



**VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ**

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

**FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ**

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

**ÚSTAV KONSTRUOVÁNÍ**

INSTITUTE OF MACHINE AND INDUSTRIAL DESIGN

**ANALÝZA MAZÁNÍ TEP KYČLE S VYUŽITÍM  
FLUORESCENČNÍ MIKROSKOPIE**

ANALYSIS OF THR LUBRICATION WITH THE USE OF FLUORESCENT MICROSCOPY

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

MASTER'S THESIS

**AUTOR PRÁCE**

AUTHOR

**Bc. Tadeáš Tkadlec**

**VEDOUČÍ PRÁCE**

SUPERVISOR

**Ing. David Nečas, Ph.D.**

**BRNO 2018**





# Zadání diplomové práce

Ústav: Ústav konstruování  
Student: **Bc. Tadeáš Tkadlec**  
Studijní program: Strojní inženýrství  
Studijní obor: Konstrukční inženýrství  
Vedoucí práce: **Ing. David Nečas, Ph.D.**  
Akademický rok: 2017/18

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:

## **Analýza mazání TEP kyčle s využitím fluorescenční mikroskopie**

### **Stručná charakteristika problematiky úkolu:**

Tribologické procesy v kloubních náhradách zásadně ovlivňují správnou funkčnost a v konečném důsledku i životnost implantátu. Doposud se přitom nepodařilo objasnit, jaká je role jednotlivých proteinů obsažených v synoviální kapalině na procesy mazání při uvažování reálné geometrie třecích povrchů. Tato znalost může výrazně přispět k dalšímu vývoji náhrad při snaze zabránit jejich selhávání a následné nutnosti revizních operací.

Typ práce: výzkumná

Projekt: specifický vysokoškolský výzkum

### **Cíle diplomové práce:**

Hlavním cílem práce je objasnit proces utváření mazacího filmu v náhradách kyčelního kloubu při uvažování reálné geometrie třecích povrchů se zaměřením na roli jednotlivých proteinů obsažených v synoviální kapalině.

Dílčí cíle diplomové práce:

- odladit metodiku hodnocení formování mazacího filmu s využitím fluorescenční mikroskopie při uvažování reálné konformity povrchů,
- vytvořit různé modelové kapaliny umožňující stanovit vliv jednotlivých obsažených složek na mazací procesy,
- experimentálně popsat vývoj mazacího filmu v kontaktu kyčelní náhrady,
- posoudit vliv konformity kontaktu na procesy mazání.

Požadované výstupy: publikace, průvodní zpráva.

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

Struktura práce a šablona průvodní zprávy jsou závazné:

[http://dokumenty.uk.fme.vutbr.cz/BP\\_DP/Zasady\\_VSKP\\_2018.pdf](http://dokumenty.uk.fme.vutbr.cz/BP_DP/Zasady_VSKP_2018.pdf)

### **Seznam doporučené literatury:**

MYANT, Connor, Tom REDDYHOFF a Hugh A. SPIKES. Laser-induced fluorescence for film thickness mapping in pure sliding lubricated, compliant, contacts. *Tribology International*, 2010, 43(11), 1960-1969.

VRBKA, Martin, David NEČAS, Martin HARTL, Ivan KŘUPKA, Filip URBAN a Jiří GALLO. Visualization of lubricating films between artificial head and cup with respect to real geometry. *Biotribology*, 2015, 1-2, 61-65.

NEČAS, David, Martin VRBKA, Filip URBAN, Ivan KŘUPKA a Martin HARTL. The effect of lubricant constituents on lubrication mechanisms in hip joint replacements. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 2016, 55, 295-307.

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2017/18

V Brně, dne

L. S.

---

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

---

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

---

## **ABSTRAKT**

Tato diplomová práce se zabývá experimentální analýzou mazání totální endoprotézy kyčle s využitím fluorescenční mikroskopie, přičemž se jedná o vůbec první práci zaměřenou na takzvané měkké kloubní páry. Experimenty byly provedeny na simulátoru kyčelního kloubu, který byl upraven a odladěn pro účely fluorescenční mikroskopie. Cílem bylo stanovit vliv jednotlivých složek synoviální tekutiny na proces mazání. Pro tyto účely byly navrženy rozdílné modelové kapaliny, které reprezentovaly složením, obsahem proteinů a ostatními složkami lidskou synoviální kapalinu. Experimenty byly rozčleněny na experimenty sledující vliv proteinu albuminu,  $\gamma$ -globulinu a kyseliny hyaluronové při procesu mazání. Dále byly experimenty rozčleněny podle způsobu zátěže do dvou kategorií na experimenty probíhající při dynamickém zatížení (reprezentující chůzi) a kombinovaném zatížení (reprezentující stání a krátkodobou chůzi). Výstupem z provedených experimentů byly hodnoty fluorescenční intenzity popisující mazání v závislosti na čase, které představovaly bezrozměrný parametr tloušťky mazacího filmu. Tyto hodnoty byly zaznamenány do grafů a doplněny o fluorescenční snímky z charakteristických částí měření. Takto naměřená data byla následně konfrontována s doposud publikovanými články. Výsledky ukázaly, že z hlediska formování filmu je zásadní složkou synoviální kapaliny protein albumin, zatímco protein  $\gamma$ -globulin společně s kyselinou hyaluronovou formují tenkou stabilní vrstvu, na kterou následně adsorbuje právě albumin.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

Totální endoprotéza (TEP), mazání, synoviální kapalina, albumin,  $\gamma$ -globulin, kyselina hyaluronová

## **ABSTRACT**

This diploma thesis deals with an experimental analysis of lubrication of total hip joint replacement using fluorescence microscopy, focusing on so-called soft bearing pairs. Experiments were realized using a hip joint simulator, which was modified and refined for fluorescence microscopy. The aim of this diploma thesis was to determine the effect of the individual components of the synovial fluid on the lubrication mechanisms. For this purpose, different model fluids were designed to represent the composition of proteins and other synovial fluid constituents to elucidate the effect of albumin,  $\gamma$ -globulin and hyaluronic acid on the resulting lubrication performance. The experiments were separate into two categories different in type of load, dynamic (representative walking) and combined (representing standing with short walk). The experimental results were time-dependent fluorescence intensity values, representing dimensionless film thickness parameters. The values were recorded on the graphs and supplemented with fluorescence images taken during the characteristic sections of the measurements. The measured data was subsequently confronted with previously published articles. It was found that the dominant constituent responsible for film thickness is albumin, while  $\gamma$ -globulin and hyaluronic acid forms thin stable layer enhancing adsorption ability of albumin which contributes to increase of film thickness eventually.

## **KEY WORDS**

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



---

## **BIBLIOGRAFICKÁ CITACE**

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..



---

## **PODĚKOVÁNÍ**

Rád bych poděkoval vedoucímu práce panu Ing. Davidu Nečasovi, Ph.D. za jeho cenné rady a odbornou pomoc, která mi pomohla při vypracování této diplomové práce. Dále bych rád poděkoval svým rodičům za morální a finanční podporu během celého studia.

## **ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci Analýza mazání TEP kyčle s využitím fluorescenční mikroskopie vypracoval samostatně pod vedením Ing. Davida Nečase, Ph.D. a uvedl jsem v seznamu zdrojů všechny použité literární a odborné zdroje.

V Brně dne 18. května 2018

.....  
Podpis autora

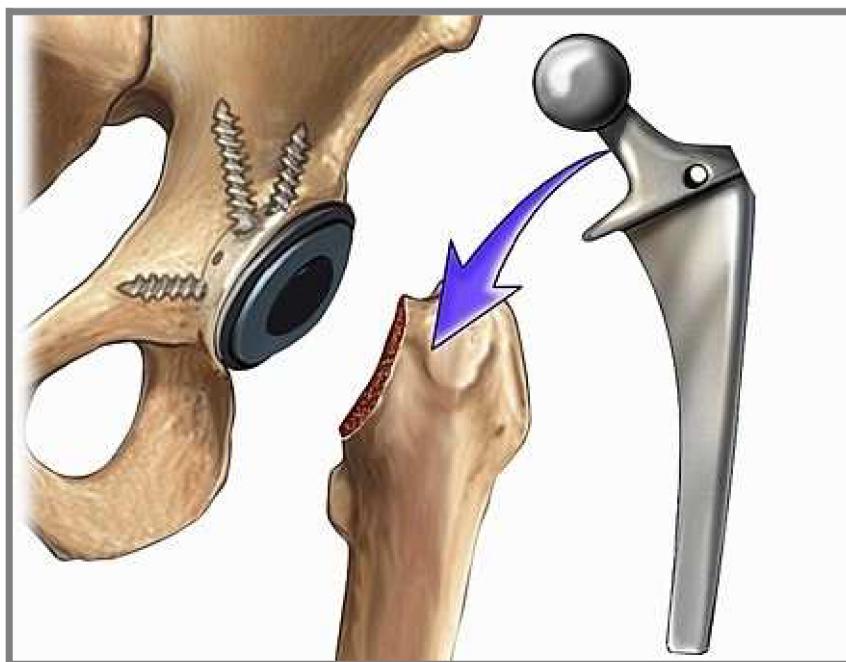




<b>OBSAH</b>	
<b>1 ÚVOD</b>	<b>12</b>
<b>2 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ</b>	<b>13</b>
2.1 Definice mazání, základní pojmy	13
2.2 Přehled materiálů používaných pro náhrady kyčelního kloubu	14
2.2.1 Kovové materiály	14
2.2.2 Keramické materiály	14
2.2.3 Polymerní materiály	15
2.3 Výzkum v oblasti mazání TEP kyčelního kloubu	16
<b>3 ANALÝZA PROBLÉMU A CÍL PRÁCE</b>	<b>31</b>
3.1 Analýza poznatků získaných z rešerše	31
3.2 Analýza problému	32
3.3 Cíl práce	32
<b>4 MATERIÁL A METODY</b>	<b>33</b>
4.1 Postup řešení a jeho schéma	33
4.2 Experimentální aparatura	33
4.3 Fluorescenční mikroskopie	35
4.4 Testované vzorky	35
4.5 Použitá maziva	36
4.6 Podmínky experimentů	37
4.6.1 Postup měření a podmínky experimentu – dynamické zatěžování	37
4.6.2 Postup měření a podmínky experimentu – kombinované zatěžování	38
4.6.3 Plán experimentů	39
<b>5 VÝSLEDKY</b>	<b>40</b>
5.1 Dynamické zatěžování	40
5.1.1 Dynamické zatěžování-experimenty s obarveným albuminem	40
5.1.2 Dynamické zatěžování-experimenty s obarveným $\gamma$ -globulinem	43
5.1.3 Dynamické zatěžování-experimenty s obarvenou kys. hyaluronovou	45
5.2 Kombinované zatěžování	48
5.2.1 Kombinované zatěžování-experimenty s obarveným albuminem	49
5.2.2 Kombinované zatížení-experimenty s obarveným $\gamma$ -globulinem	51
5.2.3 Kombinované zatížení-experimenty s obarvenou kys. hyaluronovou	52
<b>6 DISKUZE</b>	<b>54</b>
6.1 Dynamické zatěžování	54
6.1.1 Vliv složek synoviální kapaliny na chování albuminu	54
6.1.2 Vliv složek synoviální kapaliny na chování $\gamma$ -globulinu	54
6.1.3 Vliv složek synoviální kapaliny na chování kyseliny hyaluronové	54
6.1.4 Porovnání komplexních kapalin dle obarvené složky	55
6.1.5 Vliv konformity kontaktu na proces tvorby mazacího filmu	56
6.2 Kombinované zatížení	56
6.2.1 Vliv složek synoviální kapaliny na obarvené komponenty	56
6.2.2 Porovnání komplexních kapalin dle obarvené složky	57
<b>7 ZÁVĚR</b>	<b>59</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ</b>	<b>60</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ</b>	<b>63</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ</b>	<b>64</b>
<b>SEZNAM TABULEK</b>	<b>66</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH</b>	<b>67</b>

## 1 1 ÚVOD

Totální endoprotéza (TEP) je umělou náhradou postiženého kloubu (obr.1.1), přičemž nejčastějším důvodem k implantaci náhrady kyčelního kloubu je artróza. Mezi další důvody pak patří poškození v důsledku úrazu, či nádorového onemocnění proximálního konce stehenní kosti. Artróza je přitom jedním z deseti nejčastějších onemocnění ve vyspělých zemích, kdy celosvětové odhady říkají, že 10 % mužů a 18 % žen ve věku nad 60 let trpí tímto onemocněním. Těmto číslům odpovídá i počet vykonaných operací, přičemž v zemích OECD podstoupí ročně TEP kyčelního kloubu 161 pacientů ze 100 000 obyvatel. [1]



Obr. 1.1 Totální endoprotéza kyčelního kloubu [2]

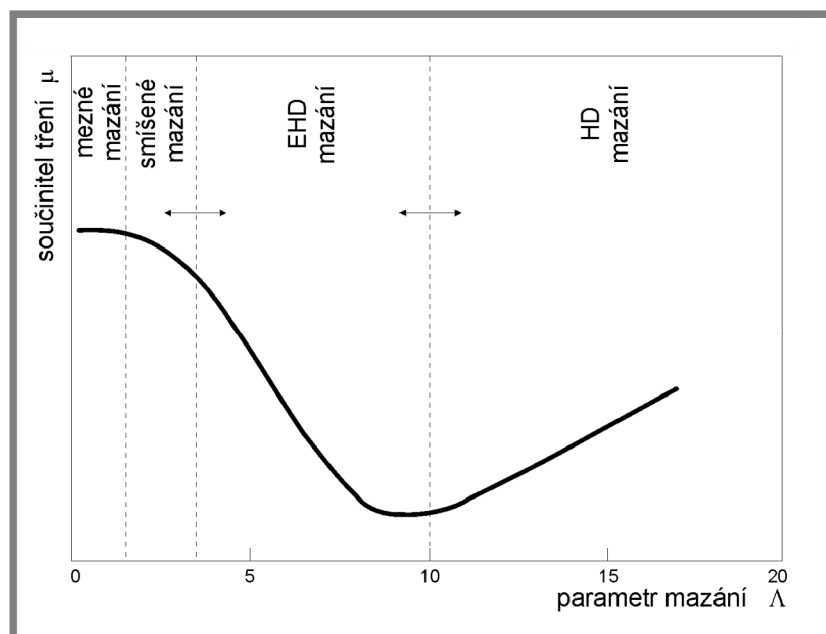
Toto číslo je však ve skutečnosti ještě o něco vyšší, neboť nezahrnuje revizní operace, kdy dochází k selhání kloubní náhrady. Mezi nejčastější důvody tohoto selhání patří uvolnění kloubního implantátu v důsledku osteolýzy neboli úbytku kostní tkáně. Toto onemocnění je mimo jiné prokazatelně způsobeno otěrovými částicemi kloubních implantátů, přičemž jejich tvorbu ovlivňuje jak materiál ze kterých jsou vyrobeny, tak mazivo, jenž je v kontaktu mezi vzájemně artikulujícími povrchy. [3] Z tohoto důvodu je tedy nutné analyzovat jednotlivé vlivy mazání TEP v kyčelním kloubu, kde jako přirozené mazivo slouží synoviální kapalina. Největší vliv na samotnou tvorbu mazacího filmu mají proteiny albumin a  $\gamma$ -globulin případně kyselina hyaluronová a fosfolipidy, které jsou v synoviální kapalině obsaženy. Předmětem této diplomové práce je proto analyzovat vlivy jednotlivých složek synoviální kapaliny na tvorbu mazacího filmu při uvažování reálné konformní geometrie měkkých třecích párů. K této analýze je využita fluorescenční mikroskopie, jež umožňuje při použití vhodného barviva studium vlivů jednotlivých složek na proces tvorby mazacího filmu. Takto získané výsledky by měly vést k dalšímu vývoji kloubních náhrad při snaze zvýšit jejich životnost z hlediska opotřebení.

## 2 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ

### 2.1 Definice mazání, základní pojmy

Účelem mazání je s využitím vhodného maziva snížit tření či opotřebení mezi dvěma povrchy, které jsou v relativním pohybu. Maziva mohou být pevného, kapalného, plynného, či disperzního skupenství (kapalného/pevného). Adekvátní mazání přitom umožňuje hladký chod interagujících součástí separací, či ochranou třecích povrchů a dále odvodem tepla a ošetrových částic z kontaktu. [23]

Mazání rozdělujeme z hlediska jednotlivých režimů na mazání, při kterém dochází k bezprostřednímu oddělení třecích povrchů koherentním filmem (mazání hydrostatické, hydrodynamické a elastohydrodynamické), na mazání, při kterém dochází k bezprostřední interakci třecích povrchů (mezní mazání a mazání tuhými mazivy) a na mazání kombinující výše zmíněné režimy (smíšené mazání). Tyto režimy lze graficky znázornit jako závislost součinitele tření na parametru mazání  $\Lambda$  (závislém na minimální tloušťce filmu a redukované drsnosti povrchů), viz obr. 2.1. [5]



Obr. 2.1 Závislost součinitele tření na parametru mazání [5]

Při mezním mazání (odpovídá pomalé chůzi [4]) se interagující povrchy nacházejí v bezprostřední blízkosti, přičemž zatížení není přenášeno hydrodynamickým působením mazacího filmu, nýbrž působením velmi tenkého mezního filmu. U smíšeného mazání (odpovídá normální chůzi materiálové kombinace kov/polymer [4]) nedochází k plnému oddělení třecích povrchů. Proto v místech, kde dochází ke kontaktu jednotlivých povrchů indikujeme mezní mazání, zatímco v ostatních oblastech mazání kapalinové. U elastohydrodynamického mazání, které je kapalinovým mazáním dochází k elastickým deformacím, jež jsou řádově stejně velké jako tloušťka mazacího filmu. K tomuto mazání dochází většinou při normální chůzi v kloubní náhradě materiálové kombinace kov/kov či keramika/keramika [4]. U hydrodynamického mazání, jež je rovněž kapalinovým mazáním, dochází k tvorbě souvislé vrstvy maziva, která zcela zabraňuje styku povrchu těles. K tomuto mazání dochází často u konformně zakřivených povrchů [5].

## 2.2 Přehled materiálů používaných pro náhrady kyčelního kloubu

### 2.2.1 Kovové materiály

#### Slitiny CoCrMo

Jedná se o jednu z nejpoužívanějších kovových kloubních náhrad. Vyniká vysokou houževnatostí a pevností, dobrou biokompatibilitou a odolností proti korozi. Výrobní náklady této hlavice jsou relativně nízké, což je v praxi její veliký benefit. Mezi jednu z největších nevýhod této náhrady patří nižší otěruvzdornost v porovnání s konkurenčními materiály. Navíc otěrové částice mohou mít negativní dopad na některé životně důležité orgány, ve kterých se částičky kovů dlouhodobě usazují (převážně ledviny a játra). Používají se především u těch pacientů, u kterých již není předpokládán vysoký nárok na aktivní pohyb [3].



Obr. 2.2 Kyčelní kloubní náhrada ze slitiny CoCrMo [6]

### 2.2.2 Keramické materiály

#### BIOLOX@forte

Jedná se o materiál s vysokou tvrdostí, otěruvzdorností a biokompatibilitou. Tyto pozitivní vlastnosti z něj dělají vysoce výkonnou kloubní náhradu používanou již od roku 1995. Je složen převážně z oxidu hlinitého v kombinaci s malým množstvím oxidu hořečnatého. Používá se tam, kde je kladen důraz na nízké opotřebení. Jeho nevýhodou je však nižší lomová houževnatost v porovnání s kovovými materiály [7].



Obr. 2.3 Kyčelní kloubní náhrada BIOLOX@forte [7]

### **BIOLOX®delta**

Jedná se o vysoce výkonnou kloubní náhradu, která vyniká vysokou otěruvzdorností a biokompatibilitou, dobrou pevností a houževnatostí. Tento kompozitní keramický materiál je složen převážně z oxidu hlinitého, který je zpevněn oxidem zirkoničitým. Tento materiál také vyniká nezávadností otěrových částic v těle pacienta. Náklady na výrobu jsou však výrazně vyšší v porovnání s kovovými náhradami [8].



Obr. 2.4 Kyčelní kloubní náhrada BIOLOX®delta [8]

### **2.2.3 Polymerní materiály**

#### **Vysoce zesítěný polyetylen**

Jedná se o materiál, ze kterého se téměř výhradně vyrábí kloubní jamky. Výhodou tohoto materiálu je nízká výrobní cena a celková výrobní nenáročnost. Materiál sám o sobě nevykazuje výraznou pevnost nebo tvrdost. Nicméně v kombinaci s kovovou, či keramickou hlavicí dosahuje uspokojivých hodnot opotřebení při současném relativně nízkém součiniteli tření. Nevýhodou některých polymerních materiálů je fakt, že jejich otěrové částice způsobují osteolýzu, neboli nemoc vedoucí k uvolnění kloubní náhrady z kostní tkáně [3].



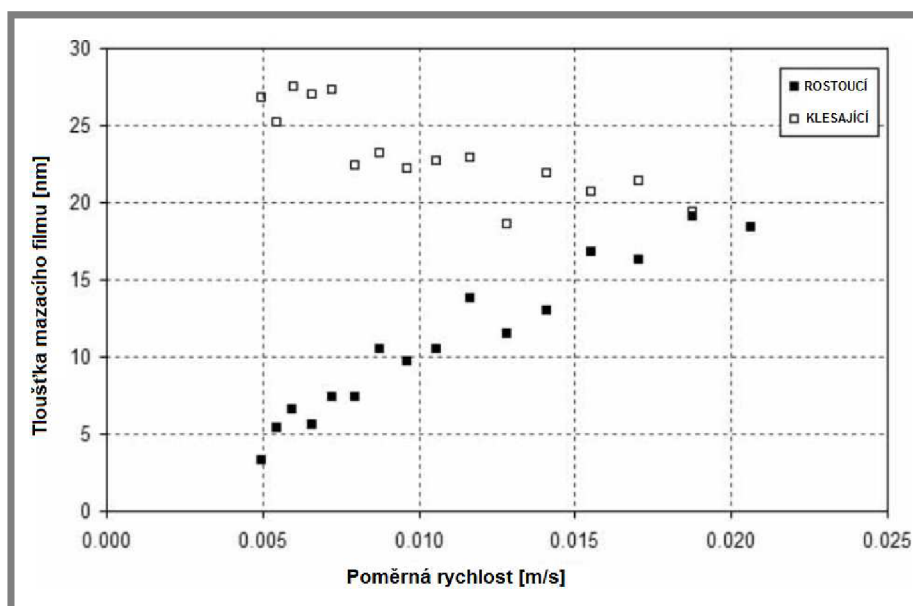
Obr. 2.5 Kyčelní kloubní náhrada z vysoce zesítěného polyetylenu [9]



### 2.3 Výzkum v oblasti mazání TEP kyčelního kloubu

Z důvodu omezené životnosti kloubních implantátů, která se pohybuje okolo 8-15 let, roste počet revizních operací. Ty jsou při nejmenším velmi nepříjemné pro komfortní život pacienta. Dále pak finanční náklady na provedení této operace jsou až trojnásobné, než je tomu při primární operaci. Výše zmíněné faktory vyvíjí neustálý tlak na výzkum v oblasti mazání kloubních náhrad, které významným podílem ovlivňují výsledné opotřebení náhrady, jež vede k jejímu selhání.

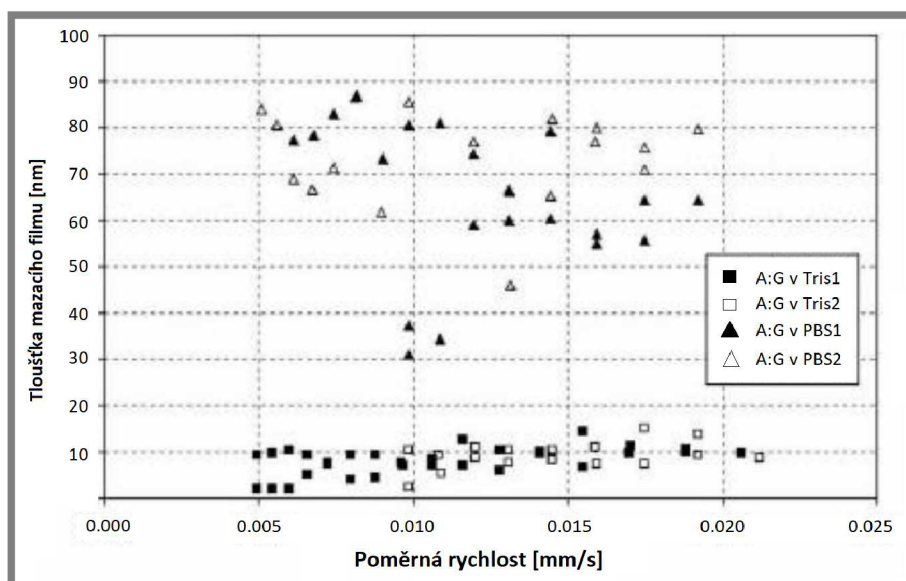
Jednou z prvních publikací v dané oblasti byla práce (Mavraki a Cann 2009) [10], která se zabývala analýzou koeficientu tření a tloušťky mazacího filmu v nekonformním kontaktu simulujícím podmínky lidského kyčelního kloubu za přítomnosti hovězího séra a proteinových roztoků jakožto maziva. Tato maziva byla vytvořena smícháním hovězího séra a deionizované vody v různých koncentracích a dále tvorbou roztoků proteinů syntetizovaných ze synoviální kapaliny hovězího skotu. Snahou bylo přiblížit se složením různým lidským synoviálním kapalinám. Zatímco modelové kapaliny složené z roztoku albuminu a  $\gamma$ -globulinu v PBS (Phosphate Buffered Saline – fyziologický roztok) reprezentovaly synoviální kapalinu zdravého jedince, tak kapaliny složené z roztoku albuminu a  $\gamma$ -globulinu v Tris (Trishydroxymethylaminomethan – pufr) reprezentovaly periprotetickou kapalinu. Analýza koeficientu tření byla měřena na zařízení Mini Traction Machine v konfiguraci kulička na disk při rychlostech odvalování od 5 do 50 mm/s a tloušťka mazacího filmu byla měřena s využitím optického tribometru za čistého valení, konstantního zatížení 5 N a rychlosti od 5 do 20 mm/s. Při experimentech s hovězím sérem tloušťka mazacího filmu rostla se vrůstající rychlostí odvalování disku a kuličky. Při následném poklesu rychlosti bylo pozorováno, že tloušťka mazacího filmu je nezávislá na čase a vykazuje i nadále mírný nárůst, viz obr. 2.6.



Obr. 2.6 Závislost tloušťky mazacího filmu na rychlosti, hovězí sérum [10]

Po ukončení experimentu byla zjištěna menší tloušťka mazacího filmu, která je připisovaná adsorpci proteinové vrstvy. Při experimentech, které porovnávaly zdravou a periprotetickou synoviální kapalinu (obr. 2.7) bylo zjištěno, že se synoviální kapalinou zdravého jedince dochází k tvorbě větší tloušťky mazacího

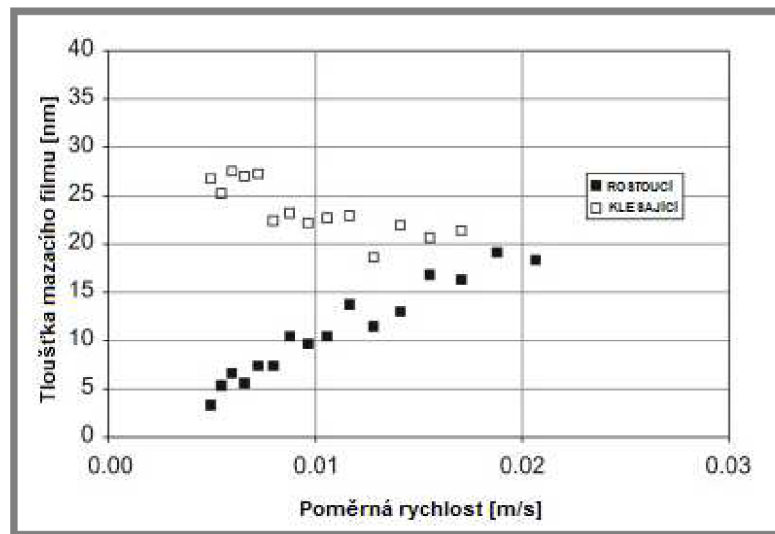
filmu, než je tomu v případě periprotetické. Při použití zdravé synoviální kapaliny však dochází k většímu rozptylu naměřených dat.



