

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ÚSTAV KONSTRUOVÁNÍ

INSTITUTE OF MACHINE AND INDUSTRIAL DESIGN

TŘENÍ A MAZÁNÍ FASCIÍ

FRICTION AND LUBRICATION OF FASCIA

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Jiří Chmelík

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Martin Vrbka, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání diplomové práce

Ústav:	Ústav konstruování
Student:	Bc. Jiří Chmelík
Studijní program:	Konstrukční inženýrství
Studijní obor:	bez specializace
Vedoucí práce:	doc. Ing. Martin Vrbka, Ph.D.
Akademický rok:	2021/22

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

Tření a mazání fascií

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Bolest dolních zad je jednou z nejčastějších, a stále více rozšířených, civilizačních chorob současnosti. Jednou z možných příčin je myofasciální bolest, která je způsobena nedostatečným mazáním jednotlivých vrstev fascií nebo fascií a svalů kyselinou hyaluronovou. Snižuje se klouzavost fascií, narůstá součinitel tření a zvyšuje se bolest. Léčba tohoto onemocnění spočívá v injekční aplikaci viskoelastického roztoku kyseliny hyaluronové do postižených míst. Podstata této práce je vytvořit tribologický model fascií a pomocí měření součinitele tření stanovit optimální složení léčebného přípravku, který vyvíjí biotechnologická společnost Contipro, a. s.

Typ práce: výzkumná

Výstup práce: publikační výsledek (J, D)

Projekt: OP PIK

Cíle diplomové práce:

Hlavním cílem je experimentální popis vývoje součinitele tření vyvíjeného léčebného přípravku s využitím pin-on-plate simulátoru. Práce bude zaměřena především na kvantifikaci účinků nativní kyseliny hyaluronové a jejích vyvíjených derivátů na součinitel tření.

Díličí cíle diplomové práce:

- provést kritickou rešerši aktuálních vědeckých publikací,
- navrhnout podmínky experimentů a způsob vyhodnocení součinitele tření pro různé materiálové dvojice simulující kontakt fascií, popř. pro kontakt reálných fascií,
- provést díličí konstrukční úpravy simulátoru,
- posoudit účinnost testovaných produktů (maziv) z hlediska součinitele tření,
- konfrontovat získané poznatky s dosud publikovanými studiemi zabývajícími se tribologií fascií či podobných poddajných kontaktů.

Požadované výstupy: průvodní zpráva.

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

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

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

Seznam doporučené literatury:

PAVAN, P.G., A. STECCO, R. STERN a C. STECCO. Painful Connections: Densification Versus Fibrosis of Fascia. *Current Pain and Headache Reports* [online]. 2014, 18(8) [cit. 2021-10-18]. ISSN 1531-3433. Dostupné z: doi:10.1007/s11916-014-0441-4

COWMAN, M.K., T.A. SCHMIDT, P. RAGHAVAN a A. STECCO. Viscoelastic Properties of Hyaluronan in Physiological Conditions. *F1000Research* [online]. 2015, 4 [cit. 2021-10-18]. ISSN 2046-1402. Dostupné z: doi:10.12688/f1000research.6885.1

DERLER, S. a L.-C. GERHARDT. Tribology of Skin: Review and Analysis of Experimental Results for the Friction Coefficient of Human Skin. *Tribology Letters* [online]. 2012, 45(1), 1-27 [cit. 2021-10-18]. ISSN 1023-8883. Dostupné z: doi:10.1007/s11249-011-9854-y

Termín odevzdání diplomové práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2021/22

V Brně, dne

L. S.

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

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

ABSTRAKT

Diplomová práce byla součástí projektu „Regenerace a lubrikace fascií hyaluronanem“ společnosti Contipro a.s., jehož hlavním cílem je vývoj injekčního léčebného přípravku. Přibývá počet pacientů trpící tzv. bolestí myofasciálního původu v dolní části zad. Příčinou bolesti je zvýšená viskozita kyseliny hyaluronové, která je produkována mezi vrstvami fascií. Pokud je viskozita nízká, tak nedochází k ovlivňování vrstev fascií a součinitel tření je nízký. Úkolem přípravku je zlepšit klouzavý pohyb fascií a ulevit pacientovi od bolesti. Hlavní složkou léčebného přípravku je kyselina hyaluronová. Součástí projektu byla reologická a tribologická analýza vzorků kyseliny hyaluronové. Pro analýzu součinitele tření byl vytvořen tribologický model fascií v konfiguraci pin-on-plate. Na základě použitých modelů fascií byla zjištěna závislost mezi součinitelem tření a viskozitou u nativních roztoků kyseliny hyaluronové. U modelů a reálných fascií se zjistilo, že nativní roztok (Bonharen) dosahoval lepších třecích vlastností nežli roztoky derivátů kyseliny hyaluronové. Tyto analýzy přispěly nejen k vývoji léčebného přípravku, ale i pro vznik dalších studií, které by se chtěly zabývat biotribologií fascií.

KLÍČOVÁ SLOVA

Biotribologie, fascie, kyselina hyaluronová, součinitel tření, viskozita

ABSTRACT

The diploma thesis was part of the project "Regeneration and lubrication of fascia with hyaluronan" of the company Contipro a.s., whose main goal is the development of an injectable medicinal product. The number of patients suffering from so-called myofascial lower back pain is increasing. The cause of the pain is increased hyaluronic acid, which is produced between the layers of the fascia. If the viscosity is low, the fascia layers are not affected and the coefficient of friction is low. The purpose of the product is to improve the sliding movement of the fascia and relieve patients of pain. The main component of the medicine is hyaluronic acid. The project included rheological and tribological analysis of hyaluronic acid samples. A tribological model of fascia in a pin-on-plate configuration was created for the analysis of the coefficient of friction. Based on the fascia models used, the dependence between the coefficient of friction and viscosity of native hyaluronic acid solutions was found. For models and real fascias, the native solution (Bonharen) was found to have better friction properties than hyaluronic acid derivatives. These analyzes have contributed not only to the development of the drug, but also to the emergence of other studies that would like to address the biotribology of fascia.

KEYWORDS

Biotribology, fascia, hyaluronic acid, coefficient of friction, viscosity

BIBLIOGRAFICKÁ CITACE

CHMELÍK, Jiří. *Tření a mazání fascií*. Brno, 2021, 102 s. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav konstruování. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Martin Vrbka, Ph.D.

PODĚKOVÁNÍ

Chtěl bych poděkovat svému vedoucímu této diplomové práce doc. Martinu Vrbkovi za cenné rady během zpracování práce a biotribologické skupině z Ústavu konstruování při experimentální části diplomové práce. Dále chci poděkovat společnosti Contipro a.s. za poskytnutí zázemí při vypracování reologické části této práce.

PROHLÁŠENÍ AUTORA O PŮVODNOSTI PRÁCE

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

.....

Podpis autora

OBSAH

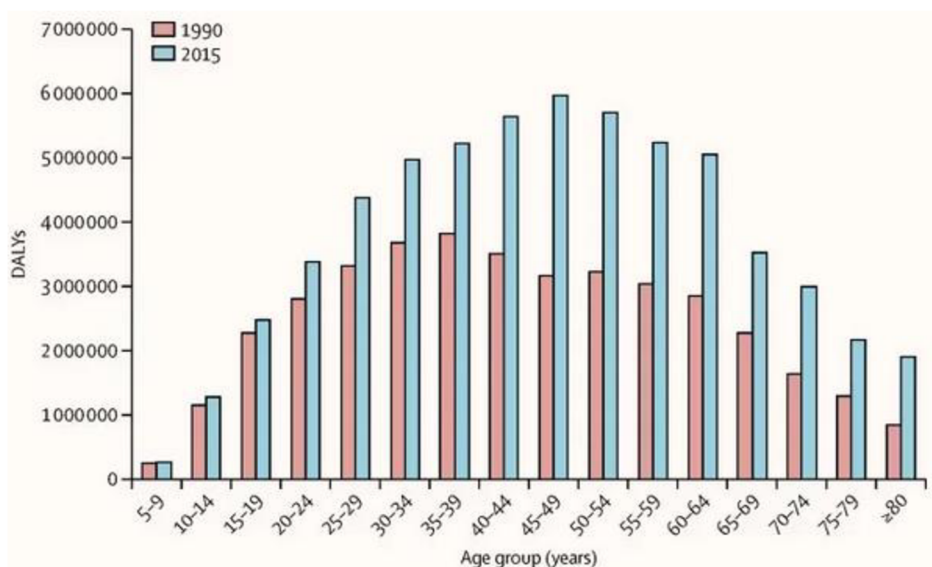
1	ÚVOD	15
2	PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ	17
2.1	Rešeršní metody	17
2.2	Fascie	19
2.3	Nespecifická bolest dolních zad	22
2.4	Myofasciální bolest dolních zad	24
2.5	Kyselina hyaluronová	25
2.6	Vliv kyseliny hyaluronové na fascie	26
2.7	Možnosti léčby myofasciální bolesti	28
2.8	Inovativní způsob léčby bolesti dolních zad	29
2.9	Tribologické modely měkkých tkání	29
2.10	Tlak mezi vrstvami fascií	44
2.11	Pohyb vrstev thorakolumbární fascie	47
2.12	Popis viskoelastických chování kyseliny hyaluronové mezi vrstvami fascií	48
2.13	Reologické vlastnosti kyseliny hyaluronové	50
2.14	Lékařský silikon (PDMS)	56
2.15	Shrnutí hlavních zjištění	57
2.16	Mezery v poznání	59
3	CÍLE PRÁCE	61
3.1	Výzkumné otázky	61
3.2	Cíle výzkumu	61
3.3	Hypotéza	61
4	MATERIÁL A METODY	62
4.1	Metodika	62
4.1.1	Měření viskozitních charakteristik HA	62
4.1.2	Experimentální měření součinitele tření	63
4.2	Experimentální zařízení a přístrojové vybavení	64
4.2.1	Discovery HR 30	64
4.2.2	Bruker UMT TriboLab	64

4.3	Materiál a metody	65
4.3.1	Reologie – roztoky HA	65
4.3.2	Tribologie – roztoky HA	65
4.3.3	Podmínky experimentálních měření viskozitních charakteristik	66
4.3.4	Podmínky experimentálních měření součinitele tření	67
4.4	Reologie	67
4.4.1	Postup měření viskozitních charakteristik	67
4.5	Tribologie	68
4.5.1	Tribologický model fascie	68
4.5.2	Postup měření součinitelů tření	71
4.5.3	Aplikované materiálové kontaktní dvojice	72
4.5.4	Statistické zpracování naměřeného signálu	73
4.6	Testované predikce	73
5	VÝSLEDKY	74
5.1	Reologie – viskozitní charakteristiky	74
5.1.1	Roztoky nativních vzorků HA a jejich derivátů	74
5.2	Tribologie – 1. sada experimentálních měření	77
5.2.1	Parametrické analýzy tribologického modelu	77
5.2.2	Vzorky nativních roztoků HA	79
5.3	Tribologie – 2. sada experimentálních měření	81
5.3.1	Parametrické analýzy	81
5.3.2	Vzorky derivátů HA	82
5.4	Tribologie – 3. sada experimentálních měření	82
6	DISKUZE	85
6.1	Nativní roztoky HA	85
6.2	Roztoky derivátů HA	86
6.3	Fasciální tkáň	87
6.4	Zhodnocení roztoků HA	88
7	ZÁVĚR	90
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	92
9	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK, SYMBOLŮ A VELIČIN	97
10	SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ	98

11	SEZNAM TABULEK	101
12	SEZNAM PŘÍLOH	102

1 ÚVOD

Bolest v dolní části zad se stává v současné době závažným problémem. Nejedná se pouze o zdravotní, ale i ekonomický problém. Je dokumentován jako velmi časté zdravotní omezení [1]. Bolest dolních zad je někdy klasifikována jako nespecifická, ke které nelze přiřadit uznávané specifické patologie. Přes vysokou převahu případů nejsou příčiny bolesti dolní části zad dobře pochopeny, a které vedou k nespecifické diagnóze, přibližně v 85 až 90 % případů. Bolest zad je definována jako bolest, která má dobu trvání více než 12 týdnů. U pacientů s chronickou bolestí zad je neúčinnější multidisciplinární logický přístup k léčbě, s lékařskými, psychologickými, fyzickými a intervenčními přístupy. Pacienti s bolestmi v dolní části zad by měli být také vyšetřeni na sociální nebo psychické potíže. Etiologii této bolesti lze často rozlišit na základě anamnézy pacienta fyzickým vyšetřením a v některých případech i zobrazovacími metodami. Nedávné studie poukazují na roli thorakolumbární fascie jako možnou příčinu tohoto druhu bolesti.



Obr. 1-1 Vývoj bolesti zad v čase [2]

Právě fascie je jednou ze složek, ze kterých se skládá lidské tělo. Fascie tvoří systém, který lze definovat takto: „trojrozměrné kontinuum měkkých, volných a hustých pojivových tkání obsahující kolagen, které prostupují tělem“. Jsou velmi husté, pokrývají a pronikají např. svalem, kostí atd. Hrají důležitou úlohu v podpoře a funkci lidského těla. Vrstvy husté pojivové tkáně jsou oddělené vrstvami volné pojivové tkáně, které umožňují sousedním vrstvám klouzat mezi sebou. Ve vrstvách fascií se vytváří kyselina hyaluronová. Kyselina hyaluronová plní úlohu maziva. Vlivem změny viskoelastických vlastností kyseliny hyaluronové dochází k ovlivňování klouzavého pohybu fascií a způsobení možné bolesti. Za změnou viskoelastických vlastností stojí hlavně molekulová hmotnost a koncentrace.

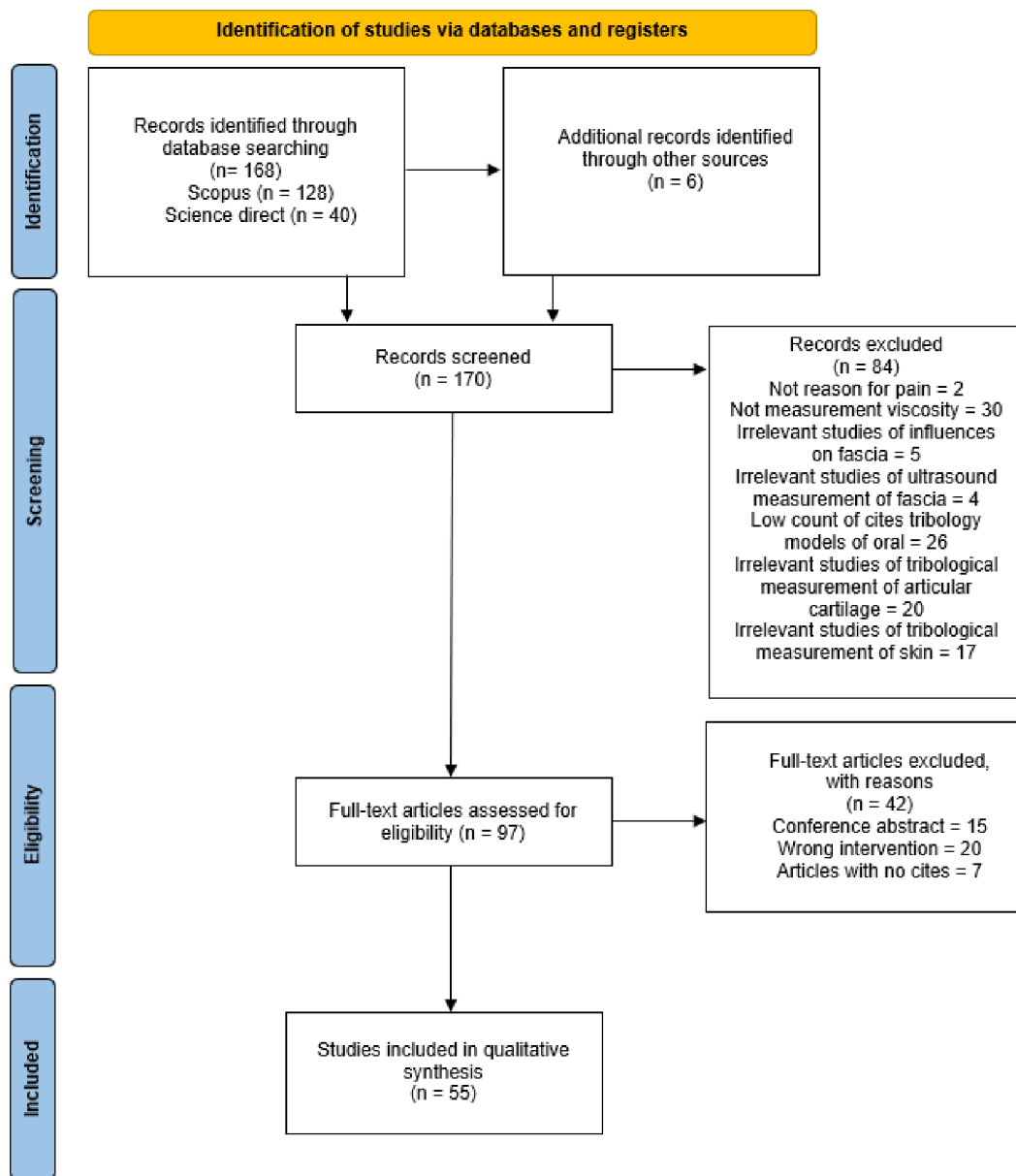
Na základě této skutečnosti se naskýtá příležitost možnosti léčby použitím lékařského přípravku tvořeného na bázi kyseliny hyaluronové, který by zlepšil klouzavý pohyb vrstev fascií a ulevil by od bolesti. Společnost Contipro a.s. přišla s inovativním způsobem léčby, která je založena na principu aplikace injekčního přípravku na bázi kyseliny hyaluronové, jež by upravil reologii kyseliny hyaluronové v místě patologie (densifikaci nebo fibrózu) a ulevil by od bolesti.

Součástí projektu, jenž má za úkol vyvinout tento přípravek, je i analýza součinitele tření roztoků na bázi kyseliny hyaluronové, podle které se vybíral pro vývoj léčebného přípravku. Tato analýza se uskutečnila na Ústavu konstruování. Analýza součinitele tření je i zároveň cílem této diplomové práce. Součástí této práce je rovněž i analýza reologických vlastností roztoků kyseliny hyaluronové.

2 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ

2.1 Rešeršní metody

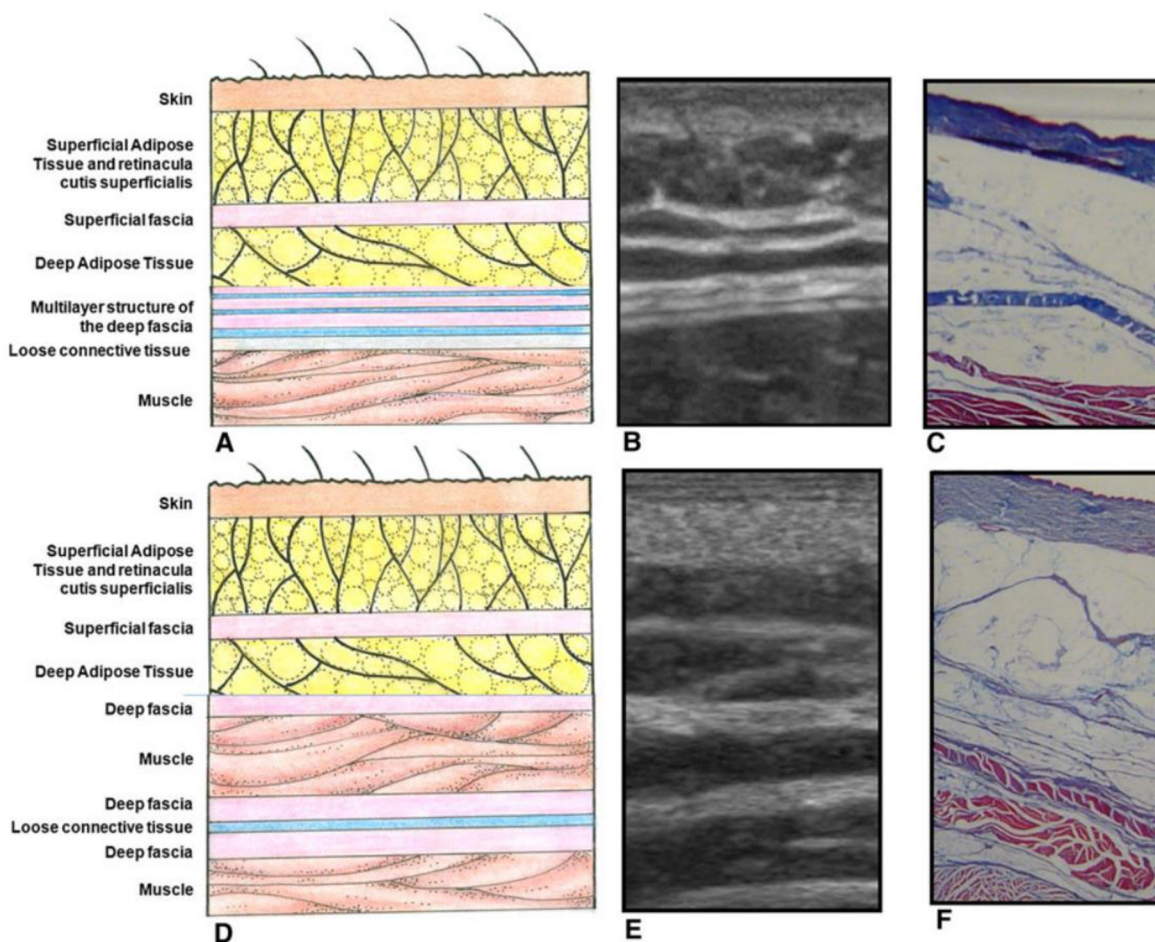
Jako kritéria pro výběr byly zvoleny 2 druhy článků „review“ a „article“. Byly omezeny roky vydání od roku 2011 až do roku 2021. Zdroje se vyhledávaly hlavně v anglickém jazyce. Rozhodovalo se i na základě abstraktu. Po přečtení těchto částí vědeckých publikací a posouzení vhodnosti, následovalo zběžné přečtení článků. Toto především probíhalo u publikacích, které pojednávaly o experimentálním měření součinitele tření, způsobu vývoje modelů tkání a reologickým měření roztoků na bázi kyseliny hyaluronové. Konkrétně se jednalo o kapitoly článků, kde byly hlavně popsány jednotlivé metody a postupy a následně i výsledky jednotlivých experimentálních měření. Vedlejšími kritérii pro výběr článků byly i počty citací, h-indexy autorů studií, impaktní faktory časopisů a instituce, kde probíhalo jejich zpracování. V rámci informačních zdrojů se využily hlavně databáze Scopus a Science direct. Byly rovněž použity i publikace na základě doporučení vedoucího diplomové práce. Pro rešeršní strategii byly použity pouze 2 Booleovské operátory - AND a OR. V 1. části byly použity 2 dotazy: fascia and pain and (hyaluronan or hyaluronic acid), který byl ještě omezen na „review“ články, a thoracolumbar fascia and ultrasound and (move or movement) and pain. Ve 2. části, zabývající se reologií, byly opět použity 2 požadavky: fascia and (hyaluronan or hyaluronic acid) and viscosity and concentration and molecular weight a rheology and (hyaluronan or hyaluronic acid) and viscosity and concentration and molecular weight, který byl omezen zkoumanou oblastí: „biochemistry, genetic and molecular biology“. Poslední část, pojednávající měkkými tkáněmi: kloubní chrupavky, ústní dutina a kůže. Na základě těchto vybraných tkání byla vložena do rešeršních požadavků: articular cartilage and (tribology or biotribology) and friction and (test or measurement) and (hyaluronic acid or hyaluronan), (oral or tongue) and (tribology or biotribology) and friction and (test or measurement), skin and human and synthetic and (tribology or biotribology) and friction and (test or measurement). Byly využita i metoda pro zpracování dat – scientometrie. Určovaly se hlavně hodnoty „impaktních faktor“ studií a „h-index“ hlavních autorů prací. Impaktní faktory se určovaly na databázi Web of Science a h-indexy autorů na Scoposu.



Obr. 2-1 PRISMA diagram

2.2 Fascie

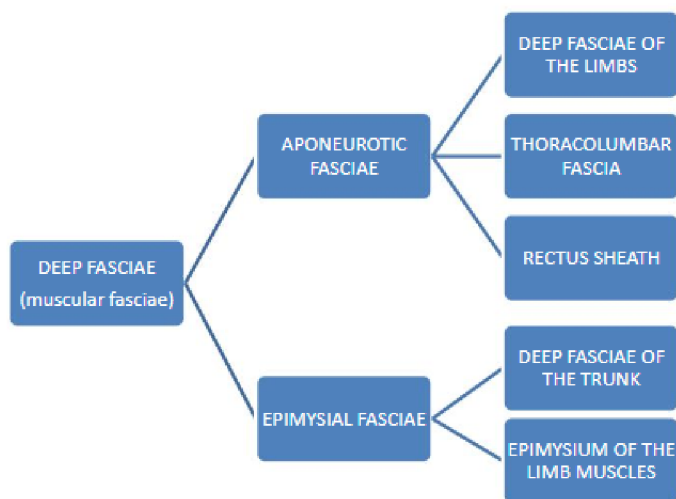
Tento druh tkáně nemá pevně danou definici, která by byla uznávaná. Nejlépe tuto tkáň vystihuje tato definice: „Fasciální systém se skládá z trojrozměrného kontinua měkkých, volných a hustých vláknitých pojivových tkání, obsahujících kolagen, které prostupují tělem. Zahrnuje prvky jako je tuková tkáň, adventitie a neurovaskulární pochvy, aponeurózy, hluboké a povrchové fascie, epineurium, kloubní tobolky, vazy, membrány, mozkové buňky, myofasciální expanze, perioste, retinacula, septa, šlachy, viscerální fascie a všechny intramuskulární a intermuskulární pojivové tkáně včetně endo-, peri-, epimysia. Systém proniká a obklopuje všechny orgány, svaly, kosti a nervová vlákna. Poskytuje tělu funkční strukturu a poskytuje prostředí, které umožňuje integrovat všechny systémy těla [3]. Od kůže po nejhlubší rovinu se vyskytuje povrchová fascie. Tato fascie rozděluje podkožní tkáň na dvě tukové vrstvy – povrchová a hluboká. Pak následuje hluboká fascie, která obklopuje všechny svaly. Mají odlišné charakteristiky, jenž jsou závislé dle konkrétního místa na těle [4].



Obr. 2-2 a-c) struktura podkožních tkání končetiny a d-f) struktura podkožních tkání trupu těla [4]

Povrchová fascie (fascia superficialis) je membránová vrstva pojivové tkáně, která je tvořena volně zabalenými propletenými kolagenovými vlákny spojenými s elastickými vlákny. Na krku nebo obličeji povrchové fascie vytvářejí celek se svalovými vlákny. Podílí se na celistvosti kůže a poskytuje podporu podkožním vrstvám. Na kostnatých výčnělcích a v některých vazových záhybech je povrchová fascie připojena k hluboké fascii [4].

Epimysální fascie se skládá z tenké kolagenové vrstvy, těsně spojené se základními svaly několika vláknitými přepážkami, které vycházejí z vnitřního aspektu fascií a pronikají do svalů. Aponeurotická fascie se skládá z pouzdra, které je tenčí v horních končetinách a silnější v dolních končetinách. Je snadno oddělitelná od podkladových svalů a je s nimi spojeno pouze několik myofasciálních expanzí, které jsou patrnější kolem kloubů. Pod hlubokou fascií se svaly mohou volně posouvat kvůli epimysiu a kyselině hyaluronové (dále HA, z anglického „Hyaluronic Acid“) nacházející se mezi hlubokou fascií a samotným epimysiem. Aponeurotické fascie jsou tvořeny dvěma nebo třemi vrstvami paralelních svazků kolagenových vláken [4].



Obr. 2-3 Druhy hluboké fascie [5]

Vícevrstvá struktura aponeurotické fascie a nedostatek elastických vláken propůjčují hluboké fascii konkrétní mechanické vlastnosti. Tkáň je hodně odolná vůči napětí v tahu, i když je protažena různými směry. „*Prostorová orientace kolagenových vláken poskytuje anizotropní vlastnosti aponeurotické fascie.*“ Z toho vyplývá, že fascie je tužší v podélném směru vzhledem k příčnému [4]. Hurschler [6] uvádí ve své studii, že průměrná tuhost je na jednotku šířky aponeurotické fascie $50,9 \pm 33$ N/mm v podélném směru a přibližně $46,4 \pm 16$ N/mm v příčném směru.

Hluboká fascie vykazuje různé znaky dle konkrétní oblasti. V končetinách se skládá ze dvou nebo tří vláknitých podvrstev oddělenými HA. Ve trupu těla je tento typ fascie tenčí a tvoří ji pouze jedna vláknitá vrstva [4]. Vrstvy jsou od sebe odděleny tenkou vrstvou volné pojivové tkáně (z anglického Loose Connective Tissue), jež umožňuje klouzání vrstev fascií [7]. Volná pojivová tkáň je schopná produkovat HA [8]. Dále je tvořena vodou a iontami [7]. HA je produkována buď fibroblasty, nebo fasciocyty [8]. Fasciocyty jsou buňky podobné fibroblastům.

Fascie někdy zastávají pozici, která není důležitá vůči ostatním tkáním, se kterými jsou spojeny. Toto chybné posuzování má opačný význam pro mnoho chirurgů, fyzioterapeutů, protetiků, masérů a dalších odborníků pracujících v souvislosti se zdravím [9].

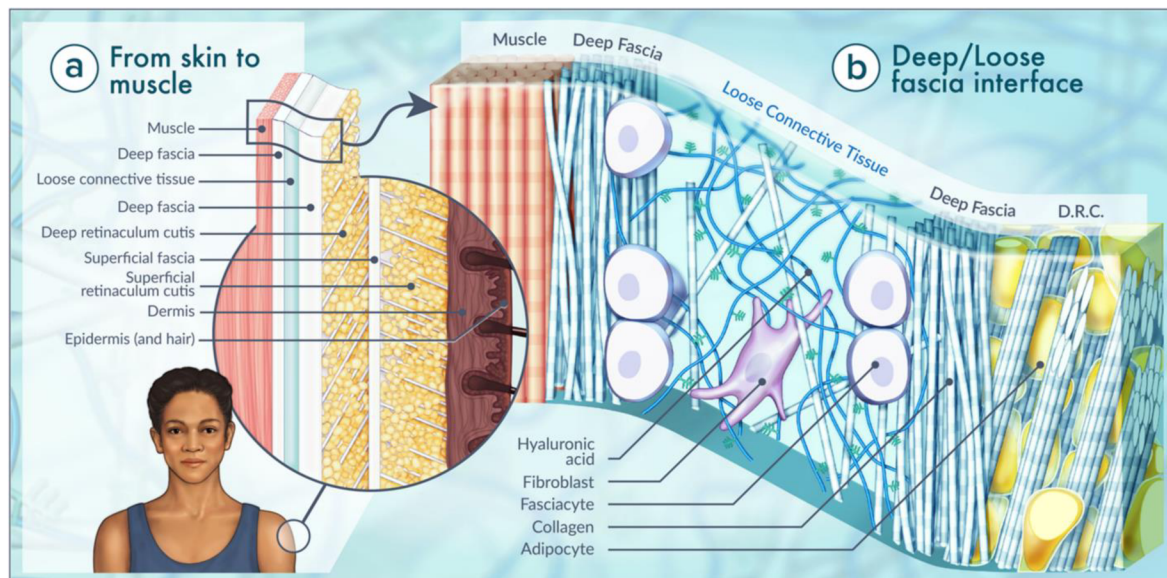
Kolagenová vlákna fascií vykazují ve srovnání např. se šlachou složitější mechanické chování. Orientace vláken zajišťuje fasciím pevnost v případě tahových sil aplikovaných v různých směrech a anizotropii [7]. Tyto vlákna připomínají vzhled „pavoučích“ sítí, viz Obr. 2-4 [10].



Obr. 2-4 Vlákna fasciální tkáně [10]

Hluboké fascie vykazují odlišné viskoelastické vlastnosti. Rovněž dosahují nízké či vysoké tuhosti v závislosti na rychlosti zatížení [11]. Předpokládá se, že pevnost souvisí se svalovou hmotou a maximální kontrakční silou. Toto poukazuje, že hluboká fascie funguje jako šlacha a přenáší sílu z jedné fascie do druhé. Volná pojivová tkáň má zásadní roli při zajišťování autonomie dvou vrstev. Pokud má HA nízkou viskozitu, lze protáhnout sousedními vrstvami a přenášet síly různými směry, aniž by docházelo k vzájemnému ovlivňování. Rovněž volná pojivová tkáň hraje zásadní roli ve schopnosti hluboké fascie přizpůsobit se objemovým změnám svalů během kontrakce [7]. Platí, že fascie jsou důležité při podpoře pohybu. Což znamená, že umožňují jednomu svaly nebo vláknům pohybovat se nezávisle vůči ostatním tkáním [12].

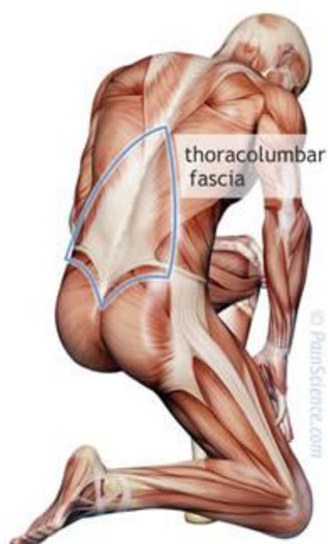
Základním stavebním materiálem fascií jsou fibroblasty, nebo-li pojivové buňky. Fibroblasty produkují kolagenová vlákna, extracelulární matici (dále ECM, z anglického „Extracellular matrix“) a základní látky (glykosaminoglykany – HA a glykoproteiny). Zároveň mezi další úlohy patří: udržování a reabsorpce ECM, hojení ran, zánětů atd. Fibroblasty mají zásadní roli při hojení ran, ovšem v určitých případech, které nebyly doposud objasněny, se jejich chování stává nekontrolované a vyvolává patologickou fibrotickou reakci, která podporuje mnohočetná onemocnění a postihuje různé orgány [13].



