nejvýznamnějších teoretických mezních režimů, které nastávají v chrupavce, je hydratační mazání. K tomu dochází, když jsou v kontaktu hydrofilní části fosfolipidů. Fosfolipidy jsou navázány na kyselinu hyaluronovou a ta je navázána na kolagenovou matrici a na lubricin, viz obr 2-9. Při vzájemném pohybu dochází k výměně molekul vody mezi fosfolipidy pomocí difuze, což je doprovázeno nízkým třením [25].



obr. 2-9 Schematické znázornění hydratačního režimu mazání. nakresleno na základě schématu z reference [32] – strana 251.

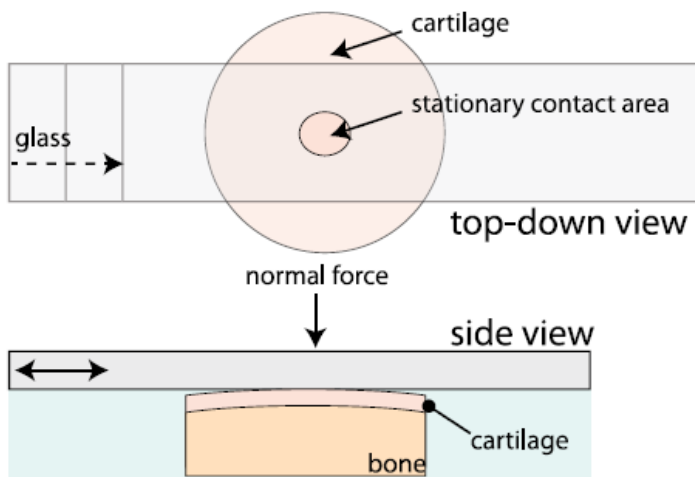
2.4 Metody měření tření chrupavky

Pro zjišťování součinitele tření je nezbytný vhodný experimentální aparát, který tuto hodnotu zaznamenává. Na tyto mechanismy jsou kladeny různé požadavky. Nejdůležitější z nich mohou být rozsah rychlostí, zatěžování, normálových sil, rozlišitelnost a jiné. Literatura udává dva přístupy při měření tření chrupavky. Jedná se o systémy se stacionární kontaktní oblastí (stationary contact area, dále SCA, viz obr. 2-10) a migrační kontaktní oblastí (migrating contact area, dále MCA) [16,19].

2.4.1 Stacionární kontaktní oblast

Jak název napovídá, jedná se o konfiguraci se stacionární kontaktní oblastí. To může být konstrukčně zajištěno dvěma způsoby:

- pin chrupavky se pohybuje a protikus (velmi často skleněná destička) je stacionární (např. tribometr použitý v této práci, viz kapitola 4-2)
- protikus se pohybuje a chrupavka je stacionární (tribometr uvedený ve studii [28])

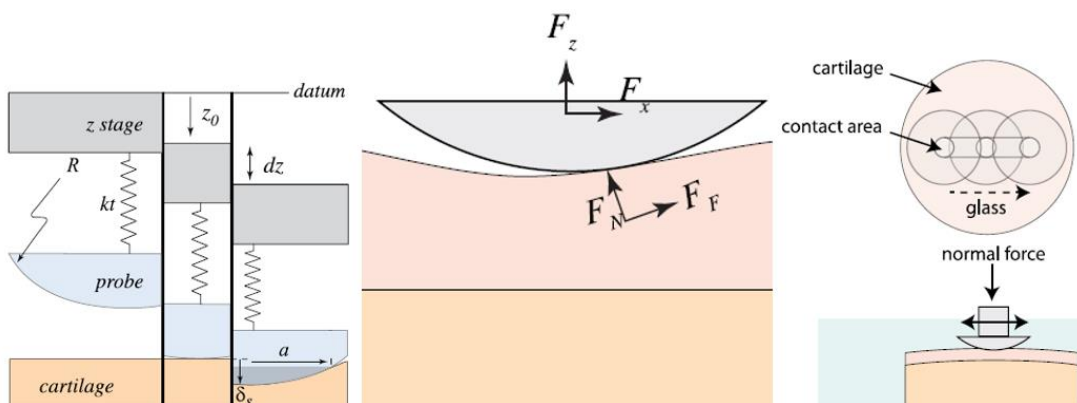


obr. 2-10 Konfigurace SCA [16].

Tření v konfiguraci SCA s časem stoupá, což je dáno tím, že z extracelulární matrice odtéká voda při dlouhodobém zatížení. Po jisté době tedy dochází spíše k meznému mazání. Tato konfigurace se tedy hodí pro studie, kde je sledován spíše mezný režim mazání.

2.4.2 Migrační kontaktní oblast

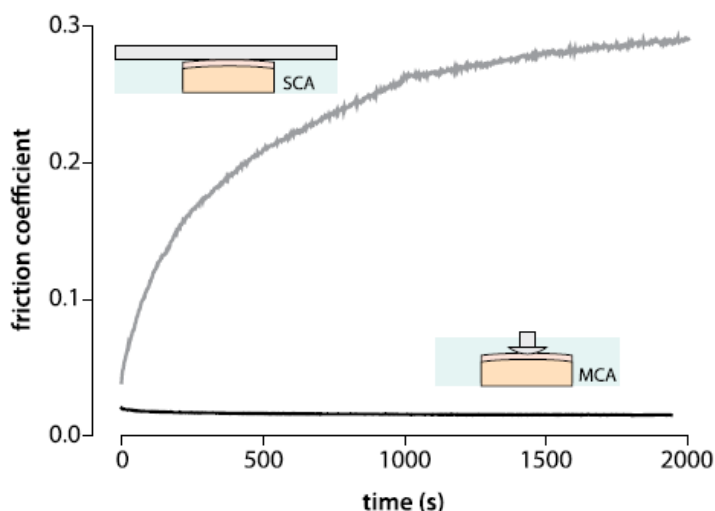
Na rozdíl od SCA u MCA dochází ke kontaktu neustále v jiné oblasti. Konstrukce zařízení je schematicky znázorněna na obr. 2-11. Vzhledem k tomu, že chrupavka není rovinná, ale spíše sférická a jsou na ní nerovnosti, vznikají na ní další síly. Ty jsou ovšem malé a nehrají při měření tření významnou roli. Důležitější je spíše zachovat stále stejnou normálovou sílu. Proto bývá protikus uložen pružně, aby vždy docházelo ke kontaktu.



obr. 2-11 Konfigurace MCA [16].

To, že se oblast kontaktu neustále mění, má významný vliv na součinitel tření. U MCA konfigurace dochází téměř stále k intersticiálnímu režimu mazání (weeping nebo boosted z kapitoly 2.3.1 a 2.3.2), neboť zde nedochází, na rozdíl od SCA, k úplnému odtoku intersticiální tekutiny.

Na rozdíl od SCA má u MCA součinitel tření s časem tendenci být konstantní [16,19]. To znázorňuje obr. 2-12. Autoři článku [18] porovnávají součinitel tření naměřený v konfiguraci MCA a SCA za stejných podmínek ve fyziologickém roztoku. Rozdíly součinitele tření byly až šedesátkrát rozdílné.



obr. 2-12 Porovnání závislosti součinitele tření konfigurací SCA a MCA [16].

2.5 Vliv složení synoviální kapaliny na mazání a tření chrupavky

V této kapitole budou diskutovány nejvýznamnější studie biotribologie kloubní chrupavky, na které navazuje tato práce. První tři studie [20–22] se zabývají hlavně rolí proteinů při mazání a tření kloubní chrupavky. Studie [23,24] se zabývají hlavně rolí kyseliny hyaluronové při mazání kloubní chrupavky. Studie [25–27] se zabývají makromolekulární podstatou nízkých součinitelů tření a biofyzikální podstatou mezního mazání v chrupavce.

[20] **MURAKAMI, T., a kol.** Micro – and nanoscopic biotribological behaviours in natural synovial joints and artificial joints. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology*.

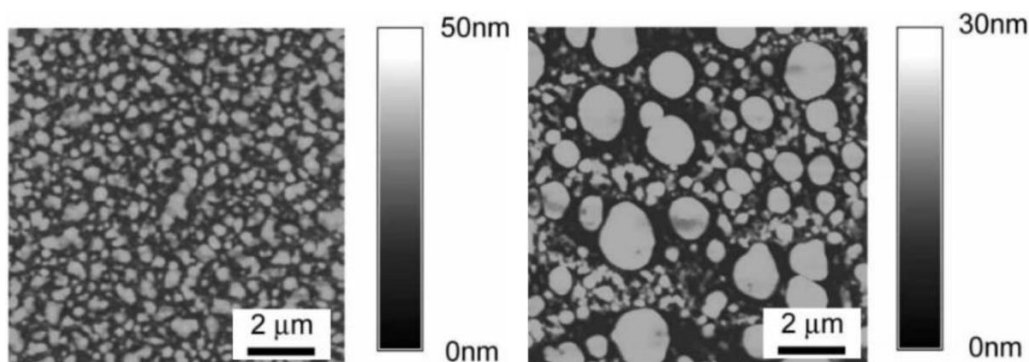
Autoři článků se zabývali třením a mazáním polyvinylalkoholového hydrogelu vůči sklu. Dvojice byla mazána proteiny albumin a γ -globulin v různých poměrech. Autoři použili hydrogel, protože má podobné mechanické vlastnosti jako chrupavka a disponuje stejnými režimy mazání jako chrupavka díky tomu, že je tvořen podobnou maticí jako ta kolagenová u chrupavky. Měření probíhalo při nižších rychlostech a zatíženích, kdy se předpokládal intersticiální až mezní režim mazání, a při vyšších zatíženích a rychlostech, kdy se předpokládal mezní režim mazání.

Pro měření vzniklo celkem 5 maziv: roztok A obsahoval 0,7 % (hmotnostních procent) albuminu roztoku. Roztok B obsahoval 0,7 % γ -globulinu. Roztok C 0,7 % albuminu a 1,4 % γ -globulinu. Roztok d 1,4 % albuminu a 0,7 % γ -globulinu. Roztok D obsahoval 1,4 % obou proteinů.

Při měření tloušťky a stability mazacího filmu byl hydrogel zatížen silou 4,9 N a rychlost recipročního pohybu tribometru byla 40 mm/s, délka dráhy 30 mm. Při měření součinitele tření byly použity stejné roztoky s tím rozdílem, že proteiny nebyly smíchány se solným roztokem, ale půlprocentním roztokem kyseliny hyaluronové. Dále byla na skle aplikována lipidová vrstva. Zatěžovací síla byla 0,736 N, rychlost 0,2 mm/s a délka dráhy 4 mm. Vzorky hydrogelů měly rádius 7 mm a tloušťku 2 mm. Oba experimenty byly provedeny na měřicím zařízení konfigurace SCA.

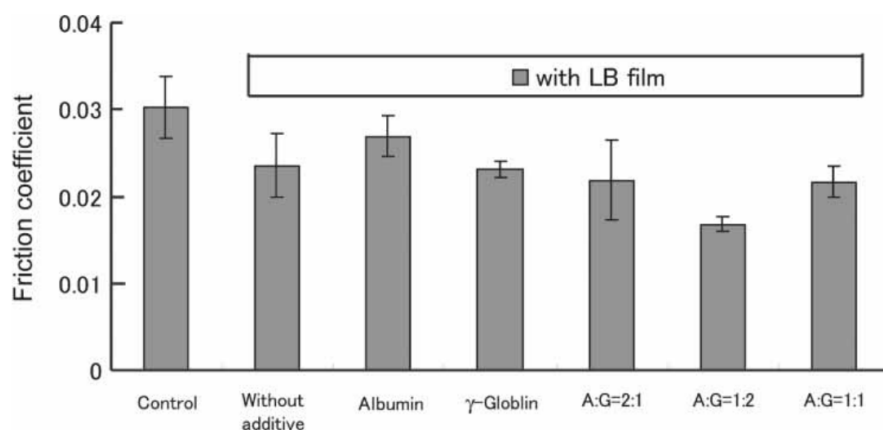
Výsledky a závěry

Experimenty s mikroskopem atomárních sil zjistily, že albumin samotný generuje špatný a nestabilní mezní film, kdežto film, který vzniká při mazání γ -globulinem, je stabilnější. Na obr. 2-13 (a) je hydrogel mazaný roztokem s obsahem 0,7 % wt albuminu a 1,4 % wt γ -globulinu. Zde je pozorován nestabilní tenký mezní film, kdežto obr. 2-13 (b), kde je hydrogel mazán 1,4 % wt albuminem a 1,4 % wt γ -globulinem, disponuje stabilnějším mezním filmem.



obr. 2-13 Povrch mazaný 0,7 wt% albuminem a 1,4 wt% γ -globulinem (vlevo); 1,4 wt% albuminem a 1,4 wt% γ -globulinem (vpravo) [20].

Na obr. 2-14 jsou znázorněny hodnoty součinitelů tření. Hydrogel, mazaný samotným albuminem, který neformuje dobrý mazací film, je větší než součinitel tření samotného γ -globulinu. A dále lze pozorovat, že v případě, kdy se tyto dva proteiny smíchaly, vždy došlo ke snížení součinitele tření.



obr. 2-14 Vliv složení mazací kapaliny na součinitel tření hydrogelu [20].

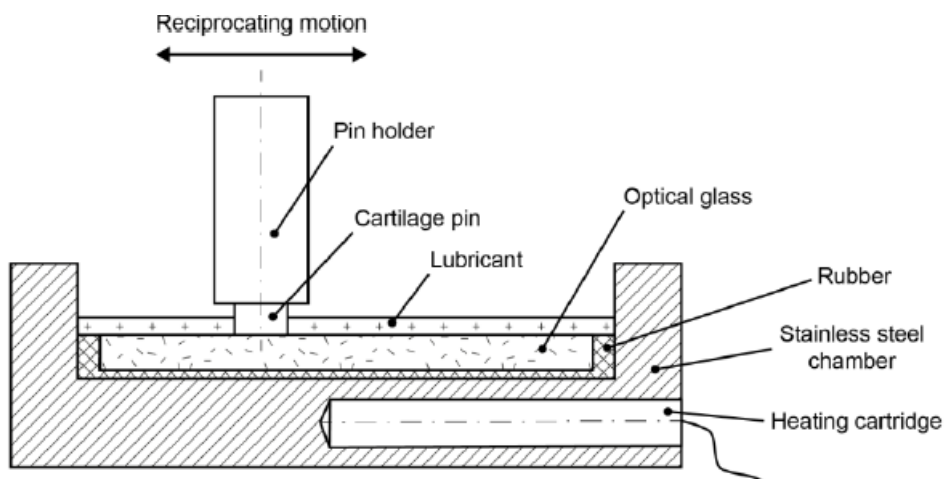
[21] **REBENDA, D., a kol.** Effect of hyaluronic acid on friction of articular cartilage. In: *ENGINEERING MECHANICS*.

Závěry a výsledky autorů ze studie [20] potvrzují autoři této studie. Ti se zabývají vlivem jednotlivých složek synoviální kapaliny a jejich kombinací na součinitel tření. Na rozdíl od studie [20], zde se zkoumá vliv i kyseliny hyaluronové a měření jsou provedena s chrupavkou. Koncentrace jednotlivých látek je taková, jako je u osteoartrické synoviální kapaliny z reference [7]. Konkrétní koncentrace všech maziv jsou uvedeny níže v obr. 2-15. Koncentrace kyseliny hyaluronové byla zvolena tak, aby simulovala přítomnost viskosuplementu v synoviálním kloubu.

Test fluid	Albumin (mg/ml)	γ-globulin (mg/ml)	Hyaluronic acid (mg/ml)	Volume (ml)
Albumin	24.9	-	-	6
Albumin + HA	24.9	-	10	6
γ-globulin	-	6.1	-	6
γ-globulin + HA	-	6.1	10	6
Albumin + γ-globulin	24.9	6.1	-	6
Albumin + γ-globulin + HA	24.9	6.1	10	6

obr. 2-15 Měřené roztoky [21].

Podmínky experimentu byly následující: normálové zatížení bylo 5 N, rychlost zatěžování byla 10 mm/s a délka pohybu 20 mm, teplota celého procesu byla 37 °C. Měření byla provedena na konfiguraci SCA (viz obr. 2.16)



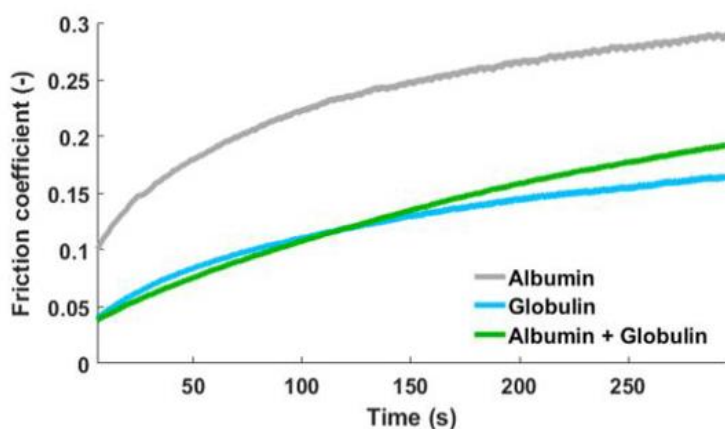
obr. 2-16 Měřicí aparatura [21].

Výsledky a závěry

Výsledky měření korespondují trendově s článkem [20], ale absolutní hodnoty součinitelů tření se liší. To může být způsobeno tím, že v experimentu [20] byl použit hydrogel místo chrupavky a byly použity jiné zatěžovací podmínky a v referenci 20 byla na skle aplikována lipidová vrstva.

Jak lze pozorovat na obr. 2-17, největším součinitelem tření disponuje albumin samotný. Následuje γ -globulin a kombinace γ -globulinu a albuminu. Autoři to vysvětlují tím, že albumin je hydrofilní a vytváří vrstvy s nižší smykovou odolností, a proto méně vydrží. Naproti tomu γ -globulin je hydrofobní a ve vodném prostředí se snadno adsorbuje na třecí povrchy. Proto je taky součinitel tření kontaktu mazaný γ -globulinem nižší.

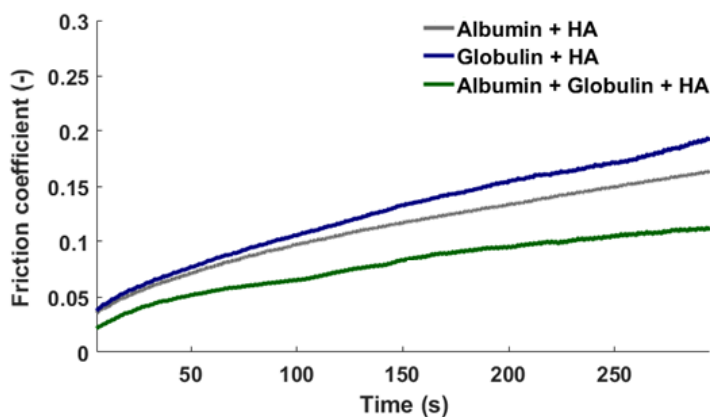
Součinitele tření γ -globulinu a kombinace γ -globulinu a albuminu jsou velmi podobné první dvě minuty. Po nich se součinitel tření kombinace γ -globulinu a albuminu zvýší v porovnání s γ -globulinem samotným. To je nejspíše zapříčiněno tím, že v první fázi γ -globulin formuje tenký mazací film, který funguje jako mezní mazací film. Ovšem v okamžiku, kdy se albumin adsorbuje na tento film, součinitel tření začne stoupat.



obr. 2-17 Měření součinitele tření [21].

Obr. 2-18 znázorňuje měření proteinů v kyselině hyaluronové. Zajímavé je, že nejvyšším součinitelem tření disponuje kombinace γ -globulinu a kyseliny hyaluronové. Tření je dokonce o něco vyšší než u γ -globulinu samotného (viz obr. 2-18). Autoři se domnívají, že to je způsobeno tím, že γ -globulin brání kyselině hyaluronové adsorbovat se na povrch chrupavky. Smíchání albuminu a kyseliny hyaluronové vede k menšímu součiniteli tření stejně jako u smíchání všech tří látek.

Tyto hodnoty ovšem nemusejí být úplně odpovídající, neboť ve studii nebyla zařazena žádná opakovatelnost a výsledky jsou vždy z pouze jednoho měření.



obr. 2-18 Měření součinitele tření [21].

[22] **MURAKAMI, T., a kol.** Influence of synovia constituents on tribological behaviors of articular cartilage. *Friction*.

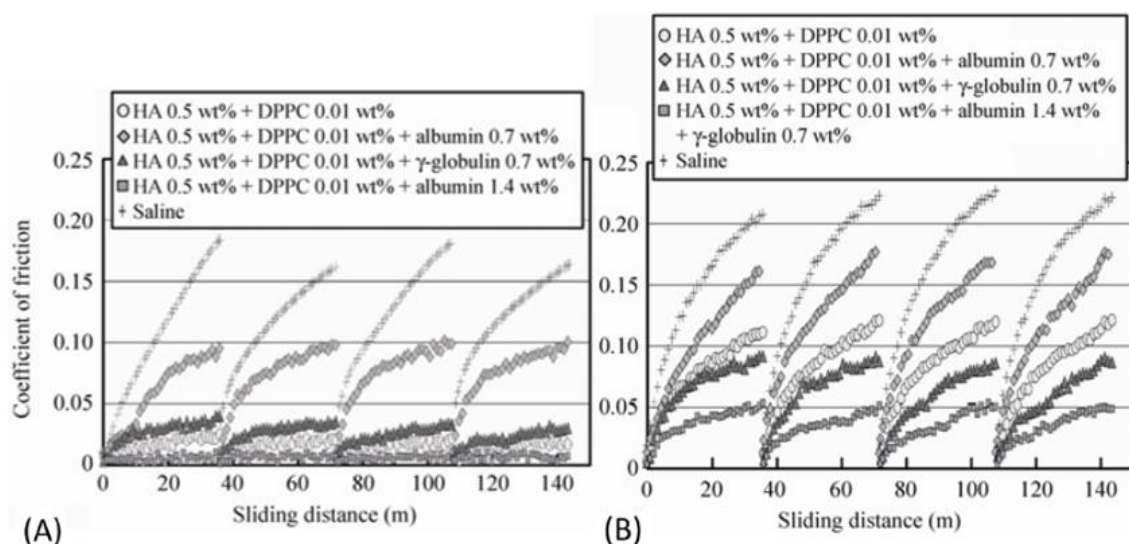
Autoři studie se zabývali třením a mazáním chrupavky proti sklu. Použili celkem 13 maziv, která jsou zobrazena na obr. 2-19 níže. Jednalo se o všechny složky synoviální kapaliny. Konkrétně kyselinu hyaluronovou, proteiny albumin a γ -globulin a DPPC (Dipalmitoylphosphatidylcholine) fosfolipidy. Používali konfiguraci pin-on-plate, kde pin byla chrupavka a jako plat“ bylo použito sklo. Všech 13 maziv bylo zkoumáno nejdříve na netknuté chrupavce a pak na poškozené chrupavce, což mělo simulovat osteoartrický model tkáně. Poškození se docílilo setřením povrchové gelové vrstvy chrupavky. Rychlost recipročního pohybu tribometru byla 20 mm/s a normálové zatížení bylo 9,8 N.

	HA:sodium hyaluronate	DPPC	Albumin	γ -globulin
1	0	0	0	0
2	0	0	0.7	0
3	0	0	0	0.7
4	0.5	0	0	0
5	0.5	0	0.7	0
6	0.5	0	0	0.7
7	0	0.01	0	0
8	0	0.01	0.7	0
9	0	0.01	0	0.7
10	0.5	0.01	0	0
11	0.5	0.01	0.7	0
12	0.5	0.01	0	0.7
13	0.5	0.01	1.4	0.7

obr. 2-19 Použitá maziva ve studii [22].

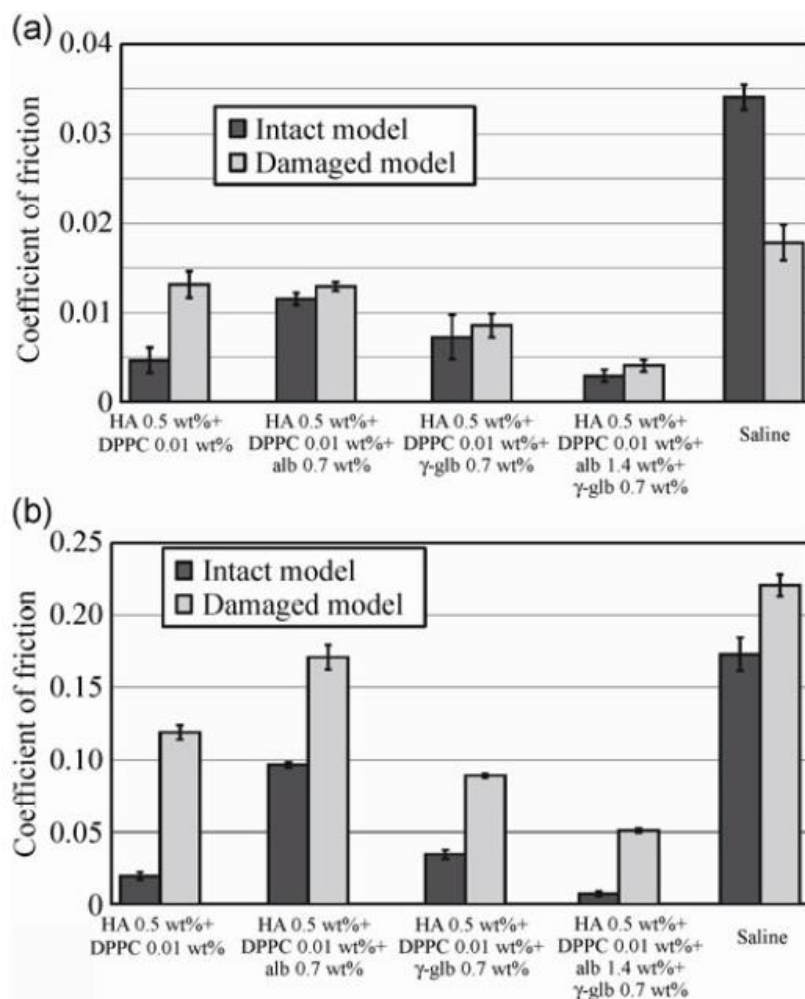
Výsledky a závěry

Výsledky součinitelů tření jsou zobrazeny níže na obr. 2-20. Obr. 2-20 (a) reprezentuje zdravou chrupavku a obr. 2-20 (b) poškozenou chrupavku. Z grafů lze pozorovat logaritmické průběhy součinitelů tření s časem v čase, což poukazuje na roli rehydratace. Při jednom měření vzorek urazil 36 metrů při dané rychlosti a poté byl 5 minut odtižen, aby se do chrupavky vrátilo mazivo. Tento proces rehydratace byl opakován třikrát, takže v rámci jednoho měření vznikly čtyři křivky závislosti součinitele tření na čase, viz obr. 2-20.



obr. 2-20 Součinitele tření v závislosti na použitých mazivech: (a) model zdravé chrupavky; (b) model poškozené chrupavky [22].

