



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

## ÚSTAV KONSTRUOVÁNÍ

INSTITUTE OF MACHINE AND INDUSTRIAL DESIGN

## STUDIUM MAZÁNÍ NÁHRADY KOLENNÍHO KLOUBU

AN INVESTIGATION OF LUBRICATION OF KNEE JOINT REPLACEMENT

### DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Tomáš Sýkora

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. David Nečas, Ph.D.

BRNO 2020



# Zadání diplomové práce

Ústav: Ústav konstruování  
Student: **Bc. Tomáš Sýkora**  
Studijní program: Strojní inženýrství  
Studijní obor: Konstrukční inženýrství  
Vedoucí práce: **Ing. David Nečas, 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:

## Studium mazání náhrady kolenního kloubu

### Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Náhrada kolenního kloubu patří mezi nejčastější ortopedické zákroky, přičemž zejména u mladších pacientů je zásadním omezením životnost implantátu. Doposud se vědecké studie soustředily na studium kloubů kyčelních, které se však liší jak geometrií, tak kinematikou a dynamikou pohybu. Experimentální studium formování mazacího filmu kolenního implantátu přispěje k dalšímu vývoji při snaze prodloužit konečnou životnost náhrady.

Typ práce: výzkumná  
Výstup práce: publikační výsledek (J, D)  
Projekt: MŠMT

### **Cíle diplomové práce:**

Hlavním cílem je experimentální popis vývoje mazacího filmu v náhradě kolenního kloubu. Popis bude založen na přímém pozorování kontaktní oblasti a využití metody na principu fluorescenční mikroskopie, která umožní posouzení vlivu jednotlivých složek synoviální kapaliny na tloušťku mazacího filmu.

Dílčí cíle diplomové práce:

- provést kritickou rešerši aktuálních vědeckých publikací a navrhnout podmínky experimentů s ohledem na platné standardy,
- navrhnout metodiku hodnocení mazacího filmu,
- experimentálně popsat vývoj tloušťky mazacího filmu při zohlednění vlivu jednotlivých složek modelové kapaliny,
- posoudit vliv kinematických a zátěžných podmínek na procesy mazání,
- konfrontovat získané poznatky se dosud publikovanými studiemi zabývajícími se mazáním kyčelního kloubu.

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:**

PASCAU, A., B. GUARDIA, J. A. PUERTOLAS a E. GÓMEZ-BARRENA. Knee model of hydrodynamic lubrication during the gait cycle and the influence of prosthetic joint conformity. *Journal of Orthopaedic Science*. 2009, 14, 68-75.

GAO, L., Z. HUA, R. HEWSON, M. S. ANDERSEN a Z. JIN. Elastohydrodynamic lubrication and wear modelling of the knee joint replacements with surface topography. *Biosurface and Biotribology*. 2018, 4, 18-23.

NEČAS, D., K. SADECKÁ, M. VRBKA, J. GALLO, A. GALANDÁKOVÁ, I. KŘUPKA a M. HARTL. Observation of lubrication mechanisms in knee replacement: A pilot study. *Biotribology*. 2019, 17, 1-7.

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

Diplomová práce se zabývá experimentální analýzou mazání náhrady kolenního kloubu. Experimenty jsou realizovány na simulátoru, jenž dokáže aplikovat podmínky stanovené příslušnou normou a pozorovat jevy na femorotibiálním rozhraní pomocí fluorescenční mikroskopie. Cílem práce je objasnit vliv jednotlivých složek synoviální kapaliny na proces mazání, přičemž hodnota intenzity fluorescence vyjadřuje bezrozměrný parametr tloušťky mazacího filmu. Experimentům se synoviální kapalinou předchází fundamentální studie s minerálními oleji, která umožňuje náhled na transformaci kontaktu v průběhu cyklu chůze. Výsledky jsou zaznamenány v grafech jako závislost intenzity na čase, a to včetně snímků, které zachycují jevy vyskytující se v kontaktní oblasti a blízkém okolí. Výsledky experimentů ukazují, že protein  $\gamma$ -globulin vytváří na povrchu tenkou vrstvu, na kterou se pomocí proteinové interakce naváže albumin, čímž dochází k navýšení tloušťky mazacího filmu. Proteinová interakce je podpořena kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy, které stabilizují vytvořenou strukturu. Z hlediska mazání je chování filmu podmíněno komplexním složením synoviální kapaliny. Práce rozšiřuje okruh informací o chování synoviální kapaliny a může být přínosem pro budoucí vývoj kolenních implantátů.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Náhrada kolenního kloubu, mazání, synoviální kapalina, albumin,  $\gamma$ -globulin, kyselina hyaluronová

## ABSTRACT

This diploma thesis deals with an experimental analysis of knee joint replacement lubrication. The experiments were realized at a knee joint simulator which can apply conditions according to certain standard and survey the phenomena by using fluorescence microscopy. The aim of thesis is to clarify the influence of particular components of synovial fluid on the lubrication process. The intensity of fluorescence expresses dimensionless parameter of a lubrication film thickness. There was a fundamental study with mineral oils before the experiments with the synovial fluid. The study allows to have a look at contact transformation during walk. Results are shown in graphs as dependency of intensity on time, including pictures showing phenomena in the contact zone. Experiment results show that protein  $\gamma$ -globulin creates a layer on the surface. There is albumin on the layer and it makes the lubricating film thicker. The protein interaction is supported by hyaluronic acid and fosfolipids which stabilizes the created structure. According to lubrication is behaviour of film related to a complex structure of synovial fluid. Thesis gives more information about behaviour of synovial fluid and can be used for future development of knee replacements.

## KEYWORDS

Knee joint replacement, lubrication, synovial fluid, albumin,  $\gamma$ -globulin, hyaluronic acid



## BIBLIOGRAFICKÁ CITACE

SÝKORA, Tomáš. *Studium mazání náhrady kolenního kloubu*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124565>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav konstruování. Vedoucí práce Ing. David Nečas, Ph.D.





## PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych rád poděkoval vedoucímu mé diplomové práce panu Ing. Davidu Nečasovi, Ph.D. za jeho odbornou pomoc a profesionální přístup.

## ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že diplomovou práci jsem vypracoval samostatně, pod vedením Ing. Davida Nečase, Ph.D. a současně prohlašuji, že všechny zdroje obrazových a textových informací, ze kterých jsem čerpal, jsou uvedeny v seznamu použitých zdrojů.

.....

Podpis autora



# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ</b>	<b>14</b>
2.1	Biotribologie a mazání	14
2.1.1	Viskozita kapaliny	15
2.2	Anatomické názvosloví	15
2.2.1	Kolenní kloub	16
2.3	Kolenní náhrady	18
2.3.1	Uchycení kolenních náhrad	19
2.3.2	Materiály kolenních náhrad	19
2.4	Rozbor cyklu chůze	20
2.5	Výzkum v oblasti mazání kloubních náhrad	21
2.5.1	Numerické studie	21
2.5.2	Vliv složení synoviální tekutiny	32
2.5.3	Experimentální studie	39
<b>3</b>	<b>ANALÝZA PROBLÉMU A CÍL PRÁCE</b>	<b>41</b>
3.1	Analýza problému	41
3.2	Analýza, interpretace a zhodnocení poznatků z rešerše	41
3.3	Cíl práce	42
<b>4</b>	<b>MATERIÁL A METODY</b>	<b>44</b>
4.1	Postup řešení	44
4.2	Experimentální zařízení	45
4.3	Fluorescenční mikroskopie	45
4.4	Podmínky experimentů	47
4.4.1	Styková dvojice	47
4.4.2	Modelové kapaliny	48
4.4.3	Průběh zatížení a kinematiky náhrady	49
4.5	Postup měření	51
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY</b>	<b>52</b>
5.1	Definice cyklu axiálního zatížení	52

5.2	Fundamentální studie s minerálními oleji	55
5.2.1	Migrace kontaktní oblasti a transformace jejího tvaru	57
5.2.2	Opakovatelnost experimentů s minerálním olejem	63
5.3	Studie modelových kapalin	64
5.3.1	Mediální kondyl	65
5.3.2	Laterální kondyl	73
<b>6</b>	<b>DISKUZE</b>	<b>80</b>
6.1	Fundamentální studie s minerálními oleji	80
6.2	Studie modelových kapalin	82
6.2.1	Vliv složek synoviální kapaliny na chování albuminu	82
6.2.2	Vliv složek synoviální kapaliny na chování $\gamma$ -globulinu	84
6.2.3	Vliv složek synoviální kapaliny na chování kyseliny hyaluronové	85
6.2.4	Porovnání komplexních kapalin podle obarvené složky	85
6.2.5	Vliv podmínek experimentu a konformity kontaktu	87
<b>7</b>	<b>ZÁVĚR</b>	<b>88</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ</b>	<b>90</b>
<b>9</b>	<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK, SYMBOLŮ A VELIČIN</b>	<b>94</b>
<b>10</b>	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ</b>	<b>96</b>
<b>11</b>	<b>SEZNAM TABULEK</b>	<b>100</b>
<b>12</b>	<b>SEZNAM PŘÍLOH</b>	<b>101</b>

# 1 ÚVOD

Kolenní kloub je největším kloubem lidského těla. Namáhání kolenního kloubu se v průběhu života každého z nás mění s ohledem na tělesný růst, hmotnost, fyzické aktivity, apod. Stále častěji se přitom vyskytují onemocnění kloubu, jako například osteoartritida, což je označení pro degeneraci kloubní chrupavky. Tato skutečnost souvisí jak s aktivnějším způsobem života, tak se vzrůstající mírou obezity. Chrupavka by za normálních okolností měla bránit vzájemnému kontaktu stehenní (Femur) a holenní (Tibia) kosti. Při osteoartritidě, též artróze, však dochází v extrémním případě ke vzájemné artikulaci povrchů kostí, což pacientovi způsobuje značnou bolest. Pokud je kolenní kloub poškozen natolik, že je omezena pohyblivost pacienta, je nutné přistoupit k implantaci kloubní náhrady. Daný chirurgický zákrok je v současné době jediným možným řešením při takto těžkých onemocněních.

Počet operací náhrady kolenního kloubu se od roku 2000 do roku 2015 prudce zvýšil. Ve Francii a Spojeném Království se dokonce za uvedený časový úsek roční počet operací zdvojnásobil. Jak vyplývá z údajů zveřejněných v zprávě OECD [1], v roce 2015 bylo v České republice provedeno 126 operací na 100 000 obyvatel.

Totální endoprotéza kolenního kloubu je z pohledu pacienta výrazným zásahem do těla, jelikož pro správné provedení operace je nutné v koleni porušit zkřížené vazy. Je žádoucí, aby kolenní náhrada vydržela co možná nejdéle, a to bez nutnosti revizní operace. Současný stav je však takový, že kolenní náhrady vydrží v lidském těle v průměru 15 až 20 let, což u mladších pacientů logicky vyvolává komplikace. K selhání kolenní náhrady dochází nejčastěji v důsledku tzv. aseptického uvolnění, jež souvisí s procesem osteolýzy. V kolenně nastává kritický proces, při němž částice náhrady uvolněné otěrem reagují s okolními tkáněmi, což způsobuje vznik reaktivních zánětů. Hlavním problémem je opotřebení, lékaři označováno termínem otěr.

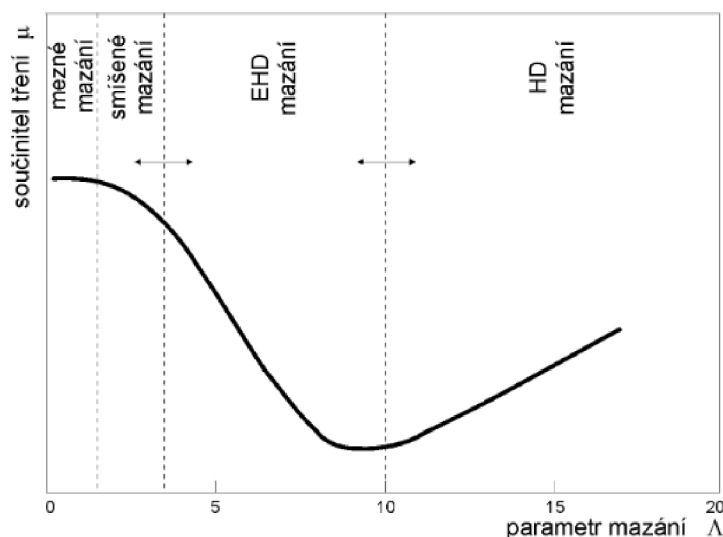
Za účelem prodloužení životnosti kolenní náhrady je tedy nutné pochopení tribologických procesů tření, mazání a opotřebení. Uvedené procesy jsou ve značné míře ovlivňovány synoviální kapalinou, co by biologickým kloubním mazivem, které je složeno především z proteinů, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů. Dosavadní vědecké studie se primárně soustředily na hodnocení míry opotřebení implantátu. Doposud však nebyly dostatečně experimentálně objasněny procesy mazání, které s opotřebením přímo souvisí a v konečném důsledku tak ovlivňují životnost implantátu. Prodloužení životnosti implantátu by nepochybně mohlo vést ke zvýšení komfortu života pacientů s náhradou. Tato diplomová práce se proto zaměří na experimentální popis vývoje mazacího filmu v kolenní náhradě s ohledem na kinematické a proměnlivé zátěžné podmínky.

## 2 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ

### 2.1 Biotribologie a mazání

Tribologie je věda, jež se zabývá vzájemným pohybem dvou povrchů vůči sobě, přičemž je analyzována kontaktní oblast a děje v ní vzniklé (tření, opotřebení a mazání). Rozlišujeme dvojici třecí (tření je žádoucím jevem) a kluznou (tření se snažíme eliminovat). Hodnotu koeficientu tření, přímo souvisejícího s mírou opotřebení, je možné redukovat mazáním, což je také primární účel maziv. Mezi sekundární úlohy maziva lze zařadit zejména schopnost odvodu tepla. Obor biotribologie využívá veškeré zákonitosti tribologie a aplikuje je u biologických systémů. Mezi typickou oblast biotribologie patří zkoumání synoviálních kloubních spojení a umělých kloubních náhrad.

Mazání se vyskytuje ve třech základních režimech: mezný, smíšený a kapalinový (EHD, HD), viz obr. 2.1.



obr. 2.1 Stribeckova křivka [3]

Na obr. 2.1 lze vidět Stribeckovu křivku vyjadřující závislost součinitele tření  $\mu$  na parametru mazání  $\Lambda$ . Režim mazání lze určit více způsoby, například podle parametru mazání, který je vyjádřen z minimální tloušťky mazacího filmu a redukovaných drsností třecích povrchů. Při hodnotě parametru  $\Lambda < 0,8$  převládá mezný režim mazání. Dochází k vzájemné interakci mezi povrchovými nerovnostmi a zatížení je přenášeno prostřednictvím velmi tenkého mezného filmu. V intervalu  $0,8 < \Lambda < 3$  převládá smíšené mazání. Smíšené mazání je kombinací mazání mezného a kapalinového. Nad hodnotou 3 parametru  $\Lambda$  se vykazuje pouze mazání kapalinové, kdy jsou kontaktní povrchy zcela odděleny souvislým mazacím filmem.

## 2.1.1 Viskozita kapaliny

Viskozita je fyzikální vlastnost kapalin, která charakterizuje vnitřní látkové tření. Viskozita je jedním z důležitých reologických parametrů (viskozita, hustota, viskoelastické chování) definujících tokové vlastnosti kapaliny a může ovlivňovat typ mazacího režimu. Viskozita je závislá na:

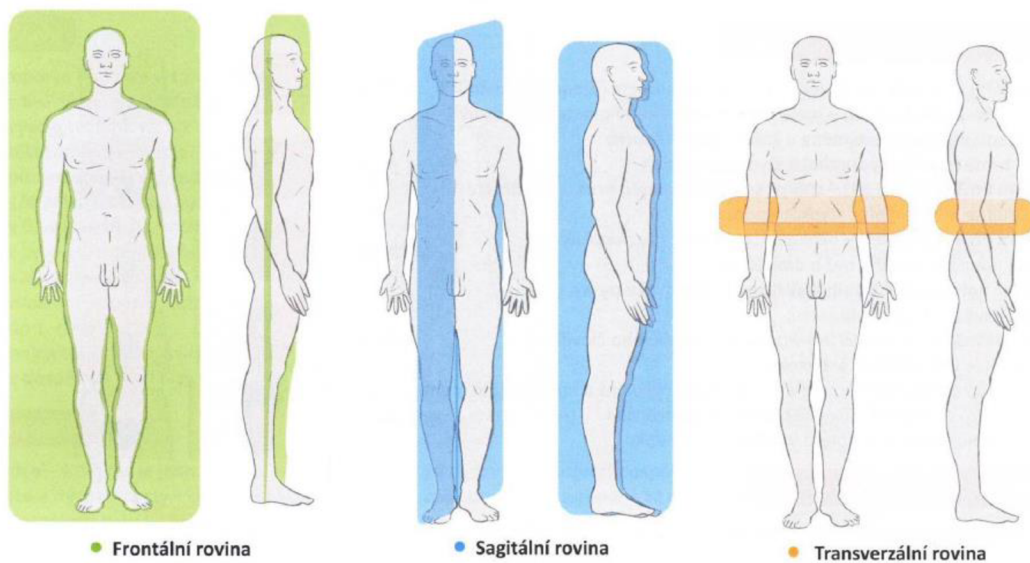
- teplotě – exponenciálně klesající vztah (Waltherův a Vogelův vztah)
- tlaku – exponenciálně rostoucí vztah (Barusův, Roelandsův a Yassutomioho vztah)
- smykovém napětí (rozlišujeme newtonské a neneutonské kapaliny).

Viskozita je matematicky vyjádřena Newtonovým zákonem pomocí součinitele udávajícího dynamickou viskozitu kapaliny a gradientem rychlosti. Kinematická viskozita je vyjádřena jako podíl dynamické viskozity a hustoty kapaliny. Neneutonské kapaliny se neřídí Newtonovým zákonem viskozity (vyjadřují pouze zdánlivou viskozitu), jsou v každém časovém bodě závislé na smykovém napětí. Pokud viskozita s rostoucím gradientem rychlosti klesá, jedná se o pseudoplastické kapaliny. U dilatantních kapalin naopak viskozita s rostoucím gradientem roste.

## 2.2 Anatomické názvosloví

Medicína využívá k popisu lidského těla a jeho částí latinské názvosloví. Pro snadnější orientaci v následujících kapitolách je zde uvedeno několik základních pojmů.

Při orientaci v prostoru je lidské tělo děleno do tří navzájem kolmých rovin – frontální (čelní), sagitální (střední část nazýváme mediánní) a transverzální (příčná), viz obr. 2.2.



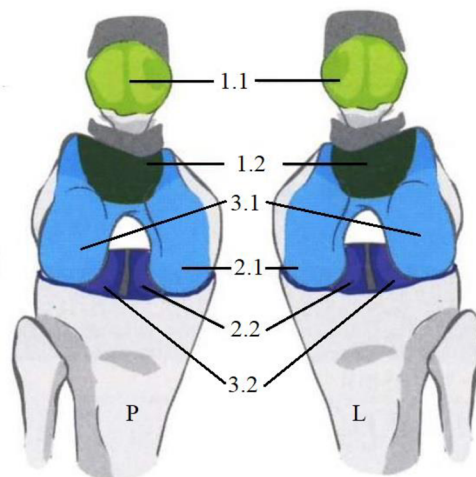
obr. 2.2 Roviny lidského těla [27]

Polohy a směry na lidském těle a dolní končetině – latinské názvosloví [27]:

- Genu – koleno
- Anterior – přední (poloha před tělem)
- Posterior – zadní (poloha za tělem)
- Sinister – levý
- Dexter – pravý
- Medialis – mediální (ke středu těla)
- Lateralis – laterální (od středu těla)
- Ventralis – dopředu (směr před tělo)
- Dorsalis – dozadu (směr za tělo)

### 2.2.1 Kolenní kloub

Kolenní kloub patří mezi nejsložitější, největší a nejvíce zatěžované lidské klouby vzhledem ke své poloze pod těžištěm těla. Kloubní spojení je spojení dvou nebo více kostí, které jsou vůči sobě v pohybu. Kloub je obalen v kloubním pouzdru a vyplněn synoviální kapalinou sloužící jako přírodní mazivo, jež obklopuje kloubní chrupavku [7]. Synoviální kapalina je v koleni udržována pomocí synoviální membrány, kterou je nutné během operace porušit. Při následné regeneraci dochází k obnovení funkce synoviální membrány, jež se znovu vyplní synoviální kapalinou označovanou jako pseudosynoviální [27]. Anatomii kolenního kloubu, respektive styčné plochy, lze vidět na obr. 2.3.



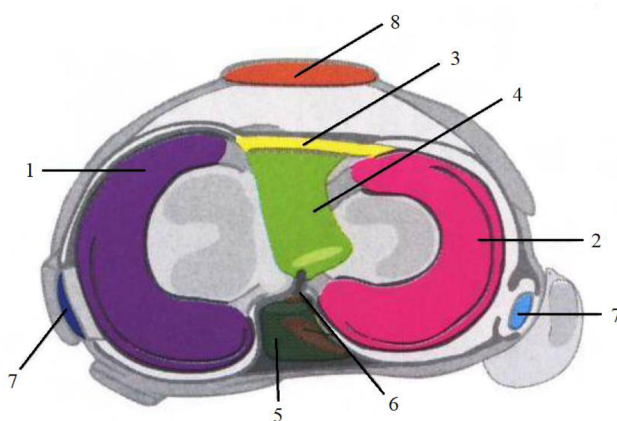
**obr. 2.3** Otevřený pravý a levý kolenní kloub [27]; (1.1) jamka – patela; (1.2) hlavice; (2.1) mediální kondyly femuru; (2.2) mediální kondyly tibie; (3.1) laterální kondyly femuru; (3.2) laterální kondyly tibie



Chrupavka tvoří základní složku kloubní kinematiky, jejímž účelem je přenášet zatížení vyplývající z tělesné hmotnosti a každodenních aktivit jedince. Zdravá chrupavka díky unikátnímu mechanismu mazání zajišťuje velice hladký povrch artikulujících prvků, čímž usnadňuje pohyb a neopotřebovává klouby [8]. Chrupavka při zatížení nejprve nechá stlačovat intersticiální fázi (tekutina obsahující přibližně 75 % nasycené vody s obsahem mobilních iontů) chránící pevnou matici. S narůstajícím zatížením je intersticiální fáze vytlačována z kontaktní plochy ven, aby došlo ke snížení tlaku, který se poté přenáší na pevnou matici. Popsaný proces zajišťuje velmi nízké hodnoty koeficientu tření v biologickém kloubu a v současné době je prakticky nenahraditelný [4][6]. Exsudace (pronikání tekutiny z cév) z této tkáně není okamžitá. Děje se tak díky nízké propustnosti. Chrupavka dokáže tekutinu z intersticiální fáze uvolňovat postupně po dobu několika minut, což je zásadní děj při snižování opotřebení pevné matrice u biologického kolenního kloubu. Navíc jeli rychlost pohybu a jeho délka dostatečně dlouhá, lze dosáhnout rovnováhy mezi exsudací a absorpcí tekutiny [8].

Důležitou součástí kolenního kloubu jsou i menisky. Menisky jsou na tibiálním plató dva, mediální a laterální, viz obr. 2.4. Mediální meniskus je větší, méně pohyblivý a nepružný (k jeho poškození dochází častěji). Laterální meniskus je značně pohyblivější a má téměř kruhovitý tvar. Menisky mají několik zásadních funkcí [28]:

- Zajišťují schopnost zadržování vody v kloubní chrupavce (udržují tak hydrostatický tlak při zatížení kolene a tím napomáhají ochránit kloub před osteoartrózou)
- Vyrovnávají nerovnosti artikulujících kostí a zajišťují lepší absorpci nárazů
- Kontrolují vnitřní a vnější rotaci tibie
- Podílí se na distribuci živin a lubrikaci kolenního kloubu



**obr. 2.4** Pravý kolenní kloub, pohled shora [27]; (1) mediální meniskus; (2) laterální meniskus; (3) nitrokloubní vaz – spojuje ventrálně menisky; (4) přední zkřížený vaz – LCA; (5) zadní zkřížený vaz – LCP; (6) slabé vazy kolem zadního zkříženého vaz; (7) postranní vazy; (8) přední vaz – úpon přes česku

## 2.3 Kolenní náhrady

Kolenní náhrada (částečná nebo TKR – totální endoprotéza kolenního kloubu, z anglického total knee replacement) je označení pro model nahrazující veškeré funkční celky kolenního kloubu, viz obr. 2.5, v důsledku kloubních onemocnění, nitrokloubních zlomenin apod. Model náhrady se skládá z femorální komponenty, tibiální komponenty a tibiální vložky (plató). V některých případech dochází i k nahrazení pately (česky).

Pro kolenní náhrady jsou stanoveny přísné podmínky na biokompatibilitu a mechanické vlastnosti, jimiž musí implantát disponovat. Kontaktní plochy implantátů musí umožňovat správný a snadný pohyb v kloubu a ideálně nahrazovat rozložení tlakových napětí. Materiály kolenních náhrad zároveň nesmí ovlivňovat koagulaci (krevní srážení), atd. Základní požadavky na kolenní náhrady jsou:

- tvarové (rozklad tlakových sil na kontaktních plochách náhrady),
- z hlediska statického namáhání (pevnost, pružnost),
- z hlediska dynamického namáhání (odolnost proti otěru a únavová pevnost).

V konečném důsledku však náhrada nikdy nebude schopna plně nahradit funkce původní lidské tkáně, a to především kvůli neschopnosti regenerace a absenci specifických funkcí chrupavky a menisků.



**obr. 2.5** Skladba komponent totální endoprotézy kolenního kloubu [5]

### 2.3.1 Uchycení kolenních náhrad

Kolenní náhrady lze dělit podle několika faktorů, primárně však podle typu fixace endoprotézy ke kostnímu lůžku – cementováním, necementováním, hybridně. Volba vhodného uchycení je individuální. Při metodě cementování jsou implantáty uchyceny do kostí za pomoci kostního cementu. Kostní cement vyplní prostor mezi kostí a fixním prvkem implantátu, čímž vzniká rozhraní, které přenáší silové působení. Mezi výhody této metody řadíme okamžitou a pevnou fixaci a taktéž dorovnání drobných defektů v kosti. Nevýhodou je možný únik kostního cementu do organismu a následné poškození přilehlých kostí, projev infekce v pooperačním období apod. Necementované implantáty mívají pórovitě upravený povrch fixních částí, aby kost mohla vrůstat do endoprotézy. Tibiální komponenta může být zároveň fixována čepy nebo šrouby. U této metody je kladen vysoký nárok na přesné uchycení implantátu na kostní lůžko. Rekonvalescence je u tohoto typu uchycení mnohem delší než v případě cementačního způsobu. Hybridním uchycením je provedena kombinace výše uvedených typů, kdy se tibiální komponenta cementuje a femorální necementuje [4].

### 2.3.2 Materiály kolenních náhrad

#### **Kovové materiály**

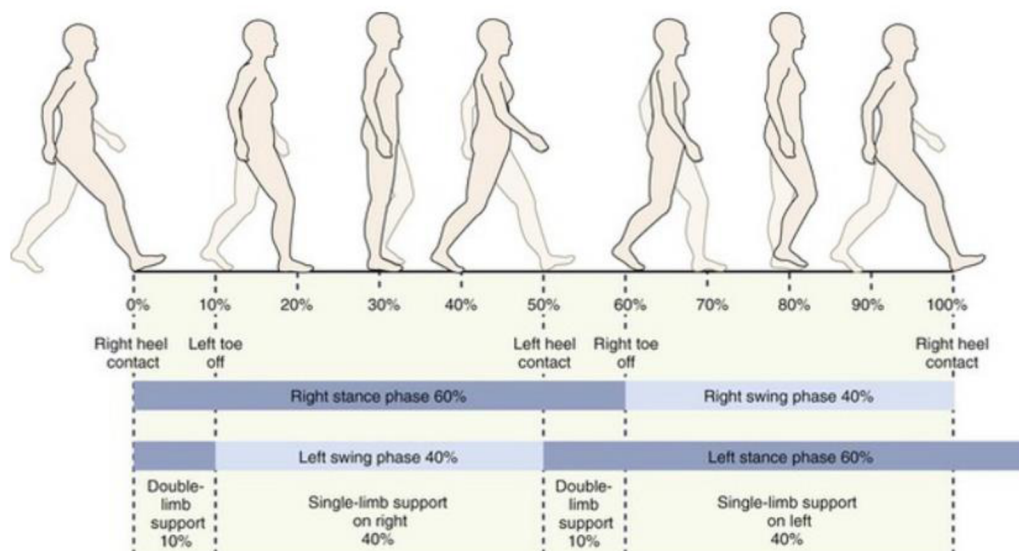
Z kovových materiálů je nejvíce využívána slitina CoCrMo a korozivzdorná ocel CrNiMo s nízkým obsahem uhlíku. Výhodou kovových materiálů jsou jejich mechanické vlastnosti, především vysoká pevnost, tvrdost a odolnost. Dále vynikají dobrou biokompatibilitou (zvláště kobaltové slitiny) a korozivzdorností. Rovnocenným materiálem ke slitinám kobaltu a chrom-nikl-molybdenové oceli jsou slitiny titanu. Nevýhodou tohoto materiálu je vysoká výrobní cena. Ve srovnání s ostatními kovovými materiály využívanými k výrobě kolenních náhrad mají slitiny titanu poloviční modul pružnosti a jsou tak v tomto ohledu blíže vlastnostem kostí [4][6][9].

#### **Nekovové materiály**

Z nekovových materiálů je pro výrobu kolenních náhrad využíváno keramiky a plastů. Důvod pro využití keramiky v aloplastice (úplná nebo částečná rekonstrukce kloubu pomocí cizího materiálu) bylo výrazné snížení tření a tím i opotřebení. Stejně jako vybrané kovové materiály vyniká keramika velmi dobrou biokompatibilitou. Nevýhodou je naopak jejich křehkost. Pevnost keramiky je závislá na čistotě materiálu a je třeba dodržovat i její vysokou hustotu. Z plastů je nejvíce využíván vysokomolekulární polyethylen (UHMWPE), jehož přednostmi jsou odolnost proti rázům, abrazivnímu opotřebení a výrobní nenáročnost. Nevýhodou je fakt, že ořevové částice některých polymerních materiálů jsou odpovědné za osteolýzu. Důležitým plastem využívaným v souvislosti s kolenními náhradami je i polymethylmethakrylát (PMMA), jež je využíván jako kloubní cement pro ukotvení komponent [4][6][9].

## 2.4 Rozbor cyklu chůze

Chůze je komplexní druh pohybu, který se skládá z jednotlivých krokových cyklů (označováno jako gait cycle). Krokový cyklus je z 60 % tvořen fází stojnou (stance phase), kdy je noha v kontaktu s podložkou, a ze 40 % fází švihovou (swing phase), kdy noha není v kontaktu s podložkou, viz obr. 2.6.



obr. 2.6 Fáze jednoho cyklu chůze [30]

Krokový cyklus začíná dopadem paty na podklad (heel strike). Koleno je v tomto bodě v téměř plné extenzi. Nastává prudký nárůst zatížení, přičemž mírná flexe snižuje absorpci nárazu. Váha těla se přesouvá vpřed (midstance, 10 – 30 % cyklu) a stoupají nároky na udržení stability kolene, které je v postupné extenzi až do předšvihové fáze. Váha se dále přenáší na přední část chodidla a dochází k odlepení paty od podložky. Následně je odlepena i špička chodidla (toe off), čímž se cyklus přesouvá do fáze švihové. Zatížení během této fáze klesá na minimální hodnoty, flexe naopak nabývá maxima (v rámci cyklu chůze).

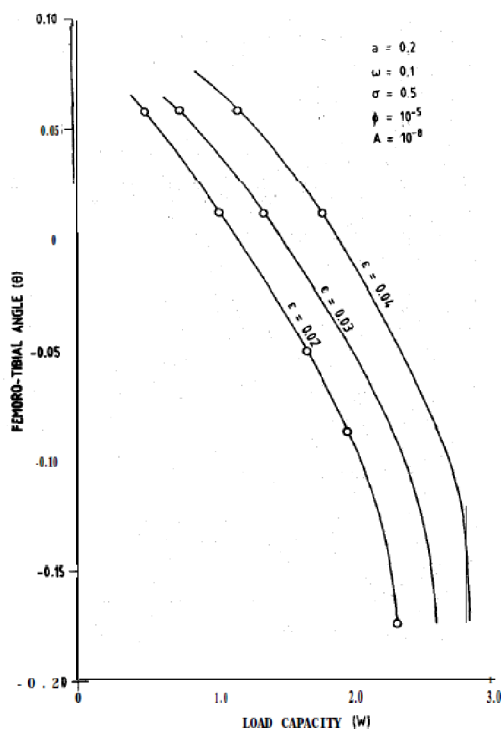
Na začátku a konci stojné fáze dochází ke krátkým momentům, kdy jsou v kontaktu s podložkou obě nohy. Tyto momenty se nazývají fáze dvou opor. Se zvyšující se rychlostí pohybu se tyto fáze zkracují, při běhu zcela mizí.

## 2.5 Výzkum v oblasti mazání kloubních náhrad

Omezená životnost kolenních náhrad je hlavním důvodem pro neustálý vývoj v této oblasti. Počet operací navíc každým rokem narůstá. Je jasné, že tribologické procesy přímo souvisejí s omezenou životností, jelikož kloubní infekce a aseptické uvolňování implantátů nejčastěji nastává v důsledku působení částic opotřebením kolenních náhrad. Jelikož je experimentální výzkum v oblasti mazání kolenních náhrad značně omezen, jsou v práci zpracovány mimo numerických studií zaměřených na mazání kolenních náhrad i experimentální studie zabývající se mazáním kyčelních náhrad, které již dokázali aplikovat a pozorovat chování synoviální kapaliny.

### 2.5.1 Numerické studie

Prvotní studie **Tandon a Jaggi 1979** [10] věnující se mazání kolenních náhrad definuje problematiku mazání tohoto typu kloubního spojení za omezeného pohybu pomocí numerických simulací se zjednodušenou geometrií implantátu. Tandon a Jaggi navrhli idealizovaný model zahrnující viskoelastický parametr maziva. Navrhovaný model zahrnuje dvě proudící tekutiny – viskózní tekutinu v póro-elastické matici a viskoelastickou tekutinu, která reprezentuje synoviální kapalinu. Numerický model zahrnuje i elastickou deformaci spodní plochy představující tibii. Studie rozděluje mazací proces na dvě fáze. V počáteční fázi jsou oba povrchy tuhé a tloušťka filmu se se změnou polohy nemění. Během druhé fáze, fáze elastické deformace, se tloušťka mazacího filmu mění s pružnou deformací povrchů. Práce uvádí konkrétní hodnoty navýšení únosnosti nahrazené tibie v závislosti na změně natočení z  $+9^\circ$  na  $-9^\circ$ . Výsledky jsou podle autorů v dobrém souladu s normálním stavem v biologickém kloubu. Dále autoři dospívají k závěru, že nárůst rychlosti skluzu na hranici kontaktu, je přispívajícím prvkem pro snadné fungování lidského kloubu a rovněž zvyšuje únosnost nahrazené tibie. V závěru práce je zmíněno, že během normálního fungování biologického kloubu se do pórovité vrstvy chrupavky mohou dostat pouze velmi jemné částice, čímž na rozhraní mezi oběma kostmi zůstává suspenze obohacená molekulami kyseliny hyaluronové. Zvýšení koncentrace těchto molekul znamená zvýšení viskozity synoviální kapaliny. Byl zkoumán účinek nárůstu viskoelastického parametru, přičemž vyšlo najevo, že s vyšší hodnotou, odpovídající zvýšené koncentraci zmíněné suspenze, dochází k nárůstu únosnosti nahrazené tibie, viz obr. 2.7.



obr. 2.7 Změna únosnosti s nárůstem viskoelastického parametru [10]

Na konci osmdesátých let byla vydána jedna z prvních studií, která numerické predikce ověřovala na kolenním simulátoru. Práce **Murakami a Ohtsuki 1987** [20] se věnovala formování mazacího filmu v kolenní náhradě. Účinek kinematických podmínek a proměnlivého zatížení na tvorbu mazacího filmu byl zkoumán metodou měření kontaktního elektrického odporu. Perioda jednoho cyklu byla dvě sekundy. Pro testování byly použity dva druhy tibiálních vložek, jedna z materiálu UHMWPE a druhá ze silikonového kaučuku. Jako testovací kapaliny byly použity silikonové oleje o kinematické viskozitě 1, 2, 10, 30, 100, 1000 a 10000  $\text{mm}^2/\text{s}$  při 25 °C. Délka pozorování byla stanovena na dobu 35 cyklů. Experimenty probíhaly dvěma způsoby. První typ experimentu působil pouze axiální zatížení bez rotace F/E (test je označen termínem ‘no swing’). Druhý typ experimentu zahrnoval jak axiální zatížení, tak rotaci F/E (‘swing’). Polyethylenová tibiální vložka ukázala během no swing testů nulový stupeň separace pro všechny typy olejů. Tekutý film byl zřejmě vytlačen z kontaktní oblasti. U testů swing je pozorována mírná tvorba filmu u olejů s vyšší viskozitou, přičemž k dokonalé separaci povrchů dochází pouze při nízkém zatížení. Druhý typ vložky vykazoval změnu stupně separace povrchů i při no swing testech. Zde platilo, že minimální tloušťka filmu byla nejmenší vždy těsně před maximální hodnotou zatížení.

Za obvyklých podmínek chůze, což v tomto případě demonstroval swing test, se ukázal kladným účinek působení FE rotace femorální komponenty, jelikož vlivem tohoto pohybu docházelo ke strhávání maziva do kontaktu. Během fáze stání a při maximálním zatížení stupeň separace klesal. Při následné rotaci femorální komponenty došlo k vytvoření značného mazacího filmu, v této fázi cyklu však zároveň klesala hodnota zatížení a navýšení tloušťky filmu lze tak připisovat i tomuto faktu. Autoři dále poukazují na vliv narůstající deformace tibiální vložky, což zlepšuje konformitu povrchů a taktéž může vést k lepší tvorbě filmu, k čemuž přispívá i zvětšení kontaktní oblasti. V obou případech testů je dále pozorováno, že stupeň separace od hodnoty viskozity  $1 \text{ mm}^2/\text{s}$  do hodnoty  $10 \text{ mm}^2/\text{s}$  klesá, ale od tohoto vzorku maziva zpětně výrazně narůstá. Vyšší viskozita zlepšuje tvorbu tekutinového filmu vlivem viskózního efektu.