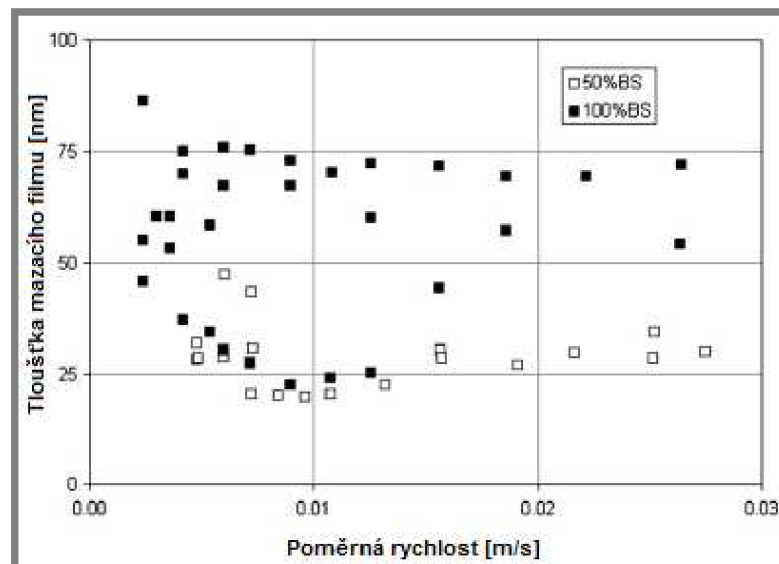
Obr. 2.7 Závislost tloušťky mazacího filmu na rychlosti, proteinové roztoky [10]

Mezi důležité závěry studie patří zjištění, že jak součinitel tření, tak tloušťka mazacího filmu jsou časově závislé.

Autoři navázali následující publikací (**Mavraki a Cann 2011**) [11] a rozšířili ji o experimenty s nízkým (30 MPa) a vysokým kontaktním tlakem (200 MPa). Experimenty byly realizovány s mazivem složeným z různě koncentrovaného hovězího séra (100%, 50%, 25%) a deionizované vody. Nízkého kontaktního tlaku bylo dosaženo v konfiguraci čochka na disk a vysokého kontaktního tlaku při použití konfigurace kulička na disk. V konfiguraci kulička na disk byly experimenty realizovány za čistého valení. Úplného prokluzu bylo využíváno v konfiguraci čochka na disk. Experimenty probíhaly v rozsahu rychlostí od 5 do 40 mm/s a při teplotách 25 a 37 °C, přičemž stálé zatížení mezi dvojicemi kulička-disk a čochka-disk bylo 5 N. Při čistém valení a vysokém kontaktním tlaku rostla tloušťka mazacího filmu s rostoucí rychlostí od 5 do 20 nm. (obr. 2.8) Po ukončení experimentu se tloušťka filmu pohybovala v rozmezí 9-19 nm. Tento pokles je přičítán adsorpci proteinů na povrchy těles. Výsledky při nízkém kontaktním tlaku ukázaly, že bylo dosaženo mnohem tlustšího mazacího filmu (60-80 nm) při stejném rozsahu otáček. (obr. 2.9) Při čistém valení byla tloušťka mazacího filmu výrazně vyšší než v případě čistého prokluzu, a to téměř o 70 %. Dále bylo zjištěno, že nižší kontaktní tlak obecně vede k vyšším tloušťkám mazacího filmu, a to zejména při nižších rychlostech. Mezi další poznatky patřil fakt, že tloušťka mazacího filmu obecně roste s rostoucí rychlostí artikulujících povrchů, přičemž po následném poklesu rychlosti nedochází k poklesu tloušťky mazacího filmu. Mezi překvapivé závěry studie patřilo zjištění, že rozdílná teplota a koncentrace hovězího séra nezpůsobovala výrazné odlišnosti ve výsledcích.



Obr. 2.8 Závislost tloušťky mazacího filmu na rychlosti, 50 % BSC roztok, 200MPa, SRR=0 % [11]

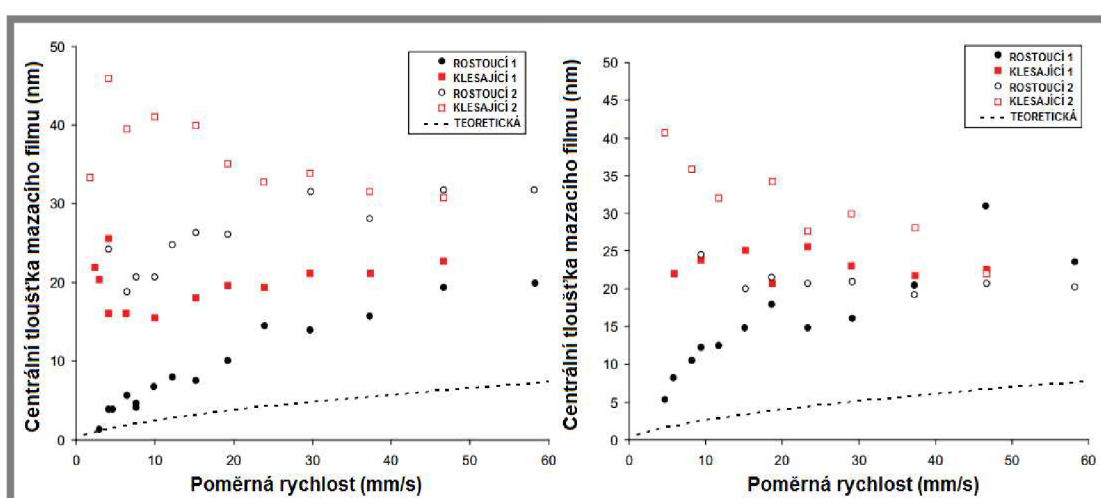


Obr. 2.9 Závislost tloušťky mazacího filmu na rychlosti, 50 % a 100 % roztok BSC, 30MPa, SRR=200 % [11]

**Fan, Myant a kol. (2011)** [12] se zabývali studiem mazacího filmu modelových kapalin složených z roztoku PBS a proteinů albuminu a  $\gamma$ -globulinu. Mezi další zkoumané modelové kapaliny patřilo hovězí sérum o třech různých koncentracích (100%, 50%, 25%). Hlavním cílem přitom bylo prozkoumat úlohu proteinů v procesu mazání. Tloušťka mazacího filmu byla zkoumána pomocí optické interferometrie v konfiguraci kulička na disk, přičemž experimenty byly prováděny v rozsahu otáček 2-60 mm/s, při kontaktním tlaku 100 MPa (zatížení 5 N) a čistém pozitivním prokluzu. Stacionární (nehybnou) komponentu tvořila komerční kovová kulička o průměru 38 mm (CoCrMo), která byla v kontaktu s rotujícím pochromovaným skleněným diskem. Experimentálně získané hodnoty tloušťky mazacího filmu byly následně porovnávány s vypočtenými tloušťkami podle Hooka. Výsledky naměřené s hovězím sérem ukázaly velmi komplexní a časově závislé chování tloušťky mazacího filmu, kdy se již po několika minutách s rostoucí

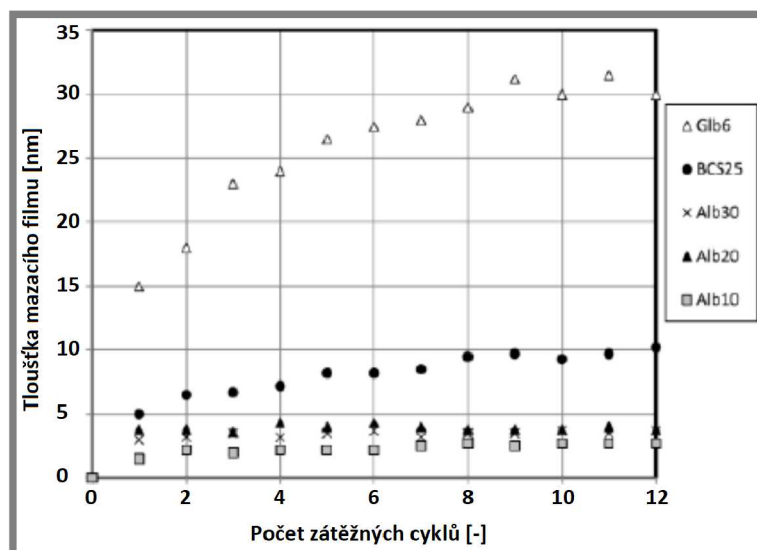


rychlostí vytvořil 10-20 nm tlustý mazací film ovlivněný adsorpcí proteinů na povrchu artikulujících těles. Při snižování poměrné rychlosti artikulujících povrchů tloušťka mazacího filmu hovězího séra nabývala hodnot 20-40 nm. Vývoj tloušťky mazacího filmu pro jednotlivé koncentrace hovězího séra v závislosti na rostoucí a klesající rychlosti je zobrazen na obr. 2.10. Při porovnání výsledků mazání hovězím sérem a umělými proteinovými roztoky bylo zjištěno, že tloušťka mazacího filmu umělých proteinových roztoků je téměř dvojnásobná v porovnání s hovězím sérem. Při porovnání teoretické hodnoty centrální tloušťky mazacího filmu s hodnotami naměřenými, je patrné, že se všemi mazivy byly naměřeny větší hodnoty mazacího filmu, než bylo vypočteno. Tento fakt je přisuzován právě přidaným proteinům, které jak bylo zjištěno hrají velmi důležitou roli při tvorbě mazacího filmu a přímo se podílí na výsledné hodnotě tloušťky mazacího filmu.



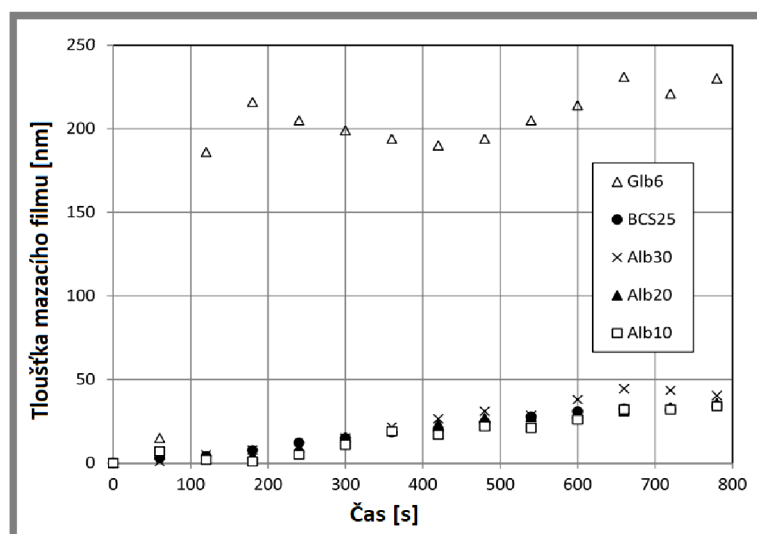
Obr. 2.10 Teoretická a experimentálně zjištěná tloušťka mazacího filmu jako závislost na rostoucí a klesající rychlosti odvalování a) 25% roztok hovězího séra a destilované vody b) 50% roztok hovězího séra a destilované vody [12]

(Myant a kol. 2012) [14] měřili tloušťku mazacího filmu jako funkci času a rychlosti, k čemuž jim sloužila, stejně jako v případě předchozích studií, aparatura složená ze skleněného disku potaženého tenkou vrstvou chromu v kontaktu s kuličkou o průměru 38 mm vyrobenou ze slitiny CoCrMo. Autoři také zkoumali vliv zatížení na výslednou tloušťku mazacího filmu, přičemž zatížení se pohybovalo v rozsahu 5 až 20 N. Tloušťka mazacího filmu byla vyhodnocována pomocí optické interferometrie. Modelové kapaliny tvořily roztoky o různé koncentraci jednoho z proteinu  $\gamma$ -globulinu či albuminu rozpuštěného v PBS a dále byl využit 25% roztok hovězího séra a deionizované vody jako referenční mazivo. Nejprve byly provedeny statické zkoušky s nulovou rychlostí a cyklicky aplikovaným zatížením 5 N, kdy byl testován vliv kapaliny na adsorpci proteinů, viz obr. 2.11. Experimenty bylo zjištěno, že při použití roztoku s  $\gamma$ -globulinem se tvoří mnohem tlustší mazací film (okolo 30 nm na konci experimentu) než při užití roztoku s albuminem (okolo 1-3 nm na konci experimentu). Tloušťka mazacího filmu referenčního maziva (25% roztoku hovězího séra) se pohybovala okolo 10 nm na konci experimentu.



Obr. 2.11 Centrální tloušťka mazacího filmu v závislosti na počtu cyklů, statické zatížení [14]

Měření tloušťky mazacího filmu v závislosti na čase při rychlosti 10 mm/s mělo pro všechna maziva rostoucí tendenci. Opět platilo, že roztok globulinu vykazoval nejvyšší tloušťku mazacího filmu okolo 200 nm. Naopak nejnižší tloušťka mazacího filmu roztoku albuminu nabývala pouze 45 nm. (obr. 2.12)

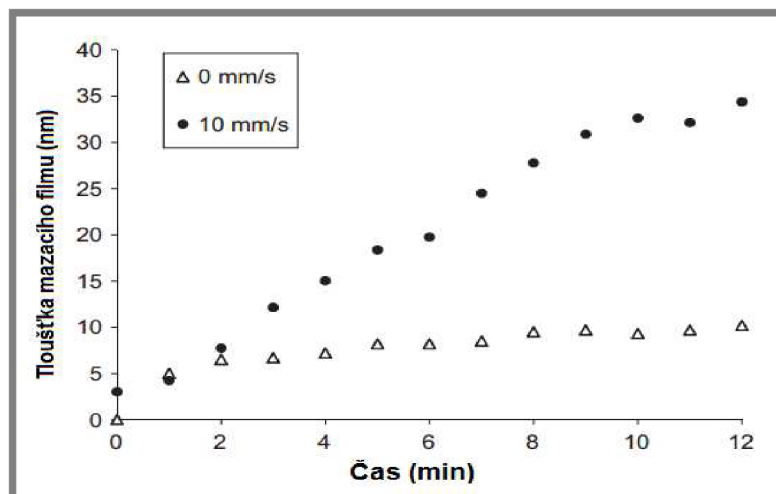


Obr. 2.12 Centrální tloušťka mazacího filmu v závislosti na čase při rychlosti 10 mm/s [14]

Při plynulé změně zatížení z 5 na 20 N bylo u všech typů maziv pozorováno snížení tloušťky mazacího filmu. Při měření tloušťky mazacího filmu jako funkci rychlosti (od 0 do 50 mm/s) vykazují výsledky velký rozptyl, a komplikují tak vyvození jasného závěru. Z měření však vyplývá, že jednotlivé roztoky proteinů výrazně ovlivňují tvorbu mazacího filmu.

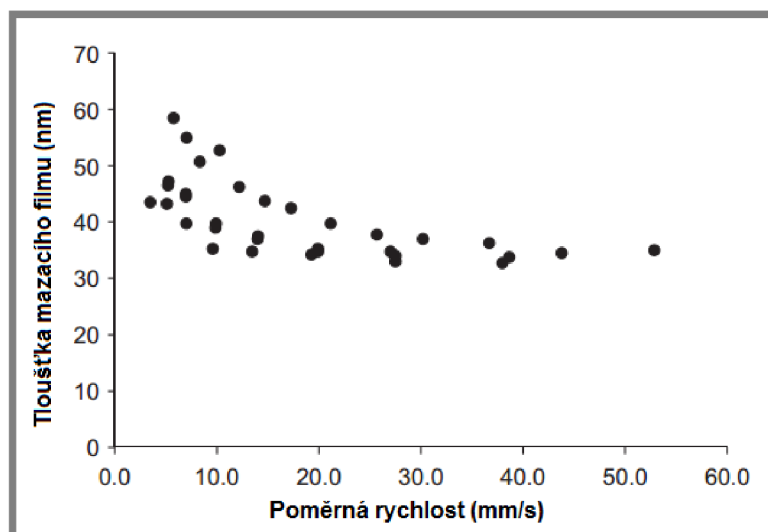
**Myant a Cann (2013)** [13] se zabývali studiem základních aspektů mazání umělých kloubních náhrad synoviální kapalinou. Tloušťku mazacího filmu zkoumali na komerčním optickém tribometru od firmy PSC Instruments v konfiguraci kulička na disk. Kulička o průměru 38 mm byla vyrobena ze slitiny CoCrMo. V kontaktu s ní byl skleněný disk pokovený 10nm tlustou vrstvou chromu. Tloušťku mazacího filmu zkoumali jako funkci rychlosti odvalování a také jako funkci cyklického zatěžování

silou 5 N při konstantní rychlosti 0 mm/s (statický test) a 10 mm/s. Mazivo tvořil 25% roztok hovězího séra a destilované vody. Při experimentech s cyklickým zatížením a rychlosti 0 mm/s tloušťka mazacího filmu téměř okamžitě dosahovala hodnot 5 nm a nadále pak měla po zbytek experimentu nepatrně rostoucí tendenci. Velice obdobných výsledků bylo dosaženo i při opakování experimentů. Při cyklickém zatěžování a rychlosti 10 mm/s tloušťka mazacího filmu po celou dobu experimentu plynule narůstala a ke konci dosahovala hodnoty okolo 35 nm, viz obr. 2.13.



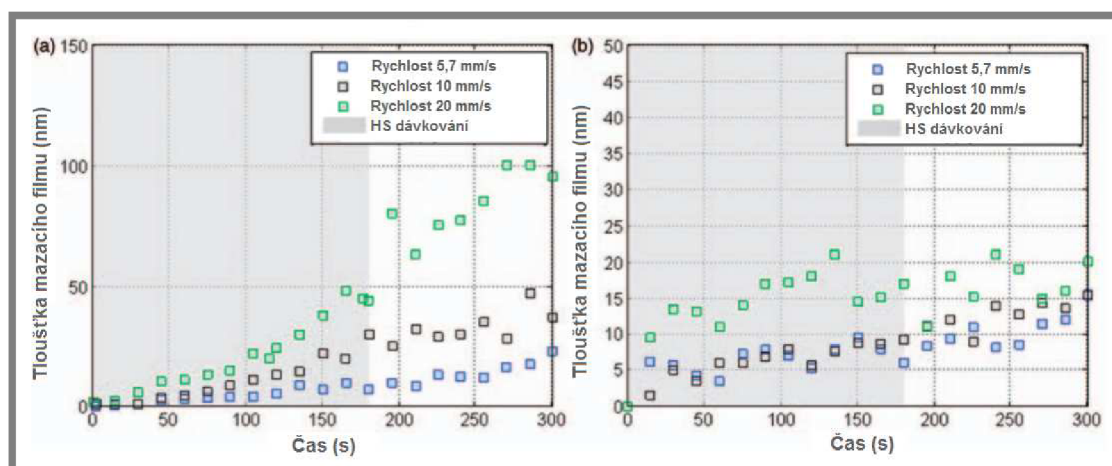
Obr. 2.13 Tloušťka mazacího filmu při cyklickém zatěžování pro rychlost 0 a 10 mm/s [13]

Při experimentech, kde byla zkoumána tloušťka mazacího filmu jako funkce rychlosti v rozsahu 0-60 mm/s je zaznamenán její pokles s rostoucí rychlostí odvalování. To znamená, že nejvyšší hodnota mazacího filmu byla naměřena při nejnižší rychlosti, viz obr. 2.14. Nicméně z takto naměřených dat vyplývá, že naměřené tloušťky mazacího filmu jsou několikanásobně větší, než byly odvozeny z klasického EHL mechanismu. Lze tak učinit závěr, že proteiny, které výrazně ovlivňují výslednou tloušťku mazacího filmu neodpovídají předpovídanému EHL mechanismu, ale nově popsanému režimu PAL (protein aggregation lubrication), který je výrazně ovlivněn právě agregací proteinů.



Obr. 2.14 Tloušťka mazacího filmu jako funkce rychlosti [13]

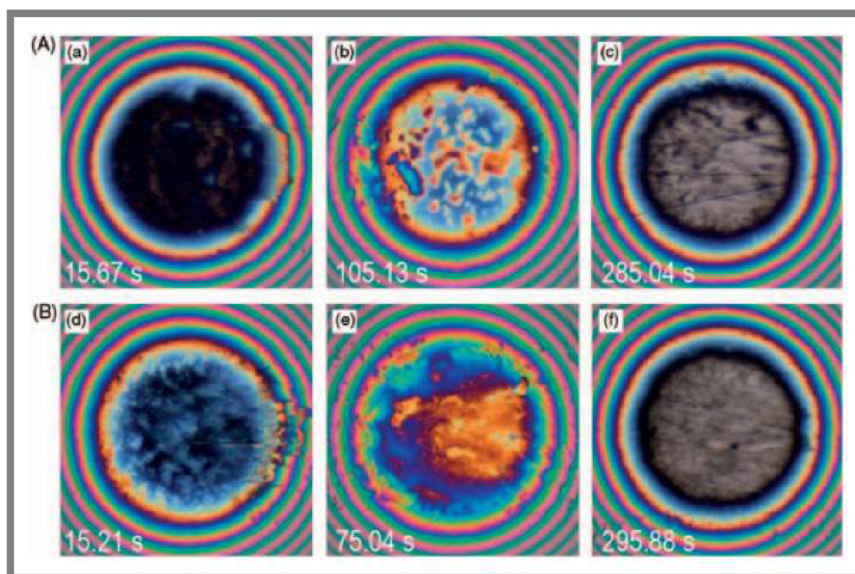
Studii zaměřenou na tvorbu mazacího filmu pro kovové a keramické materiály provedl **Vrbka a kol. (2013)** [15]. Stejně jako tomu bylo v předchozích pracích, byl pro experimenty použit nekonformní styk těles kuličky a disku. Tloušťka mazacího filmu byla měřena jako funkce času za použití optické interferometrie. Byly použity tři rozdílné prokluzu (-150 %, 0 %, 150 %) z důvodu objasnění vlivu prokluzu na tvorbu mazacího filmu a čtyři rozdílné rychlosti artikulace třecích povrchů (5,7; 10; 20; 40 mm/s). Zatížení mezi kouličkou a diskem bylo 5 N, což v přepočtu na kontaktní tlak představovalo 180 MPa pro materiálovou kombinaci kov/sklo a 190 MPa pro materiálovou kombinaci keramika/sklo. Délka experimentu byla 300 sekund, přičemž po dobu 180 sekund bylo dávkováno do kontaktu mazivo. Tímto mazivem byl 25% roztok hovězího séra a deionizované vody. Při čistém valení byla pro obě materiálové kombinace zjištěna časová závislost tloušťky mazacího filmu na rychlosti odvalování těles. Tloušťka mazacího filmu byla vždy vyšší u materiálové kombinace kov/sklo a to při jakékoliv rychlosti odvalování. Tato tloušťka se pohybovala okolo 100 nm při rychlosti 20 mm/s, kdežto u materiálové kombinace keramika/sklo nabývala hodnot 15-20 nm při stejné rychlosti. (obr. 2.15 a,b)



**Obr. 2.15** Centrální tloušťka mazacího filmu jako funkce času pro rychlost 5,7; 10 a 20 mm/s za čistého valení; a) pro kovovou kuličku; b) pro keramickou kuličku [15]

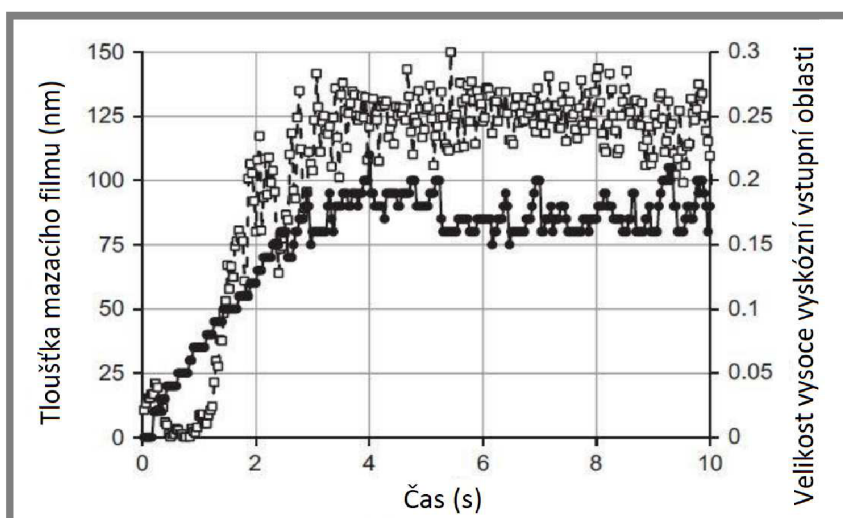
Dále bylo zjištěno, že při pozitivním prokluzu (neboli tehdy, když se disk otáčí rychleji než kulička) narůstá tloušťka mazacího filmu velmi strmě od samého začátku experimentu. Po dosažení maximální hodnoty, která se pohybovala v řádech stovek nanometrů v závislosti na materiálu začíná tloušťka mazacího filmu klesat, přičemž na konci experimentu se pohybovala již jen v řádech nanometrů. Pro kovové materiály navíc byla pozorovatelná závislost tloušťky mazacího filmu na relativní rychlosti otáčení součástí. Na obr. 2.16 lze pozorovat interferogramy z těchto experimentů. Naprosto odlišná je tvorba mazacího filmu v případě, kdy se kulička otáčí rychleji než disk, tedy při negativním prokluzu součástí. Za těchto podmínek je tloušťka mazacího filmu o řád tenčí, přičemž pro pár kov/sklo dosahovala hodnot 20-25 nm a pro pár keramika/sklo pouhých 5nm. Mezi hlavní přínos práce patří potvrzení vlivu kinematických podmínek, zejména pozitivního/negativního prokluzu na tvorbu mazacího filmu. V tomto článku byly dále popsány ostatní faktory ovlivňující tvorbu mazacího filmu, jako je oxidace hovězího séra, přechodné zatížení, či konformita stykových těles.





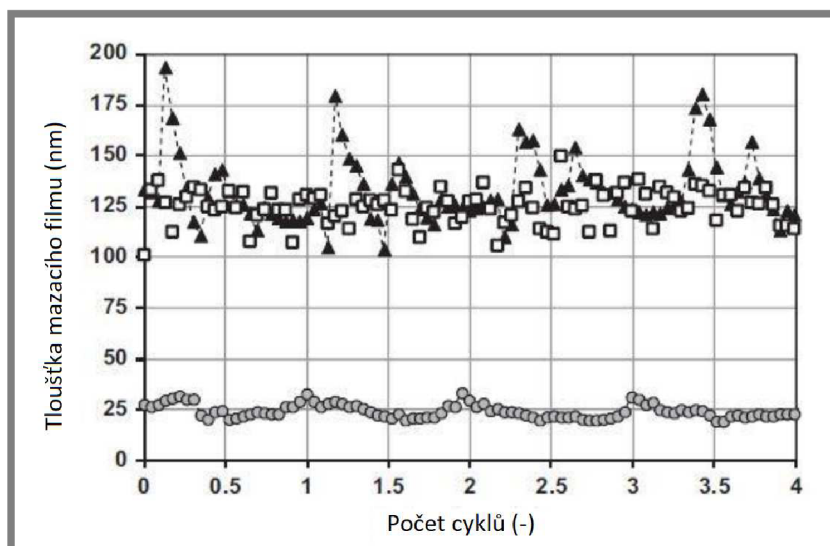
Obr. 2.16 Vybrané interferogramy pro kovové kuličky a pozitivní prokluz  
a) Pro rychlost 5,7 mm/s; b) pro rychlost 22,9 mm/s [15]

**Myant a Cann (2014)** [16] se zabývali analýzou tloušťky mazacího filmu a velikostí vysoce viskózní vstupní oblasti tvořené nahromaděnými proteiny. Experimenty probíhaly v konfiguraci kulička na disk při trvalém zatížení 2 N. Disk byl vyroben ze skla pokrytého povlakem chromu či oxidu křemičitého a kulička o průměru 38 mm byla vyrobena ze slitiny CoCrMo. Tloušťka mazacího filmu byla snímána pomocí optické interferometrie. Experimenty byly realizovány při čistém valení, konstantních a sinusově proměnných otáčkách se změnou směru otáčení. Tyto parametry byly voleny s ohledem na reálné podmínky v lidském kloubu. Jako modelová kapalina byl využíván 25% roztok hovězího séra. Jak je patrné z obr. 2.17 při zrychlení z nulové rychlosti na rychlost 20 mm/s, tloušťka mazacího filmu v úvodních dvou sekundách nejprve klesá z hodnot 20 nm na téměř nulovou hodnotu, aby se pak následně ustálila na hodnotě okolo 125 nm.



