

Univerzita Karlova

3. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce

**Vývoj endoskopicky implantovatelného  
neurostimulátoru s pH senzorem pro léčbu  
gastroezofageálního refluxu a návrh  
zpětnovazebného řízení neurostimulace na  
základě změny pH v jícnu.**

Ing. Marek Novák

2022

## **Doktorské studijní programy v biomedicině**

Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

**Obor: Lékařská biofyzika**

**Předseda oborové rady: prof. RNDr. MUDr. Jiří Beneš, CSc.**

**Školící pracoviště: 3. lékařská fakulta, Ústav lékařské biofyziky a lékařské informatiky**

**Autor: Ing. Marek Novák**

**Školitel: prof. MUDr. Jozef Rosina, Ph.D., MBA**

Oponenti:

Autoreferát byl rozeslán dne

Obhajoba se koná dne                      v                      hod.

kde

S disertací je možno se seznámit na děkanátě 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy.

# Obsah

1	Úvod.....	5
2	Cíl práce .....	7
3	Metodika a použité experimentální metody .....	9
4	Výsledky .....	10
4.1	Charakterizace systémů pro bezdrátový přenos energie v pásmu do 4 GHz .....	10
4.2	Vývoj komunikačního protokolu pro implantabilní zařízení .....	11
4.3	První úspěšná endoskopická implantace neurostimulátoru .....	13
4.4	Neurostimulátor s bezdrátovým dobíjením baterie .....	14
4.5	Bezbatiový neurostimulátor .....	16
4.6	Design a konstrukce finálního neurostimulátoru .....	17
4.7	Vývoj pH senzoru na bázi biokompatibilních polymerů .....	19
4.8	Implantabilní jícnový pH senzor včetně přijímače .....	20
4.9	Návrh miniaturního analogového obvodu pro polovodičové pH senzory .....	21
4.10	Design a konstrukce finálního implantabilního pH senzoru .....	22
4.11	Metoda enkapsulace zařízení pomocí epoxidů a P3HT polymeru .....	23
4.12	Nezávislé posouzení biokompatibility zkonstruovaných zařízení .....	25
4.13	Ověření funkčnosti zpětnovazebního systému řízení neurostimulace .....	26
5	Diskuze.....	29
6	Závěr .....	31
7	Použitá literatura.....	32
8	Seznam publikací doktoranda <i>in extenso</i> s impakt faktorem ve vztahu k disertační práci ....	35
9	Seznam publikací doktoranda s impakt faktorem bez vztahu k disertační práci .....	36
10	Seznam konferenčních příspěvků na mezinárodních konferencích.....	36

## Shrnutí

Refluxní choroba jícnu je jedním z nejčastějších onemocnění zažívacího traktu v západním světě s prevalencí dosahující 20 %. Dnešní možnosti léčby méně závažných průběhů onemocnění zahrnují dietní a režimová opatření, farmakologickou léčbu (antacida a inhibitory protonové pumpy, na které někteří pacienti nereagují) a chirurgické řešení ve formě fundoplikace, které je spojeno se značnou kontroverzí v důsledku nejednoznačných závěrů o její účinnosti.

Až v posledních letech se začala rozvíjet metoda léčby spočívající v neurostimulaci dolního jícnového svěrače za účelem zvýšení tlaku, což vede ke snížení či eliminaci refluxních příhod. Cílem práce bylo vytvořit řešení sestávající z neurostimulátoru a pH senzoru, které by bylo implantovatelné endoskopicky v rámci jednoho výkonu a umožnilo by zpětnovazební řízení neurostimulaci na základě aktuálních dat o hodnotách pH v jícnu.

Tohoto cíle bylo dosaženo konstrukcí vlastního hardware a vytvoření software včetně vlastního bezdrátového komunikačního protokolu, kdy vzniklo několik prototypů výsledného řešení, které demonstrovaly možnost implantace pomocí metody endoskopického submukozního tunellingu, možnost bezdrátového dobíjení implantátu a možnost bezdrátové komunikace. Dále byla vyvinuta metoda enkapsulace, u níž byla nezávisle ověřena biokompatibilita.

Byla potvrzena funkčnost zpětnovazebního řízení, kdy neurostimulátor korektně reagoval na informace z pH senzoru, které přijímal a autonomně zpracovával bez nutnosti řízení dalším zařízením či uživatelem.

## Summary

Gastroesophageal reflux disease is one of the most common gastrointestinal diseases in the western world with a prevalence of 20%. Today's treatment options for less severe disease include dietary and regimen measures, pharmacological treatment (antacids and proton pump inhibitors, to which some patients do not respond) and surgical management in the form of fundoplication, which is associated with considerable controversy due to equivocal conclusions about its efficacy.

It is only in recent years that a method of treatment consisting of neurostimulation of the lower oesophageal sphincter to increase its pressure has been developed, leading to a reduction or elimination of reflux episodes. The aim of this work was to develop a solution consisting of a neurostimulator and a pH sensor that could be implanted endoscopically in a single procedure and would allow feedback control of neurostimulation based on current data on esophageal pH values.

This goal was achieved by designing custom hardware and creating software, including a custom wireless communication protocol, and several prototypes of the resulting solution were created to demonstrate the possibility of implantation using the endoscopic submucosal tunnelling method, the possibility of wireless implant recharging, and the possibility of wireless communication. In addition, an encapsulation method was developed for which biocompatibility was independently verified.

The functionality of feedback control was confirmed, where the neurostimulator correctly responded to information from the pH sensor, which it received and processed autonomously without the need for control by another device or user.

# 1 Úvod

Obor aktivních implantabilních zdravotnických prostředků (AIMD) je v medicíně úzce spjat s vynálezem tranzistoru v prosinci 1947 (1), který umožnil významnou miniaturizaci elektronických zařízení a snížení spotřeby. Příkladem implantabilního zařízení je např. kardiostimulátor, jeho vynález se datuje na rok 1956 v nositelné podobě, v roce 1958 pak v plně implantovatelné podobě.

Hlavní charakteristikou prvních implantabilních zařízení byla jejich, na dnešní poměry, primitivní konstrukce, často využívající zapojení nízkých jednotek tranzistorů první generace. Od samotného počátku šel další vývoj v oblasti AIMD ruku v ruce s pokrokem v oblasti polovodičové a telekomunikační techniky. Jednou z nejnovějších aplikací AIMD je i námi studovaná možnost léčby refluxní choroby jícnu, která spočívá ve stimulaci svaloviny dolního jícnového svěrače, což vede ke zvýšení tlaku svěrače a snížení pravděpodobnosti vzniku refluxu (2, 3).

Refluxní choroba jícnu (GERD) je jedním z nejčastějších onemocnění zažívacího traktu v západním světě (4). Jedná se o jednu z poruch motility jícnu, způsobenou insuficiencí dolního jícnového svěrače. V důsledku jeho nedostatečné funkce dochází k návratu obsahu žaludku do jícnu. Vzhledem k obsahu kyseliny chlorovodíkové a obsahu trávicích enzymů dochází při neléčeném refluxu ke chronickému podráždění vnitřní stěny jícnu, které s postupem času přechází v erozi.

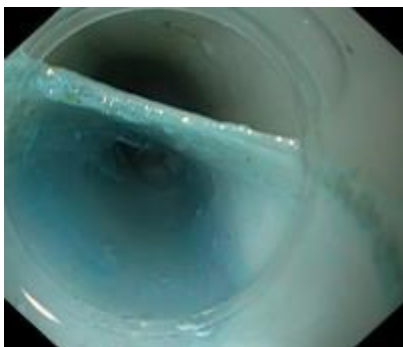
Objektivní diagnostika refluxu se provádí dvěma základními metodami – pH metrie a gastrokopie. Při gastrokopii se pozoruje zejména poškození stěny jícnu nad dolním jícnovým svěračem, přičemž katetrová nebo kapslová pH metrie slouží ke objektivnímu posouzení, zda je v jícnu přítomen refluxát, po jakou dobu a v jaké denní době (4).

Při neléčení refluxu dochází postupem času k rozvinutí zánětu – refluxní ezofagitidy – která přechází v Barrettův jícen, který je

prekancerózou a vede k adenokarcinomu jícnu, který se vyznačuje vysokou mortalitou (5, 6).