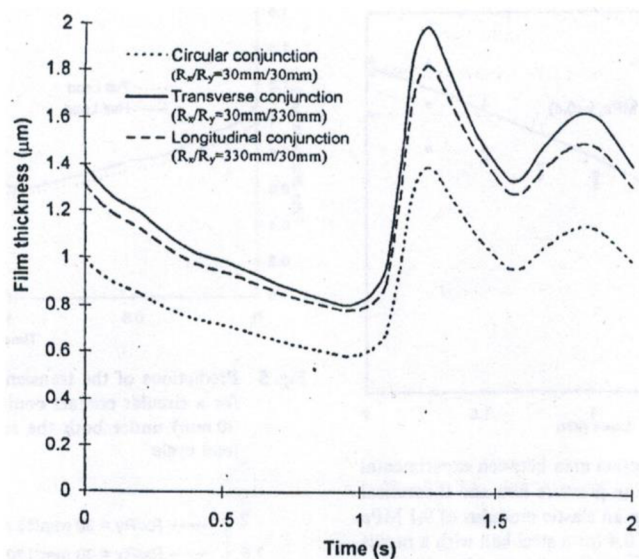
**Ohtsuki et al. 1997** [12] se zabýval tvorbou mazacího filmu a třecího chování u zjednodušeného modelu reprezentující femorální komponentu (koule z nerezové oceli o poloměru 30 mm). Tibiální komponenta byla zastoupena gumovou silikonovou podložkou tloušťky 3 mm uloženou na lůžku z pryskyřice. Tibiální komponenta byla navržena ve čtyřech tvarech (plochá, s poloměrem 330, 360 a 390 mm), přičemž se dále rozlišovaly geometrické tvary spojení na kruh, podélně dlouhou elipsu a příčně dlouhou elipsu ve směru pohybu. Jako mazivo byl použit silikonový olej s kinematickou viskozitou  $30 \text{ mm}^2/\text{s}$  při  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ . Výsledky byly vyhodnocovány z 25. cyklu testování z celkových třiceti. Frekvence cyklu byla  $0,5 \text{ Hz}$ . Jelikož studie vychází u experimentů pouze z jedné kontaktní oblasti, i když náhrady mají kontakt na kondylu mediálním i laterálním, aplikuje se proměnné zatížení poloviční a pro srovnání i plné. Výsledky ukazují, že větší kontaktní plocha v příčném směru vykazuje lepší schopnost tvorby mazacího filmu než geometrie s větším poloměrem v podélném směru. Během testů bylo u příčné geometrie pozorováno menší tření a větší stupeň separace povrchů. U podélné i příčné geometrie spojení byl zkoumán vliv délky kontaktní plochy na tvorbu mazacího filmu. Ukázalo se, že vložka s poloměrem 330 mm odpovídající největší podélné kontaktní ploše vykazuje při plném zatížení nižší tření a větší separaci povrchů ve srovnání s ostatními komponentami. Naopak při polovičním zatížení vykazuje vyšší tření a nižší stupeň separace povrchů. Pravděpodobně se tak děje v důsledku laterálního úniku mazacího filmu právě vlivem mírnějších podmínek. Tyto výsledky ukazují, že vliv geometrie kontaktu závisí i na provozních podmínkách, především na zatížení, respektive kontaktním tlaku. U příčně dlouhé kontaktní plochy z výsledků vyplývá, že daný typ geometrie dokáže vytvářet dostatečný mazací film a udržovat tak stav nízkého tření při polovičním i při plném proměnném zatížení. Autor se dále zmiňuje, že na základě předchozích studií se zdá aplikace poddajnější vrstvy povrchu protézy jako lepší varianta pro tvorbu mazacího filmu. V článku je především poukázáno na důležitost role geometrie náhrad, jež hraje podstatnou roli při vytváření mazacího filmu.

Téměř stejné složení výzkumného týmu jako u předchozí práce se věnovalo studii [19] (**Murakami et al. 1997**) mazacího výkonu modelů kolenních protéz s poddajnými vrstvami povrchů. Výsledky byly diskutovány z hlediska adaptivního multimode mazání, tedy takového, jaký lze pozorovat u biologické chrupavky. Minimální tloušťka filmu byla predikována numerickou analýzou na základě nakloněného rovinného modelu pro hydrofilní polyvinylalkohol (PVA) a polyuretan. Výsledky byly ověřovány na zjednodušeném kolenním simulátoru. Jako mazivo byla využita kyselina hyaluronová samostatně, dále v kombinaci s proteiny a/nebo fosfolipidy  $\text{L}\alpha\text{-DPPC}$  (dominantní fosfolipid v synoviální tekutině). Jako vzorek femorální komponenty byl použit válec z nerezové oceli o poloměru 30 mm. Během simulačních testů (cyklus chůze) byla tvorba filmu v náhradě zkoumána na základě separace povrchů metodou elektrického odporu a třecích sil. Výsledky ukázaly, že maziva s viskozitou odpovídající synoviální tekutině byla schopna vytvářet EHD mazací film predikovaný numerickou analýzou. Naopak maziva s nízkou viskozitou (nižší koncentrace HA odpovídá nižší viskozitě) vykazovala lokální přímé kontakty třecích povrchů v důsledku rozpadu třecího filmu. V tomto případě přidání vždy jednoho z proteinů značně snižovalo tření u povrchu PVA. Zvýšení koeficientu tření bylo po přidání proteinu  $\gamma$ -globulinu naopak pozorováno u polyuretanového materiálu. Během testů byl při opakování navýšen počet fosfolipidových liposomů, které měly rovněž vliv na snížení tření. Na povrchu desky z nerezové oceli byla pozorována adsorbovaná vrstva složek synoviální tekutiny. Studie se zmiňuje o lepším účinku měkčího materiálu na tvorbu mazacího filmu během chůze (PVA vykazovalo asi třikrát větší tloušťku filmu než polyuretan). Studie dále uvádí, že k přímému kontaktu povrchů může dojít při zahájení pohybu po dlouhém stání, kdy se tloušťka filmu snižuje. Děje se tak i v biologickém kloubním spojení, proto je důležitá ochrana v podobě adsorbované vrstvy proteinů na povrchu náhrad. Studie konstatuje, že proces tření pravděpodobně mění adsorbovaný stav. Práce v závěru uvádí, že zvýšená geometrická shoda implantátu způsobuje lepší tvorbu mazacího filmu a nedílnou součástí je i aplikace vyhovujícího materiálu náhrad.

Výsledky předchozí studie jsou v dobré shodě s výzkumem **Jin et al. 1998** [11], který na základě elastohydrodynamické teorie mazání za podmínek simulování normální chůze předpovídá tloušťku přechodného mazacího filmu v kolenních náhradách. Predikce byla realizována pomocí zjednodušených numerických modelů elipsoid-on-plane. Práce navazuje na studii [12] a podle předchozích výsledků pokračuje ve sledování vlivu geometrie kontaktní oblasti. Jeden z výsledků studie lze vidět na obr. 2.8, který potvrzuje roli větší příčné kontaktní plochy, co by vhodnějšího tvaru geometrie kontaktu pro utváření mazacího filmu. Lze také vidět, že předpokládaná tloušťka mazacího filmu pro podélné a příčné kontaktní geometrie je výrazně vyšší než pro kruhový kontakt. Důvodem je nárůst konformity povrchů a tím i kontaktní plochy, což se jeví jako výrazný faktor při tvorbě mazacího filmu. Hodnota predikce tloušťky filmu je podřízena především poloměru ve směru pohybu do kontaktu (poloměr křivosti v sagitální rovině) a parametru elipticity.

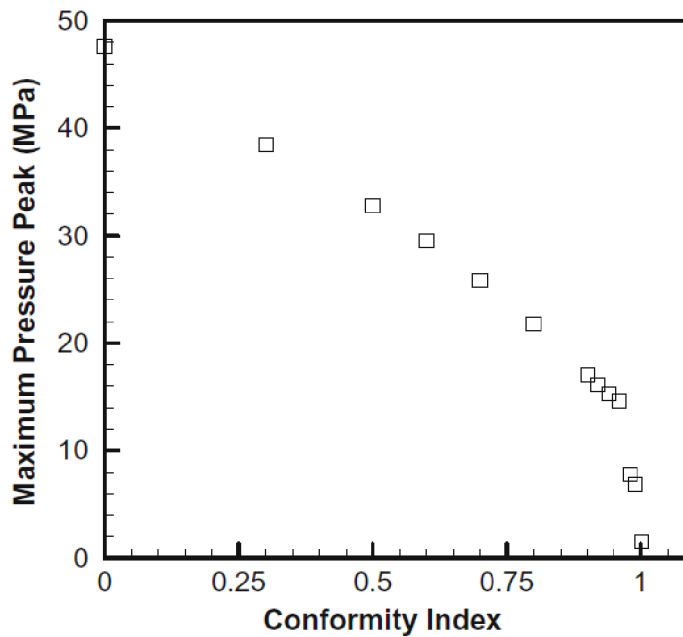


Jeden za závěrů studie uvádí, že zachování poměru elipticity a současném zmenšení kontaktní plochy může vést k výraznému snížení předpokládané tloušťky filmu jak pro příčnou, tak podélnou kontaktní geometrii.



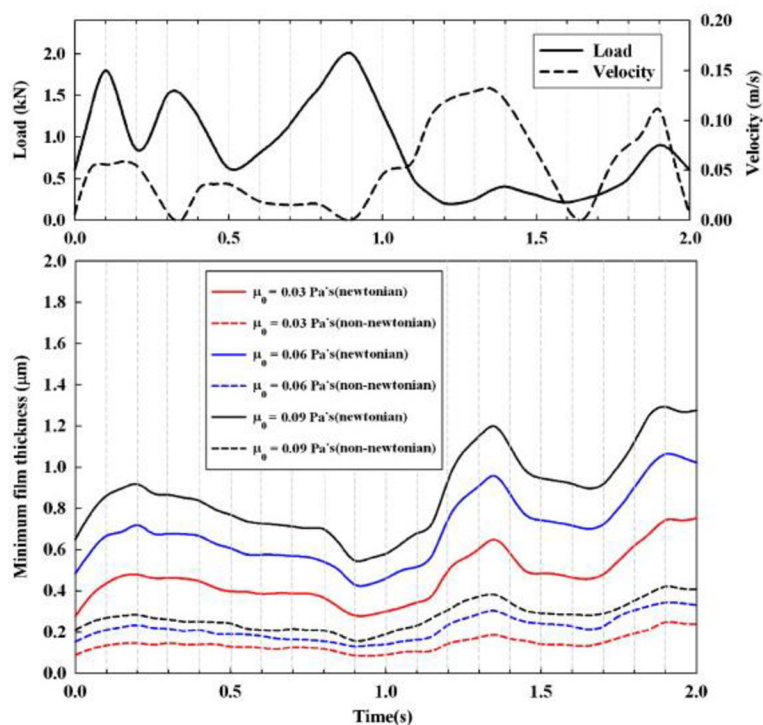
obr. 2.8 Predikce vývoje tloušťky mazacího filmu pro různé tvary geometrie kontaktu [11]

Cílem práce **Pascau et al. 2009** [25] bylo vyhodnotit kontaktní tlaky v náhradě kolenního kloubu při různých poměrech konformity ploch. Pro vyhodnocení vlivu konformity ploch na hodnotu kontaktního tlaku byl zkoumán zjednodušený 2D model femorotibiálního kontaktu v sagitální rovině. Pomocí počítačových simulací se přistupovalo k 3D modelu, který umožnil vyhodnotit vývoj mezery mezi komponentami v průběhu cyklu a prostorové rozložení tlaku v každém časovém kroku. Hodnota dynamické viskozity maziva činila  $10^{-2}$  Pa\*s. Poměr kontaktních ploch podstatně ovlivňoval výsledky, když pro počáteční hodnotu konformity 0 (nízká shoda povrchů) byl naměřen kontaktní tlak okolo 47 MPa a pro druhou hraniční hodnotu, konformitu 1 (velká shoda povrchů), pouhých 1,4 MPa, viz obr. 2.9. V závislosti na konformitě povrchů byly během experimentů pozorovány tři druhy chování z hlediska dosažení maximální hodnoty kontaktního tlaku. Při konformitě do 0,96 byla dosažena maximální hodnota kontaktního tlaku při přímém kontaktu součástí, ke kterému došlo ještě před dosažením maximální aplikované hodnoty zatížení. Konformity povrchů o hodnotě mezi 0,96 až 0,99 vykazovaly tlakový vrchol přibližně po polovině doby, kdy bylo aplikováno maximální zatížení. Pro konformitu 1 pak byla vykazována různá maxima během celého cyklu chůze. Autoři se zmiňují, že reakce synoviální kapaliny na aplikované zatížení je přímo spojena s jejím reologickým chováním, jež se může měnit v závislosti na složení (synoviální kapalina má ve zdravém kolenu rozdílnou koncentraci jednotlivých složek). Dále je poukázáno na fakt, že k výraznému snížení kontaktního tlaku docházelo až při dosažení vysoké konformity povrchů (0,96 a více), viz obr. 2.9. Jeden ze závěrů studie uvádí, že na počátku stojné fáze dochází k vyšší konformitě povrchů, čímž dochází ke snížení tlakových napětí na polyethylenovou vložku.



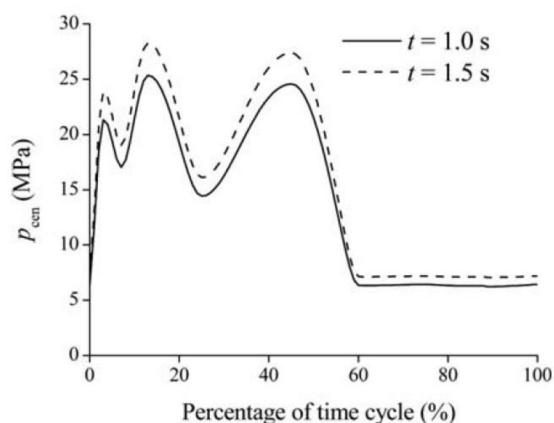
obr. 2.9 Vývoj maximálních tlaků podle indexu konformity [25]

Numerická studie **Mongkolwongrojn et al. 2010** [13] uvažuje bodový kontakt s EHD (elastohydrodynamickým) režimem mazání a predikuje tloušťku mazacího filmu a rozložení tlaku během cyklu chůze mezi povrchem UHMWPE a slitinou CoCr. V práci je posuzován vliv newtonské a neneutonské povahy maziva, přičemž se autoři spíše zaměřují na neneutonská maziva, která svým chováním lépe demonstrují synoviální kapalinu. Stejně jako v předchozí studii [11] i v této práci je zkoumán vliv poměru elipticity na tlak a tloušťku filmu. Při nárůstu poměru elipticity (zkoumané hodnoty 0,5, 1, 5 a 20) z minimální na maximální hodnotu se kontaktní tlak výrazně snižuje, přičemž minimální tloušťka filmu je téměř trojnásobná. Autoři konstatují, že ke změnám poměru elipticity v průběhu flexe a extenze u femorální komponenty dochází v určitém rozsahu, který není blíže specifikován. Jedním z výsledků studie je pozorování vlivu navýšení dynamické viskozity z hodnoty 0,06 na 6 Pa\*s, kdy se minimální tloušťka filmu téměř čtyřnásobila, přičemž se maximální tlak snížil jen nepatrně. Jedním z pozorovaných vlivů na vývoj tloušťky filmu a hodnoty kontaktního tlaku byla i rychlost pohybu. V tomto případě nebyly pozorovány významné změny v rozložení tlaku a tloušťka filmu vzrostla při navýšení rychlosti (z 0,5 na 1 m/s) pouze o 0,5  $\mu\text{m}$ . Ukazuje se, že tloušťka mazacího filmu, z hlediska doby potřebné pro jeho vytvoření, je během prvního cyklu vždy nižší, viz obr. 2.10. Následně je film podobný pro každý cyklus a je závislý především na proměnlivém zatížení a rychlosti během lidského pohybu. Hlavním závěrem autorů je konstatování, že minimální tloušťka filmu během celého cyklu chůze je vždy větší pro měkčí povrchy, menší zatížení, vyšší rychlost a větší viskozitu maziva. Při stejných podmínkách zatížení a rychlosti pohybu vykazují neneutonské kapaliny nižší minimální tloušťku filmu než kapaliny newtonské, k čemuž dochází v důsledku tzv. “shear thinning“ efektu.



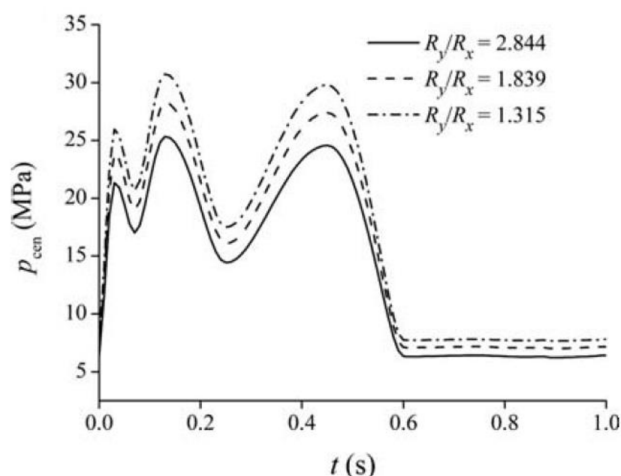
obr. 2.10 Vývoj minimální tloušťky mazacího filmu během prvního cyklu pro umělý kolenní kloub [13]

Studie **Su et al. 2011** [14] se zabývala časově závislou EHD analýzou kolenní náhrady s ohledem na cyklické zatížení a kinematické podmínky, které simulovaly normální chůzi. Stejně jako u dřívějších studií byl aplikován model elipsoid-on-plane, jež reprezentoval umělý kolenní kloub. Autoři vycházejí ze stejné kontaktní geometrie náhrad jako kolektiv Jin et al. [11]. Za účelem posouzení vlivu konformity styku na vývoj mazacího filmu jsou zkoumány různé poměry poloměrů náhrad: 1,315, 1,839 a 2,844 (poloměr ve frontální rovině je fixní, mění se pouze poloměr v rovině sagitální). V práci je poukázáno na fakt, že axiální síla je nerovnoměrně rozdělena na oba kondyly, přičemž mediální kondyl přenáší mírně větší část zatížení (asi 60 %). Pro testování byla použita maziva s newtonským chováním o dynamické viskozitě 0,1 Pa\*s. V práci jsou uvedeny výsledky numerického přístupu, které ukazují, že hodnota časově závislého hydrodynamického tlaku v mazivu je určena spíše proměnným zatížením, nežli změnou rychlosti pohybu, jak lze vidět na obr. 2.11. Během testování docházelo ke snižování centrální tloušťky filmu ve fázi stojné, kdy je na koleno přenášeno vyšší zatížení. Dochází tak k většímu stlačování filmu. Ve fázi, kdy je koleno odlehčeno (fáze švihová), se mezi náhradami udržovala relativně stejná tloušťka, což je způsobeno strháváním filmu do kontaktu a relativně nízkým konstantním zatížením.



obr. 2.11 Predikce vývoje hydrodynamického tlaku při změně délky doby cyklu [14]

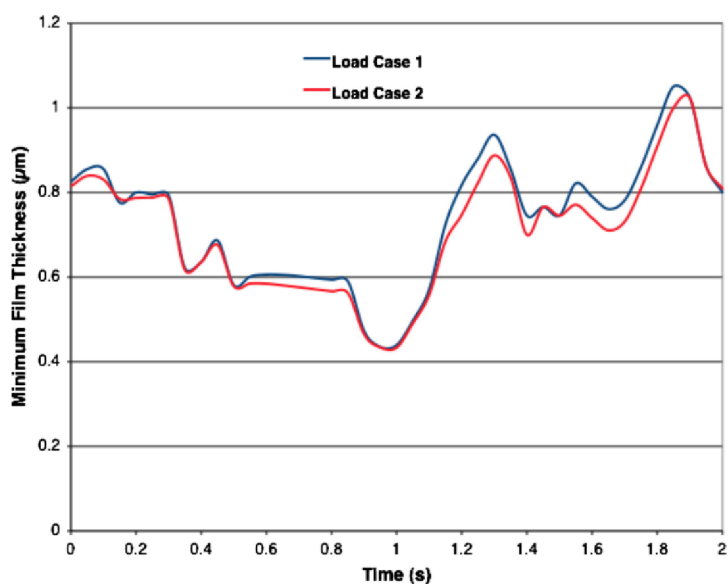
Při zkoumání vlivu změny poměru poloměrů u femorální komponenty výsledky ukázaly, že při snížení hodnoty (což mělo za následek zmenšení kontaktní plochy) dochází k navýšení tlaku při stejných podmínkách testování, viz obr. 2.12. Zároveň docházelo k poklesu předpokládané tloušťky filmu vlivem laterálního úniku maziva. Autoři konstatují, že nízká konformita povrchů má negativní dopad na EHD režim mazání a může vytvářet spíše mezný, případně smíšený, režim mazání.



obr. 2.12 Predikce vývoje hydrodynamického tlaku při změně poměru poloměrů [14]

**Kennedy et al. 2013** [15] se zabýval popisem in-vivo (přirozenými) kontaktními podmínkami vyskytujícími se u kolenních náhrad se zaměřením na pohyblivé konstrukce uložení tibiálního platů. V práci jsou podrobně definovány typické zatížení a kinematické podmínky vyskytující se v kolenních kloubech (chůze, běh). Definované zatížení a relativní pohyby jsou využívány spolu s vlastnostmi synoviální tekutiny v přechodné EHD analýze podmínek mazání na tibio-femorálním rozhraní kolenní náhrady. Vlivem nekonformní kontaktní geometrie dochází k výskytu velkých kontaktních tlaků, což má za následek značnou deformaci tibiální vložky z materiálu UHMWPE s nízkým modulem pružnosti.

Analýza rozložení tlaku a tloušťky filmu tuto deformaci zahrnuje pomocí rovnic pro řešení deformace tuhých látek a Reynoldsových rovnic definujících chování maziva v tekutém stavu. Geometrie se skládala z trojrozměrného modelu femorální komponenty (materiálové vlastnosti slitiny CoCrMo) a pohyblivého uložení tibálního plató. Na základě údajů o viskozitě synoviální tekutiny byla pro EHD analýzu volena dynamická viskozita  $0,06 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ . Pro proměnlivé zatěžovací stavy byly definovány vrcholové síly v kolenním kloubu o hodnotě  $2,4 \text{ kN}$  (viz obr. 2.13 Load Case 1), což odpovídá  $3,2 \times \text{BW}$  (Body Weight – tělesná váha jedince o hmotnosti  $75 \text{ kg}$ ), a  $3,6 \text{ kN}$  pro simulaci náročnějších podmínek (viz obr. 2.13 Load Case 2). V průběhu analýzy bylo zatížení rovnoměrně rozděleno mezi mediální a laterální kondyl. Metodika řešení studie je založená na principu uvedeném v práci Mongkolwongroj et al. [13], která popisuje přechodnou variaci tloušťky filmu mezi prvním cyklem a cykly následujícími. Jelikož tato studie na uvedenou práci navazuje, všechny uvedené hodnoty jsou až z druhého cyklu chůze.

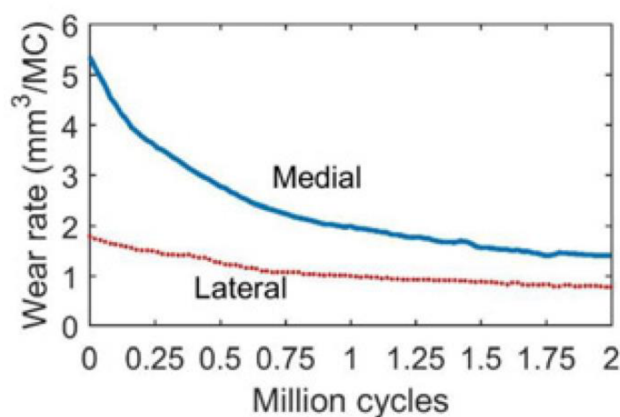


obr. 2.13 Minimální tloušťka mazacího filmu během druhého cyklu chůze [15]

Z grafu na obr. 2.13 lze vyčíst, že tloušťka filmu následuje změny zatížení a rychlost během cyklu. Nejmenší hodnoty se vyskytují v bodě blízkém pohybu toe-off (přibližně  $1 \text{ s}$ ). Hodnota tloušťky filmu je v těchto místech tak nízká, že je nepravděpodobné, aby film zabránil přímému kontaktu náhrad. Zároveň je třeba poznamenat, že mazací film pro druhý zatěžovací stav se příliš neliší. To studie připisuje efektu squeeze-filmu. Studie zjistila, že mazací film má tak malou tloušťku, že kontaktní oblast se většinou nachází ve smíšeném režimu mazání. Z toho lze vyvodit, že opotřebení tibiální komponenty z materiálu UHMWPE probíhá téměř nepřetržitě. Následná analýza vzorků tibiálních ploch potvrzuje predikci opotřebení v souladu s kontaktními podmínkami (největší opotřebení bylo detekováno na místech s nejvyšším kontaktním tlakem a nejmenší tloušťkou mazacího filmu). Práce dále zkoumala keramické femorální komponenty při stejných podmínkách testů jako pro materiál CoCrMo.

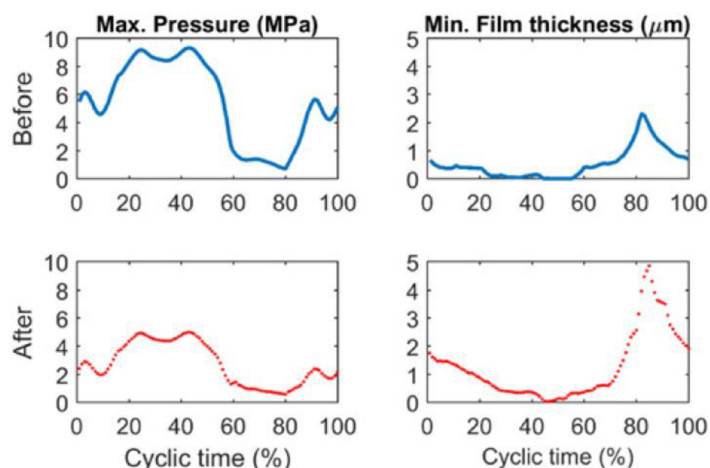
Výsledky vykazovaly téměř totožné hodnoty minimální tloušťky filmu a maximálního kontaktního tlaku jako komponenty CoCrMo. Z toho lze vyvodit, že z hlediska materiálových vlastností má dominantní roli spíše polyethylenová složka. Jedním ze závěrů studie je tvrzení, že dochází k menšímu opotřebení kloubních ploch u pohyblivého uložení tibiálního platá než u fixního, přičemž celková míra selhání implantátů je pro obě varianty relativně stejná.

Práce **Gao et al. 2018** [26] se zabývala predikcí opotřebení kolenních náhrad s ohledem na strukturu povrchu a možnosti jeho designování pro snížení opotřebení. Autoři berou v potaz geometrii kontaktní dvojice, kterou pro výpočty mírně zjednodušují. Za účelem získání hodnot tlaku v tekutině a tloušťky filmu byl aplikován smíšený model EHD mazání s newtonovskou smykově řídící kapalinou (reprezentace synoviální kapaliny). Kontaktní síly a rotační FE pohyb náhrad vycházejí z definice cyklu chůze. Důležitým prvkem studie je sledování mediálního a laterálního kondylu jednotlivě. Faktor opotřebení je vyjádřený jako exponenciální funkce poměru lambda (tloušťka filmu k průměrné drsnosti povrchu, která činila  $0,5 \mu\text{m}$ ). Opotřebení plochy polyethylenové vložky bylo pozorováno do té doby, dokud nedošlo k ustálení jejího tvaru, viz obr. 2.14, tedy dokonalému usazení náhrady. Na obr. 2.14 lze dále vyčíst, že mediální kondyl je z delšího časového hlediska vystaven větší míře opotřebení než kondyl laterální.



obr. 2.14 Opotřebení jednotlivých kondylů v průběhu dvou milionů cyklů

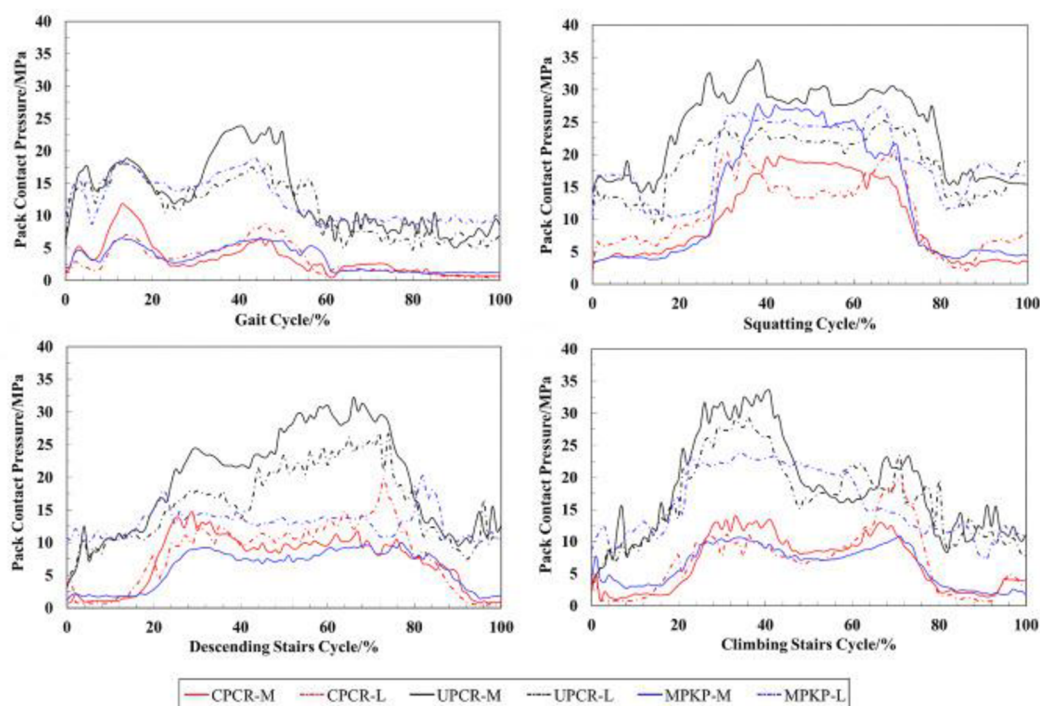
Jelikož dochází k poměrně velikému opotřebení na mediální části, snažili se autoři vyhodnotit vliv změny geometrie na vývoj tloušťky filmu a kontaktních tlaků porovnáním cyklů z počátku experimentu a jeho konce. Výsledek lze vidět na obr. 2.15, který ukazuje, že dochází k výraznému poklesu maximálních tlaků a mírnému nárůstu minimální tloušťky mazacího filmu. K největšímu opotřebení dochází kolem 55 % cyklu, tedy krátce po druhém maximu hodnot proměnlivého zatížení.



obr. 2.15 Vývoj tlaku a minimální tloušťky filmu při prvním a posledním cyklu experimentu [26]

Ve druhé polovině práce byl zkoumán účinek povrchové topografie tibiální vložky. U laterálního kondylu se ukázalo, že by úpravami povrchové struktury mohlo dojít ke zlepšení jeho mazacího výkonu a snížení opotřebení (v případě jednoho vzorku kleslo opotřebení až o 4 %). Autoři však nespecifikují žádný vztah, jež by dával do spojitosti jakýkoliv parametr texturování a opotřebení. Úprava povrchu mediálního kondylu v tomto ohledu nevykazovala žádný zjevný přínos a v některých případech dokonce docházelo k mírně většímu opotřebení.

Studie **Shu et al. 2019** [31] pomocí MKP analýz zjišťovala vliv interkondylární sagitální konformity náhrady na kontaktní mechaniku. Autoři simulovali cyklus chůze, dřep a sestup a výstup schodiště. Pro analyzování byly stanoveny tři implantáty s rozdílnou konformitou povrchů na kondylech (u modelů se lišilo zakřivení v sagitální rovině). První model (CPCR) zastupoval vysokou konformitu (0,99), druhý model (UPCR) nízkou (0,3) a třetí (MPKP) byl kombinací prvních dvou (0,99 na mediálním a 0,3 na laterálním tibiálním kondylu). Osa axiálního zatížení byla podle normy [22] posunuta o definovanou vzdálenost, aby se simulovalo odlišné zatížení na kondylech, které se v kloubu vyskytuje. Na obr. 2.16 lze vidět, že druhý model vykazoval během všech aktivit mnohem větší kontaktní tlaky než zbylé dva vzorky. První model měl při všech kinematických podmínkách relativně stejné kontaktní tlaky na obou kondylech a nevykazoval téměř žádné rozdíly. Třetí model v podstatě kopíroval výsledky (lokální mírné odchylky) předchozích dvou modelů podle konformity na jednotlivých kondylech. U prvního a třetího vzorku je na mediálním kondylu pozorován menší tlak a větší kontaktní plocha než u modelu dva. Děje se tak kvůli vyšší konformitě ploch. Toto tvrzení je v souladu s poznatky studie [13].



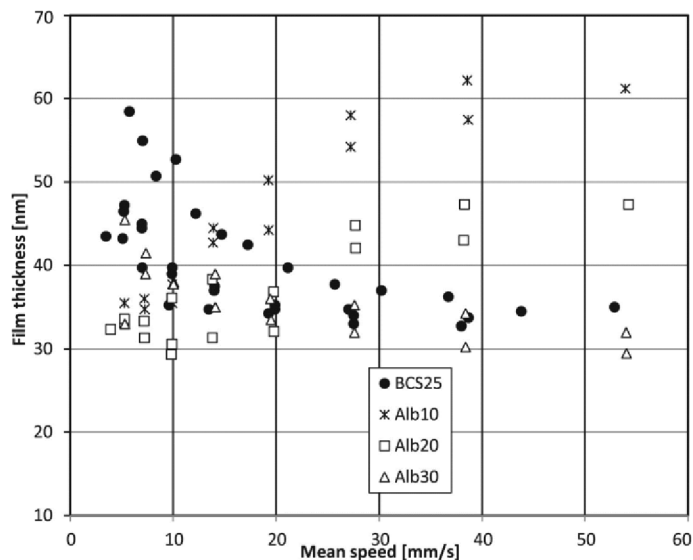
obr. 2.16 Průběh kontaktních tlaků na mediálním a laterálním kondylu tří různých náhrad při rozdílných kinematických a zátěžných podmínkách [31]

## 2.5.2 Vliv složení synoviální tekutiny

Práce **Myant et al. 2012** [18] se zabývala studiem mazacích filmů u řady hovězích roztoků obsahujících proteiny albumin a  $\gamma$ -globulin, u kterých zároveň pozorovala vliv na opotřebení femorální komponenty. Střední tloušťka mazacího filmu byla měřena pomocí optické interferometrie při proměnné rychlosti 0-50 mm/s. Experimenty byly navrženy tak, aby nejprve umožnily stabilizaci tloušťky filmu a poté bylo možné studovat vliv rychlosti a zatížení (5 - 20 N). Výsledky ukázaly, že tloušťka filmu se zvyšuje s časem jak u statických testů (v rozmezí 3 - 40 nm), tak u testů simulujících pohyb. Zároveň se ukázalo, že roztoky obsahující  $\gamma$ -globulin vytvářejí tlustší mazací filmy než ostatní testované vzorky. Bylo pozorováno, že navýšení tloušťky filmu korelovalo s projevy opotřebení na povrchu femorální komponenty, čímž docházelo ke snížení kontaktního tlaku. K opotřebení femorální hlavice docházelo už během několika prvních minut testování. V blízkosti kontaktní oblasti docházelo ke shlukování proteinů. Podle autorů je tvorba mazacího filmu během cyklu chůze u kyčelních náhrad připisována hydrodynamickým mechanismům, které navyšují tloušťku filmu vlivem strhávání tekutiny do kontaktu a stlačování filmu. Autor jako jeden z hlavních závěrů studie uvádí, že tloušťka mazacího filmu je velmi citlivá na zatížení a její narůstající hodnoty jsou připisovány spíše snížení kontaktního tlaku než ukládání povrchových adsorbovaných struktur.



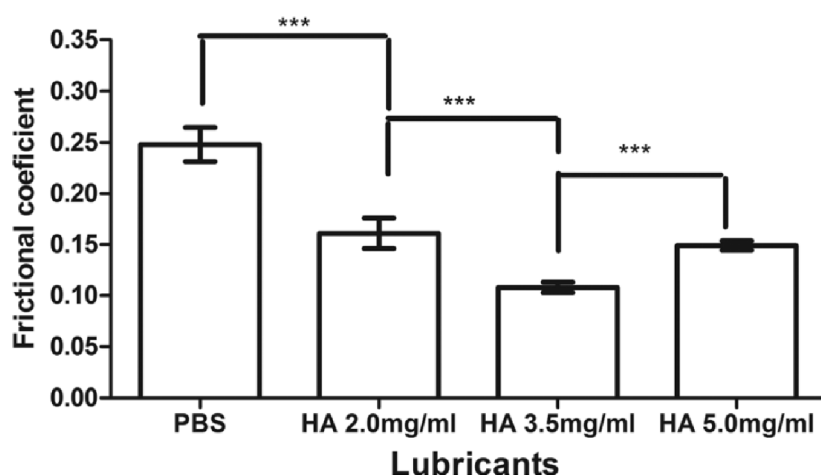
Během testů materiálové kombinace CoCrMo/sklo bylo pozorováno, že proteiny pevně přilnou pouze k materiálu CoCrMo. Studie dále uvádí výsledky testů vlivu změny rychlosti pohybu na tloušťku mazacího filmu, kdy nižší koncentrace albuminu (Alb10 a Alb20) vykazuje rostoucí film s navyšující se rychlostí, viz obr. 2.17. Naopak vyšší albuminová koncentrace (Alb30) a hovězí sérum (BCS25) s rostoucí rychlostí tloušťku mazacího filmu snižují (viz obr. 2.17), což je inverzní chování vzhledem k EHD predikcím.



obr. 2.17 Závislost tloušťky filmu na rychlosti u jednotlivých vzorků [18]

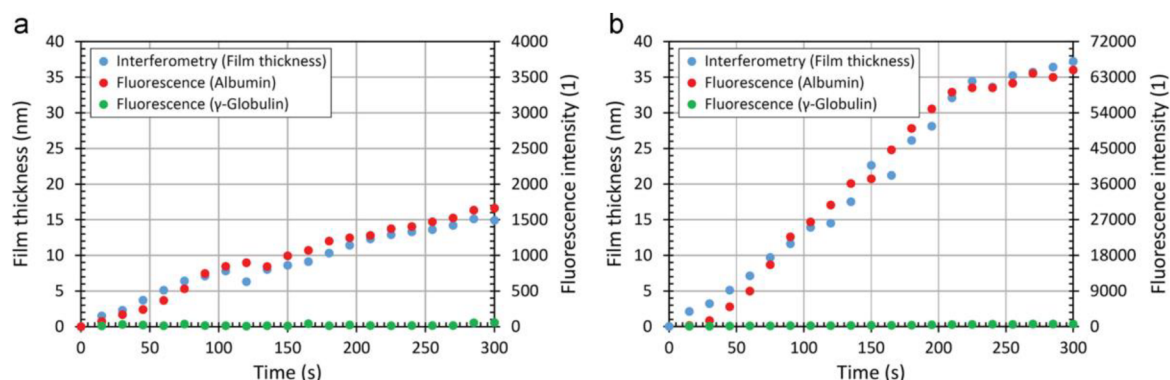
Je zřejmé, že chování jednotlivých složek synoviální kapaliny se odvíjí od jejich koncentrace. Studie **Park et al. 2014** [21] zkoumala koncentrační závislosti kyseliny hyaluronové (HA) a fosfolipidu (DPPC) na mezní mazací schopnosti. Během testování byla pozorována femorální hlavice z materiálu CoCr pomocí mikroskopie atomárních sil (AFM). Hlavní oblasti opotřebení získané z femorálního implantátu byly použity k vysvětlení vývoje mechanismu opotřebení implantované hlavice pod třecím namáháním po dlouhou dobu a zároveň sloužili k pozorování koncentračně závislého účinku HA a DPPC. Koeficient tření měřený pro různé koncentrace HA ukázal, že pouze optimální koncentrace této složky synoviální kapaliny může přispívat ke snížení tření, viz obr. 2.18 (pouze koncentrace 3,5 mg/ml dokázala výrazně snížit hodnotu koeficientu). Tento výsledek studie vysvětluje tak, že při nízké koncentraci dochází k nízké adsorpci HA na povrchu, ale naopak při vysoké koncentraci hraje roli vyšší viskozita. Studie tvrdí, že optimální koncentrace HA a DPPC pro účinné mazání je podobná koncentraci pozorované v normální lidské synoviální tekutině. Zároveň je uvedeno, že fyziologická koncentrace je v rozmezí 3 - 4 mg/ml. Práce je ve shodě s výsledky studie [18] v tvrzení, že mazání snižující tření a opotřebení závisí na adsorpci složek synoviální tekutiny na artikulujících plochách. Dále je v článku konstatováno, že HA je odpovědná především za viskozitu synoviální tekutiny a její role z hlediska účinného maziva nebyla jasně identifikována. Mazací chování DPPC bylo podobné chování HA.

