



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

## ÚSTAV KONSTRUOVÁNÍ

INSTITUTE OF MACHINE AND INDUSTRIAL DESIGN

## VLIV PROTEINŮ NA TŘENÍ UMĚLÉ KLOUBNÍ CHRUPAVKY

THE EFFECT OF PROTEINS ON FRICTION OF ARTIFICIAL ARTICULAR CARTILAGE

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

### AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Tomáš Plachý

### VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. David Rebenda

BRNO 2020



# Zadání bakalářské práce

Ústav: Ústav konstruování  
Student: **Tomáš Plachý**  
Studijní program: Strojírenství  
Studijní obor: Základy strojního inženýrství  
Vedoucí práce: **Ing. David Rebenda**  
Akademický rok: 2019/20

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

## Vliv proteinů na tření umělé kloubní chrupavky

### Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Kloubní chrupavka je schopna za běžných podmínek zajistit pohyb lidských kloubů s velmi nízkým součinitelem tření. Jedním z parametrů, které mohou zásadně ovlivnit tření v lidských kloubech, je složení synoviální kapaliny, která v kloubech plní funkci maziva. Synoviální kapalina je komplexní roztok obsahující proteiny, fosfolipidy a kyselinu hyaluronovou. Vliv jednotlivých složek kapaliny na vývoj součinitele tření umělé chrupavky však nebyl doposud dostatečně popsán.

Typ práce: výzkumná

### **Cíle bakalářské práce:**

Hlavním cílem práce je objasnit vliv proteinů na tření umělé kloubní chrupavky. Pomocí tribometru pin-on-plate bude realizována sada experimentů zaměřená na vliv koncentrace albuminu a  $\gamma$ -globulinu na součinitel tření.

Dílčí cíle bakalářské práce:

- zmapovat aktuální vědecké studie zabývající se danou problematikou,
- navrhnout parametry experimentů a koncentrace proteinů v mazacích kapalinách s ohledem na podmínky v lidských kloubech,
- navrhnou přípravek pro upnutí vzorku umělé chrupavky do zátěžného mechanismu testovacího zařízení,
- experimentálně popsat vliv proteinů na součinitel tření,
- analyzovat naměřené hodnoty součinitele tření v závislosti na koncentraci proteinů a kinematických podmínkách.

Požadované výstupy: průvodní zpráva.

Rozsah práce: cca 27 000 znaků (15 – 20 stran textu bez obrázků).

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

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

### **Seznam doporučené literatury:**

MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Kazuhiro NAKASHIMA, Nobuo SAKAI, Tetsuo YAMAGUCHI, Yoshinori SAWAE a Atsushi SUZUKI. Biphasic and boundary lubrication mechanisms in artificial hydrogel cartilage: A review. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine. 2015, 229(12), 864-878. DOI: 10.1177/0954411915611160. ISSN 0954-4119.

KATTA, Jayanth K., Michele MARCOLONGO, Anthony LOWMAN a Kevin A. MANSMANN. Friction and wear behavior of poly(vinyl alcohol)/poly(vinyl pyrrolidone) hydrogels for articular cartilage replacement. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2007, 83A(2), 471-479. DOI: 10.1002/jbm.a.31238. ISSN 15493296.

LI, Feng, Gang ZHANG, Anmin WANG a Feng GUO. The Effects of Surface Mechanical Deformation and Bovine Serum Albumin on the Tribological Properties of Polyvinyl Alcohol Hydrogel as an Artificial Cartilage. Advances in Materials Science and Engineering. 2017, 2017, 1-9. DOI: 10.1155/2017/4502904. ISSN 1687-8434.

NAKASHIMA, Kazuhiro, Yoshinori SAWAE a Teruo MURAKAMI. Effect of conformational changes and differences of proteins on frictional properties of poly(vinyl alcohol) hydrogel. Tribology International. 2007, 40(10-12), 1423-1427. DOI: 10.1016/j.triboint.2007.02.010. ISSN 0301679X.

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

V Brně, dne

L. S.

---

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

---

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



## ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá vlivem složení synoviální kapaliny na součinitel tření umělé kloubní chrupavky. V práci je pozorován vliv koncentrace proteinů a jejich kombinací s ostatními složkami synoviální kapaliny na součinitel tření CD hydrogelu simulující umělou chrupavku. Veškeré experimenty byly prováděny při konstantním zatížení 10 N, rychlosti 10 mm/s, teplotě 37°C. Při experimentech, kde se zkoumal vliv kombinace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů spolu s proteiny, byly použity koncentrace odpovídající zdravému jedinci. V experimentech kde se zkoumal vliv samotných proteinů a jejich vlastních kombinací byly použity koncentrace odpovídající jak zdravému jedinci tak pacientům s pokročilou osteoartrózou nebo pacientů s aseptickým uvolněním náhrady. V práci je prokázáno, že při použití samotných proteinů, nebo jejich vzájemné kombinaci dochází s rostoucí koncentrací ke snižování koeficientu tření. Avšak přidá-li se k proteinu samotná kyselina hyaluronová, nebo samotné fosfolipidy dojde ke zvýšení koeficientu tření. K opětovnému snížení dojde až po přidání kombinace kyseliny a fosfolipidu.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Umělá Chrupavka, Tření, Protein, Tribologie

## ABSTRAKT

This bachelor thesis deals with the influence of the composition of synovial fluid on the coefficient of friction of artificial cartilage.

The effect of protein concentration and their combination with other components of synovial fluid on the coefficient of friction of CD hydrogels simulating artificial cartilage is observed. All experiments were performed at a constant load of 10 N, speed 10 mm / s, temperature 37 ° C. In experiments investigating the effect of a combination of hyaluronic acid and phospholipids together with proteins, concentrations corresponding to a healthy individual were used. In experiments where the effect of the proteins themselves and their own combinations was investigated, concentrations corresponding to both a healthy individual and patients with advanced osteoarthritis or patients with aseptic release of the prosthesis were used. The work shows that when using the proteins alone, or their combination, there is a decrease in concentration of friction coefficient with increasing concentration. However, if hyaluronic acid alone or phospholipids alone is added to the protein, the coefficient of friction increases. The reduction occurs only after the addition of the combination of acid and phospholipid.

## KEYWORDS

Artificial cartilage, Friction, Protein, Tribology





## BIBLIOGRAFICKÁ CITACE

PLACHÝ, Tomáš. *Vliv proteinů na tření umělé kloubní chrupavky* [online]. Brno, 2020. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/124494>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, Ústav konstruování. Vedoucí práce David Rebenda.

## PODĚKOVÁNÍ

Rád bych tímto poděkoval panu Ing. Davidu Rebendovi za jeho odborné vedení a cenné rady, které umožnily vznik této bakalářské práce. Rovněž bych chtěl poděkovat své rodině a přátelům, za jejich neochvějnou podporu během celého studia.

## PROHLÁŠENÍ AUTORA O PŮVODNOSTI PRÁCE

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

.....

Tomáš Plachý

# OBSAH

<b>1 ÚVOD.....</b>	<b>13</b>
<b>2 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ.....</b>	<b>14</b>
2.1 Synoviální kloub.....	14
2.1.1 Druhy synoviálního kloubu.....	15
2.2 Složení synoviálního kloubu.....	15
2.2.1 Hyalinní Chrupavka.....	15
2.2.2 Synoviální kapalina.....	16
2.2.3 Synoviální membrána.....	16
2.2.4 Vazivové pouzdro.....	16
2.3 Hydrogel.....	17
2.3.1 PVA hydrogelem.....	17
2.4 Přehled studií.....	18
<b>3 ANALÝZA PROBLÉMU A CÍL PRÁCE.....</b>	<b>26</b>
3.1 Cíl práce.....	27
<b>4 MATERIÁL A METODY.....</b>	<b>28</b>
4.1 Měřicí zařízení.....	28
4.2 Příprava a upevnění hydrogelu.....	29
4.3 Použité testovací kapaliny.....	30
4.4 Postup a parametry experimentu.....	32
4.5 Zpracování dat.....	33
<b>5 VÝSLEDKY.....</b>	<b>36</b>
5.1 Synoviální kapalina s čistými proteiny.....	36
5.2 Synoviální kapalina s proteiny a kyselinou hyaluronovou.....	39
5.3 Synoviální kapalina s proteiny a fosfolipidy.....	40
5.4 Synoviální kapalina s proteiny, kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy.....	41
<b>6 DISKUZE.....</b>	<b>42</b>
6.1 Vliv koncentrace proteinů.....	42
6.2 Vliv dalších složek synoviální kapaliny.....	42
<b>7 ZÁVĚR.....</b>	<b>43</b>
<b>8 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....</b>	<b>44</b>

<b>9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK, SYMBOLŮ A VELIČIN.....</b>	<b>47</b>
<b>10 SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ.....</b>	<b>48</b>
<b>11 SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>49</b>

# 1 ÚVOD

Lidské klouby vlivem nejrůznějších nemocí jako je artróza, artritida, osteoporóza a mnoho dalších, ztrácejí svou schopnost přenášet pohyb s velmi nízkým koeficientem tření, a tak zajišťovat plynulý a bezbolestný pohyb. Tyto nemoci a omezení jimi způsobené mohou následně vést až k nutnosti postižený kloub odstranit a nahradit pomocí kloubních implantátů. Lidé se dožívají stále vyššího věku a jsou v tomto věku stále aktivnější, což nevyhnutelně vede k zvýšení počtu postižených kloubů a tedy k většímu počtu nutných operací.

Bohužel i kloubní náhrady mají omezenou životnost a časem ztrácejí své vlastnosti díky kterým byly zvoleny jako vhodná náhrada za postižené klouby. Vlivem opotřebení může docházet k uvolňování částic z kloubní náhrady a vyplavování těchto částic do lidského organismu, což může vést k řadě vážných komplikací. Těmto problémům je třeba předcházet, a proto je nutné náhradu vyměnit. Umělé klouby mohou dosahovat životnosti až dvaceti let, tato životnost je ale ovlivněna životním stylem jejího nositele a to zejména pohybovou aktivitou, a hmotností daného jedince. V extrémních případech je nutné vyměnit implantát již za pět let. Lidské tělo ovšem opakující se zákroky snáší stále hůře a není tedy možné tyto zákroky opakovat do nekonečna.

Kloubní chrupavka díky svým jedinečným vlastnostem a to především velmi nízkému součiniteli tření je jednou z hlavních aspektů umožňující plynulý pohyb. Tato její vlastnost a vlivy díky kterým ji získává je předmětem práce mnoha výzkumných týmů. S tím jak stále více chápeme princip fungování a vlastnosti přírodní chrupavky, dochází k zaměření výzkumu na umělou replikaci této chrupavky ale z umělých materiálů, které zachovají její příznivé vlastnosti, ale zároveň nebudou podléhat tak rychle zkáze jakou aktuálně používané kloubní náhrady. Další snahou je vývoj léčiv, které když už neodstraní nutnost operace tak ji alespoň oddálí. Tyto výzkumné práce mohou vést k novým postupům, při kterých bude místo zavedení endoprotézy pouze odstraněna poškozená chrupavka a nahrazena její umělou náhradou z hydrogelu.

Díky snaze snížit invazivnost zákroků se vývoj zaměřuje na umělé chrupavky. Díky nim nebude nutné nahrazovat celý poškozený kloub včetně části kosti, ale dojde pouze k odstranění postižené chrupavky a její náhradu za novou umělou. Tato procedura bude pro tělo menší zátěží a umožní rychlejší návrat do života. V současné době se zkoumá využití různých materiálů jako kevlar, různé typy hydrogelu jako PVA, PVP, CD a další materiály. V této práci bude při všech měřeních použit hydrogel typu CD.