Endoskopická submukozní disekce (ESD) je technika, která se v klinické praxi používá pro odstranění povrchových lézí trávicí trubice. V první fázi se provede injekce do submukozy (často se používá obarvený fyziologický roztok z důvodu obarvení submukozy a tedy snazší orientace, případně další látky pro prodloužení doby, kdy je mukoza a svalová vrstva oddělena (7)) pod lézi za účelem jejího zvednutí a oddělení od svalové vrstvy (*muscularis propria*). Následně se léze řezem v submukoze snese a vyjme se (8). Oproti endoskopické mukosální resekci se tato metoda vyznačuje vyšší úspěšností v dosažení tzv. „R0“ resekce, kdy karcinom nikde nedosahuje až k okraji resekátu, tedy je minimalizované riziko recidivy (9).

Další metodou, která se ESD podobá, je perorální endoskopická myotomie (POEM), která se používá pro léčbu achalázie jícnu. Ta spočívá ve vytvoření „submukozního tunelu“ v jícnu metodou analogickou k ESD – injekce do submukozy s následným řezem a vytvořením tunelu. Tato metoda byla v minulosti použita pro



Obr. 1: Metoda endoskopického

implantaci miniaturního gastroneurostimulátoru, byla nazvána endoskopický submukozní pocketing (ESP) (10). Ukázka je na obr. 1. Výhodou užití pocketingu pro implantaci elektronického zařízení je minimální invazivnost metody a fakt, že při implantaci nejsou narušeny vnější vrstvy trávicí trubice (svalová vrstva a seróza).

## 2 Cíl práce

První zmínka o úspěšné endoskopické implantaci prototypu elektrického zařízení do submukozy gastrointestinálního traktu se objevila v roce 2012. Cílem naší práce bylo vyvinout systém, který by umožnil neurostimulaci dolního jícnového svěrače za současného přizpůsobení neurostimulace aktuální hodnotě pH v jícnu (zpětnovazebný systém). Tohoto cíle bylo dosaženo vyřešením následujících podcílů:

### 1) Vyvinutí techniky pro submukozní implantaci

Hlavním technologickým aspektem, který umožňuje splnění cíle celé práce, bylo vyvinutí metody pro endoskopickou implantaci obou zařízení, tedy vytvoření protokolu pro implantaci jak do submukozy jícnu (pro neurostimulátor), tak do mukozy jícnu (pro pH senzor). Dále bylo nutné určit maximální možnou velikost implantátu.

### 2) Vývoj systému bezdrátového přenosu energie

Na základě omezení celkové velikosti implantátu bylo dalším cílem prozkoumat různé metody bezdrátového přenosu energie na větší vzdálenost (8–12 cm). Konkrétně byl již na začátku zvolen jako nejnadějnější induktivní přenos energie, který se v dnešní době pro tyto účely běžně používá.

### 3) Vývoj endoskopicky implantovatelného neurostimulátoru

Ústředním prvkem celého zpětnovazebního systému je neurostimulátor. Ten musí splňovat základní parametry, mezi které patří – vodotěsnost, maximální velikost omezená implantovatelností do submukozy jícnu, programovatelnost pomocí bezdrátového komunikačního rozhraní a schopnost provádět bipolární neurostimulaci svaloviny jícnu pomocí dvou planárních elektrod přiložených k *muscularis propria*. Neurostimulátor by měl být zkonstruován z biokompatibilního materiálu – hypotéza byla, že při použití nebiokompatibilního materiálu dojde k rejekci implantátu.



#### **4) Vývoj endoskopicky implantovatelného pH senzoru**

Vzhledem k nežádoucím účinkům vyplývajícím z podoby dnešních bezdrátových systémů pro měření pH v jícnu, které byly diskutovány v úvodu, bylo hlavní motivací vývoje vlastního pH senzoru radikální zmenšení rozměrů výsledného zařízení při zachování funkčnosti, ekvivalentní k existujícím systémům.

#### **5) Vývoj nových metod a materiálů pro enkapsulaci implantátů**

Lidské tělo je pro nechráněnou elektroniku z principu svého složení prostředím agresivním. Cílem tedy bylo vyvinout metodu enkapsulace (zaobalení) implantovatelné elektroniky, která poskytne prakticky hermetickou ochranu a zároveň s tím ji bude možné snadno a za nízkých nákladů aplikovat na libovolný typ implantovatelného zařízení. Součástí je i validace podle normy ISO10993.

#### **6) Vývoj bezdrátového rozhraní pro komunikaci**

Podstatou zpětnovazebního řízení je vzájemná komunikace mezi pH senzorem a neurostimulátorem, který musí zároveň komunikovat s externí stanicí, která má uživatelské rozhraní, prostřednictvím kterého se neurostimulátor konfiguruje. Hlavním požadavkem na tento komunikační protokol je pak zajištění minimální elektrické spotřeby pH senzoru a neurostimulátoru na úkor externí stanice.

#### **7) Vývoj zpětnovazebně-adaptivního systému pro léčbu refluxní choroby jícnu**

Posledním a finálním cílem vývoje systému je implementace zpětnovazebního řízení, které reaguje na změny pH v jícnu zahájením, nebo úpravou, neurostimulace. Ověření se dosáhlo na *in vitro* modelu. Pro úspěšný výsledek musel stimulátor informace o pH uvnitř jícnu přijmout, vyhodnotit je a adekvátně rychle reagovat (např. zapnutím nebo vypnutím neurostimulace).

### 3 Metodika a použité experimentální metody

Vývoj a výzkum v této práci lze rozdělit do tří základních oblastí – vývoj hardware a software, vývoj v oblasti strojírenství a materiálových věd pro biokompatibilní enkapsulaci vyvinutého hardware, a *in vitro* / *in vivo* experimenty pro posouzení vyvinutého hardware a metod a potvrzení či vyvrácení stanovených hypotéz.

Vývoj hardware byl prováděn v pěti fázích – stanovení požadavků na vyvinuté zařízení, rešerše vhodných technologií a komponent, návrh elektroniky sestávající ze schématu zapojení a návrhu plošného spoje, výroba zařízení a oživení. Vývoj software byl prováděn ve vývojových prostředích MPLAB X, Segger Embedded Studio a Microsoft Visual Studio. Po vývoji následovalo podrobné testování všech funkcí, které v sobě zahrnovalo návrh vhodných testů a jejich spuštění na vyvinutém hardware.

Pro výrobu obalů pro implantovatelná zařízení bylo použito několik rozdílných metod v závislosti na konkrétních požadavcích pro každé zařízení – přímá enkapsulace pomocí tekutého dvousložkového epoxidu, subtraktivní výroba pomocí CNC obrábění nebo aditivní metoda výroby vstříkáním epoxidové pryskyřice do formy, ve které byla umístěna elektronika, s následným nanesením vrstvy biokompatibilního polymeru. Posouzení biokompatibility takto vyvinutých a otestovaných materiálů a metod bylo provedeno nezávislou akreditovanou institucí.

*In vivo* experimenty byly prováděny na základě platného plánu pokusů, který byl schválen etickou komisí. Tyto experimenty měly za cíl ověřit funkčnost vyvinutých zařízení a metod s následným ověřením či vyvrácením hypotéz, které byly stanoveny na začátku každého výzkumného úkolu. V *in vitro* experimentech byla stanovena vhodná velikost souboru dat a statistických metod pro jejich zpracování, po které následoval sběr dat a jejich vyhodnocení.

## 4 Výsledky

### 4.1 Charakterizace systémů pro bezdrátový přenos energie v pásmu do 4 GHz

Každý systém pro bezdrátový přenos elektrické energie sestává ze dvou částí – vysílače a přijímače. Protože je pro napájení polovodičových elektronických komponent využíván výhradně stejnosměrný proud, zatímco bezdrátový přenos energie se realizuje vytvořením střídavého magnetického pole či ve formě elektromagnetických vln, je nutné použít usměrňovač pro převod přenesené energie na stejnosměrný proud.

V první řadě byla provedena teoretická řešení vhodných topologií (zapojení) usměrňovačů včetně výběru vhodných diod. Následoval vývoj vlastního RF syntezátoru, jehož funkcí je generovat sinusový výstupní signál o dané frekvenci a amplitudě. Poté byly provedeny simulace diodového usměrňovače zapojeného jako zdvojovač. Na základě simulací byly voleny hodnoty pasivních součástek (kondenzátorů a induktorů) a na základě simulací byly zkonstruovány usměrňovače, na kterých byla provedena měření. Bylo prokázáno, že popsaná metodika návrhu umožňuje konstrukci vysokofrekvenčních usměrňovačů o vysoké účinnosti konverze střídavého proudu na stejnosměrný (až 55 % při 868 MHz a 10 mW vstupním výkonu).