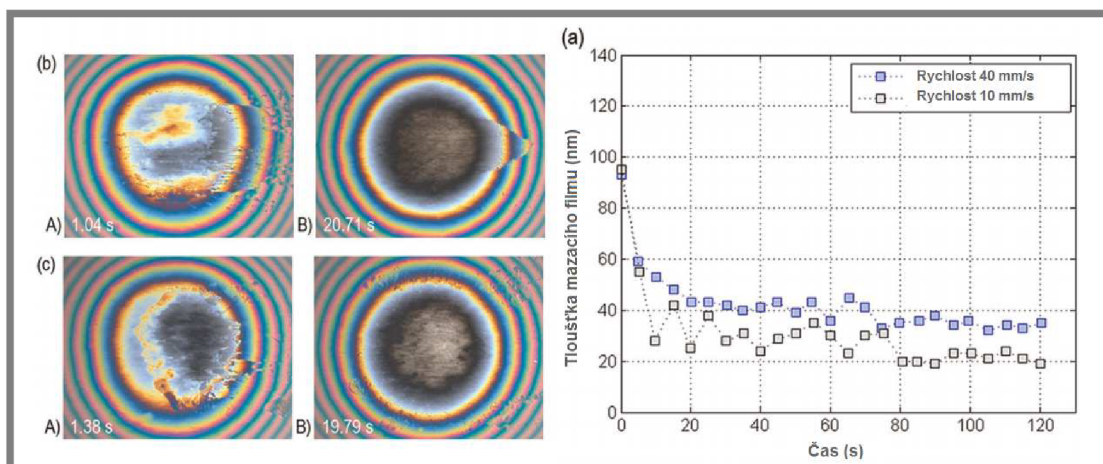
Obr. 2.17 Tloušťka mazacího filmu (bíle) a velikost vstupní oblasti (černě) v závislosti na čase během rozběhu z rychlosti 0 na 20 mm/s [16]

Při experimentech, které se zabývaly vlivem rychlosti na výslednou tloušťku mazacího filmu, je z obr. 2.18 patrné, že při konstantní rychlosti a sinusové rychlosti bez změny směru rotace, tloušťka mazacího filmu oscilovala okolo hodnoty 125 nm po celou dobu experimentu. Při experimentech, které byly realizovány za podmínek sinusově měnící se rychlosti se změnou smyslu rotace se tloušťka mazacího filmu pohybovala okolo hodnoty 25 nm.



Obr. 2.18 Tloušťka mazacího filmu v závislosti na počtu cyklů, sinusový průběh rychlosti (černě), konstantní (bíle), sinusový se změnou rotace (šedě) [16]

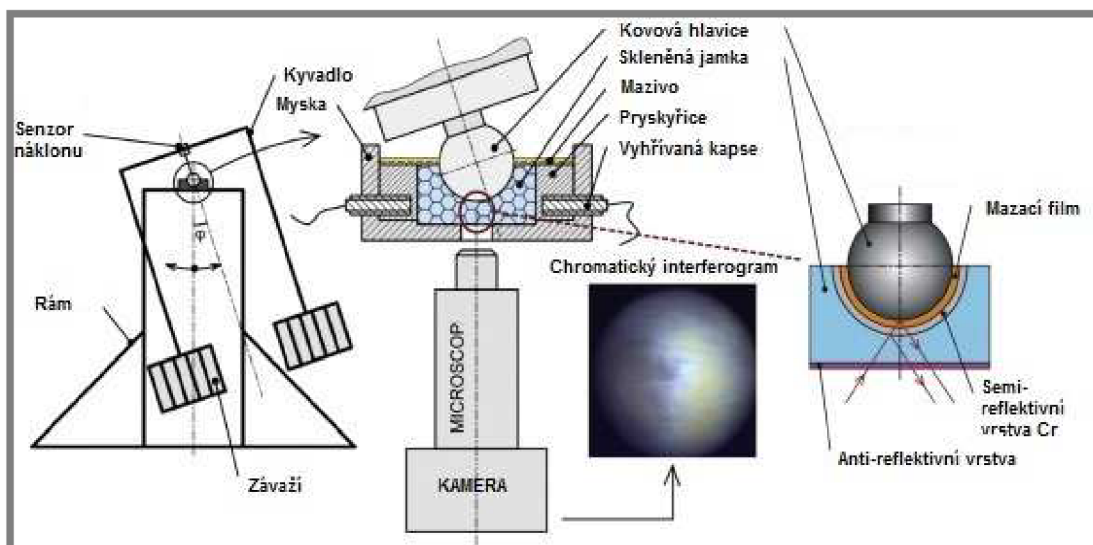
Vlivem konformity a smáčivosti třecích párů na tvorbu mazacího filmu se zabýval **Vrbka a kol. (2014)** [17]. Jak reálné klouby, tak i kloubní náhrady představují konformní styk těles, přičemž použitá aparatura v předešlých publikacích (kulička v kontaktu s diskem) představovala nekonformní kontakt. Proto z důvodu reprezentace reálnějšího styku těles byla původní konfigurace doplněna konfigurací kulička/ čočka. Při styku dvou nekonformních těles vznikají v kontaktu poměrně vysoké kontaktní tlaky, které však v případě použití páru kulička / čočka výrazně klesají, proto při použití zatížení 5 N kontaktní tlak dosahoval hodnoty pouhých 37 MPa (v případě kulička/disk 180 MPa). Jako mazivo sloužil 25% roztok hovězího séra. Výsledky měření potvrdily vliv konformity těles na tvorbu mazacího filmu. Dále bylo zjištěno, že skleněné čočky pokryté vrstvou chromu pro zvýraznění interferometrie vykazující hydrofobní chování, přispívají k lepší adsorpci proteinů na kontaktních površích. Tím v konečném důsledku dochází k naměření větších tloušťek mazacího filmu. Skleněné čočky pokryté vrstvou oxidu křemičitého vykazující hydrofilní chování a neumožňují téměř žádnou adsorpci proteinů na kontaktních površích. Proto naměřené tloušťky mazacího filmu s těmito čočkami nedosahovaly vysokých hodnot. Při negativním prokluzu (SRR -150 %) v konfiguraci kulička na disk se tloušťka mazacího filmu pohybovala v řádech nanometrů. Nicméně při čistém negativním prokluzu (skleněná čočka byla stacionární) se situace změnou konformity těles odlišovala a hned po zahájení experimentu tloušťka mazacího filmu dosáhla hodnoty 95 nm. Po krátké době tloušťka mazacího filmu opět klesla, a to v závislosti na rychlosti prokluzu, zhruba na 40 nm při 40 mm/s a na 20-25 nm při 10 mm/s (obr. 2.19).



Obr. 2.19 Tloušťka mazacího filmu v závislosti na čase v konfiguraci kulička na čočku, při čistém negativním prokluzu a rychlosti 40 a 10 mm/s; a) vývoj centrální tloušťky mazacího filmu v čase; b) interferogram pro rychlost 40mm/s; c) interferogram pro rychlost 10 mm/s [17]

Hlavním přínosem této práce je poukázání na důležitost konformity třecích povrchů při tvorbě mazacího filmu a také na smáčivost a druh povlaků nanesených na povrchu skleněné čočky.

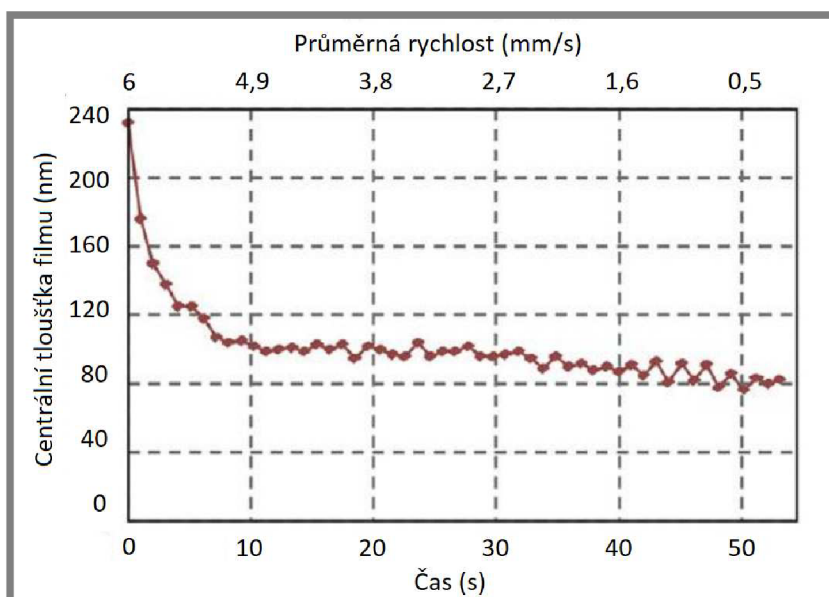
Návrhem experimentální metody, která by umožňovala pozorování tvorby mazacího filmu v kyčelním kloubu s ohledem na skutečnou geometrii třecích ploch včetně radiální vůle se zabývala studie **Vrbka a kol. (2015)** [18]. Experimenty byly prováděny na kyvadlovém zařízení osazeném aparaturou, jež snímala kontakt pomocí kolorimetrické interferometrie. Kontaktní dvojici tvořily skleněná jamka o průměru 28,080 mm spolu s kovovou hlavicí o průměru 27,988 mm za přítomnosti 25% roztoku hovězího séra coby maziva. Princip experimentu spočíval v prvotním vychýlení kyvadla o 16 stupňů z rovnovážné polohy a jeho následném rovnoměrně zpomaleném kmitání v rovině flexe/extenze. Jak soustava kmitala, tak kontakt snímala vysokorychlostní kamera a pomocí interferometrie byla vyhodnocována tloušťka mazacího filmu. Schématický popis aparatury je zobrazen na obr. 2.20. Zatížení mezi skleněnou jamkou a kovovou hlavicí dosahovalo hodnoty 532 N, což v přepočtu odpovídá kontaktnímu tlaku 28,7 MPa.



Obr. 2.20 Schématický popis experimentální aparatury [18]



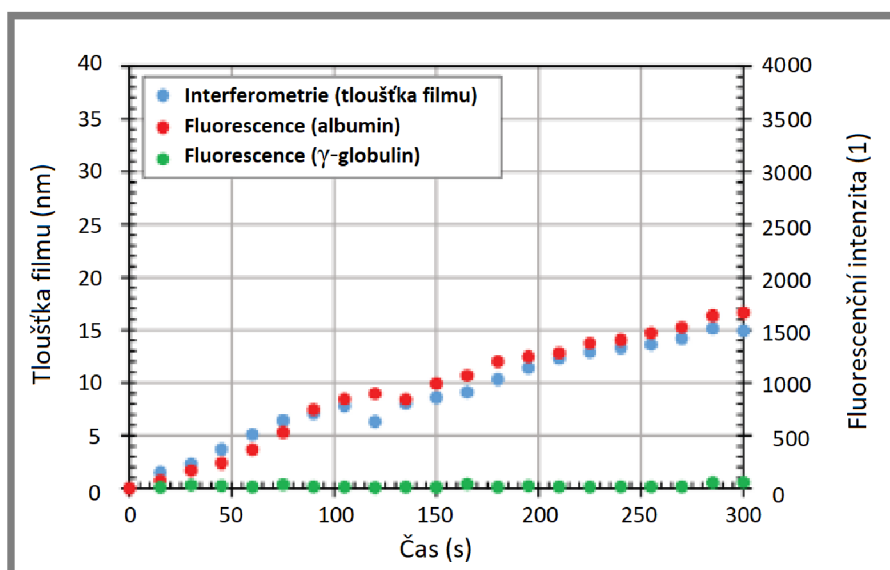
Jak je patrné z obr. 2.21, nejvyšší tloušťka mazacího filmu byla naměřena na počátku experimentu, kdy nabývala hodnoty 230 nm. Po krátké době však poklesla a ustálila se okolo 100 nm. Po zbytek experimentu již pozvolna klesala, přičemž na konci experimentu dosahovala hodnoty 80 nm. Největším přínosem této studie je díky nově použité aparatuře přímý náhled do kontaktu konformní kontaktní dvojice, přičemž výsledky ukázaly, že vliv konformity je naprosto zásadní. Při porovnání výsledků se studií Vrbka a kol. (2014) byla zajištěna určitá podobnost výsledků z hlediska trendu formování filmu, avšak plná konformita třecích povrchů měla za následek zvýšení tloušťky mazacího filmu.



Obr. 2.21 Závislost tloušťky mazacího filmu na čase a rychlosti [18]

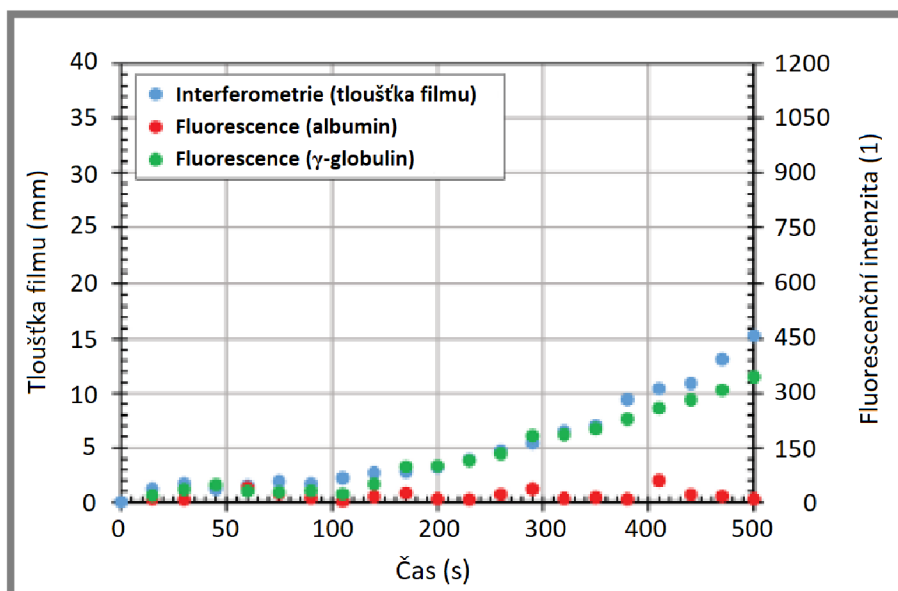
Na tento výzkum navázala další studie **Nečase a kol. (2015)** [19], kteří představili nový experimentální přístup, kdy tloušťka mazacího filmu v kyčelních náhradách byla posuzována z hlediska příspěvků jednotlivých proteinů. K těmto experimentům byla využita kombinace kolorimetrické interferometrie a fluorescenční mikroskopie. Kontakt kovové hlavice a skleněného disku byl zkoumán za různých provozních podmínek. Jako mazivo sloužil fyziologický roztok obsahující proteiny albumin a  $\gamma$ -globulin v poměru 2:1 v různých koncentracích. V případě použití fluorescenční mikroskopie jakožto pozorovací metody, bylo zapotřebí provést každý experiment dvakrát, přičemž pokaždé s jiným obarveným proteinem. Experimenty byly realizovány při rychlostech 5,7 mm/s a 22 mm/s a to jak při částečném pozitivním a negativním prokluzu, tak při čistém valení. Zatížení mezi kovovou kuličkou a skleněným diskem bylo 5 N, neboli 294 MPa v přepočtu na kontaktní tlak. Z obr. 2.22 plyne, že při čistém valení byl trend tloušťky mazacího filmu v závislosti na čase měřený pomocí optické interferometrie rostoucí, přičemž hlavní přínos při tvorbě mazacího filmu byl přičítán zejména albuminu, neboť jeho fluorescenční intenzita dosahuje vysoké shody s optickou interferometrií. Roztok albuminu navíc na konci experimentu dosahoval mnohonásobně větší tloušťky filmu (intenzity) než tomu bylo v případě experimentu s  $\gamma$ -globulinem.



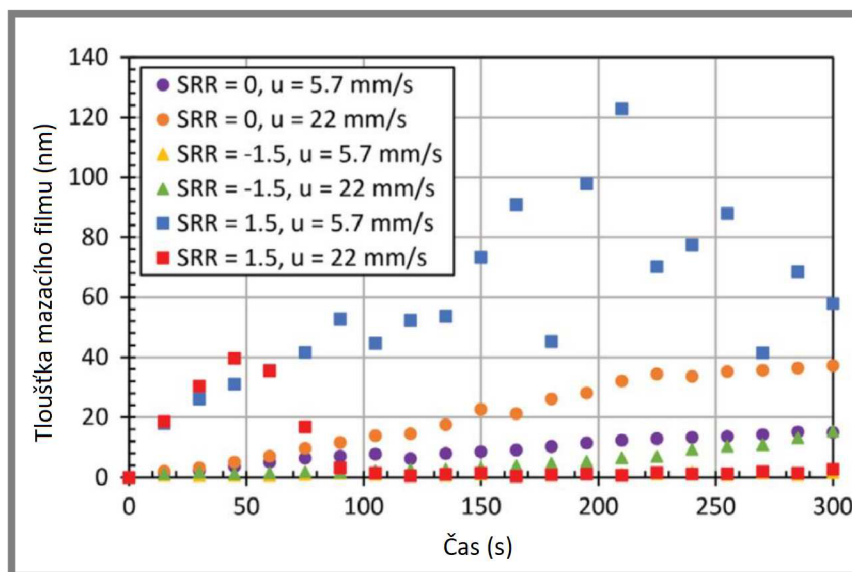


Obr. 2.22 Závislost Tloušťky filmu a fluorescenční intenzity na čase, čisté valení rychlost 22 mm/s [19]

Při experimentech s negativním prokluzem (obr. 2.23) byl pomocí optické interferometrie pozorován taktěž rostoucí vývoj tloušťky filmu v závislosti na čase, avšak tento nárůst tloušťky mazacího filmu byl v případě negativního prokluzu přičítán spíše  $\gamma$ -globulinu, který kopíroval trend interferometrie. V případě albuminu se při negativním prokluzu tvořil jen velice tenký mazací film, který se podílel na tvorbě filmu výraznou měrou méně.



Obr. 2.23 Závislost tloušťky filmu a fluorescenční intenzity na čase, negativní prokluz rychlost 22 mm/s [19]

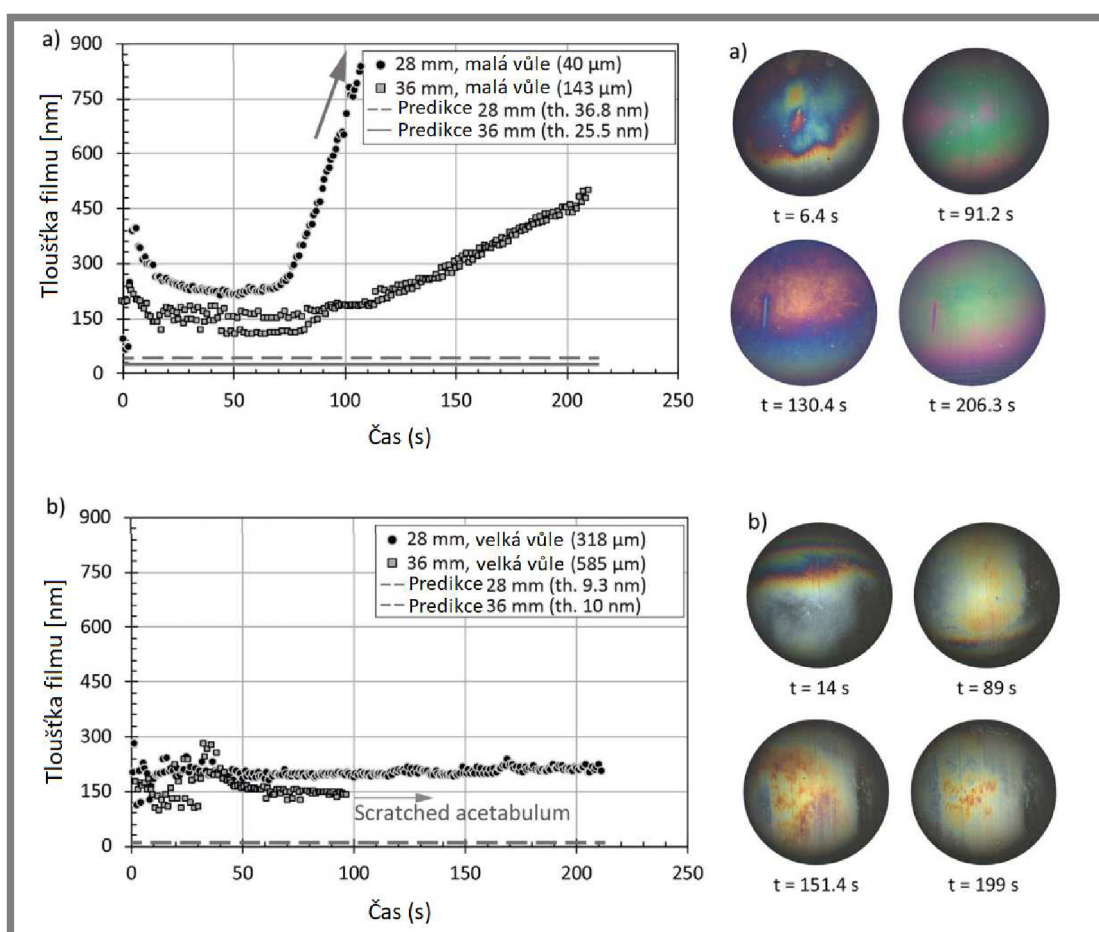


Obr. 2.24 Vývoj tloušťky mazacího filmu jako funkce času, vliv prokluzu [19]

Experimenty sledující vliv prokluzu (obr. 2.24) prokázaly, že při negativním prokluzu (kdy se kulička otáčí rychleji než disk) a nižších rychlostech se tvořil velmi tenký mazací film bez významných vlivů jednotlivých proteinů.

Zvýšení rychlosti vedlo k nárůstu tloušťky mazacího filmu především v důsledku přítomnosti proteinu  $\gamma$ -globulinu. Naopak v případě, kdy byl disk rychlejší než kulička (pozitivní prokluz) byla tvorba filmu velmi komplikovaná a časově závislá, avšak albumin se na tvorbě mazacího filmu podílel mnohem více než  $\gamma$ -globulin. Hlavním přínosem této studie bylo popsání podílu jednotlivých složek synoviální kapaliny na tvorbu mazacího filmu, čehož bylo dosaženo kombinací optické interferometrie a fluorescenční mikroskopie.

**Nečas a kol. (2017)** [20] se zabývali zkoumáním proteinového mazacího filmu v náhradách kyčelního kloubu při uvažování reálné konformity třecích povrchů. Hlavní důraz byl přitom kladen na vliv nominálního průměru kloubní náhrady, její průměrové vůle a materiálů na tvorbu mazacího filmu. Pro tyto účely byl použit kyvadlový simulátor vybavený elektromagnetickými motory, který udržuje stálou periodu kyvu kyvadla. Materiálové kombinace tvořily skleněná jamka a hlavice ze slitiny CoCrMo či keramiky BIOLOX@forte nebo BIOLOX@delta s nominálním průměrem 28 a 36 mm. (liší se i průměrovou vůlí) Na počátku experimentů byla provedena statická zkouška, která byla zaměřena na adsorpci proteinů na třecích plochách. Bylo zjištěno, že vývoj adsorbované vrstvy je mnohem stabilnější v případě kovových hlavice, což naznačuje, že zde působí větší adsorbční síly, než je tomu u keramiky. Následnou dynamickou zkouškou na kyvadle byl zkoumán vliv průměrové vůle na tloušťku mazacího filmu. Ukázalo se, že tloušťka mazacího filmu byla mnohem větší s menší průměrovou vůlí. Zvětšení průměru implantátu z 28 na 36 mm nezpůsobuje podstatný rozdíl ve vývoji tloušťky mazacího filmu. Z výsledků tedy plyne, že průměrová vůle výraznou mírou ovlivňuje tloušťku mazacího filmu jak je patrné na obr.2.25.

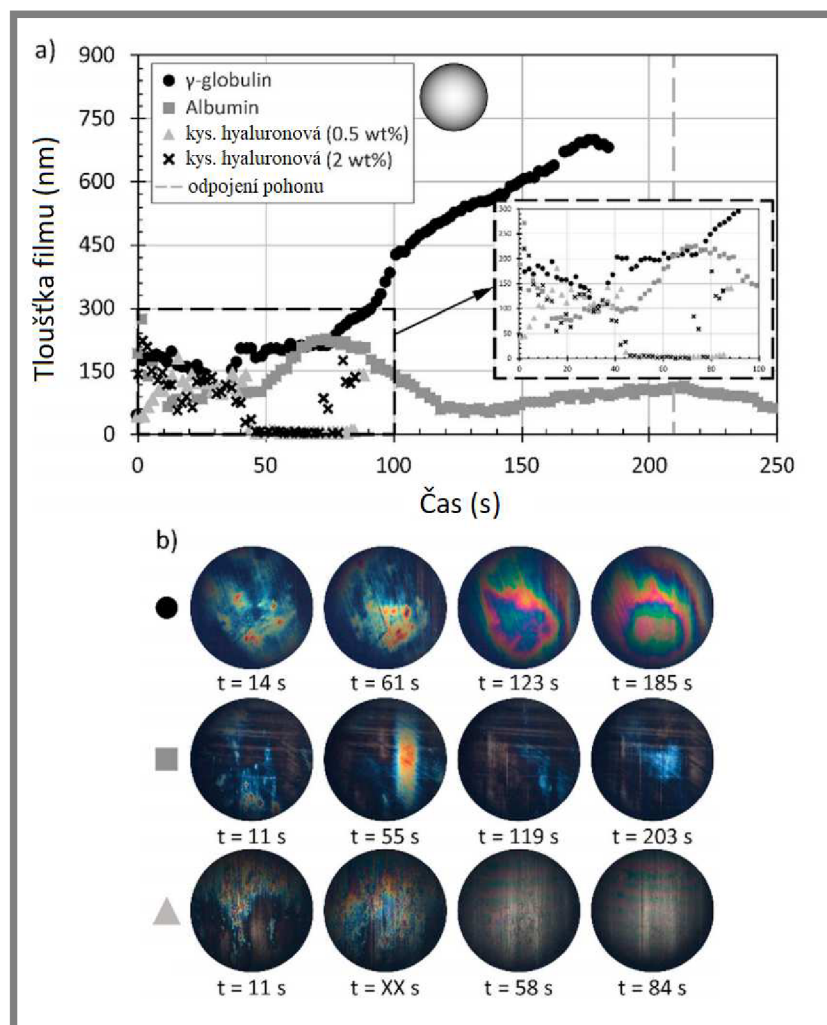


Obr. 2.25 Vývoj tloušťky mazacího filmu jako funkce času s kontaktními dvojicemi o průměru 28 a 36 mm a) malá průměrová vůle b) velká průměrová vůle [20]

Při dynamických testech zkoumajících vliv použitého materiálu na tloušťku mazacího filmu bylo zjištěno, že při použití kovových hlavice byl mazací film tlustější, než tomu bylo u keramických. Tomuto výsledku však také s vysokou pravděpodobností přispěla téměř dvojnásobná průměrová vůle kovových hlavice, než kterou měly keramické. Experimentálně naměřené tloušťky mazacího filmu nabývaly vyšších hodnot, než bylo předpokládáno na základě teoretických predikcí. Tloušťka mazacího filmu je silně závislá na složení synoviální kapaliny, přičemž zahrnout jednotlivé proteiny (jež obsahuje) do predikce vývoje mazacího filmu je velmi složité. Dalším vlivem na výslednou tloušťku mazacího filmu byla jak adsorpce, tak agregace proteinů na artikulujících površích. Výše zmíněné faktory ukazují, že teoretické predikce tloušťky mazacího filmu nemusí být úplně vhodným nástrojem při návrhu implantátu.

