



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**

---

**FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ**

**Katedra biomedicínské techniky**

**Kompletní řešení fixace laboratorní myši pro měření  
dvoufotonovým mikroskopem**

**Complex design of laboratory mouse fixation for measurement  
using two photon microscope**

Diplomová práce

Studijní program: Biomedicínská a klinická technika  
Studijní obor: Biomedicínský inženýr

Vedoucí práce: Ing. Martin Otáhal, Ph.D.

**Bc. Tereza Valínová**

---

**Kladno 2021**

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Valínová** Jméno: **Tereza** Osobní číslo: **434167**  
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**  
Garantující katedra: **Katedra biomedicínské techniky**  
Studijní program: **Biomedicínská a klinická technika**  
Studijní obor: **Biomedicínský inženýr**

## II. ÚDAJE K DIPLOMOVÉ PRÁCI

Název diplomové práce:

**Kompletní řešení fixace laboratorní myši pro měření dvoufotonovým mikroskopem.**

Název diplomové práce anglicky:

**Complex design of laboratory mouse fixation for measurement using two photon microscope**

Pokyny pro vypracování:

Cílem diplomové práce je analyzovat pracovní prostor dvoufotonového mikroskopu Bruker, navrhnout a realizovat optimalizované řešení pro úchyt a měření laboratorní myši v anestetizovaném i bdělém stavu s dostatečným přístupem k experimentálnímu zvířeti. Systém musí umožňovat náklon zvířete ve všech směrech umožňující opakovaně srovnat kraniální okno do roviny kolmé k ose laseru, musí obsahovat vývod anestezie ke zvířeti včetně návrhu koncovky a případné redukce na stávající systémy, uchycení přívodu anestezie s ohledem na snadné odpojení a nastavitelnost při zachování stability uchycení a řešení rozvodů anestezie kolem mikroskopu. Navrhněte ohřev experimentálního zvířete na teplotu na  $37 \pm 0,5$  °C s přesností 0,1°C. Využití materiály musí umožňovat snadnou povrchovou desinfekci a musí být odolné vůči působení inhalačních anestetik. Navrženou konstrukci ověřte analýzou funkčnosti a porovnáním stavu před a po její realizaci.

Seznam doporučené literatury:

- [1] Leinveber Jiří, Vávra Pavel, Strojnické tabulky: Učebnice pro školy technického zaměření., ed. 6, Albra, 2017, ISBN |SBN9788073611118
- [2] Šulc Vratislav, Technologie přístrojové techniky I., ed. 1, České vysoké učení technické, 1990, ISBN 80-01-00381-7

Jméno a příjmení vedoucí(ho) diplomové práce:

**Ing. Martin Otáhal, Ph.D.**

Jméno a příjmení konzultanta(ky) diplomové práce:

**doc.MUDr. Jakub Otáhal, Ph.D.**

Datum zadání diplomové práce: **15.02.2021**

Platnost zadání diplomové práce: **18.09.2022**

Doc. Ing.  
Martin  
Rožánek, Ph.D.  
doc. Ing. Martin Rožánek, Ph.D.  
podpis vedoucí(ho) katedry

Digitálně podepsal Doc.  
Ing. Martin Rožánek, Ph.D.  
Datum: 2021.03.03  
22.06.23.011001.....

prof. MUDr.  
Jozef Rosina,  
Ph.D., MBA  
prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA  
podpis děkana(ky)

Digitálně podepsal  
prof. MUDr. Jozef  
Rosina, Ph.D., MBA  
Datum: 2021.03.04  
11:52:51.481902

## **PROHLÁŠENÍ**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci s názvem „Kompletní řešení fixace laboratorní myši pro měření dvoufotonovým mikroskopem“ vypracovala samostatně a použila k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k diplomové práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 Zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 13.5.2021

Bc. Tereza Valínová

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych touto cestou vyjádřila poděkování Ing. Martinovi Otáhalovi, Ph.D. za jeho cenné rady, doporučení a trpělivost při vedení mé diplomové práce. Taktéž bych chtěla poděkovat Prof. MUDr. Jakubu Otáhalovi, Ph.D., Mgr. Davidu Kalovi, RNDr. Janu Svobodovi, Ph.D. a Ing. Mgr. Danielu Hadrabovi, Ph.D. za vstřícnost, ochotu a pomoc při získání potřebných informací a podkladů.

## **ABSTRAKT**

### **Kompletní řešení fixace laboratorní myši pro měření dvoufotonovým mikroskopem**

Cílem mé práce bylo navrhnout fixační systém pro měření dvoufotonovým mikroskopem. U systému bylo nutné zajistit náklony ve všech směrech. Umožnit připojení anestezie k fixačnímu systému, tak aby umožňovala snadnou nastavitelnost. Zároveň bylo cílem mé práce zajistit ohřev experimentálního zvířete na 37°C. Návrh nového systému byl proveden v *Autodesk Inventor Professional 2021*. Byl sestaven systém skládající se z dvou propojených půlkruhů se stejným středem. Do středu byl umístěn headset, aby bylo zajištěny náklony na všechny strany. Ovládání bylo vytvořeno pomocí ozubených kol. Byl vytvořen nový přívod anestezie ke zvířeti, který je jednoduše nastavitelný. Ohřev zvířete byl zajištěn přidáním digitálního termostatu ke stávajícímu systému.

### **Klíčová slova**

Fixační systém, dvoufotonový mikroskop, kraniální okno, převodový systém

## **ABSTRACT**

### **Complex design of laboratory mouse fixation for measurement using two photon microscope**

The Aim of my thesis was to design a new fixation system for measuring using two photon microscope. The system needs to be able to tilt in all directions. An anaesthesia must be able to connect to the system in a way that makes it easy to set up. Also, the system must contain a heating pat for laboratory animal set at a temperature of 37°C. New system was design using *Autodesk Inventor Professional 2021*. A system consisting of two interconnected semicircles with the same centre was designed. Headset was placed into the centre to ensure tilt in all directions. The system is controlled by set of gears. A new anaesthesia connection to the animal has been created, which is easily adjustable. The heating system was expanded by new digital thermostat which provides heating to the animal.

### **Keywords**

Fixation system, two photon microscope, cranial window, gears

# Obsah

<b>Seznam zkratk</b> .....	<b>9</b>
<b>1 Úvod</b> .....	<b>10</b>
<b>2 Přehled současného stavu</b> .....	<b>11</b>
2.1 Dvou fotonová mikroskopie .....	11
2.1.1 Princip TPEM .....	11
2.1.2 Příprava laboratorního zvířete .....	14
2.2 Současný systém .....	15
2.2.1 Fixační systém .....	15
2.2.2 Anestezie .....	18
2.2.3 Ohřev .....	19
2.2.4 Průběh měření.....	19
2.3 Používané headsety .....	20
2.4 3D tisk .....	22
2.4.1 FDM – fused deposition modeling .....	23
2.4.2 Stereolithography (SLA) .....	23
2.4.3 Powder bed fusion .....	23
2.5 Parametry 3D tisku .....	24
2.5.1 Obvodové vrstvy/ tloušťka stěn.....	24
2.5.2 Infill a vzor .....	24
2.6 Spojky u 3D tištěných dílů .....	25
2.6.1 Tištěné závity.....	25
2.6.2 Vyřezávané závity .....	26
2.6.3 Vsazované matice .....	26
2.6.4 Závitové vložky (zálišky).....	26
2.6.5 Kontrola závitů .....	26
2.7 Materiály používané pro 3D tisk .....	27
2.7.1 PLA – polylactic acid .....	28
2.7.2 PET/PETG Polyethylene terephthalate/ glycol-modified .....	29
2.7.3 ABS – Acrylonitrile butadiene styrene.....	29
2.8 Převodový mechanismus.....	30

2.8.1	Základní pojmy.....	31
2.8.2	Podřezání zubů .....	33
2.8.3	Vůle .....	34
2.8.4	Pevnost ozubených kol .....	35
<b>3</b>	<b>Cíle práce.....</b>	<b>36</b>
<b>4</b>	<b>Metody .....</b>	<b>37</b>
4.1	Fixační systém.....	37
4.1.1	Rotační díly .....	38
4.1.2	Podstavec (výkres se nachází v příloze B) .....	43
4.1.3	Svorka (výkres se nachází v příloze B) .....	45
4.1.4	Lůžko (výkres se nachází v příloze B) .....	45
4.1.5	Sestavení fixačního systému.....	46
<b>5</b>	<b>Výsledky.....</b>	<b>47</b>
5.1	Fixační systém.....	47
5.2	Anestezie .....	48
5.3	Ohřev .....	48
5.4	Funkční analýza.....	49
<b>6</b>	<b>Diskuse .....</b>	<b>51</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>54</b>
	<b>Seznam použité literatury .....</b>	<b>55</b>
	<b>Příloha A: Datasheet.....</b>	<b>59</b>
	<b>Příloha B: Výkresy.....</b>	<b>62</b>
	<b>Příloha C: Obsah přiloženého CD/DVD .....</b>	<b>69</b>



# Seznam zkratek

## Seznam zkratek

Zkratka	Význam
TPEM	Dvou fotonová mikroskopie
SLA	Stereolithography
FDM	Fused Deposition Modeling
TPI	Threads per Inch
PLA	Polylactic acid
PET	Polyethylene terephthalate
PETG	Polyethylene terephthalate glycol-modified
ABS	Acrylonitrile butadiene styrene

# 1 Úvod

Mikroskopie dvou fotonovým mikroskopem je využívaná metoda pro pozorování tkání v živých organismech. Je to metoda, která je šetrná k pozorovanému vzorku a zvládne prostoupit do větší hloubky než laserová konfokální mikroskopie. Dvou fotonová mikroskopie patří mezi fluorescenční metody mikroskopie.

Tato metoda je využívána ve různých výzkumech jako je například *Vývojová epileptologie*, který je prováděna ve Fyziologickém ústavu AV ČR. Výzkum je zaměřen na různé patofyziologické aspekty epilepsie a epileptických záchvatů, především v období vývoje mozku. Jeden z výzkumů je prováděn na laboratorních myších, u kterých je provedena kraniotomie a připevněno kraniotomické okénko. Skrz toto okénko je dvou fotonovým mikroskopem sledováno krevní zásobení mozku. Pro dobrý obraz cévního zásobení, je nutné zajistit, aby kraniální okno, a tedy i cévy, nacházející se pod ním, byly v jedné rovině, která je kolmá na osu mikroskopu.

Kolmost je zajištěna speciálním držákem vytvořeným pro tyto účely. Laboratorní myš je uchycena do držáku a je nastaveno kraniální okno, tak aby bylo kolmé na osu mikroskopu. Bohužel současný systém neumožňuje nezávislé pohyby pro nastavení, a proto uvedení do kraniálního okna do roviny je náročné, a ne vždy úspěšné.

Toto byl hlavní důvod pro vytvoření nového systému, který usnadní nastavení kraniálního okna do požadované polohy. Mikroskopie se provádí na živých laboratorních myších, které jsou v průběhu měření anestetizovány, proto je, aby k držáku mohla být přichycena obličejová maska s anestezií. Zároveň jelikož jsou myši pod vlivem anestezie je nutné, aby jim byla zajištěna stálá tělesná teplota 37°C.

Nový systém by měl zajistit všechny tyto podmínky a vylepšit měření dvou fotonovým mikroskopem prováděném na laboratorních myších.

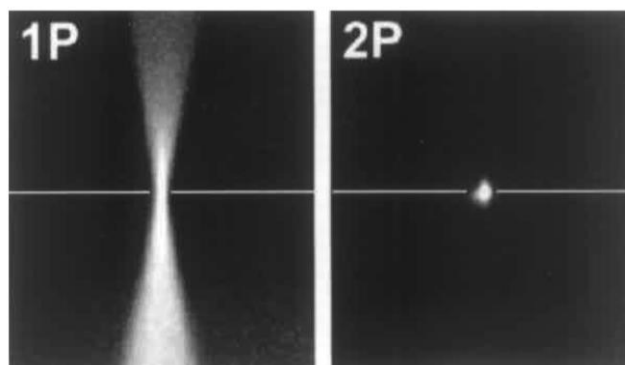
## 2 Přehled současného stavu

### 2.1 Dvou fotonová mikroskopie

Biologické studie se v průběhu let přesunuly ze zkoumání jednotlivých buněk na úroveň tkání a následně i celých živočichů. Tento pokrok byl umožněn vývojem fluorescenční mikroskopie, která umožňuje pozorovat interakci jednotlivých buněk v tkáni nebo v živočiších na molekulární úrovni. Klíčovou instrumentální technologií pro biologický výzkum je mikroskopie s optickým krájením. Tato technika namísto fixace a fyzické krájení vzorku získává 3D data z neporušeného (a tedy i živého) vzorku. Nejběžnější technikou optického krájení je konfokální mikroskopie, kdy ve vzorku vzniká fluorescence a před detektor je umístěna konfokální štěrba, aby byla zaznamenána pouze zaostřená fluorescence. U živých vzorků, jejichž buňky mohou být poškozeny excitačním světlem (fototoxická, photobleaching), nemusí být konfokální mikroskopie nejlepší možností. Nověji vyvinutou metodou optického krájení je dvou fotonová excitační mikroskopie (TPEM), která umožňuje zobrazování tlustších živých vzorků ve vysokém rozlišení [1].

#### 2.1.1 Princip TPEM

V konvenční konfokální laserové fluorescenční mikroskopii absorpce jednoho fotonu dodá dostatečnou energii fluoroforu k jeho excitaci. Z excitovaného stavu se fluorofor pomocí emitace fotonu fluorescence navrátí zpět do základního stavu. Tento postup způsobuje excitaci fluorescenčních barviv pod i nad rovinou zaostření, což má za následek rozmazání obrazu (Obrázek 2.1:1).

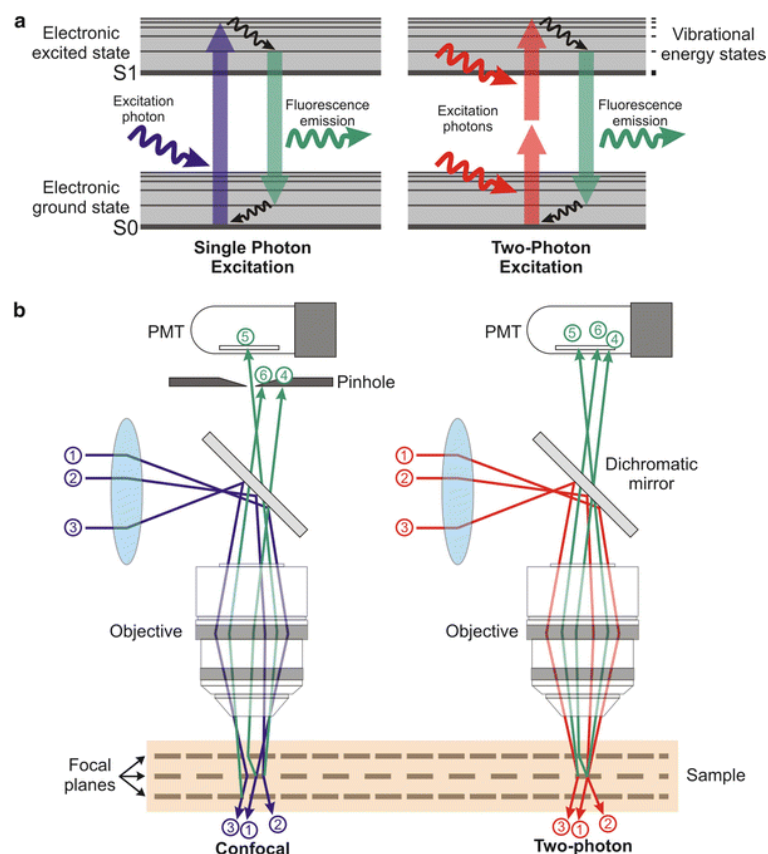


Obrázek 2.1:1: Distribuce fluoresceinové fluorescence při jedno fotonovou excitace (1P) a při dvou fotonové excitaci [2]

Dvou fotonová excitace nastává, když místo jednoho fotonu jsou vyslány dva fotony o delší vlnové délce a nižší energii, která společně dosahuje ekvivalentní energie jako u jednoho fotonu s vyšší energií. Tyto fotony jsou absorbované fluorofem, čímž ho přivádí do stavu excitace. Fotony musí být absorbovány téměř zároveň, a to v rozmezí attosekund [3]. Pravděpodobnost téměř současné absorpce dvou fotonů je extrémně nízká, je potřeba použít femtosekundový pulzní laser k zaostření do difrakčně omezeného bodu ( $<1 \mu\text{m}$ ) ve vzorku. To způsobí, že excitace nastane pouze v bodě zaostření, emitovaná fluorescence je tedy lokalizovaná v jednom bodu 3D prostoru.

Zaměření laseru na vzorek v laterální rovině je provedeno manuálně pohybem po ose  $x$  a  $y$ , automatizovaný  $z$ -focus motor zajišťuje postupné posouváním zaostření laseru v rovině  $z$ . Emise fluorescence jsou shromažďovány fotonásobiči v každém bodě skenování, aby byl vytvořen digitální obraz.

Hlavním nedostatkem jedno fotonové excitace je, že k absorpci světla dochází ve větší části vzorku. Štěrbina před detektorem zamezuje vniknutí fluorescenčních fotonů pocházejících mimo ohnisko. Kromě fotonů pocházejících mimo ohnisko štěrbina také zachycuje fotony pocházející z ohniska, které byly následně ve vzorku rozptýleny (Obrázek 2.1:2). Výsledný signál se tedy skládá pouze z nerozptýlených fotonů z ohniska. Tato neefektivita má za následek, že pro získání dobrého výsledného obrazu je potřeba použít vysoko výkonný laser, který může vzorek poškodit.



Obrázek 2.1:2: Princip TPEM (a) diagram zobrazující excitační proces pro jedno fotonovou (vlevo) a dvou fotonovou (vpravo) mikroskopii. (b) náčrt umístění laseru a detektoru pro systém konfokální (vlevo) se štěrbinou před detektorem a dvou fotonovou (vpravo) mikroskopem bez štěrbin [4]

U TPEM štěrbinu před detektorem není nutná, protože všechny emitované fotony (bez ohledu na to, jak se rozptýlí na své cestě k detektoru) přenášejí užitečný signál, jelikož všechny emitované fotony pocházejí z ohniska (Obrázek 2.1:2) [4].

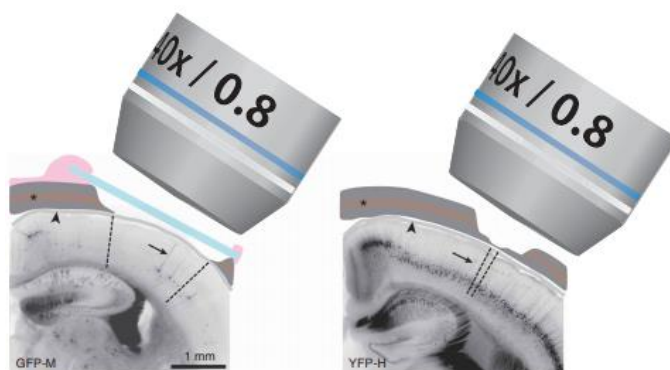
Data získaná z dvou fotonové mikroskopie jsou shromážděna a mohou být zobrazena v 3D prostoru, kde je možné analyzovat vlastnosti buněk jako je rychlost, kolokalizace, tvar, objem, počet, intenzita a barva. Přestože je dvou fotonová mikroskopie nákladná a analýza je časově náročná, poskytuje tato technika jedinečné časoprostorové informace, které jiné zobrazovací techniky nemohou získat.