Topologie návrhu usměrňovačů, které byly zkoumány, se včetně metody jejich návrhu staly základem pro konstrukci usměrňovačů používaných v systémech bezdrátového dobíjení nebo napájení implantabilních neurostimulátorů prezentovaných v disertační práci.

## **4.2 Vývoj komunikačního protokolu pro implantabilní zařízení**

Základní požadavek na komunikační rozhraní je schopnost jednosměrného přenosu dat mezi implantovatelným pH senzorem (dále jen „senzor“) a implantovatelným neurostimulátorem (dále jen „stimulátor“), jednosměrného přenosu dat mezi senzorem a externí stanicí a obousměrného přenosu mezi stimulátorem a externí stanicí. Vzhledem k použití mikrokontrolerů řady Nordic Semiconductor nRF52 ve finální iteraci výrobků byl jako základ zvolen protokol Enhanced ShockBurst (ESB) (11).

Zvolený protokol je pro kompletní vytvoření celého systému nedostatečný, byla proto vyvinuta nadstavba tohoto protokolu. Hlavním cílem nadstavby je implementace synchronizace mezi všemi prvky sestavy (stimulátorem, senzorem a externí stanicí) tak, aby byla na úkor spotřeby energie externí stanice minimalizována spotřeba energie stimulatoru a senzoru. Dále je komunikace mezi pH senzorem a stimulátorem aktivně synchronizována tak, aby byla minimalizována doba, po kterou je stimulátor v přijímacím režimu, který je nejnáročnější na spotřebu energie.

Vytvořená nadstavba protokolu byla úspěšně otestována při několika experimentech, při kterých byla bezdrátová komunikace aktivní po dobu několika desítek hodin. Prokázala se tedy stabilita a robustnost protokolu pro použití ve výzkumných aplikacích. Protokol se dále vyznačuje velmi nízkou spotřebou, která se odráží ve velmi vysoké výdrži baterií, které mají u zařízení vyvinutých v rámci této práce kapacitu kolem 15 mAh. Zjednodušené schéma komunikačního protokolu je na obr. 2.



### 4.3 První úspěšná endoskopická implantace neurostimulátoru

První experimenty, které byly v souvislosti s vývojem zpětnovazebního systému implantabilních prostředků pro léčbu GERD provedeny, souvisely s vývojem metody implantace a zjištěním maximálních možných rozměrů implantátu. Byl použit model prasečího žaludku a jícnu.

Na začátku byly prováděny experimentální implantace elektroniky do submukozy žaludku, zejména kvůli relativní jednoduchosti. Byla přitom použita metoda submukozního pocketingu (10). Byla otestována celkem tři různá zařízení s postupně zvětšující se velikostí. Ukázka první provedené implantace elektronického zařízení do submukozy je na obr. 3.

Maximální velikost implantovaného zařízení (neurostimulátor), která je pro danou technologii schůdná, byla stanovena na 25 x 22 x 6 mm. Enkapsulace teplotního senzoru byla provedena pomocí teplem smrštitelné bužírky z polyolefinu, která byla na obou koncích zajištěna epoxidovou pryskyřicí.



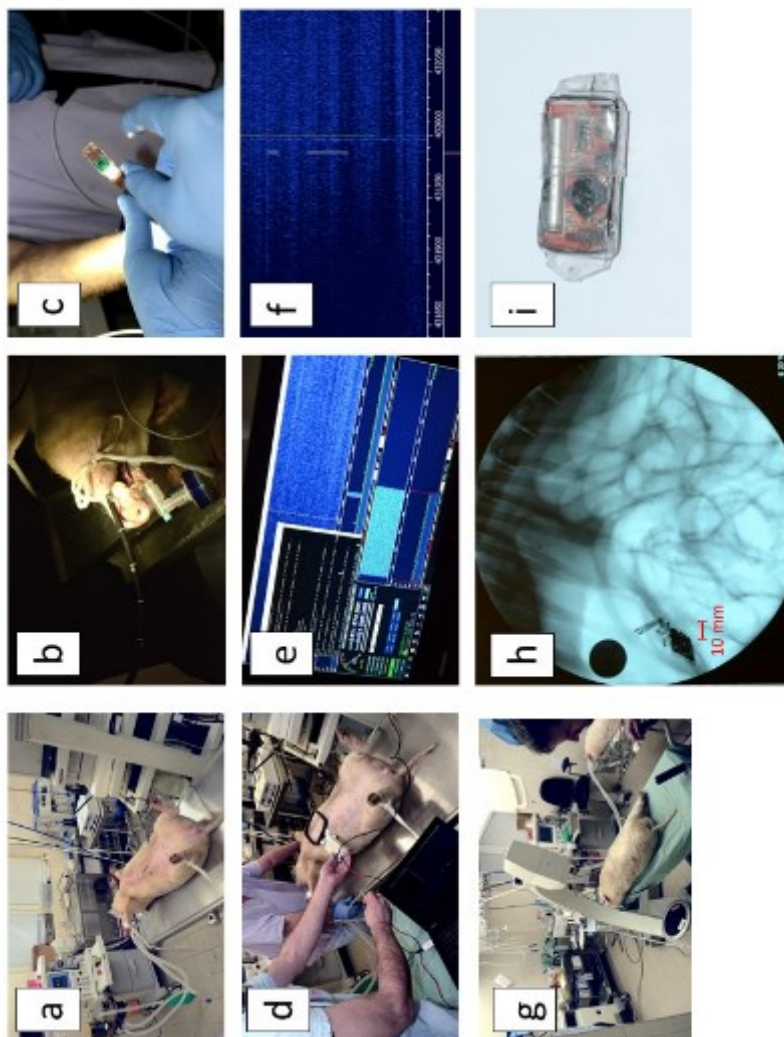
Obr. 3: Vložení implantátu do submukozní kapsy

Všechny tři implantace byly úspěšné a byla prokázána funkčnost elektroniky v submukoze i jednoduchá metoda enkapsulace implantátů pomocí komerčně dostupných komponent. Nevýhodou je nízká biokompatibilita výsledného řešení, která se stala předmětem dalšího výzkumu.

#### 4.4 Neurostimulátor s bezdrátovým dobíjením baterie

Na úspěšné otestování implantační metody a funkčnosti elektroniky bylo navázáno prvním experimentem na živém experimentálním praseti (*Sus scrofa*, 40 kg). Jednalo se o tzv. „survival“ experiment, po kterém zvíře dva týdny žilo pro pozorování efektu implantovaného zařízení. Cílem práce bylo rovněž otestovat schopnost implantát bezdrátově dobíjet po implantaci do těla zvířete. Pro implantaci byla zvolena oblast *antrum pyloricum*, kde bylo možno minimalizovat vzdálenost mezi implantátem a vysílačem energie. Neurostimulátor byl implantován do oblasti *muscularis propria*, kde byl zajištěn optimální kontakt se svalovinou žaludku. Na obr. 4 je znázorněn postup implantace včetně rentgenového (RTG) snímku.

Výsledkem experimentu bylo prokázání implantovatelnosti neurostimulátoru do submukozy žaludku včetně schopnosti implantátu v submukoze setrvat po kratší dobu. Vzhledem k nebiokompatibilní metodě enkapsulace došlo zhruba po týdnů k rejekci implantátu, jeho odhojení do žaludku a vyloučení přirozenou cestou. Tato událost nicméně nevedla ke smrti zvířete, rána se začala zhojovat. Poté bylo zvíře utraceno v souladu s protokolem. Na základě vzorku sestávajícího z jednoho experimentu lze konstatovat, že případná rejekce implantátu nemusí být fatální a vzhledem k tomu, že při implantaci není porušena *tunica serosa*, nehrozí při rejekci perforace orgánu.



Obr. 4: Endoskopická implantace neurostimulátoru a ověření funkčnosti. a) In-vivo model. b) Zavedení endoskopu. c) Prototyp neurostimulátoru ve smyčce. d) Navázání bezdrátové komunikace s neurostimulátorem. e) HSDR software pro příjem dat. f) Detail OOK modulovaných dat vysílaných neurostimulátorem. g) Pozice modelu při pořízení RTG snímku. h) RTG snímek neurostimulátoru. i) Fotografie neurostimulátoru.



## 4.5 *Bezbateryový neurostimulátor*

Největším omezením malých implantabilních zařízení je jejich závislost na lokálním zdroji energie, prakticky ve všech případech v podobě chemické baterie. Logickým krokem proto bylo prozkoumat návrh neurostimulátoru s co možná nejúspornější konstrukcí, který by umožnil zbavit se lokálního zdroje energie a použít zdroj nacházející se mimo tělo.