Obr. 2-5 Složení podkožních tkání [14]

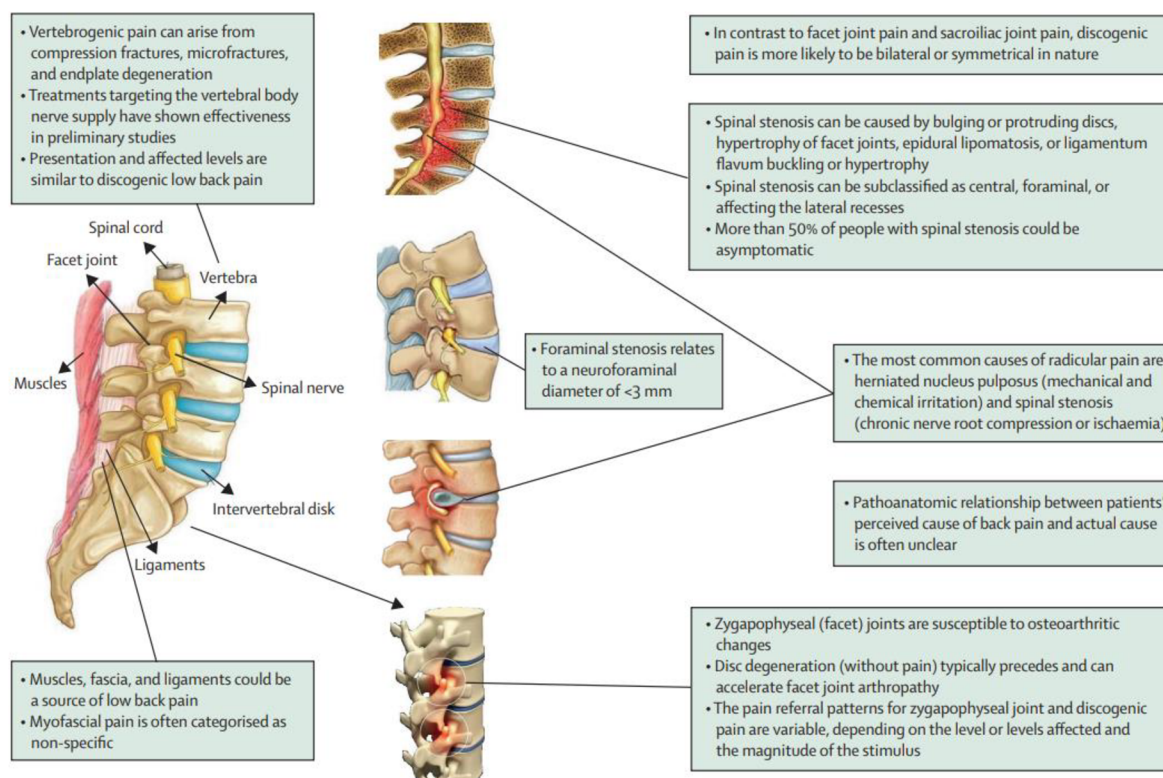
2.3 Nespecifická bolest dolních zad

Bolest dolních zad je důsledkem složitých interakcí zahrnující biologické, psychologické a sociální faktory [15]. Ve studii, která byla provedena ve 195 zemích, bylo určeno za hlavní příčinou bolesti této části zad celosvětová ztráta produktivity měřenou v průběhu let [16]. Pokud pacient pociťoval bolest v dolní části zad, tak i zkušený odborník se odkazoval na nespecifickou bolest zad, i když je tento termín často nesprávně aplikován na jednotlivce, přičemž příčina není doposud známá nebo je nejednoznačná [17]. Bolest lze klasifikovat jako mechanickou, radikulární (neuropatická) nebo primárně nociplastická s rozdíly ovlivňující rozhodnutí o léčbě [18]. Nespecifická bolest dolních zad je ovšem často spojena s thorakolumbární fascií [19].



Obr. 2-6 Thorakolumbární fascie [20]

Tato fascie pokrývá celou oblast dolních zad, pomáhá při stabilizaci a přenáší zátěž z horních končetin do dolních končetin. S tím je spojen termín bolest myofasciálního původu. Myofasciální bolest může vzniknout na základě nadměrného zatěžování, akutních zranění, natržením nebo svalovou křečí [18]. Jako ochrana se jeví pravidelná a intenzivní činnost jakými jsou denní cvičení se střední intenzitou.



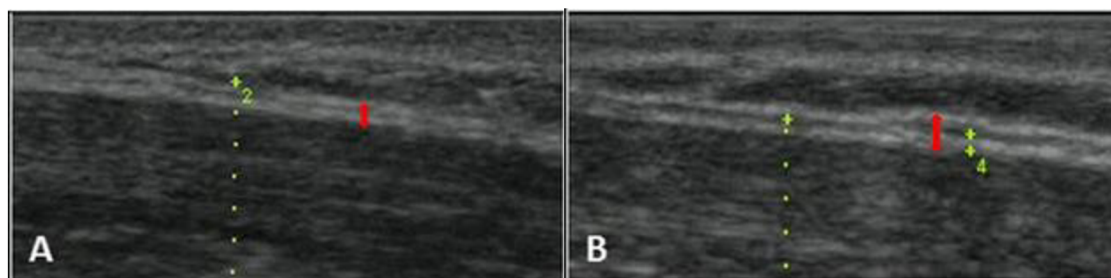
Obr. 2-7 Příčiny bolesti zad [18]

Ekonomické náklady spojené s bolestí dolních zad se odhadují například ve Velké Británii okolo £2,8 miliard, v Austrálii \$4,8 miliard a ve Spojených státech Amerických dosahují výdaje dokonce \$100 miliard [21–23].

2.4 Myofasciální bolest dolních zad

Myofasciální bolest je běžnou klinickou poruchou, která se projevuje jako akutní bolest v muskuloskeletálním systému s autonomním jevem, který zahrnuje bolest, snížený rozsah pohybu a slabost [24]. Myofasciální bolestivé syndromy (z anglického „Myofascial pain syndromes“) se klasifikují jako primární nebo sekundární. Za primární se označuje, pokud nesouvisí s jinými poruchami a sekundární, jestli je spojena s komobidními zdravotními stavy [25]. Myofasciální bolest postihuje až 85 % populace alespoň jednou za život, přičemž prevalence se pohybuje od 21 % ortopedických pacientů po 93 % pacientů ve specializovaných centrech. V klinické praxi patří mezi důležité a často přehlížené komplikace ve zdravotnictví [26]. Bolest je způsobena tzv. myofasciálními spouštěcími body (dále TrP, z anglického „Myofascial trigger points“), které se definují jako mimořádně citlivá místa v diskrétních napjatých pruzích ztvrdlého svalu. Existuje shoda, že nadměrné používání svalů nebo přímé poranění může vést k rozvoji TrP [27].

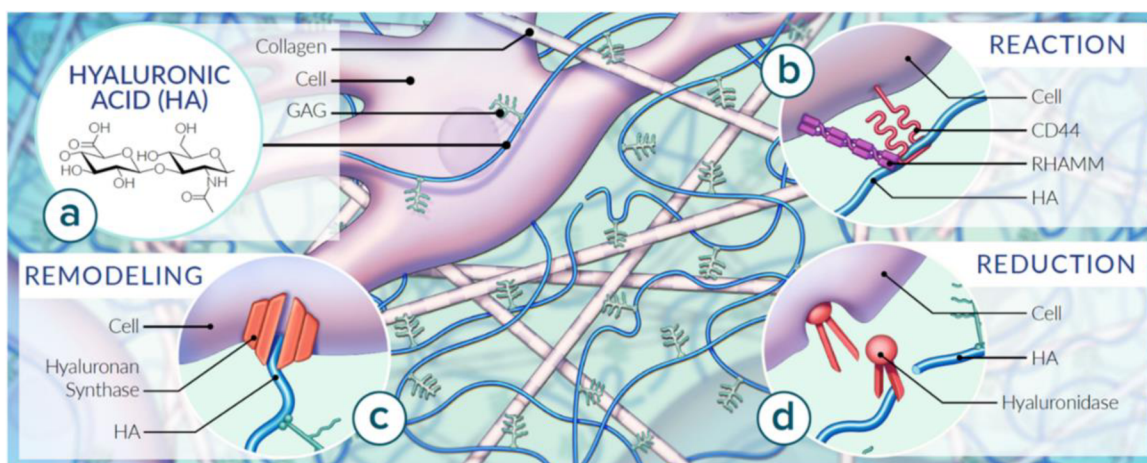
Z hlediska etiologie myofasciální bolesti dolních zad zde hraje důležitou roli již zmíněná thorakolumbární fascie [28]. Studie prokázala zvýšenou tloušťku u pacientů s bolestí zad [1]. Zvýšení tloušťky fascie je možné pozorovat ultrazvukem, viz Obr. 2-8. Mezi patologické změny fascií patří fibróza a densifikace. Fibrózu lze přirovnat procesu jizvení s ukládáním nadměrného množství pojivové tkáně [7]. Densifikace poukazuje na zvýšenou koncentraci HA ve fascii [29]. Vlivem zvýšení koncentrace HA se změní viskozita HA [30]. Dochází ke změně mechanických vlastností hlubokých fascií a narušení funkce podkladových svalů nebo orgánů [7].



Obr. 2-8 a) Zdravá fascie; b) Densifikace fascie [7]

2.5 Kyselina hyaluronová

Tento polysacharid, který je popsán v této studii [14], se obvykle nachází v pojivových tkáních obratlovců. HA je znám jako glykosaminoglykan. Glykosaminoglykany jsou nerozvětvené jednořetězcové polymery disacharidových jednotek obsahující N-acetylhexosamin a hexózu. HA se skládá z opakujících se disacharidových jednotek N-acetyl-D-glukosaminu a kyseliny D-glukuronové a vyskytuje se ve větší míře v ECM. Hlavní část řetězce HA může obsahovat několik tisíc molekul cukru. HA je polyaniont, který se může samostatně asociovat a vázat na sebe molekuly vody. I když se HA skládá z jednoho polysacharidového řetězce podobně jako jiné glykosaminoglykany, tak mezi ně vyniká, jelikož jeho molekulová hmotnost může dosáhnout milionů. Vysokomolekulární HA se nachází v neporušené a zdravé tkáni, kde udržuje normální homeostázu potlačením buněčné proliferace, migrace, angiogeneze, zánětu a imunogenicity. Naproti tomu bylo ověřeno, že nízkomolekulární HA stimuluje pohyblivost nádorových buněk vazbou na receptory CD44.



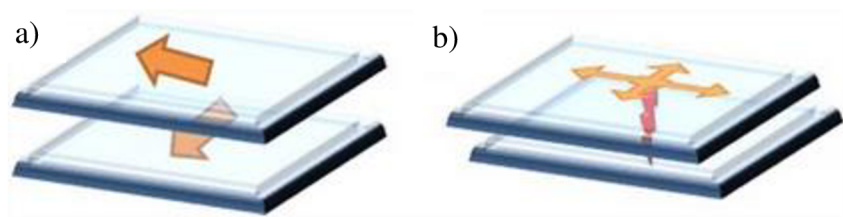
Obr. 2-9 Složení HA v ECM fascie [14]

Produkce HA je koordinována tzv. „hyaluronan synthases“ a vyvažována štěpnými enzymy, které se označují jako hyaluronidázy. V tkáních se HA může vyskytovat jako vázaný na plazmatické membrány, agregovaný s jinými makromolekulami nebo jako volný polysacharid.

Rozlišují se dva typy roztoků HA – nativní a derivát. Nativní HA neobsahuje žádné úpravy chemického složení atd. Derivát HA již obsahuje různé chemické modifikace (síťování), různé modulace atd. [31].

2.6 Vliv kyseliny hyaluronové na fascie

HA plní funkci maziva, které umožňuje klouzání fascií. Pokud má HA v pojivové tkáni nízkou viskozitu, lze protahovat sousedními hustými vláknitými vrstvami a můžou se přenášet síly různými směry, aniž by docházelo k jejich vzájemnému ovlivňování, viz Obr. 2-10 a). Jakmile dojde například k densifikaci fascií, přenos sil nelze snadno určit. Tkáň okolo bodu densifikace je vystavena intenzivnímu mechanickému namáhání, viz Obr. 2-10 b) [7].



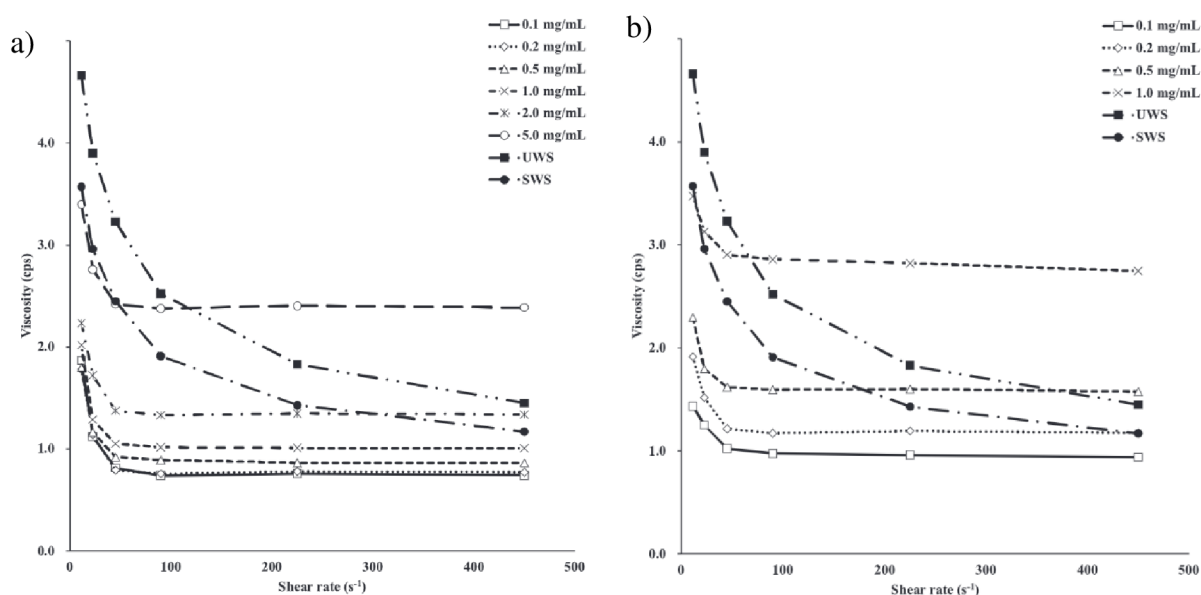
Obr. 2-10 a) Vrstvy fascií s nezávislým přenosem sil; b) vrstvy fascií s bodem densifikace [7]

Pokud se začne produkovat více HA, např. během cvičení, zvýší se viskozita a koncentrace a výsledkem je, že se HA chová jako newtonská tekutina [7]. I nehybnost může zvýšit koncentraci HA mezi fascie a svaly [30]. Důvodem je zaplétání řetězců HA a přispívání k hydrodynamickým vlastnostem roztoku. Viskozita se značně zvyšuje i s rostoucí vzdáleností mezi dvěma povrchy. Těmito způsoby vzniká densifikace fascie. To ovšem způsobí uvnitř volné pojivové tkáně snížené klouzání mezi vrstvami kolagenových vláken hluboké fascie [7]. Pokud se HA stane spíše lepivým než mazacím, viz Obr. 2-11, dochází ke změně rozložení sil ve fasciích [32].



Obr. 2-11 Densifikace (vlevo) a fibróza (vpravo) [33]

Tohle je u pacientů vnímáno jako fasciální ztuhlost [7]. Co může změnit toto zvýšení viskozity je úprava molekulární struktury, zvýšení teploty, změna pH nebo nárůst smykové rychlosti. Pokud je smyková rychlost uvnitř vrstev tekutiny efektivní, dojde k odtoku HA a způsobí pokles viskozity. Tohle se především používá při manuální terapii. Změny koncentrace, molekulové hmotnosti, viz Obr. 2-12, i kovalentní modifikace mohou mít dramatické účinky na viskozitu, následně i na klouzavý pohyb fascií [30]. Vlivem již zmíněného cvičení jako jednou z možných příčin zvýšení viskozity, může dojít k nahromadění kyseliny mléčné a ke změně pH, které má přímý vztah k viskozitě HA, pokud se jedná o intenzivní cvičení [7].



Obr. 2-12 Vliv koncentrace HA a smykové rychlosti na viskozitu při molekulové hmotnosti a) 100 kDa; b) 1 MDa [34]

Viskozita roztoků HA může ovlivnit způsob mazání, při kterém HA způsobuje snížení tření. Toto je např. popsáno pro vliv molekulové hmotnosti na součinitel tření pro styk kloubních chrupavek. U tlustého filmu HA se předpokládá, že velikost tření vzroste společně s viskozitou a dosáhne vysokých hodnot. Velikost tloušťky kapalně vrstvy obsahující HA u hlubokých fascií se pohybuje v rozmezí desítek mikrometrů. V případě fascií, pokud dojde k případu, že jsou koncentrace HA a/nebo molekulová hmotnost vysoké, může odpor proti proudění (tření) negativně ovlivnit mazání v důsledku vysoké viskozity [30].

Dieta, cvičení a nadužívání (přetěžování určité části těla, Barrios [35]) jsou schopny modifikovat viskozitu HA ve volné pojivové tkáni ve fasciích a způsobit densifikaci. Operace, cukrovka a stárnutí mění vrstvy fascií, což posléze vede k fasciální fibróze. Ve většině případů není jasné, o jaký případ (densifikace/fibróza) se jedná. Toto způsobuje nedostatek jistoty nejen v odborném názvosloví, ale rovněž i ve způsobu léčby ve snaze ulevit pacientovi od bolesti [7].

2.7 Možnosti léčby myofasciální bolesti

Léčbu myofasciální bolesti mohou zahrnovat léky, injekce nebo manuální terapie. Neexistuje přesvědčivý důkaz, který by nepodporoval použití jedné terapie před druhou, ale cvičení je považováno za důležitou složkou každého léčebného programu myofasciální bolesti. Doporučuje se vyzkoušet více než jeden přístup k léčbě. Mezi léky se řadí léky proti bolesti, antidepresiva a sedativa. Další možnostmi jsou návštěvy u fyzioterapeuta, kde jsou doporučovány např.: protahování, správné držení těla, masáže, působení zvýšené teploty nebo ultrazvuk. Poslední možnostmi léčby jsou injekce, které znečitlivují čidla nebo steroidy do spouštěcího bodu. U některých případů, při pouhém zasunutí jehly do spouštěcího bodu, pomáhá ulevit od svalového napětí. Tento způsob léčby zvané „suché vpichování“ zahrnuje zavádění jehly na několik míst ve spouštěcím bodu a okolo něj. Do této způsobu léčby je zahrnuta i akupunktura. Ohledně prevence proti myofasciální bolesti se doporučují lehká cvičení. Dále odpočinek (snižovat stres) a péče o tělo (zdravá strava a dostatek spánku) [36].

Kumai [37] popisuje vliv injekční aplikace HA s vysokou molekulovou hmotností do plantární fascie. Nejčastější příčinou bolesti paty je plantární fasciopatie, která je považována za typ entezopatie. Tato bolest je běžná u sportovců zabývajících se běháním. Bolest je způsobována obezitou, prodloužením stáním a snížená dorziflexe kotníku.



Obr. 2-13 Aplikace injekčního přípravku [37]

U HA se předpokládá analgetický účinek a zmírní příznaky u pacientů s plantární fasciopatií. Účinnost HA se lišila a ve studii nebyl příležitostně pozorován žádný účinek nebo případné zhoršení. Po 5 dávkách HA se potvrdilo významné zlepšení bolesti a prokázala se i bezpečnost pro další použití. Tato možnost léčby plantární fasciopatie prodloužila dobu do operace nebo se operace zrušila.

2.8 Inovativní způsob léčby bolesti dolních zad

Cílem projektu společnosti Contipro a.s., jejíž součástí je i tato diplomová práce, je vyvinutí léčebného přípravku na bázi HA, který se bude injekčně aplikovat do thorakolumbární fascie, za využití navigované ultrazvukové sondy. Účelem přípravku je obnovení fyziologické regenerace a lubrikace (obnovení klouzavého pohybu) vrstev hluboké fascie v dolní části zad v případě působení chronické bolesti. HA se již úspěšně injekčně aplikuje při léčbě např.: osteoartróze kolene [38] nebo jak již bylo prokázáno ve studii Kumai [37], ve které HA úspěšně uvolňovala od bolesti v plantární fascii.

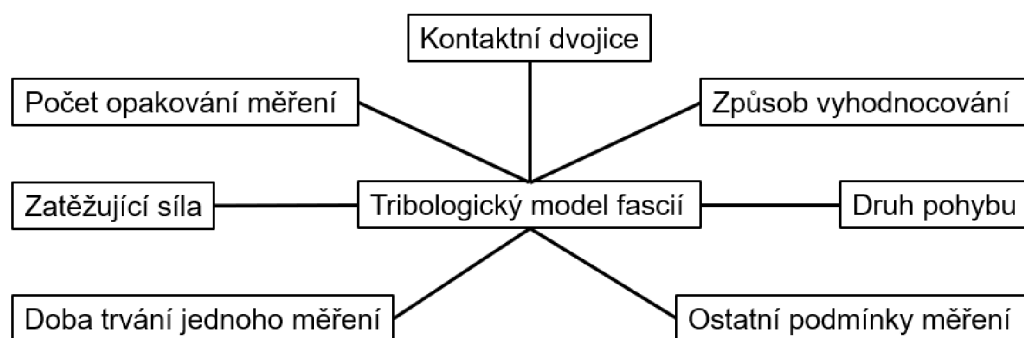
Společnost Contipro a.s. si vyčlenila na základě svých interních měření nativní roztoky a roztoky derivátů HA. Tyto roztoky se následně využily pro reologické a tribologické experimenty.

Část projektu se uskutečnila právě na Ústavu konstruování (dále ÚK). Cílem na ÚK bylo provést analýzy třecích vlastností vybraných roztoků na bázi HA určené pro vývoj. Dle těchto analýz se posoudila vhodnost roztoků pro další vývoj léčebného přípravku. V rámci projektu bylo dohodnuto aplikovat během experimentů reálné tkáně fascií. Tyto tkáně byly získány preparací fascií z kadáver králíků.

2.9 Tribologické modely měkkých tkání

Pro výběr vhodného roztoku na bázi HA bylo třeba uskutečnit tribologická měření. Tato měření měla za cíl zjistit vývoje součinitelů tření jednotlivých roztoků HA. Tento parametr je jedním z rozhodujících pro vývoj injekčního přípravku.

Jelikož je problematika fascií v oblasti biotribologie poměrně nová, bylo třeba se zabývat jinými tribologickými systémy v člověku, které by pomohly k vytvoření tribologického modelu fascií. Podle tohoto modelu fascií se následně posoudily roztoky na bázi HA, které byly dodány společností Contipro a.s. V této podkapitole jsou diskutovány vybrané studie biotribologie ústní dutiny, kloubní chrupavky a kůže. Všechny tyto studie spadají do kategorie tzv. měkkých tkání. Ze všech studií [39–46] byly posuzovány materiály použité pro měření, hodnoty zatížení, rychlostí, posuvů, doby trvání měření, způsoby vyhodnocování měření a další podmínky měření. Studie, zabývající se kloubními chrupavkami, se použily rovněž k posouzení vývoji reologických vlastností a součinitelů tření v závislosti na molekulové hmotnosti a koncentraci HA. První tři studie [39–41] se zabývají tribologií kloubních chrupavek. Další studie [42, 43] zkoumá měření součinitelů tření lidské kůže. Studie [44–46] se zabývají tribologií ústní dutiny člověka.



Obr. 2-14 Podmínky pro vytvoření tribologického modelu

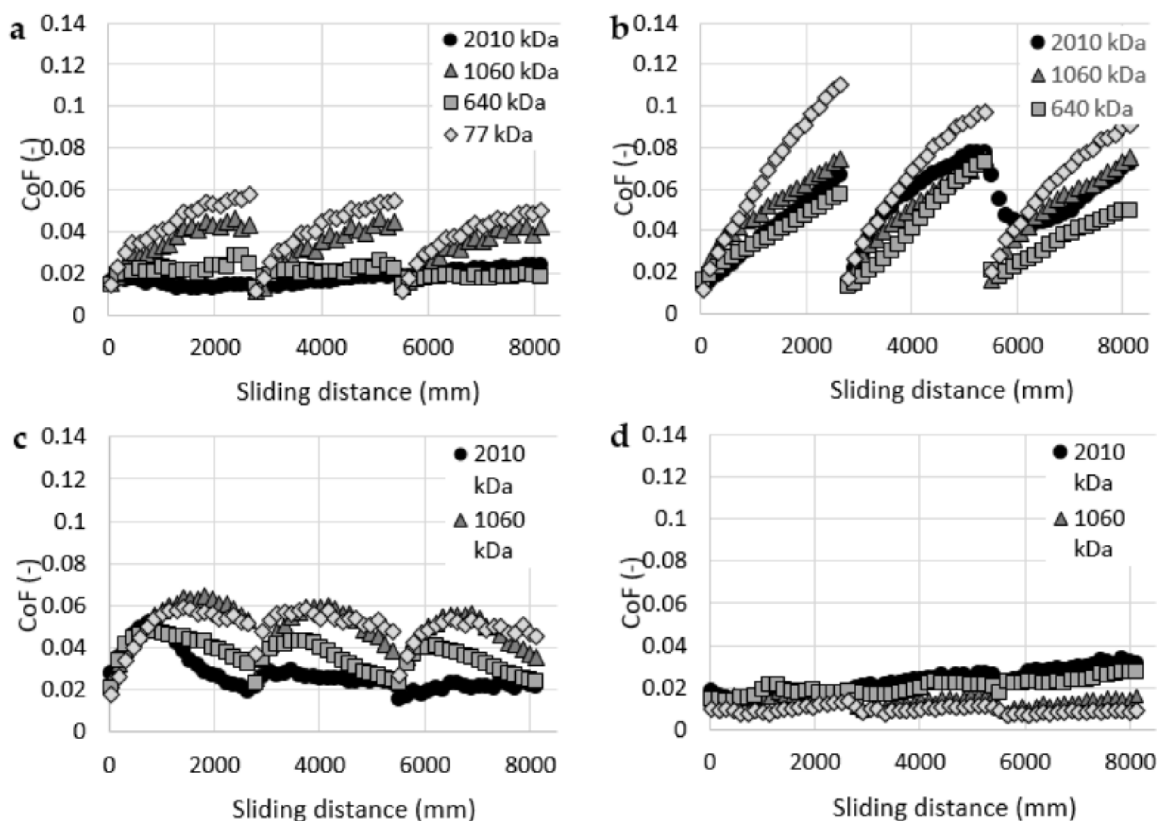
[39] REBENDA, D., a kol. On the dependence of rheology of hyaluronic acid solutions and frictional behavior of articular cartilage, *Materials*

Autoři této studie zkoumali účinky molekulové hmotnosti roztoků kyseliny hyaluronové na reologické vlastnosti a jeho vliv na tření v modelu kloubní chrupavky. Byly testovány 4 HA roztoky s koncentracemi 20 mg/ml a molekulovými hmotnostmi 77 kDa, 640 kDa, 1 060 kDa a 2 010 kDa.

Tribologické měření probíhalo na komerčním tribometru Bruker UMT TriboLab s konfigurací pin-on-plate. Součinitel tření byl zkoumán jako funkce času pro materiálovou dvojici tvořenou skleněnou destičkou (plate), která byla stacionární, a prasečí chrupavkou konající pohyb. Byla nastavena zátěžná síla 5 N, rychlost posuvu 10 mm/s a délka posuvu 20 mm. Kontakt dvojice byl zcela zaplaven roztokem HA. Pro napodobení teploty lidského těla se mazivo zahřívalo na 37 °C pomocí topných patron v ocelové komoře. Před každým experimentem byl vzorek chrupavky ponořen do maziva na dobu 320 s. Na konci této předběžné fáze byla chrupavka zatěžována a zkouška tření byla okamžitě zahájena. Po 300 s (75 cyklů, skluzová vzdálenost 2 740 mm) byla zkouška přerušena a chrupavka byla odtížena na dalších 320 s. Tato nezatížená fáze je důležitá pro rehydrataci chrupavky. Následně byl test s vratným pohybem opakován okamžitě po opětovném zatížení a pokračoval dalších 300 s. Fáze odtížení se opakovala 2krát, takže byly provedeny 3 testy za stejných podmínek. Z těchto údajů byl určen součinitel tření. Testy byly opakovány 4krát za stejných podmínek, se 4 různými vzorky chrupavky a novými vzorky maziva. Mezi testy s různými mazivy byly vzorky chrupavky ponořeny do PBS. Intaktní vzorky chrupavky s podkladovou subchondrální kostí byly připraveny z prasečích hlavic femuru. Po přípravě byl vzorek skladován v mrazáku při teplotě -20 °C v roztoku PBS po dobu nejvýše 2 týdnů. Tento postup by měl zpomalit biologickou degradaci tkáně chrupavky. Půl hodiny před měřením byla chrupavka vyjmuta z mrazničky, aby roztála při pokojové teplotě.

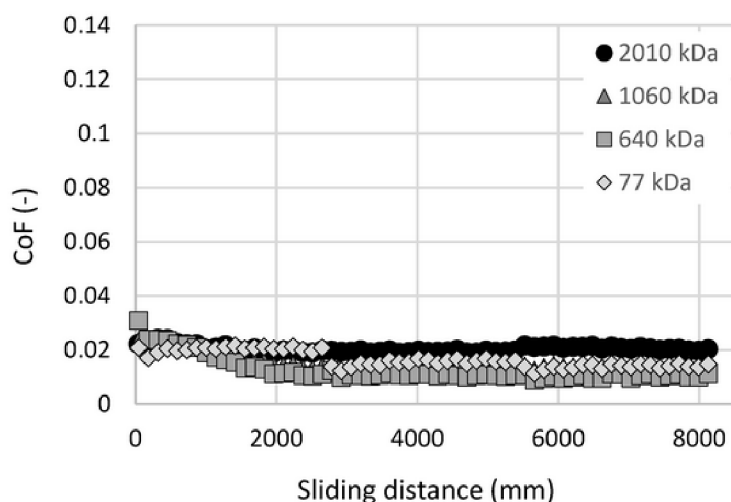
Výsledky a závěry

Počáteční tření bylo velmi nízké, jak je typické pro intaktní chrupavku, které byly mazány PBS. Součinitel tření se však postupně zvyšoval se vzdáleností. Když byl vzorek chrupavky znovu zatížen a test s vratným pohybem obnoven, tření se významně snížilo. Toto obnovení nízkého tření bylo způsobeno dříve zmíněnou rehydratací chrupavky, ale počáteční hodnoty součinitele tření jsou o něco vyšší než v prvním dílčím kroku měření. Po této počáteční sadě experimentů byly všechny 4 vzorky chrupavky mazány se všemi 4 roztoky HA. Výsledky ukázaly významné snížení tření ve srovnání s referenčním roztokem PBS. Nejvýznamnější pokles lze pozorovat u 4. vzorku.



Obr. 2-15 Výsledky měření součinitelů tření jednotlivých vzorků kloubních chrupavek

Pokusy s kloubní chrupavkou ukázaly velký rozptyl výsledků. Hlavními důvody pravděpodobně budou rozdíly ve struktuře a tvaru mezi jednotlivými vzorky chrupavky. Jednou z možností může být použití hydrogelů na bázi polyvinylalkoholu (PVA). Tyto materiály jsou mimo jiné dlouhodobě vyvíjeny a testovány jako vhodný materiál pro náhradu poškozené osteoartrické chrupavky. Na Obr. 2-16 jsou výsledky počátečních experimentů s PVA hydrogelem jako náhradou chrupavky. Zkušební zařízení, experimentální podmínky a testovaná maziva byla stejná jako dříve.



Obr. 2-16 Výsledek měření součinitele tření mezi sklem a PVA hydrogelem

Hodnoty součinitelů tření jsou sice nižší než při využití vzorků chrupavek. Během experimentů, ani v tomto případě, není úplně vidět přímá závislost mezi molekulovou hmotností HA a součinitelem tření.

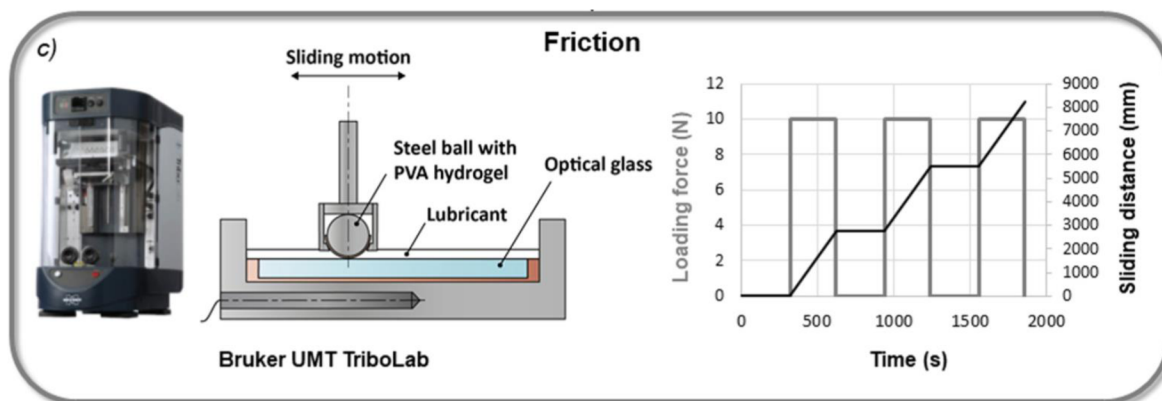
[40] REBENDA, D., a kol. Rheological and frictional analysis of viscosupplements towards improved lubrication of human joints. *Tribology International*

Cílem studia bylo popsat vliv viskosuplementace na tření kloubní chrupavky v závislosti na reologii viskosuplementů. Viskosuplementy (VS) byly vybrány na základě koncentrace, molekulové hmotnosti a síťování obsaženého v HA. Všechny VS se testovaly jako čisté roztoky a také jako směsi v poměru 1:1 s modelem SF, aby se lépe prozkoumal účinek VS na reologii SF a také na tření v osteoartritickém kloubu.

Tab. 2-1 Vybrané produkty pro experimentální měření

Produkt	HA koncentrace (mg/ml)	HA molekulová hmotnost (kDa)	Síťování	Objem produktu
Erectus®	12	1 100	Ne	2
Hyalgan®	10	500 – 730	Ne	2
Monovisc®	22	1 000 – 2 900	Ano	4
Optivisc single®	30	3 000	Ano	3
Synvisc one®	8	6 000	Ano	6

Pro měření třecích vlastností VS na bázi HA byl použit tribometr Bruker UMT TriboLab s konfigurací pin-on-plate. Byly provedeny 2 série vratných posuvných testů s čistými a smíšenými VS. Součinitel tření byl zkoumán jako funkce vzdálenosti pojezdu. Materiálovou dvojici tvořilo skleněná deska (plate) a pohyblivého pinu z PVA-FT hydrogelů. Hydrogel byl nasazen na ocelovou kouli o průměru 19 mm.

