



**NANOVLÁKENNÝ DRENÁŽNÍ  
IMPLANTÁT PRO LÉČBU  
GLAUKOMOVÉHO ONEMOCNĚNÍ**

Ing. Andrea Klápšťová

**AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE**

**Název disertační práce:** Nanovláknový drenážní implantát pro léčbu glaukomového onemocnění

**Autorka:** Ing. Andrea Klápšťová

**Obor doktorského studia:** Textilní technika a materiálové inženýrství

**Forma studia:** Prezenční

**Školící pracoviště:** Katedra netkaných textilií a nanovláknových materiálů

**Školitelka:** doc. RNDr. Jana Horáková, Ph.D.

**Složení komise pro obhajobu disertační práce:**

předseda:  
prof. RNDr. Oldřich Jirsák, CSc. FT TUL, katedra netkaných textilií a nanovláknových materiálů

místopředseda:  
prof. Ing. Jakub Wiener, Ph.D. FT TUL, katedra materiálového inženýrství  
prof. Mgr. Aleš Mráček, Ph.D. UTB, Fakulta technologická  
prof. Ing. Aleš Richter, CSc. FM TUL, Ústav mechatroniky a technické informatiky

doc. Ing. Pavel Pokorný, Ph.D. FT TUL, katedra netkaných textilií a nanovláknových materiálů

doc. Ing. Tomáš Suchý, Ph.D. FS ČVUT, Odbor biomechaniky

doc. Mgr. Irena Šlamborová, Ph.D. (oponentka) FP TUL, katedra chemie

oponentka, která není členkou komise  
prof. RNDr. Pavla Čapková, DrSc. UJEP, Přírodovědecká fakulta

S disertační prací je možno seznámit se na studijním oddělení doktorského studia Fakulty textilní Technické univerzity v Liberci.

## **Anotace**

Disertační práce se zabývá vývojem nanovlákného drenážního implantátu pro odvod tekutiny při neléčitelném glaukomovém onemocnění. Publikace týkající se využití nanovláken v terapii glaukomu nebyly na počátku vývoje ve světové literatuře zmiňovány. Z tohoto důvodu byl veškerý vývoj jedinečný a zahrnoval překonání několika problematických milníků. Výrobní technologií implantátu byla zvolena dobře známá metoda elektrického zvlákňování, která umožňuje produkci nanovláken v průmyslovém měřítku. Na základě literární rešerše a konzultací s očními chirurgy byly vybrány dva různé směry vývoje drenážních implantátů. První z nich byl vývoj nanovlákného planárního implantátu napodobujícího strukturu trabekulární síťoviny. Druhým směrem byl vývoj tubulárního implantátu, který se v současnosti hojně využívá při mikroinvazivní glaukomové terapii. V rámci druhého experimentu bylo zkonstruováno zcela nové zařízení umožňující automatizovanou produkci na míru vyráběných tubulárních implantátů. Klíčovým aspektem práce bylo nalezení vhodného materiálu, který by splňoval požadavky na odolnost vůči buněčné fibrotizaci, což není v současné literatuře téměř diskutováno. Materiál byl v tomto ohledu podroben charakterizaci z morfologického, biologického i hydrodynamického hlediska. Výsledky práce ukazují, že veškeré požadavky splňuje biokompatibilní, nedegradabilní polymer polyvinylidenfluorid, který je zároveň při výrobě možné modifikovat polyetylenoxidem pro zajištění antifibrotických vlastností. Experimenty týkající se transportu kapalin nanovláknými planárními a tubulárními útvary byly porovnány s odhadem funkce nativního systému v oku. Obě metody predikují, v porovnání s konvenčními přístupy snižování nitroočního tlaku, mnohem lepší vlastnosti, a jsou tak dobrým podkladem pro další vývoj implantátu.

## **Klíčová slova**

Glaukom, polyvinylidenfluorid, nanovlákná, elektrické zvlákňování, glaukomový drenážní implantát

## **Annotation**

This dissertation addresses the development of a nanofibrous drainage implant for the drainage of fluids associated with glaucoma. Since no systematic approach to the application of nanofibers in the treatment of glaucoma was outlined in the professional literature at the beginning of the development of this field, progress was sporadic and involved the overcoming of a range of problem issues. The already well-established electrospinning method, which enables the production of nanofibers at the industrial scale, was selected for the production of the implant. Based on a literature search and consultations with an ophthalmologist, two differing approaches were taken to the development of the drainage implants. The first approach involved the development of a nanofibrous planar implant that imitated the structure of the trabecular meshwork, whereas the second approach concerned the development of a tubular implant, an approach that is used widely in the treatment of microinvasive glaucoma. A novel device, which enables the automated production of custom-made tubular implants, was designed and constructed as part of the second experiment. One of the key aspects of the study was to find a material that was capable of fulfilling the requirements for resistance to cell fibrotization (a topic that has only rarely been mentioned in the expert literature) and to subject the candidate materials to characterization from the morphological, biological and hydrodynamic points of view. The results of the research indicated that all the set requirements were met by the biocompatible, non-degradable polymer polyvinylidene fluoride, which, moreover, can be modified via the use of polyethyleneoxide so as to provide anti-fibrotic properties during the production process. The experiments on the transport of fluids through the nanofibrous planar and tubular structures were compared so as to estimate the functioning of the native system in the eye. Both methods exhibited significantly better properties than conventional approaches to the reduction of intraocular pressure and, thus, provide an ideal basis for the further development of the implant.

## **Keywords**

Glaucoma, polyvinylidene fluoride, nanofibers, electrospinning, glaucoma drainage implant

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod.....</b>	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>Přehled o současném stavu problematiky .....</b>	<b>8</b>
2.1	<i>Glaukom .....</i>	8
2.2	<i>Terapie glaukomu.....</i>	9
2.3	<i>Materiály vhodné pro vývoj glaukomového drenážního implantátu.....</i>	10
2.4	<i>Technologie výroby nanovláken .....</i>	10
2.5	<i>Transport kapalin nanovláčennými materiály.....</i>	12
2.6	<i>Shrnutí dosavadních poznatků a cíle disertační práce.....</i>	13
<b>3</b>	<b>Popis vlastního způsobu řešení .....</b>	<b>15</b>
3.1	<i>Návrh materiálů pro vývoj glaukomového drenážního implantátu.....</i>	15
3.2	<i>Výběr vhodného materiálu pro produkci glaukomového implantátu.....</i>	17
3.3	<i>Vybrané parametry ovlivňující vláčennou morfologii PVDF .....</i>	18
3.4	<i>Modifikace vláčenné vrstvy PVDF.....</i>	20
3.5	<i>Transport kapalin trabekulární síťovinou .....</i>	23
3.6	<i>Transport kapalin planárním implantátem .....</i>	24
3.7	<i>Transport kapalin tubulárním implantátem .....</i>	26
3.8	<i>Návrh kompozitního planárního implantátu .....</i>	26
3.9	<i>Návrh kompozitního tubulárního implantátu .....</i>	28
<b>4</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>30</b>
<b>5</b>	<b>Navazující práce a návrh dalšího postupu řešení .....</b>	<b>32</b>
<b>6</b>	<b>Seznam vědeckých výstupů autorky .....</b>	<b>34</b>
<b>7</b>	<b>Stručná charakteristika dosavadní odborné, výzkumné a vědecké činnosti.....</b>	<b>38</b>
<b>8</b>	<b>Seznam literatury .....</b>	<b>41</b>
<b>9</b>	<b>Curriculum vitae .....</b>	<b>49</b>
<b>10</b>	<b>Vyjádření školitelky doktorandky .....</b>	<b>51</b>
<b>11</b>	<b>Oponentské posudky disertační práce.....</b>	<b>52</b>

# 1 Úvod

Glaukom je nevratné oční onemocnění, jehož hlavní příčinou je vysoký nitrooční tlak. Neléčený průběh může způsobit degenerativní změny v místě zrakového terče následované ztrátou zraku. Mechanismus jeho vzniku není dosud znám, což z něj činí velmi problematické globální onemocnění s prevalencí 3,54 % u osob starších 40 let. Světová zdravotnická organizace zahrnuje glaukom mezi prioritní oční onemocnění způsobující slepotu [1–3]. Stěžejní motivací při výzkumu možností terapie je fakt, že v současné době neexistuje žádná dlouhodobá léčba glaukomu. Existují pouze modifikace nitroočního tlaku za účelem jeho redukce [4]. Míra úspěšnosti tohoto přístupu v dlouhodobých studiích, kdy je nitrooční tlak dostatečně redukován a pacient již nepotřebuje žádnou další léčbu, je stále nižší než 50 % [5–7].

Z těchto důvodů vznikl zájem očních lékařů o fungující glaukomový drenážní implantát, který by zkvalitnil život mnoha pacientům. Prvotní myšlenku spojit nanovláčna s terapií glaukomu přinesl na Katedru netkaných textilií a nanovláčkových materiálů (KNT) primář očního oddělení Krajské nemocnice v Liberci, MUDr. Petr Bulíř, FEBO. Jeho zájem pramenil především ze zkušeností s nefungujícími či nedostatečně účinnými preparáty a systémy. Motivace pana primáře byla podpořena bohatými zkušenostmi členů KNT s výrobou nanovláčkových materiálů a zajímavou problematikou, která dosud nemá řešení.

V současnosti představují velký potenciál léčby tzv. mikroinvazivní implantáty odvádějící tekutinu z přední či zadní oční komory do odtokových cest. Problémy těchto implantátů jsou často spojovány s nedostatečnou redukcí nitroočního tlaku, vzniku pooperační hypotonie nebo progresivním poškozením endotelových buněk rohovky spojené s tuhostí implantátů [8, 9]. Z těchto důvodů existuje velký potenciál ve vývoji zcela nového přístupu, vhodného pro dlouhodobý odvod přebytečné nitrooční tekutiny. Využití materiálů na bázi nanovláken by mohlo přinést očekávané řešení a zároveň být motivací při řešení problematiky. Nespornou výhodou nanovláken je jejich flexibilita umožňující tvarové přizpůsobení zakřivení oka. Výběr vhodného materiálu je stěžejním prvkem konstrukce glaukomového implantátu. Návrh tvaru je poté velice flexibilní a může být jak planární, tak tubulární o rozměrech odpovídajících konkrétním požadavkům.

## 2 Přehled o současném stavu problematiky

### 2.1 Glaukom

Glaukom je skupina očních onemocnění, označovaná za jednu z nejčastějších příčin ztráty zraku na světě. Hlavním klinickým projevem jsou charakteristické změny zrakového nervu spojené se zvyšováním nitroočního tlaku. Neléčený průběh vede k postupnému odumírání nervových buněk a vláken v místě zrakového terče, což může vést k úplné slepotě. Pokud dojde k poškození svazku axonů, dochází k defektům zorného pole. Bez léčby jsou výpadky stále větší, nicméně klinicky lze defekty prokázat až při ztrátě kolem 50 % axonů. Pacient často netuší, že k výpadkům došlo, protože zorná pole obou očí se překrývají [10–12].

Trabekulární síťovina je struktura zodpovědná za udržování normální hodnoty nitroočního tlaku. Za běžných okolností jí odtéká většina nitrooční tekutiny (NOT), asi 65–90 %. Přesto, že příčiny glaukomového onemocnění nejsou dosud objasněny, je jisté, že zásadní vliv na vznik glaukomu má zvýšená odolnost trabekulární síťoviny vůči odtoku NOT způsobená strukturálními a/nebo biochemickými změnami [10, 13, 14]. Trámčina má charakteristickou architekturu složenou ze tří vrstev (vnitřní uveální, hlubší korneosklerální a vnější juxtakanalikulární). Její celková tloušťka je 70  $\mu\text{m}$  v přední části a 100–130  $\mu\text{m}$  v zadní části. Největší odpor vůči odtoku tekutiny vykazuje juxtakanalikulární trabekulární síťovina (JTS) s póry v rozmezí 2–15  $\mu\text{m}$ , porozitou 30–40 % a tloušťkou 2–20  $\mu\text{m}$ , která je v těsném kontaktu s endoteliální výstelkou vnitřní stěny Schlemmova kanálu, odkud tekutina proudí zpět do celkového krevního oběhu. Mezery mezi póry JTS nejsou prázdné, ale obsahují látky, jako jsou proteoglykany a hyaluronan, což způsobuje zvyšování odporu vůči odtoku NOT [13, 15–19].

NOT se tvoří v řasnatém tělísku. Z hlediska poměru mezi její tvorbou a odtokem je známo, že v celkovém denním průměru se vymění asi 2–3  $\mu\text{l}$  tekutiny za minutu. Z chemického hlediska je z 98,8 % tvořena vodou a zbytek jsou látky, jako je sodík, chloridy, močovina, glukóza, aminokyseliny apod. [20–23].

Nitrooční tlak je dán produkcí a odtokem NOT. Jeho běžná hodnota ve zdravém očním aparátu se pohybuje mezi 9 a 21 mmHg, tedy cca 1,2 – 2,8 kPa. Normální nitrooční tlak je takový, který udržuje integritu oka a při kterém nedochází k poškození zrakového nervu. Tento pojem je úzce spjat s glaukomovým onemocněním, protože se jedná o hlavní modifikovatelný faktor zabráňující poškozování očního nervu. Nebezpečný je jak příliš vysoký, tak příliš nízký nitrooční tlak (oční hypotonie) [11, 24].

## 2.2 Terapie glaukomu

V současné terapii glaukomu jsou využívány tři základní přístupy, založené na redukci nitroočního tlaku. Konzervativní léčba pomocí lokálních nebo orálních medikamentů, laserové intervence, chirurgická léčba nebo jejich kombinace. V případě, že medikamenty či laserová terapie nejsou dostatečně účinné, je nutné přistoupit k variantám incizní chirurgie. Mezi tyto techniky je možné zařadit klasické glaukomové implantáty, jejichž úkolem je vytvořit alternativní cestu odtoku NOT v oku pomocí destičky implantované do zadní části limbu [25, 26]. Dále trabekulektomii (TRB), což je nejčastěji prováděná operace u pacientů s pokročilým stádiem glaukomu, která prokazatelně zachovává zorné pole a snižuje nitrooční tlak [27, 28]. Případně TRB spojenou s dalšími technikami jako jsou antimetabolity nebo implantáty. Bohužel, úspěšnost TRB je stále nižší než 50 % [29–31].

Nejnovější přístupy jsou dnes založeny na mikroinvazivní glaukomové chirurgii (MIGS). Jejich výhodou je nízká invazivita procesu spojená s menším rizikem pooperačního zánětu a rychlejším hojením. Principem je rozšíření přirozeného odtoku NOT obvykle do Schlemmova kanálu nebo vytvoření nové cesty ústící pod spojivku podobně jako při TRB. Na trhu nyní existuje několik MIGS implantátů schválených americkým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv jako například iStent (Glaukos, USA), Hydrus (Alcon, USA) nebo Cypass (Alcon, USA) [32].

Nedávné studie zjistily problémy s mikroinvazivním implantátem Cypass z nerezové oceli. Provedené dlouhodobé výzkumy prokázaly progresivní poškození rohovkového endotelu související s jeho umístěním. Tyto komplikace jsou spojeny s tuhostí implantátu, který se nemůže přizpůsobit přirozenému zakřivení skléry. Z tohoto důvodu je vhodnější používat implantáty vyrobené z flexibilnějších materiálů. V klinické praxi trpí MIGS komplikacemi také v důsledku pooperačního jizvení a vzniku hypotonie. Vzhledem ke své konstrukci neumožňují optimální redukci nitroočního tlaku v pooperačním období [8, 33].



Celkově tyto nedostatky zdůrazňují potřebu standardizovanějšího a bezpečnějšího přístupu k vývoji glaukomových drenážních implantátů (GDI), které se vyvíjejí v souladu s biologickou odpovědí na chirurgický zákrok [34]. Současné ceny implantátů bez přístrojových nákladů se pohybují v rozmezí 800 až 1200 eur, přičemž jejich využití je vzhledem k nízké efektivitě kontroverzní. Novodobé studie vyvíjených implantátů jsou prozatím v počátcích, obvykle na úrovních *in vitro* či zvířecích *in vivo* modelů s absencí konzistentních, randomizovaných, dlouhodobých výsledků. Publikované studie v současnosti nevykazují uspokojivé výsledky, které by svou účinností překonaly postup trabekulektomie [9, 35–37].