Vzorky s fosfolipidy, stejně jako HA, snižovaly hodnotu koeficientu tření pouze při určité (střední) koncentrační hodnotě 0,2 mg/ml. Nižší koncentrace obsahovala 0,05 mg/ml, vyšší 3,0 mg/ml. Studie naznačuje, že fosfolipid DPPC působí jako efektivní hraniční mazivo a jeho adsorpce na povrchu je silnější než u HA.



obr. 2.18 Hodnoty koeficientů tření pro různé koncentrace HA [21]

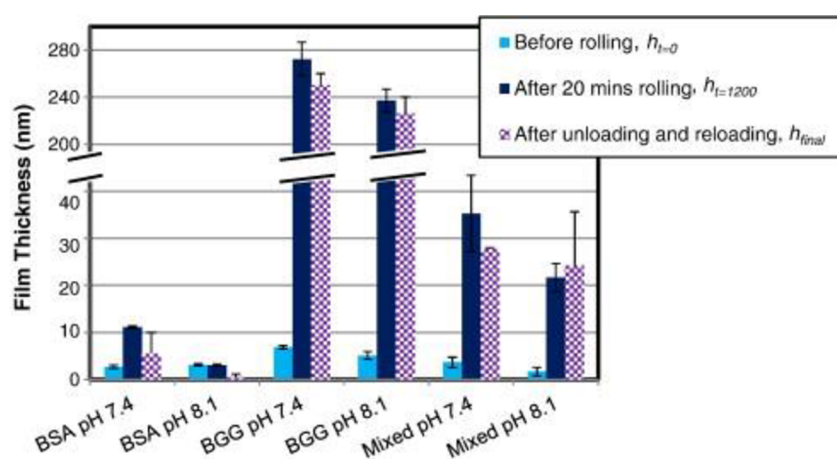
Nečas et al. 2016 [16] se zabýval vlivem složení synoviální kapaliny na tvorbu mazacího filmu, resp. chováním jednotlivých proteinů albuminu a  $\gamma$ -globulinu. Pozorování jednotlivých složek bylo realizováno pomocí fluorescenční mikroskopie na konfiguraci ball-on-disc, přičemž hodnota intenzity fluorescence vyjadřovala bezrozměrný parametr tloušťky filmu. Poměr proteinů pro experimenty byl stanoven 2:1 s vyšší koncentrací albuminu, konkrétně 7 mg/ml. Tloušťka filmu byla pozorována při rychlostech pohybu 5,7 a 22 mm/s. Výsledky testování čistého odvalování kuličky po disku ukázaly, že nezávisle na rychlosti pohybu tloušťka mazacího filmu během celého experimentu relativně narůstala. Při nižší rychlosti se vytvořil mnohem tenčí mazací film, viz obr. 2.19. V obou případech rychlosti vykazoval významný nárůst intenzity fluorescence pouze albumin, přičemž intenzita  $\gamma$ -globulinu se zvýšila jen nepatrně.



obr. 2.19 Vývoj tloušťky filmu a intenzity fluorescence označených proteinů za podmínek odvalování při rychlosti (a) 5,7 a (b) 22 mm/s [16]

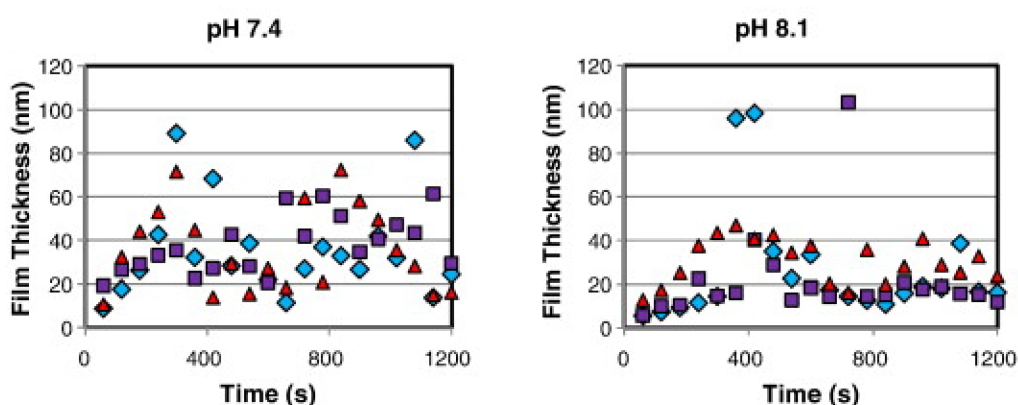
Odvalování se skluzem kuličky (kulička rychlejší než disk) vykazovalo při nižší rychlosti konstantní hodnoty intenzity fluorescence u obou proteinů. Při navýšení rychlosti tloušťka mazacího filmu mírně narůstala a kopírovala křivku intenzity fluorescence  $\gamma$ -globulinu. Intenzita fluorescence albuminu zůstává neměnná. Odvalování se skluzem disku (disk rychlejší než kulička) při nižší rychlosti vykazovalo chování podobné čistému odvalování. Tloušťka filmu byla ovlivňována především albuminem, přičemž intenzita  $\gamma$ -globulinu jen mírně kolísala. V případě vyšší rychlosti intenzita albuminu na počátku experimentu prudce vzrostla a následně poklesla na téměř nulovou hodnotu bez jakékoliv následné změny. Příspěvek  $\gamma$ -globulinu je v tomto případě podstatně větší, avšak podle názoru autora je důležitějším proteinem ovlivňující tloušťku mazacího filmu albumin. Studie podle výsledků předpokládá, že se na třecích površích vytváří tenký film  $\gamma$ -globulinu, který umožňuje adsorpci vrstev albuminu, jež vede ke zvýšení celkové tloušťky mazacího filmu. Během experimentů se očekávala přirozená kumulace proteinů ve vstupní oblasti do kontaktu, což však nebylo prokázáno. Stalo se tak pravděpodobně v důsledku podmínek mazání, jelikož nebyl demonstrován plně zaplavený kontakt.

Studie **Parkes et al. 2015** [23] se zabývala vlivem absorpce složek synoviální tekutiny na kloubních površích. V mnoha pracích je vyjádřeno, že za statických podmínek dochází k tvorbě povrchového filmu díky adsorpci složek, zatímco při dynamických podmínkách má dominantní vliv shlukování proteinů a proměnlivé zatížení. Práce zkoumá na třech modelových kapalinách (hovězí albumin BSA 10 mg/ml, hovězí  $\gamma$ -globulin BGG 2,4 mg/ml a směs obou proteinů - BCS) při hodnotách pH 7,4 a 8,1 (simulující zdravé a nemocné hodnoty pH synoviální kapaliny) vliv proteinů na tvorbu mazacího filmu pomocí optické interferometrie při statických a dynamických podmínkách. Ukázalo se, že zvýšení staticky adsorbované vrstvy a rychlosti adsorpce nekoreluje s celkovým obsahem proteinu v tekutině, ale závisí především na daném druhu proteinu. Roztoky BCS obsahující albumin i  $\gamma$ -globulin vytvářely tenčí mazací filmy než roztoky obsahující pouze  $\gamma$ -globulin. Zvýšené pH snížilo adsorbovanou hmotu, rychlost adsorbování a celkovou tloušťku filmu, viz obr. 2.20. Změna pH však neměnila kvalitativně adsorpční chování proteinových filmů.



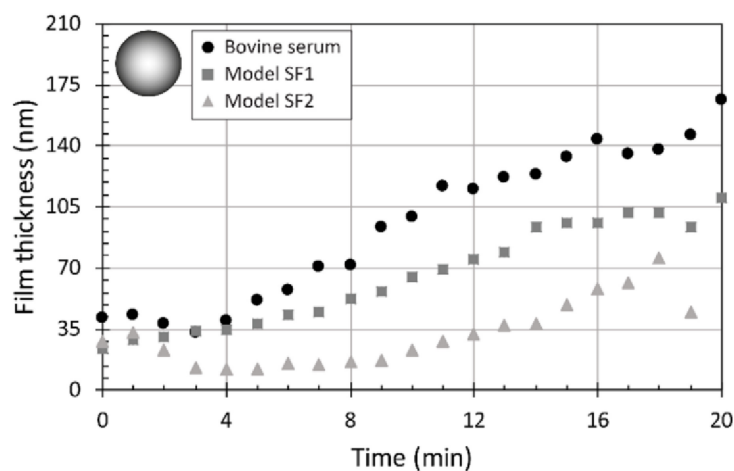
obr. 2.20 Tloušťky filmů jednotlivých vzorků s oběma hodnotami pH [23]

Vrstva BGG byla ve všech případech testování rigidnější než ostatní vzorky (BGG vytváří silnější filmy a může tak poskytovat lepší ochranu proti otěru). U smíšených proteinových roztoků adsorbovaná hmota a rychlost adsorpce způsobovaly snížení celkové tloušťky filmu navzdory vyššímu obsahu proteinů v porovnání s BGG. Mezi jednoduchými roztoky a smíšenými proteinovými roztoky je tedy rozpor v rychlosti adsorpce. To je vysvětleno “soutěžením“ BSA a BGG o povrchová adsorpční místa, jelikož ve směsných proteinových filmech dominují interakce mezi proteiny. Tloušťka filmu vytvořená za dynamických podmínek byla rovněž závislá na viskoelastických vlastnostech filmu vytvořeného za statických podmínek (adsorbované filmy obsahují vodu a ionty, tudíž tyto vrstvy nemusí být dokonale tuhé a mohou vykazovat značnou viskoelasticitu). V daném případě odpovídaly tenčí filmy více hydratovaným viskoelastickým adsorbovaným filmům. Tento poznatek ukázal, že interakce mezi proteiny a povrchem implantátu může ovlivňovat oba mechanismy tvorby filmu. Studie potvrzuje jeden z výsledků práce [18], jelikož uvádí, že kolem kontaktní plochy (konkrétně na vstupu do kontaktu) dochází k výskytu zvýšené koncentrace proteinů. Dále autoři komentují vliv pH na tloušťku filmu u smíšených proteinových roztoků, který je nepatrný. Při pH 7,4 je film mírně silnější, avšak s většími výkyvy, jelikož byly v tomto případě pozorovány větší usazeniny proteinů při měření tloušťky, viz obr. 2.21. Celkové vyhodnocení na obr. 2.20 naznačuje, že filmy vytvořené během dynamické simulace jsou stabilní a zůstávají v kontaktu. Rozdíl mezi statickou a dynamickou tloušťkou filmu studie připisuje řadě faktorů: kombinaci proteinových vrstev deformujících se pod zatížením, vymačkávání vody nebo proteinu z kontaktu nebo rozdílu v adsorpci proteinu na povrchu. Studie v závěru zdůrazňuje, že tvorba mazacího filmu se netýká pouze obsahu proteinu v roztoku, ale závisí na specifické kombinaci proteinů. Malé proteiny (albumin) difundují rychleji a blokují pak adsorpci větších proteinů ( $\gamma$ -globulin). Tento efekt je známý jako Vromannův efekt. Časem je však albumin nahrazen v adsorbované vrstvě, protože je energeticky výhodnější adsorbovat větší protein (po jedné minutě vrstva obsahovala především albumin, po jedné hodině dominoval  $\gamma$ -globulin, i když se stále významnou hodnotou albuminu).



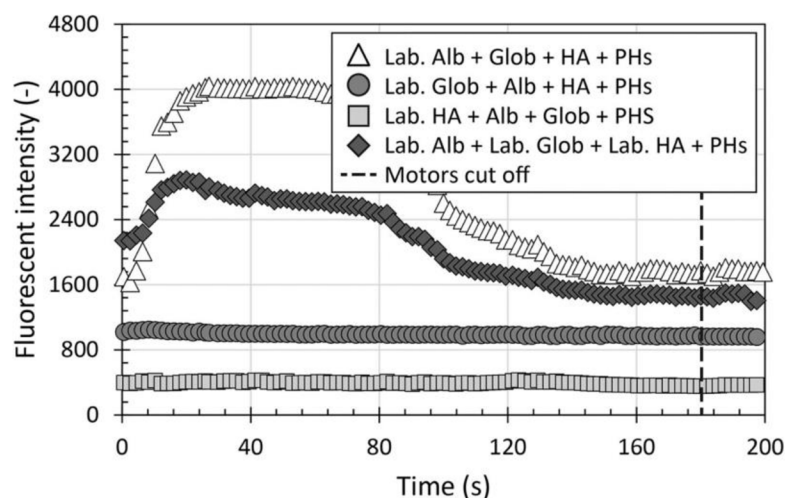
obr. 2.21 Hodnoty tloušťky filmů ze tří testů pro smíšené proteinové roztoky pro obě hodnoty pH [23]

Studie Nečas et al. 2018 [17] se zabývala vlivem komplexního složení synoviální tekutiny na tvorbu mazacího filmu na kyvadlovém kyčelním simulátoru. Tloušťka filmu byla vyhodnocována pomocí optické interferometrie. Studie se zabývala vlivem statického zatížení na adsorpci složek před zahájením experimentů, následně byla simulována rotace flexe a extenze (při konstantním zatížení). Pro testování byly stanoveny dvě různé koncentrace modelových kapalin označované jako SF1 (albumin 28 mg/ml,  $\gamma$ -globulin 11 mg/ml, kyselina hyaluronová 1,1 mg/ml, fosfolipidy 0,17 mg/ml) a SF2 (albumin 28 mg/ml,  $\gamma$ -globulin 9,4 mg/ml, kyselina hyaluronová 1,9 mg/ml, fosfolipidy 0,31 mg/ml). Mimo modelových kapalin byl při dynamických testech zkoumán vliv rozdílné koncentrace kyseliny hyaluronové při obsahu 5 a 20 mg/ml a jednoduché proteinové roztoky albuminu a  $\gamma$ -globulinu. Výsledky statických adsorpčních testů pro kovovou femorální hlavici ukázaly u obou vzorků SF s postupem času narůstající tendenci. Modelová kapalina SF1 vytvářela silnější film ve srovnání s SF2 v řádech desítek nm, viz obr. 2.22. Výsledky dynamických testů naprosto odlišily chování SF1 vzhledem k SF2. Modelová kapalina SF1 nevykazovala téměř žádnou změnu tloušťky filmu a v rozsahu od 50 do 70 nm zůstávala konstantní po celou dobu experimentu (250 s). Naproti tomu tloušťka filmu kapaliny SF2 hned od začátku experimentu prudce narůstala a přibližně před polovinou doby testování přesáhla měřitelný rozsah (900 nm). Tyto výsledky mohou prokazovat důležitost kyseliny hyaluronové a fosfolipidů ve vztahu k mazacím procesům (SF2 má skoro dvojnásobnou koncentraci těchto složek ve srovnání s SF1) během cyklu chůze. Výsledky testování jednoduchých proteinových roztoků jsou v rozporu s výsledky studie [16]. Protein albumin na počátku experimentu jen mírně vzrostl na intenzitě a následně klesl a stabilizoval svoji tloušťku až do ukončení experimentu. Protein  $\gamma$ -globulin v tomto případě naopak vykazuje nárůst tloušťky mazacího filmu během celého experimentu. Roztoky kyseliny hyaluronové jsou definovány velkým rozptylem měřených hodnot během první čtyřiceti sekund, poté hodnota tloušťky filmu klesne na minimum. Podle autora je zřejmé, že kyselina hyaluronová jako taková není účinným mazivem.



obr. 2.22 Tloušťky adsorbovaných filmů modelových kapalin v závislosti na čase [17]

Práce Nečas et al. 2019b [32] se taktéž zaměřila na studium komplexně složené synoviální kapaliny, přičemž byl podobně jako u předchozí práce [17] zkoumán i příspěvek jednotlivých složek. Tvorba filmu byla vyhodnocována pomocí fluorescenční mikroskopie, pomocí níž byly jednotlivě sledovány obarvené proteiny a kyselina hyaluronová a neobarvené fosfolipidy na simulátoru kyčelního kloubu. Byly prováděny dva typy testů. První simuloval flexi a extenzi během chůze při konstantní hodnotě zatížení. Druhý test kombinoval pohyby představující sedání a zvedání se ze židle, chůzi a stání. Během prvních testů vykazoval jednoduchý roztok albuminu velmi tenký film s mírným počátečním nárůstem hodnoty intenzity. Přidáním  $\gamma$ -globulinu se intenzita na počátku testování zvětšila téměř čtyřnásobně, avšak následně až do ukončení experimentu vykazovala klesající tendenci. Přidáním další složky, kyseliny hyaluronové, se povedlo dosáhnout podobného počátečního trendu jako u proteinové směsi, nicméně intenzita v závěru experimentu odpovídala spíše chování samotného albuminu. Nejsilnější tloušťka filmu byla pozorována až u komplexní směsi obsahující fosfolipidy. Hodnota intenzity při spuštění experimentů prudce vzrostla, následovala klesající tendence a ustálení tloušťky filmu, viz obr. 2.23. Stejný postup byl proveden pro sledování  $\gamma$ -globulinu. Stejně jako v případě albuminu byl i u tohoto proteinu pozorován nejtenčí film u jednoduchého roztoku, přičemž ke stabilizování intenzity fluorescence došlo přibližně po sto sekundách. Narozdíl od předchozího pozorování byl nejsilnější film vytvořen proteinovou směsí, která navíc vykazovala narůstající tendenci. Obohacení směsi o kyselinu hyaluronovou a následně o fosfolipidy dále nevedlo ke zlepšení mazacího filmu, avšak oba vzorky vytvářely stabilní mazací film bez výraznějších výkyvů, viz obr. 2.23. Poslední částí prvních testů bylo zkoumání kyseliny hyaluronové, která byla pozorována vždy s fosfolipidy. Tato směs během testů vytvářela velmi tenký mazací film. Přidání albuminu ani  $\gamma$ -globulinu (separátně) nezpůsobilo žádný významný rozdíl v tvorbě filmu. Hodnota intenzity hned od spuštění experimentu klesala a přibližně po čtyřiceti sekundách se ustálila až do ukončení testování. Velmi stabilní film s mírně vyšší intenzitou byl pozorován pouze u komplexně složené kapaliny, viz obr. 2.23.

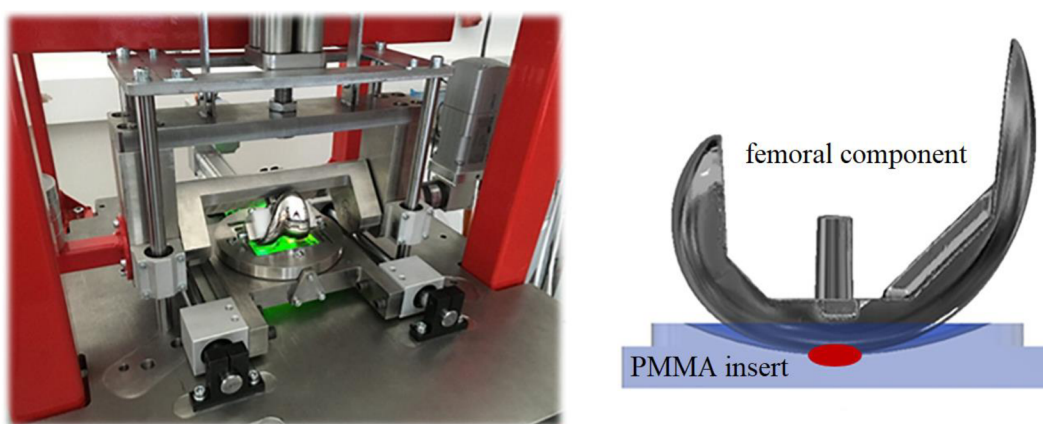


obr. 2.23 Vývoj intenzity fluorescence u komplexně složených kapalin [32]

Všechny komplexní kapaliny u druhé série testů vykazovaly velmi stabilní chování. Výsledky studie potvrzují interakci složek synoviální kapaliny, jež z velké míry ovlivňují tvorbu mazacího filmu. Autor se stejně jako ve své dřívější práci [16] zmiňuje o funkci  $\gamma$ -globulinu, který společně s kyselinou hyaluronovou vytváří na povrchu stabilní vrstvu, což přispívá k adsorpci albuminu a vede tak k celkovému zvýšení tloušťky filmu. Na základě výsledků autor dochází k závěru, že základní vrstva filmu je tvořena  $\gamma$ -globulinem, kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy, zatímco následný vývoj filmu je ovlivňován především albuminem.

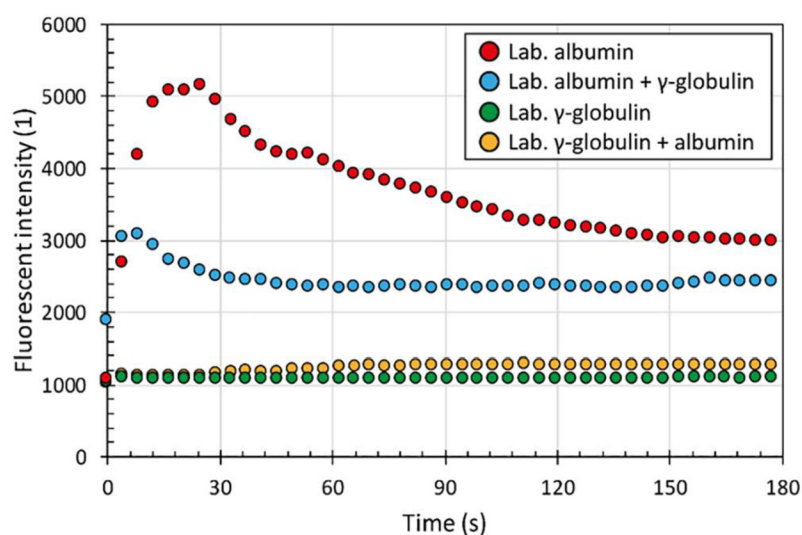
### 2.5.3 Experimentální studie

Studie Nečas et al. 2019a [2] představuje experimentální přístup pro pozorování tvorby mazacího filmu in situ v náhradě kolenního kloubu pomocí simulátoru vybaveného fluorescenční mikroskopií, viz obr. 2.24. Vyhodnocení tloušťky filmu je založeno na pozorování intenzity fluorescence, jelikož intenzita záření je úměrná vrstvě maziva (vyšší intenzita odpovídá vyšší tloušťce filmu a naopak). Kolenní simulátor umožňuje náhled mezi femorální a tibiální (transparentní mat. PMMA) komponenty, které kopírují reálnou geometrii náhrady. Pro představení nové metodiky je využíváno jednoduchých roztoků proteinů albuminu a  $\gamma$ -globulinu a jejich směsí, přičemž je tloušťka filmu sledována v závislosti na čase s ohledem na omezenou flexi a extenzi ( $0^\circ$  až  $58^\circ$ ) a mírně proměnlivým zatížením (270 až 310 N) v průběhu cyklu. Pro každé testování je obarven vždy jeden konkrétní protein adekvátním fluorescenčním markerem, aby bylo možné sledovat jeho vliv na formování mazacího filmu. Vyhodnocená intenzita fluorescence je průměrná hodnota k pozorované kontaktní eliptické ploše o rozměrech hlavní osy (podélné) 2 mm a vedlejší osy (příčné) 1,54 mm v nulové pozici, kdy je poloha femorální komponenty vertikální, viz obr. 2.24.



obr. 2.24 Kolenní simulátor s detailem kontaktní dvojice [2]

Studie potvrzuje význam interakce proteinů, jelikož směsi vykazují odlišné výsledky ve srovnání s jednoduchými roztoky. Především chování albuminu je podstatně ovlivněno zvýšenou koncentrací  $\gamma$ -globulinu. Podle uvedených dat má albuminový film v počátku testování rostoucí tendenci (připisováno shlukování proteinů), načež dochází k jeho poklesu až do ukončení testování, viz obr. 2.25. Dále byl obarvený albumin smíchán s neoznačeným  $\gamma$ -globulinem a výsledky ukazují snížení mazacího filmu téměř na polovinu ve srovnání s čistým albuminovým filmem, přičemž byl opět sledován počáteční nárůst následovaný mírným poklesem, viz obr. 2.25. Tato směs však vykazovala mnohem lepší mazací účinky při delším časovém úseku. Tento jev se stal velmi přínosným, jelikož zdůrazňuje, že maximální tloušťka filmu v případech několikaminutových experimentů není rozhodujícím parametrem. Autor poukazuje na schopnost tvorby filmu ve větším časovém horizontu. Jednoduchý roztok  $\gamma$ -globulinu vykazoval velmi omezené mazací schopnosti. Po přidání albuminu byl pozorován nepatrný nárůst tloušťky mazacího filmu, viz obr. 2.25, což je taktéž připisováno důsledku shlukování proteinů.



obr. 2.25 Tloušťky mazacích filmů jednoduchých proteinových roztoků a jejich směsí [2]

Jedním z důležitých poznatků při testování nové metodiky je upozornění na omezení týkající se migrace kontaktu během cyklu, k čemuž dochází vlivem komplikované geometrie komponent. Při navrácení se do výchozí polohy se však kontakt vrací do pozorované oblasti. V práci je konstatováno, že konkrétní hodnota tloušťky filmu není rozhodujícím činitelem, jelikož laboratorní testování není schopno zahrnout veškeré procesy probíhající v lidském těle. Pomocí této technologie lze však více odhalit chování jednotlivých složek synoviální kapaliny a pochopit jejich vzájemnou interakci v daném kloubním spojení, což může vést k vysvětlení mechanismu tvorby mazacího filmu v kolenních náhradách.



## 3 ANALÝZA PROBLÉMU A CÍL PRÁCE

### 3.1 Analýza problému

V současné době stále není popsán mechanismus tvorby mazacího filmu v kolenních náhradách, který by byl dostatečně experimentálně ověřen. Navíc v dosavadním přístupu jak numerickém, tak experimentálním, absentují velmi důležité faktory jako reálná geometrie náhrad, mazivo, jehož chování odpovídá synoviální kapalině apod. Mechanismus tvorby mazacího filmu, který se utváří na femorotibiálním rozhraní se ukazuje jakožto jeden z klíčových prvků omezené životnosti implantátů.

### 3.2 Analýza, interpretace a zhodnocení poznatků z rešerše

Výzkum vlivu možných geometrických spojení nastávajících v kolenních náhradách, konkrétně kruhu, podélně a příčně dlouhé elipsy, byl proveden studii [11], [12]. Ukazuje se, že příčně dlouhá elipsa má z uvedených druhů spojení nejlepší schopnost tvorby mazacího filmu. Děje se tak především z důvodů zvýšení konformity povrchů, zvětšení kontaktní plochy a snížení jevu hladovění. S geometrií kontaktu souvisí i poměr elipticity ploch, což je vyjádření poměru kontaktních poloměrů. Při nárůstu poměru elipticity dochází ke snížení kontaktního tlaku a navýšení minimální tloušťky filmu [13]. V rešerši je uváděno, že během rotace flexe a extenze dochází ke změnám poměru elipticity v určitém rozsahu, který však není blíže specifikován. Tvorba filmu je zároveň lepší při vyšší viskozitě synoviální tekutiny vlivem viskózního efektu [13], [19], [20]. Za viskozitu maziva je odpovědné především množství koncentrace kyseliny hyaluronové [10]. Prvky jako geometrie kontaktu a viskozita maziva hrají podstatnou roli, avšak dominantnějším faktorem se zdá proměnlivé zatížení působící v průběhu cyklu. Práce [15] uvádí, že tloušťka mazacího filmu sleduje především změny zatížení a rychlost pohybu. Nejnižší hodnoty tloušťky filmu tak nastávají v bodech s vyšším tlakem a nižší rychlostí pohybu. S tímto tvrzením se částečně shodují i výsledky studií [10] a [20], jež hovoří o kladném účinku nárůstu rychlosti pohybu. Pohyb po takto složité nekonformní geometrii však vede k výskytu velkých kontaktních tlaků a znamená neustálou deformaci tibiální vložky [15], [25]. Velmi důležitým poznatkem rešeršního zkoumání je informace o rozložení axiální síly na kondyly femorální komponenty v poměru 60/40 % (mediální/laterální kondyl) [14]. Toto tvrzení je potvrzeno v práci [26], která ve svých výsledcích uvádí, že mediální kondyl vykazuje větší míru opotřebení. Studie se v mnoha případech uchylují ke kratším časovým úsekům pozorování, přibližně 30–35 cyklů na jeden experiment, což omezuje případné stanovení dlouhodobých predikcí z hlediska vývoje filmu.

Kvůli omezenému experimentálnímu výzkumu kolenních náhrad lze mapovat chování synoviální kapaliny a jejich složek u kyčelních kloubů, jelikož je experimentální oblast u tohoto kloubního spojení mnohem pokročilejší.

Mnoho studií zkoumá separátně složky synoviální kapaliny, aby bylo možné odlišit jejich chování při různých kombinacích, koncentracích i celistvém složení modelové tekutiny. Samostatně protein  $\gamma$ -globulin vytváří sice dostatečný mazací film [18], avšak především protein albumin je odpovědný za celkové navýšení tloušťky mazacího filmu [32]. Ve směsných proteinových filmech dominují interakce mezi proteiny [23]. Podle studie [16] vytváří  $\gamma$ -globulin na površích tenkou vrstvu, která umožňuje následnou adsorpci vrstev albuminu. Podle práce [23] je ale albumin po delším časovém horizontu  $\gamma$ -globulinem nahrazen, jelikož je energeticky výhodnější adsorbovat větší protein. Právě adsorpce složek synoviální kapaliny na površích je jedním z charakteristických prvků tohoto maziva [21]. Mnoho autorů se dále shoduje v závěru, že kolem kontaktní plochy dochází ke shlukování proteinů, které jsou pohybem náhrady strhávány do kontaktu a mají za následek celkové navýšení tloušťky filmu [18], [23]. Studie [23] tvrdí, že za statických podmínek testování dochází k tvorbě filmu především díky adsorpci složek, zatímco u dynamických podmínek má dominantní vliv shlukování proteinů, jejich strhávání a proměnlivé zatížení. Podle autorů [18] je mazací film velmi citlivý na zatížení a jeho narůstající tloušťka je připisována spíše snížení kontaktního tlaku než ukládání adsorbovaných struktur. Kyselina hyaluronová není sama o sobě účinným mazivem, avšak jako součást komplexní modelové kapaliny se v některých případech pozitivně podílí na utváření mazacího filmu [32] a je odpovědná především za viskozitu maziva [21], [27].

Významnou experimentální studií zabývající se mazáním kolenních náhrad je práce [2]. Studie mimo představení metodiky potvrzuje význam vzájemné interakce proteinů. Prvotní výsledky experimentálního zkoumání kolenní náhrady ukazují shodu se studií [17], ve které je definován nárůst albuminového filmu na počátku cyklu a jeho následné klesání až do ukončení testování a shodu se studií [16], jelikož  $\gamma$ -globulin i v tomto případě vykazuje pouze omezené mazací schopnosti. Jedním z velmi důležitých poznatků studie je poukázání na migrování kontaktní oblasti v průběhu cyklu, k čemuž dochází vlivem komplikované geometrie komponent.

### 3.3 Cíl práce

Hlavní cíl diplomové práce je experimentální popis vývoje mazacího filmu a mechanismu jeho tvorby v náhradě kolenního kloubu. Pro testování bude aplikována reálná geometrie implantátu a biologické mazivo, konkrétně modelová synoviální kapalina. Popis je založen na přímém pozorování kontaktní oblasti pomocí fluorescenční mikroskopie.

### **Dílčí cíle diplomové práce:**

- rešerše aktuálních vědeckých publikací
- stanovení podmínek experimentů s ohledem na platné standardy
- navrhnout metodiku hodnocení mazacího filmu
- rozbor vlivu jednotlivých složek modelové kapaliny
- posoudit vliv kinematických a zátěžných podmínek na procesy mazání
- popis mechanismu tvorby filmu
- konfrontovat získané poznatky s dosud publikovanými studiemi

Získané výsledky mohou vést k formulaci teorie mazání v kolenních náhradách. Práce je zaměřena k získání komplexní znalosti a pochopení vývoje mazacího filmu za reálných podmínek.

### **Výzkumné otázky:**

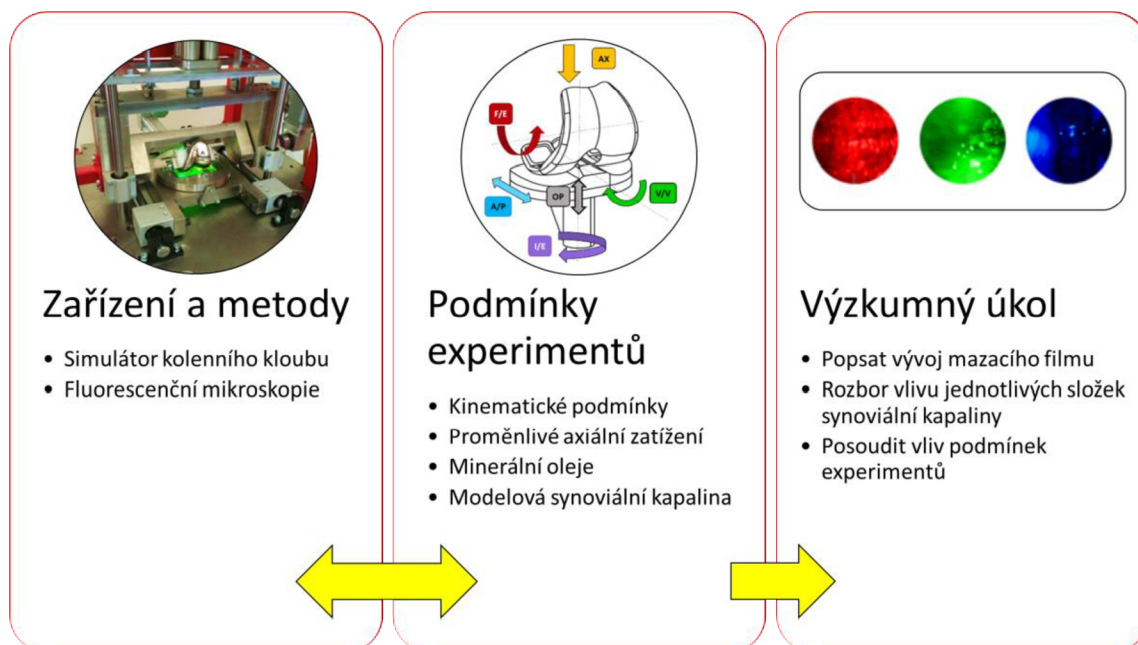
- Ve které fázi cyklu je očekáváno, že dojde, vzhledem k zátěžným a kinematickým podmínkám, k navýšení tloušťky mazacího filmu?
- Která složka přispívá k lepší tvorbě mazacího filmu?
- Jaká složka mazacího filmu hraje dominantní roli v procesu mazání?

### **Výzkumné hypotézy:**

- 1) Nejtlustší film bude pravděpodobně vytvářen někde v oblasti mezi 60–90 % cyklu, jelikož zde dochází k poklesu tlaku na nejnižší hodnoty a složka F/E má v uvedeném rozmezí nejdelší dráhu pohybu, během níž dochází i k otočení smyslu rotace
- 2) Přidání kyseliny hyaluronové a fosfolipidů u jednotlivých modelových kapalin povede ke zlepšení mazacích schopností a obě složky budou mít pouze pozitivní dopad na tvorbu mazacího filmu.
- 3) Vzhledem k délce pozorování lze předpokládat, že dominantní roli v procesu formování filmu bude hrát protein albumin. Významnější příspěvek  $\gamma$ -globulinu by byl patrný v případě dlouhodobějších testů, které však nejsou předmětem této práce.

## 4 MATERIÁL A METODY

### 4.1 Postup řešení



obr. 4.1 Schéma postupu řešení

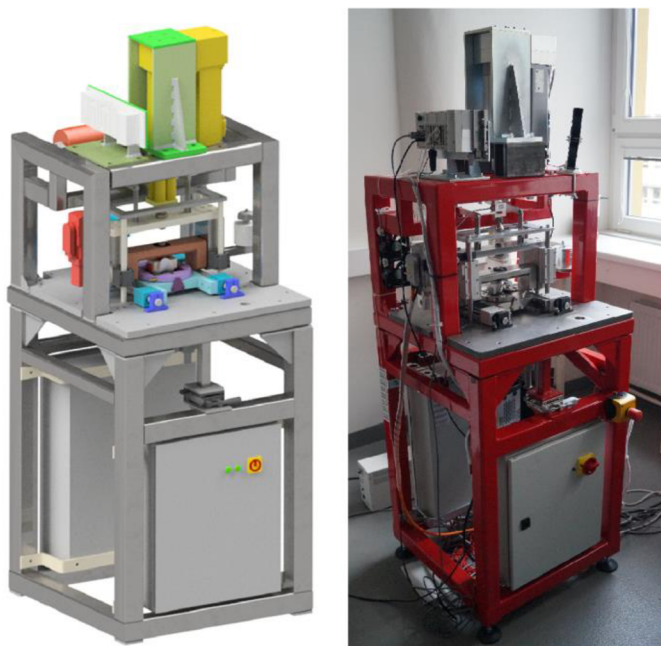
Řešení diplomové práce je realizováno na základě výzkumného plánu, jehož schéma lze vidět na obr. 4.1. První část práce je věnována přípravě experimentů. V této fázi dojde k podrobnému seznámení se s aparaturou a metodikou měření. Je třeba odladit jednotlivé kinematické cykly a průběh axiálního zatížení. Druhá část je věnována realizaci experimentů, kdy bude nejdříve provedena série měření s minerálními oleji a následně budou zkoumány jednotlivé vzorky modelové synoviální kapaliny. Experimenty s minerálními oleji by měly umožnit:

- Sledovat migrování kontaktní oblasti a změnu jejího tvaru v průběhu cyklu
- Definovat podstatné polohy náhrady pro testy s fluorescenčně označenou synoviální kapalinou
- Popsat chování pod mediálním a laterálním kondylem
- Zjištění pozorovacích limitů a nastavení optimální polohy kamery

Poslední část práce je věnována vyhodnocení experimentů. Pomocí výsledků studie modelové kapaliny bude možné posoudit vliv jednotlivých složek synoviální kapaliny na utváření mazacího filmu, jakožto i působení kinematických a zátěžných podmínek. Veškeré výsledky testování v konečném důsledku poskytnou množství informací o mechanismu tvorby filmu.

## 4.2 Experimentální zařízení

Pro studium vývoje mazacího filmu v kolenní náhradě je využíván kolenní simulátor vyvinutý na Ústavu konstruování, viz obr. 4.2. Simulátor vznikl za účelem umožnit přímé pozorování tvorby mazacího filmu na femorotibiálním rozhraní kolenních implantátů. Pozorování filmu je umožněno díky optické metodě fluorescenční mikroskopie a transparentní tibiální vložce. Simulátor umožňuje aplikovat cyklické proměnlivé zatížení (AX až 3000 N) a kinematické podmínky (vyjma vnitřní/vnější rotace tibiální vložky) dle normy pro testování kolenních náhrad ISO 14243-3:2014 [22]. Všechny řízené veličiny (zatížení AX, rotace F/E a translace A/P) lze zpětnovazebně sledovat v softwaru LabVIEW.