Konstrukce neurostimulátoru spočívá v laděném LC obvodu sestávajícím z přijímací cívky o ploše  $1\text{ cm}^2$  a kondenzátoru v paralelním zapojení, za které je zařazen usměrňovač v zapojení násobiče s diodami Schottkyho typu Avago HSMS282P. Tento obvod napájí mikrokontroler, který generuje bipolární neurostimulační impulzy, jejichž parametry lze upravit v software. Stimulační elektrody jsou vyrobeny jako flexibilní plošný spoj na folii z Kaptonu (polyimid), který je opatřen měděnými elektrodami, které jsou zlaceny kvůli zachování inertnosti. Tento flexibilní plošný spoj je přileťován k plošnému spoji se zbytkem elektroniky a společně s cívkou obalen vrstvou epoxidu, která nezakrývá elektrody (obr. 5).



*Obr. 5: Bezbateryový neurostimulátor*

Vysílač byl tvořen obdélníkovou cívkou o ploše  $50\text{ cm}^2$ , která je napájena z vysokofrekvenčního zdroje proudu o frekvenci 1 MHz. Technologie se ukázala být jako vhodná pro použití v implantabilních zdravotnických prostředcích. I na vzdálenost 12 cm byl mikrokontroler napájen a generoval neurostimulační pulzy. Následně bylo zařízení úspěšně endoskopicky implantováno.

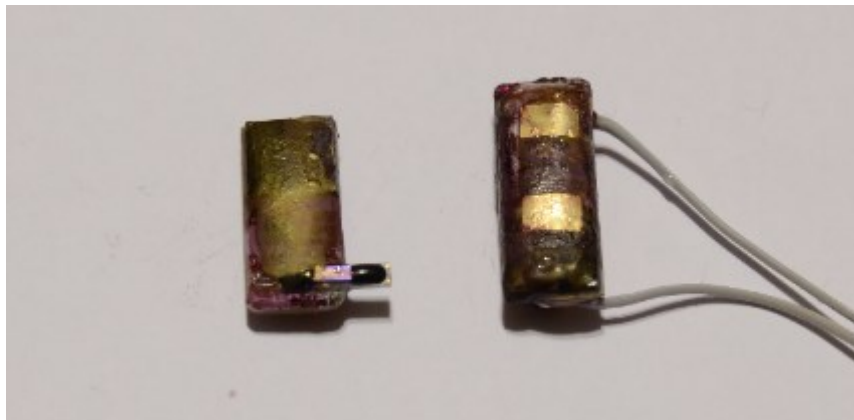
## 4.6 *Design a konstrukce finálního neurostimulátoru*

Zařízení je založeno na modulu ISP1507, který je použit u pH senzoru. Sestává ze třech primárních bloků – napájecí části, analogové části a číslicové části. Napájecí část bylo nutno přizpůsobit lithium-iontové baterii, která je v zapojení použita – Panasonic CG-320. Napájecí subsystém sestává ze stabilizátoru TPS78230, který vytváří stabilní napětí 3,0 V pro mikrokontroler. Stimulační napětí o hodnotě 12 V je generováno spínaným zdrojem, který je tvořen obvodem TPS61040. Vzhledem k relativně velké spotřebě obvodu je napětí 12 V generováno pouze při vysokonapěťové neurostimulaci. Zapnutí a vypnutí tohoto obvodu řídí mikrokontroler. Bipolární neurostimulační pulzy jsou generovány mikrokontrolerem ve formě PWM (pulzně šířkově modulovaného) signálu, který je následně napěťově a proudově zesílen. Vzhledem k tomu, že je obvod mezi napájecím napětím baterie a 12 V napěťovým výstupem tvořen cívkou a diodou v propustném směru, jsou na výběr dvě napětí pro tvorbu neurostimulačních pulzů – snížené napětí odpovídající napětí baterie a napětí o hodnotě 12 V.

Všechny komponenty s výjimkou baterie jsou umístěny na jedné straně plošného spoje. Baterie je umístěna na zadní straně. Po enkapsulaci strany s elektronikou jsou naletovány pozlacené elektrody a jsou přilepeny na epoxidovou vrstvu biokompatibilním kyanoakrylátovým lepidlem. Poté je na zadní stranu naletována baterie a po testu funkčnosti je enkapsulována strana baterie.

Celkový pohled na obě implantovatelná zařízení po enkapsulaci a pokrytí poly(3-hexylthiofen-2,5-diy) neboli P3HT polymerem je na obr. 6. Zlaté elektrody jsou po pokrytí P3HT polymerem očištěny čistým chloroformem, aby byl zachován vodivý kontakt. Na fotografii jsou u neurostimulátoru zachovány přívodní vodiče pro kontrolu napětí baterie a případně její kontaktní dobití. Ty jsou před implantací nebo experimenty odstraněny a případné odhalené části vodičů nebo baterie jsou dodatečně překryty vrstvou biokompatibilního kyanoakrylátového

lepidla. Neurostimulátor je po dokončení výroby otestován podobným způsobem jako pH senzor, konkrétně ponořením do fyziologického roztoku po dobu jedné až dvou hodin pro ověření vodotěsnosti.

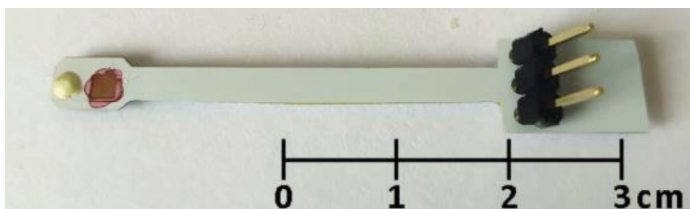


*Obr. 6: Pohled na obě enkapsulovaná zařízení; pH senzor vlevo, k neurostimulátoru jsou připojeny vodiče pro dobíjení baterie*

#### 4.7 Vývoj pH senzoru na bázi biokompatibilních polymerů

Souběžně s testováním biokompatibility byl proveden výzkum použitelnosti různých  $\pi$ -konjugovaných polymerů jako pH senzorů. Na základě literární rešerše bylo zjištěno, že např. PEDOT:PSS (poly(3,4-ethyldioxythiofen):polystyrensulfonát), který patří do stejné skupiny polymerů jako P3HT, je pH senzitivní (12) a biokompatibilní (13). Na základě tohoto zjištění byla vyvinuta koncepce pH senzoru s extrémně nízkým příkonem ( $1,8 \mu\text{W}$  při napájecím napětí  $1,6 \text{ V}$ ), který sestává z plošného spoje, na který jsou nanесeny dvě chemické funkční vrstvy – Ag/AgCl referenční elektroda a vrstva polymeru.

Polymer PEDOT:PSS resp. P3HT byl nanесen na jednu z elektrod prototypu pH senzoru, zatímco na druhou elektrodu byl nanесen Ag/AgCl inkoust, který tvoří pseudoreferenční elektrodu. V případě PEDOT:PSS byl na zlatou elektrodu nanесen grafitový vodivý inkoust za účelem zvýšení adheze PEDOT:PSS disperze na elektrodu. Senzor s nanесenými funkčními vrstvami je na obr. 7. Primární testování obou senzorů bylo provedeno jejich vložením do roztoků o různých hodnotách pH, jmenovitě 0,6; 2,1; 4,0; 6,8 a 10,0. Měření bylo provedeno na vzorku 8 senzorů (čtyři PEDOT:PSS a čtyři P3HT), přičemž s každým senzorem bylo provedeno celkem 15 měření (3x pro každou hodnotu pH) Byla prokázána linearita obou typů senzorů, sklon výstupního napětí je  $-31,5 \text{ mV/pH}$  a  $-36,5 \text{ mV/pH}$  pro PEDOT:PSS resp. P3HT senzor.

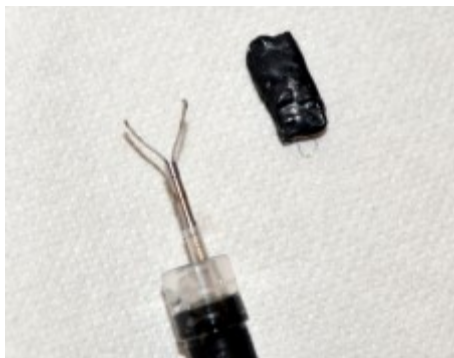


Obr. 7: P3HT polymerní pH senzor

#### 4.8 Implantabilní jícnový pH senzor včetně přijímače

Po úspěšném vývoji několika iterací neurostimulátoru byl zahájen vývoj implantabilního pH senzoru. Ten byl určen pro implantaci do mukozální stěny jícnu pomocí hemostatického klipu podobně, jak je tomu u dnes dostupného jícnového pH senzoru Medtronic Bravo.