### **2.3 Materiály vhodné pro vývoj glaukomového drenážního implantátu**

Aktuálně používané materiály v problematice glaukomu selhávají zejména v důsledku nedostatečného odvodu NOT, vzniku hypotonie nebo zánětlivé reakce. Z tohoto důvodu je nutné hledat materiály nové, které by svým charakterem snížily riziko reoperací a zlepšily život pacientů. Velmi inovativním řešením jsou v současnosti nanovláknenné materiály, které mohou simulovat funkci trabekulární síťoviny či vynikat flexibilitou tubulárních útvarů. Materiály vhodné pro produkci nanovláknenného glaukomového implantátu jsou především biokompatibilní nedegradabilní polymery schopné výroby metodou elektrického zvlákňování do formy nanovláken jako je polyvinylidenfluorid, polyvinylalkohol, polyamid 6, polyakrylonitril nebo polyuretan [38].

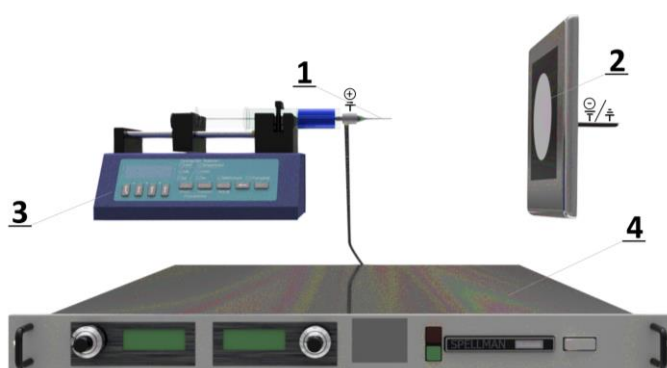
### **2.4 Technologie výroby nanovláken**

Nanovláknena je možné vyrobit různými technologiemi, přičemž mezi nejvíce produktivní patří elektrické zvlákňování. Tuto technologii je možné rozdělit z hlediska použitého zdroje vysokého napětí na stejnosměrné a střídavé. Obě technologie jsou popsány mnoha autory a liší se především objemovou hmotností vznikající vrstvy [39–42].

Metody produkce nanovláken můžeme rozdělit na laboratorní a průmyslové. Tradiční jehlové zvlákňování má nižší výrobní kapacitu, která ve většině případů nepřekračuje 0,5 g/hod (v případě použití jedné jehly), nicméně hodí se například pro výrobu speciálních vláknenných útvarů nebo výrobu nanovláken v laboratorním měřítku.

Speciální vlákenné struktury lze získat různým tvarem a uspořádáním kolektoru, na které lze zachytávaná vlákna cíleně uspořádat [43]. Ke zvýšení výrobní kapacity je možné využít více jehel. Tím ale mohou nastat problémy spojené se vzájemným rušením elektrických polí nebo blokáci jehel polymerními roztoky [44]. Nejznámější a v současnosti komerčně nejpoužívanější metodu průmyslové výroby nanovláken představuje zvlákňování z volné hladiny polymerního roztoku (bezjehlové zvlákňování) technologií Nanospider.

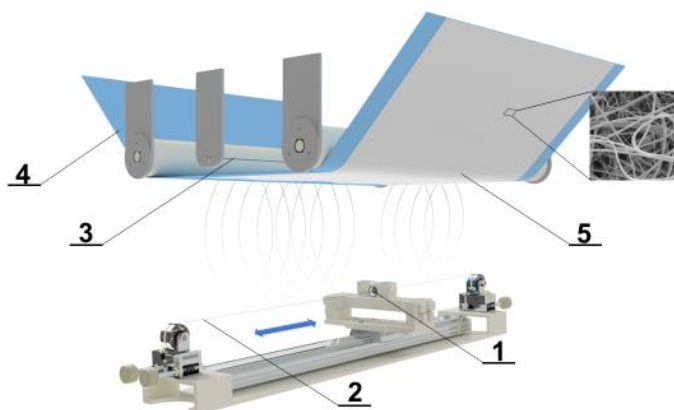
V laboratorním měřítku se nejčastěji využívá jehlové zvlákňování, jehož schéma je zobrazeno na obrázku 1. Základem jsou dvě protilehlé elektrody, které tvoří zvlákňovací jehla (1) a kolektor (2), mezi nimiž je nutný rozdíl elektrických potenciálů. Polymerní roztok je na konec jehly dávkován pneumatickou lineární pumpou (3) a následně podroben silám elektrického napětí zajišťovaným vysokonapěťovým zdrojem (4). Poté je formován do tzv. Taylorova kuželu a následně dlužen do tvaru nano/mikro vláken v závislosti na materiálových a procesních podmínkách. V průběhu letu vláken ke kolektoru dochází k odpařování rozpouštědlového systému a na kolektor dopadají suchá vlákna. Jako kolektor mohou být využity libovolné útvary z vodivého materiálu.



Obr. 1 Schéma jehlového elektrického zvlákňovacího zařízení

Inovace bezjehlového zvlákňování spočívá v samoorganizaci polymerního roztoku v důsledku elektrohydrodynamické nestability [45]. Schéma zařízení je zobrazeno na obrázku 2. Jednotlivá zařízení se od sebe mohou lišit, nicméně aktuální moderní princip vychází ze sestavy, kdy je polymerní roztok nanášen ocelovým průvlakem (1) na drátovou elektrodu (2) s přivedeným kladným elektrickým napětím. Vlákna jsou formována nahodile při překonání kapilárních sil tenké vrstvy nanášeného polymeru. Protielektrodu (3) tvoří záporně nabíjená drátová elektroda, pod kterou je umístěna převíjená podkladová textilie (4).

Vlivem rozdílu elektrických potenciálů jsou nanovláknna (5) na tomto nosném podkladu zachycena a společně s regulací rychlosti odtahu tvoří výslednou planární vrstvu o požadované plošné hmotnosti. Tu je možné dále ovlivnit rychlostí pohybu nádržky s polymerním roztokem po struně.



Obr. 2 Schéma elektrického zvlákňování z volné hladiny – Nanospider

## 2.5 Transport kapalin nanovláknennými materiály

Od nanovláknenného implantátu určeného pro terapii glaukomu jsou vyžadovány vlastnosti, které mu umožní odvádět požadované množství NOT, a zachovávat tak normální hodnotu nitroočního tlaku. Pro zhodnocení těchto parametrů je dobré umět predikovat chování kapalin v porézním prostředí. Zmínky o průtoku kapalin nanovláknennými materiály se v literatuře nachází pouze sporadicky vzhledem ke komplikovanému výpočtu spojenému s nahodilou strukturou vláken. Hodnocení funkčnosti glaukomových implantátů je v drtivé většině případů prováděno až po chirurgickém zákroku přímo v oku pacienta nebo na zvířecím modelu. Literatura sice poskytuje záznamy o tvarových predikcích, nicméně až *in vivo* implantace s následným měřením nitroočního tlaku ukazuje, zda je implantát funkční či ne. Tento fakt souvisí mimo jiné i s individuálními operačními technikami jednotlivých chirurgů. V klasické operaci trabekulektomie bez implantátu je tok tekutiny regulován mechanickým napětím, které vytvářejí fixační stehy ve sklerální oblasti. Pokud v pooperačním období nedojde k požadované redukci nitroočního tlaku, může chirurg stehy povolit. Bohužel tento postup souvisí s nekonzistentními výsledky hodnocení implantátů a může zvyšovat riziko pooperační hypotonie [46].

Popis průtoku kapaliny porézním médiem se obvykle řídí Darcyho zákonem založeným na empirickém pozorování chování proudění [47, 48]. Zápis uvádí rovnice (3):

$$Q = \frac{-K_D A \Delta P}{\eta L}, \quad (3)$$

kde  $Q$  je průtok kapaliny,  $A$  je plocha průřezu porézního prostředí se specifickou hydraulickou konduktivitou  $K_D$  (index  $D$  slouží k označení výpočtu dle Darcyho zákona),  $\Delta P$  je rozdíl tlaků a  $\eta$  je dynamická viskozita kapaliny procházející prostředím o délce  $L$ .

Dalším přístupem je vztah Kozeny-Carman. Rovnice (4) spojuje specifickou hydraulickou konduktivitu  $K_{KC}$  (index  $KC$  slouží k označení konduktivity vypočtené dle Kozeny-Carmanovy rovnice) s geometrickými parametry, které jej charakterizují,

$$K_{KC} = \frac{\varepsilon D_h^2}{4 K_C}. \quad (4)$$

kde  $\varepsilon$  je porozita neboli poměr objemu pórů k celkovému objemu a  $D_h$  je ekvivalentní průměr pórů.  $K_C$  je konstanta porézního prostředí závislá na geometrii pórů [49–52].

Proudění reálné kapaliny při ustáleném toku tubulárními systémy je obvykle modelován Hagen-Poiseuilleovou rovnicí. Rovnice (5) bere v úvahu geometrické proporce trubice a dynamickou viskozitu kapaliny při laminárním proudění.

$$Q = \frac{\pi r^4 \Delta P}{8 \eta L}, \quad (5)$$

kde  $Q$  je průtok kapaliny,  $r$  je poloměr trubice,  $\Delta P$  je rozdíl tlaků,  $\eta$  je dynamická viskozita kapaliny proudící trubicí délky  $L$  [53, 54].

## 2.6 Shrnutí dosavadních poznatků a cíle disertační práce

Otázka, jaké by měl mít implantát pro terapii glaukomu vlastnosti, není zcela jednoduchá. Známe-li charakteristiku nativního systému, kterým je běžně zajištěn odvod NOT, je možné jej využít k predikci vlastností a morfologických parametrů. Důležitou pomůckou jsou také aktuálně používané implantáty a znalosti jejich chování, výhod a nevýhod. Základní premisou pro konstrukci nanovláčenného GDI je správný výběr materiálu. Samozřejmostí je jeho biokompatibilita v daném místě určení, netoxičita a inertnost.

Dalším předpokladem je prevence degradace materiálu, který by mohl postupným rozpadem zvyšovat odtok NOT. Podmínkou je také odolnost materiálu vůči růstu buněk. V případě vzniku fibrotické reakce by mohlo docházet k blokaci odtokových cest spojené se snížením jejich funkce. Z posledních dvou uvedených podmínek je zřejmé, že materiál by měl napodobovat nativní strukturu trabekulární síťoviny a zároveň ji zachovávat v dlouhodobém horizontu bez výrazných morfologických změn, a udržovat tak normální nitrooční tlak správným a efektivním odvodem NOT. Z toho vyplývá, že materiál musí být porézní, s dostatečnou průměrnou velikostí pórů tak, aby zajistil ideální odtok NOT a zároveň nedocházelo k přílišnému snížení nitroočního tlaku a vzniku pooperační hypotonie. Implantát musí být tenký, aby se minimalizovalo trauma způsobené intersticiálním zavedením cizího tělesa. V případě výroby je nutná reprodukovatelnost se snadným převedením do průmyslového měřítka.

Komplexní vlastnosti implantátu jako celku jsou především jeho funkčnost, a to jak při operačním zákroku, tak v pooperačním i dlouhodobém horizontu. Implantát by měl být tvarově přizpůsobitelný zvolené operační technice nebo na míru pacientovi a vydržet veškerou manipulaci při aplikaci. Zmiňovaným problémem je tuhost implantátu, která může způsobovat poškození endotelu rohovky, proto je jednou z podmínek dostatečná flexibilita a tvarová přizpůsobivost zakřivené sklěře. Podmínkou je samozřejmě i možnost sterilizace implantátu některou ze schválených metod a v neposlední řadě i cena, která by měla umožňovat využití i v rozvojových zemích, kde se glaukomové onemocnění vyskytuje nejčastěji.

Na základě těchto zjištění jsou cíle disertační práce jasně stanoveny a mohou být definovány následovně:

- výroba nanovláknenného GDI z vhodného nedegradabilního materiálu, vhodnou technologií, včetně optimalizace výrobního procesu
- studium antifibrotických vlastností navrhovaného materiálu
- studium hydrodynamických vlastností navrhovaného materiálu
- návrh glaukomového drenážního implantátu na základě předchozích znalostí

### 3 Popis vlastního způsobu řešení

Na základě teoretických znalostí a zmíněných požadavků na vlastnosti implantátu směřoval vývoj nanovláknenného GDI dvěma směry. První z nich byl vývoj planárního implantátu simulujícího strukturu trabekulární síťoviny tak, aby kompenzoval její celkové morfologické změny a zachovával normální hodnotu nitroočního tlaku. Druhým směrem byl vývoj tubulárního implantátu napodobujícího současně vyvíjené MIGS zvýhodněné o flexibilitu materiálu. V obou případech byla pro výrobu zvolena technologie stejnosměrného elektrického zvlákňování, která je velmi variabilní a umožňuje produkci planárních i tubulárních struktur.

#### 3.1 Návrh materiálů pro vývoj glaukomového drenážního implantátu

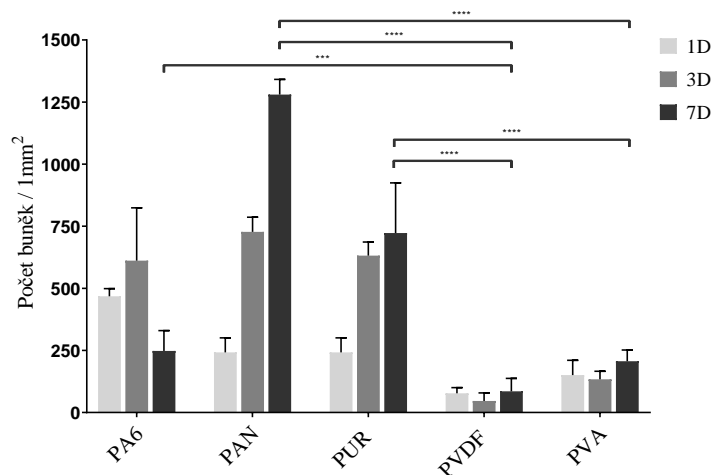
Primárním experimentem vývoje nanovláknenného GDI byla selektivní analýza nedegradabilních polymerů s ověřením jejich zvláknitelnosti metodou bezjehlového elektrického zvlákňování. Tato metoda byla zvolena z důvodu případné komercializace výroby vrstev tak, aby bylo možné materiály v pozdější fázi experimentů vyrobit na průmyslovém zařízení.

Dle provedené literární rešerše a konzultací s očními lékaři byly pro experiment vybrány materiály: polyamid 6 (PA6), polyakrylonitril (PAN), polyuretan (PUR), polyvinylidenfluorid (PVDF) a polyvinylalkohol (PVA). PA6 byl rozpouštěn v rozpouštědlovém systému kyselina octová (KO; min. 99 %, Penta Chemicals, ČR) a kyselina mravenčí (KM; min. 98 %, Penta Chemicals, ČR) v poměru 2:1. PAN byl rozpouštěn v N,N-Dimethylacetamidu (DMAC; min. 98 %, Penta Chemicals, ČR). Pro PUR byl nejvhodnější N,N-Dimethylformamid (DMF; min. 99,5 %, Penta Chemicals, ČR). Všechny zmíněné polymery byly rozpuštěny za pokojové teploty po dobu min. 24 hod. PVDF byl rozpuštěn v DMAC při teplotě 60 °C po dobu min. 24 hod. PVA byl rozpuštěn v demineralizované vodě při teplotě 90 °C a následně stabilizován síťovacím činidlem glyoxalem (40 hm. %, Sigma Aldrich, Německo) o koncentraci 3 hm. % za katalýzy 4hm.% kyseliny fosforečné (85 hm. %, Sigma Aldrich, Německo). Vlákenná vrstva PVA byla následně tepelně síťována při 130 °C po dobu 7 min. Oba polymerní roztoky byly před zvlákňováním ochlazeny na teplotu 21 °C.

Ověření zvláknitelnosti polymerních roztoků proběhlo na zařízení Nanospider (NS 1WS500U, Elmarco, ČR). Klimatické podmínky (teplota a relativní vlhkost vzduchu) byly regulovány přesně řízeným klimatizačním systémem (NS AC150, Elmarco, ČR). Pro každý polymerní roztok byly postupně optimalizovány zvláknovací podmínky tak, aby vznikla homogenní vláknenná vrstva bez makroskopických defektů a byla zajištěna jejich dostatečná produktivita. Plošná hmotnost všech vrstev byla 5 g/m<sup>2</sup>. Statistické vyhodnocení dat v celé práci bylo provedeno softwarem GraphPad Prism v9 (GraphPad Software, USA). Statisticky signifikantní změny byly akceptovány na hladině významnosti  $p \leq 0,05$ . V případě  $n < 30$  byla data prezentována jako průměrná hodnota  $\pm$  směrodatná odchylka (SD). Pro  $n = 200$  byla použita průměrná hodnota  $\pm$  95% interval spolehlivosti ze směrodatné odchylky (95% IS).