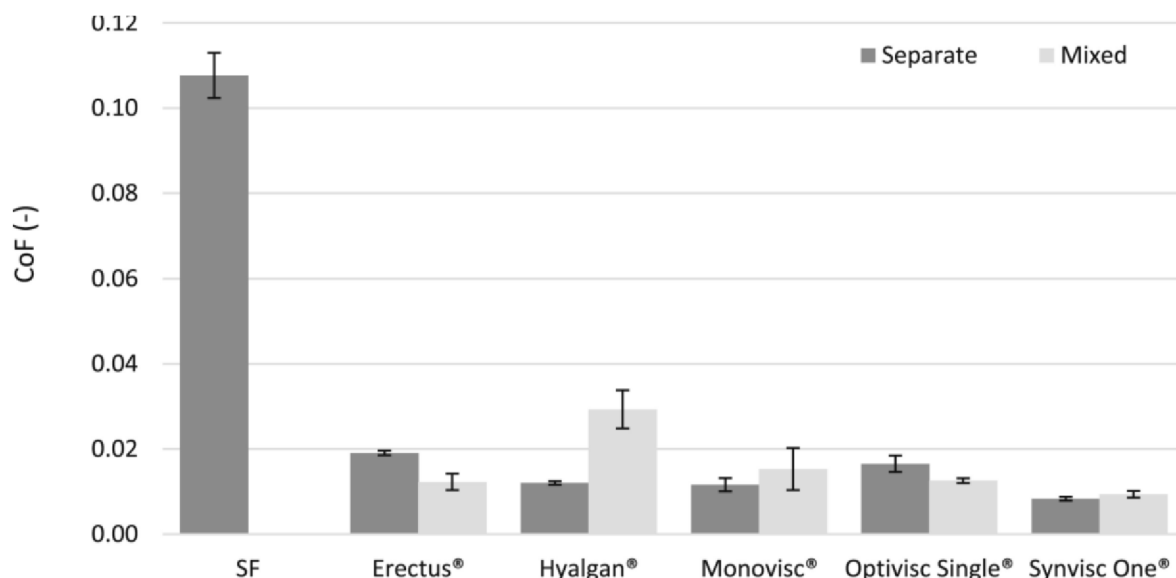


Obr. 2-17 Tribologické měření

Zatěžovací síla byla nastavena na 10 N, rychlost pojezdu 10 mm/s a délka posuvu 20 mm. Dvojice byla během měření kompletně zaplavena mazivem a bylo zahříváno na 37 °C pomocí topných patron vložené do komory z nerezové oceli. Každý test byl složen ze 3 fází. Každá fáze trvala 300 s a vzorek hydrogelu urazil vzdálenost 2 740 mm. Fáze se zatížením byly odděleny 2 nezatíženými fázemi. Během nezatížených fází byl vzorek hydrogelu stále ponořen do testovaného maziva na dalších 300 s. Tyto nezatížené fáze jsou důležité pro rehydrataci vzorku hydrogelu. Z těchto dat byly určeny hodnoty součinitelů tření. Všechna měření tření byla prováděna 3krát za stejných podmínek s čerstvými vzorky hydrogelu a maziva. Průměrné hodnoty a standardní odchylky z těchto 3 měření byly vypočítány.

Výsledky a závěry

U výsledků součinitelů tření lze poznamenat, že pro čistý SF jsou velmi nízké, mezi 0,05 až 0,065. Na konci fáze hodnoty pohybují mezi 0,105 až 0,107. Všechny komerční VS vykazovaly podstatně nižší tření ve srovnání s čistým SF, ale existují rozdíly ve tvaru třecích křivek mezi jednotlivými VS. Nesítované roztoky HA dle grafů prokázaly závislost součinitele tření na viskozitě. Při klesající hodnotě viskozity klesal i součinitel tření. Ovšem v případě síťovaných roztoků HA tohle nelze jednoznačně potvrdit, jelikož jsou chemicky upraveny, i tyto úpravy mohou mít vliv na součinitel tření.

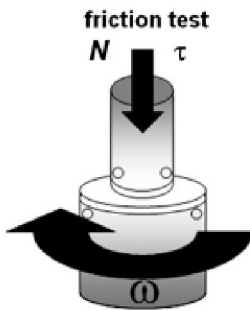


Obr. 2-18 Graf součinitelů tření viskosuplementů a směsí

[41] KWIECINSKU J., a kol. The effect of molecular weight on hyaluronan's cartilage boundary lubricating ability – alone and in combination with proteoglycan 4. *Osteoarthritis and cartilage*

Cílem autorů studie bylo posoudit závislost molekulové hmotnosti samotné kyseliny hyaluronové na hranicích chrupavky a s kombinací proteoglykanem 4 (PRG4). Dále určit, zda pomocí testu posunu elektroforetické mobility (EMSA) HA a PRG4 interagují v roztoku.

Pro měření součinitele tření se použily chrupavky ze skotu. Na mazání byla použita synoviální kapalina, PRG4, fosfátový pufr (PBS) představující referenční roztok a kyseliny hyaluronové (HA) o molekulových hmotnostech: 20 kDa, 132 kDa, 780 kDa, 1,5 MDa, 5 MDa o koncentracích 3,33 mg/ml a monodisperzní HA 150 kDa a 1 MDa. Pro stanovení mazání na hranici chrupavky byly provedeny 4 postupné testovací sekvence. Měření probíhalo na tribometru Bose ELF 3200, na kterém byla nastavena konfigurace „pin-on-disc“. Do pinu, tak i do disku byl vytvořen mazací systém. Dvojice byla nejdříve stlačována. Poté se vzorky otočily 2krát ve stejném směru, následně se změnil směr a 2krát se otočily při rychlostech 0,3 mm/s s přestávkami v pohybu s časy 1,2, 12, 120, 1 200 s (označovány T_{ps}).

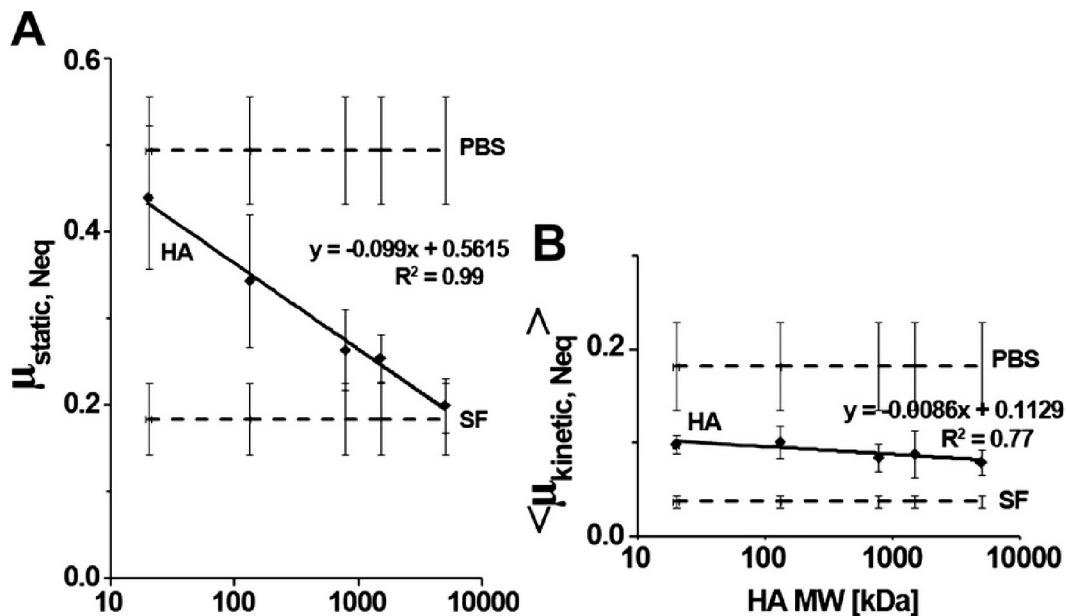


Obr. 2-19 Simulátor pin-on-disc

K vyhodnocování se určila průměrná hodnota v obou směrech otáčení. Byly stanoveny statické a kinetické součinitele tření. Statické bylo měřeno při spuštění měření a dynamické při ustáleném klouzání. Údaje jsou uváděny jako průměr s 95 % intervalem spolehlivosti. Účinky testovacího maziva a opakovací faktor (T_{ps}) na každý ze 2 součinitelů tření byly hodnoceny analýzou rozptylu (ANOVA). Dále byly lineární regresí hodnoceny závislosti na logaritmu HA molekulových hmotností.

Výsledky a závěry

U všech testovaných maziv výrazně vzrostl statický součinitel tření se zvyšujícím T_{ps} . Při $T_{ps} = 1\ 200$ s byly hodnoty v průměru o 68 ± 13 % vyšší než u $T_{ps} = 1,2$ s. Naopak kinetické tření se zvýšilo jen mírně, průměrné hodnoty při $T_{ps} = 1,2$ s byly v rozmezí hodnot 15 ± 10 % při $T_{ps} = 1\ 200$ s.



Obr. 2-20 Vývoj součinitele tření na molekulové hmotnosti HA, a) statický b) kinematický

Součinitele tření byly sníženy přidáním PRG4. Hodnoty statického tření pro PRG4 při $T_{ps} = 1\ 200$ s byly významně vyšší ve srovnání s PRG4 + 132 kDa a PRG4 + 1,5 MDa, které jsou si navzájem podobné. Toto samé lze potvrdit i u kinetického tření.

[42] BOSTAN L., a kol. A comparison of friction behaviour for *ex vivo* human. *Tribology international*

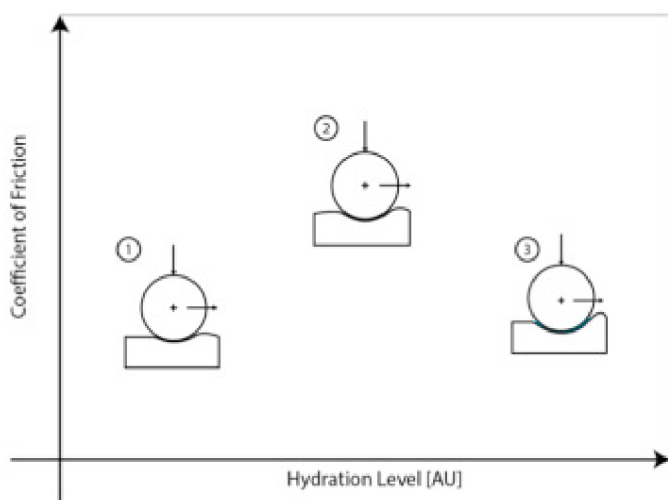
Cílem této studie bylo porovnat třecí vlastnosti biologické a syntetické kůže s lidskou kůží *ex vivo*. Experimentální měření bylo provedeno na 3 různých materiálech – kůže *ex vivo*, dermis, epidermis, kůže vytvořené tkáňovým inženýrstvím (TE) a syntetickou kůží. Vzorky odebraných kůží byly přechovávány ve standardním fyziologickém roztoku – fosfátový pufr (PBS) s antimikrobiálními látkami při 4 °C, ne déle než 12 hodin před zpracováním. Všechny vzorky byly až do testování udržovány v hydratovaném stavu. PBS byl použit pro skladování lidské kůže, epidermisu a dermisu (4 °C). Syntetická kůže byla uložena do destilované vody (pokojová teplota) a kůže TE byly skladovány v Greenovu médiu (37 °C). Jednotlivé kůže byly přilepené na brusný papír připevněných na plochu. Testy proběhly na tribometru CETR-UMT 2 (Bruker) s konfigurací pin-on-plate. Vrchol pinu tvořila nerezová ocelová kulička. Pin konal přímočarý vratný pohyb. Bylo nastaveno zatížení 5, 10 a 30 mN. Rychlost během měření byla 0,5 mm/s po dobu 6 cyklů s posuvem 10 mm. Zatížení byla před testováním stabilizována během 20 s. U každého vzorku byla provedena alespoň 2 opakování.



Obr. 2-21 Simulátor pin-on-plate

Výsledky a závěry

Vlivem zvyšující se úrovně hydratace materiálů se obecně tření zvyšuje. V některých případech za určitým bodem tření poté klesá. Je patrné, že tření je nejnižší při nejvyšším aplikovaném zatížení.



Obr. 2-22 Graf závislosti vlhkosti na součinitel tření

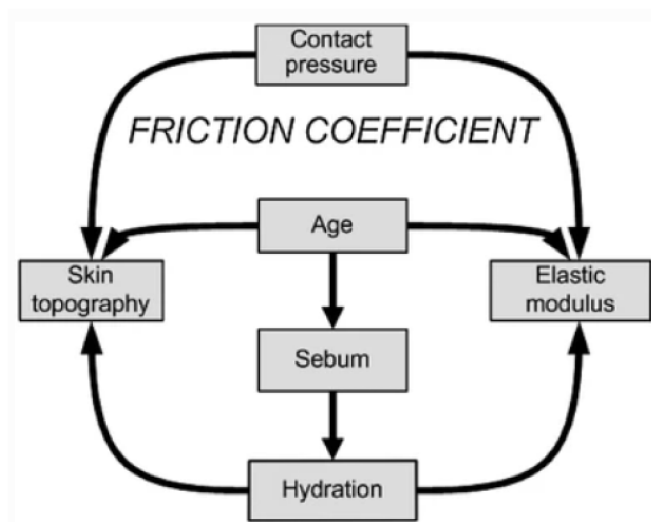
Kromě samotného zatěžování má taky vliv úroveň vlhkosti v rozhraní. Hodnoty součinitelů tření syntetické kůže a dermisu stoupají se stejnou rychlostí od „suché“ úrovně hydratace. Hodnoty tření zde klesají při nižší úrovni hydratace. Toto je nejvíce patrné při nejvyšším aplikovaném zatížení 30 mN. S rostoucí hydratací dochází ke plastifikaci/změkčení kůže, protože absorbuje aplikovanou vodu, což vede k větší kontaktní ploše mezi pinem a kůží. Následkem je větší tření. Zpočátku, jak se zvyšuje hydratace, se pružnost dermisu a syntetické kůže mění a tření poklesne dříve z důvodu méně absorbované vody. Samotné měření součinitele tření lidské kůže představuje několik problémů týkajících se konzistence a opakovatelnosti výsledků.

[43] DERLER S. a GERHARDT L.C. Tribology of skin: Review and analysis of experimental results for the friction coefficient of human skin. *Tribology letters*

Autoři této rešeršní publikace se zabývali aktuálním přehledem a analýzou experimentálních výsledků pro tření lidské kůže *in vivo*. Zároveň zohledňovali faktory ovlivňující součinitel tření.

Velikost hodnoty součinitele tření se značně ovlivňuje hydratací kůže, materiálovými kontaktními dvojicemi a jejichmi vlastnostmi. Autoři se zaměřili na kontaktní tlaky pro posuzování součinitele tření v rámci různých experimentálních přístupů.

V případě suché kůže je součinitel tření nízký, ale jestliže je zvýšena vlhkost či je kůže mokrá, tak docházelo ke vzrůstu tření s klesající závislostí kontaktního tlaku a zároveň zde vstupují smykové vlastnosti kůže. Kapalný mazací film může vytvářet hydrodynamický režim mazání, kde součinitel tření může dosáhnout hodnot i pod 0,1. Ovšem mazací film je ovlivněn topografií povrchu a následně vzniká mezní režim mazání.

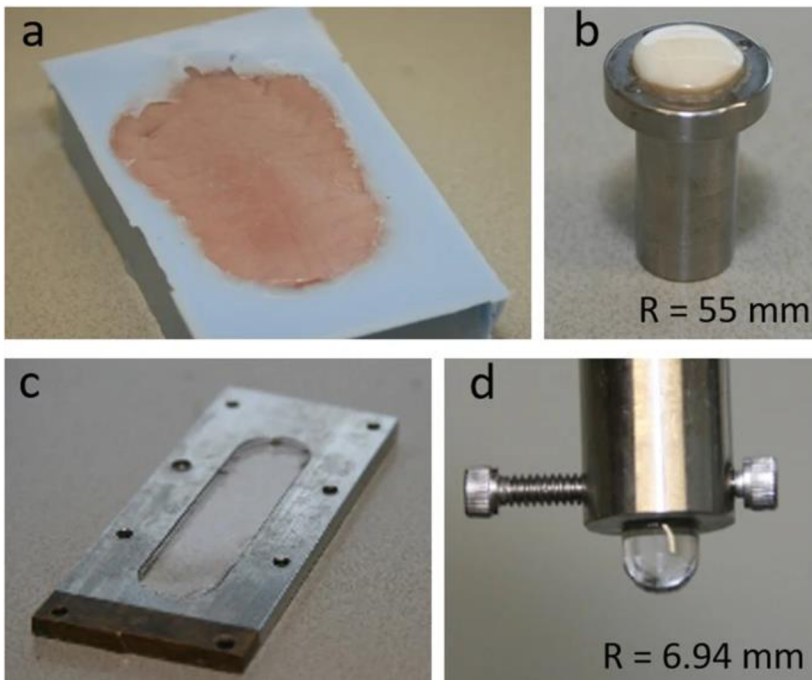


Obr. 2-23 Interakce důležitých faktorů ovlivňující tření lidské kůže

[44] VINKE J., a kol. An ex vivo salivary lubrication system to mimic xerostomic conditions and to predict the lubricating properties of xerostomia relieving agents. *Scientific Reports*

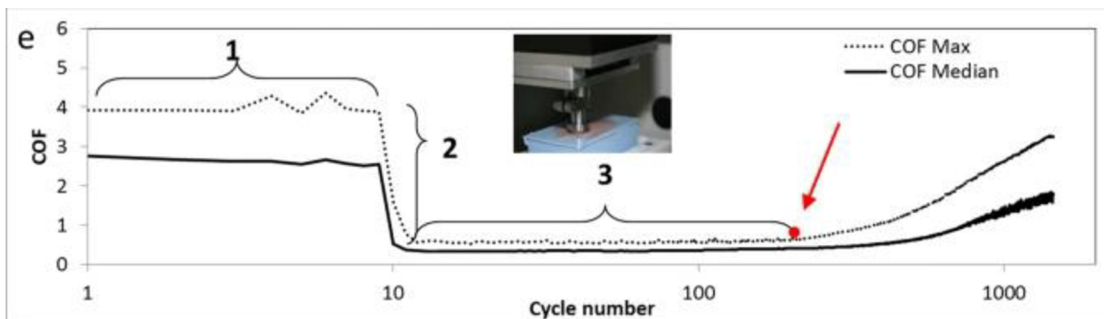
Cílem autorů studie bylo experimentální měření součinitele tření *ex vivo* simulující podmínky sucha v ústech a usnadnit objektivní srovnání náhražek slin. Pro měření součinitele tření byly použity odebrané sliny od dárců. Odebíraly se nestimulované, stimulované, rekonstituované celé sliny, žlázové a submandibulárních / sublingválních slin. Sliny se odebíraly od 5 zdravých dárců. Dále byly využity maziva na ústa od 2 značek, které jsou komerčně dostupné. Jako referenční roztok je použita demineralizovaná voda.

Na experimentální měření byly připraveny 2 třecí páry. Jeden byl tvořen prasečím jazykem a sklovinou. Aby bylo dosaženo hydratace jazyku podobné ve zvířeti, byly ponořeny do adhezního pufru po dobu 30 minut a opláchnuty demineralizovanou vodou po dobu 15 s. Jazyky byly před samotným experimentem opět omyty demineralizovanou vodou po dobu 15 s a sušeny 30krát. Nebylo provedeno žádné opatření proti odstranění jakéhokoliv druhu slinných proteinů během manipulace s jazykem. Sklovina byla hovězího původu. Byly použity zuby, které se tvarovaly tak, aby se vešly do držáku z nerezové oceli. Následně se přilepily k držáku. Zuby se po zaschnutí brousily do tvaru koule. Po každém měření se provedlo konečné leštění a sonifikace kvůli odstranění proteinů a vytvoření nové vrstvy skloviny. Druhý třecí pár je tvořen kolíkem (pin) a destičkou (plate) z PDMS. Měření probíhalo na tribometru UMT-3.



Obr. 2-24 Kontaktní dvojice; a) prasečí jazyk, b) sklovina, c), d) PDMS

Jazyky a destičky z PDMS byly během měření stacionární a sklovina nebo piny z PDMS konaly přímočarý vratný pohyb. Ocelový držák byl vložen do snímače síly tribometru. Byla aplikována zatěžující síla o velikosti 0,25 N. Rychlost byla nastavena na 4 mm/s a délka dráhy byla 10 mm. Každý experiment byl proveden podle Obr. 2-25.

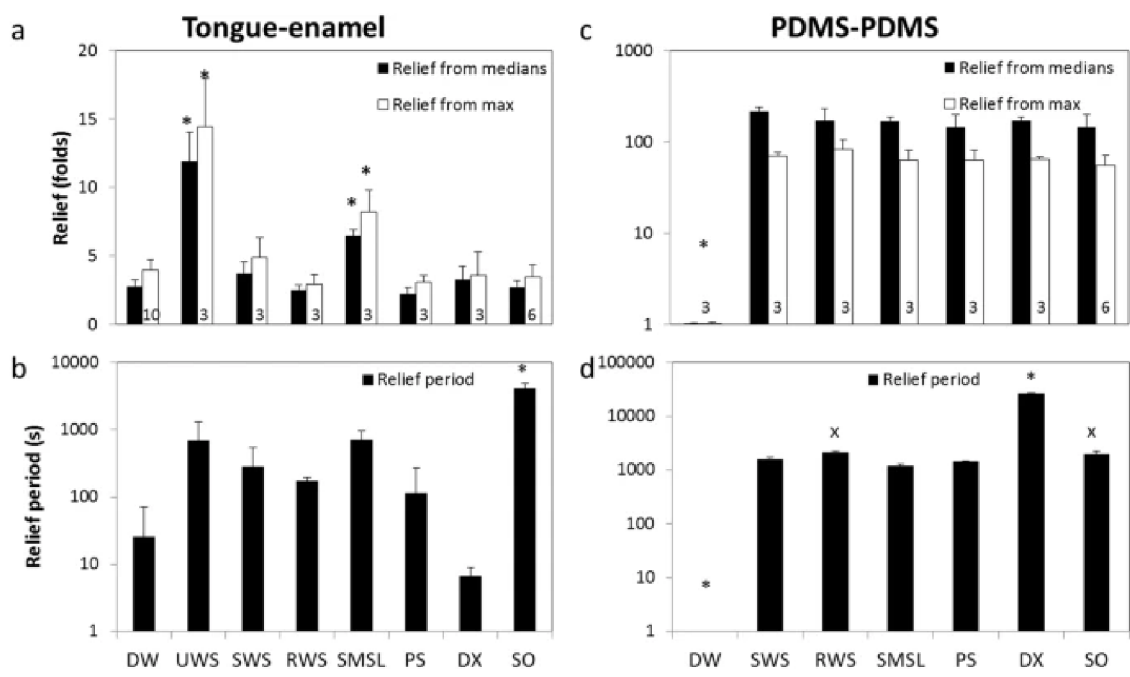


Obr. 2-25 Průběh experimentálního měření

Na statistické vyhodnocení byla použita směrodatná odchylka průměrných hodnot. K porovnání různých skupin byla použita jednosměrná analýza odchylek, Bonferroniho postřerické testy pro srovnání skupin pomocí GraphPad Prism. Na hodnocení korelace byl využit Pearsonův korelační součinitel.

Výsledky a závěry

Proběhlo 148 experimentálních měření s dvojicí tvořenou jazykem a sklovinou. Maximální hodnota součinitele tření dosahuje $3,21 \pm 1,53$ a medián nabývá $1,87 \pm 0,75$. U dvojice z materiálu PDMS dosahoval maximální součinitel tření $1,84 \pm 0,088$ a medián součinitele tření $1,71 \pm 0,056$. Uskutečnilo se u dvojice z PDMS 33 měření.

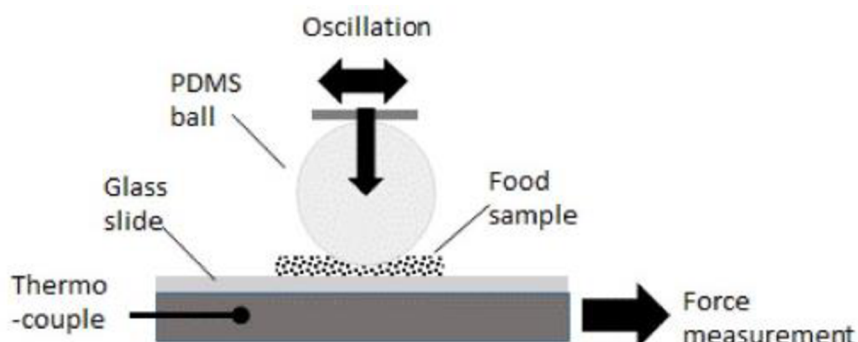


Obr. 2-26 Výsledky měření pro dvojici jazyk-sklovina a PDMS-PDMS

[45] TSUI S., a kol. An ex vivo salivary lubrication system to mimic xerostomic conditions and to predict the lubricating properties of xerostomia relieving agents. *Scientific Reports*

Autoři posuzovali tribologii jazyka a vylepšovali testovací metodiku pro lepší simulaci zpracování potravy ústy. Hypotéza je, že tření mezi jazykem a patrem je určena přítomností mazacího filmu a jeho vlastnostmi než unášivým smykovým tokem.

Pro experimentální měření se využila materiálová dvojice tvořená PDMS a sklem, která simulovala jazyk a patro. Měření se uskutečnilo na tribometru HFRR (High frequency reciprocating rig) konající posuvný vratný pohyb. Přístroj využívá kuličku a disk. Zátěžná síla byla nastavena na 2 N, délka pojezdu 1 mm, frekvence pohybu 10 Hz. Dodržovala se teplota 25 °C. Doba jednoho měření byla 60 s.

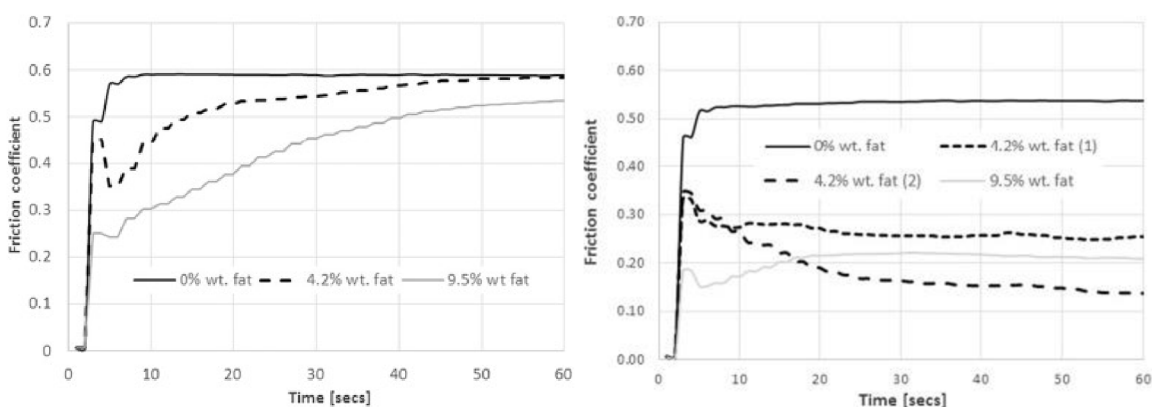


Obr. 2-27 Simulátor ball-on-plate

Uskutečnily se 2 série testů s hydrofobním a hydrofilním povrchem. Byl zkoumán vliv opakovaného přidávání čerstvých potravin. Po 30 s měření se odtížilo a nanese se jogurt. Během standartní doby měření se tento proces opakoval 3-4krát. Tento proces napodoboval proces konzumace. Zkoumala se na konci testu zbývající kapalina v místě tření optickým mikroskopem s nízkým výkonem a zobrazovaly se různé složky maziva. Mazivo představovaly nízkotučné a vysokotučné jogurty.

Výsledky a závěry

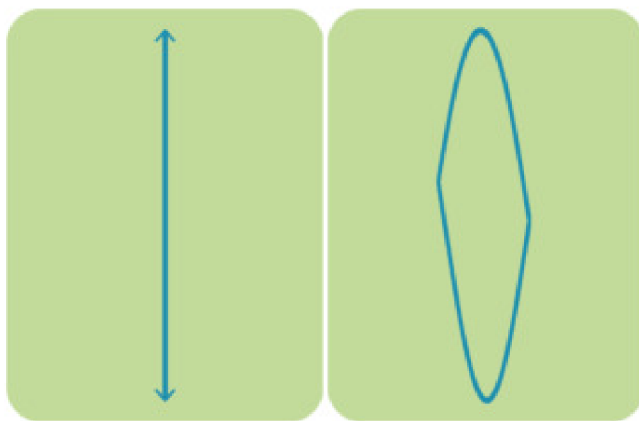
Byla dosažena velmi dobrá opakovatelnost měření. Problém byl u jogurtu s 9,5 % tuku nanesený na hydrofobní povrch. Prokázalo se, že experiment je velmi citlivý na povrchovou kontaminaci. Nízkotučné vykazovaly rychlé zvyšování součinitele tření. Pro hydrofobních povrch 0,59 a pro hydrofilní povrch 0,52. U jogurtů s obsahem 4,2 % tuku se lišily hodnoty pro oba povrchy. U hydrofobního povrchu se zpočátku rychle zvyšoval, následně klesal a opět stoupal na 0,6. Hydrofilní povrch vykazoval podobné chování (stoupal a pak klesal) a vykazoval hodnoty od 0,13 do 0,25. Jogurty s obsahem 9,5 % tuku dosahují nejnižších hodnot tření. U hydrofilního povrchu se naměřily hodnoty 0,21 a hydrofobního pod 0,22.



Obr. 2-28 Výsledky měření součinitelů tření pro hydrofobní povrch (levý) a hydrofilní povrch (vpravo)

[46] VAN STEE M., a kol. Oral Parameters Affecting Ex-vivo Tribology. *Biotribology*

Cílem tohoto odborného článku bylo popsat mazací chování emulzí a roli instrumentálního nastavení na měřeném mazacím chování. Pro studium emulzí s různými obsahy tuku byly zohledňovány tyto parametry: unášivá rychlost [mm/s], typ pohybu (reciproční lineární, elipsový, rotační), tvrdost povrchu (sklo proti silikonovému kaučuku), kontaktní tlak (normálové zatížení od 0,1 do 2,5 N) a drsnost povrchu (texturovaný PDMS).

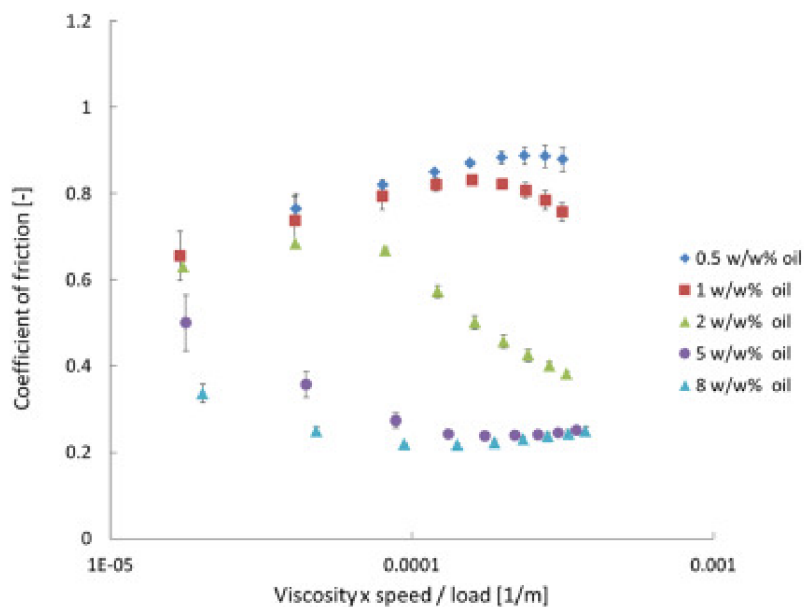


Obr. 2-29 Typy recipročních pohybů: lineární a elipsový

Pro mazání byly použity: izoláty syrovátkové bílkoviny, slunečnicový olej, plnotučné a nízkotučné mléko a rýžový škrob. Nanášelo se 200 μL vzorku maziva. Spodní člen materiálové dvojice byl tvořen ze silikonového kaučuku a horní člen z PDMS s kulatým bodem pro kontakt. Měření probíhalo za teploty 20 $^{\circ}\text{C}$ na tribometru Bruker TriboLab. Normálová síla byla nastavena na 0,5 N aplikována na horní člen dvojice. Spodní člen konal lineární pohyb a osciloval na vzdálenost 24,85 mm se zvyšující se rychlostí oscilace od 0,1 do 2 Hz. Dále se provádělo měření s eliptickým oscilačním pohybem horního členu na vzdálenost 6 mm s rychlostí od 1,2 mm/s do 9,4 mm/s, zatímco spodní člen osciloval. Rychlost se udržovala po dobu 10 cyklů. Byla aplikována pauza 2 s mezi změnami rychlostí eliptického pohybu. Třecí síla se uváděla jako průměr 1 oscilačního cyklu. Před každým měřením byly oba povrchy vyčištěny ethanolem a vodou a vždy se měnily členy před měřením. Zkoušky se opakovaly 2-krát nebo 3-krát. Účinek koncentrace byl testován na emulze a disperze rýžového škrobu.

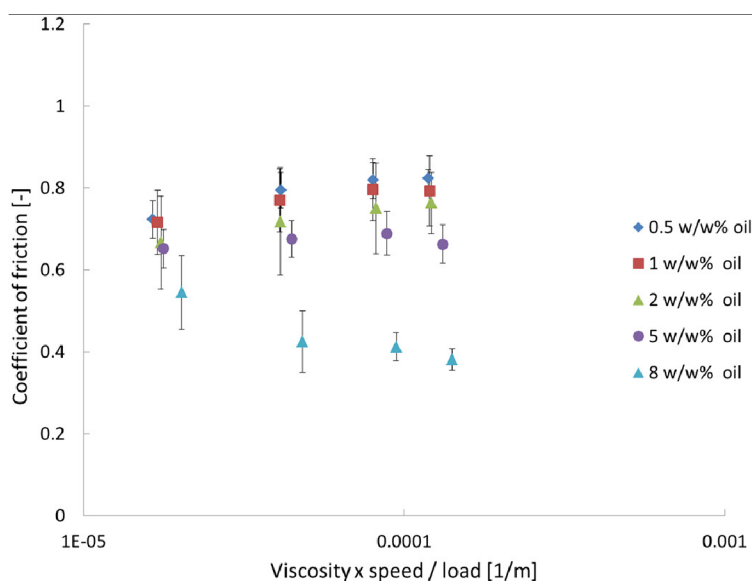
Výsledky a závěry

Se zvyšující se koncentrací oleje byla zjištěna sestupující tendence hodnoty součinitele tření mezi silikonovým kaučukem a PDMS při recipročním pohybu. Při nižších koncentracích (0,5 a 1 %) bylo dosaženo mezního mazání. Smíšeného mazání bylo dosaženo pro koncentrace (5 a 8 %). Součinitel tření klesal se zvyšujícím obsahem tuku.



Obr. 2-30 Výsledky hodnot měření součinitele tření pro lineární reciproční pohyb

U eliptického pohybu se závislost značně změnila ve srovnání s lineárním recipročním pohybem. Tření se i zde rovněž snižovalo s rostoucí koncentrací, ale je mnohem menší. Vznikly hypotézy ohledně rozdílů hodnot součinitelů tření v závislosti druhu pohybu.



Obr. 2-31 Výsledky hodnot měření součinitele tření pro eliptický reciproční pohyb

První spočívala, že za různé výsledky jsou odpovědné kroky zrychlení a zpomalení, které jsou součástí lineárního pohybu a nikoli pohybu po poloelipse. Pro ověření byl využit rotační pohyb se stejnou materiálovou dvojicí a stejným mazivem. Třecí křivky odpovídají křivkám recipročního lineárního pohybu.

