



# Vývoj biodegradabilních polymerních kapslí pro inkorporaci léčiv při glaukomovém onemocnění

## Diplomová práce

*Studijní program:*

*Autor práce:*

*Vedoucí práce:*

N0723A270001 Textilní inženýrství

**Bc. Tereza Urbánková**

Ing. Andrea Klápšťová

Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů





## Zadání diplomové práce

# Vývoj biodegradabilních polymerních kapslí pro inkorporaci léčiv při glaukomovém onemocnění

*Jméno a příjmení:* **Bc. Tereza Urbánková**  
*Osobní číslo:* T19000099  
*Studijní program:* N0723A270001 Textilní inženýrství  
*Zadávající katedra:* Katedra netkaných textilií a nanovlákných materiálů  
*Akademický rok:* **2020/2021**

### Zásady pro vypracování:

1. Rešerše současného stavu léčby glaukomu s využitím antimetabolitů
2. Výroba nano/mikro kapslí z biodegradabilního polymeru metodou elektrostatického rozprašování
3. Inkorporace antifibrotických činidel do struktury kapsle
4. Modifikace nanovlákněné vrstvy z PVDF pomocí optimalizovaných kapslí pro zajištění antifibrotizačních vlastností
5. Zhodnocení výsledků

*Rozsah grafických prací:*  
*Rozsah pracovní zprávy:*  
*Forma zpracování práce:*  
*Jazyk práce:*

dle potřeby dokumentace  
40-60 dle potřeby  
tištěná/elektronická  
Čeština



### **Seznam odborné literatury:**

1. WISCHKE, C. a kol., 2013. A multifunctional bilayered microstent as glaucoma drainage device. *Journal of Controlled Release*. Vol. 172, no. 3. s. 1002-1010.
2. BOCK, N. a kol., 2011. Electrospinning, a Reproducible Method for Production of Polymeric Microspheres for Biomedical Applications. *Polymers*. Vol. 3, no. 1 s. 131-149.
3. CONLON, R a kol., 2017. Glaucoma treatment trends: a review. *Canadian Journal of Ophthalmology*. Vol. 52, s. 114-124.
4. JAWOREK, A., a kol. 2009. Nanocomposite Fabric Formation by Electrospinning and Electrospinning Technologies. *Journal of Electrostatics*. Vol. 67, no. 2-3, s. 435-438.
5. CARETTI, L. a kol. 2018. *Glaucoma Surgery*. Springer International Publishing. ISBN 978-3-319-64854-5.

*Vedoucí práce:*

Ing. Andrea Klápšťová  
Katedra netkaných textilií a nanovláknenných materiálů

*Datum zadání práce:*

1. listopadu 2020

*Předpokládaný termín odevzdání:*

28. května 2021

doc. Ing. Vladimír Bajzík, Ph.D.  
děkan

L.S.

Ing. Jiří Chvojka, Ph.D.  
vedoucí katedry

V Liberci dne 1. listopadu 2020

## Prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci jsem vypracovala samostatně jako původní dílo s použitím uvedené literatury a na základě konzultací s vedoucím mé diplomové práce a konzultantem.

Jsem si vědoma toho, že na mou diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., o právu autorském, zejména § 60 – školní dílo.

Beru na vědomí, že Technická univerzita v Liberci nezasahuje do mých autorských práv užitím mé diplomové práce pro vnitřní potřebu Technické univerzity v Liberci.

Užiji-li diplomovou práci nebo poskytnu-li licenci k jejímu využití, jsem si vědoma povinnosti informovat o této skutečnosti Technickou univerzitu v Liberci; v tomto případě má Technická univerzita v Liberci právo ode mne požadovat úhradu nákladů, které vynaložila na vytvoření díla, až do jejich skutečné výše.

Současně čestně prohlašuji, že text elektronické podoby práce vložený do IS/STAG se shoduje s textem tištěné podoby práce.

Beru na vědomí, že má diplomová práce bude zveřejněna Technickou univerzitou v Liberci v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů.

Jsem si vědoma následků, které podle zákona o vysokých školách mohou vyplývat z porušení tohoto prohlášení.

27. května 2021

Bc. Tereza Urbánková

## **ANOTACE**

Diplomová práce se zabývá využitím elektrického rozprašování pro tvorbu polymerních částic umožňujících inkorporaci léčiv pro funkcionalizaci vláknenných vrstev. V tomto případě by vytvořený kompozit sloužil jako implantát pro léčbu glaukomového onemocnění, resp. jako prvek zvyšující efektivitu současného chirurgického postupu, trabekulektomie. Teoretická část se zabývá všeobecnou problematikou glaukomového onemocnění, současnými postupy léčby a návrhu inovativního řešení. Popisuje vlastnosti použitých polymerů a doplňujících látek a definici elektrického rozprašování s využitím stejnosměrného a střídavého elektrického napětí. Experimentální část je zaměřena na vývoj polymerních kapslí metodou elektrického rozprašování s použitím třech druhů alifatických, biodegradabilních polyesterů. Dále je zde popsána enkapsulace vybrané aktivní látky, Mitomycinu C, sloužící jako antifibrotikum. V závěru práce je výzkum zhodnocen a navržen další postup zkoumání.

**Klíčová slova:** Elektrospraying, Glaukom, Mitomycin C, Polyvinylidenfluorid, Funkcionalizace scaffoldů

## **ANNOTATION**

The diploma thesis deals with the use of electrospraying for the formation of particles, enabling the incorporation of drugs for the functionalization of fibrous layers. In this case, the formed composite would serve as an implant for the treatment of glaucoma, resp. as an element increasing the effectiveness of the current surgical procedure, trabeculectomy. The theoretical part deals with the general issues of glaucoma, current treatment methods and design of innovative solutions. It describes the properties of used polymers and additives and the definition of electrostatic spraying using direct and alternating current voltage. The experimental part is focused on the development of polymer capsules by the method of electrospraying using three types of aliphatic, biodegradable polyesters. Furthermore, the encapsulation of the selected active substance, Mitomycin C, as an antifibrotic, is described here. At the end of the work, the research is evaluated and another research procedure is proposed.

**Key words:** Electrospraying, Glaucoma, Mitomycin, Polyvinylidene fluoride, Functionalization of scaffolds

# OBSAH

|                                                            |           |
|------------------------------------------------------------|-----------|
| Seznam obrázků .....                                       | 10        |
| Seznam tabulek .....                                       | 12        |
| Seznam grafů .....                                         | 13        |
| Seznam zkratek a symbolů .....                             | 14        |
| <b>TEORETICKÁ ČÁST .....</b>                               | <b>17</b> |
| 1 Úvod.....                                                | 17        |
| 2 Glaukom.....                                             | 18        |
| 2.1 Anatomie oka .....                                     | 18        |
| 2.2 Obecné informace o glaukomu .....                      | 19        |
| 2.3 Rozdělení druhů glaukomů .....                         | 20        |
| 2.3.1 Primární glaukomy .....                              | 21        |
| 2.3.2 Sekundární glaukomy .....                            | 22        |
| 2.4 Způsoby léčby .....                                    | 23        |
| 2.4.1 Farmakologická léčba .....                           | 23        |
| 2.4.2 Léčba laserem .....                                  | 26        |
| 2.4.3 Chirurgický zákrok .....                             | 28        |
| 2.4.4 Inovativní metody léčby .....                        | 31        |
| 2.5 Vlastní postup.....                                    | 41        |
| 3 Elektrospraying.....                                     | 42        |
| 3.1 Fyzikální principy elektrosprayingu .....              | 42        |
| 3.1.1 Laplace-Youngova rovnice.....                        | 43        |
| 3.1.2 Rayleighova elektro-hydrodynamická nestabilita ..... | 44        |
| 3.1.3 Kritická koncentrace .....                           | 47        |
| 4 Použité polymery a jiné látky .....                      | 49        |
| 4.1 Alifatické polyestery .....                            | 49        |

|                                  |                                                             |    |
|----------------------------------|-------------------------------------------------------------|----|
| 4.1.1                            | Kyselina polymléčná/ Polylaktid (PLA).....                  | 49 |
| 4.1.2                            | Polykaprolakton (PCL).....                                  | 50 |
| 4.1.3                            | Kopolymer kyseliny mléčné a kyseliny glykolové (PLGA).....  | 51 |
| 4.1.4                            | . Polyvinylidenfluorid (PVDF) .....                         | 52 |
| 4.2                              | Rozpouštědla .....                                          | 53 |
| 4.2.1                            | Chloroform.....                                             | 53 |
| 4.2.2                            | Ethanol (EtOH).....                                         | 54 |
| 4.2.3                            | Kyselina octová.....                                        | 54 |
| 4.2.4                            | Trifluorethanol (TFE) .....                                 | 55 |
| 4.2.5                            | Dichlormethan (DCM).....                                    | 55 |
| 4.2.6                            | Dimethylsulfid (DMS).....                                   | 56 |
| 4.3                              | Mitomycin C (MMC).....                                      | 57 |
| 5                                | Princip výroby .....                                        | 58 |
| 5.1                              | Stejnoseměrné elektrické zvlákňování (DC) .....             | 58 |
| 5.2                              | Střídavé elektrické zvlákňování (AC).....                   | 61 |
| <b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> ..... |                                                             | 65 |
| 6                                | Materiály.....                                              | 65 |
| 6.1                              | PLA .....                                                   | 66 |
| 6.2                              | PCL .....                                                   | 67 |
| 6.3                              | PLGA .....                                                  | 67 |
| 6.3.1                            | Inkorporace MMC do PLGA v TFE.....                          | 67 |
| 7                                | Metodika .....                                              | 68 |
| 7.1                              | DC spinner .....                                            | 69 |
| 7.2                              | AC spinner .....                                            | 69 |
| 7.3                              | Analýza .....                                               | 70 |
| 7.3.1                            | Skenovací elektronový mikroskop.....                        | 70 |
| 7.3.2                            | Program pro statistické vyhodnocení dat obrazu ImageJ ..... | 71 |

|       |                                                                    |     |
|-------|--------------------------------------------------------------------|-----|
| 8     | Výsledky a diskuze .....                                           | 72  |
| 8.1   | Elektrické rozprašování PLA v chloroform/EtOH.....                 | 72  |
| 8.2   | Elektrické rozprašování PLA v Dichlormethan/ Dimethylsulfid.....   | 75  |
| 8.3   | Elektrické rozprašování PCL v chloroform/EtOH/kyselina octová..... | 77  |
| 8.4   | Elektrické rozprašování PLGA v TFE .....                           | 81  |
| 8.4.1 | Testování koncentrace .....                                        | 81  |
| 8.4.2 | Změna parametrů elektrosprayingu .....                             | 85  |
| 8.4.3 | Testování finálního roztoku PLGA v TFE s inkorporací MMC.....      | 90  |
| 8.5   | Funkcionalizace nanovláknenné vrstvy PVDF .....                    | 93  |
| 8.5.1 | SEM – EDX analýza.....                                             | 94  |
| 8.5.2 | HPLC analýza .....                                                 | 96  |
| 9     | Závěr .....                                                        | 97  |
|       | Literatura.....                                                    | 98  |
|       | Citace obrázků .....                                               | 106 |

# Seznam obrázků

|                                                                                                                                                                                          |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Obrázek 1: Anatomie oka [1] .....                                                                                                                                                        | 18 |
| Obrázek 2: Druhy vidění v závislosti na stadiu glaukomu [2].....                                                                                                                         | 19 |
| Obrázek 3: Porovnání zdravého oka s okem postiženým glaukomem [3].....                                                                                                                   | 20 |
| Obrázek 4: Glaukom s otevřeným úhlem [4].....                                                                                                                                            | 21 |
| Obrázek 5: Glaukom s uzavřeným úhlem [4] .....                                                                                                                                           | 21 |
| Obrázek 6: Laserová iridotomie [5].....                                                                                                                                                  | 28 |
| Obrázek 7: Iridektomie [7] .....                                                                                                                                                         | 29 |
| Obrázek 8: Trabekulektomie [6].....                                                                                                                                                      | 29 |
| Obrázek 9: Vývoj drenážních implantátů Molteno během desetiletí [8].....                                                                                                                 | 32 |
| Obrázek 10: Umístění drenážního implantátu [9][7] .....                                                                                                                                  | 32 |
| Obrázek 11: Úspěšnost Molteno implantátu v dlouhodobém horizontu v porovnání s trabekulektomií [10]<br>.....                                                                             | 33 |
| Obrázek 12: a) První generace iStentu; b) Injekční iStent [11].....                                                                                                                      | 34 |
| Obrázek 13: Hydrus <sup>®</sup> mikro-stent a aplikátor [12].....                                                                                                                        | 35 |
| Obrázek 14: CyPass <sup>®</sup> mikro-stent [13][14].....                                                                                                                                | 35 |
| Obrázek 15: XEN Gel Stent a jeho umístění v oku [15].....                                                                                                                                | 36 |
| Obrázek 16: OloGen a jeho aplikace [16][17] .....                                                                                                                                        | 38 |
| Obrázek 17: 17 Expandovaný membránový implantát z polytetrafluorethylenu (ePTFE) [18].....                                                                                               | 39 |
| Obrázek 18: Dvouvrstvý mikro-stent ze směsi PCG/PCL [19] .....                                                                                                                           | 40 |
| Obrázek 19: Umístění mikro-stentu v suprachoroidální oblasti [19].....                                                                                                                   | 40 |
| Obrázek 20: Schéma technologie elektrosprayingu a tvorby nanočástic [20] .....                                                                                                           | 42 |
| Obrázek 21: Síly (a) vyvolané povrchovým napětím působící na povrchu válce (b) [21].....                                                                                                 | 43 |
| Obrázek 22: Oskulační kružnice obecné křivky C(a) a křivost kružnice (b) [21].....                                                                                                       | 44 |
| Obrázek 23: a) Schéma pro výpočet limitního elektrického náboje Q pro rozpad dokonale sférické kapky a působení intenzit; b) Schéma pro aplikaci Gaussovy věty elektrostatiky [21] ..... | 45 |
| Obrázek 24: Kyselina polymléčná (PLA) – strukturní vzorec .....                                                                                                                          | 49 |
| Obrázek 25: Výroba PLA polymerací za otevření kruhu cyklického laktidového dimeru [22] .....                                                                                             | 49 |
| Obrázek 26: Polylakton (PCL) – strukturní vzorec .....                                                                                                                                   | 50 |
| Obrázek 27: Výroba PCL polymerací za otevření kruhu cyklického $\epsilon$ -kaprolaktonu [23] .....                                                                                       | 51 |
| Obrázek 28: Kopolymer kyseliny mléčné a kyseliny glykolové (PLGA) – strukturní vzorec.....                                                                                               | 52 |
| Obrázek 29: Hydrolýza PLGA za vzniku kyseliny mléčné a glykolové [24].....                                                                                                               | 52 |
| Obrázek 30: Polyvinylidenfluorid (PVDF) – strukturní vzorec.....                                                                                                                         | 52 |
| Obrázek 31: Výroba PVDF polymerací 1,1-difluoroethylenu [25] .....                                                                                                                       | 53 |
| Obrázek 32: Chloroform (CHCl <sub>3</sub> ) – strukturní vzorec .....                                                                                                                    | 53 |
| Obrázek 33: Ethanol (EtOH, C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O) – strukturní vzorec .....                                                                                                    | 54 |
| Obrázek 34: Kyselina octová (CH <sub>3</sub> COOH) – strukturní vzorec.....                                                                                                              | 54 |

|                                                                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Obrázek 35: Trifluoroethanol (TFE) – strukturní vzorec .....                                                                                                                                 | 55 |
| Obrázek 36: Dichlormethan (DCM) – strukturní vzorec .....                                                                                                                                    | 55 |
| Obrázek 37: Dimethylsulfid (DMS) – strukturní vzorec .....                                                                                                                                   | 56 |
| Obrázek 38: Mitomycin C (MMC) – strukturní vzorec [26].....                                                                                                                                  | 57 |
| Obrázek 39: Schéma stejnosměrného elektrického zvlákňovacího stroje (DC) [27].....                                                                                                           | 58 |
| Obrázek 40: Laboratorní zařízení pro DC elektrické zvlákňování .....                                                                                                                         | 59 |
| Obrázek 41: Automatická dávkovací pumpa .....                                                                                                                                                | 59 |
| Obrázek 42: Zařízení pro zvlákňování se střídavým elektrickým napětím (AC) [28] .....                                                                                                        | 61 |
| Obrázek 43: Schéma zařízení pro zvlákňování se střídavým elektrickým napětím (AC) [28] .....                                                                                                 | 62 |
| Obrázek 44: Zvlákňovací věž pro zvlákňování se střídavým elektrickým napětím (AC) .....                                                                                                      | 63 |
| Obrázek 45: Laboratorní váha .....                                                                                                                                                           | 66 |
| Obrázek 46: Laboratorní magnetické míchadlo.....                                                                                                                                             | 66 |
| Obrázek 47: DC spinner.....                                                                                                                                                                  | 69 |
| Obrázek 48: AC spinner.....                                                                                                                                                                  | 70 |
| Obrázek 49: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PLA v chloroform/EtOH pomocí DC (vlevo) a AC (vpravo) elektrosprayingu na podkladové SB textilií při zvětšení 2500x .....                | 72 |
| Obrázek 50: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PLA v DCM/DMS pomocí AC elektrosprayingu na podkladové SB textilií při zvětšení 2500x .....                                              | 75 |
| Obrázek 51: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PCL v chloroform/EtOH/kyselina octová pomocí DC (vlevo) a AC (vpravo) elektrosprayingu na podkladové SB textilií při zvětšení 2500x..... | 78 |
| Obrázek 52: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PLGA v TFE pomocí DC elektrosprayingu na podkladové SB textilií při zvětšení 5000x. ....                                                 | 82 |
| Obrázek 53: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PLGA v TFE pomocí DC elektrosprayingu na podkladové SB textilií při zvětšení 5000x. ....                                                 | 85 |
| Obrázek 54: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PLGA v TFE s inkorporací MMC pomocí DC elektrosprayingu zvětšení 5000x.....                                                              | 90 |
| Obrázek 55: Porovnání SEM snímků čisté a funkcionalizované PVDF vrstvy při zvětšení 5000x.....                                                                                               | 93 |
| Obrázek 57: EDX analýza – SEM snímky vytvořených částic elektrosprayingem na PVDF vrstvu.....                                                                                                | 95 |
| Obrázek 56: EDX analýza – SEM snímky funkcionalizované PVDF vrstvy pomocí elektrosprayingu 6 % roztok PLGA v TFE s inkorporací MMC při zvětšení 3000x. ....                                  | 95 |

# Seznam tabulek

|                                                                                                                      |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Tabulka 1: Parametry zařízení pro stejnosměrné elektrické zvlákňování (DC) .....</i>                              | <i>60</i> |
| <i>Tabulka 2: Parametry zařízení pro střídavé elektrické zvlákňování (AC) .....</i>                                  | <i>64</i> |
| <i>Tabulka 3: Koncentrační řady použitých polymerních roztoků .....</i>                                              | <i>68</i> |
| <i>Tabulka 4: PLA v chloroform/EtOH (9:1) – Vyhodnocení DC a AC elektrosprayingu a SEM analýzy.....</i>              | <i>73</i> |
| <i>Tabulka 5: PLA v DCM/DMS (9:1) – Vyhodnocení AC elektrosprayingu a SEM analýzy.....</i>                           | <i>76</i> |
| <i>Tabulka 6: PCL v chloroform/EtOH/k. octová (8:1:1) – Vyhodnocení DC a AC elektrosprayingu a SEM analýzy .....</i> | <i>79</i> |
| <i>Tabulka 7: DC elektrospraying, Testování koncentrační řady.....</i>                                               | <i>82</i> |
| <i>Tabulka 8: DC elektrospraying, - Testování parametrů sprejování.....</i>                                          | <i>86</i> |
| <i>Tabulka 9: DC elektrospraying, - Testování finálního roztoku PLGA v TFE s inkorporací MMC .....</i>               | <i>91</i> |
| <i>Tabulka 10: DC elektrospraying, - Funkcionalizace PVDF vrstvy PLG částicemi TFE s inkorporací MMC...</i>          | <i>94</i> |

# Seznam grafů

|                                                                                         |           |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <i>Graf 1: Distribuce velikostí částic PLGA v TFE 10 hm. %.....</i>                     | <i>84</i> |
| <i>Graf 2: Distribuce velikostí částic PLGA v TFE 8 hm. %.....</i>                      | <i>84</i> |
| <i>Graf 3: Distribuce velikostí částic PLGA v TFE 6 hm. %.....</i>                      | <i>84</i> |
| <i>Graf 4: Distribuce velikostí částic PLGA v TFE 4 hm. %.....</i>                      | <i>84</i> |
| <i>Graf 5: Analýza průměrů částic PLGA v TFE dle podmínek 2.....</i>                    | <i>89</i> |
| <i>Graf 6: Analýza průměrů částic PLGA v TFE dle podmínek 4.....</i>                    | <i>89</i> |
| <i>Graf 7: Analýza průměrů částic PLGA v TFE s inkorporací MMC dle podmínek 4 .....</i> | <i>92</i> |

## Seznam zkratek a symbolů

|                 |                                                                                                                             |
|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| [ $\eta$ ]      | vnitřní viskozita [ $\text{cm}^3/\text{g}$ ]                                                                                |
| 5-FU            | 5-fluorouracil                                                                                                              |
| AC              | střídavé napětí                                                                                                             |
| aj.             | a jiné                                                                                                                      |
| ALT             | argonová laserová trabekuloplastika                                                                                         |
| c               | koncentrace [ $\text{mol}/\text{dm}^3$ ]                                                                                    |
| $c_{\text{ov}}$ | kritická koncentrace [ $\text{mol}/\text{dm}^3$ ]                                                                           |
| d               | průměr [m]                                                                                                                  |
| DC              | stejnoseměrné napětí                                                                                                        |
| DCM             | dichlormethan                                                                                                               |
| DDS             | drug delivery systems (systémy s řízeným uvolňováním léčiv)                                                                 |
| DMS             | dimethylsulfid                                                                                                              |
| DMSO            | dimethylsulfoxid                                                                                                            |
| DNA             | deoxyribonukleová kyselina                                                                                                  |
| E               | intenzita elektrického pole [N/C]                                                                                           |
| EDX             | energieově disperzní mikroanalýzátor                                                                                        |
| ePTFE           | expandovaný polytetrafluorethylen                                                                                           |
| EtOH            | ethanol                                                                                                                     |
| F               | síla [N]                                                                                                                    |
| h               | hloubka [m]                                                                                                                 |
| HPLC            | high-performance liquid chromatography (Vysoce účinná kapalinová chromatografie nebo vysokotlaká kapalinová chromatografie) |
| IOP             | intraocular pressure (nitrooční tlak)                                                                                       |
| K               | konstanta                                                                                                                   |
| l               | délka [m]                                                                                                                   |
| L_R             | Rayleighova nestabilita                                                                                                     |
| MIGS            | minimally invasive glaucoma surgery (minimálně invazivní glaukomová chirurgie)                                              |
| MLT             | mikropulzní laserová trabekuloplastika                                                                                      |
| MMC             | Mitomycin C                                                                                                                 |
| $M_w$           | molekulová hmotnost [ $\text{g}/\text{mol}$ ]                                                                               |

|        |                                                      |
|--------|------------------------------------------------------|
| např.  | například                                            |
| NTG    | normal-tension glaucoma (glaukom s normálním tlakem) |
| obr.   | obrázek                                              |
| $p_c$  | kapilární tlak [Pa]                                  |
| $p_e$  | elektrický tlak [Pa]                                 |
| PCG    | kopolymer $\varepsilon$ – kaprolaktonu a glykolidu   |
| PCL    | poly- $\varepsilon$ -kaprolakton                     |
| PCTFE  | polychlorotrifluorethylen                            |
| PDLA   | kyselina poly(D-mléčná)                              |
| PDLLA  | kyselina poly(D, L-mléčná)                           |
| PGA    | kyselina polyglykolová                               |
| PHB    | polyhydroxybutyrát                                   |
| PLA    | kyselina polymléčná                                  |
| PLGA   | kopolymer kyseliny mléčné a kyseliny glykolové       |
| PLLA   | kyselina poly(L-mléčná)                              |
| PTFE   | polytetrafluorethylen                                |
| PVDF   | polyvinylidenfluorid                                 |
| $Q, q$ | elektrický náboj [C]                                 |
| $R, r$ | poloměr [m]                                          |
| RNA    | Ribonukleová kyselina                                |
| S      | povrch [m <sup>2</sup> ]                             |
| SB     | spunbond (netkaná textilie)                          |
| SEM    | skenovací (rastrovací) elektronový mikroskop         |
| SLT    | selektivní laserová trabekuloplastika                |
| š      | šířka [m]                                            |
| TEM    | transmisní elektronový mikroskop                     |
| TFE    | trifluorethanol                                      |
| $T_g$  | teplota zesklňování [°C]                             |
| tj.    | to jest                                              |
| $T_m$  | teplota tání [°C]                                    |
| ™      | trademark symbol (symbol ochranné známky)            |
| TUL    | Technická univerzita v Liberci                       |
| tzv.   | takzvaný                                             |

|                 |                                                       |
|-----------------|-------------------------------------------------------|
| $v$             | výška [m]                                             |
| $VN$            | vysoké napětí [V]                                     |
| z.s.            | zapsaný spolek                                        |
| $\gamma$        | povrchové napětí [N/m]                                |
| $\varepsilon$   | permitivita [ $F/m^{-1}$ ]                            |
| $\varepsilon_0$ | permitivita vakua [ $8,854 \cdot 10^{-12} F/m^{-1}$ ] |
| $\eta_{sp}$     | specifická viskozita [ $N.s.m^{-2}$ ]                 |
| $\eta_0$        | viskozita nulové smykové rychlosti [ $N.s.m^{-2}$ ]   |
| $\eta_s$        | viskozita rozpouštědla [ $N.s.m^{-2}$ ]               |
| $\kappa$        | křivost [ $m^{-1}$ ]                                  |
| $\sigma$        | plošná hustota náboje [ $C/m^{-2}$ ]                  |
| $\Phi$          | tok elektrické intenzity [Vm]                         |

# Teoretická část

## 1 Úvod

Nanomateriály a nanotechnologie obecně jsou v současné době čím dál více aktuálním tématem. Využití nacházejí napříč obory, zdravotnictví nevyjímaje. Především oblast biomedicíny je aktuálně nejzajímavějším prostředím pro inovativní řešení právě s pomocí nanotechnologií.

Tato práce je soustředěna na téma využití polymerních nano nebo mikro částic s inkorporací léčiv pro biomedicínské aplikace, konkrétně při léčbě očního glaukomu. Zabývá se vývojem a výrobou polymerních kapslí z biodegradabilních a biokompatibilních polymerů metodou elektrického rozprašování (elektrosprayingu) za využití stejnosměrného (DC) a střídavého napětí (AC).

Takto vyrobené systémy s kontrolovaným uvolňováním jsou vhodným prostředkem pro konkrétní cílení na postižené místo bez ztráty účinku. Současně enkapsulace léčiv do vhodně zvoleného, biologicky rozložitelného polymeru, umožní jejich postupné, rovnoměrné uvolňování bez vzniku aglomerátů.

Oční glaukom neboli zelený zákal je jedním z nejčastějších onemocnění na světě způsobujících oslepnutí. Jeho léčba je závislá na stádiu, s jakým pacient přichází a funguje pouze jako stabilizační řešení, současný stav pacienta již nezvrátí. Může být řešena pouze farmakologicky nebo laserovým ošetřením, v pokročilých stádiích pak přichází na řadu chirurgický zákrok nejčastěji trabekulektomie.

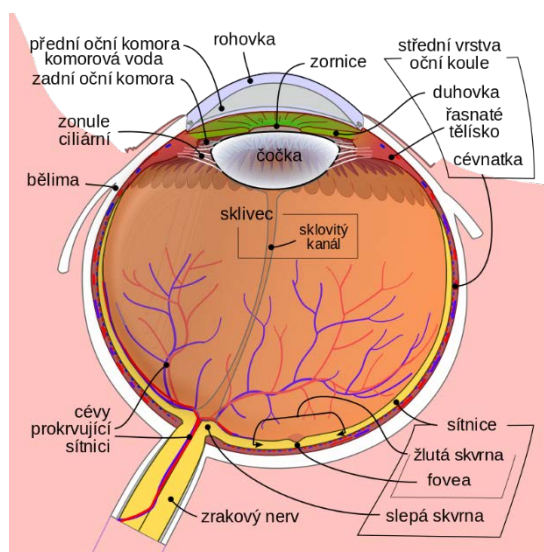
Trabekulektomie však bývá doprovázena mnohými komplikacemi jako je např. vznik srůstů nebo jizvení, a proto se při ní používají doplňující antifibrotické látky (antimetabolity), které tyto komplikace zmírňují. Další možností, jak zvýšit účinnost trabekulektomie je použití implantátů. Již bylo vyvinuto a používá se několik druhů implantačních zařízení a na základě zkušeností a poznatků jsou vyvíjeny další.