Na základě provedené analýzy různých druhů sterilizací byla pro veškeré materiály vybrána metoda sterilizace plynným etylenoxidem při teplotě 21 °C po dobu 12 hod. (Anprolene An-74i, Andersen sterilizers, USA) s následným odvětráním po dobu minimálně 7 dní z důvodu odstranění eventuálních reziduí plynu. Vlákenná morfologie byla hodnocena skenovacím elektronovým mikroskopem (Tescan Vega 3SB Easy Probe, Tescan, ČR) včetně hodnocení softwarem NIS Elements (LIM, ČR). Smáčivost povrchu materiálů byla vyhodnocena statickým kontaktním úhlem (Goniometer See System 6.2, Advex Instrument, ČR).

Zvolené materiály byly prověřeny *in vitro* experimentem porovnávajícím jejich odolnost vůči růstu buněk, přičemž za vhodnější materiál byl považován ten, na kterém nedocházelo k jejich množení. Pro experiment byla zvolena metoda přímého stanovení počtu buněk na definované ploše materiálu osazeného fibroblastovou buněčnou linií dle standardního postupu. Vyhodnocení proběhlo pomocí fluorescenční mikroskopie (FM; Nikon Eclipse Ti-E, Nikon Imaging, ČR). Výsledky jsou prezentovány v grafu 1.



Graf 1 Počet buněk po 1, 3 a 7 dnech kultivace 3T3 myších fibroblastů na vrstvách: PA6, PAN, PUR, PVDF, PVA;  $n = 10$ ; průměr  $\pm$  SD; značeno:  $p = *** 0,0061$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$

Nejlépe buněčné infiltraci odolával materiál PVDF, který vykazoval i po 7 dnech kultivace signifikantní potlačení buněčné proliferace oproti všem ostatním materiálům. Pouze v případě PVA docházelo k podobnému chování. Ostatní materiály vykazovaly statisticky vyšší počty buněk ve všech kultivačních dnech.

### 3.2 Výběr vhodného materiálu pro produkci glaukomového implantátu

Získané výsledky týkající se výrobnosti, morfologického hodnocení, smáčivosti a *in vitro* studie odhalily, že PVDF a PVA jsou perspektivními kandidáty pro vývoj nanovláknenného GDI. PVDF byl finálně zvolen jako vhodnější materiál, vzhledem k jeho vyšší výrobní produktivitě, snazší výrobě bez nutnosti síťování a lepší manipulaci s vláknennou vrstvou. Vysoká hydrofilita PVA způsobovala po smáčení vodou nepoddajnost v důsledku nabobtnání. Následná zkouška jemné operační techniky prokázala, že je práce s takovým materiálem velmi problematická. Nicméně například Klíčová [55] ve společné studii uvádí vývoj dvouvrstvých nanovláknenných útvarů, kdy jsou nevýhody s manipulací potlačeny mechanicky odolnějším materiálem, na kterém je PVA adherováno. V případě využití kompozitních materiálů může být PVA vhodnou alternativou [55].



Uvedené faktory vedly ke zvolení PVDF jako nejvhodnějšího kandidáta k budoucí produkci GDI, přestože se ve vláknenné struktuře vyskytovaly defekty. Navazující experimenty byly prováděny s cílem optimalizace výroby vrstvy PVDF nalezením vhodných materiálových a procesních podmínek.

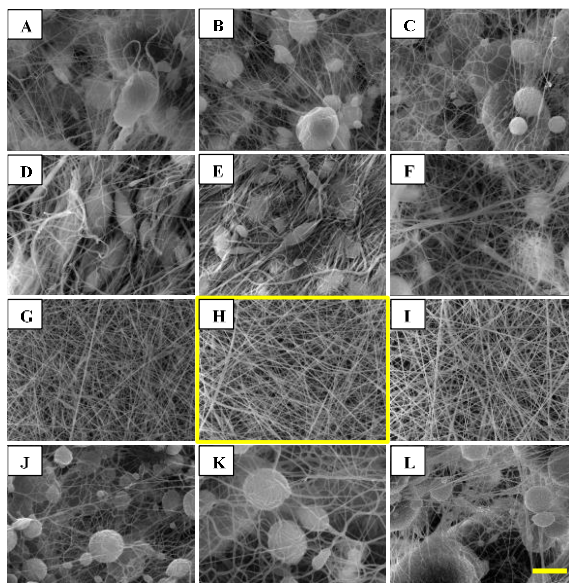
### 3.3 Vybrané parametry ovlivňující vláknennou morfologii PVDF

Navazující experimenty si kladly ambici zlepšit vláknennou morfologii zvoleného materiálu PVDF, zvýšit výrobnost a zachovat mechanické a biologické vlastnosti. Faktorů, které mají vliv na vláknennou morfologii PVDF, je celá řada. Dále budou uvedeny parametry, které dle experimentálního pozorování drasticky ovlivňují kvalitu vláknenné vrstvy PVDF a umožňují výrobu vrstvy bez defektů. Molární hmotnost polymeru jako jeden z hlavních parametrů přímo ovlivňuje zvláknitelnost materiálu. K původně použitému PVDF Kynar 720 (KYNAR;  $M_w = 200\,000$  g/mol) byly zvoleny dva další polymery, Sigma Aldrich (SIGMA;  $M_w = 180\,000$  g/mol) a Solef 1015 (SOLEF;  $M_w = 573\,000$  g/mol). Pro stanovení vhodného rozpouštědlového systému byl použit Hildebrandův parametr rozpustnosti v kombinaci s empirickým sledováním chování roztoku. Finálně byla zvolena kombinace rozpouštědel DMAC/AC v poměru 4:1. Polymerní roztoky PVDF se při laboratorní teplotě obvykle rozpouští velmi pomalu, přičemž se vzrůstající molární hmotností se doba prodlužuje. Bylo zjištěno, že při rozpouštění PVDF v kombinaci DMAC/AC při různých teplotách dochází při elektrickém zvláknění k postupnému gelování roztoku. Avšak po přidání acetonu do již zcela rozpuštěného polymeru v DMAC je roztok stabilní. Současně produkci nanovláknenné vrstvy PVDF zásadně ovlivňují klimatické podmínky, a to především vlhkost vzduchu. Výrazně méně defektů a menší průměry vláken vznikají ve vrstvách vyrobených při nižší vlhkosti vzduchu (cca 30 %). Se vzrůstající vlhkostí vzduchu přibývá defektů ve struktuře vrstvy.

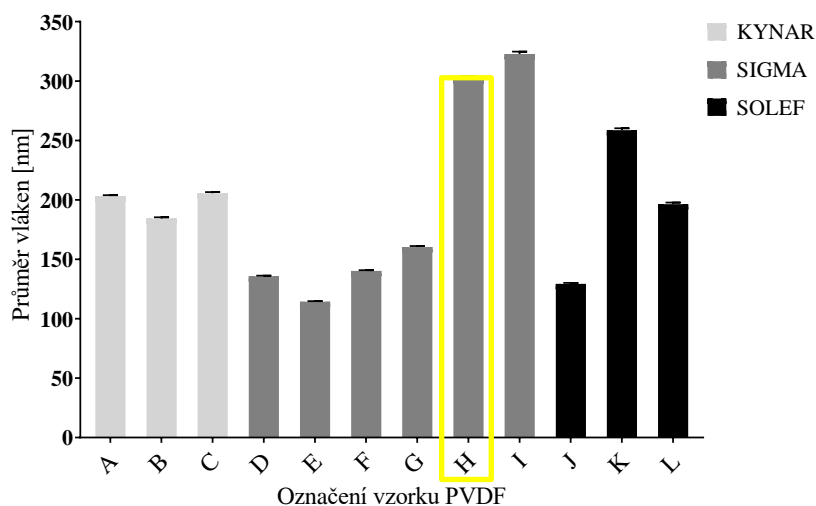
Seznam polymerních roztoků podrobených zvláknovací analýze a jejich SEM snímky je uveden na obrázku 3. Vrstvy s nejnižší molární hmotností a vyšší koncentrací polymerního roztoku od výrobce Sigma Aldrich produkovaly homogenní vláknennou vrstvu bez přítomnosti defektů, přičemž nebylo nutné použít žádná aditiva k dosažení uniformní morfologie. Lze pozorovat zřetelný nárůst průměrů vláken u roztoků 26 hm. % a 28 hm. % PVDF. Mezi oběma koncentracemi se neprojeví větší známky odlišností, což je známkou vhodně zvolených materiálových i procesních podmínek.

Finálně byl zvolen roztok 26 hm. % PVDF (SIGMA) v rozpouštědlovém systému DMAC/AC 4:1 vzhledem k nižšímu průměru vláken s menší směrodatnou odchylkou a lepší zvláknitelností. Ta byla ovšem hodnocena pouze z předchozích zkušeností se zvlákněním různých materiálů. Graf 2 porovnává průměry vláken produkovaných vrstev.

Ozn.	Typ PVDF	Konc. [hm. %]	Rozpouštědla
A	KYNAR	20	DMAC
B	KYNAR	20	DMAC/AC (4:1)
C	KYNAR	22	DMAC/AC (4:1)
D	SIGMA	20	DMAC
E	SIGMA	20	DMAC/AC (4:1)
F	SIGMA	22	DMAC/AC (4:1)
G	SIGMA	24	DMAC/AC (4:1)
H	SIGMA	26	DMAC/AC (4:1)
I	SIGMA	28	DMAC/AC (4:1)
J	SOLEF	20	DMAC
K	SOLEF	20	DMAC/AC (4:1)
L	SOLEF	22	DMAC/AC (4:1)



Obr. 3 Tabulka různých typů polymerů a SEM snímky zvláknitelnosti jednotlivých druhů PVDF. Měřítko 10  $\mu$ m



Graf 2 Průměry vláken jednotlivých druhů PVDF;  $n = 200$ ; průměr  $\pm$  95% IS; označení viz obrázek 3

Kvalita nanovlákněné vrstvy PVDF byla optimalizována pomocí vybraných parametrů, které nejvíce ovlivňovaly její morfologickou strukturu.

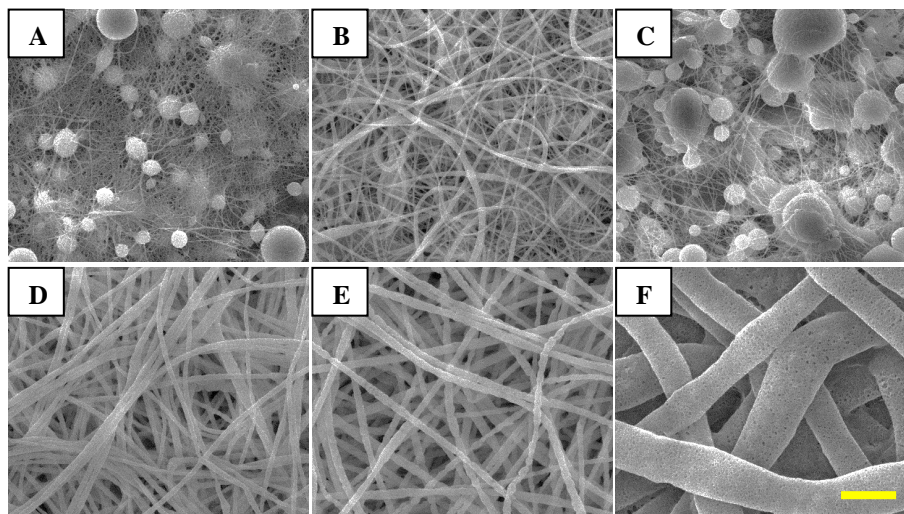
V experimentu bylo zjištěno, že molární hmotnost PVDF hraje významnou roli v produkci vrstvy s absencí defektů. Přestože byla provedena literární rešerše i empirické pozorování chování různých typů polymerních roztoků, nebyla tvorba homogenní vlákněné vrstvy čistě z PVDF snadnou záležitostí. Finální optimalizovaná vlákněná vrstva je kombinací nízké molární hmotnosti polymeru, vyšší koncentrace polymerního roztoku včetně správně zvoleného rozpouštědlového systému, složitým postupem rozpouštění s nastavením různých teplot dle kombinace rozpouštědel a nízké relativní vlhkosti vzduchu při zvlákňování. Veškeré parametry v součinnosti zajistí při procesu elektrospinningu homogenní nanovlákněnou vrstvu, kterou je možné využít v mnoha aplikacích.

### 3.4 Modifikace vlákněné vrstvy PVDF

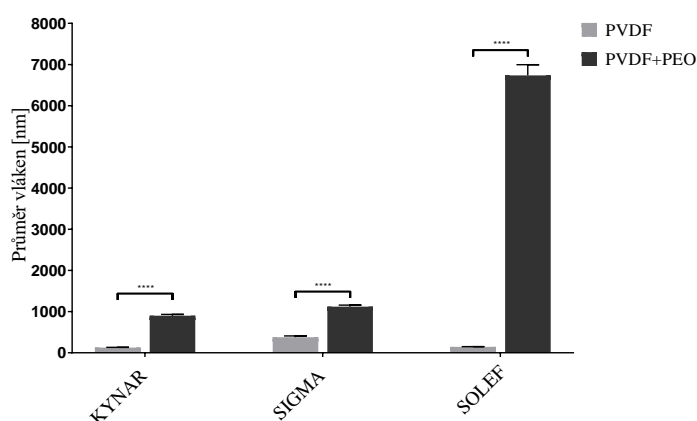
V rámci modifikace vrstev byl navržen experiment porovnávající odolnost materiálu složeného z čistého polymeru PVDF a směsi PVDF s přidavkem polyetylenoxidu (PEO) vůči růstu buněk. PEO je schopen vytvářet prostředí méně vhodné pro buněčnou proliferaci, jak bylo experimentálně ověřeno. Při výrobě vlákněné vrstvy byl použit PEO o  $M_w$ : 900 000 g/mol (Sigma Aldrich, Německo). Vzhledem k možnému morfologickému vlivu vláken PVDF obsahujících kulovité defekty byl experiment navržen tak, aby vzájemně porovnával růst fibroblastové buněčné linie na třech morfologicky odlišných typech PVDF (KYNAR, SIGMA, SOLEF) a zároveň na těchto materiálech obsahujících PEO.

Roztoky čistého polymeru PVDF 26 hm. % (SIGMA) a 20 hm. % (KYNAR a SOLEF) byly připraveny za podmínek, které uvádí kapitola 3.1. Kombinace PVDF a PEO obsahovaly 2,5 hm. % polyetylenoxidu. Tato koncentrace byla zvolena na základě postupné optimalizace. Směsi byly připraveny z roztoků 26 hm. % (SIGMA) resp. 20 hm. % (KYNAR a SOLEF) s uvedeným množstvím PEO v rozpouštědle DMAC při teplotě 60 °C po dobu 24 hod. V tomto případě nebyl do roztoku přidáván aceton z důvodu nízké teploty varu (cca 56 °C). V průběhu celého zvlákňovacího procesu bylo nutné udržovat v roztoku teplotu 60 °C, protože PEO není při nižší teplotě v DMAC rozpustný. Z tohoto důvodu nebylo možné využít zařízení Nanospider. K experimentu bylo na míru sestaveno jehlové zvlákňovací zařízení vybavené termočlánkem regulujícím teplotu polymerního roztoku v rozsahu od 20 °C do 80 °C.

SEM snímky po jednodenní expozici vláken vodnému prostředí zvětšené 5 000× jsou zobrazeny na obrázcích 4, průměry vláken shrnuje graf 3.