Dvou fotonové mikroskopy jsou vhodné pro použití při zobrazování živých buněk. Jelikož využívají delších vlnových délek a nižší energie, způsobují menší poškození vzorku než lasery s krátkou vlnovou délkou, které se obvykle používají pro jedno fotonovou excitaci, takže buňky lze pozorovat po delší časové období se zanecháním méně škodlivých účinků. Zároveň vzhledem ke sníženému rozptylu infračerveného excitačního světla lze snímky získat několik sto mikronů hluboko v nativních tkáních (ve srovnání s  $<80 \mu\text{m}$  s konfokální mikroskopii), čímž je to velice výhodná metoda pro zobrazování vzorků *in vivo* [3] [5].

## 2.1.2 Příprava laboratorního zvířete

Aby bylo možno pozorovat mozkovou tkáň laboratorní myši dvou fotonovým mikroskopem je nutné k ní mít přístup. Dva nejpoužívanější způsoby pro dlouhodobé zobrazování *in vivo* je kraniální okénko a ztenčení lebky.

U kraniálního okénka se chirurgicky odstraní část lebky, dura mater se nechá neporušená a místo se zakryje sklem (Obrázek 2.1:3). Kraniální okno poskytuje vynikající optický přístup, který umožňuje opakované zobrazování s vysokým rozlišením. Velikost kraniotomie se pohybuje od ~ 0,8 do 12 mm<sup>2</sup>. Kraniální okénko je vhodné i pro větší zvířata, včetně potkanů a primátů. Ti na rozdíl od myší mají duru mater neprůhlednou, a proto musí být odstraněna. Kraniální okno zůstává jasné několik týdnů až měsíců, dokud opětový růst lebky od okrajů kraniálního okna a zesílení dury mater nezačne zhoršovat kvalitu obrazu. Délka viditelnosti skrz okno závisí na iniciální úspěšnosti operace. Ačkoli dlouhodobá optická čistota okna závisí na kvalitě operace, výsledky jsou někdy nepředvídatelné [6].



Obrázek 2.1:3: Schéma přípravy pro *in vivo* zobrazování. U kraniálního okna (vlevo) je kus lebky odstraněn (tmavě šedá) a je nahrazen sklem (modrá). Dura mater zůstává neporušená (světle šedá), okraje jsou přichyceny dentálním cementem. Ztenčení lebky (vpravo) se provádí pouze na malé ploše. Tato plocha se stává průhledná a zobrazení jde provádět skrz ni [6].

Druhou variantou je ztenčení lebky, kdy je nechána tenká opticky průsvitná vrstva kosti (Obrázek 2.1:3). Při procesu ztenčování zůstane pouze tenká část kosti, je odstraněno veškeré krevní zásobení, což způsobí postupné ztlušťování a otok, čímž se stává ztenčená část znovu neprůhledná. Ztenčení je proto nutné opakovat před každým měřením. To může mít za následek rozdíly v kvalitě zobrazení při různých měřeních. Navíc, kvůli rostoucí neprůhlednosti, se ztenčení může provádět maximálně dvakrát až třikrát. Proceduru lze však provést těsně před měřením, a proto intervaly mezi měřeními mohou být dlouhé třeba i několik měsíců nebo teoreticky i let.

Plocha ztenčené lebky je většinou  $\sim 0,1$  až  $0,3 \text{ mm}^2$ , pokud by byla procedura prováděna na větší ploše mohly by tenké nestabilní pláty kosti pohmoždit mozkovou kůru. Při práci s novorozeneckými myši, není doporučena tato metoda, jelikož jejich je lebka příliš křehká na ztenčení, proto je lepší vytvoření kraniálního okna [6].

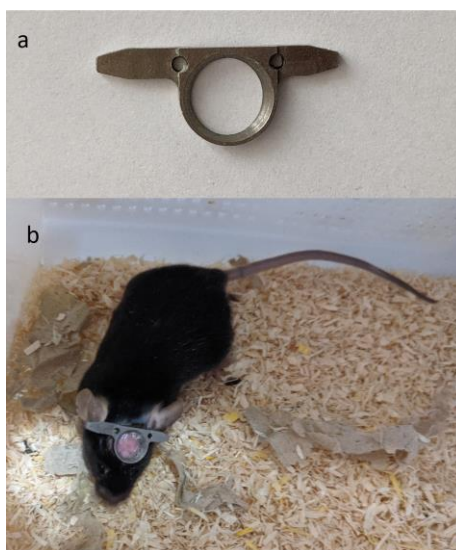
## 2.2 Současný systém

Současný systém používaný ve Fyziologickém ústavu AV ČR pro měření dvou fotonovým mikroskopem se skládá z několika částí. Je možno ho rozdělit na tři části fixační systém, anestetická a ohřevná část.

### 2.2.1 Fixační systém

Měření se provádí na laboratorních myších, u kterých byla provedena kraniotomie a bylo přiděláno kraniální oko neboli headset (

Obrázek 2.2:1). Tento headset je následně upevněn do držáku, který byl zhotoven z dílů Thorlabs Inc. a dílů vlastní výroby.

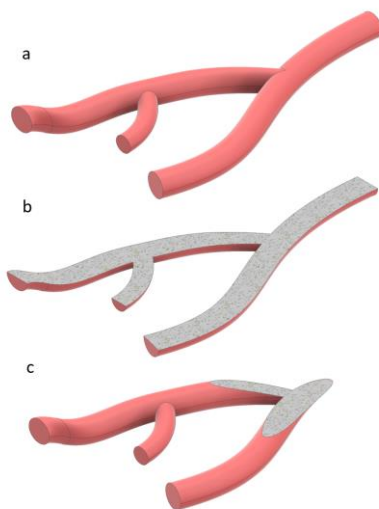


Obrázek 2.2:1: a) samostatný headset b) headset připevněný k laboratorní myši, vytvářející kraniální okno

Kraniální okno připevněné na laboratorní myši má dvě pacičky, které se upevňují do svorek na držáku. Jelikož naše kraniální okno se uchycuje pouze na zadní straně je nutné zajistit, aby celé zorné pole kraniálního okna bylo kolmé k ose mikroskopu.

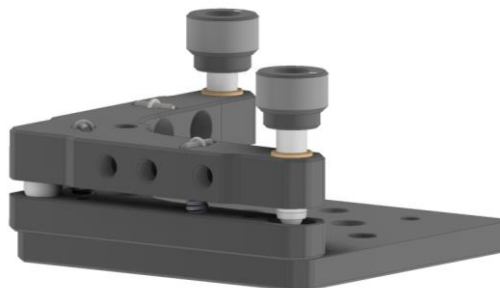
Při měření dvou fotonovým mikroskopem je zorné pole nastaveno manuálně v ose  $x$  a  $y$  a postupně se dělají snímky do hloubky v ose  $z$ . Jednotlivé řezy nám zobrazují pouze

2D obraz ze vzorku. Abychom získali obraz, který zachycuje co největší část cév a vlásečnic, musí být vzorek na polohován kolmo k ose mikroskopu. Pokud je nakloněný získané obrazy budou procházet pod úhlem skrz cévy a nebude získám dobrý obraz jejich rozvětvení (Obrázek 2.2:2).



Obrázek 2.2:2:a) 3D model cévy b) průřez cévy, když je kolmo k ose mikroskopu c) řez cévy, která je pod úhlem po mikroskopem

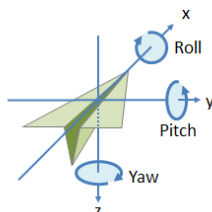
Fixační systém pro uchycení kraniálního okna seskládá ze dvou svorek, do kterých se upevňuje headset (Obrázek 2.2:5). Ty to svorky jsou přidělané ke kinetické platformě (Thorlabs Inc. KM200B/M) (Obrázek 2.2:3). Platforma se skládá ze dvou dílu a umožňuje náklon o  $\pm 3^\circ$ . Má tvar V, kde na koncích se nachází šrouby (80 TPI) a uprostřed ve špičce je kulový kloub. Vrchní díl je připevněný pomocí tří pružin, kde jedna je ve vrcholu a další dvě se nacházejí na v každém rameni.



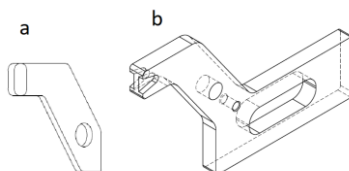
Obrázek 2.2:3: Platforma KM200B/M



Tento systém nese velkou nevýhodu, systém náklonů není nezávislý, není možné provést náklon pouze předozadní–pitch nebo pravolevý–roll (Obrázek 2.2:4), tyto pohyby jsou vždy propojené. Náklon tedy není proveden po osách, ale výsledný náklon je do kvadrantů mezi nimi. Propojení náklonů zabraňuje přesné nastavení kraniálního okna, tak aby bylo kolmé na osu mikroskopu.

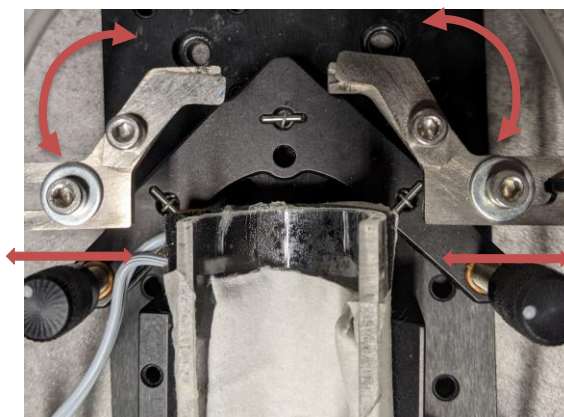


Obrázek 2.2:4: Rotační pohyby [7]



Obrázek 2.2:5: náčrt svorek uchycující headset

Svorky se skládají ze dvou dílů (Obrázek 2.2:5), headset je vložen do zobáčku ve svorce *b* a přichycen tlakem shora svorkou *a*. Svorka *b* má dva stupně volnosti (Obrázek 2.2:6), jeden rotační a jeden translační. Toto má za důsledek, že se při upevňování headsetu svorkou *a* je někdy vytvořena dostatečná rotační síla, která pohne i svorkou *b*, čímž se musí svorka *b* znovu upevnit na správnou pozici.



Obrázek 2.2:6: Svorky k připevnění headsetu a znehybnění pohybu hlavy laboratorní myši, šipky zobrazují stupně volnosti

Lůžko pro laboratorní myš je vyrobeno z průhledné PVC trubky, která je rozříznutá na půl. Vnitřní průměr trubky je 34 mm. Lůžko je umístěno za kinetickou platformu do V podstavce VC3C/M a přichyceno lepicí páskou. Hlava laboratorní myši je vyvedena před přední hranu lůžka a upevněna do svorek. Lůžko je fixované na podložku, při nastavování headsetu zůstává stacionární.

## 2.2.2 Anestezie

Pro anestezii při měření je použit isofluran. Isofluran je inhalační anestetikum, které obsahuje jeden atom chlóru a 5 atomů fluóru. Chemická stavba isofluranu, spolu s dalšími inhalačními anestetiky jako sevofluranem, desfluranem anebo enfluranem, je odvozena od étherů.

Podávání isofluranu je uskutečněno přes odpařovač *RWD isoflurane R540*. Odpařovač smíchá uvolněný isofluran s kyslíkem a ten je podáván laboratorní myši. Pomocí odpařovače je možné zajistit přesné dávkování. Pro uspávání je laboratorní myš nejdříve umístěna do uzavřené komory, do které je vpuštěno anestetikum. Účinek anestetika je velmi rychlý, při použití 5% isofluranových par zabírá anestezie přibližně do 2 minut. Po uspání je laboratorní myš přemístěna a uchycena do držáku pomocí headsetu připevněného na lebce. Po umístění je k ní přivedena anestezie pomocí obličejové masky, vyrobené z ustřižené injekční stříkačky a gumové rukavice (Obrázek 2.2:7). Masky je upevněná v držáku před laboratorním zvířetem. Držák je pevně upevněný k podložce před zvířetem a jeho pohyblivost je velice omezená.



Obrázek 2.2:7: Obličejová maska pro laboratorní myš vyrobená z ustřižené injekční stříkačky a gumové rukavice

Anestezie je prováděna polootevřeným okruhem, kdy do masky jednou stranou proudí anestetická směs (2,5-3% isofluranových par) a druhou stranou je odváděna nespotebovaná směs spolu s vydechnutými plyny. Tyto plyny jsou dále odváděny do kanystru s fluosorbentem.

Isofluran uvádí zvíře do celkové anestezie, zároveň má i analgetické účinky. Tyto účinky trvají pouze po dobu jeho podávání. Účinek isofluranu rychle odeznívá a zvíře se vrací do bdělého stavu do 3 minut po ukončení anestezie. [8]

### 2.2.3 Ohřev

Zahřívání laboratorní myši je zajištěno *Mean Well APV-16-12* napájecím zdrojem, který je připojen k vyhřívané podložce. Vyhřívaná podložka je upevněna pod lůžkem, na kterém je umístěna laboratorní myš. Zdroj neobsahuje žádný regulátor, který by zajistil přesnost teploty na výstupu.

### 2.2.4 Průběh měření

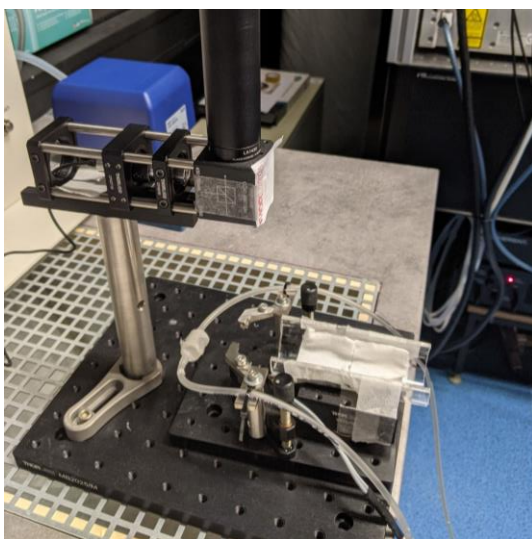
Laboratorní myš je umístěna do uzavřené komory propojené s *RWD R540 Mice&Rat Animal Anesthesia Machine* (Obrázek 2.2:8). Do komory je přiveden kyslík s isofluranem, jež laboratorní myš uspí. Poté je přemístěna na lůžko a upevněn její headset do držáku. Po přichycení do držáku je jí nasazena obličejová maska. Na anesteziologickém přístroji je následně přepnuto nastavení, aby anestetický plyn proudil do masky místo do komory.



Obrázek 2.2:8:RWD R540 Mice&Rat Animal Anesthesia Machine

Po připravení myši je držák umístěn pod laser, aby se seřídila poloha headsetu (Obrázek 2.2:9). Headset na laboratorní myši se musí seřídít do polohy kdy, je sklíčko kolmé na osu objektivu mikroskopu. Toto se provádí zářením laseru na headset a pozorováním odraženého světla. Pod laser se dá papír s malým vyříznutým otvorem, kterým projde paprsek laseru k myši a je pozorováno, kam se odražený paprsek promítne na papír. Poté se nastavuje držák laboratorní myši tak aby, odražený paprsek byl co nejbližší vysílanému paprsku.

Po seřízení headsetu je držák s laboratorní myší přemístěn pod dvou fotonový mikroskop, kde je provedeno měření.



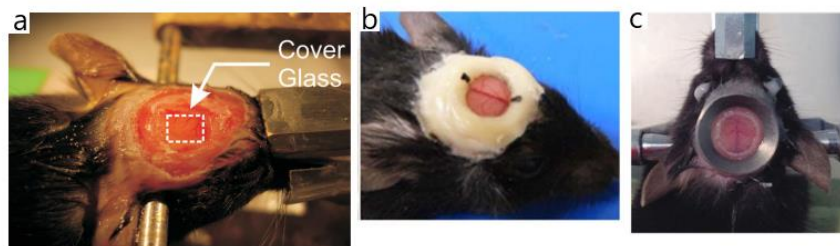
Obrázek 2.2:9: sestava pro seřízení headsetu laserem

## 2.3 Používané headsety

Měření skrz kraniální okno je často prováděný experiment, neexistuje však žádná ověřená metoda, která by měla lepší výsledky. Každý výzkumný tým má svůj postup a povětšinou i svůj headset, který připevňují na myš a následně pod mikroskop. Tyto headsety se vyskytují v různých formách a dají se zařadit do tří kategorií:

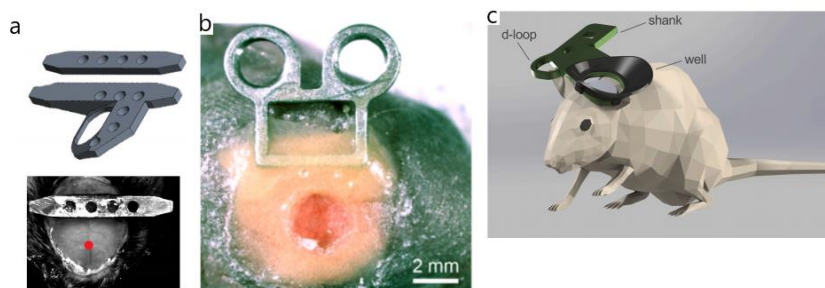
- Bez úchytů
- S jednostranným úchytem
- S oboustranným úchytem

Headsety bez úchytů jsou buď jen kraniotomie zakrytá sklíčkem [9], nebo je připevněn prsten okolo kraniotomie [10] [11] (Obrázek 2.3:1). U takovýchto headsetů je při měření upevněna hlava laboratorní myši do stereotaxické konstrukce.



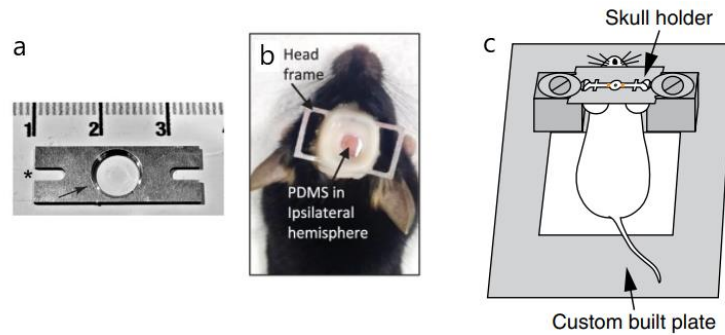
Obrázek 2.3:1: a) kraniotomie zakrytá pouze sklem [9], b) kraniotomie zakrytá sklem s vytvořeným prstenem z kyanoakrylátového lepidla a zubního cementu [11], c) kraniotomie s titanovým prstenem [10]

Headsety s jednostranným uchycením se připevňují na jedné od kraniotomie a vyskytují se dvě varianty takového uchycení (Obrázek 2.3:2). Headset je připevněn jen z důvodu uchycení laboratorního zvířete do držáku k měření [12] [13], nebo je headset spojený s oknem kraniotomie [12] [14]. Tyto headset jsou upevňovány do držáků vyrobených na míru k jednotlivým headsetům. U těchto headsetů bývá problém s nastavením kraniálního okna do roviny. Z těchto tří systémů dokáže upravit naklonění headsetu jen jeden.



Obrázek 2.3:2: a) jednostranné uchycení s oknem i bez okna okolo kraniotomie [12], b) jednostranné uchycení bez okna [13], c) jednostranné uchycení s oknem [14]

Headsety s oboustranným uchycením jsou takové, který jsou upevněné po obou stranách kraniotomie (Obrázek 2.3:3). Headset může mít formu kovové destičky s otvorem [15], kovové konstrukce [16], nebo může být vyrobený ze žiletek [17]. Jelikož tyto headsety mají uchycení po obou stranách kraniálního okna, okno je většinou kolmé na osu mikroskopu na není nutné ho dorovnávat. Nevýhodou se stává samotný headset, který je větší než ostatní varianty a může omezovat pohyb laboratorní myši mezi měřeními.