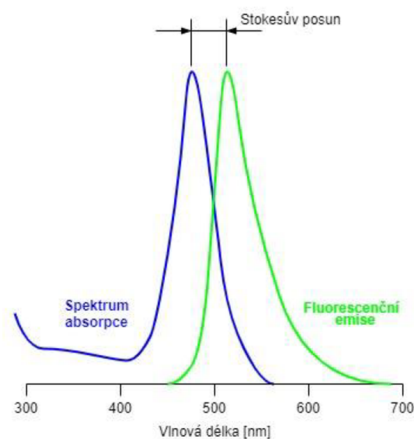


obr. 4.2 Simulátor kolenního kloubu

Norma [22] doporučuje pro přiblížení se reálným podmínkám biologického kloubu ohřívat mazivo na teplotu 37 °C, čehož však simulátor není schopen. Ukázalo se však, že vliv teploty lidského těla nezpůsobuje žádnou změnu při formování mazacího filmu synoviální kapaliny.

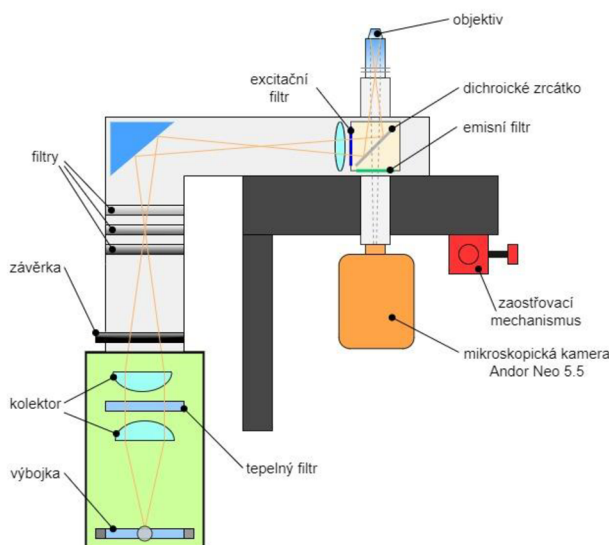
## 4.3 Fluorescenční mikroskopie

Fluorescenční mikroskopie je optická metoda, která pracuje na principu fluorescence. Fluorescence je fyzikální jev, během kterého molekuly některých látek absorbují světelné záření o určité vlnové délce (excitační spektrum) a ve velmi krátkém čase část této energie zpětně vyzáří s delší vlnovou délkou (emisní spektrum). Posun vlnové délky (rozdíl mezi excitačním a emisním spektrem) se nazývá Stokesův posun, viz obr. 4.3.



obr. 4.3 Stokesův posun

Zdrojem světla fluorescenčního mikroskopu je rtuťová lampička, jež dokáže poskytnout velmi intenzivní světelný svazek. Světelný svazek prostupuje skrze excitační filtr, který je spolu s emisním filtrem a dichroickým zrcátkem umístěn ve filtrbloku. Excitační filtr má za úkol propustit pouze část spektra svazku, aby došlo k maximální možné absorpci excitačního světla. Trasa světelného svazku je upravována pomocí dichroického zrcátka, které jej směřuje na pozorovanou oblast. Pozorovaná látka je buď schopna fluorescence sama (primární fluorescence, také autofluorescence) nebo je třeba ji dříve fluorescenčně navázat (sekundární fluorescence) pomocí fluorescenčního barviva, tzv. fluorochromů. Pozorovaný vzorek absorbuje excitační záření a zpětně vyprodukuje emisní spektrum, přičemž fluorescenci vyvolává pouze malá část absorbovaného světla. Zbytek emisního záření je tvořen tzv. parazitním světlem, které vytváří pozadí a je zodpovědné za sníženou kvalitu zobrazení [33]. Vyzářené emisní i odražené excitační světlo se vrací skrze emisní filtr do filtrbloku k dichroickému zrcátku, které na základě vlnových délek oba typy záření oddělí. Schéma fluorescenční aparatury lze vidět na obr. 4.4. Mezi výhody fluorescenční mikroskopie patří vysoká citlivost a kontrast snímků.



obr. 4.4 Schéma fluorescenčního mikroskopu pro pozorování kontaktní oblasti

## 4.4 Podmínky experimentů

### 4.4.1 Styková dvojice

#### Femorální komponenta

Pro testování byla využita femorální komponenta z materiálu CoCrMo, což je zřejmě nejvíce využívaný materiál mezi současnými implantáty kolenních náhrad. Vyniká dobrou biokompatibilitou a mechanickými vlastnostmi. Modul pružnosti a Poissonův poměr této slitiny jsou:  $E = 230 \text{ GPa}$ ,  $\nu = 0,28$ . Na obr. 4.5 lze vidět model femorální komponenty.



obr. 4.5 Model femorální komponenty

#### Tibiální vložka

Tibiální vložka z materiálu PMMA kopíruje reálnou geometrii vložky UHMWPE, jež byla získána pomocí 3D optického skenování a výrobou bylo dosaženo geometrické shody s průměrnou odchylkou na úrovni 6 nm. Vložka je součástí rámečku, jak lze vidět na obr. 4.6, aby bylo možné ji uložit do simulátoru, fixovat její pozici a zabránit případnému úniku maziva. Materiál PMMA byl zvolen především kvůli transparentnosti, čímž je umožněno přímé pozorování kontaktní oblasti. PMMA vykazuje na rozhraní s olejem nízkou odrazivost a současně není vodivý, což znemožňuje využití optické interferometrie a metody elektrického odporu. Modul pružnosti a Poissonův poměr tibiálního platá jsou cca:  $E = 4 \text{ GPa}$ ,  $\nu = 0,37$ .



obr. 4.6 Upravená tibiální vložka

#### 4.4.2 Modelové kapaliny

Mezinárodní standardy pro testování kolenních kloubů doporučují hovězí sérum (BS) jako praktickou alternativu k synoviální tekutině. BS sice obsahuje určité koncentrace proteinů albuminu a  $\gamma$ -globulinu, jakožto dominantních složek, avšak opomíjí kyselinu hyaluronovou a fosfolipidy, jejichž úloha v SK je neméně důležitá. Při experimentech tedy budou pozorovány i různé kombinace složek.

Definice koncentrací jednotlivých složek modelové kapaliny vychází z několikaleté analýzy lidské synovie, která byla získávána na Ortopedické klinice Fakultní nemocnice v Olomouci během revizních operací kyčelních a kolenních kloubů a při artroskopických zákrocích. Složení SK vychází ze studie [29], která pozorovala vzorky 152 pacientů rozdělených do čtyř skupin:

- Skupina I: pacienti s aseptickým uvolněním náhrady
- Skupina II: pacienti s TEP, ale bez známek aseptického uvolnění
- Skupina III: pacienti bez TEP, ale s osteoartrózou v konečném stádiu
- Skupina IV: pacienti bez TEP, bez známek osteoartrózy a nezáznětlivou SK

Uvedené skupiny pacientů by měly teoreticky zahrnovat všechny fáze, co se týče náhrady kolenního kloubu, od zdravého stavu až po selhání náhrady. Výzkum ukázal, že rozdíl mezi jednotlivými skupinami pacientů není jen v koncentraci jednotlivých složek, ale i v celkovém množství kloubní tekutiny.

Hodnoty koncentrací uvedené ve studii [29] byly dále analyzovány a upravovány. V současnosti jsou stanoveny dvě koncentrace SK, které odpovídají největšímu průměrnému vzorku. Tyto hodnoty lze vidět v tab. 4.1. Diplomová práce pracuje pouze s hodnotami osteoartritické SK, tedy koncentrací složek odpovídajícím kloubu postiženého osteoartridou, kdy se očekává řešení v podobě náhrady kloubu. Kombinace modelových kapalin jsou uvedeny v tab. 4.2.

**tab. 4.1** Průměrná koncentrace složek synoviální kapaliny ve zdravém a nemocném kloubu

	<b>albumin [mg/ml]</b>	<b><math>\gamma</math>-globulin [mg/ml]</b>	<b>HA [mg/ml]</b>	<b>fosfolipidy [mg/ml]</b>
Fyziologická SK	20	3,6	2,5	0,15
Osteoartritická SK	24,9	6,1	1,49	0,34



Pro každé měření je určena jedna konkrétní složka tekutiny, jež je obarvena příslušným fluorescenčním markerem (SK není schopna autofluorescence) tak, aby bylo možné sledovat její chování během experimentu pomocí optické metody fluorescenční mikroskopie. Obarvení složek je prováděno taktéž pod záštitou Fakultní nemocnice Olomouc. Modelové kapaliny pak vznikají přesným navážením každé složky a následně jsou rozpouštěny v roztoku PBS (fyziologický roztok). Takto připravené modelové kapaliny jsou skladovány v mrazničce při teplotě  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$  a je třeba je vyjmát alespoň 30 minut před zahájením experimentu pro dosažení přirozeného pozvolného rozmrazení, přičemž po celou dobu musí být udržovány na tmavém místě, aby nedocházelo k vysvícení maziva.

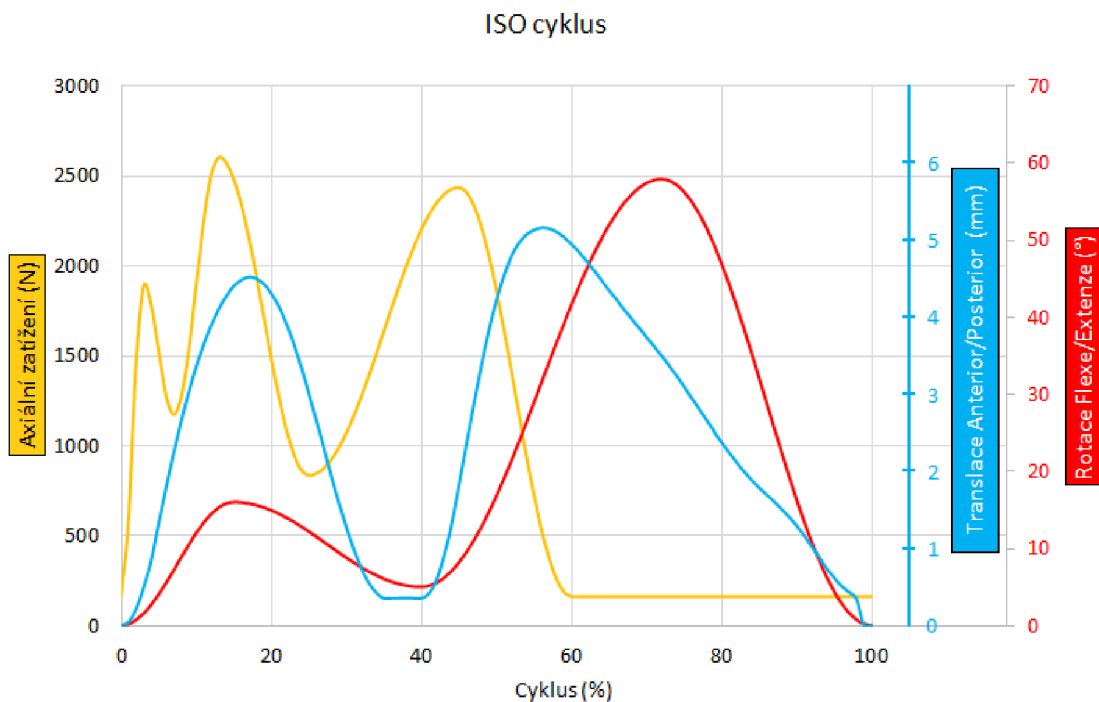
tab. 4.2 Složení modelových kapalin

Číslo vzorku	Obarvená složka	Neobarvená složka/y	Množství roztoku
1	albumin	-	4 ml
2	albumin	$\gamma$ -globulin	4 ml
3	albumin	$\gamma$ -globulin, HA	4 ml
4	albumin	$\gamma$ -globulin, HA, fosfolipidy	4 ml
5	$\gamma$ -globulin	-	4 ml
6	$\gamma$ -globulin	albumin	4 ml
7	$\gamma$ -globulin	albumin, HA	4 ml
8	$\gamma$ -globulin	albumin, HA, fosfolipidy	4 ml
9	HA	fosfolipidy	4 ml
10	HA	albumin, fosfolipidy	4 ml
11	HA	$\gamma$ -globulin, fosfolipidy	4 ml
12	HA	albumin, $\gamma$ -globulin, fosfolipidy	4 ml
13	albumin, $\gamma$ -globulin, HA	fosfolipidy	4 ml

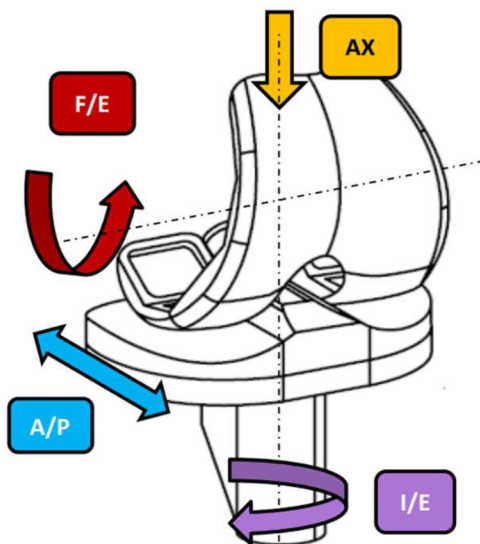
#### 4.4.3 Průběh zatížení a kinematiky náhrady

Kinematické a zátěžné podmínky pro testování kolenních náhrad jsou předepsané normou ISO 14243-3:2014 [22]. Průběh proměnlivého axiálního zatížení a jednotlivé rozsahy rotace a translace jsou shrnuty pro jeden cyklus na obr. 4.7. Norma předepisuje testovací frekvenci cyklu 1 Hz, přičemž je možná odchylka  $\pm 0,1$  Hz. Průběh veškerých hodnot je dle normy akceptován s odchylkou  $\pm 5\%$  od maximální hodnoty daného pohybu, případně zatížení. Schéma zatížení a kinematiky kolenní náhrady na kolenním simulátoru, viz obr. 4.8, sice zahrnuje i vnitřní a vnější rotaci (I/E) tibiální vložky, která je testovací normou také předepsána, avšak průběh tohoto pohybu je na simulátoru neřízený a v současné době jsme schopni pouze snímat jeho hodnoty. Tato rotace proto bude pro testování fixní.

Cyklus proměnlivého zatížení je předepsán pro vložku z materiálu UHMWPE. Změna materiálu tibiálního plató na PMMA tak vede k výrazné redukci průběhu axiálního zatížení, viz kapitola 5.1.



obr. 4.7 Testovací podmínky pro kolenní náhrady podle ISO 14243-3



obr. 4.8 Schéma zatížení a kinematiky kolenní náhrady na kolenním simulátoru [2]

## 4.5 Postup měření

Pro získání experimentálních dat z kolenního simulátoru bude uplatněn následující postup:

- a) Montáž fluorescenčního modulu, mikroskopické kamery Andor Neo 5.5 a rtuťové výbojky.
- b) Příprava konkrétní modelové kapaliny (vytáhnout přibližně 30 minut před zahájením experimentu).
- c) Spuštění simulátoru a resetování pohonných jednotek.
- d) Očištění femorální komponenty a tibiální vložky.
  - Očištění v 1% roztoku SDS,
  - opláchnutí pod tekoucí vodou, vysušení,
  - očištění pomocí izopropylalkoholu.
- e) Spuštění kamery, nalezení kontaktní oblasti a zaostření obrazu.
- f) Spuštění softwaru LabVIEW pro snímání dat ze snímačů.
- g) Zalití kontaktu připravenou modelovou kapalinou.
- h) Provedení experimentu (záznam experimentu).
- i) Očištění komponent.
- j) Vyhodnocení experimentu.

## 5 VÝSLEDKY

### 5.1 Definice cyklu axiálního zatížení

Pro kompletní stanovení veškerých podmínek experimentů byly primárně definovány cykly rotace F/E, translace A/P a axiálního zatížení AX v softwaru FCT (Festo Configuration Tool). Jelikož je kvůli implementaci fluorescenční mikroskopie na simulátoru využívána tibiální vložka z materiálu PMMA, bylo nutné redukovat průběh axiálního zatížení, aby odpovídalo kontaktním tlakům předepsaným normou.

Nejprve byla experimentálně nalezena kontaktní oblast laterálního kondylu v nulové poloze femorální komponenty, jelikož ze studie [2] předcházející této diplomové práci vyplývalo, že stejná oblast je pro pozorování na mediálním kondylu nepřístupná kvůli současnému konstrukčnímu řešení simulátoru. Kontaktní místo bylo označeno a následně v naskenovaných modelech komponent byly nalezeny a odměřeny poloměry křivosti. Dále byl stanoven maximální kontaktní tlak během průběhu cyklu chůze, který vychází z největší hodnoty zatížení při 13 % cyklu (2 600 N) dle předepsané normy ISO-14243-3:2014 [22]. Podle naměřených poloměrů křivosti byl spočítán index konformity, který v daném místě vychází přibližně 0,4 pro sagitální rovinu. Pomocí studie [25], která se zabývala konkrétními hodnotami závislosti indexu konformity v sagitální rovině na kontaktním tlaku byl stanoven maximální kontaktní tlak na 30 MPa. Zde je možné namítnout, že není v souladu pozice kontaktní oblasti a z ní odměřené kontaktní poloměry křivosti s pozicí, v níž se nachází komponenta při maximálním zatížení. Z hlediska získání kontaktních poloměrů se jedná o časově náročnou a relativně nepřesnou metodu, nicméně vzhledem k velmi složité geometrii obou komponent je to zřejmě jediná proveditelná varianta.

Znamé poloměry křivosti, stanovená hodnota maximálního kontaktního tlaku a materiálové vlastnosti femorální komponenty ze slitiny CoCrMo a tibiální vložky z materiálu PMMA sloužili jako vstupy do Hertzovy kontaktní teorie. Podle uvedené teorie bylo vypočítáno, že pro vyvození kontaktního tlaku 30 MPa na laterálním kondylu je potřeba síla 70 N. Do simulátoru vstupují celkové hodnoty axiálního zatížení a síla musela být zvětšena o část rozloženou na mediální kondyl. Podle rešeršního zkoumání mediální kondyl přenáší mírně větší část zatížení. Rozklad síly je přibližně 60/40 (mediální/laterální). Konstrukce kolenního simulátoru má výměnný modul a slouží i jako kyčelní simulátor (pro tento účel byla původně konstrukce navržena). Tato konfigurace proto neumožňuje vyosení síly podle normy tak, aby bylo dosaženo nerovnoměrného rozložení na kondyly. Rozklad axiální síly byl i tak brán v potaz podle podmínek v biologickém kloubu, aby se dosáhlo větší autenticity experimentů. Maximální axiální síla během cyklu chůze, která nastává při 13 % cyklu, byla nahrazena přepočtenou silou 175 N. S postupem práce byla díky konstrukčním úpravám zpřístupněna i nulová pozice pod mediálním kondylem.

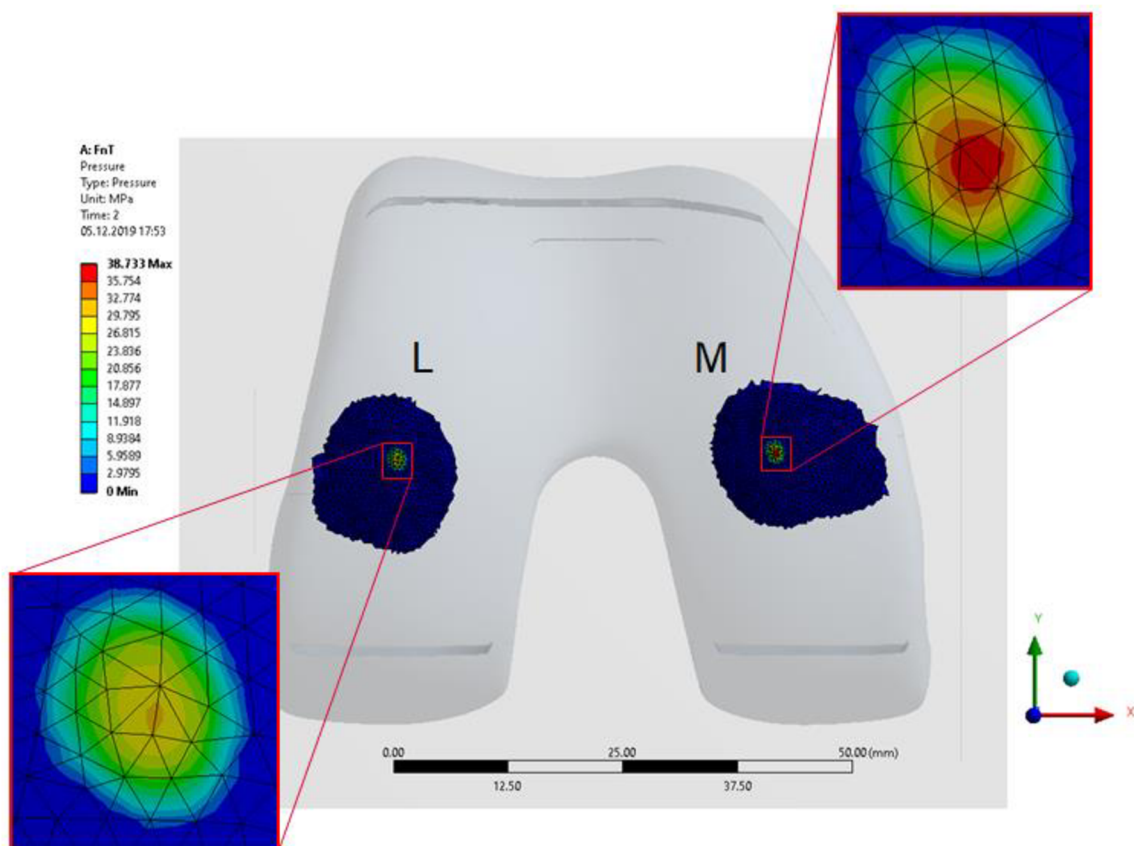
Porovnání výsledků Hertzovy kontaktní teorie s MKP analýzou v softwaru Ansys a experimentálně odměřenou kontaktní oblastí lze vidět v tab. 5.1.

tab. 5.1 Porovnání výsledků kontaktních tlaků a oblastí

	<b>Kontaktní tlak [MPa]</b>		<b>Kontaktní oblast [mm]</b>	
	lat. kondyl	med. kondyl	lat. kondyl	med. kondyl
Hertz	30,6	36	1,9 x 0,6	1,0 x 1,0
MKP	31	39	2,3 x 2,5	2 x 2,5
Experiment	-	-	2,1 x 1,8	2,1 x 2,1

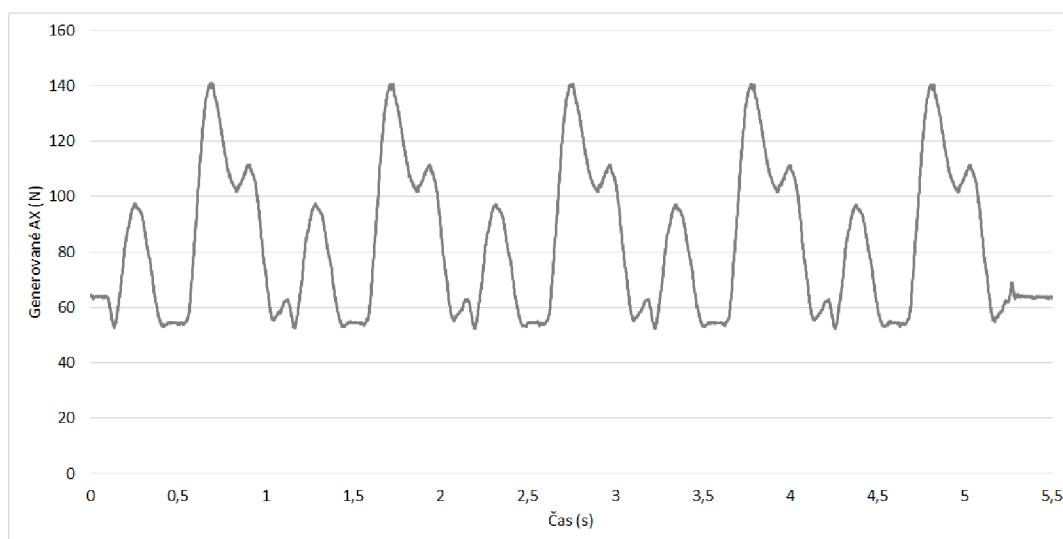
Při porovnání kontaktních tlaků na kondylech lze podle tab. 5.1 vyvodit, že na mediální kondyl skutečně působí větší část zatížení, které však nejsme schopni experimentálně podložit. Výsledky prvních dvou přístupů lze vysvětlit tak, že Hertzova teorie poskytuje poměrně přesné hodnoty kontaktních tlaků, avšak při výpočtech je přistupováno ke každému kondylu zvlášť. Uspokojivá je však shoda Hertzovy teorie s MKP analýzou. Během MKP analýzy byl do modelu zanesen prvek pružné podpory na fixační dříky femorální náhrady. Vlivem sousého uložení obou komponent v simulátoru kolenního kloubu a jejich složité geometrie na kontaktních površích totiž dochází k dosednutí mediálního kondylu před laterálním. Tuhost těchto dříků je překonána slabým axiálním silovým působením tak, aby došlo k dosednutí i na laterální kondylu ještě před vyvozením síly o požadované vypočtené velikosti. Jakmile jsou oba kondyly v kontaktu, je v dalším kroku vyvozena maximální axiální síla 175 N. Tento postup zanechává na mediálním kondylu kontaktní tlak z předzatížení (přibližně 9 MPa), což vysvětluje větší hodnoty. V případě, že by oba kondyly dosedaly na tibiální plató zároveň, mohli bychom hovořit o přenášení relativně stejných hodnot tlakových působení.

Výsledky kontaktních oblastí, viz tab. 5.1, ukázaly uspokojivou shodu MKP analýzy s experimentálním pozorováním na obou kondylech. U Hertzovy teorie je geometrie femorotibiálního rozhraní značně zjednodušena. Byl aplikován kontakt konvexního a konkávního (vydutého) tělesa. To vysvětluje teoretický, predikovaný, výrazně eliptický tvar u laterálního kondylu, i když je ve skutečnosti pozorován spíše kruhový s mírně delší osou v příčném směru. U mediálního kondylu dochází ke shodě z hlediska tvaru u všech třech přístupů, nicméně zjednodušený teoretický model se taktéž výrazně liší rozměry. Tvar kontaktní oblasti v nulové poloze femorální komponenty pro oba kondyly lze vidět na obr. 5.5 v kapitole 5.2.1 (snímky jsou zachyceny v průběhu experimentů, rozměry kontaktní oblasti byly měřeny při statické poloze komponent a při odpovídajícím zatížení). Výsledky MKP analýzy jsou uvedeny na obr. 5.1.



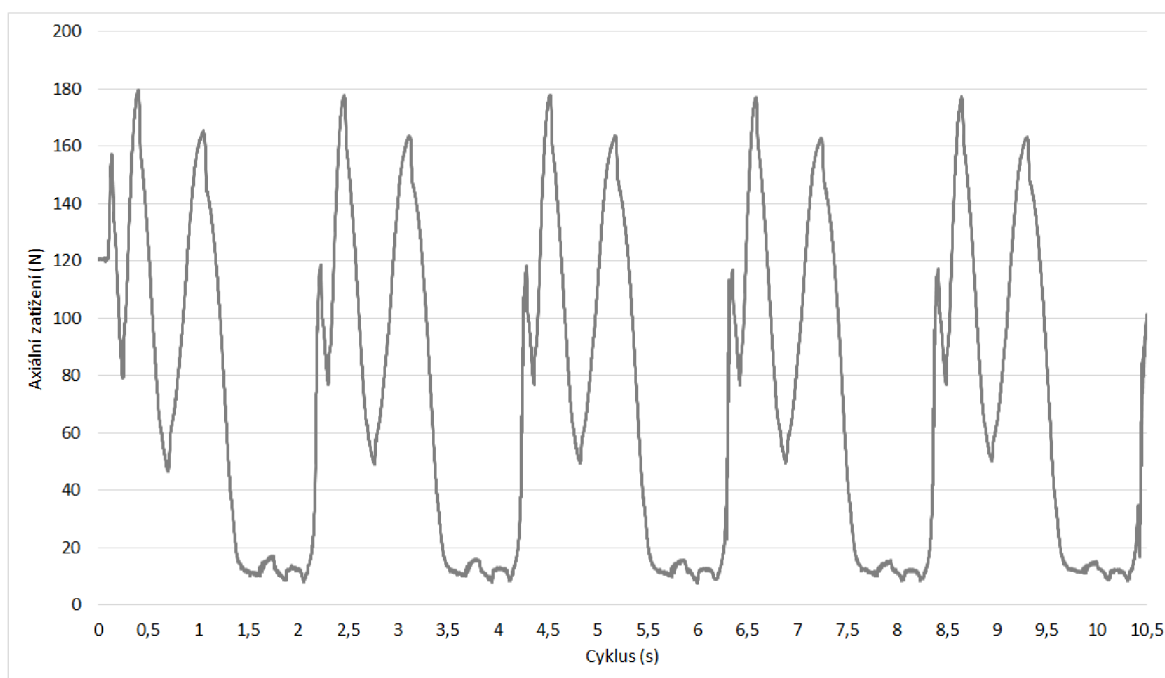
obr. 5.1 Výsledky MKP analýzy kontaktního tlaku a oblasti pod laterálním a mediálním kondylem

Podle koeficientu, kterým byla ponížena hodnota maximální síly byl redukován průběh celého cyklu. Průběh hodnot axiální síly tak odpovídal pro námi využívanou stykovou dvojici CoCrMo/PMMA. Jelikož však do testování vstupuje i rotační F/E a translační A/P pohyb, během kterých spolu artikulují oba geometricky složité povrchy, vznikají na snímači axiální síly silové odezvy, viz obr. 5.2, jež by mohly požadovaný průběh proměnlivého zatížení rušit.



obr. 5.2 Odezva rotace F/E a translace A/P při frekvenci 1 Hz na snímači axiální síly

Na dynamický průběh obou pohybů bylo třeba namapovat body axiálního zatížení podle vysunutí (axiální zatížení je zadáváno jako vysunutí pístového mechanismu v milimetrech) tak, aby odpovídalo definovanému cyklu. Konečný průběh axiálního zatížení, které bude aplikováno během všech experimentů lze vidět na obr. 5.3. Kvůli ochraně pohonné jednotky nejsou první body cyklu definovány od nulové hodnoty, jelikož by na počátku cyklu docházelo k příliš prudkému nárůstu zatížení. První bod cyklu je definovaný na sílu 120 N. Na obr. 5.3 můžeme vidět, že vývoj silového působení je na počátku prvního cyklu poněkud vyšší, ovšem od dalšího cyklu dochází k navázání plynulého pohybu komponent a průběh zatížení se stabilizuje na požadované hodnoty.



obr. 5.3 Průběh experimentálního axiálního zatížení

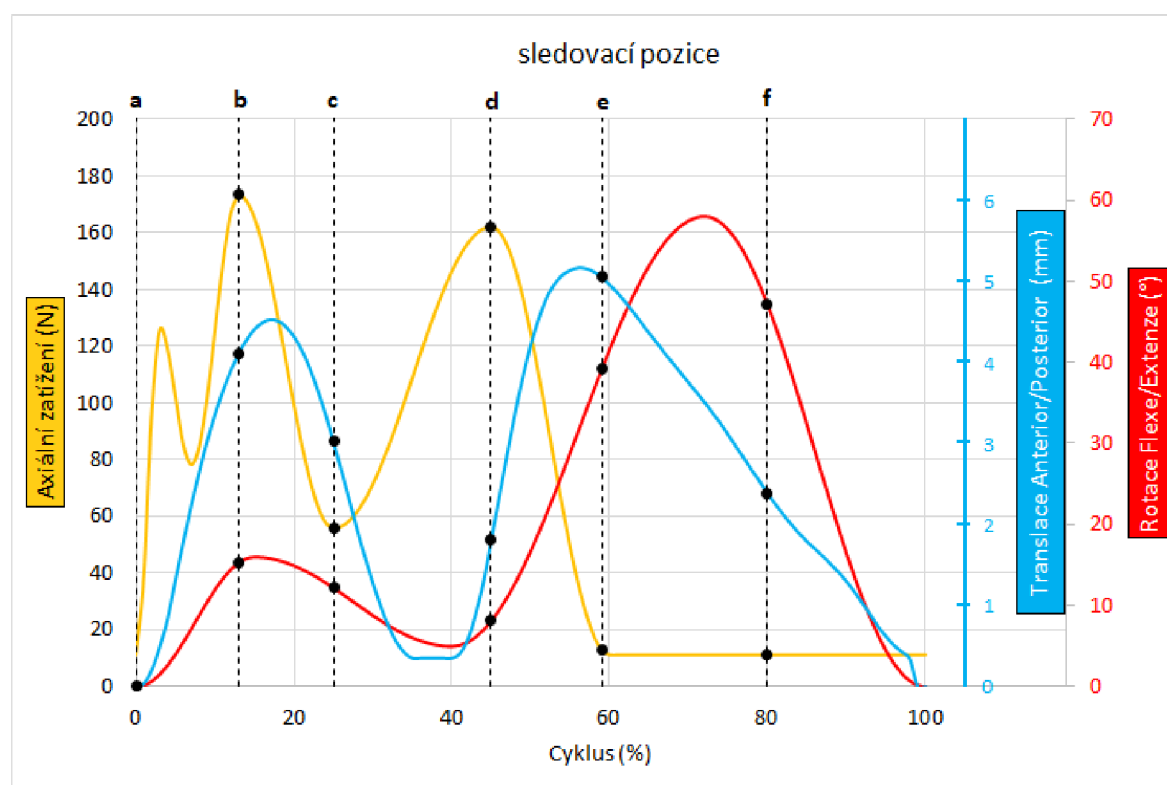
## 5.2 Fundamentální studie s minerálními oleji

Metodika měření s obarvenou modelovou kapalinou je velmi komplikovaná, finančně náročná a analýzy vyžadují přísné respektování experimentálních protokolů. Z těchto důvodů byla nejprve provedena fundamentální studie s minerálními oleji, která mimo odladění metodiky také pomohla zmapovat migrování kontaktní oblasti v průběhu cyklu a sledovat změny jejího tvaru, rozlišit chování pod mediálním a laterálním kondylem a z hlediska aparatury umožnila definovat pozorovací limity a nastavení polohy kamery pro jednotlivé pozorované oblasti. Ukázalo se, že kamera je schopna při frekvenci pohybu náhrad 1 Hz zachycovat poměrně dobré snímky už při hodnotě 36 fps. Limitující je v tomto případě úložná kapacita kamery, která dokáže pojmout jen okolo 1200 snímků bez následných problémů s ukládáním dat (soubory dosahují velikostí v řádech GB).

Celková doba pozorování tak činí přibližně půl minuty (teoreticky 32 kompletních cyklů, jelikož první cyklus je zanedbáván). Tato doba by na základě předchozích pozorování měla být dostatečná pro posouzení vývoje tloušťky filmu, jelikož při delším pozorování se již prakticky nemění. Bylo určeno šest sledovacích bodů během cyklu chůze, viz tab. 5.2 a obr. 5.4, které kopírovaly především průběh zatížení (většina bodů je zanesena ve fázi stojné), jakožto dominantního faktoru působícího na vývoj filmu. Poslední dva body (*e* a *f*) jsou do cyklu zaneseny z důvodu sledování vývoje mazacího filmu během nezatížené fáze, kdy navíc v kolenní dochází k nejvýraznější flexi/extenzi a translaci. Zobrazení axiálního cyklu na obr. 5.4 je idealizované kvůli lepší ilustraci, skutečný průběh cyklu lze vidět na obr. 5.3. Pro úvodní studii byl používán minerální olej s označením R834/80 s hodnotou dynamické viskozity 0,18 Pa\*s při 25 °C.

tab. 5.2 Přehled sledovacích pozic podle průběhu cyklu

pozice	cyklus [%]	AX zatížení [N]	F/E rotace [°]	A/P translace [mm]
a	0	115 – 125	0	0
b	13	175	15,31	4,11
c	25	56	12,2	3,02
d	45	164	8,13	1,81
e	59	15	39,19	5,05
f	80	10 – 15	47,08	2,38



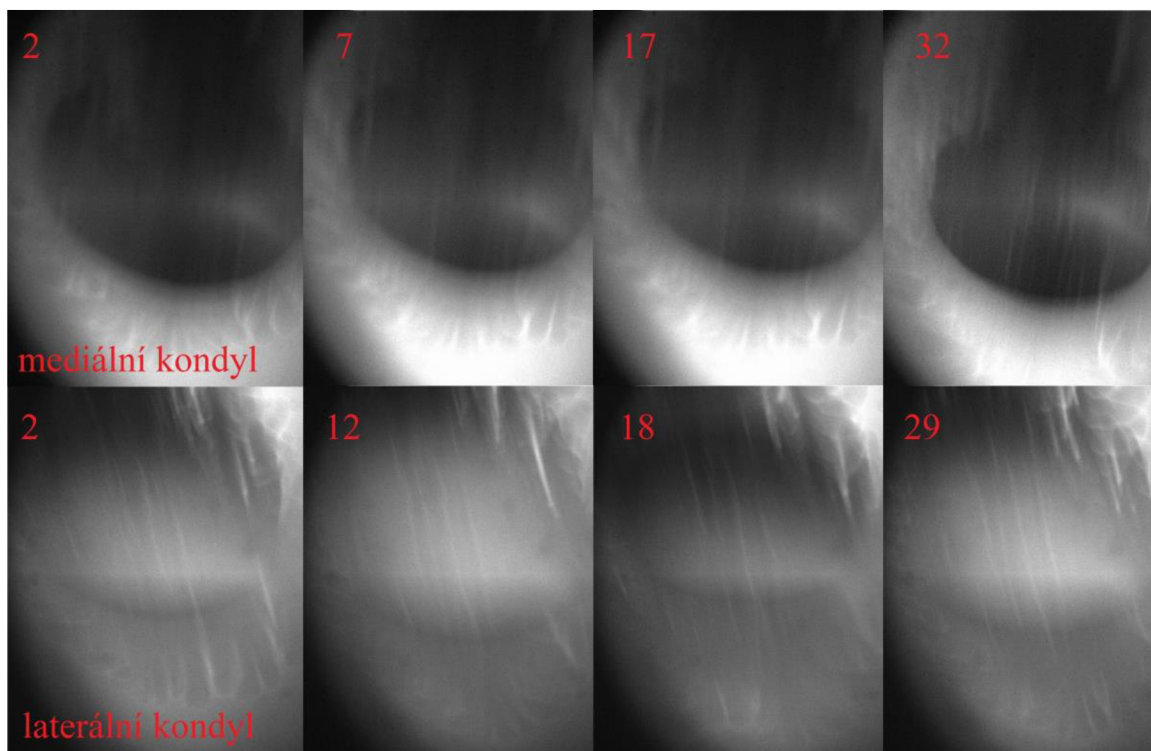
obr. 5.4 Sledovací pozice pro testy s minerálními oleji



## 5.2.1 Migrace kontaktní oblasti a transformace jejího tvaru

V této kapitole bude diskutována migrace kontaktní oblasti v průběhu cyklu a transformace jejího tvaru. Všechny uvedené sledovací pozice z předchozí kapitoly jsou zobrazovány jednotlivě, vždy společně pro oba kondyly. Všechny snímky v horní části reprezentují vývoj kontaktní oblasti pod mediálním kondylem s označením čísla cyklu. Snímky ve spodní části představují laterální kondyl. Minerální olej, který sloužil jako mazivo je schopen autofluorescence.