**Nečas a kol. (2018)** [24] se zabývali vlivem složení synoviální kapaliny na tvorbu mazacího filmu v kyčelních kloubních náhradách. Experimenty byly provedeny na simulátoru kyčelního kloubu s využitím optické interferometrie. Maziva tvořily následující modelové kapaliny: 25% roztok hovězího séra, roztok albuminu, roztok  $\gamma$ -globulinu, roztok kyseliny hyaluronové o dvou odlišných koncentracích a dvě komplexní kapaliny lišící se koncentrací jednotlivých komponent. Pro experimenty byly využity jak kovové, tak keramické kloubní hlavice v kontaktu se skleněnou jamkou pokrytou vrstvou chromu. Byly provedeny jak statické, tak dynamické

experimenty simulující chůzi, přičemž aplikované zatížení v případě dynamických experimentů činilo 532 N a v případě statických 532, 857, 1157, 1457 a 1757 N. Při statickém zatížení bylo zjištěno, že tloušťka adsorbovaných proteinů je nezávislá na použitém materiálu kloubní hlavice, přičemž v případě testů sledujících vliv aplikovaného zatížení, bylo zjištěno, že s rostoucím zatížením tloušťka adsorbovaných proteinů klesá. V případě dynamického zatížení simulující flexi/extenzi byla naměřená tloušťka mazacího filmu silně závislá na použitém mazivu. V případě obou koncentrací roztoku kyseliny hyaluronové se tvořil velice nestabilní mazací film, který byl nezávislý na zvýšení její koncentrace. V případě použití roztoku  $\gamma$ -globulinu jako maziva se tvořil silnější mazací film než s roztokem albuminu, obr. 2.26. Dále však bylo zjištěno, že koncentrace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů v komplexní kapalině výrazným způsobem ovlivňují tvorbu mazacího filmu.



Obr. 2.26 Závislost tloušťky mazacího filmu na čase pro různé modelové kapaliny [24]



### 3 ANALÝZA PROBLÉMU A CÍL PRÁCE

3

3.1

#### 3.1 Analýza poznatků získaných z rešerše

Předchozí rešerše obsahuje stručný přehled studií zabývajících se analýzou mazání v náhradách kyčelního kloubu. První experimenty se nezaměřovaly na konformitu třecích povrchů a hlavní snahou autorů bylo objasnit jakým způsobem proteiny obsaženy v modelové kapalině ovlivňují tvorbu a výslednou tloušťku mazacího filmu. Tyto studie [10-16] proto využívaly při realizaci experimentu optický tribometr s konfigurací kontaktní dvojice kulička na disk. Nejčastěji používaným mazivem v těchto člancích bylo hovězí sérum a jeho roztoky (převážně 25% roztok, který je nejvíce podobný lidské synoviální kapalině). [12] Výsledkem zkoumání bylo zjištění, že proteiny hrají velice důležitou roli v celém procesu utváření mazacího filmu. Hlavním důvodem k odlišné tvorbě mazacího filmu synoviální kapaliny od predikcí je fakt, že tato kapalina vykazuje neneutonské chování. [12] Tyto studie [10-15] se také zaměřovaly na vliv použitého zatížení a kinematických podmínek, kterými byly rozdílná rychlost a velikost prokluzu. Tyto faktory rovněž vedou k ovlivnění výsledného mazání a snahou autorů bylo změnou těchto faktorů co největší přiblížení k podmínkám v reálné kloubní náhradě.

Následný výzkum vedl k zahrnutí částečné konformity třecích povrchů [17], a tedy i faktickému přiblížení experimentů reálné kloubní náhradě. Tato úprava znamenala záměnu skleněného disku za čočku. Důsledkem této změny výraznou měrou poklesl Hertzův kontaktní tlak, což mělo pozitivní dopad na zpřesnění výsledků měření. Mezi další přínosy výzkumu [17] patřila analýza vlivu různých povlaků skleněných čoček na množství adsorbovaných proteinů na jejím povrchu a tím v konečném důsledku výrazné ovlivnění výsledné tloušťky mazacího filmu.

Novodobé studie [18, 20] již využívají plné konformity třecích povrchů, což přináší reálný náhled na mazání, resp. tvorbu mazacího filmu v kyčelních kloubních náhradách. K těmto účelům byl aplikován simulátor kyčelního kloubu osazen aparaturou využívající optickou interferometrii. Mimo jiné se tyto studie zabývaly vlivem použitého materiálu kloubní hlavice (CoCrMo, BIOLOX®forte, BIOLOX®delta) a také vlivem nominálního průměru kontaktní dvojice na výslednou tvorbu mazacího filmu. Hlavní nevýhoda studií [18, 20] spočívala v nemožnosti objasnění vlivu jednotlivých složek synoviální kapaliny na tvorbu mazacího filmu, neboť optická interferometrie vyhodnocuje tloušťku mazacího filmu kvantitativně, avšak bližší pohled na mazání z hlediska příspěvků jednotlivých proteinů neumožňuje. Možností analyzovat mazání pomocí příspěvků jednotlivých proteinů se zabývala práce [19], která k tomuto účelu využívala fluorescenční mikroskopii. V této studii byl prezentován postup tvorby modelových kapalin s ohledem na následnou analýzu mazání z hlediska jednotlivých složek modelové kapaliny. Hlavní nevýhodou však bylo, že experimenty probíhaly v konfiguraci kulička na disk a tudíž nekopírovaly reálnou konformitu kloubní náhrady. V dosavadní odborné literatuře proto doposud chybí experimentální přístup popisující přínos jednotlivých složek synoviální kapaliny na procesy mazání při zachování plné (reálné) konformity kontaktní dvojice. Zároveň všechny dosavadní publikace pracovaly s kombinacemi kov/keramika na sklo, což lépe odpovídá tvrdým párům kov-kov, keramika-keramika, přičemž v současnosti jsou v ortopedii dominantní spíše takzvané měkké páry neboli kovové či keramické hlavice artikulující s polymerní jamkou. Tato diplomová práce se tedy bude zabývat možnostmi analyzovat vliv jednotlivých složek

synoviální modelové kapaliny na mazání s využitím plné konformity třecích povrchů při uvažování měkkých třecích párů.

3.2

### **3.2 Analýza problému**

Tribologické procesy v kloubních náhradách zásadně ovlivňují správnou funkčnost a v konečném důsledku i životnost implantátu. Doposud se přitom nepodařilo objasnit, jaká je role jednotlivých proteinů obsažených v synoviální kapalině na procesy mazání při uvažování reálné geometrie povrchů měkkých třecích párů. Tato znalost může výrazně přispět k dalšímu vývoji náhrad při snaze zabránit jejich selhávání a následné nutnosti revizních operací.

3.3

### **3.3 Cíl práce**

Hlavním cílem práce je objasnit proces utváření mazacího filmu v náhradách kyčelního kloubu při uvažování reálné geometrie třecích povrchů se zaměřením na roli jednotlivých proteinů obsažených v synoviální kapalině.

#### **Dílčí cíle diplomové práce:**

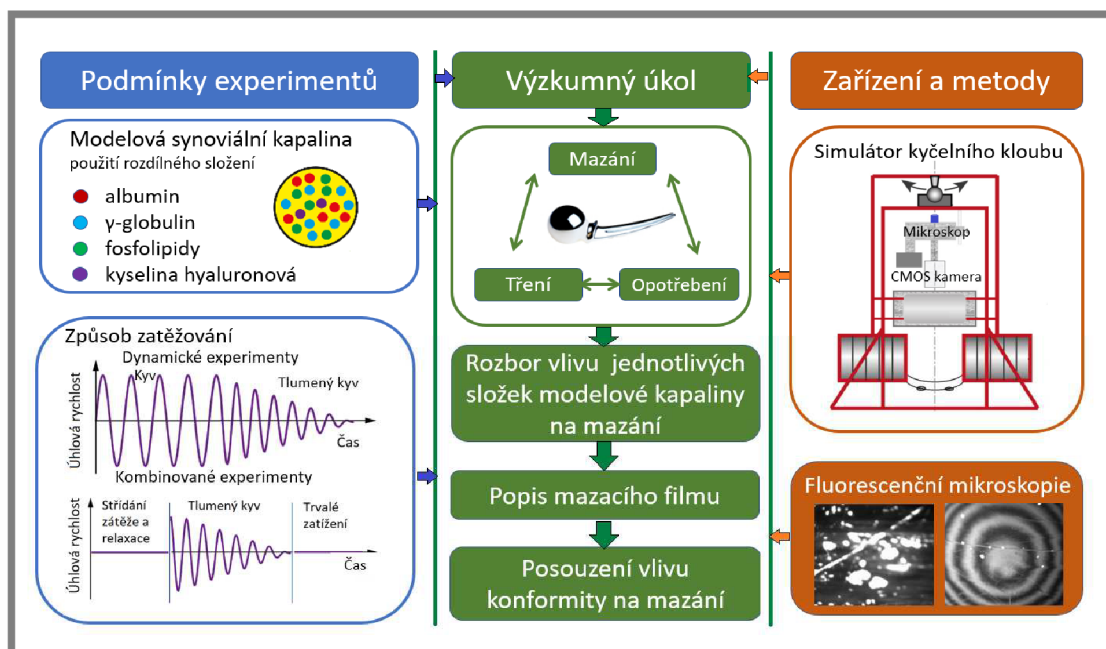
- odladit metodiku hodnocení formování mazacího filmu s využitím fluorescenční mikroskopie při uvažování reálné konformity povrchů
- vytvořit různé modelové kapaliny umožňující stanovit vliv jednotlivých obsažených složek na mazací procesy
- experimentálně popsat vývoj mazacího filmu v kontaktu kyčelní náhrady
- posoudit vliv konformity kontaktu na procesy mazání

## 4 MATERIÁL A METODY

### 4.1 Postup řešení a jeho schéma

4.1

Řešení diplomové práce bylo realizováno podle sestaveného výzkumného plánu. Schéma tohoto plánu je znázorněno na obr. 4.1

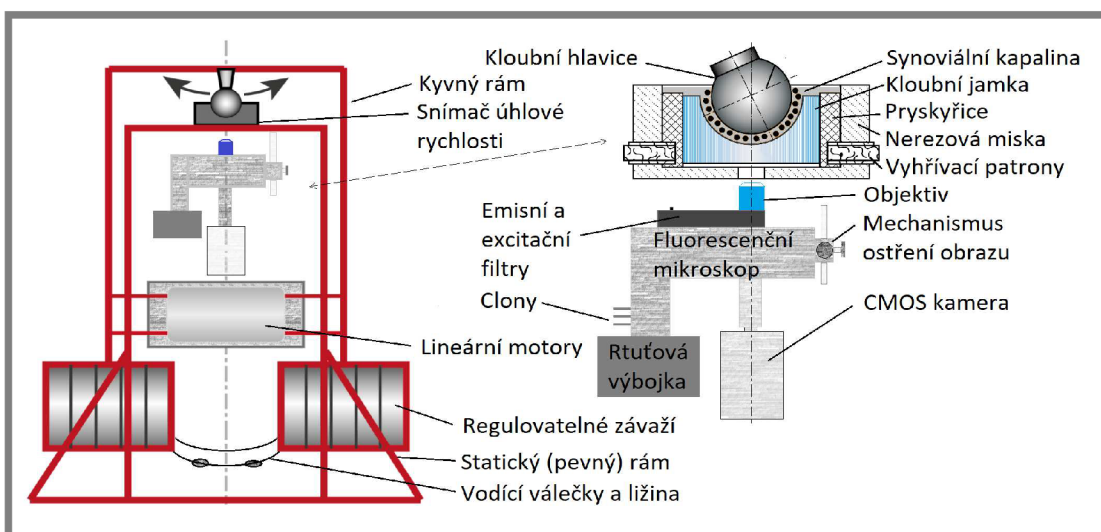


Obr. 4.1 Schéma postupu řešení

4.2

### 4.2 Experimentální aparatura

Pro analýzu mazání TEP kyčle sloužil simulátor kyčelního kloubu, který byl upraven a osazen modulem umožňující zkoumat mazání pomocí fluorescenční mikroskopie. Simulátor kyčelního kloubu byl vyvinut na Ústavu Konstruování v rámci studentského projektu, nicméně následná úprava a odladění fluorescence na tomto zařízení již byla předmětem tohoto výzkumu. Kompletní schéma zařízení lze vidět na obr. 4.2.



Obr. 4.2 Schéma experimentální aparatury umožňující analýzu mazání TEP kyčle

Simulátor kyčelního kloubu je zařízení, které umožňuje zkoumání procesu mazání kyčelních kloubních náhrad při zachování reálné konformity kontaktní dvojice. Hlavním prvkem je statický ocelový rám tvořený uzavřenými obdélníkovými profily. Statický rám umožňuje pohyb kyvného rámu, přičemž vzájemný styk obou součástí je realizován pomocí kloubní jamky v kontaktu s kloubní hlavicí. Z důvodu regulace kyvu do jedné osy je pohyb nadále usměrňován pomocí čtyř vodících válečků v kontaktu s ližinou. Kloubní jamka je zalita pomocí pryskyřice do nerezové misky, která je nasazena na statický rám. Zatímco rovnoměrný kývavý pohyb kyvného rámu zajišťují lineární motory, tak záznam z celého experimentu je pořizován pomocí aparatury složené z fluorescenčního mikroskopu, světelného zdroje (rtuťové výbojky), clony, excitačního a emisního filtru, mechanismu ostření, objektivu a vysokorychlostní CMOS kamery Andor. Údaj o vychýlení kyvadla poskytuje snímač úhlové rychlosti. Naměřené hodnoty úhlové rychlosti jsou následně ukládány pomocí softwaru DEWEsoft. Výstupem z každého experimentu je záznam z CMOS kamery, který je pro lepší zpracovatelnost převáděn na jednotlivé snímky. V další fázi vyhodnocení experimentu jsou filtrovány ze všech snímků pořízených během experimentu snímky z krajních a rovnovážných poloh kyvu, přičemž filtrování těchto nezbytných snímků z celého záznamu obstarává skript v softwaru Matlab, do kterého se nahrává záznam z vysokorychlostní kamery a snímače úhlové rychlosti. Po filtrování nezbytných snímků se provádí kvantitativní analýza světelné intenzity a její hodnoty v čase se zapisují do grafů. Fotografie měřicího zařízení lze vidět na obr. 4.3

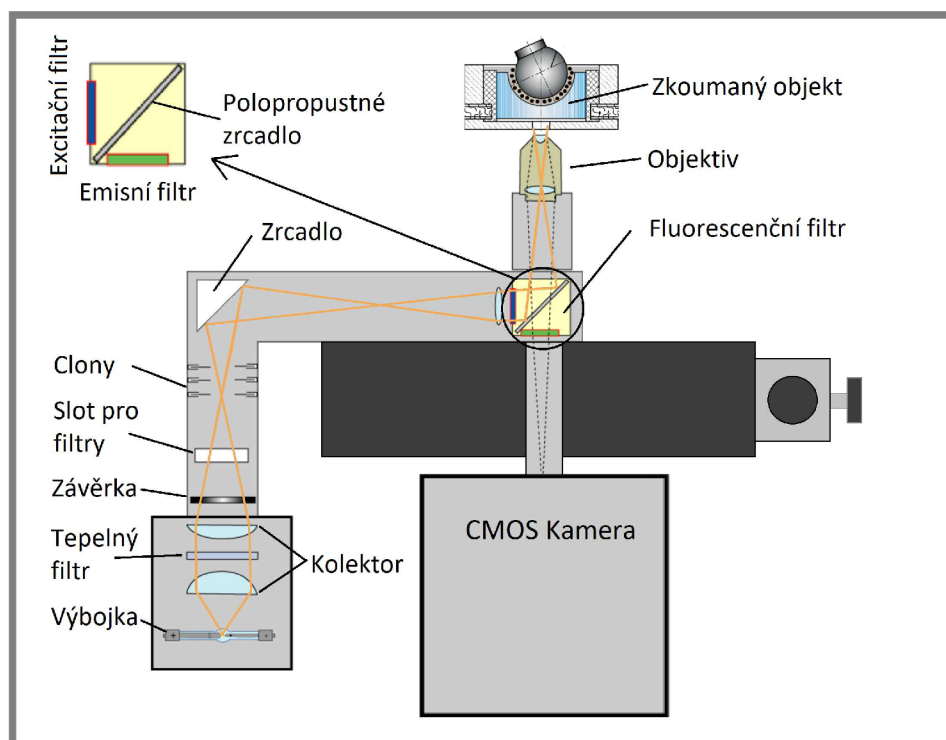


Obr. 4.3 Experimentální zařízení využívající fluorescenční mikroskopie



### 4.3 Fluorescenční mikroskopie

Pro analýzu mazání TEP kyčelního kloubu je využito metody fluorescenční mikroskopie. Fluorescence je jev, při němž molekuly některých látek absorbují světelné záření (excitace) a následně jej ve velmi krátkém čase (1-10 ns) opět vyzáří (emise) v podobě světla o vyšší vlnové délce. Rozdíl mezi vlnovými délkami absorbovaného a vyzářeného světla je spojen s poklesem energie. U látek, které jsou schopny fluorescence samy o sobě, mluvíme o autofluorescenci (primární fluorescenci). Látky, u nichž fluorescence dosáhneme pomocí fluorescenčních barviv, indikujeme jako nepřímou (sekundární) fluorescenci. Hlavní výhodou fluorescenční mikroskopie je vysoká citlivost a možnost používat malé koncentrace detekčních činidel, což má za následek malé ovlivnění zkoumaného vzorku. [21] Důležitou součástí fluorescenčního mikroskopu je zdroj světla. V případě využívaného experimentálního zařízení se jedná o rtuťovou výbojku. Princip vzniku světla ve výbojce spočívá v ionizaci par rtuti při průchodu vysokého napětí mezi anodou a katodou výbojky. Schéma fluorescenčního mikroskopu lze vidět na obr. 4.4. Vzniklé bílé světlo prochází kolektorem, tepelným filtrem, závěrou, polní a aperturní clonou do sady fluorescenčních filtrů, odkud dále pokračuje přes objektiv na zkoumaný objekt. Zde dochází k samotné fluorescenci a průchodu světla zpět přes objektiv do sady fluorescenčních filtrů. Oddělení emisního světla od excitačního probíhá v sadě fluorescenčních filtrů, odkud emisní záření pokračuje k vysokorychlostní kameře.

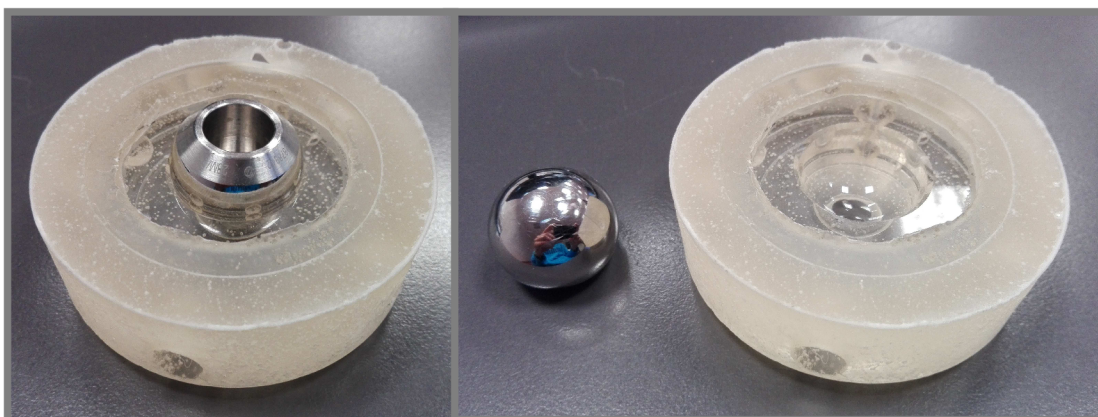


Obr. 4.4 Schéma fluorescenčního mikroskopu

### 4.4 Testované vzorky

Pro analýzu mazání TEP kyčelního kloubu byly použity kloubní hlavice od firmy Zimmer. Hlavice byly vyrobeny ze slitiny CoCr, přičemž jejich nominální průměr byl 28 mm, obr. 4.5. Uchytení kloubní hlavice ke kyvnému rámu probíhalo pomocí

kuželového trnu, jež sestával ze dvou hlavních ploch, kuželové a válcové. Kuželová plocha trnu se vsazuje do kloubní hlavice a válcová plocha do kyvného rámu.



Obr. 4.5 Kloubní hlavice ze slitiny CoCr a polymerní kloubní jamka (PMMA)

Kloubní jamky byly vyrobeny z opticky čirého polymerního materiálu (PMMA-polymethylmetakrylátu), z důvodu možnosti průchodu emisního a excitačního světelného záření skrz jamku, obr. 4.5. Vnitřní průměr jamek byl 28,08 mm, přičemž maximální úhel náklonu mezi staticky uchycenou kloubní jamkou a kloubní hlavicí byl v rozsahu  $\pm 16^\circ$ . Kontaktní oblast měla při zatížení 500 N průměr 17,2 mm, přičemž vyhodnocovaná oblast měla rozměr 1,4x1,4 mm a nacházela se ve středu kontaktu. Použitelnost kloubní jamky a hlavice byla neustále kontrolována tak, že vždy před započítím nového experimentu byla zkoumána topografie jednotlivých povrchů. Pakliže bylo zjištěno výrazných rozdílů hodnot drsnosti od hodnot nepoužitých komponent, došlo k jejich výměně. Drsnost kloubních hlavice a jamek byla zpravidla zkoumána na 4 rozdílných místech, z důvodu dosažení reprezentativnějších výsledků měření topografie daných těles. Samotné měření topografie těles probíhalo na optickém profilometru Bruker ContourGT-X8.

#### 4.5

### 4.5 Použitá maziva

Jelikož synoviální kapalina v lidském těle není látka schopna autofluorescence, bylo zapotřebí upravení zkoumaných maziv. Tato úprava spočívala v navázání fluorescenčních barviv (fluoroforů) vždy k jedné z komponent maziva (proteinům a kyselině hyaluronové), přičemž takto upravený proteinový roztok bylo již možné pozorovat za použití fluorescenční mikroskopie. Protein albumin a kyselina hyaluronová byly označeny za pomoci rhodamin-B-isothiocyanatu, přičemž protein  $\gamma$ -globulin byl označen za pomoci fluorescein-5-isothiocyanatu. Příprava a celkové obarvení proteinů proběhlo ve Fakultní nemocnici Olomouc, se kterou Ústav konstruování dlouhodobě spolupracuje. Tvorba modelových kapalin, jež obsahuje obarvené a neobarvené proteiny spolu s ostatními látkami byla prováděna na Ústavu konstruování. Tyto modelové kapaliny vznikaly přesným navážením každé z komponent a následným rozpuštěním v roztoku PBS s obarvenou složkou. Koncentracemi jednotlivých komponent odpovídají používané modelové kapaliny nové komplexní kapalině interně označené K2/K3, jež odpovídá svým složením synoviální kapalině zdravého jedince. Po namíchání modelových kapalin se vzorky po zabalení do hliníkové fólie uložily do mrazničky. Před samotným experimentem

bylo zapotřebí vzorky vystavit laboratorní teplotě po dobu 30 minut, přičemž nesměly být umístěny na slunečním záření, kterým by došlo k vysvícení maziva. Použitelnost maziva byla po vytáhnutí z mrazničky okolo 120 minut. Celkový přehled použitých modelových kapalin je uveden v tabulce 4-1.

Tab. 4.1 Přehled a složení modelových kapalin

Číslo	Koncentrace obarvených proteinů	Koncentrace ostatních látek	Použitý roztok
1	albumin 24,9 mg/ml	-	PBS 4ml
2	$\gamma$ -globulin 6 mg/ml	-	PBS 4ml
3	albumin 24,9 mg/ml	$\gamma$ -globulin 6 mg/ml	PBS 4ml
4	$\gamma$ -globulin 6 mg/ml	albumin 24,9 mg/ml	PBS 4ml
5	albumin 24,9 mg/ml	$\gamma$ -globulin 6 mg/ml, kyselina hyaluronová 1,49 mg/ml	PBS 4ml
6	$\gamma$ -globulin 6 mg/ml	albumin 24,9 mg/ml, kyselina hyaluronová 1,49 mg/ml	PBS 4ml
7	albumin 24,9 mg/ml	$\gamma$ -globulin 6 mg/ml, kyselina hyaluronová 1,49 mg/ml, fosfolipidy 0,34 mg/ml	PBS 4ml
8	$\gamma$ -globulin 6 mg/ml	albumin 24,9 mg/ml, kyselina hyaluronová 1,49 mg/ml, fosfolipidy 0,34 mg/ml	PBS 4ml
9	kys. hyaluronová 1,49 mg/ml	$\gamma$ -globulin 6 mg/ml, albumin 24,9 mg/ml, fosfolipidy 0,34 mg/ml	PBS 4ml
10	kys. hyaluronová 1,49 mg/ml	$\gamma$ -globulin 6 mg/ml, fosfolipidy 0,34mg/ml	PBS 4ml
11	kys. hyaluronová 1,49 mg/ml	fosfolipidy 0,34mg/ml, albumin 24,9 mg/ml	PBS 4ml
12	kys. hyaluronová 1,49 mg/ml	fosfolipidy 0,34mg/ml	PBS 4ml
13	kys. hyaluronová 1,49 mg/ml $\gamma$ -globulin 6 mg/ml, albumin 24,9 mg/ml	fosfolipidy 0,34mg/ml	PBS 4ml

## 4.6 Podmínky experimentů

4.6

Experimenty byly rozděleny do dvou částí podle druhu zatěžování – dynamické a kombinované. Pro každý druh experimentu byl stanoven postup měření a byly zvoleny podmínky, za kterých experimenty probíhaly.