Tato práce se zaměřuje na funkcionalizaci již vzniklé polymerní vrstvy z polyvinylidenfluoridu (PVDF), který je sám o sobě v medicíně hojně využíván. Implantát z nedegradabilního PVDF obohacený o polymerní částice s obsahem Mitomycinu C (MMC) by tak byl ideálním prostředkem pro zefektivnění chirurgického zákroku.

## 2 Glaukom

### 2.1 Anatomie oka

Oční bulva je téměř kulovitého tvaru v průměru cca 24 mm u dospělého člověka (viz Obr. č. 1). Je obalena třemi vrstvami, a sice bělimou (sklérou), rohovkou a cévnatkou. Bělima má funkci ochrannou před fyzickými vlivy (úder) a je z pevné tkáně. Bělima dále přechází do průhledné rohovky, která má částečně ochrannou funkci vůči UV záření a společně s čočkou vytváří optický obraz. Cévnatka má funkci výživovou, je prostoupena cévami a slouží oku i jako termoregulace [1].



Obrázek 1: Anatomie oka [1]

Vnitřní část oka tvoří přední komora oční, která je vyplněna nitrooční tekutinou. Nitrooční tekutina je za normálních okolností tvořena řasnatým tělesem, odkud protéká do zadní a přední oční komory, kde se částečně vstřebá a odtéká z oka pryč. Její funkcí je stabilizace nitroočního tlaku, výživa okolních tkání, odvod odpadních látek a transport vitamínu C do rohovky. Složení je převážně voda a dále ionty, proteiny, vitamín C, glukóza a kyselina mléčná, nechybí aminokyseliny. Za přední komorou se nachází duhovka s otvorem ve středu, zornicí. Následuje čočka, jejíž jednou z funkcí je lom světla a dále slouží společně s ciliárním svalem k akomodaci oka.

Nejobjemnější část oka, sklivec, se nachází za zadní komorou a navazuje na nejpodstatnější a nejkomplikovanější část oka – sítnici. Sítnice je složena z velkého množství tyčinek a čípků. Konkrétně zhruba z 6 milionů čípků a 120 milionů tyčinek. Čípky jsou zodpovědné za fotopické vidění, částečně zajišťují zrakovou ostrost, rozeznávání intenzity světla, a především barev a jejich odstínů. Rozlišují se tři druhy čípků (pro vnímání červené, zelené a modré barvy) s různými barevnými pigmenty a rozdílnou citlivostí na určitou vlnovou délku. Tyčinky jsou více senzibilní ke světlu a mají schopnost rozeznávat odstíny šedi. Místo nejostřejšího vidění, tedy kde je nejvíce čípků a relativně málo tyčinek se nazývá žlutá skvrna. Zde se zobrazuje zaostřovaná část zorného pole. Tyčinky a čípky obsahují nervová vlákna, která odtud vycházejí až se spojí ve zrakový nerv. Místo, kde se jednotlivá nervová vlákénka spojují je označováno jako „papila zrakového nervu“, zhruba ve středu sítnice [2].

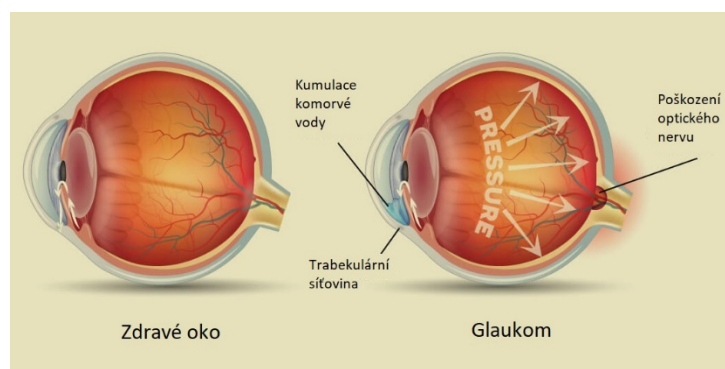
## 2.2 Obecné informace o glaukomu

Glaukom, lidově zelený zákal, je určitý druh očního onemocnění způsobující poruchu zraku, v horším případě jeho ztrátu. Vzniká poškozením očního nervu nejčastěji vlivem zvýšeného nitroočního tlaku (tzv. intraocular pressure, IOP), tzn. kolem hodnot nad 21 mm Hg IOP, kdy se běžné hodnoty pohybují přibližně okolo 10-20 mm Hg IOP. Jeho diagnóza je velmi těžko odhalitelná, protože jeho symptomy se začínají projevovat až v pozdějším stádiu nenávratnou ztrátou periferního vidění (viz Obr. č. 2) a následně může dojít až k úplnému oslepnutí. Jedince často nedoprovází ani bolest a jedinou možností, jak onemocnění předejít, je pravidelná návštěva očního lékaře.



Obrázek 2: Druhy vidění v závislosti na stadiu glaukomu [2]

Glaukom je uváděn jako druhá nejčastější příčina oslepnutí na světě, po očním traumatu (mechanickém poškození oka). V roce 2017 bylo na světě zhruba 66,8 milionů lidí s tímto onemocněním a předpokládalo se, že v roce 2020 množství dosáhne 80 milionů vlivem růstu populace a jejího věku. Odhaduje se, že např. v Kanadě je glaukom diagnostikován u 2,7 % populace nad 40 let a u 11 % nad 80 let věku. Bohužel 50 % lidí na světě o své diagnóze ani neví a neléčí se [3].



*Obrázek 3: Porovnání zdravého oka s okem postiženým glaukomem [3]*

Pokud z nějakého důvodu přestane nitrooční tekutina odtékat běžným způsobem vznikne v oku přetlak, který následně způsobí vznik glaukomu (viz Obr. č. 3). Mezi rizikové skupiny se řadí osoby se zvýšeným nitroočním tlakem, lidé nad 60 let věku, černé pleti, Asiaté a Hispánci, s dědičnými předpoklady, s různými onemocněními jako cukrovka, onemocnění srdce, vysoký krevní tlak nebo srpkovitá anemie (onemocnění červených krvinek, chudokrevnost), jedinci s extrémní krátkozrakostí nebo dalekozrakostí, s prodělaným zraněním oka nebo po chirurgickém zákroku oka, lidé dlouhodobě užívající kortikosteroidy, zejména ve formě kapek [4].

## 2.3 Rozdělení druhů glaukomů

Glaukomy se rozdělují do několika skupin podle způsobu vzniku na primární a sekundární. A dále podle uspořádání, na glaukom s otevřeným a uzavřeným úhlem či podle typu. U primárních to může být glaukom vrozený nebo s normálním tlakem, u sekundárních se jejich označení většinou odvíjí od hlavní příčiny vzniku jako např. pigmentární, uveitický, exfoliativní nebo traumatický [5][6].

### 2.3.1 Primární glaukomy

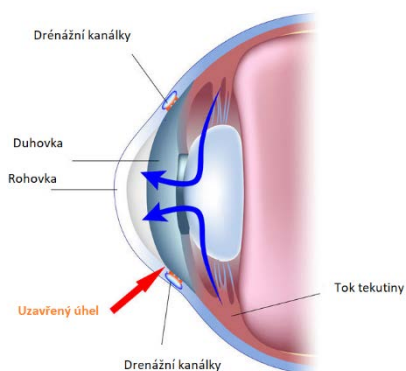
Primární glaukomy jsou takové, které přicházejí nezávisle na zdravotním stavu pacienta. Jejich příčina je většinou neurčitá a postihuje spíše ohrožené skupiny zmíněné v předchozí kapitole. Dále se rozdělují na glaukomy s otevřeným a uzavřeným úhlem, který je velice agresivní a je nutno ho řešit akutně. Glaukom s normálním tlakem a vrozený jsou také řazeny do skupiny primárních [4][6].

#### a) Glaukom s otevřeným úhlem

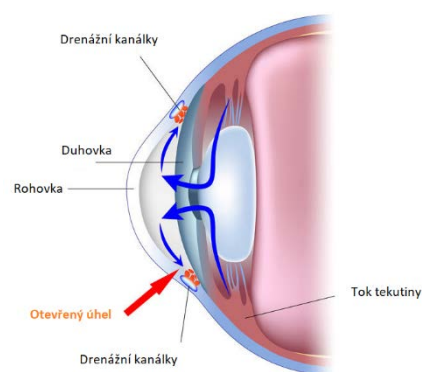
Glaukom s otevřeným úhlem je nejčastějším typem glaukomu vyskytujícím se až v 90 % případů. Je způsoben pomalým ucpáváním drenážních kanálků, což vede ke zvýšení nitroočního tlaku, jež je nejpravděpodobnější příčinou vzniku tohoto typu glaukomu. Dochází při něm k rozšíření úhlu mezi duhovkou a rohovkou (viz Obr. č.4), z čehož plyne i jeho název. Vzhledem k jeho pomalému vývoji je špatně odhalitelný a pacient bez pravidelné lékařské kontroly jeho přítomnost registruje až v pokročilých stádiích, kdy začne přicházet o zrak. Primární glaukom s otevřeným úhlem je druhou nejčastější příčinou oslepnutí v Americe a nejčastější příčinou slepoty u Američanů černé pleti [7].

#### b) Glaukom s uzavřeným úhlem

Glaukom s uzavřeným úhlem není tak častý jako s otevřeným úhlem, ale je mnohem nebezpečnější, také nazývaný akutní. Dochází při něm k ucpání drenážních kanálků vlivem úzkého úhlu mezi duhovkou a rohovkou (viz Obr. č.5). Je velmi agresivní, vyvíjí se rychle, příznaky jsou obvykle patrné a vyžaduje okamžitou lékařskou pomoc [5].



Obrázek 4: Glaukom s otevřeným úhlem [4]



Obrázek 5: Glaukom s uzavřeným úhlem [4]

### **c) Glaukom s normálním tlakem (Normal-Tension Glaucoma, NTG)**

Jak už název napovídá, tento typ glaukomu není doprovázen nebo způsobován zvýšeným nitroočním tlakem (IOP). Glaukom s normálním tlakem se řadí mezi glaukomy s otevřeným úhlem a až 1 ze 3 případů glaukomů s otevřeným úhlem je typu NTG. Diagnostika probíhá pozorováním optického nervu a jeho poškození např. pomocí oftalmoskopu. V současné době není známa příčina jeho vzniku a léčba probíhá standartně snižováním IOP na co nejnížší možnou hodnotu pomocí léků, laseru nebo chirurgického zákroku. Nejčastěji postihuje osoby s genetickou predispozicí, japonského původu, s abnormálním srdečním rytmem nebo nízkým krevním tlakem [5][8].

### **d) Vrozený glaukom**

Vrozený nebo také dětský nebo kojenecký glaukom se vyskytuje u dětí a kojenců nejčastěji během prvního roku života. Je velmi vzácný a vzniká nesprávným nebo nedokonalým vývojem drenážních kanálků během prenatálního období. Pomocí chirurgického zákroku mohou být tyto strukturální vady napraveny, ale nikoli ztráta zraku, ta může být pouze zastavena a optimalizována. Chirurgický zákrok bývá často doprovázen léčbou pomocí kapek nebo léků. Příznaky jsou zvětšení oční bulvy, zakalená rohovka a fotocitlivost [5][9].

## **2.3.2 Sekundární glaukomy**

Sekundárním glaukomem se rozumí jakákoli forma glaukomu, u které existuje identifikovatelná příčina zvýšeného očního tlaku, která vede k poškození zrakového nervu a ztrátě zraku. Stejně jako primární glaukom může být sekundární glaukom s otevřeným nebo uzavřeným úhlem a může se vyskytovat v jednom nebo obou očích. Příčinou vzniku sekundárního glaukomu může být poškození očí, zánět, některé léky, jako jsou steroidy a pokročilé případy katarakty (šedého zákalu) nebo cukrovka.

Rozlišujeme neovaskulární glaukom, který vzniká na základě nadměrné tvorby krevních cév na duhovce a nad drenážními kanály oka a nejčastější příčinou bývá cukrovka nebo vysoký krevní tlak [10]. Pigmentární glaukom, ke kterému dochází vlivem tření mezi vlákny podpírajících čočku a zadní části duhovky nesoucí pigment, který se pomalu odlupuje a ukládá v trabekulární síti oka. Vyskytuje se nejčastěji u mladých mužů bílé barvy pleti, trpící krátkozrakostí [11]. Exfoliativní glaukom je způsoben abnormální akumulací bílkovin v drenážním systému a dalších strukturách oka. Častěji se vyskytuje u určitých rasových skupin jako jsou Rusové, lidé pocházející ze severských zemí, Řekové a lidé středomořského původu nebo např. Indové [12]. Uveitický glaukom bývá způsoben zánětlivými poruchami např. Fuchova heterochromní uveitida, Posner-Schlossmanův syndrom a herpetická uveitida. Glaukom ve spojení s uveitidou je velmi komplikovaný a jeho vznik může být způsoben několika faktory, a to vlivem zánětlivých zbytků způsobujících ucpání trabekulární síťoviny, zjizvení tkáně z důvodu dlouhodobého zánětu nebo jako vedlejší účinek kortikosteroidů, které se běžně podávají k léčbě [13]. Traumatický glaukom je jakýkoli glaukom způsobený poraněním oka nejčastěji tupým úderem např. do hlavy nebo přímo do oka. Často při něm dochází k poškození části oka produkující oční tekutinu, a to způsobí krvácení do oka. Přebytké množství krve, plazmy a nečistot se může hromadit a ucpávat drenážní systém [5][14].

## **2.4 Způsoby léčby**

Existuje několik různých způsobů léčby, které lze aplikovat individuálně nebo jejich účinky kombinovat. Každý pacient je něčím jedinečný, a tak i léčba bývá často individuální u každého jedince dle jeho zdravotního stavu, míry poškození očního nervu a kontraindikace léků či samotných požadavků postiženého.

Léčba by měla být především zaměřena na původní příčinu vzniku glaukomu ať už je to snižování nitroočního tlaku nebo výše zmíněné příčiny sekundárních glaukomů (vysoký krevní tlak, cukrovka, zánět, ...) [15].

### **2.4.1 Farmakologická léčba**

Obecně se antiglaukomatika dělí do dvou skupin, jedny pomáhají odtoku tekutiny z oka (prostaglandiny, inhibitory  $\alpha$  kinázy, oxidy dusíku, ...) a druhé zabraňují její tvorbě (beta-blokátory, alfa-adrenergní agonisté, inhibitory karboanhydrázy) [16].

### **a) Farmaka první linie**

Prostaglandiny a beta-blokátory jsou využívány při tzv. léčbě první linie. Léčba glaukomu většinou začíná lokální aplikací selektivního nebo neselektivního beta-blokátoru nebo lokálního analogu prostaglandinu. Analogy prostaglandinu snižují IOP zvýšením odtoku komorové vody v oku. Prostaglandin je přirozeně se vyskytující krevní protein v těle, který může kromě mnoha dalších terapeutických účinků snížit nitrooční tlak. „Analogový“ nebo „analogický“ znamená, že léčivo je srovnatelné nebo podobné s prostaglandinem, ale má mírně odlišné chemické složení (např. Latanoprost, Bimatoprost, Travoprost aj...). Prostaglandinové analogy se nejčastěji užívají při léčbě glaukomu s otevřeným úhlem nebo při oční hypertenzi. Jsou využívány v první linii díky relativně nízkému množství nežádoucích účinků [16][17].

Beta-blokátory snižují IOP snížením tvorby komorové vody v oku. Jsou důležitou skupinou léků k léčbě různých srdečních onemocnění včetně vysokého krevního tlaku, nepravidelného srdečního rytmu (arytmie), nedostatečného průtoku krve do srdečního svalu (angina pectoris) a snížená schopnost srdce normálně se vyprazdňovat nebo plnit (srdeční selhání). Vhodné jsou také pro léčbu migrénových bolestí hlavy. Jako třída jsou nejširše využívanými léky v medicíně. Stejně jako prostaglandiny jsou využívány v první linii, protože mají málo nežádoucích účinků, přesto mohou způsobovat podráždění očí, alergickou konjunktivitidu (zánět spojivek), exacerbaci (tj. zhoršení nebo nové vzplanutí nemoci) nebo vznik astmatu, respirační selhání, bradykardii (tj. zpomalení srdeční frekvence pod fyziologickou mez), srdeční selhání, hypotenzi, depresi a impotenci. Dělí se na kardioselektivní (betaxolol hydrochlorid) a nekardioselektivní (timolol maleát, levobunolol hydrochlorid, metipranolol, aj.) [17][18].

## **b) Farmaka druhé linie**

Mezi léky druhé linie patří  $\alpha$ -agonisté a lokální inhibitory karboanhydrázy. Inhibitory karboanhydrázy jsou farmaceutické látky, které potlačují působení karboanhydrázy, což je enzym, který hraje hlavní roli v regulaci pH a hladin tekutin v lidském těle. Mají za úkol snížit množství hydrogenuhličitanových iontů a solí, které naše tělo absorbuje, což vede k celkovému snížení hladiny tekutin v těle. Výsledkem je pokles tlaku snížením množství tekutiny, které oko produkuje. Dělí se na systematické (acetazolamid, dichlorfenamid, ...) a topické (dorzolamid, brinzolamid). Alfa-adrenergní agonisté snižují nitrooční tlak snížením produkce komorové vody a také zvýšením odtoku tekutiny. Ve formě léčivých látek jsou podávány např. apraclonidin hydrochlorid nebo brimonidin tartrát. Tyto dvě třídy léků mohou být kombinovány s výše zmíněnými léky první linie beta-blokátory nebo analogy prostaglandinu ke zvýšení jejich účinků [15][18].

## **c) Farmaka třetí linie**

Za léky třetí linie jsou považovány tzv. parasymptomimetické (miotické) látky, nejčastěji pilokarpin. Mají málo systémových komplikací a jsou relativně levné ve srovnání s jinými topickými antiglaukomatiky, nicméně mohou způsobovat miózu (tj. zúžení zornice lidského oka), akomodační křeč (křeč očního svalu), rozmazané vidění, potíže s hodnocením optického disku a zorného pole a možné slzení nebo odtržení sítnice. Kromě toho se musejí užívat několikrát denně, a to je pro mnoho pacientů obtížné, proto jsou vyhrazené pro lidi nereagující na jiná topická antiglaukomatika. Dělí se na cholinergní (pilokarpin hydrochlorid, pilokarpin hydrochlorid, ...) a anticholinesterázy (echothiophate jod, fizostigmin, ...) [15].

Výše zmíněné třídy léků jsou aplikovány v podobě očních kapek a lze je kombinovat s léky k perorálnímu užití nejčastěji inhibitory karboanhydrázy. Mohou být použity krátkodobě nebo dlouhodobě, v závislosti na pacientově toleranci k těmto lékům. Možné nežádoucí účinky zahrnují časté močení, brnění prstů na rukou a nohou, deprese, žaludeční nevolnost, průjem, nevolnost, anorexie, a ledvinové kameny [15][19].

## 2.4.2 Léčba laserem

Laserové ošetření je druhým krokem léčby v případě, že nejsou antiglaukomatika dostačující. Lze použít tři typy laserové terapie, a to argonovou laserovou trabekuloplastiku (ALT), selektivní laserovou trabekuloplastiku (SLT) nebo mikropulzní laserovou trabekuloplastiku (MLT). Během zákroku je oko znecitlivěno lokálními anestetiky v podobě kapek a následně dochází k aplikaci laserové energie na trabekulární síťovinu, což iniciuje strukturální a/ nebo fyziologické změny, které vedou ke zlepšení odtoku nitrooční tekutiny z oka. Existuje několik studií, které se na identifikaci těchto patologických změn zaměřují, ale přesný mechanismus zůstává neznámý. Může být aplikována současně s farmakologickou léčbou a opakovaně [20].

### a) Argonová laserová trabekuloplastika (ALT)

Argonová laserová trabekuloplastika je nejběžnějším typem laserové operace prováděné u glaukomu s otevřeným úhlem případně v některých případech sekundárního glaukomu. Není vhodná například u uveitického glaukomu, jelikož může původní zánět v oku ještě zhoršit. Její vynález z roku 1979 je připisován pánům Wiseovi a Witterovi. Jak název napovídá, původním zdrojem energie byl argonový laser s kontinuální vlnou pohybující se ve spektru modrozelené vlnové délky (454-529 nm). Nespočet prvotních studií poukazovalo na snášenlivost a účinnost této metody, v roce 1990, studie testování laseru sponzorované Národním očním institutem, odhalila, že je víceméně stejně účinná jako lokální farmakologická léčba. ALT bývá většinou kombinována s farmakologickou léčbou, která je nasazována před laserovým zákrokem i po něm. Využití ALT je vcelku širokospektré pro celou řadu oftalmologických aplikací. Mezi nevýhody patří možný vznik zánětu po zákroku, vznik srůstů a riziko dočasně nebo trvale vysokého IOP. Čím více opakování, tím větší náchylnost ke vzniku zjizvení a zákrok se tak stává kontraproduktivní [21][22].

## **b) Selektivní laserová trabekuloplastika (SLT)**

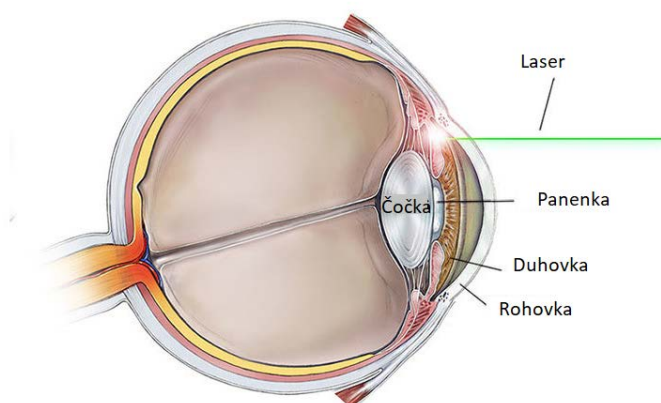
Selektivní laserová trabekuloplastika je využívána od roku 1995 a v porovnání s ALT se vyznačuje výrazně nižší laserovou energií, což má za následek mnohem méně komplikací, které jsou zároveň mírnější a krátkodobé, a to ji vyneslo do popředí a v podstatě ALT nahradila. Její účinky jsou srovnatelné s analogy prostaglandinu, v současnosti nejúčinnějšími antiglaukomatiky na trhu. Kliničtí lékaři se obecně shodují, že stejně jako u léků je SLT nejúčinnější, pokud se používá primárně, a že s větším počtem léků se její účinek snižuje [22][23].

## **c) Mikropulzní laserová trabekuloplastika (MLT)**

Mikropulzní laserová trabekuloplastika je ze všech metod nejšetrnější. Jak je z názvu patrné, MLT využívá opakující se nízkoenergetické laserové pulsy, které jsou odděleny krátkými přestávkami. Toto „mikropulzování“ umožňuje trabekulární mřížce vychladnout mezi jednotlivými pulzy, a tak nedochází k poškození tkáně. Rapidně snižuje nebo eliminuje rizika laserového ošetření a vedlejší účinky, a proto jej lze podle potřeby opakovat [22][24].

## **d) Laserová iridotomie**

Laserová iridotomie se využívá primárně pro akutní nebo chronický glaukom s uzavřeným úhlem. Oko je nejprve anestetizováno pomocí očních kapek. Následně je pacient umístěn před laser, který se podobá běžnému vyšetřovacímu mikroskopu a na oko je dočasně umístěna kontaktní čočka. Celý proces léčby je obdobný předchozím postupům pro glaukom s otevřeným úhlem. Paprsky laseru směřují na duhovku a laserové světlo vytvoří v duhovce malý otvor (viz Obr. č. 6), tzv. „únikový ventil“, takže tlak v přední části oka je vyrovnán s tlakem v zadní části oka. Nakonec je dočasná čočka z oka vyjmuta, oko propláchnuto a případně podána doplňující farmaka. Celkový zákrok bývá většinou bezbolestný, může se objevit nepříjemné praskání v oku nebo píchnutí. Laserová iridotomie má nízké riziko vedlejších účinků a je jedním z bezpečných postupů ošetření, ale může být doprovázena i řadou komplikací jako je například krvácení z duhovky, občas se může objevit tzv. „svatozář“ neboli „halo efekt“ způsobený malým otvorem v duhovce nebo zvýšený oční tlak, který se objevuje především bezprostředně 30-60 minut po zákroku [25].



Obrázek 6: Laserová iridotomie [5]

### 2.4.3 Chirurgický zákrok

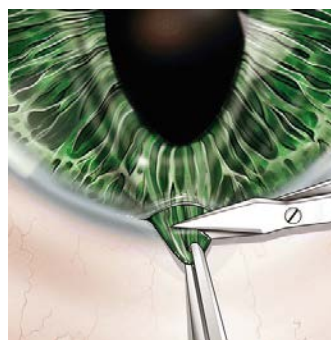
Pokud není farmakologická ani laserová terapie dostačující, lékař může zvolit chirurgické ošetření. To, jako v předchozích případech, pacientovi zrak nevrátí, ale může zabránit jeho dalšímu zhoršování a nemoc ustálit. V současné době existuje několik metod chirurgického ošetření, nejčastějším způsobem je trabekulektomie, implantáty nebo tzv. minimálně invazivní glaukomová chirurgie (Minimally invasive glaucoma surgery, MIGS). Zároveň jsou vyvíjeny další možné způsoby pro zlepšení celkového výsledku zákroku a prodloužení jeho účinku [15].

## Trabekulektomie

Stejně jako v předchozích případech, hlavním záměrem trabekulektomie je snížení nitroočního tlaku umožněním odtoku oční tekutiny z přední části oka do subkonjunktivální části. Subkonjunktivální část je odborně nazývaný prostor pod spojivkou, kde následně vznikne puchýřek naplněný tekutinou, která je poté odvedena krevními cévami. Během zákroku je ve stěně skléry (bělimy), na úroveň trabekulární síťoviny, vytvořen otvor, jinak řečeno „sklerální klapka“, která může mít různé tvary (trojúhelníku, čtverce, kruhu, ...), ale nejčastěji lichoběžníku o velikosti 5x5 a 4x3 mm a tloušťce přibližně 200-250  $\mu\text{m}$ . Vytváří se buď pomocí běžné jednorázové čepele nebo kalibrované diamantové lancety (viz Obr. č. 7). Klapka je překllopena a tři vrstvy tkáně pod ní jsou odstraněny nůžkami včetně skléro-rohovkové trabekulární síťoviny, a tak vznikne odtokový otvor. Alternativou je vytvoření otvoru „proražením“ pomocí speciálního nástroje po vytvoření sklerální klapky do hloubky 2 mm skrz rohovku. Následně je provedena iridektomie (odstranění části duhovky – viz Obr. č. 8). Poté chirurg zacelí otvor sklerální klapkou a upevní jedním nebo dvěma stehy, přičemž uzlíky musí být umístěny v tkáni. Po zákroku může do vnitřní klenby oka pomocí injekce aplikovat steroid-antibiotikum [26].



Obrázek 8: Trabekulektomie [6]



Obrázek 7: Iridektomie [7]

Součástí trabekulektomie bývá využití antimetabolitů (protinádorových cytostatik bránících syntéze DNA), nejčastěji MMC, které zabraňují postoperační buněčné proliferaci a jizvení tkáně. MMC je zředěn na koncentraci 0,02 mg/ml a aplikován pomocí speciální houbičky, která je umístěna na sklěru přibližně na 2 minuty. Během aplikace je nutné dodržovat preciznost a zamezit přímému kontaktu s limbem (hranice oka, kde přechází rohovka v neprůhlednou, pevnou sklěru), aby nedošlo k přerušení tvorby kmenových buněk. A zároveň nesmí dojít k úniku léku do přední komory oka, což by bylo toxické pro endotelové buňky. Další z podpůrných látek, které jsou během trabekulektomie využívány, je např. 5-fluorouracil (5-FU). Na rozdíl od MMC má ale kratší účinnost, a proto není tolik rozšířený.

Trabekulektomie je bohužel často doprovázena řadou komplikací, které lze rozdělit do tří skupin na intraoperační (během operace), postoperační s časným nástupem a postoperační s dlouhodobým nástupem. Během operace může dojít např. k prasknutí spojivky nebo tzv. sklerální „kapsy“, vytvořené během operace, což způsobí postoperační hypotonii spojenou se zánětem. Hypotonie je opakem hypertonie, která bývá nejčastějším důvodem vzniku glaukomu, a stejně jako existuje horní limit pro nitrooční tlak, tak je nutné držet se nad hranicí spodního limitu, který je přibližně 5 mm Hg, pokud dojde k přílišnému snížení, nazýváme tento stav hypotonie. Dále může během operace dojít ke krvácení, jež způsobí postoperační hypotonii.