## 2 PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU POZNÁNÍ

V lidském těle je nezbytné, aby kosti byly spojeny pevně, ale současně byl umožněn jejich pohyb vůči sobě navzájem. Těmto požadavkům je schopen vyhovět kloub. U člověka můžeme najít dva hlavní druhy kloubů a to pevný vazivový a pohyblivý synoviální [1].

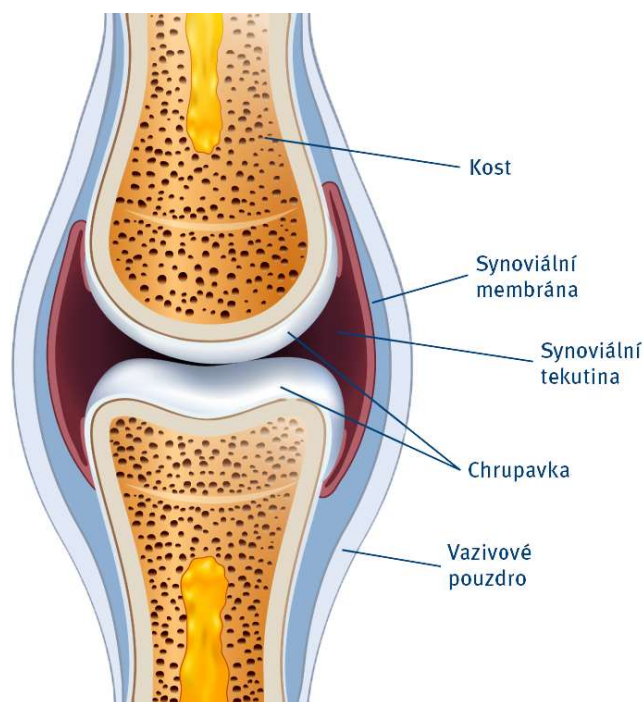
### 2.1 Synoviální kloub

Synoviální kloub můžeme dále dělit podle typu pohybu, který vykonává [1].

- Kladekový kloub (koleno)
- Kluzný kloub (obratle)
- Čepový kloub (krk)

Synoviální kloub se tvoří z mnoha částí, ale tohle jsou jeho hlavní části (Obr 2-1):

- Hyalinní chrupavka
- Synoviální membrána
- Vazy
- Kloubní pouzdro



Obrázek 2-1: Schéma synoviálního kloubu [8]

## 2.1.1 Druhy synoviálního kloubu

Kladkový synoviální kloub můžeme v lidském těle najít v lokti, koleni nebo v prstech. Stavba kladkového kloubu umožňuje provádět ohyb nebo natažení příslušné části těla [1].

Kluzný kloub zajišťuje plynulé klouzání ve všech směrech díky tomu že konce kostí, které tento kloub spojuje jsou ploché a lehce zakřivené. Tento tip kloubu najdeme mezi obratli a také mezi zápěstními kostmi [1].

Čepové klouby díky své stavbě umožňují provádět rotaci kolem čepu. Jako příklad čepového kloubu může sloužit kloub mezi pažní a loketní kostí [1].

## 2.2 Složení synoviálního kloubu

Jak vyplývá z obrázku 2-1 synoviální kloub je značně komplexní součást lidského těla tvořená mnoha částmi. Díky těmto složkám má kloub své charakteristické vlastnosti a může plnit svou biomechanickou funkci [4].

### 2.2.1 Hyalinní Chrupavka

Hyalinní chrupavka je značně složitý, rozložený téměř po celém povrchu kostní hlavice a kopírující její tvar. Tloušťka chrupavky se v různých částech výrazně liší a to od 0,5 do 6 mm. Největší tloušťky dosahuje v místech největšího zatížení tedy v centrech kloubních ploch [1]. Hlavní funkcí chrupavky je rozložení sil, které na kloub působí a snížení jeho tření a opotřebení způsobené pohybem [5].

Bylo zjištěno, že při velkém zatížení chrupavky na tlak dojde k významnému stlačení synoviální kapaliny a také k jejímu vytlačení napovrch [6]. Tento jev se nazývá podpora zatížení tekutinou (fluid load support) a bylo zjištěno že čím je tento jev větší, tím více klesá součinitel tření [7]. Jak bylo prokázáno v práci [10] pomocí tohoto jevu kloubní chrupavka odporuje Amontonovu zákonu.

Hyalinní chrupavka se skládá ze dvou fází pevné a tekuté. Tekutou fází tvoří voda a v ní rozpuštěné ionty [20]. Pevná fáze je tvořena chondrocyty, buňkami tvořící chrupavku, a mezibuněčnou hmotou [3].

Chondrocyty jsou specializované buňky, které mohou být různých tvarů. Tento tvar závisí na jejich poloze v chrupavce. Na jejím povrch jsou tyto buňky plošší a menší, ale hlouběji v chrupavce získávají větší rozměry. Chondrocyty mají velmi nízkou schopnost replikace, což způsobuje omezené hojení při poškození chrupavky[3].

Mezibuněčná hmota je z velké části tvořena kolagenem, který vytváří trojitě spirální polypeptidových řetězců, které zapříčiňují většinu mechanických vlastností chrupavky. Chrupavka v suchém stavu může být tvořena až ze 60 % kolagenem. Chrupavka neobsahuje žádné cévy nebo nervy, proto je vyživována díky osmóze [3].

Chrupavka získává své tribologické vlastnosti zejména díky své dvou fázové struktuře a díky tomu že se v okolí chrupavky nachází zvýšená koncentrace iontů. Tyto dva aspekty způsobují, že do chrupavky je pomocí osmózy vtlačována voda a tím vzroste tlak uvnitř chrupavky. Tento zvýšený tlak způsobuje velké odporové síly, které brání deformaci chrupavky při zatížení. Tato deformace poté ještě více zvýší tlak uvnitř chrupavky. Tento se většina tohoto tlaku přenesou na kapalinu uvnitř chrupavky, což výrazně zlepšuje její tribologické vlastnosti. Pokud je tlak uvnitř chrupavky dostatečně velký dojde k vytlačení kapaliny na povrch, což má za následek další zlepšení třecích vlastností [21].

Kromě chrupavky v synoviálním kloubu existují další typy chrupavky a to elastická, kterou najdeme v hrtanové příklopce, vazivová chrupavka, která tvoří meziobratlové ploténky, a fyseální zajišťující růst kostí [1].

## 2.2.2 Synoviální kapalina

Synoviální kapalina je bezbarvá látka, která získá barvu jen v případě zánětu nebo artrózy. Její objem je ve velkých kloubech odhadována na 2 – 4 ml. Mezi její hlavní úkoly patří zejména napomáhat výživě chrupavky, kde funguje jako médium pro látky sloužící k výživě. Dále slouží jako mazivo snižující tření při pohybu a jak bylo popsáno v práci [7], také snižuje zátěž na kloub díky své stlačitelnosti.

Synoviální kapalina má velmi podobné složení jako krevní plazma a obsahuje také téměř všechny její proteiny. Mezi ty nejdůležitější patří albumin a  $\gamma$ -globulin [9]. Mezi její další složky patří fosfolipidy, které spolu s proteiny vytvářejí lubricin. Dále obsahuje kyselinu hyaluronovou, močovou, mléčnou a glukózu [8].

Tato tekutina je produkována v synoviální membráně.

## 2.2.3 Synoviální membrána

Synoviální membrána vystýlá vnitřek kloubu je přichycena k vnitřní stěně kloubního pouzdra. Hlavním účelem této membrány je produkovat synoviální kapalinu [1].

## 2.2.4 Vazivové pouzdro

Kloubní pouzdro je tvořeno tuhou vazivovou tkání a obepíná celý kloub. Tato tkáň udržuje kosti ve správné poloze a dává celému kloubu tvar. Další důležitou funkcí pouzdra je bránit všem nevhodným pohybům, které by mohli kloub poškodit [2].



## 2.3 Hydrogel

Hydrogely jsou hydrofilní polymerní sítě. Díky svým hydrofilním vlastnostem mohou obsahovat až 90 % vody. Mezi nejběžněji používané polymery na výrobu hydrogelu patří polyvinylalkohol, polyakrylát sodný, a mnoho dalších. Hydrogely mají díky své biokompatibilitě širokou škálu využití, a to zejména v lékařském průmyslu. V lékařství jsou používány v tkáňovém inženýrství, kde se využívá na opravu poškozených tkání. Hydrogely se také využívají na kontaktní čočky. Další uplatnění mohou mít jako implantáty. Toto využití je zkoumáno v této práci, kde je hydrogel využit jako umělá chrupavka [15].

### 2.3.1 PVA hydrogelem

PVA hydrogel je nejčastěji používaným hydrogelem a to zejména díky svým vlastnostem jako je biokompatibilita, jednoduchá odbouratelnost, žádná toxicita. Další jeho předností je pak značná tepelná, chemická a mechanická stabilita.

PVA hydrogel lze připravovat několika různými způsoby

Prvním je fyzikální síťování díky krystalizaci způsobené opakovaným zmrazováním a rozmrazováním. Tento způsob výroby má tu výhodu, že výsledný hydrogel je chemicky čistější, protože nebylo nutné přidávat žádnou chemikálii k zasíťování. Tato jeho chemická čistota je ale vykoupena horšími mechanickými vlastnostmi, protože při opakovaném zahřívání mohou vznikat nenasyčené vazby a také dochází ke štěpení řetězce.

Druhým způsobem je chemické síťování pomocí činidla. Toto činidlo bývá nejčastěji epichlorhydrid, aldehydy, anhydridy a kyselina boritá. Výsledné zasíťování je způsobeno vzájemnou reakcí činidla a hydroxilovými skupinami polyvinylalkoholu. U takto vyrobených hydrogelů můžeme pozorovat lepší mechanické vlastnosti, ale na druhou stranu musíme dávat pozor na jejich toxicitu. Před jejich použitím je tedy nutné odstranit všechny toxické části zachycené v hydrogelu [22].

## 2.4 Přehled studií

[10] KATTA, Jayanth K., Michele MARCOLONGO, Anthony LOWMAN a Kevin A. MANSMANN. Friction and wear behavior of poly(vinyl alcohol)/poly(vinyl pyrrolidone) hydrogels for articular cartilage replacement. Journal of Biomedical Materials Research Part A. 2007, 83A(2), 471-479. DOI: 10.1002/jbm.a.31238. ISSN 15493296.

Tato práce se zabývá měřením koeficientu tření u experimentálního materiálu poly (vinylalkohol) / poly (vinylpyrrolidon) (PVA/PVP) pro náhradu chrupavky. Koeficient tření se u této práce zkoumá v souvislosti se složením materiálu tedy množstvím polymeru v PVA/PVP hydrogelu, dále v závislosti na velikosti zatížení a druhu lubrikantu.

### Příprava:

Testovací vzorky byly připraveny ze směsi (PVA / PVP) ke byl u každého z nich dodržen hmotnostní poměr 99/1. Z této směsi byly vytvořeny vzorky obsahující 10 nebo 15 hmotnostních procent vůči vodě.

Jako lubrikanty bylo použito bovinní sérum a synoviální kapalina z kotníků odebraná do 24 hod po porážce od hovězího dobytka starého 12 až 24 měsíců.