Obrázek 2.3:3: a) headset vyrobený na míru – kovová destička s otvorem [15], b) headset vytvořený z konstrukce [16], c) headset vytvořený ze žilettek [17]

## 2.4 3D tisk

3D tisk je metoda aditivní výroby pro výrobu široké škály struktur a třídimenzionálních geometrických modelů. Tento proces spočívá v tisku vrstev, které se navrší na sebe. 3D tisk zahrnuje různé metody, materiály a zařízení, v průběhu let se vyvíjel a transformoval výrobní a logistické procesy. Aditivní výroba je široce používána v různých průmyslových odvětvích, včetně stavebnictví, prototypování a biomechaniky.

Nové aplikace aditivní výroby se stále objevují stejně tak jako i nové materiály. Nedávný vývoj snížil náklady na 3D tiskárny, čímž rozšířil jeho aplikace ve školách, domácnostech, knihovnách a laboratořích. Zpočátku byl 3D tisk využíván převážně architektky a designéry k výrobě estetických a funkčních prototypů, jelikož to je rychlá a relativně levná metoda. 3D tisk je teď využívám k zhotovení prototypů nebo výrobků i v odlišných odvětví průmyslu.

Přizpůsobení produktů se stává velice snadné a relativně cenově nenáročné pomocí 3D tisku. To je zvláště užitečné v biomedicínské oblasti, kde jsou obvykle vyžadovány jedinečné produkty přizpůsobené pacientům. Rostoucí přizpůsobení 3D tisku do výrobního systému oproti tradičním technikám je zapříčiněno několika důvody, možnosti výroby složité geometrie s vysokou přesností, úspora materiálu, flexibility designu a možnost přizpůsobení výrobku. Existuje široká škála materiálů, které se v současné době používají při 3D tisku, ta zahrnuje kovy, polymery, keramiku a i beton.

Metody aditivní výroby byly vyvinuty, aby uspokojili poptávku tisku složitých struktur při jemném rozlišení. Rychlé prototypy, schopnost tisknout velké struktury, snižování tiskových vad a zlepšování mechanických vlastností jsou některé z klíčových faktorů, které vedly k vývoji aditivních metod. Nejběžnější metodou 3D tisku je modelování depozicí taveniny (FDM), která využívá převážně polymerní vlákna. [18] [19]

### 2.4.1 FDM – fused deposition modeling

U metody FDM se pro 3D tisk vrstev materiálů používá vlákno z termoplastického polymeru. Vlákno se zahřívá v trysce až dosáhne polotekutého stavu a poté je vytlačováno na plošinu nebo na povrch dřívě tištěných vrstev. Termoplasticita polymerního filamentu je základní vlastností této metody, která umožňuje filamentům spojit se dohromady během tisku a poté ztuhnout při pokojové teplotě po tisku. Tloušťka vrstvy, šířka, orientace vláken a vzduchová mezera jsou hlavní parametry, které ovlivňují mechanické vlastnosti tištěných dílů. Nízké náklady, vysoká rychlost a jednoduchost procesu jsou hlavními výhodami FDM. Na druhé straně slabší mechanické vlastnosti, vzhled viditelných vrstev a omezený počet termoplastických materiálů jsou hlavními nevýhodami FDM. [20]

### 2.4.2 Stereolithography (SLA)

SLA je jednou z prvních metod aditivní výroby, která byla vyvinuta v roce 1986. Využívá UV záření nebo paprsek elektronů k zahájení řetězové reakce ve vrstvě pryskyřice nebo roztoku monomeru. Monomery, které jsou převážně na akrylové nebo epoxidové bázi, jsou UV-aktivní a po aktivaci se okamžitě mění na polymerní řetězce. Po polymeraci vzor uvnitř vrstvy pryskyřice ztuhne, poté jsou na něj nanášeny další vrstvy. Po dokončení tisku se odstraní nezreagovaná pryskyřice. SLA tiskne vysoce kvalitní součásti s jemným rozlišením až 10  $\mu\text{m}$ . Na druhou stranu je to relativně pomalá metoda s vysokými náklady a rozsah materiálů použitelný pro tisk je omezený. SLA lze efektivně využít pro aditivní výrobu komplexních nanokompozitů [20].

### 2.4.3 Powder bed fusion

Proces *powder bed fusion* se skládá z tenkých vrstev prášku, které jsou rozprostřeny na platformě. Prášek v každé vrstvě je zataven laserovým paprskem nebo pojivem. Následující vrstvy prášků jsou nanášeny na předchozí vrstvy a zataveny dohromady, dokud není vytvořen finální 3D výrobek. Přebytek prášku se poté odsát a v případě potřeby je prováděno další zpracování, jako je potahování, spékání nebo infiltrace. Velikost, rozprostření a množství prášku ovlivňují hustotu tištěné části. Použití laseru je možné pouze s práškem, který má nízký bod tání, na prášky s vyšším bodem tání je potřeba použít tekuté pojivo. Jemné rozlišení a vysoká kvalita tisku jsou hlavními výhodami *powder bed fusion*, díky čemuž je vhodný pro tisk složitých struktur. Další výhodou této metody je, že *powder bed* je používána jako podpora, takže nenastávají potíže při odstraňování podpor tisku. Hlavní nevýhody *powder bed fusion* je jeho pomalý a cenově nákladný proces [20].

## 2.5 Parametry 3D tisku

### 2.5.1 Obvodové vrstvy/ tloušťka stěn

Perimetr neboli obvodové vrstvy definují minimální počet vertikálních vrstev (tloušťka stěny), který bude výrobek mít. Počet obvodových vrstev většinou řešíme u výrobků s výplní–infillem, kde vnitřek není dutý. Doporučené jsou dvě vrstvy, ale záleží na spoustě faktorů, jako je požadovaná pevnost výrobku, následné zpracování výrobku nebo cena jeho výroby.

Pokud je výrobek po tisku opracováván, jako například broušení pro docílení hladkého vzhledu, je dobré zvýšit počet obvodových vrstev. Broušením se ztenčí vnější stěna, proto aby nebyla narušena stabilita prvku je dobré zvýšit počet obvodových vrstev. To samé platí, pokud chceme zvýšit pevnost výrobku. Zvýšení počtu obvodových vrstev má ale negativní efekt na cenu a dobu tisku, protože je spotřebováno více materiálu na jeden výrobek než při standardním počtu vrstev.

Pro duté výrobky je nutné zvážit tloušťku stěn a jejich velikost. Možná tloušťka stěn závisí především na použitém materiálu. Pro nerezovou ocel a titan mohou být stěny tenké i 0,3 mm, pro běžnější materiály jako PLA, PETG nebo ABS je minimální tloušťka stěny 0,8 mm, ale doporučuje se 1 mm. Šířka stěny také záleží na velikosti výrobku, pro větší výrobky se nedoporučuje použití minimální tloušťky, jelikož by stěna nemusela udržet váhu struktury a mohla by zkolabovat.

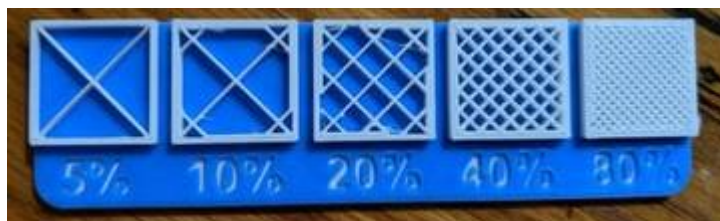
### 2.5.2 Infill a vzor

Výrobek je tvořený obvodovými vrstvami a infillem. Infill se nazývá vnitřek daného výrobku. U vrstev máme pouze jeden parametr, a to počet vrstev, infill má více parametrů. Nejdůležitější parametry jsou hustota zaplnění a vzor.

Hustota infillu značí procento zaplnění výrobku, kde dutý výrobek má 0 % a plný má 100 % (Obrázek 2.5:1). Toto má velký dopad na váhu výrobku. Krom váhy ovlivňuje infill také dobu tisku, spotřebu materiálu, vztlak a pevnost.

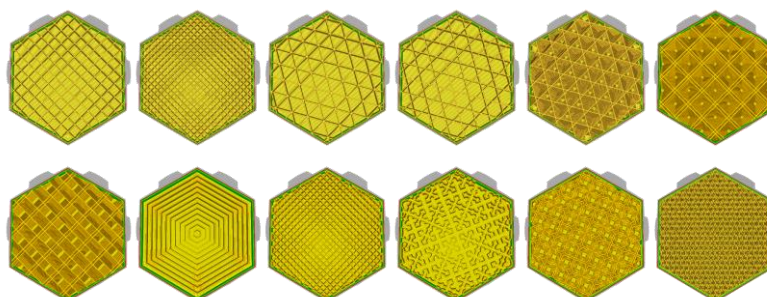
Standardně se používá infill 15-50 %. Toto nastavení udržuje krátkou dobu tisku, šetří potřebný materiál a zároveň poskytuje dostatečnou pevnost výrobku. Při tvorbě výrobků, které musí být odolné je dobré zvýšit procento infillu. Zvýšením procenta infillu se prodlouží čas tisku a zvýší se spotřeba materiálu, ale výsledný výrobek bude pevnější. Pro malé modely, které jsou pouze dekorativní je možné snížit procento infillu. To zároveň sníží i čas tisku a ušetří spotřebovaný materiál. Z těchto důvodů je nutné se zamyslet k jakým účelům je výrobek určený a podle toho vybrat procento infillu.





Obrázek 2.5:1: Hustota infillu [21]

Kromě procenta infillu je také důležitý jeho vzor, ve kterém je vytištěn (Obrázek 2.5:2). Struktura infillu může být od jednoduchých čar až po složité geometrické obrazce, které ovlivňují pevnost, váhu, flexibilitu a dobu tisku. Pro standartní tisky je doporučovaný vzor grid nebo triangles, pro funkční výrobky to jsou cubic, gyroid nebo octet, pro figurky nebo modely to jsou lines a pro flexibilní výrobky to jsou concentric a cross.



Obrázek 2.5:2: Vzory infillu zleva doprava: grid, lines, triangles, tri-hexagon, cubic, cubic (subdivision), octet, quarter cubic, concentric, zig-zag, cross, cross 3D, gyroid [22]

## 2.6 Spoje u 3D tištěných dílů

Některé 3D součástky jsou složeny z více dílů a je nutné k sobě připevnit a poté znovu rozebrat. V takových případech je několik způsobů, jak vytvořit toto spojení, je to pomocí tištěných závitů, závitových vložek, vyřezávaných závitů nebo samovrtných šroubů [23].

### 2.6.1 Tištěné závit

Tisknutí závitů odstraňuje potřebu dalších kroků po vytištění součástky a umožňuje rychlé sestavení dílů. Limitací tištěných závitů je v rozlišení používané tiskárny. Závit M5 a menší jsou nevhodné pro tisknutí pomocí FMD metody. Mezi výhody patří, že je možné vytvořit závit jakékoliv velikosti bez ohledu na standardy. Nevýhody tištěných závitů je jejich odolnost, při častém používání se rychle opotřebí.

## 2.6.2 Vyřezávané závity

Vyřezávání závitů se provádí pomocí vratidla se závitníkem, kdy se do předem vytvořené díly vyřezají závity. Je důležité, aby vratidlo bylo kolmé k materiálu, aby byly závity vytvořené rovnoměrně po obou stranách vytvořeného otvoru. Nevýhodou je stejně jako u tištěných rychlé ochození závitů.

## 2.6.3 Vsazované matice

Matice je vsazena do předem vytvořeného šestihhranného pouzdra, které zabraňuje rotačnímu pohybu. Pouzdra jsou velmi užitečná, protože nabízejí vysokou odolnost pro širokou škálu montážních systémů. Umožňují kombinovat designovou svobodu 3D tisku s pevností kovových závitů. Výhodami této metody je, že obsahuje snadno dostupné díly, při stržení závitu je jednoduchá výměna matice a zajišťuje pevný spoj, který má dlouhou životnost i při opakovaném používání. Nevýhoda je ta, že ne vždy je možné pouzdro vytvořit, zvláště u malých součástek.

## 2.6.4 Závitové vložky (zálisky)

Jednou z nejčastějších metod jsou inserty. Existuje velké množství typů insertů a to tepelných, lisovacích nebo roztažných. V 3D tisku se nejčastěji používají tepelné zálisky. V součástce je vytvořen otvor pro vložení zálisku, tento otvor je vždy menší než samotný zálisek, přesná velikost je určena výrobcem. Většina závitových vložek má jednu zúženou stranu, která se nasadí na vytvořený otvor, poté se tepelně nahřeje pájkou. Postupně jak se vložka zahřívá, taví okolní plast a je zapouštěna do materiálu. Vnější strana zálisku je rádlovaná, aby poté co je vložka zatavena do výrobku byla vytvořena lepší vazba mezi vložkou a okolním materiálem a bylo zabráněno uvolnění zálisku. Zálisky je možné sehnat od velikosti M2, proto jsou vhodné do malých dílů, kde je potřeba opakovaného připevnění částí.

## 2.6.5 Kontrola závitů

Kontrola vnitřních závitů se provádí pomocí závitových válečkových kalibrů. Kalibr má dvě strany jednu dobrou a druhou zmetkovou. Dobrá strana, by měla jít volně zašroubovat rukou v jeho celé délce do kontrolovaného závitu. Zmetková strana má zkrácený profil, takže měří jen malou část boku závitu. Zmetkový trn je přípustné lehce zašroubovat rukou z obou konců do závitu obrobku ne více než v rozsahu dvou otáček. Zmetkový závitový trn nesmí projít závitem, jehož délka má pouze tři nebo méně stoupání [24].

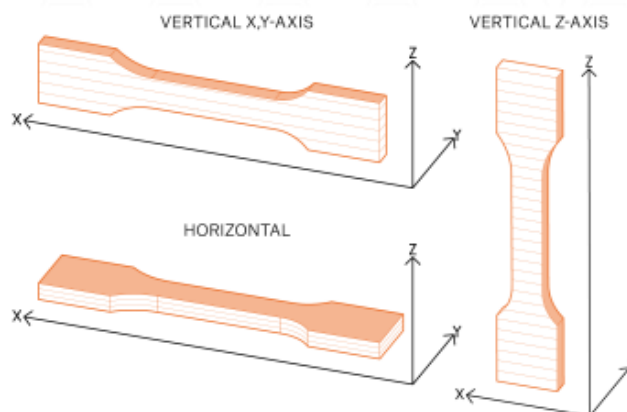


Obrázek 2.6:1: Závitový válečkový kalibr

## 2.7 Materiály používané pro 3D tisk

Polymery jsou považovány za nejběžnější materiály v odvětví 3D tisku díky své rozmanitosti a snadné adaptivitě do různých procesů 3D tisku. Polymery pro aditivní výrobu existují v několika formách, jako například termoplastických vláken, reaktivních monomerů, pryskyřice nebo prášku. Výrobky z čistého polymeru vyráběné 3D tiskárnami používají často pro koncepční prototypy kvůli tomu, že materiál většinou není dostatečně pevný. [19]

Mechanické vlastnosti vytištěných plastů se zkouší podle dvou norem, ISO 527-1 a ISO179-1. Kde první norma se mimo jiné zaměřuje na napětí na mez kluzu, modul pružnosti v tahu a prodloužení na mezi kluzu a druhá na rázovou houževnatost Charpy. Podle normy ISO 527-1 je materiál zkoumán na vytištěném modelu se 100% infillem (Obrázek 2.7:1).



Obrázek 2.7:1: Model pro materiálové zkoušky podle ISO 527-1

## Modul pružnosti v tahu

Modul pružnosti v tahu neboli Youngův modul pružnosti je materiálová konstanta, která je specifická pro rozdílné materiály. Je dána poměrem mezi napětím a deformací.

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (2.1)$$

, kde  $E$  je modul pružnosti v tahu [Pa],  $\sigma$  je napětí v tahu [Pa] a  $\varepsilon$  je poměrná deformace.

## Napětí na mezi kluzu

Mez kluzu je hodnota napětí, do které materiál prodělává elastickou deformaci, nad tuto mez probíhá deformace plastická.

$$R_e = \frac{F_e}{S_0} \quad (2.2)$$

, kde  $R_e$  je napětí na mezi kluzu [MPa],  $F_e$  je zatěžující síla na mezi kluzu [N] a  $S_0$  je počáteční průřez vzorku [mm<sup>2</sup>]

### 2.7.1 PLA – polylactic acid

Nejčastěji používaným filamentem pro 3D tisk je PLA. Je lehce tisknutelný, biologicky odbouratelný a výrobky z něho jsou velmi tvrdé. Jelikož je PLA tvrdý je zároveň také křehký. Má nízkou tepelnou roztažnost, proto se hodí pro tisk detailních modelů a velkých objektů, kvůli nízké roztažnosti se při tisku nekroučí. [25]

Tabulka 1: Mechanické vlastnosti pro PLA

Vlastnosti / směr tisku	Horizontální	Vertikální X, osa Y		Vertikální osa Z	Metoda
Modul pružnosti v tahu [GPa]	2,2 ± 0,1	2,4 ± 0,1		2,3 ± 0,1	ISO 527-1
Napětí na mezi kluzu [MPa]	50,8 ± 2,4	59,3 ± 1,9		37,6 ± 4,0	ISO 527-1
Prodloužení na mezi kluzu [%]	2,9 ± 0,3	3,2 ± 0,1		1,9 ± 0,3	ISO 527-1
Rázová houževnatost Charpy [kJ/m <sup>2</sup> ]	12,7 ± 0,7	13,7 ± 0,7		5,0 ± 1,4	ISO 179-1

## 2.7.2 PET/PETG Polyethylene terephthalate/ glycol-modified

PETG je univerzální materiál, který je často využíváný k tisku mechanických částí. Stejně jako PLA má PETG malou tepelnou roztažnost. PETG je houževnatý materiál a tím pádem je méně křehký je také více flexibilní než PLA. PETG je hydrokopický, a proto je nutné ho uchovávat v suchém a chladném místě. [25]

Tabulka 2:Mechanické vlastnosti pro PETG

Vlastnosti / směr tisku	Horizontální	Vertikální X, osa Y	Vertikální osa Z	Metoda
Modul pružnosti v tahu [GPa]	$1,5 \pm 0,1$	$1,5 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,1$	ISO 527-1
Napětí na mezi kluzu [MPa]	$47,0 \pm 2,0$	$50,0 \pm 1,0$	$30,0 \pm 5,0$	ISO 527-1
Prodloužení na mezi kluzu [%]	$5,1 \pm 0,1$	$5,1 \pm 0,1$	$2,5 \pm 0,5$	ISO 527-1
Rázová houževnatost Charpy [kJ/m <sup>2</sup> ]	Úplné přerušeni	Bez přerušeni	$5,0 \pm 1,0$	ISO 179-1

## 2.7.3 ABS – Acrylonitrile butadiene styrene

ABS je pevný materiál s dobrou tepelnou odolností. ABS má vyšší tavnou teplotu než PLA. Jeho tisk je komplikovanější než PLA a PETG. Je odolný vůči nárazům a opotřebením díky příměsi syntetického kaučuku. ABS je rozpustný v acetonu, je tedy možné natřít acetonem dvě plochy a spojit je. Také se tato vlastnost dá využít pro opracování vnějšího vzhledu. Pokud se výrobek dá do acetonových par jeho povrch se vyhladí. Tisk výrobků z ABS doprovází nepříjemný zápach. [25]

Tabulka 3:Mechanické vlastnosti pro ABS

Vlastnosti	Hodnota	Metoda
Modul pružnosti v tahu [GPa]	2,4	ISO 527-1
Napětí na mezi kluzu [MPa]	45,0	ISO 527-1
Prodloužení na mezi kluzu [%]	20,0	ISO 527-1
Rázová houževnatost Charpy [kJ/m <sup>2</sup> ]	11,0	ISO 179-1

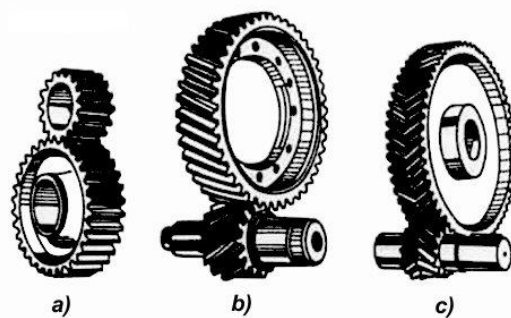
## 2.8 Převodový mechanismus

Převodový mechanismus neboli převod zajišťuje transformaci pohybu a přenos sil mezi vstupním a výstupním členem. Ozubené kolo je těleso, které má po obvodu rovnoměrně rozložené zuby. Převody dělíme na jednoduché a složené, kde jednoduché obsahují pouze pastorek a ozubení kolo. Složené převody mají více ozubených kol zároveň v záběru.