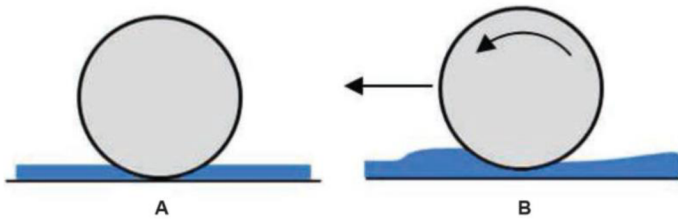
Další hypotéza se zakládala na tom, že v poloelipse je silikon deformován ve dvou směrech, zatímco u lineárního pohybu pouze v jednom směru. K ověření hypotézy byl silikonový povrch nahrazen sklem. Jak lineární pohyb, tak poeliptický pohyb byly provedeny se stejným mazivem. U dvojice sklo a PDMS se všechny koncentrace olejů poskytují smíšené mazání. Se zvyšující se koncentrací oleje se i zde snižuje tření. Rozdílná závislost na koncentraci mezi vzájemným lineárním pohybem a pohybem poloelipsy není pozorována u skla. Toto může potvrzovat hypotézu o deformaci silikonu způsobující odlišné mazací chování. Podle použitého materiálu se mění režim mazání. Nepředpokládá se odlišný typ režimu mazání, který by vedl k různým závislostem na koncentraci. Sklo má hydrofilní vlastnosti, zatímco PDMS má hydrofobní. Třecí síla závisí na hydrofobicitě povrchů. Nebyla však pozorována žádná změna režimu mazání. To znamená, že rozdílné mazací chování mezi sklem a PDMS není způsobeno rozdíly hydrofobicity mezi povrchy. Tyto měření ukazují, že podstatné nejsou nejen vlastnosti materiálové dvojice, ale i druh pohybu. Vliv deformace materiálové dvojice má vliv na třecí sílu. S rostoucím zatížením se povrchová kontaktní plocha zvětšuje. U lineárního zvětšení kontaktní plochy zatížením by měl součinitel tření zůstat konstantní. Ovšem u kontaktu silikonového kaučuku a PDMS součinitel tření není konstantní s rostoucí zátěží v rozmezí od 0,1 do 2,5 N. Tření se snižovalo s rostoucím zatěžováním. Toto je charakteristické pro PDMS.

2.10 Tlak mezi vrstvami fascií

Jedním z důležitých parametrů pro vytvoření tribologického modelu je buď zatěžující síla, nebo velikost kontaktního tlaku. Právě studie [47], která se zabývá matematickou analýzou proudění HA okolo fascií během manuální terapie. Tato studie vychází z teorie z mazání stlačeného filmu pro proudění mezi 2 deskami. Teorie popisuje aktivitu mazací kapaliny uzavřené mezi 2 povrchy v případě, kdy je 1 z těchto povrchů vystaven tlaku a tangenciální rychlosti.

Při aplikaci matematického modelu se předpokládaly různé rychlosti dynamiky. Na základě konzultací s terapeuty, kteří se specializují na Rolfingovu techniku, byla stanovena rychlost při konstantním skluzu 0,1 m/s. Typické ruční masážní přístroje pracují se spodní frekvencí 15 Hz a vyšší frekvencí 60 Hz se sinusovým pohybem. V důsledku toho byly tyto hodnoty použity jako frekvenční vstupy při zvažování kolmých vibrací. Pro tangenciální oscilaci byl použit sinusový pohyb o frekvenci 2 a 4 Hz, který vycházel z praktického odhadu z frekvence typické pro manuální terapii fasciální manipulace.

Teorie mazání stlačovacího filmu je zobrazena jako válec ve statickém stavu (A) a v pohybu (B) na rovném povrchu pokrytý tenkou vrstvou mazacího filmu (modrá). Pohyb vytváří „klín“ neboli svah a vytváří tlak v tekutém filmu, když tekutina prochází klínem. Tento efekt lze použít na to, jak kyselina hyaluronová působí ve fascii.

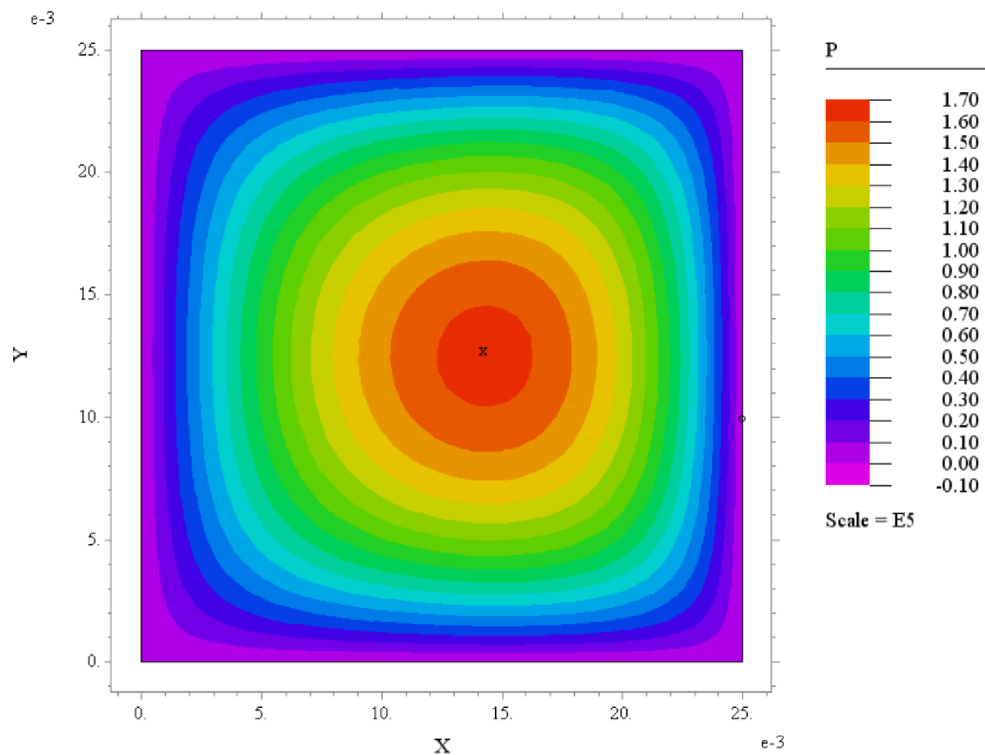


Obr. 2-32 Teorie mazání stlačitelným filmem, a) statický stav; b) v pohybu

Při zvážení Obr. 2-32 byla aplikována Navier-Stokesovy rovnice v prostoru. Byly použity celkem 3 okrajové podmínky – konstantní posuv, kolmé vibrace a tangenciální oscilace.

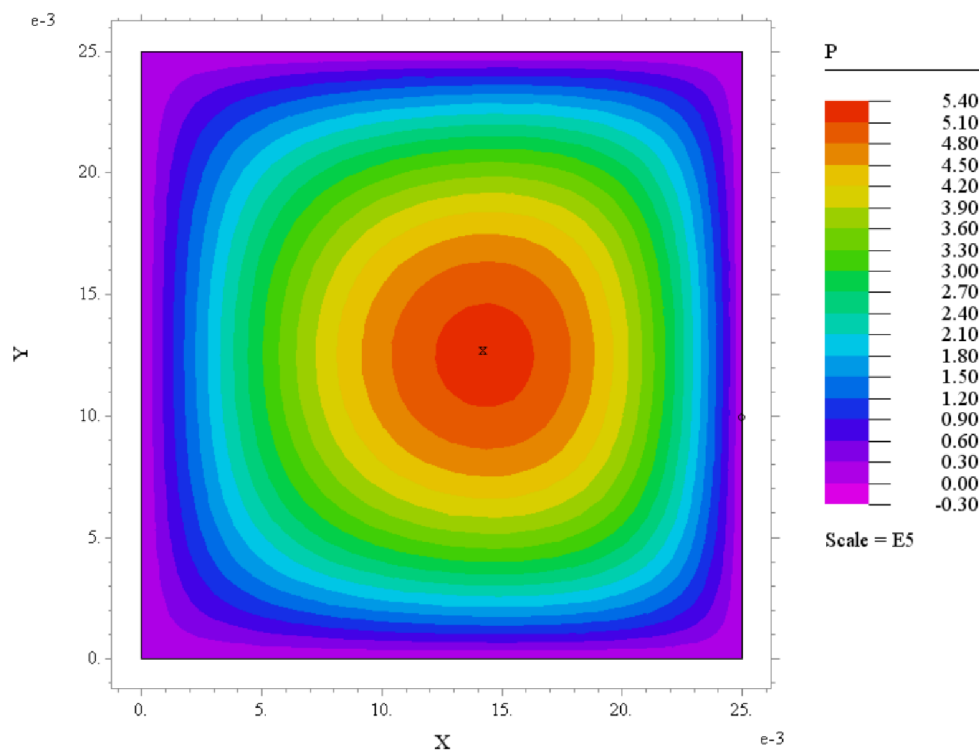
Výsledky a závěry

Veškeré výsledky byly vyobrazeny na plochu 25 x 25 mm, kdy byla uvažována tloušťka filmu od 80 μm do 100 μm pro případ konstantního posuvu. Při konstantním posuvu byl zjištěn největší tlak 0,17 MPa.

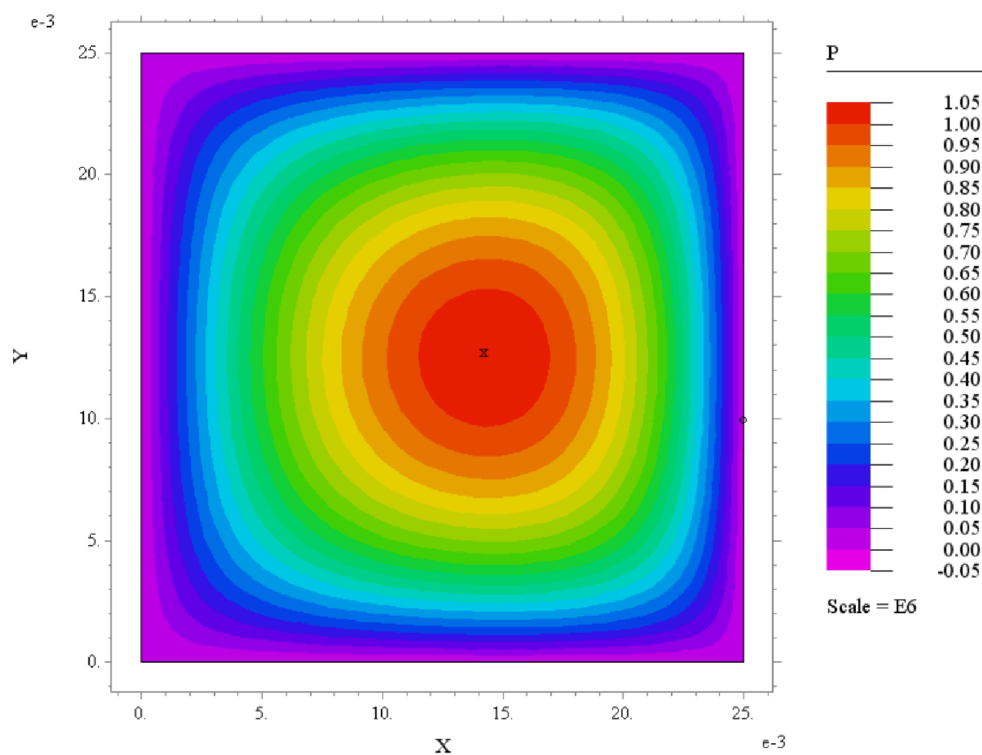


Obr. 2-33 Rozložení tlaku během konstantního pohybu při rychlosti 0,1 m/s

V rámci případu tangenciální oscilace se tlak určoval při frekvencích 2 Hz a 4 Hz. Při frekvenci 2 Hz je maximální tlak 0,54 MPa a při 4 Hz je maximální tlak 1,05 MPa.



Obr. 2-34 Rozložení tlaku při frekvenci 2 Hz



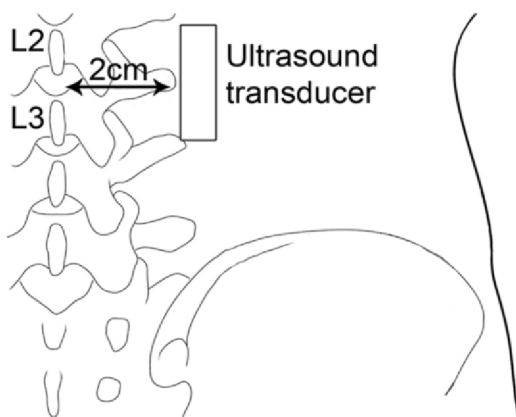
Obr. 2-35 Rozložení tlaku tangenciální oscilaci 4 Hz

Ovšem tato studie zvažovala pouze případy pro manuální terapii (masáže), při které se vytváří vyšší tlaky na fascie, nežli ve skutečnosti jsou mezi vrstvami. Z toho lze vyvodit závěr, že se bude tlak mezi fasciemi pohybovat maximálně do 0,17 MPa.

2.11 Pohyb vrstev thorakolumbární fascie

Dalším parametrem pro vytvoření tribologického modelu je druh pohybu a rozsah pohybu. Rozsahem pohybu fasciálních vrstev dolních zad se zabývala v rámci projektu i Fakulta biomedicínského inženýrství Českého vysokého učení technického v Praze (dále ČVUT). Zkoumali ultrazvukem rozsahy pohybů fascií u dobrovolníků. Zjistili, že se rozsah pohyboval od cca 2 do 31 mm. Ovšem rozsahy pohybů vrstev fascií na pravé a na levé straně dolních zad u všech dobrovolníků nebyly stejné. V jednom případě se rozdíl rozsahů pohybů pravé a levé strany byl 27 mm.

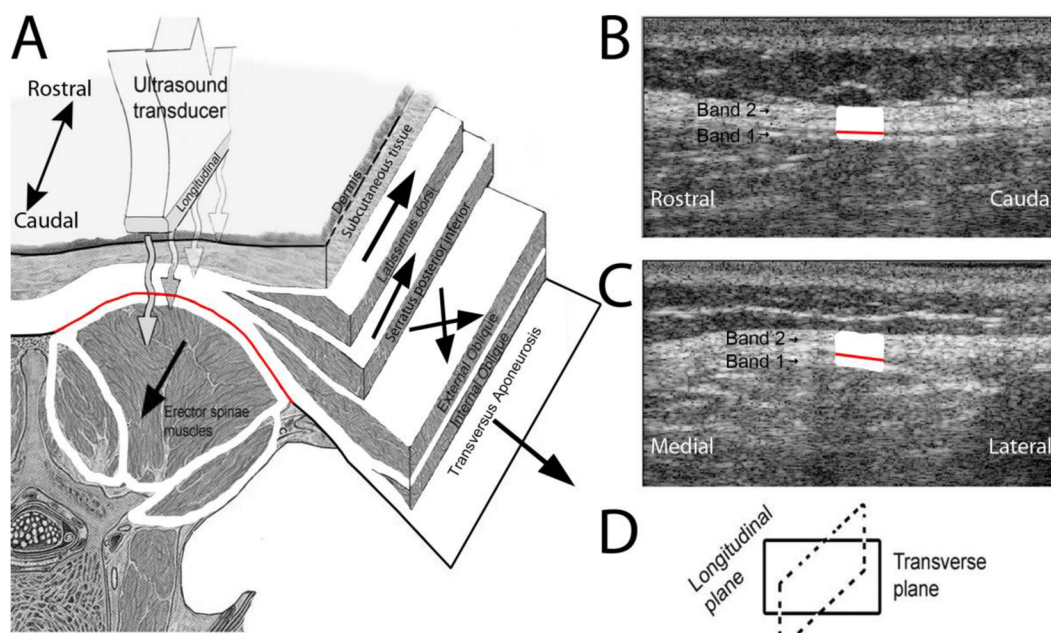
Popisem směřů a rozsahy pohybů fascií v dolní části zad se zabývá publikace od Langevin [48]. V rámci studie byl využit ultrazvuk. Bylo testováno 121 dobrovolníků, z nichž 50 netrpěla bolestí dolních zad a 71 trpěla bolestí dolních zad. Obě tyto skupiny se porovnávaly v závislosti na věku, pohlaví a BMI indexu.



Obr. 2-36 Poloha ultrazvukové sondy

Výsledky a závěry

Na základě ultrazvukového měření byl zjištěn laterální pohyb fascie během pasivní flexe těla. Vyskytly se zde malé pohyby v axiálním směru. K porovnání skupin s bolestí a bez bolesti u mužů a žen byl použit test chi square. Pro porovnání skupin na kontinuálních výsledcích s pohlavím jako dalším faktorem v modelu byly použity obousměrné analýzy rozptylu a kovariance. Nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi skupinami s bolestí a bez bolesti zad. Rovněž nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi skupinami ohledně věku, BMI a úrovně aktivity u mužů ani u žen. Rozsah pohybu fascií byl u mužů bez bolesti $16,90 \pm 1,89$ mm, s bolestí $9,74 \pm 0,86$ mm, u žen bez bolesti $16,89 \pm 1,55$ mm a s bolestí $16,28 \pm 1,92$ mm.



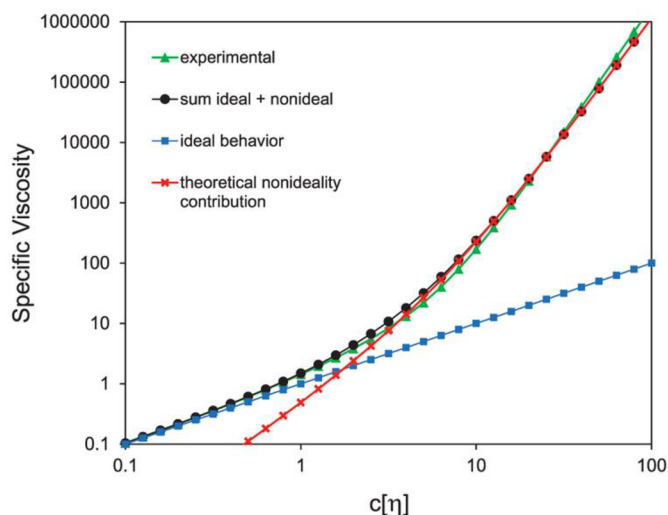
Obr. 2-37 Pohyby jednotlivých vrstev podkožních tkání

2.12 Popis viskoelastických chování kyseliny hyaluronové mezi vrstvami fascií

HA je známa jako polopružný polymer, jehož objem je převážně tvořen řetězcem [30]. Kvůli rychlým pohybům řetězce lze popsat tvar molekuly jako kouli s největší hustotou řetězových segmentů blízko středů. S rostoucím objemem roste i molekulová hmotnost kyseliny. Pokud je polymer čím dál větší, tím klesá jeho průměrná hustota. S tím souvisí i jeho viskozita, která je úměrná ke zlomku objemu roztoku, který je vyplněn polymerními řetězci, viz rovnice (1).

$$\eta_{sp} = \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{\eta}{\eta_0} - 1 = 2.5nV = 2.5\varphi = c[\eta] \quad (1)$$

Z této rovnice lze určit, že podíl obsaženého objemu φ roztoku se rovná $0,4 \cdot c [\eta]$. Pokud nastane situace, kde je $c [\eta]$ roven 2,5, tak je objemový zlomek roztoku 1 a je nasycený. Tento bod se projevuje plněním roztoku řetězci, jsou nuceny se navzájem se dotýkat a začne prudce narůstat viskozita roztoku. Ideální roztok by měl být mnohem zředěnější než kritická koncentrace pro překrytí cívky. Pro odhadnutí koncentrace, při kterém může roztok HA překročit překrytí cívky, lze brát v úvahu různé velikosti polymerů při různých molekulových hmotnostech.



Obr. 2-38 Vliv viskozity na koncentraci

Vlivem zvýšení teploty řetězce získávají pružnost. Zmenšuje se objem molekul a následně i viskozita. Viskozita roztoků HA není ve fyziologickém rozmezí příliš citlivá na změnu pH. Při velmi vysokém pH, nad cca 11, se objem řetězce zmenšuje, což sníží viskozitu. Při velmi nízkém pH, asi 2,5, se téměř vytváří gel. Při hodnotách pH mezi 6,5 až 8,0 se viskozita téměř nemění.

Pokud roztok, obsahující flexibilní polymery, proudí, molekuly se zdeformují a pohybují se ve směru toku. Při stabilní smykové rychlosti je viskozita nejvyšší, když je rychlost nízká, molekuly se mohou rychle pohybovat, přeorientovat a uvolnit do nerušeného tvaru. Jestliže se smyková rychlost zvyšuje, molekuly se nemohou dostatečně rychle uvolnit a viskozita klesá. Toto lze pozorovat u zředěných, tak i u částečně zředěných roztoků. Ve zředěných roztocích závisí doba relaxace na molekulárním objemu a viskozitě rozpouštědla. Čím viskóznější je rozpouštědlo, tím delší je čas potřebný k relaxaci. V částečně zředěných nebo nasycených roztocích se doba relaxace zvyšuje mnohem více, protože molekuly musí najít prostor, aby se mohly pohybovat mezi sebou. Pravděpodobnost, že molekula nalezne tento prostor, souvisí s molekulovým objemem. Čím vyšší je molekulová hmotnost a/nebo čím vyšší je koncentrace, tím delší je doba relaxace a dramatičtější ztráta viskozity se zvyšující se smykovou rychlostí.

Dalším důsledkem dlouhé relaxační doby vysokomolekulových HA v částečně zředěných roztocích je přechod od viskózního chování k elastickému chování v závislosti na zvýšení rychlosti deformace. Jak je roztok cyklicky deformován, pak pomalé rychlosti umožňují molekulám držet krok se změnami a tokem. Ovšem rychlá cyklická deformace neumožňuje molekulám uvolnit se a začnou se chovat elasticky. Začnou se protahovat a trhat, než by tekly. Toto chování se nazývá viskoelastické a sehrává důležitou úlohu při ochraně kloubů při rychlém pohybu. U tkání, jakými jsou fascie, může bránit toku, pokud jsou koncentrace a molekulová hmotnost dostatečně velké, než aby při normálních rychlostech pohybu dominovalo elastické chování.

Viskozita roztoků HA může ovlivnit způsob mazání, při kterém HA snižuje tření jako mazivo na rozhraní tkání. Příkladem je mezní režim v kontaktu chrupavka-chrupavka, kde je účinnost maziva závislá na molekulové hmotnosti HA, s vyšší molekulovou hmotností vedoucí k nižšímu tření. Předpokládá se vliv viskózní mezní vrstvy HA na povrchu chrupavky. Naopak, při mazání kapalným filmem, kde silný film HA odděluje povrchy chrupavky, se dá předpokládat, že tření vzroste s viskozitou. U fascií je tloušťka kapalně vrstvy obsahující HA zjevně řádově v desítek mikrometrů, což je ve srovnání s průměrem molekul, a dokonce s drsností povrchů, velké. V takovém případě, pokud jsou koncentrace HA a/nebo molekulová hmotnost vysoké, může odpor proti proudění v důsledku vysoké viskozity negativně ovlivnit mazání.

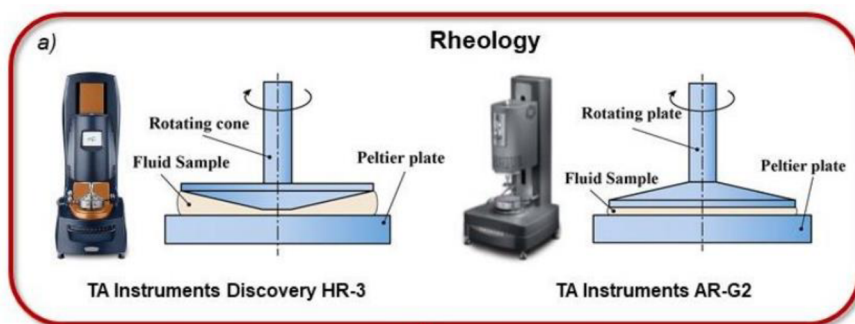
2.13 Reologické vlastnosti kyseliny hyaluronové

Další významná podkapitola popisuje reologické vlastnosti HA, která je rovněž důležitá z hlediska posouzení mazacích vlastností roztoků na bázi HA. Jedná se především o viskozitu, jenž je závislá, v tom to případě, na rychlosti a teplotě. V této podkapitole jsou popsány studie zabývající se reologií HA. První dvě studie [39, 40] byly již v uvedeny v podkapitole 2.9. V rámci těchto studií byly provedeny kromě měření součinitelů tření i reologická měření. Další studie [34] zkoumala vliv molekulové hmotnosti a koncentrace HA na viskozitu v systému ústní dutiny člověka.

[39] REBENDA, D., a kol. On the dependence of rheology of hyaluronic acid solutions and frictional behavior of articular cartilage, *Materials*

Autoři zkoumali účinek molekulární hmotnosti roztoků kyseliny hyaluronové na reologické vlastnosti a jeho vliv na tření v modelu kloubní chrupavky. Reologické vlastnosti HA byly stanoveny reometrem TA Instruments Discovery HR-3. Měření bylo prováděno s použitím kužele z nerezové oceli a desky (kužel o průměru 60 mm, s úhlem kužele 1 °). Během měření byla nastavena teplota 37 °C. Byly aplikovány smykové rychlosti v rozmezí od 0,01 do 5 000 s⁻¹. Byla hodnocena závislost viskozity na smykové rychlosti. Viskoelastické vlastnosti testovaných roztoků s vyšší viskozitou byly analyzovány provedením oscilačního smykového testu s malou amplitudou (SAOS) pomocí reometru TA Instruments AR-G2 na konfiguraci deska-deska. Test SAOS měří pružný a viskózní modul, když je testovaný materiál vystaven sinusovému přetvoření. Měření kmitočtu byla prováděna při 5 % namáhání ve frekvenčním rozsahu od 0,05 do 5 Hz. Frekvenční rozmítání bylo provedeno při amplitudě deformace, která byla stanovena jako lineární viskoelastická oblast. Teplota byla nastavena na 37 °C. Dynamické moduly byly stanoveny jako funkce úhlové frekvence. Všechny experimenty byly opakovány 3krát s novým vzorkem HA. Z těchto údajů byly spočítány průměrné hodnoty a směrodatné odchylky.

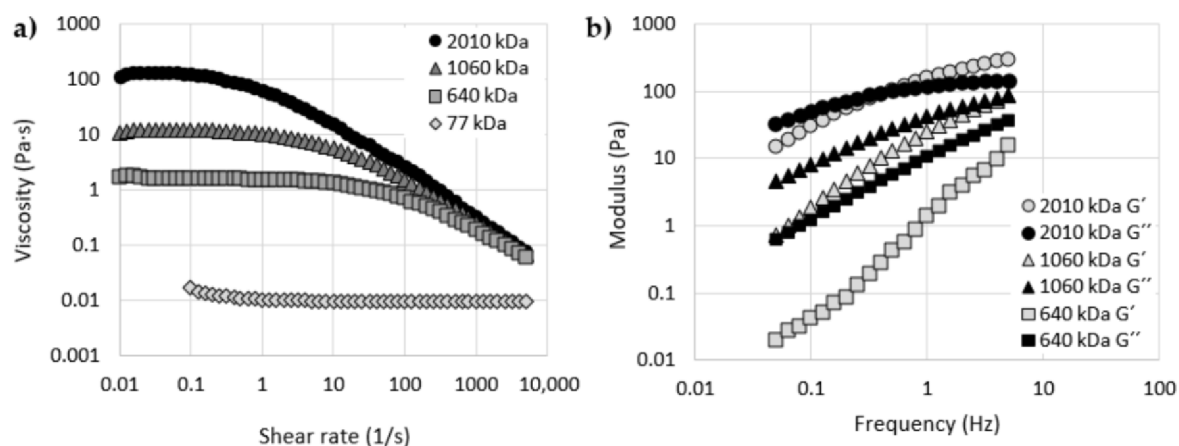
Byly testovány 4 HA roztoky s koncentracemi 20 mg/ml a molekulovými hmotnostmi 77 kDa, 640 kDa, 1 060 kDa a 2 010 kDa.



Obr. 2-39 Rheologické měření

Výsledky a závěr

Experimenty ukázaly silnou závislost mezi viskozitou a molekulovou hmotností HA. Nejvyšší viskozita byla naměřena pro HA s molekulovou hmotností 2010 kDa a nejnižší pro 77 kDa HA v celém rozsahu smykové rychlosti, viz Obr. 2-40 a).



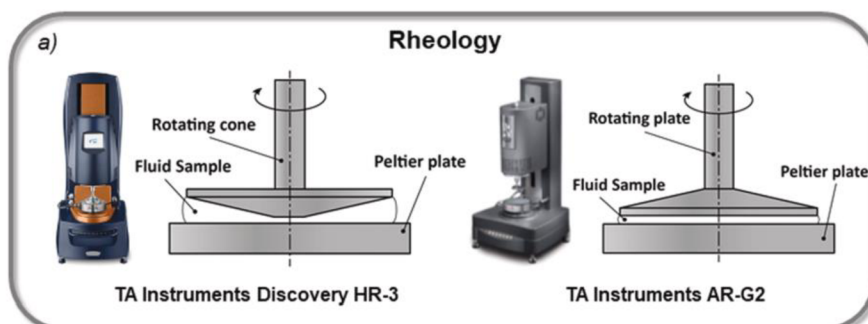
Obr. 2-40 a) Vývoj viskozity v závislosti na smykové rychlosti; b) vývoj modulu pružnosti ve smyku a viskozity v závislosti na frekvenci

HA vykazovala nenewtonovské chování při smyku (pokles viskozity se zvyšující se smykovou rychlostí). Molekuly HA jsou zapletené a nejodolnější vůči proudění při nízkých smykových rychlostech. Další částí reologického měření byla analýza viskoelastických vlastností roztoků HA. Graf obsahuje závislost modulu a ztráty na frekvenci kmitavého pohybu pro 3 roztoky HA, viz Obr. 2-40 b). Viskoelastické vlastnosti u 77 kDa nebyly měřitelné v konfiguraci deska-deska.

[40] REBENDA, D., a kol. Rheological and frictional analysis of viscosupplements towards improved lubrication of human joints. *TRIBOLOGY INTERNATIONAL*

Cílem autorů této studie bylo popsat vliv viskosuplementace na tření kloubní chrupavky v závislosti na reologii viskosuplementů. Pro určení vlivu reologických vlastností viskosuplementu (VS) a synoviální tekutiny (SF) na tření byly použity komerční rotační reometry měřena viskozita závislá na smykové rychlosti a dynamický modul závislý na frekvenci. Měření viskozity byla prováděna na reometru TA Instruments Discovery HR-3. Byla použita kuželová deska o průměru 60 mm s úhlem kužele 1 °. V testech ustáleného stříhu byly na testované vzorky aplikovány smykové rychlosti v rozsahu od 0,01 do 5 000 s⁻¹, zatímco byly zahřívány na teplotu 37 °C pomocí vestavěné Peltierovy desky. Data viskozity závislé na smykové rychlosti byla přizpůsobena modelu Carreau-Yasuda. Kromě toho byly provedeny oscilační testy s malou amplitudou (SAOS) k analýze viskoelastických vlastností vzorků použit reometr TA Instruments AR-G2. Byla použita konfigurace 20 mm deska-deska a maziva byly během testů zahřívány na 37 °C. SAOS analyzuje dynamický modul, když je vzorek vystaven sinusovému napětí.

Ve všech měřeních bylo na VS použito počáteční kmitání s oscilačním namáháním konstantní frekvence 1 Hz a amplitudou mezi 0,001 a 1,5 rad pro stanovení oblasti lineární odezvy testovaných vzorků. Na základě těchto výsledků byly provedeny následné kmitočty při 5 % kmitavého smyku ve frekvenčním rozsahu 0,05 až 5 Hz. Všechny reologické experimenty byly prováděny 3x s čerstvým vzorkem maziva. Z těchto dat byly vypočítány průměrné hodnoty.



Obr. 2-41 Rheologická měření

VS byly vybrány na základě koncentrace, molekulové hmotnosti a síťování obsaženého v HA. Všechny VS se testovaly jako čisté roztoky a také jako směsi v poměru 1:1 s modelem SF, aby se lépe prozkoumal účinek VS na reologii SF a také na tření v osteoartritickém kloubu.

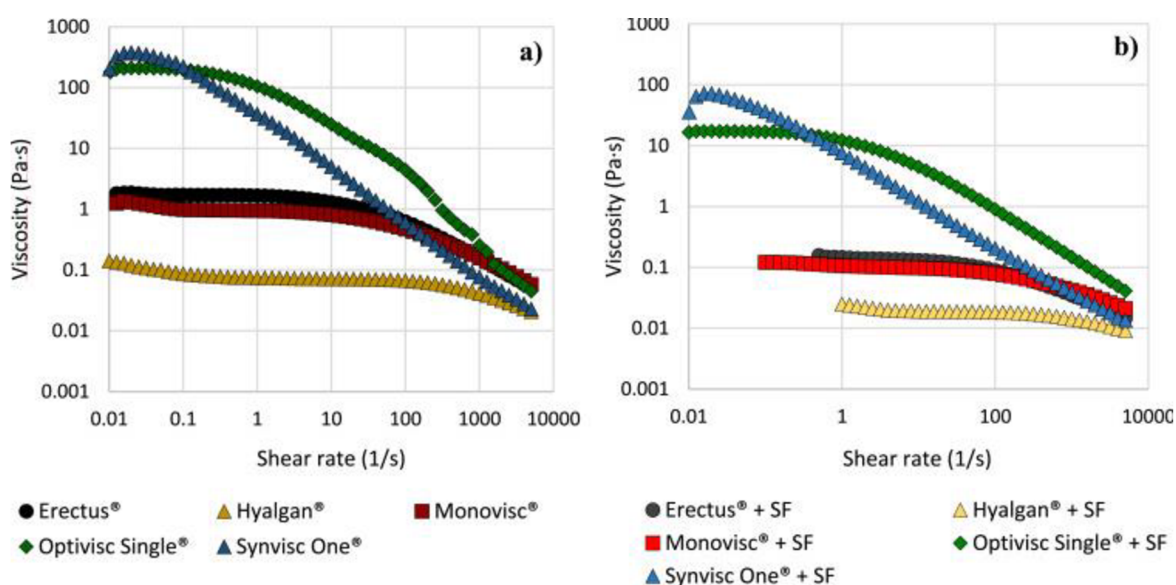
Tab. 2-2 Vybrané vzorky produktů viskosuplementů

Produkt	HA koncentrace (mg/ml)	HA molekulová hmotnost (kDa)	Síťování	Objem produktu
Erectus®	12	1 100	Ne	2
Hyalgan®	10	500 – 730	Ne	2
Monovisc®	22	1 000 – 2 900	Ano	4
Optivisc single®	30	3 000	Ano	3
Synvisc one®	8	6 000	Ano	6

Výsledky a závěry

Proběhla analýza viskoelastických vlastností VS. Před frekvenčním rozkmitáním bylo na všechny roztoky aplikováno počáteční rozkmitání kmitočtu s konstantní frekvencí 1 Hz a se zvyšující se amplitudou k identifikaci oblasti lineární viskoelastické odezvy VS. Hyalgan byl vyloučen z viskoelastické analýzy kvůli své nízké viskozitě. Téměř všechny VS nevykazovaly žádnou závislost mezi modulem (G') nebo ztrátou (G'') a deformací v široké oblasti od 0,7 do 45 %.

Na Obr. 2-42 jsou data viskozity závislé na smykové rychlosti pro 5 testovaných VS. Byly testovány jako čiré roztoky (Obr. 2-42a) a také jako směsi v poměru 1: 1 s modelovým osteoartritickým SF (Obr. 2-42b).



Obr. 2-42 Vliv viskozity na smykové rychlosti

[34] KIM, J., a kol. Effects of molecular weight of hyaluronic acid on its viscosity and enzymatic activities of lysozyme and peroxidase. *ARCHIVES OF ORAL BIOLOGY*

Autoři tohoto článku zkoumali účinky molekulové hmotnosti kyseliny hyaluronové na její viskozitu a enzymatické aktivity lysozymu a peroxidázy v roztoku a na povrch hydroxyapatitu.