### Experimentální podmínky:

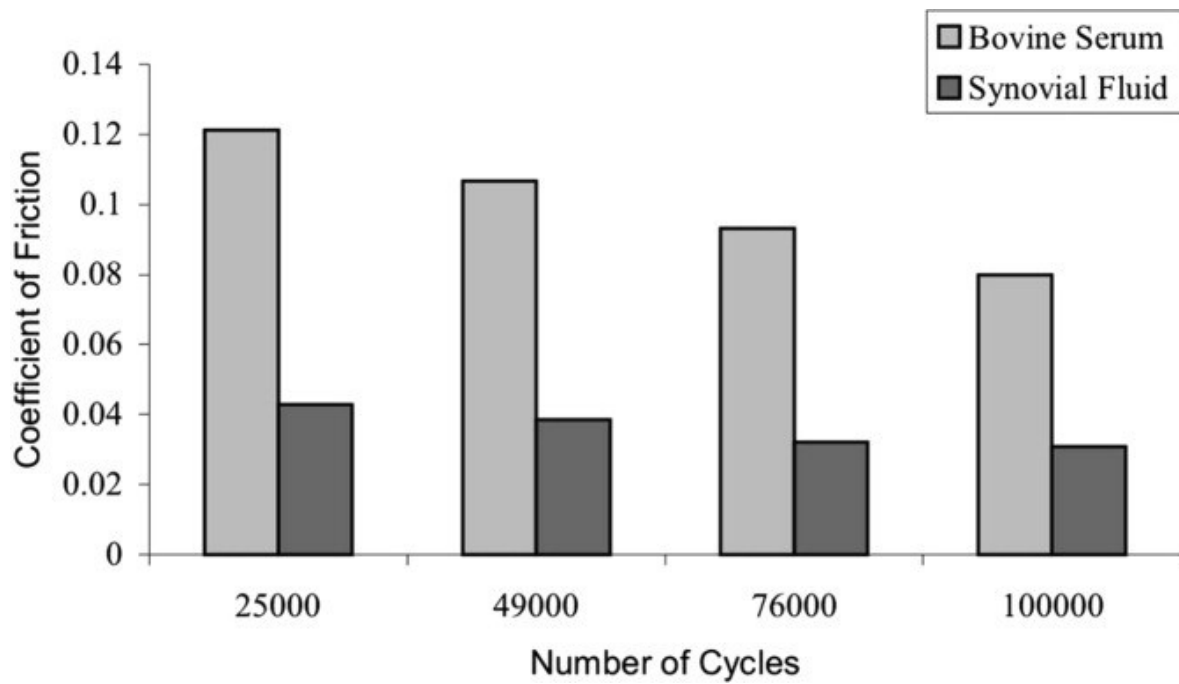
Veškerá měření v této práci jsou provedena na AMTI tribometru konfigurace pin-on-disk, kde kontaktní dvojici tvoří plát hydrogelu a Co-Cr pin.

Teplota byla udržována na  $37^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Každý test trval 100 000 cyklů s frekvencí 1 Hz po dráze s přímým vratným pohybem o délce 30 mm. Zatížení bylo zvoleno 100 N, 125 N a 150 N

### Výsledky:

Na grafu můžeme sledovat vliv na velikost součinitele tření v různých fázích experimentu v závislosti na druhu použitého maziva (Obr 2-2).

Z tohoto grafu je patrné, že synoviální kapalina má výrazně lepší tribologické vlastnosti než bovinní sérum. Tato skutečnost je způsobena tím, že bovinní sérum tvoří převážně albumin. Oproti tomu synoviální kapalina použitá na experimenty obsahuje podle autorů značné množství hyaluronátu sodného a lubricinu. Vzájemná reakce těchto makromolekul spolu s nižší koncentrací proteinů způsobila významný pokles koeficientu tření. Dále můžeme pozorovat, že v průběhu experimentu s přibývajícím cykly koeficient tření stále klesal. Tento jev je způsoben tím, že hydrogel, který sloužil jako podložka, byl celou dobu ponořen v dostatečném množství zkoumané kapaliny a měl tak dostatek prostoru pro hydrataci a zároveň se během experimentu nestačilo dostatečně projevit opotřebení hydrogelu.



Obrázek 2-2: Závislost koeficientu tření na počtu cyklů a druhu kapalin [10]

[11] LI, Feng, Gang ZHANG, Anmin WANG a Feng GUO. The Effects of Surface Mechanical Deformation and Bovine Serum Albumin on the Tribological Properties of Polyvinyl Alcohol Hydrogel as an Artificial Cartilage. *Advances in Materials Science and Engineering*. 2017, 2017, 1-9. DOI: 10.1155/2017/4502904. ISSN 1687-8434.

Tato práce se zaměřuje na zkoumání koeficientu tření a mechanických vlastností PVA hydrogelu. Koeficient tření je zde zkoumán v závislosti na úrovni zatížení, rychlosti pohybu a druhu použitého lubrikantu.

#### Příprava:

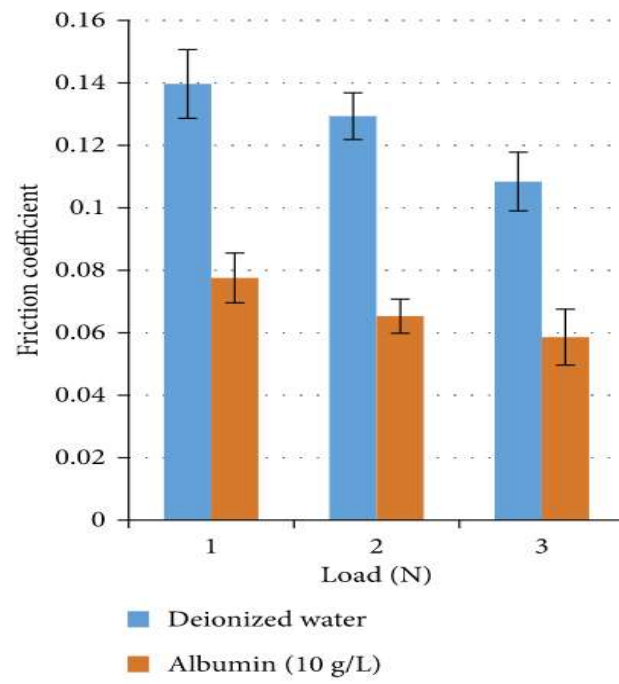
Pomocí metody opakovaného zmrazování byly vytvořeny vzorky PVA hydrogelu, kde podíl tohoto polymeru činil 15% hmot. V tomto experimentu jsou použity a následně porovnávány dva druhy lubrikantu. Prvním je deionizovaná voda a tím druhým je albumin z bovinního séra.

#### Experimentální podmínky:

Koeficient tření je zde měřen pomocí mikro-trobometru UMT-3. Měření probíhá tak, že kulička z nerezové oceli o průměru 4 mm koná lineární pohyb po vzorku hydrogelu, který je přilepen na dno nádoby taktéž z nerezové oceli. Vratná vzdálenost konaného pohybu byla 5 mm. Každý test byl proveden třikrát po dobu 5 minut. Zatížení při experimentech bylo voleno 1 N, 2 N a 3 N. Rychlost byla zvolena 2Hz (20 mm/s).

#### Výsledky:

Při použití albuminu z bovinního séra došlo k výraznému snížení koeficientu tření oproti deionizované vodě a to až o polovinu. Tento jev je patrný při všech úrovních zatížení (obr 2-3). Toto snižování je způsobeno tím, že i když byl použit pouzr samotný albumin, výsledná kapalina lépe napodobovala vlastnosti komplexní synoviální kapaliny. Naopak je zde patrný trend, že i při rostoucím zatížení klesá navzdory předpokladu koeficient tření. Tato práce tedy znovu potvrzuje platnost jevu fluid load support. Snižová



*Obrázek 2-3: vývoj koeficientu tření při různém zatížení [11]*

[16] MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Kazuhiro NAKASHIMA, Tetsuo YAMAGUCHI, Yoshinori SAWAE, Nobuo SAKAI a Atsushi SUZUKI. Superior lubricity in articular cartilage and artificial hydrogel cartilage. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology. 2014, roč. 228, č. 10, s. 1099–1111. ISSN 2041305X.

Tato práce zkoumá součinitel tření modelové umělé chrupavky z PVA hydrogelu. Tření je zkoumáno v závislosti na dráze, kterou modelová chrupavka urazí na tribometru a na druhu použitého maziva.

#### Příprava:

Nejprve byly připraveny experimentální vzorky PVA hydrogelu o rozličných vlastnostech. Tento jev byl způsoben tím, že různé vzorky hydrogelu byly připraveny rozdílnými metodami. Těmito metodami byly cast-drying a freeze-thawing

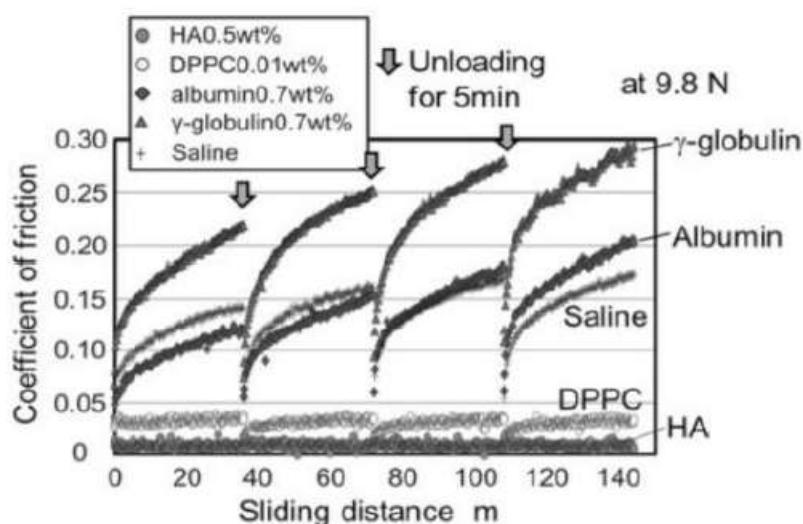
Jako testovací kapaliny byly použity solné roztoky ve kterých byly rozpuštěny jednotlivé složky a to albuminu, globulinu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů

#### Experimentální podmínky:

Veškerá měření v této práci byla provedena na recipročním tribometru. Zatížení byla zvolena na hodnoty 2.94 N a 9.8 N. Rychlost pohybu byla nastavena na 20 mm/s. Všechna měření v této práci se skládala ze čtyř cyklů, přičemž jeden cyklus odpovídal dráze 36 m.

Před každým cyklem byla provedena rehydratace hydrogelu po dobu 5 m

#### Výsledky:



Obrázek 2-4: Koeficient tření v závislosti na dráze a použité kapalině [16]

Jak můžeme vidět na obrázku 2-4 tak roztok s albuminem má výrazně lepší vlastnosti oproti roztoku z globulinem. Avšak při přidání kyseliny hyaluronové a fosfolipidů došlo vlivem jejich reakce s proteiny k výraznému poklesu tření. Tato studie tedy opět potvrzuje, že HA a fosfolipidy mají obrovský vliv na tření.

[17] YARIMITSU, Seido, Kazuhiro NAKASHIMA, Yoshinori SAWAE a Teruo MURAKAMI. Influence of phospholipid and protein constituents on tribological properties of artificial hydrogel cartilage material. Journal of Biomechanical Science and Engineering. 2013, roč. 8, č. 3, s. 257–267. ISSN 18809863.

V této studii je zkoumán vliv fosfolipidů na součinitel tření v kombinaci s dalšími proteiny a to albuminem a  $\gamma$ -globulinem.