Senzor byl zkonstruován podobnou technologií, jako neurostimulátory – byl navržen obvod na plošném spoji, sestávající z mikrokontroleru typu PIC16LF, rádiového vysílače a ISFET pH senzoru. Výsledný obvod byl enkapsulován v epoxidu, u kterého byla posouzena biokompatibilita, viz. kapitola



*Obr. 8: Fotografie pH senzoru vedle endoskopu s grasperem*

4.12. Nakonec byl senzor opatřen titanovým háčkem, který sloužil k upevnění do stěny jícnu pomocí hemostatického klipu. Výsledné zařízení je na obr. 8. Pro validaci funkčnosti výsledného senzoru byl použit model sestávající z prasečího žaludku a jícnu, ve kterém byla testována odezva senzoru na roztoky o různém pH. Výsledná směrodatná odchylka naměřených hodnot je 0,30 pH. Senzor je tak bez problému schopen rozlišit mezi neutrálním a kyselým pH v jícnu a tuto informaci může periodicky odesílat prostřednictvím bezdrátového rozhraní. Zkonstruované zařízení má o 60 % menší objem než existující bezdrátový jícnový pH senzor Medtronic Bravo. Výsledná velikost vyvinutého zařízení je 18 mm x 8,5 mm x 4,5 mm.

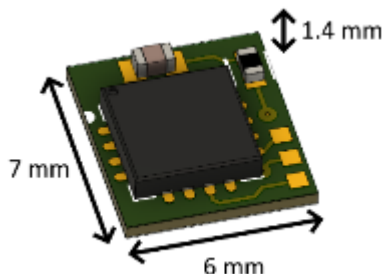
#### 4.9 Návrh miniaturního analogového obvodu pro polovodičové pH senzory

Dnes dostupné mikrokontrolery disponují širokým spektrem analogových a číslicových periférií. Cílem práce bylo prezentovat analogový vyhodnocovací obvod („front-end“), který lze s výjimkou jedné pasivní komponenty (rezistoru) implementovat na miniaturním mikrokontroleru Microchip PIC16LF1704 (4 x 4 x 0,9 mm).

Podstatou je kombinace AD a digitálně-analogového (DA) převodníku, operačního zesilovače, a jedné pasivní komponenty – rezistoru, který je bočníkem pro měření proudu procházejícího ISFET senzorem. DA převodník lze nahradit zapojením s číslicovým výstupním pinem (vývodem), jedním rezistorem a jedním kondenzátorem, které tvoří jednoduchý nízkopásmový filtr. Výsledná velikost celého obvodu může být zmenšena až na 7 x 6 x 1,4 mm včetně dvouvrstvého plošného spoje o tloušťce 0,4 mm, viz obr. 9.

Výsledný obvod byl otestován na fyziologických roztocích s různým pH (pH = 0,6; 4,0; 7,0 a 10,0).

Vzhledem k tomu, že detailní charakterizace samotného senzoru byla provedena výrobcem a hlavním cílem bylo ověřit funkčnost elektronického obvodu, bylo provedeno celkem 12 měření na čtyřech pufrách o různých hodnotách pH. Byla prokázána linearita vyhodnocovací elektroniky v rozsahu pH, který je relevantní pro zamýšlenou aplikaci (pH 0,6 až 10 pro kyselý i zásaditý reflux).



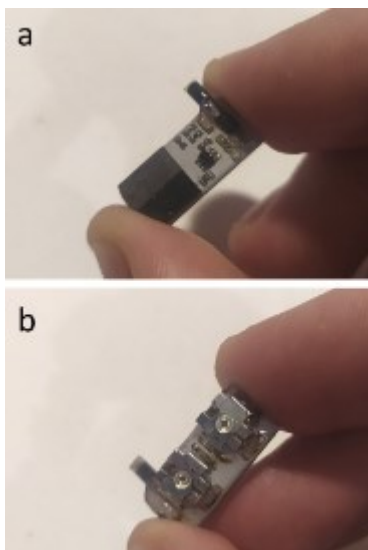
Obr. 9: Vizualizace velikosti vyhodnocovacího obvodu

#### 4.10 Design a konstrukce finálního implantabilního pH senzoru

Konstrukce finálního pH senzoru i neurostimulátoru pro zpětnovazební systém je založena na modulu InsightSIP ISP1507-AL, který je založen na mikrokontroleru nRF52810-CAAA, který je opatřen rádiofrekvenčním obvodem pro obousměrnou komunikaci v pásmu 2,4 GHz. Vedle toho obsahuje primární i sekundární krystalový oscilátor, obvod pro impedanční přizpůsobení antény (balun), blokovací kondenzátory a interní anténu. Zapojení sestává ze tří primárních částí – napájecí, analogové a číslicové.

Napájecí část je tvořena dvěma primárními alkalickými články AG1, které přímo napájí analogovou a číslicovou část.

Modul s mikrokontrolerem je umístěn na levém konci plošného spoje z důvodu minimálního vlivu okolních komponent na integrovanou anténu. Dvě pouzdra pro vložení AG1 baterie jsou na opačné straně plošného spoje. Na tento plošný spoj je rovněž naletován pH senzor, který je na vlastním plošném spoji umístěn z výroby. Způsob připevnění a propojení je znázorněn na obr. 10. Po ověření funkce zařízení a pH senzoru vložním baterie a otestováním pomocí



Obr. 10: Pohled na enkapsulované zařízení – a) pohled na stranu součástek; b) pohled na stranu baterií

externí stanice a příslušného software bylo zařízení enkapsulováno v epoxidu. Poté byla znovu ověřena jeho funkčnost ponořením do roztoku s pH o hodnotě 4,0 a 7,0 po dobu jedné hodiny v každém roztoku. Tím byla ověřena vodotěsnost a funkčnost senzoru.

### ***4.11 Metoda enkapsulace zařízení pomocí epoxidů a P3HT polymeru***

Vzhledem k implantaci neurostimulátoru a pH senzoru bylo nutné vyvinout metodu enkapsulace, která zajistí ochranu elektroniky před agresivním prostředím uvnitř těla a zároveň bude biokompatibilní, tedy bude minimalizováno riziko rejekce implantátu. Dalším požadavkem na metodu byla možnost jejího snadného a rychlého provedení při minimalizaci nákladů.

Prvním krokem byla rešerše vhodných typů epoxidových pryskyřic, které jsou na základě testování výrobcem biokompatibilní, a je možné je vytvrdit při nízké (ideálně pokojové) teplotě. Tento požadavek vyplývá na základě toho, že společně s elektronikou jsou enkapsulovány i baterie, které v nabitém stavu nelze zahřívat na teplotu vyšší než 60 °C (14). Dále byla vyvíjena metoda pokrytí zařízení enkapsulovaného v epoxidu tenkou vrstvou biokompatibilního polymeru, vycházející z existující technologie, která se pro zvýšení biokompatibility implantátů používá, konkrétně pokrytí zařízení tenkou vrstvou Parylenu C. Tento polymer je ale aplikován chemickou depozicí z plynné fáze (CVD) (15), což je metoda, která je pro výrobu jednotek kusů prototypů drahá a zdlouhavá. Cílem výzkumu tedy bylo vyvinout obdobnou technologii, kde by se polymer aplikoval z kapalně fáze (ponořením či nástříkem) s následným odpařením rozpouštědla.

Na základě informací dostupných v datových listech výrobců a dostupnosti na českém trhu byla zvolena epoxidová pryskyřice Loctite EA M-31 CL (Henkel), která je určena pro lepení a kompletaci zdravotnických prostředků. Výrobcem je testována v souladu s ISO10993, výsledná biokompatibilita ovšem závisí i na metodě aplikace a vytvrzení, proto byla po vývoji metody provedena její kompletní kvalifikace podle této normy (kapitola 4.12).



Díky nízké viskozitě epoxidu před vytvrzením připadaly v úvahu dvě metody aplikace – prosté nanesení na plochu, kterou je třeba ochránit před okolními vlivy nebo lití (nízkotlaké vstřikování) do formy. Forma byla vyrobena jejím frézováním na tříosém obráběcím centru z polyvinylidenfluoridu (PVDF). Vzhledem k tomu, že je použitý epoxid velmi dobrým lepidlem, bylo nutné zvolit materiál o velmi nízké povrchové energii, aby nedošlo k přilepení formy k výrobku (16).