Obr. 4 SEM snímky zvlákněných vrstev PVDF. A: KYNAR; B: SIGMA; C: SOLEF; D: KYNAR + PEO; E: SIGMA + PEO; F: SOLEF + PEO; měřítko 10  $\mu\text{m}$

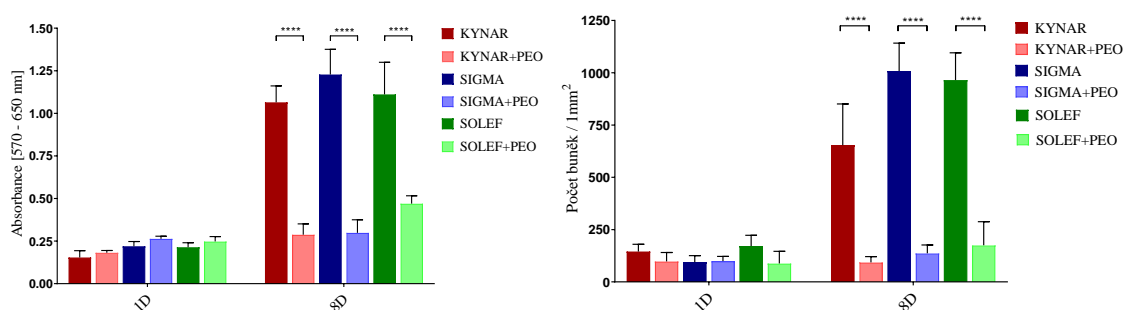


Graf 3 Porovnání průměrů vláken vrstev PVDF a PVDF + PEO;  $n = 200$ ; průměr  $\pm$  95% IS; značeno: \*\*\*\*  $p < 0,0001$

Elektricky zvlákněné materiály čistého PVDF vykazovaly odlišnou morfologii v porovnání s vrstvami adovanými PEO (16D–16F). Adicí PEO do roztoku polymeru bylo dosaženo jednotné morfologie vláken s významným zvětšením průměrů. Oba směšové polymery vytvořily konzistentní vlákenné vrstvy s minimální odchylkou od průměru. PVDF označený jako SOLEF vykazoval obrovský nárůst průměrů vláken na  $6737 \pm 258$  nm, což zřejmě souvisí s vysokou molární hmotností polymeru. Na snímcích je také patrná porézní vlákenná struktura způsobená vymytím PEO z vlákenné vrstvy.

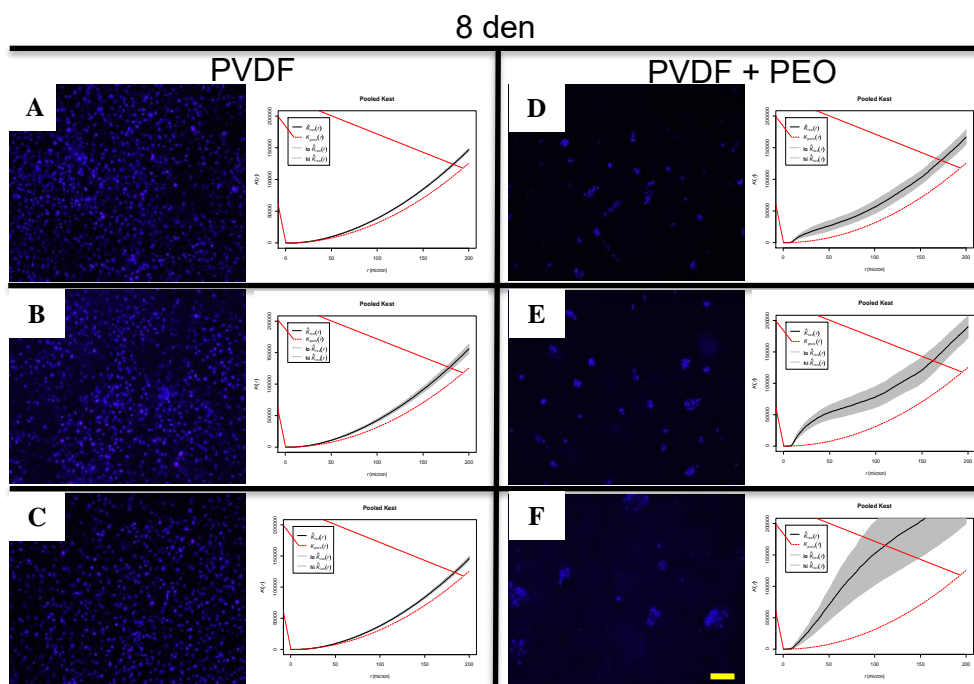
Vrstvy z čistého suchého materiálu PVDF vykazovaly po přezkoumání kontaktním úhlem převážně hydrofobní charakter. Vrstvy obsahující PVDF + PEO, vystavené působení tekutiny po dobu 8 dnů vykazovaly ve všech případech signifikantní snížení hodnot kontaktního úhlu, což potvrzovalo morfologické změny materiálu spojené s postupnou elucí PEO z vláknitých vrstev. Kontaktní úhel byl snížen v důsledku tvorby porézní struktury vláken. Vrstvy označené jako SIGMA projevily nejkonzistentnější hodnoty kontaktního úhlu s nízkou odchylkou od průměrné hodnoty.

Analýza interakce materiálů s buňkami byla provedena po 1 a 8 dnech kultivace pomocí MTT [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-difenyl-2H-tetrazolium bromid] testu dle standardního postupu. Výsledky zobrazuje graf 4.



*Graf 4 Metabolický MTT test po 1 a 8 dnech kultivace 3T3 myších fibroblastů s PVDF a PVDF + PEO; n = 12; průměr ± SD; značeno: \*\*\*\* p ≤ 0,0001; Buněčná kvantifikace po 1 a 8 dnech kultivace 3T3 myších fibroblastů s PVDF a PVDF + PEO; n = 10; průměr ± SD; značeno: \*\*\*\* p ≤ 0,0001*

Po 8 dnech kultivace byla buněčná proliferace podporována pouze na vrstvách vláken z čistého PVDF, jak znázorňuje obrázek 5. V případě kombinací PVDF + PEO nedocházelo po 8 dnech k výraznému nárůstu buněčné populace. Fluorescenční mikroskopie prokázala v případě PVDF + PEO formování buněk do klastrů. Z tohoto důvodu byla k charakterizaci jejich prostorové závislosti na povrchu materiálů použita empirická K-funkce [56].



Obr. 5 Snímky z FM obarvených buněčných jader po 8 dnech kultivace 3T3 myších fibroblastů na vrstvách KYNAR, SIGMA, SOLEF (1. sloupec) a jejich směsí s PEO (2. sloupec) včetně  $K$ -funkce představující prostorové rozložení buněk; měřítko  $100 \mu\text{m}$

Po 8 dnech kultivace proliferovaly fibroblasty na všech površích čistého PVDF. Buňky na povrchu směsí PVDF + PEO zůstávaly v klastrech a nebyla pozorována žádná další proliferace. Výsledek koreluje s daty uvedenými v MTT testu. Z výsledků je tedy zřejmé, že SIGMA + PEO je vhodná alternativa k materiálům obsahujícím antifibrotizační činidla.

### 3.5 Transport kapalin trabekulární síťovinou

Přístup je z velké části založen na literárních popisech chování NOT, které jsou zohledněny ve výpočtech. Průtok kapaliny oční tkáně je řízen gradientem hydrostatických a osmotických tlaků. Mezi tekutinou v přední oční komoře a krvi, do které NOT ústí, se nenachází významná odchylka osmotického tlaku. Jedná se tedy o tlakový rozdíl mezi nitroočním a episklerálním žilním tlakem zodpovědným za průtok odtokovou sítí [57]. Poměr tlakového rozdílu  $\Delta P$  k průtoku NOT  $Q$ , procházející tímto systémem, je odpor toku  $R$ , vyjádřen jako  $R = \frac{\Delta P}{Q}$ . Předpokládáme, že celkový pokles tlaku v odtokové cestě JTS je  $\Delta P = 5 \text{ mmHg}$  a  $Q = 2\text{--}3 \mu\text{l/min}$  [52], pak  $R = 1,67\text{--}2,50 \text{ mmHg}/\mu\text{l/min}$ . Převrácená hodnota této veličiny je známá jako celková hydraulická vodivost tkáně.

Výpočet specifické hydraulické konduktivity Juxtakanalikulární trabekulární síťoviny  $K_{JTS}$  (index  $JTS$  je zde zaveden pro označení juxtakanalikulární trabekulární síťoviny) lze odvodit z Darcyho zákona dle rovnice (1):

$$K_{JTS} = \frac{\eta L Q}{\Delta P A} \quad (12)$$

Dynamická viskozita NOT při teplotě 37 °C  $\eta$  je cca  $0,69 \times 10^{-3}$  Pa·s. Délka  $L$ , po kterou dochází k poklesu tlaku, je přibližně 14  $\mu\text{m}$ , jak experimentálně zjistil Mäepea a Bill [58]. Dále předpokládáme, že  $Q = 2,5 \mu\text{l/min}$ ,  $\Delta P = 5 \text{ mmHg}$  [52]. Přibližnou plochu průřezu lze určit z rozměrů Schlemmova kanálu, jehož průměr je 350–400  $\mu\text{m}$  a délka 36–40 mm (po obvodu rohovky), pak  $A = 12,6 \text{ mm}^2$  [59, 60]. Potom  $K_{JTS}$  je v rozmezí  $3,77 - 4,79 \times 10^{-11} \text{ mm}^2$ , což je ve srovnání s jinými pojivovými tkáněmi těla větší. Výjimku tvoří pouze sklivec [48]. Výpočet specifické hydraulické konduktivity JTS dle Darcyho zákona dává přibližný odhad, jak by měl vypadat návrh nanovláknenného GDI z hlediska průtoku tekutiny. Přístup přes Kozeny-Carmanovu rovnici nelze v případě JTS provést z důvodu přítomnosti mezibuněčné hmoty mezi póry, která výrazně zvyšuje celkový odpor vůči průtoku kapaliny.

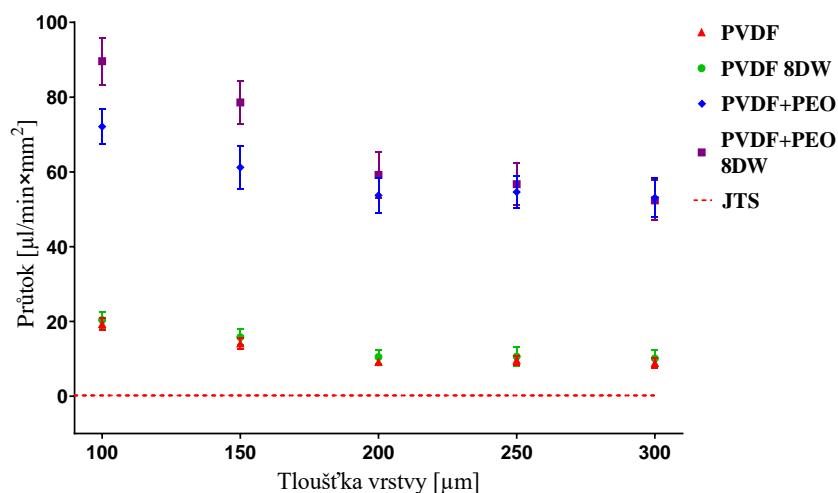
### 3.6 Transport kapalin planárním implantátem

Nanovláknenná membrána neobsahuje látky, jako jsou glykosaminoglykany, proto je pro výpočet specifické hydraulické konduktivity možné využít Darcyho zákon i Kozeny-Carmanovu rovnici. Experimentálně je možné odhadnout hodnotu průtoku kapaliny nanovláknennou sítí při známém tlakovém rozdílu, definovaném rozměru a tloušťce materiálu a tyto parametry dosadit do Darcyho zákona. Při výpočtu specifické hydraulické konduktivity z Kozeny-Carmanovy rovnice můžeme do vztahu dosadit experimentálně získané hodnoty porozity a velikosti pórů.

Pro experiment byly použity planární vláknenné materiály z PVDF a PVDF + PEO (SIGMA). Materiály z čistého PVDF byly vyrobeny na zařízení Nanospider. Pro jejich kombinaci s PEO byla zvolena metoda jehlového zvlákňování. V experimentu byla využita simulovaná NOT. Měření průtoku kapaliny bylo provedeno pomocí speciálně zkonstruované drenážní komory, ke které byla připojena infuzní soustava se simulovanou NOT, dávkovanou lineární pneumatickou pumpou (KDS 100) pod tlakem 15 mmHg.

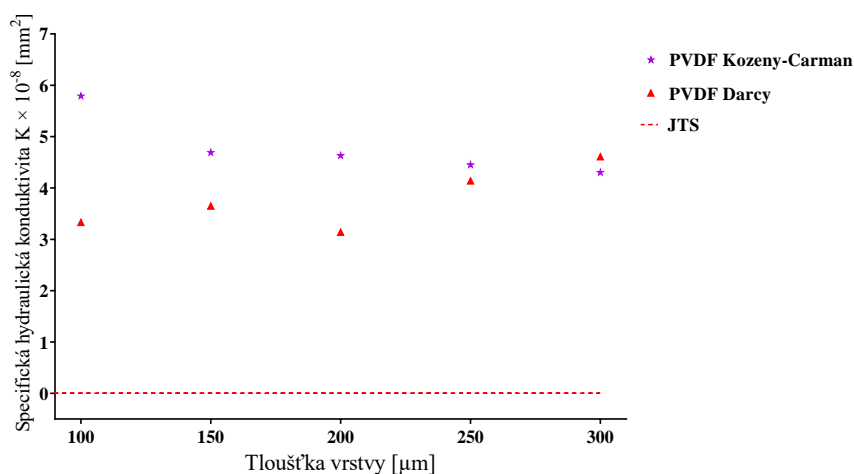


Graf 5 zaznamenává vypočtené hodnoty průtoků pro materiály PVDF a PVDF + PEO pro suché a předem smáčené vzorky, v závislosti na tloušťce vrstvy nanovláken.



Graf 5 Průtok tekutiny při tlaku 15 mmHg pro materiály PVDF a PVDF + PEO o různých tloušťkách, bez smáčení a smáčených po dobu 8 dní;  $n = 10$ ; průměr  $\pm$  SD

Větší odpor materiálu vůči průtoku tekutiny byl zaznamenán u materiálu s větší tloušťkou, kdy nejméně tekutiny proteklo materiálem nesmáčeného PVDF s tloušťkou vrstvy 300  $\mu\text{m}$ . Z výsledků je zřejmé, že požadované nižší hodnoty průtoku tekutiny dosahují hydrofobnější materiály. Graf 6 vzájemně porovnává vypočtené hodnoty specifické hydraulické konduktivity PVDF stanovené dle Darcyho zákona a Kozeny-Carmanovy rovnice.



Graf 6 Porovnání specifické hydraulické konduktivity dle Darcyho zákona a Kozeny-Carmanovy rovnice pro suchý nesmáčený materiál PVDF



S větší tloušťkou materiálu je možné pozorovat reciproké trendy hodnot obou přístupů. S postupným zvětšováním tloušťky materiálu docházelo k přibližování hodnot. Oba přístupy mají z hlediska získání dat pro výpočet specifické hydraulické konduktivity prostředí své klady i zápory, nicméně vzhledem k charakteru nanovláknenného materiálu, který vykazuje vždy jistou míru nehomogenity, se od sebe hodnoty příliš neliší. Porovnáme-li naměřené hodnoty specifické hydraulické konduktivity získané oběma přístupy s odhadem nativního systému, zjistíme, že PVDF vykazuje zhruba 1000× vyšší schopnost odvádět tekutinu než nativní systém JTS v oku. Zde narážíme na omezení obou přístupů vycházející z odhadů a aproximací porézního prostředí kontinuem.

### **3.7 Transport kapalin tubulárním implantátem**

Druhý směr vývoje nanovláknenného GDI byl orientován na výrobu tubulárního implantátu, který by napodoboval a redukoval nevýhody současně vyvíjených MIGS. Navržení správných rozměrů implantátu je důležité z hlediska dostatečného odvádění NOT, a současně z hlediska hypotonie, kterou trpí velká většina MIGS [8]. Délka implantátu byla volena maximálně 10 mm. Nejmenší vnitřní průměr implantátu byl z hlediska zvláknitelnosti 50  $\mu\text{m}$ . Pomocí Hagen-Poiseuilleovy rovnice je možné simulovat, jaký vliv budou mít různé délky a průměry vnitřní části implantátu na redukcii odtoku NOT. Bylo zjištěno, že tubulární implantáty mající vnitřní průměr větší než 50  $\mu\text{m}$  odvádí NOT příliš rychle a podléhají tak riziku pooperační hypotonie [8]. Pouze v případě vnitřního průměru 50  $\mu\text{m}$  a délce větší než cca 3,5 mm, nebude dle výpočtu docházet k pooperační hypotonii vlivem přílišné redukce nitroočního tlaku (červeně vyznačená hranice), přičemž délka implantátu zvyšuje diferencii tlaku. Při konstrukci tvarových vlastností implantátu je toto zjištění zásadní. Z tohoto důvodu byla pro výrobu tubulárního implantátu zvolena metoda obsahující výplňový materiál, která bude dále popsána.

### **3.8 Návrh kompozitního planárního implantátu**

Kapitola se zabývá vývojem kompozitních planárních GDI. Cílem je snaha o zlepšení dosavadních vlastností jednotlivých konstituentů a spojení jejich výhodných vlastností do fungujícího celku. PVDF modifikované polyetylenoxidem dokáže zamezovat růstu fibroblastové buněčné linie mnohem lépe, než samotné PVDF.