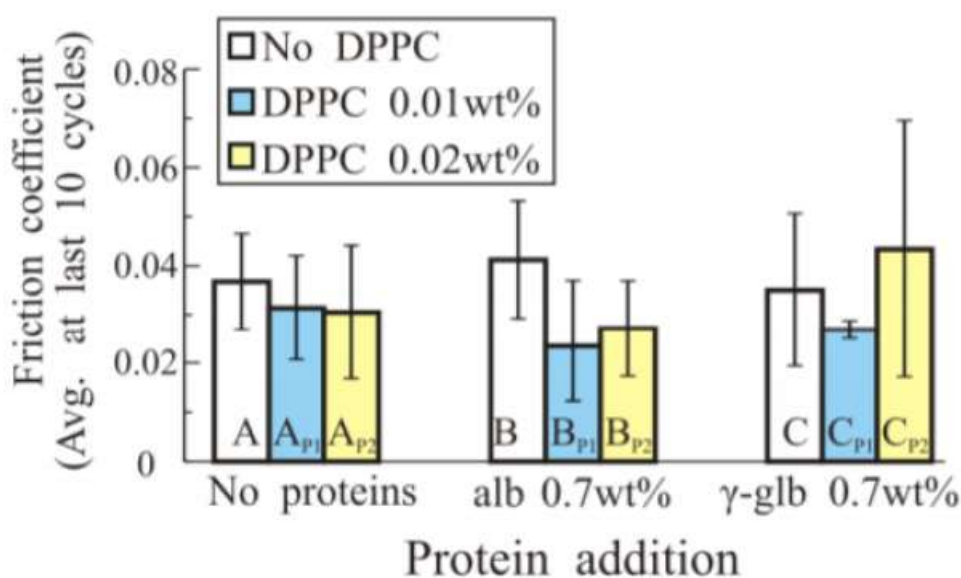
#### Příprava :

Metodou freeze-thaw byl připraven PVA hydrogel. Jako další byly připraveny zkoumané roztoky nejprve se samotnými fosfolipidy o koncentraci 0.01 a 0.02 hm%. Poté byl do těchto před připravených roztoků přidán albumin nebo  $\gamma$ -globulin.

#### Experimentální podmínky:

Veškeré experimenty této práce byly prováděny na recipročním tribometru v systému hydrogel-hydrogel, kde jedna kontaktní plocha byla elipsoid a druhá rovinná plocha. Přítlačná síla byla stanovena na 2.94 N a rychlost na 20 mm/s

#### Výsledky:



Obrázek 2-5: Vliv fosfolipidů na koeficient tření [17]

Tato práce prokázala, že s růstem koncentrace proteinů klesá do určitého bodu i koeficient tření. Ovšem po překročení tohoto bodu dojde opět k nárůstu. Dále bylo prokázáno, že samotné fosfolipidy nestačí na výrazné snížení tření, i když s rostoucí koncentrací tření klesalo, ukázalo se že rozhodující je vzájemná reakce proteinů s dalšími složkami synoviální kapaliny.



[19] NAKASHIMA, Kazuhiro, Yoshinori SAWAE a Teruo MURAKAMI. Effect of conformational changes and differences of proteins on frictional properties of poly(vinyl alcohol) hydrogel, Tribology International, Volume 40, Issues 10–12, 2007, Pages 1423-1427, ISSN 0301-679X, dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301679X07000382>

V této práci je zkoumán vliv střídání lubrikantu na koeficient tření PVA hydrogelu simulující umělou chrupavku

#### Experimentální podmínky:

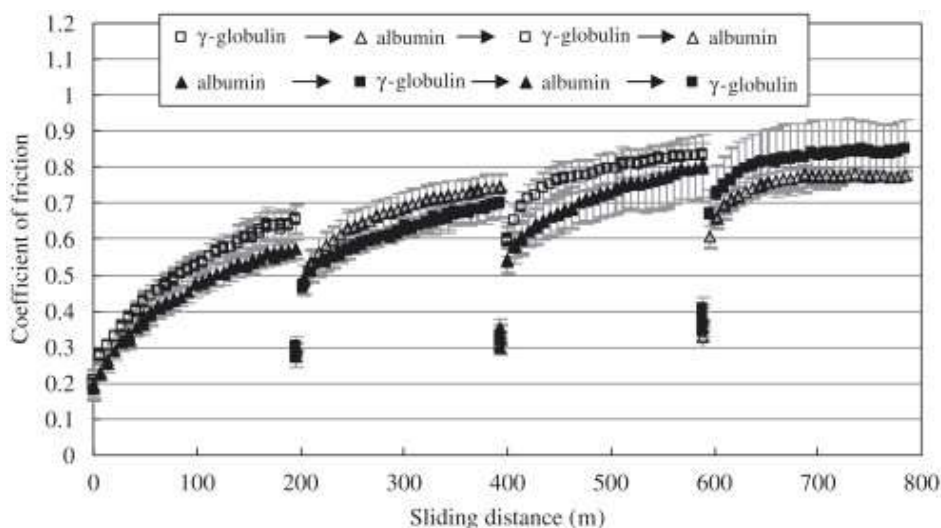
Měření byla prováděna na recipročním tribometru s kontaktní dvojicí hydrogel sklo.

U experimentů prováděných v této práci, byly podmínky zvoleny následovně. Přítlačná síla byla zvolena s ohledem na předchozí práce tohoto týmu na 2.94 N, rychlost posuvu na 20 mm/s a celková vzdálenost při měření na 800 m. Jako maziva byly zvoleny solné roztoky s albuminem, nebo  $\gamma$ -globulinem o koncentraci 0.7 hm%. Tito roztoky budou střídány poté co hydrogel urazí 200 metrů ze své dráhy.

#### Výsledky:

Jak můžeme vidět na obrázku 2-6 hydrogel, který byl nejprve testován v albuminu měl po většinu experimentu lepší tribologické vlastnosti, proto je velmi důležité jaký protein hydrogel jako první absorbuje. Zlom v tomto trendu nastal až při vzdálenosti 600 m. Z tohoto jevu vyplývá, že použití  $\gamma$ -globulinu jako prvního maziva je výhodnější pro delší měření, kdežto albumin je vhodný pro kratší.

Dále bylo prokázáno, že proteiny jsou velmi důležité při tvorbě mezního mazacího filmu. Tento film výrazně prodlužuje životnost testovaného hydrogelu a nedochází k tak rychlému opotřebení a nárůstu tření.



Obrázek 2-6: Vývoj koeficientu tření v závislosti na dráze a střídání lubrikantu [19]

### 3 ANALÝZA PROBLÉMU A CÍL PRÁCE

Mezi nejdůležitější části kloubu patří kloubní chrupavka. Díky jejím vlastnostem je umožněn pohyb a přenos zatížení kloubu při velmi nízkém tření. Z toho důvodu je mnoho výzkumných prací soustředěno na vývoj její umělé náhrady. Tyto studie sledují chování různých materiálů, které by mohli být vhodné jako adekvátní náhrada přírodní chrupavky. Práce, které se zabývají umělou chrupavkou, nejčastěji sledují její tribologické vlastnosti a to tření, opotřebení zkoumaného materiálu. U těchto parametrů je především sledována jejich změna při různých vnějších podmínkách experimentů jako je velikost zatížení na testovaný vzorek, rychlost pohybu, tvar, upevnění a druh použitého maziva k simulaci synoviální kapaliny.

Ve studii [10] byl pozorován vliv komplexní synoviální kapaliny na součinitel tření. Tato komplexní kapalina měla oproti bovinnímu séru výrazně snížený koeficient tření. Tento jev byl pozorován napříč celým experimentem bez ohledu na počet cyklů. Ve studii [11] byl zkoumán vliv albuminu a jeho vlastnosti byly porovnávány s deionizovanou vodou. Albumin dokázal i při nízké koncentraci 10 g/l což odpovídá polovině koncentrace u zdravého jedince výrazně snížit součinitel tření. Tento jev byl pozorován ve všech měření bez ohledu na zatížení. Naopak navzdory předpokladu docházelo k dalšímu snižování koeficientu tření i při zvyšování přítláčné síly. V práci [16] byl zkoumán vliv kyseliny hyaluronové a fosfolipidů na součinitel tření. Byl prokázán trend při kterém po přidání kyseliny nebo fosfolipidů k proteinům dojde k výraznému snížení koeficientu tření. Tento trend byl pozorován napříč celým experimentem bez ohledu a uraženou vzdálenost. Práce [17] se zabývá vlivem kombinace fosfolipidů a proteinů na koeficient tření. V této práci bylo prokázáno, že při nízké koncentraci fosfolipidů dojde při kombinaci s proteiny k poklesu součinitele tření. Jak můžeme vidět ve studii [19] značný vliv má také správná kombinace použitých maziv, pokud některý hydrogel testujeme vícekrát s různou modelovou kapalinou.

Po analýze odborných prací vyplynulo, že bude nutné stanovit fyzikální podmínky experimentu, jako rychlost, přítláčná síla, dráha pohybu a teplota. Všechny práce v rešerši prováděly měření při 37 °C, aby napodobily parametry lidského těla. Z toho důvodu budou také veškerá měření provedena při 37 °C. Dále bylo nutné stanovit dráhu pohybu. Dráha byla zvolena především s ohledem na tribometr a to z důvodu jeho bezpečnosti na 20 mm. Všechny práce prováděly před samotným měřením hydrataci hydrogelu bez zatížení. Z toho důvodu bude i v této práci před každým měřením provedena hydratace hydrogelu. Všechny práce prováděly jedno měření opakovaně a data z těchto měření porovnávaly, aby získali potřebné hodnoty koeficientu tření. Proto i v této práci budou všechna měření provedena třikrát a jejich výsledky společně zpracovány. Většina studií prováděla měření s rychlostí 20 mm/s. Tato rychlost ale značně poškozuje hydrogel a nebylo by tedy možné měření opakovat, proto bude rychlost zde popsáných měření snížena na polovinu (10 mm/s). Zatížení bylo v rešerši voleno s velkým rozptylem a to od 1 N do 150 N. Zatížení v této práci musí zohlednit možnosti tribometru, který má maximální zatížení 50 N. Dále musí napodobovat skutečný kloub a umožnit měření bez velkého poškození hydrogelu, proto bylo zvoleno zatížení 10 N

Odporné studie zpracované v rešerši prokázaly, že vliv na koeficient tření nemá jen koncentrace proteinů, ale i jejich kombinace s ostatními složkami synoviální kapaliny. Proto bude nutné měření rozdělit na dvě části. V první bude zkoumán vliv koncentrace samotných proteinů a ve druhé vliv vzájemné interakce mezi proteiny a dalšími složkami synoviální kapaliny.

Všechny výše zmíněné studie pracují s PVA hydrogelem, a zkoumají vliv různých složek synoviální kapaliny na tření tohoto hydrogelu. Proto aby tato práce mohla být přínosem, je tedy nutné zvolit jiný typ hydrogelu. Z tohoto důvodu byl zvolen hydrogel CD.

### 3.1 Cíl práce

Z rešerše vyplynulo, že výzkum v oblastech lidských kloubů, chrupavek přírodních, nebo umělých je značně frekventované téma. K takto zájmu značnou měrou přezpívá snaha vyvinout účinnější léčbu kloubních onemocnění. Z tohoto důvodu se na ÚK nachází zařízení, které je vhodné pro sledování součinitele tření jak umělých tak i přírodních chrupavek. Hlavním úkolem této práce je objasnit vliv proteinů na tření umělé kloubní chrupavky a to při zohlednění velikosti zatížení, kluzné rychlosti, rehydrataci a teplotě.

K úspěšnému splnění tohoto úkolu je nutné splnit tyto dílčí úkoly:

- Zmapovat aktuální stav poznání a studie, které se touto problematikou zabývají
- Navrhnout parametry měření s ohledem na podmínky v lidském těle
- Navrhnout způsob upnutí testovaného vzorku.
- Provést ověření měřící metody
- Provést experimenty se zaměřením na vliv proteinů na tření umělé kloubní chrupavky se zohledněním vnějších podmínek
- Analyzovat získaná data a zjistit závislosti jednotlivých parametrů na součinitel tření
- Popsat vliv parametrů na součinitel tření umělé chrupavky.