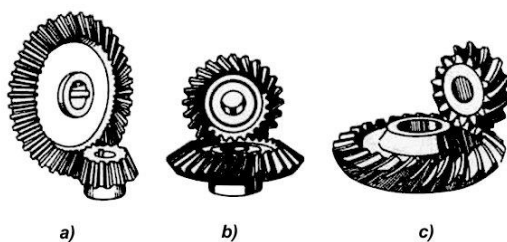
Ozubená kola můžeme rozdělit do kategorií podle vzájemné polohy os:

- převody s rovnoběžnými osami – čelní soukolí
- převody s různoběžnými osami – kuželové soukolí
- převody s mimoběžnými osami – šnekové a šroubové

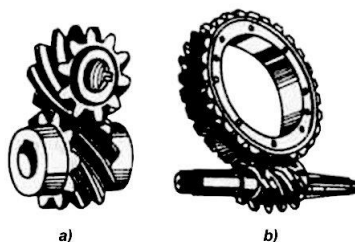
Jednotlivé kategorie můžeme následovně ještě dělit podle druhu zubů. Převody čelní mohou mít přímé, šikmé nebo šípové zuby (Obrázek 2.8:1). U převodů s kuželovým soukolím mohou být zuby přímé, šikmé nebo kruhové (Obrázek 2.8:2). V poslední kategorii najdeme převody šnekové a šroubové (Obrázek 2.8:3).



Obrázek 2.8:1:Ozubené soukolí se zuby a) přímými b) šikmými c) šípovými [26]



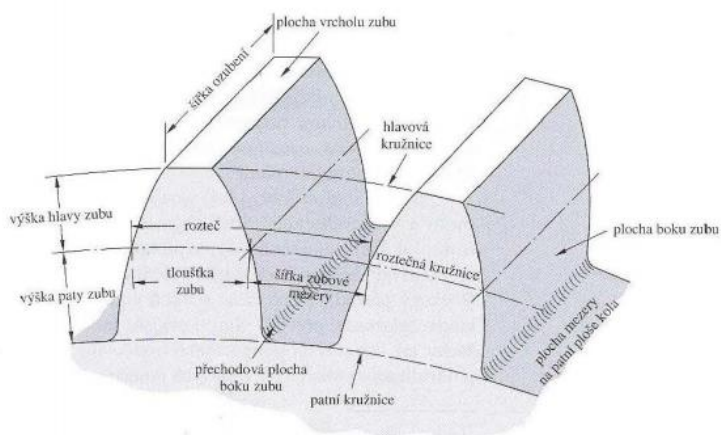
Obrázek 2.8:2: Ozubené soukolí a) přímými b) šikmými c) kruhovými zuby [26]



Obrázek 2.8:3: Ozubené soukolí a) šroubové b) šnekové [26]

### 2.8.1 Základní pojmy

Ozubená kola mají několik definujících parametrů (Obrázek 2.8:4), jako roztečná kružnice, rozteč, modul, počet zubů, úhel záběru a typ zubu.



Obrázek 2.8:4: Názvosloví ozubených převodů [27]

Roztečná kružnice se zachází mezi hlavovou a patní kružnicí, kde hlavová je opsaná kružnice tělesa a patní vymezuje patu zubu. Roztečné kružnice spoluzabírajících kol se dotýkají.

Úhel záběru je úhel mezi normálou ke střednici a čarou záběru. Obvykle se používá úhel  $20^\circ$ .

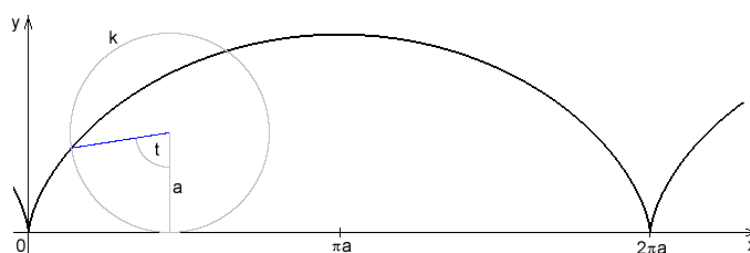
Modul je definován jako poměr rozteče ku číslu  $\pi$ , nebo jako poměr roztečné kružnice a počtu zubů.

$$m = \frac{d}{z} = \frac{p}{\pi}, \quad (2.3)$$

, kde  $m$  je modul,  $d$  je průměr roztečné kružnice,  $z$  je počet zubů a  $p$  je rozteč.

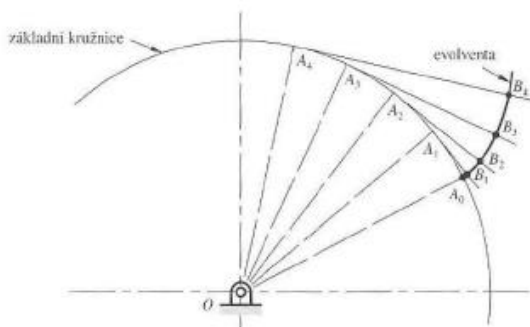
Převod se skládá z minimálně dvou ozubených kol, kde kolo poháněné vnější silou se nazývá hnací kolo neboli pastorek a kolo roztáčené hnacím kolem je kolo hnané. Ozubená kola, které spolu interagují musí mít stejný modul a stejnou geometrii zubů – boky zubů musí mít tvar stejných křivek. Dva nejpoužívanější profily zubů jsou tvořeny cykloidní křivkou a evolventní křivkou. [28]

Cykloida je křivka, tvořena bodem na kružnici valící se přímce. Tento tvar zubů je často používám v hodinách.



Obrázek 2.8:5: Cykloida

Evolventa je křivka, kterou tvoří bod přímky, která se odvaluje po kružnici. Tento profil zubů je nejpoužívanější zejména kvůli jeho jednodušší výrobě než ozubená kola s cykloidním profilem.



Obrázek 2.8:6: Evolventa



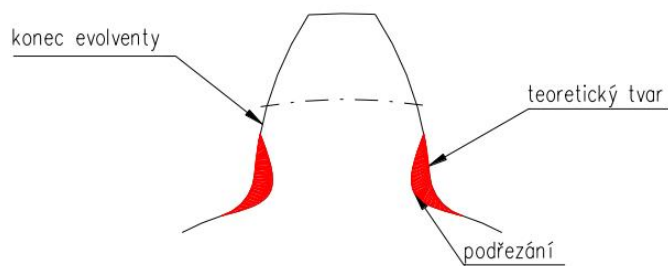
Velikost převodu vyjadřuje veličina převodový poměr  $i$ :

$$i = \frac{z_2}{z_1} = \frac{D_2}{D_1} = \frac{n_1}{n_2} \quad (2.4)$$

, kde  $i$  je převodový poměr  $z_1$  je počet zubů pastorku,  $z_2$  je počet zubů hnaného kola,  $D_1$  je průměr hnacího kola,  $D_2$  je průměr hnaného kola,  $n_1$  jsou otáčky hnacího kola a  $n_2$  jsou otáčky hnaného kola.

## 2.8.2 Podřezání zubů

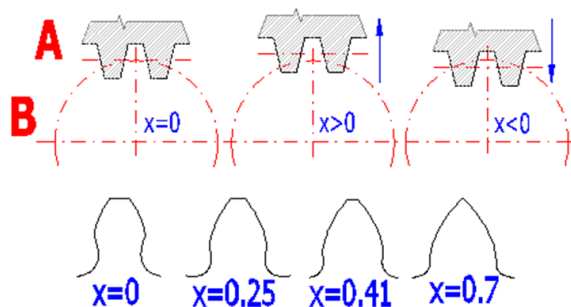
Podříznutí ozubených kol nastává, když je u paty méně materiálu, než by mělo být podle evolventní křivky. To se může nastat, buď při výrobě, když dojde k rušení mezi nástrojem pro řezání zubů a ozubeným kolem nebo mezi dvěma ozubenými koly. Když je podříznutí velké, kořen ozubeného kola se zužuje a forma zubu se oslabuje v pevnosti v ohybu [29].



Obrázek 2.8:7: Podřezání zubu [29]

Hlavním důvodem, proč může dojít k podříznutí, je to, že při řezání ozubeného kola s malým počtem zubů (u standardního ozubeného kola s tlakovým úhlem  $20^\circ$  počet zubů  $z = 17$  nebo méně) přesáhne špička řezného nástroje za bod interference.

Aby se zabránilo podřezávání beze změny počtu zubů, používá se metoda zvaná korekce ozubení (Obrázek 2.8:8). Korekce ozubení znamená změnu hloubky ponoření řezného nástroje a v případě podříznutí se použije pozitivní posun profilu. V tomto případě se pata zubu ozubeného kola zesílí. Rozsah pozitivního posunu profilu je omezen a je třeba postupovat opatrně, protože když je posun nadměrně ( $x = +0,5$ ), špička zubu je špičatá [30].

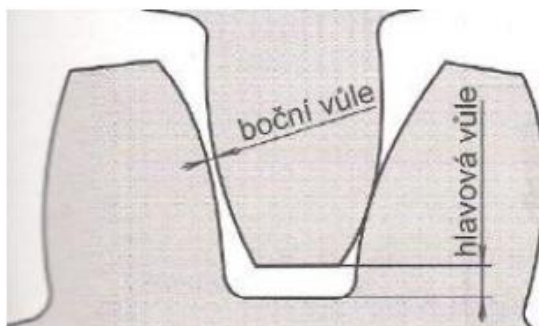


Obrázek 2.8:8: Na horním obrázku jsou možnosti korekcí, kde A je výrobní stroj, B je vyráběné kolo a  $x$  značí pozitivní/negativní korekci. Spodní obrázek zobrazuje tvary zubu po korekci o velikosti  $x=0$ ,  $x=0,25$ ,  $x=0,41$ ,  $x=0,7$  [31]

### 2.8.3 Vůle

Teoreticky by zuby ozubeného kola měly běžet společně bez zdatelné vůle. Z praktického hlediska je to však nemožné z několika důvodů: 1. Kola by musela být dokonale vyrobena bez jakékoliv tolerance. 2. Pro hladký pohyb jsou kola mazána, a proto je potřeba vůle mezi nimi, aby se mezi ně vešlo mazivo. 3. Teplota způsobená rychlostí, třením a dalšími faktory ovlivňuje velikost kola. S ohledem na tyto podmínky je nutné poskytnout určitou míru volnosti mezi zuby, tak aby se při provozu nedrhly.

Rozeznáváme dvě hlavní vůle – boční vůli a hlavovou neboli radiální vůli (Obrázek 2.8:9). Kde boční vůle udává, o kolik je větší prostor mezi zuby než šířka jednoho zubu a hlavová je vzdálenost mezi hlavou zubu hnaného kola a patou hnacího.



Obrázek 2.8:9: Boční a hlavová vůle [32]

## 2.8.4 Pevnost ozubených kol

U ozubených kol se podle normy ČSN 01 4686 hodnotí únosnost zubů v ohybu a únosnost boků zubů v dotyku. Únosnost v ohybu je přijatelná, pokud je napětí v ohybu  $\sigma_F$  menší nebo rovno přípustnému napětí v ohybu  $\sigma_{FP}$  nebo součinitel bezpečnosti v ohybu  $S_F$  je větší nebo rovný minimálnímu součiniteli bezpečnosti v ohybu  $S_{Fmin}$ . Překročení meze únosnosti v ohybu má za následek vylomení zuby.

$$\sigma_{F0} = \frac{F_t}{b \cdot m_n} \cdot Y_F \cdot Y_S \cdot Y_B \cdot Y_\beta \cdot Y_{DT} \quad (2.5)$$

$$\sigma_F = \sigma_{F0} \cdot K_A \cdot K_V \cdot K_{F\beta} \cdot K_{F\alpha} \quad (2.6)$$

, kde  $\sigma_{F0}$  je jmenovité napětí v patě zuby,  $K_A$  je faktor vnějších dynamických sil,  $K_V$  je faktor vnitřních dynamických sil,  $K_{F\beta}$  je faktor nerovnoměrnosti zatížení zubů po šířce,  $K_{F\alpha}$  je faktor podílu zatížení jednotlivých zubů,  $F_t$  je jmenovité obvodové zatížení na referenčním válci,  $b$  je šířka ozubení,  $m_n$  je normálový modul,  $Y_F$  je faktor tvaru zuby,  $Y_S$  je faktor koncentrace napětí,  $Y_\beta$  je faktor úhlu sklonu zuby,  $Y_B$  je faktor tloušťky věnce a  $Y_{DT}$  je faktor paty zuby.

Únosnost v dotyku je přijatelná, pokud je napětí v dotyku  $\sigma_H$  menší nebo rovno přípustnému napětí v dotyku  $\sigma_{HP}$  nebo součinitel bezpečnosti v dotyku  $S_H$  je větší nebo rovný minimálnímu součiniteli bezpečnosti v dotyku  $S_{Hmin}$ . Při překročení únosné meze v dotyku nastává tzn. pitting.

$$\sigma_{H0} = Z_H \cdot Z_E \cdot Z_\varepsilon \cdot Z_\beta \cdot \sqrt{\frac{F_t}{d_1 \cdot b} \cdot \frac{i+1}{i}} \quad (2.7)$$

$$\sigma_{H1} = Z_B \cdot \sigma_{H0} \cdot \sqrt{K_A \cdot K_V \cdot K_{H\beta} \cdot K_{H\alpha}} \quad (2.8)$$

$$\sigma_{H2} = Z_D \cdot \sigma_{H0} \cdot \sqrt{K_A \cdot K_V \cdot K_{H\beta} \cdot K_{H\alpha}} \quad (2.9)$$

, kde  $\sigma_{H0}$  je jmenovité napětí v dotyku v roztečném bodě,  $Z_B$  je faktor dotyku jedné dvojice zubů pastorku,  $Z_D$  je faktor dotyku jedné dvojice zubů kola,  $K_A$  je aplikační faktor,  $K_V$  je dynamický faktor,  $K_{H\beta}$  faktor podélného zatížení pro napětí dotyku,  $K_{H\alpha}$  faktor obvodového zatížení pro napětí dotyku,  $Z_H$  je faktor zóny,  $Z_E$  je faktor elasticity,  $Z_\varepsilon$  je faktor poměrného dotyku,  $Z_\beta$  je faktor sklonu boku zubů,  $F_t$  je jmenovité obvodové zatížení,  $b$  je šířka ozubení,  $d_1$  je referenční průměr pastorku a  $i$  je poměr zubů  $z_2/z_1$ . [33]

### 3 Cíle práce

Cílem mé práce je vypracovat kompletní řešení fixace laboratorní myši pro měření dvou fotonovým mikroskopem. Současné řešení umožňuje náklon myši pouze ve třech rovinách, aby bylo dosaženo přesných měření je nutné zajistit náklon ve všech směrech. Při umožnění náklonu do všech stran je možné zajistit, aby kraniální okno zkoumané myši bylo kolmé na osu laseru v mikroskopu. Při zajištění kolmé roviny bude, možné pozorovat většího pole cévního zakončení v mozku laboratorní myši.

Jelikož se měření provádí na živých zvířatech je nutné zajistit přísun anestezie po dobu mikroskopie. Měřené zvíře je laboratorní myš a je nutné zajistit přilnavou koncovku anestezie k jejím dýchacím cestám. Prívod anestezie musí být jednoduše oddělitelný od fixačního systému pro jednoduchý přístup k laboratorní myši, tak aby nebyla porušena stabilita fixačního systému.

Další cíl mé práce je navrhnout ohřev experimentálního zvířete, který bude zajišťovat teplotu  $37 \pm 0,5$  °C s přesností 0,1 °C, aby laboratorní myš v anestetizovaném stavu neztrácela tělesnou teplotu.

Celý systém uchycení musí být vyroben z materiálu, který je odolný působení inhalačních anestetik a zároveň musí umožňovat snadnou povrchovou dezinfekci.

Jako poslední cíl je provést analýzu funkčnosti navrženého systému a porovnání se stávajícím systémem.

## 4 Metody

Návrh nového fixačního systému byl proveden ve spolupráci s Fyziologickým ústavem AV ČR, pro výzkum *Vývojové epileptologie*. Jedna z podmínek pro nový systém byla jeho kompatibilita se současně používaným headsetem.

Systém se skládá z pěti základních dílů – podstavce, dvou rotačních dílů, svorek přichycující headset a lůžka. Pro úplné složení systému je také zapotřebí hřídel, zálistky a ozubená kola.

Návrh byl vytvořen v programu *Autodesk Inventor Professional 2021*. Autodesk Inventor je parametrický, adaptivní 3D modelář – softwarová CAD aplikace firmy Autodesk. Základ konstruování v Inventoru tvoří součásti, jejichž geometrie může být odvozena od parametrických 2D náčrtů. [34]

### 4.1 Fixační systém

První fáze projektu, bylo vymyslet, jak bude nový fixační systém vypadat, tak aby splňoval všechny podmínky. Pro splnění podmínky náklonu systému do všech směrů byl vymyšlen systém dvou propojených půlkruhů (Obrázek 4.1:1). Základní myšlenka je propojení dvou půlkruhů k zajištění náklonu v jednom určeném bodě, s tím že jeden půlkruh (rotační díl *A*) bude zajišťovat pitch a druhý roll (rotační díl *B*). Druhý půlkruh bude zapuštěn v prvním, takže bude přenesen pitch a sám bude zároveň schopný zajišťovat pohyb roll. Oba půlkruhy mají stejný bod otáčení, v tomto bodě bude umístěn střed headsetu. Pohyb dílů je zajištěn pomocí převodu.



Obrázek 4.1:1: Půlkruhy zapuštěné v sobě, mající stejný bod otáčení – červený bod. Rotační díl *A* zajišťuje pitch, rotační díl *B* roll.

### 4.1.1 Rotační díly

Pohyb dílů je řešen pomocí převodů. Pro funkčnost návrhu je nutné zajistit jemnost převodu, aby bylo možné udělat dostatečně malý krok náklon.

Jelikož náš systém je celkem malý a je potřeba velký převodový poměr, byly zvoleny komerčně dostupné kovové pastorky.

Zvolená ozubená kola mají modul 0,5, pastorky pro oba rotační díly mají 12 zubů – nejmenší běžně dostupná ozubená kola. Rotační díl *A* má zubů 264, což jeho převodový poměr dělá 22 (rovnice 4.1). Rotační díl *B* má 216 zubů činící jeho převodový poměr 18.

$$i = \frac{z_2}{z_1}, \quad (4.1)$$

$$i = \frac{264}{12} = 22$$

$$i = \frac{216}{12} = 18$$

, kde *i* je převodový poměr  $z_1$  je počet zubů pastorku a  $z_2$  je počet zubů ozubeného kola.