Pro přehlednější zobrazení výsledků použili autoři sloupcové grafy, viz obr. 2-21. Tmavý sloupec zobrazuje nepoškozenou chrupavku a světlý sloupec reprezentuje poškozenou chrupavku. Obr. 2-21 (a) reprezentuje prvotní hodnotu součinitele tření a obr. 2-21 (b) reprezentuje konečnou hodnotu součinitele tření po rehydrataci tkáně.



obr. 2-21 Součinitele tření v závislosti na použitých mazivech: (a) počáteční součinitel tření; (b) konečný součinitel tření [22].

Jak je vidět, v obou případech má nejvyšší součinitel tření fyziologický roztok. Dále následuje kyselina hyaluronová a fosfolipidy. Nejnižším součinitelem tření disponuje chrupavka mazaná kombinací všech složek v poměru, který se podobá reálnému složení synoviální kapaliny.

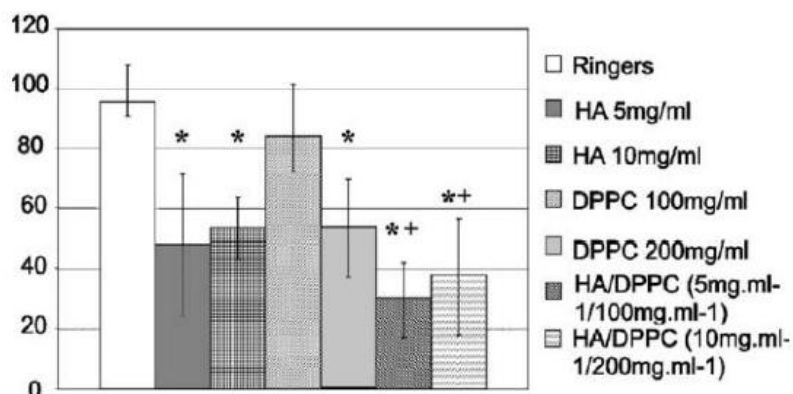
[23] **FORSEY, R., a kol.** The effect of hyaluronic acid and phospholipid based lubricants on friction within a human cartilage damage model. *Biomaterials*.

Autoři se zabývají mazáním chrupavky kyselinou hyaluronovou, fosfolipidem dipalmitoyl fosfatidylcholine (dále DPPC) a jejich kombinací. Testy probíhaly na SCA konfiguraci.

Bylo zkoumáno celkem sedm maziv. Vzorek A byl Rigersův roztok, vzorky B a C byly kyselina hyaluronová o koncentraci 5mg/ml, respektive 10 mg/ml. Vzorky D a E byly DPPC fosfolipidy o koncentraci 100 mg/ml, respektive 200 mg/ml. Vzorek F pak kyselina hyaluronová s DPPC o koncentracích 5 mg/ml a 100 mg/ml. Poslední vzorek G byl kyselina hyaluronová a DPPC o koncentraci 10 mg/ml a 200 mg/ml. Piny chrupavky byly odebrány z osteoartrické lidské kolenní chrupavky. Piny mají průměr 5 mm. Zatěžovací síla byla 25 N a zatěžovací rychlost 4 mm/s. Pro každé mazivo se provedlo 6 měření a bylo porovnáváno, jak se procentuálně snížil součinitel tření oproti Rigersovu roztoku. Výsledky jsou zobrazeny na obrázku 2-22.

Výsledky a závěry

Výsledky měření ukazují, že koncentrace kyseliny hyaluronové 5 mg/ml má vyšší součinitel tření než 10 mg/l, což implikuje, že vyšší koncentrace hyaluronové kyseliny nemusí nutně znamenat nižší součinitel tření. Naopak vyšší koncentrace fosfolipidů způsobuje nižší součinitel tření.



obr. 2-22 Procentuální rozdíl v součinitelech tření experimentu [23].

Roztok F (kyselina hyaluronová s DPPC o koncentracích 5 mg/ml a 100 mg/ml) disponuje nejmenším součinitelem tření a roztok G (kyselina hyaluronová a DPPC o koncentraci 10 mg/ml a 200 mg/ml) druhým nejnižším. Studie ukazuje synergický efekt kyseliny hyaluronové a fosfolipidů na tření a mazání kloubní chrupavky.

[24] **BONNEVIE, E., a kol.** Elastoviscous transitions of articular cartilage reveal a mechanism of synergy between lubricin and hyaluronic acid. *PLoS ONE*.

Autoři studie se (krom jiného) zabývali vlivem přítomnosti lubricinu na tření a mazání kloubní chrupavky. Lubricin je glykoprotein, který se v chrupavce nachází. Byla provedena analýza součinitele tření chrupavky závislosti na Sommerfeldově čísle, které lze vypočítat podle následující rovnice:

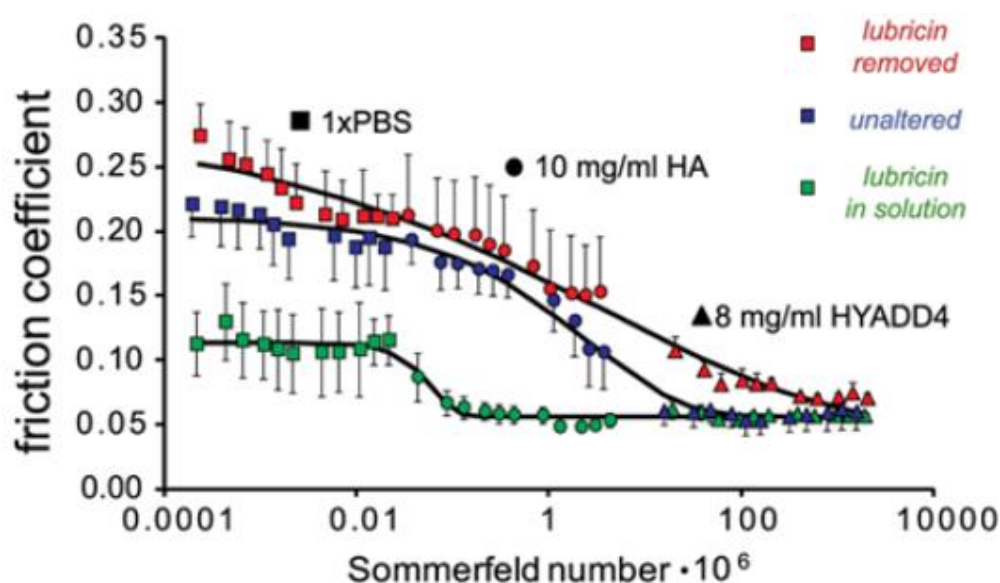
$$S = \frac{V \eta a}{F_n} \quad (1)$$

kde S je Sommerfeldovo číslo (bezrozměrné), V je rychlost pohybu chrupavky v mm/s, η je dynamická viskozita maziva v $\text{Pa} \cdot \text{s}^{-1}$, a je kontaktní oblast a F_n je normálové zatížení v N.

Experimenty byly prováděny na tribometru v konfiguraci pin-on-plate. Zatížení byla zvolena 4,2 N, 5,2 N a 6,2 N a veškeré experimenty byly provedeny při rychlosti 0,1 mm/s. Měnilo se tedy pouze mazivo (a tudíž viskozita) a zatížení. Stribekova křivka, což je závislost součinitele tření na Sommerfeldově čísle, je zobrazena na obrázku 2-23 níže.

Výsledky a závěry

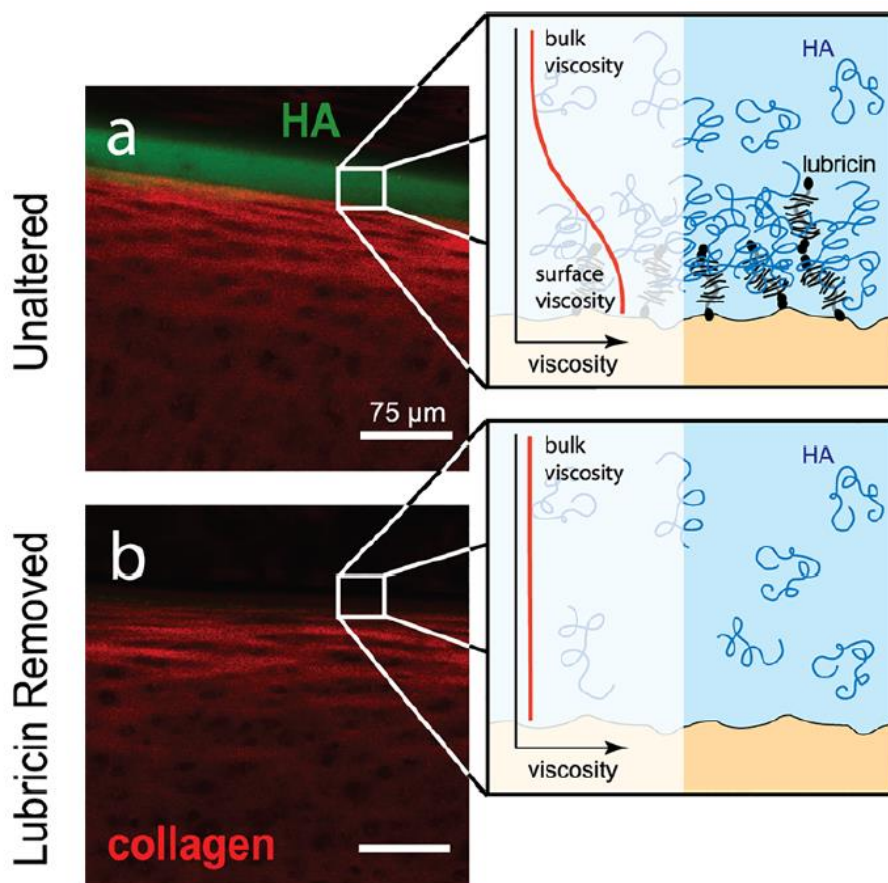
Jsou vykresleny celkem tři křivky. U červené křivky byl z chrupavky odejmut lubricin, modrá křivka reprezentuje nemodifikovanou chrupavku a v případě zelené byl do maziva přidán lubricin navíc.



obr. 2-23 Třecí síla (a) ze senzoru (b), od které je odečtena nulová síla pro normálové zatížení 0,4 N. [24].

Z obr. 2-24 je patrné, že s rostoucím Sommerfeldovým číslem (v případě této studie hlavně s rostoucí viskozitou) dochází ke snižování součinitele tření. Dále lze z grafu pozorovat, že nejnižší součinitel tření mají experimenty, ve kterých byl zahrnut lubricin, a nejvyšší tření ty, kde lubricin nebyl. Autoři se domnívají, že se kyselina hyaluronová přichytává na lubricin, který je v chrupavce, a zvyšuje tím svou viskozitu v okolí chrupavky, což vede k nižšímu tření.

To, že se kyselina hyaluronová přichytává na lubricin, autoři dokázali i pomocí experimentů s fluorescenční mikroskopií. Nejprve obarvenou kyselinu hyaluronovou nanесли na netknutou chrupavku (viz obr. 2-24 a) a poté na chrupavku, z níž byl lubricin odebrán (viz obr. 2-24 b).

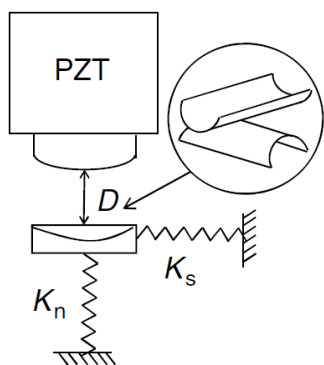


obr. 2-24 Třecí síla (a) ze senzoru, (b) od které je odečtena nulová síla pro normálové zatížení 0,4 N. [24].

Závěr této studie je, že kyselina hyaluronová působí synergicky na součinitel tření v chrupavce, obzvláště když je přítomný lubricin, na který se HA váže. Tento závěr má pak přesah do studií [25–27], kde je diskutován hydratační režim mazání. Aby tento režim fungoval, musí být kyselina hyaluronová „ukotvena“ na chrupavce. V případě studií [25,26] byla chrupavka ukotvena pomocí avidin-biotinového můstku na slídu. Z této studie vyplývá, že v případě fyziologické chrupavky se HA váže právě na lubricin.

[25] **SEROR, J., a kol.** Supramolecular synergy in the boundary lubrication of synovial joints. *Nature Communications*.

Autoři článku se zabývají synergickým efektem kombinace fosfolipidů a kyseliny hyaluronové v kontextu tření a mazání kloubní chrupavky. Zabývají se mezním filmem, který kyselina hyaluronová s fosfolipidy formuje na nanomolekulární úrovni. Svá měření prováděli na zařízení pro měření mezimolekulárních sil, tzv. surface force balance (viz obr. 2-25). Tato metoda je schopna zaznamenat třecí síly při normálovém zatížení v řádu několika μN . V případě této metody se jako povrchy, které se proti sobě třou, používají dva vyhlazené pláty slídy.



obr. 2-25 Metoda surface force balance [25].

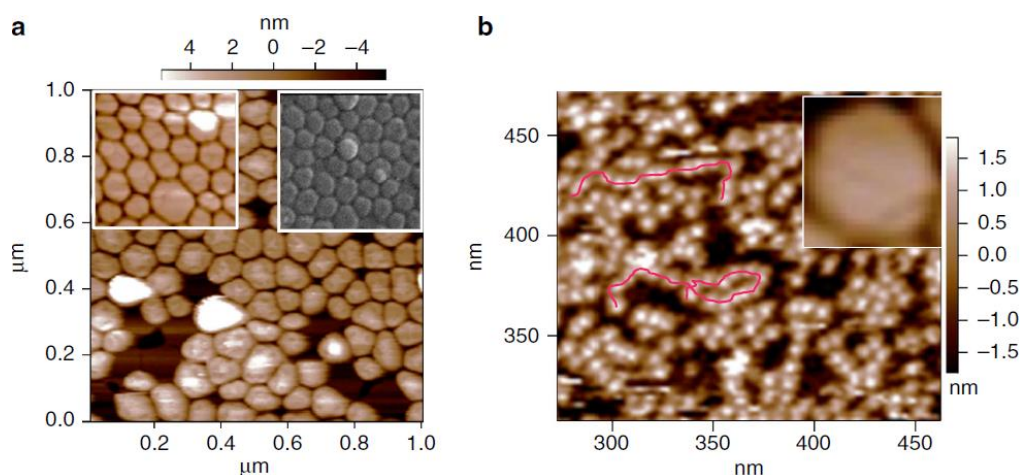
Byly zkoumány tři různé konfigurace. V první byly měřeny dva plátky slídy, které byly mazány DPPC fosfolipidy ve formě lipozomů. V druhé konfiguraci byly dva plátky slídy mazány DPPC a kyselinou hyaluronovou. Ve třetí konfiguraci bylo opět mazivo DPPC a kyselina hyaluronová s tím rozdílem, že byla na slídu pomocí avidin-biotinového můstku přichycena kyselina hyaluronová. To zamezilo volnému pohybu HA v roztoku. Na HA se pak fosfolipidy uskupily, jak je znázorněno na obr. 2-26.



obr. 2-26 Přichycení kyseliny hyaluronové na povrch slídy pomocí avidin-biotinového můstku [25].

Výsledky a závěry

Povrchy byly sledovány mikroskopem atomárních sil. Vzorky mazané DPPC a DPPC + HA jsou zobrazeny na obr. 2-27 (a). Je zřejmé, že lipozomy DPPC se žádným způsobem nepřeformovaly ani v jednom případě. U třetího vzorku, kde byl použit avidin-biotinový komplex, se lipozomová struktura fosfolipidů narušila a přeformovala se na lipidovou vrstvu na slídě, viz obr. 2-27 (b). Na obrázku 2-27 (b) je v pravém horním rohu pro srovnání velikosti původní nerozbitý lipozom. Díky přeformování lipozomu na lipidovou dvojvrstvu nastal režim mazání, u něhož byly v kontaktu hydrofilní hlavy fosfolipidů, které si mezi sebou při vzájemném pohybu vyměňují molekuly vody pomocí difuze. Tento režim mazání nazvali autoři „hydratační režim mazání“ a již byl popsán v kapitole 2.3.3.



obr. 2-27 (a) Slída mazána HA + DPPC, (b) slída mazána HA + DPPC, kde HA byla vetknuta na slídu pomocí avidin-biotinového komplexu [25].

Byly naměřeny součinitele tření pro všechny tři konfigurace. Výsledky měření s DPPC se téměř shodovaly s měřeními DPPC + HA, neboť ani v jednom případě nedošlo k rozbití lipozomu a následnému hydratačnímu mazání. Součinitele tření se pohybovaly v obou případech řádově v desetinách. Pro měření s vetknutou HA pomocí avidin-biotinového komplexu byly součinitele tření o poznání nižší. Pohybovaly se řádově v tisícinách. Použily zatížení řádově v jednotkách mikro newtonů tak, aby vyvodili kontaktní tlak 15 MPa. Autoři přisuzují takto nízký součinitel tření výše zmíněnému hydratačnímu režimu mazání.

Hlavním závěrem této studie je, že aby hydratační režim mazání fungoval, musí být kyselina hyaluronová ukotvena na povrch. V případě že HA není ukotvena, fosfolipidy zůstávají ve formě lipozomů, protože je to pro ně energeticky výhodnější, a polymerní řetězce HA plavou kolem nich. V tomto případě si hydrofilní hlavy fosfolipidů (ve formě lipozomu) nejsou schopny pomocí difuze vyměňovat molekuly vody.

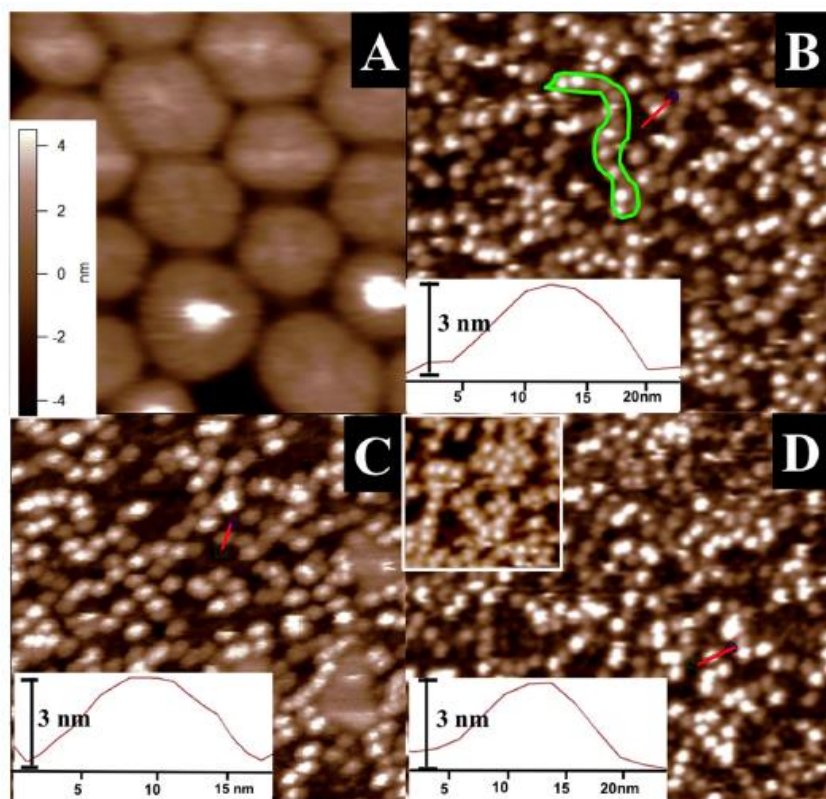
Autoři uvádějí, že v případě lidských kloubů se HA nepřichytává na chrupavku pomocí avidin-biotinového můstku jako v případě slídy, ale zachycuje se do kolagenových vláken a na proteoglykany 4 (lubricin). Z toho dle autorů plyne, že v chrupavce také nastává hydratační mazání, které je zodpovědné za nízké tření v kloubech.

[26] **DAY, A., a kol.** Ultra-low friction between boundary layers of hyaluronanphosphatidylcholine complexes. *Acta Biomaterialia*.

Autoři navazují na referenci [25]. Také zkoumají interakce kyseliny hyaluronové s fosfolipidy a součinitel tření pomocí „surface force balance“. Jediný rozdíl je, že nezkoumají DPPC, ale tři jiné druhy fosfolipidů, také ve formě lipozomů. Konkrétně se jedná o hydrogenated soy fosfatidylcholin (HSPC), dimyristoyl-sn-glycero-3-fosfatidylcholin (DMPC) a 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-fosfatidylcholin (POPC).

Výsledky a závěry

Lipozomy těchto fosfolipidů, stejně jako u DPPC, se vážou na kyselinu hyaluronovou, která je navázaná na slídky pomocí avidin-biotinového můstku. Na obr. 2-28 (a) je vidět HSPC inkubovaný na čisté slídě. Na obr. 2-28 (b), (c), (d) jsou fosfolipidy HSPC, DMPC a POPC inkubované na slídě, na které je pomocí avidin-biotinového můstku vetknuta kyselina hyaluronová.



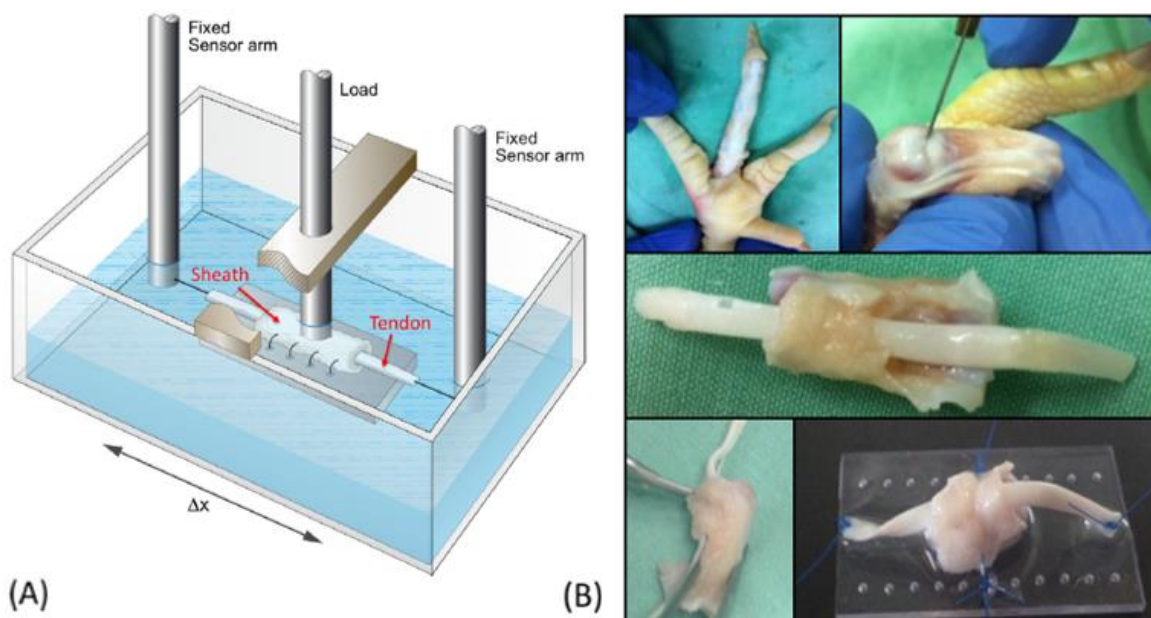
obr. 2-28 Různé druhy lipozomů na slídě [26].

Výsledkem měření bylo, že fosfolipidy s kratší hydrofobní částí (POPC a DMPC), vetknuté na slídku mají dobré mazací vlastnosti (součinitel tření až tisíciný), ale jen do kontaktních tlaků 2 MPa. Kdežto HSPC s delším a robustnějším, delším hydrofobním zakončením mají přibližně stejně nízký součinitel tření, ale i při kontaktních tlacích až 15 MPa.

[27] **LIN, W., a kol.** Lipid-hyaluronan synergy strongly reduces intrasynovial tissue boundary friction. *Acta Biomaterialia*.

Autoři této studie pocházejí ze stejného vědeckého pracoviště jako v případě reference [25, 26] a navazují na svůj výzkum tření a mazání povrchů kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy. Záměrem této studie bylo posouzení hydratačního režimu mazání i v makroměřítku a v podmínkách které nastávají v kloubech, namísto měření se slídkou. Použili tedy kuřecí pařát zabalený v kuřecí šlaše, viz obr. 2-29 (b). Zařízení, na kterém bylo tření měřeno, je zobrazeno na obr. 2-29 (a).

Tato dvojice (pařát – šlacha) byla použita, neboť ve šlaše a pařátu se také nachází kolagenová matrice a lubricin, na které se váže kyselina hyaluronová spolu s fosfolipidy stejně jako v případě chrupavky chrupavku. To bude vyvozovat hydratační režim mazání, což by mělo generovat nižší součinitele tření, než kdyby byla dvojice mazána např. samotnou HA.

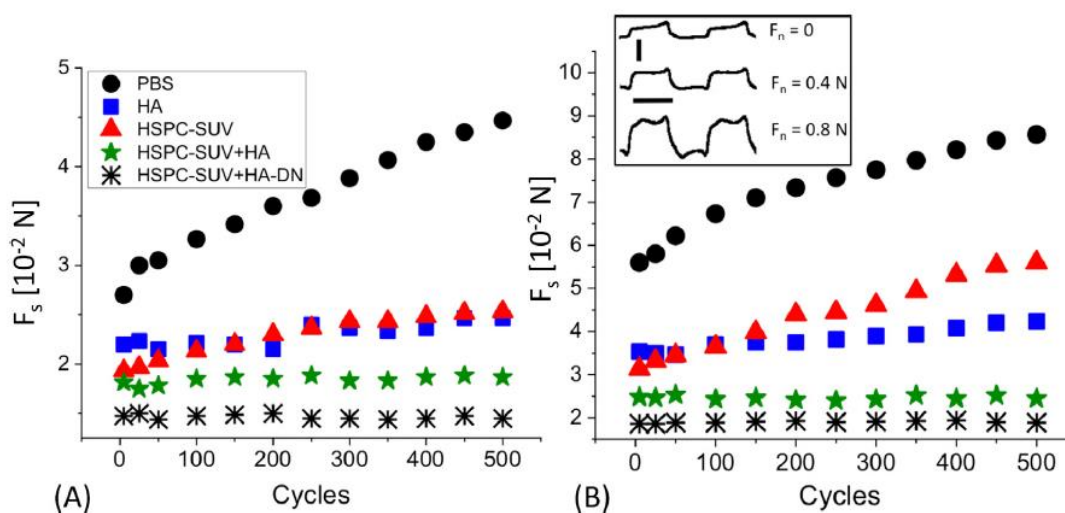


obr. 2-29 (a) Schéma měřicího zařízení; (b) příprava vzorků na měření [27].