## 4 MATERIÁL A METODY

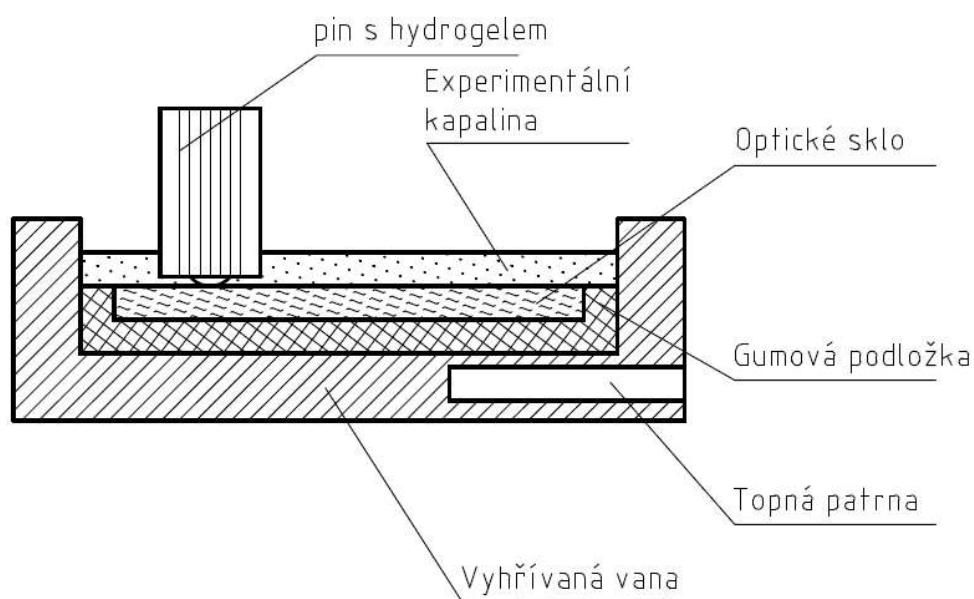
### 4.1 Měřící zařízení

Veškerá měření popsaná v této práci byla provedena na recipročním tribometru pin-on-plate od firmy Bruker obr 4-1 , který se nachází v laboratoři UK. Použitý tribometr je navržen tak aby dokázal změřit třecí síly při pohybu a z nich pomocí normálové přitlačné síly určil koeficient tření.



*Obrázek 4-1: Reciproční tribometr od firmy Bruker [18]*

Do horní pohyblivé části byl upevněn pin s CD hydrogelem. Do spodní nepohyblivé části tribometru byla připevněna vana, která byla vyhřívána pomocí PID regulátoru s výhřevnými patronami na 37°C tak aby simulovala teplotu v lidském těle. Do vany byla umístěna gumová podložka na které bylo položeno opticky hladké sklo B270. Sklo na kterém se provádělo samotné měření bylo celé ponořené ve zkoumané kapalině, která sloužila jako mazivo. Při Měřeních byl hydrogel přitlačován ke sklu konstantní silou 10 N a konal vůči němu reciproční pohyb o rychlosti 10 mm/s po dráze 20 mm. Viz schéma 4-2.



Obrázek 4-2: Schéma sestavy

## 4.2 Příprava a upevnění hydrogelu

Vzorky hydrogelu o tloušťce 2 mm, byly před měřením uloženy v deionizované vodě. Před samotným měřením byl vyříznut vzorek o rozměrech 20mm\*20mm a ten byl ponořen do PBS roztoku kde byl vyhříván na teplotu 37°C. Po jeho nahřátí byl umístěn do upínacího mechanismu, které bylo připevněno do tribometru.

Tento upínací mechanismus byl vyroben pomocí 3D tiskárny Ultimaker S3 z materiálu ABS. Testovací vzorek hydrogelu byl umístěn pod kuličku z ložiskové oceli AISI 52100 o průměru 19 mm. Tato kulička byla poté pomocí upínacího mechanismu přitlačena k držáku na hydrogel a ten tak získal svůj poloměr zakřivení. Viz obr 4-3



Obrázek 4-3: Upínací zařízení hydrogelu

### 4.3 Použité testovací kapaliny

Jako testovací kapaliny byly použity roztoky albuminu,  $\gamma$ -globulinu, kyseliny hyaluronové a fosfolipidů, kde byly tyto jednotlivé prvky rozpuštěny ve fyziologickém roztoku PBS.

Všechny roztoky byly připraveny autorem práce alespoň 24 hodin před samotným měřením a uskladněny v ledničce při teplotě 4°C. Roztoky obsahující kyselinu hyaluronovou nebo fosfolipidy bylo nutné před jejich uskladněním zcela rozmíchat v PBS na magnetické míchače kvůli své špatné rozpustnosti.

Před měřením byly jednotlivé složky roztoků vytáhnutы z ledničky a smíchány na magnetické míchače do výsledných komplexních roztoků, při kterém byly zahřívány na experimentální teplotu 37°C.

Koncentrace jednotlivých prvků roztoku, byly zvoleny tak aby odpovídali práci [14]. V experimentech kde byl zjišťován vliv proteinů spolu s kyselinou hyaluronovou, nebo fosfolipidů, byly použity koncentrace odpovídající synoviální kapalině zdravého člověka. V experimentech kde je zkoumán vliv pouze proteinů a jejich vzájemná kombinace odpovídají koncentrace jak zdravému jedinci, tak pacientům s totální endoprotézou nebo s aseptickým uvolněním náhrady. Viz tab 4-1 a 4-2

Tabulka 4-1: Složení kapalin zkoumající vliv koncentrace proteinů

Číslo měření	Albumin g/l	$\gamma$ -globulin g/l	Číslo měření	Albumin g/l	$\gamma$ -globulin g/l
1.	20	-----	7.	20	3.6
2.	24.9	-----	8.	24.9	6.1
3.	26.3	-----	9.	26.3	8.2
4.	-----	3.6			
5.	-----	6.1			
6.	-----	8.2			

Tabulka 4-2: Složení kapalin zkoumající kombinaci proteinů a dalších složek synoviální kapaliny

10.	Albumin	-----	K.H.	-----
11.	Albumin	-----	-----	Fosfolipidy
12.	Albumin	-----	K.H.	Fosfolipidy
13.	-----	$\gamma$ -globulin	K.H.	-----
14.	-----	$\gamma$ -globulin	-----	Fosfolipidy
15.	-----	$\gamma$ -globulin	K.H.	Fosfolipidy
16.	Albumin	$\gamma$ -globulin	K.H.	-----
17.	Albumin	$\gamma$ -globulin	-----	Fosfolipidy
18.	Albumin	$\gamma$ -globulin	K.H.	Fosfolipidy
Veškeré koncentrace jsou voleny tak, aby odpovídali zdravému jedinci				
	Albumin	$\gamma$ -globulin	K.H.	Fosfolipidy
g/l	20	3.6	2.5	0.15

## 4.4 Postup a parametry experimentu

Parametry měření byly voleny tak, aby napodobily podmínky v lidském kloubu, ale zároveň zohlednily možnosti tribometru a umožňovaly opakování měření z důvodu velkého opotřebení hydrogelu. Z těchto důvodů bylo zvoleno, že délka vratného pohybu bude rovna 20 mm, přítláčná síla 10 N a maximální rychlost nepřesáhne 10 mm/s.

Měření bylo dlouhé 600 s, ze kterých 300 s tvořilo samotné měření pod zátěží a zbylých 300 s, které předcházeli zatížení sloužilo k hydrataci hydrogelu příslušnou zkoumanou kapalinou. V rámci testování jedné kapaliny proběhla série 3 měření.

Z důvodu úspory omezeného množství hydrogelu, byl 1 vzorek použit vždy dvakrát, pokaždé z jiné strany.

Samotné experimentální měření je možné popsat podle bodů vypsanych níže:

- Očištění vany a její upevnění k tribometru
- Vložení gumové podložky a optického skla do vany
- Vyhřátí vany na 37°C
- Zahřání zkoumané kapaliny a hydrogelu na 37°C
- Přilítí dostatečného množství kapaliny do vany
- Upnutí hydrogelu do tribometru
- Provedení série měření
- Vyjmutí hydrogelu a jeho uskladnění v PBS roztoku
- Vyjmutí skla a gumové podložky z vany
- Kompletní vyčištění optického skla, podložky a vany pomocí SDS roztoku a izopropylalkoholu
- Odstranění vany z tribometru
- Analýza dat



## 4.5 Zpracování dat

Pomocí programu, který byl dodán spolu s tribometrem, byl vytvořen datový soubor, kde byla zaznamenána s frekvencí 100 Hz aktuální posouvající rychlost, přítláčná síla, třecí síla a koeficient tření.

Tato surová data byla exportována do .xls souboru kde byla také zpracována (obr.4-4).

T sec	F <sub>x</sub> N	F <sub>z</sub> N	X mm	V3 mm/sec	F <sub>f</sub> N	COF
0	0.042	9.99	0.00025	0	0.042	0.0042
0.01	0.0439	10	0.00025	0	0.0439	0.00439
0.02	0.042	9.99	0.00025	0	0.042	0.0042
0.03	0.0477	10	0.00025	0	0.0477	0.00477
0.04	0.0458	9.99	0.00025	0	0.0458	0.00459
0.05	0.0458	9.99	0.00025	0	0.0458	0.00458
0.06	0.042	9.99	0.00025	0	0.042	0.0042
0.07	0.042	10	0.00265	0.019	0.042	0.0042
0.08	0.0458	9.99	0.00825	0.0633	0.0458	0.00459
0.09	0.256	9.99	0.00825	0.0633	0.256	0.0256
0.1	1.18	9.99	0.0598	0.459	1.18	0.118
0.11	0.143	9.98	0.121	0.909	0.143	0.0143
0.12	0.265	9.96	0.198	1.46	0.265	0.0266
0.13	0.823	9.98	0.306	2.16	0.823	0.0824
0.14	0.113	9.96	0.429	2.9	0.113	0.0113
0.15	0.727	9.96	0.55	3.56	0.727	0.073
0.16	0.315	9.98	0.667	4.14	0.315	0.0316
0.17	0.255	0.07	0.707	4.72	0.255	0.0256

Obrázek 4-4: Surová data

Nejprve byla z tohoto souboru odfiltrována data koeficientu tření (na obrázku 4-5 ta červeně vyznačená), kde posouvající rychlost klesla pod 5 mm/s. Tento krok byl nutný k tomu, aby nedocházelo ke zkreslení výsledků vlivem velkého nárůstu koeficientu tření v úvratích vratného pohybu (Obr 4-5).