Časnou postoperační komplikací může být nadměrný únik tekutiny z oční klenby, čemuž lze zabránit aplikací kontaktních čoček s velkým průměrem s inkorporací antibiotik. Další komplikací způsobující hypotonii může být nadměrná filtrace způsobená použitím antimetabolitů. Nejčastější komplikací v dlouhodobém horizontu je tzv. endoftalmitida, což je zánět, který bývá způsobený aplikací antimetabolitů jejichž vlivem dochází ke ztenčení stěn „blebu“ (kapsa. vytvořená naplněním nitrooční tekutinou) jež zvyšuje riziko vzniku infekce [26].

## **2.4.4 Inovativní metody léčby**

Postupy zmíněné v předchozích kapitolách jsou v praxi běžně používané a lékaři osvědčené. To ale neznamená, že jsou spolehlivé a bez komplikací, a proto byly vynalezeny a stále se vyvíjejí různé inovativní metody snižující rizika spojená s operací i postoperačními komplikacemi. Mohou to být např. drenážní implantáty, které nejsou takovou novinkou nebo různé stenty a implantáty využívané jak samostatně, tak i ve spojení se samotnou trabekulektomií, čímž zlepšují její účinnost.

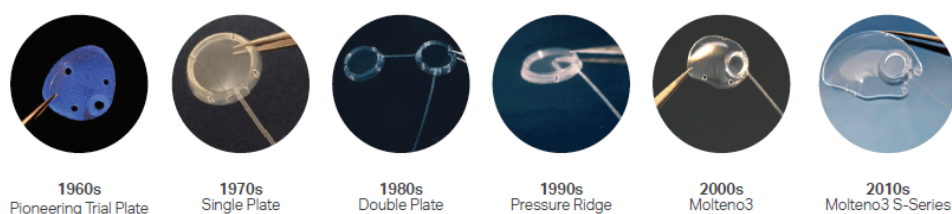
### **a) Drenážní implantáty**

Drenážní implantáty se využívají především v případech s vysokým rizikem selhání klasické filtrační trabekulektomie (např. neovaskulární nebo uveitický glaukom) nebo v případech, kdy klasická chirurgie již selhala. Jedním z prvních, kdo implantáty začal navrhnout byl Molteno a spol. v roce 1968. Drenážní implantáty mají za úkol odvádět nitrooční tekutinu pryč z přední komory do vnějšího prostoru, rezervoáru pod spojivkou, kde vytvoří jakousi kapsli, jež umožní regulaci odtoku. Tato kapsle vzniká většinou 4-6 týdnů po zákroku. Implantáty mohou být různých tvarů a velikostí a samozřejmě z různých materiálů a některé bývají doplněné o „únikový ventil“, který reguluje tok nitrooční tekutiny a s tím spojený i nitrooční tlak. U chirurgických zákroků často, s postupem času, dochází k jizvení operované tkáně a tím vzniká stejný problém jako na začátku, hromadění tekutiny vlivem špatného odtoku a vzrůstající IOP. Drenážní implantáty tento problém dokáží eliminovat [27].

### **Historie drenážních implantátů**

Poprvé byl v roce 1906 jako drenážní systém použit koňský vlas, který byl zaveden skrz rohovku pro odvod nahromaděného hnisu uvnitř oka. Další variaci drenáže v podobě hedvábné nitě představil Zorab o šest let později, v roce 1912 s následnou variací materiálů (zlato, tantal, platina). Bohužel se příliš nesetkaly s úspěchem, vzhledem k omezené regulaci odtoku přebytečné tekutiny a vzniku zánětlivých reakcí na cizí těleso.

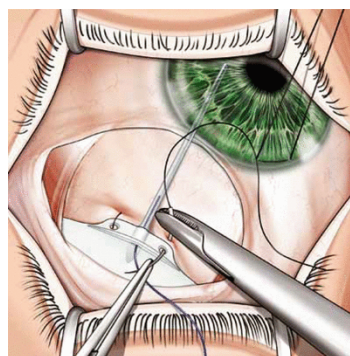
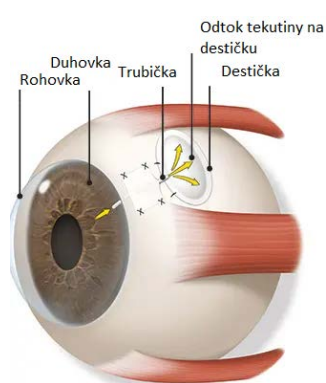
Drenáže v podobě trubiček byly podobně neúspěšné, kvůli brzké poruchovosti filtrace. Translimbální drenážní zařízení a zařízení umisťovaná do přední části oka měly tyto problémy eliminovat, ale bez velkých úspěchů. Poprvé se to podařilo až v roce 1969 (jiná literatura uvádí 1968) Moltenovi, který přišel na to, že u předchozích zařízení dochází k fibróze a následnému ucpání odtokového píštěle a problém vyřešil kombinací destičky a odtokové trubičky (viz Obr. č. 9). Tekutina je přivedena k destičce, která je určená k dlouhodobé průchodnosti. Po Moltenově implantátu byly vyvinuty ještě Krupinův, Baerveldtův, Ahmedův a implantát OptiMed. Nejčastěji používanými materiály pro výrobu drenážních implantátů typu destička-trubička bývají polypropylen a silikon [27][28].



Obrázek 9: Vývoj drenážních implantátů Molteno během desetiletí [8]

### Chirurgický postup při zavádění drenážních implantátů

Ve většině případů se implantát zavádí do přední komory oční (viz Obr. č. 10). Nejdříve musí chirurg vybrat vhodné místo (kvadrant) uvnitř oka pro umístění implantátu, tak aby došlo k co nejefektivnějšímu účinku a ke vzniku co nejméně pooperačních komplikací.

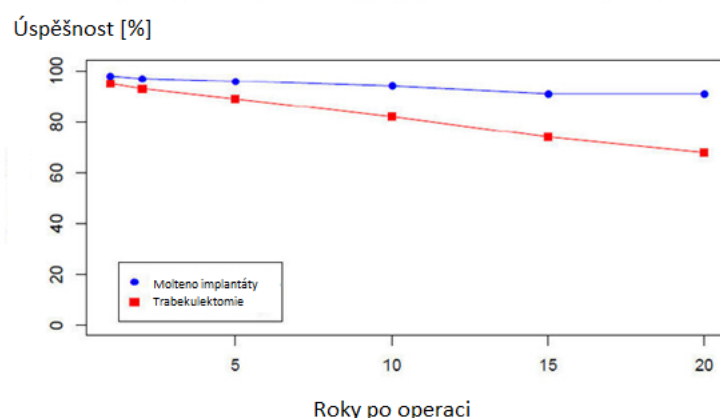


Obrázek 10: Umístění drenážního implantátu [9][7]

Chirurg nejprve odřízne spojivku kolem rohovky za vzniku kapsy, do které je následně vsunuta destička implantátu. Destička je skrz malé otvory připevněna permanentní, nevstřebatelnou nití z nylonu ke sklěře. Pomocí jehly je ve sklěře vytvořen otvor pro zavedení odtokové trubičky implantátu. Její délka uvnitř přední komory by měla být 2-3 mm, zbytek je odstříhnut. Pro snížení vzniku komplikací bývá ještě překryta tkáňovým štěpem z dárcovské skléry, tvrdé pleny mozkové (tkáň obklopující mozek), osrdečníku (tkáň obklopující srdce) nebo tkáň obklopující stehenní sval. Celý implantát je zafixován dalšími stehy skrz v něm vytvořené otvory a celá „kapsa“ je zašita [26].

### Komplikace drenážních implantátů

Komplikací spojených s implantací drenážních zařízení je podstatně méně než u samotné trabekulektomie. Může to být např. vytvoření trhlin během šití, vznik hypotonie, během níž dochází k úniku tekutiny z rány. Dále to mohou být např. komplikace vzniklé nepřesným umístěním odtokové trubičky, fibróza (zmnožení vaziva). A mezi méně časté komplikace se řadí např. migrace či vypuzení destičky implantátu nebo diplopie (dvojité vidění). Obrázek č. 11 zobrazuje úspěšnost Moltenových implantátů v porovnání s klasickou trabekulektomií [26][29].



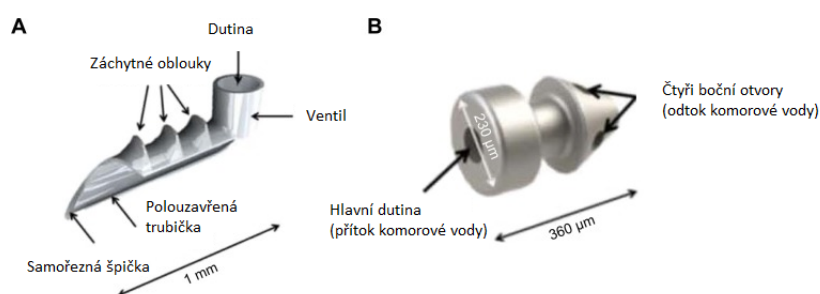
Obrázek 11: Úspěšnost Molteno implantátu v dlouhodobém horizontu v porovnání s trabekulektomií [10]

## b) MIGS (Micro-Invasive Glaucoma Surgery)

Pro MIGS neboli mikroinvazivní chirurgii glaukomu neexistuje přesná definice, nicméně může být charakterizována například jako implantace chirurgického zařízení určeného ke snížení nitroočního tlaku pomocí odtokového mechanismu buď přístupem ab interno (vnitřně) nebo ab externo (zvnějšku), spojená s velmi malou nebo žádnou sklerální disekcí (naříznutí skléry). Dále je možné MIGS definovat pěti preferovanými body, které by během zákroku měly být dodrženy jimiž jsou: přístup ab interno prostřednictvím čistého řezu rohovky, který šetří spojivku od řezu, minimálně traumatický postup do cílové tkáně, snížení IOP, vysoký bezpečnostní profil zabráňující závažným komplikacím ve srovnání s jinými operacemi glaukomu a rychlé zotavení s minimálním dopadem na kvalitu života pacienta. MIGS je, stejně jako u předchozích metod léčby, určena k dosažení nižšího IOP s kratší dobou chirurgického výkonu a v ideálním případě s následně menším množstvím doplňujících postoperačních léčiv. Všechna zařízení fungují tak, že zvyšují odtok komorové vody z přední komory, a to buď přímým vstupem do Schlemmova kanálu (iStent®, iStent ® inject, Hydrus) nebo posunem komorové vody do suprachoroidálního prostoru (CyPass ® , iStent ® Supra ) nebo subkonjunktiválního prostoru (XEN Gel Stent) [30].

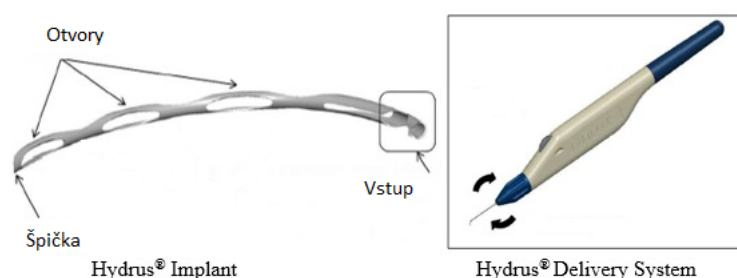
### ⇒ Implantáty s přímým vstupem do Schlemmova kanálu

iStent vyráběný firmou Glaukos Inc. spojuje přední komoru se Schlemmovým kanálem. Je vyroben z nemagnetického titanu potaženého heparinem o velikosti  $1 \times 0,3$  mm a je aplikován pomocí zavaděče. Může být ve formě klasického iStentu (viz Obr. č. 12a) nebo injekčního iStentu (viz Obr. č. 12b). iStent se většinou používá při kombinované léčbě glaukomu a katarakty (šedého zákalu). Operace pomocí iStentu nebývá doprovázena žádnými vážnými komplikacemi vyjma špatně umístěného implantátu, případně drobných nežádoucích účinků, které lze ošetřit laserem.



Obrázek 12: a) První generace iStentu; b) Injekční iStent [11]

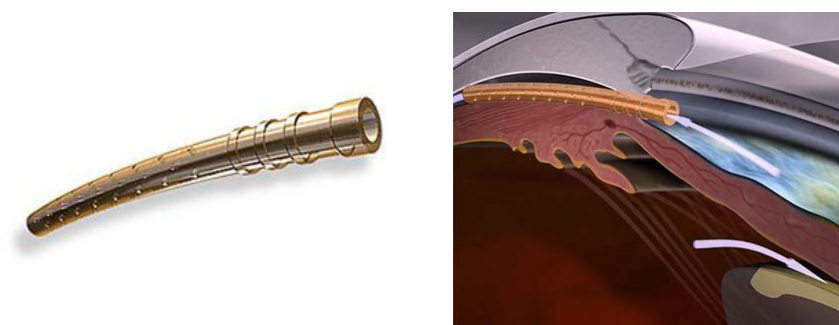
Hydrus® mikro-stent je tzv. intrakanalikulární scaffold dlouhý 8 mm, mírně tvarovaný (viz Obr. č. 13), který je implantován do Schlemmova kanálu, jež rozšiřuje a umožňuje tak komorové vodě obejít trabekulární síťovinu více sběrnými kanálky. Je vyroben z flexibilního nitinolu. Aplikuje se do nosní hemisféry nebo do dolního spánkového kvadrantu prostřednictvím řezu rohovky (1–1,5 mm). Zkosený hrot injektoru slouží ke snadnému proniknutí trabekulární síťovinou a k umístění mikrostentu do Schlemmova kanálu otáčením postupového mechanismu. Vedlejším účinkem může být např. periferní přední synechie (srůst duhovky k zařízení nebo komorovému úhlu v bezprostřední blízkosti stentu) [30].



Obrázek 13: Hydrus ® mikro-stent a aplikátor [12]

#### ⇒ Implantáty pro suprachoroidální prostor

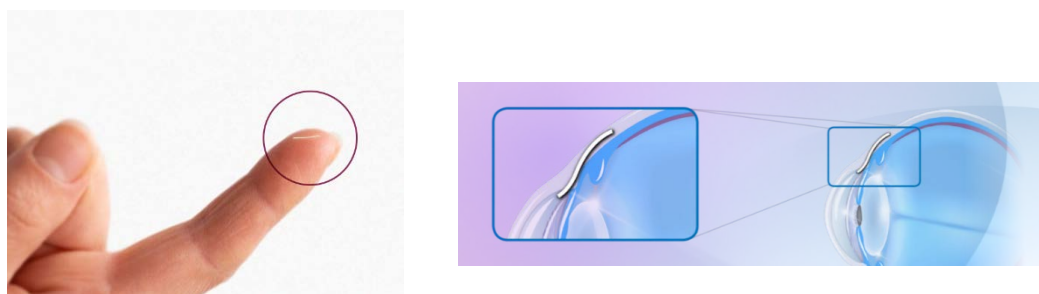
CyPass® je fenestrovaný (proděravěný) polyimidový mikro-stent o délce 6,35 mm se speciálním hrotem oddělujícím duhovku od sklerální ostruhy, který se zavádí prostřednictvím řezu rohovkou, na malém vodícím drátu (viz. Obr. č. 14). Je doprovázen dvěma nejčastějšími komplikacemi, a to časnou hypotonií, která přibližně do měsíce odezní a zvýšeným IOP způsobeným zneprůchodněním implantátu [30][31].



Obrázek 14: CyPass® mikro-stent [13][14]

### ⇒ **Implantáty pro subkonjunktivální prostor**

XEN Gel Stent je vyroben z vepřové želatiny pocházející z kolagenu zesítné glutaraldehydem ve tvaru trubičky o délce přibližně 6 mm (= průměrná délka oční řasy) a průměru 45  $\mu\text{m}$  nebo více (viz Obr.č.15). Používá se především pro léčbu glaukomu s otevřeným úhlem, pro glaukom s uzavřeným úhlem se nedoporučuje vzhledem k postavení rohovky a duhovky, kde drenážní úhel je příliš malý. Zařízení se zavádí pomocí zavaděče do subkonjunktiválního prostoru přímo proti řezu, takže nedochází k narušení spojivkové a subkonjunktivální tkáně. Vznikne „píštěl“ a tzv. „bleb“, do kterého poté odtéká přebytečná tekutina a vzhledem k tomu, že je toto místo velkým rizikem pro tvorbu jizev, doporučuje se zákrok podpořit přidáním antimetabolit (MMC) [30].



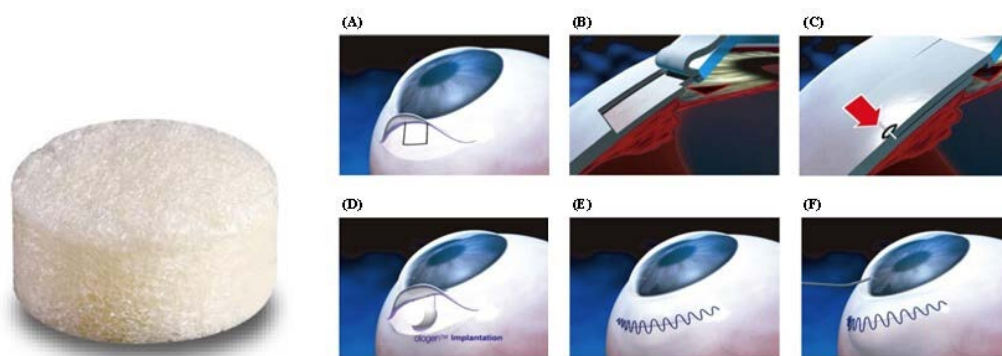
*Obrázek 15: XEN Gel Stent a jeho umístění v oku [15]*

### c) Novodobé druhy implantátů

Exponenciální vývoj technologií a materiálů je obecně přínosný pro mnoho odvětví, zdravotnictví nevyjímaje. Současný trend co nejvíce napodobit přírodní materiály se rozšířil napříč obory a zejména tkáňové inženýrství je jedním z hlavních uživatelů. Jedná se jak o vývoj materiálů s obsahem běžně se v organismu vyskytujících látek jako kolagen, kyselina hyaluronová, aj. Tak i progres v technologiích nezůstává pozadu, a je snaha co nejpřesněji napodobit různé struktury lidského organismu (kosti, chrupavky, tkáně, ...). Pro léčbu glaukomu je v současné době několik možností, které by mohly efektivně nahradit či podpořit chirurgický zákrok (trabekulektomii) a omezit tak rizika a následky. Jedním z nich je např. implantát s obchodním názvem OloGen<sup>TM</sup>, či implantát v podobě náplasti z expandovaného teflonu. Velkým trendem je aktuálně výzkum a vývoj nanotechnologií a nanomateriálů. Mohou to být nanovláknenné vrstvy či vrstvy s obsahem mikro– až nano– částic nebo samostatné částice s obsahem léčivých látek. Obecně se tyto komplexy nazývají systémy s řízeným uvolňováním léčiv (Drug delivery systems, DDS) a využití nacházejí právě v medicíně. Jejich výhodou je malá velikost s velkým měrným povrchem a díky tomu je možné je „vkládat“ na přesná místa určení, kde působí rychle a účinně. Nedochozí tak ke ztrátě efektu vlivem průchodu trávicí soustavou a účinná látka může být ve vyšších koncentracích.

#### **OloGen<sup>TM</sup>**

Jedním z novodobých implantátů je OloGen<sup>TM</sup>. V předchozích kapitolách již bylo zmíněno, že jednou z hlavních komplikací doprovázející trabekulektomii je zarůstání tkáně a tvorba jizev čemuž by mělo napomáhat použití antimetabolitů. V předchozí kapitole bylo vyjmenováno několik komplikací spojených s jejich použitím jako je hypotonie, únik tekutiny z tzv. „blebu“ nebo infekce. Proto se současná medicína zabývá vývojem různých druhů implantátů z biokompatibilních materiálů, dobře se přizpůsobujících lidskému organismu, které snižují nebo úplně eliminují rizika a komplikace spojená s chirurgickým zákrokem. OloGen je biodegradabilní, porézní matrice vyrobená z více jak 90 % vepřového kolagenu a méně jak 10 % glykosaminoglykanu s póry o velikosti 10-300  $\mu\text{m}$  a různých rozměrech (nejčastěji 4x7 mm) (viz Obr. č. 16).



Obrázek 16: OloGen a jeho aplikace [16][17]

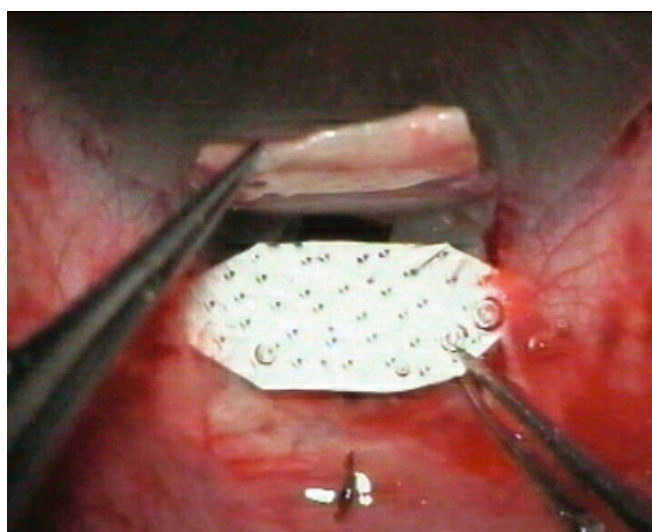
Implantát má za úkol umožnit správnou modelaci nově vznikající tkáně, aby nedocházelo k tvorbě jizev, a díky své porézní struktuře usnadňuje růst fibroblastů. Zároveň slouží jako bariéra mezi „blebem“ a podspojivkovou tkání. Lze jej použít v kombinaci s antimetabolity v nízké dávce nebo je jím úplně nahradit [32][33].

Většina studií naznačuje podobnou účinnost OloGenu v porovnání s klasickou trabekulektomií s MMC, některé se přiklánějí verzi s OloGenem vzhledem k jeho nízké toxicitě, jiné považují léčbu s MMC za efektivnější, co se týče zarůstání tkáně. V jedné studii byl použit OloGen typu II, který obsahuje místo kolagenu atelokolagen, jež má velmi nízkou imunogenicitu. Atelokolagen se používá k nejrůznějším účelům, včetně hojení ran, v podobě intradermální injekce v plastické chirurgii a také jako náhražka kostní chrupavky. Z dlouhodobého hlediska zatím nejsou známy dostatečné výsledky jeho použití nicméně daná studie ukázala, že jeho použití je bezpečnou a výkonnou metodou [34].

### **ePTFE implantát**

Expandovaný polytetrafluorethylen (ePTFE) je vysoce stabilní polymer tetrafluorethylenu, který byl patentován společností GORE®. Je biokompatibilní, biologicky stabilní a celkově vysoce snášenlivý a díky tomu se dobře přizpůsobuje mnoha tkáním a současně byl schválen pro použití v mnoha biomedicínských implantátech jako jsou vaskulární štěpy, bypassové štěpy, kýlové membrány a stehy. Díky svému poréznímu povrchu, složenému z uzlů a fibril, je vhodný k buněčné integraci nebo jí zabraňuje [35].

Implantát z ePTFE určený pro operaci glaukomu může být např. v podobě perforované náplasti (viz Obr. č.17), která se vloží do předem vytvořeného sklerálního lůžka a připevní se jedním stehem pro zabránění dislokace. Zároveň je skrz otvory vytvořené mikrocirgickými kleštěmi filtrovaná přebytečná tekutina, aby se zabránilo předčasnému ucpání touto membránou. Membrána z ePTFE v tomto případě slouží jako bariéra před vznikem srůstů a jizev. Sklerální chlopeň je následně uzavřena dalšími stehy a celková léčba bývá dále doprovázena různými farmaky [36].

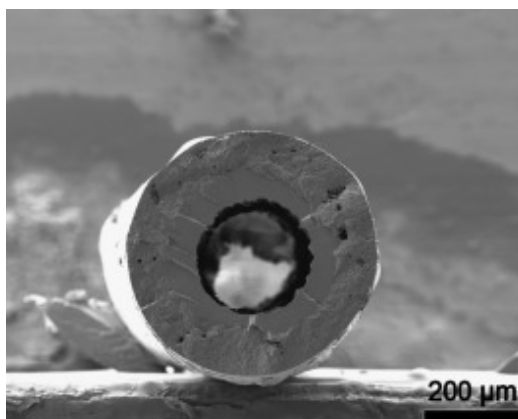


*Obrázek 17: 17 Expandovaný membránový implantát z polytetrafluorethylenu (ePTFE) [18]*

### **Multifunkční dvouvrstvý mikrostant jako drenážní zařízení pro glaukom**

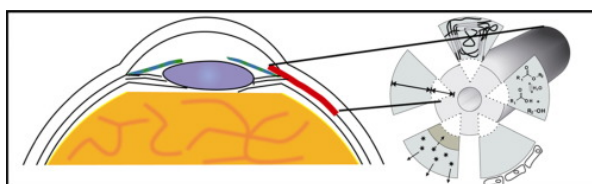
Další z inovativních řešení je tzv. mikrostant, který byl vyvinut na základě poznatků o předchozích implantátech a jejich nevýhodách (jizvení, nedostatečná biokompatibilita z dlouhodobého hlediska, poškození spojivky zařízením).

Implantát je tubulární struktury s malým průměrem otvorů (40–70  $\mu\text{m}$ ) pro ideální odvod nitrooční tekutiny (viz Obr. č. 18) vyráběný extrudací. Výhodou extrudace je nepřítomnost rozpouštědel, které mohou být dalším negativním faktorem při jejich nedokonalém odstranění. A také možnost tvorby malých průměrů v mikro – měřítku. Je obohacen o schopnost řízeného uvolňování léčiv na základě dvouvrstvého uspořádání, kde vnitřní vrstvu tvoří polymer  $\epsilon$ -polykaprolaktonu (PCL) a vnější kopolymer  $\epsilon$  – kaprolaktonu a glykolidu (PCG). Léčivá látka by měla být umístěna na povrchu stentu pro více rovnoměrné, postupné uvolňování bez vzniku velkého množství agregátů.



*Obrázek 18: Dvouvrstvý mikrostent ze směsi PCG/PCL [19]*

Takto vyrobený stent by měl být umístěný do suprachoroidálního prostoru v oblasti na obvodu zadní části oka (viz Obr. č. 19) [37].



*Obrázek 19: Umístění mikrostentu v suprachoroidální oblasti [19]*

## 2.5 Vlastní postup

Na základě předchozích zkušeností byl zvolen postup modifikace nanovlákněné vrstvy s inkorporací částic s obsahem léčivého přípravku MMC. Nanomateriály jako takové, jsou v současné době hojně využívaným médiem pro tkáňové inženýrství obecně. Základní know-how spočívá v tom, že průměr vláken v nanometrech je pro buňky velice přívětivý, co se týče jejich adheze a proliferace a tkáň tak snadněji regenerují bez větších komplikací a následků jako jsou jizvy, nechtěné srůsty aj. V kombinaci s biodegradabilními materiály, jako jsou např. alifatické polyestery, a samozřejmě s dostatečnou biokompatibilitou je takto vytvořený scaffold ideálním pro začlenění do lidského organismu.

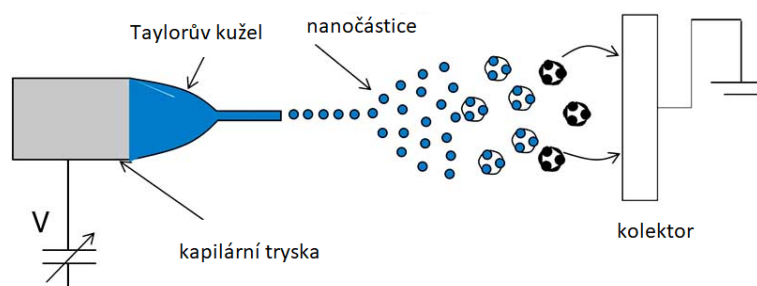
Implantáty zmíněné v předchozích kapitolách jsou pro léčbu glaukomu spojeného s chirurgickým zákrokem aktuálně asi nejméně traumatické a s menším počtem komplikací, nicméně každý organismus reaguje jinak, a to hlavně ve spojení s cizím tělesem začleněným v lidském těle. Materiál vkládaný do tak citlivého místa jako je oko, by měl být především biokompatibilní, netoxický, nekarcinogenní, sterilizovatelný, ale také dostatečně mechanicky odolný pro manipulaci. Co se týče biodegradability, nosný materiál by měl být odolný a inkorporované látky, jej obohacující, by měly být rozložitelné v takovém časovém horizontu, aby bylo zabezpečeno jejich postupné uvolňování.