Vzorky byly mazány pěti mazivy: 1. fyziologickým roztokem (PBS), 2. kyselinou hyaluronovou (HA), 3. hydrogenated soy fosfatidylcholi – small unilamellar vehicle (lipozomy typu HSPC-SUV), 4. kombinací HSPC-SUV + HA, 5. HSPC-SUV + HA s dopaminem (tedy HSPC-SUV + HA-DN).

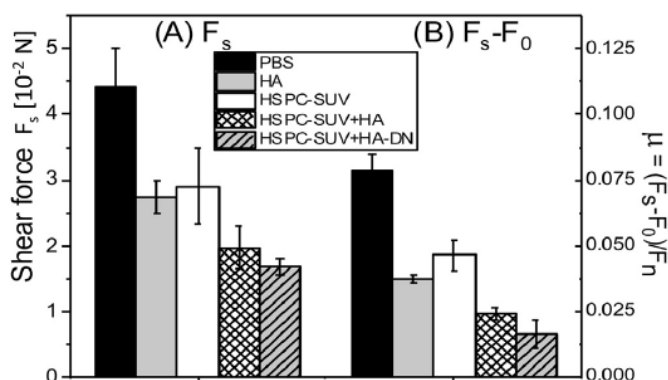
Výsledky a závěry

Na grafech 2-30 jsou zobrazeny výsledky měření třecí síly v závislosti na čase. Graf 2-30 (a) vlevo ukazuje měření s normálovým zatížením 0,4 N a graf 2-30 (b) vpravo 0,8 N, což vyvozuje kontaktní tlaky 0,15, respektive 0,3. Rychlost pohybu byla zvolena v obou případech 2 mm/s. V případě PBS, HA a HSPC-SUV lze pozorovat logaritmický průběh, z čehož se dá předpokládat intersticiální režim mazání, kdežto v případě HSPC-SUV+ HA a HSPC-SUV + HA-DN má spíše konstantní průběh, což implikuje spíše mezní mazání.



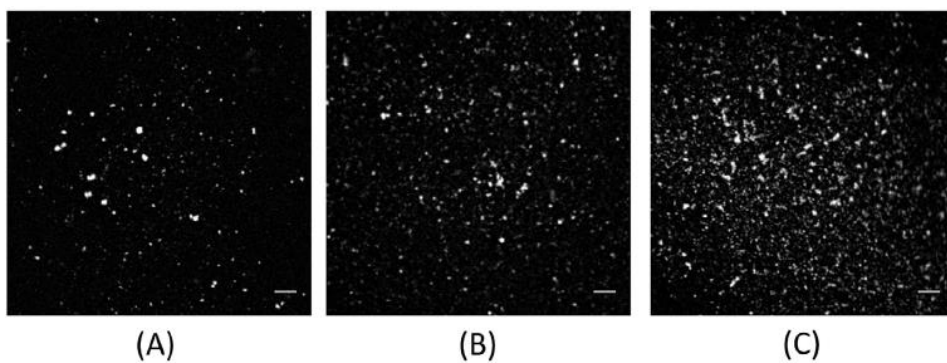
obr. 2-30 Třecí síla v závislosti na čase: (a) normálové zatížení 0,4 N; (b) normálové zatížení 0,8 N [27].

Součinitele tření jsou zobrazeny na obr. 2-31. Graf „A“ znázorňuje součinitel tření a maximální třecí sílu odečtenou přímo ze senzoru. V grafu „B“ se vyskytuje hodnota F_0 , což je třecí síla v nezátíženém stavu. V dané konfiguraci (pařát ve šlaše) je totiž jakési předepjetí, které vyvozuje tuto sílu i v nezátíženém stavu. V případě obrázku 2-31 jsou hodnoty naměřené pro normálové zatížení 0,4 N. Pro normálové zatížení 0,8 N vycházejí součinitele tření velmi podobně.



obr. 2-31 Třecí síla (a) ze senzoru (b), od které je odečtena nulová síla pro normálové zatížení 0,4 N [27].

Tyto výsledky součinitelů tření dali autoři do souvislostí s pozorováním mazané šlarchy pomocí fluorescenční mikroskopie. Obarvili fosfolipidy fluorescenčním barvivem a pozorovali, kolik fosfolipidů se ukotvilo na povrch šlarchy. Obr. 2-31 (a) ukazuje množství adsorbovaných fosfolipidů, když byla šlacha mazána pouze fosfolipidy, obr. 2-32 (b) znázorňuje situaci, kdy byla šlacha mazána kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy, a obr. 2-32 (c) šlachu mazanou kyselinou hyaluronovou s dopaminem a fosfolipidy.



obr. 2-32 Obrázky z fluorescenční mikroskopie [27].

Studie tedy jasně prokazuje, že v případě přidání HA dojde k větší absorpci fosfolipidů na povrch, což vede k tomu, že dominantnější je hydratační režim mazání, který se vyznačuje nízkým třením. Výsledky této studie tedy potvrzují závěry studií [25, 26].

3 ANALÝZA PROBLÉMU A CÍLE PRÁCE

3.1 Analýza problému

Z rešerše vyplývá nastupující trend léčby osteoartrózy pomocí viskosuplementace. To je léčebný postup, při kterém se do kloubů aplikuje viskosuplement. Hlavní složka těchto viskosuplementů je kyselina hyaluronová, která má zlepšovat reologické, a tedy i tribologické podmínky v kloubech. Mezi vědci a lékaři není však shoda ohledně toho, do jaké míry je viskosuplementace funkční léčba a do jaké míry funguje jako placebo efekt [14]. Pro optimalizaci složení viskosuplementace je tedy nutné se zabývat experimentálním popisem součinitele tření v kloubech při zohlednění koncentrace jednotlivých složek synoviální kapaliny.

Z článku [13] je patrné, že kyselina hyaluronová (a tedy i veškeré konvenční viskosuplementy) součinitel tření v kloubech spíše zvyšuje. Studie [32] dokonce prohlašuje, že viskosuplementy na bázi kyseliny hyaluronové nemají žádný význam, neboť nízké tření a opotřebení v kloubech je způsobeno interakcí fosfolipidů a kyseliny hyaluronové. Autoři vznesli hypotézu, že optimální viskosuplement by měl obsahovat jak kyselinu hyaluronovou, tak fosfolipidy. Zatím neexistuje viskosuplement právě na bázi kombinace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů a je jen málo studií, které by potvrdily nebo vyvrátily funkčnost a přínos takového viskosuplementu.

3.2 Analýza a zhodnocení rešerše

Kritická rešerše se zabývala aktuálními trendy v biotribologii kloubní chrupavky. Pojednává se zde o složení synoviální kapaliny, metodách měření součinitelů tření, režimech mazání chrupavky, vlivu rehydratace chrupavky, vlivech jednotlivých složek synoviální kapaliny na součinitel tření a metodách neinvazivní léčby osteoartrózy.

Mezi ty patří zejména viskosuplementace. Hlavní složkou viskosuplementů je kyselina hyaluronová, která je z velké části zodpovědná za reologické vlastnosti v kloubech [9,10]. Z rešerše viskosuplementace plyne, že žádné vědecké pracoviště se doposud nezabývalo vývojem viskosuplementace na bázi fosfolipidů [32]. A to i přesto, že je mnoho studií, které dokazují, že fosfolipidy a kyselina hyaluronová spolu tvoří synergickou dvojici a že přidáním fosfolipidů ke kyselině hyaluronové se sníží tření [23,25–27]. Takovýto viskosuplement by tedy mohl být přínosný.

Metody měření součinitele tření v chrupavce se rozdělují na dvě: stacionární kontaktní oblast (SCA) a migrační kontaktní oblast (MCA). U měření pomocí SCA lze pozorovat logaritmický průběh součinitele tření a výrazně větší součinitele tření než u MCA. MCA naopak disponuje nízkými hodnotami součinitele tření a konstantní hodnotou. Autoři studie [19] tvrdí, že MCA zkoumá spíše intersticiální režim mazání, kdežto SCA zkoumá spíše mezní režimy, neboť s časem intersticiální kapalina odteče a dochází k meznímu mazání. Rozdíly průběhů součinitele tření v čase pro SCA a MCA poukazují na roli rehydratace chrupavky. Rehydratace je jev, kdy po dlouhodobém zatížení chrupavky a následném odtížení a znovu zatížení dochází ke snížení součinitele tření. To je, jak napovídá název, způsobeno opětovným natečením kapaliny do chrupavky, která přenáší zatížení, což generuje nízké tření. V případě MCA k rehydrataci dochází neustále, neboť se pořád mění kontaktní oblast.

Studie [20,21] se zabývají formováním mazacího filmu, vzniklého z proteinů albumin a γ -globulin. Ve článku [20] autoři používají místo chrupavky hydrogel, který prohlašují za model chrupavky, protože má podobné mechanické vlastnosti jako chrupavka. Jejich výsledky implikují, že protein γ -globulin je zodpovědný za tvorbu mazacího filmu na chrupavce a protein albumin s ním působí synergicky na součinitel tření. Ve studii [21] se zkoumá vliv jak proteinů, tak kyseliny hyaluronové. Závěry z této studie jsou, že kyselina hyaluronová s kombinací s albuminem snižuje součinitel tření a s γ -globulinem tření zvyšuje. Studie [22] se zabývá součinitelem tření chrupavky, která byla mazána několika mazivy, kde byly zastoupeny všechny složky synoviální kapaliny. Ukázaly, že nejnižší součinitel tření generuje model synoviální kapaliny.

Studie [23–27] se zabývají tím, jak kyselina hyaluronová ovlivňuje součinitel tření chrupavky. Studie [23] ukazuje, že kyselina hyaluronová a fosfolipidy působí synergicky na mazání chrupavky. Studie [25,26] se zabývají interakcí kyseliny hyaluronové s fosfolipidy ve formě lipozomů. Jejich měření jsou specifická, protože vůbec nezohledňují vliv rehydratace a počítají s čistě mezním mazáním chrupavky. Proto taky používají slídu místo chrupavky, na které předpokládají stejné podmínky mezního mazání jako na chrupavce. Přicházejí s novou teorií, že by v chrupavce mohl nastávat režim mazání, který nazývají hydratační. Tento režim se vyznačuje tím, že jsou v kontaktu dvě hydrofilní hlavy fosfolipidů, které když se vůči sobě pohybují, tak si vyměňují molekuly vody pomocí difuze, což doprovází nízké tření. Tento režim v jejich experimentech vzniká na rozhraní slída – slída, ale pouze na mikroúrovni a za použití avidin-biotinového komplexu, pomocí kterého je kyselina hyaluronová ukotvena na slídu. Ukotvení HA na slídu je podle nich klíčové. Studie [24] vysvětluje, jak k tomuto ukotvení HA dochází v na chrupavce. Studie [27] hypotézu hydratačního režimu potvrzují. Nicméně jejich měření byla prováděna na rozhraní šlachy – kuřecí pařát. Autoři prohlásili tuto dvojici za model chrupavky, neboť se skládá z podobných látek (kolagen, lubricin atd.). Chybí tedy studie, které by tento hydratační režim mazání potvrdily i na makroúrovni v případě chrupavky při zohlednění složení synoviální kapaliny.

3.3 Cíle práce

Hlavním cílem je experimentální popis vývoje součinitele tření mezi kloubními povrchy s využitím měřicí aparatury a modelových tkání. Práce bude zaměřena především na ověření, jakým způsobem ovlivňuje přítomnost fosfolipidů a kyseliny hyaluronové tření a mazání chrupavky. Zejména se bude zkoumat koncentrace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů vůči ostatním složkám synoviální kapaliny pro lepší pochopení tribologických procesů, které v kloubech nastávají.

Dílčí cíle:

- Popsat roli smáčivosti povrchů při mazání HA+PS,
- navrhnout metodiku odběrů vzorků chrupavky,
- experimentálně popsat vývoj součinitele tření při zohlednění koncentrace jednotlivých složek synoviální kapaliny, zejména fosfolipidů a kyseliny hyaluronové,
- experimentálně popsat vývoj součinitele tření chrupavky při zohlednění smáčivosti mazaných povrchů,
- konfrontovat získané poznatky s dosud publikovanými studiemi zabývajícími se mazáním a třením synoviálních kloubů.

Vědecká otázka:

„Jaký vliv má kyselina hyaluronová v kombinaci s fosfolipidy na mazání a tření kloubní chrupavky?“

Zodpovězením této vědecké otázky bude možno v budoucnu vyvinout nový, lepší, viskosuplement. Ten by mohl obsahovat jak fosfolipidy, tak kyselinu hyaluronovou.

Pracovní hypotéza:

„Kyselina hyaluronová spolu s fosfolipidy bude generovat mimořádně nízký součinitel tření díky hydratačnímu režimu mazání.“

Z rešerše plyne, že na nanomolekulární úrovni tato kombinace generuje mimořádně nízký součinitel tření při mazání modelových tkání na rozhraní slída – slída (až 0,001) [25,26]. Mechanismus, který zajišťuje takové nízké tření, se nazývá hydratační režim mazání. Je nutno nízké tření ověřit i v případě mazání kloubní chrupavky a pro podmínky, které nastávají v lidském těle (kontaktní tlaky, teploty, rychlosti atd.). To hlavně proto, aby se posoudil přínos viskosuplementu na bázi HA a PS v podmínkách lidských kloubů.

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Postup řešení

Postup řešení této diplomové práce je zobrazen na obr. 4.1 níže. Byly provedeny celkem tři sady experimentů. První sada experimentů měla za úkol zjistit, jakou roli hrají smáčivost povrchů při mazání fosfolipidů s HA s ohledem na hydratační režim mazání. Hydratační mazání, jak napovídá název, je závislé na množství vody. U smáčivých dvojic, kde je více vody by tedy mělo být nižší tření v případě mazání HA+PS kdy hydratační mazání nastává.

Druhá sada experimentů navazuje na tu první. Zkoumal se zde vliv smáčivosti destičky na tření kloubní chrupavky (jakožto pinu v konfiguraci pin-on-plate), která byla mazána různými složkami synoviální kapaliny. Smáčivost povrchů by měla hrát významnou roli opět díky hydratačnímu mazání, kde by tření mělo být nižší, když je chrupavka v kontaktu se smáčivým povrchem při mazání HA+PS. Dále rešerše ukazuje, že smáčivost povrchů má významný vliv i na tvorbu proteinového mezního filmu [42]. Experimenty byly prováděny na dvou rozhraních: chrupavka – smáčivý povrch a chrupavka – nesmáčivý povrch, aby bylo možno pozorovat, jakou roli hraje smáčivost v případě mazání a tření kloubní chrupavky.

V třetí sadě experimentů se na příslušném povrchu porovnávaly součinitele tření konvenčního viskosuplementu smíchaného se synoviální modelovou kapalinou (dále MK) a viskosuplementu na bázi HA + PS smíchaného s MK. Smíchání viskosuplementu s MK simuluje situaci, kdy je viskosuplement vpraven do lidského kloubu. Na základě těchto měření se posuzoval přínos tohoto optimalizovaného viskosuplementu na bázi HA + PS. Na závěr byly jednotlivé experimenty vyhodnoceny a statisticky zpracovány a interpretovány.



obr. 4-1 Plán postupu diplomové práce.

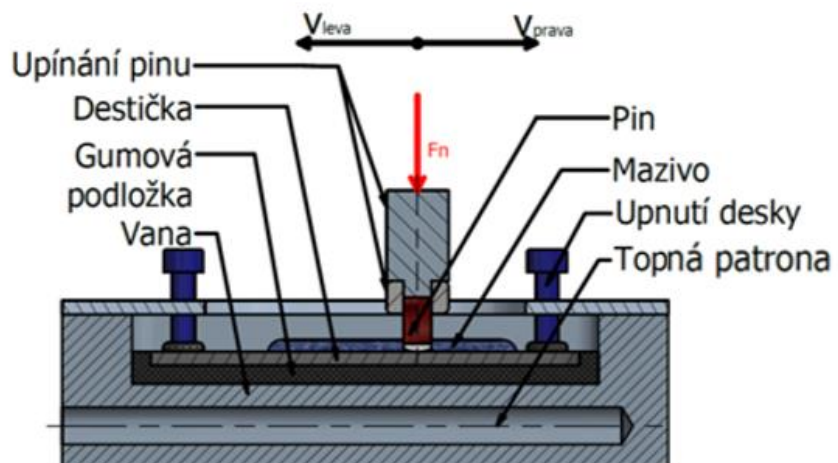
4.2 Měření součinitele tření

Veškeré experimenty byly provedeny na univerzálním tribometru Bruker UMT TriboLab s recipročním modulem v konfiguraci „pin-on-plate“, viz obr. 4-2 (a). Obr. 4-2 (b) schematicky zobrazuje reciproční modul, který je určen pro experimentální činnost biotribologické skupiny na Ústavu konstruování. Jedná se o nerezovou vanu, do které jsou vkládány topné patry s regulací teploty, které slouží pro vyvození teploty lidského těla v kontaktu. Do této vany je vložena gumová podložka a na ni se vkládá destička, která je přitlačena čtyřmi šrouby přes přírubu. Horní část s pinem je pohyblivá a je v ní vloženo upínání chrupavky, viz obr. 4-3. Tato objímka je přes pružinu spojena s dvouosým tenzometrickým snímačem. Tribometr je schopný udržovat konstantní hodnotu zatížení, což je žádoucí, neboť modul pružnosti chrupavky s časem klesá [5] a bez zpětné regulace by docházelo k poklesu normálové síly.

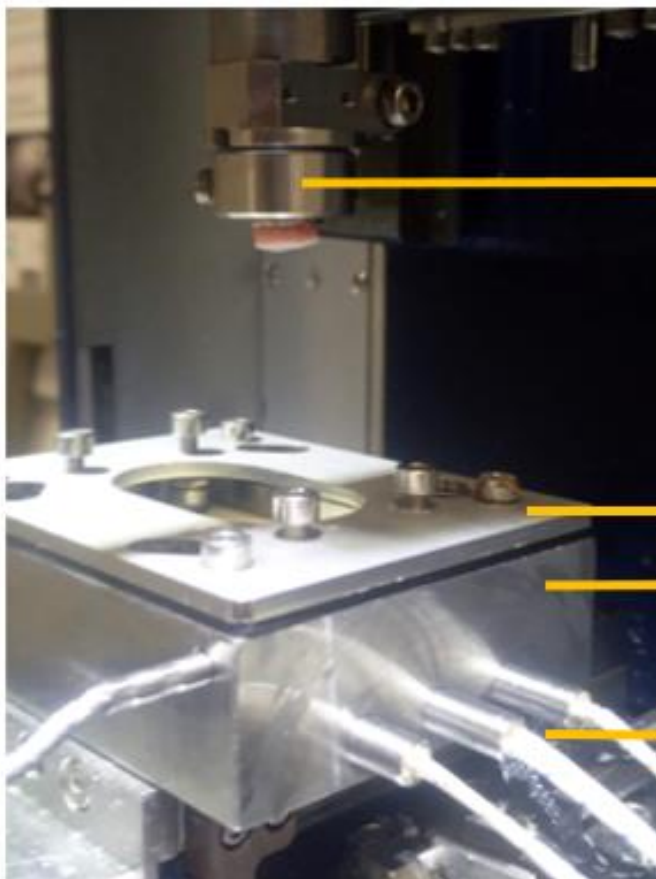
a)



b)



obr. 4-2 (a) Univerzální tribometr [29]; (b) schéma měření.



Upínání chrupavky

Příruba

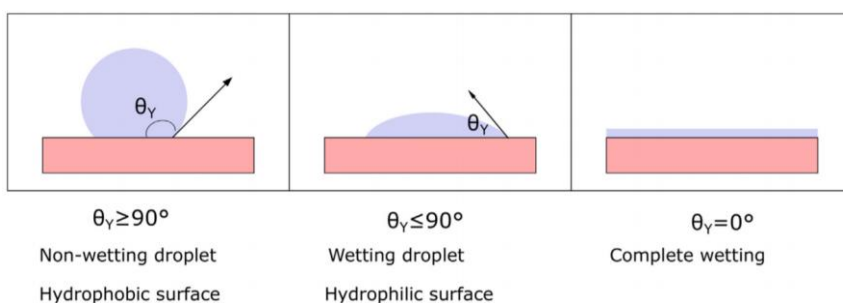
Vana

Topné patrony

obr. 4-3 Reciproční modul.

4.3 Měření smáčivosti povrchů

Smáčivost je veličina, která udává, mimo jiné, jak moc materiál přitahuje nebo odpuzuje vodu. Jak je zmíněno už několikrát výše, smáčivost má velký význam při mazání chrupavky [41], zejména když je mazána fosfolipidy [26,25] a proteiny [42]. Jednou z nejčastěji používaných metod pro měření míry smáčivosti povrchu je měření kontaktního úhlu kapky vody na daném povrchu [30]. V případě, že je kontaktní úhel větší než 90° , jedná se o hydrofobní (nesmáčivý) povrch a v případě, že je menší než 90° , jedná se o hydrofilní (smáčivý) povrch, viz obr. 4-4. Na povrchy bylo pomocí elektronické pipety naneseno normalizované množství vody. Měření byla prováděna za stálé teploty 22°C .



obr. 4-4 Měření smáčivosti povrchů [30].

4.4 Plán experimentů

Byly provedeny tři sady měření na tribometru v konfiguraci pin-on-plate. První sada byla provedena s modelovými tkáněmi (PMMA, PEEK, slída, sklo) a byl zkoumán vliv smáčivosti obou povrchů na součinitel tření. Druhá sada experimentů pak byla provedena s chrupavkou a zkoumalo se složení jednotlivých složek synoviální kapaliny v závislosti na smáčivosti proti kusu, vůči kterému se chrupavka třela. Třetí sada experimentů se zabývá srovnáním funkčnosti konvenčního viskosuplementu a viskosuplementu na bázi HA + PS, kde se tyto viskosuplementy smíchaly s MK.

4.4.1 První sada experimentů – ověření hydratačního režimu mazání

Hlavním úkolem těchto měření bylo zjistit, jak se liší součinitele tření v závislosti na smáčivosti povrchů. Jak již bylo zmíněno v kapitole 2.3.3, při hydratačním režimu mazání dochází k vzájemné výměně molekul vody mezi jednotlivými hlavami fosfolipidy pomocí difuze což vede k nízkému tření. Voda je tedy zásadní při tomto režimu mazání a lze tedy usuzovat, že smáčivější povrchy, které přitahují vodu, budou mít nižší součinitel tření při mazání HA + PS a méně smáčivé povrchy budou mít vyšší součinitel tření. V případě, že se součinitele tření opravdu sníží, bude to důkaz toho, že hydratační mazání funguje i v makroměřítku a tím se z části odpoví na vědeckou otázku této práce definovanou v kapitole 3.3.

První sada měření byla provedena na modelových tkáních. Tyto povrchy byly mazány nejprve fyziologickým roztokem (negativní kontrola), dále samotnou kyselinou hyaluronovou s molekulovou hmotností 2200 kDa a s koncentrací 5,74 mg/ml a na závěr kyselinou hyaluronovou s fosfolipidy (konkrétně fosfatidylcholin) s koncentrací 6,24 mg/ml. Zatížení bylo voleno tak, aby vznikaly kontaktní tlaky, které nastávají i v lidském těle (10–20 MPa [32]) a zároveň normálové zatížení nesmělo přesáhnout 1 N (kvůli rozlišitelnosti snímače použitého tribometru). Pro kontaktní dvojice s největšími moduly pružnosti: PEEK – sklo byl vyvozen kontaktní tlak 22 MPa pro nejmenší zatížení 1 N, viz tab. 4-2. Proto pro poddajnější kontakty byla dopočítána normálová síla taková, aby vyvozovala kontaktní tlak v rozmezí 10–20 MPa. V případě dvojice PEEK – slída je kontaktní tlak pouze 10 MPa, neboť vyšší zatížení slídy působí její drolení. Rozdílné tlaky by však neměly negativně ovlivňovat měření, neboť hydratační mazání generuje nízké tření i nad 20 MPa [26].

tab. 4-1 Mechanické a fyzikální vlastnosti materiálů.

Materiál	Modul pružnosti [MPa]	Poissonovo číslo [-]	Kontaktní úhel vody na povrchu [°]
slída	400	0,2	61
PEEK	4 200	0,38	77,6 [34]
sklo	60 000	0,2–0,25	87
PMMA	3 000	0,35	69
UHMWPE	700	0,3	71
chrupavka	0,5–0,9 [2]	0,4–0,5 [2,5]	–

tab. 4-2 Kontaktní dvojice.