### 4.6.1 Postup měření a podmínky experimentu – dynamické zatěžování

Při provádění dynamických experimentů byl dodržován následující postup

1. Měření topografie kloubní hlavice a jamky
2. Montáž fluorescenčního mikroskopu včetně objektivu a fluorescenčního filtru
3. Vytáhnutí modelové kapaliny z mrazničky
4. Zapnutí simulátoru kyčelního kloubu a resetování pohonné jednotky
5. Instalace kamery a rtuťové výbojky, spuštění obou zařízení

6. Zaostření obrazu a nalezení kontaktu
7. Očištění jamky a hlavice
  - a. Očištění v 1% roztoku SDS (sodiumdodecylsulfát)
  - b. Opláchnutí v tekoucí vodě
  - c. Očištění izopropylalkoholem
8. Kalibrace snímače úhlové rychlosti, spuštění softwaru DEWEsoft
9. Usazení jamky a hlavice, zalití kontaktu mazivem
10. Zahájení samotného experimentu
  - a. Zatížení jamky a hlavice na hodnotu 500 N
  - b. Zahájení ukládání dat ze snímače úhlové rychlosti, zahájení ukládání dat z kamery po dobu 200 sekund
  - c. Rozkývání kyvadla pomocí lineárních motorů, kontrola hodnoty správné výchylky kyvadla  $\pm 16^\circ$
  - d. Po uplynutí 180 sekund vypnutí motorů a samovolné dokmitání kyvadla
11. Vyhodnocení experimentu

Po vytažení modelové kapaliny z mrazničky bylo zapotřebí skladování tohoto maziva po celou dobu experimentu na stinném místě. Sluneční záření by mělo za následek vysvícení fluorescenčního barviva doprovázené výrazným poklesem naměřených hodnot světelné intenzity. Po aplikaci modelové kapaliny do kloubní jamky bylo zapotřebí zasunutí polní a aperturní clony z důvodu zamezení vysvícení barviva. Tyto filtry se vysunovaly pouze při samotném experimentu. K samotnému zatěžování a odtěžování docházelo pomocí otáčení trapézového šroubu, na kterém je uchycen kyvný rám se závažím, přičemž celkové zatížení mezi kloubní jamkou a hlavici činilo 500 N. Tato hodnota zatížení nejlépe odpovídá reálné hodnotě zatížení v lidském kloubu při uvažování pomalé chůze bez rázů. Před provedením každého dynamického experimentu byla měřena topografie povrchu artikulujících součástí. Pomocí této metody bylo posuzováno opotřebení jednotlivých součástí a následná vhodnost k dalšímu použití. Při experimentech zaměřených na detekci obarveného albuminu byla použita snímkovací frekvence 72 snímků za sekundu a při experimentech zaměřených na detekci obarveného  $\gamma$ -globulinu byla snímkovací frekvence snížena na 25 snímků za sekundu. Toto snížení bylo provedeno z důvodu dosažení vyšších intenzit zachyceného záření. Rozlišení záznamové plochy činilo 1920x1080 pixelu. Zmenšení rozlišení záznamové plochy z plného rozlišení bylo provedeno s ohledem na velikost kontaktní plochy a také s ohledem na velikost paměti RAM v samotné kameře. Pro vyhodnocování snímku byla následně oblast ještě zmenšena na 1080x1080 pixelů z důvodu lepší reprezentace kontaktní oblasti.

#### 4.6.2 Postup měření a podmínky experimentu – kombinované zatěžování

Při provádění experimentů s kombinovanou zátěží byl dodržován následující postup

1. Měření topografie kloubní hlavice a jamky
2. Montáž fluorescenčního mikroskopu včetně objektivu a fluorescenčního filtru
3. Vytáhnutí modelové kapaliny z mrazničky
4. Instalace kamery a rtuťové výbojky, spuštění obou zařízení
5. Zaostření obrazu a nalezení kontaktu
6. Očištění jamky a hlavice (stejný postup jako dynamické zatěžování)
7. Usazení jamky a hlavice, zalití kontaktu mazivem



8. Zahájení samotného experimentu
  - a. Opakování 10 cyklů zatížení (po dobu 10 sekund) a relaxace (po dobu 20 sekund), pořizování snímků oblasti při každém zatížení
  - b. Vychýlení kyvadla o 16°, samovolné dokmitání a nahrávání dat na vysokorychlostní kameru
  - c. Trvalé zatížení po dobu 10 minut a pořizování snímků každých 30 sekund
9. Vyhodnocení experimentu

Postup měření pro kombinované zatěžování je odvozen od postupu pro dynamické zatěžování. Hlavním rozdílem je, že během celého experimentu není využíván lineární motor pro pohyb kyvného rámu. V první fázi experimentu nedochází k artikulaci kloubní jamky a hlavice vůbec (tedy statická část) a v další fázi experimentu je kyvadlo vychýleno z rovnovážné polohy manuálně. Cílem kombinovaných experimentů je simulace stavu, kdy pacient s kyčelní kloubní náhradou kombinuje statické zatížení (stání na nohou) s pohybem a odpočinkem.

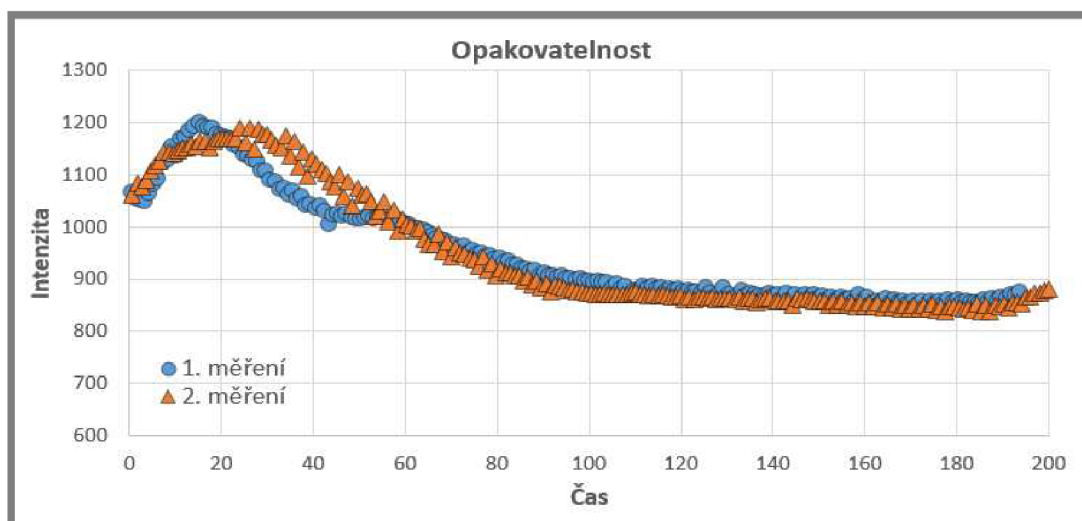
#### **4.6.3 Plán experimentů**

Experimenty byly zaměřeny na rozbor vlivu složení modelové kapaliny. Opakovatelnost byla prováděna u jednoduchých proteinových roztoků a sloužila převážně k odladění celé metody. Jak dynamické, tak kombinované experimenty byly provedeny se všemi uvedenými mazivy. Výstupem z každého experimentu byla závislost fluorescenční intenzity na čase. Azushima [25] popsal princip lineární závislosti mezi fluorescenční intenzitou a tloušťkou mazacího filmu, přičemž pomocí fluorescenční mikroskopie sice není možné určit v případě této diplomové práce vzhledem k určitým limitacím souvisejícími s použitými materiály (např. efekt samozhášení fluorescence v důsledku přítomnosti chromu) přesnou hodnotu tloušťky mazacího filmu, ale lze jí kvalitativně popsat mazací film ve smyslu trendů. Lze tedy říct, že například pokles fluorescenční intenzity z hodnoty 1000 na 500 znamená snížení hodnoty tloušťky mazacího filmu na polovinu. Tento princip bude využíván při popisu mazacího filmu v této diplomové práci.

## 5 VÝSLEDKY

### 5.1 Dynamické zatěžování

Pomocí dynamických experimentů byl zkoumán vliv jednotlivých složek modelové kapaliny na proces mazání v kloubní náhradě s reálnou konformitou třecích povrchů simulující chůzi pacienta. Princip těchto experimentů spočíval ve vychylování kyvného rámu simulátoru kyčelního kloubu z rovnovážné polohy o  $\pm 16^\circ$  za pomoci lineárních motorů. Experimenty probíhaly po dobu 200 sekund, přičemž odpojení pohonu nastávalo po uplynutí 180 sekund následované samovolným dokmitáním do rovnovážné polohy. Z důvodu omezených možností fluorescenčního označování jednotlivých složek modelové kapaliny byla vždy označena jen jedna látka, přičemž v průběhu experimentu byla zkoumána její fluorescenční intenzita. Měření proto bylo rozčleněno na experimenty s obarveným albuminem, s obarveným  $\gamma$ -globulinem a s obarvenou kyselinou hyaluronovou. K přesnému popisu dějů probíhajících během experimentu stačilo analyzovat mazací film v krajních (vychýlení  $\pm 16^\circ$ ) a v rovnovážných polohách (vychýlení  $0^\circ$ ). Mezi těmito místy dochází pouze ke změně hodnot světelné intenzity od jedné polohy k druhé. Z důvodů použití rozdílných fluorescenčních barviv a jejich koncentrací sloužících k fluorescenčnímu označení proteinů či kyseliny hyaluronové, byly naměřeny rozdílné počáteční hodnoty světelné intenzity každé z látek. Aby bylo možné jednotlivé experimenty porovnávat, byla zavedena normovaná intenzita všech experimentů v krajní poloze (amplitudě) na počáteční hodnotu 1000. Z důvodu omezeného množství modelových kapalin byl každý experiment proveden pouze jednou. Aby byla minimalizována chyba interpretovaných výsledků byla nejprve měřící aparatura odladěna sadou verifikačních experimentů. Pro odladění přitom nejprve sloužil minerální olej a konečné ověření probíhalo s jednoduchými modelovými kapalinami, konkrétně s roztokem obarveného  $\gamma$ -globulinu a roztokem obarveného albuminu. Výsledek odladění zařízení při dynamických experimentech je možno vidět na obr. 5.1. Průměrná odchylka mezi jednotlivými experimenty činila 2,5 %.

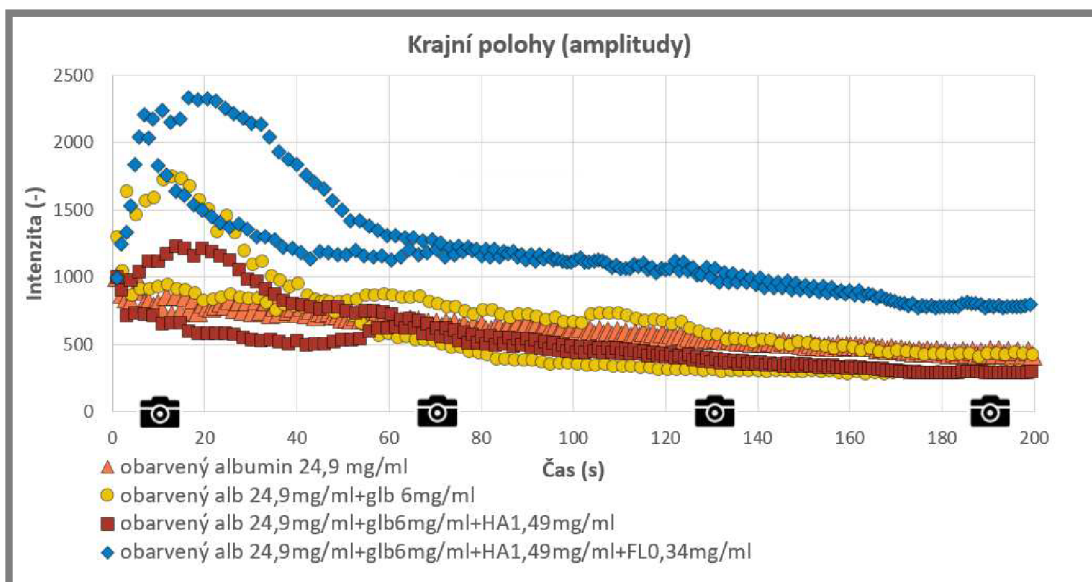


Obr. 5.1 Závislosti intenzity na čase, opakovatelnost

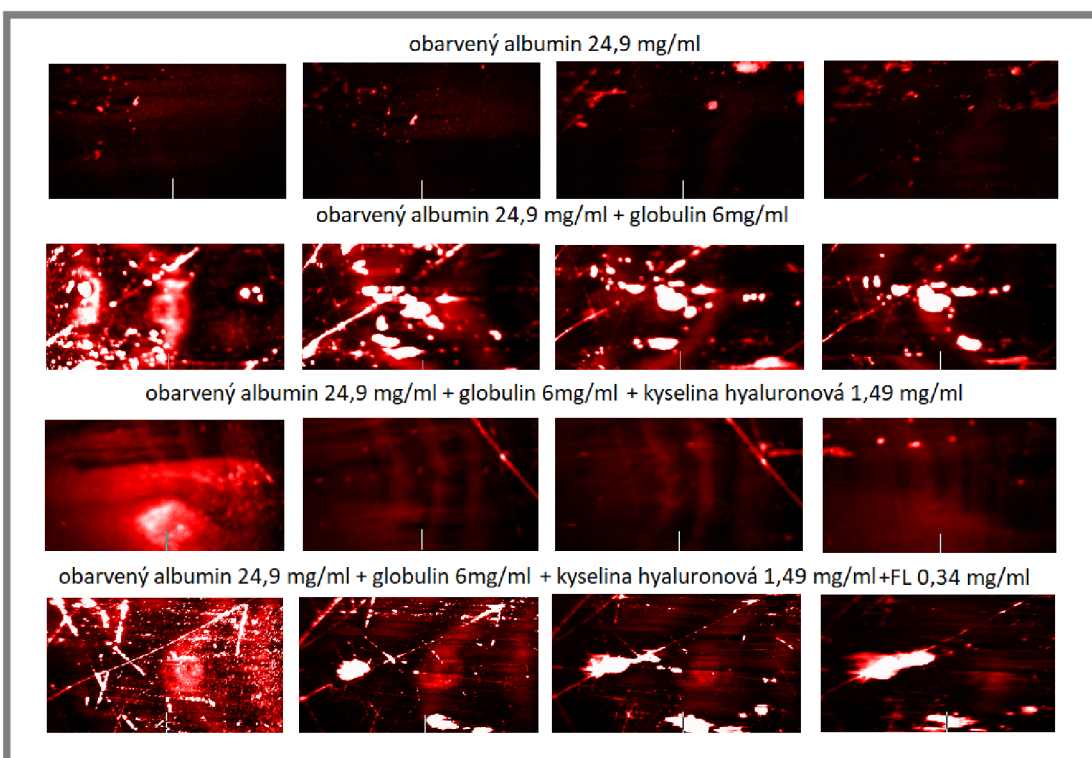
#### 5.1.1 Dynamické zatěžování-experimenty s obarveným albuminem

Experimenty byly provedeny s kovovou hlavicí (CoCr) a PMMA jamkou, přičemž jako mazivo sloužily roztoky obarveného albuminu v PBS (na grafu oranžová barva) obarveného albuminu a  $\gamma$ -globulinu v PBS (na grafu žlutá barva) obarveného

albuminu,  $\gamma$ -globulinu a kyseliny hyaluronové v PBS (na grafu hnědá barva) a obarveného albuminu,  $\gamma$ -globulinu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů v PBS (na grafu modrá barva). Výsledky těchto měření jsou zaznamenány v grafech 5.2 a 5.4. Vybrané fluorescenční snímky z těchto experimentů pořízené v časech 10, 70, 130, 190 sekund jsou na obr 5.3 a 5.5.



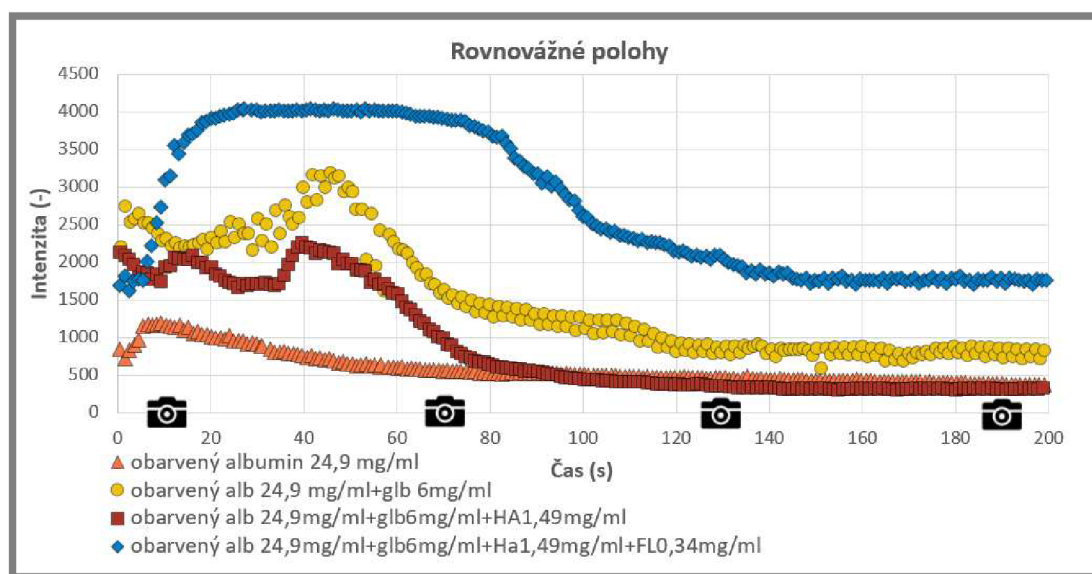
Obr. 5.2 Závislosti intenzity v krajních polohách na čase-experimenty s obarveným albuminem



Obr. 5.3 Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným albuminem, krajní polohy

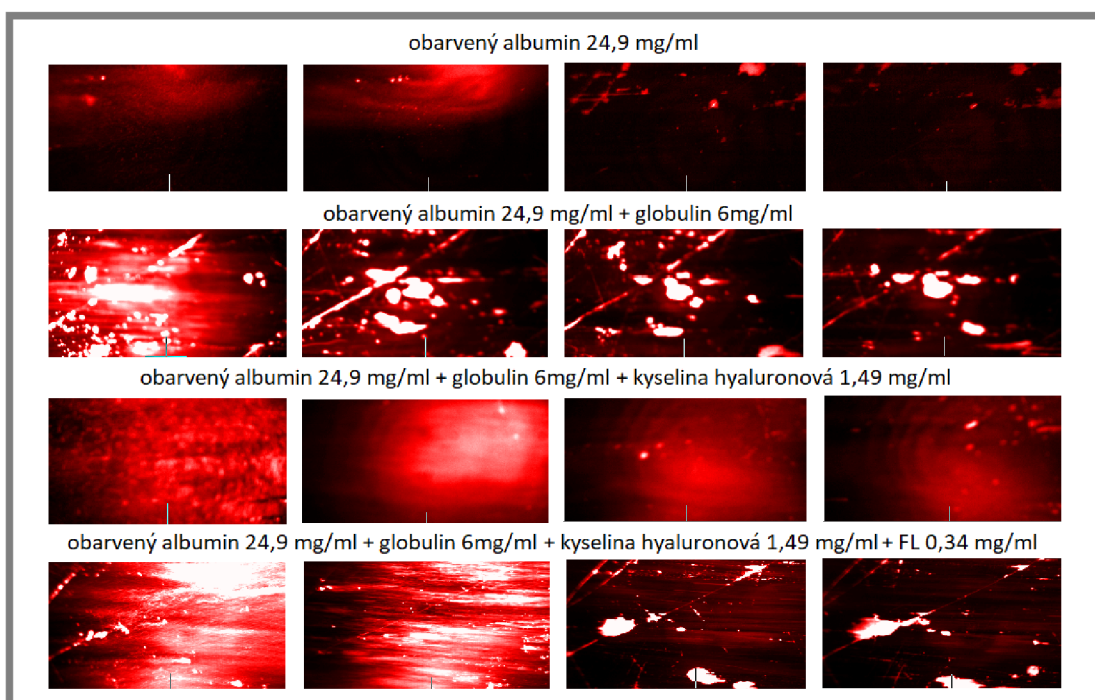
V krajních polohách byly naměřeny nejvyšší hodnoty světelné intenzity při použití modelové kapaliny složené z obarveného albuminu,  $\gamma$ -globulinu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů (na grafu vyznačené modrou barvou). Téměř ihned po

zahájení experimentu s touto kapalinou vzrostla světelná intenzita na hodnotu 2300. Poté zprvu strměji, následně pozvolněji klesala intenzita až do odpojení pohonu ve 180 sekundě, kdy dosahovala hodnoty 800. S touto modelovou kapalinou se tvořily také největší proteinové shluky, které jak je patrné z obr. 5.2 adsorbovaly na povrchu PMMA jamky. Naopak nejnižších hodnot světelné intenzity bylo naměřeno s mazivy složenými z obarveného albuminu (na grafu oranžová barva) a obarveného albuminu,  $\gamma$ -globulinu a kyseliny hyaluronové (na grafu vyznačené hnědou barvou). S těmito mazivy světelná intenzita dosahovala maximální hodnoty téměř ihned po zahájení experimentu, přičemž v případě obarveného albuminu dosahovala hodnoty 1050 a v případě obarveného albuminu, globulinu a kys. hyaluronové hodnoty 1250. Po zbytek experimentu byl jejich vývoj v čase velice podobný, pozvolna klesající. Z fluorescenčních snímků na obr. 5.2 je patrné, že v případě popisovaných maziv vznikaly násobně menší shluky proteinů, než tomu bylo v případě obarveného albuminu s  $\gamma$ -globulinem, či komplexní kapaliny. V rovnovážných polohách byly nejvyšší hodnoty světelné intenzity naměřeny stejně jako v krajních polohách při použití modelové kapaliny složené z obarveného albuminu,  $\gamma$ -globulinu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů (na grafu vyznačené modrou barvou). Maximální hodnoty světelné intenzity 4000 s tímto mazivem bylo dosaženo po uplynutí 20 sekund, přičemž toto maximum bylo zaznamenáváno po dobu 40 sekund. Zhruba v 80. sekundě experimentu dochází k poklesu intenzit až na konečnou hodnotu 1700. Z fluorescenčních snímků na obr. 5.4 je patrné, že se v případě tohoto maziva tvořila při dosažení maximálních hodnot světelné intenzity silná rovnoměrná proteinová vrstva, která se však v průběhu času měnila na jednotlivé menší shluky proteinů. Ty ovšem vykazovaly nižší světelnou intenzitu. Maziva složená z obarveného albuminu a  $\gamma$ -globulinu (na grafu žlutá barva) a obarveného albuminu,  $\gamma$ -globulinu a kyseliny hyaluronové (hnědá barva) měla v rovnovážných polohách první třetinu experimentu velice komplexní vývoj intenzit, přičemž obě zhruba od 50. sekundy experimentu klesaly a poslední třetinu experimentu byly ustálené. Na fluorescenčních snímcích na obr. 5.5 je v případě tohoto maziva také vidět nejmenší množství proteinových shluků. Tyto shluky však zejména ve druhé polovině experimentu adsorbovaly na povrchu jamky, což může do jisté míry zapříčinit ustálenost hodnot světelné intenzity.



Obr. 5.4 Závislost intenzity v rovnovážných polohách na čase-experimenty s obarveným albuminem

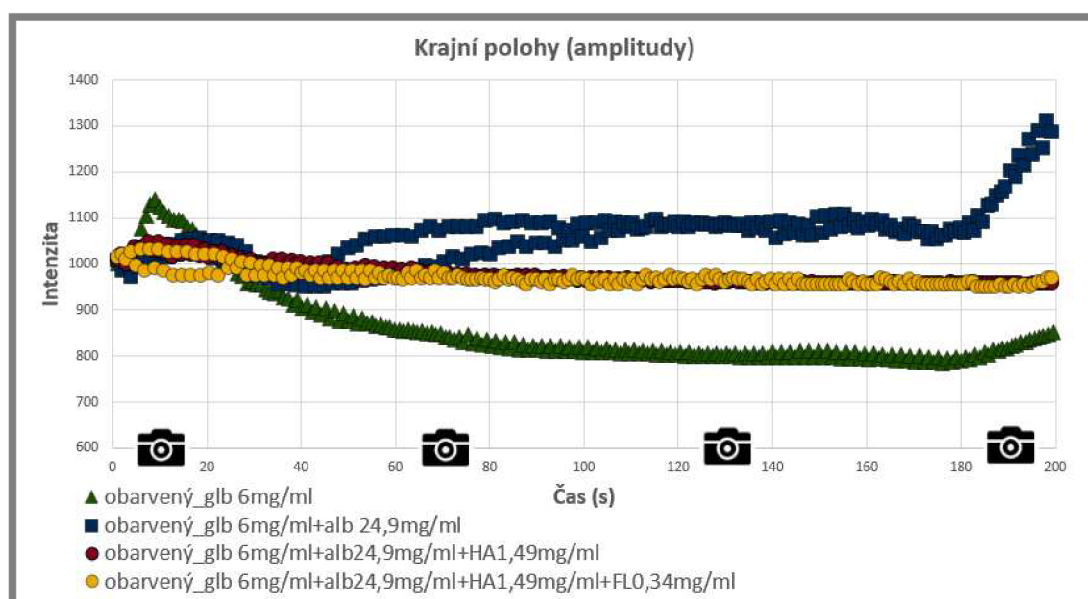




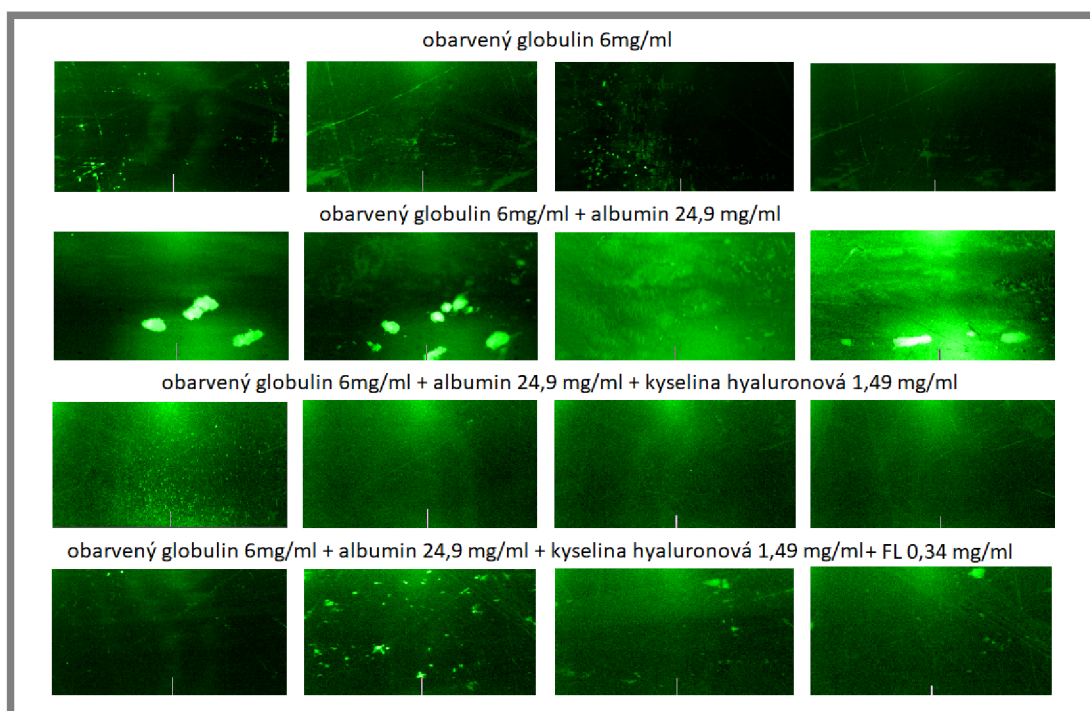
Obr. 5.5 Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným albuminem rovno. polohy

### 5.1.2 Dynamické zatěžování-experimenty s obarveným $\gamma$ -globulinem

Pro experimenty s obarveným  $\gamma$ -globulinem byly použity čtyři odlišná maziva s následujícím složením, roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu v PBS (na grafu zelená barva), roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu a albuminu v PBS (na grafu modrá barva), roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu, albuminu a kyseliny hyaluronové v PBS (na grafu červená barva) a roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu, albuminu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů v PBS (na grafu žlutá barva). Výsledky těchto experimentů jsou zaznamenány v grafech 5.6 a 5.8. Vybrané fluorescenční snímky pořízené v časech 10, 70, 130 a 190 sekund jsou na obrázcích 5.7 a 5.9.