Vyvíjený implantát by se tedy měl skládat z nanovlákněné nedegradabilní vrstvy, např. z polyvinylidenfluoridu (PVDF), s nánosem biodegradabilních částic vytvořených např. metodou elektrického rozprašování. Částice by v sobě nesly inkorporovaný MMC, jako podpůrnou látku. Celý systém by pak byl vkládán do otvoru (kapsy), vytvořeného během trabekulektomie. Zde by sloužil jednak k blokaci tvorby jizev a srůstů tkáň, a pak jako nosič antimetabolitů v podobě částic s postupným uvolňováním.

Elektrospraying je v tomto případě ideální volbou co se týče tvorby kapslí s inkorporací léčivého přípravku nebo antimetabolitů pro glaukom. Pomocí elektrosprayingu a vhodně zvoleného materiálu lze vyrobit sférické částice v mikro – nano měřítku podobných rozměrů. Začlenění léčiva může být např. pomocí koaxiálního sprayingu nebo jednodušším způsobem – směsováním.

### 3 Elektrospraying

Elektrospraying nebo také elektrické rozprašování je proces během něhož dochází k atomizaci kapalin působením elektrických sil. Kapka polymerního roztoku vycházející z kapilární trysky vytvoří na hraně tzv. Taylorův kužel (viz. Obr. č. 20), který se vlivem těchto sil protahuje až vznikne jemný paprsek, který se dále rozprašuje na jemné kapičky. Takto získané kapičky jsou elektricky nabité. Průměr a potenciál kapiláry určují velikost částic, která v kombinaci s vhodně zvoleným materiálem a viskozitou může disponovat relativně úzkou distribucí.



Obrázek 20: Schéma technologie elektrosprayingu a tvorby nanočástic [20]

Elektrospraying je vhodnou technologií pro výrobu nanočástic, a pro vytváření funkční vrstvy s vlastnostmi odvíjejícími se od velikosti, tvaru a procesu jejich rozprašování. Tato metoda se odvíjí od technologie elektrického zvlákňování, pro které se používají polymerní roztoky o vyšší koncentraci, molární hmotnosti a viskozitě, čímž nedochází k rozpadu na kapky, ale k tvorbě vláken [38].

Obecně elektrické rozprašování ovlivňuje během celého procesu mnoho faktorů jako například vlastnosti zpracovávaného roztoku (druh polymeru, viskozita, obsah podpůrných látek (drug delivery systems), podmínky rozprašování (vzdálenost elektrod, elektrické napětí, zdroj napětí (DC, AC), průměr zvlákňovací elektrody, ...) nebo klimatické podmínky (relativní vlhkost vzduchu, teplota) [39].

#### 3.1 Fyzikální principy elektrosprayingu

Elektrospraying je velice komplikovaný děj prostoupený několika různými fyzikálními jevy, které se navzájem prolínají. Velkou roli hraje samozřejmě elektrické pole a elektrické síly, dále kapilární síly, povrchové napětí, elektro-hydrodynamická nestabilita a další.

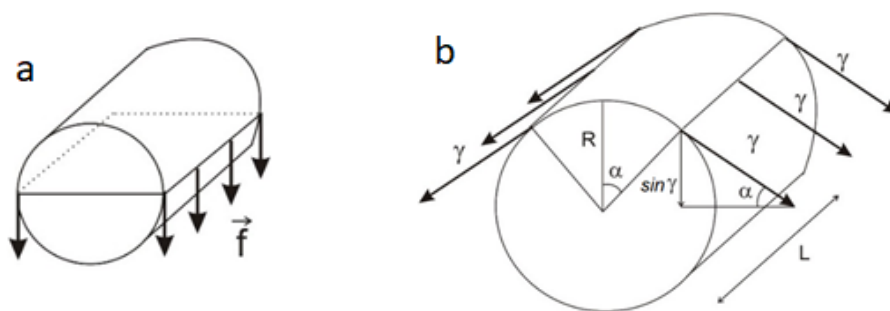
### 3.1.1 Laplace-Youngova rovnice

Jedním ze zásadních principů elektrosprayingu je tendence kapalin snižovat své povrchové napětí na minimum a tvarovat se do sférických tvarů. Povrchové napětí si lze představit jako sílu  $dF$  působící kolmo na jednotkovou délku  $dl$  myšleného řezu povrchem, která leží v tečné rovině k povrchu v daném bodě (1) (viz Obr. č. 21a).

$$\gamma = \frac{dF}{dl} \quad (1)$$

Sférický tvar nebo tvar koule minimalizuje nutné „napnutí stěny“ povrchové vrstvy podle Laplaceova zákona [40]. Laplaceův zákon vychází z Laplace-Youngovy rovnice (3), která popisuje vztah mezi povrchovým napětím, tlakem a střední křivostí povrchu. V důsledku zakřivení povrchu vzniká kapilární tlak. Zakřivenou plochu  $S$  si lze představit jako plášť válce o délce  $L$ , který ohraničují kruhové oblouky s úhlem  $d\alpha$ . Síla  $\vec{F} = 2\gamma L \sin(d\alpha)$  je důsledkem povrchového napětí a působí kolmo k ploše  $S$  podél okrajů (viz Obr. č. 21b). Rovnice pro výpočet kapilárního tlaku na povrchu válce pak bude mít tvar

$$p_c = \frac{2\gamma \, d\alpha \, L}{2R \, d\alpha \, L} = \frac{\gamma}{R} \quad (2)$$



Obrázek 21: Síly (a) vyvolané povrchovým napětím působící na povrchu válce (b) [21]

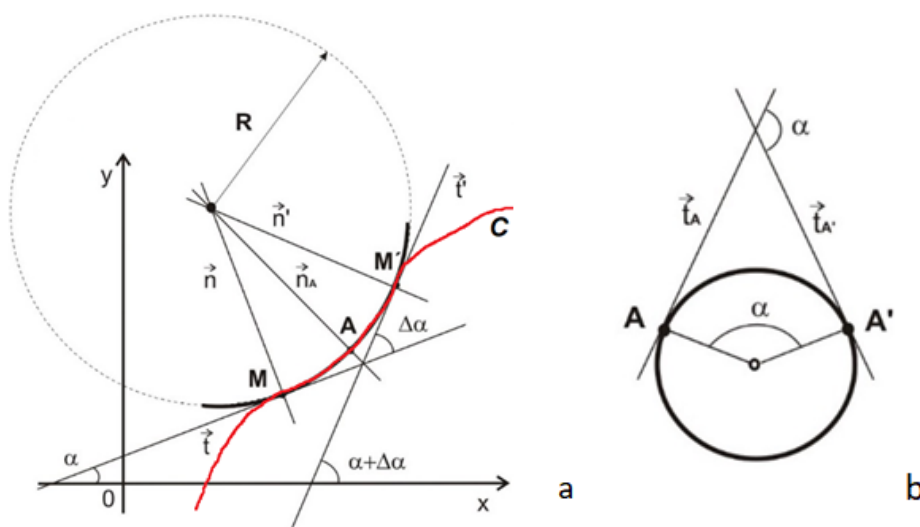
Pokud dojde působením vnějších sil k zakřivení povrchu kapaliny, je rozdíl tlaků  $\Delta p$  na konkávní a konvexní straně rozhraní funkcí tvaru fázového rozhraní (určeného dvěma hlavními poloměry křivosti  $R_1$  a  $R_2$ ) a povrchového napětí  $\gamma$ .

$$\Delta p = \gamma \left( \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad (3)$$

Střední křivost  $\kappa$  je průměrnou hodnotou hlavních křivosti,  $\kappa = \frac{k_1+k_2}{2}$  a Laplace-Youngovu rovnici lze vyjádřit zkráceným výrazem

$$\Delta p = 2\gamma\kappa \quad (4)$$

Křivosti křivek jsou reciproké hodnoty poloměrů odpovídajících oskulačních kružnic (viz. Obr. č. 22),  $k_1 = \frac{1}{R_1}$  a  $k_2 = \frac{1}{R_2}$ . Oskulační kružnici lze vykreslit následujícím způsobem. Zvolíme dva vzájemně blízké body M a M' a zkonstruujeme v nich normály k tečnám. Střed kružnice, která v limitě  $\varrho(MM') \rightarrow 0$ , vznikne průnikem přímek obsahujících tyto normály. Výslednou kružnici pak nazýváme oskulační. Její poloměr udává vzdálenost středu od bodu A [40].

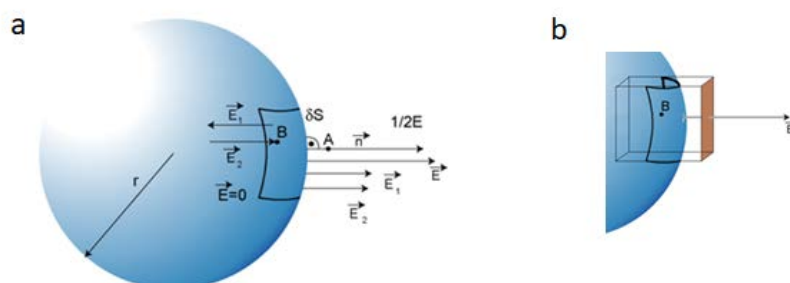


Obrázek 22: Oskulační kružnice obecné křivky C(a) a křivost kružnice (b) [21]

### 3.1.2 Rayleighova elektro-hydrodynamická nestabilita

Dalším z principů, který je součástí elektrosprayingu je elektro-hydrodynamická nestabilita, kterou poprvé popsal Lord Rayleigh v roce 1882 pomocí výpočtu pro stanovení mezního náboje. V tomto bodě se izolovaná elektricky nabitá kapka daného poloměru stane elektro-hydrodynamicky nestabilní. Navázal na něj Geoffrey Ingram Taylor, který v roce 1964 tuto nestabilitu zobecnil. Všiml si, že kapky v elektrickém poli tvoří kuželovitý tvar, z jehož vrcholu se kapalina přeměňuje v jakýsi oblak malých kapek. Původní Taylorův záměr uplatnění této teorie ale byl v oblasti meteorologie pro objasnění tvorby deště [41].

Je možné vycházet ze zjednodušené verze Rayleighovy teorie, která popisuje výpočet limitního elektrického náboje  $Q$  pro rozpad dokonale sférické kapky, jež získáme odvozením elektrického tlaku na povrchu nabitě vodivé kapaliny. Na povrchu je definována ploška  $dS$  velmi malých rozměrů a v těsné blízkosti povrchu této plošky se nachází dva body, jeden uvnitř ( $B$ ) a druhý vně ( $A$ ). Intenzitu elektrického pole  $\vec{E}_1$  generuje náboj umístěný na elementu povrchu kapky  $dS$ , zatímco intenzitu  $\vec{E}_2$  vytváří všechny další náboje v okolí vyjma toho na plošce  $dS$ . Celková intenzita elektrického pole  $\vec{E}$  v blízkosti povrchu kapky je součtem intenzit  $\vec{E}_1$  a  $\vec{E}_2$ . Schéma je vyobrazeno na Obr. č. 23a.



Obrázek 23: a) Schéma pro výpočet limitního elektrického náboje  $Q$  pro rozpad dokonale sférické kapky a působení intenzit; b) Schéma pro aplikaci Gaussovy věty elektrostatiky [21]

Pro intenzity pole v bodech  $A$  a  $B$  byly zavedeny následující vztahy

$$E(B) = E_2(B) - E_1(B) = 0 \quad (5)$$

$$E(A) = E_1(A) + E_2(A) \quad (6)$$

Vzhledem k tomu, že vzdálenost mezi body  $A$  a  $B$  je velmi malá, budou absolutní hodnoty  $E_1$  v těchto bodech totožné. Stejně platí i pro hodnoty  $E_2$ . Orientace vektoru  $\vec{E}_1$  vně a uvnitř kapky bude opačná, jelikož jak bylo zmíněno výše, intenzitu vytváří povrchový náboj dané plošky, a to se projeví změnou znaménka  $E_1$  v předchozích rovnicích (5) a (6). Intenzita  $E_2$ , kterou tvoří náboje ve zbytku kapalného tělesa, po průchodu jeho povrchem, svou orientaci nezmění. Z čehož byl odvozen vzorec

$$E_1 = E_2 = \frac{1}{2} E \quad (7)$$

Obr. č. 22b znázorňuje aplikaci Gaussovy věty elektrostatiky, kde je elementární plocha obklopena tělesem ve tvaru kvádru, z čehož vznikne vztah

$$E ds = \frac{\sigma ds}{\varepsilon} \quad (8)$$

Gaussův zákon popisuje množství toku  $\Phi$  celkové elektrické intenzity  $E$  skrze uzavřenou plochu  $S$ , což se rovná podílu náboje  $Q$  a permitivity vakua  $\varepsilon_0$  [40].

$$\Phi = \oint_S \vec{E} \cdot d\vec{S} = \frac{Q}{\varepsilon_0} \quad (9)$$

Dále se předpokládá, že vodivé kapalinové těleso má tvar dokonalé koule o poloměru  $r$  s rovnoměrně elektricky nabitým povrchem o povrchové hustotě náboje  $\sigma$ . Z předchozích vztahů plyne

$$E 4\pi r^2 = \frac{Q}{\varepsilon} \quad (10)$$

kde  $Q$  je celkový náboj na ploše koule. Z rovnice (8) následně vyplývá

$$E = \frac{Q}{4\pi\varepsilon r^2} \quad (11)$$

#### a) Elektrický tlak

Elektrický tlak  $p_e$  hraje také velmi důležitou roli při tvorbě elektricky sprejovaných částic. Vyjadřuje se jako síla působící na jednotkovou plochu  $ds$  povrchu sférické kapky dle obecného vzorce

$$p_e = \frac{dF}{ds} \quad (12)$$

kde síla  $dF$  je dána součinem velikosti náboje  $\sigma ds$  na plošce  $dS$  a příspěvku k celkové intenzitě  $E_2$ , tj.  $\sigma ds \cdot E_2$ . V porovnání s Gaussovou větou elektrostatiky je uvažována pouze intenzita pole generovaného náboji mimo tuto plošku a jelikož je velice malá, náboj na ní umístěný se chová jako bodový náboj, který sám na sebe elektricky nepůsobí. Potom platí

$$p_e = \frac{\sigma ds E_2}{ds} \quad (13)$$

K rozpadu kapek sférického tvaru je zapotřebí podmínky  $p_e \geq p_c$ , kde  $p_c = 2\gamma/r$  je kapilární tlak ve sférické kapičce získaný podílem povrchového napětí  $\gamma$  na rozhraní kapalina-plyn.

Z Tylorovy i Rayleighovy teorie ale vyplývá, že i u mnohem nižších hodnot celkového náboje volných elektricky nabitých kapek dochází k elektro-hydrodynamické nestabilitě, a to právě z důvodu jejich přeměny do sférických tvarů vlivem elektrických sil. Nabité sféroidy jsou dokonce vždy nestabilní, a až při vymizení náboje na nich, dochází k jejich rozpadu [41].

#### b) Elektrický náboj

Elektrický náboj uvnitř kapičky generuje elektrostatickou sílu, známou jako Coulombova síla, která soupeří s kohezní (soudržnou) silou kapky. Tento jev začíná v oblasti Taylorova kužele a v momentě, kdy aplikovaná Coulombova síla překoná kohezní sílu kapičky, vycházející z povrchového napětí, kapka se rozpadne na menší mikro– až nano– kapičky. Lord Rayleigh stanovil limit onoho jevu rovnicí

$$L_R = q(64\pi^2\epsilon\gamma R^3) \quad (15)$$

kde  $q$  je velikost náboje,  $\epsilon$  je permitivita okolního prostředí,  $\gamma$  povrchové napětí kapaliny a  $R$  poloměr kapky. Pro maximální náboj kapičky je dána rovnice [42].

$$q = 8\pi\sqrt{\epsilon_0\gamma R^3} \quad (16)$$

### 3.1.3 Kritická koncentrace

Aby polymerní roztok tvořil kapky, ale ne vlákna, je zapotřebí snížit koncentraci (viskozitu) daného roztoku, která klesá se snižující se molekulovou hmotností. Specifická viskozita roztoku polymeru se stanoví jako poměr

$$\eta_{sp} = \frac{\eta_0 - \eta_s}{\eta_s} \quad (17)$$

kde  $\eta_0$  je viskozita nulové smykové rychlosti roztoku polymeru při koncentraci  $c$  a  $\eta_s$  je viskozita rozpouštědla. Z této rovnice se vnitřní viskozita  $[\eta]$  polymeru stanoví jako lineární extrapolace specifické viskozity  $\eta_{sp}$  měřené pro různé koncentrace  $c$  až je koncentrace  $c = 0$ .

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \frac{\eta_{sp}}{c} \quad (18)$$

Vnitřní viskozita  $[\eta]$  také souvisí s molekulovou hmotností  $M_w$  lineárního polymeru podle Mark – Houwinkovy rovnice

$$[\eta] = KM_w^\alpha \quad (19)$$

kde konstanty  $K$  a  $\alpha$  jsou závislé na typu polymeru, rozpouštědla a teplotě [39].

Kritická koncentrace  $c_{OV}$  polymerního roztoku určuje, zda bude daný roztok produkovat vlákna nebo částice. Udává bod, kdy se makromolekuly začínají proplétat a tvořit vlákna. Každý polymer má svou vlastní kritickou koncentraci, např. pro kyselinu polymléčnou (PLA) byla laboratorně, během experimentu, určená kritická koncentrace 4 %. Výsledkem nižší koncentrace jsou méně zapletené makromolekulární řetězce, které se těžko formují ve vlákna a vytvářejí spíše sférické útvary. Pro výrobu vláken musí překročit prahový poměr celkové koncentrace ku kritické vyjádřeno  $c/c_{OV}$  [43].

## 4 Použité polymery a jiné látky

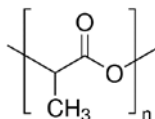
Tato kapitola se zabývá teoretickým popisem polymerů a dalších látek použitých v rámci experimentu. Zaměřuje se především na jejich vlastnosti, výrobu a případné využití.

### 4.1 Alifatické polyestery

Alifatické polyestery jsou jedny z nejdůležitějších biologicky odbouratelných polymerů. Značná část těchto polymerů má výborné biokompatibilní vlastnosti a je biologicky rozložitelná. Řadí se mezi ně např. kyselina polymléčná (PLA), kyselina polyglykolová (PGA), poly- $\epsilon$ -kaprolakton (PCL), polyhydroxybutyrát (PHB), aj. PHB a PLA jsou z nich nejrozšířenější a vynikají relativně vysokou teplotou tání ( $T_m = 160\text{--}180\text{ }^\circ\text{C}$ ) [44].

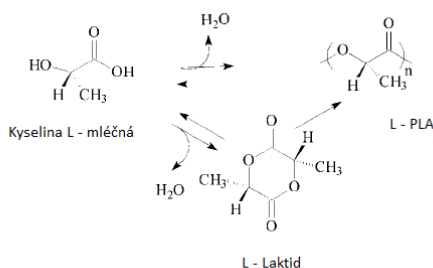
#### 4.1.1 Kyselina polymléčná/ Polylaktid (PLA)

Kyselina polymléčná (PLA) je termoplast a řadí se mezi alifatické polyestery (Obr. č. 24). Je to vysoce všestranný, biodegradabilní (12-36 měsíců) polymer vyráběný z obnovitelných zdrojů jako je kukuřice nebo cukrová řepa. Teplota zesklnění se pohybuje kolem  $T_g = 60\text{--}65\text{ }^\circ\text{C}$  a teplota tání  $T_m = 173\text{--}178\text{ }^\circ\text{C}$ .



Obrázek 24: Kyselina polymléčná (PLA) –  
strukturní vzorec

PLA lze vyrobit buď přímou kondenzací kyseliny mléčné ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ ), nebo polymerací za otevření kruhu cyklického laktidového dimeru (viz. Obr. č. 25).



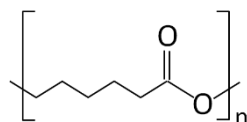
Obrázek 25: Výroba PLA polymerací za otevření kruhu  
cyklického laktidového dimeru [22]

Vzhledem k tomu, že přímá kondenzace je rovnovážná reakce, naskytá se problém s odstraněním stopového množství vody v pozdějších procesech polymerace, a to omezuje možnou dosažitelnou molekulární hmotnost finálního výrobku. Podle chiralidy, kterou se označuje asymetrie prostorového uspořádání rozložení molekul se rozlišují tři různé formy kyseliny polymléčné – PLLA, PDLA a PDLLA. Stereochemické složení polymeru má velký vliv na teplotu tání, rychlost krystalizace a její rozsah.

Pro většinu aplikací je volena PLLA, jelikož je přednostně metabolizována v těle. Je vhodný pro výrobu stentů a implantátů, které si musejí po delší dobu uchovat své mechanické vlastnosti. PLLA a PDLA mají víceméně podobné vlastnosti. Jsou izotaktické (mají pravidelně uspořádané makromolekuly) tudíž jsou krystalické až semikrystalické a vynikají vysokou mechanickou pevností a pomalou degradací. Jejich kopolymerací lze vyrobit PDLLA, jejíž struktura je spíše ataktická (nahodilé uspořádání makromolekul), tedy polymer je spíše amorfni, pružný s rychlou degradací. Využití nachází např. jako šicí chirurgické nitě, dámská hygiena, jednoúčelové oděvy, aj. [45][46].

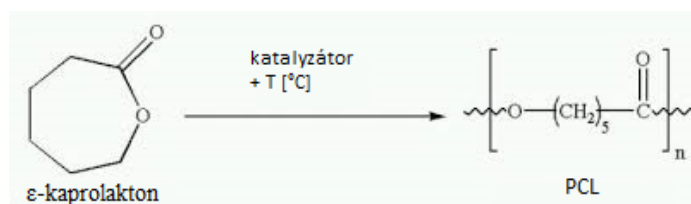
#### 4.1.2 Polykaprolakton (PCL)

Polykaprolakton je další z řady alifatických, biologicky rozložitelných polyesterů (Obr. č. 26). Celková degradabilita PCL se pohybuje mezi 2-4 lety v závislosti na výchozí molekulové hmotnosti zařízení nebo druhu implantátu. Literatura uvádí, že nízkomolekulární prášky PCL ( $M_w = 3000 \text{ g/mol}$ ;  $d = 53\text{--}500 \text{ nm}$ ) degradují uvnitř fagozomů, makrofágů a obřích buněk podstatně rychleji, a to do 13 dnů [48]. PCL degraduje za pomoci hydrolýzy esterových vazeb ve fyziologickém prostředí (př. lidské tělo).



Obrázek 26: Polykaprolakton (PCL) – strukturní vzorec

Vyznačuje se nízkou teplotou tání  $T_m = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$  a teplotou skelného přechodu  $T_g = -60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vyrábí se polymerací cyklického  $\epsilon$ -kaprolaktonu za použití různých aniontových, kationtových a koordinačních katalyzátorů (viz. Obr. č.27) [49]. Nebo polymerací za otevření kruhu 2-methylen-1-3-dioxepanu prostřednictvím volných radikálů. PCL je hydrofobní, semikrystalický polymer; jehož krystalinita má tendenci klesat se zvyšující se molekulovou hmotností. Je vhodný pro řízené dodávání léčiv díky vysoké propustnosti pro mnoho léčiv, vynikající biokompatibilitě a jeho schopnosti být po biologické resorpci plně vyloučen z těla. Rychlost uvolňování léčiva z PCL závisí na typu provedení, způsobu přípravy, obsahu PCL, velikosti a procentu léčiva obsaženého v mikrokapslích [47][48][49].

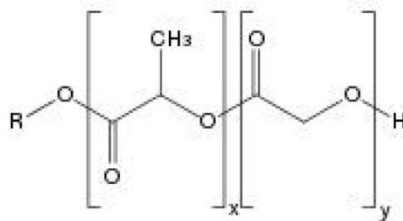


Obrázek 27: Výroba PCL polymerací za otevření kruhu cyklického  $\epsilon$ -kaprolaktonu [23]

#### 4.1.3 Kopolymer kyseliny mléčné a kyseliny glykolové (PLGA)

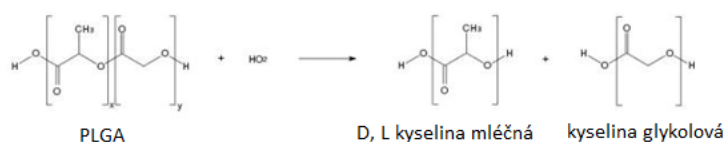
Polyester PLGA je složen z kyseliny polymléčné (PLA) a kyseliny polyglykolové (PGA) (viz Obr. č. 28). Je to nejlépe popsáný biomateriál užívaný pro systémy s řízeným uvolňováním léčiv s ohledem na design a výkon. PLGA je biokompatibilní a biologicky odbouratelný, vykazuje širokou škálu časů rozpadu, má nastavitelné mechanické vlastnosti. Teplota skelného přechodu  $T_g = 40\text{--}60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Molekulová hmotnost závisí na složení.

Jak bylo zmíněno v předchozí kapitole, kyselina polymléčná se vyznačuje stereochemickou asymetrií a podle uspořádání  $\alpha$ -uhlíku je označována buď L (PLLA) nebo D (PDLA). Pro kopolymer PLGA ale platí, že formy L i D jsou v tomto případě ve stejném poměru. Vlastnosti kopolymeru se odvíjí od vlastností jednotlivých složek, jako stupeň krystalinity, molekulová hmotnost nebo poměr laktidu a glykolidu.



Obrázek 28: Kopolymer kyseliny mléčné a kyseliny glykolové (PLGA) – strukturní vzorec

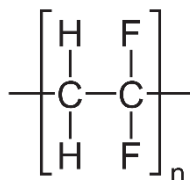
Je rozpustný v široké škále běžných rozpouštědel, včetně chlorovaných rozpouštědel, tetrahydrofuranu, acetonu nebo ethylacetátu. Ve vodě je odbourán pomocí hydrolýzy jeho esterových vazeb za vzniku mléčné a glykolové kyseliny (viz Obr. č. 29). Se zvyšujícím se množstvím PGA se zkracuje doba degradace vyjma poměru 50/50, ten je z hlediska degradace nejrychlejší [50].



Obrázek 29: Hydrolýza PLGA za vzniku kyseliny mléčné a glykolové [24]

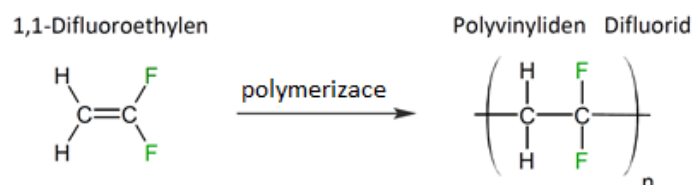
#### 4.1.4 . Polyvinylidenfluorid (PVDF)

Polyvinylidenfluorid nebo také polyvinyliden difluorid (PVDF) je vysoce inertní speciální termoplast s teplotou tání  $T_g = 175^\circ \text{C}$  (viz Obr. č. 30). Řadí se mezi fluoropolymery společně s polytetrafluorethylenem (PTFE) nebo polychlorotrifluorethylenem (PCTFE). Polyvinylidenfluorid podléhá zesíťování, když je vystaven ionizujícímu záření, což umožňuje změnu jeho mechanických a termofyzikálních vlastností.



Obrázek 30: Polyvinylidenfluorid (PVDF) – strukturní vzorec

Vyrábí se radikálovou polymerací 1,1-difluoroethylen ( $\text{CH}_2 = \text{CF}_2$ ) (viz Obr. č. 31) [51]. Vyznačuje se svými piezoelektrickými a pyroelektrickými vlastnostmi díky kterým je využitelný např. při výrobě senzorů a baterií. V biomedicině má také mnohá využití např. jako filtrační membrána pro různé aplikace nebo nevstřebatelné šicí nitě [52].



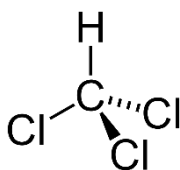
Obrázek 31: Výroba PVDF polymerací 1,1-difluoroethylen [25]

## 4.2 Rozpouštědla

V této kapitole jsou teoreticky popsána rozpouštědla, která byla použita během experimentu. Zaměřuje se především na jejich vlastnosti, výrobu a případné využití.

### 4.2.1 Chloroform

Chloroform neboli trichlormethan ( $\text{CHCl}_3$ ) je organická sloučenina se strukturním vzorcem (viz Obr. č. 32). Je to bezbarvá, silně páchnoucí, hustá kapalina. Vyrábí se zahříváním směsi chlóru a chlormethanu nebo methanu, kdy při 400–500 °C dochází k halogenaci volných radikálů, které se postupně přeměňují na více chlorované sloučeniny. Výstupem celého procesu jsou čtyři druhy chlormethanů (chloremethan, chloroform, dichlormethan a tetrachlormethan), které lze od sebe oddělit destilací.