Materiálové dvojice (PIN-plate)	Poloměr pinu (mm)	Zatížení (N)	Kontaktní tlak (MPa)
PEEK – slída	16	10 N	10
PEEK – PMMA	16	2 N	18
PEEK – sklo	16	1 N	22
UHMWPE – sklo	16	15 N	20

Podmínky experimentů byly následující:

- **Rychlost recipročního pohybu: 10 mm/s** – Pomalá chůze, konfrontace s literaturou.
- **Zatížení: dle dílčí dvojice** – Kontaktní tlak experimentů odpovídá reálným kontaktním tlakům v kloubech.
- **Doba jednoho měření: 300 s** – Konfrontace s literaturou.
- **Teplota: 37 °C** – Teplota lidského těla.
- **Opakovatelnost: 5**

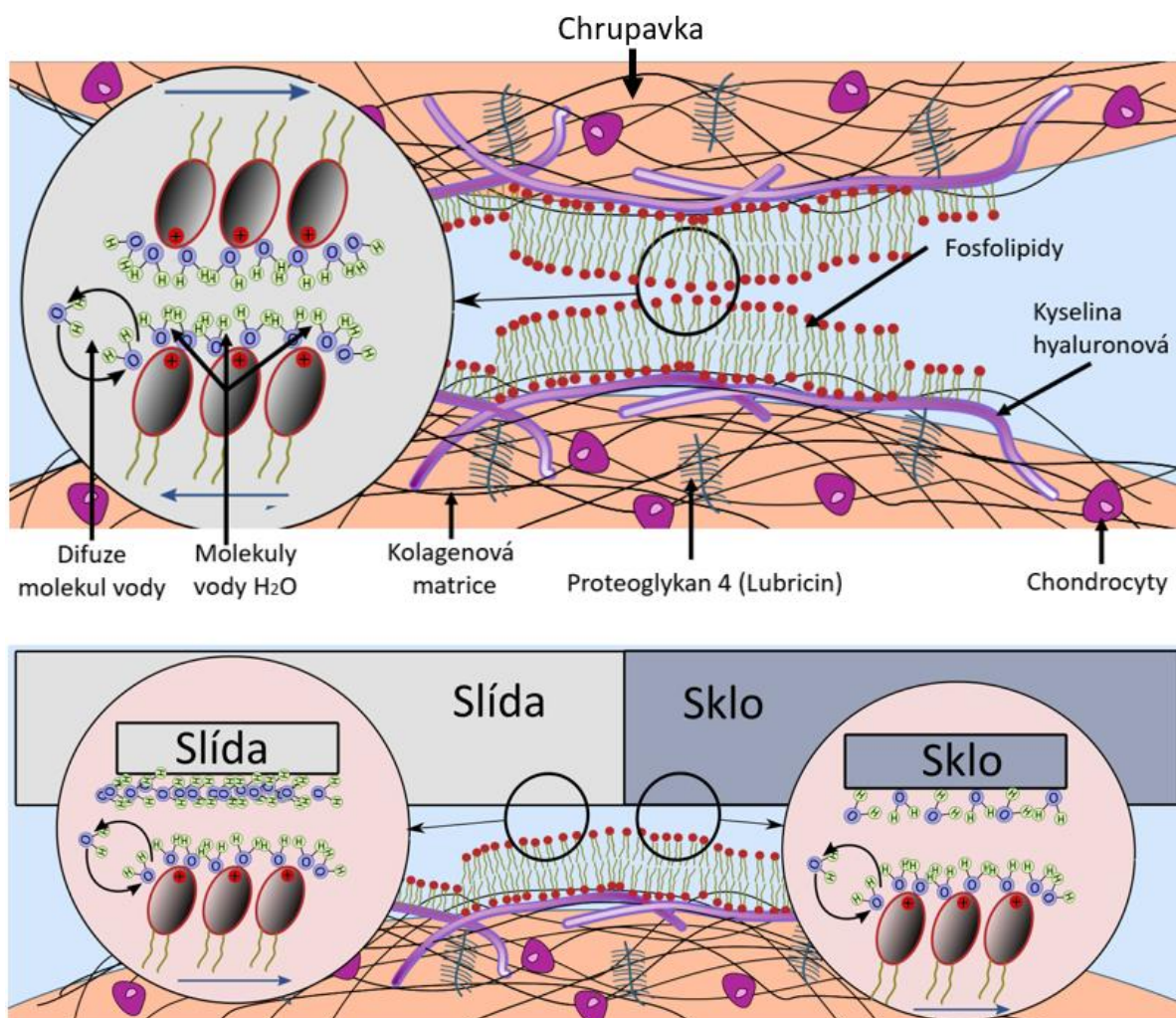
4.4.2 Druhá sada experimentů – tření a mazání kloubní chrupavky

V druhé sadě experimentů byla provedena měření s chrupavkou jako pinem. Jako destička (plate) bylo použito sklo (reprezentant nesmáčivého povrchu) a slída (reprezentant smáčivého povrchu). Hlavním cílem druhé sady experimentů bylo zjistit roli smáčivosti při mazání a tření chrupavky a nalézt optimální model chrupavky. V biotribologii chrupavky se sice velmi často používá sklo [16, 19–23], ovšem jeho modul pružnosti (70 GPa), drsnost povrchu (opticky vyhlazené) ani smáčivost povrchu neodpovídá chrupavce. Sklo je ovšem velmi důležité pro pozorování kontaktu, např. pomocí fluorescenční mikroskopie.

Slída má oproti sklu výrazně nižší modul pružnosti (400 MPa), používá se jako model chrupavky [25,26] a je smáčivější než sklo. Ukazuje se, že smáčivost povrchů hraje významnou roli při formování proteinového mezného filmu na površích [42]. Proto by slída měla formovat daleko reálnější proteinový mezný film jako v případě kontaktu chrupavka – chrupavka, neboť chrupavka je také velmi hydrofilní [41]. Smáčivost povrchu hraje významnou roli i při mazání kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy, kdy nastává hydratační mazání. V případě chrupavky jsou v kontaktu hlavy fosfolipidů, které si vyměňují molekuly vody pomocí difuze, což vede k nízkému tření, viz obr. 4-5.

V případě kontaktu chrupavka-slída je situace podobná, ovšem molekuly vody se nezachytávají na hlavu fosfolipidu, jak je tomu u chrupavky, ale přímo na smáčivou slídu. Hydratační mazání by mělo být v případě slídy zachováno. Sklo, oproti tomu není tak moc smáčivé a molekuly vody se na něm nadržují jak na smáčivé slídě, viz obr. 4-5. Tím pádem by sklo v kontaktu s chrupavkou mělo méně vody a tím generovat vyšší součinitele tření.

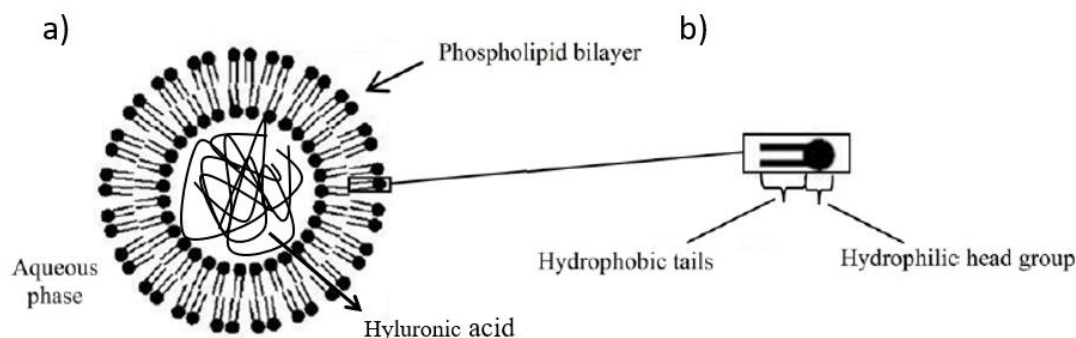
Zmíněné rozdíly implikují, že je slída lepší model chrupavky než sklo. V této sadě experimentů se tedy budou pozorovat rozdíly součinitelů tření mezi rozhraním chrupavka – sklo, a chrupavka – slída.



obr. 4-5 Modelování chrupavky. Schéma nakresleno na základě předlohy z reference [32] – strana 251.

Tyto povrchy byly mazány několika mazivami, která jsou uvedena v tabulce 4-4. První mazivo bylo PBS jakožto negativní kontrola. Druhé mazivo byla kyselina hyaluronová s molekulární hmotností 2200 kDa, která reprezentovala konvenční viskosuplementaci.

Třetím mazivem byla stejná kyselina hyaluronová společně s fosfolipidy (fosfatidylcholin). Tato kombinace představuje nový, optimalizovaný viskosuplement, který vyvíjí a dodává laboratoř biomechaniky člověka z Fakulty strojní ČVUT v Praze. Fosfolipidy byly uskupené do lipozomů a byla do nich zapouzdřena kyselina hyaluronová, viz obr. 4-6. Kdyby fosfolipidy byly pouze smíchány s HA, mohlo by docházet k shlukování fosfolipidů, což by pak mohlo vést k problémům při tvoření mezní vrstvy na povrchu chrupavky. Tím, že je HA zapouzdřena v lipozomu, je tedy docíleno vyšší stability tohoto viskosuplementu a ke shluku fosfolipidů nedojde. Navíc se lipozomy používají běžně v „Drug Delivery System“, kdy je lék vpravován právě do lipozomu [40].



obr. 4-6 (a) Fosfolipidy uskupené do lipozomu se zapouzdřenou HA [39]; (b) fosfolipid samotný [39].

Čtvrté mazivo byla modelová kapalina, což je model osteoartrické synoviální kapaliny. Složení modelové kapaliny je znázorněno v tab. 4-3. Složení této kapaliny bylo převzato z reference [7]. Všechny složky maziv byly rozpuštěny ve fyziologickém roztoku (PBS).

tab. 4-3 Složení modelové kapaliny.

Složení	Koncentrace (mg/ml)
albumin	24,9
γ-globulin	6,1
kyselina hyaluronová	1,49
fosfolipidy	0,34

tab. 4-4 Jednotlivá maziva pro druhou sadu experimentů.

Mazivo č.	Albumin mg/ml	γ-globulin mg/ml	HA mg/ml	PS mg/ml	Celková koncentrace mg/ml	Základová kapalina
1	–	–	–	–	–	PBS (1 ml)
2	–	–	5,74	–	5,74	PBS (1 ml)
3	–	–	5,74	0,5	6,24	PBS (1 ml)
4	24,9	6,1	1,49	0,34	32,83	PBS (1 ml)

Podmínky experimentů byly při druhé sadě následující:

- **Rychlost recipročního pohybu: 10 mm/s** – Pomalá chůze, konfrontace s literaturou.
- **Zatížení: 5 N** – Kontaktní tlak (dle Hertze) 0,4 MPa pro oba povrchy.
- **Doba jednoho měření: 300 s** – Dostatečný čas pro tvorbu mazacího filmu.
- **3x Rehydratace** – Pro posouzení vlivu rehydratace při tvorbě mazacího filmu.
- **Teplota: 37 °C** – Teplota lidského těla.
- **Opakovatelnost: 7** – Dostatečně velká opakovatelnost pro statistické zpracování výsledků.

4.4.3 Třetí sada experimentů – porovnávání viskosuplementů

V třetí sadě experimentů byla v konfiguraci pin-on-plate použita jako plate slída, neboť je díky svým mechanickým (modul pružnosti) a povrchovým (smáčivost, drsnost povrchu) vlastnostem lepší model chrupavky. Jako pin byla použita chrupavka.

Byla použita dvě maziva, která simulovala situaci, kdy je do osteoartrického kloubu vpraven viskosuplement. Došlo tedy ke smíchání MK a viskosuplementu. Nejprve smíchání klasického, konvenčního viskosuplementu na bázi kyseliny hyaluronové s MK a poté byl do modelové kapaliny vpraven viskosuplement na bázi fosfolipidů.

V obou případech se jednalo o směs modelové kapaliny a viskosuplementu v poměru 1 : 1. Poměr 1 : 1 je zvolen, protože je v synoviálním váčku okolo 4 ml synoviální kapaliny [7] a obvyklá dávka viskosuplementu je rovněž okolo 4 ml [12]. Všechny složky v obou mazivech byly rozpuštěny ve fyziologickém roztoku (PBS). Příslušná koncentrace těchto maziv je znázorněna v tab. 4-5. Podmínky experimentů byly stejné jako v druhé sadě experimentů.

tab. 4-5 Jednotlivá maziva pro třetí sadu experimentů.

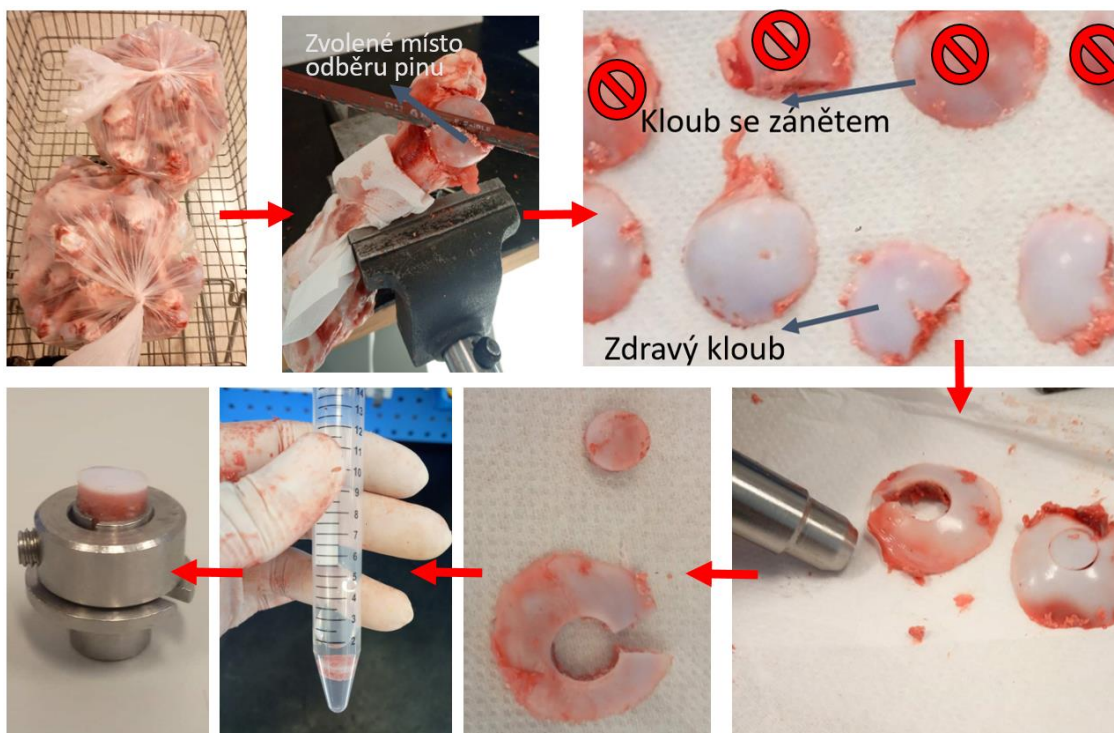
Mazivo č.	Albumin mg/ml	γ-globulin mg/ml	HA mg/ml	PS mg/ml	Celková koncentrace mg/ml	Základová kapalina
1	12,45	3,05	3,62	0,42	19,46	PBS (1 ml)
2	12,45	3,05	3,62	0,17	19,54	PBS (1 ml)

4.5 Metodika odběru vzorků chrupavky

V této diplomové práci byly experimenty prováděny na pinech chrupavky z proximální části vepřové kyčle. Aby se vzorky sobě co nejvíce podobaly a zamezilo se problémům s opakovatelností, postupovalo se při odběru vzorků podle několika zásad:

- Kosti, které jsou starší než jeden den, nebyly použity jako pin.
- Na kosti byla zvolena jedna oblast, kde byl pin odebrán.
- Z jedné kosti byl odebrán právě jeden pin.
- Pin, který byl nadměrně tlustý nebo tenký (vizuální kontrola), byl vyřazen.
- Načervenalé chrupavky nebyly použity.

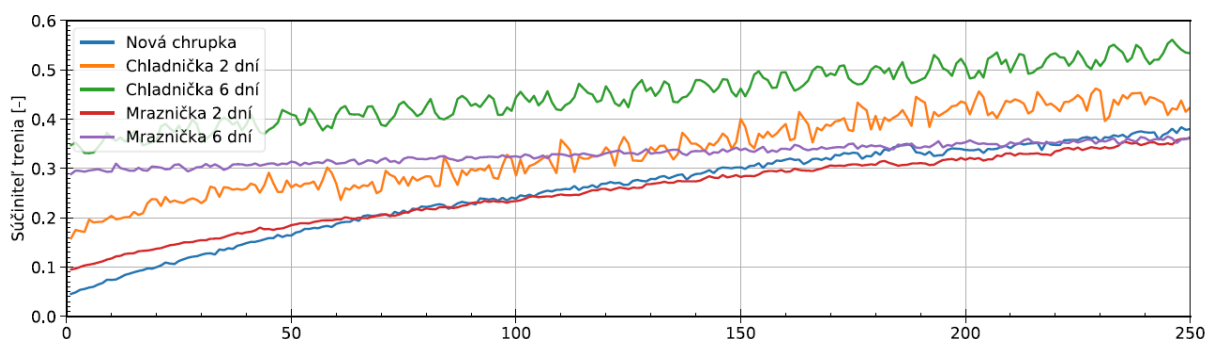
Postup procesu odběru vzorku je znázorněn na obrázku 4-7. Nejprve byly pořízeny čerstvé mražené kosti (ne déle jak 24 hodin po porážce), které byly neprodleně po nákupu zpracovávány. Byly upnuty do svěráku a na zvoleném místě se odebral vrchlík kosti tak, aby výška kulové výseče byla cca 7–10 mm, aby bylo možno pin upnout v objímce. Vyloučily se vrchlíky, které jsou zánětlivé (červené). Ze zdravých se odebraly piny pomocí vyřazecího zařízení a kladiva. Piny byly uchovávány ve fyziologickém roztoku, kvůli zachování slanosti a PH, a byly zmrazeny na $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$. Půl hodiny před měřením byly piny vytaženy z lednice a roztály při pokojové teplotě.



obr. 4-7 Proces odběru vzorků.

4.5.1 Uchování vzorků

Ukazuje se, že významný vliv na součinitel tření a mechanické vlastnosti chrupavky má i způsob uchovávání vzorků [29,31]. Součinitele tření se významně liší, pokud se nechává chrupavka v lednici, kde je teplota okolo 4 °C, nebo v mrazáku, kde je -20 °C. Ve studii [29] byly zkoumány součinitele tření pinů chrupavek, které byly „čerstvé“, 2 dny v lednici, 6 dní v lednici, 2 dny v mrazáku a 6 dní v mrazáku. Tyto piny byly mazány fyziologickým roztokem, zatěžovány silou 5 N a pohybovaly se rychlostí 10 mm/s. Z obr. 4-8 je patrné, že uchovávání vzorků v lednici má největší odchylky od součinitele tření nového pinu. Vzorky uchovávané v mrazáku naproti tomu vykazují chybu menší. Vzorek uchován v mrazu 2 dny má téměř totožný součinitel tření. Vzorek uchovaný v mrazu 6 dní má sice vyšší počáteční hodnotu součinitele tření, ovšem po nějaké době je součinitel tření stejný jako u nového vzorku.



obr. 4-8 Vliv uchovávání vzorků na součinitel tření [29].

Reference [31] se zabývala vlivem uchovávání vzorků na mechanické vlastnosti a zjistila, že zmrazení a následné roztátí vzorků nemá vliv na mechanické vlastnosti chrupavky. Na základě těchto poznatků se rozhodlo uchovávat vzorky v mrazáku, kde je teplota -22 °C.

4.6 Opakovatelnost měření a statistické metody

V biotribologii kloubní chrupavky je obecně obtížné dosáhnout dobré opakovatelnosti, obzvláště když se počítá s intersticiálním režimem mazání. U intersticiálního režimu mazání (např. při mazání PBS nebo kyselinou hyaluronovou) hraje velkou roli tloušťka chrupavky, množství kolagenových vláken, stav proteoglykanů a chondrocytů, mechanické vlastnosti atd. U tlustější chrupavky má intersticiální kapalina větší prostor pro svůj průchod, a tedy zatížení je přenášeno větším objemem kapaliny. U režimů, ve kterých vzniká mazací film (mazání proteiny, fosfolipidy), zase hraje roli spíše kondice chrupavky, zejména počet proteoglykanů (na které se váže kyselina hyaluronová a na ni fosfolipidy) nebo rozvlněnost kolagenové matrice, na které se adsorbují proteiny.

Všechny výše uvedené faktory mají významný vliv na součinitel tření a mohou se významně lišit pro jednotlivé piny. Nicméně při měření s vysokou opakovatelností a pomocí statistických metod bude možno získat směrodatné výsledky i pro variabilní soubor výsledků. Opakovatelnost pro první sadu experimentů bude zvolena 5, jelikož zde není zdaleka tolik variabilních proměnných jako v případě chrupavky. V druhé a třetí sadě experimentů, tedy v případě měření s chrupavkou, bude opakovatelnost zvolena 7. Tato opakovatelnost je zvolena, neboť některé vědecké časopisy takovouto opakovatelnost vyžadují. S takto relativně vysokou opakovatelností lze data interpelovat se směrodatnou odchylkou nebo se standardní chybou průměru.

4.6.1 Směrodatná odchylka

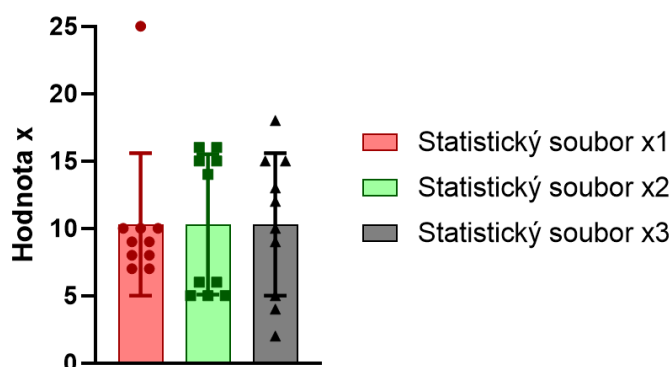
Výsledky variabilního statistického souboru lze interpretovat pomocí aritmetického průměru a směrodatné odchylky. Směrodatná odchylka je hodnota, která reprezentuje míru variability statistického souboru. Při předpokladu normálového rozložení leží cca 68 % hodnot v intervalu: *aritmetický průměr ± směrodatná odchylka*. V anglické literatuře se směrodatná odchylka označuje SD (z anglického standard deviation) [35].

Směrodatnou odchylku lze vypočítat z rovnice [35]:

$$SD = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (2)$$

kde s je směrodatná odchylka, N je počet členů statistického souboru, \bar{x} je aritmetický průměr, x_i jsou dílčí hodnoty statistického souboru [35].

Příklad interpretace výsledků se směrodatnou odchylkou je znázorněna na obr. 4-9. Všechny tři statistické soubory (červený, zelený a šedý) lze interpretovat pomocí aritmetického průměru a směrodatné odchylky. Aritmetický průměr všech statistických souborů x_1 , x_2 , a x_3 je 10,3 a směrodatná odchylka pro všechny tři soubory je 5,3. Jednotlivé body znázorňují jednotlivé hodnoty x_i statistického souboru.



obr. 4-9 Směrodatná odchylka.

4.6.2 Střední chyba průměru

Další možný statistický nástroj pro interpretaci variabilního souboru výsledků je pomocí střední chyby průměru. Toto je statistický nástroj, který se ve vědecké literatuře velmi často používá. Výsledky pomocí střední chyby průměru se interpretují podobně, jak tomu bylo u směrodatné odchyly: *aritmetický průměr ± střední chyba průměru*. Střední chyba průměru se často označuje „SEM“ (Z anglického „Standard error of the mean“). Tato hodnota se vypočítá z rovnice (3) [35]:

$$SEM = \frac{SD}{\sqrt{N}} \quad (3)$$

kde SD je směrodatná odchylnka a N je počet prvků statistického souboru.

5 VÝSLEDKY

5.1 První sada měření – ověření hydratačního mazání

Hlavním úkolem této kapitoly je ověřit, jestli hydratační režim mazání funguje i v makroměřítku. Většina studií [25,26,32], které se hydratačním mazáním zabývají používají pro měření tření tohoto režimu mimořádně nízká normálová zatížení (jednotky mikro Newtonů). Tato kapitola se bude snažit dokázat tento režim mazání při reálnějších zatížení.

V případě, že by teoretický model hydratačního mazání fungoval i v makroměřítku, měly by být součinitele tření u smáčivějších povrchů nižší při mazání HA + PS. To hlavně díky tomu, že hydratační mazání funguje díky výměně molekul vody pomocí difuze mezi fosfolipidy. V případě, že je v kontaktu více vody (díky smáčivosti povrchu), bude více prostoru pro tuto difuzi a tím pádem nižší tření.

Úkolem této kapitoly je tedy dát do souvislosti smáčivost povrchu se součinitelem tření. Nejprve byly změřeny smáčivosti povrchů, které byly pro tuto studii k dispozici, a poté se vůči sobě třely různé kombinace těchto povrchů.

5.1.1 Měření smáčivostí povrchů

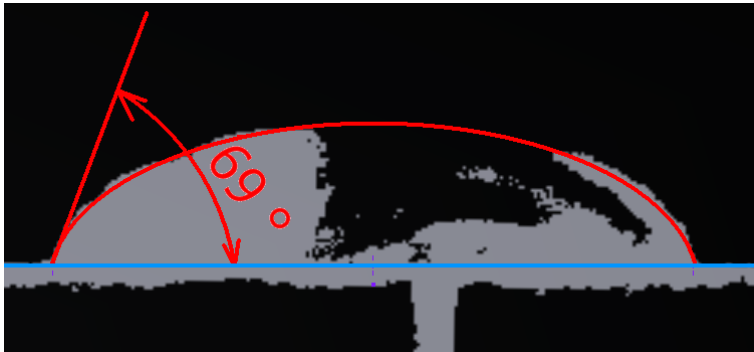
Výsledky měření smáčivosti vybraných povrchů jsou popsány v této kapitole. Obr. 5-1 ilustruje, jak vypadaly destičky s kapkou vody, u kterých byla smáčivost měřena. Obr. 5-2 ukazuje výsledek měření smáčivosti slídy, obr. 5-3 PMMA, obr. 5-4 UHMWPE, obr. 5-5 Sklo. Smáčivost PEEKu byla převzata z reference [34], neboť byl k dispozici pouze pin PEEKu, na kterém by se smáčivost měřila obtížně.



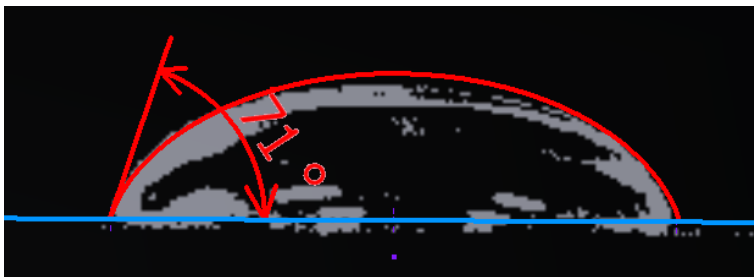
obr. 5-1 Měření smáčivosti povrchů.



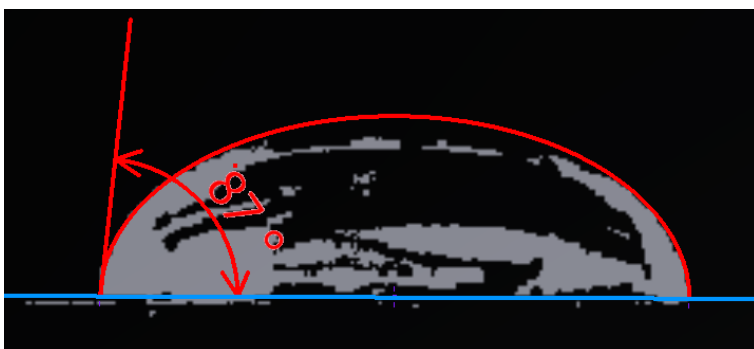
obr. 5-2 Měření smáčivosti povrchu: slída.



obr. 5-3 Měření smáčivosti povrchu: PMMA.



obr. 5-4 Měření smáčivosti povrchu: UHMWPE.



obr. 5-5 Měření smáčivosti povrchu: sklo.

Smáčivosti povrchu jsou zobrazeny v tab. 5-1 na další stránce.

tab. 5-1 Součinitele tření v závislosti na smáčivosti.