Důležitý parametr, který je potřeba vědět, je vzdálenost os ozubených kol, která se vypočítá pomocí rovnice 4.2

$$D = m \frac{z_1 + z_2}{2}, \quad (4.2)$$

, kde *D* je vzdálenost os ozubených kol, *m* je modul,  $z_1$  je počet zubů pastorku a  $z_2$  je počet zubů ozubeného kola.

Podle vztahu 4.2 byla vypočítána osová vzdálenost ozubených kol rotačního dílu *A* a jeho pastorku, která vyšla  $D=69$ . Osová vzdálenost rotační díl *B* jeho pastorku vyšla  $D=57$ .

Tvorba převodů byla provedena přes funkci *Design Spur Gear* v *Inventoru*. Při tvorbě ozubení je nutné dát si pozor, protože tato metoda vytváří zjednodušená ozubená kola podle Wellmenova Odontographu. Zuby s tímto profilem jsou dobré pro ilustrace ozubených kol, ale jako ozubená kola nefungují, protože profily zubů hnacího a hnaného do sebe přesně nezapadají. Je tedy z návrhu nutné vyexportovat tvar zubů, abychom získali evolventní profil zubů. Kupovaný pastorek má evolventní profil, z toho důvodu musí mít stejný profil i námi vymodelované ozubené kolo.

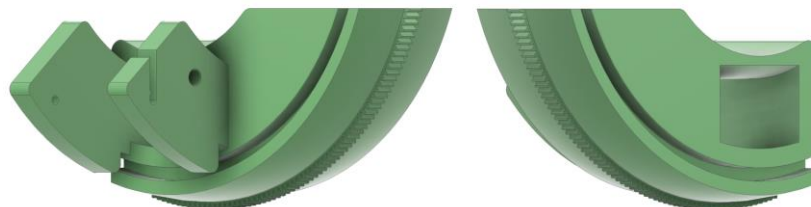
Dále bylo nutné zjistit o kolik stupňů je otočí rotační díly při jedné celé otočce pastorku. Podle vztahu 4.3 se při otočení hnacího kola o  $360^\circ$  se hnané kolo otočí přibližně o  $16,4^\circ$ . Pro rotační díl  $B$  je to  $20^\circ$ . Tyto hodnoty jsou důležité pro uživatele, aby si byly vědomy jaký přenos mezi ozubenými koly nastává.

$$x = \frac{360}{z_2} \cdot z_1 \quad (4.3)$$

$$x = \frac{360}{264} \cdot 12 \approx 16,4^\circ$$

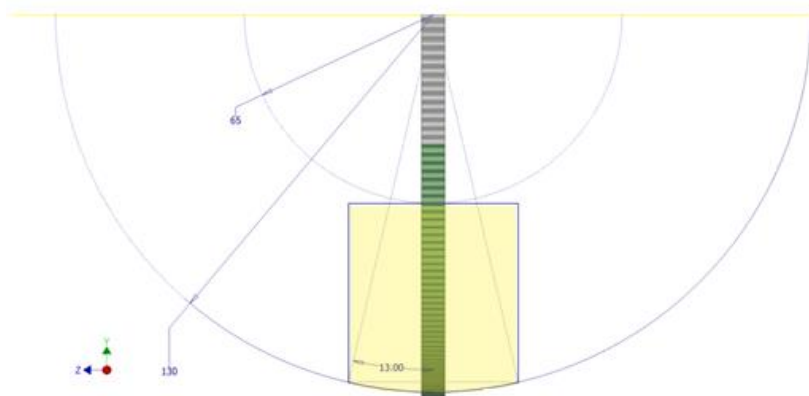
$$x = \frac{360}{216} \cdot 12 = 20^\circ$$

**Rotační díl A (výkres se nachází v příloze B)**



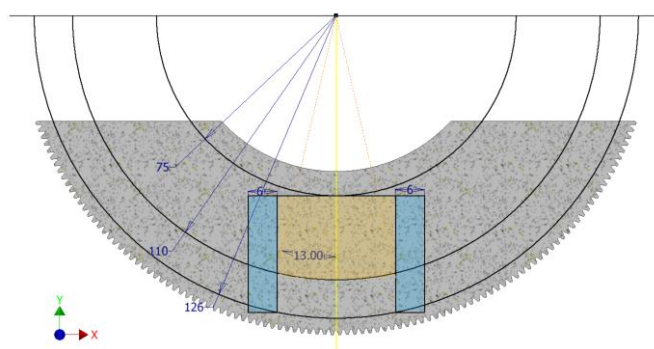
Obrázek 4.1:2: rotační díl A umožňující pitch

Jak již bylo řečeno nejdříve byla navrhnutá ozubená kola, okolo nich se následně navrhnul zbytek dílu. Ozubené kolo pro tento díl má modul 0,5, roztečná kružnice má průměr 132 mm a vzdálenost os kola a pastorku je 69 mm.



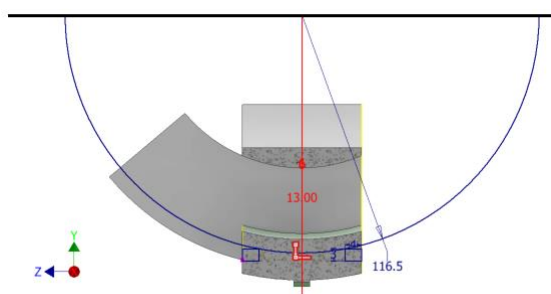
Obrázek 4.1:3: Náčrt základní geometrie rotačního dílu A

Díl byl vytvořen pomocí soustředných kružnic o průměrem 130 mm a 65 mm (Obrázek 4.1:3). Dále byl vytvořen obdélník, kde jeho jedna strana byla tečnou menší kružnice a rohy byly umístěny na kružnici druhé. Obdélník je symetrický podle osy  $y$ , s tím, že rohy jsou  $13^\circ$  od osy. Následně byla vybrána plocha obdélníku a část kruhové výseče, tento 2D obrazec byl vytažen do 3D podoby rotací kolem osy  $z$ .



Obrázek 4.1:4: Náčrt rotačního A dílu ze strany: žlutá – tvar otvoru pro rotačního dílu B, modrá – křídla

Následně byl v boku vytvořen otvor pro rotační díl B a křídla (Obrázek 4.1:4). Otvor byl sestaven ze dvou soustředných kružnic (průměr 110 a 75 mm) se stejným středem jako první dvě kružnice. Byl vytvořen obrazec podobný pro vytvoření základního dílu. Strany byly rozšířeny, aby vytvořily křídla o šířce 6 mm. Tyto křídla drží hřídel s pastorkem pro rotační díl B a také jeho aretační systém. Aretace rotačního dílu B dílu je prováděna pomocí vytvoření tlaku od rýhovaného šroubu. Šroub je zasazený v závitové vložce velikosti M3 (Příloha A), která se nachází ve křídle, pro upevnění vložky je potřeba minimální hloubka 5,3 mm.

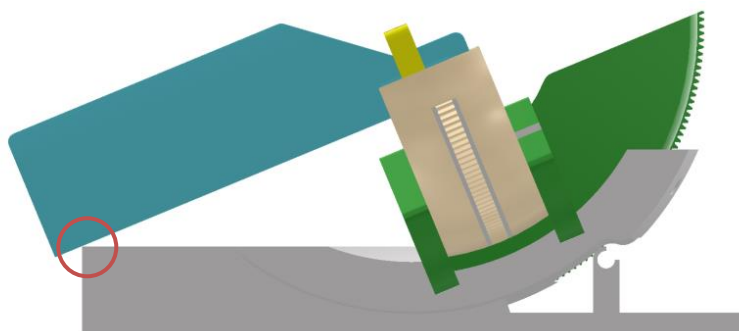


Obrázek 4.1:5: Náčrt pro výřez vedení na rotačním dílu A



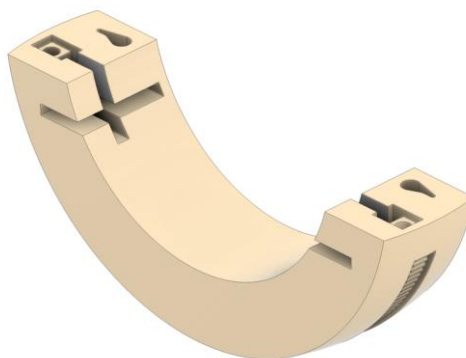
Dále byly vyříznuty drážky pro vedení, které se nachází v podstavci (Obrázek 4.1:5). Mezi poslední úpravy tohoto dílu bylo jeho zmenšení na čtvrtkuh, místo půlkruhu. Tato úprava, byla provedena, aby nenastala kolize s lůžkem, které se nachází v zadní části držáku.

Rotace dílu je omezena lůžkem, při náklonu může být dosaženo maximální rotace  $22,5^\circ$  než zadní část lůžka narazí na podstavec (Obrázek 4.1:6).



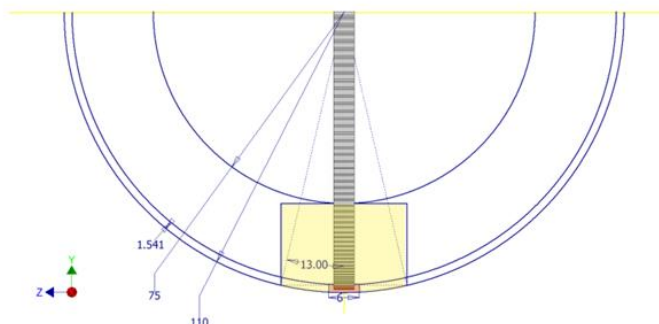
Obrázek 4.1:6: Maximální rotace dílu, aniž by nastala kolize podstave – lůžko

### **Rotační díl B (výkres se nachází v příloze B)**



Obrázek 4.1:7: rotační díl B umožňující roll

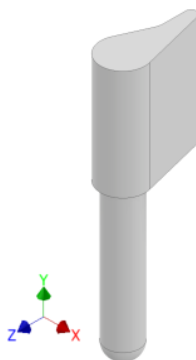
Tento díl byl navrhnout okolo ozubeného kola, které má modul 0,5, roztečnou kružnici o průměru 108 mm a vzdálenost os kola a pastorku 57 mm.



Obrázek 4.1:8: Náčrt základní geometrie rotačního dílu B

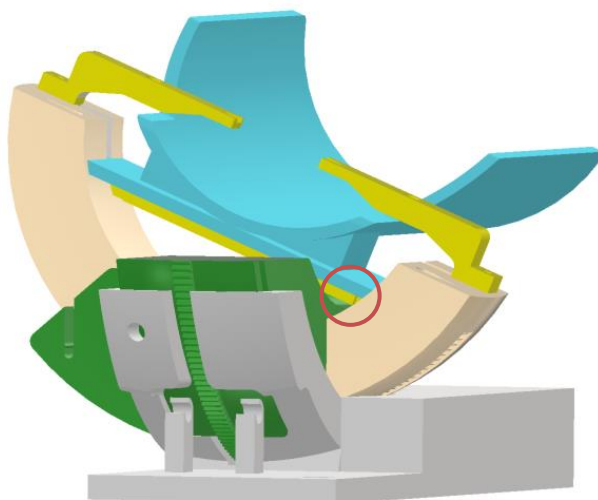
Podobně jako u prvního dílu, byly sestaveny soustředné kružnice o průměru 110 a 75 mm. Byl vytvořen útvar, který je stejný jako otvor vyříznutý v rotačním dílu A (Obrázek 4.1:8). Avšak do 3D podoby – rotací kolem osy z – byla vyvedena je žlutá část dílu. Červená část dílu byla vynechána, protože na rozdíl od předchozího dílu je ozubení zapuštěno v součástce.

Tento díl je základním dílem pro úchyt lůžka a svorek. Lůžko je vyměnitelný díl, který se do prvku zasouvá ze strany (Obrázek 4.1:7). Do horní části se zasouvá svorka a aretační kolíky pro lůžko. Otvor na svorku je mírně posunut od osy, aby po připevnění headsetu se nacházel jeho střed ve bodě otáčení. Pro uchycení svorky jsou vytvořeny díry na zálistky velikosti M2 (Příloha A), do kterých bude šroubem přichycena. Dále jsou v dílu vytvořeny dva otvory na kolíky (Obrázek 4.1:9), které po zasunutí zabraňují pohybu lůžka.



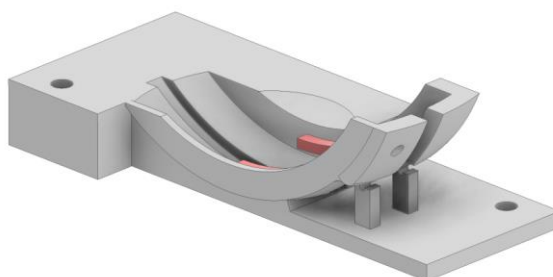
Obrázek 4.1:9: Kolík aretující lůžko

Rotace dílu je omezena svorkou, kdy při náklonu může být dosažen maximální úhel  $22,5^\circ$  než svorka narazí do prvního rotačního dílu.



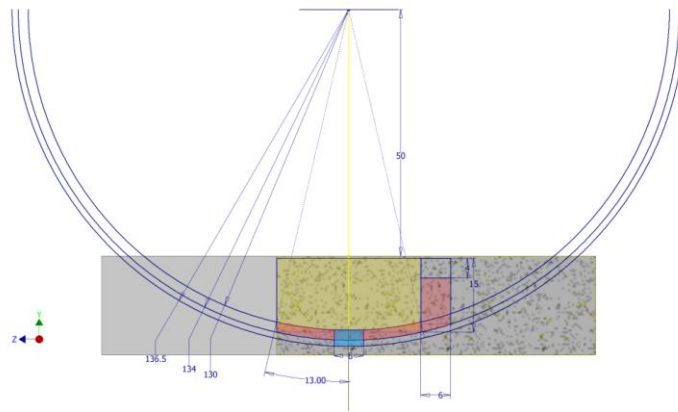
Obrázek 4.1:10:Maximální rotace dílu, aniž by nastala kolize svorky a rotačního dílu A

#### 4.1.2 Podstavec (výkres se nachází v příloze B)



Obrázek 4.1:11: Podstavec pro pohyblivé díly, červené části zobrazují vedení pro rotační díl A

Z obdélníkové základny byla vyříznuta část, do které zapadá rotační díl A (Obrázek 4.1:12). Aby byl podstavec funkční a lépe podpíral díl, byla jeho přední část vysunuta ven a byla vytvořena nálevka – červená část (Obrázek 4.1:12) . Po stranách v nálevce bylo vytvořeno vedení pro díl, aby při manipulaci nemohl vypadnout. Jelikož rotační díl A má ozubení, které vystupuje byla z podstavce vyříznuta část pro jeho akomodaci.



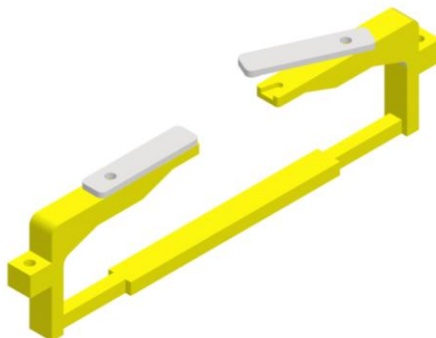
Obrázek 4.1:12: Náčrt podstavce. Žlutá/modrá – vyříznutá část, červená – vysuntá část tvořící nálevku

Na přední straně nálevky byl vytvořen otvor pro aretaci. Do tohoto otvoru přijde zátlisk do plastu o velikosti M3, který bude držet aretační šroub. Aretace prvku zabrání dodatečnému pohybu dílu po nastavení náklonu headsetu.

Aby bylo možné pohybovat s rotačním dílem A, musí pastorek a ozubené kolo být v kontaktu. Pastorek tedy musí být ve spodní části kola, aby i při náklonech byl stále v kontaktu s ozubeným kolem. Z toho důvodu je přední část podstavce snížena, aby se vytvořil prostor pro pastorek a jeho ovládání. V přední části dílu se také nachází vymodelované držáky na úchyt hřídele, jelikož musí pastorek a ozubené kolo být těsně u sebe bylo nutné nálevku v daném místě zúžit a částečně vyříznout.

Podstavec bylo také nutné zúžit z levé strany, aby bylo vytvořeno místo pro křídla rotačního dílu A ve kterých se nachází ovládání pro pohyb druhého rotačního dílu. Dále se na dílu nacházejí otvory pro přichycení podstavce na podložku k mikroskopu.

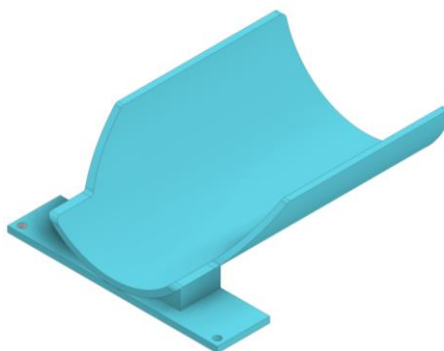
### 4.1.3 Svorka (výkres se nachází v příloze B)



Obrázek 4.1:13: svorka na přichycení headsetu

Svorka (Obrázek 4.1:13) se skládá ze tří dílů. Hlavní konstrukce propojuje obě strany svorky, aby se zabránilo pohybu při uchycení headsetu. Další dva díly jsou malá ramena, která přichytí headset. Horní část je zesílená pro vložení závitky, do závitku přijde šroub, který připevní ramena k hlavní části. Headset, který svorky drží je stejný, jako v původním návrhu, proto vyřiznutí na headset je převzato ze stávajícího držáku. Na stranách konstrukce jsou vytvořeny výběžky, které jsou zde pro přichycení svorky k rotačnímu dílu *B*.

### 4.1.4 Lůžko (výkres se nachází v příloze B)



Obrázek 4.1:14: lůžko pro laboratorní myš

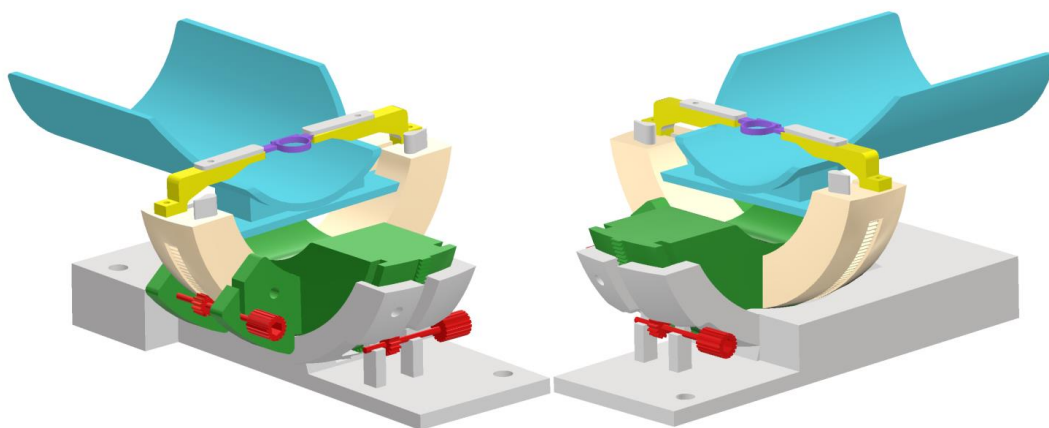
Vnitřní průměr lůžka je stejný jako současném lůžko, tedy 34 mm (Obrázek 4.1:14). Nový návrh lůžka je prodloužený, tak aby se nacházel pod celou délku laboratorní myši. Přední část je seříznutá, aby bylo možné připevnit headset do svorek. V podstavě lůžka se nachází otvory pro kolíky, které lůžko připevní k rotačnímu dílu *B*. Jelikož je lůžko

přípevněno do pohybující se části držáku, opisuje stejné náklony jako svorky s headsetem, a tedy i hlavou laboratorní myši. To zajišťuje, že hlava vůči zbytku těla myši zůstává ve stejném úhlu a nejsou zde vyvíjeny další síly na páteř laboratorního zvířete.