T sec	<u>F<sub>x</sub></u> N	<u>F<sub>z</sub></u> N	X mm	V3 mm/sec	Ff N	<u>COF</u>
0.12	0.265	9.96	0.198	1.46	0.265	0.0266
0.13	0.823	9.98	0.306	2.16	0.823	0.0824
0.14	0.113	9.96	0.429	2.9	0.113	0.0113
0.15	0.727	9.96	0.55	3.56	0.727	0.073
0.16	0.315	9.98	0.667	4.14	0.315	0.0316
0.17	0.355	9.97	0.797	4.72	0.355	0.0356
0.18	0.571	9.98	0.872	5.03	0.571	0.0572
0.19	0.246	9.98	0.97	5.4	0.246	0.0247
0.2	0.565	9.98	1.05	5.68	0.565	0.0566
0.21	0.441	9.98	1.17	6.07	0.441	0.0442
0.22	0.275	9.98	1.29	6.46	0.275	0.0275

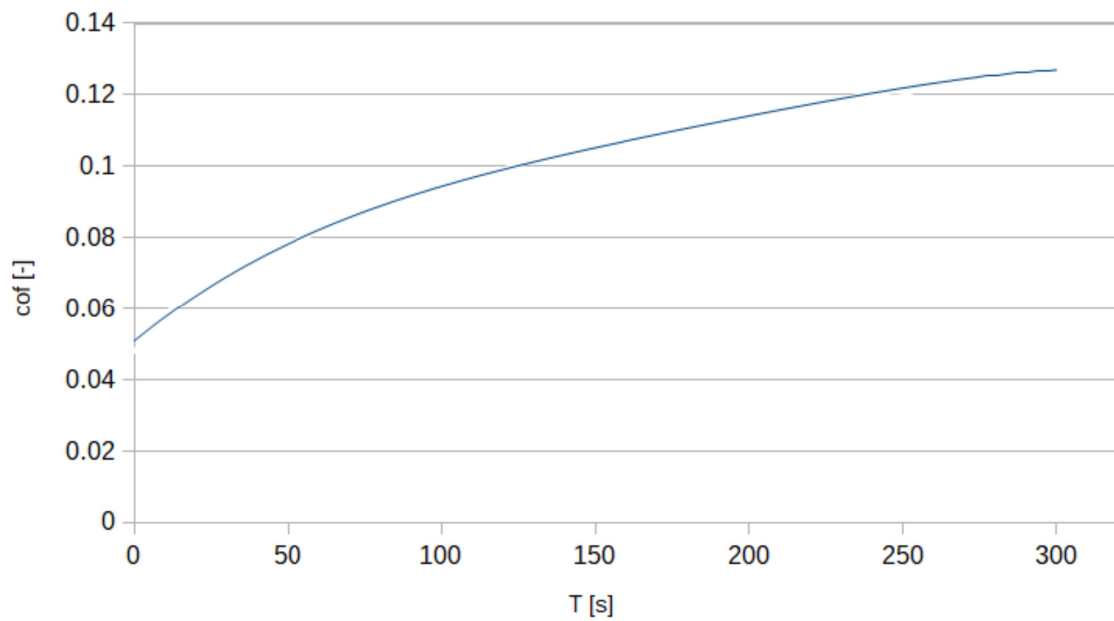
Obrázek 4-5: Třídění dat

Zbývající data byla uspořádána do 75 skupin kde jedna skupina odpovídala 4 s měření. Data z každé této skupiny byla poté zprůměrována. Takto získaných 75 hodnot koeficientu tření, 1 z každého cyklu, bylo poté zprůměrováno s odpovídající hodnotou zbylých dvou měření (Obr. 4-6).

T [s]		1. měření	2. měření	3. měření	Průměr
0	1	0.040705711	0.054326309	0.047009701	0.04734724
4	2	0.045487606	0.059321691	0.053778105	0.052862467
8	3	0.048672818	0.062917057	0.058477656	0.056689177
12	4	0.051170773	0.065727389	0.062431097	0.05977642
16	5	0.053363591	0.068248803	0.065777913	0.062463436
20	6	0.055402683	0.070684888	0.06869783	0.064928467
24	7	0.057603915	0.072678005	0.071350888	0.067210936
28	8	0.059343541	0.074750449	0.07377813	0.069290707
32	9	0.060998165	0.076511596	0.07582985	0.071113204
36	10	0.062711165	0.078146115	0.077949454	0.072935578
40	11	0.064269486	0.079928803	0.079672758	0.074623682

Obrázek 4-6: Zprůměrování dat

Takto získané hodnoty byly poté umístěné do grafu a proloženy vhodným polynomem (Obr. 4-7).



*Obrázek 4-7: Proložení polynomem*

Z tohoto grafu byla poté odečtena hodnota odpovídající koeficientu tření na konci 300 s dlouhého měření. Tato hodnota byla poté přenesena do sloupcový grafů v kapitole 5 a porovnávána s dalšími takto získanými hodnotami.

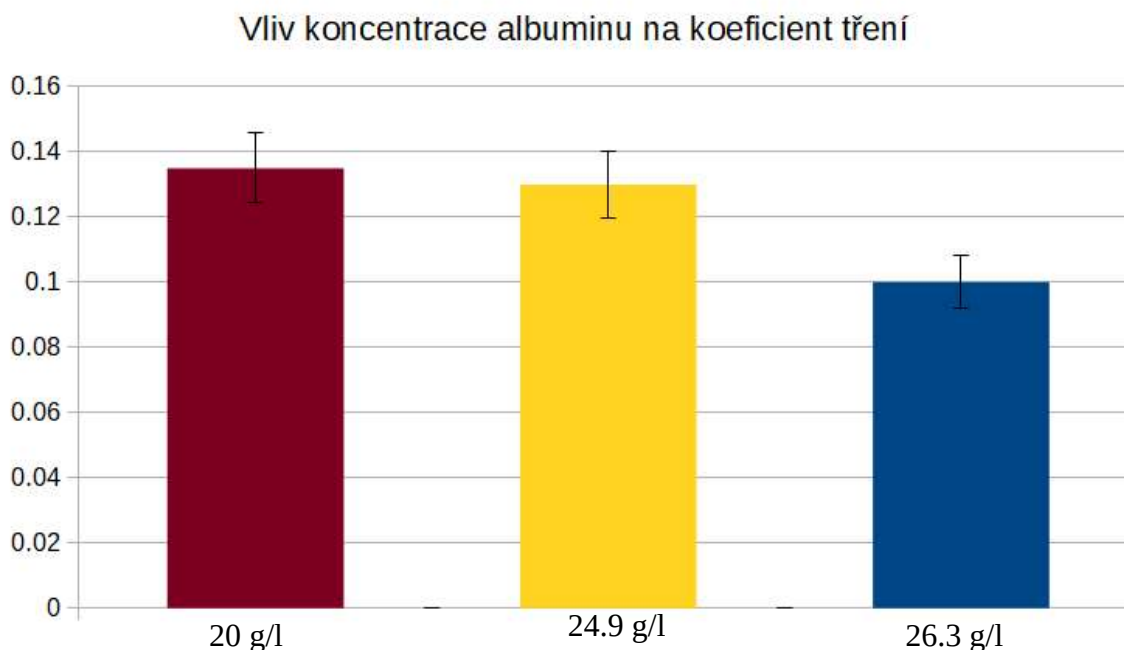
## 5 VÝSLEDKY

Tribometrem byly získány hodnoty koeficientu tření v závislosti na druhu použité synoviální kapaliny. Veškeré měření byla provedena při konstantní rychlosti, zatížením a dráze. Všechny experimenty byly taktéž složeny ze série tří měření dlouhých 5 minut, kterým předcházelo vždy 5 minut hydratace hydrogelu v příslušné testovací kapalině.

Získaná data byla zpracována jak je popsáno v kapitole 4.5. Výsledky byly roztrženy do čtyř hlavních kategorií, aby byla usnadněna jejich interpretace.

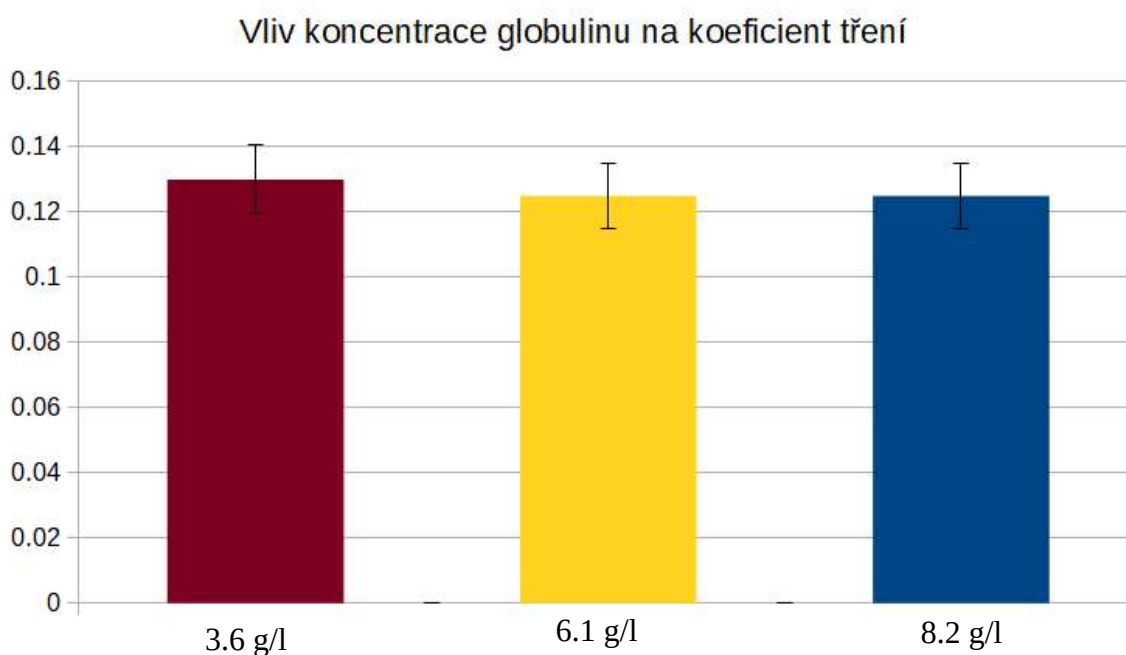
### 5.1 Synoviální kapalina s čistými proteiny

Jak můžeme vidět na obrázku 5-1 při koncentraci albuminu odpovídající zdravému jedinci se koeficient tření pohyboval v okolí 0.135. Ovšem když došlo k navýšení koncentrace albuminu odpovídající hodnotám odpovídající pacientům s totální endoprotézou, nebo s aseptickým uvolněním náhrady, došlo k výraznému poklesu koeficientu tření. Tedy je zde patrný trend, že při růstu koncentrace, dochází ke snižování koeficientu tření.



Obrázek 5-1: Vliv koncentrace albuminu na koeficient tření

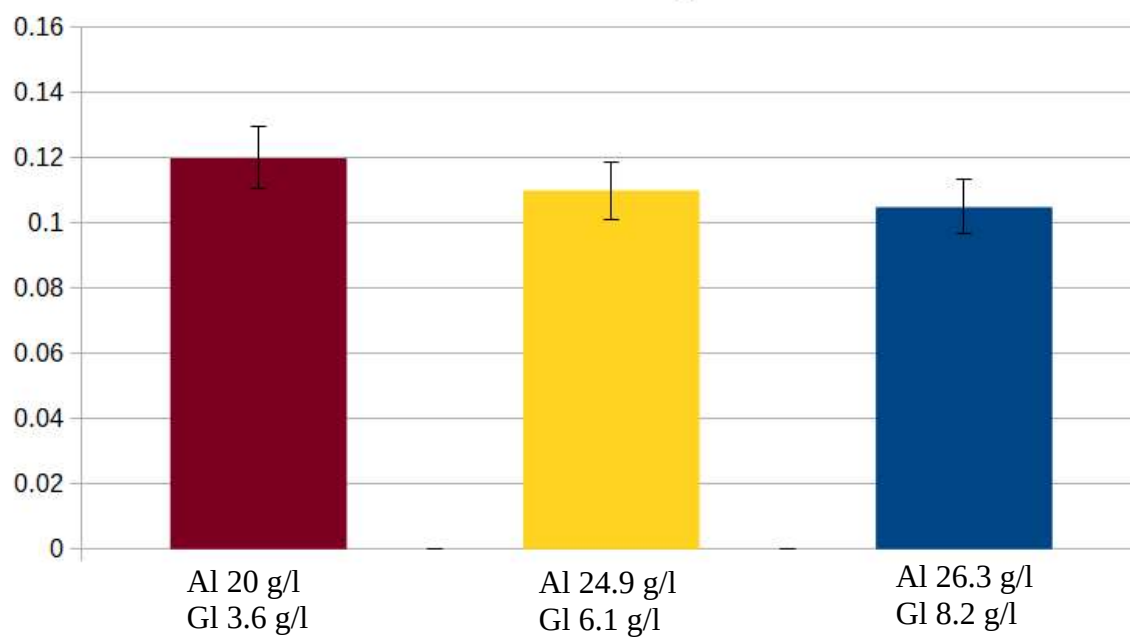
Jak můžeme pozorovat na obrázku 5-2 při koncentracích  $\gamma$ -globulinu blízkých zdravému jedinci jsou hodnoty koeficientu opět tak jako u albuminu blízké hodnotě 0.135. Stejně jako u zvyšující se koncentrace albuminu tak i zde dochází k poklesu koeficientu tření. Tento trend však není tak výrazný.