Naopak při porovnání obou materiálů z hlediska transportu kapalin je výsledek opačný. Proto byla zvolena varianta vytvoření kompozitního materiálu, který by splňoval oba požadavky současně, kdy vnější strany materiálu tvoří kombinace PVDF + PEO a uvnitř se nachází materiál z čistého PVDF.

Pro výrobu byla zvolena technologie jehlového zvlákňování. Na podkladový substrát byla nejprve nanášena tenká vrstva PVDF + PEO o tloušťce 50  $\mu\text{m}$ , následně byla nanášena vrstva čistého PVDF o tloušťce 200  $\mu\text{m}$  s opětovným nanášením 50  $\mu\text{m}$  vrstvy PVDF + PEO. Celková tloušťka materiálu byla tedy přibližně 300  $\mu\text{m}$ . Charakterizace vrstev byla provedena bez předchozího smáčení vykazující nejlepší odolnost vůči odtoku NOT. Tímto způsobem je zároveň zamýšlena výsledná aplikace implantátu v oku pacienta.

Morfologie kompozitního materiálu byla prověřena na snímcích vnější a vnitřní strany kompozitu. Pro prozkoumání vláken ve střední vrstvě čistého PVDF byl za stejných podmínek vyroben vzorek bez vrchní krycí vrstvy. Na snímcích byly zjištěny žádoucí signifikantní rozdíly v průměrech vláken vnitřní a vnější strany PVDF + PEO oproti samotnému PVDF, což dokazovalo požadované morfologické změny.

Planární kompozitní implantát byl podroben dodatečné *in vitro* studii MTT testem a testem buněčné kvantifikace, která jej srovnávala s materiálem z kombinace PVDF + PEO. Po 8 dnech kultivace nebyl prokázán signifikantní rozdíl v odolnosti vůči růstu fibroblastové buněčné linie. I v tomto případě je možné usoudit, že kompozitní materiál splňuje požadavky na odolnost vůči růstu fibroblastové buněčné linie.

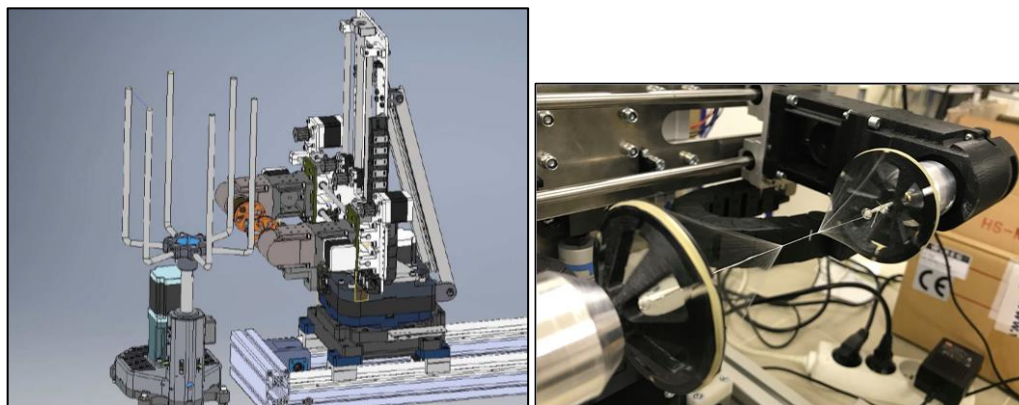
Planární kompozitní implantát byl porovnán z hlediska průtoku kapaliny  $Q$  s hodnotami průtoku čistého nesmáčeného materiálu PVDF o tloušťce 200  $\mu\text{m}$  (současně odpovídající tloušťce střední vrstvy kompozitního materiálu), kdy nebyl zaznamenán žádný signifikantní rozdíl mezi oběma materiály. Z těchto měření lze usoudit, že kompozitní materiál vykazuje obdobný odpor vůči průtoku kapaliny jako srovnávané PVDF.

Dle provedených experimentů je zřejmé, že navrhovaný kompozitní planární implantát kloubí výhodné vlastnosti obou navržených konstituentů. Kombinace PVDF + PEO zajišťuje požadované antifibrotické vlastnosti z vnitřní i vnější strany kompozitu. Zlepšenou odolnost vůči průtoku NOT zajišťuje střední část zkonstruovaná z čistého PVDF. Výhodou tohoto přístupu je snadná výroba. Do budoucna by ovšem bylo vhodné otestovat více různých poměrů a kombinací obou materiálů s ohledem na změny v buněčné inhibici a odporu vůči průtoku kapaliny.

### 3.9 Návrh kompozitního tubulárního implantátu

Návrh tubulárního glaukomového implantátu vycházel z tvarových předpokladů uvedených v kapitole 3.7. Dle předloženého výpočtu tvarových vlastností GDI by jeho vnitřní průměr musel být maximálně 50–55  $\mu\text{m}$ . Konstrukce takto malého tubulárního implantátu, který by byl zároveň flexibilní, je velmi problematická. Z tohoto důvodu byla opětovně zvolena výroba kompozitního implantátu, který uvnitř obsahoval výplňový materiál. Ten musel splňovat několik podmínek. První z nich byla implantace do oka bez tvarové deformace v důsledku mikromanipulace. Druhou podmínkou byla absence hypotonie v krátkodobém pooperačním období. Třetí byla zajištění dostatečného odtoku NOT. Výplňovým materiálem byl zvolen PVDF, který splňoval všechny požadované nároky. Vnější obal tvořila antifibrotická kombinace polymerů PVDF + PEO. Pro vývoj tubulárního implantátu bylo ve spolupráci s Katedrou výrobních systémů (KVS) Fakulty strojní TUL zkonstruováno speciální zařízení pro automatizovanou výrobu tubulárních kompozitních útvarů.

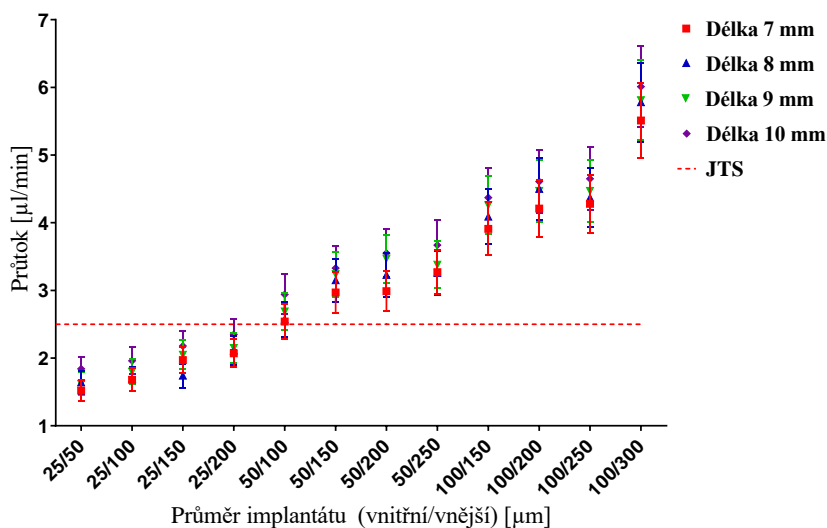
Pro výrobu vnitřní části GDI byla zvolena technologie tažení vláken z kapky polymerního roztoku neboli drawing, která umožňuje výrobu orientovaných struktur o přesně daných rozměrech. Na současném trhu není dostupné žádné laboratorní komerční zařízení, které by umožňovalo výrobu jednotlivých vláken automatizovaně. Vlákná mohou být tažena také ručně, nicméně obvyklým problémem je jejich nehomogenita [61]. Vlákná vnitřní části byla vyrobena z PVDF a orientována v axiálním směru, což umožňovalo cílený transport tekutiny v ose implantátu. Tato část byla následně obalena antifibrotickým materiálem PVDF + PEO za vzniku jemné jádrové příze. Schéma zařízení zobrazuje obrázek 6.



*Obr. 6 Schéma zařízení pro výrobu vnější části tubulárního implantátu a detail výroby kompozitního tubulárního implantátu*

Charakterizace tubulárního implantátu prokázala markantní nárůst vláken v případě vnitřní části implantátu z PVDF (v porovnání s elektricky zvlákněnými vrstvami z čistého PVDF). Tento fakt je zapříčiněn změnou výrobní technologie, kdy metoda tažení vláken z polymerního roztoku produkuje vlákna v řádech mikrometrů. Vnější vrstva z PVDF + PEO obsahovala obvyklé průměry vláken, běžně se vyskytujících při výrobě planárních GDI. Výsledná příze měla jemnost přibližně 85 tex, počet zákrutů byl 1 zákrut/cm.

Pro experiment byly vyrobeny kompozitní tubulární GDI s variabilními rozměry vnitřní i vnější části. Implantáty byly následně podrobeny analýze průtoku simulované NOT. Vzorky byly upnuty na jehlu o průměru 0,45 mm, která byla napojena na lineární pneumatickou pumpu dávající tekutinu pod tlakem 15 mmHg. Graf 7 zaznamenává průtok simulované NOT při různých délkách a poměrech vnitřní a vnější části implantátu.



Graf 7 Průtok simulované NOT při tlaku 15 mmHg různými průměry a délkami tubulárních implantátů. Červeně vyznačena hodnota průtoku v oku (2,5 μl/min);

$n = 10$ ; průměr  $\pm$  SD

Změna v délce implantátu nevykazovala markantní rozdíly v průtoku tekutiny. Mnohem větší směrodatné odchylky vznikaly se zvětšujícím se celkovým průměrem implantátu a poměry mezi vnitřní a vnější částí. Mikrovlákna PVDF ve střední vrstvě implantátu zajišťovala zpomalení průtoku NOT. Požadovaný průtok tekutiny 2,5 μl/min (JTS) byl ideálně dosažen při poměru mezi vnitřní a vnější částí 50/100 (celkový průměr 150 μm). Stejně jako v případě planárního kompozitního GDI je skloubení dvou konstituentů do kompozitního celku výhodným krokem.

## 4 Závěr

Cílem práce bylo pochopit a teoreticky popsat současné způsoby řešení problematiky glaukomového onemocnění společně s uvedením jejich nevýhod. A současně, na základě těchto znalostí se pokusit navrhnout a zkonstruovat nanovláknový glaukomový drenážní implantát a jeho funkčnost ověřit v laboratorním prostředí. Současný trh poskytuje dvě zcela odlišné varianty glaukomových implantátů, a to planární a tubulární formu. Komerčně dostupné planární implantáty nerespektují vlastnosti a strukturu nativní odtokové tkáně a navíc jsou zpravidla konstruovány z degradabilních polymerů, které se po čase rozpadnou a je nutné je nahradit. V případě tubulárních implantátů je situace na trhu problematická především z důvodu tuhosti implantátu, přestože některé nadějně MIGS jsou konstruovány dle Hagen-Poisellovy rovnice a teoreticky by měly splňovat požadavky na odvod tekutiny. Technologie elektrického zvláknování umožňuje tvarovou variabilitu implantátu, proto je možné zvolený materiál využít k vývoji obou forem.

Stěžejní částí práce byl návrh vhodného materiálu, který splňuje požadavky na dlouhodobou implantaci v oku pacienta, odolává buněčné fibrotizaci a efektivně odvádí NOT bez vzniku hypotonie. Z pohledu tkáňového inženýrství je vývoj antifibrotického materiálu zcela opačným přístupem, než jaký se běžně používá. Většina přístupů je založena na vývoji scaffoldů podporujících buněčný růst. Z tohoto pohledu přináší práce nové poznatky a otevírá novou kapitolu tkáňového inženýrství.

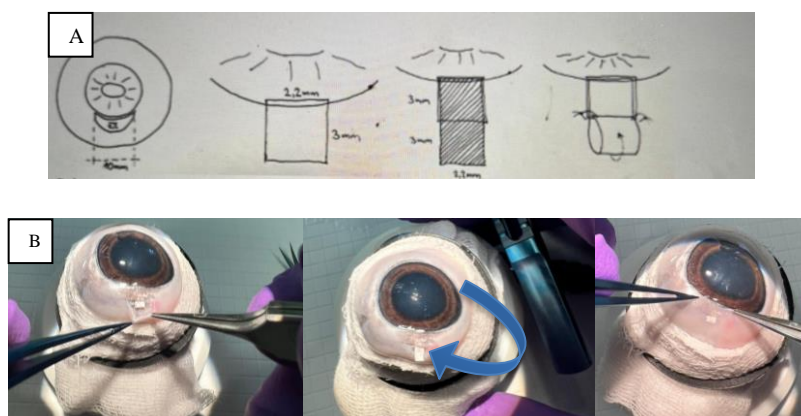
Jako optimální materiál byl zvolen PVDF za současné modifikace PEO. Tato kombinace vykazovala signifikantní potlačení buněčného růstu. Nicméně navazující experimenty hodnotící odvod NOT vláknennou sítí prokázaly, že vhodnějším materiálem je samotné PVDF. Konstrukce implantátu tedy spočívala ve spojení obou materiálů. Bylo zjištěno, že kombinací PVDF a PVDF + PEO lze připravit kompozitní planární implantát, který je zároveň odolný vůči fibrotizaci a vykazuje jedny z nejlepších hodnot odporu vůči průtoku kapaliny, které literatura u planárních GDI poskytuje. Do budoucna by bylo vhodné zaměřit se na zvýšení odolnosti vůči průtoku kapaliny úpravou vláknenné morfologie PVDF. Pro výrobu tubulárního implantátu bylo zkonstruováno zcela nové zařízení založené na automatizované produkci kompozitních struktur. Inovací bylo použití metody drawing pro vnitřní část implantátu umožňující směrově orientovaný tok kapaliny. Průtokové charakteristiky tubulárního implantátu s výplní dosahovaly hodnot, které odpovídají nativnímu systému v oku. Nicméně limitací tohoto výzkumu je pouze hrubý nástin vyhodnocující transport kapalin v tubulárních implantátech.

Současná literatura poskytuje pouze malý počet článků týkajících se vývoje GDI z nanovláken, a to především v posledních několika letech. V tomto směru je obsah předložené disertační práce inovativní a přináší nový pohled na možnosti léčby glaukomu. Výsledky práce jsou uplatňovány ve dvou udělených grantech jako fungující planární implantát nadějných *in vivo* studií v oku králíka.

## 5 Navazující práce a návrh dalšího postupu řešení

Disertační práce přinesla nové poznatky v oblasti léčby glaukomu pomocí nanovláknenných materiálů. Vzhledem ke skutečnosti, že se jedná o jedinečnou aplikaci, která v literatuře není detailněji rozebrána, vyvstává společně se získanými výsledky mnoho otázek. Velkou výhodou je návaznost dvou udělených grantů na tuto práci a tedy potenciál dalšího výzkumu. Grant udělený Technickou univerzitou v Liberci „Výzkum nanovláknenných materiálů pro léčbu glaukomového onemocnění“ (TUL PURE-2021-6005), řeší vývoj planárních nanovláknenných implantátů. Mezi úspěšné výsledky lze zařadit testy oční dráždivosti materiálu PVDF na chorioalantoidní membráně kuřecího embrya (tzv. HET-CAM test) v kooperaci s německou University of Tübingen. Výsledky neprokázaly žádnou dráždivou reakci PVDF, nicméně chybí výsledky se směsí materiálů PVDF + PEO. Tuto kombinaci bude vhodné doplnit.

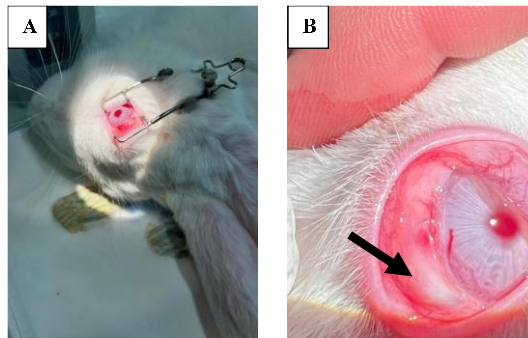
Implantát z PVDF byl současně zhodnocen z hlediska manipulace a operační techniky na kadaverózních prasečích bulbech. Ve spolupráci s přednostou oftalmologické kliniky 3. LF UK a FNKV doc. Pavlem Studeným, Ph.D. a primářem očního oddělení Krajské nemocnice v Liberci, MUDr. Petrem Bulířem, FEBO, byl zkonstruován zcela nový postup implantace nanovláknenného GDI, kombinující operaci katarakty s operací glaukomu, které by v součinnosti měly snižovat nitrooční tlak efektivnějším a kontrolovanějším způsobem. Operační technika byla prověřena *ex vivo* na kadaverózních prasečích bulbech, jak ukazuje obrázek 7.