#### 4.1.5 Sestavení fixačního systému

Než se všechny díly sestaví dohromady je nutné do nich zasadit závitové vložky. Závitové vložky se nasadí na pájku, nahřejí se, svojí teplotou roztaví okolní plast a pomalu se zatlačí na svá místa. Zálisky velikosti M3 přijdou do čelní strany podstavce a do křídla rotačního dílu A, tyto závitové vložky slouží k upevnění rýhovaných šroubů k aretaci dílů. Dále se připevní zálisky velikosti M2, který přijdou do vrchní části rotačního dílu B a do svorky.

Základním dílem je podstavec, do kterého se zasune rotační díl A. Tento díl je zasunutý tak, aby drážky a vedení v jednotlivých dílech do sebe zapadalo. Do rotačního dílu A je zasunut rotační díl B. Tři díly svorky jsou spojeny dohromady a tento celek je následně přišroubován k rotačnímu dílu B. Do rotačního dílu B je ještě zasunuto lůžko a aretační kolíky. Jako poslední se k sestavě přidají hřídele s ozubenými koly (Obrázek 4.1:15).



Obrázek 4.1:15: Sestavený fixační systém

## 5 Výsledky

### 5.1 Fixační systém

Navržené díly byly vyrobeny pomocí 3D tisku. K tisku byla použita tiskárna *Original Prusa i3 MK3S/+Multi Material 2S*. Jelikož byly díly navrhované bez vůle, musely se před tiskem upravit. Úprava byla provedena změnou nominálního rozměru, taky aby mezi díly vznikla vůle 0,3 mm.

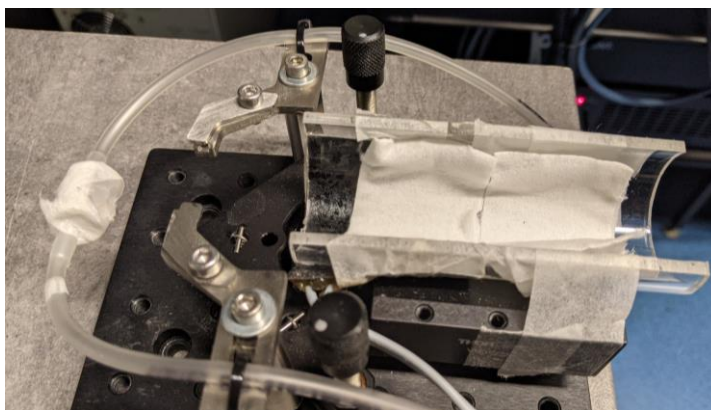
Díly byly vytištěny z materiálu PETG a to s 30% infillem. Velikost jedné vrstvy byla nastavena na 0,15 mm. Byly zvoleny 2 obvodové vrstvy, 7 svrchních vrstev a 5 spodních. Byla nastavena prahová plocha pro plnou výplň na 50 mm<sup>2</sup>, kdy, pokud plocha daného útvaru v jedné vrstvě je menší jak prahová plocha, místo 30% infillu je tištěna jako plná plocha. Infill je tištěn ve vzoru gyroid.

Hřídele s pastorky byly vyrobené z kovu, kde pastorky byly koupeny.

Největší zatížení našeho systému vzniká od laboratorní myši. Laboratorní myš má obvyklou hmotnost mezi 12–30 g, převedeno na sílu to je 0,12–0,3 N, které působí na náš systém. Při takto malých silách lze předpokládat, že nebude docházet k přetížení zubů jak na ohyb tak na dotyk.

## 5.2 Anestezie

Byla vytvořena nová obličejová maska, kde z jedné strany přitéká anesteziologický plyn a druhou stranou odtéká. Dýchací cesty laboratorního zvířete jsou tedy konstantně omílány anestetickou směsí. Maska je připevněna po obou stranách k držáku, toto uchycení zajišťuje její snadnou nastavitelnost, tak aby správně přilnula k dýchacím cestám laboratorního zvířete (Obrázek 5.2:1). Rozvody anestezie byly svázané, aby přívodní a odvodní trubice byly pospolu a při přenosu mezi laserem a mikroskopem nezaváděli.



Obrázek 5.2:1: Nová obličejová maska a její uchycená na stávajícím fixačním systému

## 5.3 Ohřev

K tepelnému zdroji byl zakoupen digitální termostat *XH-W3001*. Na termostatu jdou nastavit teploty od  $-50^{\circ}\text{C}$  do  $110^{\circ}\text{C}$ , nejmenší nastavitelný krok je  $0,1^{\circ}\text{C}$ . Termostat obsahuje vodotěsnou NTC10K sondu s kabelem o délce 1m. Datasheet se nachází v příloze A. Termostat byl naistalován k tepelnému zdroji a jeho sonda přiložena k vyhřívané podložce, aby byla udržována stálá teplota  $37^{\circ}\text{C}$ .



## 5.4 Funkční analýza

Tabulka 4: Přehled parametrů současného a nového systému

	Současný systém	Nový systém
Samostatné náklony v transverzální rovině	Nesamostatný pohyb	Ano
Maximální náklon	$\pm 3^\circ$	$\pm 22,5^\circ$
Stupně volnosti svorek	2	0
Aretace	Bez aretace	Rýhované šrouby
Upevnění lůžka	Statické na podložce	Pohyblivé, připevněné k systému
Regulace ohřevu	Bez regulace	$-50^\circ\text{C}$ až $110^\circ\text{C} \pm 0,1^\circ\text{C}$ s přesností $0,2^\circ\text{C}$
Materiál	eloxovaný hliník	PETG
Ovládací prvek	80 TPI šrouby	Ozubená kola

Pro provedení funkční analýzy bylo vybráno 8 kategorií, ve kterých byl porovnán stávající a nový systém.

První a nejdůležitější kategorie je *samostatné náklony v transverzální rovině*, kde současný systém není schopný provést samostatný pitch a roll tyto náklony jdou vždy spojené. Nový systém tyto náklony rozdělil na dva nezávislé pohyby.

Maximální náklon, který současný systém umožňuje jsou  $\pm 3^\circ$ , což je náklon, který ve většině případů je dostačující pro srovnání headsetu k rovině objektivu. Nový systém umožňuje až  $\pm 22,5^\circ$ , velikost možného náklonu převyšuje maximální potřebný náklon.

Stupně volnosti svorek v současném systému umožňují jeden rotační a translační pohyb, u nového systému svorky jsou pevně přichycené a neumožňují žádnou rotaci ani posun. Toto je výhoda, protože při upínání headsetu je pouze jedna pozice, jak může být přichycen, není nutné svorky nastavovat pokaždé do určité polohy. Nevýhodou je že jsou svorky určeny pouze na jeden typ headsetu a není zde možnost je nastavit na jiný headset. To platí i pokud by byl headset deformovaný bylo by těžké ho přichytit do svorek, které nemají žádnou flexibilitu uchycení. Při potřebě uchycení jiného headsetu, jsou svorky jednoduše vyměnitelné za jiné, které budou určeny pro daný headset.

U současného systému není žádný samostatný aretační systém, aretace stojí na tuhosti ovládacích šroubů. Výhoda tohoto je, že po nastavení není nutné řešit aretaci a rovnou pokračovat v měření. Nevýhodou je možnost, že když se omylem zavadí o ovládání, bude se muset nastavit znova poloha. V novém systému je aretace zajištěna pomocí tlaku šroubů na díl. Šrouby používané k aretaci jsou rýhované pro pohodlné ovládání. Výhodnou je, že při zavádění o ovládání vše zůstane na svém místě, ale je nutné po nastavení za aretovat prvek, tedy provést krok navíc narozdíl od současného systému.

Hlavní rozdíl lůžek mezi systémy je v jejich pohyblivost. Kde ve stávajícím systému je lůžko staticky upevněno na podložku, nový systém umožňuje pohyb lůžku. Pohyb je stejný jako pohyb laboratorního zvířete, takže jeho tělo s hlavou zůstávají v ose a pod stejným úhlem.

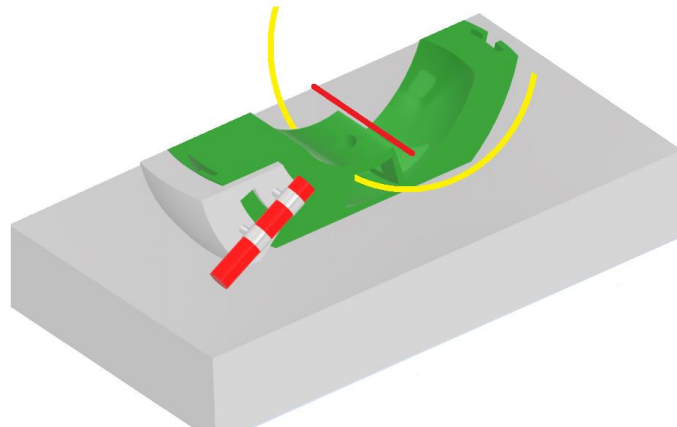
Regulace teploty není přítomna v současném systému, vyhřívána podložka je umístěna pod PVC trůbkou (lůžkem). V systému není žádný regulátor teploty, což zabraňuje zajištění daných teplotních podmínek pro laboratorní zvíře. V novém systému je ke zdroji přidán digitální termostat se sondou, která je umístěna na vyhřívané podložce pro regulaci teploty.

Rozdíl v materiálu je značný, nový systém je vytištěný z PETG, kdežto původní je z eloxovaného hliníku. Tento rozdíl se nejspíš projeví až v dlouhodobém používání, kdy PETG při stálém používání bude rychleji opotřebovaný a bude nutné ho vyměnit – znovu vytisknout díly.

Současný systém je ovládán pomocí 80 TPI šroubů, které mají velice jemný závit, a tedy umožňují jemný pohyb dílu. Nevýhodou tohoto systému je jejich vertikální umístění. Jejich ovládání je neintuitivní, je složité pro uživatele zjistit, jestli točení po směru hodinových ručiček, platformu v bodě zvedá nebo snižuje. To je ještě ztíženo jemností závitu, kdy tento pohyb je velice malý a nejde ho dobře vizuálně zachytit. Pohyb u nového prvku je zajišťován pomocí ozubených kol. Toto ovládání je více uživatelsky přívětivé, také je možné provést velký náklon relativně rychle. Nevýhodou je, že jemnost pohybu závisí především na pohybu uživatele.

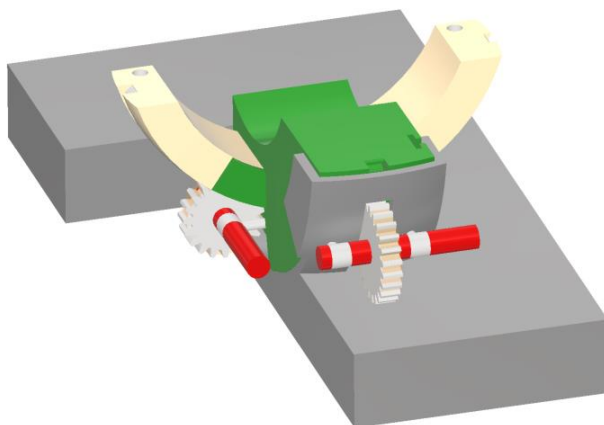
## 6 Diskuse

Po prvotním zvolení konceptu fixačního systému, prošel návrh několika iteracemi. Základní myšlenka byly dva propojené půlkruhy, bylo nutné vymyslet ovládání jejich pohybu. První koncept (Obrázek 5.4:1) měl ovládání místo na spodní straně na boku. Stále by se využíval pohyb pomocí převodu. Tento návrh byl později upraven, kvůli složitosti převodu a špatnému přístupu k ovládání druhého rotačního dílu.



Obrázek 5.4:1: První návrh systému, kde červené jsou otoční hřídele pohybující mechanismem a žlutý půlkruh představuje druhý rotační díl

U druhé iterace bylo ovládání přesunuto na spodní část dílu a uříznuta zadní část rotačního dílu A, kvůli místu pro lůžko (Obrázek 5.4:2). V tomto modelu byl pro převod použit modul 1 a převodový poměr 5. Tento model byl zavrhnut pro malý převodový poměr, kdy při otočení pastorku o  $360^\circ$  se díl otočil o  $72^\circ$  (vzorec 4.3). Další nedostatek tohoto návrhu bylo, že druhý rotační díl byl moc úzký pro připevnění jak svorek, tak zároveň i lůžka. Také při bližším zkoumání ovládacích prvků bylo vyhodnoceno, že se nacházejí příliš blízko k jednotlivým dílům, tak aby bylo možné je pohodlně ovládat. Proto pro další návrh bylo nutno vymyslet uchycení hřídele dostatečně daleko od prvků, aby se dala pohodlně ovládat.

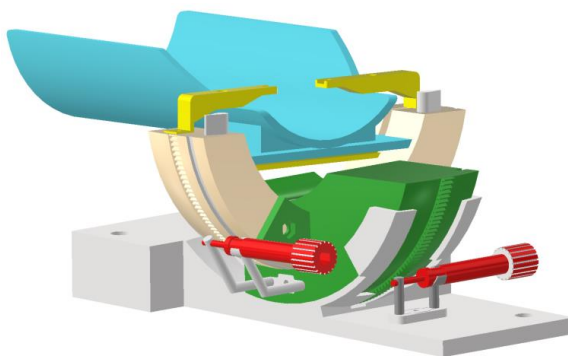


Obrázek 5.4:2: Druhý návrh systému s převodovým poměrem 5 a modulem 1

V následujícím návrhu byla upravena velikost druhého rotačního dílu, tak že je možné na něj uchytit lůžko i svorky (Obrázek 5.4:3). Uchycení hřídele bylo vysunuto dále od prvků pro snazší ovládání. Pastorek již nebyl modelován, protože bylo rozhodnuto, že se bude kupovat kovový. Dále byly přidělaný šestihřanné otvory pro zasunutí matic k aretačnímu systému. Tento návrh se již blížil finální podobě, ale byla objevena další problematická místa.

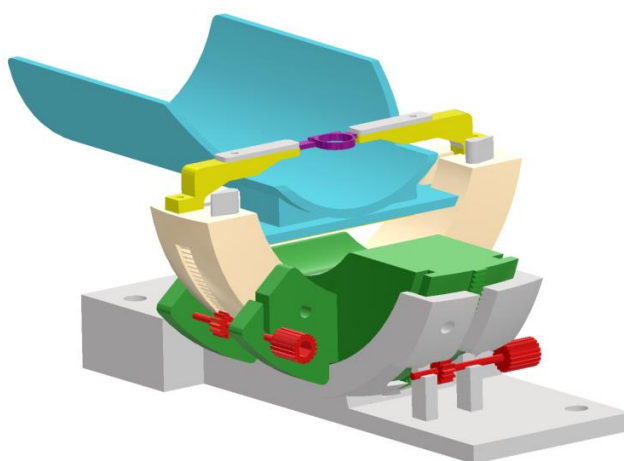
Vysunutí hřídele zlepšilo možnost jejího ovládání, ale zhoršilo mechanické vlastnosti držáku hřídele. Jejich prodloužením zde může nastat velká páka při nanesení síly na ovládací prvek, což může vést k poškození dílů.

Mezi další potenciální problémy bylo vyhodnoceno uchycení podstavec a rotačního díla A. Nálevka, ve které se díl nachází má useknutou levou stranu, aby nenastal kolize s držákem hřídele. Při pohybu by bylo možné, že by mohla zadní část rotační díla A vybočovat z podstavce.



Obrázek 5.4:3: Třetí návrh s upravenými držáky hřídelí a druhého rotačního dílu.

Tyto problémy byly vyřešeny v posledním návrhu, kde držáky hřídele byly přesuty do vytažených křídel podél rotačního dílu *B* (Obrázek 5.4:4). Nálevka byla prodloužena po celé levé straně dílu. Kvůli této změně byly křídla vyříznuty ve spodní části, aby nenastala kolize s nálevkou. Namísto použití matic k přichycení aretačních šroubů byly vybrány závitové vložky. Tato změna byla provedena z důvodu jednodušší instalace. Po všech úpravách jsme dostali finální verzi fixačního systému.



Obrázek 5.4:4: Finální podoba návrhu

Nastavení kraniálního okna do požadované pozice probíhá pod laserem v místnosti, kde se nachází mikroskop, po nastavení je držák s myší přesunut pod mikroskop. Laboratorní myš musí být po celou dobu pod anestézií, tedy musí mít nasazenou obličejovou masku s přívodem anestetických plynů. Z tohoto důvodu není možné vytvořit fixní rozvody anestezie. Rozvody se musí pohybovat spolu se zvířetem.

Pro zhotovení fixačního systému byly použity materiály PETG, mosaz (závitové vložky) a ocel (ozubená kola), které nepodléhají degradaci na základně působení inhalačních anestetik [35] [36]. Zároveň tyto materiály umožňují je snadnou povrchovou dezinfekci.

Potenciální problém pro nový systém je možné poškození tisknutých ozubených kol. Jelikož náklon, který je prováděn k nastavení polohy kraniálního okna je v jednotkách stupňů, budou využívány převážně stejné zuby pro provedení pohybu. To může mít za následek, že tyto zuby budou nadměrně namáhány a mohou postupem času na nich vznikat deformace. Tomuto by se dalo vyhnout použitím jiného materiálu, na zhotovení rotačních dílů, ale jelikož vytvořené díly pro náš systém jsou komplexní, výroba těchto dílů by byla velice komplikovaná a nákladná.

Ve světě jsou používány především headsety bez nebo s jednostranným uchycením, ty jsou lehčí a menší, a tedy méně omezují pohyb laboratorních zvířat než headsety s oboustranným uchycením [10] [12] [15]. Svým jednostranným uchycením se, ale staví do nebezpečí, že při uchycení do držáku nebude headset přesně vyrovnaný v rovině, tak aby byl kolmo na osu mikroskopu. To následně vede k problému se statickými fixačními systémy, které jsou hojně využívány, kdy při měření mikroskopem je v z rovině pouze část zkoumané oblasti kvůli jejímu náklonu. Tyto systémy nejsou schopni tuto vadu upravit a není možné získat jeden snímek, který zachycuje celé zkoumané pole, ale je nutno vyhodnocovat výsledky z více obrazů v rovině z. Při možnosti náklonu, kterou zajišťuje náš systém, je možné srovnat námi pozorovanou oblast kolmo k ose mikroskopu, a tedy při měření je na jednom snímku větší pole pozorování.

## 7 Závěr

Byl vytvořen nový fixační systém pro měření dvou fotonovým mikroskopem. Nový systém umožňuje nezávislé pohyby pitch a roll a tedy usnadňuje narovnání headsetu kolmo k ose mikroskopu. Většina dílů systému byla vytištěna pomocí FMD metody na 3D tiskárně z materiálu PETG. Zbylé díly jmenovitě hřídele, pastorky a základy byly koupeny k dokončení systému. Systém je vyroben z materiálů umožňující snadnou dezinfekci a odolných anestetickým plynům.

K systému byla vytvořena nová obličejová maska, která zajišťuje snadný přístup k laboratornímu zvířeti a je jednoduše nastavitelná. Maska je přichycena po stranách našeho nového systému.