*Obrázek 5-2: Vliv koncentrace  $\gamma$ -globulinu na koeficient tření*

Jak můžeme vidět na obrázku 5-3 došlo při smíchání odpovídajících koncentrací albuminu a  $\gamma$ -globulinu k výraznému poklesu koeficientu tření. Při koncentracích odpovídající zdravému jedinci došlo k poklesu koeficientu na hodnotu 0.12 což je nižší hodnota než když byly tyto proteiny měřeny samostatně. U kombinace obou proteinů se potvrdil trend s předchozích měření, tedy že při růstu koncentrace proteinů dochází k poklesu koeficientu tření.

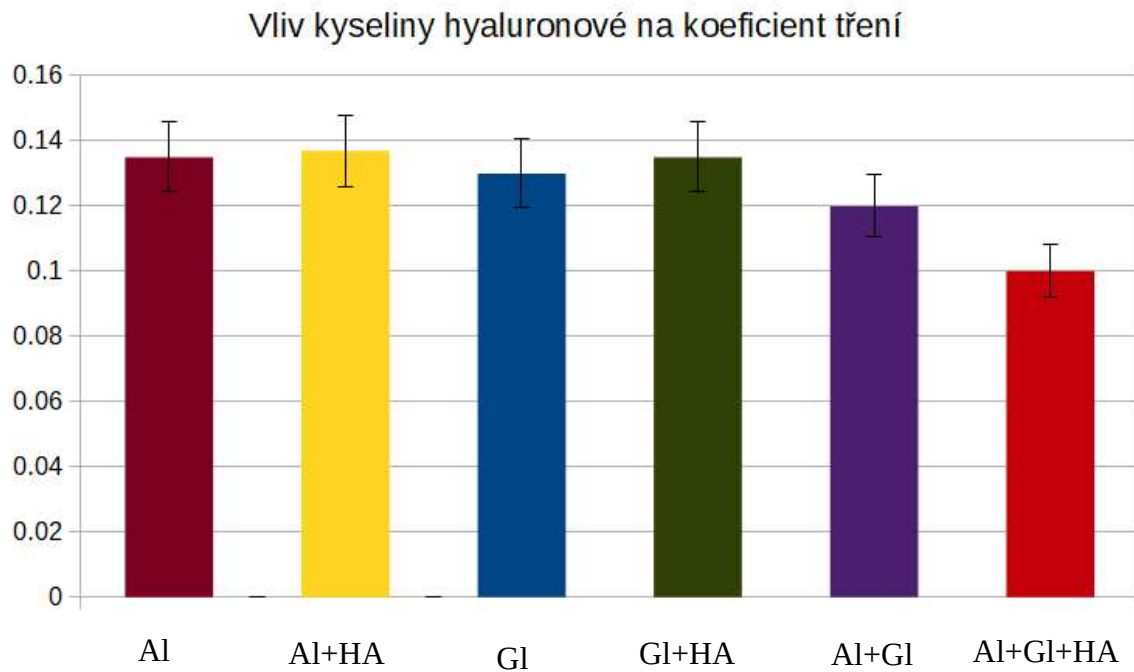
Vliv koncentrace kombinace albuminu a globulinu na koeficient tření



Obrázek 5-3: Vliv koncentrace kombinace albuminu a  $\gamma$ -globulinu na koeficient tření

## 5.2 Synoviální kapalina s proteiny a kyselinou hyaluronovou

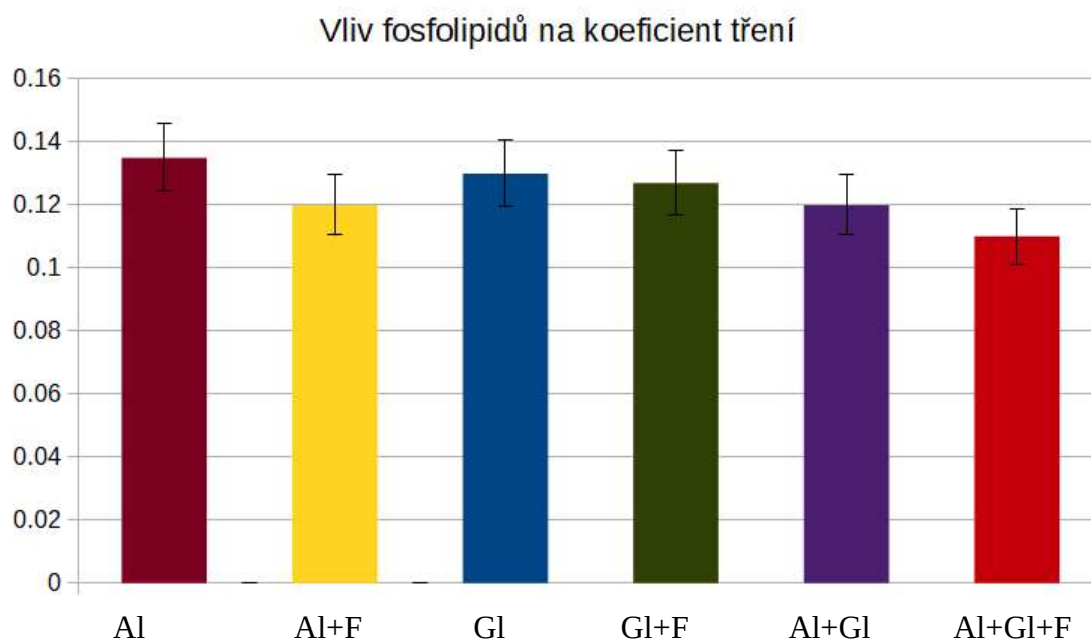
Jak můžeme vidět u obrázku 5-4. Došlo po přidání kyseliny hyaluronové k nárůstu koeficientu tření. Tento jev je patrný jak u samotného albuminu tak u  $\gamma$ -globulinu. Ten nárůst není nikterak velký a probíhá v řádu jednotek tisícín. Ovšem pokud byla kyselina hyaluronová přidána ke kombinaci proteinů, tak došlo k výraznému poklesu tohoto koeficientu a to o celé dvě setiny na hodnotu blízké 0.1.



Obrázek 5-4: Vliv kyseliny hyaluronové na koeficient tření

### 5.3 Synoviální kapalina s proteiny a fosfolipidy

Jak je patrné z obrázku 5-5 při kombinaci albuminu s fosfolipidy došlo k poklesu tření o celou setinu. Takto trend se ale nepotvrdil u  $\gamma$ -globulinu, kde došlo sice k poklesu, ale ne natolik významnému. Pokles koeficientu tření při kombinaci globulinu a fosfolipidů se opět pohyboval v řádu tisícín. Je zde opět patrný trend, že při přidání další složky synoviální kapaliny ke kombinaci obou proteinů dojde ke značnému poklesu koeficientu tření. V tomto případě byl pokles opět o celou jednu setinu.

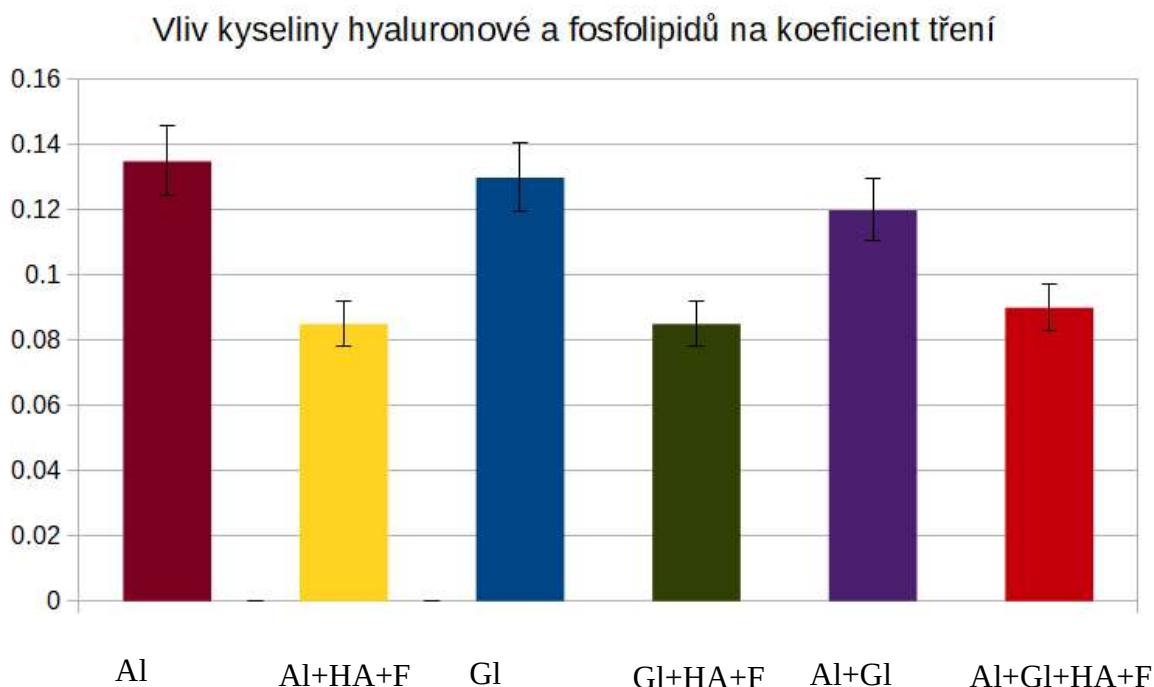


Obrázek 5-5: Vliv fosfolipidů na koeficient tření



## 5.4 Synoviální kapalina s proteiny, kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy

Jak je patrné z obrázku 5-6 tak kombinace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů má obrovský vliv na koeficient tření. Jak můžeme vidět tak při přidání této kombinace látek k čistým proteinům došlo jak u albuminu tak  $\gamma$ -globulinu ke značnému poklesu koeficientu tření a tak hodnotám blízkým 0.08. Tedy k poklesu o téměř pět setin. Pokles koeficientu tření je taktéž patrný u kombinace obou proteinů s kyselinou hyaluronovou a fosfolipidy. Tento pokles ale není tak výrazný jako u čistých proteinů, ale i tak se výsledná hodnota pohybuje v okolí 0.087.



Obrázek 5-6: Vliv kyseliny hyaluronové a fosfolipidů na součinitel tření

## 6 DISKUZE

### 6.1 Vliv koncentrace proteinů

Ze získaných výsledků vyplývá, že koncentrace albuminu a  $\gamma$ -globulinu má velký vliv na součinitel tření umělé chrupavky. Zde byl pozorován vliv že s rostoucí koncentrací proteinů dochází ke snížení tření což částečně odpovídá studii [10] kde po přidání albuminu došlo taktéž ke snížení součinitele tření. Tento jev je v některých pracích vysvětlen tím že proteiny s rostoucí koncentrací dokáží lépe napodobit smáčivost komplexní synoviální kapaliny a tedy důsledkem je snížení koeficientu tření.

### 6.2 Vliv dalších složek synoviální kapaliny

Při experimentech popsanych v této práci, kde v testované kapalině byla kromě proteinů i kyselina hyaluronová a fosfolipidy, došlo k výraznému poklesu koeficientu tření. Tento jev je pozorován ve všech případech bez ohledu na protein v experimentu použitý. Tato skutečnost odpovídá zjištěním z práce [16]. Dále byl v experimentech prokázáno výrazné snížení koeficientu tření u komplexní synoviální kapaliny oproti čistému albuminu. Tento jev se projevil i ve studii [10]. Mimo jiné byl prokázán vliv nízké koncentrace fosfolipidů na součinitel tření testované kapaliny. Po přidání fosfolipidů došlo ke snížení koeficientu tření, což odpovídá práci [17]. Tyto jevy jsou způsobeny vzájemnou reakcí kyseliny hyaluronové nebo fosfolipidů s proteiny. Tento jev se ještě umocní při vzájemné kombinaci obou těchto látek. Někteří autoři si tento jev vysvětlují také díky smáčivým vlastnostem roztoků s kyselinou hyaluronovou nebo fosfolipidy.