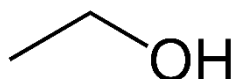


Obrázek 32: Chloroform ( $\text{CHCl}_3$ ) – strukturní vzorec

Využití nachází jako rozpouštědlo např. pro tuky, gumu, alkaloidy, pryskyřice, aj. nebo jako tzv. Lewisova kyselina. V 19. a začátkem 20. století se používal jako anestetikum, následně byl nahrazen éterem z důvodu jeho toxicity, která způsobovala úmrtí [53].

### 4.2.2 Ethanol (EtOH)

Ethanol nebo také ethyl alkohol (EtOH,  $C_2H_6O$ ) je organická sloučenina jednoduchého alkoholu se strukturním vzorcem (viz Obr. č. 33). Je to těkavá, hořlavá, bezbarvá kapalina s mírným charakteristickým zápachem.

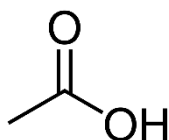


Obrázek 33: Ethanol (EtOH,  $C_2H_6O$ ) – strukturní vzorec

Ethanol jako rozpouštědlo se vyrábí hydratací ethylenu za přítomnosti kyselinového katalyzátoru (nejčastěji kyseliny fosforečné). Reakce probíhá v přítomnosti vysokotlaké páry při teplotě 300 °C. Má široké využití, používá se např. jako antiseptikum do antibakteriálních gelů, jako protijed při otravě etylenglykolem nebo methanolem, jako rozpouštědlo léčiv nerozpustných ve vodě, přidává se do motorového paliva a v poslední řadě slouží jako univerzální rozpouštědlo různých chemických sloučenin [54].

### 4.2.3 Kyselina octová

Kyselina octová ( $CH_3COOH$ ) je další z organických sloučenin se strukturním vzorcem (viz Obr. č. 34). Je to bezbarvá kapalina ostrého zápachu, dokonale mísitelná s vodou, s ethanolem i dimethyletherem. Je to druhá nejjednodušší karboxylová kyselina.

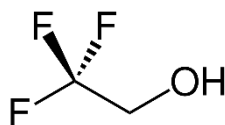


Obrázek 34: Kyselina octová ( $CH_3COOH$ ) – strukturní vzorec

Nejčastěji se vyrábí karbonylací methanolu, kdy methanol reaguje s oxidem uhelnatým za přítomnosti kovového karbonylu jako katalyzátoru. Meziproduktem je jodmethan. Má široké možnosti použití např. jako zdroj pro výrobu vinylacetátového monomeru z něhož vzniká polymerací polyvinylacetát (PVAc). V lékařství se používá např. při screeningu rakoviny děložního čípku jako indikátor positivity, slabě koncentrovaný roztok funguje jako účinné antiseptikum. Používá se např. při výrobě kyseliny tereftalové, zdroje pro výrobu polyethylentereftalátu (PET). V chemickém průmyslu se hojně využívá jako polární protické rozpouštědlo [55].

#### 4.2.4 Trifluorethanol (TFE)

Trifluorethanol (TFE,  $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ) je organická sloučenina se strukturním vzorcem (viz. Obr. č. 35). Je to bezbarvá kapalina mísitelná s vodou s vůní připomínající ethanol.

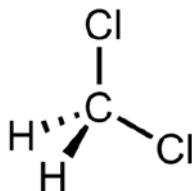


Obrázek 35: Trifluorethanol (TFE) – strukturní vzorec

Vyrábí se např. hydrogenací nebo hydridovou redukcí derivátů kyseliny trifluoroctové (estery, acylchlorid). Funguje jako rozpouštědlo pro různé chemické sloučeniny. Je toxický pro krev, reprodukční systém, močový měchýř, mozek, horní dýchací cesty a oči [56].

#### 4.2.5 Dichlormethan (DCM)

Dichlormethan (DCM,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) (také známý jako methylenchlorid) je bezbarvá kapalina s pronikavým éterickým zápachem. Je nehořlavý, pokud je vystaven vysokým teplotám, může uvolňovat toxické chloridové výpary, které jsou ve vysokých koncentracích narkotické. Používá se jako rozpouštědlo a odstraňovač barev. Methylenchlorid se také široce používá jako procesní rozpouštědlo při výrobě různých produktů, včetně potravin, textilu, insekticidů, herbicidů, steroidů, antibiotik a vitamínů. Má relativně nízký bod varu  $t = 40\text{ }^\circ\text{C}$ . Je rozpustný ve vodě a mísitelný s alkoholem, etherem nebo dimethylformamidem. Strukturní vzorec je na Obr. č. 36.

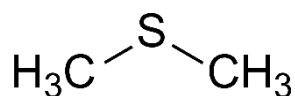


Obrázek 36: Dichlormethan (DCM) – strukturní vzorec

Nejčastěji se vyrábí reakcí chlorovodíku a methanolu za vzniku methylchloridu jehož přebytek se dále mísí s chlorem a reaguje za vzniku methylenchloridu, chloroformu a tetrachlormethanu jako vedlejších produktů. Reakce většinou probíhá tepelně, v plynné fázi, ale může se také provádět katalyticky nebo fotolyticky [57].

#### 4.2.6 Dimethylsulfid (DMS)

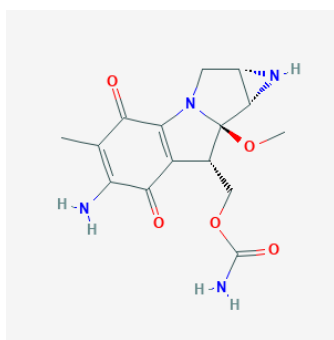
Dimethylsulfid (DMS,  $C_2H_6S$ ) čirá bezbarvá až slámově zbarvená kapalina s nepříjemným zápachem. Je méně hustý než voda a ve vodě málo rozpustný. Má podobně nízký bod varu jako DCM ( $t = 37\text{ }^{\circ}C$ ). Je zdraví škodlivý při polknutí a má nepříjemný zápach i při velmi nízkých koncentracích. Používá se např. při rafinaci ropy, jako činidlo při tvorbě koksu a oxidu uhelnatého při výrobě ethylenu. Jeho zoxidováním lze získat dimethylsulfoxid (DMSO) využívaný v průmyslu jako rozpouštědlo. DMS se získává destilací methylsulfátu draselného s koncentrovaným vodným sirníkem draselným [58]. Strukturní vzorec je na Obr. č. 37.



*Obrázek 37: Dimethylsulfid (DMS) – strukturní vzorec*

### 4.3 Mitomycin C (MMC)

Mitomycin je methylazirinopyrroloindoledionové antineoplastické antibiotikum izolované z bakterie *Streptomyces caespitosus* a dalších bakteriálních druhů *Streptomyces*. Bioredukovaný mitomycin C funguje jako síťovací činidlo pro DNA. Generuje kyslíkové radikály, alkyláty DNA a produkuje křížové vazby mezi řetězci DNA, čímž inhibuje syntézu DNA. Používá se jako chemoterapeutikum pro léčbu nádorových onemocnění žaludku a slinivky břišní v pokročilém stádiu. MMC, který je přednostně toxický pro hypoxické buňky, také inhibuje syntézu RNA a proteinů ve vysokých koncentracích. Dále způsobuje opožděnou toxicitu pro kostní dřeň a při dlouhodobém používání (více jak 6 týdnů) může způsobit její trvalé poškození. Jeho strukturní vzorec je uveden na Obr. č. 38. Za normálních okolností je vysoce toxický, mutagenní, karcinogenní a teratogenní [59] [60].



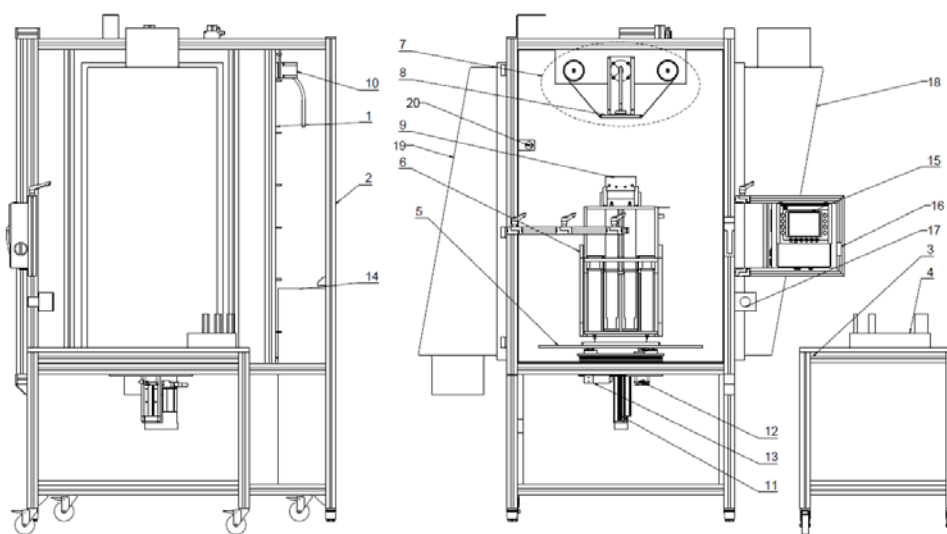
Obrázek 38: Mitomycin C (MMC) –  
strukturní vzorec [26]

## 5 Princip výroby

Tato kapitola se zabývá teoretickým popisem použitých přístrojů a techniky pro tvorbu kapslí pomocí elektrického rozprašování. Dodatečný popis zařízení je pak uveden v experimentální části.

### 5.1 Stejnosměrné elektrické zvlákňování (DC)

V experimentu bylo pro stejnosměrné elektrické zvlákňování zvoleno laboratorní zařízení klastrové organizace Nanoprogress, z.s., umístěné v laboratorních prostorách, pronajatých na Technické univerzitě v Liberci (TUL) (viz Obr. č.39). Zařízení sestává z hlavní nerezové, uzavíratelné skříně (1) opatřené hliníkovým rámem (2), která určuje pracovní prostor spinneru. Dveře jsou vyplněné sklem s antistatickou úpravou. Takto uspořádaný „obal“ tvoří kolem spinneru tzv. Faradayovu klec, která pomáhá odvádět elektrický náboj vznikající v okolí elektrody a zároveň umožňuje nahlížení procesu.



Obrázek 39: Schéma stejnosměrného elektrického zvlákňovacího stroje (DC) [27]

Vnitřní část tvoří zvlákňovací jednotka umístěná na pojízdném stolku (3) s pohonem vertikálního (11) a příčného (12) pohybu opatřeném pracovní deskou (5), na které je připevněn držák spinneru (6) s přívodem VN a samotný spinner (9). Vlákná jsou zachytávána na kolektor (8). Stroj je doplněn o převíjecí ústrojí (7) s automatickým pohonem (10) v podobě dvou válečků, z nichž jeden slouží jako odvíjecí a druhý navíjecí. Válce jsou poháněny krokovým motorem. Stroj je ovládán pomocí ovládacího panelu (15) a je opatřen hlavním vypínačem (16) a nouzovým STOP tlačítkem (17). Vnitřní prostory přístroje jsou opatřeny odsávacím ventilátorem pro odvod výparů.

Držák spinneru je zkonstruován tak, aby bylo možné na něj umístit rezervoár polymerního roztoku s elektrodou v podobě injekční stříkačky a jehly (viz Obr. č. 40). Pomocí dávkovací pumpy (viz Obr. č. 41), s možností nastavení rychlosti dávkování (nejčastěji v ml/ hod nebo ml/min) je ze stříkačky vytlačován polymerní roztok do jehly, nebo jiné elektrody s konstantní rychlostí. Pumpa je se stříkačkou s polymerním roztokem spojena pomocí soustavy dvou dalších stříkaček, naplněných destilovanou vodou a propojených hadičkou, takto je pumpa elektricky oddělena od vysokého napětí.



*Obrázek 40: Laboratorní zařízení pro DC elektrické zvlákňování*



*Obrázek 41: Automatická dávkovací pumpa*

Zařízení DC dosahuje hodnot napětí až 50 kV na kladné elektrodě a také na záporném kolektoru, rozdíl potenciálů je tak až 100 kV (2,4 mA). Ostatní parametry jsou uvedeny v Tabulce č. 1 [61].

Tabulka 1: Parametry zařízení pro stejnosměrné elektrické zvlákňování (DC)

| Obecné parametry přístroje |                                    |                         |      |
|----------------------------|------------------------------------|-------------------------|------|
|                            | Vnější rozměry (š x v x h)         | 873* x 1942 x 1223      | mm   |
|                            | Vnitřní rozměry skříně (š x v x h) | 790 x 1200 x 948        | mm   |
|                            | Hmotnost                           | 200                     | kg   |
|                            | Napájení                           | 230 V / 50 Hz           |      |
|                            | Maximální odběr                    | 600                     | VA   |
| Pohony                     |                                    |                         |      |
|                            | Převíjení                          |                         |      |
|                            |                                    | Rychlost                | 0–50 |
|                            |                                    |                         | mm/s |
|                            | Rozvádění                          |                         |      |
|                            |                                    | Rychlost                | 0–30 |
|                            |                                    |                         | mm/s |
|                            |                                    | Maximální rozsah pohybu | 250  |
|                            |                                    |                         | mm   |
|                            | Vzdálenost elektrod                |                         |      |
|                            |                                    | Zdvih stolu             | 120  |
|                            |                                    |                         | mm   |
|                            |                                    | Rozlišení               | 0,1  |
|                            |                                    |                         | mm   |
|                            |                                    | Rychlost                | 10   |
|                            |                                    |                         | mm/s |
| VN zdroje (obě polarity)   |                                    |                         |      |
|                            | Rozsah napětí pro každou elektrodu | 0–50                    | kV   |
|                            | Rozsah proudu                      | 0 - 2,4                 | mA   |

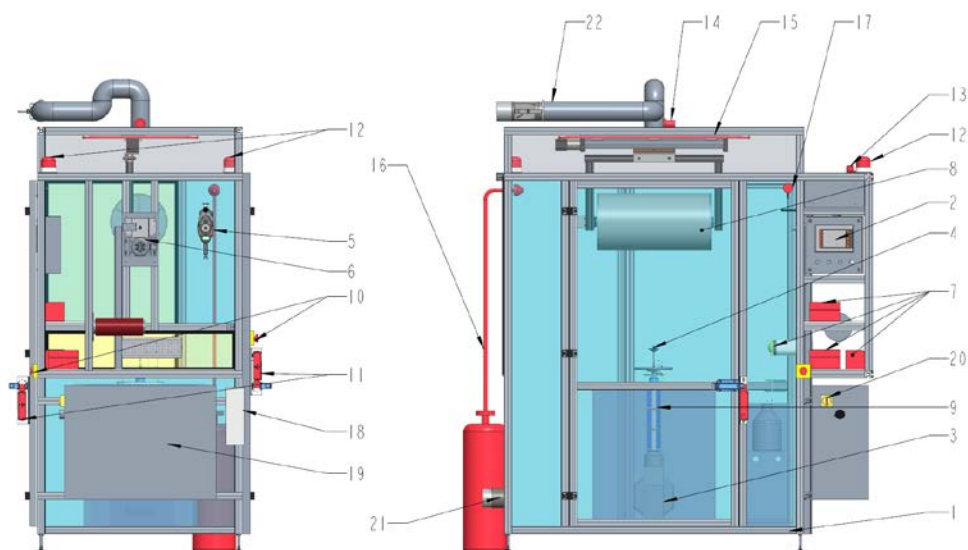
## 5.2 Střídavé elektrické zvlákňování (AC)

V experimentu bylo pro střídavé elektrické zvlákňování zvoleno laboratorní zařízení s označením KOPRIS 2 (Komorový Přízový Spinner) klastrové organizace Nanoprogress, z.s., který je také umístěný v laboratorních prostorách, pronajatých na Technické univerzitě v Liberci (TUL) (viz Obr. č. 42). Toto zařízení je zkonstruováno k tvorbě jádrové příze s nanovlákněným obalem nebo obecně jejich obsahem. Zařízení KOPRIS 2 bylo zvoleno z důvodu přítomnosti peristaltického mechanismu pro kontinuální přívod polymerního roztoku, vhodného pro dávkování méně viskózních roztoků. Zařízení je rozděleno na dvě části, z čehož část 1 je určena pro tvorbu nanovlákněných vrstev a nanášení nanovlákněného obalu na přízi a část 2 slouží jako doplňující pro tvorbu příze, kde dochází k jejich sušení, fixaci a případně dodatečnému kroucení a navíjení.



*Obrázek 42: Zařízení pro zvlákňování se střídavým elektrickým napětím (AC) [28]*

Komora 1 (viz Obr. č. 43), ve které experiment probíhal, sestává z vnějšího hliníkového rámu (1) vyplněného polykarbonátovými deskami a vnitřního rámu, který je uzemněn. Stroj je ovládán pomocí ovládacího panelu (2) v podobě monitoru s ovládacími tlačítky, díky němuž lze nastavit parametry jako rychlost navíjení nebo rozvádění bubnu. Zdroj napětí je dodáván transformátorem (3) a jeho přívod do pracovní části je opatřen ochrannými odpory (9). Proces zvlákňování umožňuje zvlákňovací elektroda (4).



Obrázek 43: Schéma zařízení pro zvlákňování se střídavým elektrickým napětím (AC) [28]

Soustava pro zvlákňování sestává ze zvlákňovací věže s magnetickým dnem (viz Obr. č. 44), která je napojena na zdroj VN. Na ní bývá umístěna kádinka s polymerem. Dávkování polymeru může probíhat buď pomocí šneku, který je poháněn magnetickými silami nebo hadicovým systémem s peristaltickou pumpou (7) (pro méně viskózní roztoky). Ty jsou dále napojeny na automatické dávkovací zařízení (injekční dávkovač) s možností nastavení rychlosti dávkování (nejčastěji v ml/ hod nebo ml/min). Vznikající vlákněná vlečka je zachycována na rotující bubnový kolektor (8).



*Obrázek 44: Zvlákňovací věž pro zvlákňování se střídavým elektrickým napětím (AC)*

Zařízení je opatřeno nouzovým tlačítkem STOP (10) a bezpečnostními dveřními zámky (11). Z hlediska bezpečnosti je stroj dále vybaven vizuální (12) a zvukovou (13) signalizací aktivního okruhu VN. Pro detekci funkčnosti odsávání slouží diferenční barometr (14). Dále se zde nachází automatický hasicí systém složený z několika komponent – teplocitlivé hadice (15), nádoby s hasivem ( $\text{CO}_2$ ) (16), tlačítka pro manuální spuštění hašení (17) a záložního zdroje pro hasicí systém (18). Součástí je rozvaděč (19), hlavní vypínač (20), ventilace (21, 22). Pro výrobu přízí je stroj doplněn o další součásti jako podavač jádrového materiálu (5) nebo zákrutové zařízení (6). Zařízení má dvoje dveře, takže je vnitřní část přístupná z obou stran. Na přístroji je také umístěn blikající maják signalizující, v jakém režimu se stroj v danou chvíli nachází (servisní, pracovní). Obecné parametry jsou uvedeny v Tabulce 2 [62].

Tabulka 2: Parametry zařízení pro střídavé elektrické zvlákňování (AC)

| Obecné parametry přístroje |                                      |                                          |             |
|----------------------------|--------------------------------------|------------------------------------------|-------------|
|                            | Celkové vnější rozměry (š x v x h)   | 5004* x 2496 x 1377                      | mm          |
|                            | Vnitřní rozměry komory 1 (š x v x h) | 1500 x 1300 x 1000                       | mm          |
|                            | Celková hmotnost                     | 450                                      | kg          |
|                            | Napájení                             | 230 V / 50 Hz                            |             |
|                            | Maximální odběr                      | 3,6                                      | kW          |
| Pohony                     |                                      |                                          |             |
|                            | Pohyb bubnového kolektoru            |                                          |             |
|                            |                                      | Obvodová rychlost                        | 0-120 m/min |
|                            |                                      | Rozváděcí rychlost                       | 1-250 mm/s  |
|                            |                                      | Maximální zdvih rozváděcího pohybu bubnu | 0-500 mm    |
| VN zdroje (obě polarity)   |                                      |                                          |             |
|                            | rozsah napětí                        | 0 - $\pm 36$                             | kV          |
|                            | rozsah proudu                        | 0 – $\pm 1,8$                            | mA          |

## Experimentální část

Záměrem experimentu bylo navrhnout a technologicky vytvořit část funkcionalizované vrstvy z PVDF obohacenou o částice s inkorporovaným MMC jako implantát pro využití při trabekulektomii. Mělo tak být docíleno lepšího výsledku a dlouhotrvajícího efektu tohoto chirurgického zákroku. Primárním zaměřením bylo vyvinout dokonalé sférické kapsle, s úzkou distribucí velikostí z biokompatibilního a biologicky vstřebatelného polymeru s krátkou dobou degradace. K tomu byl použit DC a AC elektrický zvlákňovací stroj. AC zvlákňovací stroj byl zvolen za účelem jednak porovnání vrstev na něm vyrobených a vrstev připravených na DC zvlákňovacím stroji, a také z důvodu vyšší produktivity AC stroje.

## 6 Materiály

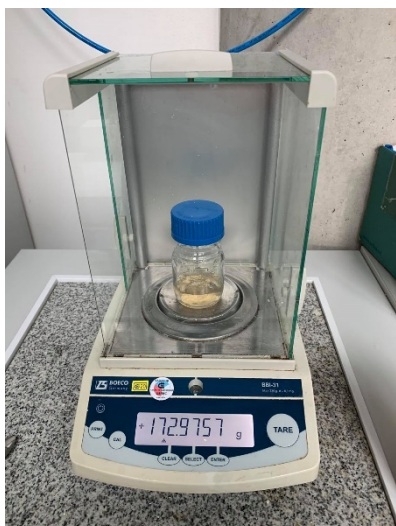
Pro experiment byly zvoleny tři alifatické polyestery. Kyselina polymléčná (PLA;  $M_w = 100\text{--}150\,000\text{ g/mol}$ ; výrobce NatureWorks), polykaprolakton (PCL;  $M_w = 45\,000\text{ g/mol}$ ; výrobce Sigma-Aldrich) a kopolymer kyseliny mléčné a glykolové (PLGA;  $M_w = 30\text{--}60\,000\text{ g/mol}$ ; výrobce Polysciences, USA). PLGA byl v poměru 50/50 (výrobce uvádí 45-55/45-55 mol%).

Z rozpouštědel byl použit chloroform ( $M_w = 119,38\text{ g/mol}$ ; výr. Penta chemicals), ethanol (EtOH;  $M_w = 46,07\text{ g/mol}$ ; výr. Severochema), kyselina octová ( $M_w = 60,05\text{ g/mol}$ ; výr. Penta chemicals), trifluorethanol (TFE;  $M_w = 100,04\text{ g/mol}$ ; výr. Tokyo Chemical Industry Co., Ltd).

Vrstva PVDF určená k funkcionalizaci byla předem vyrobená na zařízení Nanospider<sup>TM</sup>. Záměrem nebylo vrstvu vyrobit, ale pouze funkcionalizovat. Pro inkorporaci byl použit Mitomycin (MMC;  $M_w = 334,33\text{ g/mol}$ ; výrobce Sigma Aldrich).

Tyto alifatické polymery byly zvoleny na základě jejich biodegradability a biokompatibility s lidským organismem. Zároveň jsou to polymery často využívané v tkáňovém inženýrství a jako různé zdravotnické prostředky. Další z kritérií byla jejich relativně krátká doba degradace, která je v tomto případě žádoucí.

Jejich koncentrace byly zvoleny na základě zkušeností a v průběhu experimentu. Odvíjela se především od jejich molekulové hmotnosti a následného chování při elektrosprayingu. Roztoky byly připravovány nejčastěji tak, že byl vyroben zásobní roztok, který byl následně rozředován dle koncentrační řady na další dílčí roztoky. Jednotlivé komponenty byly váženy na čtyřmístných vahách (viz Obr. č. 45). Roztoky byly míchány na magnetickém míchadle při 300 ot. /min, za pokojové teploty (viz Obr č. 46).



Obrázek 45: Laboratorní váha



Obrázek 46: Laboratorní magnetické míchadlo

## 6.1 PLA

### Příprava roztoku pro DC a AC

Byl použit polymer PLA, v rozpouštědlovém systému chloroform/ethanol v poměru 9:1. Během experimentu bylo nutné najít optimální koncentraci roztoku pro tvorbu kapek. Byl připraven zásobní roztok polymeru o koncentraci 4 hm. %. Následně byla pomocí koncentrační řady identifikována nejvhodnější koncentrace pro tvorbu kapek. Pro PLA byly zvoleny koncentrace 3; 2,5; 2 a 1,5 hm. %. Roztok byl připraven cca 24 hod. předem a ponechán na magnetickém míchadle do úplného rozpuštění polymeru. Vzorky byly postupně testovány na DC a AC zvlákňovacích strojích pomocí nichž byly vytvořeny vrstvy. Pro AC byl následně použit rozpouštědlový systém DCM/ DMS ve stejných koncentracích. Hodnoty koncentrační řady jsou zaznamenány v souhrnné Tabulce č. 3.

## 6.2 PCL

### Příprava roztoku pro DC a AC

Byl použit polymer PCL v rozpouštědlovém systému chloroform/-ethanol/-kyselina octová v poměru 8:1:1. Byly zvoleny koncentrace 12, 10, 8, 6 a 4 hm. %. Postup přípravy a následné výroby byl obdobný jako u PLA. Hodnoty koncentrační řady jsou zaznamenány v souhrnné Tabulce č. 3.

## 6.3 PLGA

Byl použit kopolymer PLGA a rozpouštědlo TFE. Byly zvoleny koncentrace 10, 8, 6 a 4 hm. %. Vzorby byly postupně testovány na stejnosměrném zvlákňovacím stroji (DC). Hodnoty koncentrační řady jsou zaznamenány v souhrnné Tabulce č. 3.

### 6.3.1 Inkorporace MMC do PLGA v TFE

Byl použit kopolymer PLGA a rozpouštědlo TFE. Na základě výsledků u předchozího testování (viz kap. č. 2.4.1 Testování koncentrace) byl připraven zásobní roztok polymeru PLGA v rozpouštědle TFE o koncentraci 6 hm. % s inkorporací Mitomycinu C v koncentraci 0,01 hm. %. MMC byl dávkován pomocí mikropipety a inkorporován metodou směsování. Roztok byl připraven cca 2 hod. předem a ponechán na magnetickém míchadle do úplného rozpuštění polymeru. Roztok byl testován na DC zvlákňovacím stroji.

Tabulka 3: Koncentrační řady použitých polymerních roztoků

| Koncentrační řady použitých polymerních roztoků |                                                        |                                                |                                                                   |                                    |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
|                                                 | Koncentrační řada<br>PLA<br>v chloroform/EtOH<br>(9:1) | Koncentrační<br>řada PLA<br>v DCM/DMS<br>(9:1) | Koncentrační řada PCL<br>v chloroform/EtOH/kys.<br>octová (8:1:1) | Koncentrační<br>řada PLGA<br>v TFE |
| DC                                              | 3 hm. %                                                | -                                              | 12 hm. %                                                          | 10 hm. %                           |
|                                                 | 2,5 hm. %                                              | -                                              | 10 hm. %                                                          | 8 hm. %                            |
|                                                 | 2 hm. %                                                | -                                              | 8 hm. %                                                           | 6 hm. %                            |
|                                                 | 1,5 hm. %                                              | -                                              | 6 hm. %                                                           | 4 hm. %                            |
|                                                 | -                                                      | -                                              | 4 hm. %                                                           | -                                  |
|                                                 |                                                        |                                                |                                                                   |                                    |
| AC                                              | 3 hm. %                                                | 3 hm. %                                        | 12 hm. %                                                          | -                                  |
|                                                 | 2,5 hm. %                                              | 2,5 hm. %                                      | 10 hm. %                                                          | -                                  |
|                                                 | 2 hm. %                                                | 2 hm. %                                        | 8 hm. %                                                           | -                                  |
|                                                 | 1,5 hm. %                                              | 1,5 hm. %                                      | 6 hm. %                                                           | -                                  |
|                                                 | -                                                      | -                                              | 4 hm. %                                                           | -                                  |

## 7 Metodika

K výrobě částic byly zvoleny dva způsoby elektrického zvlákňování, a sice stejnosměrné elektrické zvlákňování a střídavé elektrické zvlákňování. Záměrem bylo vytvořit polymerní částice dvěma odlišnými způsoby, které by mohly být navzájem porovnávány. Dalším důvodem bylo vyzkoušet, zda polymery tvořící částice na DC zvlákňovacím stroji, lze přenést i na AC zvlákňovací stroj, který vykazuje až 10x vyšší produktivitu. Během obou procesů bylo pozorováno chování jednotlivých polymerů a výsledné vrstvy byly vyhodnoceny jak vizuálně, tak pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM). Finální produkt byl modifikován Mitomycinem C a podstoupen SEM-EDX analýze pro identifikaci jeho obsahu. Ve všech možných případech byly měřeny průměry částic a vyhodnocena jejich distribuce

## 7.1 DC spinner

Soustava pro DC (viz. Obr. č. 47) zvlákňování sestávala z držáku spinneru do kterého byla zasunuta plastová destička s otvorem pro upevnění zvlákňovací elektrody. Elektroda byla v podobě injekční jehly. Během experimentu byly použity dva průměry jehel o rozměrech 1,2 x 40 mm a 0,80 x 40 mm. K elektrodě byl pomocí kabelu přiváděn zdroj VN, kde spodní elektroda byla kladně nabitá a vrchní (kolektor) záporně nabitá. Ze spodní strany destičky byla uchycena injekční stříkačka s polymerem, který byl dávkován pomocí dávkovací pumpy.