Udržení stálé a přesné teploty laboratorní myši bylo provedeno přidáním termostatu se sondou. Sonda je umístěna na vyhřívané podložce, která se nachází pod laboratorní myší.

## Seznam použité literatury

- [1] PISTON, David W. When Two Is Better Than One: Elements of Intravital Microscopy. *PLoS Biology* [online]. 2005, **3**(6), 0960-0962 [cit. 2021-03-31]. ISSN 1545-7885. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pbio.0030207
- [2] RUBART, Michael. Two-Photon Microscopy of Cells and Tissue. *Circulation Research* [online]. 2004, **95**(12), 1154-1166 [cit. 2021-03-30]. ISSN 0009-7330. Dostupné z: doi:10.1161/01.RES.0000150593.30324.42
- [3] ZINSELMAYER, Bernd a John DEMPSTER. Chapter 16 Two-Photon Microscopy and Multidimensional Analysis of Cell Dynamics. *Chemokines, Part B* [online]. Elsevier, 2009, s. 349-378 [cit. 2021-03-30]. Methods in Enzymology. ISBN 9780123749079. Dostupné z: doi:10.1016/S0076-6879(09)05416-0
- [4] MOSTANY, Ricardo, Amaya MIQUELAJAUREGUI, Matthew SHTRAHMAN a Carlos PORTERA-CAILLIAU. Two-Photon Excitation Microscopy and Its Applications in Neuroscience. VERVEER, Peter J., ed., Peter VERVEER. *Advanced Fluorescence Microscopy* [online]. 1. New York, NY: Springer New York, 2015, s. 25-42 [cit. 2021-03-31]. Methods in Molecular Biology. ISBN 978-1-4939-2079-2. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4939-2080-8\_2
- [5] KAMINER, Ido a Jonathan NEMIROVSKY. Optimizing 3D multiphoton fluorescence microscopy. *Optics Letters* [online]. 2013, **38**(19) [cit. 2021-03-31]. ISSN 0146-9592. Dostupné z: doi:10.1364/OL.38.003945
- [6] HOLTMAAT, Anthony, Tobias BONHOEFFER, David CHOW et al. Long-term, high-resolution imaging in the mouse neocortex through a chronic cranial window. *Nature Protocols* [online]. 2009, **4**(8), 1128-1144 [cit. 2021-03-31]. ISSN 1754-2189. Dostupné z: doi:10.1038/nprot.2009.89
- [7] Rotations in Three-Dimensions: Euler Angles and Rotation Matrices. In: *Engineering Notes* [online]. -: DancesWithCode, 2015 [cit. 2021-05-01]. Dostupné z: [http://danceswithcode.net/engineeringnotes/rotations\\_in\\_3d/rotations\\_in\\_3d\\_part\\_2.html](http://danceswithcode.net/engineeringnotes/rotations_in_3d/rotations_in_3d_part_2.html)
- [8] Isoflurane. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001 [cit. 2021-04-20]. Dostupné z: <https://en.wikipedia.org/wiki/Isoflurane>
- [9] PARK, Kicheon a Jiang YOU. Cranial window implantation on mouse cortex to study microvascular change induced by cocaine. *Quant Imaging Med Surg.*

- [online]. 2015, **5**(1), 97-107 [cit. 2021-05-09]. ISSN 2223-4306. Dostupné z: doi:10.3978/j.issn.2223-4292.2014.11.31
- [10] STEWEN, Jonas a Maria Gabriele BIXEL. Intravital Imaging of Blood Flow and HSPC Homing in Bone Marrow Microvessels. KLEIN, Gerd a Patrick WUCHTER, ed. *Stem Cell Mobilization* [online]. 1. New York, NY: Springer New York, 2019, s. 109-121 [cit. 2021-05-09]. Methods in Molecular Biology. ISBN 978-1-4939-9573-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4939-9574-5\_9
- [11] FUJITA, Youshi, Takahiro KUCHIMARU, Tetsuya KADONOSONO et al. In Vivo Imaging of Brain Ischemia Using an Oxygen-Dependent Degradative Fusion Protein Probe. *PLoS ONE* [online]. 2012, **7**(10), 1-8 [cit. 2021-05-09]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0048051
- [12] GUO, Zengcai V., S. Andrew HIRES, Nuo LI et al. Procedures for Behavioral Experiments in Head-Fixed Mice. *PLoS ONE* [online]. 2014, **9**(2), 1-14 [cit. 2021-05-09]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0088678
- [13] MIZUNO, Hidenobu, Shingo NAKAZAWA a Takuji IWASATO. EmIn Vivo/em Two-photon Imaging of Cortical Neurons in Neonatal Mice. *Journal of Visualized Experiments* [online]. 2018, -(140), 1-7 [cit. 2021-05-09]. ISSN 1940-087X. Dostupné z: doi:10.3791/58340
- [14] GROBLEWSKI, P.A., D. SULLIVAN, J. LECOQ et al. A standardized head-fixation system for performing large-scale, in vivo physiological recordings in mice. *Journal of Neuroscience Methods* [online]. 2020, **346**(-), 1-12 [cit. 2021-05-09]. ISSN 01650270. Dostupné z: doi:10.1016/j.jneumeth.2020.108922
- [15] AUGUSTINAITE, Sigita a Bernd KUHN. Chronic Cranial Window for Imaging Cortical Activity in Head-Fixed Mice. *STAR Protocols* [online]. 2020, **1**(3), 1-17 [cit. 2021-05-09]. ISSN 26661667. Dostupné z: doi:10.1016/j.xpro.2020.100194
- [16] HEO, Chaejeong, Hyejin PARK, Yong-Tae KIM, Eunha BAEG, Yong Ho KIM, Seong-Gi KIM a Minah SUH. A soft, transparent, freely accessible cranial window for chronic imaging and electrophysiology. *Scientific Reports* [online]. 2016, **6**(1), 1-11 [cit. 2021-05-09]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep27818
- [17] YANG, Guang, Feng PAN, Christopher N PARKHURST, Jaime GRUTZENDLER a Wen-Biao GAN. Thinned-skull cranial window technique for long-term imaging of the cortex in live mice. *Nature Protocols* [online]. 2010, **5**(2), 201-208 [cit. 2021-03-31]. ISSN 1754-2189. Dostupné z: doi:10.1038/nprot.2009.222
- [18] PAOLINI, Alexander, Stefan KOLLMANNBERGER a Ernst RANK. Additive manufacturing in construction: A review on processes, applications, and digital



- planning methods. *Additive Manufacturing* [online]. 2019, **30** [cit. 2021-04-23]. ISSN 22148604. Dostupné z: doi:10.1016/j.addma.2019.100894
- [19] NGO, Tuan D., Alireza KASHANI, Gabriele IMBALZANO, Kate T.Q. NGUYEN a David HUI. Additive manufacturing (3D printing): A review of materials, methods, applications and challenges. *Composites Part B: Engineering* [online]. 2018, **143**(-), 172-196 [cit. 2021-04-26]. ISSN 13598368. Dostupné z: doi:10.1016/j.compositesb.2018.02.012
- [20] MOHAMED, Omar A., Syed H. MASOOD a Jahar L. BHOWMIK. Optimization of fused deposition modeling process parameters: a review of current research and future prospects. *Advances in Manufacturing* [online]. 2015, **3**(1), 42-53 [cit. 2021-04-22]. ISSN 2095-3127. Dostupné z: doi:10.1007/s40436-014-0097-7
- [21] 3D Printing Infill: The Basics – Simply Explained. In: *All3DP* [online]. Německo: All3DP, 2020 [cit. 2021-05-06]. Dostupné z: <https://all3dp.com/2/infill-3d-printing-what-it-means-and-how-to-use-it/>
- [22] Infill settings. In: *Ultimaker Support* [online]. Utrecht: Ultimaker BV, 2020 [cit. 2021-05-06]. Dostupné z: <https://support.ultimaker.com/hc/en-us/articles/360012607079-Infill-settings>
- [23] How to assemble 3D printed parts with threaded fasteners. In: *Hubs* [online]. Amsterdam: -, 2017 [cit. 2021-05-13]. Dostupné z: <https://www.hubs.com/knowledge-base/how-assemble-3d-printed-parts-threaded-fasteners/>
- [24] Kontrola závitů. In: *ELUC* [online]. Olomouc: -, - [cit. 2021-05-11]. Dostupné z: <https://eluc.kr-olomoucky.cz/verejne/lekce/1108>
- [25] PRŮVODCE MATERIÁLY. In: *Prusa Research* [online]. Praha: Prusa Research, 2012 [cit. 2021-04-26]. Dostupné z: <https://www.prusa3d.cz/materialy/>
- [26] LEINVEBER, Jan a Pavel VÁVRA. *Strojnické tabulky*. 1. Praha: Scientia, 1996. ISBN 80-7183-008-9.
- [27] SHIGLEY, Joseph Edward, Charles R. MISCHKE a Richard G. BUDYNAS, Miloš VLK, ed. *Konstruování strojních součástí*. 1. vyd. Přeložil Martin HARTL. V Brně: VUTIUM, 2010. Překlady vysokoškolských učebnic. ISBN 978-80-214-2629-0.
- [28] Ozubené kolo. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001 [cit. 2021-05-05]. Dostupné z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Ozuben%C3%A9\\_kolo](https://cs.wikipedia.org/wiki/Ozuben%C3%A9_kolo)

- [29] Podřezání zubů a korekce ozubení. In: *Sspu opava* [online]. opava: sspu, 2012 [cit. 2021-05-10]. Dostupné z: [sspu-opava.cz/static/UserFiles/File/\\_sablony/SPS\\_III/VY\\_32\\_INOVACE\\_C-08-07.pdf](https://sspu-opava.cz/static/UserFiles/File/_sablony/SPS_III/VY_32_INOVACE_C-08-07.pdf)
- [30] Undercut – Gear Terminology. In: *KHK Gears* [online]. Japan: KHK Gears - Kohara Gear Industry Co.,Ltd., 2015 [cit. 2021-05-10]. Dostupné z: [https://khkgears.net/new/gear\\_knowledge/gear-nomenclature/undercut.html](https://khkgears.net/new/gear_knowledge/gear-nomenclature/undercut.html)
- [31] Čelní ozubení s přímými a šikmými zuby. In: *MITCalc* [online]. Děčín: MITCalc, - [cit. 2021-05-10]. Dostupné z: <https://www.mitcalc.com/doc/gear1/help/cz/gear1.htm#Korigov%C3%A1n%C3%AD%20ozuben%C3%AD.%20>[5]
- [32] FIALOVÁ, Dana a Vladislav GRADEK. *Zámečnické práce a údržba: technologie: učebnice pro odborná učiliště*. 1. Praha: Parta, 2006-2008. ISBN 978-80-7320-127-23.
- [33] OPOČENSKÝ, Martin. *Pevnostní výpočty ozubených soukolí v převodkách osobních automobilů*. Liberec, 2018. Diplomová práce. Technická univerzita v Liberci.
- [34] Autodesk Inventor. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001 [cit. 2021-04-25]. Dostupné z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Autodesk\\_Inventor](https://cs.wikipedia.org/wiki/Autodesk_Inventor)
- [35] FORANE. In: *Rxlist* [online]. New York: RxList, 2018 [cit. 2021-05-07]. Dostupné z: <https://www.rxlist.com/forane-drug.htm#description>
- [36] YE, Ling a Clive BOSNYAK. *INHALATION ANESTHETIC PRODUCT*. US 2014/0166527 A1. Uděleno Jun. 19, 2014.

# Příloha A: Datasheet

## Digitální termostat XH-W3001 12 V

### 1. POPIS

Praktický univerzální termostat můžete použít všude tam, kde potřebujete spínat zařízení (jako např. topení nebo ventilátor) v závislosti na teplotě.

Základní charakteristika modulu:

- Rozsah měření teploty -50 až 110 °C
- Přehledný LED displej
- Jednoduché nastavení teploty
- Snadná instalace
- Paměť nastavení i po odpojení napájení



### 2. SPECIFIKACE

Vstupní napětí	+12 VDC	Typ snímače	NTC10k
Spínané (výstupní) napětí	+12 VDC	Stupeň krytí snímače	IP67
Max. spínaný výkon	50 W	Délka kabelu snímače	0,95 m
Provozní proud (neaktivní výstup)	20 mA	Průměr pouzdra snímače	4 mm
Provozní proud (aktivní výstup)	65 mA	Délka pouzdra snímače	20 mm
Rozsah měření teploty	-50 až 110 °C	Rozteč mont. otvorů	73,5 mm
Rozlišení měř. teploty	0,2 °C	Průměr mont. otvorů	4 mm
Max. chyba měření	± 0,2 °C	Rozměry (mm)	60 x 45 x 31

### 3. ZAPOJENÍ

Barva vodiče	Popis
Červený	+12 VDC
Černý	GND
Žlutý	Spínané napětí +12 VDC



Upozornění: Ke dvojici kabelů žlutá-černá nepřipojujte externí napájení – nejedná se o bezpečnostový kontakt.

### 4. NASTAVENÍ A POPIS FUNKCE

Ovládání termostatu probíhá pomocí dvou tlačítek na jeho těle:

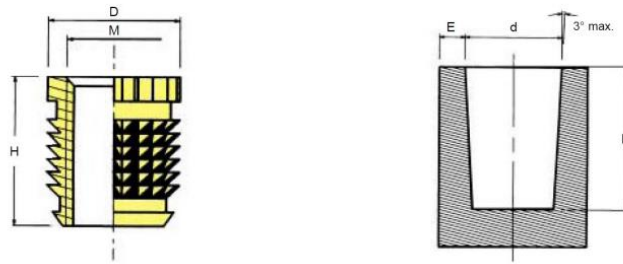
- Levé tlačítko: Nastavuje teplotu, při které se termostat spustí. Nastavení této teploty spustíme stisknutím a následným držením tohoto tlačítka.
- Pravé tlačítko: Nastavuje teplotu, při které se termostat vypne. Nastavení této teploty spustíme stisknutím a následným držením tohoto tlačítka.
- Nastavení teploty: Během nastavování teploty zvyšujeme hodnoty levým tlačítkem a pravým snižujeme.
- Kontrolka OUT: Rozsvícená kontrolka signalizuje, že je termostat aktivní (OUT - výstup) a naopak.

Nastavené hodnoty jsou uloženy ve vnitřní paměti termostatu a nastavení je tedy uchováno i po odpojení napájení.

Obrázek 5.4:1: Datasheet k digitálnímu termostatu

**TYP TH**

Pro montáž tepelnou nebo ultrazvukovou metodou.



Závit M	Objednací číslo Serplast TH	Výška H	Průměr D	Rozměry otvoru		
				d	P min.	E min.
M2	40/TH020H040	4	4	3,5	5,5	1
M2,5	40/TH025H050	5	4	3,5	6,5	1
M3	40/TH030H055	5,5	4,5	4	7	1,1
M3,5	40/TH035H060	6	5,5	5	7,5	1,3
M4	40/TH040H075	7,5	6	5,4	9	1,4
M5	40/TH050H080	8	7	6,4	9,5	1,7

Obrázek 5.4:2: Datasheet k závitové vložce o velikosti M2

**BOSSARD**

**BN 1054**  
**Lisovací závitové vložky**  
 do termoplastů a termosetů  
 bez příruby  
 Mosaz  
 bez povrchové úpravy

1. Vložku umístíte na okraj otvoru.
2. Razníkem s navedením zasuňte vložku do otvoru.
3. Šroubem upevníte příšroubováváný díl - pracovní díl musí na vložku pevně dosednout.

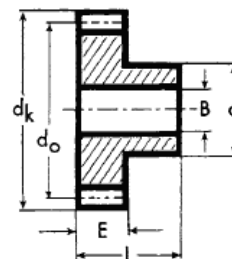
Article#	d <sub>1</sub>	d <sub>2</sub>	L	h	d <sub>3</sub>	d <sub>4</sub>	a
1386727	M2	3,3	4,1	0,51	4,8	3,1	1,6
1386735	M2,5	4,2	5,3	0,58	5,5	3,8	2
1386743	M3	4,2	5,3	0,58	5,5	3,8	2
1386778	M4	5,8	7,4	0,89	7,1	5,4	2,5
1386786	M5	6,6	8,3	1,07	7,9	6,2	2,5
1386794	M6	8,2	9,2	1,32	9,5	7,8	2,8
1429361	M8	9,7	9,2	1,32	11,1	9,3	3,8