## 7 ZÁVĚR

V této práci byl zkoumán vliv proteinů na součinitel tření CD hydrogelu simulující umělou chrupavku. V průběhu řešení práce byla zpracována kritická rešerše odborných prací, které se zabývají podobnou problematikou. Dále byly navrženy podmínky experimentu, tak aby korespondovaly s podmínkami v lidském těle a to zejména rozmezí koncentrací jednotlivých proteinů. Dále byly navrženy parametry experimentu, které zohledňují podmínky v reálném kloubu a zároveň zohledňují možnosti zařízení a vlastnosti použitých materiálů. V neposlední řadě byl navržen způsob upnutí hydrogelu do tribometru

Data, která byla získána při měření, byla porovnána s jinými pracemi, čímž byla ověřena vhodnost použité metody.

Během analýzy dat vyplynulo několik závislostí, které ovlivňují součinitel tření CD hydrogelu. Ty nejdůležitější jsou vypsány níže:

- Při růstu koncentrace proteinů, klesá součinitel tření umělé chrupavky. Tento jev platí bez ohledu na zkoumaný protein i při jejich vzájemné kombinaci
- Kyselina hyaluronová v roztoku s jedním proteinem způsobuje nárůst koeficientu tření a to bez ohledu s jakým proteinem je smíchaná. Ovšem při kombinaci dvou proteinů a kyseliny hyaluronové součinitel tření výrazně poklesne
- Fosfolipidy smíchané s albuminem způsobí nárůst tření, ale když jsou zkombinovány s  $\gamma$ -globulinem nebo s albuminem a globulinem současně tak koeficient tření poklesne
- Kombinace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů způsobuje výrazný pokles koeficientu tření a to bez ohledu nato s jakým proteinem jsou smíchany. Tento trend se potvrdil i při kombinaci obou zkoumaných proteinům

Další výzkumná činnost v tomto odvětví může být zaměřena na vliv koncentrace kyseliny hyaluronové a fosfolipidů na součinitel tření CD hydrogelu. Jinou možností je zkoumat vliv střídání komplexnějších kapalin při použití stejného vzorku hydrogelu podobně jako ve studii [19]

Při psaní této práce se podařilo splnit a vyřešit všechny dílčí úkoly.

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

1. Lidské tělo: Klouby a vazy. *Anamneza* [online]. [cit. 2020-02-09]. Dostupné z: <http://www.anamneza.cz/Klouby-a-vazy/lidske-telo/25>
2. Biomechanika. *Anatomie: Kloubní spojení* [online]. [cit. 20120-02-10]. Dostupné z: [http://biomech.ftvs.cuni.cz/pbpbk/kompendium/anatomie/kloub\\_spojzeni\\_articulatio.php](http://biomech.ftvs.cuni.cz/pbpbk/kompendium/anatomie/kloub_spojzeni_articulatio.php)
3. SOPHIA FOX, Alice J., Asheesh BEDI a Scott A. RODEO. The basic science of articular cartilage: Structure, composition, and function. *Sports Health*. 2009, roč. 1, č. 6, s. 461–468. ISSN 19417381.
4. DECKER, Rebekah S., Eiki KOYAMA a Maurizio PACIFICI. Genesis and morphogenesis of limb synovial joints and articular cartilage. *Matrix Biology* [online]. 2014, 39, 5-10 [cit. 2020-02-09]. DOI: 10.1016/j.matbio.2014.08.006. ISSN 0945053X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0945053X14001590>
5. GLEGHORN, Jason P. a Lawrence J. BONASSAR. Lubrication mode analysis of articular cartilage using Stribeck surfaces. *Journal of Biomechanics* [online]. Elsevier, 2008, 41(9), 1910-1918 [cit. 2020-01-30]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2008.03.043. ISSN 0021-9290.
6. MOORE, Ac a DL BURRIS. New Insights Into Joint Lubrication. *Tribology & Lubrication Technology* [online]. SOC TRIBOLOGISTS & LUBRICATION ENGINEERS, 2016, 72(5), 26-+ [cit. 2020-01-30]. ISSN 1545-858X.
7. ATESHIAN, Gerard A. The role of interstitial fluid pressurization in articular cartilage lubrication. *Journal of Biomechanics* [online]. 2009, 42(9), 1163-1176 [cit. 2020-02-20]. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2009.04.040. ISSN 00219290. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021929009002565>
8. Synovial Fluid. *Graff's textbook of routine urinalysis and body fluids* [online]. 2nd ed. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams, c2011, s. 253-262 [cit. 2020-01-30]. ISBN978-1582558752. Dostupné z: [http://downloads.lww.com/wolterskluwer\\_vitalstream\\_com/sample-content/9781582558752\\_Mundt/samples/Chapter\\_11.pdf](http://downloads.lww.com/wolterskluwer_vitalstream_com/sample-content/9781582558752_Mundt/samples/Chapter_11.pdf)
9. Plasma Proteins: Types and Functions (Basic Notes). *Biochemistry Den* [online]. [cit. 2020-01-27]. Dostupné z: <http://www.biochemden.com/plasma-proteins/>
10. KATTA, Jayanth K., Michele MARCOLONGO, Anthony LOWMAN a Kevin A. MANSMANN. Friction and wear behavior of poly(vinyl alcohol)/poly(vinyl pyrrolidone) hydrogels for articular cartilage replacement. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 2007, 83A(2), 471-479. DOI: 10.1002/jbm.a.31238. ISSN 15493296.

11. LI, Feng, Gang ZHANG, Anmin WANG a Feng GUO. The Effects of Surface Mechanical Deformation and Bovine Serum Albumin on the Tribological Properties of Polyvinyl Alcohol Hydrogel as an Artificial Cartilage. *Advances in Materials Science and Engineering*. 2017, 2017, 1-9. DOI: 10.1155/2017/4502904. ISSN 1687-8434.
12. Y. S. Pan, D. S. Xiong, and R. Y. Ma, “A study on the friction properties of poly(vinyl alcohol) hydrogel as articular cartilage against titanium alloy,” *Wear*, vol. 262, no. 7-8, pp. 1021–1025, 2007.
13. MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Nobuo SAKAI, Kazuhiro NAKASHIMA, Tetsuo YAMAGUCHI a Yoshinori SAWAE. Importance of adaptive multimode lubrication mechanism in natural synovial joints. *Tribology International* [online]. Elsevier, 2017, 113, 306-315
14. GALANDÁKOVÁ, Adéla, Jitka ULRICHOVÁ, Kateřina LANGOVÁ, Adéla HANÁKOVÁ, Martin VRBKA, Martin HARTL a Jiri GALLO. Characteristics of synovial fluid required for optimization of lubrication fluid for biotribological experiments. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*. 2017, roč. 105, č. 6, s. 1422–1431. ISSN 15524981.
15. ENAS, AHMED. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review, *Journal of Advanced Research*, 2015, Pages 105-121, ISSN 2090-1232, [online], dostupné z : <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2090123213000969>
16. MURAKAMI, Teruo, Seido YARIMITSU, Kazuhiro NAKASHIMA, Tetsuo YAMAGUCHI, Yoshinori SAWAE, Nobuo SAKAI a Atsushi SUZUKI. Superior lubricity in articular cartilage and artificial hydrogel cartilage. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part J: Journal of Engineering Tribology*. 2014, roč. 228, č. 10, s. 1099–1111. ISSN 2041305X.
17. YARIMITSU, Seido, Kazuhiro NAKASHIMA, Yoshinori SAWAE a Teruo MURAKAMI. Influence of phospholipid and protein constituents on tribological properties of artificial hydrogel cartilage material. *Journal of Biomechanical Science and Engineering*. 2013, roč. 8, č. 3, s. 257–267. ISSN 18809863.
18. Bruker UMT TriboLab Tribometer [online]. [cit. 2020-04-09]. Dostupné z: <https://www.blue-scientific.com/bruker-umt-tribolab/>
19. NAKASHIMA, Kazuhiro, Yoshinori SAWAE a Teruo MURAKAMI. Effect of conformational changes and differences of proteins on frictional properties of poly(vinyl alcohol) hydrogel, *Tribology International*, Volume 40, Issues 10–12, 2007, Pages 1423-1427, ISSN 0301-679X, <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301679X07000382>
20. LEES, Deborah a Paul PARTINGTON. Articular cartilage. *Orthopaedics and Trauma*. 2016, roč. 30, č. 3, s. 265–272. ISSN 18771335.
21. FAN, J., C. W. MYANT, R. UNDERWOOD, P. M. CANN a A. HART. Inlet protein aggregation: A new mechanism for lubricating film formation with model synovial fluids. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. 2011, roč. 225, č. 7, s. 696–709. ISSN 09544119.

22. MÜNSTER, Lukáš, Jan VÍCHA, Jiří KLOFÁČ, Milan MASAŘ, Anna HURAJOVÁ a Ivo KUŘITKA. Dialdehyde cellulose crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels: Influence of catalyst and crosslinker shelf life. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2018, 198, 181–190. ISSN 0144-8617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2018.06.035

## 9 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK, SYMBOLŮ A VELIČIN

ÚK	Ústav konstruování
$F_t$	Třecí síla
$F_n$	Normálová síla
$\mu$	Součinitel smykového tření
PVA	Poli(vinil alkohol)
PVP	Poli(vinil pyrrolidon)
s	Sekunda
mm	Milimetr
m	Metr
min	Minuta
N	Newton
Al	Albumin
Gl	$\gamma$ -globulin
HA	Hyaluronic acid ( kyselina hyaluronová)
F	Fosfolipidy

## 10 SEZNAM OBRÁZKŮ A GRAFŮ

Obr. 2-1	Schéma synoviálního kloubu [8] .....	14
Obr. 2-2	Závislost koeficientu tření na počtu cyklů a druhu kapaliny [10] .....	19
Obr. 2-3	Vývoj koeficientu tření při různém zatížení [11] .....	21
Obr. 2-4	Koeficient tření v závislosti na dráze a použité kapalině [16] .....	22
Obr. 2-5	Vliv fosfolipidů na koeficient tření [17] .....	24
Obr. 2-6	Vývoj koeficientu tření v závislosti na dráze a střídání lubrikantu.....	25
Obr. 4-1	Reciproční tribometr od firmy Bruker [18] .....	28
Obr. 4-2	Schéma sestavy .....	29
Obr. 4-3	Upínací zařízení hydrogelu .....	29
Obr. 4-4	Surová data .....	33
Obr. 4-5	Třídění dat .....	34
Obr. 4-6	Zprůměrování dat .....	34
Obr. 4-7	Proložení polynomem .....	35
Obr. 5-1	Koeficient tření čistého albuminu .....	36
Obr. 5-2	Koeficient tření čistého globulinu .....	37
Obr. 5-3	Koeficient tření kombinace albuminu a globulinu .....	38
Obr. 5-4	Vliv kyseliny hyaluronové na součinitel tření .....	39
Obr. 5-5	Vliv fosfolipidů na součinitel tření .....	40
Obr. 5-6	Vliv kyseliny hyaluronové a fosfolipidů na součinitel tření .....	41



## 11 SEZNAM TABULEK

Tab. 4-1	Složení kapalin zkoumající vliv koncentrace proteinů .....	31
Tab. 4-2	Složení kapalin zkoumající kombinaci proteinů a dalších složek synoviální kapaliny .....	31