Postup experimentu se skládal ze 2 částí. První část zahrnuje měření viskozity 4 HA o různých molekulových hmotnostech a zkoumání jejich účinků na enzymatické aktivity lysozymu a peroxidázy. Druhá část byla provedena na základě výsledků první části. Byly porovnávány 3 podmínky pro koncentraci HA.

Molekulové hmotnosti HA byly: 10 kDa, 100 kDa, 1 MDa a 2 MDa, které byly solubilizovány simulovaným slinným pufrem. Pro první část měření viskozity byly použity tyto koncentrace HA: 0,1, 0,2, 0,5, 1,0, 2,0, 5,0 mg/ml. K experimentům s enzymatickými aktivitami byly využity HA s koncentrací 0,5 mg/ml. Ve druhé části byly porovnány HA 100 kDa při 5,0 mg/ml, 1 MDa při 0,5 mg/ml, 2 MDa při 0,2 mg/ml z hlediska jejich účinků na enzymatické aktivity lysozymu a peroxidáza. Jako zdroje lysozymu a peroxidáza byly použity lysozym z vaječných bílků a hovězí laktoperoxidáza.

Odebíraly se sliny od 4 zdravých dospělých (2 muži a 2 ženy; věk, $28,5 \pm 2,7$ let) dárců pro 1. část a od dalších 4 zdravých dospělých dárců (dva muži a dvě ženy; věk, $29,4 \pm 2,6$ let) pro 2. část. Nestimulované celé sliny (UWS) byly odebrány pliváním. Sliny byly umístěny do chlazené centrifugační zkumavky a centrifugovány při $3\ 500\cdot g$ po dobu 15 minut při $4\ ^\circ C$. Vyčištěný supernatant byl okamžitě použit pro testy. V každém experimentu byl použit sloučený vzorek slin obsahující stejné množství UWS od 4 účastníků.

Viskozita byla měřena pomocí modelu LVT Wells-Brookfield kuželový a deskový digitální viskozimetr. Rychlost se pohybovala od 11,3 do $450\ s^{-1}$ při 6 rychlostech: 11,3, 22,5, 45, 90, 225 a $450\ s^{-1}$. Měření probíhalo při teplotě $37\ ^\circ C$ a pokaždé bylo využito 0,5 ml objemu tekutiny. Viskozita každého vzorku byla měřena 10krát.

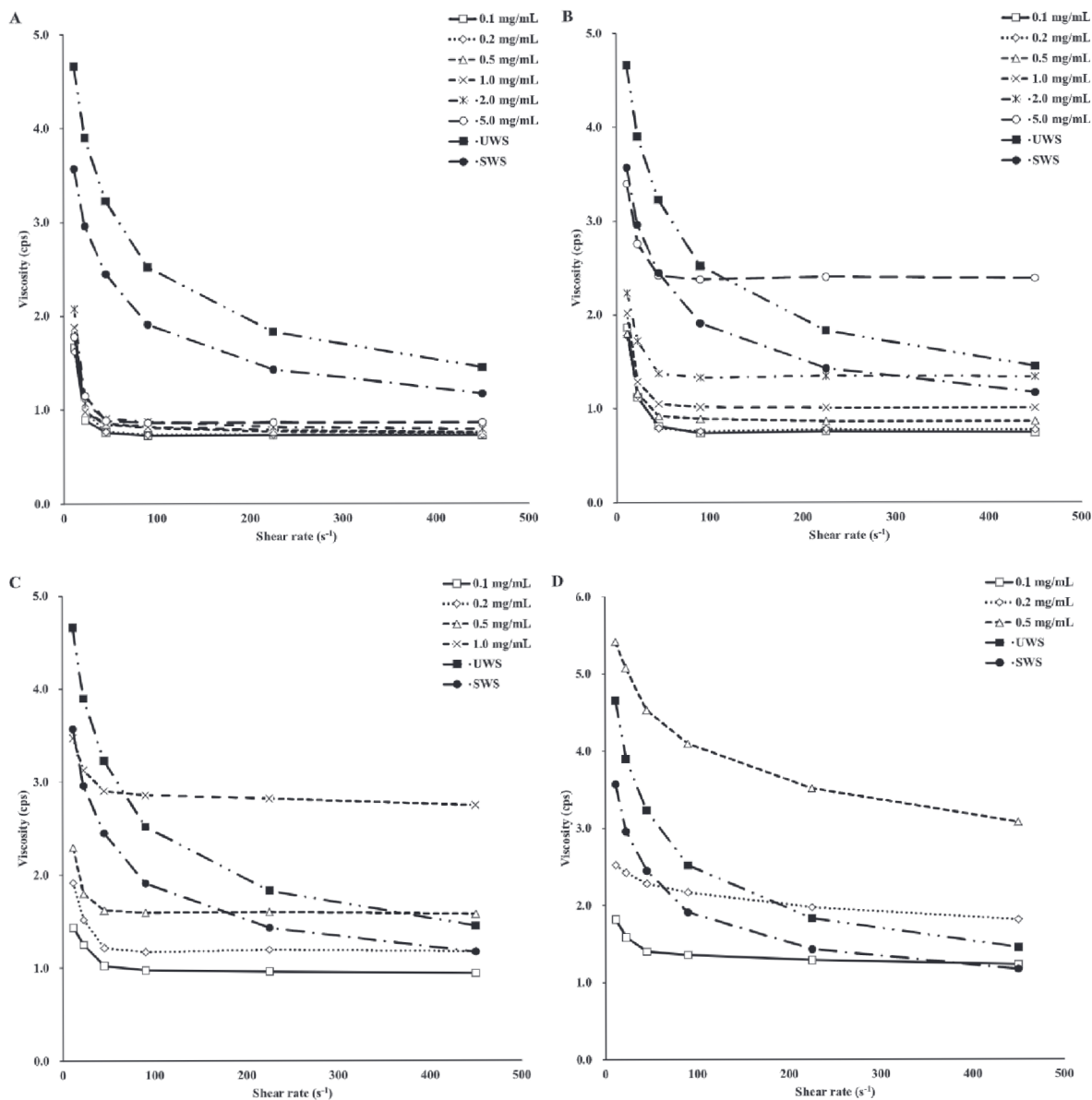
Aktivita lysozymu byla měřena hydrolýzou fluoresceinem značeného *Micrococcus lysodeikticus*. Příprava roztoku substrátu a inkubační postupy byly provedeny podle pokynů výrobce.

Pro analýzu statistických rozdílů mezi experimentálními skupinami s kyselinou hyaluronovou a kontrolními skupinami bez kyseliny hyaluronové byl použit Wilcoxonův znaménkový test. Hodnoty P menší než 0,05 byly považovány za statisticky významné.

Výsledky a závěry

Hodnoty viskozity pro HA sledovaly vzorec newtonovské tekutiny při všech 4 různých molekulových hmotnostech. HA s vyšší molekulovou hmotností a při vyšších koncentracích vykazovaly vyšší hodnoty viskozity.

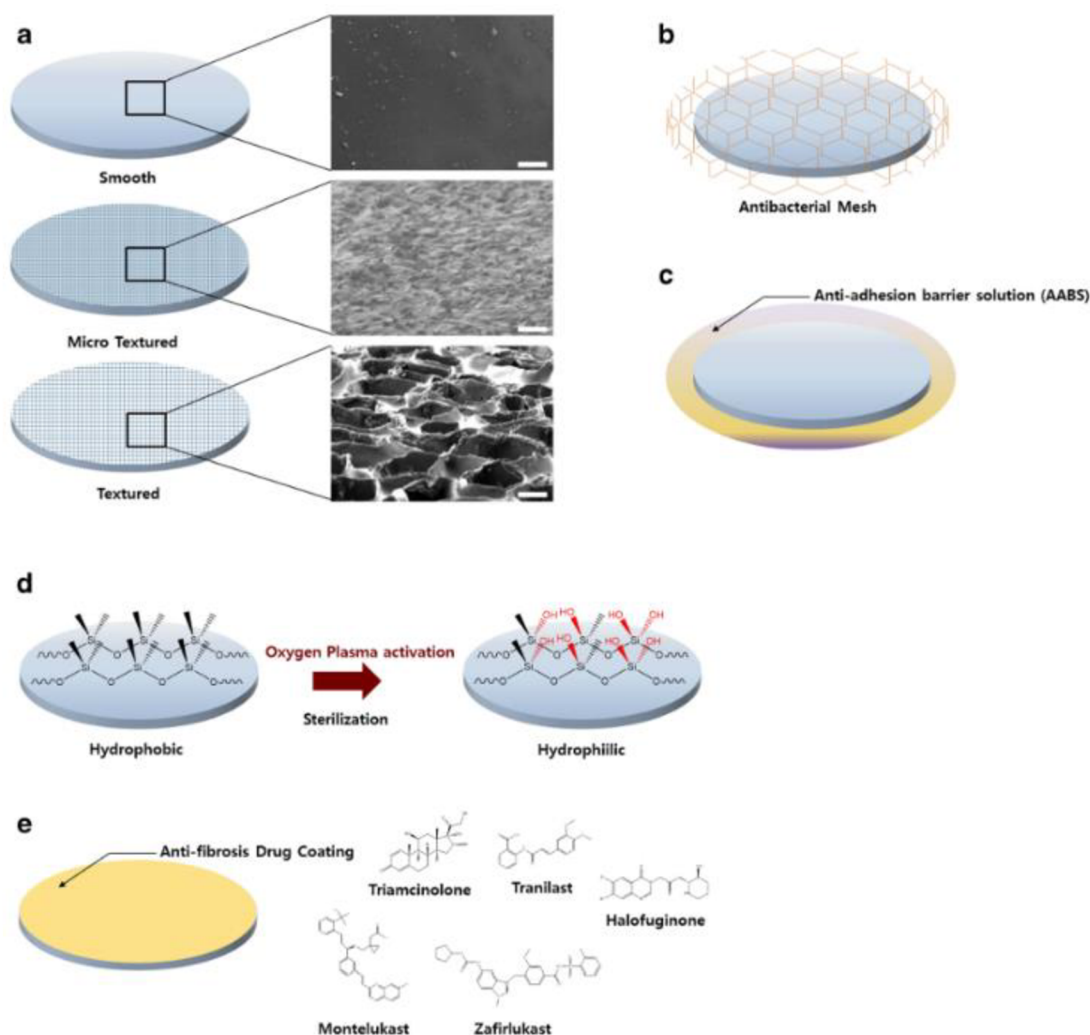
HA s molekulovou hmotností 10 kDa vykazovala nižší hodnoty viskozity než lidské sliny při všech koncentracích. U 100 kDa HA při koncentraci 5,0 mg/ml vykazovalo podobné hodnoty viskozity jako hodnoty stimulovaných slin (SWS) při nižších rychlostech a hodnot UWS při rychlosti 90 s^{-1} . Při koncentraci 2,0 mg/ml prokázal 100 kDa hodnoty viskozity podobné hodnotám SW S při 225 s^{-1} a UWS při 450 s^{-1} .



Obr. 2-43 Vliv koncentrace HA a smykové rychlosti na viskozitu při molekulové hmotnosti a) 10 kDa; b) 100 kDa; c) 1 MDa; d) 2 MDa

2.14 Lékařský silikon (PDMS)

Tento materiál je například popsán v této studii [49]. Polydimethylsiloxan (PDMS) je polymer patřící do skupiny silikonových elastomerů. Jedná se o hyperelastický materiál, jenž má široké uplatnění v oblasti biomedicíny – od kontaktních čoček až po další zdravotnické prostředky. Je tvořen křemíkovými, kyslíkovými vazbami a methylovými skupinami. Pokud jsou tyto skupiny substituovány jinými skupinami, např. fenylem či vinylem, což umožňuje připojení organických na anorganické skupiny, čímž dostává PDMS jedinečné vlastnosti a lze je měnit pro různé aplikace. PDMS je tepelně stabilní, opticky transparentní, funguje jako tepelná a elektrická izolace a je chemicky stabilní. Ovšem má hydrofobní povrch kvůli CH₃ skupinám. Tento problém může být vyřešen použitím kyslíkové plazmy a vytvořením hydrofilního povrchu. Mezi další výhody patří propustnost a elasticita.



Obr. 2-44 Přehled různých povrchových úprav PDMS [50]

2.15 Shrnutí hlavních zjištění

Bolest v dolní části zad je čím dál rozšířenější v dnešní době. Především je bolest zapříčiněna určitými způsoby života, např. nadměrným přetěžováním, dietou, sedavým způsobem života atd. Pak nezbyvá nic jiného nežli navštívit fyzioterapeuta, který může doporučit určité způsoby úlevy od bolesti, např. protahování, správné držení těla atd., popřípadě podstoupit akupunkturu. Bolest je často klasifikována jako nespecifická, která se dá klasifikovat do různých kategorií. Tento problém je často spojován s thorakolumbární fascií, která je právě v dolní části zad. S tím se čím dál tím více se používá termín bolest myofasciálního původu.

Místo myofasciální bolesti lze prokázat ultrazvukem, pokud se zvýší tloušťka fascie. Do myofasciální bolesti je možné přiřadit fibrózu a densifikaci a konkrétně densifikace se způsobuje zvýšenou viskozitou HA ve fascii. Jestliže má HA nízkou hodnotu viskozity, tak plní úlohu maziva a můžou se vrstvy fascií přenášet síly různými směry. V případě, že se produkuje více HA, tak se zvýší viskozita a následně se chová jako newtonská tekutina. Zaplétají se řetězce HA a přispívá k hydrodynamickým vlastnostem roztoku. Zaplétání řetězců může způsobit uvnitř volné pojivové tkáně snížené klouzání mezi vrstvami kolagenových vláken hluboké fascie. Pokud je smyková rychlost uvnitř vrstev tekutiny efektivní, dojde k odtoku HA a způsobí pokles viskozity. Změny koncentrace, molekulové hmotnosti i kovalentní modifikace mohou mít dramatické účinky na viskozitu, následně i na klouzavý pohyb fascií.

Společnost Contipro a.s. přišla s metodou léčby, jenž by právě upravil viskozitu v místě patologie bolesti. Podstatou léčby je aplikace injekčního přípravku na bázi roztoku HA, který by se použil s využitím ultrazvukové sondy. Podobný způsob léčení se již popsal ve studii [37], kde se roztok HA vstříknu do plantární fascie. Ale nejen zde se aplikovaly roztoky HA, ale i např.: při případu osteoartróze kolene [38].

Pro měření součinitelů tření byly zásadní studie, které se zabývají kloubními chrupavkami [39–41], kůží [42, 43] a ústní dutinou [44–46]. Tyto studie se rozdělily do několika kategorií – druh vykonávaného pohybu (konfigurace tribometrů), materiály kontaktních dvojic, podmínky experimentálních měření (zatěžující síla, rychlost, posuv, teplota, doba trvání jednoho měření a počet opakování), podle kterých se vytvářel tribologický model fascií. Rovněž se i studovaly výsledky některých studií, které mohou ovlivnit experimentální měření.

Použitá konfigurace tribometrů závisí na chování, konkrétně pohybu, zkoumaného systému. Převážnou většinu tvoří konfigurace pin-on-plate. Nejvíce je pin-on-plate využíváno pro měření součinitele tření mezi kloubními chrupavkami. Další nejpoužívanější konfigurací dle vybraných publikací je pin-on-disc. Poslední konfigurací je pin-on-ball, jenž byla aplikována ve studiu zabývající se posouzením tribologií jazyka a vylepšením metodiky pro lepší simulaci zpracování potravy.

Byly aplikovány různé materiálové kontaktní dvojice pro měření součinitele tření. V převážně většině experimentálních měřeních byly použity technické materiály v kontaktu s měkkou tkání. Když byly zkoumány součinitele tření kloubní chrupavky ve studiích, tak bylo často používáno sklo vůči chrupavce. Následovaly hydrogely, které nahrazovaly odebrané tkáně ze zvířat. Nakonec kontaktní dvojici tvořily odebrané chrupavky ze skotu. Pro zkoumání součinitele tření kůže byly použity náhrady za kůži či probíhalo přímo na dobrovolnicích, např. na předloktí. Byly využity kůže od dárců, kůže vyvinuté tkáňovým inženýrstvím a syntetické kůže. Pak se použila ocel, leštěný mramor, polymery a sklo. V případě studií zabývající se ústní dutinou byly aplikovány lékařské silikon PDMS, silikonovaný kaučuk, sklo a odebrané tkáně – jazyk a zub.

Důvodem aplikace technických materiálů, např.: hydrogely, ocel, sklo atd., je dosažení lepší opakovatelnosti měření. Pokud se aplikovaly reálné tkáně, tak nebyla zaručena během experimentů opakovatelnost, např. viz [39]. Při změně chrupavek docházelo ke změnám závislosti součinitelů tření vůči molekulové hmotnosti roztoků HA.

V rámci zkoumání tribologických modelů měkkých tkání hrají rovněž důležitou roli i nastavené podmínky, např. na tribometrech, v průběhu měření součinitelů tření, viz Tab. 2-3.

Tab. 2-3 Podmínky experimentálních měření

	Kloubní chrupavka	Ústní dutina	Kůže
Zatěžující síla (N)	5-10	0,5-2	5-30 mN
Rychlost (mm·s ⁻¹)	0,3-10	1,2-9,4	0,5-4
Posuv (mm)	20	1-25	10 <
Teplota (°C)	37	20-25	37
Doba trvání (s)	300-1 200	cykly	6 cyklů
Opakování	3-4	2-4	2

Důležitým parametrem pro měření součinitele tření je zatěžující síla nebo kontaktní tlak. Touto problematikou se zabývala studie [47], kde byly popsány 3 případy zatěžování fasciálních tkání. Ovšem v této studii se uvažují pouze zatěžování, které se vyvinou během manuální terapie a lze předpokládat, že kontaktní tlak bude nižší než 0,17 MPa, nežli který se určil.

Dalším důležitým parametrem je pohyb vrstev fascií vůči sobě. Podle měření z ČVUT se rozsah pohybů vrstev fascií v dolní zad pohybuje od 2 do 31 mm. Dle ultrazvukového měření byl zjištěn laterální pohyb fascie během pasivní flexe těla, což znamená přímočarý pohyb [48]. Byl zaznamenán pohyb i v axiálním směru. U mužů a žen se rozsah pohyboval okolo 16 až 17 mm v případě, že netrpěli bolestmi dolních zad.

Jestliže se uvažuje pohyb, jenž není přímočarý vratný, ale je např. elipsový, tak je třeba počítat se změnou třecích sil v kontaktu, jak je popsán v této studii [46]. Tato změna je způsobena vlivem deformace materiálové dvojice. Druh recipročního pohybu během experimentálních měření rovněž hraje důležitý význam.

V rámci měření reologických vlastností studovaly především viskozitní charakteristiky. Především se jednalo o závislosti viskozity na molekulové hmotnosti a koncentraci roztoků HA. Všechny studie [34, 39, 40] prokázaly, že při klesajících hodnotách molekulové hmotnosti a koncentraci klesá viskozita HA.

2.16 Mezery v poznání

Získané poznatky z biochemie [30] a medicíny [7, 29, 32] popisují teoreticky chování HA mezi vrstvami fascií. Ve studii [30] autoři podrobně teoreticky vyobrazili vlivy molekulové hmotnosti, koncentraci a smykové rychlosti právě na viskozitu. S viskozitou souvisí i doba relaxace. Pokud viskozita nabývá vysokých hodnot, tak je doba relaxace, po kterou si roztok udržuje viskozitu, delší a ztráta viskozity nastává až po dosažení zvyšujících se hodnot smykové rychlosti. Vlivem zvýšení molekulové hmotnosti a koncentraci dochází k viskoelastickému chování. Následkem toho se zhoršuje mazání mezi vrstvami fascií a zvyšuje se tření. Toto zvýšení viskozity vlivem molekulové hmotnosti a koncentraci je i popsáno v publikacích [7, 29, 32], kde se například odkazují i na zvýšení tloušťky fascií, které se prokázalo ultrazvukem. Ovšem doposud nebyla vydána publikace z oblasti biotribologie, která by popisovala závislost součinitele tření na molekulové hmotnosti a koncentraci v kontaktu fascií. Další mezerou v poznání je absence biotribologické studie fascií, podle kterého by se testovaly jednotlivé roztoky bázi HA.

Bylo třeba studovat jiné tribologické modely měkkých tkání. Studovala se a posuzovala se vhodnost metodik tribologických modelů, např.: vhodnost kontaktních materiálů, dále hodnoty zatížení, rychlostí, velikosti drah posuvů, počet opakování, způsob vyhodnocování a další podmínky experimentálních měření. Kromě toho se analyzovaly studie [47, 48], které pojednávaly o pohybech vrstvách thorakolumbární fascie vůči a tlacích ve vrstvách fascií. Ovšem i v těchto případech je třeba studovat vliv součinitele tření na některé parametry experimentálních měření. Jedná se především o závislost zatěžující síly během experimentálních měření, pokud se aplikují materiály, např. PDMS.

3 CÍLE PRÁCE

3.1 Výzkumné otázky

„Jaký bude vývoj součinitele tření v závislosti na molekulové hmotnosti a koncentraci roztoků na bázi kyseliny hyaluronové v kontaktu fascií?“

3.2 Cíle výzkumu

Hlavním cílem této práce je experimentální popis vývoje součinitele tření roztoků na bázi kyseliny hyaluronové v kontaktu modelu a reálné fascie. Práce bude zaměřena hlavně na kvantifikaci účinků nativních vzorků kyseliny hyaluronové a jejího derivátu na součinitel tření a viskozitu. Především bude sledován vliv molekulové hmotnosti a koncentrace. Tyto dva parametry mají zásadní vliv na tribologii a reologii.

Dílčí cíle diplomové práce:

- navrhnout tribologický model fascií pro vyhodnocování součinitele tření pro různé materiálové dvojice simulující kontakt fascií a pro kontakt vypreparovaných králičích fascií
- konstrukční úpravy simulátoru pro uchycení fascií
- posoudit účinnost vyvíjených derivátů na bázi kyseliny hyaluronové na viskozitu a procesy tření
- konfrontovat získané poznatky s dosud publikovanými studii zabývajícími se tribologií fascií či podobnými poddajnými kontakty

Z hlediska druhu výzkumu se jedná z části o základní a aplikovaný výzkum. Předpokládá se, že poměr mezi základním a aplikovaným výzkumem je 1:1.

3.3 Hypotéza

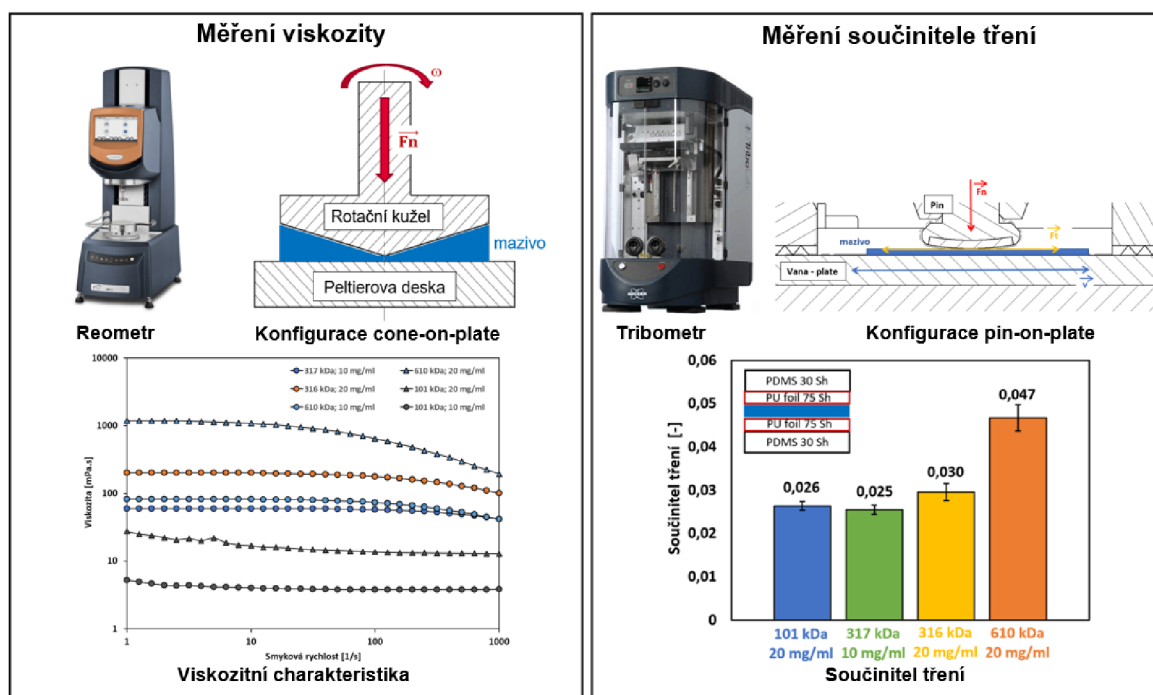
Při klesající molekulové hmotnosti a koncentraci budou roztoky na bázi kyseliny hyaluronové vykazovat klesající vývoje součinitelů tření v kontaktu fascií.

Ve studii [30] autoři popsali, že v případě zvýšení hodnot molekulové hmotnosti a koncentrace vede k viskoelastickému chování. Následně dochází k bránění toku HA, negativně se ovlivňuje mazání vrstev fascií a vzrůstá součinitel tření mezi vrstvami fascií. Toto je i dokládáno na základě studií z oblasti medicíny [7, 29, 32].

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Metodika

Schéma experimentů



Obr. 4-1 Schéma experimentů – měření viskozity a součinitele tření

V této práci se aplikovaly empirické vědecké metody (experimentální měření součinitelů tření a viskozitních charakteristik), které jsou kvantitativní (experimentální). Výzkum byl veden jako deduktivní.

4.1.1 Měření viskozitních charakteristik HA

Tato část diplomové práce se zabývala měřením viskozitních charakteristik nativních roztoků HA a jejich derivátů. Tyto charakteristiky jsou klíčovými parametry, které popisují reologické chování roztoků HA. Účelem těchto experimentů bylo charakterizovat roztoky z hlediska viskozit, následně je porovnat dle molekulové hmotnosti a koncentrace a určit jejich účinnosti. Aplikovaly se sterilní roztoky na bázi HA, které se následně vybraly a posléze i aplikovaly v tribologických experimentech.

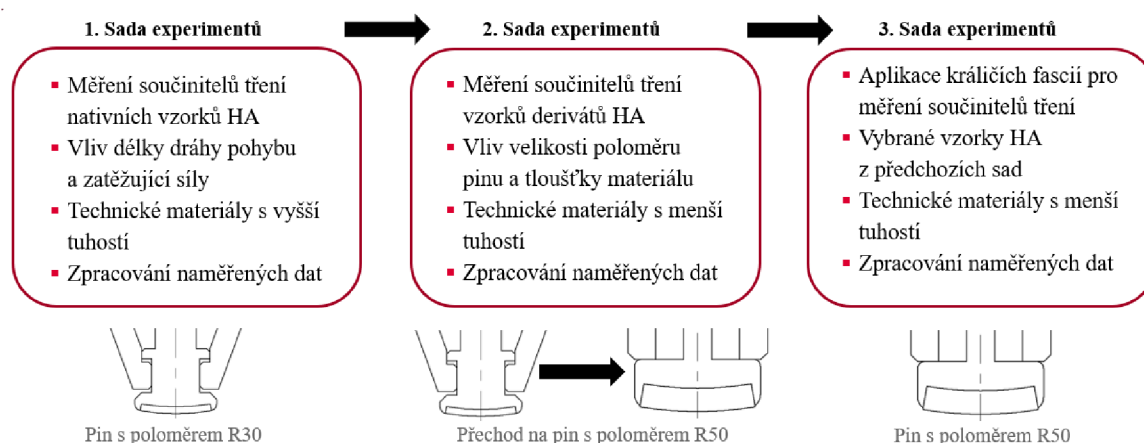
4.1.2 Experimentální měření součinitele tření

Postup celého řešení experimentálního měření součinitele tření v diplomové práci je popsán na Obr. 4-2. Byly provedeny celkem tři sady experimentů. V 1. sadě se studovaly vývoje součinitelů tření mezi modely fascií a posuzoval se vliv molekulových hmotností a koncentrací nativních vzorků HA na procesy tření. Modely fascií představují technické materiály, např. lékařský silikon (PDMS) či hydrogel. Aplikovaly se rovněž technické materiály jako modely svalů, které mají vysokou tuhost oproti tuhostem lidským podkožním tkáním. Zároveň se zde ověřila funkčnost konstrukce vany a pinu. Proběhly i parametrické analýzy za účelem posouzení vlivu délky dráhy pohybu a vlivu zatěžující síly na součinitel tření. Podle této sady se posléze vybral nativní roztok HA pro další sady – pro porovnání derivátů HA a finální měření součinitele tření v kontaktu reálných fascií.

2. sada experimentů navázala na první sadu. Tato sada měla rovněž za úkol zkoumat vývoj součinitelů tření mezi modely fascií. Ovšem se změnilы použité technické materiály, které mají tuhost blíže k lidským tkáním. Použily se k mazání roztoky derivátů HA. Deriváty mají velmi podobné molekulové hmotnosti, ale odlišné koncentrace a chemické složení roztoků. Pro samotné měření se využil pin s větším poloměrem, který více zaujímá větší plochu vůči vaně nežli pin v 1. sadě. Zároveň umožňuje plynulejší pohyb během experimentů než první pin. Rovněž i zde proběhla parametrická analýza – vliv velikosti poloměrů pinů.

Ve 3. sadě se již aplikují reálné vzorky fascií. Použily se roztoky HA z předchozích sad a posoudily se rozdíly mezi modely fascií a skutečnými tkáněmi. Zároveň se posoudila opakovatelnost měření při změně párů tkání. Rovněž se uskutečnily i dlouhodobé měření. Na základě této sady se budou analyzovat roztoky na bázi HA, které se využijí při vývoji léčebného přípravku.

U každé sady experimentů proběhla vyhodnocování, statistická zpracování a interpretace.



Obr. 4-2 Plán experimentů diplomové práce

4.2 Experimentální zařízení a přístrojové vybavení

4.2.1 Discovery HR 30

Měření viskozit roztoků HA probíhalo na rotačním reometru Discovery HR 30 od společnosti TA Instruments, viz Obr. 4-3. Reometr je tvořen ze 2 částí – rotační kuželová deska a Peltierova deska. Mezi tyto části se umisťoval vzorek roztoku. Pro samotné vyhodnocování naměřených dat se využíval program Trios, jenž společnost TA Instruments doplňuje k přístroji.



Obr. 4-3 Reometr Discovery HR 30 [51]

4.2.2 Bruker UMT TriboLab

Bruker UMT (Universal Mechanical Tester) je od uvedení prvního modelu od roku 2000 nejuniverzálnějším a nejrozšířenějším tribometrem [52]. Tribometr umožňuje dosahovat otáček od 0 do 5 000 otáček/min a vysokých hodnot kroutících momentů. Pro experimentální měření je důležitý reciproční pohon, jenž umožňuje testování v konfiguraci pin-on-plate v rychlostech od 0,1 do 60 Hz při posuvech od 0,1 do 25 mm.



Obr. 4-4 Tribometru Bruker UMT TriboLab [53]

4.3 Materiál a metody

4.3.1 Reologie – roztoky HA

Vzorky byly vybrány na základě vlastních experimentů společnosti Contipro a.s., kde například zjišťovali sílu potřebnou na vytlačení vzorku z injekce skrz jehlu do místa patologie fascií v závislosti na viskozity vzorků HA, vybíraly se i na základě chemických vlastností (hydrofilicity a hydrofobicity), či dle rozpínavosti roztoků mezi jednotlivými vrstvami tkání.

Tab. 4-1 Nativní roztoky HA – reologie

Označení	Molekulová hmotnost	Koncentrace
-	610 kDa	20 mg/ml; 10 mg/ml
-	316 kDa	20 mg/ml
-	101 kDa	20 mg/ml; 10 mg/ml
Bonharen	317 kDa	10 mg/ml

Tab. 4-2 Roztoky derivátů HA - reologie

Označení	Molekulová hmotnost	Koncentrace
Derivát R	550 kDa	20 mg/ml; 10 mg/ml; 5 mg/ml
Derivát Q	820 kDa	20 mg/ml; 10 mg/ml; 5 mg/ml
Derivát P	275 kDa	20 mg/ml; 10 mg/ml; 5 mg/ml
Derivát H	318 kDa	3 mg/ml; 1,5 mg/ml; 0,75 mg/ml

4.3.2 Tribologie – roztoky HA

Samotný kontakt byl mazán vybranými vzorky nativní HA nebo jejími deriváty, viz Tab. 4-3 a Tab. 4-4. Vzorky roztoků HA pro experimentální měření součinitelů tření si vybrala přednostně společnost Contipro a.s.

Tab. 4-3 Nativní roztoky HA - tribologie

Označení	Molekulová hmotnost	Koncentrace
-	610 kDa	20 mg/ml
-	316 kDa	20 mg/ml
-	101 kDa	20 mg/ml
Bonharen	317 kDa	10 mg/ml

Tab. 4-4 Roztoky derivátů HA - tribologie

Označení	Molekulová hmotnost	Koncentrace
Derivát R	550 kDa	10 mg/ml
Derivát Q	820 kDa	10 mg/ml
Derivát P	275 kDa	10 mg/ml
Derivát H	318 kDa	1,5 mg/ml

4.3.3 Podmínky experimentálních měření viskozitních charakteristik

Měření viskozitních charakteristik probíhalo za těchto podmínek, viz Tab. 4-5. Všechny parametry byly stanoveny podle doporučení od zaměstnanců ve společnosti Contipro a.s., kde proběhly experimenty. Na desku reometru se nakapalo 0,6 ml vzorku roztoku HA, který se zahřál na teplotu 37 °C. Smyková rychlost byla nastavena v rozmezí od 0 do 1 000 s⁻¹. Pro každý jeden roztok se uskutečnily celkem 3 opakování.

Tab. 4-5 Podmínky experimentálních měření viskozit

Podmínky experimentů	
Měřený objem	0,6 ml
Smyková rychlost	0-1 000 s ⁻¹
Teplota	37 °C
Počet opakování	3

4.3.4 Podmínky experimentálních měření součinitele tření

Experimentální měření součinitelů tření probíhalo za určitých podmínek, viz Tab. 4-6. Parametry zatěžující (normálové) síly a délky dráhy pohybu se určily na základě parametrických měření, viz podkapitola 5.2.1. Podmínky byly stejné u všech tří sad. Byl uvažován kontaktní tlak menší nežli 0,1 MPa, jelikož dle studie [47] byl zjištěn maximální kontaktní tlak při konstantní rychlosti 0,17 MPa. Byl uvažován pouze přímočarý vrtaný pohyb. Frekvence vratného pohybu (1 Hz) a doba jednoho měření (300 s) byly zvoleny na základě konzultací. Teplota byla nastavena na 37 °C, což je teplota lidského těla. Opakovatelnost byla zvolena 4-5 na základě studií, viz podkapitola 2.9. Z důvodu množství doručených vzorků HA nebylo možné vyplnit celou plochu vany vzorkem HA. Do vany se aplikovalo od 1,5 do 2,5 ml vzorku HA, aby pokryla celou délku posuvu pinu.