Obrázek 47: DC spinner

Proces sprejování probíhal při VN a sprejovaný materiál byl zachycován na kolektor umístěný v horní části překrytý netkanou textilií typu spunbond z polypropylenu. Textilie byla navinuta na navíjecích válcích umístěných po stranách kolektoru.

## 7.2 AC spinner

Soustava pro AC (viz Obr. č. 48) zvlákňování sestávala z držáku spinneru s magnetickým dnem, na kterém byla umístěna kádinka s polymerem. Polymer byl dávkován pomocí peristaltické pumpy napojené na elektrodu a kádinku s polymerem. Během experimentu byla použita jehla, v některých případech probíhalo rozprašování bezjehlově.



*Obrázek 48: AC spinner*

Proces sprejování probíhal při střídavém VN a sprejovaný materiál byl zachycován na bubnový kolektor umístěný v horní části překrytý netkanou textilií typu spunbond z polypropylenu.

## **7.3 Analýza**

### **7.3.1 Skenovací elektronový mikroskop**

Pro analýzu vrstev a vzniklých částic byl použit skenovací (rastrovací) elektronový mikroskop (SEM) VEGA 3 SB od společnosti TESCAN, Brno. Mikroskop je vybaven univerzálním systémem určeným pro provoz s nízkým i vysokým vakuem. Doplnkovou technikou je energeticky disperzní rentgenová spektroskopie (EDX), která slouží pro identifikaci elementárního složení vzorku ve formě spekter (histogramů). Spektra slouží ke kvantitativní chemické charakterizaci vzorků. Mikroskop byl využit především z důvodu prvkové analýzy pro identifikaci inkorporovaného MMC v kapslích.

### **7.3.2 Program pro statistické vyhodnocení dat obrazu ImageJ**

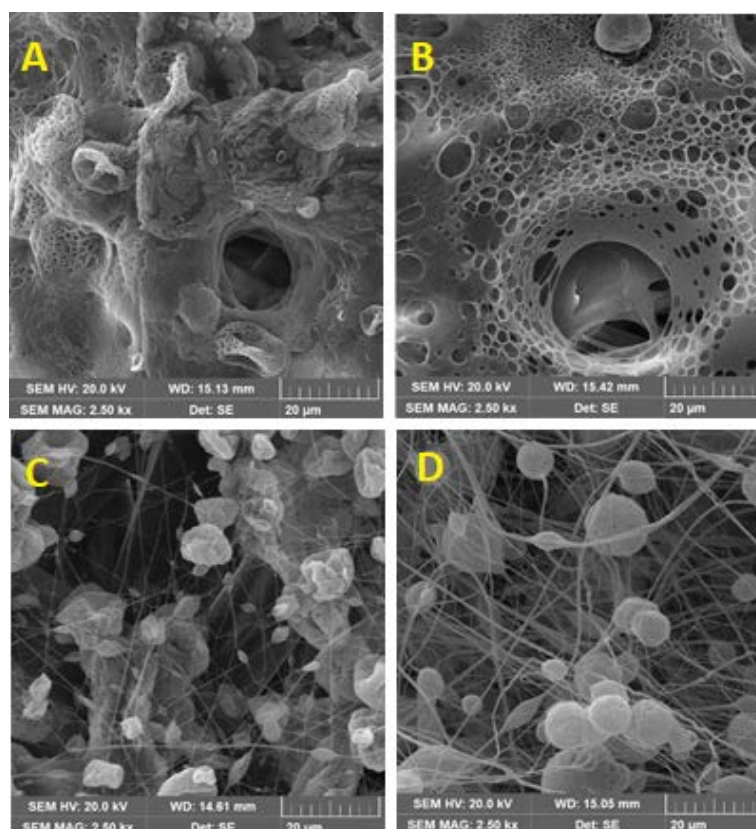
ImageJ je vyhodnocovací program určený pro analýzu obrazu. Program byl využit pro měření průměrů kapslí k následné datové analýze. Hodnoty (průměry) s relevantním vyhodnocením bylo možné naměřit pouze v případě PLGA, kde bylo ve všech případech naměřeno 50 odlišných hodnot za každý experiment. Naměřená data byla zpracována pomocí MS Excel a prezentována ve formě krabicových grafů. V grafech je uvedena střední hodnota, minimum, maximum, medián, dolní a horní kvantil, v některých případech byla zaznamenána i hodnota extrémní (odchýlená). Dále byl pro vyhodnocení a porovnání průměrů a odchylek měření použit 95 % IS.

## 8 Výsledky a diskuze

### 8.1 Elektrické rozprašování PLA v chloroform/EtOH

Během DC elektrosprayingu byl průběh u všech roztoků stejný, rozdíly se projeví až následně při mikroskopické analýze SEM. Pomocí SEM analýzy bylo zjištěno, že roztok vytvořil ve většině případů jednolitý film, pravděpodobně kvůli nedostatečnému odpaření rozpouštědla.

U AC elektrosprayingu vznikaly problémy už během samotného procesu výroby, kdy při nejvyšší koncentraci (3 hm. %) vznikala spíše vlákna jejichž kvalita se zhoršovala se snižující se koncentrací. Vlákenná vtečka se nechytala na kolektor a bylo nutné rapidně snížit otáčky bubnu z původních 30 ot/min až na 0,5 ot/min. Celkově byla výroba částic pomocí AC elektrosprayingu hodnocena, v tomto případě, jako nevhodná. SEM snímky vrstev z obou metod jsou na Obr. č. 49. Podrobné vyhodnocení experimentu je uvedeno v Tabulce č. 4.



Obrázek 49: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PLA v chloroform/EtOH pomocí DC (vlevo) a AC (vpravo) elektrosprayingu na podkladové SB textilii při zvětšení 2500x

Tabulka 4: PLA v chloroform/EtOH (9:1) – Vyhodnocení DC a AC elektrosprayingu a SEM analýzy

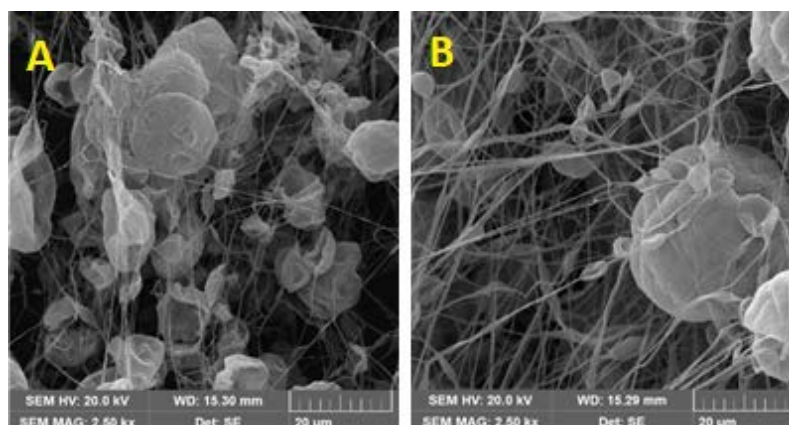
| PLA v chloroform/EtOH (9:1) |                                                                                                                                                                                                                                                      |                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                             |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|
|                             | DC                                                                                                                                                                                                                                                   |                                         | AC                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                             |
|                             | <p>Podmínky:</p> <p>teplota = 20 °C</p> <p>vlhkost = 58 %</p> <p><math>VN = \frac{-5}{+10}</math> kV</p> <p>dávkování: 14 ml/hod</p> <p>vzdálenost elektrod: 150 mm</p> <p>rozvádění: 25 mm</p> <p>rozměr jehly: 1,2 x 40 mm</p> <p>čas = 10 min</p> |                                         | <p>Podmínky:</p> <p>teplota = 21 °C</p> <p>vlhkost = 54 %</p> <p>VN = cca 40 kV</p> <p>dávkování: 50 ml/hod</p> <p>vzdálenost bubnu od elektrody: ± 340 mm</p> <p>navíjení = 30 ot/min</p> <p>čas = 5 min</p> <p>zvlákňování: z jehly</p> <p>rozměr jehly: 2,5 x 30 mm</p> |                                             |
| Koncentrace roztoku         | Proces výroby + makroskopické hodnocení                                                                                                                                                                                                              | SEM snímky                              | Proces výroby + makroskopické hodnocení                                                                                                                                                                                                                                    | SEM snímky                                  |
| 3 hm. %                     | Zvlákňuje dobře, tvoří kapsle                                                                                                                                                                                                                        | Aglomerace kapslí, nehomogenní, patvary | Vzniká vláknenná vrstva                                                                                                                                                                                                                                                    | Korálkovité struktury, směs kapslí a vláken |

|                                                                                                                           |                                  |                                                                                            |                                                                                                      |                                                                                                             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2,5 hm. %                                                                                                                 | Zvlákňuje dobře,<br>tvoří kapsle | SB vrstva obalená<br>jednotlivou vrstvou<br>s občasným výskytem<br>zploštělých kapslí      | Vznikají vlákna, ale<br>problémy s uchycením na<br>kolektor                                          | Korálkovité struktury, směs<br>kapslí a vláken, více kapslí<br>než u 3 hm. %                                |
| 2 hm. %                                                                                                                   | Zvlákňuje dobře,<br>tvoří kapsle | SB vrstva obalená<br>jednotlivou vrstvou<br>s častějším výskytem<br>kapslí než u 2,5 hm. % | Vlákna špatně adherují ke<br>kolektoru, nutnost rapidně<br>snížit otáčky bubnu na 1<br>ot/min        | Korálkovité struktury, spíše<br>kapsle, nehomogenní,<br>nepravidelných tvarů, různá<br>distribuce velikostí |
| 1,5 hm. %<br>roztok                                                                                                       | Zvlákňuje dobře,<br>tvoří kapsle | Kapsle v jednotlivé vrstvě<br>obalující vlákna<br>podkladové textilie SB                   | Vlákna létají různými směry,<br>nutnost snížit otáčky na<br>polovinu (0,5 ot/min) a<br>přidána jehla | Slitá vrstva, bez vláken a<br>kapslí                                                                        |
| Poznámka: Se snižující se koncentrací se viditelně snižovala<br>tloušťka zvlákněné vrstvy při zachování stejných podmínek |                                  |                                                                                            | Poznámka: Všechny vytvořené vrstvy byly nehomogenní, s<br>defekty                                    |                                                                                                             |

## 8.2 Elektrické rozprašování PLA v Dichlormethan/ Dimethylsulfid

Rozpouštědlový systém dichlormethan/ dimethylsulfid (DCM/DMS) byl použit pouze pro AC elektrospraying z důvodu nefunkčnosti rozpouštědlového systému chloroform/ EtOH. Připravené roztoky o různých koncentracích předem stanovené koncentrační řady byly pomocí AC zvlákňovacího stroje rozprašovány dle stanovených podmínek, které jsou uvedeny v Tabulce č. 5 včetně vyhodnocení chování jednotlivých koncentrací roztoku.

Během experimentu se roztoky chovaly ve všech případech podobně. Průběh rozprašování byl bez komplikací. Vrstvy byly nehomogenní, bez dostatečné pevnosti. Na SEM snímcích byly viditelné korálkovité struktury s širokou distribucí velikosti kapek (viz Obr. č. 50). Podrobné vyhodnocení experimentu je uvedeno v Tabulce č. 5.



*Obrázek 50: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PLA v DCM/DMS pomocí AC elektrosprayingu na podkladové SB textilií při zvětšení 2500x*

Tabulka 5: PLA v DCM/DMS (9:1) – Vyhodnocení AC elektrosprayingu a SEM analýzy

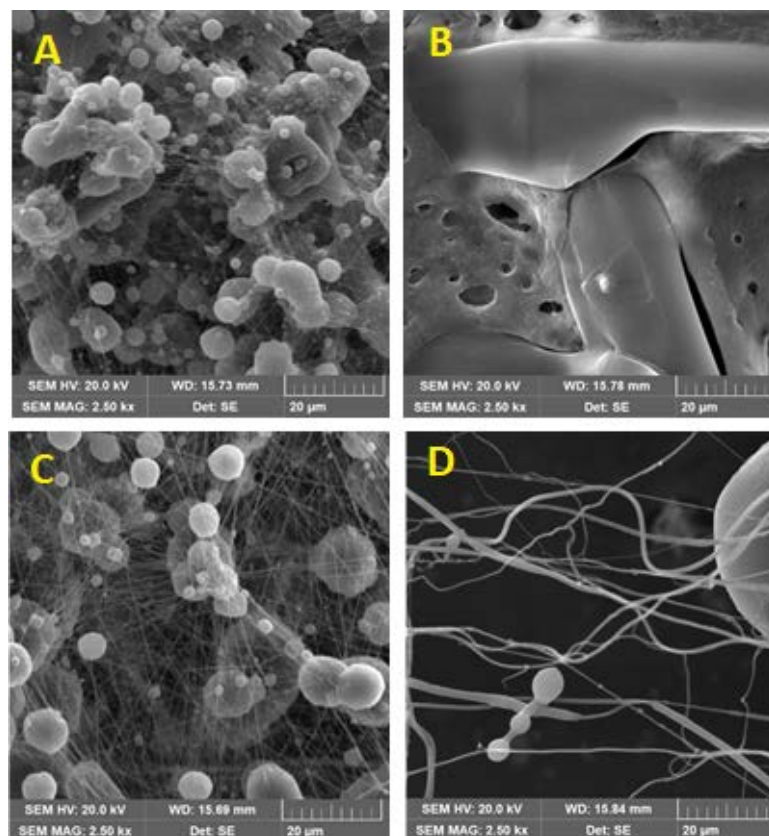
| PLA v DCM/DMS (9:1) |                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                 |
|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     | AC                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                 |
|                     | Podmínky:<br>teplota = 21 °C<br>vlhkost = 52 %<br>VN = cca 40 kV<br>dávkování: 50 ml/hod<br>vzdálenost bubnu od elektrody: ± 340 mm<br>navíjení = 30 ot/min<br>čas = 10 min<br>zvlákňování: napřímo, bez jehly |                                                                                                 |
| Koncentrace roztoku | Proces výroby + makroskopické hodnocení                                                                                                                                                                        | SEM snímky                                                                                      |
| 3 hm. %             | Vzniká vláken. vrstva, dobré zvlákňování                                                                                                                                                                       | Korálkovité struktury, nehomogenní kapsle, různé velikosti                                      |
| 2,5 hm. %           | Vzniká vláken. vrstva, dobré zvlákňování                                                                                                                                                                       | Korálkovité struktury, nehomogenní kapsle, různé velikosti                                      |
| 2 hm. %             | Vzniká vláken. vrstva, dobré zvlákňování                                                                                                                                                                       | Korálkovité struktury, nehomogenní kapsle, různé velikosti                                      |
| 1,5 hm. %           | Vzniká vláken. vrstva, dobré zvlákňování                                                                                                                                                                       | Korálkovité struktury, nehomogenní kapsle, různé velikosti, spíše vlákna pavučinovité struktury |

## 8.3 Elektrické rozprašování PCL

### v chloroform/EtOH/kyselina octová

Připravené roztoky o různých koncentracích byly pomocí elektrického zdroje rozprašovány dle stanovených podmínek, které jsou uvedeny v Tabulce č. 6 včetně vyhodnocení chování jednotlivých koncentrací. Během DC elektrosprayingu byl průběh u všech roztoků stejný. Proces probíhal bez větších komplikací. Rozdíly se projeví až následně při mikroskopické analýze. Bylo zjištěno, že roztok s nejnižší koncentrací (4 hm. %) vytvořil jednolitou vrstvu s viditelnými kulovitými částicemi. Naopak roztok o nejvyšší koncentraci (12 hm. %) tvořil spíše vlákna. Z roztoků o koncentracích 6 a 8 hm. % byly patrné sférické částice, ale celkovou vrstvu tvořily spíše jejich shluky.

U AC elektrosprayingu vznikaly problémy během samotného procesu výroby, kdy při nejvyšší koncentraci (12 hm. %) vznikala velmi jemná, nehomogenní vlákenná vlečka, která byla roznášena po celé zvlákňovací komoře. Roztoky s nižší koncentrací (8 a 6 hm. %) zvlákňovaly lépe, ale bylo nutné snížit dávkování. Roztok s nejnižší koncentrací (4 hm. %) tvořil mokré kapky, vlivem nedostatečného odpaření rozpouštědla. Na SEM snímcích byly u vyšších koncentrací (12 a 10 hm. %) viditelné koráلكovité struktury, ale celá vrstva byla velice nehomogenní. Roztoky s nižší koncentrací vytvořily spíše jednolitou vrstvu/ fólii. Výroba částic pomocí AC elektrosprayingu byla, v tomto případě, hodnocena jako nevhodná a další experimenty pokračovaly pouze se zdrojem DC. SEM snímky vrstev z obou metod jsou na Obr. č. 51. Podrobné vyhodnocení experimentu je uvedeno v Tabulce č. 6.



*Obrázek 51: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PCL v chloroform/EtOH/kyselina octová pomocí DC (vlevo) a AC (vpravo) elektrosprayingu na podkladové SB textilií při zvětšení 2500x*

Tabulka 6: PCL v chloroform/EtOH/k. octová (8:1:1) – Vyhodnocení DC a AC elektrosprayingu a SEM analýzy

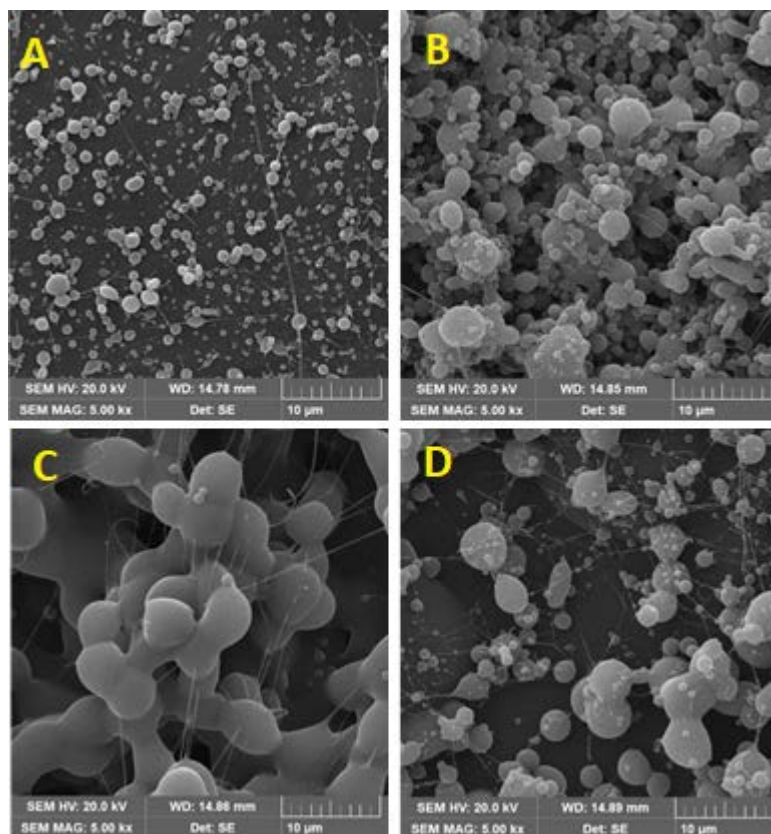
| PCL v chloroform/EtOH/k. octová (8:1:1) |                                                                                                                                                                                                                               |                                                        |                                                                                                                                                                                                                                                                               |                       |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
|                                         | DC                                                                                                                                                                                                                            |                                                        | AC                                                                                                                                                                                                                                                                            |                       |
|                                         | <p>Podmínky:</p> <p>teplota = 19 °C</p> <p>vlhkost = 54 %</p> <p><math>VN = \frac{-5}{+10}</math> kV</p> <p>dávkování: 15 ml/hod</p> <p>vzdálenost elektrod: 130 mm</p> <p>průměr jehly: 0,80 x 40 mm</p> <p>čas = 10 min</p> |                                                        | <p>Podmínky:</p> <p>teplota = 21 °C</p> <p>vlhkost = 52 %</p> <p>VN = cca 40 kV</p> <p>dávkování: 0,1 ml/min</p> <p>vzdálenost bubnu od elektrody: ± 340 mm</p> <p>navíjení = 0,1 ot/min</p> <p>čas = 10 min</p> <p>zvlákňování: z jehly</p> <p>rozměr jehly: 2,5 x 30 mm</p> |                       |
| Koncentrace roztoku                     | Proces výroby + makroskopické hodnocení                                                                                                                                                                                       | SEM snímky                                             | Proces výroby + makroskopické hodnocení                                                                                                                                                                                                                                       | SEM snímky            |
| 12 hm. %                                | Zvlákňuje dobře                                                                                                                                                                                                               | Méně kapslí než u 10 hm. %, větší průměry, více vláken | Nastavování podmínek, netvoří se vlákna, spíše sprejuje, bez nástavce poletuje materiál po celé komoře a nechytá se na kolektor                                                                                                                                               | Korálkovité struktury |

|                                                                     |                                                                     |                                     |                                                                                   |                                         |
|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 10 hm. %                                                            | Zvlákňuje dobře                                                     | Větší kapsle, hodně vláken          | Zvlákňuje velmi špatně                                                            | Korálkovité struktury                   |
| 8 hm. %                                                             | Zvlákňuje dobře, místy více Taylorových kuželů, po ustálení 1 kužel | Místy spojené kapsle, vlákna        | Zvlákňuje lépe než 10 hm. %, ale nutno zvýšit dávkování na 0,2 ml/min (12 ml/hod) | Slitá vrstva, s drobným náznakem vláken |
| 6 hm. %                                                             | Zvlákňuje, na kapce 1 Taylorův kužel                                | Méně jednolitá vrstva než u 4 hm. % | Zvlákňuje lépe než 10 hm. %, ale nutno zvýšit dávkování na 0,3 ml/min (18 ml/hod) | Slitá vrstva, bez vláken a kapslí       |
| 4% roztok                                                           | Zvlákňuje, na kapce více Taylorových kuželů                         | Kapsle v jednolitě vrstvě           | Tvoří spíše kapky, nutno zvýšit dávkování na 0,6 ml/min (36 ml/hod)               | Slitá vrstva, bez vláken a kapslí       |
| Poznámka: Se zvyšující se koncentrací se zvětšovala tloušťka vrstvy |                                                                     |                                     | Poznámka: Všechny vytvořené vrstvy byly nehomogenní, s defekty                    |                                         |

## **8.4 Elektrické rozprašování PLGA v TFE**

### **8.4.1 Testování koncentrace**

Pro výrobu částic z PLGA v TFE byl zvolen postup výroby pouze pomocí DC elektrického zvlákňování, protože předchozí experimenty ukázaly, že AC elektrické zvlákňování je celkově pro tento experiment nevhodné. Připravené roztoky o různých koncentracích byly pomocí DC zdroje rozprašovány dle stanovených podmínek, které jsou uvedeny v Tabulce č. 7 včetně vyhodnocení chování jednotlivých koncentrací. Během DC elektrosprayingu byl průběh u všech roztoků stejný. Proces probíhal bez větších komplikací. Rozdíly se projevily až následně při mikroskopické analýze SEM. Bylo zjištěno, že roztok s nejnižší koncentrací (4 hm. %) vytvořil jednolitou vrstvu s místy viditelnými kulovitými částicemi. S postupně zvyšující se koncentrací vznikala více homogenní vrstva s oddělenými kulovitými částicemi o přibližně stejné velikosti. U roztoku o koncentraci 6 hm. % pak byly částice ze všech ostatních koncentrací nejdokonalejší a tento roztok byl zvolen jako výchozí pro další testování. U nejvýše koncentrovaného roztoku (10 hm. %) bylo možné pozorovat i vláknenné struktury. SEM snímky vrstev jsou na Obr. č. 52. Podrobné vyhodnocení experimentu je uvedeno v Tabulce č. 7.



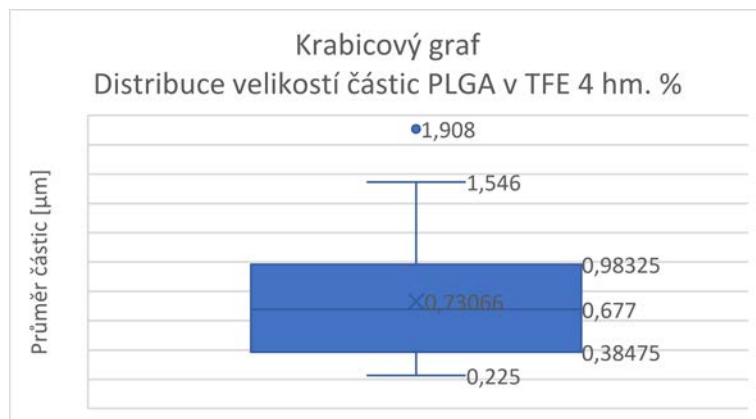
Obrázek 52: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PLGA v TFE pomocí DC elektrospayingu na podkladové SB textilii při zvětšení 5000x.

Tabulka 7: DC elektrospaying, Testování koncentrační řady

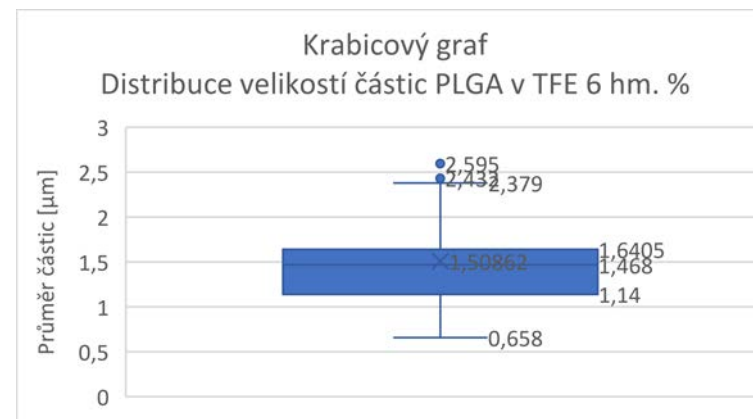
| PLGA v TFE          |                                                                                                                                                                                             |            |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
|                     | DC                                                                                                                                                                                          |            |
|                     | Podmínky:<br>teplota = 17 °C<br>vlhkost = 20 %<br>$VN = \frac{-10}{+10} \text{ kV}$<br>dávkování: 10–15 ml/hod<br>vzdálenost elektrod: 150 mm<br>průměr jehly: 0,80 x 40 mm<br>čas = 10 min |            |
| Koncentrace roztoku | Proces výroby + makroskopické hodnocení                                                                                                                                                     | SEM snímky |

|          |                                                                       |                                                        |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 10 hm. % | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Méně kapslí než u 10 hm. %, větší průměry, více vláken |
| 8 hm. %  | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Místy spojené kapsle, vlákna                           |
| 6 hm. %  | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Méně jednolitá vrstva než u 4 hm. %                    |
| 4 hm. %  | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Kapsle v jednolité vrstvě                              |

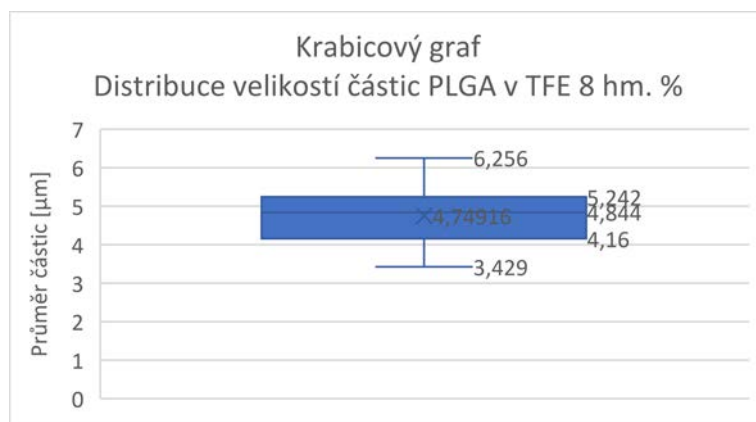
Jako ideální roztok pro další testování byl, na základě SEM analýzy, zvolen roztok o koncentraci 6 hm. %. Bylo tak vyhodnoceno dle SEM snímků, na kterých byly viditelné pravidelné sférické částice s měřitelným průměrem. Pomocí programu ImageJ byly průměry částic naměřeny a vyhodnoceny. Průměr částic byl u 6 hm. % roztoku přibližně  $1,5 \pm 0,6 \mu\text{m}$ . U 4 hm. % roztoku bylo naměřeno v průměru  $0,73 \pm 0,1 \mu\text{m}$ , tedy skoro poloviční velikost. Naopak u 8 hm. % roztoku byly naměřeny až 3x větší částice než u 6 hm. % roztoku a střední hodnota byla přibližně  $4,75 \pm 0,2 \mu\text{m}$ . 10 % roztok tvořil částice o průměrné velikosti  $1,65 \pm 0,3 \mu\text{m}$ , nicméně s relativně vysokou směrodatnou odchylkou ( $1,2 \mu\text{m}$ ) oproti předchozím koncentracím (4 hm. % -  $0,39 \mu\text{m}$ ; 6 hm. % -  $0,44 \mu\text{m}$ ; 8 hm. % -  $0,69 \mu\text{m}$ ). Celkové vyhodnocení bylo zaneseno do krabicových grafů (č.1, č.2, č.3, č.4), které jsou k porovnání níže.