Obrázek 5.4:3: Datasheet k závitové vložce o velikosti M3



# Čelní ozubená kola

S nábojem | Přímé ozubení | Úhel záběru 20° | Materiál ocel ETG100

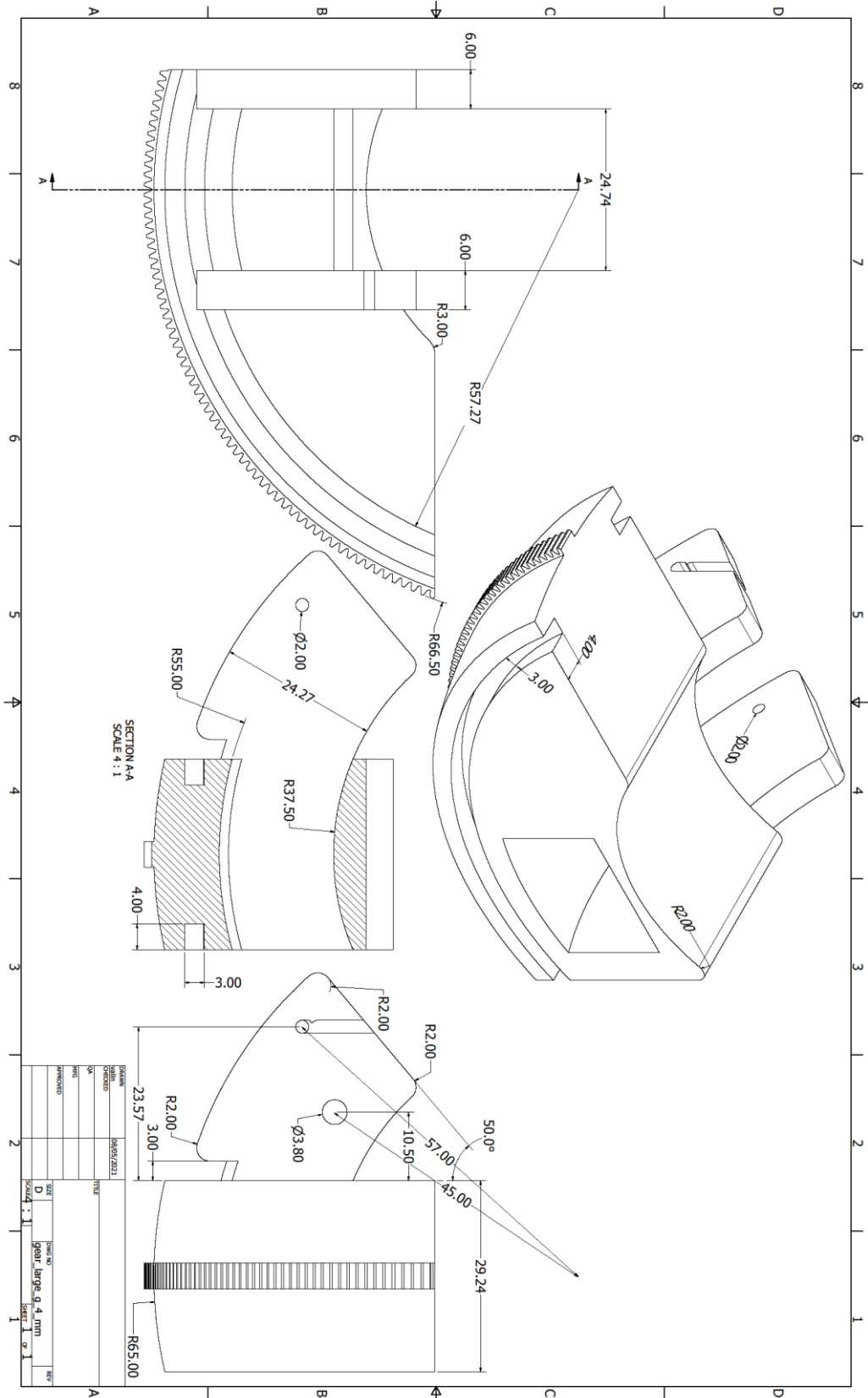


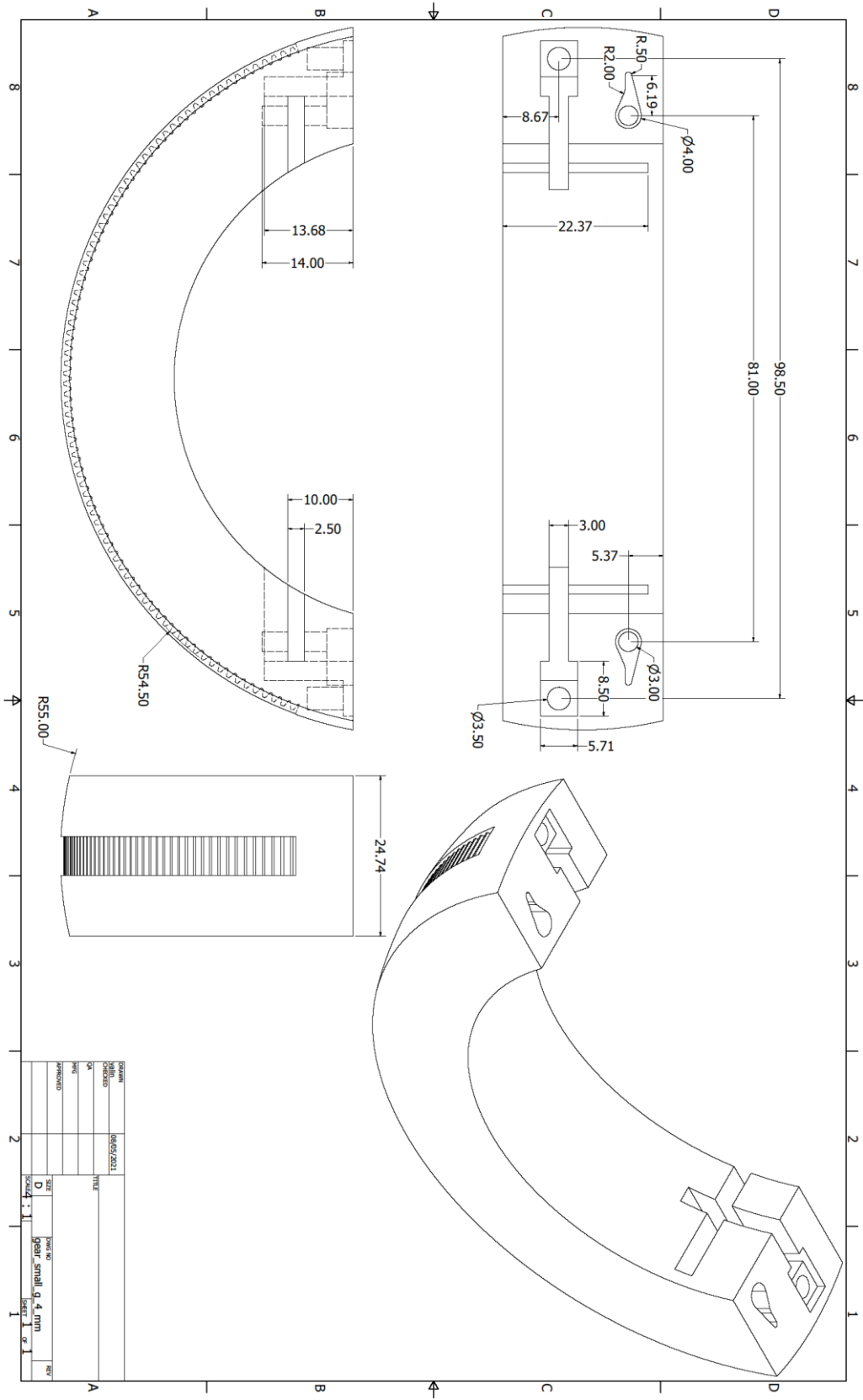
## Modul 0,5

Obj. číslo	Modul	Počet zubů	BH7	d	dk	do	L	E
0512 ST	0,5	12	2	4	7,0	6,0	8	4
0513 ST	0,5	13	2	5	7,5	6,5	8	4
0514 ST	0,5	14	2	5	8,0	7,0	8	4
0515 ST	0,5	15	3	6	8,5	7,5	8	4
0516 ST	0,5	16	3	6	9,0	8,0	8	4
0517 ST	0,5	17	3	6	9,5	8,5	8	4

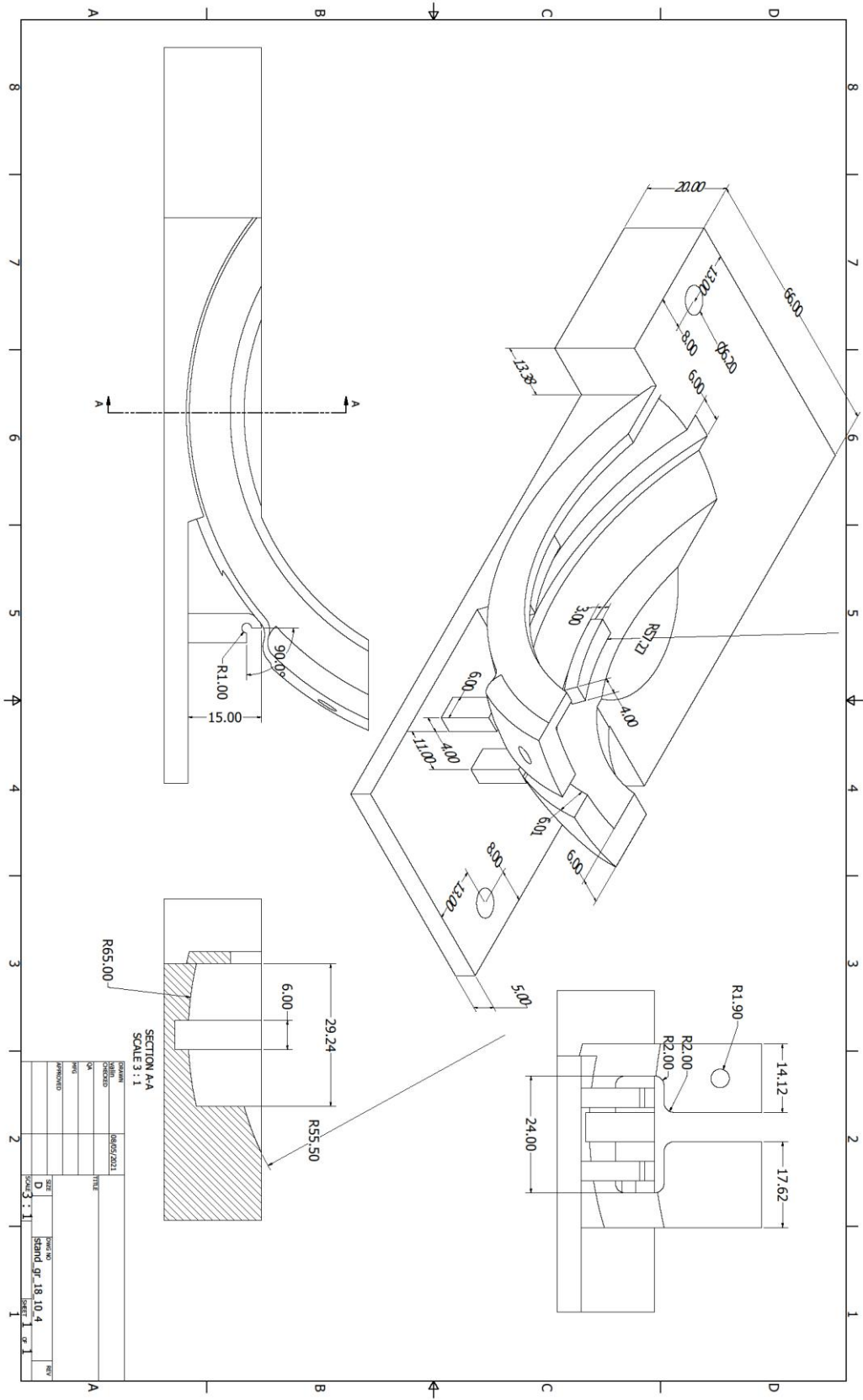
Obrázek 5.4:4:Datasheet pastorkům

# Příloha B: Výkresy



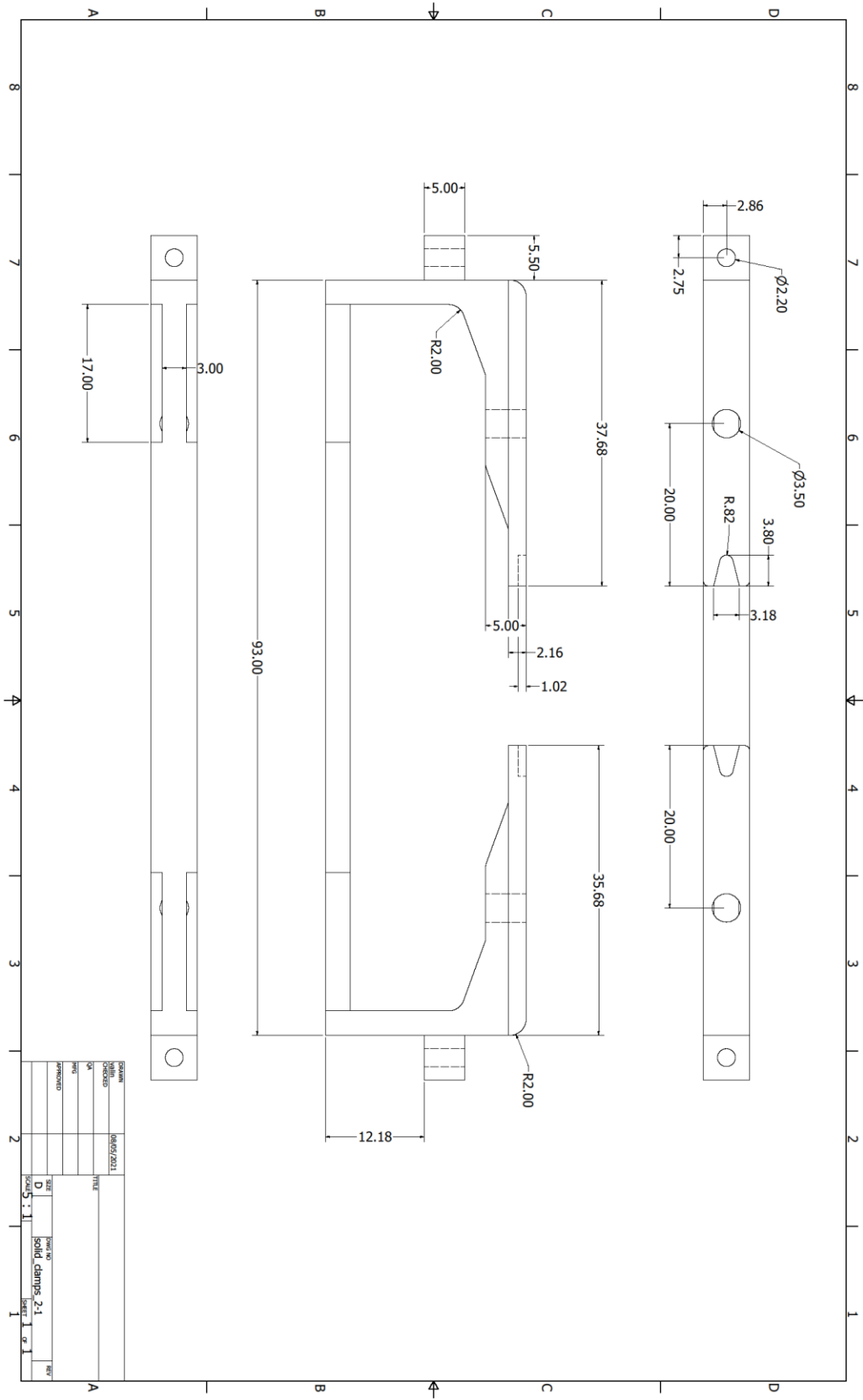


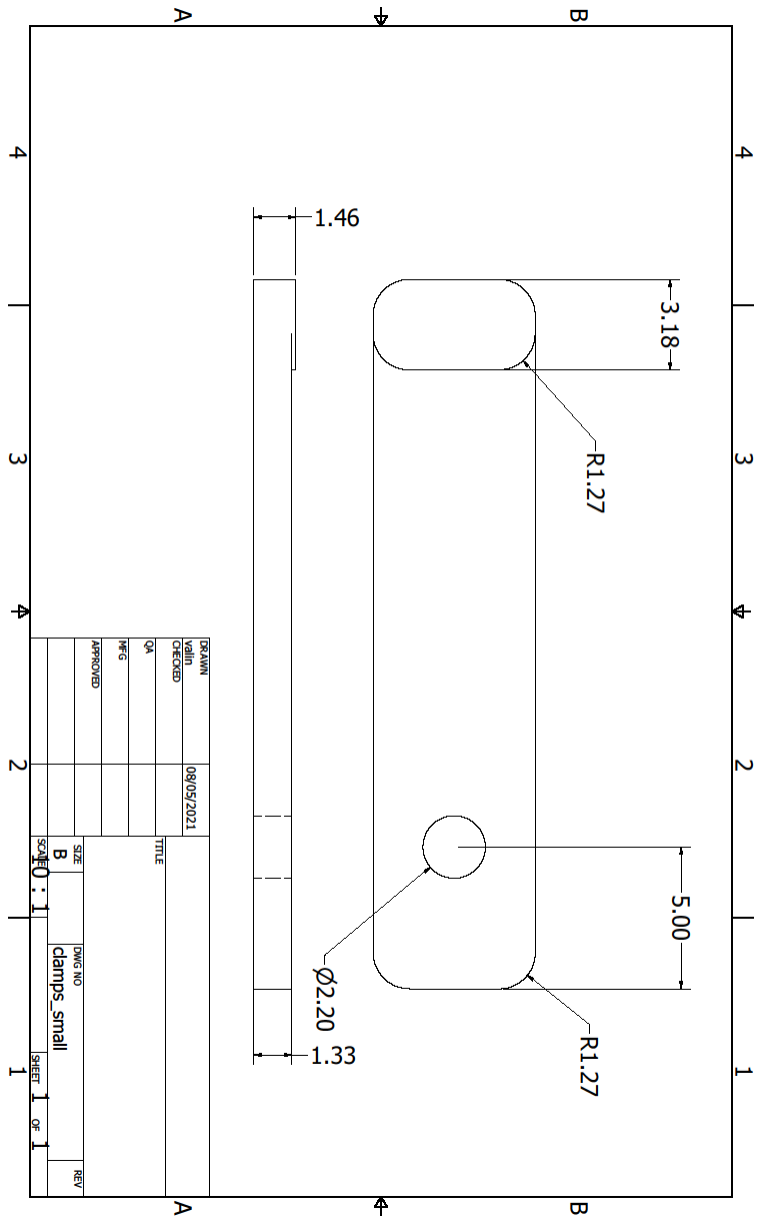
DATE	2024.1.11	SCALE	1:1
DESIGNER		CHECKED	
DRAWN		APPROVED	
TITLE	gear, small 9.4 mm		
ITEM NO.	Sheet 1 of 1		

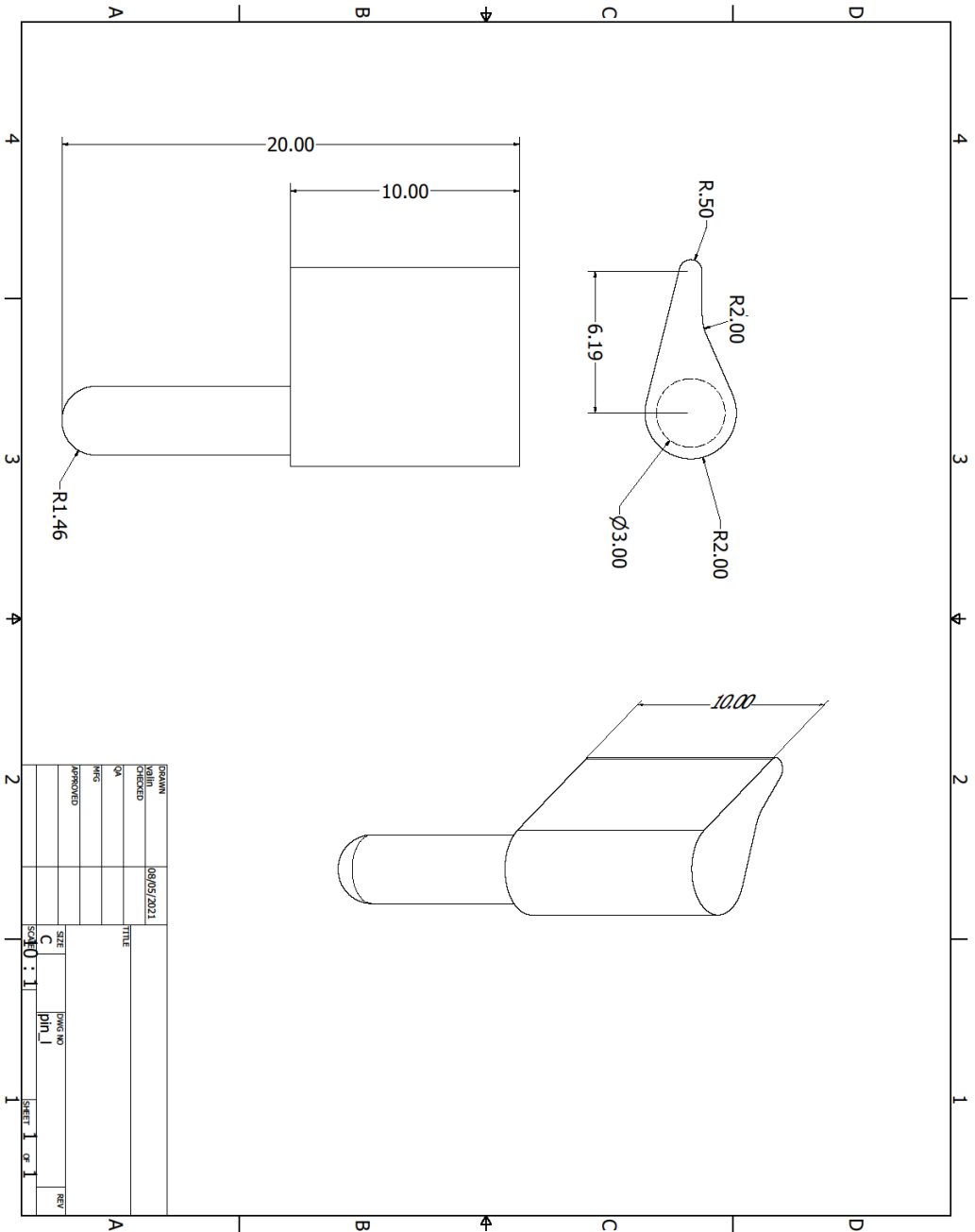












# **Příloha C: Obsah přiloženého CD**

Model návrhu v *Autodesk Inventor Professional 2021*