Obr. 7 A: návrh operačního postupu a B: postup *ex vivo* implantace nanovláknenného GDI z PVDF na kadaverózní prasečí bulby

Limitací přístupu je absence laboratorního zhodnocení funkčnosti implantátu, který by měl předcházet *in vivo* studii. Nicméně toto je předmětem dalšího zkoumání. Současně s tím by bylo vhodné prozkoumat adhezi vyvíjeného implantátu k oční tkáni a prověřit mechanické a ohybové vlastnosti vzhledem k tomu, že jeho část je během operační techniky přehnuta a fixována stehy tak, aby sloužila jako rezervoár odtékající nitrooční tekutiny.

Významným milníkem jsou provedené *in vivo* experimenty v oku králíka s materiálem PVDF. V experimentu bylo operováno 23 laboratorních zvířat. V krátkodobém pooperačním období nedocházelo k výraznému snížení nitroočního tlaku ani ke vzniku nežádoucí hypotonie. Po 30 dnech od implantace byl nitrooční tlak snížen v průměru o 13 %. Obrázek 8 znázorňuje provedené *in vivo* testy v oku králíka, kde šipka ukazuje na umístění implantátu.



Obr. 8 *In vivo* implantace planárního nanovláčenného GDI z PVDF v oku králíka.

Výsledky *in vivo* studie vykazují nadějný charakter planárních implantátů. V navazujícím grantu „*Antifibrotizační vláčenný materiál pro snižování nitroočního tlaku při glaukomovém onemocnění*“ uděleným Ministerstvem zdravotnictví České republiky (MZČR NU23-08-00586) bude nutné detailněji prozkoumat chování kapalin při průtoku nanovláčennými materiály s cílem snížení nitroočního tlaku po implantaci minimálně o 20 %. Současně jsou v přípravě *in vivo* experimenty na modelu miniprasete společně s prodlouženým sledovacím obdobím. Díky získaným datům a provedeným studiím je jasné, že do oka prasete bude operován modifikovaný implantát z kombinace materiálů PVDF + PEO, který je v současnosti finálně testován z antifibrotického i hydrodynamického aspektu. V dalších fázích bude nutné *in vivo* experimenty rozšířit s ohledem na případnou klinickou studii. V přímé návaznosti na disertační práci by bylo vhodné dále prověřit vlastnosti tubulárního implantátu.



## 6 Seznam vědeckých výstupů autorky

### Články ve vztahu k problematice

HORAKOVA, Jana.; Petr MIKES; Ales SAMAN; Vera JENCOVA; Andrea KLAPSTOVA et al. The effect of ethylene oxide sterilization on electrospun vascular grafts made from biodegradable polyesters. Online. *Materials Science and Engineering: C*, roč. 92 (2018), s. 132–142. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.06.041>.

HORAKOVA, Jana; Petr MIKES; David LUKAS; Ales SAMAN; Andrea KLAPSTOVA et al. Electrospun vascular grafts fabricated from poly(*L*-lactide-co- $\epsilon$ -caprolactone) used as a bypass for the rabbit carotid artery. Online. *Biomedical Materials*, roč. 13 (2018), č. 6, s. 065009. Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1748-605X/aade9d>.

KLICOVA, Marketa; Andrea KLAPSTOVA; Jiri CHVOJKA; Barbora KOPRIVOVA; Vera JENCOVA et al. Novel double-layered planar scaffold combining electrospun PCL fibers and PVA hydrogels with high shape integrity and water stability. Online. *Materials Letters*, roč. 263 (2020), s. 127281. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.127281>.

HORAKOVA, Jana; Marketa KLICOVA; Jakub ERBEN; Andrea KLAPSTOVA; Vit NOVOTNY et al. Impact of Various Sterilization and Disinfection Techniques on Electrospun Poly- $\epsilon$ -caprolactone. Online. *ACS Omega*, roč. 5 (2020), č. 15, s. 8885–8892. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00503>.

MYNDRUL, Valerii; Lucie VYSLOUZILOVA; Andrea KLAPSTOVA; Emerson. COY; Mariuzs. JANCELEWICZ et al. Formation and photoluminescence properties of ZnO nanoparticles on electrospun nanofibers produced by atomic layer deposition. Online. *Coatings*, roč. 10 (2020), č. 12, s. 1–10. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/coatings10121199>.

SHYNKARENKO, Andrii; Dekel AZULAY; Sarka HAUZEROVA; Andrea KLAPSTOVA; Michal MOUCKA et al. *Fabrication of Micro/Nanofibrous Scaffolds using a Robotic Manipulator and Their Application for Tissue Engineering*. Online. 2020. Dostupné z: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-112972/v1>.

KLAPSTOVA, Andrea; Jana HORAKOVA; Maros TUNAK; Andrii SHYNKARENKO; Jakub ERBEN et al. A PVDF electrospun antifibrotic composite for use as a glaucoma drainage implant. Online. *Materials Science and Engineering: C*, roč. 119 (2021), s. 111637. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111637>.

KLICOVA, Marketa; Zuzana OULEHLOVA; Andrea KLAPSTOVA; Matej HEJDA; Michal KREJCIK et al. Biomimetic hierarchical nanofibrous surfaces inspired by superhydrophobic lotus leaf structure for preventing tissue adhesions. Online. *Materials and Design*, roč. 217 (2022). Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2022.110661>.

KLAPSTOVA, Andrea; Petra HONZIKOVA; Martin DASEK; Michal ACKERMANN; Gergelitsova KLARA et al. Effective needleless electrospinning for the production of tubular scaffolds. *ACS Applied Engineering Materials*, (2023). Článek v recenzním řízení.

KLEZLOVA, Adela; Andrea KLAPSTOVA; Petr BULIR; Magdalena NETUKOVA; Katerina SENKOVA; et al. Novel biomaterials in glaucoma treatment. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, (2023). Článek v recenzním řízení.

POCZOS Pavel; Pavel TRAVNICEK; Tomas SOUKUP; Jana HORAKOVA; Andrea KLAPSTOVA et al. Use of nanofibrous materials for cranial dural reconstruction in an animal model. (2024). Článek v přípravě pro časopis spadající do Q1 v oblasti biomateriálů.

### **Ostatní články**

POGORIELOV, Maxim; Andrii HAPCHENKO; Volodymyr DEINEKA; Larysa ROGULSKA; Andrea KLAPSTOVA et al. In vitro degradation and in vivo toxicity of NanoMatrix3D® polycaprolactone and poly(lactic acid) nanofibrous scaffolds. Online. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, roč. 106 (2018), č. 8, s. 2200 – 2212. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36427>.

BLANQUER, Andreu; Jana MUSILKOVA; Elena FILOVA; Johanka TABORSKA; Andrea KLAPSTOVA et al. The Effect of a Polyester Nanofibrous Membrane with a Fibrin-Platelet Lysate Coating on Keratinocytes and Endothelial Cells in a Co-Culture System. Online. *Nanomaterials*, roč. 11 (2021), č. 2, s. 457. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/nano11020457>.

ROSENDORF, Jachym; Marketa KLICOVA; Lenka CERVENKOVA; Jana HORAKOVA; Andrea KLAPSTOVA et al. Reinforcement of Colonic Anastomosis with Improved Ultrafine Nanofibrous Patch: Experiment on Pig. Online. *Biomedicines*, roč. 9 (2021), č. 2, s. 102. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020102>.

ROSENDORF, Jachym; Marketa KLICOVA; Lenka CERVENKOVA; Richard PALEK; Andrea KLAPSTOVA et al. Double-layered Nanofibrous Patch for Prevention of Anastomotic Leakage and Peritoneal Adhesions, Experimental Study. Online. *In Vivo*, roč. 35 (2021), č. 2, s. 731–741. Dostupné z: <https://doi.org/10.21873/invivo.12314>.

ERBEN, Jakub; Marketa KLICOVA; Andrea KLAPSTOVA; Martina HÁKOVÁ; Ivona LHOTSKÁ et al. New polyamide 6 nanofibrous sorbents produced via alternating current electrospinning for the on-line solid phase extraction of small molecules in chromatography systems. Online. *Microchemical Journal*, roč. 174 (2022), s. 107084. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.107084>.

### **Patenty a užité vzory**

CHVOJKA, Jiri; David LUKAS; Eva KUZELOVA KOSTAKOVA; Andrea KLAPSTOVA, et al. Kryt kůže nebo rány, který obsahuje canabidiol a/nebo jeho derivát/deriváty, polymerní nanovlákná a/nebo mikrovlákná obsahující canabidiol a/nebo jeho derivát/deriváty, a způsob výroby polymerních nanovláken a/nebo mikrovláken obsahujících canabidiol a/nebo jeho derivát/deriváty. Patent, PS4029CZ, 16. 6. 2015.

CHVOJKA, Jiri; David LUKAS; Petr MIKES; Vera JENCOVA; Andrea KLAPSTOVA, et al. Kryt akutní nebo chronické rány. Užité vzor, CZ 34641 U1, 24. 4. 2018.

BEREZKINOVA, Liliana; Lucie VYSLOUZILOVA; Ladislav FOLBERGER, Andrea KLAPSTOVA; Vladimir RASSUSHIN. Elektrostaticky laminované nanovlákné kosmetické krytí s odnímatelnou laminační vrstvou, způsob jeho laminace a použití. Patent, CZ308285B6, 15. 4. 2020.

## Mezinárodní prezentace výsledků

KLAPSTOVA, Andrea; Petr MIKES a David LUKAS. Nanofiber Drain for Glaucoma Drainage Implants. In: *Proceedings of Nanofibers, Applications and Related Technologies – NART*, (2015). ISBN: 978-80-7494-265-5.

SHYNKARENKO, Andrii; Andrea Klapstova a Anton KROTOV. Development of device for parallel structured nanofibers yarns production. In: *NANOCON 2015 - 7th International Conference on Nanomaterials - Research and Application, Conference Proceedings*. (2015). ISBN 978-80-87294-63-5.

KLAPSTOVA, Andrea; Klara VRSINSKA; Jana HORAKOVA; Ales SAMAN; Andrii SHYNKARENKO et al. Development of Fibrous Implant for the Treatment of Glaucoma. In: *NANOCON 2016 – 8th International Conference on Nanomaterials - Research and Application, Conference Proceedings*. (2016). ISBN: 978-80-87294-71-0.

SHYNKARENKO, Andrii; Andrea Klapstova a David LUKAS. Comparison of the collecting heads efficacy using electrospinning method. In: *NANOCON 2016 – 8th International Conference on Nanomaterials - Research and Application, Conference Proceedings*. (2016). ISBN 978-80-87294-71-0.

SHYNKARENKO, Andrii; Andrea Klapstova; Anton KROTOV; Michal MOUCKA a David LUKAS. Production and Evaluation of the Quality of Nanofibers Oriented Structures for Ophthalmological Implants. In: *World Textile Conference Autex*, (2016). ISBN: 978-96-16900-17-1.

KLAPSTOVA, Andrea; Jana HORAKOVA a David LUKAS. Modification of nanofibrous materials for glaucoma treatment. In: *NART: Nanofibers, applications and related technologies*, (2017).

SHYNKARENKO, Andrii; Andrea Klapstova; Anton KROTOV; Michal MOUCKA a David LUKAS. Production of yarns composed of oriented nanofibers for ophthalmological implants. Online. In: *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. (2017). Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/254/6/062011>.

KLAPSTOVA, Andrea; Jana HORAKOVA; Andrii SHYNKARENKO a David LUKAS. Composite fibrous glaucoma drainage implant. Online. In: *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. (2017).  
Dostupné z: <https://doi.org/10.1088/1757-899X/254/6/062006>.

SHYNKARENKO, Andrii; Andrea Klapstova; Anton KROTOV; Michal MOUCKA a David LUKAS. Production of multilayer tubular nanostructures composed of oriented nanofibers for ophthalmological implants. In: *Workshop on Mechanics of Nanomaterials*. (2018). ISBN: 978-80-7494-449-9.

KLEZLOVA, Adela; Andrea Klapstova; Petr BULIR; Magdalena NETUKOVA; Katarina URBANIOVA, et al. Nanovláknový drenážní glaukomový implantát. In: *XXXI. výroční sjezd České oftalmologické společnosti*. (2023). Hradec Králové.

JIRKOVEC, Radek; Andrea Klapstova; Jiri CHVOJKA a Jana HORAKOVA. Influence of Sterilization Methods on Nanofibrous Layers Made from PVDF. In: *NANOCON 2023 – 15th International Conference on Nanomaterials - Research and Application, Conference Proceedings*. (2023). Příspěvek v recenzním řízení.

#### **Citační ohlasy a vědecká metrika**

Citace ve Web of Science: 192

Citace ve SCOPUS: 218

h-index: 9

Počet vědeckých článků v impaktovaných časopisech: 13

## **7 Stručná charakteristika dosavadní odborné, výzkumné a vědecké činnosti**

#### **Doktorské studium**

Prezenční studium, Katedra netkaných textilií a nanovláknových materiálů, Fakulta textilní, Technická univerzita v Liberci.

#### **Seznam zkoušek**

Matematická statistika a analýza dat, 29. 6. 2016.

Nanovláknna a nanotechnologie, 8. 3. 2017.

Makromolekulární chemie, 5. 9. 2017.

Experimentální technika oboru, 5. 8. 2019.

Tkáňové inženýrství, 27. 8. 2019.

**Státní doktorská zkouška**, 14. 11. 2019.

## **Pedagogická činnost**

### **Výuka**

Polymery, cvičící, 2014–2016.

Fyzika polymerů, hlavní cvičící, 2014–2019.

Textilní nanomateriály, cvičící, 2014–2019.

Fyzikální principy tvorby nanovláken, hlavní cvičící, 2014–2019.

Vlákenné materiály pro tkáňové inženýrství, cvičící, 2017–2020.

Tkáňové inženýrství, cvičící, 2019–2020.

Teorie netkaných textilií, cvičící, hlavní přednášející, 2019–2024.

### **Vedení BP a DP**

Bc. Klára Vršínská - Vývoj a optimalizace vlákenného kompozitního drénu pro léčbu glaukomu. Diplomová práce, 2017.

Radim Plucha - Vlákenný implantát pro léčbu glaukomu z PVDF a jeho kombinací. Bakalářská práce, 2017. Vítěz studentské vědecké a odborné činnosti TUL, 2017.

Bc. Radim Plucha - Nanovlákenný implantát pro léčbu glaukomového onemocnění. Diplomová práce, 2019. Vítěz studentské vědecké a odborné činnosti TUL, 2019.

Jana Vimmerová - Nanovlákenná vrstva z PVDF a její modifikace pro potlačení fibrotické reakce. Bakalářská práce, 2020.

Bc. Kateřina Richtrová - Návrh vlákenného glaukomového drenážního implantátu s ohledem na současnou literaturu. Diplomová práce, 2021.

Bc. Tereza Urbánková - Vývoj biodegradabilních polymerních kapslí pro inkorporaci léčiv při glaukomovém onemocnění. Diplomová práce, 2021.

Bc. Anna Novotná - Nanovlákenné kožní kryty pro použití ve veterinární medicíně. Diplomová práce, 2021.

## Projekty

Development of stem cell - based therapy for thymic regeneration. THYMISTEM 602587, spoluřešitelka, 2014–2017.

Vývoj produktů nanovlákných pleťových masek včetně uvedení na trh v roce 2018, transfer z laboratorního měřítka do průmyslové výroby, patentové řízení. Nanopharma, 2014–2021.

Studentské grantové soutěže TUL - vedoucí projektů tématicky zaměřených na vývoj materiálů pro léčbu glaukomu, 2016, 2017, 2020.

Nanovlákná biodegradabilní maloprůměrová cévní náhrada. MZČR 15-29241A, studentka spoluřešitelka, 2015–2018.

Zvýšený růst lidských kožních buněk na biomimetických nanovlákných maticích pro aktivní hojení ran. GAČR GA17-02448S, studentka spoluřešitelka 2017–2018.

Nanovlákné kryty kožních defektů. MPO FV10416, spoluřešitelka 2017–2019.

Nanovlákné polymery s funkcí materiálů s omezeným přístupem pro on-line chromatografické extrakce komplexních matic. GAČR 20-19297S, spoluřešitelka 2020–2021.