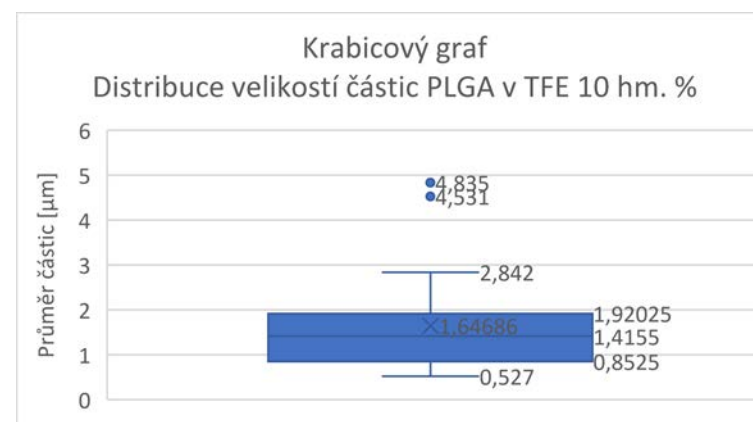
Graf 4: Distribuce velikostí částic PLGA v TFE 4 hm. %



Graf 3: Distribuce velikostí částic PLGA v TFE 6 hm. %



Graf 2: Distribuce velikostí částic PLGA v TFE 8 hm. %



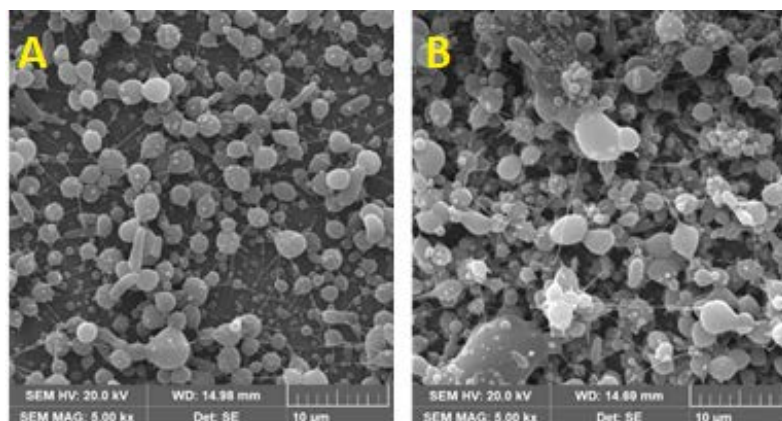
Graf 1: Distribuce velikostí částic PLGA v TFE 10 hm. %

### 8.4.2 Změna parametrů elektrosprayingu

Po vyhodnocení předchozích testů ohledně koncentrací byl jako nejideálnější roztok zvolen roztok s koncentrací 6 hm. % PLGA v TFE a bylo provedeno testování na základě úprav parametrů stejnosměrného zvlákňovacího stroje pro výběr ideálních podmínek pro další produkci (viz Tabulka č. 8). Roztok byl testován při čtyřech různých napětích:

1. pro dolní elektrodu +10 kV, pro horní -10 kV;
2. pro dolní +10 kV, pro horní -15 kV;
3. pro dolní +15 kV, pro horní -10 kV a
4. pro dolní +20 kV, pro horní -20 kV

ve třech různých vzdálenostech elektrody od kolektoru (150, 170 a 190 mm). Průběh sprejování byl u všech roztoků beze změn. Rozdíly se projeví až následně při SEM analýze (viz Obr. č. 53).



*Obrázek 53: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PLGA v TFE pomocí DC elektrosprayingu na podkladové SB textilií při zvětšení 5000x.*

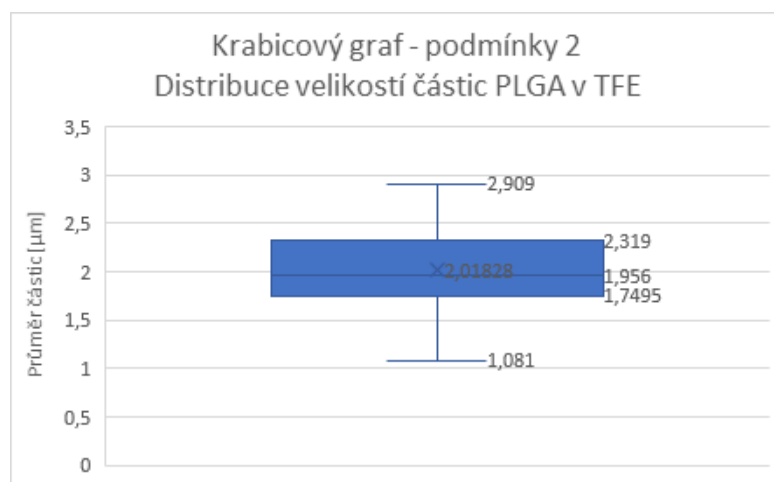
Tabulka 8: DC elektrospraying, - Testování parametrů sprejování

| PLGA v TFE     |                                                                                                                                                           |                          |                                                                       |                                               |
|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
|                | DC                                                                                                                                                        |                          |                                                                       |                                               |
|                | Podmínky:<br>koncentrace roztoku: 6 % PLGA v TFE<br>teplota = 16 °C<br>vlhkost = 20%<br>dávkování: 18 ml/hod<br>průměr jehly: 0,80 x 40 mm<br>čas = 5 min |                          |                                                                       |                                               |
| Pořadové číslo | Napětí horní elektroda [kV]                                                                                                                               | Vzdálenost elektrod [mm] | Proces výroby + makroskopické hodnocení                               | SEM snímky                                    |
|                | Napětí spodní elektroda [kV]                                                                                                                              |                          |                                                                       |                                               |
| 1              | -10 kV                                                                                                                                                    | 150 mm                   | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Shluky částic spíše v jedné vrstvě            |
|                | +10 kV                                                                                                                                                    |                          |                                                                       |                                               |
| 2              | -10 kV                                                                                                                                                    | 170 mm                   | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Samostatné částice přibližně stejné velikosti |
|                | +10 kV                                                                                                                                                    |                          |                                                                       |                                               |
| 3              | -10 kV                                                                                                                                                    | 190 mm                   |                                                                       | Shluky částic spíše v jedné vrstvě            |

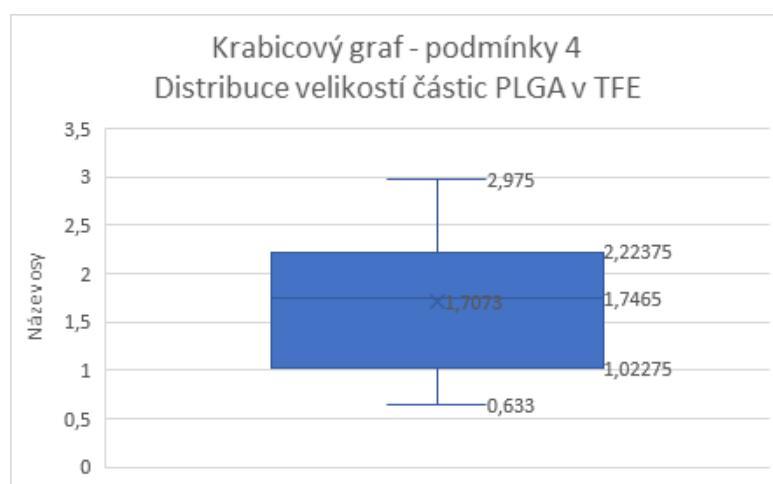
|   |        |        |                                                                       |                                                                       |
|---|--------|--------|-----------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
|   | +10 kV |        | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů |                                                                       |
| 4 | -15 kV | 150 mm | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Relativně samostatné částice přibližně stejné velikosti, místy vlákna |
|   | +10 kV |        |                                                                       |                                                                       |
| 5 | -10 kV | 150 mm | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Shluky částic spíše v jedné vrstvě, místy vlákna                      |
|   | +15 kV |        |                                                                       |                                                                       |
| 6 | -20 kV | 150 mm | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Shluky částic spíše v jedné vrstvě, místy vlákna                      |
|   | +20 kV |        |                                                                       |                                                                       |
| 7 | -15 kV | 170 mm | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Shluky částic spíše v jedné vrstvě, místy vlákna                      |
|   | +10 kV |        |                                                                       |                                                                       |
| 8 | -10 kV | 170 mm | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Shluky částic spíše v jedné vrstvě, místy vlákna                      |
|   | +15 kV |        |                                                                       |                                                                       |
| 9 | -20 kV | 170 mm | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Shluky částic spíše v jedné vrstvě, místy vlákna                      |
|   | +20 kV |        |                                                                       |                                                                       |

|    |        |        |                                                                       |                                                                                        |
|----|--------|--------|-----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 10 | -15 kV | 190 mm | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Shluky částic spíše v jedné vrstvě s mnohem menšími částicemi na povrchu, místy vlákna |
|    | +10 kV |        |                                                                       |                                                                                        |
| 11 | -10 kV | 190 mm | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Shluky částic spíše v jedné vrstvě s mnohem menšími částicemi na povrchu, místy vlákna |
|    | +15 kV |        |                                                                       |                                                                                        |
| 12 | -20 kV | 190 mm | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Shluky částic spíše v jedné vrstvě s mnohem menšími částicemi na povrchu, místy vlákna |
|    | +20 kV |        |                                                                       |                                                                                        |

Pro finální testování s inkorporací MMC byly zvoleny podmínky č. 2 a č. 4 na základě SEM analýzy. Částice dle takto nastavených parametrů byly sférické, přibližně stejné velikosti s dobře měřitelným průměrem. Vrstva byla homogenní v obou případech. Průměr částic dle podmínek 2 byl přibližně  $2 \pm 0,1 \mu\text{m}$ , dle podmínek 4 byl průměr cca  $1,7 \pm 0,2 \mu\text{m}$ . Celkové vyhodnocení bylo zaneseno do krabicových grafů č.5 a č.6.



Graf 5: Analýza průměrů částic PLGA v TFE dle podmínek 2



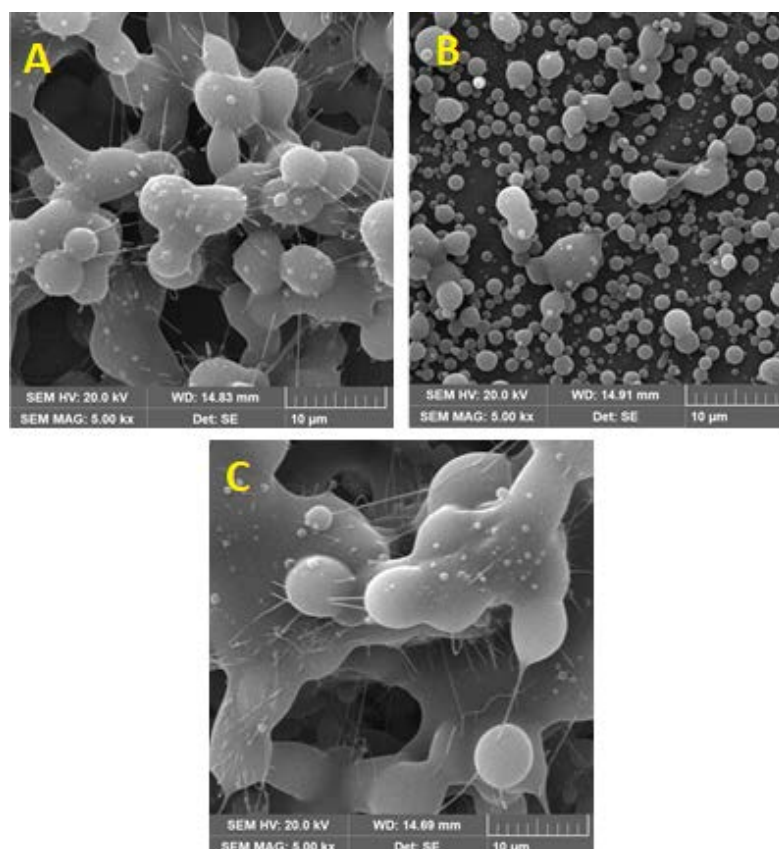
Graf 6: Analýza průměrů částic PLGA v TFE dle podmínek 4

Distribuce velikosti částic dle podmínek 2 byla poněkud užší než v případě podmínek 4. Za podmínek 4 vznikaly částice o velikosti od 0,6  $\mu\text{m}$  až do necelých 3  $\mu\text{m}$ . V případě podmínek 2 byla minimální velikost přibližně 1,1  $\mu\text{m}$  a maximální necelé 3  $\mu\text{m}$ . Z čehož vyplývá, že lepší je rozprašování za podmínek 2, a proto byly tyto podmínky zvoleny pro další testování.

### 8.4.3 Testování finálního roztoku PLGA v TFE s inkorporací MMC

Připravený roztok o předem stanovené koncentraci 6 hm. % s inkorporovaným MMC byl pomocí DC zvlákňovacího stroje rozprašován na podkladovou textilii s následným vyhodnocením. Pro analýzu velikostí kapslí byla jako podklad zvolena aluminiová fólie a pro další analýzy pak byla použita spunbond (SB) netkaná textilie. U aluminiové fólie bylo odzkoušeno sprejování i dle podmínek 4. U SB bylo použito rozvádění a pomalé převíjení.

Průběh sprejování byl ve všech třech případech bez větších komplikací. Během SEM analýzy bylo zjištěno, že roztok se s inkorporovaným MMC choval odlišně než bez něj. Částice, které byly v předchozím případě dle podmínek 2 oddělené, patrného sférického tvaru, tvořily shluky, a naopak za podmínek 4 byly vytvořeny samostatné kapsle. SEM snímky vrstev jsou na Obr. č. 54. Podrobné vyhodnocení experimentu je uvedeno v Tabulce č. 9.

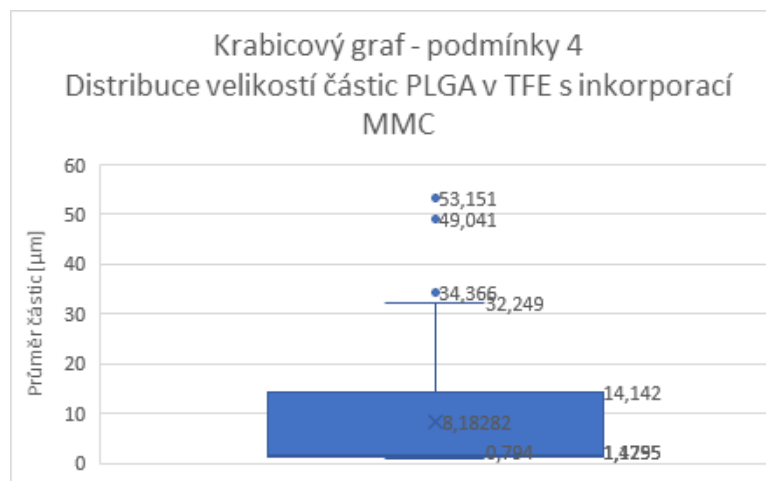


Obrázek 54: Porovnání SEM snímků vytvořených částic PLGA v TFE s inkorporací MMC pomocí DC elektrosprayingu zvětšení 5000x.

Tabulka 9: DC elektrospraying, - Testování finálního roztoku PLGA v TFE s inkorporací MMC

| PLGA v TFE s inkorporací MMC |                                                                                                                                                                        |                          |           |                  |                  |                                                                       |                                                                    |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-----------|------------------|------------------|-----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
|                              | DC                                                                                                                                                                     |                          |           |                  |                  |                                                                       |                                                                    |
|                              | Podmínky:<br>koncentrace roztoku: 6 % PLGA v TFE s inkorporací MMC (120 µl)<br>teplota = 17 °C<br>vlhkost = 25 %<br>dávkování: 18 ml/hod<br>průměr jehly: 0,80 x 40 mm |                          |           |                  |                  |                                                                       |                                                                    |
| Podkladová vrstva            | Napětí horní elektroda [kV]                                                                                                                                            | Vzdálenost elektrod [mm] | Čas [min] | Rozvádění [mm/s] | Převíjení [mm/s] | Proces výroby + makroskopické hodnocení                               | SEM snímky                                                         |
|                              | Napětí spodní elektroda [kV]                                                                                                                                           |                          |           |                  |                  |                                                                       |                                                                    |
| Aluminiová folie             | -10 kV                                                                                                                                                                 | 170 mm                   | 5 min     | -                | -                | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Spíše shluky částic                                                |
|                              | +10 kV                                                                                                                                                                 |                          |           |                  |                  |                                                                       |                                                                    |
| Aluminiová folie             | -15 kV                                                                                                                                                                 | 150 mm                   | 5 min     | -                | -                | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Samostatné částice přibližně stejné velikosti s menšími odchylkami |
|                              | +10 kV                                                                                                                                                                 |                          |           |                  |                  |                                                                       |                                                                    |
|                              | -10 kV                                                                                                                                                                 | 170 mm                   |           | 2 mm/s           | 0,1 mm/s         |                                                                       |                                                                    |

|                     |        |  |        |  |  |                                                                       |                                       |
|---------------------|--------|--|--------|--|--|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| SB netkaná textilie | +10 kV |  | 10 min |  |  | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů | Shluky částic spíše v jedolité vrstvě |
|---------------------|--------|--|--------|--|--|-----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|

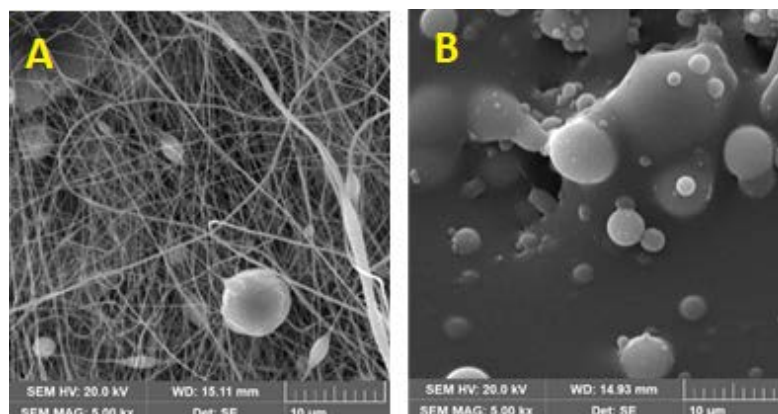


*Graf 7: Analýza průměrů částic PLGA v TFE s inkorporací MMC dle podmínek 4*

Finálně byla distribuce velikosti kapslí vyhodnocena pouze pro podmínky 4, jelikož za těchto podmínek byly vytvořeny samostatné kapsle s měřitelným průměrem. Byly zjištěny velké odchylky a široký rozptyl velikostí od 0,8  $\mu\text{m}$  do 53,2  $\mu\text{m}$ . Průměr kapslí byl přibližně  $8,2 \pm 3,75 \mu\text{m}$ , tedy více než 4,8x větší než bez inkorporace MMC. To mohlo být způsobeno obsahem molekul MMC, čímž vzrostl průměr a také horší zvláknitelností. Celkové vyhodnocení bylo zaneseno do krabicového grafu č.7.

## 8.5 Funkcionalizace nanovláknenné vrstvy PVDF

Finálně byla dle předchozích testování funkcionalizována nanovláknenná vrstva PVDF částicemi PLGA v TFE s inkorporovaným MMC. Vrstva PVDF byla předem vyrobena na zařízení Nanospider™ s průměrem vláken 325,45 nm. V rámci experimentu sloužila pouze jako podklad pro výrobu kompozitního implantátu a součástí experimentu nebyla její výroba, ale pouze modifikace kapslemi. Kompozit byl vyroben na DC elektrickém zvlákňovacím stroji. V průběhu experimentu bylo vyzkoušeno více parametrů sprejování a finální vrstva byla vyrobena dle podmínek uvedených v Tabulce č. 10). Průběh sprejování byl bez větších komplikací. Vrstva PVDF byla připevněna na deskový kolektor a proces výroby trval přibližně 90 min. Během SEM analýzy bylo zjištěno, že roztok vytvořil jednodlitou vrstvu zaglomerovaných částic PLGA. To mohlo být způsobeno např. nedostatečným odpařením rozpouštědla, které vrstvu PVDF rozpustilo. SEM snímky vrstev jsou na Obr. č. 55. Podrobné vyhodnocení experimentu je uvedeno v Tabulce č. 10. Během SEM analýzy byla také provedena SEM – EDX analýza za účelem identifikace přítomnosti MMC v PLGA kapslích (viz Obr. č. 56 a 57).



*Obrázek 55: Porovnání SEM snímků čisté a funkcionalizované PVDF vrstvy při zvětšení 5000x.*

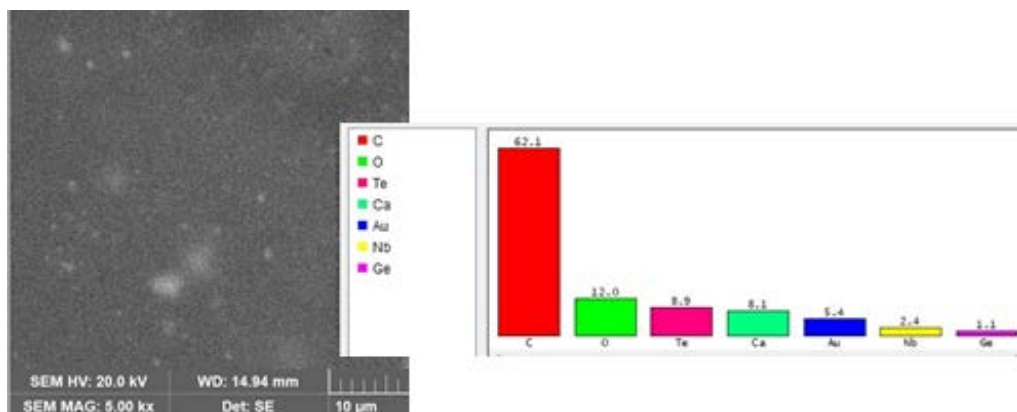
Tabulka 10: DC elektrospraying, - Funkcionalizace PVDF vrstvy PLG částicemi TFE s inkorporací MMC

| PLGA v TFE s inkorporací MMC na vrstvě PVDF |                                                                                                                                                                                                                                                              |                                         |
|---------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
|                                             | DC                                                                                                                                                                                                                                                           |                                         |
|                                             | Podmínky:<br>koncentrace roztoku: 6 % PLGA v TFE s inkorporací MMC (120 µl)<br>teplota = 16,6 °C<br>vlhkost = 20 %<br>$VN = \frac{-15}{+10} \text{ kV}$<br>vzdálenost elektrod: 190 mm<br>dávkování: 18 ml/hod<br>čas = 90 min<br>průměr jehly: 0,80 x 40 mm |                                         |
|                                             | Proces výroby + makroskopické hodnocení                                                                                                                                                                                                                      | SEM snímky                              |
|                                             | Sprejování probíhalo bez komplikací, vznikla tenká vrstva bez defektů                                                                                                                                                                                        | Spíše shluky částic až jednolitá vrstva |

### 8.5.1 SEM – EDX analýza

EDX analýza neboli Energy Dispersive X-Ray Analysis (Energeticky disperzní rentgenová analýza) je rentgenová technika používaná k identifikaci elementárního složení materiálů. Systémy EDX jsou doplňkem elektronové mikroskopie (SEM nebo TEM = transmisní elektronová mikroskopie). Zobrazovací schopnost mikroskopu identifikuje požadovaný vzorek a následně vygenerovaná data vykreslí pomocí grafu vrcholy odpovídající prvkům z nichž se daný vzorek skládá [63].

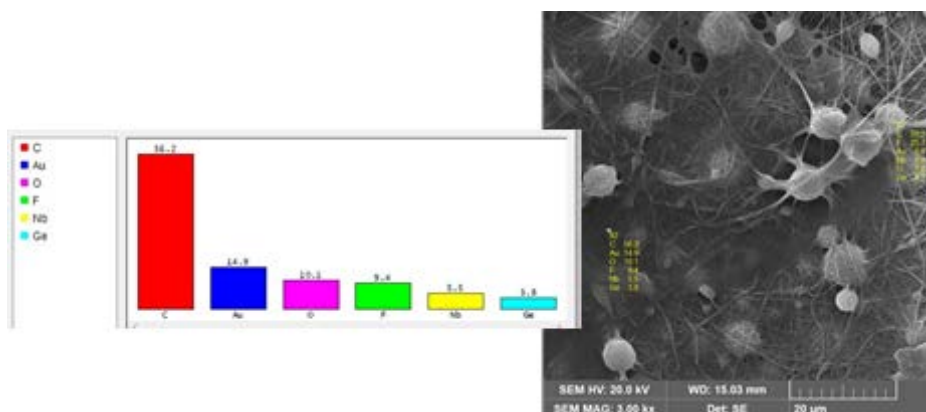
EDX analýza byla použita pro identifikaci obsahu MMC ve funkcionalizované vrstvě, a to na základě rozboru samostatné PLGA částice s obsahem MMC a čisté PVDF vrstvy. Vycházelo se z to, že chemické složení PVDF vrstvy je odlišné od chemického složení MMC.



Obrázek 57: EDX analýza – SEM snímky funkcionalizované PVDF vrstvy pomocí elektrosprayingu

6 % roztok PLGA v TFE s inkorporací MMC při zvětšení 3000x.

Rozbor PLGA s MMC



Obrázek 56: EDX analýza – SEM snímky vytvořených částic elektrosprayingem na PVDF vrstvu.

6 % roztok PLGA v TFE s inkorporací MMC při zvětšení 3000x.

Rozbor čisté PVDF

Dle EDX analýzy bylo vyhodnoceno, že vrstva PVDF funkcionalizovaná částicemi PLGA skutečně obsahuje MMC, a to na základě rozdílu obsahu prvků. Konkrétně fluoru (F), který se vyskytuje pouze v polymeru PVDF, ale nikoli v MMC.

### 8.5.2 HPLC analýza

HPLC analýza neboli High-performance liquid chromatography (Vysoce účinná kapalinová chromatografie nebo vysokotlaká kapalinová chromatografie) je chromatografická metoda, která se používá k oddělení směsi sloučenin v analytické chemii a biochemii za účelem identifikace, kvantifikace nebo čištění jednotlivých složek směsi.

Vzorky se v malém množství proženou kolonou (mobilní fáze) různými rychlostmi kde směs interaguje se sorbentem (stacionární fáze). Sorbent jsou částice, které mohou být různého charakteru (hydrofobní, polární). Mobilní fáze může být sloučenina vody a organických rozpouštědel, ale i bezvodá. Může být po celou dobu konstantní nebo proměnlivá. Rychlost každé složky ve směsi závisí na její chemické povaze, povaze kolony a složení mobilní fáze. Čas, kdy konkrétní analyt vychází ze sloupce, se označuje jako jeho retenční čas. Retenční čas se měří za konkrétních podmínek a považuje se za identifikační charakteristiku daného analytu [64].

HPLC je přesnější metodou EDX analýzy, která je schopna identifikovat velmi malá množství látek, jako je MMC a měla být společně s EDX analýzou dalším vyhodnocovacím médiem pro tento experiment. Bohužel z časových důvodů a covidových opatření nebyla analýza provedena.