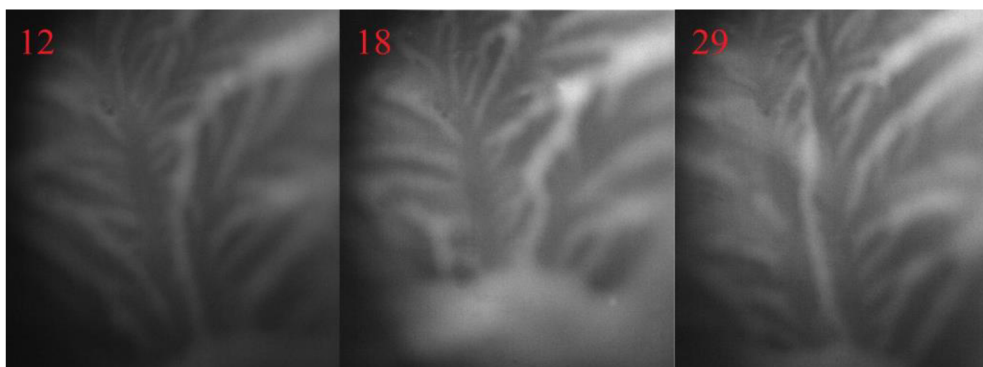
### POZICE A



obr. 5.5 Snímky pozice a pro mediální a laterální kondyl

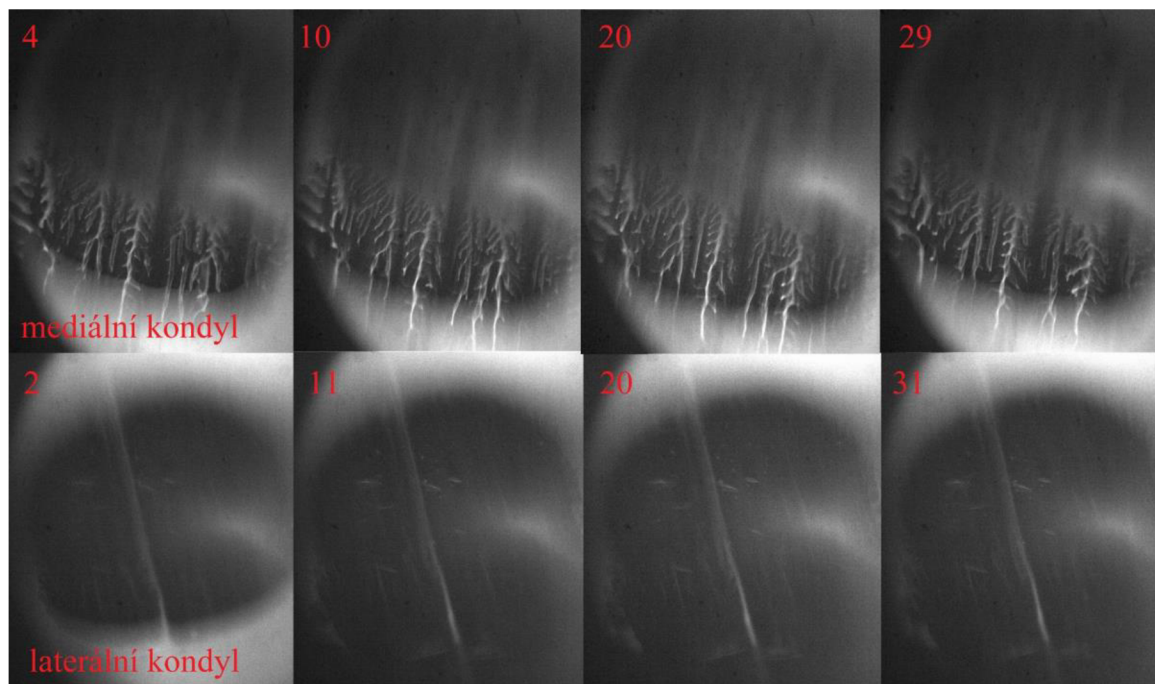
Kontaktní oblasti na obr. 5.5 vykazují na obou kondylech pravidelný oválný tvar s příčně dlouhou elipsou (kolmá ke směru pohybu) v průběhu celého experimentu. Kolem kontaktů na obou kondylech lze detekovat i okolní ovlivněný film (paprskovitá struktura za hranicemi kontaktu). Jelikož jsou oba kondyly snímány v bodě, kdy se extenze femorální náhrady prudce vrací na nulovou hodnotu, jsou v horních částech snímků zřetelné narušení kontaktních oblastí. Pod mediálním kondylem nabývá oblast ostřejších rysů zřejmě v důsledku většího zatížení. Kontaktní oblast laterálního kondylu byla během celého experimentu tvarově a rozměrově neměnná, ovšem její výchozí sledovací pozice se přesunula. Prvních několik cyklů se do výchozí polohy vracel stejný oválný tvar, který lze vidět na spodních snímcích na obr. 5.5. Přibližně od dvanáctého cyklu však výchozí vyobrazené oblast, přesunutá dále v kladném směru A/P pohybu (dolní strana snímků), pouze procházela pozorovanou pozicí.

Objektiv tak v nulové poloze zachycoval i stromečkovou strukturu, která se vytvářela až za kontaktní oblastí na laterálním kondylu, viz obr. 5.6. Okolo dvanáctého cyklu došlo k stabilizování přesunuté výchozí polohy a podle pozorované struktury za kontaktní oblastí šlo stále identifikovat konec extenze a přechod do flexe femorální komponenty.



obr. 5.6 Stromečková struktura vznikající za kontaktní oblastí a laterálního kondylu

#### POZICE B

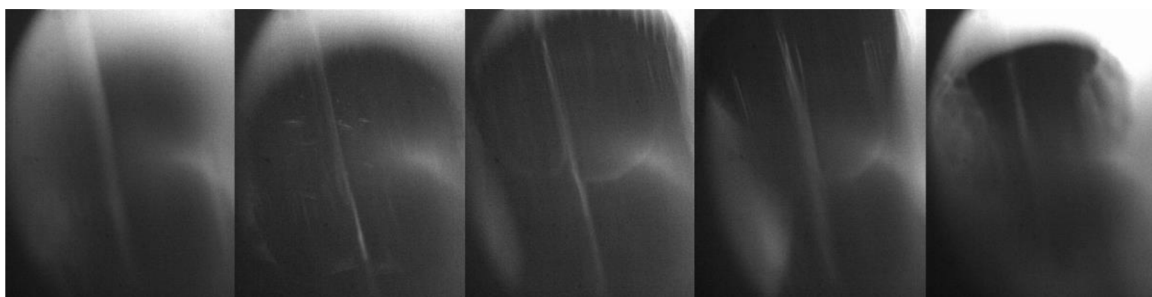


obr. 5.7 Snímky pozice *b* pro mediální a laterální kondyl

V závislosti na průběhu cyklu bylo na pozici *b* očekáváno určité zvětšení kontaktních oblastí na obou kondylech. Během pozorování této pozice, která snímá oblast při působení maximálního zatížení se ukázalo, že na obou kondylech skutečně dochází k výraznému zvětšení kontaktních oblastí. Výsledky experimentů ukázaly, že se tlakové působení na mediálním i laterálním kondylu v tomto bodě zřejmě rozkládá na velké stykové ploše, tudíž kontakty zakrývaly téměř veškerou možnou pozorovanou oblast, obr. 5.7.

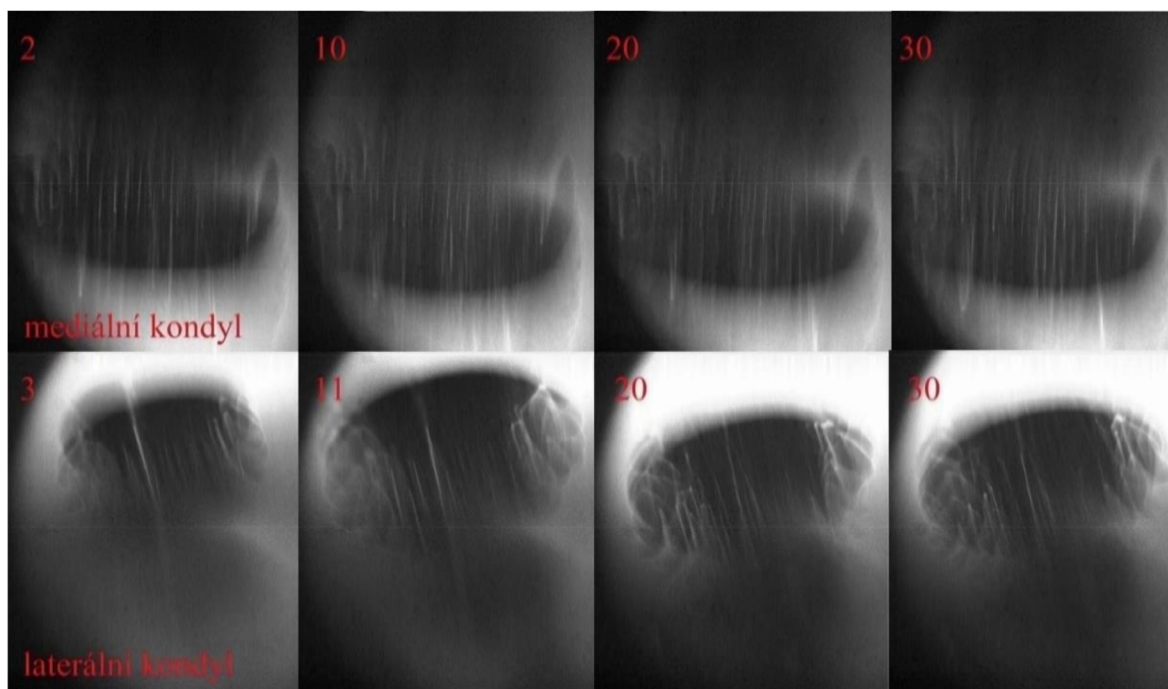
Pro všechny experimenty byl využit objektiv s pětinasobným zvětšením, který v tomto případě však nebyl schopen zachytit celkovou ovlivněnou oblast. Pod mediálním kondylem lze zřetelně identifikovat rozetřený mazací film, jež brání interakci stykových ploch, a spodní hranice kontaktu. Laterální kondyl vykazuje poměrně zřetelný kontakt s oválným až kruhovitým tvarem a jasně rozpoznatelnými hranicemi kontaktu. Stejně jako v případě pozice *a* i zde dochází přibližně po desátém cyklu k určité změně ve vývoji kontaktní oblasti. Kontakt oproti předchozím snímků mírně nabývá na rozměrech, ale svoji výchozí polohu nemění.

V případě laterálního kondylu dochází vzhledem k daným kinematickým podmínkám (flexe pomalu přechází do extenze, translace anterior nabývá vysokých hodnot a těž obrací smysl pohybu) k chvilkovému setrvání kontaktní oblasti na pozorované pozici. Vývoj kontaktní oblasti tak bylo možné sledovat na několika snímcích, na kterých je patrný vliv kinematiky a proměnlivého zatížení, viz obr. 5.8.



obr. 5.8 Vývoj kontaktní oblasti během jednoho cyklu pod laterálním kondylem u sledovací pozice *b*

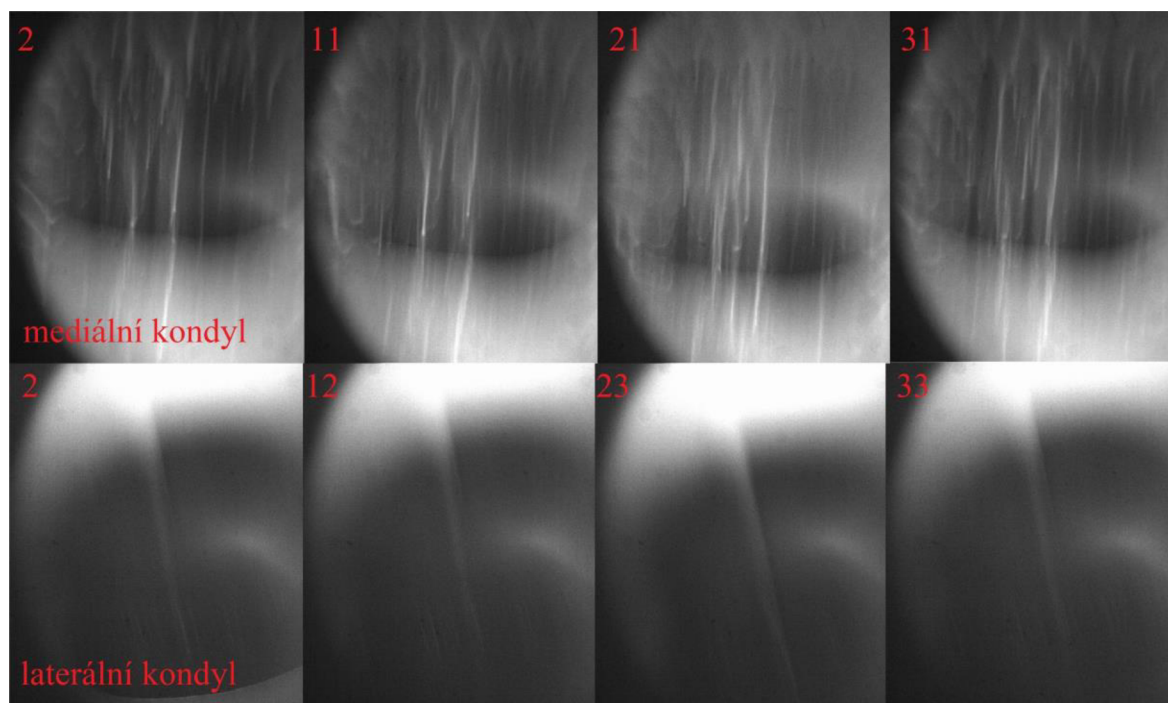
## POZICE C



obr. 5.9 Snímky pozice *c* pro mediální a laterální kondyl

Na pozici *c*, kdy dochází k výraznému poklesu tlaku, byl pod mediálním kondylem pozorován pravidelný eliptický kontakt s výrazně delší příčnou osou a s pozorovatelnou texturou ovlivněného filmu vykreslující se ve směru pohybu, viz obr. 5.9. Při přechodu z pozorovací pozice *b* tak lze předpokládat, že opět dochází k změně konformity stykových ploch (hranice kontaktu jsou v tomto bodě zřetelné a pravidelné). Jak bylo uvedeno u předchozí pozice *b*, kontaktní oblast pod laterálním kondylem v tomto úseku cyklu setrvává po určitou dobu a navazuje tak na pozici *c*, jejíž výsledky jsou uvedeny na obr. 5.9. Kontakt laterálního kondylu je reprezentován nepravidelným eliptickým tvarem. Blízko hranic kontaktu je pozorován ovlivněný film, který zde vzniká v důsledku mírné extenze. Objektiv v tomto bodě dokáže zachytit útržky snímků sledovací pozice *d*, z čehož je jasné, že kontaktní oblast pod laterálním kondylem se v tomto úseku cyklu přesouvá po relativně omezené oblasti tibiálního platá.

#### POZICE D



obr. 5.10 Snímky pozice *d* pro mediální a laterální kondyl

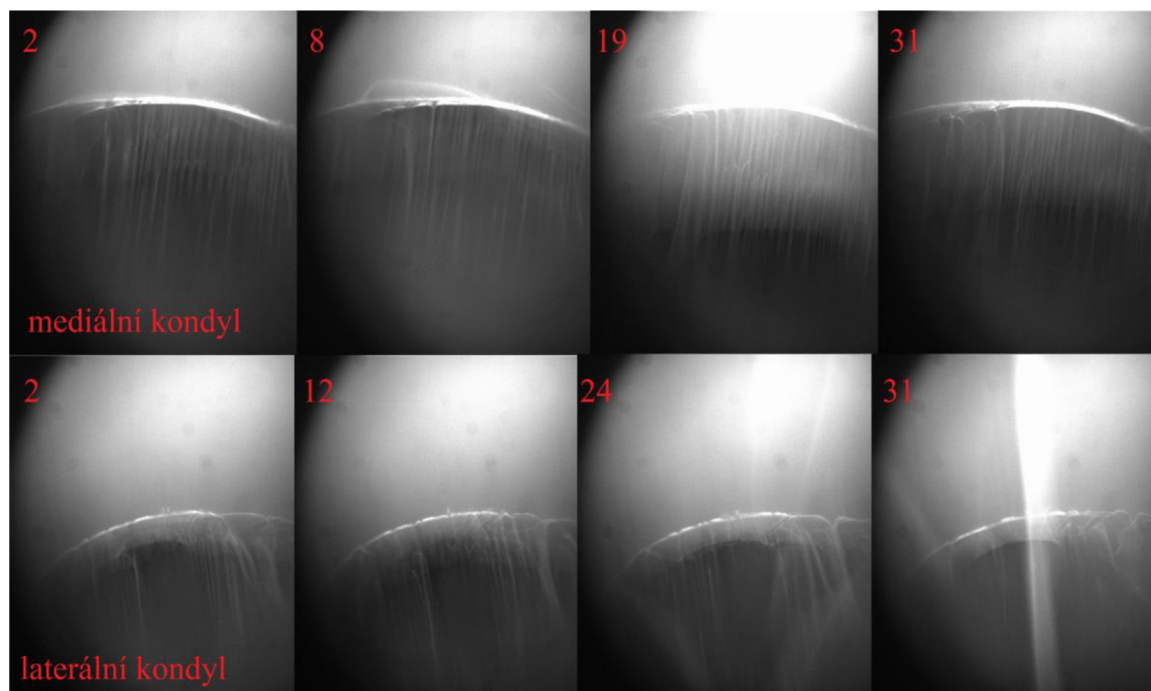
Podle vizualizace kontaktů pod oběma kondylu lze přirovnat pozici *d*, viz obr. 5.10, k pozici *b*, viz obr. 5.7. V případě zatížení se jedná o relativně stejné hodnoty, což vysvětluje u obou kondylů poměrně velké kontaktní oblasti. Je zajímavé, že v tomto bodě cyklu zřejmě přenáší větší část axiálního zatížení laterální kondyl, který na snímcích vykazuje větší kontaktní oblast. Navzdory značnému zatížení není stejně jako u pozice *b* možné jednoznačně identifikovat horní hranice kontaktu mediálního kondylu. Pozorování kontaktní oblasti laterálního kondylu přineslo také téměř totožné výsledky s pozicí *b*. Kontakt je kruhovitě tvaru, rozměrově výrazný. Na obr. 5.10 si lze všimnout, že mezi počátkem experimentu a dvanáctým cyklem opět došlo k mírnému posunutí výchozí polohy.

Není možné zcela tvrdit, že k posunutí výchozí polohy dochází pouze v důsledku dosednutí komponent, ovšem je pravděpodobné, že je to jeden z faktorů. Pozice *d* uvádí pro laterální kondyl mírně horší snímky, což mohlo nastat v důsledku horšího zaostření obrazu, nicméně kvalita snímků je stále dostačující a na vyhodnocení to tudíž nemá zásadní vliv. Mezi pozicí *c* a *d* dochází k vývoji kontaktní oblasti, která nebyla objektem zájmu, ale je pozoruhodné, že objektiv dokáže v nastavené poloze tento proces zachytit. Na obr. 5.11 je uvedena série po sobě jdoucích snímků, která zachycuje konečnou formu vývoje kontaktu u pozice *c* (první tři snímky zleva) a přechod do kontaktu odpovídajícího sledovací poloze *d* (druhý a první snímek zprava). Za zachycení této původně slepé oblasti je zřejmě odpovědný translační a rotační pohyb komponent, který je v protikladu s přesunem kontaktního bodu po tibiálním plató vlivem komplikované geometrie.



obr. 5.11 Přesun kontaktní oblasti během jednoho cyklu pod laterálním kondylem do sledovací pozice *d*

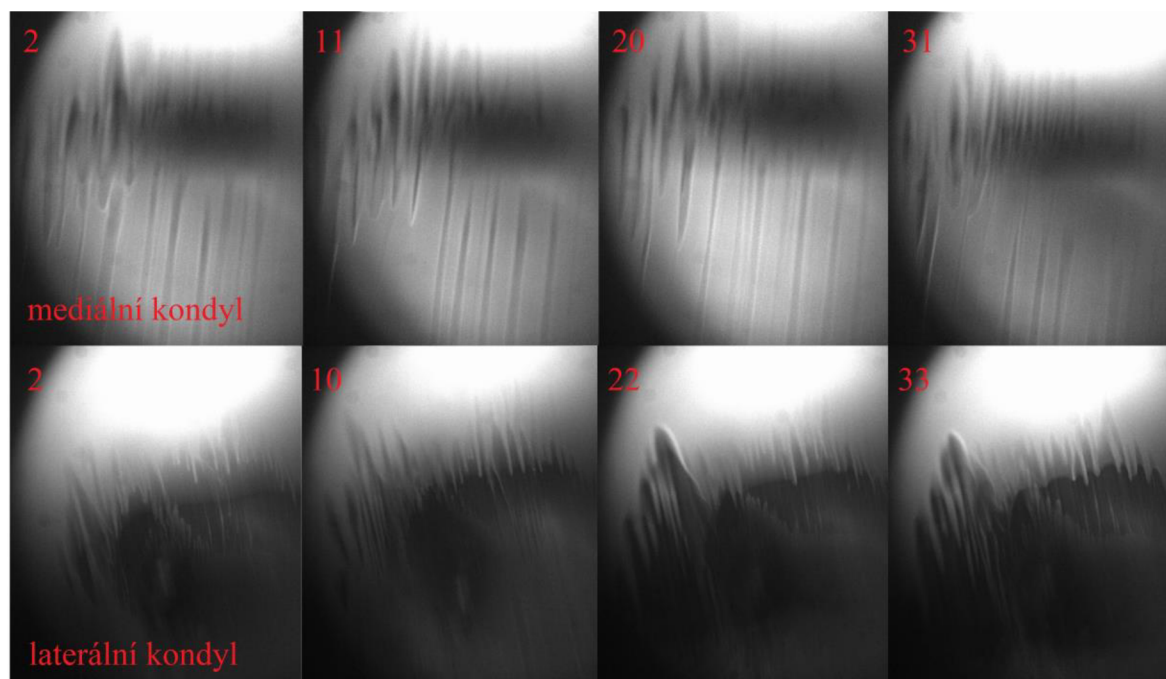
## POZICE E



obr. 5.12 Snímky pozice *e* pro mediální a laterální kondyl

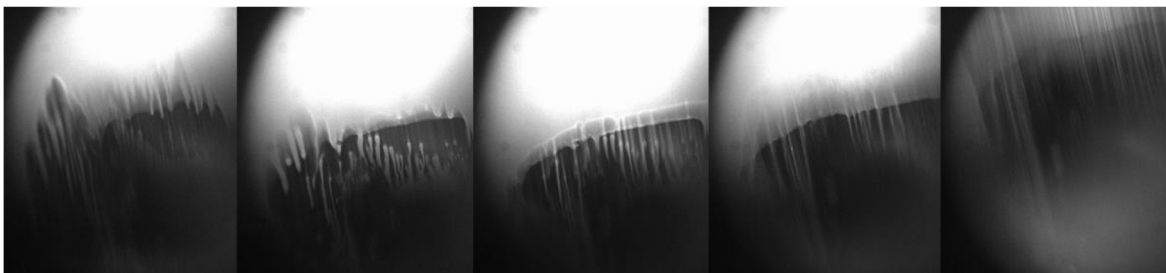
Vývoj kontaktních oblastí u pozice *e* se zdá pro oba kondyly shodný, viz obr. 5.12. Cyklus chůze se přesouvá z fáze stojné do fáze švihové a dochází k výraznému poklesu zatížení na minimální hodnoty. Translační a rotační pohyb komponent je v tomto bodě nejvýraznější. Vzhledem k předchozí poloze dochází k rozměrovému zmenšení kontaktů a prodloužení jejich příčných os (kolmé k směru pohybu). U obou kondylů není možné zcela rozpoznat hranice kontaktu. Na snímcích je velmi dobře zachycen okolní ovlivněný mazací film, který je tlačěn před kontaktem ve směru pohybu. Lze předpokládat, že v důsledku následné extenze může docházet k strhávání nahromaděného maziva, což může vést k zvětšení celkové tloušťky filmu. Mediální kondyl vykazuje v této oblasti mírně větší kontaktní zónu, než kondyl laterální. U laterálního kondylu není pozorována žádná změna výchozí polohy pozorování. Na této sledovací pozici bylo mimo kontaktního bodu z daného průběhu cyklu pozorováno i několik dějů ze zbytku cyklu (včetně vývoje kontaktní oblasti během stojné fáze). Tato skutečnost tak navazuje na komentář u pozice *c*, tedy že kontaktní oblast se po tibiálním plató stále přesouvá pouze po omezené oblasti.

#### POZICE F



obr. 5.13 Snímky pozice *f* pro mediální a laterální kondyl

Na pozici *f* teoreticky (vzhledem ke skutečnému aplikovanému cyklu) převládá konstantní zatížení, čímž je možné lépe vymezit vliv kinematiky náhrad. Oproti přechozí poloze se ne mediálním kondylu objevuje nejasný liniový kontakt, který je překryt vrstvou unášeného maziva, viz obr. 5.13. Mediální kondyl, stejně jako ve všech předchozích případech, vykazuje stabilní výchozí polohu a rozměrové a tvarové dispozice kontaktu po celou dobu experimentu. Kontakt pod laterálním kondylem je tvarově nejbližší elipse, nicméně jeho následný vývoj, viz obr. 5.14, vede spíše k liniovému kontaktnímu spojení.

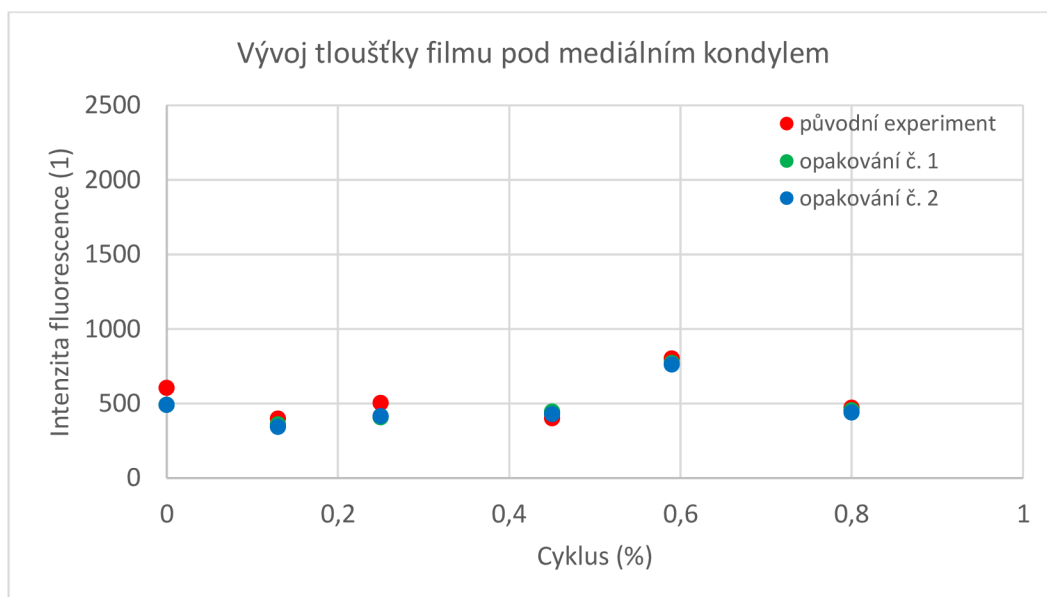


obr. 5.14 Vývoj kontaktní oblasti pod laterálním kondylem na konci cyklu při sledovací pozici  $f$

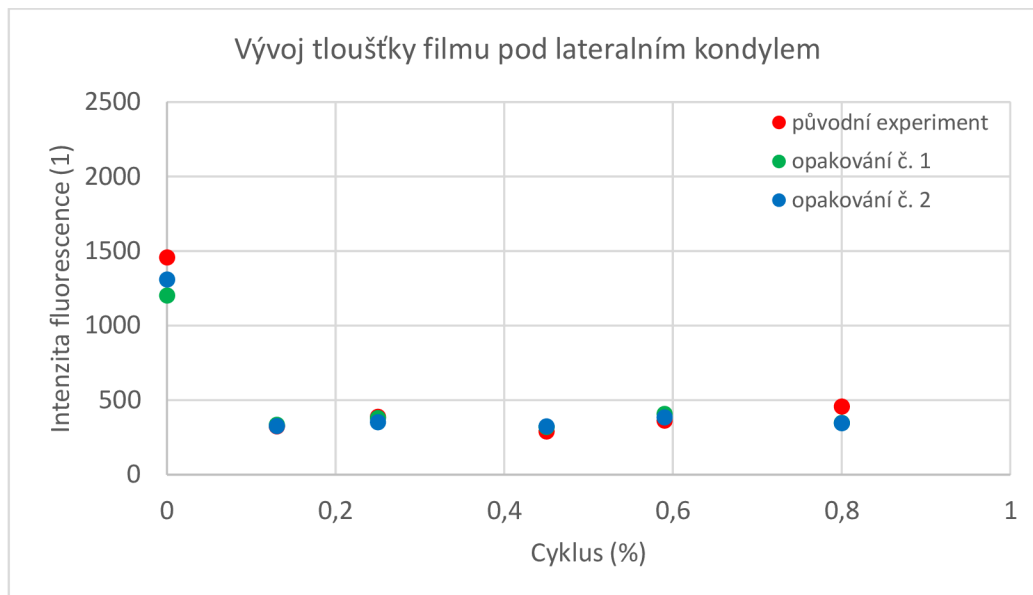
Laterální kondyl vykazuje oproti kondylu mediálnímu zřetelné hranice kontaktu a navíc se na pozorované pozici  $f$  udržuje po delší časový úsek. Tato skutečnost potvrzuje rozdílnou geometrii kondylů. Ze snímků kontaktních spojení na obou kondylech lze vyčíst nízké hodnoty zatížení, které ve spojení s rotačním pohybem (pohyb rotace femorální komponenty je v druhé fázi cyklu rychlejší) přispívá k navýšení celkové tloušťky filmu před následujícím cyklem (prudký nárůst zatížení na počátku cyklu).

## 5.2.2 Opakovatelnost experimentů s minerálním olejem

Experimenty s minerálními oleji pro všechny pozorovací pozice byly třikrát zopakovány, kvůli získání statistických dat z hlediska interpretace opakovatelnosti. Vývoj tloušťky mazacího filmu v jednotlivých polohách pro oba kondyly zároveň poskytl informace o chování maziva v průběhu cyklu, viz obr. 5.15 a obr. 5.16. V tomto případě není intenzita fluorescence normalizována na počáteční hodnotu, jelikož pro všechny experimenty byl použit stejný typ maziva. Pro každou pozorovací pozici byly vyhodnoceny intenzity fluorescence z prvního, pátého a desátého cyklu, které se zprůměrovaly a zanesly do grafu. Polohy bodů odpovídají vždy dané sledovací pozici podle obr. 5.4.



obr. 5.15 Vývoj tloušťky mazacího filmu pod mediálním kondylem pro všechny sledovací pozice



obr. 5.16 Vývoj tloušťky mazacího filmu pod laterálním kondylem pro všechny sledovací pozice

Na obr. 5.15 můžeme pozorovat, že si mazací film pod mediálním kondylem během cyklu drží poměrně stabilní vrstvu. Mírný pokles nastává v druhém pozorovacím bodě, ve kterém je definováno maximální axiální zatížení. Následně se film mírně navyšuje a na počátku švihové fáze dochází k jedinému výraznému nárůstu tloušťky, vzhledem k ostatním pozorovacím pozicím. Mazací film zde nabývá téměř dvojnásobku hodnot oproti nulové poloze. Je třeba zmínit, že intenzita fluorescence představuje bezrozměrný parametr tloušťky mazacího filmu a je měřena pouze v oblasti kontaktu, její hodnota nevypovídá o velikosti ani tvaru kontaktní oblasti. Například hodnoty intenzity na pozici *c* a *f* jsou shodné, avšak v předchozí kapitole můžeme vidět, že kontakt na pozici *c* nabývá velkých rozměrů a pravidelného oválného tvaru. Naproti tomu kontakt na pozici *f* je nejasný a velmi malý.

Mazací film pod laterálním kondylem, viz obr. 5.16, vykazuje v průběhu celého cyklu, vyjma první pozice, mírně nižší, avšak velmi stabilní hodnoty mazacího filmu ve srovnání s kondylem mediálním. První pozorovací pozice je definována mnohem tlustším mazacím filmem, což lze pozorovat i na poměrně průhledné kontaktní oblasti na obr. 5.5 v předchozí kapitole. Na zbytku cyklu nelze zaznamenat nijak zásadní vlivy proměnlivého zatížení.

### 5.3 Studie modelových kapalin

Hlavní částí diplomové práce je výzkum vlivu jednotlivých složek synoviální kapaliny na proces mazání kolenní náhrady. Kinematické a zátěžné podmínky experimentů jsou totožné s podmínkami experimentů s minerálním olejem popsané v kapitole 5.2 a zobrazené na obr. 5.4. Pro testování synoviální kapaliny byla zvolena vždy jedna pozorovací pozice z každého kondyly.



Na obou kondylech byla zvolena pozice *b*, jelikož stejná pozorovací pozice zajišťuje stejné podmínky testování v daném bodě a umožní rozlišit chování mazacího filmu pod mediální a laterálním kondylem. Pozice *b* na laterálním kondylu vykazovala během experimentů s minerálním olejem zřetelný kontakt s jasnými hranicemi a jelikož v tomto bodě působí maximální zatížení, jedná se z hlediska podmínek experimentu o důležitou pozici. Stejná pozice na mediálním kondylu má přes kontakt výrazně rozetřený mazací film a v tomto případě se můžou ukázat projevy proteinových struktur. Z experimentů byly pořízeny fluorescenční snímky, které znázorňují kontaktní oblast v 0., 5., 10., 15., 20., 25. a 30. cyklu.

Jelikož byly pro obarvení jednotlivých složek použita různá fluorescenční barviva, jsou na počátcích experimentů naměřeny různé intenzity fluorescence. Aby bylo možné mezi sebou jednotlivé experimenty porovnávat, je počáteční hodnota (intenzita prvního snímku) vždy normována na hodnotu 1000. Intenzita všech následujících snímků je podělena, případně znásobena, danou konstantou.

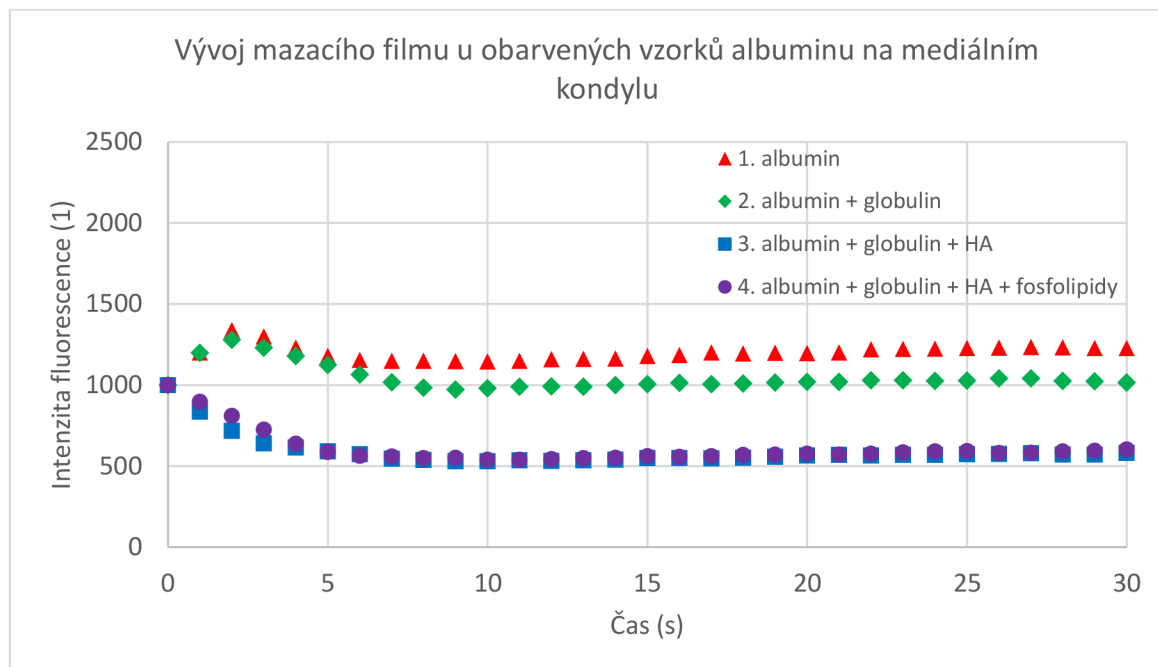
Jak bylo zmíněno, v případě testování fluorescenčně obarvené synoviální kapaliny se jedná o finančně poměrně nákladnou metodu a tudíž jsou všechny experimenty provedeny pouze jednou. Výjimkou jsou jednoduché proteinové roztoky albuminu a  $\gamma$ -globulinu na obou kondylech z důvodu ukázky opakovatelnosti měření.