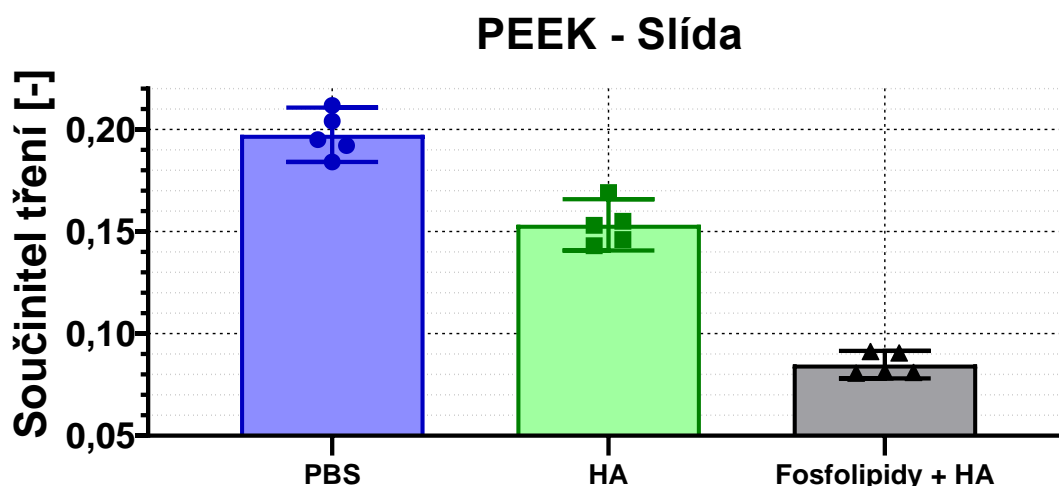
Povrch	Slída	PMMA	UHMPWE	Sklo	PEEK
smáčivost [°]	61	69	71	87	77,6 [34]

5.1.2 Měření součinitelů tření

Celkem byly zvoleny 4 rozhraní. Výsledky jsou interpretovány pomocí sloupcových grafů. Dílčí body v grafu jsou jednotlivá měření, sloupec znázorňuje aritmetický průměr výsledků a je zde zobrazena i směrodatná odchylka měření.

PEEK – slída

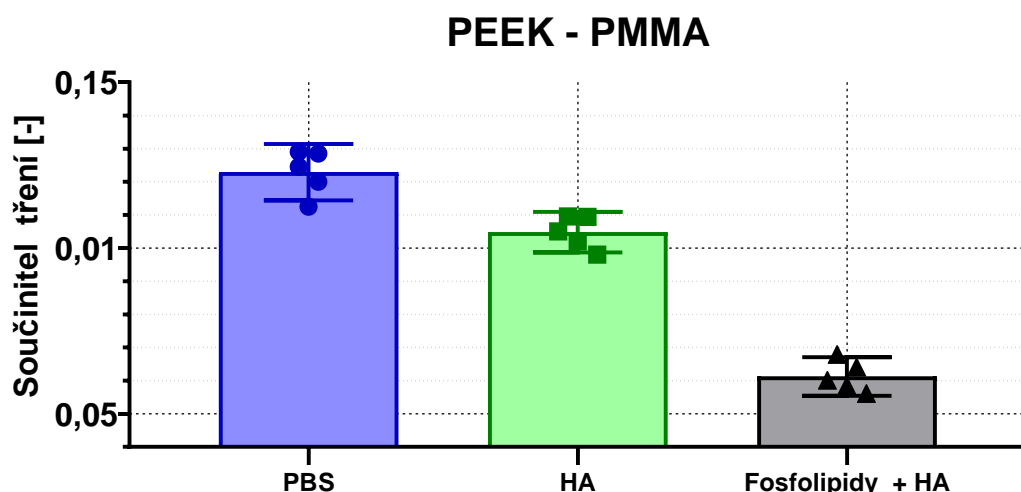
Součet úhlů smáčivosti je 139°. Jedná se tedy o nejsmáčivější kombinaci. Nejvyšším součinitelem tření disponuje mazivo PBS: 0,197. Následuje kyselina hyaluronová, která má součinitel tření 0,153. Nejnižším součinitelem tření disponuje kyselina hyaluronová v kombinaci s fosfolipidy: 0,085. Procentuální pokles součinitele tření fosfolipidů + HA oproti PBS je 57 % a oproti samotné HA 45 %.



obr. 5-6 Součinitel tření dvojice PEEK – slída.

PEEK – PMMA

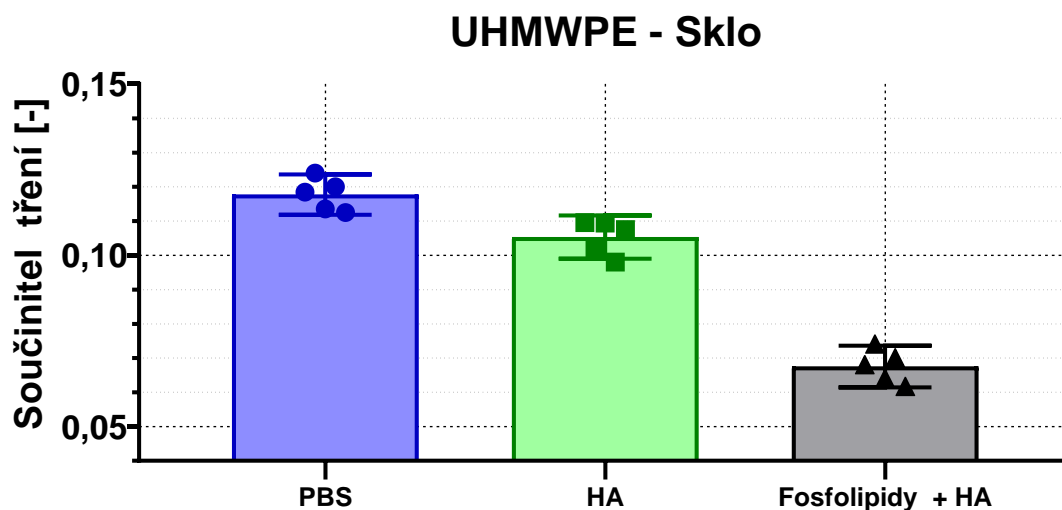
Součet úhlů smáčivosti je 147°. Nejvyšší součinitel tření má opět dvojice mazaná PBS: 0,123. Druhá v pořadí je kyselina hyaluronová: 0,104 a nejnižší součinitel tření má opět kombinace fosfolipidů a HA: 0,061. Procentuální pokles součinitele tření fosfolipidů + HA oproti PBS je 50,1 % a oproti samotné HA 41,6 %.



obr. 5-7 Součinitel tření dvojice PEEK – PMMA.

UHMWPE – SKLO

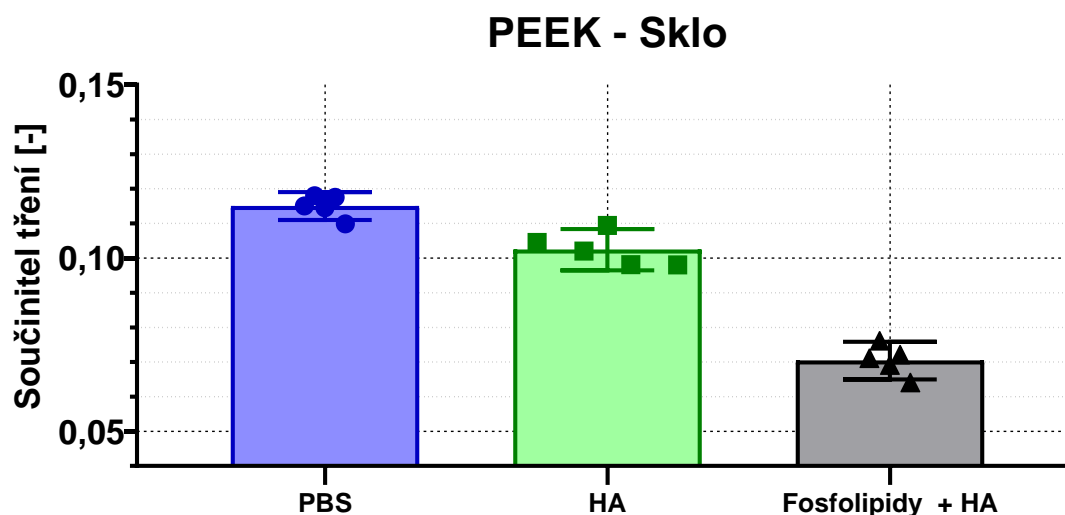
Součet úhlů smáčivosti je 158°. Nejvyšší součinitel tření má dvojice mazaná PBS: 0,117. Druhá v pořadí je kyselina hyaluronová: 0,105, a nejnižší součinitel tření má opět kombinace fosfolipidů a HA: 0,067. Procentuální pokles součinitele tření fosfolipidů + HA oproti PBS je 42,6 % a oproti samotné HA 35,9 %.



obr. 5-8 Součinitel tření dvojice UHMWPE – sklo.

PEEK – sklo

Tato dvojice má reprezentovat nejméně smáčivé povrchy. Součet kontaktních úhlů smáčivosti je 165°. Nejvyšší součinitel tření má opět dvojice mazaná PBS: 0,115. Druhá v pořadí je kyselina hyaluronová: 0,102. Součinitel tření pro kombinaci fosfolipidů a kyseliny hyaluronové je opět nejnižší: 0,070. Procentuální pokles součinitele tření fosfolipidů + HA oproti PBS je 38,8 % a oproti samotné HA 31,2 %.



obr. 5-9 Součinitel tření dvojice UHMWPE – sklo.

Veškeré hodnoty součinitelů tření včetně směrodatné odchylky jsou zobrazeny v tab. 5-2. Všechny dvojice mají nejvyšší součinitel tření při mazání PBS a o něco nižším součinitelem tření disponuje samotná HA a nejnižší součinitel tření mají dvojice mazané fosfolipidy společně s kyselinou hyaluronovou. Nižší součinitel tření HA oproti PBS může být způsoben zejména reologií (viskozitou) kyseliny hyaluronové. Nižší součinitel tření kombinace fosfolipidů a HA není způsoben reologií, ale hydratačním mazáním.

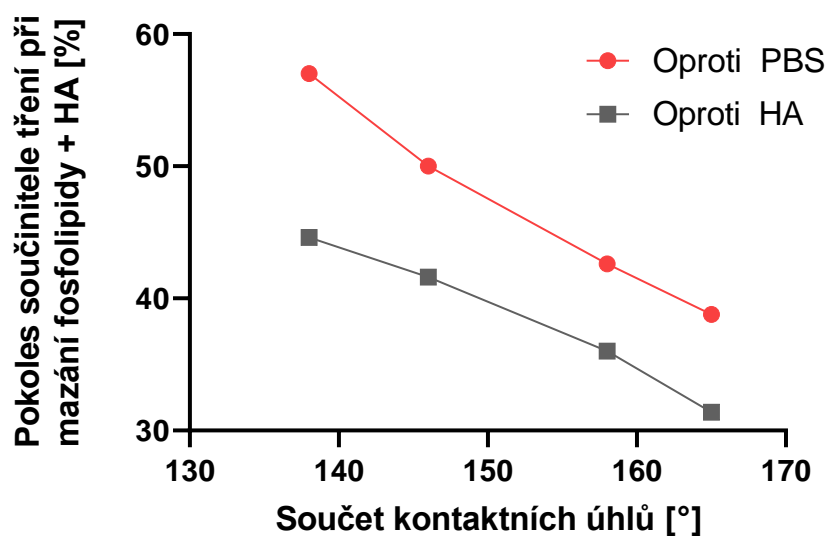
V případě mazání slída jsou součinitele tření PBS a HA vyšší než u ostatních dvojic. To je způsobeno tím, že slída je křehký materiál a při zatížení docházelo k jejímu drolení. Při mazáním fosfolipidy + HA však ke drolení nedocházelo, což mohlo být způsobeno ochranným mezným filmem.

tab. 5-2 Součinitele tření v závislosti na smáčivosti.

	SMÁČIVOST [°]	SOUČ. TŘENÍ PBS [-]	SOUČ. TŘENÍ HA [-]	SOUČ. TŘENÍ HA + PS [-]
PEEK – slída	139	0,197 ± 0,011	0,153 ± 0,011	0,085 ± 0,005
PEEK – PMMA	147	0,123 ± 0,014	0,104 ± 0,007	0,061 ± 0,005
UHMWPE – sklo	158	0,117 ± 0,005	0,105 ± 0,005	0,067 ± 0,005
PEEK – sklo	165	0,115 ± 0,004	0,102 ± 0,005	0,070 ± 0,004

Pro pozorování role smáčivosti při mazání a tření by se mohlo zdát vhodné vzít hodnotu součinitele tření při mazání fosfolipidy + HA. Nicméně ne u každé dvojice bylo použito stejné zatížení a kontaktní tlaky. Navíc drobení slídy způsobovalo vyšší součinitel tření. Proto se bude brát v potaz procentuální rozdíl změny součinitele tření, když byly dvojice mazány fosfolipidy + HA oproti PBS a HA.

Jak lze pozorovat z obr. 5-10, s nižším součtem kontaktních úhlů (se smáčivějším rozhraním) nastává větší pokles součinitelů tření. Z toho lze usuzovat, že smáčivosti povrchů při mazání fosfolipidy + HA hrají významnou roli a lze předpokládat, že zde hraje hlavní roli hydratační režim mazání.



obr. 5-10 Procentuální pokles součinitelů tření.

5.2 Druhá sada experimentů – tření a mazání chrupavky

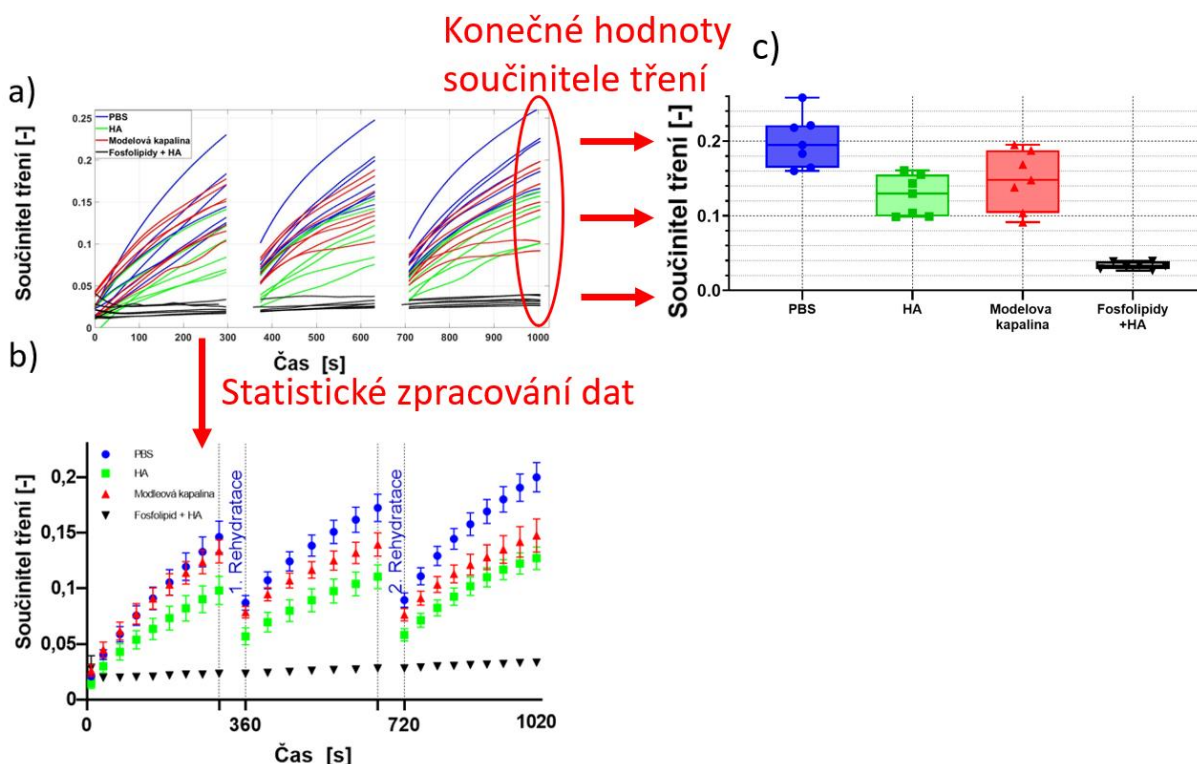
Úkolem této kapitoly je zjistit, jakou roli hrají dílčí složky synoviální kapaliny při mazání a tření kloubní chrupavky v kontextu optimalizace viskosuplementace. Proto zde byla použita maziva PBS jakožto negativní kontrola výsledků, HA jakožto reprezentant konvenčního viskosuplementu, fosfolipidy + HA jakožto reprezentant optimalizovaného viskosuplementu. Poslední mazivo byla modelová kapalina, což je reprezentant látky, která je přítomná v kloubech pacientů s osteoartrózou. Výsledky těchto experimentů se následně budou srovnávat s hodnotami třetí sady experimentů, kde se bude zkoumat součinitel tření viskosuplementů v reálných podmínkách (při smíchání s modelovou kapalinou).

Další úkol této kapitoly bylo zjistit, jestli je (často používané) sklo vhodné pro biotribologické experimenty nebo jestli by sklo nešlo nahradit lepším materiálem (modelem), který se více podobá chrupavce (například svou smáčivostí).

Předchozí kapitola ukázala, že smáčivost povrchů hraje významnou roli, pokud jsou povrchy mazány fosfolipidy + HA. V této kapitole se bude zkoumat role smáčivosti destičky při tření a mazání kloubní chrupavky pro maziva zmíněná výše. Na základě výsledků z kapitoly 5-1 byly vybrány dvě destičky. Jedna reprezentuje smáčivý povrch a druhá povrch nesmáčivý. Rerezentantem smáčivého povrchu je slída. Zejména proto, že v kapitole 5-1 se ukázalo, že slída je z vybraných povrchů nejsmáčivější a nejvíce snížila součinitel tření při mazání fosfolipidy + HA oproti HA samotné a oproti PBS. Dále byla slída použita, aby bylo možno porovnávat výsledky měření se studii [25,26], kde slídu použili. Jako druhý povrch bylo zvoleno sklo. Sloužilo jako reprezentant méně smáčivého povrchu a bylo zvoleno také kvůli konfrontaci s literaturou, neboť řada studií, které se zabývají třením chrupavky [16,19–23], používá také sklo.

Výsledky v této kapitole budou reprezentovány pomocí grafu závislosti součinitele tření na čase s vyznačeným rozptylem, viz obr. 5-11 (b). Tento bude zobrazovat střední chybu průměru, která byla vysvětlena v kapitole 4-6. Tento graf bude sloužit hlavně pro pozorování, jak se součinitel tření vyvíjí s časem pro různá maziva a povrchy.

Další směrodatná hodnota, která byla prezentována v této a příští kapitole, byla konečná hodnota součinitele tření, viz obr. 5-11 (c). Tento krabicový graf vyznačuje směrodatnou odchylku, aritmetický průměr a druhý a třetí kvartil statistického souboru. Tyto hodnoty budou sloužit pro porovnávání hodnot součinitele tření.



obr. 5-11 Interpretace výsledků: (a) součinitel tření v závislosti na čase; (b) statisticky zpracované součinitele tření v závislosti na čase; (c) konečné hodnoty součinitele tření.

5.2.1 Chrupavka – sklo

První měření byla provedena na rozhraní chrupavka – sklo. Výsledky jsou zobrazeny na obr. 5-12. Opakovatelnost měření byla zvolena 7, což znamená, že je na grafu poměrně velké množství dat, viz obr. 5-12 (a). Statisticky zpracovaná data jsou zobrazena na obr. 5-12 (b).

Hodnoty před první rehydratací

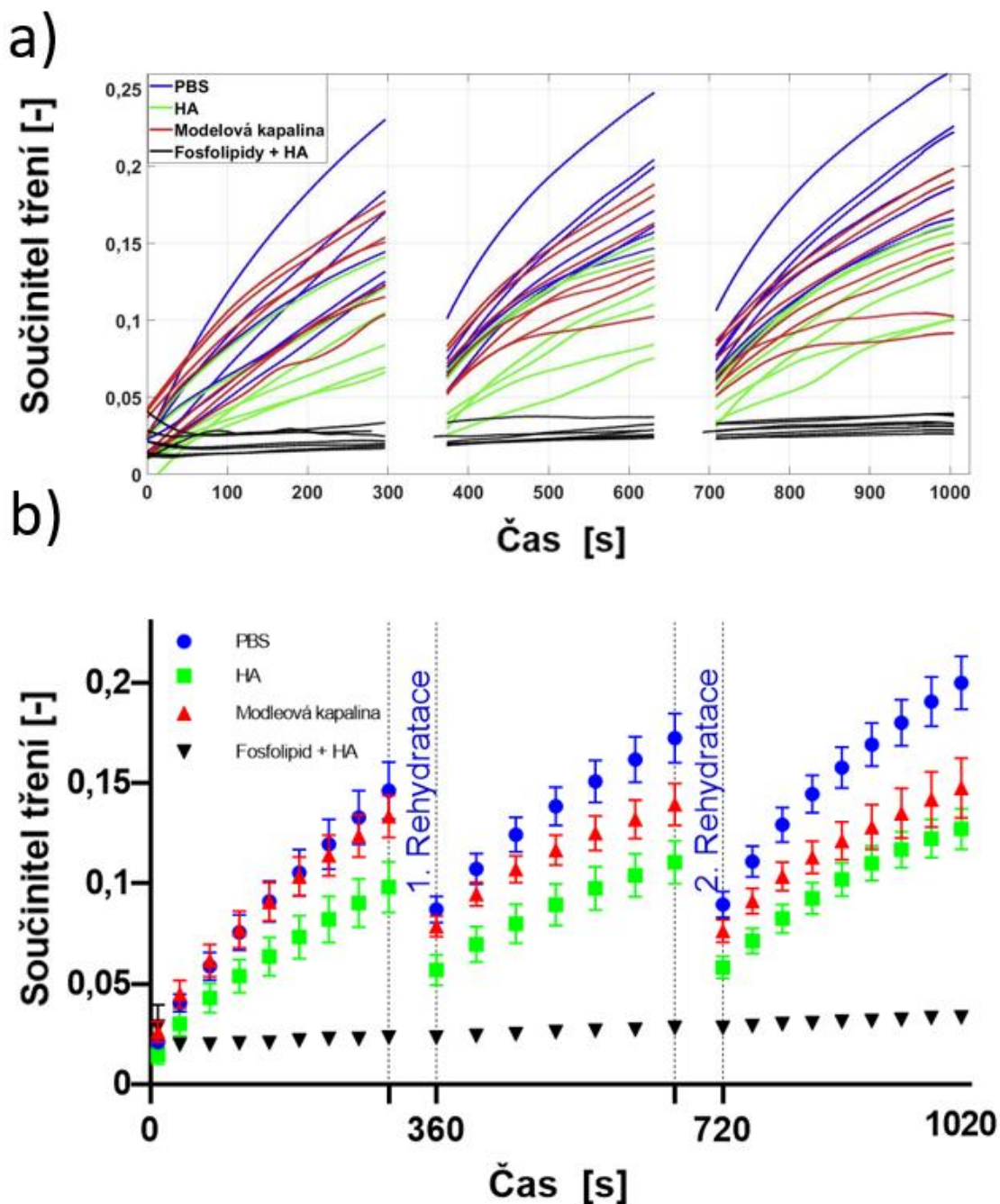
V případě hodnot před první rehydratací má nejvyšší součinitel tření mazivo PBS. V prvních 200 sekundách měření se hodnoty součinitele tření PBS a modelové kapaliny shodují, ale posledních 100 sekund je součinitel tření PBS o něco vyšší. Hodnoty součinitele tření u kyseliny hyaluronové jsou celou dobu nižší než u PBS a u modelové kapaliny. Kombinace fosfolipidů a kyseliny hyaluronové disponuje nejnižším součinitelem tření. Zde došlo v prvních sekundách k poklesu součinitele tření a pak se hodnota ustálila na téměř konstantní hodnotě.

Hodnoty po první rehydrataci

Situace po první rehydrataci je podobná. Nejvyšším součinitelem tření disponuje PBS, následuje modelová kapalina, kyselina hyaluronová a nejnižším třením opět disponuje kombinace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů. Počáteční hodnoty všech součinitelů tření jsou o poznání vyšší než počáteční hodnoty před první rehydratací. Konečné hodnoty v případě kyseliny hyaluronové a PBS jsou vyšší než konečné hodnoty před první rehydratací. V případě modelové kapaliny je hodnota součinitele tření téměř totožná s hodnotou před první rehydratací. Kombinace fosfolipidů a HA má nadále mírně stoupající průběh a podstatně nižší tření.

Hodnoty po druhé rehydrataci

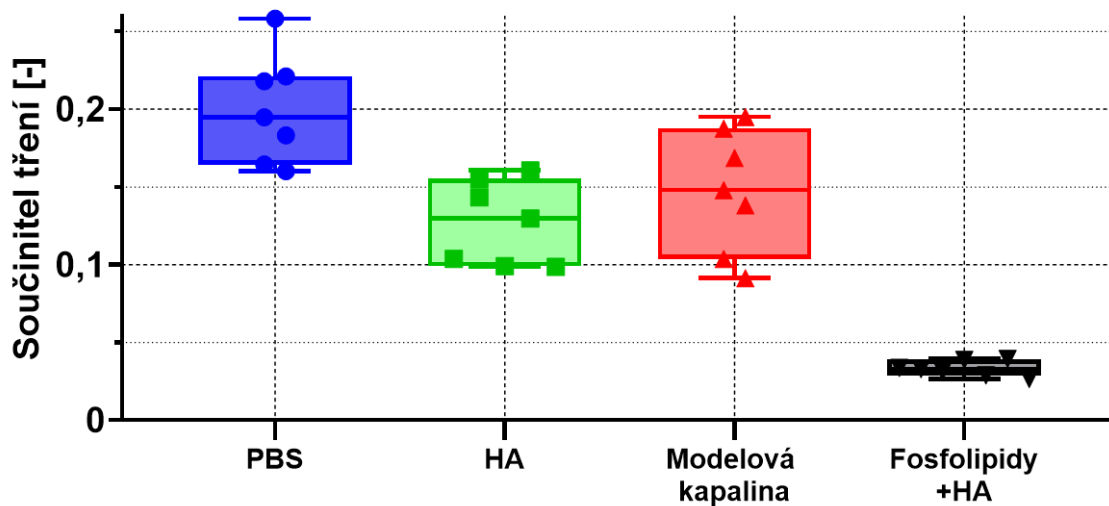
Hodnoty a tvary součinitelů tření jsou podobné jako po první rehydrataci. Počáteční hodnoty součinitelů tření jsou téměř stejné jako v situaci po první rehydrataci. Konečná hodnota součinitele tření u PBS a kyseliny hyaluronové se opět zvýšila oproti konečným hodnotám po první rehydrataci. Hodnota součinitele tření modelové kapaliny je přibližně stejná jako po první rehydrataci. Součinitel tření kombinace fosfolipidů a kyseliny hyaluronové zůstává výrazně nejnižší.



obr. 5-12 Součinitele tření v závislosti na čase: (a) jednotlivá měření; (b) statisticky zpracovaná data.