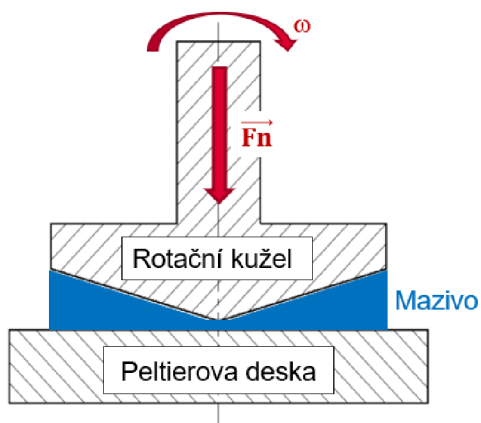
Tab. 4-6 Podmínky experimentálních měření součinitele tření

Podmínky experimentů	
Zatěžující síla	2 N
Kontaktní tlak	$\leq 0,1$ MPa
Délka dráhy pohybu	± 16 mm
Frekvence vratného pohybu	1 Hz
Doba jednoho měření	300 s
Teplota	37 °C
Opakovatelnost	4-5

4.4 Reologie

4.4.1 Postup měření viskozitních charakteristik

Měření viskozitních charakteristik probíhalo na reometru Discovery HR 30, viz podkapitola 4.2.1. Pro samotné měření byl do horní části reometru vložena kuželová deska o průměru 40 mm s úhlem kužele 1° a na desku v dolní části se umísťoval měřený roztok o určitém množství. Poté byla kuželová deska spuštěna směrem ke statické desce, viz Obr. 4-5. Kuželová deska vyvíjela určitou sílu, kterou kontroloval reometr. Následně otáčením této desky byla určována viskozitní charakteristika měřeného vzorku. Celkově bylo naměřeno 51 bodů viskozity v rozsahu smykové rychlosti od 0 do 1 000 s⁻¹.



Obr. 4-5 Konfigurace cone-on-plate

4.5 Tribologie

4.5.1 Tribologický model fascie

Tribologický model fascií představují silikonové nebo PU pláty (simulující svaly) a PU pláty nebo vypreparované tkáně fascií (simulující fascii). Pláty, které představují svaly, jsou uloženy buď ve vaně, anebo na zaobleném vrcholu pinu, kde se přilepují. Na tyto pláty se následně ukládaly pláty, jenž simulují fascie, nebo reálné fascie do držáků na pinu a vaně.

Model fascií

Fascie představují buď technické materiály, nebo reálné fascie. Mezi technické materiály patří PU pláty o tvrdosti 75 Sh dodané firmou Technogel a hydrogely. Byly vybrány tzv. „mléčné“ PVA-FT hydrogely. Reálné fascie byly vypreparovány z kadáver králíků. Všechny modely a reálné fascií mají rozměry pro experimentální měření 40x20 mm.

Model svalů

Svaly jsou modelovány silikonovými či polyuretanovými pláty o rozměrech 80x35x3 mm, které se vkládaly do vany. Silikonové byly zhotoveny z lékařského silikonu PDMS, které byly vyrobeny firmou SILROC, o tvrdosti 30 Sh. Pláty použité pro pin mají rozměry cca 10x20x1 mm. Byly použity i pláty BTG S 145AX 30Sh c 40 μm PU foil s označením „Phantom“, které byly dodány firmou Technogel, a které byly doporučeny společností Contipro a.s. Použité Phantomy mají tvrdost 30 Sh při tloušťce 8 mm.

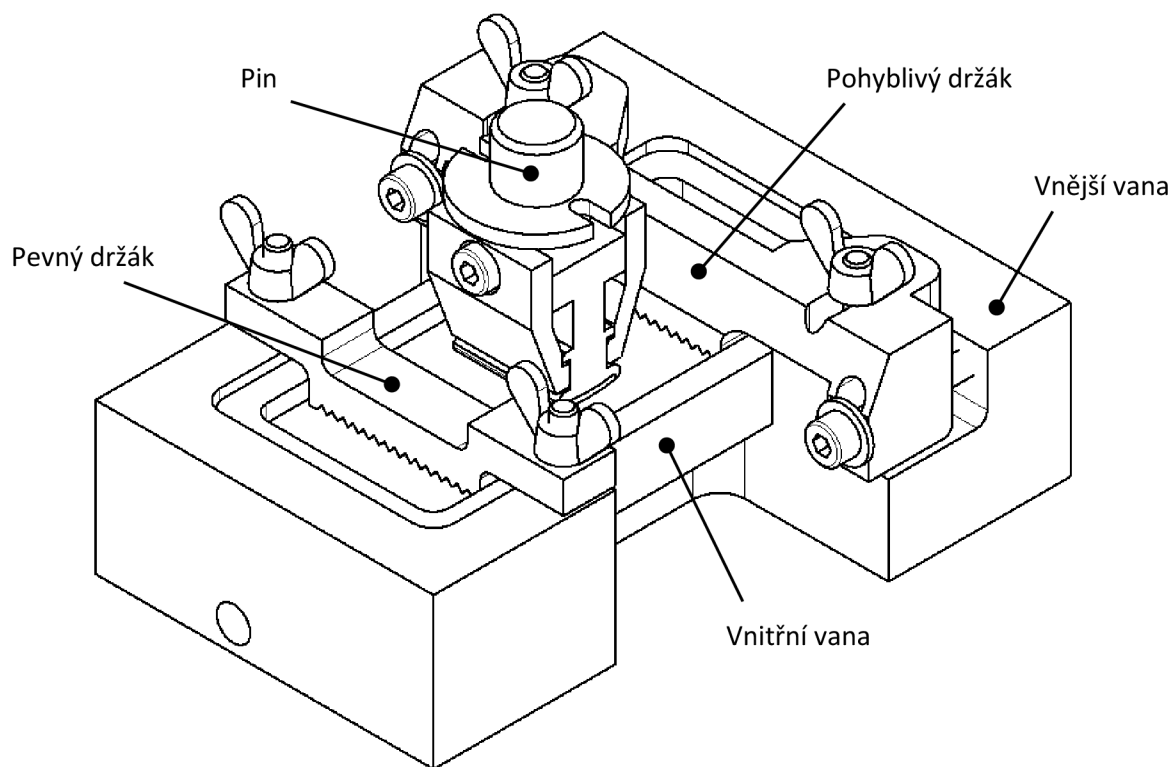
V Contipro a.s. proběhla měření tuhostí materiálů vzhledem k tuhostem podkožním tkáním člověka, kde hrály důležitou úlohu „resistence“ kůže a množství tukové vrstvy. Došli k závěru, že Phantomy s tvrdostí 30 Sh s kombinací s plátem o tvrdosti 75 Sh mají tuhost nejbližší k podkožním tkáním. Jelikož mají PDMS 30 Sh vyšší tuhost, tak byly vybrány jakožto referenční materiál.

Tab. 4-7 Použité lékařské silikony a PU

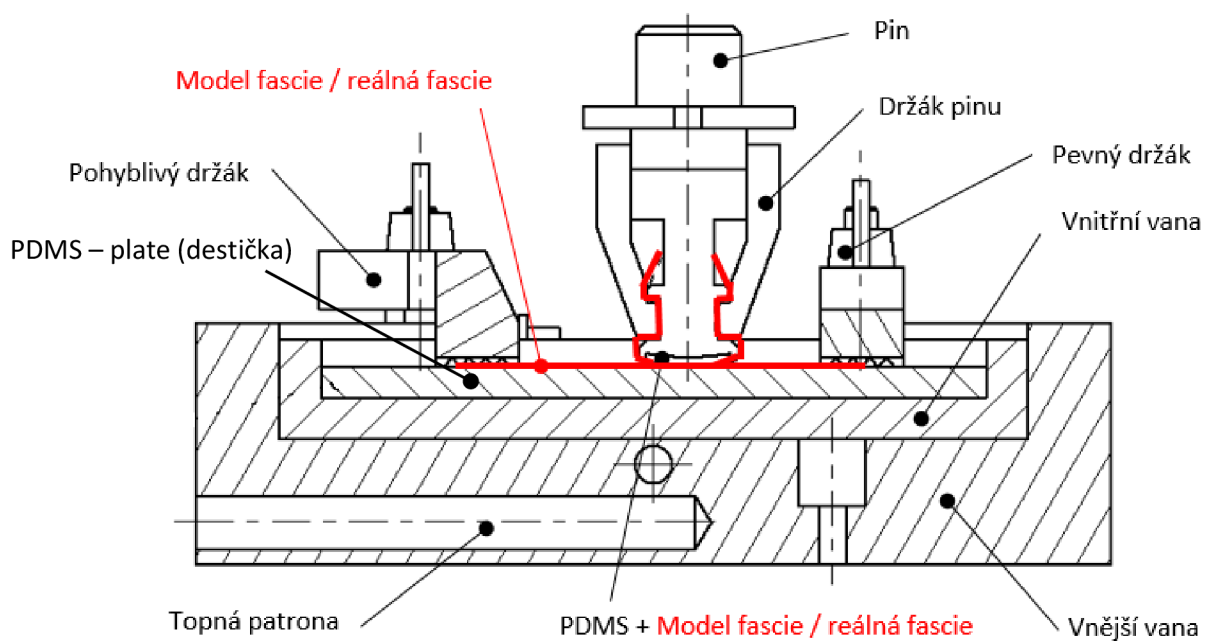
Materiál	Tloušťka
PDMS 30 Sh	1 a 3,5 mm
PU foil 15 Sh	5 mm
PU foil 75 Sh	0,75 mm
Phantom 30 Sh	8 mm

Konstrukce vany a pinu

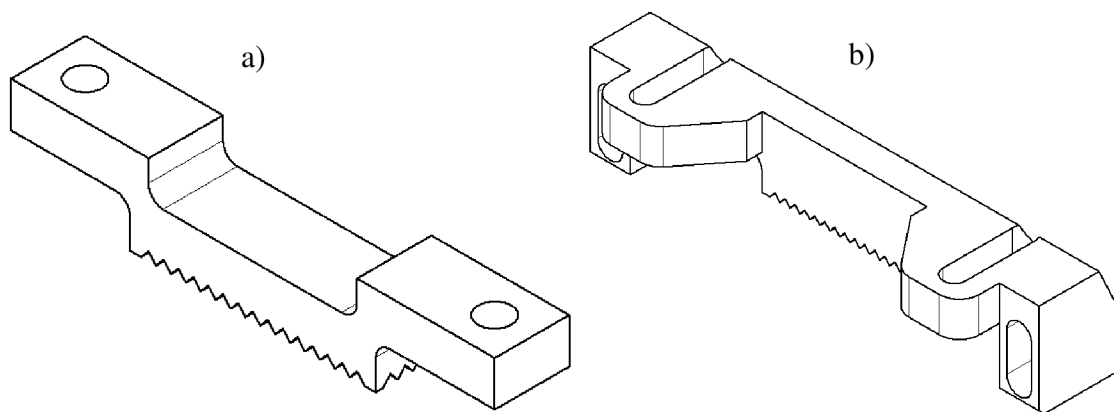
Pro diplomovou práci bylo třeba navrhnout a vyrobit vanu a pin s držáky, které umožní předepnutí modelů či vzorků fascií. Vana je tvořena vnější, vnitřní vanou a držáky. Do vnější vany se vkládá vnitřní vana. Vnitřní vana slouží pro vložení plátu představující sval, např. PDMS. Vnější vana se použila pro upevnění na platformu tribometru a zároveň pro vytápění celé sestavy přípravku. Vytápění je řešeno topnými patronami, které udržují teplotu 37 °C, což je teplota lidského těla. Otvory pro patrony jsou umístěny ve vnější vaně rovnoběžně vůči sobě pod vnitřní vanou pro zajištění rovnoměrného ohřevu. Na vnější vaně jsou umístěny závrtné šrouby, na kterých jsou vloženy držáky na uchycení modelů či reálných fascií. Jeden držák je statický (pevný) a druhý je pohyblivý. Oba držáky se dotahují křídlovými maticemi. U pohyblivého držáku se navíc jeho poloha zajišťuje dvojicí šroubů s válcovou hlavou. Nejdříve se fascie uchytne statickým držákem, následně se fascie předepne pohyblivým držákem a tento držák se posléze zajistí. Tato konstrukce vany umožňuje jednoduchou výměnu fascií či testovaných maziv.



Obr. 4-6 3D model sestavy vany a pinu

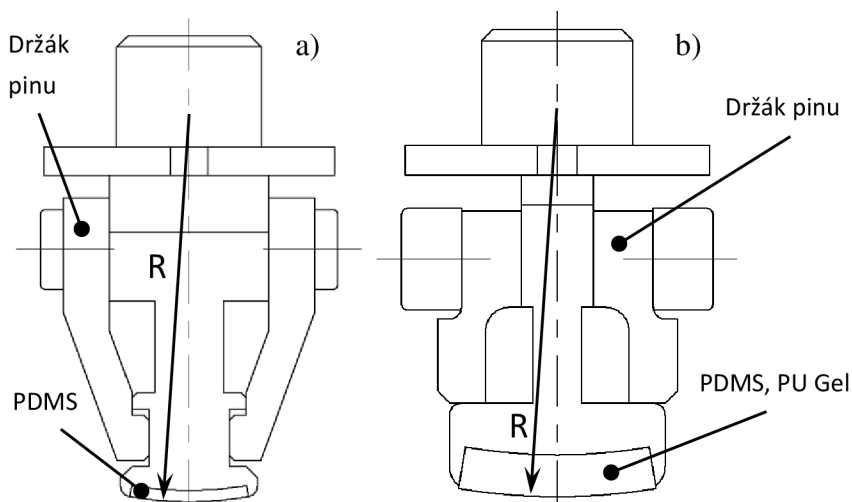


Obr. 4-7 Řez konstrukce vany a pinu



Obr. 4-8 a) Pevný držák; b) Pohyblivý držák

Musel se rovněž navrhnout a vyrobit pin pro uchycení modelu či reálné fascie. Konstrukce je tvořena samotným pinem a dvěma držáky. Pin je tvořen válcovým vrcholem, který v během experimentů je v kontaktu s vanou. Pin je zhotoven se dvěma velikostmi poloměrů válcových ploch – R30 a R50. Navíc je zhotovena konstrukční řada varianty s R50, která umožňuje využít tloušťky materiálu 1 mm, 3,5 mm, 5 mm a 8 mm. Na válcovou kontaktní plochu se přilepuje model svalů. Posléze se fascie upevní v jednom držáku a následně se ručně předepne přes válcovou plochu a upevní se druhým držákem. Takto připravený pin se vloží a zajistí v horní části tribometru.

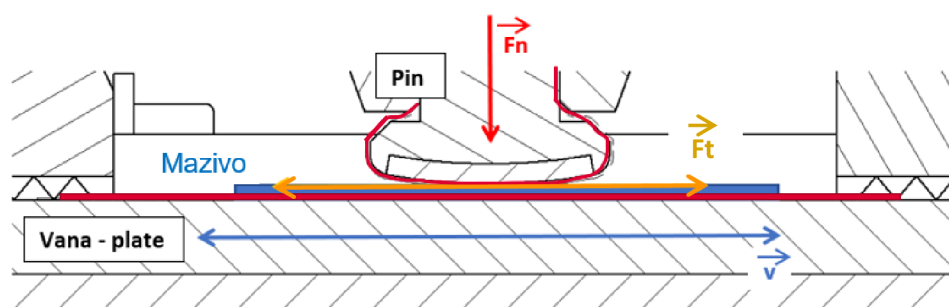


Obr. 4-9 a) Pin s poloměrem R30; b) Pin s poloměrem R50

4.5.2 Postup měření součinitelů tření

Samotné měření probíhalo na tribometru Bruker UMT TriboLab v konfiguraci pin-on-plate s aplikací recipročního modulu tribometru, viz Obr. 4-10. Do horní části tribometru se vložil a zajistil pin s modelem svalů a modelem či reálnou fascií. Na upevňovací platformu tribometru se umístila konstrukce vany s modelem svalů společně s fascií.

Pin potom udržuje normálovou silou F_n vůči plátu. Pin je během měření stacionární a přímočarý vratný pohyb vykonává vana s destičkou o nastavené rychlosti v . Snímač tribometru zaznamenává normálovou a třecí sílu F_t , ze kterých se dopočítává hodnota součinitele tření v závislosti na čase.



Obr. 4-10 Tribologické měření pin-on-plate

4.5.3 Aplikované materiálové kontaktní dvojice

Modely představující svaly a fascie jsou tvořeny PDMS, PU Gely, PVA-FT hydrogely a reálné fascie, viz Obr. 4-11, kde jsou uvedeny jednotlivé materiálové dvojice. S černým obrysem představují svaly a s červeným obrysem modely fascií. V Tab. 4-7 jsou uvedeny jednotlivé tloušťky materiálů. PU foil 75 Sh, PVA-FT hydrogely a PDMS 30 Sh o tl. 1 mm byly aplikovány jako modely fascií. Postupně se napříč sady přecházelo na měkčí materiály, které se se svojí tuhostí přibližují více k lidským tkáním. PVA-FT hydrogel byl vybrán pro měření kvůli velmi skvělým třecím vlastnostem, které se dříve využily při studiu kloubních chrupavek. PU Gely PU foil 15 Sh, PU foil 75 Sh a Phantom 30 Sh byly doporučeny společností Contipro a.s.

1. Sada experimentů			
	PDMS 30 Sh	PDMS 30 Sh	PU foil 75 Sh
PDMS 30 Sh	PU foil 75 Sh	Hydrogel	PU foil 75 Sh
PDMS 30 Sh	PU foil 75 Sh	Hydrogel	PU foil 75 Sh
	PDMS 30 Sh	PDMS 30 Sh	PU foil 15 Sh

2. Sada experimentů		3. Sada experimentů	
PDMS 30 Sh	Phantom 30 Sh	PDMS 30 Sh	Phantom 30 Sh
PU foil 75 Sh	PU foil 75 Sh	Králičí fascie	Králičí fascie
PU foil 75 Sh	PU foil 75 Sh	Králičí fascie	Králičí fascie
PDMS 30 Sh	Phantom 30 Sh	PDMS 30 Sh	Phantom 30 Sh

Obr. 4-11 Materiálové kontaktní dvojice jednotlivých sad

4.5.4 Statistické zpracování naměřeného signálu

Směrodatná odchylka

Směrodatná odchylka je jednou ze základních metod statistické analýzy. Standardní odchylka se běžně označuje jako SD (z anglického standard deviation) nebo „ σ “ [54]. Je to hodnota, která vyjadřuje, jak velká je odchylka od průměrné hodnoty. Vypovídá o tom, jak jsou hodnoty vzorku dat rozloženy.

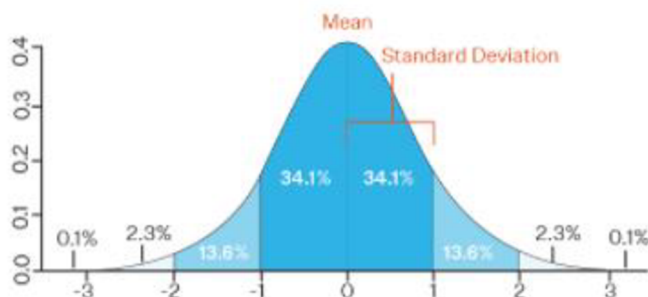
Směrodatnou odchylku lze určit takto [54],:

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

kde σ je směrodatná odchylka, N je počet členů statistického souboru, \bar{x} je průměrná hodnota a x_i jsou jednotlivé hodnoty statistického souboru.

Příklad interpretace výsledků se směrodatnou odchylkou je znázorněna na Obr. 4-12, kde je princip vysvětlen. Zde jsou výsledné hodnoty směrodatných odchylek znázorněny v procentech.

Standard Deviation



Obr. 4-12 Směrodatná odchylka [54]

4.6 Testované predikce

Znění hypotézy: „Při klesající molekulové hmotnosti a koncentraci budou roztoky na bázi kyseliny hyaluronové vykazovat klesající vývoje součinitelů tření v kontaktu fascií.“, zůstává nezměněno. Závislými proměnnými na součinitel tření jsou molekulové hmotnosti a koncentrace roztoků HA.

5 VÝSLEDKY

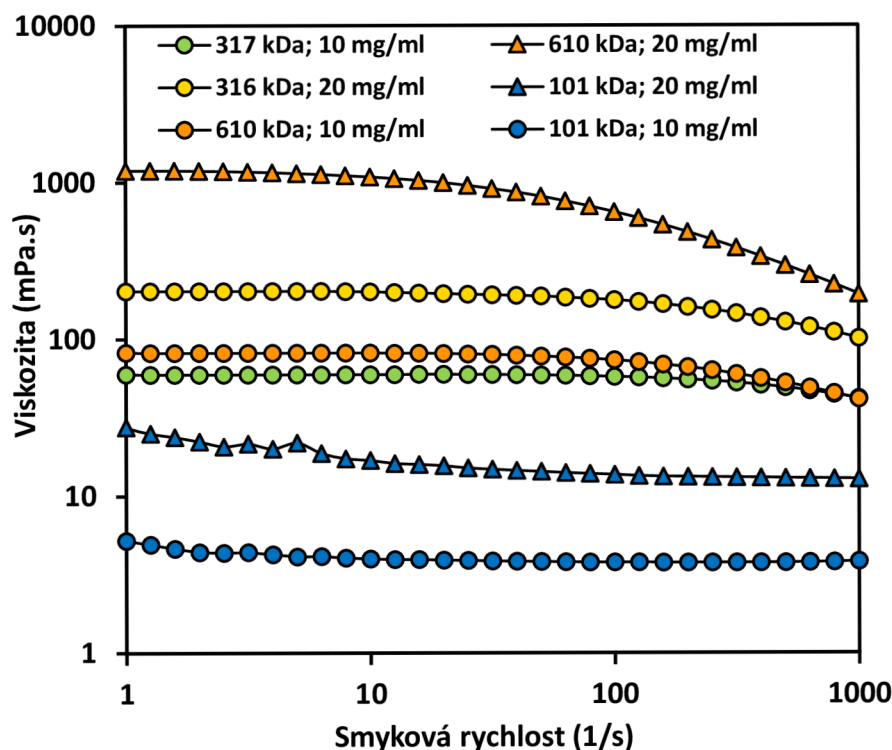
5.1 Reologie – viskozitní charakteristiky

Cílem reologie bylo určení viskozitních charakteristik nativních roztoků HA a jejich derivátů. Samotné měření proběhlo v rámci stáže ve společnosti Contipro a.s. Uskutečnily se experimentální měření s využitím sterilních roztoků HA. U obou sad se určovaly závislosti viskozity vůči smykové rychlosti.

5.1.1 Roztoky nativních vzorků HA a jejich derivátů

Viskozitní charakteristiky nativních roztoků HA

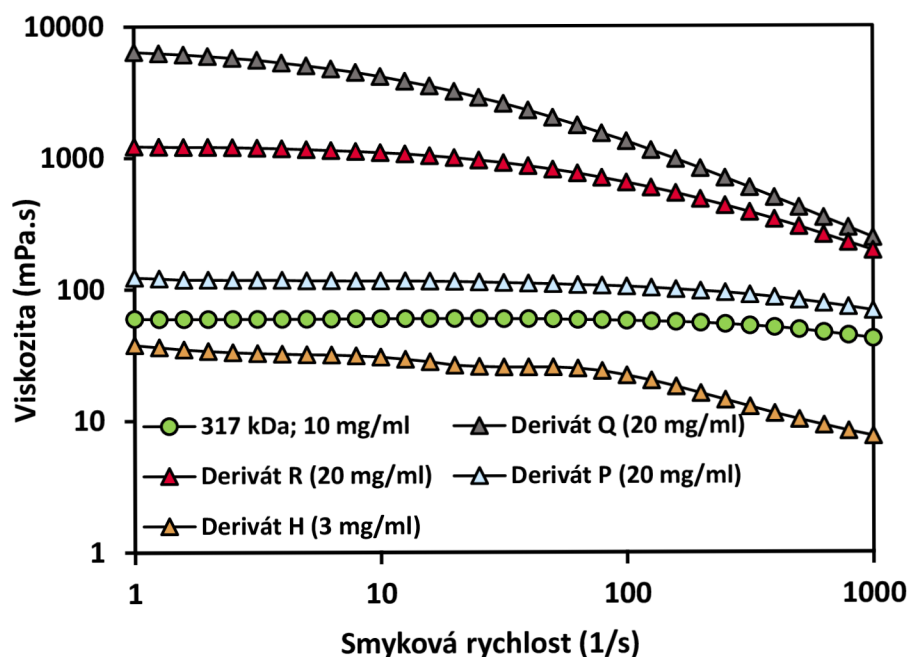
Nativní roztoky HA byly měřeny ve 2 koncentračních řadách – 20 a 10 mg/ml. Viskozita klesala jak s klesající hodnotou molekulové hmotnosti, tak i s koncentrací, viz Obr. 5-1. Nejnižší viskozity dosahoval roztok s molekulovou hmotností 101 kDa s koncentrací 10 mg/ml. Naopak nejvyšší viskozity nabýval roztok s molekulovou hmotností 610 kDa s koncentrací 20 mg/ml.



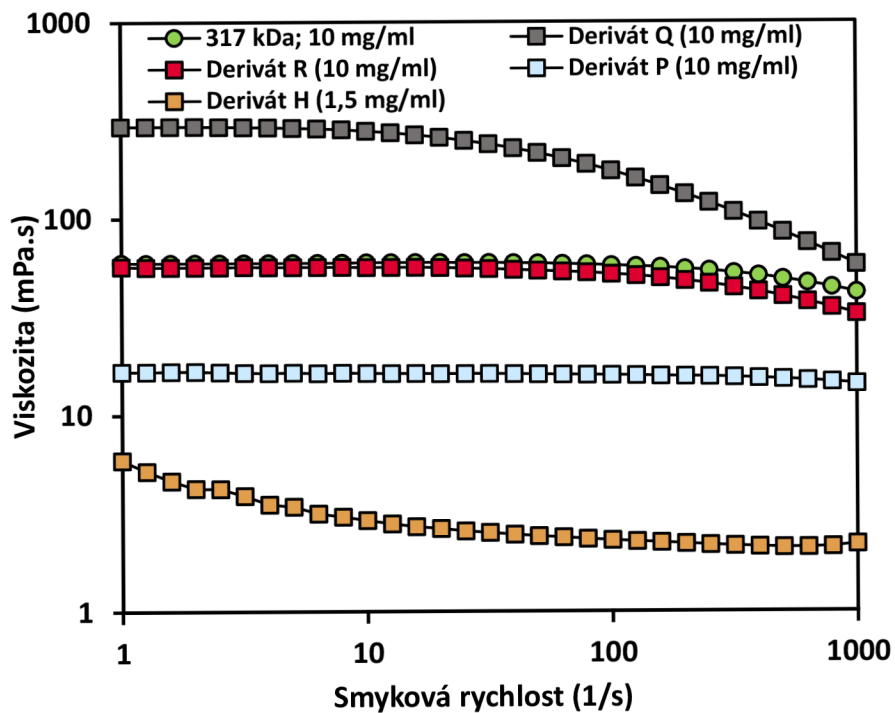
Obr. 5-1 Viskozitní charakteristika sterilních vzorků nativních roztoků HA – koncentrace 20 a 10 mg/ml

Roztoky derivátů HA

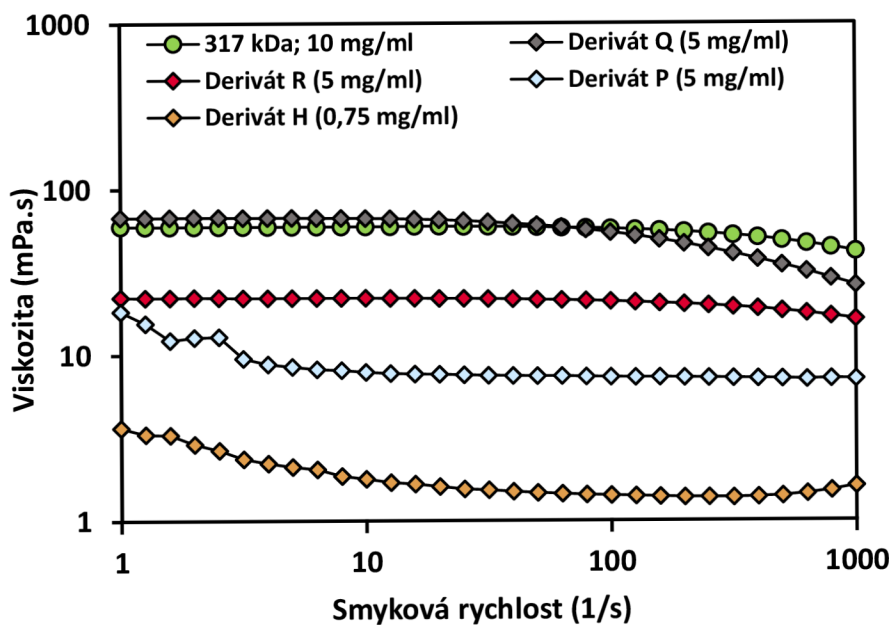
V poslední fázi reologických experimentálních měření se měřily viskozitní charakteristiky sterilních vzorků derivátů HA. Byly vytvořeny 3 viskozitní řady derivátů Q, P a R po 20, 10 a 5 mg/ml a u derivátu H po 3, 1,5 a 0,75 mg/ml. Deriváty se porovnávaly vůči nativnímu roztoku (317 kDa; 10 mg/ml), který byl pro tento účel zvolen. V grafech, viz Obr. 5-2, Obr. 5-3 a Obr. 5-4, je patrné, že s klesající koncentrací a molekulovou hmotností se snižují hodnoty viskozit. Ovšem na viskozitu má vliv i samotné chemické složení derivátů, které nebylo pro diplomovou práci podloženo. Nejvyšších viskozit dosahoval derivát Q, a naopak nejnižších viskozit dosahoval derivát H.



Obr. 5-2 Viskozitní charakteristika sterilních vzorků roztoků derivátů HA – koncentrace 20 a 3 mg/ml



Obr. 5-3 Viskozitní charakteristika sterilních vzorků roztoků derivátů HA – koncentrace 10 a 1,5 mg/ml



Obr. 5-4 Viskozitní charakteristika sterilních vzorků roztoků derivátů HA – koncentrace 5 a 0,75 mg/ml

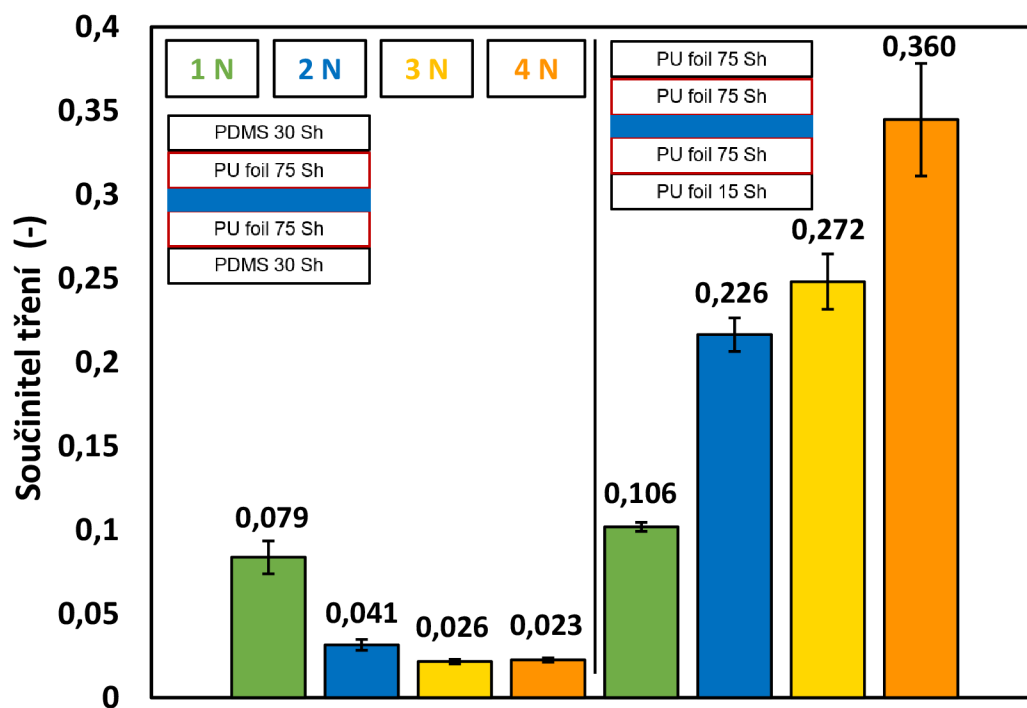
5.2 Tribologie – 1. sada experimentálních měření

5.2.1 Parametrické analýzy tribologického modelu

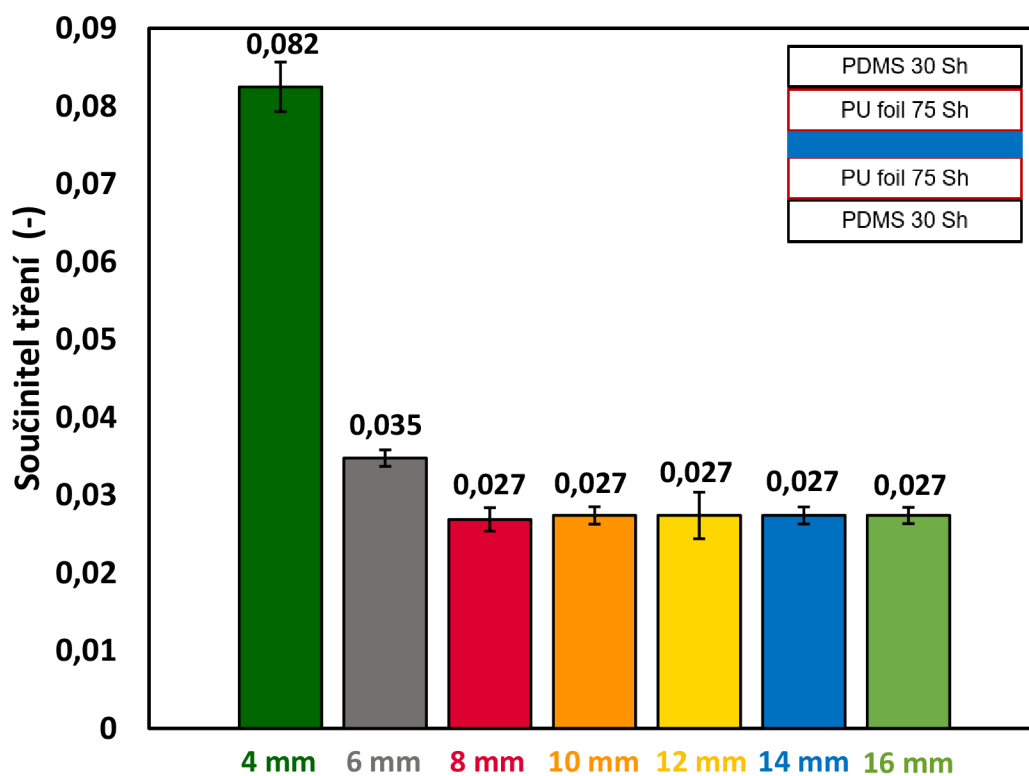
Hlavním úkolem této podkapitoly bylo ověřit vývoj součinitelů tření nativních vzorků HA v závislosti na molekulové hmotnosti a koncentraci. Prvotním úkolem byly parametrické analýzy, které měly za cíl stanovit vhodnost nastavených parametrů na tribometru. Testoval se vliv zatěžující síly pro materiálové kontaktní dvojice s větší tuhostí, tak i pro dvojice s menší tuhostí. Dále se studoval vliv délky dráhy pohybu na součinitel tření. Pro obě tato studia byl použit nativní roztok (Bonharen - 317 kDa; 10 mg/ml) a kontaktní dvojice tvořenou PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh - PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh; PU foil 15 Sh a PU foil 75 Sh - PU foil 75 Sh a PU foil 75 Sh. Na základě těchto měření byly zvoleny podmínky pro 1. sadu experimentů, ale i pro další sady experimentů.