### 5.3.1 Mediální kondyl

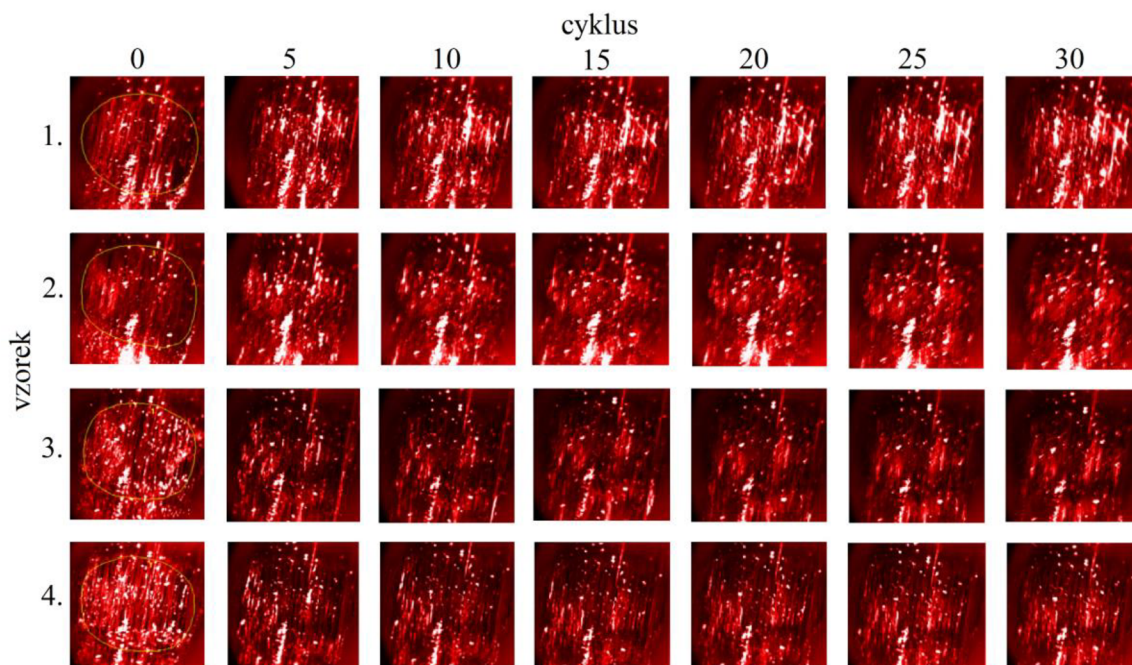
#### ALBUMIN

Výsledky experimentů vzorků obarveného albuminu pro mediální kondyl můžeme vidět na obr. 5.17 a snímky z těchto experimentů na obr. 5.18. Jednoduchý proteinový roztok obarveného albuminu rozpuštěného v PBS (v grafu červený trojúhelník) vykazuje ihned po spuštění experimentu mírný nárůst. Ještě před 5. cyklem však dochází k poklesu intenzity na hodnoty o něco vyšší, než jaké jsou naměřeny na počátku. Po zbytek experimentu tento vzorek ukazuje v závislosti na čase mírně narůstající tendenci, což můžeme vidět i na snímcích v prvním řádku obr. 5.18. Hodnota intenzity fluorescence mezi 5. a 30. cyklem narůstá pouze v řádech několika málo desítek. Na uvedených snímcích si také lze všimnout, že proteinový film je rovnoměrně rozetřen po kontaktní oblasti. Po přidání proteinu  $\gamma$ -globulinu se charakter vývoje mazacího filmu nijak zásadně nemění. Na počátku testování byl opět pozorován mírný nárůst intenzity, který byl rovněž ihned následován poklesem. Tentokrát na počáteční hodnoty. K ustálení hodnot v tomto případě docházelo přibližně až okolo 10. cyklu, avšak film, který se v kontaktní oblasti vytvořil, představuje o něco stabilnější hodnoty než první vzorek. Na snímcích druhého vzorku lze taktéž spatřit rovnoměrně rozetřený proteinový film a jasně identifikovat proteinové struktury (světlé body na snímcích). Po přidání kyseliny hyaluronové se vývoj mazacího filmu velmi odlišil. Hned od zahájení experimentu intenzita fluorescence exponenciálně klesá až na poloviční hodnoty přibližně do 10. cyklu, za nímž dochází k ustálení.

Mazací film se za touto hranicí stává stejně stabilní jako je tomu v případě kombinace obou proteinů. Jelikož je jas na snímcích modifikován pomocí histogramu vždy podle prvního snímku, lze si také všimnout ve třetím řádku a čtvrtém řádku na obr. 5.18 zřetelného poklesu. Na snímcích je však stále patrný projev proteinových struktur. Čtvrtý vzorek byl obohacen o fosfolipidy, nicméně vývoj mazacího filmu zůstal totožný bez výraznějších změn.



obr. 5.17 Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků albuminu pro mediální kondyl na pozici *b*

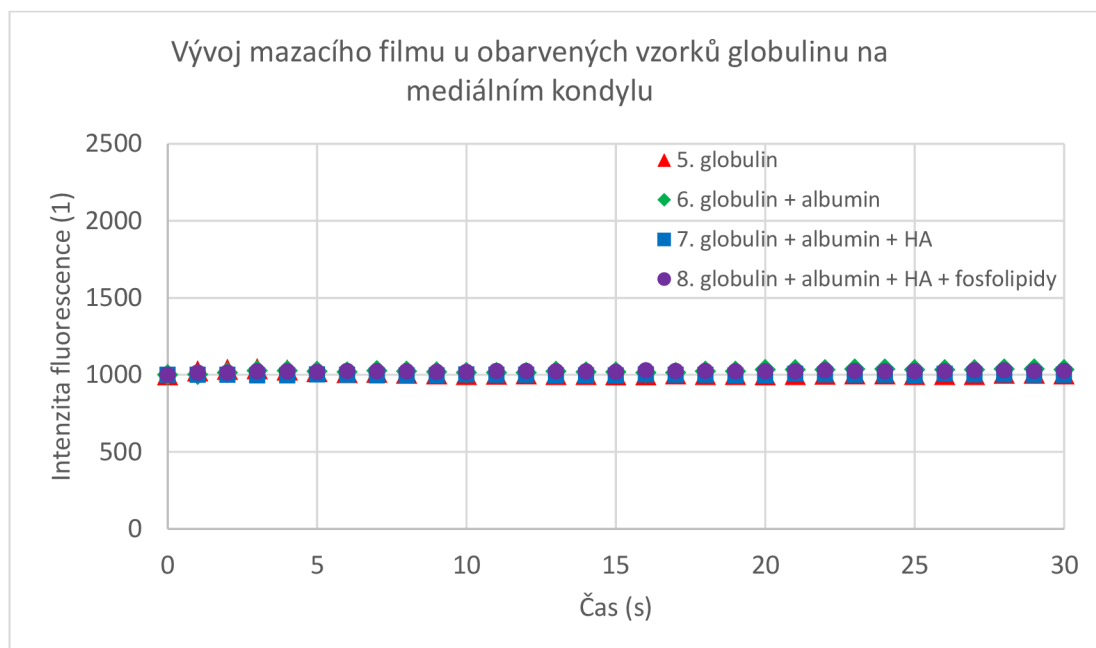


obr. 5.18 Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků albuminu pro mediální kondyl na pozici *b*

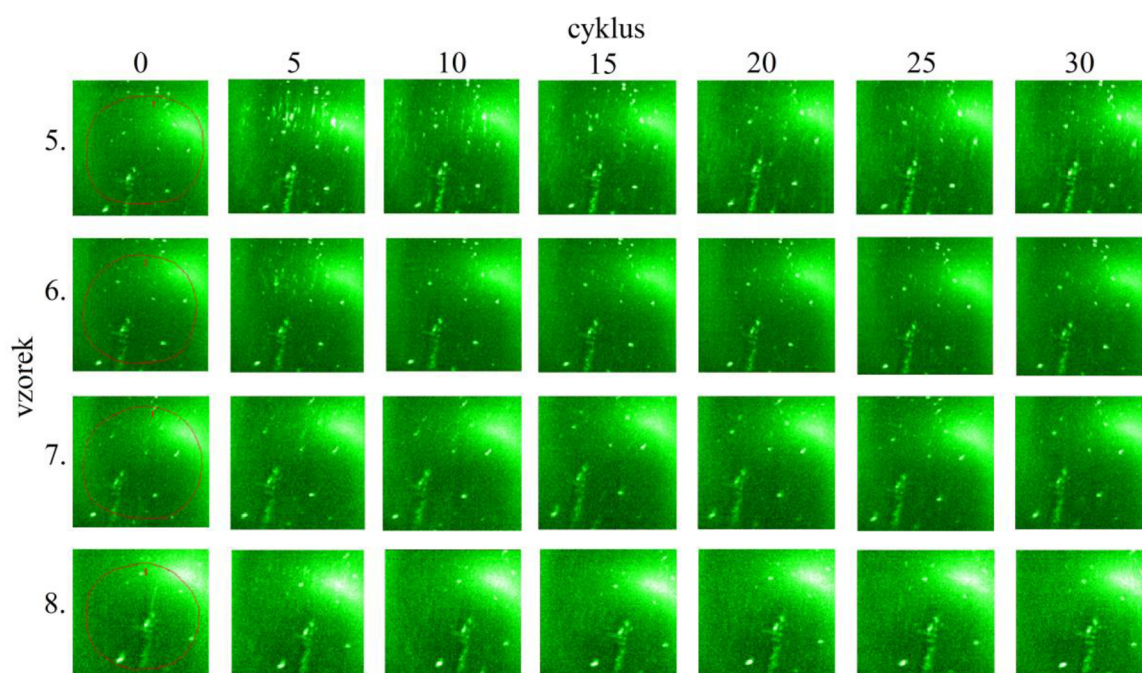
## GLOBULIN

Vývoj mazacích filmů s obarvenými vzorky globulinu lze vidět na obr. 5.19 a snímky kontaktních oblastí na obr. 5.20. Jednoduchý proteinový roztok  $\gamma$ -globulinu vykazuje na počátku experimentu, stejně jako v předchozím případě v kombinaci s albuminem, velmi mírný nárůst hodnoty intenzity fluorescence. Maximální intenzita fluorescence se pohybuje okolo 1040, což je z hlediska celkového vývoje filmu zanedbatelná hodnota. Do 5. cyklu opět dochází k poklesu na počáteční hodnoty. Tento mírný výkyv je jedinou odchylkou v jinak stabilních hodnotách. Snímky v prvním řádku na obr. 5.20 ukazují od 5. cyklu velmi jemně rozetřený proteinový film, který je v tomto případě jediným identifikovatelným faktorem. Pro protein  $\gamma$ -globulin se využívá jiný typ fluorescenčního barviva, než pro ostatní složky, konkrétně fluorescein-5-isothiocyanate. Toto barvivo vykazuje obecně nižší světelné emise, což má za následek horší kvalitu snímků.

Následná kombinace proteinů nepřinesla z hlediska vývoje filmu žádnou výraznou změnu. Mazací film do 5. cyklu vzrostl na hodnotu 1025 a následně se měnil pouze v řádu jednotek. Ze snímků kontaktní oblasti se navíc vytratily výraznější projevy proteinového filmu. Přidáním kyseliny hyaluronové došlo k téměř úplné stabilizaci hodnot intenzity během celé doby testování. Vytvořený proteinový film kolísá ve velmi omezeném rozsahu a ze snímků na obr. 5.20 není patrná jakákoliv změna. Během pozorování posledního vzorku, který reprezentuje komplexní složení synoviální kapaliny se charakter vývoje filmu podobal vzorku šest. Intenzita fluorescence narůstá především v prvních pěti cyklech na hodnotu 1020. Po zbytek experimentu se drží intenzita okolo této hodnoty a až do ukončení testování se film jeví jako velmi stabilní. Snímky v poslední řádku na obr. 5.20 nejeví žádné pozorovatelné změny.



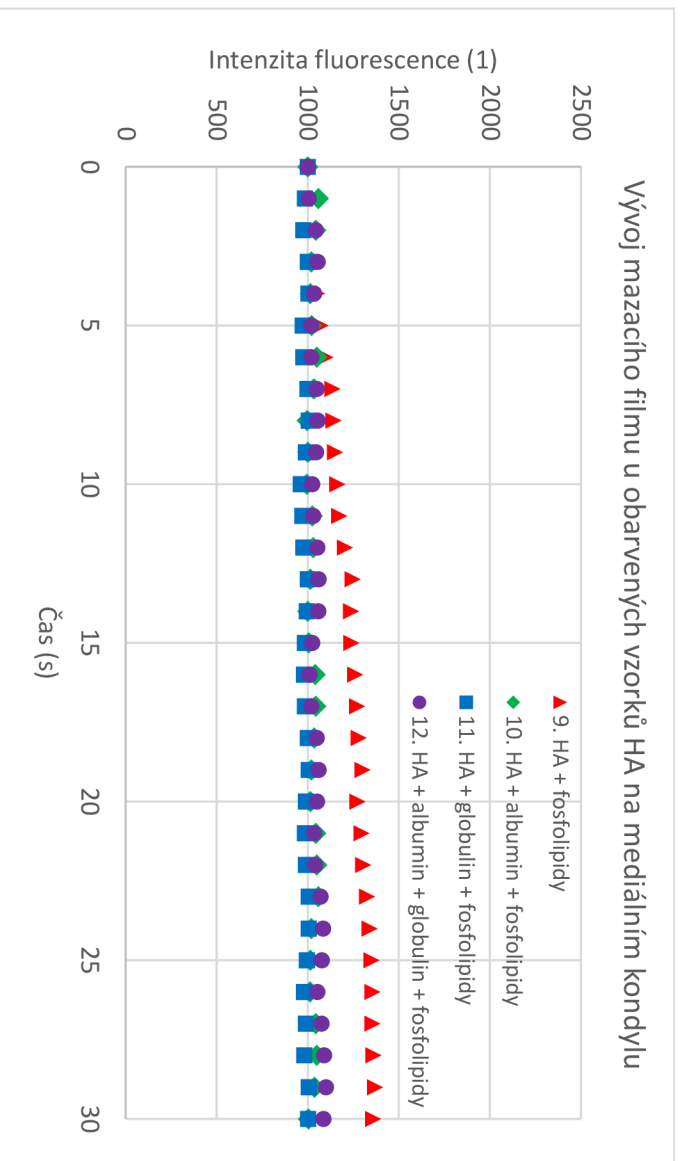
obr. 5.19 Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků globulinu pro mediální kondyl na pozici b



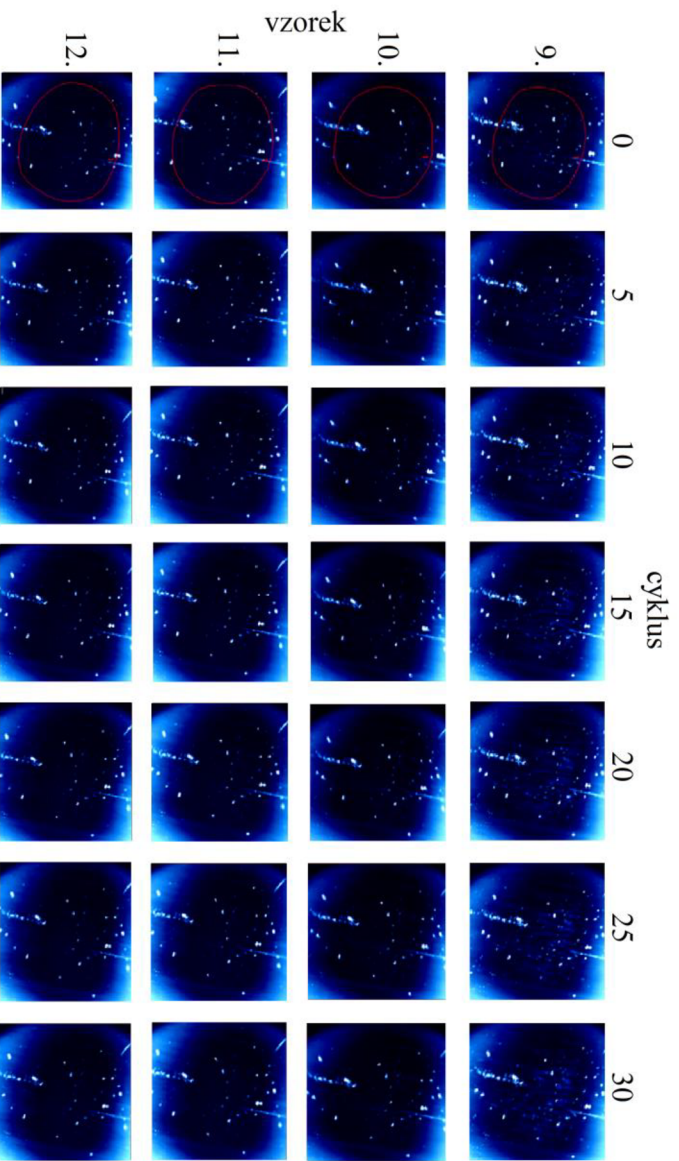
obr. 5.20 Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků globulinu pro mediální kondyl na pozici *b*

## KYSELINA HYALURONOVÁ

Pro testování obarvené kyseliny hyaluronové byly použity čtyři maziva, přičemž všechny vzorky obsahovaly obarvenou složku HA a neobarvené fosfolipidy. Výsledky experimentů jsou uvedeny na obr. 5.21 a obr. 5.22. Obecně je známo, že kyselina hyaluronová sama o sobě není schopna fungovat jako dobré mazivo. Během testování však vzorek č. 9, který je složen pouze z HA a fosfolipidů jako jediný vykazoval postupný nárůst intenzity fluorescence. K pozvolnému narůstání hodnot docházelo už od počátku testování. Za 5. cyklem intenzita stoupá o něco strměji. Teoreticky lineární nárůst intenzity pokračuje až do 25. cyklu, za kterým dochází k ustálení na hodnotách okolo 1350. Na snímcích prvního řádku na obr. 5.22 lze pozorovat přírůstek obarvené struktury, nejvíce znatelný mezi 5. až 15. cyklem. Snímky z 25. a 30. cyklu jsou pak téměř totožné. Po přidání albuminu do této směsi se vývoj intenzity v závislosti na čase zcela ustálil. Průběh intenzity fluorescence zůstal po celou dobu experimentu na počátečních hodnotách, místy pouze s velmi omezenými výkyvy. Ze snímků pořízených během tohoto testu nejsou patrné žádné změny v kontaktní oblasti. Při nahrazení proteinu albuminu za  $\gamma$ -globulin došlo hned ve 2. cyklu k poklesu na hodnotu 985, okolo které se následně hodnoty pohybovaly jen v řádu několika jednotek intenzity fluorescence po celý zbytek experimentu. Ze snímků není taktéž patrná žádná změna. Poslední vzorek č. 12, který svým složením opět reprezentoval komplexní kapalinu, zrcadlil vývoj hodnot vzorku č. 11. Během 3. cyklu dochází k navýšení intenzity na hodnotu 1045, kterou si film víceméně udržuje po zbytek experimentu. Intenzita zdatelněji poklesla jen ve čtyřech bodech, konkrétně v 5., 6., 16. a 26. cyklu. Jediným vzorkem z této série experimentů, který dokázal zdatelně zobrazit rozetřený mazací film po kontaktní oblasti tak zůstal vzorek č. 9.



obr. 5.21 Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků HA pro mediální kondyl na pozici b



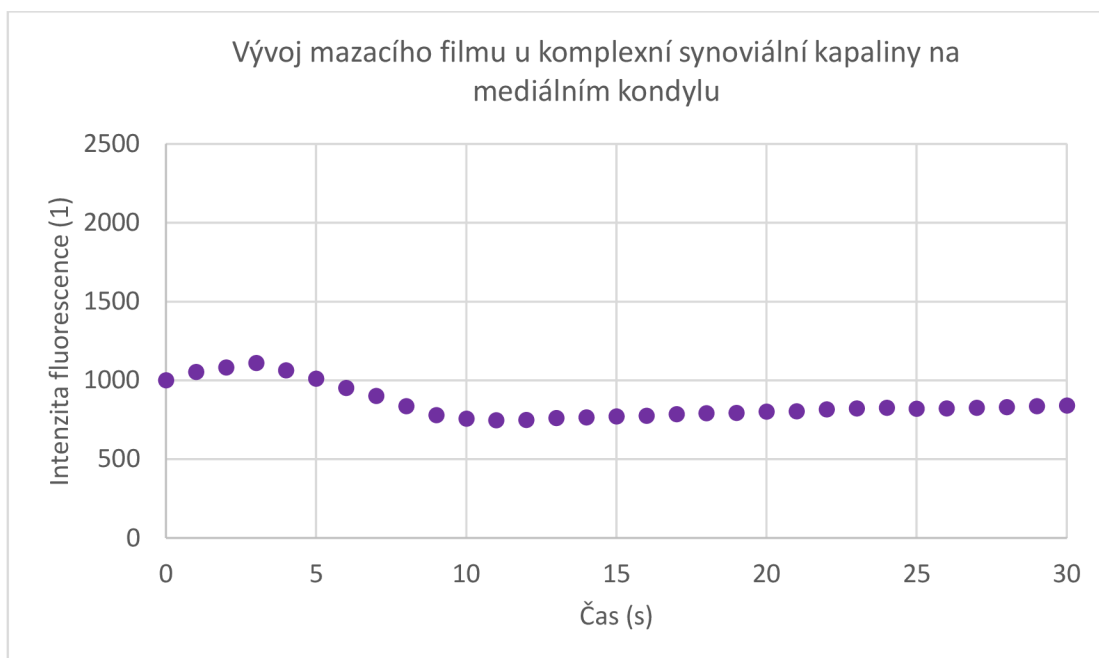
obr. 5.22 Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků HA pro mediální kondyl na pozici b

## KOMPLEXNÍ KAPALINA

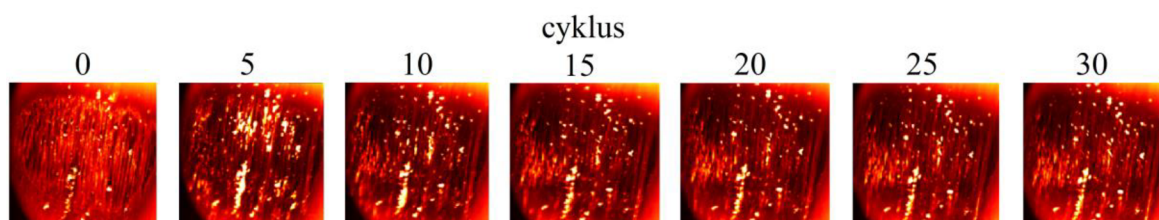
Poslední část testování na mediálním kondylu byla věnována pozorování komplexně obarvené synoviální kapaliny. Vzorek byl smíchán z obarvených složek obarveného albuminu,  $\gamma$ -globulinu a kyseliny hyaluronové a neobarvených fosfolipidů. Všechny složky byly rozpuštěny v roztoku PBS.

Na obr. 5.24 si lze všimnout, že závislost intenzity na čase je velmi podobná se vzorkem č. 2, kdy byl pozorován obarvený albumin s neobarveným  $\gamma$ -globulinem. Intenzita v tomto případě dosahuje hodnoty pouze 1110 oproti 1280 u kombinace proteinů, ovšem nárůst je následován naprosto shodným mírným poklesem, který je pozorován až do 10. cyklu. Komplexně obarvená kapalina však klesá až k hodnotám 745. Výrazný pokles intenzity lze pozorovat i na snímcích na obr. 5.24. Za 10. cyklem dochází k tendenci pozvolného nárůstu intenzity, jehož průběh u filmu setrvává až do ukončení experimentu. V tomto se komplexně obarvená kapalina taktéž liší, jelikož vzorek č. 2, zůstal po poklesu intenzity na relativně stabilních hodnotách. Vzhledem k výraznému podílu obarvených složek v daném vzorku lze velmi dobře sledovat rozetřený mazací film.

Na snímcích na obr. 5.24 můžeme vidět, že mezi 5. a 10. cyklem dochází k vymizení výrazného projevu proteinových struktur ze vstupní oblasti kontaktu. Od 10. cyklu pak pozorujeme rovnoměrně rozprostřený mazací film.



obr. 5.23 Závislost intenzity na čase u komplexně obarvené synoviální kapaliny pro mediální kondyl na pozici *b*

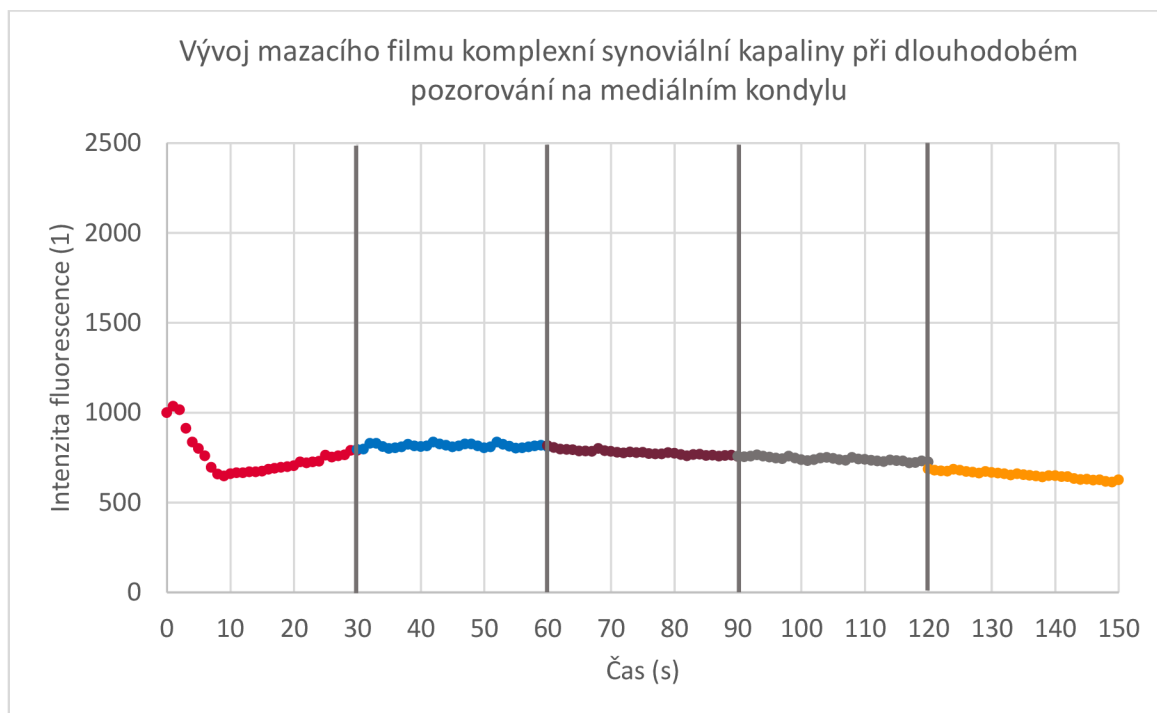


obr. 5.24 Snímky kontaktní oblasti komplexně obarvené synoviální kapaliny pro mediální kondyl na pozici *b*

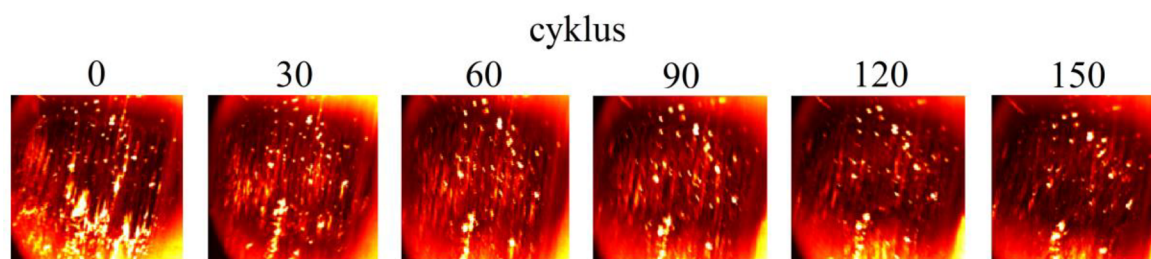
Vzorek komplexně obarvené synoviální kapaliny představuje z hlediska sběru informací o chování mazacího filmu v náhradě kolenního kloubu velmi markantní část výzkumu a bylo by zajímavé sledovat jeho dlouhodobý vývoj. Jelikož jsou však v tomto případě limitující schopnosti zaznamenávání kamery, musely být podmínky experimentu upraveny. Kinematické cykly i cyklus proměnlivého zatížení zůstal beze změny. Testování včetně záznamu jevů vyskytujících se na kontaktní oblasti probíhalo stejně jako u přechozích experimentů vždy po 30ti cyklech. Následovala doba nutná k uložení pořízeného záznamu, což bylo přibližně 7 minut. Mezitím zůstala náhrada v nulové poloze F/E natočení i translace A/P pohybu. Zatížení odpovídalo 120 N, což je vstupní bod při spuštění proměnlivého AX cyklu. Do programu byl přidán přírůstek 30ti cyklů vzhledem k předcházejícímu počtu. Poté byl zahájen experiment, který vykonal počet cyklů z předchozího testu bez záznamu a dalších 30 cyklů se záznamem. Pořízené snímky se odeslaly k uložení, přičemž ustavení komponent a jejich zatížení opět odpovídalo uvedeným hodnotám. Takto bylo provedeno celkem pět po sobě jdoucích experimentů se stejnou kapalinou. V poslední fázi tak simulátor vykonal celkem 150 cyklů, ale záznam byl zahájen až na 120. cyklu. Výsledný průběh chronologicky seřazených experimentů můžeme vidět na obr. 5.25. Snímky pořízené během těchto experimentů jsou uvedeny na obr. 5.26.

Všechny experimenty byly poděleny konstantou podle normovaného prvního snímku prvního experimentu, jelikož se jednalo o stejné mazivo. Prvních pět snímků zleva uvedených na obr. 5.26 zobrazují kontaktní oblasti z prvního cyklu daného experimentu, jelikož byly shodné vždy s posledními snímky experimentu předcházejícího.

Během prvního testu (v grafu na obr. 5.25 světlá červená barva) je pozorována velmi dobrá opakovatelnost s předcházejícím experimentem komplexně obarvené synoviální kapaliny, viz obr. 5.23. Závislost intenzity na čase má naprosto shodný charakter, a to včetně hodnot. Navazující test (v grafu modrá barva) začíná na stejných hodnotách, na kterých první experiment končil. V tomto úseku pozorování dochází k ustálení hodnot. Místy si lze všimnout jistých výkyvů, které však nejsou příliš zásadní. Třetí experiment (v grafu tmavá červená barva) poukazuje na postupné, velmi mírné, klesání intenzity fluorescence. Ze snímku 60. a 90. cyklu je patrný jen zanedbatelný zánik mazacího filmu, který se ovšem stále drží po celé ploše kontaktu. Čtvrtý experiment (v grafu šedá barva) pokračuje v klesající tendenci až k hodnotám 720. Na snímcích z počátků experimentů 90 a 120 je opět znatelný malý úbytek mazacího filmu. Poslední experiment (v grafu žlutá barva) navazuje na přechozí hodnoty a pokračuje v klesajícím charakteru vývoje mazacího filmu. Poslední zaznamenaná intenzita uvádí hodnotu 615, což je menší průměrná hodnota, než která byla naměřena během výrazného poklesu v prvním experimentu. Na posledním snímku obr. 5.26 můžeme stále sledovat rozetřený mazací film po celé kontaktní oblasti.



obr. 5.25 Závislost intenzity na čase u komplexně obarvené synoviální kapaliny pro mediální kondyl na pozici *b* při dlouhodobém pozorování



obr. 5.26 Snímky kontaktní oblasti komplexně obarvené synoviální kapaliny pro mediální kondyl na pozici *b* při dlouhodobém pozorování

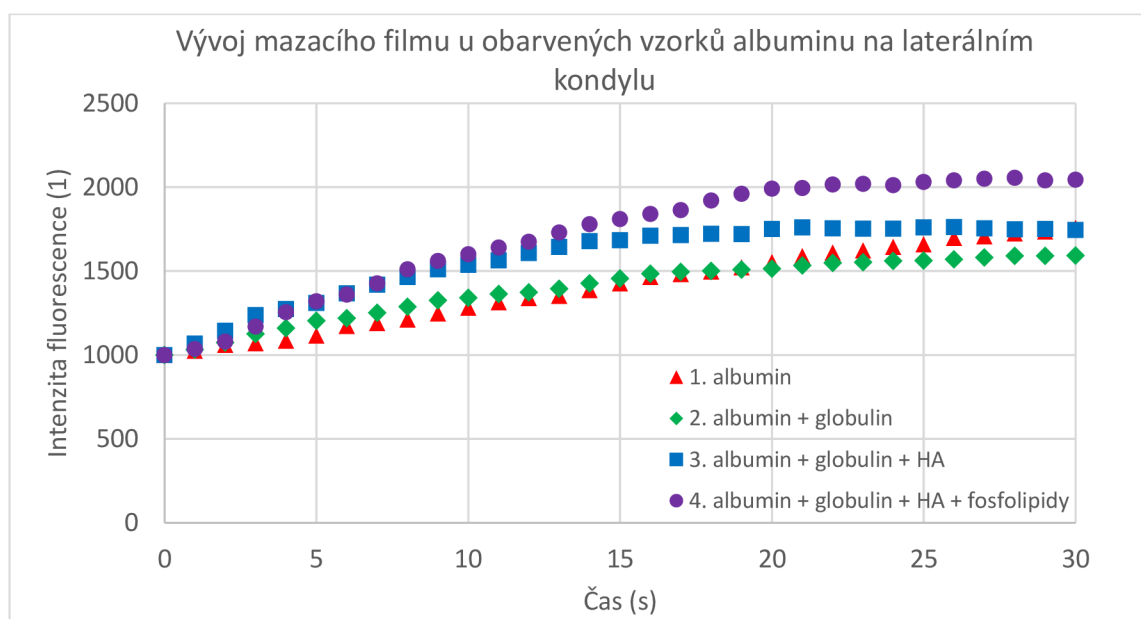
Dlouhodobé pozorování ukázalo, že vývoj mazacího filmu na pozici *b* mediálního kondylu je zásadní už během prvních několika cyklů. Je třeba také podotknout, že obarvená synoviální kapalina má omezenou dobu použitelnosti a tudíž s narůstajícím počtem experimentů a působení přirozeného světla dochází k jejímu vysvícení. Experimenty však probíhaly v zatemněném prostředí a během doby stání, kdy byly ukládány jednotlivé záznamy, byly zataženy všechny filtry, které brání dopadání světelného záření produkovaného rtuťovou lampou na pozorovanou oblast.



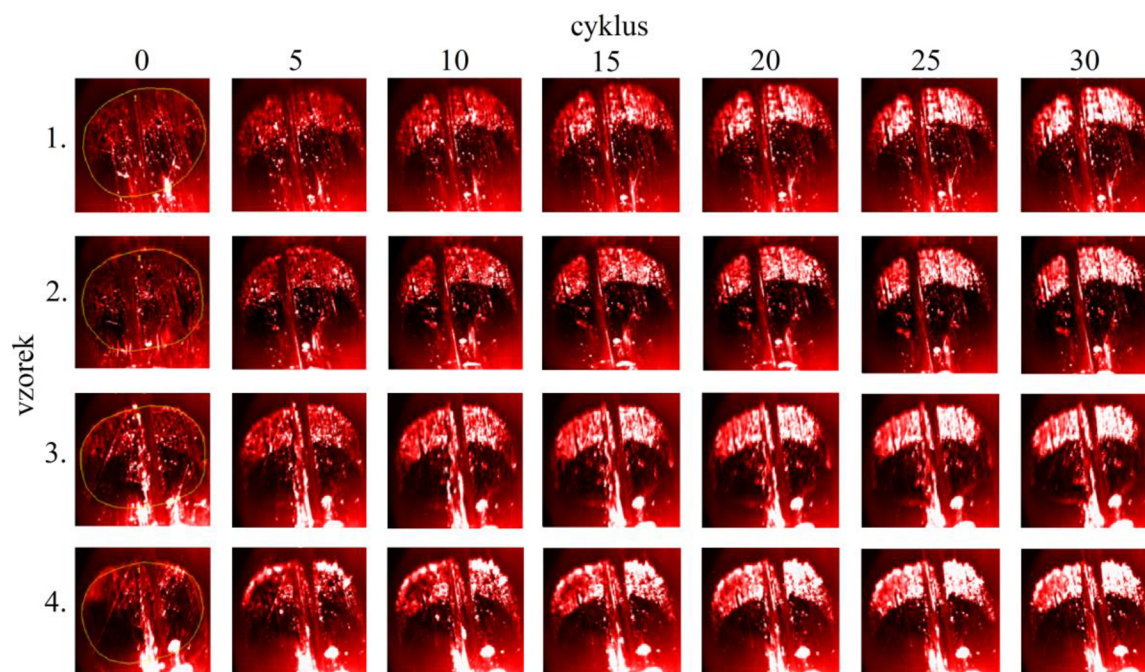
### 5.3.2 Laterální kondyl

#### ALBUMIN

Výsledky série experimentů s obarveným albuminem pro laterální kondyl na pozici *b* jsou uvedeny na obr. 5.27 a obr. 5.28. Nejprve byl testován, stejně jako v případě mediálního kondylu, jednoduchý proteinový roztok s obarveným albuminem rozpuštěným v PBS. Vzorek č. 1 vykazuje od započetí testu po celou dobu pozorování lineární nárůst hodnot. Mazací film ke konci experimentu dosahuje téměř dvojnásobné intenzity oproti počátečním hodnotám. Jak je patrné ze snímků obr. 5.28, v případě laterálního kondylu je intenzita vykazována spíše shluky proteinových struktur objevujících se ve vstupní oblasti kontaktu, které narůstají s počtem cyklů. Přidáním proteinu  $\gamma$ -globulinu se vývoj mazacího filmu do 20. cyklu příliš nemění. Za touto hranicí se hodnoty dále navyšují, ale narůstající trend už není tak výrazný. Poslední dva snímky z druhého řádku na obr. 5.28 se tak zdají zcela totožné. Stejně jako v případě prvního experimentu dochází ke shlukování proteinových struktur ve vstupní oblasti kontaktu. Třetí vzorek kromě obou proteinů obsahoval i kyselinu hyaluronovou, což mělo za následek zlepšení tvorby mazacího filmu v prvních 20ti cyklech. Intenzita fluorescence v závislosti na čase roste na výrazně vyšších hodnotách, než jak tomu je v předchozích dvou případech. Mezi 15. a 20. cyklem dochází k postupné stabilizaci hodnot, které se v poslední třetině testu zcela ustálí. Ze snímků na obr. 5.28 je rovněž patrná mnohem větší aglomerace proteinů než u přechozích dvou vzorků. Vzorek č. 4 reprezentující komplexně složenou synoviální kapalinu vykazuje do 20. cyklu lineární nárůst hodnot, avšak na rozdíl od jednoduchého roztoku albuminu dosahuje dvojnásobné tloušťky mazacího filmu, přičemž hodnoty jsou v závěru experimentu stabilizovány. Zlepšená tvorba mazacího filmu se projevuje i na snímcích v poslední řádce na obr. 5.28. a stejně jako v předchozích případech i zde můžeme sledovat hromadění proteinových struktur ve vstupní části kontaktu.