Hodnota součinitele tření chrupavky mazané PBS a HA s přibývajícím rehydratací stoupá, kdežto v případě modelové kapaliny zůstává spíše konstantní. Tento fakt lze přisoudit tomu, že v případě HA a PBS dominuje spíše intersticiální režim mazání, kdežto u modelové kapaliny se tvoří mezní film, který je zodpovědný za stabilnější hodnotu součinitele tření. Nicméně u modelové kapaliny lze stále pozorovat logaritmický průběh součinitele tření. Může zde tedy vznikat jakási kombinace mezního mazání (proteinový mezní film popsán ve studii [20]) a intersticiálního mazání.

Na obr. 5-13 je zobrazen krabicový graf konečných součinitelů tření včetně směrodatné odchylky měření, druhého a třetího kvartilu statistického souboru výsledků. Lze vidět, že nejvyšším součinitelem tření disponuje PBS a nejnižším kombinace HA a fosfolipidů. O něco vyšším součinitelem tření, než HA disponuje modelová kapalina. Je patrné, že u maziv, u kterých se předpokládá intersticiální režim mazání, je vyšší rozptyl výsledků (PBS, HA, MK). V přísadě fosfolipidů je součinitel tření nízký a má malý rozptyl výsledků. To napovídá tomu, že zde dominuje mezní režim mazání, který je velmi stabilní.



obr. 5-13 Konečné součinitele tření v konfiguraci chrupavka – sklo.

5.2.2 Chrupavka – slída

Hodnoty před první rehydratací

Obr. 5-14. znázorňuje výsledky na rozhraní chrupavka – slída. V případě součinitele tření před první rehydratací má nejvyšší tření kyselina hyaluronová, následuje PBS, modelová kapalina a nejnižší tření má kombinace fosfolipidů a kyseliny hyaluronové. U prvních tří maziv dochází zezáčátku k poměrně nízkému tření, které velmi rychle roste. Po několika okamžicích však dojde k ustálení. To se týká všech maziv, kromě kombinace fosfolipidů a kyseliny hyaluronové. Tam dojde nejprve k mírnému poklesu součinitele tření a pak k ustálení. Z toho lze usuzovat fakt, že trvá několik okamžiků, než se mezný film z fosfolipidů na slídě či chrupavce vytvoří.

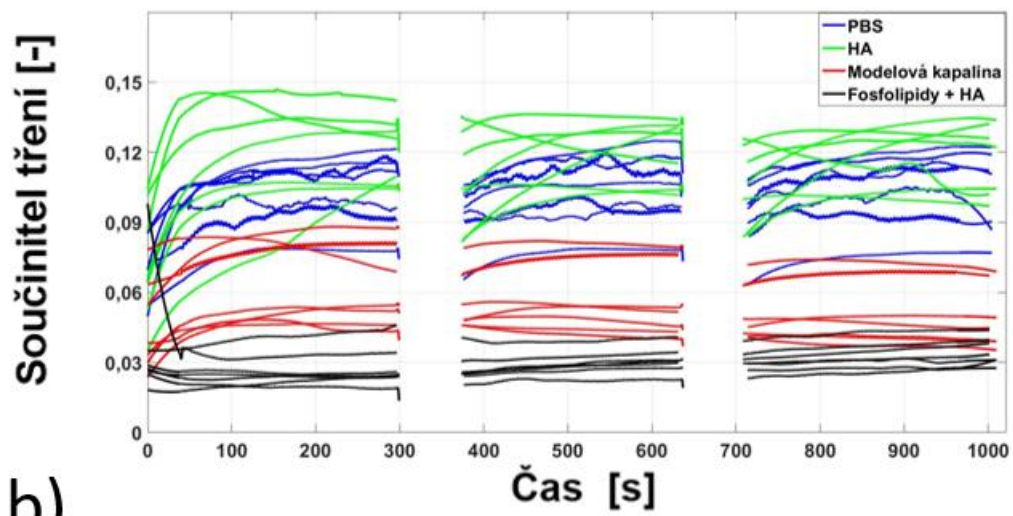
Hodnoty po první rehydrataci

Součinitele tření po první rehydrataci jsou velmi podobné těm před první rehydratací. Na rozdíl od skla je zde součinitel tření vysoký již v prvních okamžicích měření. V případě kyseliny hyaluronové a PBS dochází k mírnému nárůstu součinitele tření, který se postupně ustálí. Konečná hodnota součinitele tření u PBS a kyseliny hyaluronové je přibližně stejná jako konečná hodnota před první rehydratací. U modelové kapaliny nedochází zpočátku k téměř žádnému nárůstu součinitele tření. Naopak celou dobu dochází spíše k mírnému poklesu. V případě kyseliny hyaluronové a fosfolipidů dochází také celou dobu k mírnému nárůstu součinitele tření. Po druhé rehydrataci nastává totožná situace jako po první rehydrataci.

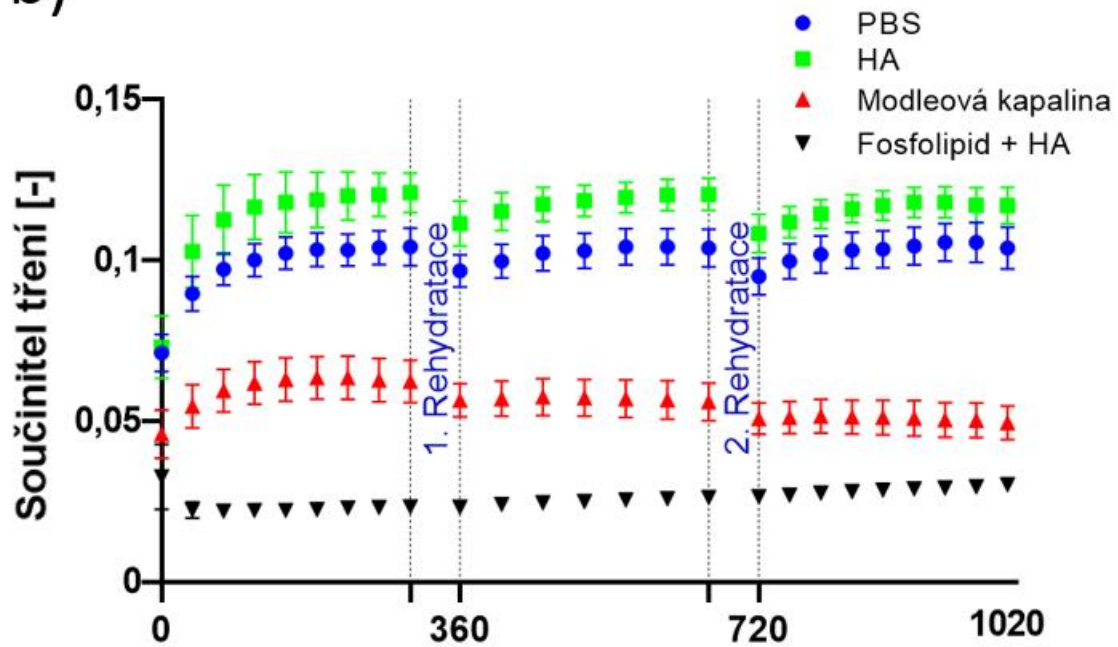
Hodnoty po druhé rehydrataci

Po druhé rehydrataci nastává totožná situace jako po první rehydrataci. Součinitel tření u kyseliny hyaluronové a PBS opět zezáčátku mírně roste a poté se ustálí. V případě modelové kapaliny součinitel tření začíná na nižší hodnotě než konečná hodnota po první rehydrataci a celou dobu klesá. V případě fosfolipidů lze opět pozorovat mírný nárůst součinitele tření po celou dobu.

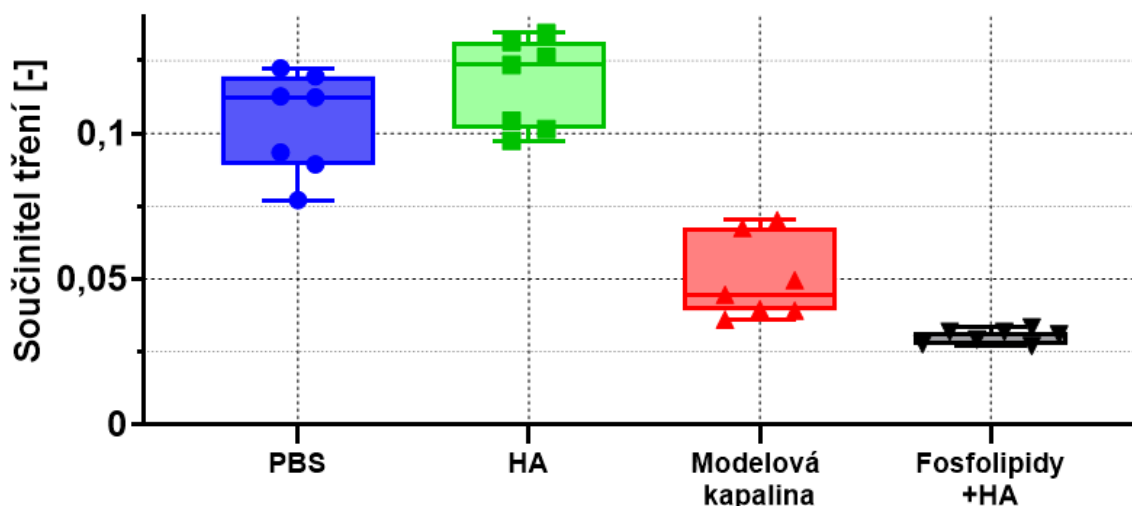
a)



b)



obr. 5-14 Součinitele tření v závislosti na čase: (a) jednotlivá měření; (b) statisticky zpracovaná data.



obr. 5-15 Konečné součinitele tření v konfiguraci chrupavka – sklo.

Krabicový graf na obr. 5-15 znázorňuje konečné hodnoty součinitelů tření. Kyselina hyaluronová disponuje vyšším součinitelem tření než v případě PBS. To je opačná situace než u skla. Modelová kapalina má poměrně nízký součinitel tření, ale stále má poměrně vysoký rozptyl výsledků. Kombinace fosfolipidů a kyseliny hyaluronové má opět nejnižší tření s nejnižším rozptylem. Lze také globálně pozorovat, že hodnoty součinitelů tření u slídy jsou vyšší než v případě skla.

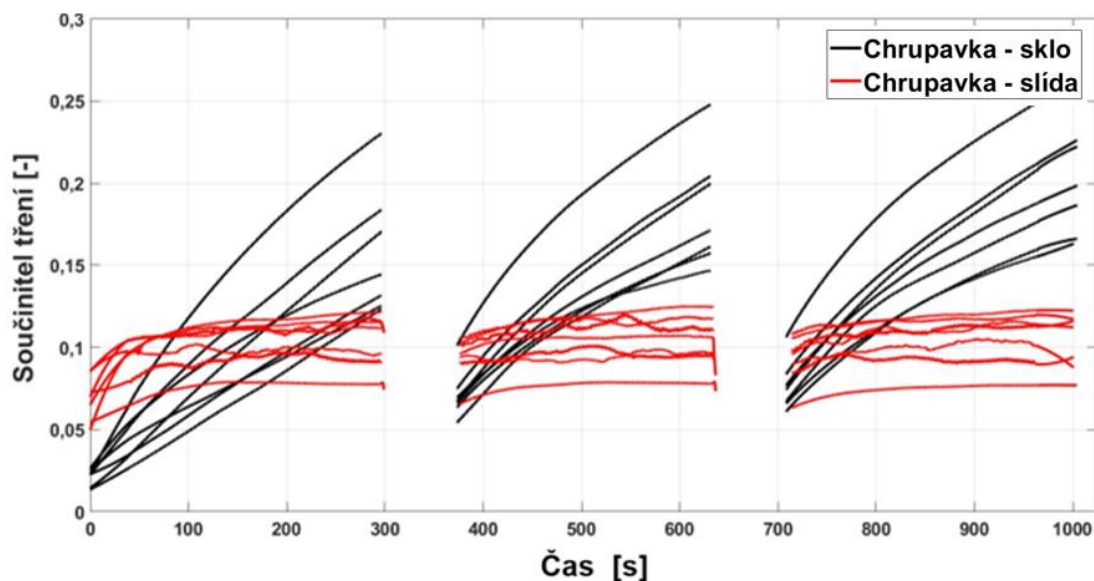
5.2.3 Srovnání součinitelů tření pro různé povrchy

V následující kapitole bude diskutováno, jaký má vliv materiál destičky na tření chrupavky při mazání různými mazivy.

Mazání povrchů PBS

Na obr. 5-16 lze pozorovat závislost součinitele tření chrupavky, která se třela proti slídě a sklu a byla mazána PBS. Je patrné, že u skla je součinitel tření o poznání vyšší a průběh součinitele tření je logaritmický, což napovídá tomu, že zde dominuje intersticiální režim mazání. Dále v případě skla lze pozorovat vyšší rozptyl výsledků než u slídy. Průběh součinitele tření slídy má tendenci být spíše konstantní. To znamená, že sklo maže lépe prvních několik vteřin, než odteče intersticiální mazivo.

Rozdíly ve velikosti a tvaru součinitele tření lze vysvětlit tím, že slída je velmi porózní a je schopna do sebe „nasát“ jisté množství vody. Tím zde do jisté míry nastává intersticiální mazání i ze strany slídy.

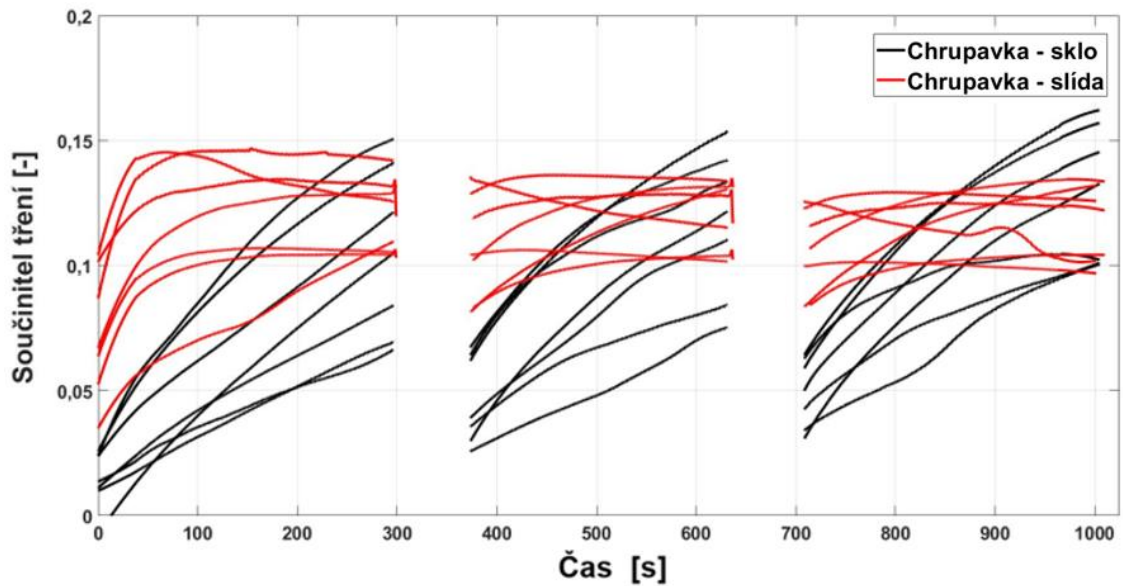


obr. 5-16 Průběh součinitelů tření pro mazání PBS.

Mazání povrchů kyselinou hyaluronovou

Na obr. 5-17 jsou zobrazeny výsledky při mazání chrupavky kyselinou hyaluronovou. V případě skla zde opět nastává logaritmický průběh součinitelů tření a v případě slídy spíše konstantní až klesající hodnota součinitele tření. U skla lze pozorovat logaritmický průběh součinitele tření a s přibývajícím rehydratací nárůst součinitele tření, kdežto u slídy s přibývajícím rehydratací součinitel tření spíše klesá.

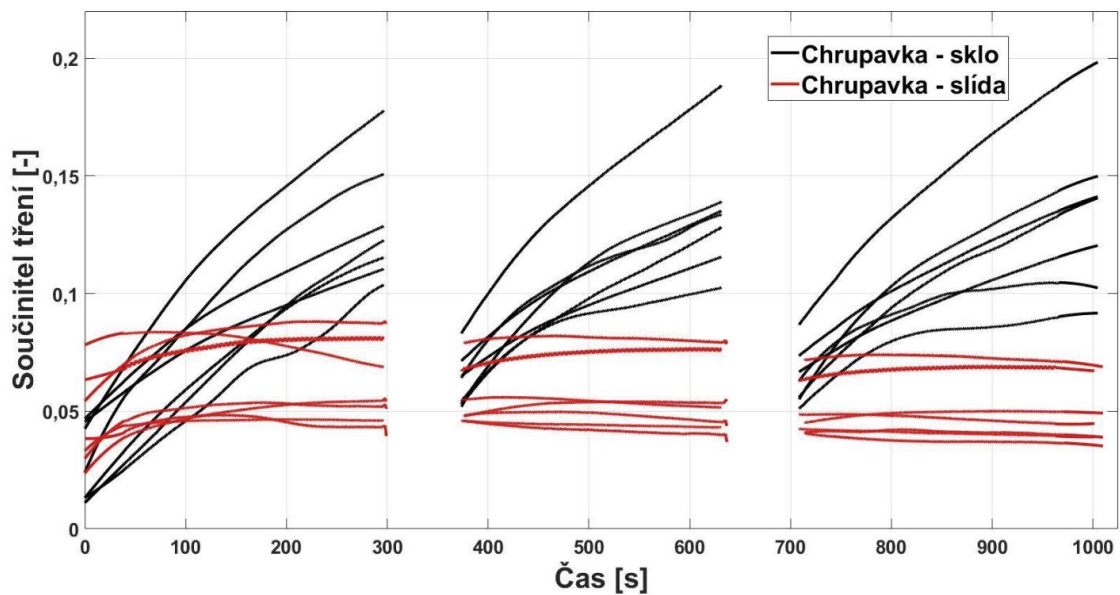
Lze tedy usuzovat, že u skla opět dominuje intersticiální mazání, kdežto u slídy může být dominantnější mezní režim mazání. To může být způsobeno buď vyšší smáčivostí slídy, nebo tím že slída je porózní. Dlouhé řetězce kyseliny hyaluronové se tedy snadněji zachytí do porózní slídy než do skla a dojde k meznímu režimu mazání, který popisuje reference [12]. Tedy že jsou v kontaktu řetězce kyseliny hyaluronové a její „klubková“ struktura je „rozplétána“. V případě skla k tomuto fenoménu nedochází, neboť je o dost hladší, na sklo se nezachytávají řetězce HA, a proto zde spíše může dominovat intersticiální mazání.



obr. 5-17 Průběh součinitelů tření pro mazání kyselínou hyaluronovou.

Mazání povrchů modelovou kapalinou

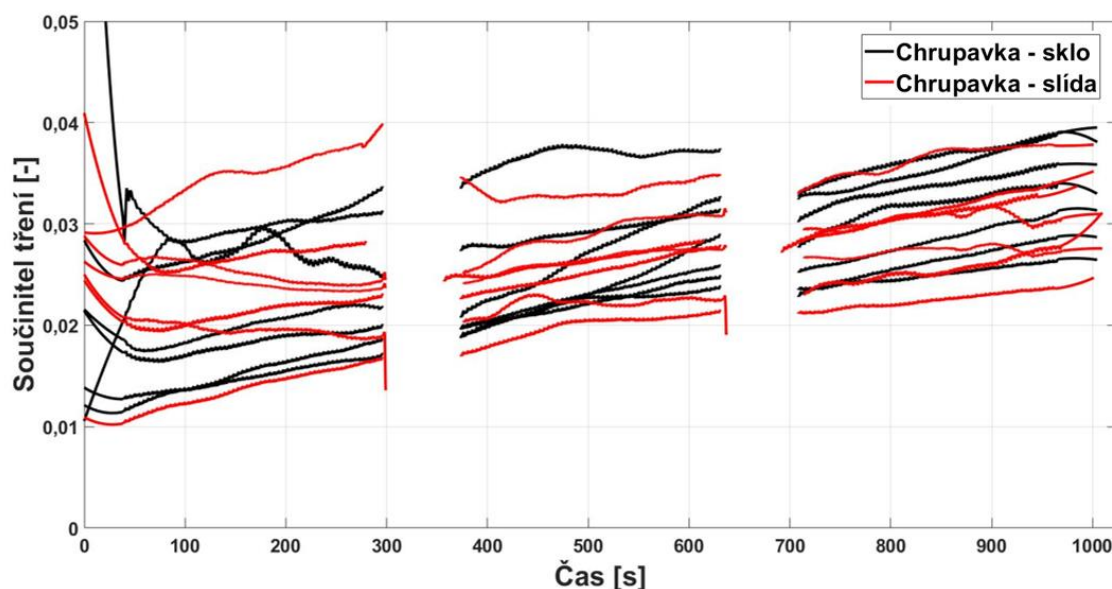
Na obr. 5-18 jsou zobrazeny dva povrchy mazané modelovou kapalinou. Opět u skla dochází k logaritmickému průběhu součinitele tření, v případě slídy ke konstantnímu. V případě slídy dochází k poklesu součinitele tření s časem a k o poznání nižším hodnotám součinitele tření. Lze si též všimnout, že i po každé rehydrataci dojde k poklesu počátečního součinitele tření oproti konečné hodnotě před rehydratací. Toto chování lze vysvětlit tím, že se na slídě formuje relativně stabilní mezní film. Díky tomu, že se po každé rehydrataci součinitel tření sníží, lze usuzovat, že se mezní film formuje, když je chrupavka a slída v klidu. Logaritmický průběh součinitele tření u skla implikuje opět intersticiální mazání i v případě mazání modelovou kapalinou.



obr. 5-18 Průběh součinitelů tření pro mazání modelovou kapalinou.

Mazání povrchů fosfolipidy s kyselinou hyaluronovou

Na obr. 5-19 jsou zobrazeny dva povrchy mazané dvojicí fosfolipidů a kyseliny hyaluronové. Součinitele tření jsou podstatně nižší než v případě zbylých tří maziv (pro oba povrchy 0,02–0,04). Pro oba povrchy lze pozorovat rostoucí trend součinitele tření bez rozdílu povrchu. Nejedná se však o logaritmický nárůst, ale spíše o lineární nárůst. Výsledky se od sebe moc neliší.



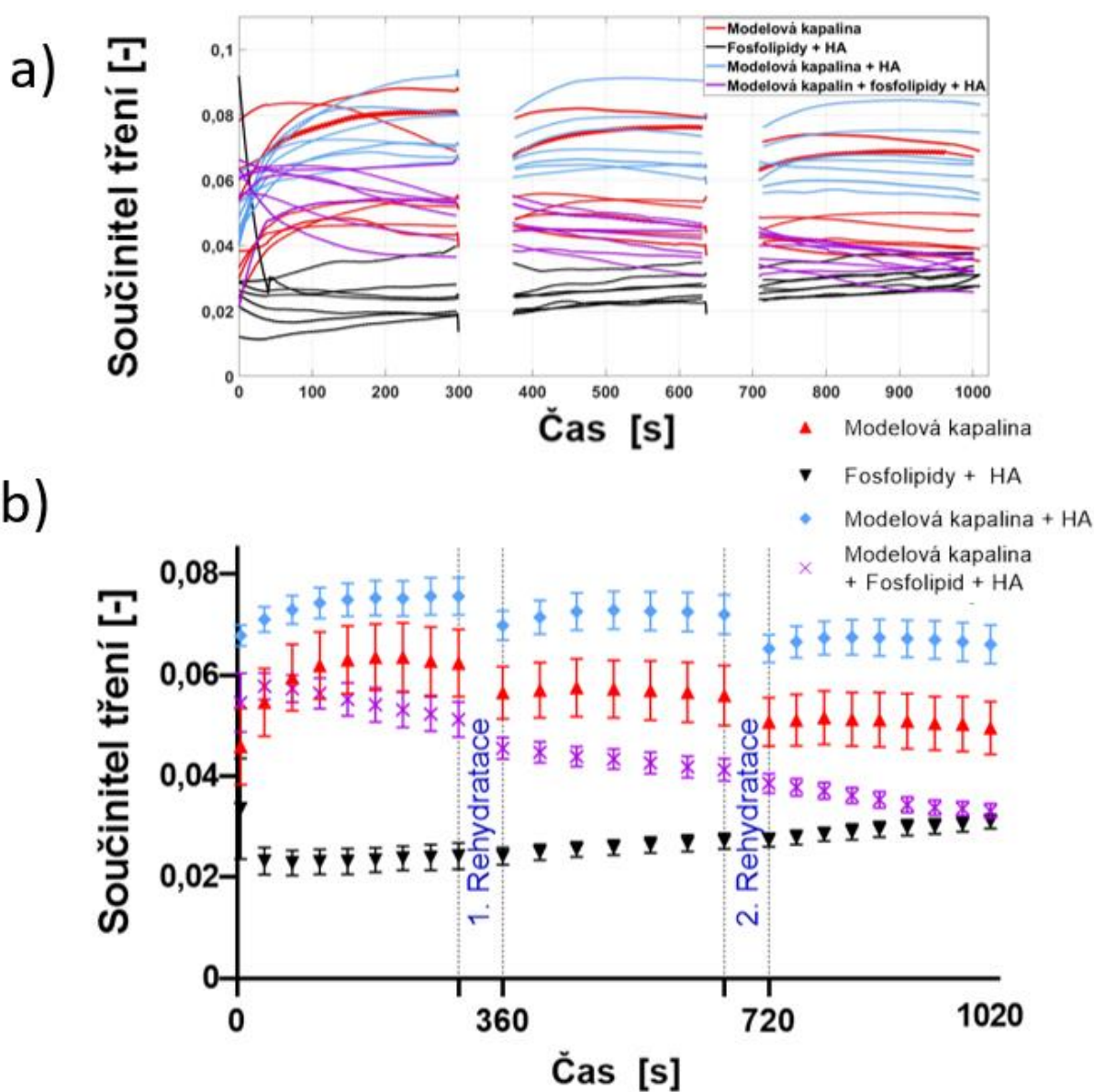
obr. 5-19 Průběh součinitelů tření pro mazání fosfolipidy s kyselinou hyaluronovou.