Součinitel tření z uvedených parametrů byl nejvíce ovlivňován zatěžující silou a tuhostmi kontaktních dvojic. Zatěžující síla se testovala v rozmezí 1-4 N pro obě kontaktní dvojice. Vliv síly ukazuje graf, viz Obr. 5-5. Je vidět, že v případě kontaktní dvojice s větší tuhostí dosahoval součinitel tření nižších hodnot při zvyšující síle. Pokud se jedná o kontaktní dvojici s menší tuhostí, tak součinitel tření vykazoval vyšší hodnoty, jestliže se zatěžující síla zvětšovala. Dle těchto měření byla zvolena síla 2 N z důvodu vyšší stability během experimentů.

Dalším důležitým parametrem je velikost dráhy během experimentů. Tento parametr bylo rovněž třeba ustanovit, jelikož se fascie pohybují vůči sobě v širokém rozsahu. Měření probíhalo od největšího posuvu (16 mm) po nejmenší (4 mm). Toto měření ukázalo konstantní vývoj součinitelů tření u posuvů od 8 do 16 mm. Při menším posuvu než 8 mm součinitel tření stoupal. Na základě tohoto měření se vybral úsek posuvů od 8 do 16 mm pro další experimenty.



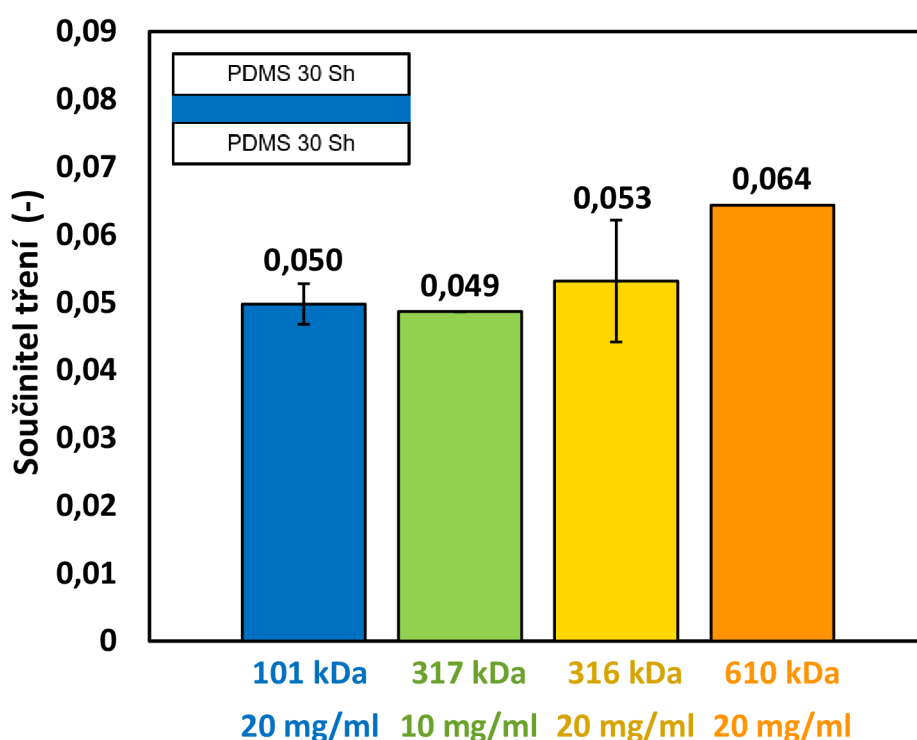
Obr. 5-5 Vliv zatěžující síly na součinitel tření – materiálová kontaktní dvojice s větší tuhostí (vlevo) a menší tuhostí (vpravo)



Obr. 5-6 Vliv délky dráhy pohybu na součinitel tření

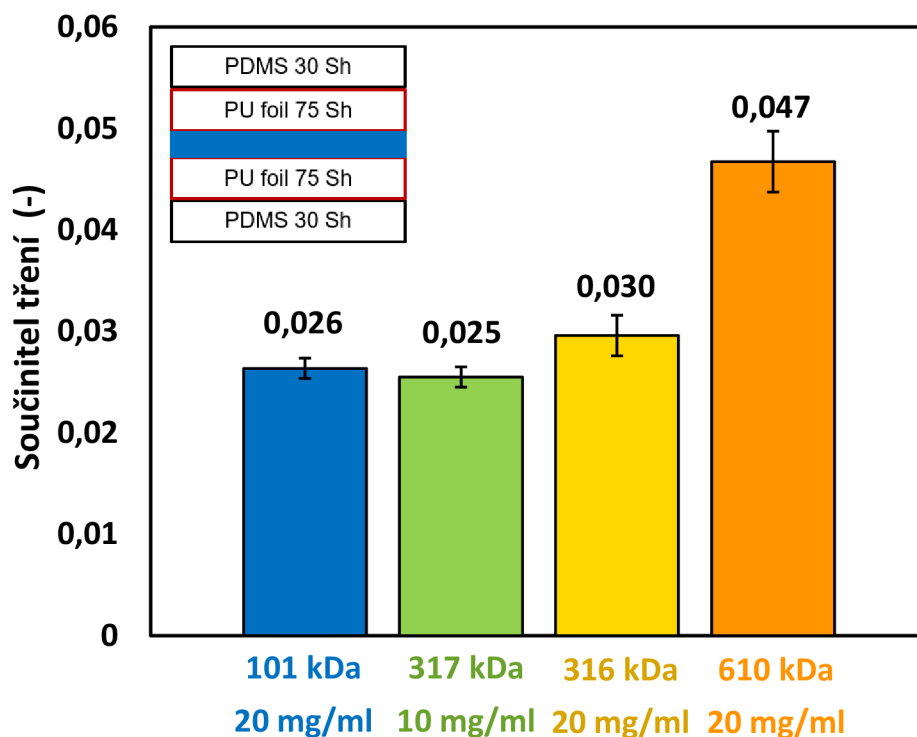
5.2.2 Vzorky nativních roztoků HA

Součinitel tření se měřil pro 5 vzorků nativních roztoků HA. Experimentální měření probíhaly za podmínek, viz podkapitola 4.3.4. V průběhu této sady se měnily materiálové kontaktní dvojice. Všechny výsledky, kromě parametrických měření, této sady jsou pro přehlednost vyobrazeny v příloze. Měření ukázalo vývoje součinitelů tření nativních roztoků HA v závislosti na molekulové hmotnosti a koncentraci. U všech kontaktních dvojic součinitel tření stoupal se vzrůstající molekulovou hmotností a koncentrací. V případě prvního kontaktního páru nejnižšího součinitele tření dosahoval roztok s mol. hmot. 317 kDa a koncentrací 10 mg/ml. Naopak nejvyšší součinitel tření nastával u roztoku s mol. hmot. 610 kDa a koncentrací 20 mg/ml.



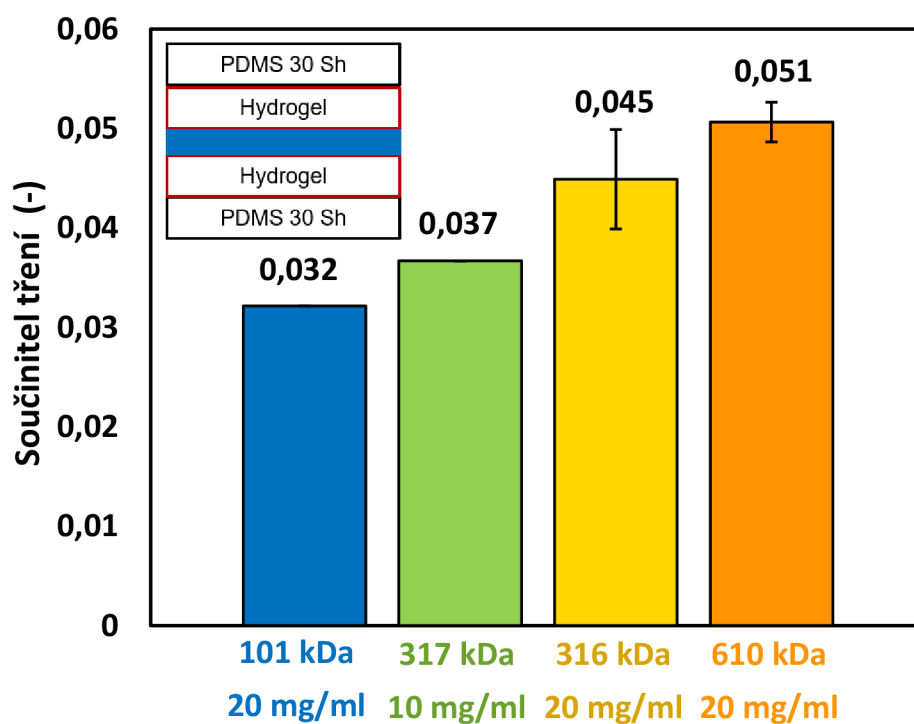
Obr. 5-7 Průměrné hodnoty součinitelů tření PDMS 30 Sh – PDMS 30 Sh

V případě druhého kontaktního páru nejnižšího součinitele tření dosahoval opět roztok s mol. hmot. 317 kDa a koncentrací 10 mg/ml. Nejvyššího součinitele tření nabýval roztok mol. hmot. 610 kDa a koncentrací 20 mg/ml.



Obr. 5-8 Průměrné hodnoty součinitelů tření PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh - PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh

U třetího kontaktního páru nejnižšího součinitele tření dosahoval roztok s mol. hmot. 101 kDa a koncentrací 20 mg/ml. Naopak nejvyšší součinitel tření nastával opět u roztoku s mol. hmot. 610 kDa a koncentrací 20 mg/ml.



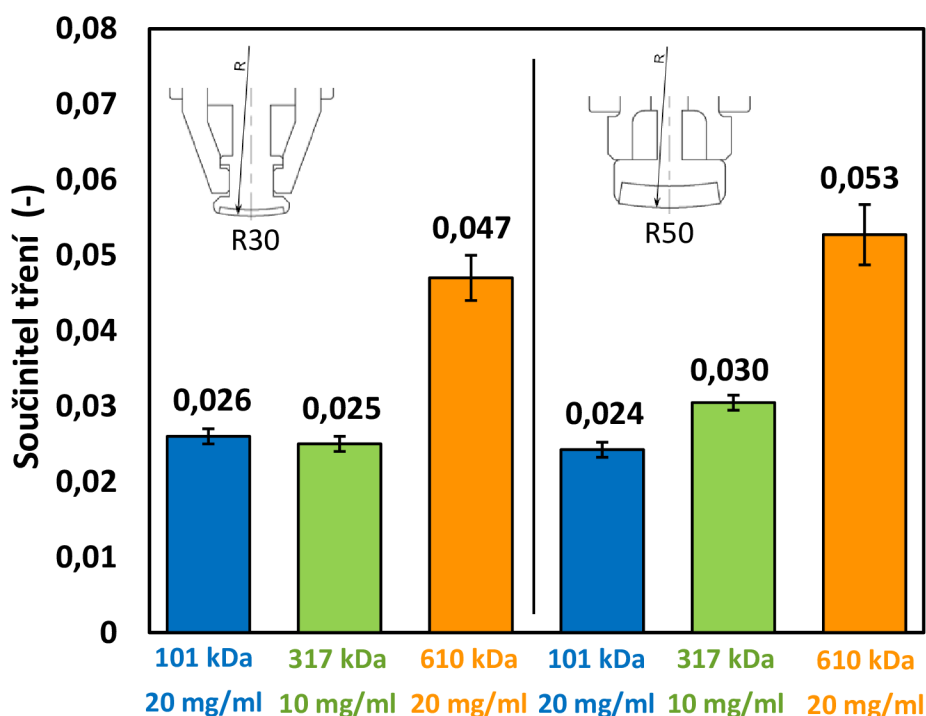
Obr. 5-9 Průměrné hodnoty součinitelů tření PDMS 30 Sh a hydrogel – PDMS 30 Sh a hydrogel

5.3 Tribologie – 2. sada experimentálních měření

5.3.1 Parametrické analýzy

Hlavním cílem této podkapitoly bylo ověřit vývoj součinitelů tření vzorků derivátů HA. V rámci této sady proběhla i zde parametrická analýza. Testoval se vliv změny velikosti poloměru pinu. Konkrétně se jednalo o přechod z poloměru R30 na poloměr R50. Důvodem pro přechod na větší poloměr pinu bylo dosažení během experimentů plynulejšího pohybu mezi vanou a pinem při aplikaci materiálů s malou tuhostí, protože se při použití pinu s menším poloměrem vytvářely „vlny“ z důvodu malé tuhosti. Pro tuto studii byly použity vzorky nativní HA z předchozí sady, které se použily pro porovnání výsledků mezi oběma poloměry. Byla použita kontaktní dvojice tvořenou PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh - PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh. Podmínky experimentů zůstaly nezměněné, viz podkapitola 4.3.4.

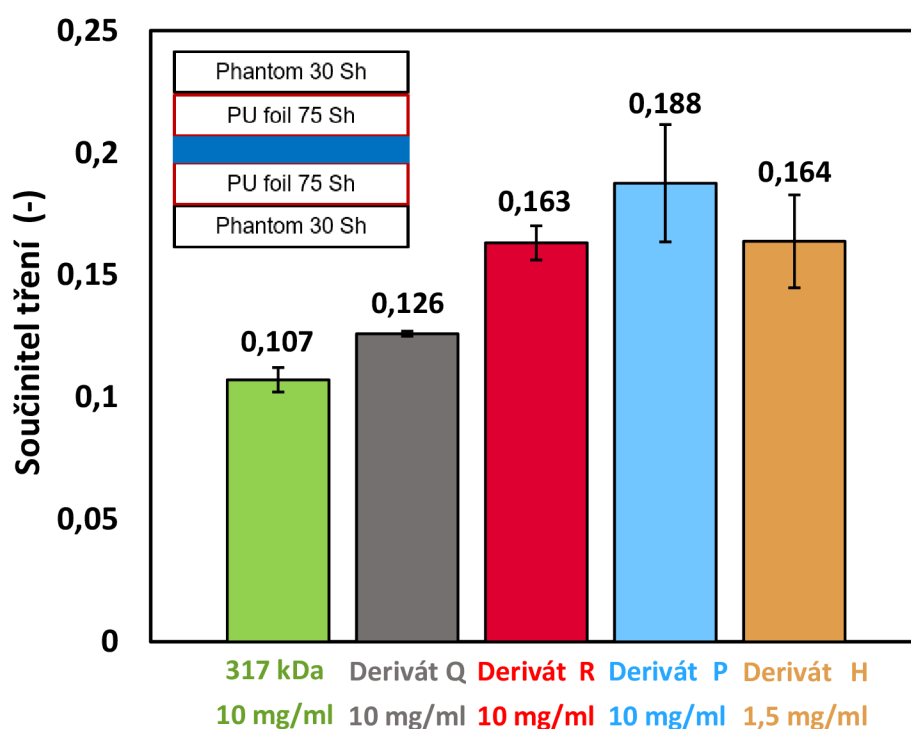
Změna velikosti poloměru pinu z R30 na R50 neměla na součinitel tření žádný vliv, viz Obr. 5-10. Všechny roztoky nativních HA vykazovaly velmi podobné výsledky průměrných hodnot součinitelů tření.



Obr. 5-10 Průměrné hodnoty součinitelů tření PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh - PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh

5.3.2 Vzorky derivátů HA

Součinitel tření se měřil pro 4 roztoky derivátů a 1 nativní roztok HA. Nativní roztok představoval referenční roztok vůči derivátům. Experimentální měření probíhaly za podmínek, podkapitola viz 4.3.4. Během tohoto experimentálního měření neměnila kontaktní dvojice Phantom 30 Sh a PU foil 75 Sh - Phantom 30 Sh a PU foil 75 Sh. Měření prokázalo vyšší hodnoty součinitelů tření všech 4 derivátů vůči nativnímu roztoku HA. Derivát Q dosahoval nejnižších hodnot součinitelů tření z derivátů HA a derivát P naopak nabýval nejvyšších hodnot tření. Dle této sady byl vybrán derivát Q o koncentraci 10 mg/ml pro finální sadu experimentů.

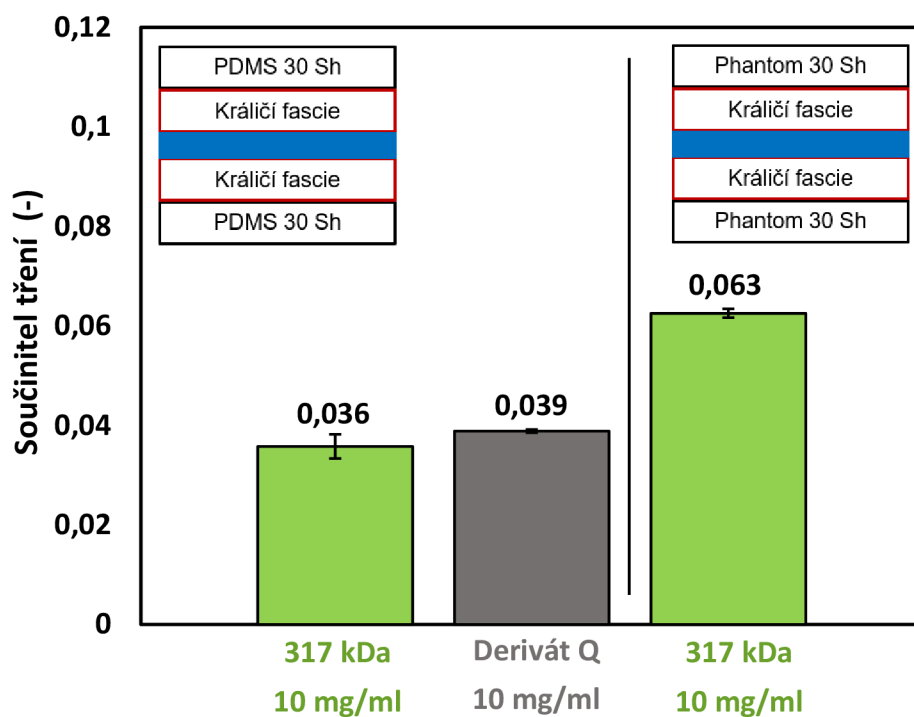


Obr. 5-11 Průměrné hodnoty součinitelů tření Phantom 30 Sh a PU foil 75 Sh - Phantom 30 Sh a PU foil 75 Sh

5.4 Tribologie – 3. sada experimentálních měření

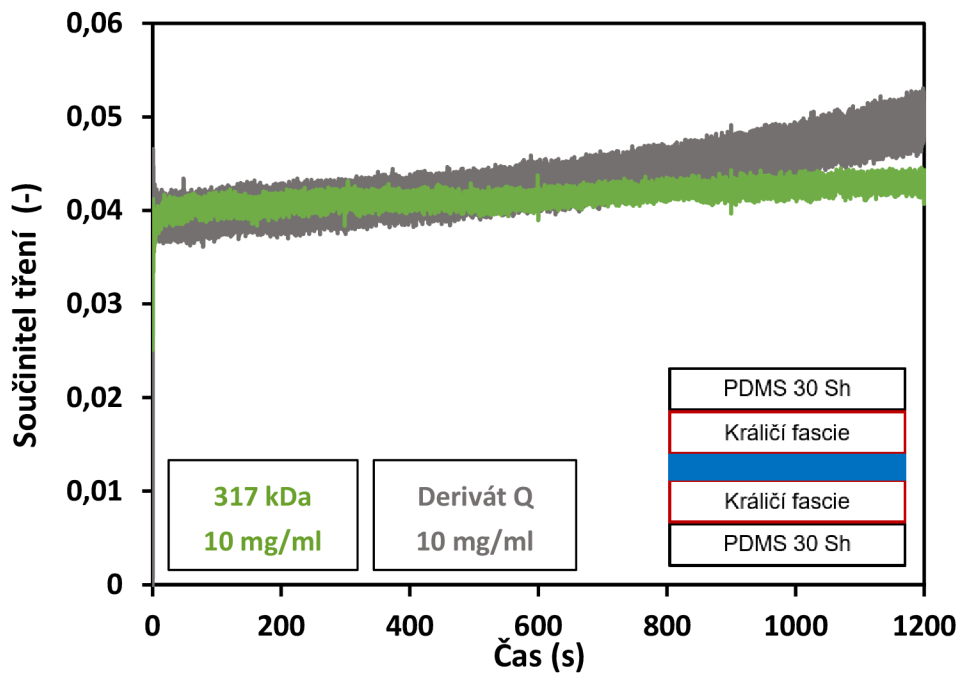
V poslední třetí sadě se aplikovaly pro měření reálné fascie vypreparované z králíků. Použil se nativní roztok (Bonharen - 317 kDa; 10 mg/ml) a derivát Q o koncentraci 10 mg/ml. Tyto roztoky se vybraly dle předchozích dvou sad. Proběhly jak klasické experimenty jako v předchozích sadách, tak i dlouhodobé experimenty. Uskutečnilo se i měření, při kterém se změnily páry fascií za účelem zjištění opakovatelnosti měření. Použily se kontaktní dvojice s PDMS 30 Sh nebo Phantom 30 Sh.

Experimenty poukázaly na to, že nativní roztok vykazoval nižší součinitel tření nežli derivát Q v případě aplikace PDMS 30 Sh, Obr. 5-12. Při použití Phantom 30 Sh se uskutečnily měření pouze pro nativní roztok.



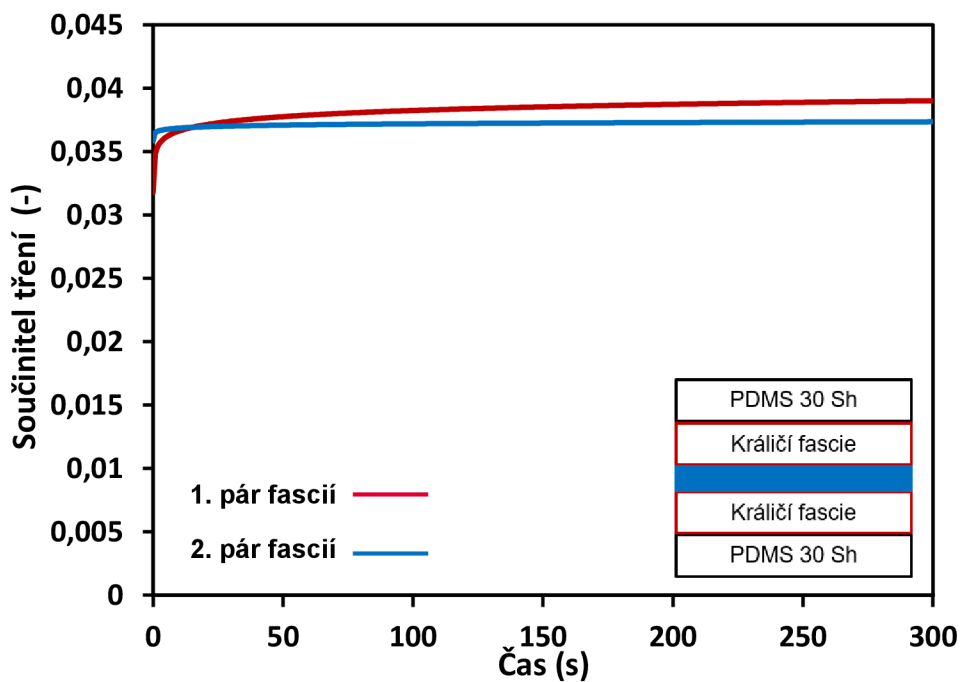
Obr. 5-12 Průměrné hodnoty součinitelů tření v kontaktu reálných fascií

Dlouhodobé experimenty prokázaly konstantnější průběh součinitele tření nativního roztoku oproti derivátu Q. Vývoj součinitele tření derivátu Q začal stoupat více po cca 700 s. Rovněž derivát měl větší rozptyl hodnot součinitelů tření v čase než nativní roztok.



Obr. 5-13 Průběhy dlouhodobých měření součinitelů tření v kontaktu reálných fascií

Testy, při kterých došlo ke změně párů fascií, ukázaly, že se součinitel tření téměř nezměnil. Rovněž se prokázala velmi nízká hodnota směrodatné odchylky během opakování experimentů.



Obr. 5-14 Opakovatelnost experimentů při změně párů fascií

6 DISKUZE

Diplomová práce se zabývala měřením reologických a tribologických vlastností roztoků HA a jejich derivátů za účelem výběru roztoku pro vývoj injekčního přípravku pro léčbu bolesti dolní části zad. Prokázala se klesající závislost součinitele tření na molekulové hmotnosti a koncentraci nativních roztoků HA v kontaktu modelu fascií, viz Obr. 5-7, Obr. 5-8 a Obr. 5-9. Zároveň byl vybrán nativní roztok HA pro porovnání průměrných hodnot součinitelů tření vzorků derivátů HA. U derivátů HA, viz Obr. 5-11, se neprokázala přímá závislost mezi součinitelem tření, molekulovou hmotností a koncentrací. Na tribologickém modelu fascií, který využil vypreparované králičí fascie, bylo porovnáno chování nativního roztoku vůči derivátu HA. Nejlepší třecí vlastnosti prokázal nativní roztok HA, viz Obr. 5-12. Testovaná hypotéza: „Při klesající molekulové hmotnosti a koncentraci budou roztoky na bázi kyseliny hyaluronové vykazovat klesající vývoje součinitelů tření v kontaktu fascií.“ byla potvrzena pouze pro nativní roztoky HA a zároveň byla nalezena odpověď na výzkumnou otázku: „Jaký bude vývoj součinitele tření v závislosti na molekulové hmotnosti a koncentraci roztoků na bázi kyseliny hyaluronové v kontaktu fascií?“ Ovšem závislost mezi součinitelem tření, molekulovou hmotností a koncentrací byla zjištěna pouze u modelů fascií.

6.1 Nativní roztoky HA

Vliv molekulové hmotnosti a koncentrace na součinitel tření je patrný na grafech Obr. 5-7, Obr. 5-8 a Obr. 5-9. Použily se 2 koncentrace nativních roztoků HA – 10 a 20 mg/ml. Byla zaznamenána klesající závislost součinitele tření společně s molekulovou hmotností a koncentrací. Podobný trend je i u viskozitních charakteristik, viz Obr. 5-1, který je potvrzený v těchto studiích [34, 39], kde viskozity klesaly společně s molekulovou hmotností a koncentrací. Rebenda [40], který měřil součinitele tření viskosuplementů v kontaktu hydrogelu a sklem, zjistil u roztoků HA, jenž nejsou síťované, klesající trend součinitele tření v závislosti na klesající viskozitě. Ve srovnání např. se studií [41], kde byly aplikovány kloubní chrupavky, ovšem došlo k opačnému vývoji součinitele tření, nežli v kontaktu modelů fascií. Součinitel tření klesal se stoupající molekulovou hmotností HA při stejné koncentraci. Ve studii [55] byla zaznamenána klesající závislost součinitele tření společně s molekulovou hmotností v kontaktu pin-on-plate, při aplikaci PDMS, kde byla koncentrace nativních roztoků HA stejná.

Při porovnání průměrných hodnot součinitelů tření roztoků HA bylo třeba rovněž sledovat směrodatné odchylky. Tato hodnota zároveň ukazuje „míru“ opakovatelnosti měření. Nejnižších hodnot směrodatné odchylky dosahoval roztok s označením Bonharen (317 kDa; 10 mg/ml) a u dvou kontaktních materiálů ze tří dosahoval nejnižších průměrných hodnot součinitele tření. U kontaktu PDMS 30 Sh – PDMS 30 Sh dosahoval $0,049 \pm 0,000$ a v případě PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh – PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh dokonce nabýval hodnoty $0,025 \pm 0,001$. U dvou kontaktních dvojic, viz Obr. 5-7 a Obr. 5-8, nativní roztok (101 kDa; 20 mg/ml) nabývá podobných hodnot součinitelů tření, které jsou vůči hodnotám Bonharenu téměř zanedbatelné. Zároveň se v 1. sadě ověřila funkčnost držáků modelů fascií, která je zaručena.

Když se využily hydrogely, viz Obr. 5-9, tak se nejnižší součinitel tření ($0,032 \pm 0,000$) zjistil u roztoku 101 kDa při koncentraci 20 mg/ml a Bonharen dosahoval až $0,037 \pm 0,000$. Na základě dobré opakovatelnosti měření a stability byl vybrán Bonharen z 1. sady experimentů pro další sady experimentů.

Tato experimentální měření s nativními roztoky HA prokázaly teorie z oblastí biochemie [30] a medicíny [7, 29, 32], které tvrdily, že pokud bude viskozita vysoká, tak se bude zvyšovat tření mezi vrstvami fascií a bude docházet k vzájemnému ovlivňování těchto vrstev v místě působení bolesti.

6.2 Roztoky derivátů HA

Během aplikace roztoků derivátů se využily kontaktní dvojice, které mají tuhost blízko k tuhostem lidským podkožním tkáním. Použil se nativní roztok HA vybraný z 1. sady experimentů jako referenční roztok. Aplikovala se pouze 1 koncentrační řada – 10 mg/ml. Nebyla zaznamenána určitá závislost mezi trendem součinitele tření a viskozitou derivátů, viz Obr. 5-3 a Obr. 5-11. Pouze u derivátů R, P a Q byl zjištěn stoupající trend součinitele tření vůči viskozitě. Zde hraje důležitou roli během procesů tření i jejich samotné chemické úpravy, modifikace atd. Ve studii [40], ve které se aplikovaly již zmíněné viskosuplementy HA v kontaktu hydrogel vůči sklu, se využily síťované viskosuplementy, kde není úplně vidět přímá závislost mezi součinitelem tření. Takže se účinnost derivátů musela posuzovat vůči referenčnímu roztoku.

Nejnižší průměrné hodnoty součinitele tření z derivátů dosahoval derivát Q, konkrétně $0,126 \pm 0,001$, který dosahoval nejvyšší viskozity z celé koncentrační řady 10 mg/ml, viz Obr. 5-11. Nejvyšší průměrné hodnoty součinitele tření nabýval derivát P, konkrétně $0,188 \pm 0,024$. Ovšem byla získána nižší hodnota součinitele tření u referenčního roztoku (Bonharen) nežli má derivát Q ($0,107 \pm 0,005$). Za toto zvýšení průměrné hodnoty součinitele tření Bonharenu může pravděpodobně tuhost kontaktní dvojice, která zapříčinila větší kontaktní plochu v místě kontaktu pinu s vanou. Pro finální sadu experimentů s reálnými fasciemi se vybral Bonharen a derivát Q o koncentraci 10 mg/ml.

6.3 Fasciální tkáň

V poslední sadě experimentů se aplikovaly vypreparované králičí fascie. Využil se jak PDMS 30 Sh, tak i Phantom 30 Sh. Phantom 30 Sh se použil pouze pro Bonharen, protože bylo velmi obtížné předepínat tento materiál společně s reálnou tkání tak, aby byla fascie rovná a nevlnila se. Uskutečnily se jak klasické experimenty v předchozích sadách, tak i experimenty za účelem zjištění opakovatelnosti při výměně párů fascií a experimenty, jejichž časové průběhy byly delší, viz Obr. 5-13 a Obr. 5-14.

Z hlediska klasických experimentů s využitím modelů svalů PDMS 30 Sh i zde nativní roztok vykazoval nižší průměrnou hodnotu součinitele tření ($0,036 \pm 0,002$) než derivát Q ($0,039 \pm 0,000$), viz Obr. 5-12. Při použití Phantomu 30 Sh byla zjištěna průměrná hodnota součinitele tření nativního roztoku $0,063 \pm 0,001$, což je v porovnání s modelem fascií, který se využil ve 2. sadě experimentů, rapidní rozdíl. Ve srovnání s modelem fascií z 1. sady, kde se využil model svalů PDMS 30 Sh, se nejvíce přiblížil podobných hodnot součinitele tření hydrogel, kde Bonharen dosahuje hodnoty součinitele tření $0,037 \pm 0,000$. Dle porovnání obou průměrných hodnot součinitelů tření hydrogelů a králičích fascií je možné dojít k závěru, že hydrogely mají podobné tribologické vlastnosti jako reálné fascie.

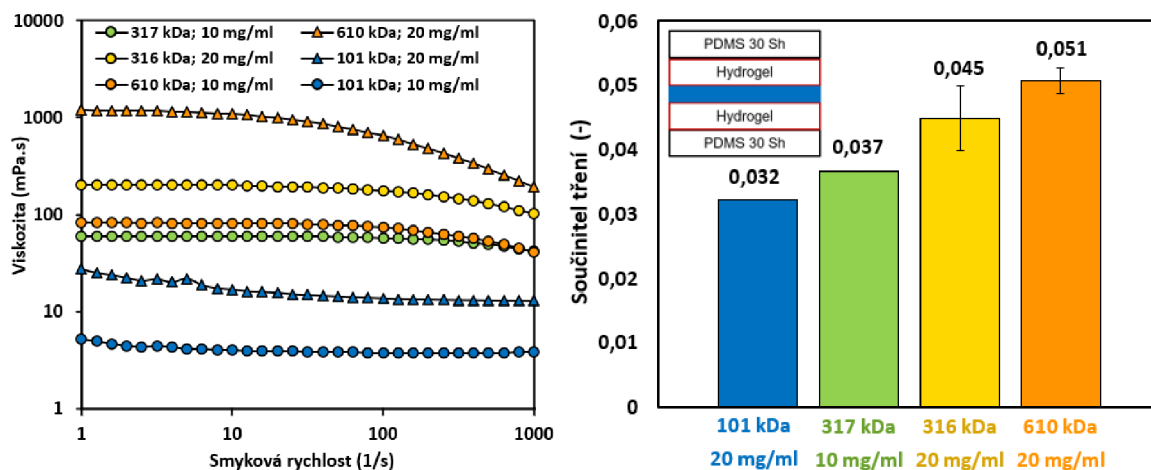
Bylo rovněž důležité uskutečnit experimenty za účelem opakovatelnosti měření při změně párů fascií, viz Obr. 5-14. Důvodem byly studie [39], kde se měnily vývoje součinitelů tření u 4 párů chrupavek a ve všech případech byl jejich vývoj jiný, a studie [44], ve které se využily reálné zubní skloviny a jazyky a měly značné odchylky od průměrných hodnot. Použily se pouze 2 páry fascií kvůli vysoké ceně přípravy fascií na tribologické experimenty. Každý pár se měřil jiný den. U obou párů lze říci, že rozdíl mezi vývoji a průměrnými hodnotami součinitelů tření ($0,037 \pm 0,001$ a $0,039 \pm 0,002$) je zanedbatelný. Na základě výsledků je možné dojít k závěru, že při změně fascií na simulátoru nedojde k velké změně výsledných hodnot.

Nakonec se provedla dlouhodobá měření za účelem zjištění vývoje obou roztoků HA. Na grafu Obr. 5-13 je možné vidět postupný nárůst součinitele tření u derivátu Q po cca 700 s od začátku měření. Oproti derivátu Q se Bonharen choval více konstantně. Lze dojít k závěru, že se derivát v kontaktu vysušoval. Toto zjištění je opačné oproti kůži [42, 43], kde součinitel tření byl nízký, pokud vlhkost byla nízká.