## 9 Závěr

Diplomová práce byla zaměřena na výzkum a vývoj polymerních částic s inkorporací antimetabolitu, konkrétně Mitomycinu C, pomocí elektrosprayingu. Částice byly určeny pro funkcionalizaci implantátu z polyvinylidenfluoridu pro použití při léčbě očního glaukomu. V teoretické části byla popsána problematika glaukomu, jeho rozdělení a současné způsoby léčby. Dále byl podrobně popsán proces elektrického rozprašování a jeho možnosti využití v rámci experimentu.

Experimentální část byla soustředěna na výběr vhodného biodegradabilního polymeru pro výrobu kapslí. Na základě zkušeností a znalostí byly vybrány alifatické polyestery, které se již v biomedicině využívají a z hlediska biokompatibility jsou vhodné pro užití v lidském organismu. Polymery byly testovány na elektricky zvlákňujících strojích využívajících AC a DC elektrické napětí

Celkem byly testovány tři alifatické polyestery, konkrétně PLA, PCL a PLGA. Výzkum se vyvíjel na základě stanovení vhodné koncentrace daného polymeru, při které byly částice dokonalého sférického tvaru s měřitelným průměrem, vhodné pro inkorporování MMC.

Z celé škály provedených experimentů se nejoptimálnějším polymerem pro tvorbu kapslí jevil 6 hm % roztok PLGA v TFE. Velikost částic z tohoto polymeru za stanovených podmínek se pohybovala okolo 2  $\mu\text{m}$ . Po inkorporaci MMC se chování polymeru změnilo a podmínky bylo nutno upravit. Velikost kapslí nesoucích MMC byla přibližně 8,2  $\mu\text{m}$ , ale celková distribuce byla velmi široká. V konečné fázi byla těmito částicemi funkcionalizována nanovlákněná PVDF vrstva, která byla podrobena podrobnější analýze. Konkrétně šlo o SEM – EDX analýzu, která stanovila přítomnost MMC ve funkcionalizované vrstvě. Nicméně samostatná obrazová SEM analýza potvrdila, že funkcionalizace nebyla dostatečně úspěšná a bylo by vhodné provést další průzkum této oblasti.

V návaznosti na tuto práci bych navrhovala pokračovat ve vývoji optimálních podmínek, za kterých by povrch PVDF vrstvy obsahoval dokonale sférické kapsle obsahující MMC. Vyrobenou vrstvu by bylo také vhodné podrobit HPLC analýze pro podrobnější identifikaci prvkového složení. Výsledný materiál by následně mohl být testován z hlediska degradace.

# Literatura

- [1] Oko: struktura a funkce. Národní zdravotnický informační portál [online]. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR [cit. 2021-5-13]. ISSN 2695-0340. Dostupné z: <https://www.nzip.cz/clanek/375-oko-struktura-a-funkce>
- [2] SYNEK, Svatopluk a Šárka SKORKOVSKÁ. Fyziologie oka a vidění. 2., dopl. a přeprac. vyd. Praha: Grada, 2014. ISBN 978-80-247-3992-2.
- [3] QUIGLEY, H A. The number of people with glaucoma worldwide in 2010 and 2020. British Journal of Ophthalmology [online]. 2006, 90(3), 262-267 [cit. 2021-5-27]. ISSN 0007-1161. Dostupné z: doi:10.1136/bjo.2005.081224
- [4] JONAS, Jost B, Tin AUNG, Rupert R BOURNE, Alain M BRON, Robert RITCH a Songhomitra PANDA-JONAS. Glaucoma. The Lancet [online]. 2017, 390(10108), 2183-2193 [cit. 2021-5-27]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(17)31469-1
- [5] Typy glaukomu. National Eye Institut [online]. 2020 [cit. 2021-03-07]. Dostupné z: <https://www.nei.nih.gov/learn-about-eye-health/eye-conditions-and-diseases/glaucoma/types-glaucoma>
- [6] WEINREB, Robert N., Tin AUNG a Felipe A. MEDEIROS. The Pathophysiology and Treatment of Glaucoma. JAMA [online]. 2014, 311(18) [cit. 2021-03-07]. ISSN 0098-7484. Dostupné z: doi:10.1001/jama.2014.3192
- [7] WEINREB, Robert N a Peng Tee KHAW. Primary open-angle glaucoma. The Lancet [online]. 2004, 363(9422), 1711-1720 [cit. 2021-5-27]. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(04)16257-0
- [8] Natural history of normal-tension glaucoma. Ophthalmology [online]. 108(2), 247-253 [cit. 2021-03-07]. ISSN 01616420. Dostupné z: doi:10.1016/S0161-6420(00)00518-2
- [9] GIANGIACOMO, Annette a Allen BECK. Pediatric glaucoma. Current Opinion in Ophthalmology [online]. 2017, 28(2), 199-203 [cit. 2021-03-07]. ISSN 1040-8738. Dostupné z: doi:10.1097/ICU.0000000000000349

- [10] BAI, Hai-Qing, Lin YAO, DA-BO WANG, Rui JIN a Yun-Xiao WANG. Causes and Treatments of Traumatic Secondary Glaucoma. *European Journal of Ophthalmology* [online]. 2018, 19(2), 201-206 [cit. 2021-03-07]. ISSN 1120-6721. Dostupné z: doi:10.1177/112067210901900205
- [11] FARRAR, Stephen M. a M.Bruce SHIELDS. Current concepts in pigmentary glaucoma. *Survey of Ophthalmology* [online]. 1993, 37(4), 233-252 [cit. 2021-03-09]. ISSN 00396257. Dostupné z: doi:10.1016/0039-6257(93)90008-U
- [12] MIGLIOR, Stefano a Francesca BERTUZZI. Exfoliative glaucoma. *New Trends in Basic and Clinical Research of Glaucoma: A Neurodegenerative Disease of the Visual System, Part B* [online]. Elsevier, 2015, 2015, s. 233-241 [cit. 2021-03-09]. *Progress in Brain Research*. ISBN 9780128046081. Dostupné z: doi:10.1016/bs.pbr.2015.06.007
- [13] SHIMIZU, Ai, Kazuichi MARUYAMA, Yu YOKOYAMA, Satoru TSUDA, Morin RYU a Toru NAKAZAWA. Characteristics of uveitic glaucoma and evaluation of its surgical treatment. *Clinical Ophthalmology* [online]. [cit. 2021-03-09]. ISSN 1177-5483. Dostupné z: doi:10.2147/OPTH.S72383
- [14] SIHOTA, R., N. N. SOOD a H. C. AGARWAL. Traumatic glaucoma. *Acta Ophthalmologica Scandinavica* [online]. 1995, 73(3), 252-254 [cit. 2021-03-08]. ISSN 13953907. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0420.1995.tb00279.x
- [15] LEE, David A. a Eve J. HIGGINBOTHAM. Glaucoma and its treatment: A review. *American Journal of Health-System Pharmacy* [online]. 2005, 62(7), 691-699 [cit. 2021-5-27]. ISSN 1079-2082. Dostupné z: doi:10.1093/ajhp/62.7.691
- [16] Léky na glaukom. National Eye Institut [online]. 2019 [cit. 2021-03-08]. Dostupné z: <https://www.nei.nih.gov/learn-about-eye-health/eye-conditions-and-diseases/glaucoma/glaucoma-medicines>
- [17] FRISHMAN, William H. Beta-Adrenergic Blockers. *Circulation* [online]. 2003, 107(18) [cit. 2021-03-08]. ISSN 0009-7322. Dostupné z: doi:10.1161/01.CIR.0000070983.15903.A2
- [18] CONLON, Ronan, Hady SAHEB a Iqbal Ike K. AHMED. Glaucoma treatment trends: a review. *Canadian Journal of Ophthalmology* [online]. 2017, 52(1), 114-124 [cit. 2021-01-07]. ISSN 00084182. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcjo.2016.07.013

- [19] Glaukom. Mayo Clinic [online]. Mayo Foundation for Medical Education and Research (MFMER), 2021 [cit. 2021-03-08]. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/glaucoma/diagnosis-treatment/drc-20372846>
- [20] TICHIO, Uriel. Laser Trabeculoplasty in Glaucoma. Archives of Ophthalmology [online]. 1989, 107(6) [cit. 2021-5-27]. ISSN 0003-9950. Dostupné z: [doi:10.1001/archophth.1989.01070010866031](https://doi.org/10.1001/archophth.1989.01070010866031)
- [21] VAN BUSKIRK, E. Michael, Valerie POND, Robert C. ROSENQUIST a Ted S. ACOTT. Argon Laser Trabeculoplasty. Ophthalmology [online]. 1984, 91(9), 1005-1010 [cit. 2021-03-13]. ISSN 01616420. Dostupné z: [doi:10.1016/S0161-6420\(84\)34197-5](https://doi.org/10.1016/S0161-6420(84)34197-5)
- [22] REISS, George R., Jacob T. WILENSKY a Eve J. HIGGINBOTHAM. Laser trabeculoplasty. Survey of Ophthalmology [online]. 1991, 35(6), 407-428 [cit. 2021-03-13]. ISSN 00396257. Dostupné z: [doi:10.1016/0039-6257\(91\)90106-P](https://doi.org/10.1016/0039-6257(91)90106-P)
- [23] DAMJI, K. F, K. C SHAH, W. J ROCK, H. S BAINS a W. G HODGE. Selective laser trabeculoplasty v argon laser trabeculoplasty: a prospective randomised clinical trial. British Journal of Ophthalmology [online]. 1999, 83(6), 718-722 [cit. 2021-5-27]. ISSN 0007-1161. Dostupné z: [doi:10.1136/bjo.83.6.718](https://doi.org/10.1136/bjo.83.6.718)
- [24] LEE, Jacky W. Y., Gordon S. K. YAU, Doris W. F. YICK a Can Y. F. YUEN. MicroPulse Laser Trabeculoplasty for the Treatment of Open-Angle Glaucoma. Medicine [online]. 2015, 94(49) [cit. 2021-03-13]. ISSN 0025-7974. Dostupné z: [doi:10.1097/MD.0000000000002075](https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002075)
- [25] HE, Mingguang, Yuzhen JIANG, Shengsong HUANG, Dolly S CHANG, Beatriz MUNOZ, Tin AUNG, Paul J FOSTER a David S FRIEDMAN. Laser peripheral iridotomy for the prevention of angle closure: a single-centre, randomised controlled trial. The Lancet [online]. 2019, 393(10181), 1609-1618 [cit. 2021-5-27]. ISSN 01406736. Dostupné z: [doi:10.1016/S0140-6736\(18\)32607-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)32607-2)
- [26] CARETTI, Luigi a Lucio BURATTO, ed. Glaucoma Surgery [online]. Cham: Springer International Publishing, 2018 [cit. 2021-03-14]. ISBN 978-3-319-64854-5. Dostupné z: [doi:10.1007/978-3-319-64855-2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-64855-2)

- [27] LIM, K S, B D S ALLAN, A W LLOYD, et al. Glaucoma drainage devices; past, present, and future. *British Journal of Ophthalmology* [online]. 1998, 82(9), 1083-1089 [cit. 2021-04-18]. ISSN 0007-1161. Dostupné z: doi:10.1136/bjo.82.9.1083
- [28] Types of Glaucoma Drainage Devices. *New Glaucoma Treatments* [online]. Glaucoma Healthhub by Dr. David Richardson, MD, 2014 [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: <https://new-glaucoma-treatments.com/risks-of-glaucoma-drainage-devices/>
- [29] Risks Of Glaucoma Drainage Devices. *New Glaucoma Treatments* [online]. Glaucoma Healthhub by Dr. David Richardson, MD, 2014 [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: <https://new-glaucoma-treatments.com/risks-of-glaucoma-drainage-devices/>
- [30] PILLUNAT, Lutz E, Carl ERB, Anselm GM JÜNEMANN a Friedemann KIMMICH. Micro-invasive glaucoma surgery (MIGS): a review of surgical procedures using stents. *Clinical Ophthalmology* [online]. 2017, 11, 1583-1600 [cit. 2021-5-2]. ISSN 1177-5483. Dostupné z: doi:10.2147/OPHTH.S135316
- [31] GABBAY, Itay E a Simon RUBEN. CyPass® Micro-Stent Safety and Efficacy at One Year: What Have We Learned? *Journal of Current Glaucoma Practice* [online]. 2019, 13(3), 99-103 [cit. 2021-5-2]. ISSN 0974-0333. Dostupné z: doi:10.5005/jp-journals-10078-1264
- [32] YUAN, Fei, Lei LI, Xiuping CHEN, Xiang YAN a Liyang WANG. Biodegradable 3D-Porous Collagen Matrix (Ologen) Compared with Mitomycin C for Treatment of Primary Open-Angle Glaucoma: Results at 5 Years. *Journal of Ophthalmology* [online]. 2015, 2015, 1-7 [cit. 2021-04-20]. ISSN 2090-004X. Dostupné z: doi:10.1155/2015/637537
- [33] Use of the biodegradable collagen matrix (Ologen) implant in trabeculectomy - surgical technique and clinical cases. *Grupo Portugues De Glaucoma* [online]. 2018 [cit. 2021-04-20]. Dostupné z: <https://glaucoma-answers.org/en/home/use-biodegradable-collagen-matrix-ologen>
- [34] Rosentreter, A., Mellein, AC, Konen, WW a kol. Vyřízení tobolek a implantace Ologen™ pro revizi po operaci drenážního zařízení pro glaukom. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 248, 1319–1324 (2010). <https://doi.org/10.1007/s00417-010-1385-y>

- [35] BICKET, Amanda Kiely, Julia SZETO, Peter ROEBER, et al. A novel bilayered expanded polytetrafluoroethylene glaucoma implant creates a permeable thin capsule independent of aqueous humor exposure. *Bioengineering & Translational Medicine* [online]. 2021, 6(1) [cit. 2021-4-28]. ISSN 2380-6761. Dostupné z: doi:10.1002/btm2.10179
- [36] CILLINO, Salvatore, Lucio ZEPPA, Francesco DI PACE, Alessandra CASUCCIO, Daniele MORREALE, Fabio BOCCHETTA a Gaetano LODATO. E-PTFE (Gore-Tex®) implant with or without low-dosage mitomycin-C as an adjuvant in penetrating glaucoma surgery: 2 year randomized clinical trial. *Acta Ophthalmologica* [online]. 2008, 86(3), 314-321 [cit. 2021-4-28]. ISSN 1755375X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0420.2007.01036.x
- [37] WISCHKE, Christian, Axel T. NEFFE, Bui Duc HANH, Christine F. KREINER, Katrin STERNBERG, Oliver STACHS, Rudolf F. GUTHOFF a Andreas LENDLEIN. A multifunctional bilayered microstent as glaucoma drainage device. *Journal of Controlled Release* [online]. 2013, 172(3), 1002-1010 [cit. 2021-5-19]. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/j.jconrel.2013.10.021
- [38] JAWOREK, A., A. KRUPA, M. LACKOWSKI, A.T. SOBCZYK, T. CZECH, S. RAMAKRISHNA, S. SUNDARRAJAN a D. PLISZKA. Nanocomposite fabric formation by electrospinning and electrospraying technologies. *Journal of Electrostatics* [online]. 2009, 67(2-3), 435-438 [cit. 2021-5-15]. ISSN 03043886. Dostupné z: doi:10.1016/j.elstat.2008.12.019
- [39] JAWOREK, A. Micro- and nanoparticle production by electrospraying. *Powder Technology* [online]. 2007, 176(1), 18-35 [cit. 2021-03-21]. ISSN 00325910. Dostupné z: doi:10.1016/j.powtec.2007.01.035
- [40] LUKÁŠ CSC., prof. RNDr. David. Fyzikální principy tvorby nanovláken - Skriptum [online]. Technická univerzita v Liberci, 2020 [cit. 2021-03-22]. Skriptum. Technická univerzita v Liberci.
- [41] Povrchové napětí a kapky. *HyperPhysics* [online]. Gorgia State University [cit. 2021-03-21]. Dostupné z: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/surten2.html>
- [42] ZEMAN, Radek. Gaussův zákon elektrostatiky. *Online School* [online]. ©2020 [cit. 2021-03-23]. Dostupné z: <https://onlineschool.cz/fyzika/gaussuv-zakon-elektrostatiky/>

- [43] BOCK, Nathalie, Maria A. WOODRUFF, Dietmar W. HUTMACHER a Tim R. DARGAVILLE. Electrospraying, a Reproducible Method for Production of Polymeric Microspheres for Biomedical Applications. *Polymers* [online]. 2011, 3(1), 131-149 [cit. 2021-03-24]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym3010131
- [44] SEYEDNEJAD, Hajar, Amir H. GHASSEMI, Cornelius F. VAN NOSTRUM, Tina VERMONDEN a Wim E. HENNINK. Functional aliphatic polyesters for biomedical and pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release* [online]. 2011, 152(1), 168-176 [cit. 2021-5-27]. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/j.jconrel.2010.12.016
- [45] Drumright, R.E., Gruber, P.R. and Henton, D.E. (2000), Polylactic Acid Technology. *Adv. Mater.*, 12: 1841-1846. [https://doi.org/10.1002/1521-4095\(200012\)12:23<1841::AID-ADMA1841>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/1521-4095(200012)12:23<1841::AID-ADMA1841>3.0.CO;2-E)
- [46] LUKÁŠ, CSC., Prof. RNDr. David a Ing. Lenka MARTINOVÁ, CSC. Lékařské textilie [online]. 2. díl. Praha 1: Vydala Asociace inovačního podnikání ČR, 2008 [cit. 2021-5-5].
- [47] WOODRUFF, Maria Ann a Dietmar Werner HUTMACHER. The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science* [online]. 2010, 35(10), 1217-1256 [cit. 2021-5-16]. ISSN 00796700. Dostupné z: doi:10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002
- [48] MCKEEN, Laurence. Renewable Resource and Biodegradable Polymers. The Effect of Sterilization on Plastics and Elastomers [online]. Elsevier, 2012, 2012, s. 305-317 [cit. 2021-5-16]. ISBN 9781455725984. Dostupné z: doi:10.1016/B978-1-4557-2598-4.00012-5
- [49] AZIMI, Bahareh, Parviz NOURPANAH, Mohammad RABIEE a Shahram ARBAB. Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) Fiber: An Overview. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics* [online]. 2014, 9(3) [cit. 2021-5-16]. ISSN 1558-9250. Dostupné z: doi:10.1177/155892501400900309
- [50] MAKADIA, Hirenkumar K. a Steven J. SIEGEL. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers* [online]. 2011, 3(3), 1377-1397 [cit. 2021-5-18]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym3031377

- [51] POLYVINYLLIDENE DIFLUORIDE (PVDF). Polymer Properties Database [online]. 2021 [cit. 2021-5-19]. Dostupné z: <https://polymerdatabase.com/Polymer%20Brands/PVDF.html>
- [52] KLINGE, U., B. KLOSTERHALFEN, A.P. ÖTTINGER, K. JUNGE a V. SCHUMPELICK. PVDF as a new polymer for the construction of surgical meshes. Biomaterials [online]. 2002, 23(16), 3487-3493 [cit. 2021-5-19]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(02)00070-4
- [53] PubChem [online]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 6212, Chloroform; [cit. 2021-5-19]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chloroform>
- [54] PubChem [online]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 702, Ethanol; [cit. 2021-5-19]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethanol>
- [55] PubChem [online]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 176, Acetic acid; [cit. 2021-5-19]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetic-acid>
- [56] PubChem [Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 6409, 2,2,2-Trifluoroethanol; [cit. 2021-5-19]. Available from: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2\\_2\\_2-Trifluoroethanol](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_2_2-Trifluoroethanol)
- [57] PubChem [online]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (USA), National Center for Biotechnology Information; 2004-. Souhrn sloučeniny PubChem pro CID 6344, dichlormethan; [cit. 2021 26. května]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dichloromethan>
- [58] PubChem [online]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (USA), National Center for Biotechnology Information; 2004-. Souhrn sloučeniny PubChem pro CID 1068, dimethylsulfid; [cit. 2021 26. května]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dimethyl-sulfide>

- [59] PubChem [online]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 5746, Mitomycin; [cit. 2021-5-19]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mitomycin>
- [60] TOMASZ, Maria. Mitomycin C: small, fast and deadly (but very selective). Chemistry & Biology [online]. 1995, 2(9), 575-579 [cit. 2021-5-22]. ISSN 10745521. Dostupné z: doi:10.1016/1074-5521(95)90120-5
- [61] Předávací dokument ke spinneru 2: Návod k obsluze stroje. Technická univerzita v Liberci - Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, 2013.
- [62] Technická dokumentace AC zvlákňovacího zařízení pro výrobu kompozitní příze s obsahem nanováken KOPRIS 2: Uživatelský manuál - technické podmínky. Technická univerzita v Liberci, 2018.
- [63] GARRATT-REED, A. J. a D. C. BELL. Energy-dispersive X-ray analysis in the electron microscope. Oxford: BIOS, 2003. ISBN 1859961096.
- [64] Hamilton R.J., Sewell P.A. (1982) Introduction to high performance liquid chromatography. In: Hamilton R.J., Sewell P.A. (eds) Introduction to high performance liquid chromatography. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-009-5938-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-009-5938-5_1)

## Citace obrázků

[1] Schematic diagram of the human eye. Wikipedia: the free encyclopedia [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2009 [cit. 2021-5-13]. Dostupné z: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Schematic\\_diagram\\_of\\_the\\_human\\_eye\\_en.svg?uselang=cs](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Schematic_diagram_of_the_human_eye_en.svg?uselang=cs)

[2] What is Glaucoma? Testing and Treatment. Eyecare Associates: of Lee's Summit [online]. 2020 [cit. 2021-01-07]. Dostupné z: <https://www.eyecarels.com/glaucoma/>

[3] TREATING AND CONTROLLING GLAUCOMA. Insight Vision Center [online]. 2021 [cit. 2021-03-02]. Dostupné z: <https://www.insightvisioncenter.com/treating-and-controlling-glaucoma/>

[4] Types of glaucoma. Glaucoma Research Foundation [online]. San Francisco (CA), 2020 [cit. 2021-03-02]. Dostupné z: <https://www.glaucoma.org/glaucoma/types-of-glaucoma.php>

[5] Laserová periferní iridotomie: Chirurgie pro glaukom s úzkým úhlem. BrightFocus Foundation: Cure in mind. Cure in sight. [online]. Clarksburg, © 2000-2021 [cit. 2021-03-14]. Dostupné z: <https://www.brightfocus.org/glaucoma/article/peripheral-iridotomy-laser-procedure-narrow-angles>

[6] Vytvoření sklerální chlopně. In: EYEWORLD [online]. Duben 2011 [cit. 2021-03-14]. Dostupné z: <https://www.eyeworld.org/article-with-new-technique-in-place--express-results-looking-better>

[7] CARETTI, Luigi a Lucio BURATTO, ed. Glaucoma Surgery [online]. Cham: Springer International Publishing, 2018 [cit. 2021-03-14]. ISBN 978-3-319-64854-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-64855-2

[8] RICHARDSON, David. Types of Glaucoma Drainage Devices [online]. 2014 [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: <https://new-glaucoma-treatments.com/types-of-glaucoma-drainage-devices/>

[9] BOYD, Kierstan. What Is a Glaucoma Drainage Implant? American academy of ophthalmology [online]. 2021 [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: <https://www.aao.org/salud-ocular/consejos/glaucoma-drainage-implants>

- [10] MOLTENO® Glaucoma Drainage Devices. ISP Surgical, LLC [online]. Copyright © 2020 [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: <https://ispsurgical.com/molteno/>
- [11] PILLUNAT, Lutz E, Carl ERB, Anselm GM JÜNEMANN a Friedemann KIMMICH. Micro-invasive glaucoma surgery (MIGS): a review of surgical procedures using stents. Clinical Ophthalmology [online]. 2017, 11, 1583-1600 [cit. 2021-5-2]. ISSN 1177-5483. Dostupné z: doi:10.2147/OPHTH.S135316 [12]
- [12] Hydrus® Microstent - P170034. U.S. Food and Drug Administration [online]. USA, 2018 [cit. 2021-5-2]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/medical-devices/recently-approved-devices/hydrusr-microstent-p170034>
- [13] Cypass Micro-Stent Surgery [online]. [cit. 2021-5-2]. Dostupné z: <https://www.aao.org/basic-skills/cypass-microstent-surgery>
- [14] Recall: CyPass Micro-Stent Withdrawn Amid Concerns of Endothelial Cell Loss. Glaucoma Research Foundation [online]. 2018 [cit. 2021-5-2]. Dostupné z: <https://www.glaucoma.org/news/recall-cypass-micro-stent-withdrawn-amid-concerns-of-endothelial-cell-loss.php>
- [15] WHAT IS THE XEN® GEL STENT? XEN Gel Stent [online]. © 2018 [cit. 2021-4-29]. Dostupné z: <https://www.xengelstent.com/XENGelStent>
- [16] Ologen - Collagen Matrix nitrooční implantát, 10x10x2 mm. Dahlhausen [online]. Česká republika [cit. 2021-04-20]. Dostupné z: <https://www.dahlhausen.cz/katalog/zdravotnicky-material/ologen-2135/>
- [17] Use of the biodegradable collagen matrix (Ologen) implant in trabeculectomy - surgical technique and clinical cases. Grupo Portugues De Glaucoma [online]. 2018 [cit. 2021-04-20]. Dostupné z: <https://glaucoma-answers.org/en/home/use-biodegradable-collagen-matrix-ologen>
- [18] CILLINO, Salvatore, Lucio ZEPPA, Francesco DI PACE, Alessandra CASUCCIO, Daniele MORREALE, Fabio BOCCHETTA a Gaetano LODATO. E-PTFE (Gore-Tex®) implant with or without low-dosage mitomycin-C as an adjuvant in penetrating glaucoma surgery: 2 year randomized clinical trial. Acta Ophthalmologica [online]. 2008, 86(3), 314-321 [cit. 2021-4-28]. ISSN 1755375X. Dostupné z: doi:10.1111/j.1600-0420.2007.01036.x

- [19] WISCHKE, Christian, Axel T. NEFFE, Bui Duc HANH, Christine F. KREINER, Katrin STERNBERG, Oliver STACHS, Rudolf F. GUTHOFF a Andreas LENDLEIN. A multifunctional bilayered microstent as glaucoma drainage device. *Journal of Controlled Release* [online]. 2013, 172(3), 1002-1010 [cit. 2021-5-19]. ISSN 01683659. Dostupné z: [doi:10.1016/j.jconrel.2013.10.021](https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.10.021)
- [20] Eslamian, Morteza & Shekarriz, M.. (2009). Recent Advances in Nanoparticle Preparation by Spray and Microemulsion Methods. *Recent Patents on Nanotechnology*. 3. 99-115.
- [21] LUKÁŠ CSC., prof. RNDr. David. Fyzikální principy tvorby nanovláken - Skripta [online]. Technická univerzita v Liberci, 2020 [cit. 2021-03-22]. Skriptum. Technická univerzita v Liberci.
- [22] Drumright, R.E., Gruber, P.R. and Henton, D.E. (2000), Polylactic Acid Technology. *Adv. Mater.*, 12: 1841-1846. [https://doi.org/10.1002/1521-4095\(200012\)12:23<1841::AID-ADMA1841>3.0.CO;2-E](https://doi.org/10.1002/1521-4095(200012)12:23<1841::AID-ADMA1841>3.0.CO;2-E)
- [23] Hasan, M., Khandakar Abu Nayem, M. B. Hossain and Sharmin Nahar. "Production of Tissue Engineering Scaffolds from Poly Caprolactone (PCL) and Its Microscopic Analysis." *International Journal of Textile Science* 3[online]. (2014): 39-43. [cit. 2021-5-22]. Dostupné z: <https://www.semanticscholar.org/paper/Production-of-Tissue-Engineering-Scaffolds-from-and-Hasan-Nayem/b090f60e08b84e99e3fdfebdf43f28c15fc40108?sort=relevance&pdf=true>
- [24] MAKADIA, Hirenkumar K. a Steven J. SIEGEL. Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier. *Polymers* [online]. 2011, 3(3), 1377-1397 [cit. 2021-5-18]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: [doi:10.3390/polym3031377](https://doi.org/10.3390/polym3031377)
- [25] POLYVINYLIDENE DIFLUORIDE (PVDF). *Polymer Properties Database* [online]. 2021 [cit. 2021-5-19]. Dostupné z: <https://polymerdatabase.com/Polymer%20Brands/PVDF.html>
- [26] PubChem [online]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004-. PubChem Compound Summary for CID 5746, Mitomycin; [cited 2021-5-19]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Mitomycin>

[27] Předávací dokument ke spinneru 2: Návod k obsluze stroje. Technická univerzita v Liberci - Ústav pro nanomateriály, pokročilé technologie a inovace, 2013.

[28] Technická dokumentace AC zvlákňovacího zařízení pro výrobu kompozitní příze s obsahem nanováken KOPRIS 2: Uživatelský manuál - technické podmínky. Technická univerzita v Liberci, 2018