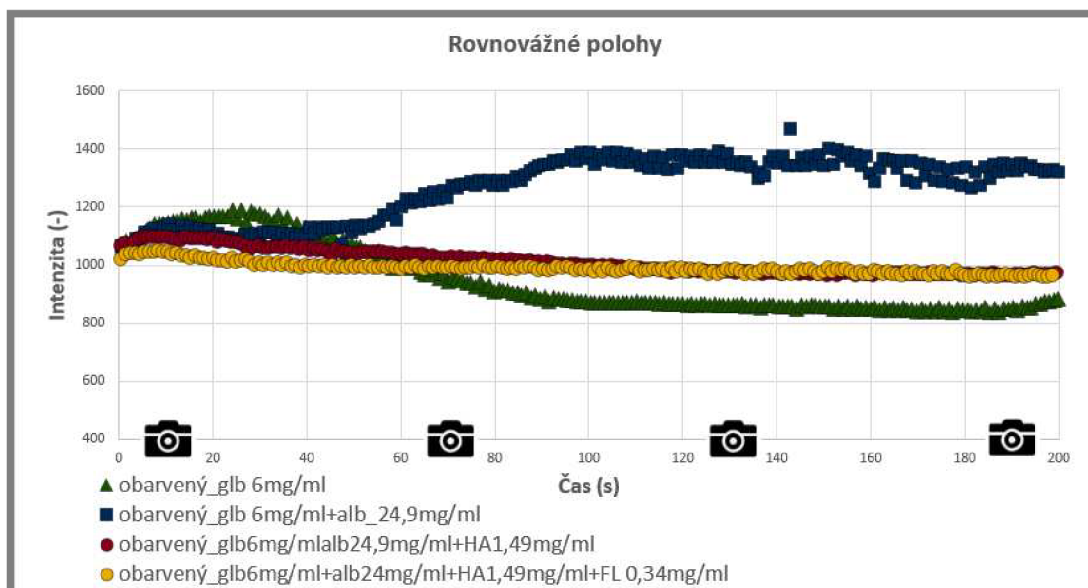
Obr. 5.6 Závislost intenzity v krajních polohách na čase-experimenty s obarveným  $\gamma$ -globulinem



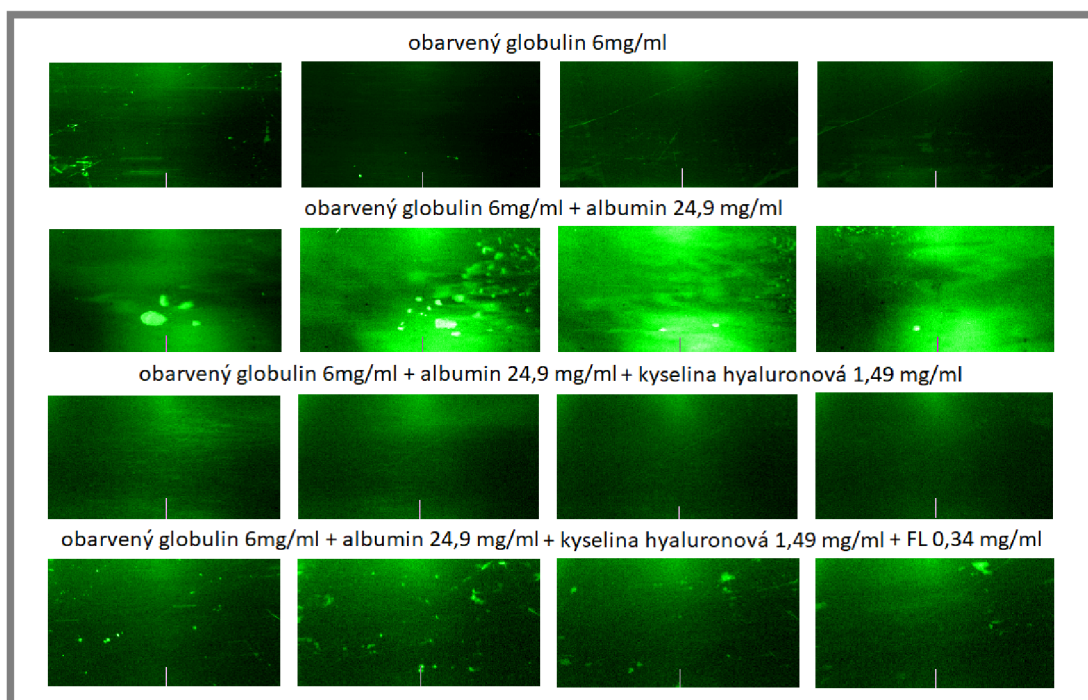
Obr. 5.7 Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným  $\gamma$ -globulinem, krajní polohy

V krajních polohách byly naměřeny nejvyšší hodnoty fluorescenční intenzity při použití roztoku obarveného  $\gamma$ -globulinu a albuminu (na grafu modrá barva). Vývoj fluorescenční intenzity v čase byl při použití tohoto maziva v rozsahu celého experimentu mírně rostoucí, přičemž maximum bylo dosaženo po odpojení pohonu, kdy intenzita dosáhla až na hodnotu 1320. Na fluorescenčních snímcích (obr. 5.7) lze pozorovat postupný nárůst shluků proteinů, které s postupem času mění charakter z jasných středně velkých shluků na proteinovou mlhovinu většího počtu menších shluků, dosahující vyšších intenzit. Poměrně zajímavým výsledkem je průběh fluorescenčních intenzit maziv o složení obarvený  $\gamma$ -globulin, albumin a kyselina hyaluronová (na grafu červená barva) a obarvený  $\gamma$ -globulin, albumin, kyselina hyaluronová a fosfolipidy (na grafu žlutá barva). Obě maziva krom téměř shodného vývoje intenzity v čase vykazují poměrně stabilní tloušťku mazacího filmu. Z provedených experimentů tedy plyne, že fosfolipidy v případě  $\gamma$ -globulinu nehrají při tvorbě mazacího filmu téměř žádnou roli. Nejnížší intenzity byly v krajních polohách naměřeny s roztoky obarveného  $\gamma$ -globulinu (na grafu zelená barva), kdy se minimální hodnota blížila 800. V rovnovážných polohách byly nejvyšší hodnoty světelné intenzity naměřeny stejně jako v krajních polohách při použití modelové kapaliny složené z obarveného  $\gamma$ -globulinu a albuminu (na grafu modrá barva). Fluorescenční intenzita v průběhu celého experimentu s tímto mazivem vykazovala rostoucí tendenci, přičemž svého maxima (1400) dosáhla zhruba v polovině měření. Z fluorescenčních snímků na obr. 5.9 je patrný pozvolný růst proteinových shluků, které s postupem času mění svůj charakter z menšího počtu rozměrnějších shluků proteinů na veliký počet malých shluků s vyšší hodnotou světelné intenzity. Stejně jako tomu bylo v krajních polohách experimenty s obarveným  $\gamma$ -globulinem, albuminem a kyselinou hyaluronovou (na grafu červená barva) a obarveným  $\gamma$ -globulinem, albuminem, kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy (na grafu žlutá barva) vykazovaly v průběhu celého měření téměř shodný vývoj

intenzit. Ten byl nejen velice stabilní, ale s vazbou na  $\gamma$ -globulin nezávislý na přítomnost fosfolipidů. S těmito mazivy se navíc po celou dobu experimentu tvořily pouze velice malé shluky proteinů, jejichž hustota byla v porovnání s ostatními mazivy nízká.



Obr. 5.8 Závislost intenzity v rovnovážných polohách na čase-experimenty s obarveným  $\gamma$ -globulinem



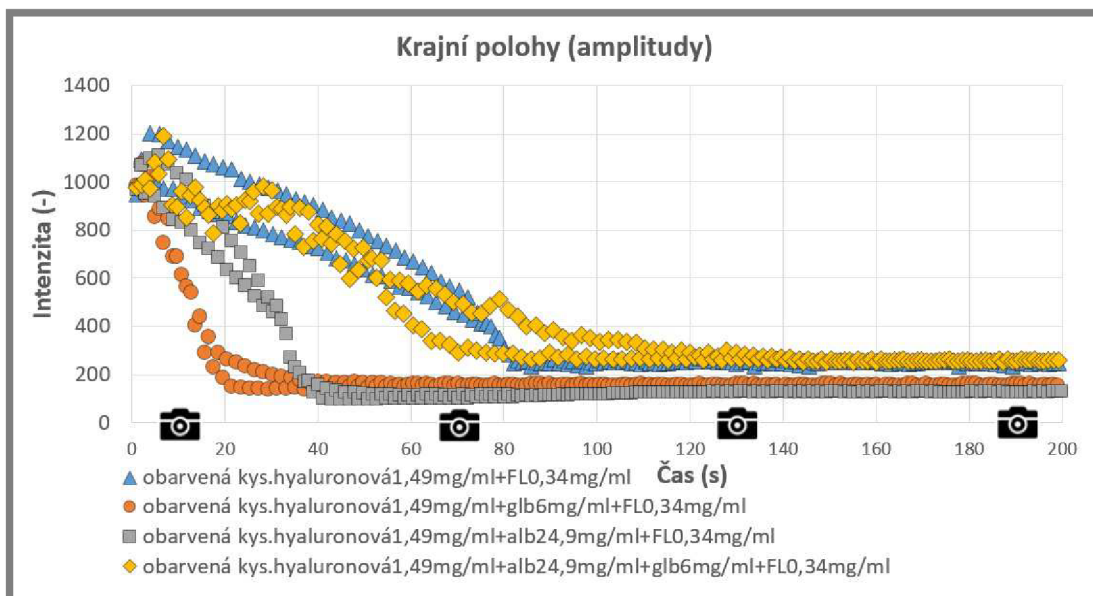
Obr. 5.9 Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným  $\gamma$ -globulinem, rovnovážné polohy

### 5.1.3 Dynamické zatěžování-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou

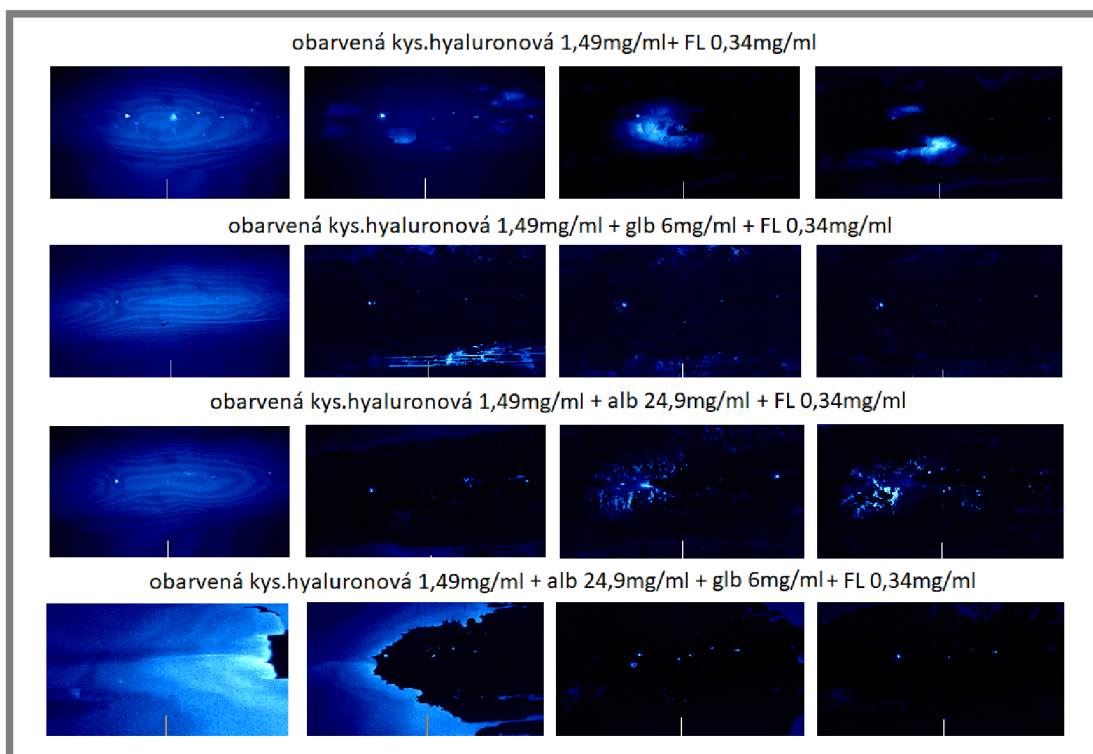
Tyto experimenty byly realizovány s cílem objasnit vliv ostatních složek synoviální kapaliny na chování kyseliny hyaluronové. Pro tyto účely byla použita čtyři maziva s následujícím složením: roztok obarvené kyseliny hyaluronové a fosfolipidů v PBS



(na grafu modrá barva) roztok obarvené kyseliny hyaluronové,  $\gamma$ -globulinu a fosfolipidů v PBS (na grafu oranžová barva) roztok obarvené kyseliny hyaluronové, albuminu a fosfolipidů v PBS (na grafu šedá barva) a roztok obarvené kyseliny hyaluronové, albuminu,  $\gamma$ -globulinu a fosfolipidů v PBS (na grafu žlutá barva). Výsledky jsou zaznamenány v grafech na obr. 5.10 a 5.12. Vybrané fluorescenční snímky pořízené v časech 10, 70, 130 a 190 sekund jsou na obrázcích 5.11 a 5.13.

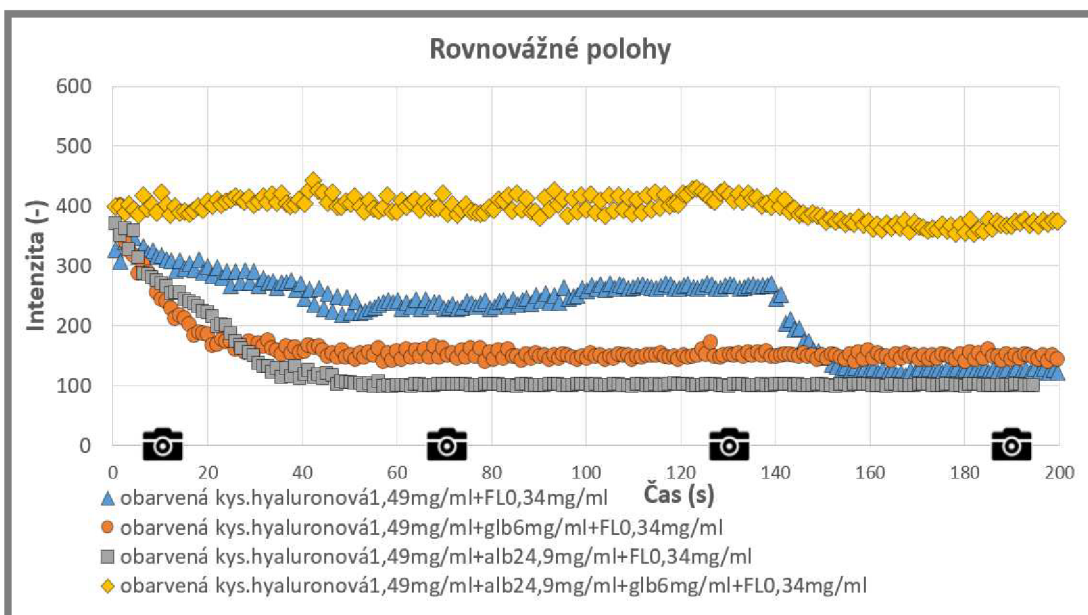


**Obr. 5.10** Závislost intenzity v krajních polohách na čase-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou



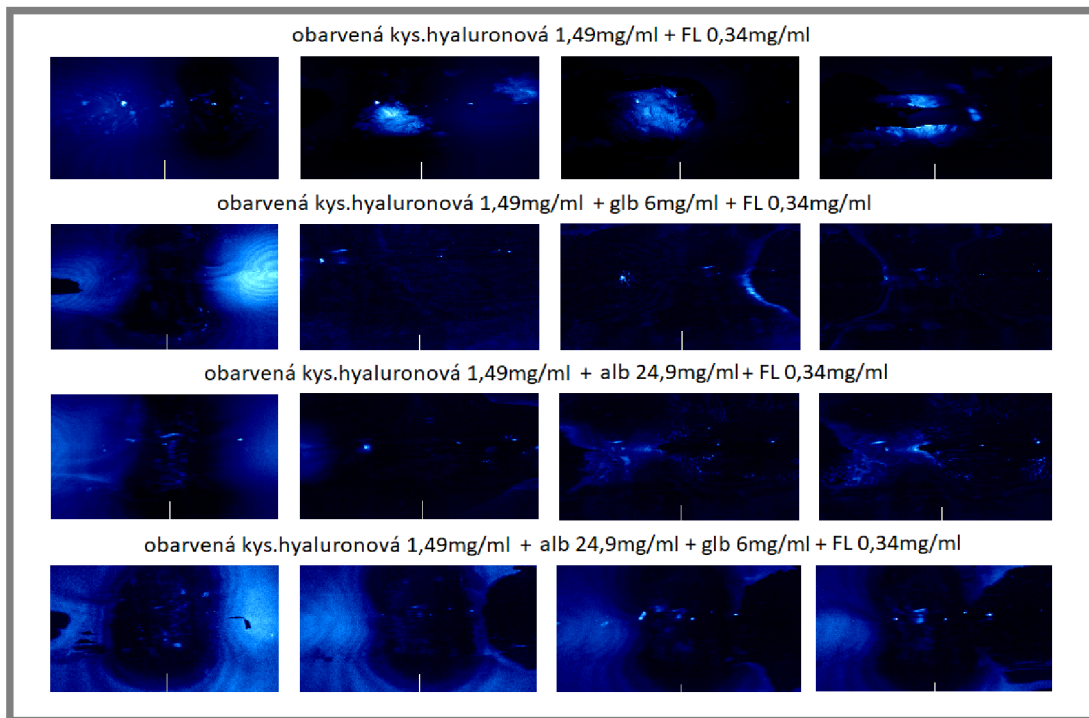
**Obr. 5.11** Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou, krajní polohy

V krajních polohách byl první polovinu experimentu pozorován pro všechna maziva obsahující obarvenou kyselinu hyaluronovou klesající vývoj intenzit. Nejrychlejší pokles byl přitom zaznamenán v případě obarvené kyseliny hyaluronové,  $\gamma$ -globulinu a fosfolipidů (na grafu oranžová barva). Po strmém poklesu trvajícím 20 sekund následovalo ustálení na hodnotách okolo 200. Naproti tomu nejméně strmý pokles intenzity byl pozorován při použití maziv složených z roztoku obarvené kyseliny hyaluronové a fosfolipidu (na grafu modrá barva) a kyseliny hyaluronové, albuminu,  $\gamma$ -globulinu a fosfolipidů (na grafu žlutá barva). Z fluorescenčních snímků na obr. 5.11 vyplývá, že kyselina hyaluronová se podílí na tvorbě shluků proteinů, neboť lze tyto shluky analyzovat i bez nutnosti označení jednotlivých proteinů. V rovnovážných polohách byly naměřeny se všemi mazivy obsahujícími obarvenou kyselinu hyaluronovou nižší hodnoty intenzity než v krajních polohách. Tím se výrazně odlišuje chování kyseliny hyaluronové od obou obarvených proteinů (albuminu a  $\gamma$ -globulinu). Nejstálější a zároveň nejvyšší hodnoty intenzity byly naměřeny v rovnovážných polohách při mazání roztokem obarvené kyseliny hyaluronové, albuminu,  $\gamma$ -globulinu a fosfolipidů (na obrázku žlutá barva), kdy intenzita po celou dobu experimentu oscilovala okolo hodnoty 400. Naopak nejnižší hodnoty (okolo 100) byly zaznamenány s obarvenou kyselinou hyaluronovou,  $\gamma$ -globulinem a fosfolipidy (na grafu šedá barva). V případě kyseliny hyaluronové a fosfolipidů (na grafu modře) se tvořily vzájemné agregace, které ulpívaly na hlavici. Nevýhodou takto vzniklých shluků však byla nižší adsorpční síla, která se projevila sníženou přilnavostí v porovnání s proteinovými shluky. Tato nízká přilnavost je patrná z grafu 5.12, kdy ve 140. sekundě náhle klesá intenzita. Spolu s tím korespondují i fluorescenční snímky, na kterých je patrný zánik vzniklého shluku a s tím spojený pokles intenzity.



Obr. 5.12 Závislost intenzity v rovnovážných polohách na čase-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou



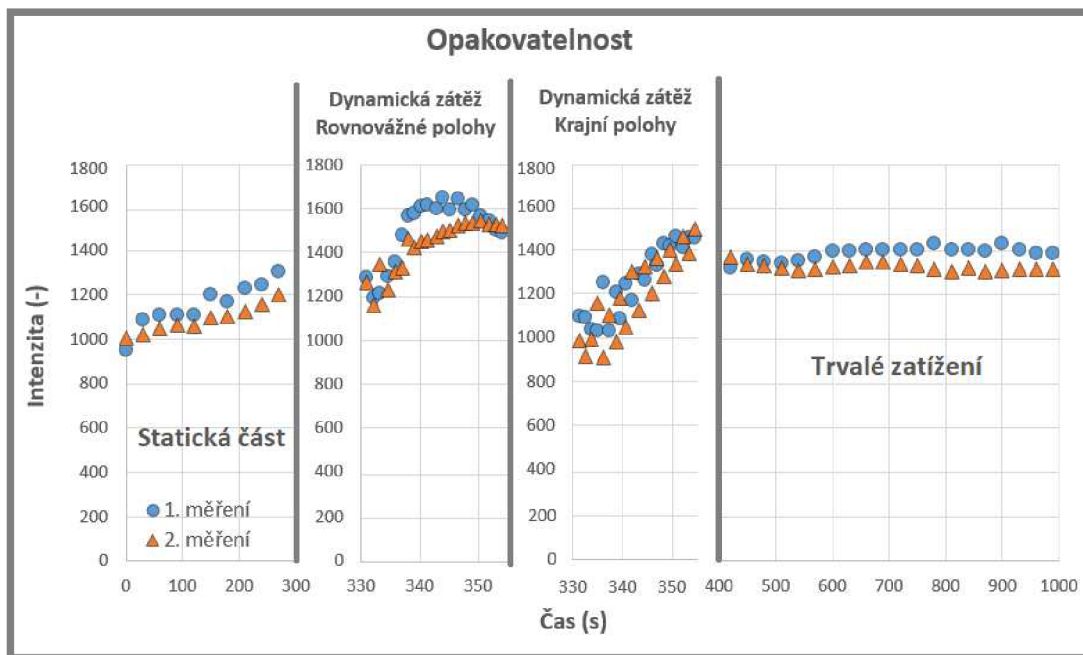


**Obr. 5.13** Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou, rovnovážné polohy

## 5.2

### 5.2 Kombinované zatěžování

Pomocí kombinovaných experimentů byl zkoumán vliv jednotlivých složek modelové kapaliny na proces mazání, přičemž specifický způsob zatěžování odpovídal kombinaci statického zatížení (reprezentující stání) a dynamického zatížení (reprezentující krátkou chůzi). V první fázi cyklu, která trvala 270 sekund, se střídalo zatížení 500 N po dobu deseti sekund a odtížení po dobu dvaceti sekund. Po této části navazovala minutová relaxace, následovaná rozkypáním kyvadla z krajní polohy do úplného zastavení. To nastávalo přibližně po 25 sekundách od vychýlení kyvadla. Po dynamické části experimentu následovalo deseti-minutové zatížení, přičemž hodnoty intenzity v čase byly zaznamenávány každých 30 sekund. Vychýlení kyvadla při dynamické části experimentu činilo  $16^\circ$ . Pro experimenty byly použity modelové kapaliny, jejichž přesné složení je popsáno v kapitole 4.4. Měření bylo rozčleněno stejně jako při dynamickém zatěžování na experimenty s obarveným albuminem, s obarveným  $\gamma$ -globulinem a s obarvenou kyselinou hyaluronovou. Z důvodů použití rozdílných fluorescenčních barviv a jejich koncentrací sloužících k fluorescenčnímu označení proteinů, či kyseliny hyaluronové, byly stejně jako v případě předchozích experimentů naměřeny rozdílné počáteční hodnoty světelné intenzity každé z látek. Aby bylo možné jednotlivé experimenty porovnávat, byla opět zavedena normovaná intenzita všech experimentů na počáteční hodnotu 1000. Z důvodu finanční náročnosti experimentů bylo připraveno omezené množství modelových kapalin. Proto nebylo možné každý experiment opakovat. Aparatura byla tedy nastavena a odzkoušena s jednoduchými roztoky obarveného albuminu a obarveného  $\gamma$ -globulinu, kdy byla posouzena opakovatelnost. Při kombinovaných experimentech byla naměřena průměrná odchylka mezi jednotlivými experimenty 6,8 %. Grafické znázornění tohoto experimentu je na obr. 5.14.



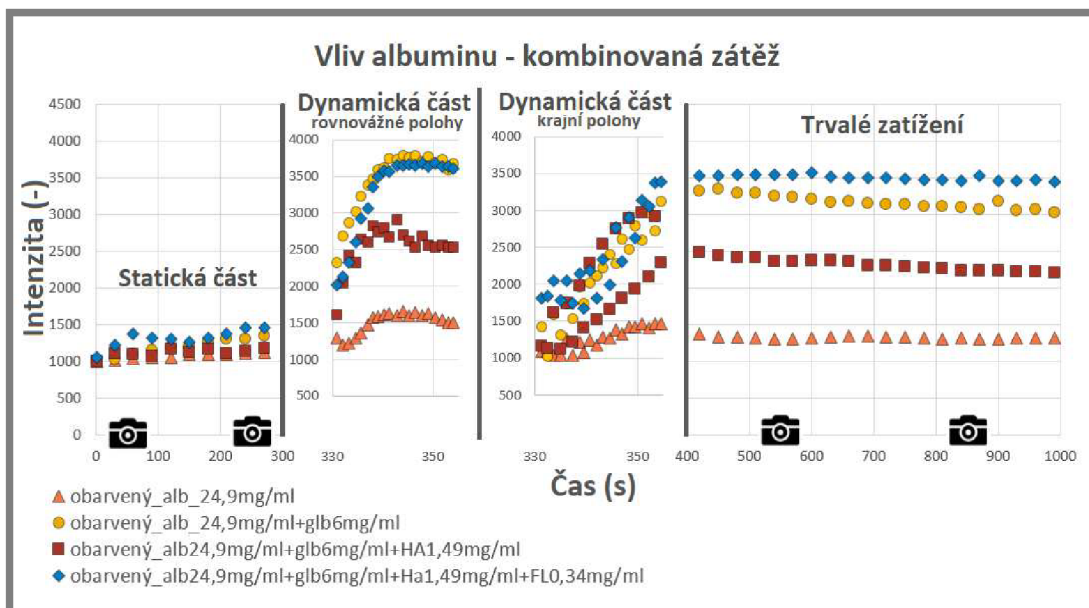
Obr. 5.14 Závislosti intenzity na čase při kombinovaných experimentech, opakovatelnost

### 5.2.1 Kombinované zatěžování-experimenty s obarveným albuminem

Tyto experimenty sledovaly chování albuminu v následujících mazivech: obarvený albumin a PBS (na grafu oranžová barva), obarvený albumin,  $\gamma$ -globulin a PBS (na grafu žlutá barva), obarvený albumin,  $\gamma$ -globulin, kyselina hyaluronová a PBS (na grafu hnědá barva) a obarvený albumin,  $\gamma$ -globulin, kyselina hyaluronová, fosfolipidy a PBS (na grafu modrá barva). Výsledky těchto experimentů jsou zaznamenány v grafu na obrázku 5.15 a vybrané fluorescenční snímky z experimentů pořízené v časech 50, 250, 550, 850 sekund jsou na obr. 5.16.