6.4 Zhodnocení roztoků HA

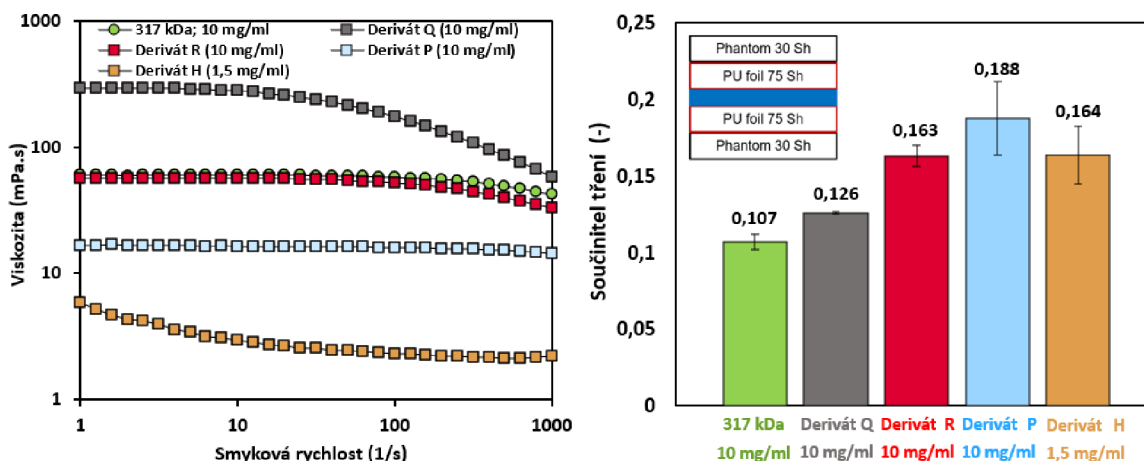
Reologické a tribologické experimenty patřily mezi podstatné části z hlediska projektu pro vývoj léčebného přípravku. Jelikož je složení derivátů utajeno, bylo třeba na základě získaných dat porovnat nejen viskozitní charakteristiky, ale i součinitele tření. Na vědeckou otázku byla shrnuta odpověď v předchozí podkapitole.

Vědecká otázka pracovala s hypotézou, že vývoj součinitele tření bude klesat společně s molekulovou hmotností a koncentrací v kontaktu fascií. Reologická měření viskozitních charakteristik nativních roztoků HA tuto závislost naznačují, ale bylo třeba hypotézu ověřit tribologickými experimenty. Během 1. sady experimentů se hypotéza potvrdila, ale jen pro nativní roztoky HA a modely fascií. Toto se ukázalo především u kontaktu, kde se využily hydrogely. Zároveň hydrogely prokázaly podobnou hodnotu průměrného součinitele tření jako reálné fascie. Z tohoto důvodu je možné pro další biotribologické studie doporučit hydrogely, které by představovaly modely fascií. Ovšem kromě průměrných hodnot součinitelů tření bylo rovněž třeba sledovat i směrodatné odchylky. Z tohoto důvodu bylo nakonec rozhodnuto použít Bonharen pro další sady experimentů. Základním omezením je použitý PDMS 30 Sh, představující model svalů, který má vysokou tuhost oproti podkožním tkáním.



Obr. 6-1 Porovnání reologie a tribologie nativních roztoků HA

Vzhledem k tomu, že jsou známy pouze molekulové hmotnosti a koncentrace derivátů, ale ne složení, tak se součinitele tření posuzovaly s viskozitními charakteristikami. Nebyla zaznamenána určitá závislost mezi trendem součinitele tření a viskozitou derivátů a je možné dojít k závěru, že hypotéza platí pouze pro nativní roztoky HA. I když derivát Q a nativní roztok vykazovaly nejvyšší viskozity při koncentraci 10 mg/ml, tak naopak vykazovaly nejnižší průměrné hodnoty součinitelů tření. Nedostatkem použitých materiálů byla nutnost předepínat model svalu, jelikož je jeho tuhost v řádech jednotek N/mm. Toto předepínání může mít zásadní vliv na vývoj součinitele tření.



Obr. 6-2 Porovnání reologie a tribologie roztoků derivátů HA

Nakonec se účinnost roztoků HA testovala v kontaktu reálných fascií. Na základě poslední experimentální sady je možné dojít k závěru, že pro další vývoj léčebného přípravku bude pravděpodobně rozhodnuto pro Bonharen. Nejen kvůli nízkým hodnotám součinitelů tření mezi modely fascií, ale i mezi reálnými fasciemi. Zároveň i kvůli lepšímu vývoji tření v kontaktu. Dle měření, při kterých se změnila páry fascií, je možné dojít k názoru, že opakovatelnost je zaručena. Ovšem tohle je třeba potvrdit při vyšším počtu párů fascií. Podle této sady experimentů se i potvrdilo, že navržené držáky pro uchycení modelů a reálných fascií splňují svoji funkci. Základním nedostatkem při aplikaci reálných tkáních bylo obtížné předepínání společně s modelem svalu, který má tuhost v řádech jednotek N/mm. Dále to byl nízký počet párů fascií, které byly poskytnuty pro tribologické experimenty.

7 ZÁVĚR

Diplomová práce byla řešena v rámci projektu „Regenerace a lubrikace fascií hyaluronanem“ společnosti Contipro a.s. V práci byly analyzovány reologické a tribologické vlastnosti nativních roztoků kyseliny hyaluronové a jejich derivátů. Hlavním přínosem práce z hlediska pohledu společnosti Contipro a.s je tribologická analýza vybraných roztoků kyseliny hyaluronové, která pomohla s vývojem léčebného přípravku pro léčbu bolesti v dolní části zad. Dalším přínosem je vytvoření tribologického modelu fascií, který umožnil uskutečnit experimentální měření součinitelů tření v kontaktu jak modelů fascií, tak i reálných fascií. Výstupy práce budou sepsány ve formě vědeckého článku.

Část práce, zabývající se reologií, zkoumala viskozitní charakteristiky vzorků nativní kyseliny hyaluronové a její deriváty. Vytvořilo se několik koncentračních řad roztoků. Výsledky viskozity vzorků naznačují u nativních vzorků kyseliny hyaluronové klesající trend viskozity, pokud klesají hodnoty molekulové hmotnosti a koncentrace. Ovšem jestliže se jedná o vzorky derivátů, tak zde hrají i důležitou úlohu i samotné chemické složení roztoků. I zde se objevila klesající závislost viskozitních charakteristik při klesající molekulové hmotnosti a koncentraci.

Tribologická část práce zhodnotila vybrané vzorky nativní kyseliny hyaluronové a její deriváty. Analýza součinitele tření se uskutečnila na vytvořeném tribologickém modelu fascií v konfiguraci pin-on-plate, který nejlépe popisuje vzájemné posuvy fascií vůči sobě. Výsledky poukázaly na klesající závislost součinitele při klesající molekulové hmotnosti a koncentraci především u nativních roztoků kyseliny hyaluronové. Toto nelze říci u roztoků derivátů kyseliny hyaluronové. U třecích procesů hraje velmi podstatnou roli již zmíněné chemické složení. Během tribologických analýz se jejich složení projevilo více nežli u reologických měření. Dle poslední sady tribologických experimentů, kde se aplikovaly reálné fasciální tkáně, se nakonec ukázal jako nejlepší pro vývoj léčebního přípravku nativní roztok Bonharen. Na základě porovnání výsledných průměrných součinitelů tření modelů fascií a králíčích fascií lze tvrdit, že hydrogel nabývá velmi podobných hodnot s porovnáním s králíčími fasciemi.

Tento roztok se prokázal jako nejvhodnější pro další vývoj injekčního přípravku. Výsledky potvrdily nízkou viskozitu, ale i dobré tribologické vlastnosti mezi modely fascií a reálnými fasciemi. Během měření dosahoval velmi nízkých rozptylů průměrných hodnot součinitelů tření a zároveň si dokázal zachovat lepší stabilitu při dlouhodobých měření nežli derivát vybraný pro finální sadu.

Další práce se bude dále soustředit na využití většího množství párů králíčích fascií, aby se mohla zohlednit opakovatelnost. Diplomová práce se zaměřila na analýzy viskozitních charakteristik a součinitelů tření. Ovšem nepojednává o tloušťce a režimech mazacích filmů. Další výzkumy by se mohly zaměřit na určení tloušťky mazacího filmu kyseliny hyaluronové a definování režimů mazání za využití například optických metod jako je fluorescenční mikroskopie. Podle toho bude možné dále zpřesňovat hodnocení roztoků na bázi kyseliny hyaluronové v kontaktu fascií.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ALMEIDA, Shellette D., Charu EAPEN a Shyam KRISHNAN. Association of thoraco-lumbar fascia length in individuals with non-specific low back pain - an observational study. *Journal of Bodywork and Movement Therapies*. 2020, roč. 24, č. 4, s. 581–587. ISSN 1360-8592.
- [2] HARTVIGSEN, Jan, Mark J HANCOCK, Alice KONGSTED, Quinette LOUW, Manuela L FERREIRA, Stéphane GENEVAY, Damian HOY, Jaro KARPPINEN, Glenn PRANSKY, Joachim SIEPER, Rob J SMEETS, Martin UNDERWOOD, Rachelle BUCHBINDER, Jan HARTVIGSEN, Dan CHERKIN, Nadine E FOSTER, Chris G MAHER, Martin UNDERWOOD, Maurits van TULDER, Johannes R ANEMA, Roger CHOU, Stephen P COHEN, Lucíola Menezes COSTA, Peter CROFT, Manuela FERREIRA, Paulo H FERREIRA, Julie M FRITZ, Stéphane GENEVAY, Douglas P GROSS, Mark J HANCOCK, Damian HOY, Jaro KARPPINEN, Bart W KOES, Alice KONGSTED, Quinette LOUW, Birgitta ÖBERG, Wilco C PEUL, Glenn PRANSKY, Mark SCHOENE, Joachim SIEPER, Rob J SMEETS, Judith A TURNER a Anthony WOOLF. What low back pain is and why we need to pay attention. *The Lancet*. 2018, roč. 391, č. 10137, s. 2356–2367 [vid. 13. září 2021]. ISSN 0140-6736.
- [3] ADSTRUM, Sue, Gil HEDLEY, Robert SCHLEIP, Carla STECCO a Can A. YUCESOY. Defining the fascial system. *Journal of Bodywork and Movement Therapies*. 2017, roč. 21, č. 1, s. 173–177. ISSN 15329283.
- [4] STECCO, Carla, Cesare TIENGO, Antonio STECCO, Andrea PORZIONATO, Veronica MACCHI, Robert STERN a Raffaele DE CARO. *Fascia redefined: Anatomical features and technical relevance in fascial flap surgery*. B.m.: Springer. 25. červenec 2013 [vid. 16. březen 2021]. ISSN 09301038. Dostupné z: doi:
- [5] *Introduction to deep fascia by Octopus Physiotherapy - issuu*. [vid. 13. září 2021]. Dostupné z: https://issuu.com/octopusphysiotherapy/docs/introduction_to_deep_fascia
- [6] HURSCHLER, Christof, Ray VANDERBY, Daniel A. MARTINEZ, Arthur C. VAILAS a William D. TURNIPSEED. Mechanical and biochemical analyses of tibial compartment fascia in chronic compartment syndrome. *Annals of Biomedical Engineering*. 1994, roč. 22, č. 3, s. 272–279 [vid. 31. červenec 2021]. ISSN 00906964.
- [7] PAVAN, Piero G., Antonio STECCO, Robert STERN a Carla STECCO. *Painful connections: Densification versus fibrosis of fascia*. B.m.: Current Medicine Group LLC 1. 26. červenec 2014 [vid. 15. březen 2021]. ISSN 15343081. Dostupné z.: doi: Impact Factor - 2,985 Piero G. Pavan - h-index 23 Počet citací - 91
- [8] STECCO, Carla, Caterina FEDE, Veronica MACCHI, Andrea PORZIONATO, Lucia PETRELLI, Carlo BIZ, Robert STERN a Raffaele DE CARO. The fasciocytes: A new cell devoted to fascial gliding regulation. *Clinical Anatomy*. 2018, roč. 31, č. 5, s. 667–676 [vid. 16. březen 2021]. ISSN 10982353.
- [9] BENJAMIN, Mike. *The fascia of the limbs and back - A review*. B.m.: John Wiley & Sons, Ltd. 1. leden 2009 [vid. 16. březen 2021]. ISSN 00218782. Dostupné z: doi:

- [10] *What is fascia.* [vid. 5. září 2021]. Dostupné z: <https://www.lautrevoiemfr.com/what-is-fascia/>
- [11] WANG, Hai-Qiang, Yi-Yong WEI, Zi-Xiang WU a Zhuo-Jing LUO. Impact of leg lengthening on viscoelastic properties of the deep fascia. *BMC Musculoskeletal Disorders* 2009 10:1. 2009, roč. 10, č. 1, s. 1–6 [vid. 31. červenec 2021]. ISSN 1471-2474.
- [12] WILLARD, F. H., A. VLEEMING, M. D. SCHUENKE, L. DANNEELS a R. SCHLEIP. *The thoracolumbar fascia: Anatomy, function and clinical considerations.* B.m.: John Wiley & Sons, Ltd. 1. prosinec 2012 [vid. 16. březen 2021]. ISSN 00218782. Dostupné z: doi:
- [13] KENDALL, Ryan T. a Carol A. FEGHALI-BOSTWICK. Fibroblasts in fibrosis: novel roles and mediators. *Frontiers in Pharmacology.* 2014, roč. 5 [vid. 2. srpen 2021].
- [14] PRATT, Rebecca L. Hyaluronan and the Fascial Frontier. *International Journal of Molecular Sciences* 2021, Vol. 22, Page 6845. 2021, roč. 22, č. 13, s. 6845 [vid. 1. srpen 2021].
- [15] LALL, MP a E RESTREPO. The biopsychosocial model of low back pain and patient-centered outcomes following lumbar fusion. *Orthop Nurs.* 2017, roč. 36, s. 213–221.
- [16] DISEASE, GBD, I INJURY a C PREVALENCE. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet.* 2018, roč. 392, s. 1789–1858.
- [17] NIJS, Jo, Adri APELDOORN, Hank HALLEGRAEFF, Jacqui CLARK, Rob SMEETS, Anneleen MALFLIET, Enrique L GIRBÉS, Margot DE KOONING a Kelly ICKMANS. Comprehensive Review Low Back Pain: Guidelines for the Clinical Classification of Predominant Neuropathic, Nociceptive, or Central Sensitization Pain. nedatováno [vid. 7. srpen 2021]. ISSN 2150-1149.
- [18] KNEZEVIC, Nebojsa Nick, Kenneth D CANDIDO, Johan W S VLAEYEN, Jan Van ZUNDERT a Steven P COHEN. Low back pain. *The Lancet.* 2021, roč. 398, č. 10294, s. 78–92 [vid. 9. září 2021]. ISSN 0140-6736.
- [19] CASATO, Gulia, Carla STECCO a Riccardo BUSIN. Role of fasciae in nonspecific low back pain. *European Journal of Translational Myology.* 2019, roč. 29, č. 3, s. 159–163 [vid. 16. březen 2021]. ISSN 20377460.
- [20] THALHAMER, Christoph. A fundamental critique of the fascial distortion model and its application in clinical practice. *Journal of Bodywork and Movement Therapies.* 2018, roč. 22, č. 1, s. 112–117.
- [21] HONG, J, C REED, D NOVICK a M HAPPICH. Costs associated with treatment of chronic low back pain: an analysis of the UK General Practice Research Database. *Spine.* 2013, roč. 38, s. 75–82.
- [22] SCHOFIELD, DJ, RN SHRESTHA, R PERCIVAL, ME PASSEY, EJ CALLANDER a SJ KELLY. The personal and national costs of early retirement because of spinal disorders: impacts on income, taxes, and government support payments. *Spine J.* 2012, roč. 12, s. 1111–1118.

- [23] KATZ, JN. Lumbar disc disorders and low-back pain: socioeconomic factors and consequences. *J Bone Joint Surg Am.* 2006, roč. 88, s. 21–24.
- [24] C, Couto, de Souza IC, Torres IL, Fregni F a Caumo W. Paraspinal stimulation combined with trigger point needling and needle rotation for the treatment of myofascial pain: a randomized sham-controlled clinical trial. *The Clinical journal of pain.* 2014, roč. 30, č. 3, s. 214–223 [vid. 7. srpen 2021]. ISSN 1536-5409.
- [25] BRUCE, Erika a C-Anr COHN. Myofascial Pain Syndrome EARLY RECOGNITION AND COMPREHENSIVE MANAGEMENT. nedatováno.
- [26] FEDE, Caterina, Carmelo PIRRI, Lucia PETRELLI, Diego GUIDOLIN, Chenglei FAN, Raffaele De CARO a Carla STECCO. Sensitivity of the Fasciae to the Endocannabinoid System: Production of Hyaluronan-Rich Vesicles and Potential Peripheral Effects of Cannabinoids in Fascial Tissue. *International Journal of Molecular Sciences* 2020, Vol. 21, Page 2936. 2020, roč. 21, č. 8, s. 2936 [vid. 7. srpen 2021].
- [27] BRON, Carel a Jan D. DOMMERHOLT. Etiology of myofascial trigger points. *Current Pain and Headache Reports.* 2012, roč. 16, č. 5, s. 439–444 [vid. 16. březen 2021]. ISSN 15313433.
- [28] SCHLEIP, Robert, Giulio GABBIANI, Jan WILKE, Ian NAYLOR, Boris HINZ, Adjo ZORN, Heike JÄGER, Rainer BREUL, Stephanie SCHREINER a Werner KLINGLER. Fascia Is Able to Actively Contract and May Thereby Influence Musculoskeletal Dynamics: A Histochemical and Mechanographic Investigation. *Frontiers in Physiology.* 2019, roč. 0, č. APR, s. 336. ISSN 1664-042X.
- [29] HUGHES, Emmett J., Kena MCDERMOTT a Matthew F. FUNK. Evaluation of hyaluronan content in areas of densification compared to adjacent areas of fascia. *Journal of Bodywork and Movement Therapies.* 2019, roč. 23, č. 2, s. 324–328. ISSN 15329283.
- [30] COWMAN, Mary K., Tannin A. SCHMIDT, Preeti RAGHAVAN a Antonio STECCO. *Viscoelastic Properties of Hyaluronan in Physiological Conditions.* B.m.: F1000 Research Ltd. 25. srpen 2015 [vid. 15. březen 2021]. ISSN 1759796X. Dostupné z.: doi: Impact factor - 2,445 Cowman, Mary K. - h-index 36 Počet citací - 129
- [31] SCHANTÉ, Carole E., Guy ZUBER, Corinne HERLIN a Thierry F. VANDAMME. *Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications.* B.m.: Elsevier. 1. červen 2011. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:
- [32] STECCO, Antonio, Marco GESI, Carla STECCO a Robert STERN. Fascial components of the myofascial pain syndrome topical collection on myofascial pain. *Current Pain and Headache Reports.* 2013, roč. 17, č. 8, s. 1–10 [vid. 15. březen 2021]. ISSN 15343081.
- [33] *Densification versus Fibrosis of Fascia – Fascia & Fitness.* [vid. 5. září 2021]. Dostupné z: <http://www.fascialfitness.net.au/articles/densification-versus-fibrosis-of-fascia/>

- [34] KIM, Jihoon, Ji Youn CHANG, Yoon Young KIM, Moon Jong KIM a Hong Seop KHO. Effects of molecular weight of hyaluronic acid on its viscosity and enzymatic activities of lysozyme and peroxidase. *Archives of Oral Biology*. 2018, roč. 89, s. 55–64. ISSN 18791506.
- [35] *What is Overuse Syndrome? | AlterG*. [vid. 5. září 2021]. Dostupné z: <https://www.alterg.com/treadmill-training-rehab/athletics/what-is-overuse-syndrome>
- [36] Myofascial pain syndrome - Diagnosis and treatment - Mayo Clinic. *mayoclinic*. [vid. 16. březen 2021]. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/myofascial-pain-syndrome/diagnosis-treatment/drc-20375450>
- [37] KUMAI, Tsukasa, Norihiro SAMOTO, Atsushi HASEGAWA, Hideo NOGUCHI, Atsushi SHIRANITA, Masaharu SHIRAISHI, Satoshi IKEDA, Kazuya SUGIMOTO, Yasuhito TANAKA a Yoshinori TAKAKURA. Short-term efficacy and safety of hyaluronic acid injection for plantar fasciopathy. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy*. 2018, roč. 26, č. 3, s. 903–911 [vid. 2. květen 2021]. ISSN 14337347.
- [38] NEUSTADT, David, Jacques CALDWELL, Mary BELL, John WADE a Joseph GIMBEL. Clinical effects of intraarticular injection of high molecular weight hyaluronan (orthovisc®) in osteoarthritis of the knee: A randomized, controlled, multicenter trial. *Journal of Rheumatology*. 2005, roč. 32, č. 10, s. 1928–1936 [vid. 23. srpen 2021]. ISSN 0315162X.
- [39] REBENDA, David, Martin VRBKA, Pavel ČÍPEK, Evgeniy TOROPITSYN, David NEČAS, Martin PRAVDA a Martin HARTL. On the dependence of rheology of hyaluronic acid solutions and frictional behavior of articular cartilage. *Materials*. 2020, roč. 13, č. 11, s. 2659 [vid. 15. březen 2021]. ISSN 19961944.
- [40] REBENDA, David, Martin VRBKA, David NEČAS, Evgeniy TOROPITSYN, Seido YARIMITSU, Pavel ČÍPEK, Martin PRAVDA a Martin HARTL. Rheological and frictional analysis of viscosupplements towards improved lubrication of human joints. *Tribology International*. 2021, roč. 160, s. 107030. ISSN 0301679X.
- [41] KWIECINSKI, J. J., S. G. DOROSZ, T. E. LUDWIG, S. ABUBACKER, M. K. COWMAN a T. A. SCHMIDT. The effect of molecular weight on hyaluronan's cartilage boundary lubricating ability - alone and in combination with proteoglycan 4. *Osteoarthritis and Cartilage*. 2011, roč. 19, č. 11, s. 1356–1362. ISSN 10634584.
- [42] BOSTAN, L. E., Z. A. TAYLOR, M. J. CARRÉ, S. MACNEIL, S. E. FRANKLIN a R. LEWIS. A comparison of friction behaviour for ex vivo human, tissue engineered and synthetic skin. *Tribology International*. 2016, roč. 103, s. 487–495. ISSN 0301679X.
- [43] DERLER, S. a L. C. GERHARDT. *Tribology of skin: Review and analysis of experimental results for the friction coefficient of human skin*. B.m.: Springer. 29. leden 2012 [vid. 5. květen 2021]. ISSN 10238883. Dostupné z: doi:
- [44] VINKE, Jeroen, Hans J. KAPER, Arjan VISSINK a Prashant K. SHARMA. An ex vivo salivary lubrication system to mimic xerostomic conditions and to predict the lubricating properties of xerostomia relieving agents. *Scientific Reports*. 2018, roč. 8, č. 1, s. 1–10 [vid. 15. březen 2021]. ISSN 20452322.

- [45] TSUI, S., J. TANDY, C. MYANT, M. MASEN a P. M. CANN. Friction measurements with yoghurt in a simulated tongue-palate contact. *Biotribology*. 2016, roč. 8, s. 1–11. ISSN 23525738.
- [46] VAN STEE, Marie Anne, Els DE HOOG a Fred VAN DE VELDE. Oral Parameters Affecting Ex-vivo Tribology. *Biotribology*. 2017, roč. 11, s. 84–91. ISSN 23525738.
- [47] ROMAN, Max, Hans CHAUDHRY, Bruce BUKIET, Antonio STECCO a Thomas W. FINDLEY. Mathematical analysis of the flow of hyaluronic acid around fascia during manual therapy motions. *Journal of the American Osteopathic Association*. 2013, roč. 113, č. 8, s. 600–610. ISSN 00986151.
- [48] LANGEVIN, Helene M., James R. FOX, Cathryn KOPTIUCH, Gary J. BADGER, Ann C. GREENAN- NAUMANN, Nicole A. BOUFFARD, Elisa E. KONOFAGOU, Wei Ning LEE, John J. TRIANO a Sharon M. HENRY. Reduced thoracolumbar fascia shear strain in human chronic low back pain. *BMC Musculoskeletal Disorders*. 2011, roč. 12, č. 1, s. 203 [vid. 16. března 2021]. ISSN 14712474.
- [49] VICTOR, Andrews, João RIBEIRO a Fernando F. ARAÚJO. Study of PDMS characterization and its applications in biomedicine: A review. *Journal of Mechanical Engineering and Biomechanics*. 2019, roč. 4, č. 1, s. 1–9 [vid. 5. února 2022].
- [50] SHIN, Byung Ho, Byung Hwi KIM, Sujin KIM, Kangwon LEE, Young Bin CHOY a Chan Yeong HEO. *Silicone breast implant modification review: Overcoming capsular contracture*. B.m.: BioMed Central Ltd. 20. prosinec 2018 [vid. 20. února 2022]. ISSN 20557124. Dostupné z: doi:
- [51] *Waters Drives Materials Sciences Innovation Forward at Pittcon 2020 with New Instrument Introductions | Business Wire*. [vid. 18. února 2022]. Dostupné z: <https://www.businesswire.com/news/home/20200302005179/en/Waters-Drives-Materials-Sciences-Innovation-Forward-at-Pittcon-2020-with-New-Instrument-Introductions>
- [52] BRUKER. UMT TriboLab Mechanical Tester and Tribometer Innovation with Integrity. nedatováno.
- [53] *UMT TriboLab | Bruker*. [vid. 23. ledna 2022]. Dostupné z: <https://www.bruker.com/pt/products-and-solutions/test-and-measurement/tribometers-and-mechanical-testers/umt-tribolab.html>
- [54] *Standard Deviation - Formula, Definition, Methods, Examples*. [vid. 3. února 2022]. Dostupné z: <https://www.cuemath.com/data/standard-deviation/>
- [55] ČERNOHLÁVEK, Mikuláš, Martina BRANDEJSOVÁ, Petr ŠTĚPÁN, Hana VAGNEROVÁ, Martina HERMANNOVÁ, Kateřina KOPECKÁ, Jaromír KULHÁNEK, David NEČAS, Martin VRBKA, Vladimír VELEBNÝ a Gloria HUERTA-ANGELES. Insight into the lubrication and adhesion properties of hyaluronan for ocular drug delivery. *Biomolecules*. 2021, roč. 11, č. 10 [vid. 10. květen 2022]. ISSN 2218273X.

9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK, SYMBOLŮ A VELIČIN

<i>ECM</i>	extracellular matrix
<i>HA</i>	hyaluronic acid
<i>PBS</i>	fosfátový pufr
<i>PDMS</i>	polydimethylsiloxan
<i>PRG</i>	proteoglykan
<i>PU</i>	polyuretan
<i>PVA</i>	polyvinylalkohol
<i>TrP</i>	myofascial trigger points
<i>VS</i>	viskosuplement
F_n	normálová síla
F_t	třecí síla
v	rychlost

10 SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ

Obr. 1-1 Vývoj bolesti zad v čase [2]	15
Obr. 2-1 PRISMA diagram.....	18
Obr. 2-2 a-c) struktura podkožních tkání končetiny a d-f) struktura podkožních tkání trupu těla [4]	19
Obr. 2-3 Druhy hluboké fascie [5].....	20
Obr. 2-4 Vlákná fasciální tkáň [10].....	21
Obr. 2-5 Složení podkožních tkání [14]	22
Obr. 2-6 Thorakolumbární fascie [20]	23
Obr. 2-7 Příčiny bolesti zad [18]	23
Obr. 2-8 a) Zdravá fascie; b) Densifikace fascie [7]	24
Obr. 2-9 Složení HA v ECM fascie [14]	25
Obr. 2-10 a) Vrstvy fascií s nezávislým přenosem sil; b) vrstvy fascií s bodem densifikace [7]	26
Obr. 2-11 Densifikace (vlevo) a fibróza (vpravo) [33].....	26
Obr. 2-12 Vliv koncentrace HA a smykové rychlosti na viskozitu při molekulové hmotnosti a) 100 kDa; b) 1 MDa [34].....	27
Obr. 2-13 Aplikace injekčního přípravku [37]	28
Obr. 2-14 Podmínky pro vytvoření tribologického modelu	30
Obr. 2-15 Výsledky měření součinitelů tření jednotlivých vzorků kloubních chrupavek..	31
Obr. 2-16 Výsledek měření součinitele tření mezi sklem a PVA hydrogelem.....	32
Obr. 2-17 Tribologické měření	33
Obr. 2-18 Graf součinitelů tření viskosuplementů a směsí	34
Obr. 2-19 Simulátor pin-on-disc	35
Obr. 2-20 Vývoj součinitele tření na molekulové hmotnosti HA, a) statický b) kinematický	35
Obr. 2-21 Simulátor pin-on-plate	36
Obr. 2-22 Graf závislosti vlhkosti na součinitel tření	37
Obr. 2-23 Interakce důležitých faktorů ovlivňující tření lidské kůže.....	38
Obr. 2-24 Kontaktní dvojice; a) prasečí jazyk, b) sklovina, c), d) PDMS.....	39

Obr. 2-25 Průběh experimentálního měření.....	39
Obr. 2-26 Výsledky měření pro dvojici jazyk-sklovina a PDMS-PDMS.....	40
Obr. 2-27 Simulátor ball-on-plate	40
Obr. 2-28 Výsledky měření součinitelů tření pro hydrofobní povrch (levý) a hydrofilní povrch (vpravo)	41
Obr. 2-29 Typy recipročních pohybů: lineární a elipsový	42
Obr. 2-30 Výsledky hodnot měření součinitele tření pro lineární reciproční pohyb.....	43
Obr. 2-31 Výsledky hodnot měření součinitele tření pro eliptický reciproční pohyb	43
Obr. 2-32 Teorie mazání stlačitelným filmem, a) statický stav; b) v pohybu	45
Obr. 2-33 Rozložení tlaku během konstantního pohybu při rychlosti 0,1 m/s.....	45
Obr. 2-34 Rozložení tlaku při frekvenci 2 Hz	46
Obr. 2-35 Rozložení tlaku tangenciální oscilaci 4 Hz	46
Obr. 2-36 Poloha ultrazvukové sondy.....	47
Obr. 2-37 Pohyby jednotlivých vrstev podkožních tkání.....	48
Obr. 2-38 Vliv viskozity na koncentraci	49
Obr. 2-39 Rheologické měření.....	51
Obr. 2-40 a) Vývoj viskozit v závislosti na smykové rychlosti; b) vývoj modulu pružnosti ve smyku a viskozity v závislosti na frekvenci	51
Obr. 2-41 Rheologická měření.....	52
Obr. 2-42 Vliv viskozity na smykové rychlosti.....	53
Obr. 2-43 Vliv koncentrace HA a smykové rychlosti na viskozitu při molekulové hmotnosti a) 10 kDa; b) 100 kDa; c) 1 MDa; d) 2 MDa.....	55
Obr. 2-44 Přehled různých povrchových úprav PDMS [50]	56
Obr. 4-1 Schéma experimentů – měření viskozity a součinitele tření	62
Obr. 4-2 Plán experimentů diplomové práce	63
Obr. 4-3 Reometr Discovery HR 30 [51]	64
Obr. 4-4 Tribometru Bruker UMT TriboLab [53]	64
Obr. 4-5 Konfigurace cone-on-plate	68
Obr. 4-6 3D model sestavy vany a pinu	70
Obr. 4-7 Řez konstrukce vany a pinu.....	70
Obr. 4-8 a) Pevný držák; b) Pohyblivý držák.....	71

Obr. 4-9 a) Pin s poloměrem R30; b) Pin s poloměrem R50	71
Obr. 4-10 Tribologické měření pin-on-plate	72
Obr. 4-11 Materiálové kontaktní dvojice jednotlivých sad	72
Obr. 4-12 Směrodatná odchylka [54].....	73
Obr. 5-1 Viskozitní charakteristika sterilních vzorků nativních roztoků HA – koncentrace 20 a 10 mg/ml.....	74
Obr. 5-2 Viskozitní charakteristika sterilních vzorků roztoků derivátů HA – koncentrace 20 a 3 mg/ml	75
Obr. 5-3 Viskozitní charakteristika sterilních vzorků roztoků derivátů HA – koncentrace 10 a 1,5 mg/ml	76
Obr. 5-4 Viskozitní charakteristika sterilních vzorků roztoků derivátů HA – koncentrace 5 a 0,75 mg/ml	76
Obr. 5-5 Vliv zatěžující síly na součinitel tření – materiálová kontaktní dvojice s větší tuhostí (vlevo) a menší tuhostí (vpravo).....	78
Obr. 5-6 Vliv délky dráhy pohybu na součinitel tření	78
Obr. 5-7 Průměrné hodnoty součinitelů tření PDMS 30 Sh – PDMS 30 Sh.....	79
Obr. 5-8 Průměrné hodnoty součinitelů tření PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh - PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh.....	80
Obr. 5-9 Průměrné hodnoty součinitelů tření PDMS 30 Sh a hydrogel – PDMS 30 Sh a hydrogel.....	80
Obr. 5-10 Průměrné hodnoty součinitelů tření PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh - PDMS 30 Sh a PU foil 75 Sh	81
Obr. 5-11 Průměrné hodnoty součinitelů tření Phantom 30 Sh a PU foil 75 Sh - Phantom 30 Sh a PU foil 75 Sh	82
Obr. 5-12 Průměrné hodnoty součinitelů tření v kontaktu reálných fascií	83
Obr. 5-13 Průběhy dlouhodobých měření součinitelů tření v kontaktu reálných fascií.....	84
Obr. 5-14 Opakovatelnost experimentů při změně párů fascií.....	84
Obr. 6-1 Porovnání reologie a tribologie nativních roztoků HA.....	88
Obr. 6-2 Porovnání reologie a tribologie roztoků derivátů HA	89

11 SEZNAM TABULEK

Tab. 2-1 Vybrané produkty pro experimentální měření	32
Tab. 2-2 Vybrané vzorky produktů viskosuplementů	53
Tab. 2-3 Podmínky experimentálních měření	58
Tab. 4-1 Nativní roztoky HA – reologie	65
Tab. 4-2 Roztoky derivátů HA - reologie.....	65
Tab. 4-3 Nativní roztoky HA - tribologie.....	66
Tab. 4-4 Roztoky derivátů HA - tribologie.....	66
Tab. 4-5 Podmínky experimentálních měření viskozit.....	66
Tab. 4-6 Podmínky experimentálních měření součinitele tření	67
Tab. 4-7 Použité lékařské silikony a PU	69

12 SEZNAM PŘÍLOH

Výkresy:

Vana – V - 11/00

Vnější vana – V - 11/10

Vnitřní vana – V - 11/20

Držák fascie pevný – V - 11/30

Držák fascie posuvný – V - 11/40

Pin fascie – V - 12/00

Pin 30 – V - 12/10

Příložka pin – V - 12/20

Pin 50 - 1 – V – 13/10

Příložka 2 – V - 13/20

Pin 50 - 2 – V - 14/10

Pin 50 - 3 – V - 15/10

Pin 50 - 4 – V - 16/10

Příložka 5 – V - 16/20

Grafy:

1. sada experimentů