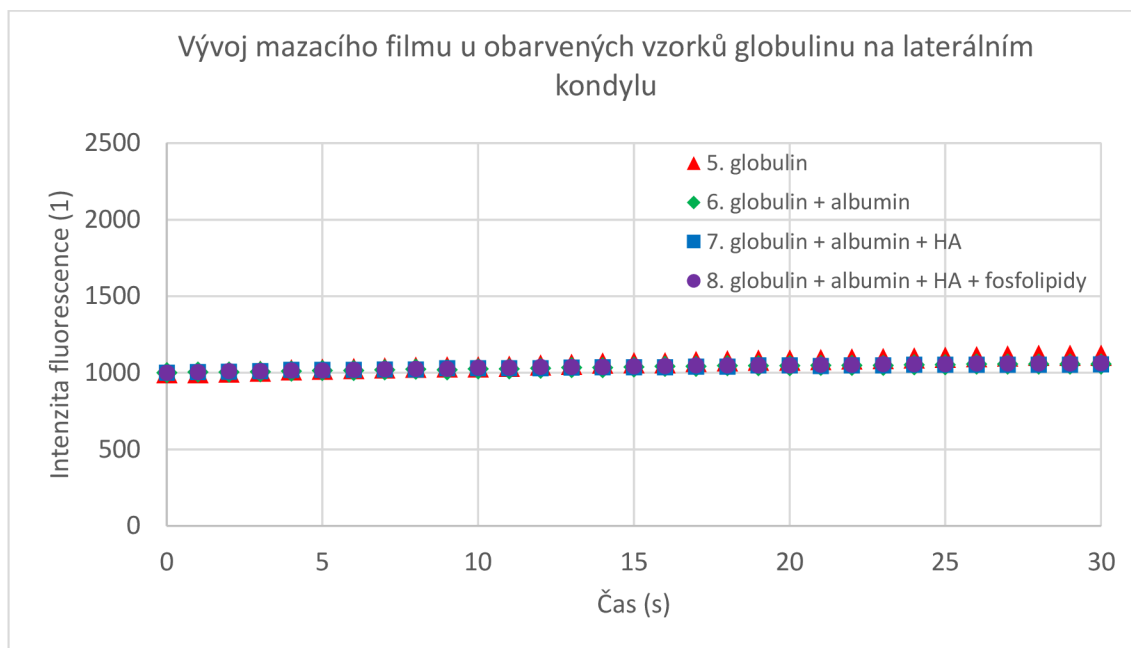
obr. 5.27 Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků albuminu pro laterální kondyl na pozici *b*



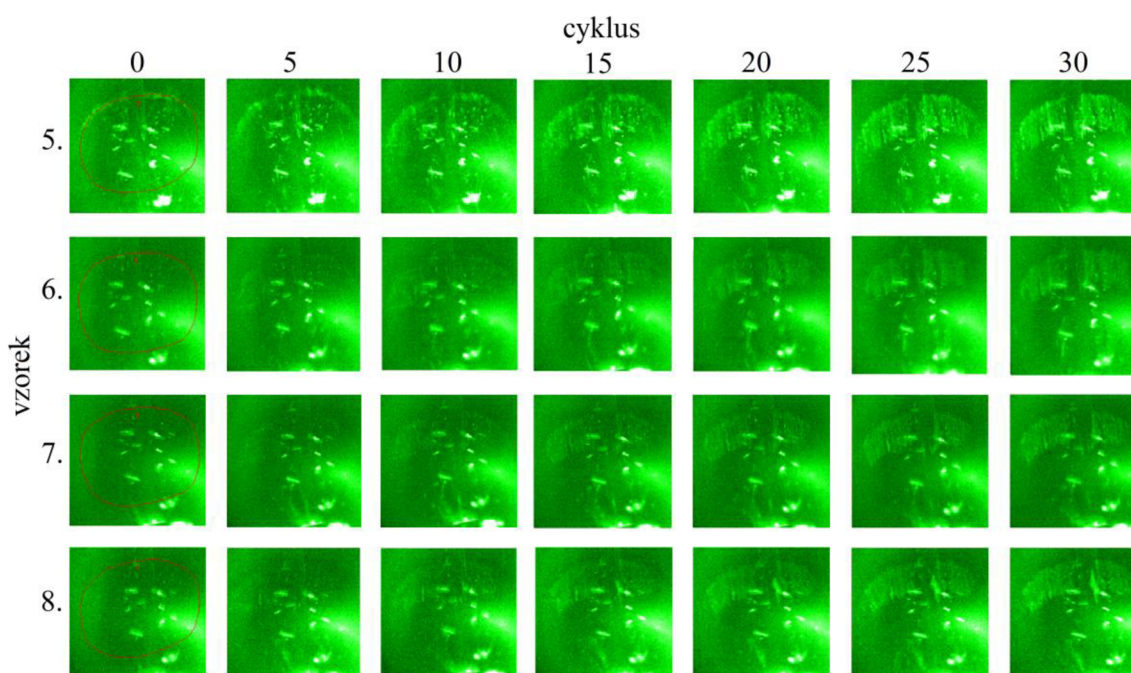
obr. 5.28 Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků albuminu pro laterální kondyl na pozici *b*

## GLOBULIN

Výsledky experimentů s obarveným  $\gamma$ -globulinem na pozici *b* pro laterální kondyl jsou uvedeny na obr. 5.29 a obr. 5.30. Jednoduchý roztok  $\gamma$ -globulinu rozpuštěného v PBS vykazoval v této sérii experimentů nejlepší schopnost tvorby proteinového filmu. Během celého experimentu je definovaný lineárním nárůstem intenzity až na hodnoty 1120. Ze snímků tohoto vzorku je také nejvíce patrná aglomerace proteinů ve vstupní části do kontaktu. Jelikož je změněna podstata ukládání proteinů v kontaktní oblasti, lze ze snímků podstatně lépe rozeznat chování struktur ve srovnání se stejnou sérií experimentů na mediálním kondylu. Při kombinaci proteinů  $\gamma$ -globulinu a albuminu se charakter vývoje mazacího filmu nezměnil a rovněž lineárně rostl po celou dobu experimentu. V tomto případě pouze na maximální hodnotu 1060 a ze snímků je patrný i menší projev shlukování proteinových struktur než u předchozího vzorku. Do vzorku č. 7 byla navíc k proteinům přidána kyselina hyaluronová, která však nezpůsobila žádnou změnu ve vývoji intenzity v závislosti na čase. Vývoj mazacího filmu zůstal lineární a maximální intenzita fluorescence dosáhla hodnoty 1055. Snímky druhého a třetího řádku na obr. 5.30 si jsou velmi podobné a nejsou na nich pozorovány žádné výrazné změny. Ani poslední vzorek s fosfolipidy nevykazoval vůbec žádné zlepšení ani zhoršení schopnosti mazání. Průběh zůstává lineární a maximální intenzita dosahuje hodnoty 1065. Na snímcích není rovněž možno pozorovat jakoukoliv změnu. Vzorky č. 6, 7 a 8 se rozcházejí jen v řádu několika jednotek intenzity fluorescence, což lze z hlediska vyhodnocení považovat za zanedbatelnou odchylku a vyloučit tak jakýkoliv přínos kterékoliv ze složek.



obr. 5.29 Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků globulinu pro laterální kondyl na pozici *b*

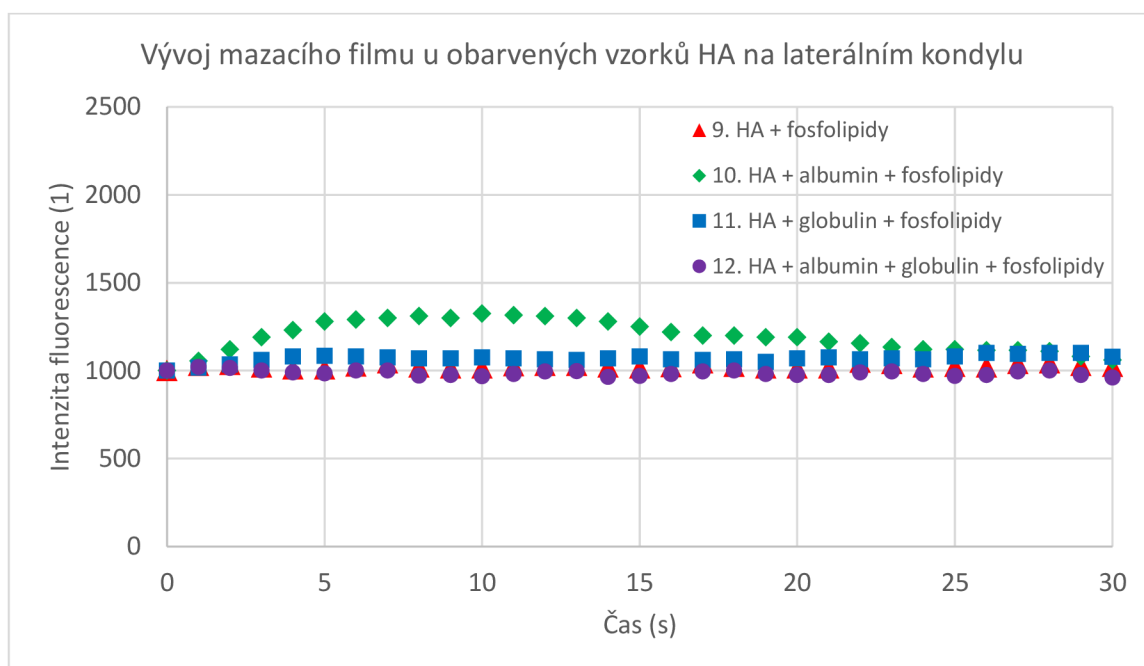


obr. 5.30 Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků globulinu pro laterální kondyl na pozici *b*

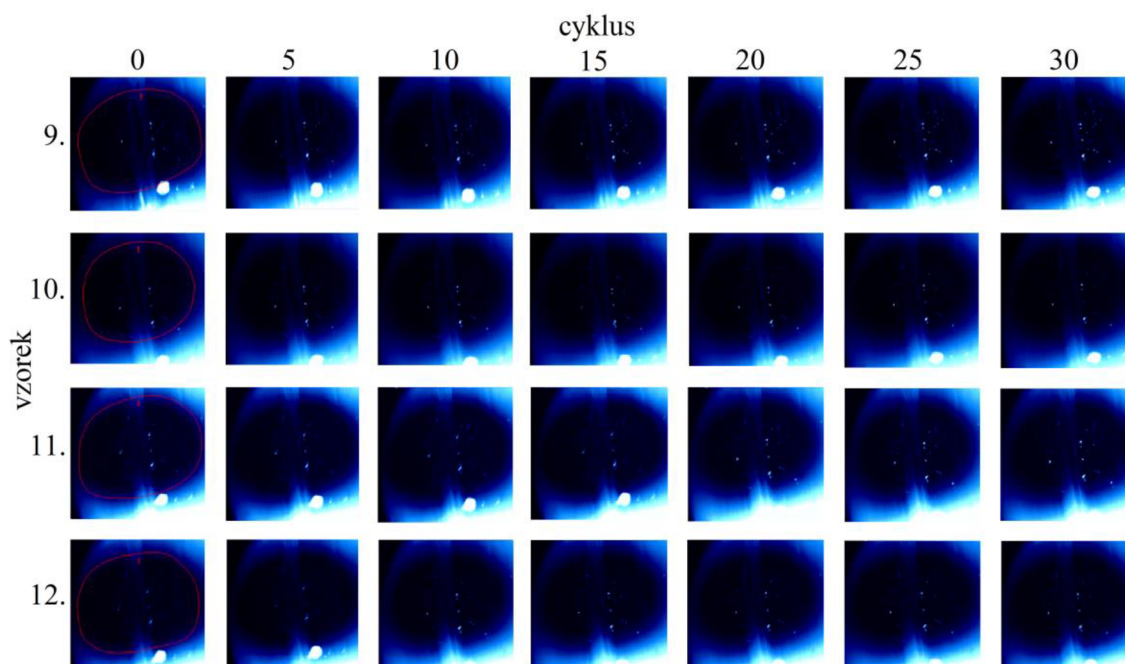
## KYSELINA HYALURONOVÁ

Snímky kontaktních oblastí z experimentů s obarvenou kyselinou hyaluronovou na laterálním kondylu jsou uvedeny na obr. 5.32, závislost intenzity na čase na obr. 5.31. Vzorek č. 9, který obsahoval pouze kyselinu hyaluronovou a fosfolipidy, se v průběhu testování pohyboval pouze okolo počátečních hodnot a oproti mediálnímu kondylu nebyl schopen jakéhokoliv vývoje mazacího filmu.

Ze snímků prvního řádku na obr. 5.32 můžeme rozpoznat nepatrný shluk obarvené složky v prostřední a pravé části kontaktu. Pozitivní dopad v tomto případě mělo přidání proteinu albuminu. Intenzita fluorescence v závislosti na čase narůstá během prvních 5ti cyklů na hodnotu 1280. Za 5. cyklem se vývoj zpomaluje. Film přesto dosahuje intenzity 1325 na 10. cyklu, za kterým dochází k postupnému klesání. K poslednímu sledovanému cyklu se film dostává zpět na počáteční hodnoty. Při nahrazení proteinu albuminu za  $\gamma$ -globulin se charakter vývoje mazacího filmu stává stabilnějším. Intenzita do 5. cyklu vystoupá na hodnotu 1080, na které setrvá po zbytek testování jen s nepatrnými odchylkami. Ze snímků na obr. 5.32 není možné pozorovat žádné výrazné změny na kontaktní oblasti. Poslední vzorek, který obsahoval všechny složky synoviální kapaliny vykazoval stejný charakter vývoje mazacího filmu jako vzorek č. 9. Během celého experimentu byla pozorována stabilní závislost intenzity na čase, průměrně okolo hodnot 975. Při porovnání snímků vzorku č. 9 a 12 na obr. 5.32 lze pozorovat, že dochází k mírnému přesunu obarvených částic z pravé části kontaktu směrem do středu. Koncentrace obarvených částic je vzhledem k dodržení předepsaného složení velmi malá a při tolik nevýrazných projevech nelze tvrdit, zda tak dochází zcela v důsledku interakce jednotlivých složek nebo na základě působení podmínek cyklu.



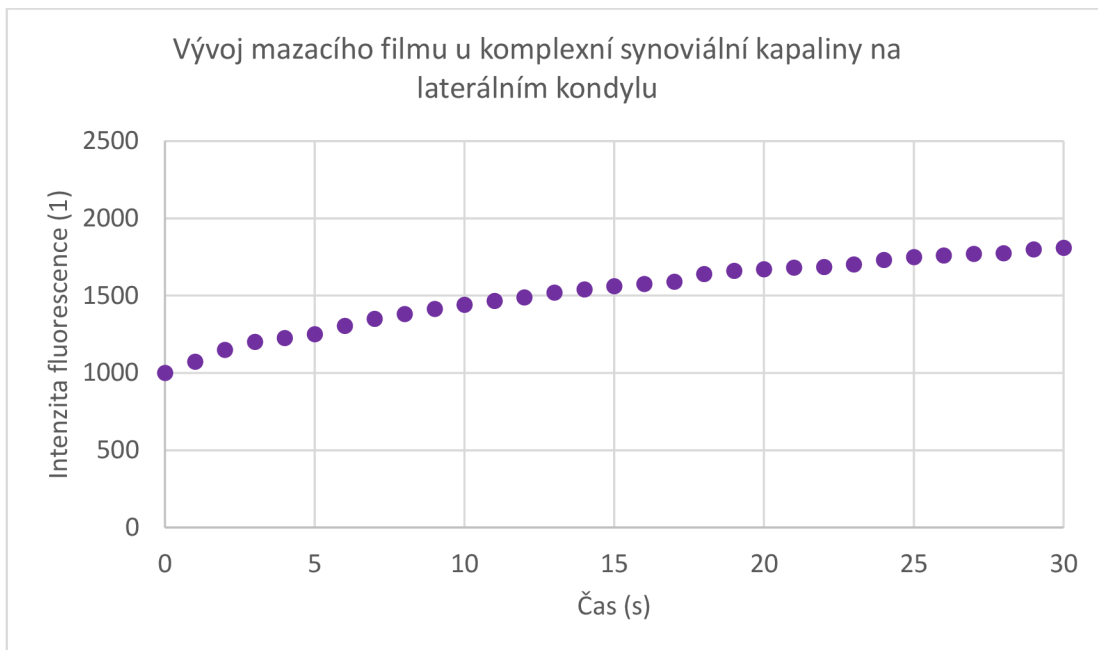
obr. 5.31 Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků HA pro laterální kondyl na pozici *b*



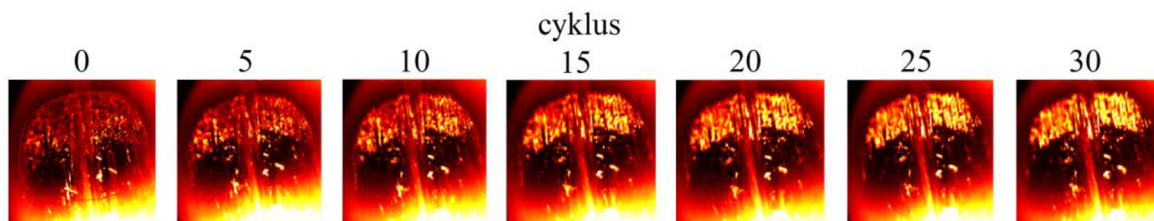
obr. 5.32 Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků HA pro laterální kondyl na pozici *b*

## KOMPLEXNÍ KAPALINA

Výsledky testování s komplexně obarvenou kapalinou pro laterální kondyl na pozici *b* lze vidět na obr. 5.33 a obr. 5.34. Stejně jako u mediálního kondylu byly i zde fluorescenčně obarvené složky albuminu,  $\gamma$ -globulinu a kyseliny hyaluronové. Intenzita fluorescence roste během celého experimentu a dosahuje koncové hodnoty přibližně 1720. V porovnání s mediálním kondylem se vývoj mazacího filmu zcela odlišil. Při stejné délce experimentu a totožných podmínkách testování je tloušťka mazacího filmu k poslednímu cyklu dvojnásobná, navíc nevykazuje žádný pokles hodnot. Ze snímků na obr. 5.34 lze jasně pozorovat ukládání proteinových struktur ve vstupní části kontaktu. Jelikož se toto chování neprojevílo pouze u kyseliny hyaluronové, viz obr. 5.32, můžeme tvrdit, že aglomerace struktur je ovlivněna především zmíněnými proteiny. Jelikož je vývoj mazacího filmu během celého experimentu definován pouze nárůstem hodnot, lze toto chování připodobnit k výsledkům testování jednoduchého roztoku albuminu. Vzorek č. 1 navíc dosahuje podobných hodnot.



obr. 5.33 Závislost intenzity na čase u komplexně obarvené synoviální kapaliny pro laterální kondyl na pozici *b*

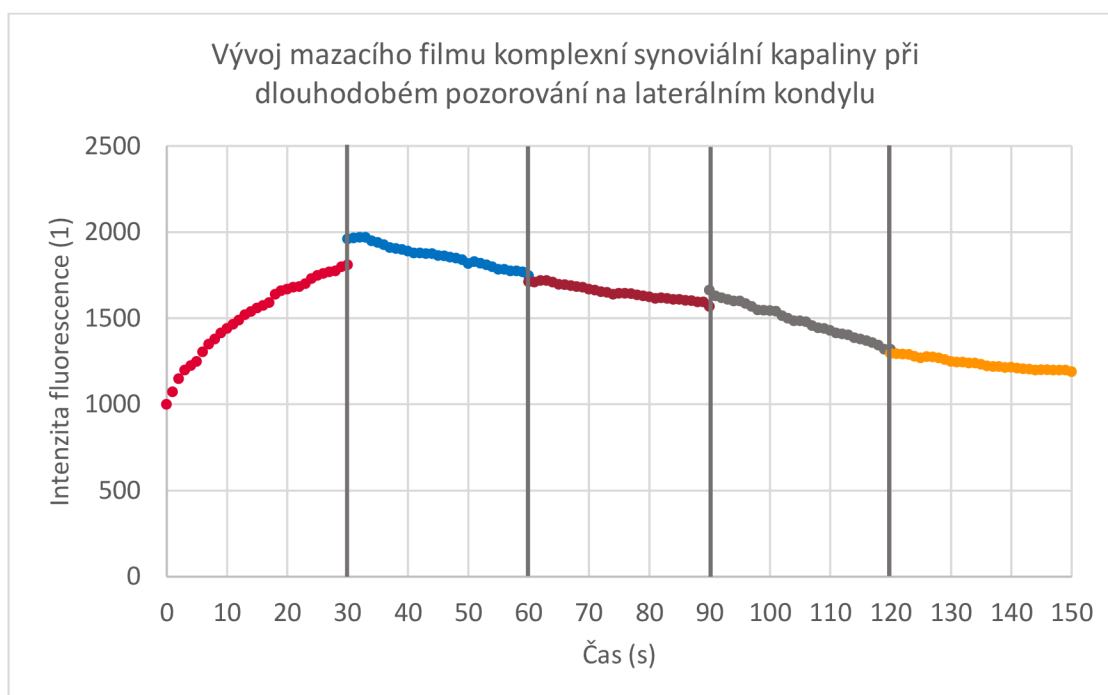


obr. 5.34 Snímky kontaktní oblasti komplexně obarvené synoviální kapaliny pro laterální kondyl na pozici *b*

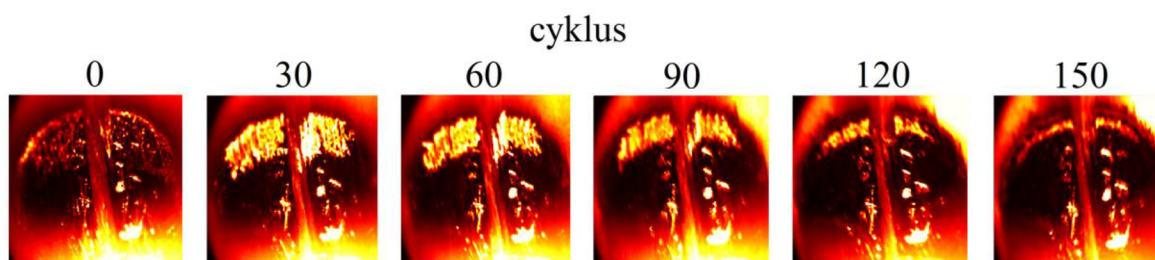
Stejně jako u mediálního kondylu byla i zde testována komplexně obarvená synoviální kapalina z hlediska dlouhodobého vývoje filmu. Podmínky testování odpovídají popisu uvedeného na konci kapitoly 5.3.1.

Všechny experimenty byly rovněž poděleny konstantou podle normovaného prvního snímku prvního experimentu a všechny snímky uvedené na obr. 5.36, kromě snímku ze 150. cyklu, zobrazují kontaktní oblasti z 1. cyklu odpovídajícího experimentu. První experiment (v grafu světle červená barva) odpovídá podmínkám předešlého testu komplexně obarvené synoviální kapaliny, viz obr. 5.33, a opět můžeme pozorovat dobrou shodu ve vývoji intenzity fluorescence v závislosti na čase. Jelikož jsou délky experimentů u jednotlivých grafů rozdílné, může se zdát průběh zkreslený, nicméně hodnoty intenzity se ke konci experimentů téměř shodují. Následující experiment (v grafu modrá barva) je mírně odskočený od předcházejícího testu, avšak v potaz je brána vcelku dobrá návaznost hodnot. Během druhého experimentu dochází k postupnému poklesu intenzity v závislosti na čase, čehož si můžeme všimnout i na snímcích 30 a 60 cyklu na obr. 5.36, kde pozorujeme zřetelné snížení množství proteinových struktur ve vstupní oblasti kontaktu. V klesající tendenci pokračuje i navazující test (v grafu tmavá červená barva), který končí na hodnotách 1570.

Ze snímků je opět patrný úbytek shluků na vstupu kontaktu. Čtvrtý test (v grafu šedá barva) je na počátku stejně jako druhý experiment mírně odskočený a úbytek proteinových struktur probíhá o něco rychleji. Mezi snímkem z 90. a 120. cyklu je také nejvíce znatelný úbytek nahromaděných proteinů. U posledního experimentu (v grafu žlutá barva) se rychlost poklesu hodnot snižuje. Hodnota z posledního cyklu udává intenzitu fluorescence 1190, což je stále tlustší mazací film, než který byl pozorován na samém začátku těchto experimentů. Dochází k téměř úplnému vymizení proteinových struktur ze vstupu do kontaktu. Konečné hodnoty jsou podobné 5. cyklu z obr. 5.33 a obr. 5.34. Když porovnáme kontaktní oblasti, vidíme že proteiny mají tendenci přesouvat se neustále blíže ke vstupu do kontaktu. Toto tvrzení lze podložit i sledováním jevů probíhajících na kontaktní oblasti na obr. 5.36.



obr. 5.35 Závislost intenzity na čase u komplexně obarvené synoviální kapaliny pro laterální kondyl na pozici *b* při dlouhodobém pozorování



obr. 5.36 Snímky kontaktní oblasti komplexně obarvené synoviální kapaliny pro laterální kondyl na pozici *b* při dlouhodobém pozorování

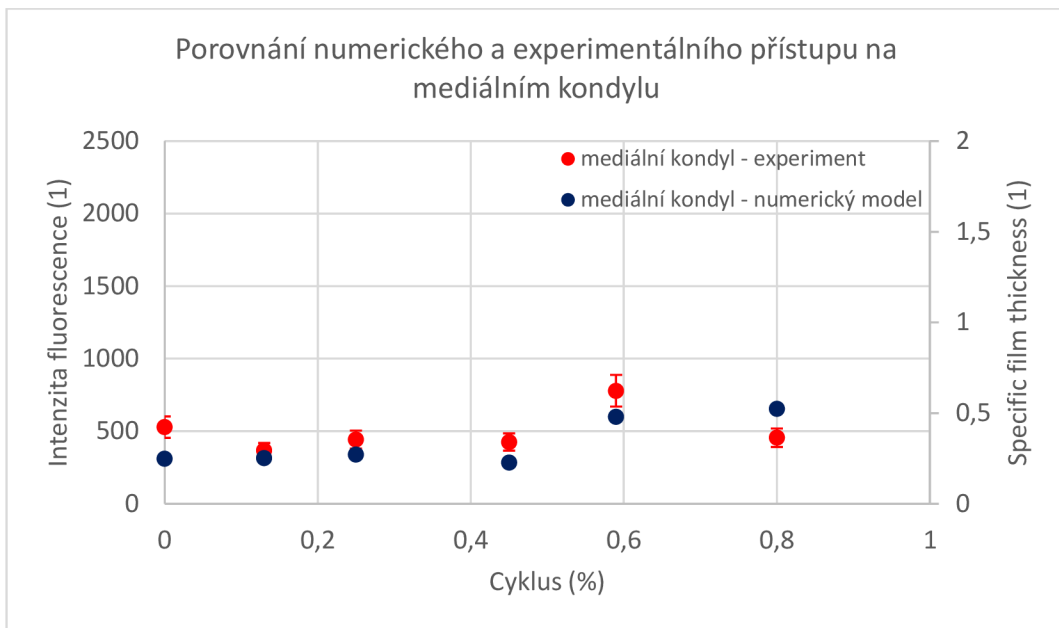
## 6 DISKUZE

### 6.1 Fundamentální studie s minerálními oleji

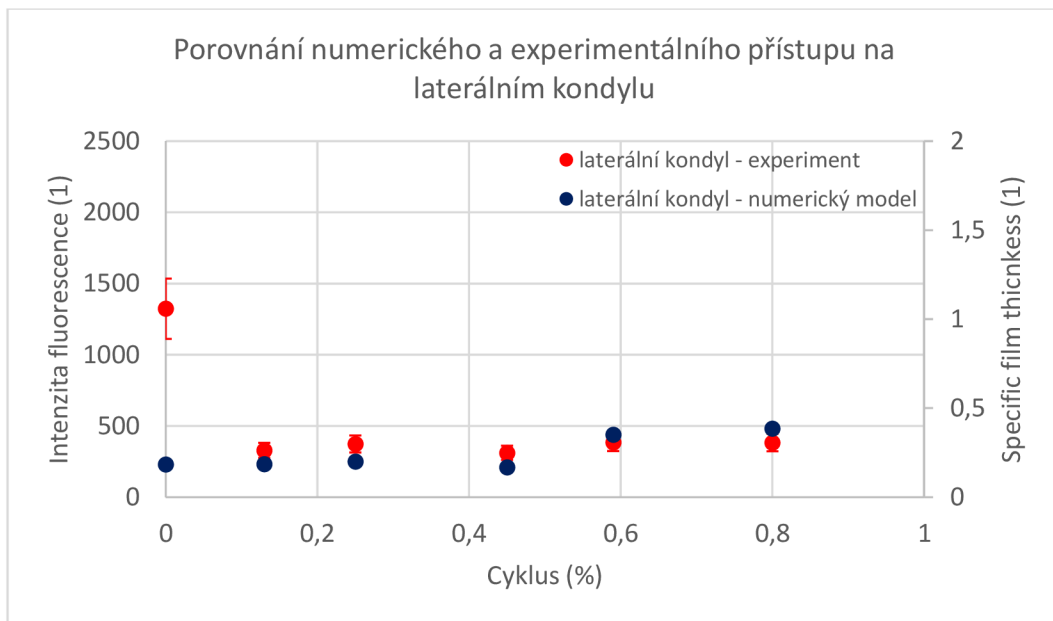
Experimenty s minerálním olejem umožnily pozorovat transformaci kontaktní oblasti v průběhu cyklu v šesti specifických polohách. Ukázalo se, že kontakt se pohybuje ve velmi omezeném rozsahu po tibiálním plató a mezi pozorovací pozicí *c* a *d* na laterálním kondylu dokonce dochází k překrytí. Největší rozdíl v tloušťkách filmu nastává u pozice *a*, kdy jsou oba kontakty identické, avšak na laterálním kondylu se vytváří mnohem tlustší vrstva maziva, k čemuž zřejmě dochází v důsledku nárůstu axiálního zatížení, které je v tomto bodě soustředěno především na mediální kondyl. Studie uvádějí, že mediální kondyl by měl obecně přenášet přibližně 60 % axiálního zatížení, avšak u biologického systému se poměr mezi silami jeví primárně podle faktorů jako je fyziologie pacienta, vyrovnání implantátu po operaci a typu prováděných aktivit [15]. Na konci švihové fáze cyklu má podstatnou roli i větší rychlost F/E rotace femorální komponenty, která může mít pozitivní dopad na proces mazání, ovšem dominantním prvkem zůstává zatížení. Kontaktní spojení během stejné fáze cyklu na obou kondylech vykazují pouze dva základní tvary – oválné až eliptické s příčně delší osou a kruhové. Studie [11] uvádí, že příčné kontaktní spojení vykazuje lepší podmínky pro tvorbu mazacího filmu, což lze pozorovat na pozicích *b*, *c* a *d* na mediálním kondylu, kde je jasný rozetřený mazací film po kontaktní oblasti a dochází k úplné separaci povrchů. Během experimentů s minerálními oleji byly opakovaně pozorovány nejnižší hodnoty intenzity fluorescence na pozicích *b* a *d*, viz obr. 5.15 a obr. 5.16, které odpovídají maximálním hodnotám zatížení.

Na základě kooperace s Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg vzniknul numerický model, který vyvíjelo partnerské pracoviště, a který je možný porovnat s výsledky experimentální studie. Co se týká trendu vývoje, experimentální a numerický přístup ukazují kvalitativně dobrou shodu (výjimkou je první sledovací pozice na laterálním kondylu). Výsledky porovnání obou přístupů pro mediální a laterální kondyl lze vidět na obr. 6.1 a obr. 6.2.





obr. 6.1 Porovnání výsledků experimentálního a numerického přístupu na mediálním kondylu pro studii s minerálními oleji

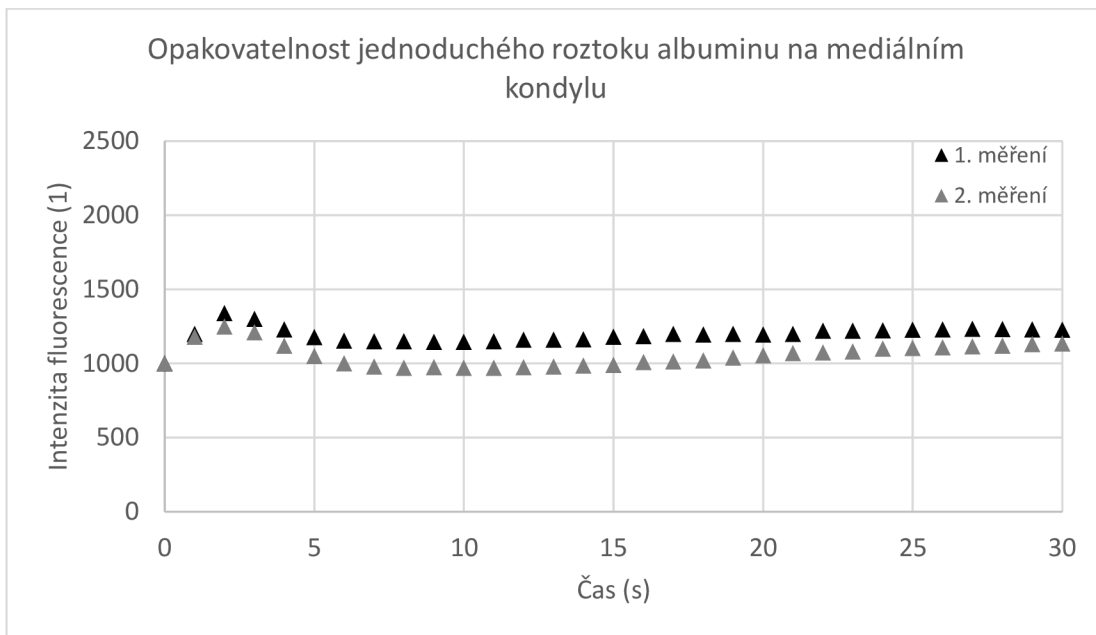


obr. 6.2 Porovnání výsledků experimentálního a numerického přístupu na laterálním kondylu pro studii s minerálními oleji

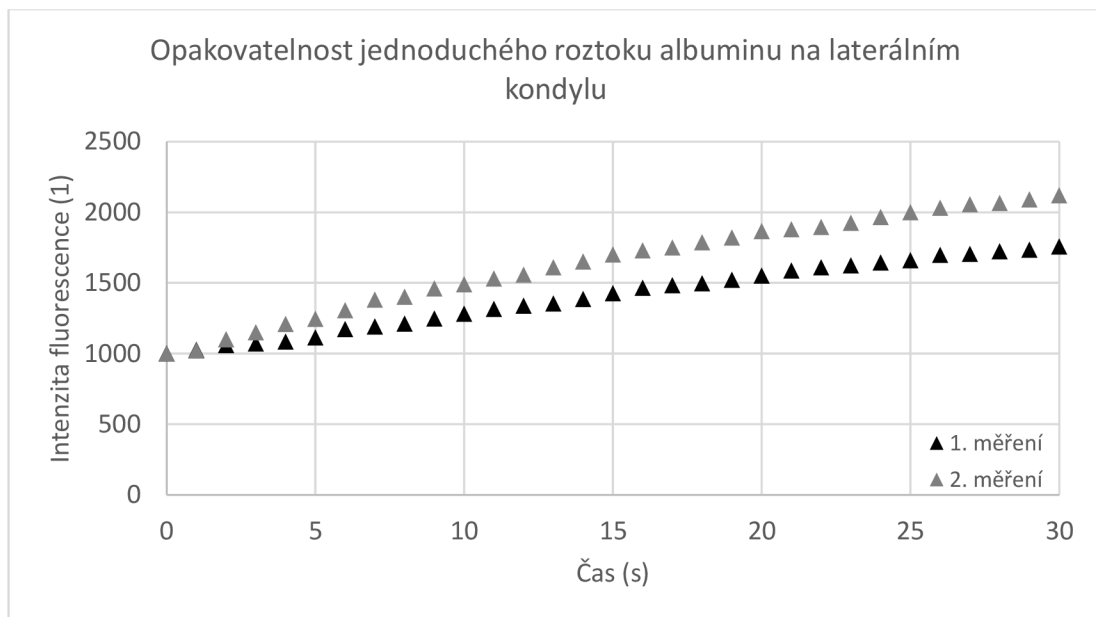
## 6.2 Studie modelových kapalin

### 6.2.1 Vliv složek synoviální kapaliny na chování albuminu

Experimenty s albuminem na kondylu mediálním, viz obr. 5.17, a laterálním, viz obr. 5.27, vykazovaly zcela odlišné chování proteinu. Na mediálním kondylu pravděpodobně dochází ke strhávání proteinových struktur do kontaktu, kde je film roztírán a stlačován vlivem rotace F/E a zatížení. Vzorky obarveného albuminu na mediálním kondylu byly schopny vytvářet slabší, ale stabilnější vrstvu filmu. Na laterálním kondylu albumin dosahoval výrazně vyšší intenzity fluorescence, ovšem hodnoty byly ovlivněny především shlukováním proteinů ve vstupní oblasti kontaktu. Jelikož k pozorování obou kondylů dochází na stejné pozici a při stejných podmínkách cyklu, je zřejmé, že rozhodujícím faktorem je rozdílná konformita kontaktních ploch. Jednoduchý proteinový vzorek albuminu na mediálním kondylu vytváří rovnoměrnou vrstvu s mírným počátečním nárůstem a okamžitým poklesem. Podobné chování tohoto proteinu je pozorováno i ve studii [17] a [32]. Studie [2] ve svých výsledcích rovněž uvádí tento charakter chování definovaný počátečním nárůstem jednoduchého roztoku albuminu, následovaný postupným poklesem. Na laterálním kondylu narůstají hodnoty intenzity u stejného roztoku poměrně lineárně po celou dobu experimentu, což je ve shodě s výsledky studie [16]. V případě obou kondylů vedlo přidání proteinu  $\gamma$ -globulinu k mírnému snížení konečných hodnot intenzity, které však vykazovaly o něco stabilnější charakter. Můžeme tak hovořit o pozitivní interakci proteinů za určitého složení. Práce [16] dále uvádí teorii, podle které je na povrchu nejprve adsorbován  $\gamma$ -globulin, který napomáhá následnému ukládání albuminu a vede tak k celkovému navýšení tloušťky mazacího filmu. Toto chování nebylo možné na základě experimentů s albuminem potvrdit. Rozhodující složkou u vývoje mazacího filmu albuminu byla kyselina hyaluronová. Po jejím přidání na mediálním kondylu došlo k snížení intenzity na poloviční hodnoty a na laterálním kondylu naopak k mírnému nárůstu. V obou případech ale přítomnost této složky podmiňovala stabilní hodnoty intenzity v závislosti na čase po stejnou nebo delší dobu pozorování v porovnání s předchozím vzorkem. Z toho lze vyvodit, že kyselina hyaluronová má kladný dopad na interakce proteinových složek a může být brána jako podpůrný prvek při procesu mazání. Doplnění směsi o fosfolipidy vedlo na laterálním kondylu k posílení charakteru vývoje mazacího filmu stanoveným kyselinou hyaluronovou. Na mediálním kondylu bylo obohacení směsi bez odezvy. Pro zajištění autenticity interpretovaných dat byly experimenty s jednoduchým obarveným albuminem zopakovány na obou kondylech. Výsledky lze vidět na obr. 6.3 a obr. 6.4.



obr. 6.3 Opakovatelnost jednoduchého roztoku albuminu pro mediální kondyl na pozici b



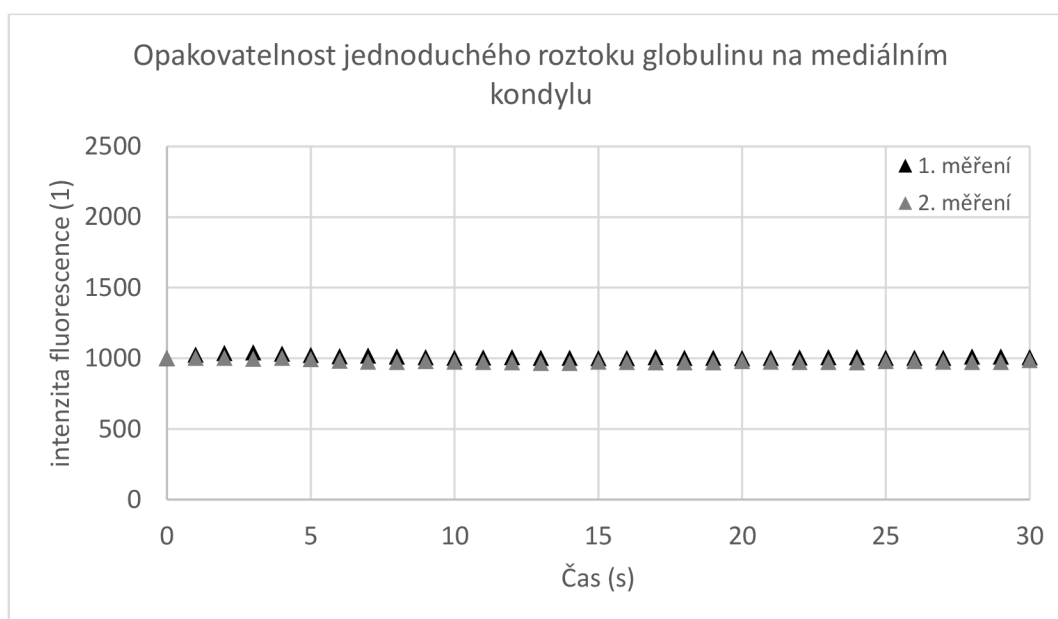
obr. 6.4 Opakovatelnost jednoduchého roztoku albuminu pro laterální kondyl na pozici b

Opakovatelnost byla ověřována vždy s jinou kapalinou totožného složení a za stejných podmínek. Průběh intenzity v závislosti na čase není na obou kondylech zcela shodný, v tomto případě je ovšem směrodatný charakter vývoje mazacího filmu, který zůstává v obou případech zachován.