Pro zvýšení biokompatibility byla vyvinuta metoda následné povrchové úpravy výrobků enkapsulovaných v epoxidu spočívající v pokrytí tenkou vrstvou polymeru P3HT. Po rozpuštění byla enkapsulovaná elektronika ponořena do roztoku polymeru po dobu 3 sekund s následným vyjmutím a odpařením rozpouštědla. Míchání po dobu 15 min. Nakonec je zařízení sušeno v horkovzdušné troubě při 50 °C po dobu jedné hodiny. Výsledná podoba prototypů, na kterých byla zkoušena funkčnost enkapsulace, je na obr. 11.



*Obr. 11: Enkapsulované vzorky implantabilních zařízení*

#### 4.12 Nezávislé posouzení biokompatibility zkonstruovaných zařízení

Nezávislé hodnocení biokompatibility dle platné normy ISO10993 bylo provedeno Státním zdravotním ústavem, protokoly jsou přílohou disertační práce. Seznam provedených zkoušek:

- Zkouška cytotoxicity dle ČSN EN ISO 10993-5
- Zkouška kožní dráždivosti *in vitro* dle ČSN EN ISO 10993-23
- Zkouška intrakutánní reaktivity dle ČSN EN ISO 10993-23
- Zkouška kožní dráždivosti ve skupině dobrovolníků dle ČSN EN ISO 10993-23
- Zkouška sensibilizace LLNA dle ČSN EN ISO 10993-10
- Zkouška sensibilizace *in vitro* LuSens
- Zkouška sensibilizace *in chemico* DPRA

Byly testovány dva vzorky – epoxid Loctite EA M-31 CL vytvrzovaný při zvýšené teplotě v PVDF formě (vzorek „implant-epoxy“) a epoxid Loctite EA M-31 CL vytvrzovaný při zvýšené teplotě v PVDF formě s následným pokrytím vrstvou polymeru P3HT vytvořenou z 1% roztoku P3HT v chloroformu s následným odpařením rozpouštědla při atmosférickém tlaku a při teplotě 40 °C po dobu 1 hodiny (vzorek „implant-p3ht“).

Všechny provedené testy dopadly negativně – tedy nebyla prokázána reakce testovaného subjektu, buněk či reagensů na vzorky. Testovací protokoly jsou přílohou disertační práce. Na základě provedených zkoušek a rozhodovací matice v normě ISO10993 prošly oba testované materiály hodnoceními, která mají být zvažována u zařízení pro krátkodobou (do 24 hodin) implantaci do tkáně či kosti s výjimkou krve.

### 4.13 Ověření funkčnosti zpětnovazebního systému řízení neurostimulace

V software neurostimulátoru je implementován zpětnovazebný řídicí algoritmus, který po jeho aktivaci z externí stanice autonomně upravuje neurostimulaci na základě hodnoty pH, která je v jícnu. Při snížení pH pod stanovený limit (u refluxní choroby jícnu stanoven zpravidla jako snížení pH v oblasti nad horním jícnovým svěračem pod hodnotu 4,0 (17)) je zahájena neurostimulace podle přednastaveného schématu. Úpravami software v neurostimulátoru lze dosáhnout různých chování v závislosti na požadavcích – lze implementovat scénář, kdy bude neurostimulace po zjištění snížení pH pod stanovený limit trvat nepřetržitě až do vrácení pH nad hraniční hodnotu (tedy směrem do normálních hodnot pH), případně může být intenzita neurostimulace zesílena. Pro ověření stability software neurostimulátoru byl při testování vypnut watchdog (mechanismus, který při neočekávaném zastavení programu automaticky iniciuje restart) a do úvodní smyčky byl přidán kód, který zaznamenává počet restartů programu (zapiše informaci o restartu při každém spuštění), pokud by nastala situace, kdy při neočekávané situaci dojde k samovolnému restartu programu.

Pro otestování funkčnosti zpětnovazebního řízení systému byl navržen in-vitro experiment provedený se dvěma páry implantabilních zařízení, přičemž každý experiment byl zopakován třikrát. *In vitro* experiment byl proveden z důvodu redukce počtu zvířat, která by měla být v úvodní fázi testování celého systému využita. Na začátku byla provedena kalibrace pH senzoru pomocí pufrů o hodnotách pH 4,0 a 10,0. Byla provedena tři měření v každém pufru. Na základě těchto dat byla určena hranice pro počátek refluxní epizody (pH = 4,0 a nižší) a zároveň s tím byla ověřena správnost funkce pH senzoru (reaguje na změny pH). Zprůměrovaná hodnota pro pH = 4,0 se pro další experimentování stala hraniční hodnotou, při které má neurostimulátor zareagovat spuštěním

neurostimulace. Při překročení hraniční hodnoty pH směrem k normálním hodnotám má být neurostimulace pozastavena.

Po kalibraci pH senzoru bylo přistoupeno k samotnému experimentu – ten byl proveden v časovém rozmezí 15 minut po kalibraci, 6 hodin po kalibraci a 24 hodin po kalibraci. Byl připraven roztok kyseliny chlorovodíkové o molární koncentraci 0,16 M, která odpovídá fyziologické koncentraci v lidském žaludku (18), čtyři kyselé 0,1 M citráto-fosforečnanové pufrы o pH 3,2; 3,6; 4,4 a 4,8 a neutrální 0,1 M citráto-fosforečnanový pufr o pH 7,0. Stejný typ pufru byl zvolen primárně z důvodu zamezení nežádoucích reakcí při jejich vzájemném promíchávání (při vyjmutí a vložení implantátu z jednoho pufru do druhého při provádění experimentu. Roztoky byly připraveny v kádinkách, objem každého z pufrů a roztoku kyseliny chlorovodíkové byl 200 ml. Cílem pufrů o pH 0,8 (kyselina chlorovodíková) a pH 7,0 bylo otestovat základní funkčnost, cílem ostatních pufrů pak otestovat drift (pozvolnou ztrátu kalibrace ISFET senzoru) v čase.

Do každé z kádinek byl vložen pH senzor po dobu 5 minut pro ustálení hodnoty. Bylo zaznamenáno, zda neurostimulátor změnil stav neurostimulace (došlo k zahájení nebo pozastavení), a doba od vložení do pufru, za kterou se tato změna stala. Sekvence vložení pH senzoru do roztoků pH o různých hodnotách byla následující:

**7,0 → 0,8 → 4,8 → 4,4 → 3,6 → 3,2 → 0,8 → 3,2 → 3,6 → 4,4 → 4,8 → 7,0 → 3,2 → 4,8**

Tato sekvence byla zopakována celkem dvakrát pro oba senzory. Po skončení experimentu byl pH senzor před provedením dalšího experimentu vložen do neutrálního pufru o pH = 7,0.

Statistické zhodnocení měření pH v časovém rozmezí 24 hodin je v tabulce 1. Byla prokázána funkčnost zpětnovazebního systému – neurostimulátor vždy správně reagoval na naměřené hodnoty. U pH senzorů byla v souladu s informacemi výrobce zjištěna mírná ztráta

kalibrace senzorů, a to jak ve změně citlivosti (měřené v mV/pH), tak v naměřeném driftu (posun naměřených hodnot v čase vlivem nestability pseudoreferenční elektrody a ISFET senzoru). Naměřený drift odpovídá změně v naměřené hodnotě pH max. o hodnotu 0,4 až 0,5, což je z hlediska diagnostiky GERD a výkyvů hodnot pH v jícnu nesignifikantní. Tento drift neměl během 24hodinového sledování vliv na korektní funkci zpětné vazby, naměřené hodnoty byly v rozsahu  $\pm 0,4$  pH ve 100 % resp. 93,3 % případů (senzor 1 resp. senzor 2), v rozsahu  $\pm 0,8$  pH byly naměřené hodnoty ve 100 % sledovaných případů.