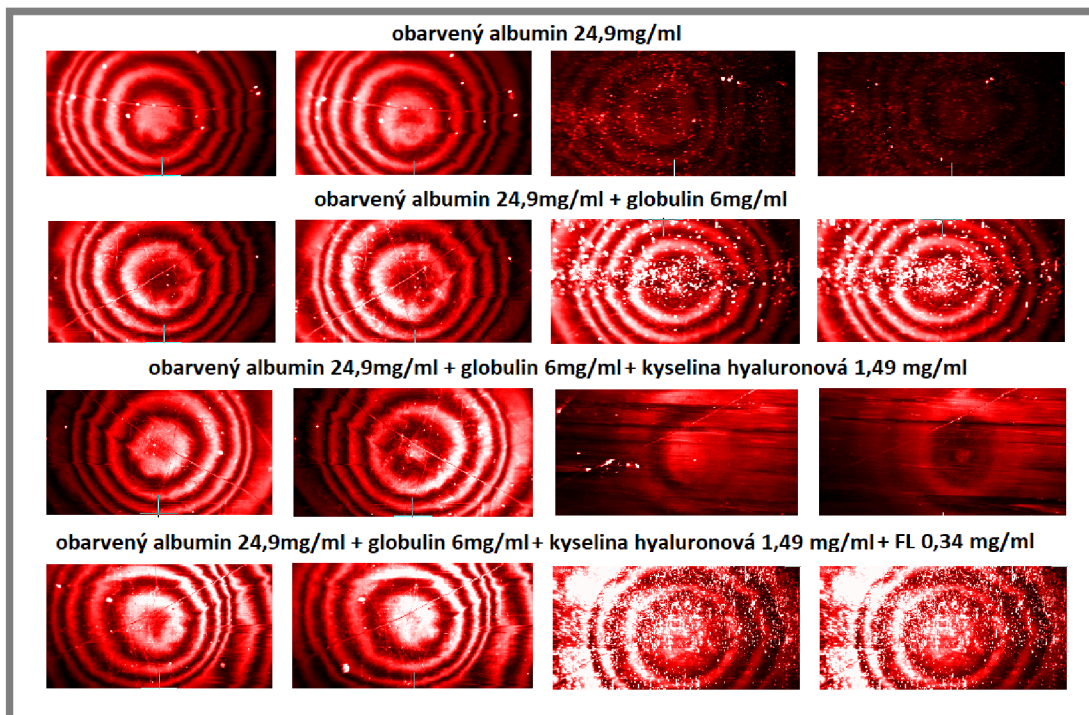
V první fázi experimentu (statická část) byly naměřeny velmi podobné vývoje intenzit v čase (povolna rostoucí) pro všechny použité maziva. Nejvyšších hodnot však bylo dosaženo s mazivem složeným z obarveného albuminu,  $\gamma$ -globulinu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů (na grafu modrá barva). Rozdíl mezi počáteční a koncovou intenzitou u tohoto maziva byl 500, přičemž nejmenší nárůst hodnot intenzity (150) byl pozorován při mazání obarveným albuminem (na grafu oranžová barva). V dynamické části experimentu simulující krátkou chůzi byl zaznamenán pro všechna použité maziva v krajních i rovnovážných polohách významný nárůst intenzity. Zatímco v rovnovážných polohách mají vývoje intenzit v čase spíše exponenciální tvar, tak v krajních polohách je pozorován téměř lineární nárůst intenzit. Obecně lze říct, že při krátkém dynamickém zatížení narůstá intenzita nejvíce při použití maziv: obarvený albumin a  $\gamma$ -globulin (na grafu žlutá barva) a obarvený albumin,  $\gamma$ -globulin, kyselina hyaluronová a fosfolipidy (na grafu modrá barva). Za zmínku také stojí výrazně odlišný vývoj intenzit v pravé a levé krajní poloze u maziva složeného z obarveného albuminu,  $\gamma$ -globulinu a kyseliny hyaluronové (na grafu hnědá barva) způsobený výraznou adsorpcí proteinů na jedné z polovin kloubní hlavice. V poslední části experimentu (trvalém zatížení) je pozorován u všech zmíněných maziv povolný pokles hodnot světelné intenzity, která výrazně narostla v průběhu dynamické části. Nejvyšší hodnoty fluorescenční intenzity (3500) byly pozorovány s roztokem obarveného albuminu,  $\gamma$ -globulinu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů (na grafu modrá barva), naopak nejmenší zhruba

třetinové hodnoty fluorescenční intenzity byly naměřeny s roztokem obarveného albuminu (na grafu oranžová barva).



Obr. 5.15 Závislost intenzity na čase při kombinované zátěži-experimenty s obarveným albuminem

Z fluorescenčních snímků na obrázku 5.16 lze obecně vyvodit závěr, že při experimentech dochází ke kumulaci proteinových shluků převážně při dynamické části experimentu. Tyto shluky jsou přítomny i při trvalém zatížení, dochází však k jejich postupnému zániku. Z fluorescenčních snímků je dále patrné, že nejvíce vznikaly shluky proteinů s mazivem složeným z obarveného albuminu,  $\gamma$ -globulinu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů.

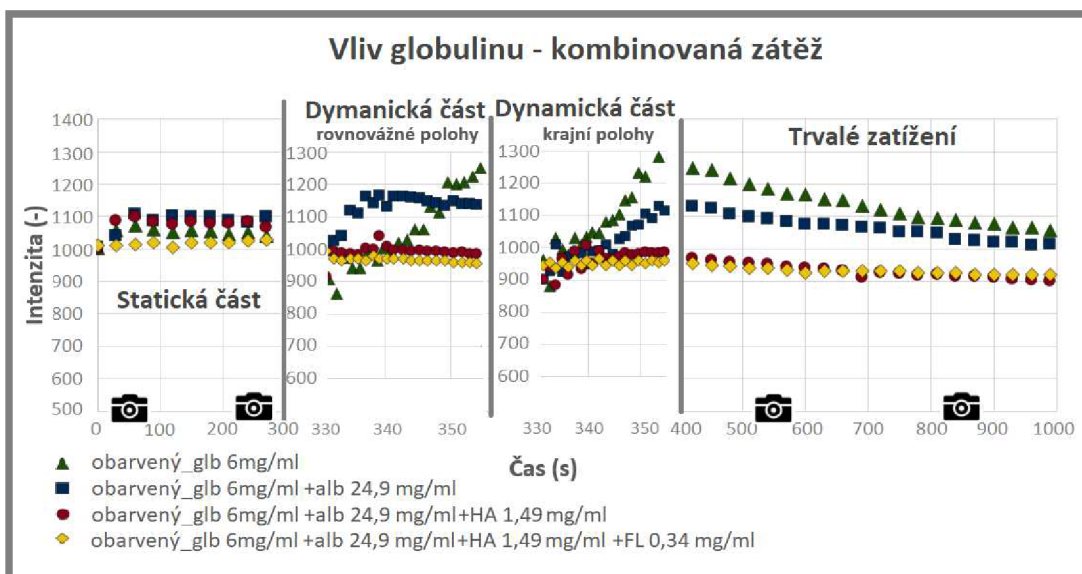


Obr. 5.16 Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným albuminem, kombinovaná zátěž



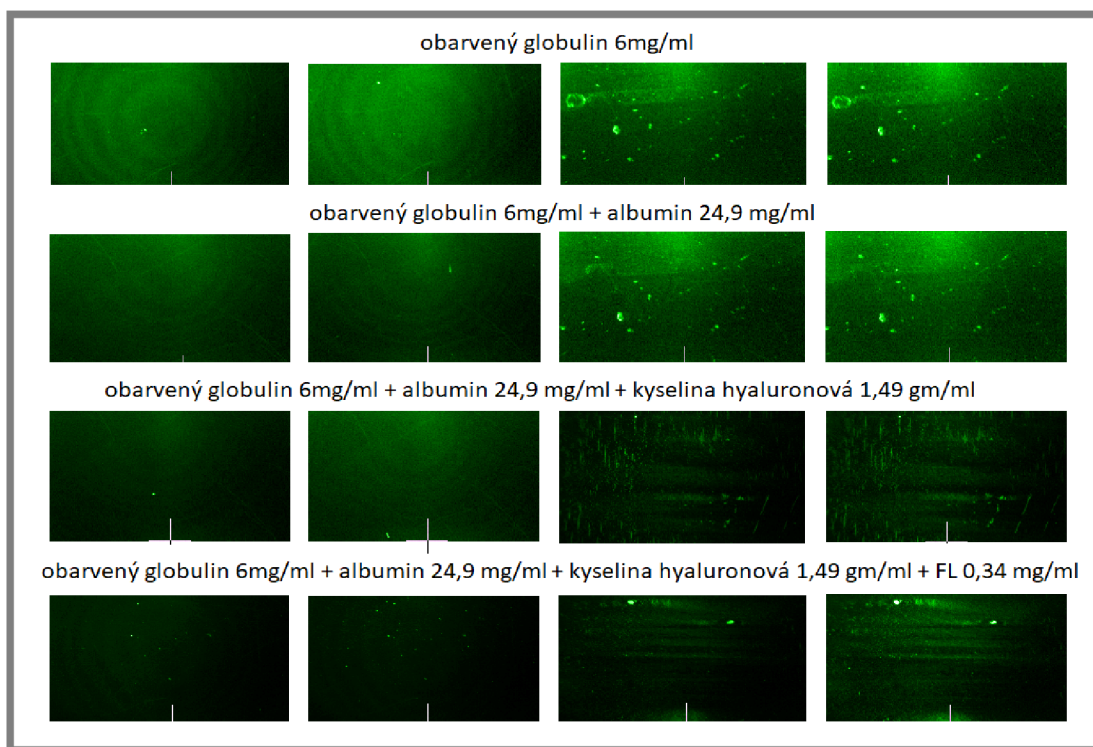
### 5.2.2 Kombinované zatížení-experimenty s obarveným $\gamma$ -globulinem

Tyto experimenty sledovaly chování proteinu  $\gamma$ -globulinu v následujících mazivech: roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu v PBS (na grafu zelená barva) roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu a albuminu v PBS (na grafu modrá barva) roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu, albuminu a kyseliny hyaluronové v PBS (na grafu červená barva) a roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu, albuminu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů v PBS (na grafu žlutá barva). Výsledky z těchto experimentů jsou zaznamenány v grafu na obrázku 5.17 a vybrané fluorescenční snímky pořízené v časech 50, 250, 550 a 850 sekund je možné vidět na obr. 5.18.



Obr. 5.17 Závislost intenzity na čase při kombinované zátěži-experimenty s obarveným  $\gamma$ -globulinem

V první fázi experimentu (statická část) docházelo se všemi druhy maziv k mírnému nárůstu hodnot světelné intenzity, přičemž nejvyšších hodnot (1100) bylo naměřeno při použití maziv složených z obarveného  $\gamma$ -globulinu a albuminu (na grafu modrá barva) a obarveného  $\gamma$ -globulinu, albuminu a kyseliny hyaluronové (na grafu červená barva). Naopak nejnižší hodnoty (1050, resp. 1020) byly naměřeny při použití maziv složených z obarveného  $\gamma$ -globulinu (na grafu zelená barva) a obarveného  $\gamma$ -globulinu, albuminu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů (na grafu žlutá barva). V dynamické části experimentu nedochází k žádnému nárůstu hodnot intenzit v rovnovážných ani krajních polohách při použití maziv složených z obarveného  $\gamma$ -globulinu, albuminu a kyseliny hyaluronové (na grafu červená barva) a obarveného  $\gamma$ -globulinu, albuminu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů (na grafu žlutá barva). Z toho plyne, že tato maziva nezpůsobují ve vztahu ke  $\gamma$ -globulinu žádnou změnu fluorescenčních intenzit (kvantitativně změnu tloušťky mazacího filmu) při pohybu pacienta. Nejvyšší hodnoty světelné intenzity (1300) v dynamické části experimentu byly naměřeny při použití maziva složeného z obarveného  $\gamma$ -globulinu (na grafu zelená barva), přičemž s tímto mazivem byl zaznamenán lineární nárůst intenzit jak v krajních, tak rovnovážných polohách. V poslední části experimentu (trvalé zatížení) docházelo k poklesu fluorescenčních intenzit se všemi použitými mazivy. Nejvyšších hodnot (1250) však dosahoval roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu (na grafu zelená barva), naopak trvale nejnižších intenzit roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu, albuminu a kyseliny hyaluronové (na grafu červená barva) a roztok obarveného  $\gamma$ -globulinu, albuminu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů (na grafu žlutá barva).



**Obr. 5.18** Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným  $\gamma$ -globulinem, kombinovaná zátěž

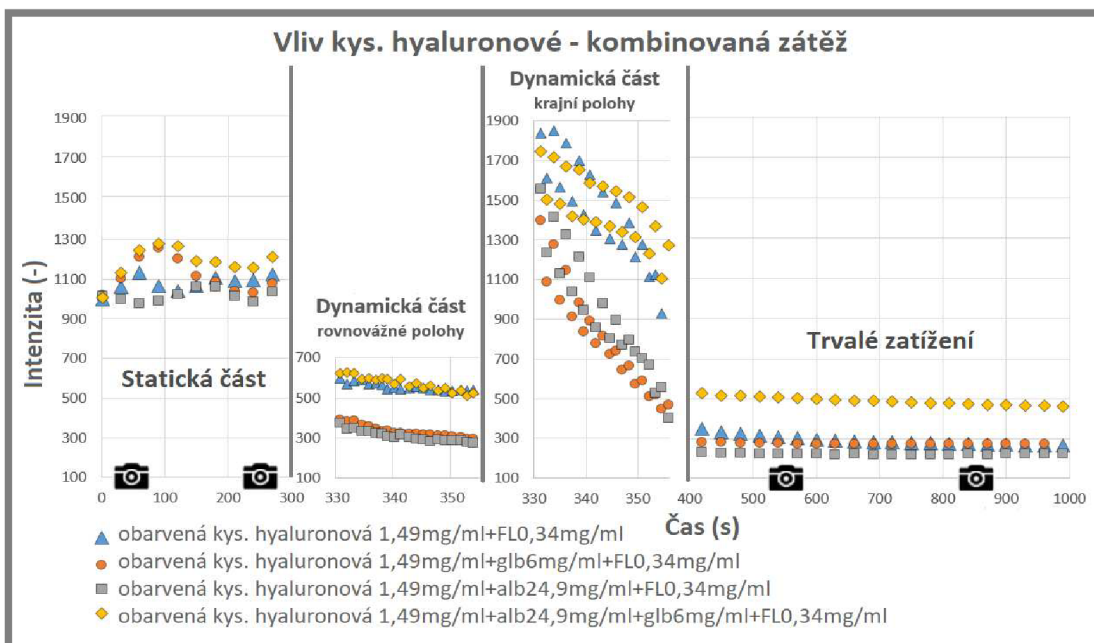
Z fluorescenčních snímků na obr. 5.18 je patrné, že v případě prvních dvou maziv (obarvený  $\gamma$ -globulin a obarvený  $\gamma$ -globulin s albuminem) tvoří silnější proteinové vrstvy s většími hodnotami světelných intenzit. Naopak s ostatními mazivy se tvoří množství drobných shluků proteinů dosahující menších hodnot světelné intenzity.

### 5.2.3 Kombinované zatížení-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou

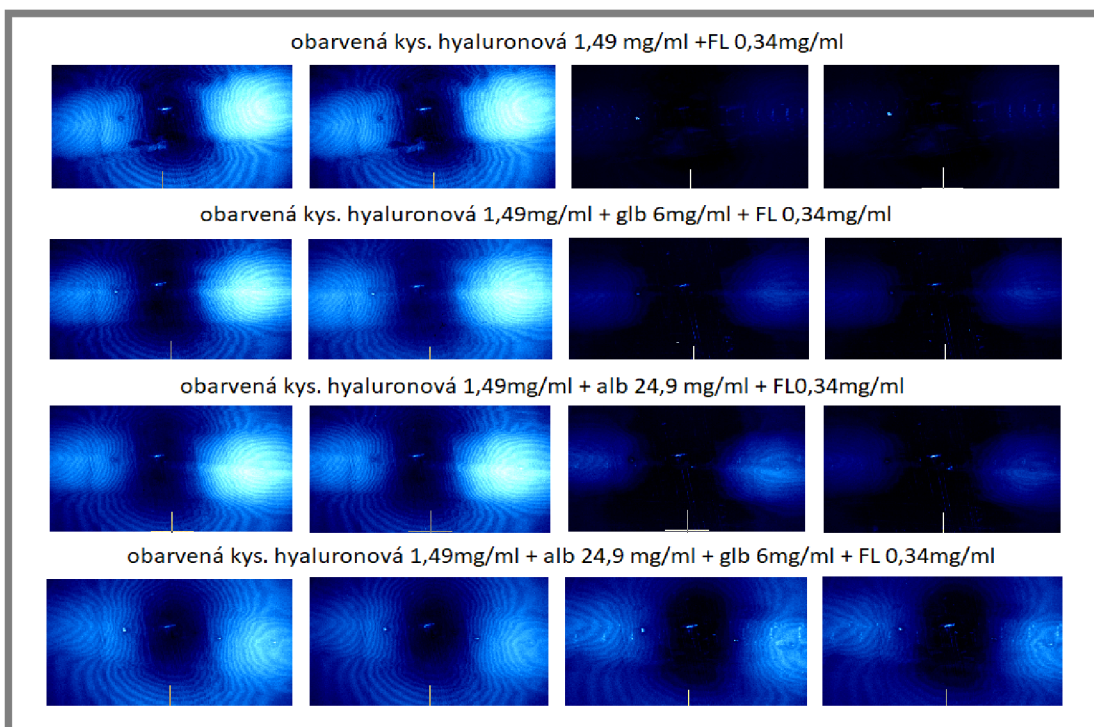
Tyto experimenty sledovaly chování kyseliny hyaluronové v následujících mazivech: roztok obarvené kyseliny hyaluronové a fosfolipidů v PBS (na grafu modrá barva), roztok obarvené kyseliny hyaluronové,  $\gamma$ -globulinu a fosfolipidů v PBS (na grafu oranžová barva), roztok obarvené kyseliny hyaluronové, albuminu a fosfolipidů v PBS (na grafu šedá barva) a roztok obarvené kyseliny hyaluronové, albuminu,  $\gamma$ -globulinu a fosfolipidů v PBS (na grafu žlutá barva). Výsledky z těchto experimentů jsou graficky znázorněny na obrázku 5.19, přičemž vybrané fluorescenční snímky pořízené během experimentu v časech 50, 250, 550 a 850 sekund, je možné vidět na obr. 5.20. Během první statické fáze experimentu docházelo se všemi použitými mazivy k nárůstu světelné intenzity. Nicméně nejvyšší nárůst (z hodnoty 1000 na 1230) byl pozorován při použití modelové kapaliny složené z roztoku obarvené kyseliny hyaluronové, albuminu,  $\gamma$ -globulinu a fosfolipidů (na grafu žlutá barva). Při dynamickém zatížení docházelo v rovnovážných i krajních polohách se všemi mazivy k poklesu hodnot světelné intenzity. V krajních polohách byl přitom tento pokles ještě výraznější než v polohách rovnovážných. Nejnižší hodnoty přitom byly naměřeny v obou charakteristických polohách s roztoky obarvené kyseliny hyaluronové,  $\gamma$ -globulinu a fosfolipidů (na grafu oranžová barva) a obarvené kyseliny hyaluronové, albuminu a fosfolipidů (na grafu šedá barva).



Při trvalém zatížení nebyli poslední části experimentu docházelo u všech maziv k mírnému poklesu intenzity. Nejvyšší hodnoty intenzity (460) na konci experimentu byly přitom naměřeny s roztokem obarvené kyseliny hyaluronové, albuminu,  $\gamma$ -globulinu a fosfolipidů, naopak úplně nejnižší (240) byly naměřeny s roztokem obarvené kyseliny hyaluronové, albuminu a fosfolipidů.



Obr. 5.19 Závislost intenzity na čase při kombinované zátěži-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou



Obr. 5.20 Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou, kombinovaná zátěž

## 6.1 Dynamické zatěžování

### 6.1.1 Vliv složek synoviální kapaliny na chování albuminu

Z provedených experimentů (obr. 5.2, 5.4 str. 40, 41) je zřejmé, že jednotlivé složky modelové kapaliny značnou mírou ovlivňují chování albuminu. V případě použití roztoku čistého albuminu dochází k tvorbě pouze relativně tenkého filmu. Přidáním proteinu  $\gamma$ -globulinu k albuminu dochází ke zvýšení intenzity téměř na dvojnásobek. Tento nárůst je s největší pravděpodobností způsoben provázaným mechanismem tvorby shluků obou proteinů. Přimíchání kyseliny hyaluronové k roztoku albuminu a  $\gamma$ -globulinu vede spíše k určitému snížení světelné intenzity, avšak po přidání fosfolipidů k roztoku albuminu,  $\gamma$ -globulinu a kyselině hyaluronové v koncentracích odpovídajících komplexní kapalině K2/K3 dochází k nezanedbatelnému nárůstu hodnot intenzity. Z čehož plyne, že fosfolipidy se v komplexní kapalině váží na shluky albuminu, čímž je zvětšují a zvyšuje se tak tloušťka mazacího filmu. Výsledky popsané ve studii [19] prezentují teorii podle, které při adsorpci proteinů dochází nejprve k tvorbě vrstvy proteinu  $\gamma$ -globulinu na povrchu těles, kdy na této vrstvě dochází k adsorpci proteinu albuminu. V nepřítomnosti proteinu  $\gamma$ -globulinu je adsorpce albuminu na povrchu těles složitá a dochází pouze k tvorbě tenké vrstvy adsorbovaných proteinů. Tato teorie by vysvětlovala provázané chování proteinů albuminu a  $\gamma$ -globulinu a nízké intenzity naměřené s roztokem albuminu pozorované v této práci. Relativně tenká a stabilní vrstva proteinu albuminu se tvořila i v případě práce [24], která využívala konformní styk kontaktní dvojice.

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

Vliv složek synoviální kapaliny na chování  $\gamma$ -globulinu znázorněném na obr. 5.6, 5.8 str. 42, 44 ukazuje, že modelová kapalina složená z roztoku  $\gamma$ -globulinu dosahovala v průběhu celého experimentu nejnižší hodnoty světelné intenzity (nejnižší tloušťky filmu). Přidání proteinu albuminu k roztoku  $\gamma$ -globulinu však vedlo k výraznému zvětšení světelné intenzity, a to obzvláště v posledních dvou třetinách experimentu. Tento nárůst potvrzuje provázaný mechanismus tvorby shluků obou proteinů, kdy jeden bez druhého netvoří tak tak velké proteinové shluky. Kyselina hyaluronová ve vztahu ke  $\gamma$ -globulinu spíše snižuje ulpívání proteinů na artikulujících tělesech, avšak výrazným způsobem stabilizuje tvorbu shluků v čase, čímž ji dělá časově nezávislou. Po přidání fosfolipidů nebyla pozorována žádná změna ve výsledcích, čímž ve vztahu ke  $\gamma$ -globulinu neplní žádnou funkci. Při porovnání výsledků se studií [22], která zkoumala nekonformní styk kuličky s diskem za podmínek čistého valení je, dosaženo určité shody, kdy při experimentech s roztokem  $\gamma$ -globulinu a albuminu byla pozorována přibližně dvojnásobná hodnota tloušťky filmu, než v případě roztoku  $\gamma$ -globulinu. V publikaci [24] byl pozorován rostoucí trend mazacího filmu s roztokem  $\gamma$ -globulinu v PBS, přičemž v této diplomové práci byl naměřen spíše klesající trend intenzity v čase. Tento rozdíl je s největší pravděpodobností způsoben horší adsorpcí proteinu  $\gamma$ -globulinu na jamce z PMMA než na jamce ze skla.

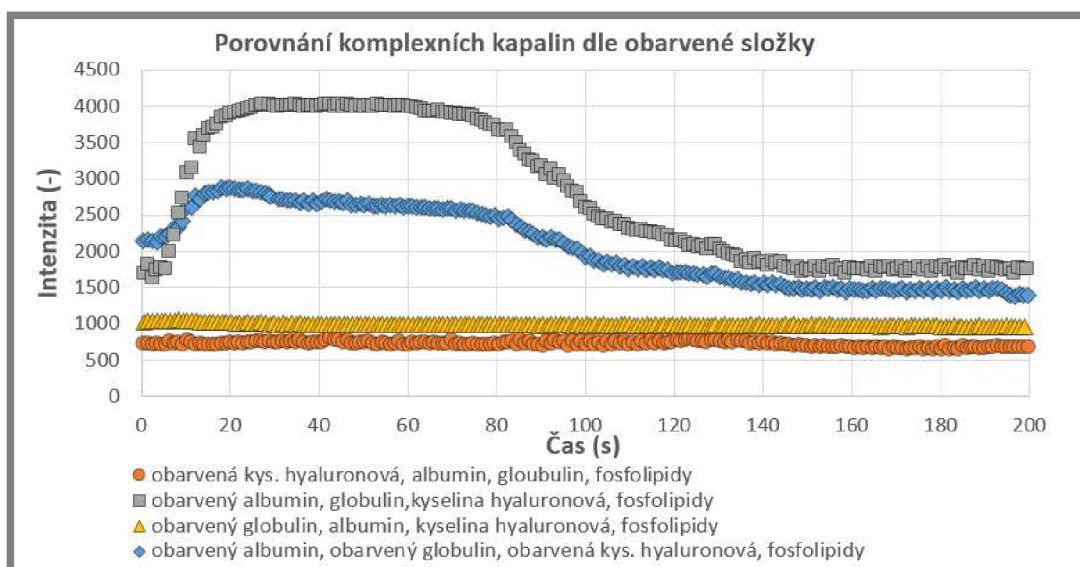
### 6.1.3 Vliv složek synoviální kapaliny na chování kyseliny hyaluronové

Z experimentů na obr. 5.10 a 5.12 na str. 45 a 46 vyplývá, že kyselina hyaluronová dosahuje nejvyšších hodnot světelné intenzity právě v přítomnosti obou proteinů

$\gamma$ -globulinu a albuminu spolu s fosfolipidy. Kyselina hyaluronová v kombinaci s těmito složkami synoviální kapaliny navíc vykazuje v rovnovážných polohách velice stabilní a ustálený vývoj intenzity. Při absenci libovolného proteinu hodnoty světelné intenzity kyseliny hyaluronové prudce klesají. Z těchto výsledků tedy plyne, že kyselina hyaluronová přispívá svou přítomností v mazivu převážně v komplexních kapalinách. Studie, které by se přímo zabývaly touto problematikou nebyly doposud publikovány, avšak ve článku [20, 24] byly prezentovány výsledky měření s roztokem čisté kyseliny hyaluronové, kde byl zkoumán vliv její koncentrace na výslednou tloušťku mazacího filmu v konformním styku kontaktní dvojice. Z výsledků vyplynulo, že se všemi koncentracemi kyseliny hyaluronové dochází k postupnému poklesu hodnot tloušťky mazacího filmu až téměř na nulovou hodnotu. Tato vlastnost je prezentována postupným vytlačěním kyseliny hyaluronové z kontaktu a tím poklesu hodnot tloušťky filmu. Podobný jev byl pozorován i v této práci s roztoky kyseliny hyaluronové a fosfolipidů či roztoky kyseliny hyaluronové, fosfolipidů s jedním z proteinů.

#### 6.1.4 Porovnání komplexních kapalin dle obarvené složky

Při porovnání komplexních kapalin o stejném složení odpovídající modelové kapalině K2/K3 lišící se obarvenou složkou (obr. 6.1) byly naměřeny nejvyšší intenzity s obarveným albuminem v komplexní kapalině a naopak nejnižší hodnoty intenzity s obarvenou kyselinou hyaluronovou v komplexní kapalině. Avšak přínosnější je srovnání s experimentem, který byl realizován právě se všemi obarvenými složkami najednou. Při srovnání je patrná podobnost experimentu se všemi obarvenými složkami a experimentu realizovaného s obarveným albuminem v komplexní kapalině. Z těchto výsledků je patrné, že při dynamickém experimentu s komplexní kapalinou K2/K3 dochází k tvorbě stabilní, ale relativně tenké vrstvy  $\gamma$ -globulinu a kyseliny hyaluronové, na které následně ulpívá výrazně větší vrstva albuminu, která výrazným způsobem zvětšuje tloušťku mazacího filmu, avšak dle výsledků popsaných v kapitole 5.1 funguje mechanismus tvorby mazacího filmu jako celek, kdy absence jedné z komponent vede větší či menší měrou ke snížení výsledné tloušťky mazacího filmu.