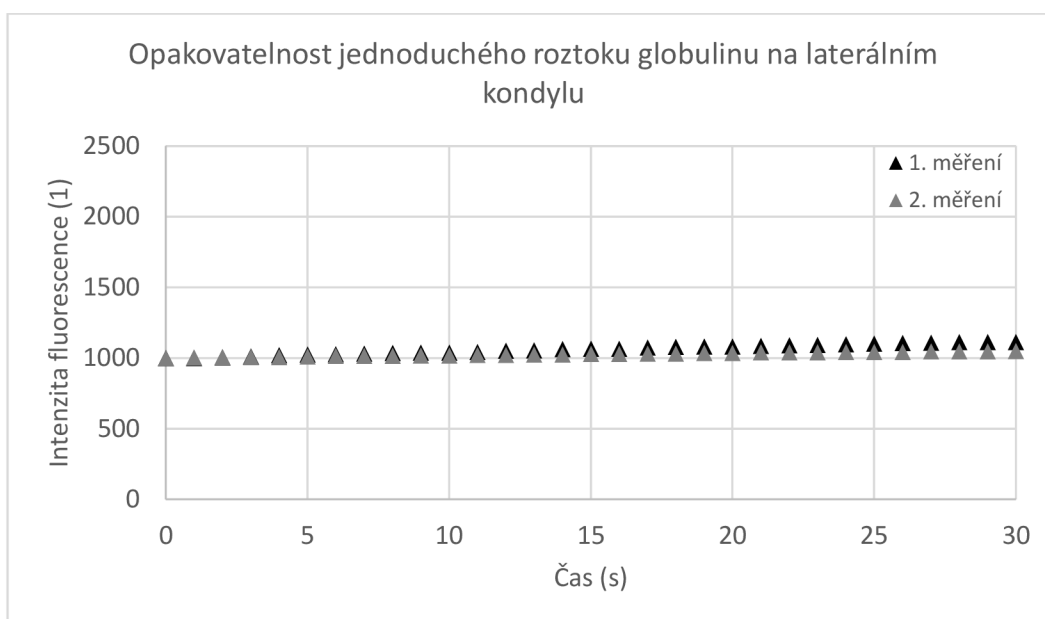
## 6.2.2 Vliv složek synoviální kapaliny na chování $\gamma$ -globulinu

Vliv složek synoviální kapaliny na chování proteinu  $\gamma$ -globulinu jsou uvedeny na obr. 5.19 pro mediální kondyl a obr. 5.29 pro kondyl laterální. Obarvené vzorky  $\gamma$ -globulinu dosahovaly napříč experimenty nejnižších hodnot intenzity. U jednoduchého roztoku  $\gamma$ -globulinu bylo takové chování očekáváno, v dřívějších studiích [16] a [32] i zaznamenáno. Opět byl pozorován rozdíl v chování proteinu na mediálním a laterálním kondylu. Na mediálním kondylu je možné pozorovat rozetřený mazací film jen omezeně a pouze u snímků jednoduchého proteinového roztoku. Na laterálním kondylu znovu identifikujeme kumulaci proteinových struktur ve vstupní oblasti kontaktu. Autoři studie [23] uvádí, že může existovat rozdíl v rychlosti adsorpce mezi jednoduchými a smíšenými proteinovými roztoky. Během testování byl ale spíše pozorován rozdíl v adsorbovaném množství, konkrétně na laterálním kondylu mezi vzorkem č. 5 a 6. Na tomto kondylu dokonce samostatný  $\gamma$ -globulin vytvářel o něco málo silnější mazací film než při následné kombinaci s albuminem.

Při zhodnocení výsledků albuminu a  $\gamma$ -globulinu lze vyvodit, že z přirozené interakce proteinů kladně těží pouze albumin. Přínos  $\gamma$ -globulinu zůstává z krátkodobého hlediska zanedbán. Schopnosti  $\gamma$ -globulinu nejsou nijak výrazně ovlivněny ani smícháním s kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy. Potvrzuje se tak jeden ze závěrů uvedených ve studii [2], který hovoří o velmi omezených mazacích schopnostech  $\gamma$ -globulinu. Opakovatelnost jednoduchého roztoku obarveného  $\gamma$ -globulinu, viz obr. 6.5 a obr. 6.6, ukazuje velmi dobrou shodu na obou kondylech. Hodnoty intenzity mezi vzájemným měřením jsou téměř totožné včetně drobných výkyvů mezi 5. až 20. cyklem na mediálním kondylu a 18. až 30. cyklem na laterálním kondylu. Experimenty byly rovněž provedeny s jinou kapalinou za stejných podmínek a odpovídajícího složení.



obr. 6.5 Opakovatelnost jednoduchého roztoku globulinu pro mediální kondyl na pozici b



obr. 6.6 Opakovatelnost jednoduchého roztoku globulinu pro laterální kondyl na pozici *b*

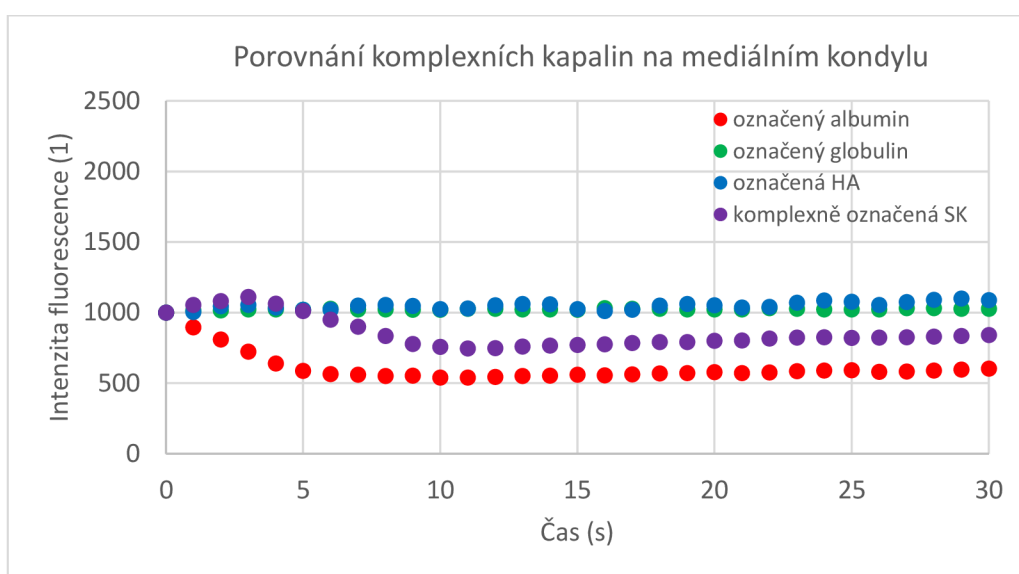
### 6.2.3 Vliv složek synoviální kapaliny na chování kyseliny hyaluronové

Z výsledků experimentů s obarvenou kyselinou hyaluronovou uvedených na obr. 5.21 a obr. 5.31 a experimentů s proteiny vyplývá, že HA sama o sobě není odpovědnou složkou za tloušťku mazacího filmu, ale při kombinaci komplexně složené kapaliny je důležitým faktorem přispívajícím ke zlepšení mazacích schopností. Během testování na mediálním kondylu byl poněkud překvapivě vytvořen nejsilnější mazací film vzorkem č. 9 obsahující pouze HA a fosfolipidy a jako jediný vzorek ze série experimentů na tomto kondylu byl schopen zobrazit rozetřený mazací film po kontaktní oblasti. Určitý nárůst hodnot byl pozorován ještě u vzorku č. 10 (obsahující HA, albumin a fosfolipidy) na laterálním kondylu v první třetině experimentu. Ve zbylé části dochází k postupnému poklesu až na počáteční hodnoty. Všechny zbylé experimenty se vyznačují velmi stabilní závislostí intenzity na čase. Pozici kyseliny hyaluronové jako účinného maziva není stále možné zcela definovat, ale je zřejmé, že u komplexně složených kapalin má pozitivní dopad na zlepšení mazacích schopností, což je v souladu s tvrzením autorů studií [17] a [32].

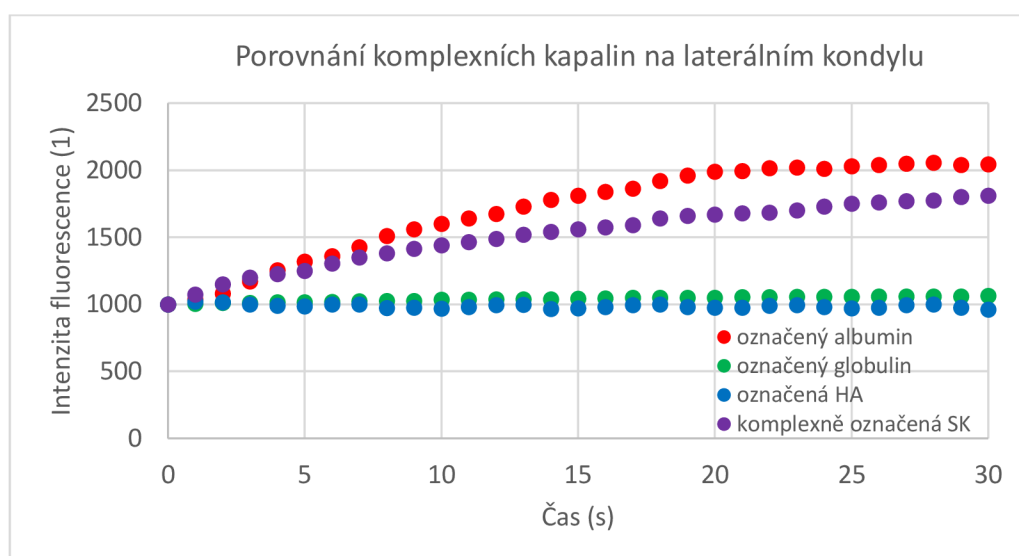
### 6.2.4 Porovnání komplexních kapalin podle obarvené složky

Poslední vzorek u každé série experimentů podle obarvené složky reprezentoval složením komplexní kapalinu (vzorky č. 4, 8 a 12). Výsledky těchto experimentů byly porovnány se vzorkem č. 13, viz obr. 6.7 a obr. 6.8, u kterého byly komplexně obarveny složky albuminu,  $\gamma$ -globulinu a kyseliny hyaluronové.

Nejnižší hodnoty na mediálním a zároveň nejvyšší hodnoty na laterálním kondylu byly naměřeny pro komplexní kapalinu s označeným albuminem. Závislost intenzity na čase u označeného  $\gamma$ -globulinu zůstává na obou kondylech neměnná. Průběh komplexní kapaliny s označenou kyselinou hyaluronovou je v případě mediálního kondylu mírně nad počáteční normovanou hodnotou a v případě laterálního kondylu naopak pod touto hranicí. Komplexně obarvená kapalina vykazovala podobné průběhy hodnot na obou kondylech jaké byly pozorovány u komplexní kapaliny s označeným albuminem. Komplexně obarvená kapalina překvapivě vykazuje o něco nižší hodnoty intenzity navzdory většímu podílu obarvených složek. Tento rozdíl je způsoben vzájemnou interakcí fluorescenčních markerů, kdy je emisní vlnová délka jednoho barviva podobná vlnové délce excitace jiného barviva. V takovém případě je emitované světlo částečně spotřebováno pro excitaci jiného barviva a výsledkem je celkově nižší emitovaná intenzita [32].



obr. 6.7 Porovnání komplexně složených kapalin podle obarvené složky na mediálním kondylu



obr. 6.8 Porovnání komplexně složených kapalin podle obarvené složky na laterálním kondylu

Mechanismus tvorby mazacího filmu v kolenních náhradách s ohledem na reálnou geometrii implantátu, komplexní složení synoviální kapaliny a podmínky respektující testovací normu nebyl dosud definován. Výsledky této práce potvrzují teorii o silné adsorpci jemné vrstvy  $\gamma$ -globulinu na povrchu, na které ve velmi krátké době dochází k usazování molekul albuminu, což má za následek navýšení tloušťky mazacího filmu [16], [32]. Vzájemná interakce proteinů je výrazně podpořena kyselinou hyaluronovou a není vyloučeno, že může docházet k prvotnímu ulpívání na povrchu společně s  $\gamma$ -globulinem, odkud následnou reakcí a pozicí  $\gamma$ -globulinu posiluje. Z výsledků nejsme schopni vymezit konkrétní funkci fosfolipidů, avšak je patrné, že komplexní složení synoviální kapaliny je nezbytné k zajištění dobrých mazacích podmínek a absence jakékoliv ze složek může podmiňovat snížení celkové tloušťky mazacího filmu.

### 6.2.5 Vliv podmínek experimentu a konformity kontaktu

Zatímco složení synoviální kapaliny se zdá být rozhodujícím faktorem při vytváření mazacího filmu, je zřejmé, že mazací výkon implantátů je spojen s podmínkami uvnitř náhrady. Mnoho studií je věnováno vlivu konformity na mazací proces, autoři [11] a [12] se shodují, že kontakt s příčně delší osou vykazuje lepší schopnost tvorby mazacího filmu než kontakt kruhový, nicméně tvrzení jsou založena na testování s oleji. Během experimentů se synoviální kapalinou je na mediálním kondylu pozorován pravidelný kruhový kontakt, který má po kontaktní oblasti rovnoměrně rozetřený mazací film. Při dlouhodobém pozorování si lze všimnout, že ačkoliv nedosahuje takových intenzit jako kontakt na laterálním kondylu, vytvořený mazací film se v kontaktu lépe udržuje. Hodnoty, kterých vzorek č. 13 na mediálním kondylu dosáhne během prvního experimentu poklesnou do 150. cyklu jen velmi málo (z 790 na 615). Naproti tomu intenzita na laterálním kondylu je vyzařována především proteinovými shluky nahromaděnými ve vstupní části kontaktu, který vykazuje nepatrný eliptický tvar s mírně delší příčnou osou. Vezmeme-li v potaz opět dlouhodobé pozorování, maximální intenzita dosažená v případě laterálního kondylu, na počátku druhého experimentu, velmi výrazně klesá z hodnoty 1960 až na konečných 1190. Z tohoto hlediska se zdá být konformita na mediálním kondylu vyšší. Práce [20] poukazuje na vliv narůstající deformace tibiální vložky, což zlepšuje konformitu povrchů a může vést k lepší tvorbě filmu, přičemž studie [26] prokazuje, že na mediálním kondylu dochází k opotřebení mnohem rychleji než na kondylu laterálním. Z výsledků opakovatelnosti minerálního oleje, viz obr. 5.15 a obr. 5.16, můžeme tuto teorii potvrdit i pro ostatní pozice (kromě pozice *a*, kdy dochází vlivem geometrie k přenosu podstatné části zatížení pouze na mediální kondyl). Mediální kondyl během testů s minerálním olejem vykazoval opakovaně mírně tlustší mazací film než kondyl laterální. Konformita kontaktu se ve srovnání se zatížením a rotačním pohybem, coby podmínkami ovlivňujícími mazací výkon, jeví jako dominantní faktor.

## 7 ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývala experimentální analýzou mazání náhrady kolenního kloubu při uvažování reálné geometrie implantátu. Pozorování procesu mazání probíhalo na simulátoru kolenního kloubu pomocí fluorescenční mikroskopie, kdy vývoj intenzity fluorescence v závislosti na čase vyjadřuje bezrozměrný parametr tloušťky mazacího filmu. Mimo studie obarvené synoviální kapaliny, u které je pozorován přínos jednotlivých složek jsou v práci uvedené výsledky experimentů s minerálním olejem mapující migraci kontaktní oblasti v průběhu cyklu a transformaci jejího tvaru. Tyto experimenty dále umožnily porovnání s numerickým modelem, který vznikl v kooperaci s Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Při experimentech bylo aplikováno proměnlivé axiální zatížení a kinematické podmínky odpovídající předepsané normě pro testování kolenních náhrad. Pro vzorek komplexně obarvené synoviální kapaliny bylo na obou kondylech dále provedeno dlouhodobé pozorování vývoje mazacího filmu. Nejdůležitější poznatky vyplývající z provedených experimentů lze shrnout do několika bodů:

- Výsledky experimentálního pozorování jsou v dobré shodě s komplexním numerickým modelem. Z toho vyplývá, že řízení simulátoru, aplikované podmínky a metodologie měření jsou v souladu s teoretickými předpoklady, a měření tak poskytuje relevantní výsledky.
- Mezi proteiny je potvrzena interakce, která hraje zásadní roli při navyšování celkové tloušťky filmu, jenž se skládá především z albuminu. Protein  $\gamma$ -globulin vykazuje rychlejší schopnost adsorpce na povrchu, kde vytváří tenkou stabilní vrstvu umožňující následné ulpívání molekul albuminu.
- Kyselina hyaluronová a fosfolipidy jsou neméně důležitými složkami při procesu mazání synoviální kapaliny, přičemž jejich vliv je výraznější ve vztahu k albuminu. Tyto složky hrají roli určité výztuhy proteinového filmu, přičemž se předpokládá, že rovněž pozitivně ovlivňují tření v kontaktu. Pro potvrzení této hypotézy by však bylo třeba provést nezávislá měření.
- Mezi mediálním a laterálním kondylem je pozorován značný rozdíl konformity stykových ploch, který má společně se zatížením a kinematikou náhrady prokazatelný dopad na tloušťku mazacího filmu a v konečném důsledku může ovlivňovat i chování synoviální kapaliny, a tedy i životnosti implantátu.
- Dlouhodobější testy ukázaly, že mazací film s narůstajícím časem klesá, což má zcela jistě negativní dopad na opotřebení implantátu. Při snaze prodloužit životnost implantátu je tedy jednou z cest pravidelné střídání chůze a odlehčení implantátu, kdy dochází k částečné obnově filmu na rozhraní stykových ploch.



Výsledky této práce mohou výrazným způsobem přispět v budoucím vývoji kolenních náhrad, který se zaměřuje zejména na prodloužení životnosti implantátů. Poznatky diplomové práce by bylo vhodné rozšířit výzkumem mapující celkový pohyb kontaktu po tibiálním plató v závislosti na geometrii femorálních kondylů a určit rozsah změn konformity v rámci cyklu i pro uvažované proteinové roztoky. Co se týče podmínek cyklu, jsou při současné konfiguraci simulátoru zohledněny důležité složky jako proměnlivé zatížení AX a rotace F/E, nicméně bylo by zajímavé do cyklu zanechat kromě A/P pohybu i vnitřní a vnější rotaci tibiální vložky. Při krátkodobých experimentech se metoda pozorování pomocí fluorescenční mikroskopie osvědčuje, avšak při dlouhodobém testování nejsme schopni zabránit postupnému vysvícení maziva. Budoucí inovace by tak mohla být směřována k podstatnému navýšení kapacity kamery, která by několikaminutové testování dokázala zachytit v rámci jednoho experimentu.

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] OECD INDICATORS. *Health at a Glance 2017*. 2017. ISBN 9789264280397.
- [2] NEČAS et al. Observation of lubrication mechanisms in knee replacement: A pilot study. *Biotribology* [online]. 2019a, **17**, s. 1-7. ISSN 2352-5738. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352573818300416>
- [3] SHIGLEY, J. E., Ch. R. MISCHKE a R. G. BUDYNAS. *Konstruování strojních součástí*. Brno: VUTIUM, 2010. ISBN 9788021426290.
- [4] PECLOVÁ, J. *Vliv rehabilitace u pacientů mužů po totální endoprotéze kolenního kloubu*. Brno: Masarykova Univerzita, Lékařská fakulta, 2015. Vedoucí diplomové práce Mgr. Silvie Zendulková.
- [5] UNIVERSITY OF MISSOURI. Knee Parts and Materials. Muhealth.org [online]. ©2019 [cit. 2019-03-20]. Dostupné z: <https://www.muhealth.org/conditions-treatments/orthopaedics/knee-pain/knee-replacement-surgery/knee-parts-and-materials>
- [6] BOSÁK, D. *Mapování tloušťky mazacího filmu u náhrad velkých kloubů člověka*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2012, 66 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Martin Vrbka, Ph.D.
- [7] MATTEI et al. Lubrication and wear modelling of artificial hip joints: A review. *Tribology International* [online]. 2011, **44**, s. 532-549. ISSN 0301-679X. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301679X10001647>
- [8] ACCARDI, M. A., D. DINI a M. CANN. Experimental and numerical investigation of the behaviour of articular cartilage under shear loading–Interstitial fluid pressurisation and lubrication mechanisms. *Tribology International* [online]. 2011, **44**, s. 565-578. ISSN 0301-679X. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301679X10002239>
- [9] TKADLEC, T. *Analýza mazání TEP kyčle s využitím fluorescenční mikroskopie*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2018, 67 s. Vedoucí diplomové práce Ing. David Nečas Ph.D.
- [10] TANDON, P.N. a S. JAGGI. A model for the lubrication mechanism in knee joint replacements. *Wear* [online]. 1979, **52** (2), s. 275-284. ISSN 0043-1648. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0043164879900681>
- [11] JIN et al. Prediction of transient lubricating film thickness in knee prostheses with compliant layers. *Proceeding of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* [online]. 1998, **212**, s. 157-164. ISSN 0954-4119. Dostupné z: [https://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=WOS&search\\_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=E1Y1NGoOC6pDtNE3teL&page=1&doc=7](https://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=E1Y1NGoOC6pDtNE3teL&page=1&doc=7)

- [12] OHTSUKI et al. Influence of Geometry of Conjunction on Elastohydrodynamic Film Formation in Knee Prostheses with Compliant Layer. *Tribology Series* [online]. 1997, **32**, s. 349-359. ISSN 0167-8922. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167892208704644>
- [13] MONGKOLWONGROJN M., WONGSEEDAKAEW K. a KENNEDY F. Transient elastohydrodynamic lubrication in artificial knee joint with non-Newtonian fluids. *Tribology International* [online]. 2010, **43**, s. 1017-1026. ISSN 0301-679X. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301679X09003788>
- [14] SU et al. Time-dependent elastohydrodynamic lubrication analysis of total knee replacement under walking conditions. *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* [online]. 2011, **14**, (6), s. 539-548. ISSN 1025-5842. Dostupné z: [https://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=WOS&search\\_mode=GeneralSearch&qid=7&SID=E1Y1NGoOC6pDtNE3teL&page=1&doc=6](https://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=7&SID=E1Y1NGoOC6pDtNE3teL&page=1&doc=6)
- [15] KENNEDY et al. Tribological conditions in mobile bearing total knee prostheses. *Tribology International* [online]. 2013, **63**, s. 78-88. ISSN 0301-679X. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301679X12001089>
- [16] NEČAS et al. The effect of lubricant constituents on lubrication mechanisms in hip joint replacements. *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials* [online]. 2016, **55**, s. 295-307. ISSN 1751-6161. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616115004245>
- [17] NEČAS et al. In situ observation of lubricant film formation in THR considering real conformity: The effect of model synovial fluid composition. *Tribology International* [online]. 2018, **117**, s. 206-216. ISSN 0301-679X. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301679X17304164>
- [18] MYANT et al. Lubrication of metal-on-metal hip joints: The effect of protein content and load on film formation and wear. *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Material* [online]. 2012, **6**, s. 30-40. ISSN 1751-6161. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616111002426>
- [19] MURAKAMI et al. The Adaptive Multimode Lubrication in Knee Prostheses with Artificial Cartilage during Walking. *Tribology Series* [online]. 1997, **32**, s. 371-382. ISSN 0167-8922. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167892208704668>
- [20] MURAKAMI, T. a N. OHTSUKI. Paper XII(iii) Lubricating film formation in knee prostheses under walking conditions. *Tribology Series* [online]. 1987, **11**, s. 387-392. ISSN 0167-8922. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167892208709684>

- [21] PARK et al. Role of hyaluronic acid and phospholipid in the lubrication of a cobalt-chromium head for total hip arthroplasty. *Biointerphases* [online]. 2014, **9**, s. 031007-(1-7). ISSN 1934-8630. Dostupné z: [http://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=WOS&search\\_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=D2vkQ6eDjiVU3LhUuPI&page=1&doc=1](http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=D2vkQ6eDjiVU3LhUuPI&page=1&doc=1)
- [22] ISO 14243-3. *Implants for surgery – Wear of total knee-joint prostheses – Part 3: Loading and displacement parameters for wear-testing machines with displacement control and corresponding environmental conditions for test*. 2. vyd. Geneva: International Organization for Standardization, 2014.
- [23] PARKES et al. Synovial fluid Lubrication: The effect of Protein Interactions on Adsorbed and Lubricating Films. *Biotribology* [online]. 2015, **1-2**, s. 51-60. ISSN 2352-5738. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352573815000086>
- [24] POLNICKÝ, V. *Konstrukce simulátoru kolenního kloubu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2017, 82 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Martin Vrbka, Ph.D.
- [25] PASCAU et al. Knee model of hydrodynamic lubrication during the gait cycle and the influence of prosthetic joint conformity. *Journal of Orthopaedic Science* [online]. 2009, **14**, s. 68-75. ISSN 0949-2658. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0949265815321734>
- [26] GAO et al. Elastohydrodynamic lubrication and wear modelling of the knee joint replacements with surface topography. *Biosurface and Biotribology* [online]. 2018, **4**, s. 18-23. ISSN 2405-4518. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/325330349\\_Elastohydrodynamic\\_lubrication\\_and\\_wear\\_modelling\\_of\\_the\\_knee\\_joint\\_replacements\\_with\\_surface\\_topography](https://www.researchgate.net/publication/325330349_Elastohydrodynamic_lubrication_and_wear_modelling_of_the_knee_joint_replacements_with_surface_topography)
- [27] HUDÁK, R. a kol. *MEMORIX ANATOMIE*. Praha: TRITON, 2013. ISBN 978-80-7387-674-6.
- [28] HORŇÁKOVÁ, L. *Biomechanická odpověď menisků kolenního kloubu při působení axiálního zatížení*. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Fakulta tělesné výchovy a sportu, 2018, 103 s. Vedoucí disertační práce doc. PaedDr. Karel Jelen, Csc.
- [29] GALANDÁKOVÁ et al. Characteristics of synovial fluid required for optimization of lubrication fluid for biotribological experiments. *Journal of biomedical materials* [online]. 2017, **6**, s. 1422-1431. ISSN 1552-4973. Dostupné z: [http://apps.webofknowledge.com/full\\_record.do?product=WOS&search\\_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=D6S1eL2pHCoD8QijrC&page=1&doc=3](http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=D6S1eL2pHCoD8QijrC&page=1&doc=3)
- [30] SIMONEAU, G. Kinesiology of Walking. In: *Clinicalgate* [online]. Mar 18, 2015 [cit. 2020-02-06]. Dostupné z: <https://clinicalgate.com/kinesiology-of-walking/>

- [31] SHU et al. Symmetrical cruciate-retaining versus medial pivot prostheses: The effect of intercondylar sagittal conformity on knee kinematics and contact mechanics. *Computers in Biology and Medicine* [online]. 2019, **108**, s. 101-110. ISSN 0010-4825. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0010482519300770>
- [32] NEČAS et al. On the observation of lubrication mechanisms within hip joint replacements. Part I: Hard-on-soft bearing pairs. *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials* [online]. 2019b, **89**, s. 237-248. ISSN 1751-6161. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616118310282>
- [33] VAŠÍČEK, D. *Fluorescenční zobrazovací techniky v multimodálním holografickém mikroskopu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2014, s. 82. Vedoucí diplomové práce Ing. Jana Čolláková.

## 9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK, SYMBOLŮ A VELIČIN

<i>A</i>	parametr mazání
$\mu$	součinitel tření
<i>v</i>	Poissonova konstanta
<i>AFM</i>	mikroskopie atomárních sil
<i>AP</i>	anterior – posterior
<i>AX</i>	axiální zatížení
<i>BS</i>	hovězí sérum
<i>BW</i>	body weight
<i>FE</i>	flexe – extenze
<i>fps</i>	frame per second (počet snímků za sekundu)
<i>HA</i>	kyselina hyaluronová
<i>HD, EHD</i>	hydrodynamický a elastohydrodynamický režim mazání
<i>IE</i>	internal – external
<i>MKP</i>	metoda konečných prvků
<i>PBS</i>	fyzilogický roztok
<i>PMMA</i>	polymethylmethakrylát
<i>PVA</i>	polyvinylalkohol
<i>SDS</i>	sodiumdodecylsulfát
<i>UHMWPE</i>	vysokomolekulární polyethylen
<i>Hz</i>	hertz – jednotka frekvence
<i>mg</i>	miligram – jednotka hmotnosti
<i>ml</i>	mililitr – jednotka objemu
<i>mm, <math>\mu</math>m, nm</i>	milimetr, mikrometr, nanometr – jednotky délky
<i>mm<sup>2</sup></i>	milimetr čtvereční – jednotka obsahu

<i>N, kN</i>	newton, kilonewton – jednotky síly
<i>Pa, MPa, GPa</i>	pascal, megapascal, gigapascal – jednotky tlaku
<i>s</i>	sekunda – jednotka času
°	úhlový stupeň – jednotka natočení
°C	stupeň Celsia – jednotka teploty

## 10 SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ

<b>obr. 2.1</b> Stribeckova křivka [3].....	14
<b>obr. 2.2</b> Roviny lidského těla [27].....	15
<b>obr. 2.3</b> Otevřený pravý a levý kolenní kloub [27]; (1.1) jamka – patela; (1.2) hlavice; (2.1) mediální kondyly femuru; (2.2) mediální kondyly tibie; (3.1) laterální kondyly femuru; (3.2) laterální kondyly tibie.....	16
<b>obr. 2.4</b> Pravý kolenní kloub, pohled shora [27]; (1) mediální meniskus; (2) laterální meniskus; (3) nitrokloubní vaz – spojuje ventrálně menisky; (4) přední zkřížený vaz – LCA; (5) zadní zkřížený vaz – LCP; (6) slabé vazy kolem zadního zkříženého vazy; (7) postranní vazy; (8) přední vaz – úpon přes čěšku .....	17
<b>obr. 2.5</b> Skladba komponent totální endoprotézy kolenního kloubu [5].....	18
<b>obr. 2.6</b> Fáze jednoho cyklu chůze [30].....	20
<b>obr. 2.7</b> Změna únosnosti s nárůstem viskoelastického parametru [10] .....	22
<b>obr. 2.8</b> Predikce vývoje tloušťky mazacího filmu pro různé tvary geometrie kontaktu [11] .....	25
<b>obr. 2.9</b> Vývoj maximálních tlaků podle indexu konformity [25].....	26
<b>obr. 2.10</b> Vývoj minimální tloušťky mazacího filmu během prvního cyklu pro umělý kolenní kloub [13] .....	27
<b>obr. 2.11</b> Predikce vývoje hydrodynamického tlaku při změně délky doby cyklu [14]....	28
<b>obr. 2.12</b> Predikce vývoje hydrodynamického tlaku při změně poměru poloměrů [14] ...	28
<b>obr. 2.13</b> Minimální tloušťka mazacího filmu během druhého cyklu chůze [15] .....	29
<b>obr. 2.14</b> Opotřebení jednotlivých kondylů v průběhu dvou milionů cyklů.....	30
<b>obr. 2.15</b> Vývoj tlaku a minimální tloušťky filmu při prvním a posledním cyklu experimentu [26] .....	31
<b>obr. 2.16</b> Průběh kontaktních tlaků na mediálním a laterálním kondylu tří různých náhrad při rozdílných kinematických a zátěžných podmínkách [31] .....	32
<b>obr. 2.17</b> Závislost tloušťky filmu na rychlosti u jednotlivých vzorků [18].....	33
<b>obr. 2.18</b> Hodnoty koeficientů tření pro různé koncentrace HA [21].....	34
<b>obr. 2.19</b> Vývoj tloušťky filmu a intenzity fluorescence označených proteinů za podmínek odvalování při rychlosti (a) 5,7 a (b) 22 mm/s [16] .....	34
<b>obr. 2.20</b> Tloušťky filmů jednotlivých vzorků s oběma hodnotami pH [23].....	35



<b>obr. 2.21</b> Hodnoty tloušťky filmů ze tří testů pro smíšené proteinové roztoky pro obě hodnoty pH [23] .....	36
<b>obr. 2.22</b> Tloušťky adsorbovaných filmů modelových kapalin v závislosti na čase [17] .	37
<b>obr. 2.23</b> Vývoj intenzity fluorescence u komplexně složených kapalin [32].....	38
<b>obr. 2.24</b> Kolenní simulátor s detailem kontaktní dvojice [2].....	39
<b>obr. 2.25</b> Tloušťky mazacích filmů jednoduchých proteinových roztoků a jejich směsí [2] .....	40
<b>obr. 4.1</b> Schéma postupu řešení .....	44
<b>obr. 4.2</b> Simulátor kolenního kloubu.....	45
<b>obr. 4.3</b> Stokesův posun .....	46
<b>obr. 4.4</b> Schéma fluorescenčního mikroskopu pro pozorování kontaktní oblasti .....	46
<b>obr. 4.5</b> Model femorální komponenty .....	47
<b>obr. 4.6</b> Upravená tibiální vložka .....	47
<b>obr. 4.7</b> Testovací podmínky pro kolenní náhrady podle ISO 14243-3.....	50
<b>obr. 4.8</b> Schéma zatížení a kinematiky kolenní náhrady na kolenním simulátoru [2] .....	50
<b>obr. 5.1</b> Výsledky MKP analýzy kontaktního tlaku a oblasti pod laterálním a mediálním kondylem .....	54
<b>obr. 5.2</b> Odezva rotace F/E a translace A/P při frekvenci 1 Hz na snímači axiální síly ....	54
<b>obr. 5.3</b> Průběh experimentálního axiálního zatížení.....	55
<b>obr. 5.4</b> Sledovací pozice pro testy s minerálními oleji .....	56
<b>obr. 5.5</b> Snímky pozice <i>a</i> pro mediální a laterální kondyl.....	57
<b>obr. 5.6</b> Stromečková struktura vznikající za kontaktní oblastí <i>a</i> laterálního kondylu .....	58
<b>obr. 5.7</b> Snímky pozice <i>b</i> pro mediální a laterální kondyl.....	58
<b>obr. 5.8</b> Vývoj kontaktní oblasti během jednoho cyklu pod laterálním kondylem u sledovací pozice <i>b</i> .....	59
<b>obr. 5.9</b> Snímky pozice <i>c</i> pro mediální a laterální kondyl .....	59
<b>obr. 5.10</b> Snímky pozice <i>d</i> pro mediální a laterální kondyl .....	60
<b>obr. 5.11</b> Přesun kontaktní oblasti během jednoho cyklu pod laterálním kondylem do sledovací pozice <i>d</i> .....	61
<b>obr. 5.12</b> Snímky pozice <i>e</i> pro mediální a laterální kondyl .....	61
<b>obr. 5.13</b> Snímky pozice <i>f</i> pro mediální a laterální kondyl.....	62

<b>obr. 5.14</b> Vývoj kontaktní oblasti pod laterálním kondylem na konci cyklu při sledovací pozici <i>f</i> .....	63
<b>obr. 5.15</b> Vývoj tloušťky mazacího filmu pod mediálním kondylem pro všechny sledovací pozice .....	63
<b>obr. 5.16</b> Vývoj tloušťky mazacího filmu pod laterálním kondylem pro všechny sledovací pozice .....	64
<b>obr. 5.17</b> Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků albuminu pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> .....	66
<b>obr. 5.18</b> Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků albuminu pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> .....	66
<b>obr. 5.19</b> Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků globulinu pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> .....	67
<b>obr. 5.20</b> Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků globulinu pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> .....	68
<b>obr. 5.21</b> Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků HA pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> .....	69
<b>obr. 5.22</b> Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků HA pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> .....	69
<b>obr. 5.23</b> Závislost intenzity na čase u komplexně obarvené synoviální kapaliny pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> .....	70
<b>obr. 5.24</b> Snímky kontaktní oblasti komplexně obarvené synoviální kapaliny pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> .....	70
<b>obr. 5.25</b> Závislost intenzity na čase u komplexně obarvené synoviální kapaliny pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> při dlouhodobém pozorování .....	72
<b>obr. 5.26</b> Snímky kontaktní oblasti komplexně obarvené synoviální kapaliny pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> při dlouhodobém pozorování.....	72
<b>obr. 5.27</b> Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků albuminu pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> .....	73
<b>obr. 5.28</b> Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků albuminu pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> .....	74
<b>obr. 5.29</b> Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků globulinu pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> .....	75
<b>obr. 5.30</b> Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků globulinu pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> .....	75

<b>obr. 5.31</b> Závislost intenzity na čase u obarvených vzorků HA pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> .....	76
<b>obr. 5.32</b> Snímky kontaktních oblastí obarvených vzorků HA pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> .....	77
<b>obr. 5.33</b> Závislost intenzity na čase u komplexně obarvené synoviální kapaliny pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> .....	78
<b>obr. 5.34</b> Snímky kontaktní oblasti komplexně obarvené synoviální kapaliny pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> .....	78
<b>obr. 5.35</b> Závislost intenzity na čase u komplexně obarvené synoviální kapaliny pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> při dlouhodobém pozorování .....	79
<b>obr. 5.36</b> Snímky kontaktní oblasti komplexně obarvené synoviální kapaliny pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> při dlouhodobém pozorování .....	79
<b>obr. 6.1</b> Porovnání výsledků experimentálního a numerického přístupu na mediálním kondylu pro studii s minerálními oleji .....	81
<b>obr. 6.2</b> Porovnání výsledků experimentálního a numerického přístupu na laterálním kondylu pro studii s minerálními oleji .....	81
<b>obr. 6.3</b> Opakovatelnost jednoduchého roztoku albuminu pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> .....	83
<b>obr. 6.4</b> Opakovatelnost jednoduchého roztoku albuminu pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> .....	83
<b>obr. 6.5</b> Opakovatelnost jednoduchého roztoku globulinu pro mediální kondyl na pozici <i>b</i> .....	84
<b>obr. 6.6</b> Opakovatelnost jednoduchého roztoku globulinu pro laterální kondyl na pozici <i>b</i> .....	85
<b>obr. 6.7</b> Porovnání komplexně složených kapalin podle obarvené složky na mediálním kondylu .....	86
<b>obr. 6.8</b> Porovnání komplexně složených kapalin podle obarvené složky na laterálním kondylu .....	86

## 11 SEZNAM TABULEK

<b>tab. 4.1</b> Průměrná koncentrace složek synoviální kapaliny ve zdravém a nemocném kloubu .....	48
<b>tab. 4.2</b> Složení modelových kapalin.....	49
<b>tab. 5.1</b> Porovnání výsledků kontaktních tlaků a oblastí .....	53
<b>tab. 5.2</b> Přehled sledovacích pozic podle průběhu cyklu.....	56

## 12 SEZNAM PŘÍLOH

### **Příloha č. 1**

Článek: *Towards the Understanding of Lubrication Mechanisms in Total Knee Replacements – Part 1: Experimental Investigation*