*Tabulka 1: Zpracované výsledky z in vitro experimentu*

<b>Parametr</b>	<b>Senzor 1</b>	<b>Senzor 2</b>
Senzitivita - 15 min [mV/pH]	48.9	52.1
Senzitivita - 6 hod [mV/pH]	47.2	51.3
Senzitivita - 24 hod [mV/pH]	48.2	52.5
Drift - 15 min [mV]	---	---
Drift - 6 hod [mV]	-1.5	-14.1
Drift - 24 hod [mV]	-24.9	-20.1

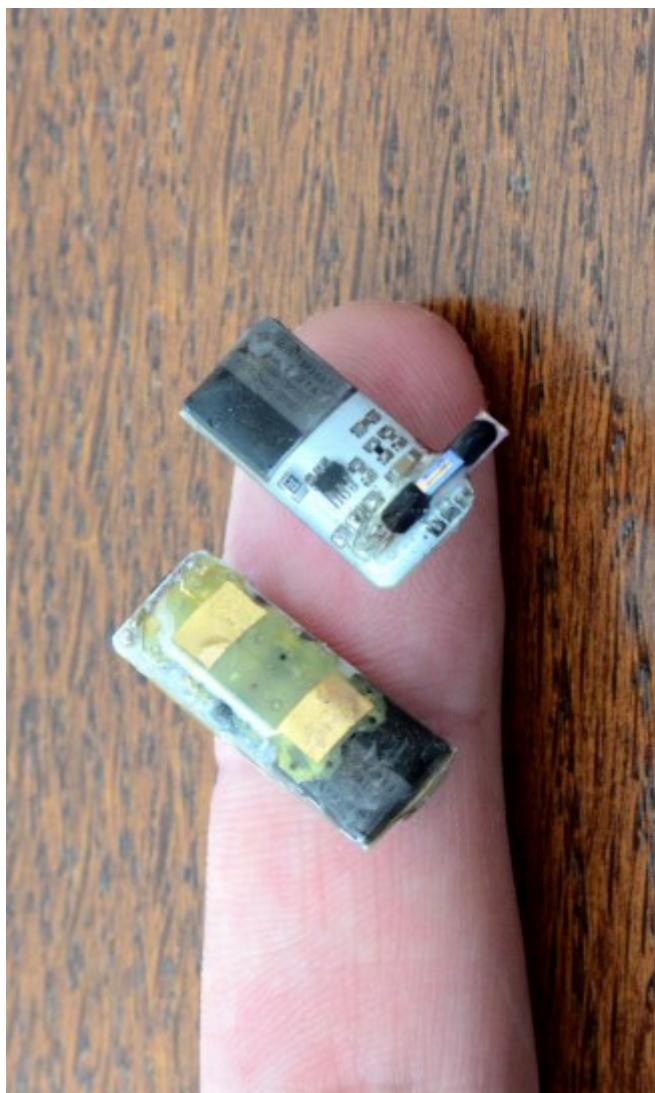
## 5 Diskuze

Jediným komerčně dostupným řešením pro neurostimulační léčbu refluxní choroby jícnu byl systém EndoStim, který byl dostupný na trhu do roku 2019, kdy bylo ohlášeno ukončení činnosti stejnojmenné společnosti, která daný systém uvedla na trh v EU (19). Dané implantabilní zařízení mělo konstrukci podobnou kardiostimulátoru, kdy sestávalo z podkožně implantovatelného zařízení s drátovými elektrodami, které byly implantovány do oblasti dolního jícnového svěrače. V oblasti kapslového pH monitoringu je v klinické praxi k dispozici systém Medtronic Bravo (20), jehož funkce je totožná se zařízením, které bylo vyvinuto v rámci této práce.

System, který byl vyvinut, je inovativní z hlediska velikosti, minimálně invazivní implantovatelnosti v rámci jednoho endoskopického výkonu a dále z hlediska schopnosti obou zařízení spolupracovat a poskytovat tak personalizovanou léčbu GERD.

Biokompatibilita výsledných výrobků byla posouzena v souladu s normou ČSN EN ISO 10993. Provedený *in vitro* experiment prokázal funkčnost zpětné vazby – řízení neurostimulace na základě dat z pH senzoru, přičemž obě zařízení komunikovala bezdrátově. Dále byla prokázána spolehlivost navrženého hardware i stabilita software.

Z hlediska další práce na projektu lze použitím miniaturnější technologie zejména pro pasivní součástky a strojovým osazením dosáhnout implementace variabilního proudového zdroje, který bude rozsahem generovaných neurostimulačních impulzů zcela ekvivalentní řešení EndoStim. Na výsledky této práce bude navázáno provedením dalších animálních experimentů, které budou zaměřeny na nalezení optimální frekvence neurostimulačních pulzů a dalších parametrů pro maximalizaci léčebného účinku při léčbě GERD.



*Obr. 12: Pohled na vyvinutý systém implantabilního neurostimulátoru a pH senzoru*

## 6 Závěr

Cílem práce bylo zkonstruovat systém pro léčbu refluxní choroby jícnu pomocí neurostimulace dolního jícnového svěrače. Tento cíl se podařilo splnit konstrukcí systému prototypů implantabilních zdravotnických prostředků, které spolu komunikují prostřednictvím na míru vyvinutého bezdrátového komunikačního rozhraní. Tento systém je bezdrátově konfigurovatelný prostřednictvím externího zařízení, kdy lze nastavovat chování zpětné vazby a napěťový průběh stimulačních impulzů.

Funkčnost systému včetně zpětnovazebního řízení byla úspěšně otestována *in vitro* a dále bylo provedeno několik experimentálních implantací tvarově obdobných prototypů do modelu (jícen a žaludek prasete) i živých zvířat. Použitá metoda submukozního pocketingu společně s konstrukcí prototypů implantabilních zařízení je spolehlivá a bezpečná.

Biokompatibilita materiálů používaných při konstrukci daného řešení byla nezávisle ověřena Státním zdravotním ústavem a ani v jednom případě nebyla zjištěna nežádoucí reakce. Souběžně s tím byla vyvinuta metoda enkapsulace libovolných prototypů implantabilních zařízení, kterou lze jednoduše použít i pro řešení dalších výzkumných a vývojových projektů.

Na výsledky práce může být v budoucnu navázáno provedením animálních experimentů, které se budou zaměřovat na nalezení optimálních průběhů neurostimulačních impulzů a vhodné nastavení zpětnovazebního řízení pro maximalizaci léčebného účinku při minimalizaci případných nežádoucích účinků a spotřeby energie neurostimulátoru.



## 7 Použitá literatura

1. RIORDAN, Michael, Lillian HODDESON a Conyers HERRING. The invention of the transistor. *Reviews of Modern Physics* [online]. 1999, **71**(SUPPL. 2). ISSN 00346861. Dostupné z: doi:10.1103/revmodphys.71.s336
2. RODRÍGUEZ, Leonardo, Patricia RODRIGUEZ, Beatriz GÓMEZ, Juan C. AYALA, Danny OXENBERG, Alberto PEREZ-CASTILLA, Manoel G. NETTO, Edy SOFFER, W. John BOSCARDIN a Michael D. CROWELL. Two-year results of intermittent electrical stimulation of the lower esophageal sphincter treatment of gastroesophageal reflux disease. *Surgery (United States)* [online]. 2015, **157**(3), 556–567. ISSN 15327361. Dostupné z: doi:10.1016/j.surg.2014.10.012
3. SOFFER, Edy. Effect of electrical stimulation of the lower esophageal sphincter in gastroesophageal reflux disease patients refractory to proton pump inhibitors. *World Journal of Gastrointestinal Pharmacology and Therapeutics* [online]. 2016, **7**(1), 145. ISSN 2150-5349. Dostupné z: doi:10.4292/wjgpt.v7.i1.145
4. CESARIO, Silvia, Serena SCIDA, Chiara MIRAGLIA, Alberto BARCHI, Antonio NOUVENNE, Gioacchino LEANDRO, Tiziana MESCHI, Gian Luigi DE' ANGELIS a Francesco DI MARIO. Diagnosis of GERD in typical and atypical manifestations. *Acta Biomedica* [online]. 2018, **89**(5), 33–39. ISSN 25316745. Dostupné z: doi:10.23750/abm.v89i8-S.7963
5. TUSTUMI, Francisco, Cintia Mayumi Sakurai KIMURA, Flavio Roberto TAKEDA, Rodrigo Hideki UEMA, Rubens Antônio Aissar SALUM, Ulysses RIBEIRO-JUNIOR a Ivan CECCONELLO. PROGNOSTIC FACTORS AND SURVIVAL ANALYSIS IN ESOPHAGEAL CARCINOMA. *ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)* [online]. 2016, **29**(3), 138–141. ISSN 0102-6720. Dostupné z: doi:10.1590/0102-6720201600030003
6. PORTALE, Giuseppe, Jeffrey A. HAGEN, Jeffrey H. PETERS, Linda S. CHAN, Steven R. DEMEESTER, Tasha A.K. GANDAMIHARDJA a Tom R. DEMEESTER. Modern 5-Year Survival of Resectable Esophageal Adenocarcinoma: Single Institution Experience with 263 Patients. *Journal of the American College of Surgeons* [online]. 2006, **202**(4), 588–596. ISSN 10727515. Dostupné z: doi:10.1016/j.jamcollsurg.2005.12.022