Obr. 6.1 Závislost intenzity na čase v rovnovážných polohách, porovnání komplexních kapalin



Překvapivým výsledkem experimentu však byl fakt, že v případě všech obarvených složek současně byla naměřena nižší intenzita než při použití maziva složeného jen z roztoku obarveného albuminu. Tento jev však může být vysvětlen takzvanou reabsorpcí emise popisovanou ve studii Hidrova a Harta [26], neboli zatímco jedna obarvená složka emituje záření, tak druhá obarvená složka si toto záření odebírá na svoji vlastní excitaci. Kdyby tento jev nenastával, byla by intenzita všech obarvených složek najednou vyšší. Přesný rozbor mechanismů vzniku mazacího filmu v komplexních kapalinách při zachování reálné konformity třecích povrchů nebyl doposud popsán, nicméně výsledky potvrzují teorii publikovanou v práci [19]. V práci [20] byly publikovány výsledky experimentů s komplexní kapalinou K2/K3 avšak o jiné koncentraci proteinů. Ta s největší pravděpodobností spolu s rozdílným materiálem kontaktní dvojice zapříčinila rozdíl ve výsledcích, přičemž v práci [20] byl pozorován strmější nárůst tloušťky mazacího filmu než v případě modelové kapaliny se všemi obarvenými komponentami na obr 6.1.

### 6.1.5 Vliv konformity kontaktu na proces tvorby mazacího filmu

Při porovnání vlivu konformity třecích těles na proces tvorby mazacího filmu s publikovanými studiemi Myant a kol. [14] a Mavraki a Cann [10] byly analyzovány určité rozdíly. Ve studii [14] docházelo v konfiguraci kulička na disk při čistém valení k tvorbě přibližně čtyřikrát silnějšího mazacího filmu  $\gamma$ -globulinu než v případě roztoku albuminu, zato při reálné konformitě třecích povrchů se sice tvořil silnější mazací film při použití  $\gamma$ -globulinového roztoku, avšak pouze o polovinu větší než v případě albuminového roztoku. Tento jev může být z veliké míry způsoben faktem, že v případě studie [14] docházelo pouze k čistému valení a tedy adsorbované proteiny  $\gamma$ -globulinu lépe ulpívaly na povrchu artikulujících těles. Výrazným rozdílem, který hraje důležitou roli je i podstatně nižší kontaktní tlak v případě konformního kontaktu. V případě studii [12-14], kde byl využíván styk kontaktní dvojice kulička na disk a tedy zde byl aplikován i vyšší kontaktní tlak, se formoval tenčí film. Ve článku [24] byl přitom popsán vliv zatížení a bylo dokázáno, že při nižším zatížení je přítomen tlustší mazací film, tedy tento jev je na tvorbu mazacího filmu pozitivní a ukazuje, že reálná konformita třecích těles je podstatná. Také v případě studie [10] dochází při experimentech s roztoky  $\gamma$ -globulinu a albuminu k určitým odchylkám, například výraznému rozptylu dat, který nebyl v konfiguraci reálné konformity třecích povrchů pozorován. Tento rozptyl může být způsoben kinematickými podmínkami experimentu, kdy téměř čistý pozitivní prokluz zapříčiňuje nerovnoměrné hromadění shluků proteinů před kuličkou. Dále v práci [19] byly prezentovány výrazně odlišné výsledky při negativním prokluzu a čistém valení. Toto zásadním způsobem odlišné chování proteinových roztoků při různých kinematických podmínkách má na vliv konformity těles jeden z nejzásadnějších dopadů, čímž jej dělá při analýze mazání velice důležitým.

## 6.2

### 6.2 Kombinované zatížení

#### 6.2.1 Vliv složek synoviální kapaliny na obarvené komponenty

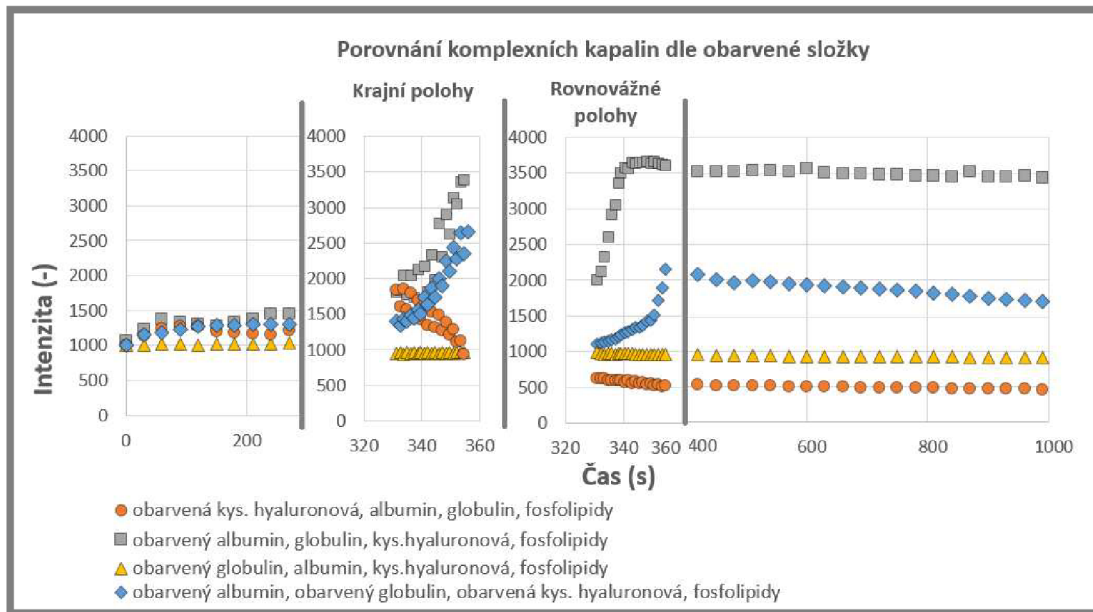
V první fázi kombinované zátěže (statické části) docházelo se všemi mazivy k většímu či menšímu nárůstu hodnot intenzity, přičemž rozdíly mezi jednotlivými experimenty byly marginální. Z toho plyne, že jak proteinové roztoky, tak roztoky

kyseliny hyaluronové s fosfolipidy tvoří při podmínkách statické zátěže velice podobně tlustou vrstvu filmu oddělující jednotlivé povrchy. V článku [14] byl pozorován rostoucí trend se všemi použitými mazivy, avšak s výrazným rozdílem v tloušťce filmu modelové kapaliny K1 a K2/K3. Tento rozdíl může být zapříčiněn rozdílnou konformitou kontaktních párů. V práci [13] byl pozorován mírně rostoucí trend tloušťky mazacího filmu při použití modelové kapaliny o složení 25 % roztoku hovězího séra, přičemž se značně podobal výsledkům naměřeným v této práci. Při další fázi kombinované zátěže (dynamické části) byly pozorovány velmi podobné výsledky, které byly popsány v kapitole 6.1. Výjimku tvořil experiment s roztokem  $\gamma$ -globulinu, který dosahoval nepatrně vyšší intenzity než v případě dlouhodobé dynamické zátěže. Tento fakt může být způsoben tím, že shluky proteinu  $\gamma$ -globulinu se formují v případě krátkého časového intervalu jednodušeji než u albuminu, či ostatních složek synoviální kapaliny. V poslední části kombinovaných experimentů (trvalé zátěži) docházelo k pozorování výrazné závislosti naměřených intenzit na použitém mazivu, přičemž všechna maziva vykazovala mírně klesající trend. Dále lze z výsledků vyvodit, že jak protein albumin, tak kyselina hyaluronová dosahovaly nejvyšších hodnot intenzity při rozpuštění v komplexních kapalinách, z čehož je na první pohled viditelná provázanost těchto komponent při tvorbě mazacího filmu při tomto způsobu zátěže. Trvalým zatížením odpovídajícím stání pacienta na místě se doposud nikdo nezabýval, a přitom, jak se ukazuje, je vývoj mazacího filmu výrazným způsobem odlišný jak od cyklického zatěžování, tak od dynamického zatížení. Významnou roli při něm hraje i složení modelové kapaliny.

### **6.2.2 Porovnání komplexních kapalin dle obarvené složky**

Experimenty s komplexními kapalinami o stejném složení odpovídajícím modelové kapalině K2/K3 lišící se obarvenou složkou (obr. 6.2) bylo při kombinovaném zatížení porovnáním jednotlivých experimentů zjištěno, že nejvýrazněji (a to především v dynamické části a při trvalém zatížení) se podílí na tvorbě mazacího filmu protein albumin. Ten však v případě osamocené výskytu tvořil poměrně tenký mazací film, proto je pro tvorbu tlustšího filmu vždy nutná i přítomnost ostatních složek synoviální kapaliny. Protein  $\gamma$ -globulin a kyselina hyaluronová se na tvorbě mazacího filmu v komplexní kapalině podílejí, avšak z pohledu jednotlivých příspěvků o poznání méně než protein albumin. Při porovnání výsledků s dynamickým zatěžováním, je patrná shoda mechanismů tvorby mazacího filmu, z čehož plyne, že rozdílný způsob zátěže sice kvantitativně ovlivní výsledky experimentu, nicméně mechanismy tvorby mazacího filmu zůstávají i při rozdílném způsobu zatížení neměnné.





Obr. 6.2 Závislost intenzity na čase při kombinované zátěži, porovnání komplexních kapalin

## 7 ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývala analýzou mazání totální endoprotézy kyčle s využitím fluorescenční mikroskopie při zachování reálné konformity kontaktní dvojice. Za pomoci simulátoru kyčelního kloubu, jež byl upravený pro potřeby fluorescenční mikroskopie, byl posuzován vliv ostatních složek synoviální kapaliny na chování albuminu,  $\gamma$ -globulinu a kyseliny hyaluronové a dále bylo sledováno chování těchto složek v komplexních kapalinách. Pro tyto účely byly navrženy modelové kapaliny, viz kapitola 4.5, pomocí kterých bylo možné toto chování objasnit. Dále byly definovány dva způsoby zatížení mezi jamkou a hlavicí (dynamické a kombinované), jejichž úkolem bylo reprezentovat širší spektrum možné zátěže vznikající v reálné kloubní náhradě. Vůbec poprvé byly zkoumány takzvané měkké páry (materiálová kombinace CoCr/PMMA). Výsledky experimentů prokázaly, že interakce jednotlivých složek synoviální kapaliny jsou naprosto zásadní z hlediska tvorby mazacího filmu, což byly doposud pouze teoretické předpoklady, které však nebyly podloženy experimenty. Nejdůležitější poznatky lze shrnout do několika bodů:

- Samotné roztoky albuminu, či  $\gamma$ -globulinu v PBS tvoří jen velice tenký mazací film, avšak kombinací obou proteinů dochází k vzájemnému ovlivnění a podstatnému zvýšení tloušťky mazacího filmu.
- Kyselina hyaluronová a fosfolipidy se na tvorbě mazacího filmu taktéž podílí, avšak výrazněji ve vztahu k albuminu než ke  $\gamma$ -globulinu, kdy dokonce fosfolipidy téměř vůbec neovlivňují chování  $\gamma$ -globulinu.
- Při statické zátěži dochází téměř se všemi mazivy k pozvolnému růstu intenzity.
- Při krátkodobé rovnoměrně tlumené dynamické zátěži byly pozorovány stejné mechanismy tvorby mazacího filmu jako při dlouhodobé dynamické zátěži, výjimku tvořil roztok  $\gamma$ -globulinu v PBS.
- Bylo potvrzené provázané chování jednotlivých složek synoviální kapaliny při tvorbě mazacího filmu, přičemž kyselina hyaluronová s  $\gamma$ -globulinem tvoří v komplexní kapalině spíše stabilní, avšak poměrně tenkou vrstvu adsorbovanou na površích těles, na niž následně ulpívá albumin a výrazně zvyšuje tuto adsorbovanou vrstvu. Tento mechanismus byl patrný nezávisle na způsobu zátěže, tedy pro kombinované i dynamické experimenty.

Na základě provedeného experimentálního výzkumu lze říct, že fluorescenční mikroskopie je vhodnou metodou pro analýzu mazání konformně zakřivených kloubních náhrad. Mezi nedostatky, které však tuto metodu znepřesňují patří vysvícení označené složky v mazivu. To mělo za následek zhruba 15% snížení svítivosti na konci experimentu v případě nejcitlivější složky na vysvícení obarvené kyseliny hyaluronové. Pro zpřesnění výsledků je tedy nutné v budoucnu buď změnit konstrukci tak, aby se do kontaktu dostávalo čerstvé mazivo anebo zaměřit fluorescenční barviva za barviva méně náchylná k vysvícení.

---

**SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ**

- [1] *Hip and knee replacement* [online]. 112. DOI: 10.1787/health\_glance-2015-36-en. Dostupné z: [http://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2015/hip-and-knee-replacement\\_health\\_glance-2015-36-en](http://www.oecd-ilibrary.org/social-issues-migration-health/health-at-a-glance-2015/hip-and-knee-replacement_health_glance-2015-36-en)
- [2] TERČ, T. Bbraun sharing expertise. [online]. 2012. Dostupné z: <http://lepsipece.cz/klouby/umely-kloub-ptame-se-docenta-tomase-trce-cast-3/>
- [3] PRAMANIK, S., A. KUMAR AGARWAL a K. N. RAI. *Chronology of Total Hip Joint Replacement and Materials Development* [online]. 2005, 1(č.19), 14-20. Dostupné z: <http://www.angelfire.com/space2/trends/pdf/19-1-15-26.pdf>
- [4] J, Gallo, Hartl M, Vrbka M, Návrat T a Křupka I. What Should an Orthopaedic Surgeon Know about Biotribology of Total Hip Arthroplasty. *ACTA CHIRURGIAE ORTHOPAEDICAE ET TRAUMATOLOGIAE ČECHOSL.* 2013, 377–385. Dostupné z: [http://www.achot.cz/dwnld/achot\\_2013\\_6\\_377\\_385.pdf](http://www.achot.cz/dwnld/achot_2013_6_377_385.pdf)
- [5] SHIGLEY, Joseph Edward, Charles R. MISCHKE a Richard G. BUDYNAS, VLK, Miloš, ed. *Konstruování strojních součástí*. V Brně: VUTIUM, 2010. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 9788021426290.
- [6] JOINT: Prosthesis Heahs CoCrMo. In: *GoldenGate* [online]. Dostupné z: <http://www.goldengatevn.com/en/product/32-prosthesis-heahs-cocrmo.html>
- [7] BIOLOX®forte: Increased Fracture Strength and Excellent Wear Properties. *CeramTec: The ceramic experts* [online]. 1995. Dostupné z: <https://www.ceramtec.com/ceramic-materials/biolox/forte/>
- [8] BIOLOX®delta: Increased Fracture Strength and Excellent Wear Properties. *CeramTec: The ceramic experts* [online]. 2005. Dostupné z: <https://www.ceramtec.com/ceramic-materials/biolox/delta/>
- [9] Plasty v medicíně: Kyčelní kloub – vložka UHMW PE firmy Endoimplant. In: *Mspektrum* [online]. Dostupné z: <http://m.mmspektrum.com/clanek/kde-nalezname-plasty-v-medicine>
- [10] MAVRAKI, A a P M CANN. Friction and lubricant film thickness measurements on simulated synovial fluids. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology* [online]. 2009-5-1, 223(3), 325-335. DOI: 10.1243/13506501JET580. ISSN 1350-6501. Dostupné z: <http://sdj.sagepub.com/lookup/10.1243/13506501JET580>
- [11] MAVRAKI, A. a P.M. CANN. Lubricating film thickness measurements with bovine serum. *Tribology International* [online]. 2011, 44(5), 550-556. DOI: 10.1016/j.triboint.2010.07.008. ISSN 0301679x. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301679X10001775>

- [12] FAN, J., C. W. MYANT, R. UNDERWOOD, P. M. CANN a A. HART. Inlet/K protein aggregation: a new mechanism for lubricating film formation with model synovial fluids. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* [online]. 2011, **225**(7), 696-709. DOI: 10.1177/0954411911401306. ISSN 0954-4119. Dostupné z: <http://pih.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/0954411911401306>
- [13] MYANT, Connor a Philippa CANN. In contact observation of model synovial fluid lubricating mechanisms. *Tribology International* [online]. 2013, **63**, 97-104. DOI: 10.1016/j.triboint.2012.04.029. ISSN 0301679x. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301679X12001533>
- [14] MYANT, C., R. UNDERWOOD, J. FAN a P.M. CANN. Lubrication of metal-on-metal hip joints: The effect of protein content and load on film formation and wear. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. 2012, **6**(5), 30-40. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2011.09.008. ISSN 17516161. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1751616111002426>
- [15] VRBKA, M., T. NAVRAT, I. KRUPKA, M. HARTL, P. SPERKA a J. GALLO. Study of film formation in bovine serum lubricated contacts under rolling/sliding conditions: The effect of protein content and load on film formation and wear. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology* [online]. 2013, **227**(5), 459-475. DOI: 10.1177/1350650112471000. ISSN 1350-6501. Dostupné z: <http://pij.sagepub.com/lookup/doi/10.1177/1350650112471000>
- [16] MYANT, C. a P. CANN. The effect of transient conditions on synovial fluid protein aggregation lubrication. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2014, vol. 34, s. 349-357. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2014.02.005
- [17] VRBKA, Martin, Ivan KŘUPKA, Martin HARTL, Tomáš NÁVRAT, Jiří GALLO a Adéla GALANDÁKOVÁ. In situ measurements of thin films in bovine serum lubricated contacts using optical interferometry: The effect of protein content and load on film formation and wear. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine* [online]. 2014, **228**(2), 149-158. DOI: 10.1177/0954411913517498. ISSN 0954-4119. Dostupné z: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0954411913517498>
- [18] VRBKA, M., D. NEČAS, M. HARTL, I. KŘUPKA, F. URBAN a J. GALLO. Visualization of lubricating films between artificial head and cup with respect to real geometry. *Biotribology* [online]. 2015, **1-2**, 61-65. DOI: 10.1016/j.biotri.2015.05.002. ISSN 23525738. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352573815000098>

- [19] NEČAS, David, Martin VRBKA, Filip URBAN, Ivan KŘUPKA a Martin HARTL. The effect of lubricant constituents on lubrication mechanisms in hip joint replacements. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. 2016, **55**, 295-307. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2015.11.006. ISSN 17516161. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1751616115004245>
- [20] NEČAS, D., M. VRBKA, F. URBAN, J. GALLO, I. KŘUPKA a M. HARTL. In situ observation of lubricant film formation in THR considering real conformity: The effect of diameter, clearance and material. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* [online]. 2017, **69**, 66-74 [cit. 2017-03-14]. DOI: 10.1016/j.jmbbm.2016.12.018. ISSN 17516161. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S175161611630443X>
- [21] RICHARD D. HAUGLAND, Joseph Edward, Michelle T.Z. Spence, editor MICHELLE T.Z. SPENCE, EDITOR a Iain D. Johnson, technical information coordinator. IAIN D. JOHNSON, TECHNICAL INFORMATION COORDINATOR., VLK, Miloš, ed. *Handbook of fluorescent probes and research chemicals*. 6th ed. Eugene, OR: Molecular probes, 1996. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 09-652-2400-7.
- [22] PARKES, Maria, Connor MYANT, Philippa M. CANN a Janet S.S. WONG. Synovial Fluid Lubrication: The Effect of Protein Interactions on Adsorbed and Lubricating Films. *Biotribology* [online]. 2015, **1-2**, 51-60. DOI: 10.1016/j.biotri.2015.05.001. ISSN 23525738. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2352573815000086>
- [23] Lubrication. *Engineers Edge* [online]. Monroe, Georgia. Dostupné z: [https://www.engineersedge.com/lubrication/lubrication\\_knowledge\\_menu.shtml](https://www.engineersedge.com/lubrication/lubrication_knowledge_menu.shtml)
- [24] NEČAS, D.; VRBKA, M.; REBENDA, D.; GALLO, J.; GALANDÁKOVÁ, A.; WOLFOVÁ, L.; KŘUPKA, I.; HARTL, M. In Situ Observation of Lubricant Film Formation in THR Considering Real Conformity: The Effect of Model Synovial Fluid Composition. *Tribology International*, 2018, roč. 117, č. 1, s. 206-216. ISSN: 0301-679X.
- [25] AZUSHIMA, A. In lubro 3D measurement of oil film thickness at the interface between tool and workpiece in sheet drawing using a fluorescence microscope. *Tribology International*, 2005, 38(2), 105-112.
- [26] HIDROVO, C.H.; HART, D.P. Emission reabsorption laser induced fluorescence (ERLIF) film thickness measurement. *Measurement Science and Technology*, 2001, 12(4), 467-477



## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

---

TEP	- Totální endoprotéza
OECD	- Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj
PBS	- Phosphate Buffered Saline – fyziologický roztok
Tris	- Trishydroxymethylaminomethan – pufr
EHL	- Elastohydrodynamické mazání
PAL	- Mazání vrstvou agregovaných proteinů
SRR	- Slide to roll ratio - poměr mezi prokluzem a valením
CMOS	- Complementary Metal-Oxide-Semiconductor
PMMA	- Polymethylmetakrylát
RAM	- Random access memory - počítačová paměť
SDS	- Sodiumdodecilsulfát

## SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ

<b>Obr. 1.1</b> Totální endoprotéza kyčelního kloubu [2]	12
<b>Obr. 2.1</b> Závislost součinitele tření na parametru mazání [5]	13
<b>Obr. 2.2</b> Kyčelní kloubní náhrada ze slitiny CoCrMo [6]	14
<b>Obr. 2.3</b> Kyčelní kloubní náhrada BIOLOX®forte [7]	14
<b>Obr. 2.4</b> Kyčelní kloubní náhrada BIOLOX®delta [8]	15
<b>Obr. 2.5</b> Kyčelní kloubní náhrada z vysoce zesíťovaného polyetyleny [9]	15
<b>Obr. 2.6</b> Závislost tloušťky mazacího filmu na rychlosti, hovězí sérum [10]	16
<b>Obr. 2.7</b> Závislost tloušťky mazacího filmu na rychlosti, proteinové roztoky [10]	17
<b>Obr. 2.8</b> Závislost tloušťky mazacího filmu na rychlosti, 50 % BSC roztok, 200MPa, SRR=0 % [11]	18
<b>Obr. 2.9</b> Závislost tloušťky mazacího filmu na rychlosti, 50 % a 100 % roztok BSC, 30MPa, SRR=200 % [11]	18
<b>Obr. 2.10</b> Teoretická a experimentálně zjištěná tloušťka mazacího filmu jako závislost na rostoucí a klesající rychlosti odvalování a) 25% roztok hovězího séra a destilované vody b) 50% roztok hovězího séra a destilované vody [12]	19
<b>Obr. 2.11</b> Centrální tloušťka mazacího filmu v závislosti na počtu cyklů, statické zatížení [14]	20
<b>Obr. 2.12</b> Centrální tloušťka mazacího filmu v závislosti na čase při rychlosti 10 mm/s [14]	20
<b>Obr. 2.13</b> Tloušťka mazacího filmu při cyklickém zatěžování pro rychlost 0 a 10 mm/s [13]	21
<b>Obr. 2.14</b> Tloušťka mazacího filmu jako funkce rychlosti [13]	21
<b>Obr. 2.15</b> Centrální tloušťka mazacího filmu jako funkce času pro rychlost 5,7; 10 a 20 mm/s při valení a) pro kovovou kuličku b) pro keramickou kuličku [15]	22
<b>Obr. 2.16</b> Vybrané interferogramy pro kovové kuličky a pozitivní prokluz [15]	23
<b>Obr. 2.17</b> Tloušťka mazacího filmu (bíle) a velikost vstupní oblasti (černě) v závislosti na čase během rozběhu z rychlosti 0 na 20 mm/s [16]	24
<b>Obr. 2.18</b> Tloušťka mazacího filmu v závislosti na počtu cyklů, sinusový průběh rychlosti (černě), konstantní (bíle), sinusový se změnou rotace (šedě) [16]	24
<b>Obr. 2.19</b> Tloušťka mazacího filmu v závislosti na čase v konfiguraci kulička na čočku, při čistém negativním prokluzu a rychlosti 40 a 10 mm/s; a) vývoj centrální tloušťky mazacího filmu v čase; b) interferogram pro rychlost 40 mm/s; c) interferogram pro rychlost 10 mm/s [17]	25
<b>Obr. 2.20</b> Schématický popis experimentální aparatury [18]	25
<b>Obr. 2.21</b> Závislost tloušťky mazacího filmu na čase a rychlosti [18]	26
<b>Obr. 2.22</b> Závislost Tloušťky filmu a fluorescenční intenzity na čase, čisté valení rychlost 22 mm/s [19]	27
<b>Obr. 2.23</b> Závislost tloušťky filmu a fluorescenční intenzity na čase, negativní prokluz rychlost 22 mm/s [19]	27
<b>Obr. 2.24</b> Vývoj tloušťky mazacího filmu jako funkce času, vliv prokluzu [19]	28
<b>Obr. 2.25</b> Vývoj tloušťky mazacího filmu jako funkce času s kontaktními dvojicemi o průměru 28 a 36 mm a) malá průměrová vůle b) velká průměrová vůle [20]	29
<b>Obr. 2.26</b> Závislost tloušťky mazacího filmu na čase pro různé modelové kapaliny [24]	30
<b>Obr. 4.1</b> Schéma postupu řešení	33
<b>Obr. 4.2</b> Schéma experimentální aparatury umožňující analýzu mazání TEP kyčle	33

<b>Obr. 4.3</b> Experimentální zařízení využívající fluorescenční mikroskopie	34
<b>Obr. 4.4</b> Schéma fluorescenčního mikroskopu	35
<b>Obr. 4.5</b> Kloubní hlavice ze slitiny CoCr a polymerní kloubní jamka (PMMA)	36
<b>Obr. 5.1</b> Závislosti intenzity na čase, opakovatelnost	40
<b>Obr. 5.2</b> Závislosti intenzity v krajních polohách na čase-experimenty s obarveným albuminem	41
<b>Obr. 5.3</b> Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným albuminem, krajní polohy	41
<b>Obr. 5.4</b> Závislost intenzity v rovnovážných polohách na čase, experimenty s obarveným albuminem	42
<b>Obr. 5.5</b> Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným albuminem rovnovážné polohy	43
<b>Obr. 5.6</b> Závislost intenzity v krajních polohách na čase-experimenty s obarveným $\gamma$ -globulinem	43
<b>Obr. 5.7</b> Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným $\gamma$ -globulinem, krajní polohy	44
<b>Obr. 5.8</b> Závislost intenzity v rovnovážných polohách na čase-experimenty s obarveným $\gamma$ -globulinem	45
<b>Obr. 5.9</b> Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným $\gamma$ -globulinem, rovnovážné polohy	45
<b>Obr. 5.10</b> Závislost intenzity v krajních polohách na čase-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou	46
<b>Obr. 5.11</b> Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou, krajní polohy	46
<b>Obr. 5.12</b> Závislost intenzity v rovnovážných polohách na čase-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou	47
<b>Obr. 5.13</b> Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou, rovnovážné polohy	48
<b>Obr. 5.14</b> Závislosti intenzity na čase při kombinovaných experimentech, opakovatelnost	49
<b>Obr. 5.15</b> Závislost intenzity na čase při kombinované zátěži-experimenty s obarveným albuminem	50
<b>Obr. 5.16</b> Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným albuminem, kombinovaná zátěž	50
<b>Obr. 5.17</b> Závislost intenzity na čase při kombinované zátěži-experimenty s obarveným $\gamma$ -globulinem	51
<b>Obr. 5.18</b> Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarveným $\gamma$ -globulinem, kombinovaná zátěž	52
<b>Obr. 5.19</b> Závislost intenzity na čase při kombinované zátěži-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou	53
<b>Obr. 5.20</b> Fluorescenční snímky z experimentů-experimenty s obarvenou kyselinou hyaluronovou, kombinovaná zátěž	53
<b>Obr. 6.1</b> Závislost intenzity na čase v rovnovážných polohách, porovnání komplexních kapalin	55
<b>Obr. 6.2</b> Závislost intenzity na čase při kombinované zátěži, porovnání komplexních kapalin	57

---

**SEZNAM TABULEK**

**Tab. 4.1** Přehled a složení modelových kapalin

37

## SEZNAM PŘÍLOH

---

### Příloha č.1

Článek: *On the Observation of Lubrication Mechanisms within Hip Joint Replacements. Part I: Hard-on-soft Bearing Pairs*