5.3 Třetí sada experimentů – srovnání viskosuplementů

V třetí sadě měření se zkoumal přínos viskosuplementace na bázi kyseliny hyaluronové v kombinaci s fosfolipidy. Aby bylo možno porovnat přínos viskosuplementace, musejí se experimenty provádět v podmínkách, které jsou v lidském těle. Viskosuplement se tedy musí smíchat s modelovou synoviální kapalinou, tak aby poměr viskosuplementu ku synoviální kapalině odpovídal situaci, kdy se do lidského kloubu tento přípravek vpraví. Byly tedy provedeny dva experimenty. V jednom byla kyselina hyaluronová (zástupce konvenčního viskosuplementu) smíchána v poměru 1 : 1 s modelovou kapalinou. Druhé mazivo byla kombinace fosfolipidů a kyseliny hyaluronové (reprezentant nového viskosuplementu) v poměru 1 : 1 opět s modelovou kapalinou. Jako destička pro měření byla zvolena slída, neboť je lepší model chrupavky. Zejména díky její drsnosti, porozitě a smáčivosti (podrobněji diskutováno v kapitole 6.2.2)

Na grafu 5-20 jsou zobrazeny závislosti součinitelů tření na čase pro zmíněné dvě situace. Dále je zde zobrazena i modelová kapalina a směs fosfolipidů a kyseliny hyaluronové. Tyto hodnoty jsou zobrazeny pro pozorování, jak se součinitel tření mění při smíchání těchto složek.

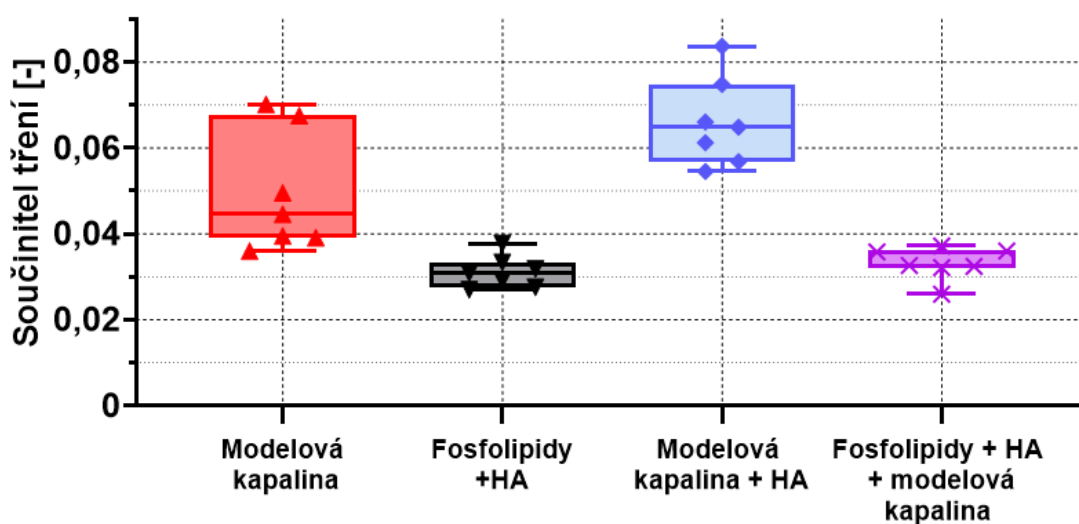
V případě všech tří maziv, která obsahují modelovou kapalinu, dochází k poklesu součinitele tření s časem. V případě modelové kapaliny samotné a modelové kapaliny s kyselinou dojde nejprve k mírnému nárůstu součinitele tření, která se po cca prvních dvou minutách ustálí. Dále lze u obou maziv pozorovat pokles součinitele tření s přibývajícím rehydratací. Tento fakt lze přisuzovat výše zmíněnému fenoménu tvorby mezního proteinového filmu modelové kapaliny. Nicméně přidáním kyseliny hyaluronové do roztoku modelové kapaliny může dojít k narušení mechanismu tvorby proteinového filmu, a proto se součinitel tření po přidání HA zvýšil oproti samotné modelové kapalině.



obr. 5-20 Srovnání viskosuplementů: (a) jednotlivá měření; (b) statisticky zpracovaná data.

Obdobná situace nastává u modelové kapaliny s fosfolipidy a HA. Součinitel tření má tendenci prvních několik sekund stoupat, ale po cca minutě začíná klesat. Je zde zachován pokles součinitele tření po každé rehydrataci. Na rozdíl od předchozích dvou maziv dochází k poklesu součinitele tření nejen po dílčí rehydrataci, ale významně i v průběhu mazání. To může být způsobeno tím, že ze začátku není formován žádný mezní film, neboť proteinový mezní film vzniká až po nějaké době. Postupem času však dojde k významnému poklesu součinitele tření až na hodnoty okolo 0,03, což jsou stejné hodnoty součinitele tření jako pro fosfolipidy a kyselinu hyaluronovou, viz obr. 5-21. Z toho lze usuzovat, že kombinace modelové kapaliny s fosfolipidy a HA tvoří mezní film až po jisté době. Z těchto výsledků lze usuzovat, že i při smíchání nového viskosuplementu (fosfolipidy + HA) s modelovou kapalinou dojde k nízkým hodnotám součinitele tření.

Tyto výsledky jednoznačně poukazují na funkčnost a možný potenciál tohoto přípravku jakožto budoucího viskosuplementu.



obr. 5-21 Krabicový graf – srovnání viskosuplementů.

6 DISKUSE

Diplomová práce se zabývala třením a mazáním kloubní chrupavky v kontextu vývoje nové viskosuplementace na bázi kombinace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů. Pracovní hypotéza byla taková, že kombinace fosfolipidů a kyseliny hyaluronové bude generovat mimořádně nízký součinitel tření díky hydratačnímu režimu mazání a celá diplomová práce se snažila odpovědět na vědeckou otázku: „Jaký vliv má kyselina hyaluronová v kombinaci s fosfolipidy na mazání a tření kloubní chrupavky?“

6.1 Vliv smáčivosti povrchů na mazání modelových tkání

Úkolem této kapitoly bylo zjistit, jestli mechanismus hydratačního režimu mazání funguje i v makroměřítku. Hydratační režim mazání byl totiž doposud měřen pouze v mikroměřítku na zařízení „surface force balance“ při normálových zatíženích řádově v jednotkách μN [25,26].

Hydratační režim mazání (a tedy i nízké tření) by mělo být dominantnější v případě, že jsou povrchy smáčivé. To zejména kvůli tomu, že smáčivé povrchy na sebe daleko lépe vážou molekuly vody. A jak bylo zmíněno několikrát výše, hydratační mazání znamená výměny molekul vody mezi fosfolipidy pomocí difuze, což je doprovázeno nízkým třením. Jestliže hydratační mazání funguje i v makroměřítku, měly by být součinitele tření ve při mazání HA+PS nižší ve smáčivém rozhraní.

Experimenty byly provedeny na čtyřech různě smáčivých rozhraních. Výsledkem této sady měření bylo, že procentuální pokles součinitele tření při mazání fosfolipidy + HA oproti HA samotné a oproti PBS byl vyšší v případě smáčivějších dvojic. Jinými slovy, čím smáčivější bylo rozhraní, tím více se snížilo tření při mazání HA + PS. Z toho tedy lze říct, že tato kapitola potvrdila že hydratační režim mazání doopravdy funguje i v makroměřítku.

6.2 Vliv smáčivosti na tření a mazání kloubní chrupavky

V druhé sadě experimentů byly vybrány dva povrchy na základě první sady experimentů: slída a sklo, a zkoumal se vliv smáčivosti povrchů na tření a mazání kloubní chrupavky pro různé složky synoviální kapaliny. Hlavním úkolem této kapitoly bylo nalézt lepší model chrupavky místo hojně používaného skla.

6.2.1 Tření a mazání chrupavky vůči sklu

Při měření součinitele tření v konfiguraci chrupavka – sklo docházelo k logaritmickému průběhu tření u maziv PBS, HA a modelové kapaliny. Globálně nejvyšší tření bylo pozorováno v případě mazání PBS. Vzhledem k logaritmickému průběhu součinitele tření se předpokládá intersticiální režim mazání. Nejvyšší součinitel tření v případě PBS tedy může být způsoben (relativně) nízkou viskozitou. Tím, že je kapalina málo viskózní, vyvozuje malý odpor vůči průtoku v kolagenové matici. Tím dojde k rychlejšímu odtoku intersticiální kapaliny, která přenáší zatížení, a dojde k rychlejšímu nárůstu součinitele tření, než je tomu například u kyseliny hyaluronové. Další věc, která byla u PBS pozorována, je, že po první i po druhé rehydrataci součinitel tření vzrostl. Jak počáteční hodnota, tak konečná. To může být způsobeno tím, že je postupem času více poškozená, kolagenová vlákna jsou rozvlákněná, a to vede ke zvýšení součinitele tření. Druhá možnost, proč k tomuto nárůstu součinitele tření dochází, je, že nebyla zvolena dostatečně dlouhá doba pro rehydrataci chrupavky, a tedy se do ní nestačilo vrátit příslušné množství intersticiální kapaliny. Naměřená hodnota součinitele tření pro PBS před první rehydratací byla $0,146 \pm 0,037$, po první rehydrataci $0,172 \pm 0,032$ a po druhé rehydrataci $0,2 \pm 0,035$. Hodnoty součinitelů tření se shodují s literaturou [37], kde se součinitele tření pohybovaly mezi 0,16–0,18. V případě této studie nedocházelo k nárůstu součinitele tření mezi dílčími rehydratacemi. Autoři však prováděli rehydrataci podobu pěti minut, kdežto v této práci byla rehydratace zvolena pouze jednu minutu. Tudíž nárůst součinitele tření mezi dílčími rehydratacemi v této práci je nejspíše způsoben nedostatečnou dobou rehydratace. Ve studii [19] bylo rovněž použito PBS jako mazivo chrupavky, která se třela proti sklu. Autoři prováděli měření podobu jedné hodiny, kde byl součinitel tření 0,214. Nicméně v kratším časovém horizontu se součinitele tření shodovaly, a to i přesto, že použili rychlost 1 mm/s (oproti 10 mm/s v této studii) a zatížení 10 N (oproti 5 N v této studii). Ve studii [18] se opět třela chrupavka vůči sklu, ale bylo použito zatížení 5 N a rychlost 60 mm/s. Součinitele tření se opět rámcově shodovaly s výsledky této práce.

Naměřená hodnota součinitele tření pro mazání HA před první rehydratací byla $0,098 \pm 0,032$, po první rehydrataci $0,11 \pm 0,029$ a po druhé rehydrataci $0,127 \pm 0,027$. Je zde možno pozorovat podobné trendy růstu součinitelů tření po každé rehydrataci jako v případě PBS. Nicméně hodnoty součinitele tření jsou o poznání nižší. To může být způsobeno vyšší viskozitou kyseliny hyaluronové. S vyšší viskozitou klade kapalina vyšší odpor při protékání maticí. Tím pádem je intersticiální mazání o poznání efektivnější. Hodnoty součinitele tření pro mazání HA v této práci se shodují s výsledky z práce [22]. V této studii autoři (mimo jiné) třeli chrupavku vůči sklu a mazali ji HA s molekulovou hmotností 920 kDa o koncentraci 5 mg/ml. Použili zatížení 9,8 N a rychlost 20 mm/s. I přes tyto rozdílné podmínky experimentů si jsou součinitele tření velmi podobné. Konečné součinitele tření po třech minutách byly okolo hodnoty 0,11, což rámcově odpovídá výsledkům této studie.

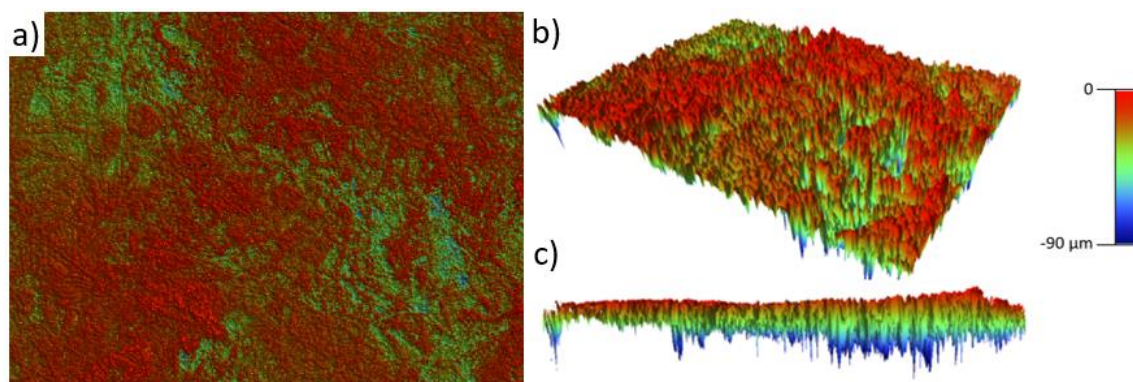
Dalším mazivem v této sadě měření byla modelová kapalina. Naměřená hodnota součinitele tření před první rehydratací byla $0,133 \pm 0,028$, po první rehydrataci $0,139 \pm 0,028$ a po druhé rehydrataci $0,147 \pm 0,04$. Modelová kapalina má nižší součinitel tření oproti PBS, ale vyšší oproti mazání HA. Z tohoto poznatku lze usuzovat, že HA je v případě skla lepší mazivo než modelová kapalina. Jako v předchozích měřeních lze pozorovat zvýšení součinitele tření po každé rehydrataci. Nicméně tento nárůst součinitele tření není tak vysoký jako v případě HA nebo PBS. Z toho lze usuzovat, že zde panuje jakási kombinace intersticiálního režimu mazání (kvůli logaritmickému průběhu součinitele tření) a mezného mazání (díky menším nárůstům). Krom toho i literatura připouští tvorbu mezného filmu z proteinů [20,22]. Tyto výsledky jsou poměrně unikátní, neboť v žádné studii o biotribologii kloubní chrupavky doposud nebylo použito odpovídající složení modelové kapaliny, která respektuje reálné složení synoviální kapaliny v lidském těle. Nicméně existují studie, které používají mazivo, jež připomíná modelovou kapalinu ze studie [7], která byla použita v této práci. Ve studii [22] byl jako mazivo použit roztok, kde bylo 14 mg/ml albuminu, 7 mg/ml γ -globulinu, 5 mg/ml kyseliny hyaluronové a 0,1 mg/ml fosfolipidů. To je složení, které se poměrně liší od modelové kapaliny použité v této studii. Obzvláště se liší koncentrace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů. Výsledky jejich součinitelů tření byly okolo 0,03, což neodpovídá hodnotám v této studii. Důvodem může být, že měření prováděli při pokojové teplotě, nikoli při 37 °C. Měli i jiné složení modelové kapaliny, použili zatížení 9,8 N a rychlost 20 mm/s.

Posledním mazivem v této sadě experimentů byla kombinace fosfolipidů s kyselinou hyaluronovou. Naměřená hodnota součinitele tření před první rehydratací byla $0,023 \pm 0,06$, po první rehydrataci $0,028 \pm 0,005$ a po druhé rehydrataci $0,033 \pm 0,005$. Na rozdíl od předchozích maziv zde nedochází k logaritmickému nárůstu součinitele tření, ale spíše k lineárnímu. To, že zde nenastává logaritmický průběh součinitele tření, napovídá tomu, že zde nenastává intersticiální mazání, ale spíše mezné. Hodnoty součinitele tření se řádově shodují se studií [27], kde autoři naměřili součinitel tření okolo 0,025, když byla šlacha mazána kombinací fosfolipidů a kyseliny hyaluronové. A to i přesto, že autoři použili podstatně nižší zatížení (0,4 N) a nižší rychlosti.

6.2.2 Tření a mazání chrupavky vůči slídě

Kontakt slída – chrupavka byl opět mazán výše zmíněnými čtyřmi mazivy. Lze globálně pozorovat nižší součinitele tření než v případě skla. Dále je zde možno pozorovat spíše konstantní průběhy součinitelů tření než logaritmické.

Naměřená hodnota součinitele tření pro PBS před první rehydratací byla $0,104 \pm 0,016$, po první rehydrataci $0,103 \pm 0,015$ a po druhé rehydrataci $0,104 \pm 0,017$. Lze pozorovat poměrně stabilní hodnotu součinitele tření oproti mazání skla. Vzhledem k tomu, že slída je hrubá (R_a 9,4, R_z 108,8, viz obr. 6-1), může v ní docházet k určitému intersticiálnímu mazání nejen ze strany chrupavky, ale i ze strany slídy, neboť lokální prohlubně mohou představovat malé rezervoáry s mazivem, které napomáhají mazání v případě PBS. Tím lze vysvětlit nejen nižší součinitel tření, ale i konstantní průběh tření (oproti logaritmickému).



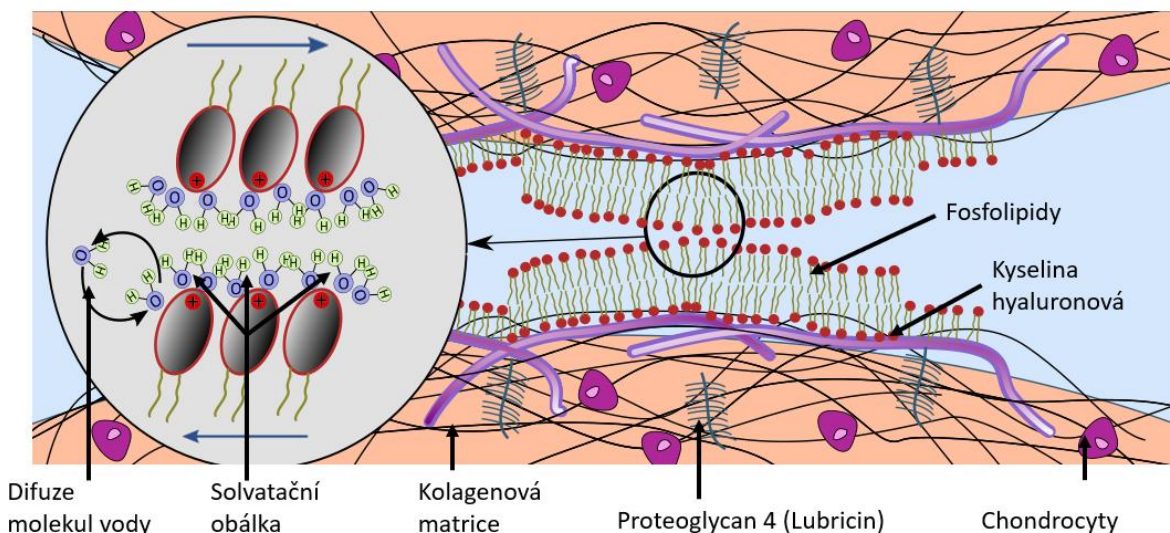
obr. 6-1 Struktura povrchu slídy: (a) pohled shora; (b) izometrický pohled; (c) pohled z boku.

To samé platí i pro mazání HA, kde jsou součinitele tření před první rehydratací $0,121 \pm 0,016$, po první rehydrataci $0,12 \pm 0,013$ a po druhé rehydrataci $0,117 \pm 0,015$. Hodnoty součinitele tření jsou opět spíše konstantní. Oproti PBS je součinitel tření při mazání HA o něco větší, což může být způsobeno mechanismem zmíněným v referenci [12]: ve slídě se zachytávají klubka řetězců kyseliny hyaluronové, která se recipročním pohybem „rozmotávají“, což vede k vyššímu tření [13]. Hodnoty součinitele tření při mazání slídy kyselinou hyaluronovou jsou o poznání nižší než v referenci [25]. Tam byl součinitel tření dvou plátů slídy, které byly mazány HA, naměřen 0,3. Tato hodnota nicméně měřila nanomolekulární interakce řetězců kyseliny hyaluronové a vůbec zde nebyly zohledněny reologické podmínky, které nastávají v chrupavce.

Součinitel tření pro mazání chrupavky a slídy modelovou kapalinou byl před první rehydratací $0,062 \pm 0,017$, po první rehydrataci $0,056 \pm 0,016$ a po druhé rehydrataci $0,049 \pm 0,014$. Součinitel tření je opět podstatně nižší než u skla. Dále má součinitel tření tendenci s časem klesat, což může být způsobeno tím, že trvá nějakou dobu, než se utvoří stabilní mezný film na površích, podobně jako to je ve studii [36] v případě modelu umělého kyčelního kloubu nebo v případě studie [20] při tvorbě mezného filmu na chrupavce.

V případě kombinace fosfolipidů a kyseliny hyaluronové, součinitele tření před první rehydratací byly $0,023 \pm 0,05$, po první rehydrataci $0,026 \pm 0,003$ a po druhé rehydrataci $0,03 \pm 0,002$. Naměřené součinitele jsou o něco nižší než v případě skla pro stejné mazivo. A to i přes to že slída je o poznání drsnější než opticky vyhlazené sklo, a tření by mělo být vyšší, neboť když je poddajný materiál v kontaktu s tvrdším a hrubším materiálem, obvykle dochází k vyššímu tření.

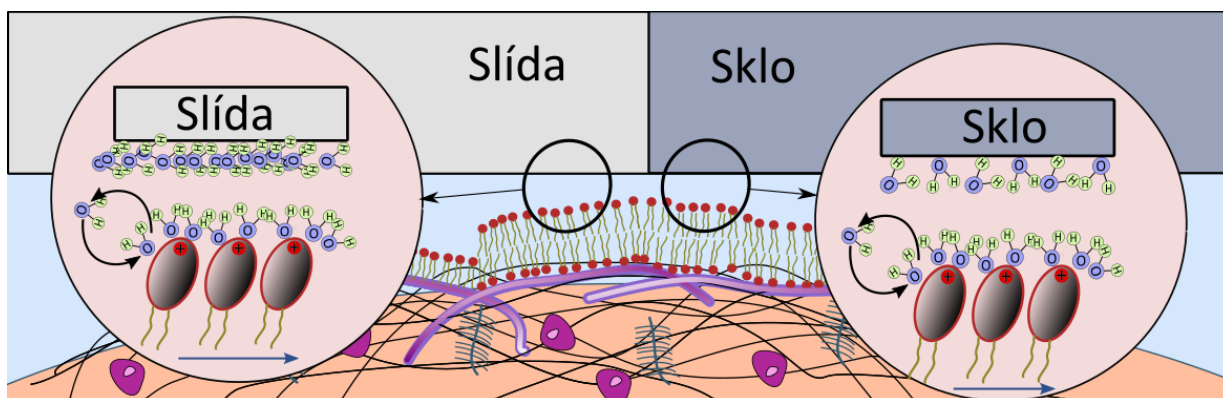
Výsledky této kapitoly odpovídají na vědeckou otázku: „Jaký vliv má kyselina hyaluronová v kombinaci s fosfolipidy na mazání a tření kloubní chrupavky?“ Na základě měření je zjevné, že kombinace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů hraje klíčovou roli při mazání a tření kloubní chrupavky vzhledem k tomu, že z porovnávaných maziv měla vždy nejnižší součinitel tření. Tím se i potvrdila pracovní hypotéza: „Kyselina hyaluronová spolu s fosfolipidy budou generovat mimořádně nízký součinitel tření díky hydratačnímu režimu mazání.“ Tento hydratační režim mazání je zobrazen na obr. 6-2. Na kolagenovou matici a proteoglykany je navázaná kyselina hyaluronová, na kterou se navážou fosfolipidy. Fosfolipidy se navážou na HA buď jako jednovrstva (hydrofobní část fosfolipidu se naváže na hydrofobní část kyseliny hyaluronové), nebo jako dvojevrstva (hydrofilní část fosfolipidu se naváže na negativně nabitě polymerní řetězce kyseliny hyaluronové), nebo kombinace obojího [32]. Vždy jsou v kontaktu hlavy fosfolipidů, které díky své molekulární podstatě generují tzv. „hydratation shell“ (v češtině se někdy překládá jako solvatační obal). Tento obal je vrstva molekul vody, které jsou navázány na pozitivně nabitě molekuly (v tomto případě pozitivně nabitá hlava fosfolipidu). V případě vzájemného pohybu hlav fosfolipidu (tedy celého kloubu) dochází k difuzi molekul vody, což doprovází mimořádně nízké tření.



obr. 6-2 Hydratační mazání chrupavky – nakresleno na základě schématu z reference [32] – strana 251.

Obr. 6-3 znázorňuje hydratační režim mazání v případě experimentů na rozhraní chrupavka – slída a chrupavka – sklo. Z tohoto obrázku je patrné, proč je slída dobrý model chrupavky. Je smáčivější, tím pádem se na ni vážou molekuly vody podobně jako na chrupavku. Ovšem na chrupavce se molekuly vody navazují na hlavu fosfolipidu, kdežto v případě slídy se voda váže přímo na její povrch. Nicméně to nebrání hydratačnímu mazání. Sklo je oproti slídě méně smáčivé, a tedy molekuly vody jsou méně přitahovány k povrchu. To vede k tomu, že je v kontaktu méně vody a méně prostoru pro její difuzi (která generuje nízké tření).

Rozhraní chrupavka – slída generovala stejně nízké součinitele tření jako rozhraní chrupavka – sklo v případě mazání kyselinou hyaluronovou s fosfolipidy. A to i přes to, že je daleko hrubší než opticky vyhlazené sklo. Když se totiž tře poddajný povrch oproti tvrdšímu hrubému (chrupavka – slída v případě této studie) generuje to vyšší tření, než když je poddajný materiál v kontaktu s hladkým [43]. Na základě tohoto lze usuzovat, že za takto nízké tření v kontaktu je zodpovědné právě hydratační mazání, neboť smáčivější slída ve své blízkosti drží více vody než sklo, a proto má stejně nízké tření jako sklo i přes to že má podstatně vyšší drsnost povrchu. Z toho lze usuzovat, že se potvrdila pracovní hypotéza, která říká, že za nízké tření v kloubech je zodpovědný hydratační režim mazání.



obr. 6-3 Hydratační mazání modelů – nakresleno na základě schématu z reference [32] – strana 251.