7. JUNG, Yoon Suk a Dong Il PARK. Submucosal injection solutions for endoscopic mucosal resection and endoscopic submucosal dissection of gastrointestinal neoplasms. *Gastrointestinal Intervention* [online]. 2013, 2(2), 73–77. ISSN 22131795. Dostupné z: doi:10.1016/j.gii.2013.09.003
8. MAPLE, John T., Barham K. ABU DAYYEH, Shailendra S. CHAUHAN, Joo Ha HWANG, Sri KOMANDURI, Michael MANFREDI, Vani KONDA, Faris M. MURAD, Uzma D. SIDDIQUI a Subhas BANERJEE. Endoscopic submucosal dissection. *Gastrointestinal Endoscopy* [online]. 2015, 81(6), 1311–1325. ISSN 00165107. Dostupné z: doi:10.1016/j.gie.2014.12.010
9. FLEISCHMANN, Carola, Andreas PROBST, Alanna EBIGBO, Siegbert FAISS, Brigitte SCHUMACHER, H.-P. ALLGAIER, F.L. DUMOULIN, Ingo STEINBRUECK, Michael ANZINGER, Joerg MARIENHAGEN, Anna MUZALYOVA a Helmut MESSMANN. Endoscopic Submucosal Dissection in Europe: Results of 1000 Neoplastic Lesions From the German Endoscopic Submucosal Dissection Registry. *Gastroenterology* [online]. 2021, 161(4), 1168–1178. ISSN 00165085. Dostupné z: doi:10.1053/j.gastro.2021.06.049
10. DEB, Sanchali, Shou-jiang TANG, Thomas L. ABELL, Tyler MCLAWHORN, Wen-Ding HUANG, Christopher LAHR, S.D. Filip TO, Julie EASTER a J.-C. CHIAO. Development of innovative techniques for the endoscopic implantation and securing of a novel, wireless, miniature gastrostimulator (with videos). *Gastrointestinal Endoscopy* [online]. 2012, 76(1), 179–184. ISSN 00165107. Dostupné z: doi:10.1016/j.gie.2012.03.177
11. NORDIC SEMICONDUCTOR ASA. *Enhanced ShockBurst User Guide* [online]. 2016 [vid. 2022-01-24]. Dostupné z: [http://developer.nordicsemi.com/nRF5\\_SDK/nRF5\\_SDK\\_v12.x.x/nRF5\\_SDK\\_12.1.0\\_offline\\_doc.zip](http://developer.nordicsemi.com/nRF5_SDK/nRF5_SDK_v12.x.x/nRF5_SDK_12.1.0_offline_doc.zip)
12. FANZIO, Paola, Chi Tung CHANG, Maciej SKOLIMOWSKI, Simone TANZI a Luigi SASSO. Fully-polymeric pH sensor realized by means of a single-step soft embossing technique. *Sensors (Switzerland)* [online]. 2017, 17(5), 1–11. ISSN 14248220. Dostupné z: doi:10.3390/s17051169
13. ROSSETTI, Nicolò, Jo'Elen HAGLER, Pierre KATEB a Fabio CICOIRA. Neural and electromyography PEDOT electrodes for invasive stimulation and recording. *Journal of Materials Chemistry C* [online]. 2021, 9(23), 7243–7263. ISSN 20507526. Dostupné z: doi:10.1039/d1tc00625h

14. PANASONIC. *Panasonic CG320A Batteries Datasheet* [online]. 2017. Dostupné z: [https://b2b-api.panasonic.eu/file\\_stream/pids/fileversion/3464](https://b2b-api.panasonic.eu/file_stream/pids/fileversion/3464)
15. KUPPUSAMI, Sushmitha a Reza H OSKOUEI. Parylene Coatings in Medical Devices and Implants: A Review. *Universal Journal of Biomedical Engineering* [online]. 2015, **3**(2), 9–14. ISSN 2333-2662. Dostupné z: doi:10.13189/ujbe.2015.030201
16. MADEIRA, Danielle M.F., Osvaldo VIEIRA, Luís Antonio PINHEIRO a Benjamim DE MELO CARVALHO. Correlation between Surface Energy and Adhesion Force of Polyethylene/Paperboard: A Predictive Tool for Quality Control in Laminated Packaging. *International Journal of Chemical Engineering* [online]. 2018, **2018**. ISSN 16878078. Dostupné z: doi:10.1155/2018/2709037
17. SIFRIM, D. Gastro-oesophageal reflux monitoring: review and consensus report on detection and definitions of acid, non-acid, and gas reflux. *Gut* [online]. 2004, **53**(7), 1024–1031. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.2003.033290
18. PAVELKA, Margit a Jürgen ROTH. Parietal Cells of Stomach: Secretion of Acid. In: *Functional Ultrastructure* [online]. Vienna: Springer Vienna, 2010, s. 202–203. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-211-99390-3\_105
19. PRUTCHI, David. *GERD-Treatment EndoStim is Liquidated* [online]. 2019 [vid. 2022-03-10]. Dostupné z: <http://www.implantable-device.com/2019/12/08/gerd-treatment-endostim-is-liquidated/>
20. KWIATEK, M.A. a J.E. PANDOLFINO. The Bravo™ pH capsule system. *Digestive and Liver Disease* [online]. 2008, **40**(3), 156–160. ISSN 15908658. Dostupné z: doi:10.1016/j.dld.2007.10.025

## **8 Seznam publikací doktoranda *in extenso* s impakt faktorem ve vztahu k disertační práci**

NOVÁK, Marek, Jozef ROSINA, Robert GÜRLICH, Ivana CIBULKOVÁ a Jan HAJER. Construction of a Wireless-Enabled Endoscopically Implantable Sensor for pH Monitoring with Zero-Bias Schottky Diode-based Receiver. *Journal of Visualized Experiments* [online]. 2021, (174) [cit. 2022-03-28]. ISSN 1940-087X. Dostupné z: doi:10.3791/62864, **IF 1.355/2020**

HAJER, Jan, Marek NOVÁK a Jozef ROSINA. Wirelessly Powered Endoscopically Implantable Devices into the Submucosa as the Possible Treatment of Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastroenterology Research and Practice* [online]. 2019, **2019**, 1-7 [cit. 2022-03-28]. ISSN 1687-6121. Dostupné z: doi:10.1155/2019/7459457, **IF 1.806/2019**

HAJER, Jan a Marek NOVÁK. Autonomous and Rechargeable Microneurostimulator Endoscopically Implantable into the Submucosa. *Journal of Visualized Experiments* [online]. 2018, (139) [cit. 2022-03-28]. ISSN 1940-087X. Dostupné z: doi:10.3791/57268, **IF 1.108/2018**

HAJER, Jan a Marek NOVÁK. Development of an Autonomous Endoscopically Implantable Submucosal Microdevice Capable of Neurostimulation in the Gastrointestinal Tract. *Gastroenterology Research and Practice* [online]. 2017, **2017**, 1-8 [cit. 2022-03-28]. ISSN 1687-6121. Dostupné z: doi:10.1155/2017/8098067, **IF 1.859/2017**

## 9 Seznam publikací doktoranda s impakt faktorem bez vztahu k disertační práci

NOCIAROVA, Jana, Marek NOVAK, Jan POLAK, et al. Development of Radiofrequency Ablation Generator and Balloon-Based Catheter for Microendoluminal Thin-Layer Ablation Therapy Using the Rat Duodenum as a Model of Low-Impedance Tissue. *Journal of Healthcare Engineering* [online]. 2021, **2021**, 1-12 [cit. 2022-03-28]. ISSN 2040-2309. Dostupné z: doi:10.1155/2021/9986874, **IF 2.682/2020**

## 10 Seznam konferenčních příspěvků na mezinárodních konferencích

Utilization of implantable ISFET pH sensors for personalized therapy of GERD, Novak M., Rosina J., Hajer J., *GASTRO 2021, Praha, Česká republika.*

Endoscopically implantable devices into submucosa as the solution for low-gravity induced gastrointestinal problems, Novak M., Hajer J., *International Astronautical Congress 2017, Adelaide, Austrálie.*

Characterization of RF to DC converters for L-band and S-band power transmission, Novak M., *Mezinárodní astronautický kongres 2016, Guadalajara, Mexiko.*