Nanovlákná jako pokročilé extrakční materiály v chromatografické analýze. GAČR 23-05586S, spoluřešitelka, 2023–2025.

Prevence střevního anastomotického leaku a pooperačních adhezí pomocí nanovlákných biodegradabilních materiálů, MZČR NU20J-08-00009, spoluřešitelka, 2020–2023.

Výzkum nanovlákných materiálů pro léčbu glaukomového onemocnění. TUL PURE-2021-6005, spoluřešitelka, 2021–2023.

Antifibrotizační vlákný materiál pro snižování nitroočního tlaku při glaukomovém onemocnění. MZČR NU23-08-00586, spoluřešitelka, 2023–2027.

## 8 Seznam literatury

- [1] JONAS, Jost B; Tin AUNG; Rupert R BOURNE; Alain M BRON; Robert RITCH et al. Glaucoma. Online. *The Lancet*, roč. 390 (2017), č. 10108, s. 2183–2193. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31469-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31469-1).
- [2] QUIGLEY, H A. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. Online. *British Journal of Ophthalmology*, roč. 90 (2006), č. 3, s. 262–267. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/bjo.2005.081224>.
- [3] THAM, Yih-Chung; Xiang LI; Tien Y. WONG; Harry A. QUIGLEY; Tin AUNG et al. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. Online. *Ophthalmology*, roč. 121 (2014), č. 11, s. 2081–2090. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2014.05.013>.
- [4] O'CALLAGHAN, Jeffrey; Paul S. CASSIDY a Pete HUMPHRIES. Open-angle glaucoma: therapeutically targeting the extracellular matrix of the conventional outflow pathway. Online. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, roč. 21 (2017), č. 11, s. 1037–1050. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/14728222.2017.1386174>.
- [5] CARDAKLI, Nur; Samuel F. WEINREB; Joan L. JEFFERYS SCM a Harry A. QUIGLEY. Long-term Functional Outcomes of Trabeculectomy Revision Surgery. Online. *Ophthalmology Glaucoma*, roč. 2 (2019), č. 4, s. 240–250. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ogla.2019.04.003>.
- [6] FOLGAR, Francisco A.; Carlos Gustavo DE MORAES; Christopher C. TENG; Celso TELLO; Robert RITCH et al. Effect of successful and partly successful filtering surgery on the velocity of glaucomatous visual field progression. Online. *Journal of Glaucoma*, roč. 21 (2012), č. 9, s. 615–618. Dostupné z: <https://doi.org/10.1097/IJG.0b013e31821db409>.



- [7] GEDDE, Steven J.; Leon W. HERNDON; James D. BRANDT; Donald L. BUDENZ; William J. FEUER et al. Postoperative Complications in the Tube Versus Trabeculectomy (TVT) Study During Five Years of Follow-up. Online. *American journal of ophthalmology*, roč. 153 (2012), č. 5, s. 804- 814.e1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2011.10.024>.
- [8] AGRAWAL, Pavi a Steven E. BRADSHAW. Systematic Literature Review of Clinical and Economic Outcomes of Micro-Invasive Glaucoma Surgery (MIGS) in Primary Open-Angle Glaucoma. Online. *Ophthalmology and Therapy*, roč. 7 (2018), č. 1, s. 49–73. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s40123-018-0131-0>.
- [9] SOOHOO, Jeffrey R.; Leonard K. SEIBOLD; Nathan M. RADCLIFFE a Malik Y. KAHOOK. Minimally invasive glaucoma surgery: current implants and future innovations. Online. *Canadian Journal of Ophthalmology*, roč. 49 (2014), č. 6, s. 528–533. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jcjo.2014.09.002>.
- [10] ROZSÍVAL, Pavel. *Oční lékařství*. Druhé, přepracované vydání. Praha: Galén, 2017. ISBN 978-80-7492-316-6.
- [11] SHAARAWY, Tarek; Mark B. SHERWOOD; R. A. HITCHINGS a Jonathan G. CROWSTON. *Glaucoma*. 2nd edition. London New York: Elsevier, Saunders, 2015. ISBN 978-0-7020-5193-7.
- [12] STROUTHIDIS, Nicholas G a Michael JA GIRARD. Altering the way the optic nerve head responds to intraocular pressure—a potential approach to glaucoma therapy. Online. *Current Opinion in Pharmacology*, roč. 13 (2013), č. 1, s. 83–89. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2012.09.001>.
- [13] DAUTRICHE, Cula N.; Yubing XIE a Susan T. SHARFSTEIN. Walking through trabecular meshwork biology: Toward engineering design of outflow physiology. Online. *Biotechnology Advances*, roč. 32 (2014), č. 5, s. 971–983. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.04.012>.
- [14] NILSSON, S. F. The uveoscleral outflow routes. Online. *Eye (London, England)*, roč. 11 ( Pt 2) (1997), s. 149–154. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/eye.1997.43>.

- [15] TAMM, Ernst R. The trabecular meshwork outflow pathways: Structural and functional aspects. Online. *Experimental Eye Research*, roč. 88 (2009), č. 4, s. 648–655. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2009.02.007>.
- [16] DUA, Harminder S.; Lana A. FARAJ; Matthew J. BRANCH; Aaron M. YEUNG; Mohamed S. ELALFY et al. The collagen matrix of the human trabecular meshwork is an extension of the novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). Online. *The British Journal of Ophthalmology*, roč. 98 (2014), č. 5, s. 691–697. Dostupné z: <https://doi.org/10.1136/bjophthalmol-2013-304593>.
- [17] FREDDO, T. F.; M. M. PATTERSON; D. R. SCOTT a D. L. EPSTEIN. Influence of mercurial sulfhydryl agents on aqueous outflow pathways in enucleated eyes. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, roč. 25 (1984), č. 3, s. 278–285. ISSN 0146-0404.
- [18] TEN HULZEN, R. D. a D. H. JOHNSON. Effect of fixation pressure on juxtacanalicular tissue and Schlemm's canal. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, roč. 37 (1996), č. 1, s. 114–124. ISSN 0146-0404.
- [19] GONG, Haiyan; Jeffrey RUBERTI; Darryl OVERBY; Mark JOHNSON a Thomas F. FREDDO. A new view of the human trabecular meshwork using quick-freeze, deep-etch electron microscopy. *Experimental Eye Research*, roč. 75 (2002), č. 3, s. 347–358. ISSN 0014-4835.
- [20] PIETROWSKA, Karolina; Diana Anna DMUCHOWSKA; Pawel KRASNICKI; Zofia MARIK; Adam KRETOWSKI et al. Analysis of pharmaceuticals and small molecules in aqueous humor. Online. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, roč. 159 (2018), s. 23–36. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.06.049>.
- [21] MCLAREN, Jay W. Measurement of aqueous humor flow. Online. *Experimental Eye Research*, roč. 88 (2009), č. 4, s. 641–647. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.exer.2008.10.018>.

- [22] BARBAS-BERNARDOS, Cecilia; Emily G. ARMITAGE; Antonia GARCÍA; Salvador MÉRIDA; Amparo NAVEA et al. Looking into aqueous humor through metabolomics spectacles – exploring its metabolic characteristics in relation to myopia. Online. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, roč. 127 (2016), s. 18–25. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2016.03.032>.
- [23] KUČHYNKA, Pavel. *Oční lékařství*. 2016. ISBN 978-80-247-5079-8.
- [24] SHAARAWY, Tarek a WORLD GLAUCOMA ASSOCIATION (ed.). *Guidelines on design and reporting of glaucoma surgical trials*. WGA guidelines. Amsterdam: Kugler, 2009. ISBN 978-90-6299-219-5.
- [25] BOYLE, John W; J Ryan MCMANUS a Peter A NETLAND. Surgical Technique 3 (Ahmed Glaucoma Valve Drainage Implant). Online. In: Anonym. *Glaucoma*, s. 1071–1080. Elsevier, 2015. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-5193-7.00113-8>.
- [26] PEPKAYALA, Venkatram. *Micromachined Magnetoelastic Sensors and Actuators for Biomedical Devices and Other Applications*. 2015-01-01.
- [27] LOCKWOOD, Alastair; Stephen James BROCCINI a Peng Tee KHAW. New developments in the pharmacological modulation of wound healing after glaucoma filtration surgery. Online. *Current opinion in pharmacology*. 2013. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.coph.2012.10.008>.
- [28] RAZEGHINEJAD, M. Reza; Shane J. HAVENS a L. Jay KATZ. Trabeculectomy bleb-associated infections. Online. *Survey of Ophthalmology*, roč. 62 (2017), č. 5, s. 591–610. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.survophthal.2017.01.009>.
- [29] KITAZAWA, Y.; T. TANIGUCHI; Y. NAKANO; S. SHIRATO a T. YAMAMOTO. 5-Fluorouracil for trabeculectomy in glaucoma. Online. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology = Albrecht Von Graefes Archiv Fur Klinische Und Experimentelle Ophthalmologie*, roč. 225 (1987), č. 6, s. 403–405. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/BF02334165>.

- [30] PALMER, S. S. Mitomycin as adjunct chemotherapy with trabeculectomy. Online. *Ophthalmology*, roč. 98 (1991), č. 3, s. 317–321. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/s0161-6420\(91\)32293-0](https://doi.org/10.1016/s0161-6420(91)32293-0).
- [31] RAFUSE, Paul E. The optimal trabeculectomy: patient and procedure. Online. *Canadian Journal of Ophthalmology. Journal Canadien D'ophtalmologie*, roč. 49 (2014), č. 6, s. 523–527. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jcjo.2014.08.008>.
- [32] CRAVEN, E. Randy; L. Jay KATZ; Jeffrey M. WELLS a Jane Ellen GIAMPORCARO. Cataract surgery with trabecular micro-bypass stent implantation in patients with mild-to-moderate open-angle glaucoma and cataract: Two-year follow-up. Online. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, roč. 38 (2012), č. 8, s. 1339–1345. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2012.03.025>.
- [33] GARCIA-FEIJOO, J. CyPass stent withdrawal: The end of suprachoroidal MIGS? Online. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología (English Edition)*, roč. 94 (2019), č. 1, s. 1–3. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.of tale.2018.10.004>.
- [34] PARIKH, Kunal S.; Aditya JOSYULA; Revaz OMIADZE; Ju Young AHN; Youlim HA et al. Nano-structured glaucoma drainage implant safely and significantly reduces intraocular pressure in rabbits via post-operative outflow modulation. Online. *Scientific Reports*, roč. 10 (2020), č. 1, s. 12911. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69687-4>.
- [35] AHMED, Iqbal Ike K.; Antonio FEA; Leon AU; Robert E. ANG; Paul HARASYMOWYCZ et al. A Prospective Randomized Trial Comparing Hydrus and iStent Microinvasive Glaucoma Surgery Implants for Standalone Treatment of Open-Angle Glaucoma: The COMPARE Study. Online. *Ophthalmology*, roč. 127 (2020), č. 1, s. 52–61. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2019.04.034>.
- [36] SAMUELSON, Thomas W.; Steven R. SARKISIAN; David M. LUBECK; Michael C. STILES; Yi-Jing DUH et al. Prospective, Randomized, Controlled Pivotal Trial of an Ab Interno Implanted Trabecular Micro-Bypass in Primary Open-Angle Glaucoma and Cataract: Two-Year Results. Online. *Ophthalmology*, roč. 126 (2019), č. 6, s. 811–821. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2019.03.006>.

- [37] ISLAM, Yasmin; Mark SHERWOOD a Charles Richard BLAKE. The Indications for Minimally Invasive Glaucoma Surgery, Trabeculectomy, Tube Shunts, and Cyclophotocoagulation in Glaucoma Surgery. Online. *Advances in Ophthalmology and Optometry*, roč. 5 (2020), s. 147–170. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.yaoo.2020.05.003>.
- [38] CALLES, Javier Adrián; José BERMÚDEZ; Enrique VALLÉS; Daniel ALLEMANDI a Santiago PALMA. Polymers in Ophthalmology. Online. In: PUOCI, Francesco (ed.). *Advanced Polymers in Medicine*, s. 147–176. Cham: Springer International Publishing, 2015. Dostupné z: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-12478-0\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-12478-0_6).
- [39] JIRSAK, Oldrich a Stanislav PETRIK. Recent advances in nanofibre technology: Needleless electrospinning. Online. *International Journal of Nanotechnology*, roč. 9 (2012), s. 836. Dostupné z: <https://doi.org/10.1504/IJNT.2012.046756>.
- [40] YALCINKAYA, Fatma. Preparation of various nanofiber layers using wire electrospinning system. Online. *Arabian Journal of Chemistry*, roč. 12 (2019), č. 8, s. 5162–5172. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2016.12.012>.
- [41] VALTERA, J.; T. KALOUS; P. POKORNY; O. BATKA; M. BILEK et al. Fabrication of dual-functional composite yarns with a nanofibrous envelope using high throughput AC needleless and collectorless electrospinning. Online. *Scientific Reports*, roč. 9 (2019), č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-38557-z>.
- [42] KALOUS, T.; P. HOLEC; R. JIRKOVEC; D. LUKAS a J. CHVOJKA. Improved spinnability of PA 6 solutions using AC electrospinning. Online. *Materials Letters*, roč. 283 (2021). Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.128761>.
- [43] PERSANO, Luana; Andrea CAMPOSEO; Cagri TEKMEŇ a Dario PISIGNANO. Industrial Upscaling of Electrospinning and Applications of Polymer Nanofibers: A Review. Online. *Macromolecular Materials and Engineering*, roč. 298 (2013), č. 5, s. 504–520. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/mame.201200290>.

- [44] ZHENG, Yuansheng; R. Hugh GONG a Yongchun ZENG. Multijet motion and deviation in electrospinning. Online. *RSC Advances*, roč. 5 (2015), č. 60, s. 48533–48540. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/C5RA06049D>.
- [45] XIONG, Jian; Ye LIU; Ailin LI; Liang WEI; Liming WANG et al. Mass production of high-quality nanofibers via constructing pre-Taylor cones with high curvature on needleless electrospinning. Online. *Materials & Design*, roč. 197 (2021), s. 109247. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2020.109247>.
- [46] OLAYANJU, Jessica A.; Mohamed B. HASSAN; David O. HODGE a Cheryl L. KHANNA. Trabeculectomy-Related Complications in Olmsted County, Minnesota, 1985 Through 2010. Online. *JAMA Ophthalmology*, roč. 133 (2015), č. 5, s. 574. Dostupné z: <https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2015.57>.
- [47] MARYŠKA, Jiří. *Modelování transportních procesů v horninovém prostředí*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2010. ISBN 978-80-7372-571-6.
- [48] JOHNSON, M. a E. R. TAMM. Biomechanics of aqueous humor outflow resistance: Encyclopedia of the Eye. Online. 2010. Dostupné z: <https://www.scholars.northwestern.edu/en/publications/biomechanics-of-aqueous-humor-outflow-resistance-encyclopedia-of->
- [49] CARMAN, P. C. Fluid flow through granular beds. roč. 15 (1937), s. 150–166.
- [50] CARMAN, P. C. Flow of gases through porous media. 1956.
- [51] KOZENY, J. Ueber kapillare Leitung des Wassers im Boden. (1927), č. 136(2a), s. 271–306.
- [52] ETHIER, C. R.; R. D. KAMM; B. A. PALASZEWSKI; M. C. JOHNSON a T. M. RICHARDSON. Calculations of flow resistance in the juxtacanalicular meshwork. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, roč. 27 (1986), č. 12, s. 1741–1750. ISSN 0146-0404.
- [53] KIRBY, Brian J. *Micro- and nanoscale fluid mechanics: transport in microfluidic devices*. New York: Cambridge University Press, 2010. ISBN 978-0-521-11903-0.