6.3 Srovnání viskosuplementů

Pracovní hypotéza, že kyselina hyaluronová spolu s fosfolipidy, bude generovat nízké tření v chrupavce díky hydratačnímu mazání, se potvrdila a na základě tohoto potvrzení byl testován viskosuplement právě na bázi kyseliny hyaluronové a fosfolipidů. Tato kombinace měla o poznání nižší součinitel tření, než je tomu v případě modelové kapaliny nebo samotné kyseliny hyaluronové (jakožto představitel konvenční viskosuplementace). Aby bylo možno porovnat přínos takového viskosuplementu, byla použita dvě maziva: modelová kapalina + kyselina hyaluronová (reprezentant konvekčního viskosuplementu vpraveného do kloubu) a modelová kapalina + HA + fosfolipidy (reprezentant nového viskosuplementu vpraveného do kloubu). Měření ukázala, že přidáním kyseliny hyaluronové do modelové kapaliny se součinitel tření spíše zvýší oproti modelové kapalině samotné, kdežto při přidání HA + fosfolipidy do modelové kapaliny se součinitel tření sníží oproti modelové kapalině samotné. To tedy vede k závěru, že takovýto viskosuplement by byl přínosný. Tím, že se kombinace HA a fosfolipidů přidá do modelové kapaliny a sníží se tření, se opět potvrzuje pracovní hypotéza.

Pro implementaci takového viskosuplementu je žádoucí vědět, jaký režim mazání dominuje v případě tohoto maziva. U modelové kapaliny se předpokládá proteinový mezní film dle referencí [20,22,37]. Kdežto v případě kyseliny hyaluronové se předpokládá intersticiální režim mazání. V případě kombinace HA a fosfolipidů se předpokládá mezní film z fosfolipidů, který generuje hydratační mazání, jak vysvětluje reference [25]. V případě smíchání modelové kapaliny a kyseliny hyaluronové dojde ke zvýšení součinitele tření oproti modelové kapalině. To může napovídat tomu, že modelová kapalina negeneruje tak stabilní proteinový mezní film, ale začne zde být významnější intersticiální mazání, a to generuje vyšší tření. To ovšem samo o sobě nemusí znamenat, že je viskosuplement méně účinný, neboť jak udává reference [13], vyšší součinitel tření nemusí nutně znamenat vyšší opotřebení chrupavky.

V případě smíchání modelové kapaliny s kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy dochází k významnému snížení součinitele tření oproti modelové kapalině. To napovídá tomu, že zde dominuje spíše hydratační režim mazání. To může vést k tomu, že zde proteinový film s fosfolipidovým tvoří jakousi synergickou dvojici. Mohla nastat situace, že se na slídě formoval mezní proteinový film s horní vrstvou hydrofilního albuminu, podobně jak je popsáno v referenci [20]. Tato hydrofilní vrstva je pak v přímém kontaktu s chrupavkou, na které je fosfolipidová vrstva dle reference [32]. Tyto dvě hydrofilní makromolekuly (protein albumin a fosfolipid) jsou v přímém kontaktu a mohou si vyměňovat molekuly vody pomocí difuze, což vede k nízkému tření. Nebo je možné, že proteinový film zde hraje pouze minoritní roli a nastává zde pouze hydratační mazání.

Na základě výsledků této práce lze usuzovat, že viskosuplementace na bázi HA zvyšuje součinitel tření a generuje spíše intersticiální režim mazání. Nicméně to neznamená, že by byl tento viskosuplement nepoužitelný. Jeví se však vhodný spíše pro mladé sportovce s lokálním poškozením chrupavky. Tito jedinci mají ještě zdravou a tlustou chrupavku, ve které je prostor pro intersticiální mazání. To vede ke snížení bolesti a opotřebení [12]. Nutno zmínit, že v této závěrečné práci byla použita kyselina hyaluronová s molekulovou hmotností 2200 kDa (což je podobná molekulová hmotnost viskosuplementu GENVISC GOLD). Významný vliv na funkčnost těchto viskosuplementů má i molekulová hmotnost [38], která nebyla v této studii brána v potaz.

Kombinace HA a fosfolipidů významně snižuje součinitel tření i při smíchání se synoviální tekutinou. Z toho lze usuzovat, že tento viskosuplement by byl vhodný pro pacienty s osteoartrózou v pokročilém stadiu, kteří mají významný úbytek chrupavky. V takto poškozené chrupavce by samotná kyselina hyaluronová neměla velký význam, neboť by kapalina neměla kam proudit, a tedy by nenastávalo tak významné intersticiální mazání. Nicméně pro tyto pacienty by byl vhodný právě tento viskosuplement, neboť generuje velmi stabilní mezný film, který nejen snižuje tření, ale i chrupavku chrání před poškozením. Takovýto viskosuplement je schopný generovat nízké součinitele tření i pro kontaktní tlaky až 20 MPa [26], což je dle autorů studie [32] tlak v lidských kloubech při chůzi.

7 ZÁVĚR

Tato práce se zabývala experimentální studií vývoje součinitele tření chrupavky na tribometru v konfiguraci pin-on-plate. Práce se dělila na tři etapy. V první etapě se zkoumal vliv smáčivostí povrchů při mazání povrchů kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy. V druhé etapě se zkoumal součinitel tření chrupavky vůči smáčivější slídě a méně smáčivému sklu při mazání PBS, kyselinou hyaluronovou, kombinací kyseliny hyaluronové a fosfolipidů a modelovou synoviální kapalinou. Ve třetí etapě se porovnávaly součinitele tření konvenční viskosuplementace a optimalizované viskosuplementace na bázi kyseliny hyaluronové a fosfolipidů.

Z provedených experimentů vyplývá:

- Smáčivost povrchů má významný vliv na součinitel tření při mazání fosfolipidů a kyseliny hyaluronové. Vyšší smáčivost povrchů vyvozuje nižší tření, kvůli hydratačnímu mazání.
- V kontaktu chrupavka – sklo při použití maziv PBS, kyselina hyaluronová a modelová kapalina nastává logaritmický průběh součinitele tření, z čehož plyne, že zde dominuje intersticiální režim mazání. V případě mazání kombinací fosfolipidů a kyseliny hyaluronové je součinitel tření nejnižší a nastává jen mírný lineární nárůst součinitele tření, z čehož plyne, že zde převládá hydratační režim mazání.
- V kontaktu chrupavka – slída při použití maziv PBS, kyselina hyaluronová, kyselina hyaluronová + fosfolipidy a modelová kapalina nastává spíše konstantní průběh součinitele tření, z čehož plyne, že zde dominuje mezní mazání. V případě mazání kombinací fosfolipidů a kyseliny hyaluronové je součinitel tření nejnižší díky hydratačnímu mazání.
- Při smíchání HA se synoviální kapalinou (situace při aplikaci konvenční viskosuplementace) došlo ke zvýšení součinitele tření oproti synoviální kapalině.
- Při smíchání HA a fosfolipidů se synoviální kapalinou (situace při aplikaci nového viskosuplementu) došlo ke snížení součinitele tření oproti synoviální kapalině.

Výše zmíněné poznatky poukazují na to, že viskosuplementace na bázi fosfolipidů a kyseliny hyaluronové je daleko efektivnější než konvenční viskosuplementace na bázi kyseliny hyaluronové. Jedná se pouze o první práci svého druhu na téma optimalizace viskosuplementů pomocí fosfolipidů. V příštích navazujících studiích by mělo význam zabývat se vlivem druhu fosfolipidu nebo molekulární hmotnost kyseliny hyaluronové. Do lipozomu by tedy mohla být vpravována kyselina hyaluronová s různou molekulovou hmotností. Tyto výsledky by v budoucnu mohly být srovnávány i s větší škálou viskosuplementů s rozdílnou molekulovou hmotností a viskozitou. V neposlední řadě by stálo za zvážení použít avidin-biotinový komplex, kdy se kyselina hyaluronová naváže na povrch destičky, což by vedlo k ještě reálnějšímu modelu kontaktu chrupavka-chrupavka.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Hip and knee replacement. OECD Lilibrary [online]. [cit. 2020-03-03]. Dostupné z: https://www.oecd-ilibrary.org/sites/health_glance-2017-65-en/index.html?itemId=/content/component/health_glance-2017-65-en.
- [2] MANSOUR, Joseph M. Biomechanics of Cartilage. *Arthritis & Rheumatism*. 2008, roč. 58, č. 7, s. 2065–74. ISSN 00043591.
- [3] DAS, Saurabh, Xavier BANQUY, Bruno ZAPPONE, George W. GREENE, Gregory D. JAY a Jacob N. ISRAELACHVILI. Synergistic interactions between grafted hyaluronic acid and lubricin provide enhanced wear protection and lubrication. *Biomacromolecules*. 2013, roč. 14, č. 5, s. 1669–1677. ISSN 15264602.
- [4] FORSTER, H. a J. FISHER. The influence of loading time and lubricant on the friction of articular cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 1996, roč. 210, č. 2, s. 109–118. ISSN 09544119.
- [5] LEES, Deborah a Paul PARTINGTON. Articular cartilage. *Orthopaedics and Trauma*. 2016, roč. 30, č. 3, s. 265–272. ISSN 18771335.
- [6] SOPHIA FOX, Alice J., Asheesh BEDI a Scott A. RODEO. The basic science of articular cartilage: Structure, composition, and function. *Sports Health*. 2009, roč. 1, č. 6, s. 461–468. ISSN 19417381.
- [7] GALANDÁKOVÁ, Adéla, Jitka ULRICHOVÁ, Kateřina LANGOVÁ, Adéla HANÁKOVÁ, Martin VRBKA, Martin HARTL a Jiri GALLO. Characteristics of synovial fluid required for optimization of lubrication fluid for biotribological experiments. *Journal of Biomedical Materials Research – Part B Applied Biomaterials*. 2017, roč. 105, č. 6, s. 1422–1431. ISSN 15524981.
- [8] KEMPSON, G. E. Relationship between the tensile properties of articular cartilage from the human knee and age. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 1982, roč. 41, č. 5, s. 508–511. ISSN 00034967.
- [9] PREKASAN, D. a K.K. SAJU. Review of the Tribological Characteristics of Synovial Fluid. *Procedia Technology*. 2016, roč. 25, č. Raerest, s. 1170–1174. ISSN 22120173.
- [10] S. Ghosh, D. Choudhury, N. Shekhar Das, B. Pingguan-Murphz, Tribological role of synovial fluid compositions on artificial joints — a systematic review of the last 10 years, *Lubr. Sci.* 24 (2012) 273–292. <https://doi.org/10.1002/lr>.
- [11] BLEWIS, M. E., G. E. NUGENT-DERFUS, T. A. SCHMIDT, B. L. SCHUMACHER a Robert L. SAH. A model of synovial fluid lubricant composition in normal and injured joints. *European Cells and Materials*. 2007, roč. 13, č. 858, s. 26–38. ISSN 14732262.
- [12] ŽABKA, M., Univerzita BRATISLAVA. Viskosuplementácia v liečbe osteoartrózy kolena. *Farmakoterapia*. 2014, s. 46–50.

- [13] GREENE, George W., Xavier BANQUY, Dong WOOG LEE, Daniel D. LOWREY, Jing YU a Jacob N. ISRAELACHVILI. Adaptive mechanically controlled lubrication mechanism found in articular joints. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011, roč. 108, č. 13, s. 5255–5259. ISSN 10916490.
- [14] CHEN, Xi, Kun ZOU, Natasya ABDULLAH, Nicola WHITESIDE, Aliya SARMANOVA, Michael DOHERTY a Weiya ZHANG. The placebo effect and its determinants in fibromyalgia: meta-analysis of randomised controlled trials. *Clinical Rheumatology*. 2017, roč. 36, č. 7, s. 1623–1630. ISSN 14349949.
- [15] ERMAKOV, Sergey, Alexandr BELETSKII, Oleg EISMONT a Vladimir NIKOLAEV. Modern Concepts of Friction, Wear and Lubrication of Joints. *Liquid Crystals in Biotribology: Synovial Joint Treatment*. 2015, s. 99–118.
- [16] MOORE, Axel C., Jordyn Lee SCHRADER, Jaclyn J. ULVILA a David L. BURRIS. A review of methods to study hydration effects on cartilage friction. *Tribology - Materials, Surfaces and Interfaces*. 2017, roč. 11, č. 4, s. 202–214. ISSN 1751584X.
- [17] INGHAM, E., I. UDOFIA, J. FISHER, S. GRAINDORGE, L. MCCANN a Z. JIN. Tribological testing of articular cartilage of the medial compartment of the knee using a friction simulator. *Tribology International*. 2008, roč. 41, č. 11, s. 1126–1133. ISSN 0301679X.
- [18] MOORE, A. C. a D. L. BURRIS. Tribological rehydration of cartilage and its potential role in preserving joint health. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2017, roč. 25, č. 1, s. 99–107. ISSN 15229653.
- [19] CALIGARIS, M. a G. A. ATESHIAN. Effects of sustained interstitial fluid pressurization under migrating contact area, and boundary lubrication by synovial fluid, on cartilage friction. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2008, roč. 16, č. 10, s. 1220–1227. ISSN 10634584.
- [20] NAKASHIMA, K., Y. SAWAE a T. MURAKAMI. Influence of protein conformation on frictional properties of poly (vinyl alcohol) hydrogel for artificial cartilage. *Tribology Letters*. 2007, roč. 26, č. 2, s. 145–151. ISSN 10238883.
- [21] REBENDA, D, M VRBKA a M HARTL. Effect of hyaluronic acid on friction of articular cartilage. *Engineering Mechanics* 2018. 2018, s. 709–712.
- [22] MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Kazuhiro NAKASHIMA, Yoshinori SAWAE a Nobuo SAKAI. Influence of synovia constituents on tribological behaviors of articular cartilage. *Friction*. 2013, roč. 1, č. 2, s. 150–162. ISSN 22237704.
- [23] FORSEY, Richard W., John FISHER, Jonathan THOMPSON, Martin H. STONE, Coral BELL a Eileen INGHAM. The effect of hyaluronic acid and phospholipid based lubricants on friction within a human cartilage damage model. *Biomaterials*. 2006, roč. 27, č. 26, s. 4581–4590. ISSN 01429612.
- [24] BONNEVIE, Edward D., Devis GALESSO, Cynthia SECCHIERI, Itai COHEN a Lawrence J. BONASSAR. Elastoviscous transitions of articular cartilage reveal a mechanism of synergy between lubricin and hyaluronic acid. *PLoS ONE*. 2015, roč. 10, č. 11, s. 1–15. ISSN 19326203.

- [25] SEROR, Jasmine, Linyi ZHU, Ronit GOLDBERG, Anthony J. DAY a Jacob KLEIN. Supramolecular synergy in the boundary lubrication of synovial joints. *Nature Communications*. 2015, roč. 6. ISSN 20411723.
- [26] DAY, Anthony J., Jacob KLEIN, Nir KAMPF, Jasmine SEROR a Linyi ZHU. Ultra-low friction between boundary layers of hyaluronan-phosphatidylcholine complexes. *Acta Biomaterialia*. 2017, roč. 59, s. 283–292. ISSN 17427061.
- [27] LIN, Weifeng, Reut MASHIAH, Jasmine SEROR, Assaf KADAR, Oleg DOLKART, Tamir PRITSCH, Ronit GOLDBERG a Jacob KLEIN. Lipid-hyaluronan synergy strongly reduces intrasynovial tissue boundary friction. *Acta Biomaterialia*. 2019, roč. 83, s. 314–321. ISSN 18787568.
- [28] ČÍPEK, Pavel. *Experimentální studie utváření mazacího filmu v synoviálním kloubu*. Brno, 2018. Pojednání ke státní doktorské zkoušce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce Martin Vrbka.
- [29] FURMANN, Denis. *Biotribologie kloubní chrupavky*. Brno 2018. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce David Nečas.
- [30] SNUSTAD, Ingrid, Ingeborg T RØE, Amy BRUNSVOLD, Åsmund ERVIK a Jianying HE. A review on wetting and water condensation - Perspectives for CO₂ condensation. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2018, roč. 256, s. 291–304. ISSN 0001-8686.
- [31] SZARKO, Matthew, Ken MULDREW a John Ea BERTRAM. Freeze-thaw treatment effects on the dynamic mechanical properties of articular cartilage. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2010, roč. 11. ISSN 14712474.
- [32] JAHN, Sabrina, Jasmine SEROR a Jacob KLEIN. Lubrication of Articular Cartilage. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 2016, roč. 18, č. 1, s. 235–258. ISSN 1523-9829.
- [33] LEGRÉ-BOYER, V. Viscosupplementation: Techniques, indications, results. *Orthopaedics and Traumatology: Surgery and Research*. 2015, roč. 101, č. 1, s. S101–S108. ISSN 18770568.
- [34] WANG, Weigeng, C. J. LUO, Jie HUANG a Mohan EDIRISINGHE. PEEK surface modification by fast ambient-temperature sulfonation for bone implant applications. *Journal of the Royal Society Interface*. 2019, roč. 16, č. 152. ISSN 17425662.
- [35] LEE, Dong Kyu, Junyong IN a Sangseok LEE. Standard deviation and standard error of the mean. *Korean Journal of Anesthesiology*. 2015, roč. 68, č. 3, s. 220–223. ISSN 20057563.
- [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*. 2016, roč. 55, s. 295–307. ISSN 18780180.
- [37] MURAKAMI, T., K. NAKASHIMA, S. YARIMITSU, Y. SAWAE a N. SAKAI. Effectiveness of adsorbed film and gel layer in hydration lubrication as adaptive multimode lubrication mechanism for articular cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology*. 2011, roč. 225, č. 12, s. 1174–1185. ISSN 13506501.

- [38] KWIECINSKI, J. J., S. G. DOROSZ, T. E. LUDWIG, S. ABUBACKER, M. K. COWMAN a T. A. SCHMIDT. The effect of molecular weight on hyaluronan's cartilage boundary lubricating ability - alone and in combination with proteoglycan 4. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2011, roč. 19, č. 11, s. 1356–1362. ISSN 10634584.
- [39] LESOIN, L., O. BOUTIN, C. CRAMPON a E. BADENS. CO₂/water/surfactant ternary systems and liposome formation using supercritical CO₂: A review. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2011, roč. 377, č. 1–3, s. 1–14. ISSN 09277757.
- [40] SHARMA, Amarnath a Uma S. SHARMA. Liposomes in drug delivery: Progress and limitations. *International Journal of Pharmaceutics*. 1997, roč. 154, č. 2, s. 123–140. ISSN 03785173.
- [41] PAWLAK, Zenon, Wieslaw URBANIAK, Magdalena HAGNER-DERENGOWSKA a Wojciech HAGNER. The Probable Explanation for the Low Friction of Natural Joints. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2015, roč. 71, č. 3, s. 1615–1621. ISSN 10859195.
- [42] HEUBERGER, M. P., M. R. WIDMER, E. ZOBELLY, R. GLOCKSHUBER a N. D. SPENCER. Protein-mediated boundary lubrication in arthroplasty. *Biomaterials*. 2005, roč. 26, č. 10, s. 1165–1173. ISSN 01429612.
- [43] XIE, Y. a J. A. WILLIAMS. The prediction of friction and wear when a soft surface slides against a harder rough surface. *Wear*. 1996, roč. 196, č. 1–2, s. 21–34. ISSN 00431648.

9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK, SYMBOLŮ A VELIČIN

<i>a</i>	plocha kontaktu
<i>DMPC</i>	dimyristoyl-sn-glycero-3 fosfatidylcholin
<i>DN</i>	dopamin
<i>DPPC</i>	dipalmitoyl phosphatidylcholine
<i>F_n</i>	normálové zatížení
<i>HA</i>	kyselina hyaluronová
<i>HSPC</i>	hydrogenated soy fosfatidylcholin
<i>MCA</i>	migrační kontaktní oblast
<i>N</i>	počet prvků statistického souboru
<i>PBS</i>	fosfátový pufr
<i>PEEK</i>	polyether ether ketone
<i>PMMA</i>	polymethylmethakrylát
<i>POPC</i>	1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3- fosfatidylcholin
<i>PS</i>	fosfolipidy
<i>S</i>	Sommerfeldovo číslo
<i>SCA</i>	stacionární kontaktní oblast
<i>SD</i>	směrodatná odchylka
<i>SEM</i>	standardní chyba
<i>SUV</i>	malá jednopolární vezikula
<i>UHMWPE</i>	ultra high molecular weight polyethylene
<i>V</i>	rychlost
<i>η</i>	dynamická viskozita

10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ A GRAFŮ

obr. 1-1	Statistika počtu totálních náhrad endoprotéz kolen a kyčlí [1].....	15
obr. 2-1	Synoviální kloub [10].....	17
obr. 2-2	Jednotlivé zóny chrupavky [5].	19
obr. 2-3	Zatížení, u kterého dochází k nevratnému poškození chrupavky [2].	20
obr. 2-4	Procentuální zastoupení jednotlivých složek v synoviální kapalině.	21
obr. 2-5	Fosfolipidy: (a) lipidová vrstva na chrupavce [32]; (b) lipozom [39].	21
obr. 2-6	Aplikace viskosuplementu [33].	22
obr. 2-7	Režim mazání weeping [15].....	23
obr. 2-8	Režim mazání boosted [15].....	24
obr. 2-9	Schematické znázornění hydratačního režimu mazání. nakresleno na základě schématu z reference [32] – strana 251.	25
obr. 2-10	Konfigurace SCA [16].	26
obr. 2-11	Konfigurace MCA [16].	26
obr. 2-12	Porovnání závislosti součinitele tření konfigurací SCA a MCA [19].	27
obr. 2-13	Povrch mazaný 0,7 wt% albuminem a 1,4 wt% γ -globulinem (vlevo); 1,4 wt% albuminem a 1,4 wt% γ -globulinem (vpravo) [20].....	28
obr. 2-14	Vliv složení mazací kapaliny na součinitel tření hydrogelu [20].	29
obr. 2-15	Měřené roztoky [21].	29
obr. 2-16	Měřicí aparatura [21].	30
obr. 2-17	Měření součinitele tření [21].....	30
obr. 2-18	Měření součinitele tření [21].....	31
obr. 2-19	Použitá maziva ve studii [22].....	32
obr. 2-20	Součinitele tření v závislosti na použitých mazivech: (a) model zdravé chrupavky; (b) model poškozené chrupavky [22].....	32
obr. 2-21	Součinitele tření v závislosti na použitých mazivech: (a) počáteční součinitel tření; (b) konečný součinitel tření [22].....	33
obr. 2-22	Procentuální rozdíl v součinitelech tření experimentu [23].	34
obr. 2-23	Třecí síla (a) ze senzoru (b), od které je odečtena nulová síla pro normálové zatížení 0,4 N. [24].....	35

obr. 2-24	Třecí síla (a) ze senzoru, (b) od které je odečtena nulová síla pro normálové zatížení 0,4 N. [24].	36
obr. 2-25	Metoda surface force balance [25].	37
obr. 2-26	Přichycení kyseliny hyaluronové na povrch slídy pomocí avidin-biotinového můstku [25].	37
obr. 2-27	(a) Slída mazána HA + DPPC, (b) slída mazána HA + DPPC, kde HA byla vetknuta na slídu pomocí avidin-biotinového komplexu [25].	38
obr. 2-28	Různé druhy lipozomů na slídě [26].	39
obr. 2-29	(a) Schéma měřicího zařízení; (b) příprava vzorků na měření [27].	40
obr. 2-30	Třecí síla v závislosti na čase: (a) normálové zatížení 0,4 N; (b) normálové zatížení 0,8 N [27].	41
obr. 2-31	Třecí síla (a) ze senzoru (b), od které je odečtena nulová síla pro normálové zatížení 0,4 N [27].	41
obr. 2-32	Obrázky z fluorescenční mikroskopie [27].	42
obr. 4-1	Plán postupu diplomové práce.	47
obr. 4-2	(a) Univerzální tribometr [29]; (b) schéma měření.	48
obr. 4-3	Reciproční modul.	48
obr. 4-4	Měření smáčivosti povrchů [30].	49
obr. 4-5	Modelování chrupavky. Schéma nakresleno na základě předlohy z reference [32] – strana 251.	52
obr. 4-6	(a) Fosfolipidy uskupené do lipozomu se zapouzdřenou HA [39]; (b) fosfolipid samotný [39].	53
obr. 4-7	Proces odběru vzorků.	55
obr. 4-8	Vliv uchovávání vzorků na součinitel tření [29].	56
obr. 4-9	Směrodatná odchylka.	57
obr. 5-1	Měření smáčivosti povrchů.	59
obr. 5-2	Měření smáčivosti povrchu: slída.	60
obr. 5-3	Měření smáčivosti povrchu: PMMA.	60
obr. 5-4	Měření smáčivosti povrchu: sklo.	60
obr. 5-5	Měření smáčivosti povrchu: UHMWPE.	60
obr. 5-6	Součinitel tření dvojice PEEK – slída.	61
obr. 5-7	Součinitel tření dvojice PEEK – PMMA.	62

obr. 5-8	Součinitel tření dvojice PEEK – sklo.	62
obr. 5-9	Součinitel tření dvojice UHMWPE – sklo.	63
obr. 5-10	Průběhy součinitelů tření rozhraní chrupavka – sklo.....	64
obr. 5-11	Interpretace výsledků: (a) součinitel tření v závislosti na čase; (b) statisticky zpracované součinitele tření v závislosti na čase; (c) konečné hodnoty součinitele tření. .	65
obr. 5-12	Součinitele tření v závislosti na čase: (a) jednotlivá měření; (b) statisticky zpracovaná data.	67
obr. 5-13	Konečné součinitele tření v konfiguraci chrupavka – sklo.....	68
obr. 5-14	Součinitele tření v závislosti na čase: (a) jednotlivá měření; (b) statisticky zpracovaná data.	70
obr. 5-15	Konečné součinitele tření v konfiguraci chrupavka – sklo.....	71
obr. 5-16	Průběh součinitelů tření pro mazání PBS.	72
obr. 5-17	Průběh součinitelů tření pro mazání kyselinou hyaluronovou.	73
obr. 5-18	Průběh součinitelů tření pro mazání modelovou kapalinou.....	73
obr. 5-19	Průběh součinitelů tření pro mazání fosfolipidy s kyselinou hyaluronovou.	74
obr. 5-20	Srovnání viskosuplementů: (a) jednotlivá měření; (b) statisticky zpracovaná data.	75
obr. 5-21	Krabicový graf – srovnání viskosuplementů.	76
obr. 6-1	Struktura povrchu slídy: (a) pohled shora; (b) diagonální pohled; (c) pohled z boku.	80
obr. 6-2	Hydratační mazání – nakresleno na základě schématu z reference [32] – strana 251.	81
obr. 6-3	Hydratační mazání modelů – nakresleno na základě schématu z reference [32] – strana 251.	82

11 SEZNAM TABULEK

tab. 2-1	Složení synoviálních kapalin.	21
tab. 4-1	Mechanické a fyzikální vlastnosti materiálů.	50
tab. 4-2	Kontaktní dvojice.	51
tab. 4-3	Složení modelové kapaliny.	53
tab. 4-4	Jednotlivá maziva pro druhou sadu experimentů.	53
tab. 4-5	Jednotlivá maziva pro třetí sadu experimentů.	54
tab. 5-1	Součinitele tření v závislosti na smáčivosti.	61
tab. 5-2	Součinitele tření v závislosti na smáčivosti.	63