- [54] SHEYBANI, Arsham; Herbert REITSAMER a Iqbal Ike K. AHMED. Fluid Dynamics of a Novel Micro-Fistula Implant for the Surgical Treatment of Glaucoma. Online. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, roč. 56 (2015), č. 8, s. 4789–4795. Dostupné z: <https://doi.org/10.1167/iovs.15-16625>.
- [55] KLICOVA, Marketa; Andrea KLAPSTOVA; Jiri CHVOJKA; Barbora KOPRIVOVA; Vera JENCOVA et al. Novel double-layered planar scaffold combining electrospun PCL fibers and PVA hydrogels with high shape integrity and water stability. Online. *Materials Letters*, roč. 263 (2020), s. 127281. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.127281>.
- [56] BADDELEY, Adrian; Ege RUBAK a Rolf TURNER. *Spatial Point Patterns: Methodology and Applications with R*. CRC Press, 2015. ISBN 978-1-4822-1021-7.
- [57] BARANY, E. H. The action of different kinds of hyaluronidase on the resistance to flow through the angle of the anterior chamber. *Acta Ophthalmologica*, roč. 34 (1956), č. 5, s. 397–403. ISSN 0001-639X.
- [58] MÄEPEA, O. a A. BILL. Pressures in the juxtacanalicular tissue and Schlemm's canal in monkeys. Online. *Experimental Eye Research*, roč. 54 (1992), č. 6, s. 879–883. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/0014-4835\(92\)90151-h](https://doi.org/10.1016/0014-4835(92)90151-h).
- [59] CHEN, Zhiqi; Jian SUN; Mu LI; Shiliang LIU; Liugui CHEN et al. Effect of age on the morphologies of the human Schlemm's canal and trabecular meshwork measured with swept-source optical coherence tomography. Online. *Eye*, roč. 32 (2018), č. 10, s. 1621–1628. Dostupné z: <https://doi.org/10.1038/s41433-018-0148-6>.
- [60] KAGEMANN, Larry; Gadi WOLLSTEIN; Hiroshi ISHIKAWA; Richard A. BILONICK; Peter M. BRENNEN et al. Identification and Assessment of Schlemm's Canal by Spectral-Domain Optical Coherence Tomography. Online. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, roč. 51 (2010), č. 8, s. 4054–4059. Dostupné z: <https://doi.org/10.1167/iovs.09-4559>.
- [61] STRNADOVÁ, Kateřina; Lukáš STANISLAV; Ilona KRABICOVÁ; Filip SABOL; Jan LUKÁŠEK et al. Drawn aligned polymer microfibres for tissue engineering. Online. *Journal of Industrial Textiles*, roč. 50 (2020), č. 3, s. 263–277. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/1528083718825318>.

## 9 Curriculum vitae

Jméno: Ing. Andrea Klápšťová  
Datum narození: 24. prosince, 1987  
Adresa: Vráta 25, Koberovy 468 22, Česká Republika  
Národnost: Česká  
Telefonní číslo: +420 603 512 557  
Emailová adresa: a.klapstova@centrum.cz

### Vzdělání

2014–nyní Technická Univerzita v Liberci: Fakulta textilní, Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů. Disertační práce: Nanovlákný implantát pro léčbu glaukomového onemocnění.  
2012–2014 Technická Univerzita v Liberci: Fakulta textilní, Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů. Diplomová práce: Využití elektrosprayingu pro cílené dodávání léčiv a funkcionalizaci scaffoldů.  
2010–2012 Technická Univerzita v Liberci: Fakulta textilní, Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů. Bakalářská práce: Výroba modifikovaných nanokompozitních materiálů kombinací elektrostatického zvlákňování a sprejování.

### Stáže a odborné kurzy

2014 Live Cell Imaging, Nové Hrady, ČR, 1 týden.  
2015 Michigan Technological University, Department of Biomedical Engineering, Michigan, USA, 2 měsíce.  
2017 Clemson University, Department of Nonwovens and Nanofibrous Materials, Jižní Karolína, USA, 5 týdnů.  
2018 Seminář Academic writing, Ústí nad Labem, ČR. 2 dny.



## **Pracovní zkušenosti**

2008–2010	Designer – vizualizace a technická příprava projektů pro proces stavebního řízení, Rengl s.r.o.
2011	Specialista testování netkaných textilií pro automobilový průmysl, Borgstena Group.
2014–nyní	Manažer výzkumu a vývoje, Nanopharma, a.s.
2018–nyní	Akademický pracovník, Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů, Fakulta textilní, Technická univerzita v Liberci.

## **Osobní znalosti a dovednosti**

Anglický jazyk	Pokročilý
Německý jazyk	Začátečník
Programy	Microsoft office, Autodesk Autocad, NIS Elements, GraphPadPrism, ImageJ, MATLAB, Photoshop, Nemetschek Allplan
Techniky v lab.	Elektrické zvlákňování (AC, DC), odstředivé zvlákňování, drawing, elektronová, fluorescenční a světelná mikroskopie, reometrie, spektrofotometrie, praxe v laboratoři tkáňového inženýrství

## 10 Vyjádření školitelky doktorandky

FAKULTA TEXTILNÍ TUL



Disertační práce: **Nanovláknový drenážní implantát pro léčbu glaukomového onemocnění**

Autorka: **Ing. Andrea Klápšťová**

### HODNOCENÍ ŠKOLITELE

Předložená disertační práce se zabývá vývojem nanovláknového materiálu, jehož vlastnosti byly vyvíjeny pro cílené použití v oční chirurgii. Práce přináší nové poznatky v oblasti vývoje nanovláknových materiálů a rozšiřuje jejich možnosti využití. Disertační práce se převážně zabývá výrobou a charakterizací nedegradabilního materiálu polyvinylidendifluoridu, který v posledních letech nabývá na významnosti nejen v biomedicínských aplikacích. Přestože jsou v oboru tkáňového inženýrství spíše preferovány biodegradabilní materiály, určité aplikace jako např. glaukomové drenážní implantáty vyžadují stabilitu materiálu. Dalším nepříliš častým požadavkem na materiál je zabránění proliferace specifického buněčného typu (v tomto případě fibroblastů). Neméně významnou vlastností vyvíjeného materiálu je pak transport kapalin. Všechny výše zmíněné aspekty v kontextu s dalšími materiálovými charakteristikami jsou v disertační práci řádně zpracovány a diskutovány.

Doktorandka vykazovala během celé doby studia aktivní zapojení do experimentálního vývoje, její schopnosti v oblasti zvláknování polymerních materiálů jsou excelentní. Studentka byla zapojena i do dalších projektů na KNT, účastnila se jejich přípravy i následné realizace. Ráda bych vyzdvihla její přípravu projektu související s tématem disertační práce – nejprve se jednalo o projekt PURE, který předcházelo aktuálně řešenému projektu Ministerstva zdravotnictví s názvem „Antifibrotizační vláknový materiál pro snižování nitroočního tlaku při glaukomovém onemocnění“.

Velmi kladně hodnotím publikační aktivitu studentky, její h-index dosahuje k dnešnímu dni hodnoty 9 dle WoS i Scopus databáze. Je spoluautorkou 20 indexovaných publikačních výstupů (z toho 8 konferenčních příspěvků a 12 časopiseckých publikací), které již byly cca 200x citovány.

Kontrola plagiátorství proběhla dne 12.2.2024, byla zde nalezena relevantní podobnost pod 2%. Předložená práce splňuje všechny požadavky pro udělení titulu Ph.D.

**Navrhuji, aby práce Ing. Andrey Klápšťové byla přijata k obhajobě.**

doc. RNDr. Jana Horáková, Ph.D.

V Liberci dne 13.2.2024

# 11 Oponentské posudky disertační práce

## Oponentní posudek disertační práce

Název: Nanovláknenný drenážní implantát pro léčbu glaukomového onemocnění

Autor: Ing. Andrea Klápšťová

Školitel: doc. RNDr. Jana Horáková, Ph.D.

Oponent: doc. Mgr. Irena Šlamborová, Ph.D

Předložená disertační práce se zabývá aktuální problematikou glaukomového onemocnění s perspektivou vývoje nanovláknenného drenážního implantátu pro odvod tekutiny při neléčitelném glaukomovém onemocnění.

Primárním cílem disertační práce bylo nalezení vhodného materiálu, který by splňoval požadavky, které jsou na takovýto materiál kladeny. Jedná se zejména o biokompatibilitu, nedegradabilitu materiálu s možností povrchové modifikace materiálu pro zajištění jeho antifibrotických vlastností. V neposlední řadě se autorka musela věnovat fyzikálním parametrům se zaměřením na transport tekutin nanovláknenným implantátem.

Disertační práce je klasicky členěna na část teoretickou a experimentální. V teoretické části práce autorka shrnula nejnovější poznatky ze studované problematiky v kooperaci s očními chirurgy, kteří se specializují na tuto studovanou oblast.

Teoretická část práce je členěna do kapitol, které popisují glaukomové onemocnění a jeho léčbu, aktuálně používané materiály v terapii glaukomu, materiály vhodné pro vývoj glaukomového drenážního implantátu. Poslední část je věnována nanovláknenným materiálům a jejich fyzikálním vlastnostem, které jsou důležité z hlediska odvodu tekutiny z oka. Teoretická část práce je ukončena kapitolou, která shrnuje dosavadní poznatky a cíle disertační práce.

V této části doktorandka Ing. Andrea Klápšťová provedla velmi podrobnou literární rešerši, která je doplněna mnoha správně citovanými literárními zdroji. Celý text teoretické části je srozumitelný, jasně strukturovaný a tvoří tak výbornou výchozí pozici pro experimentální část práce.

V experimentální části práce se doktorandka snažila nalézt nejvhodnější nanovláknenný materiál, který by splňoval výše uvedené požadavky. Jako perspektivní materiály po pilotních testech vybrala PVDF a PVA, které podrobila mnoha analýzám a testům (hodnotila morfologii

nanovláken, jejich smáčivost, porozitu a velikost pórů, molární hmotnost, byly provedeny in vitro buněčné testy, testy na rezidua v materiálu a další). Dále pokračovala pouze s nanovlákněným materiálem připraveným z PVDF, který obohatila o PEO. Tato nanovlákněná struktura současně zajišťovala cytocompatibilitu, která vedla k potlačení buněčné proliferace, a nikoliv k eliminaci buněk. Následným krokem byla modifikace nanovlákněné struktury antifibrotizačním činidlem. Další část práce je věnována výpočtům hydraulické konduktivity, což je podstatné pro transport kapalin planárním a tubulárním implantátem. Doktorandce se podařilo připravit tubulární implantát, kde pro výrobu vnitřní části implantátu byla použita metoda drawing, což umožnilo směrově orientovaný tok kapaliny implantátem.

Závěr práce přináší shrnutí teoretických východisek a experimentální a publikační činnosti doktorandky s perspektivami pro další vědecký rozvoj získaných poznatků. Doktorandka v závěru práce uvádí návrh navazující práce a popisuje postup dalších kroků řešené problematiky.

Díky získaným rozsáhlým výsledkům, které plynou z předložené disertační práce, byly uděleny na další výzkum dva granty, jeden podpořený Ministerstvem zdravotnictví České republiky s názvem „*Antifibrotizační vlákněný materiál pro snižování nitroočního tlaku při glaukomovém onemocnění*“ a druhý grant udělený Technikou univerzitou v Liberci s názvem „*Výzkum nanovlákněných materiálů pro léčbu glaukomového onemocnění*“.

Formální zpracování celého textu disertační práce je na velmi vysoké úrovni, která odpovídá obvyklým standardům pro tento typ kvalifikační práce. Doktorandka Ing. Andrea Klápšťová prokázala schopnost řešit dané téma samostatně s logicky navazujícími kroky. Toto prokázala i ve své publikační činnosti. Je autorkou nebo spoluautorkou 8 článků v impaktovaných časopisech, další tři články jsou v recenzním řízení. Další aktivity prokázala jako spoluřešitelka tří projektů. V neposlední řadě své výsledky prezentovala na 11 mezinárodních konferencích.

Závěrem lze konstatovat, že předložená disertační práce a i její následné pokračování má velký význam jako mezioborová práce, která směřuje do biomedicínských aplikací.

Předloženou disertační práci **doporučuji** k obhajobě, zároveň **doporučuji udělení titulu Ph.D.**

**Otázky k obhajobě:**

1. Máte představu o finanční náročnosti připravených implantátů v porovnání se současným chirurgickým řešením (tedy kolik hradí pojišťovny)?
2. Pokud by se Vám podařilo v dalším výzkumu připravit vhodný implantát, do jaké kategorie v rámci zdravotnických prostředků by patřil a jaké jsou s tím spojené další testy a studie, které stanovuje SÚKL?

V Liberci dne 30. 4. 2024

doc. Mgr. Irena Šlamborová, Ph.D.

Posudek oponenta doktorské disertační práce

## **Nanovláknenný drenážní implantát pro léčbu glaukomového onemocnění**

*Autor práce: Ing. Andrea Klápšťová*

Disertační práce je z oboru: *Textilní technika a materiálové inženýrství na TU v Liberci* a zabývá se využitím polymerních nanovláknenných materiálů v medicínských aplikacích konkrétně při léčbě glaukomu. Práce je výsledkem delší spolupráce katedry netkaných textilií a nanovláknenných materiálů s očním oddělením Krajské nemocnice v Liberci.

Tématem práce je originální přístup k léčbě glaukomu s využitím polymerní nanovláknenné textilie, připravené elektrostatickým zvlákněním. Přístup k léčbě je založen na poznatku, že trabekulární síťovina, která je zodpovědná za odvádění nitrooční tekutiny, neplní dostatečně svoji funkci. Tím dochází ke zvyšování nitroočního tlaku a nežádoucím jevů, které vedou ke ztrátě zraku. Konvenční farmakologická redukce nitroočního tlaku pomocí lokálních léčiv patří mezi nejdostupnější a nejčastěji využívané metody, nicméně její využití má svá omezení a nevýhody. Chirurgická léčba se snaží zavádět do oka mikro-implantáty různých struktur a materiálů, které zaručí dostatečný odtok nitrooční tekutiny.

Tato práce se zabývá vývojem nitro-očního implantátu, který se ubíral dvěma směry. První byl vývoj elektrostaticky zvlákněné polymerní nanovláknenné textilie, simulující strukturu trabekulární síťoviny tak, aby kompenzoval její celkové morfologické změny a zachovával normální hodnotu nitroočního tlaku. Druhým směrem byl vývoj tubulárního implantátu.

Pro produkci nanovláknenného trabekulárního implantátu bylo vybráno 5 typů polymerů, byla optimalizovaná technologie zvláknění a provedena charakterizace textilií z hlediska jejich struktury, morfologie vláken, smáčivosti, porozity a transportu kapalin pro všechny připravené vzorky. Důležitým testovaným faktorem byla navíc proliferace buněk, která je v tomto případě nežádoucí. Z hlediska všech požadavků byl zvolen kompozit PVDF/PEO jako nejlepší varianta pro planární trabekulární implantát.

Kompozitní tubulární implantát byl navržen jako „core/shell“ vlákno, kde na vnitřní část z PVDF vyrobenou technologií „drawing“ byla nanášena vnější kompozitní část PVDF + PEO; Tato část práce zahrnovala kombinaci počítačových simulací s experimentem pro optimalizaci proudění kapaliny tubulárním implantátem. Pro výrobu tohoto typu implantátu bylo v rámci této práce navrženo a zkonstruováno originální zařízení, které určitě najde širší uplatnění nejen v medicínských aplikacích.

V teoretické části autorka prokázala široký rozhled v dané problematice a to nejen v oblasti polymerních materiálů a v technologii jejich specifické přípravy, ale musela zvládnout problematiku dané oblasti medicíny.

Výsledková část práce je velmi bohatá, zahrnuje technologii přípravy a úspěšné testování dvou typů implantátů pro léčbu glaukomu: planárního a tubulárního. V obou případech to vyžadovalo řešení dlouhé řady dílčích problémů od volby vhodných materiálů, přes optimalizaci technologie až po testování funkčnosti implantátů. Samotná optimalizace technologie je náročná kapitola, protože výčet parametrů ovlivňujících elektrostatické zvláknění tvoří poměrně dlouhou řadu. Navíc specifické požadavky na implantát jako potlačení buněčné proliferace a snadné proudění nitrooční kapaliny jsou ve vzájemném konfliktu a vyžadují citlivé vyladění těchto vlastností.

Aktuálnost tématu potvrzují nejen udělené granty, ale i zájem z aplikační sféry, konkrétně z Nemocnice v Liberci, se kterou autorka spolupracovala

**Práci hodnotím jako vynikající a po úspěšné obhajobě doporučuji udělení titulu PhD její autorce.**

Pro diskuzi během obhajoby navrhuji autorce vyjádřit se k následujícím bodům:

- Do jaké míry může proudění nitrooční tekutiny ovlivnit mikrostrukturu nanovlákněného implantátu v průběhu dlouhodobého použití, pokud není dokonale zesíťovaný?
- Proudění v tubulárním implantátu se především odehrává ve vnější vrstvě, protože PVDF jádro je nesmáčivé; Není možné v takovém případě využít i jiný typ jádrového polymeru? A nakolik je možná proliferace buněk i v jádru tubulárního kanálku?
- Jaké další inovace této technologie by autorka navrhovala, na základě současných poznatků pro pokračování tohoto vývoje implantátů?

Prof. RNDr. Pavla Čapková, DrSc

PřF UJEP