

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV VÝKONOVÉ ELEKTROTECHNIKY A ELEKTRONIKY

DEPARTMENT OF POWER ELECTRICAL AND ELECTRONIC ENGINEERING

ANALÝZA ELEKTRICKÝCH A TEPELNÝCH JEVŮ PŘI ELEKTROPORACI

ANALYSIS OF ELECTRICAL AND THERMAL EFFECTS DURING ELECTROPORATION

TEZE DIZERTAČNÍ PRÁCE

SUMMARY OF DOCTORAL THESIS

AUTORKA PRÁCE

AUTHOR

Ing. Veronika Novotná

ŠKOLITEL

SUPERVISOR

Ing. Dalibor Červinka, Ph.D.

BRNO 2019

Abstrakt

Dizertační práce se zabývá problematikou elektroporace. Pojednává o její teoretické podstatě a věnuje se také modelování procesů, ke kterým dochází v tkáni během elektroporace. Dále popisuje technická řešení dvou vyvinutých unikátních experimentálních vysokonapěťových zdrojů stejnosměrných a střídavých pulzů pro účely elektroporace a diskutuje také experimenty, ke kterým byly zdroje využity.

Abstract

This dissertation thesis describes a phenomenon called electroporation. It is about its theoretical aspects as well as about modeling of processes in the tissue during electroporation. Further, it describes the technical design of two developed unique experimental generators of DC and AC pulses for electroporation purposes. It also includes a description of experiments which were done using discussed generators.

Klíčová slova

Ablační techniky, ireverzibilní elektroporace, modelování, Pennesova rovnice, reverzibilní elektroporace, vysokonapěťový zdroj

Keywords

Ablation techniques, irreversible electroporation, modeling, Pennes bioheat equation, reversible electroporation, high-voltage generator

Obsah

Úvod	1
1 Současný stav poznání o buněčné elektroporaci	2
1.1 Historie elektroporace	2
1.2 Náhradní elektrické zapojení buňky	3
1.3 Reverzibilní elektroporace	4
1.4 Ireverzibilní elektroporace	4
2 Matematické modelování elektroporace tkáně	5
2.1 Analytické řešení Pennesovy rovnice přenosu tepla	6
2.1.1 Analytické řešení pro případ procházející cévy	7
2.1.2 Výsledky analytických řešení Pennesovy rovnice přenosu tepla	8
2.2 Simulace elektroporace balónkovým katetrem	9
2.3 Simulace elektroporace endokardiálním katetrem	13
3 Experimentální zdroj stejnosměrných pulzů pro elektroporaci	17
3.1 Vývoj zdroje stejnosměrných pulzů pro IRE	17
3.1.1 Konstrukce zdroje stejnosměrných pulzů	17
3.2 Experimenty provedené pomocí zdroje stejnosměrných pulzů	19
3.2.1 Srovnání účinků RFA a IRE in vivo	19
3.2.2 IRE pro léčbu okluze kovového stentu ve žlučových cestách	21
3.2.3 Klinické ověření účinků elektroporace v žlučových cestách	22
4 Experimentální zdroj střídavých pulzů pro elektroporaci	23
4.1 Vývoj zdroje pro AC elektroporaci	23
4.1.1 Synchronizace aplikačních pulzů se srdečním rytmem	24
4.2 Endokardiální katetrová ablace provedená pomocí zdroje střídavých pulzů	26
5 Zpřesnění matematického modelu tkáně	28
5.1 Identifikace parametrů náhradního zapojení tkáně	29
5.2 Identifikace parametrů upraveného náhradního zapojení tkáně	30
Závěr	32
Literatura	34

Úvod

Medicínské technologie mezi nejrychleji se rozvíjející vědecké disciplíny. Stále se vyvíjí nové přístroje a metody. Chirurgické zákroky jsou kratší, robotizované a minimálně invazivní. Léčba je cílená nebo navržena přímo na míru každého pacienta.

Tato práce se zabývá jevem zvaným elektroporace. Rozebírá jej po teoretické, technické i uživatelské stránce. Konkrétně pojednává o modelování šíření elektrického pole a tepla v elektroporované tkáni, věnuje se technickému řešení zdrojů stejnosměrných a střídavých vysokonapěťových pulzů pro účely elektroporace a v neposlední řadě také experimentům, ke kterým byly tyto zdroje využity.

Práce má za cíl pomoci rozšířit povědomí o metodě ireverzibilní elektroporace, najít nové oblasti aplikace této techniky, zpřístupnit ji širšímu okruhu vědeckých a lékařských týmů díky vyvíjeným přístrojům a přispět tak k řešení řady závažných lékařských diagnóz.

Dizertační práce si klade následující cíle:

- **Výpočet a vizualizace rozložení elektrického pole v tkáni.** Pro stanovení rozsahu oblastí reverzibilní a ireverzibilní elektroporace v závislosti na tvaru a umístění aplikačních elektrod je užitečným nástrojem výpočet metodou konečných prvků. Cílem je stanovit rozložení elektrických potenciálů v tkáni, na kterou je přiloženo konstantní stejnosměrné napětí. Tato vizualizace je využívána operátorem provádějícím zákrok. Zmíněná metoda je vyhovující pro zákroky ve velkých orgánech jako jsou např. játra, které lze chápat jako homogenní prostředí. Výrazného zlepšení přesnosti metody lze docílit zavedením nehomogenního prostředí s vodivostí závislou na směru a velikosti intenzity elektrického pole. Výpočet je pak použitelný i pro elektroporaci v blízkosti či uvnitř žlučovodu, cév a podobně.
- **Provedení tranzientní tepelné analýzy a vizualizace rozložení teplotního pole v tkáni.** Pro popsání fyzikálních jevů v tkáni při elektroporaci však nestačí pouze určení rozsahu elektroporace, ale je nutné stanovit i nežádoucí tepelné namáhání tkáně vypočtené na základě rozložení Jouleových ztrát v tkáni způsobených časově proměnným elektrickým polem.
- **Vývoj experimentálních zdrojů stejnosměrných a střídavých pulzů pro účely elektroporace.** Experimenty vyžadují vývoj a realizaci zdroje pravoúhlých pulzů stejnosměrného vysokého napětí a zdroje vysokofrekvenčních pulzů vysokého napětí. Součástí vývoje je vytvoření komplexního pracoviště s podpůrnými subsystemy zahrnujícími synchronizaci pulzu se signálem EKG či měření impedance tkáně.

1 | Současný stav poznání o buněčné elektroporaci

Elektroporace je jev, při kterém se pomocí krátkého vysokonapěťového pulzu zvýší propustnost buněčné membrány pro makromolekuly a ionty. Tento neřízený pohyb molekul přes plazmatickou membránu je umožněn díky nanopórům, které se zde vytvoří právě působením elektrického proudu. Tyto póry vznikají v membráně buď dočasně, pak elektroporaci nazýváme reverzibilní (RE) neboli vratnou, a nebo jsou póry trvalé a dochází k ireverzibilní (IRE), tzv. nevratné elektroporaci. V takovém případě buňka není schopna zacelení vzniklých pórů a zahyne buněčnou smrtí zvanou apoptóza, viz [1].

Skutečnost, zda bude poškození membrány vratné nebo nevratné, je závislá na řadě faktorů. Mezi tyto faktory patří jednak vlastnosti aplikovaných pulzů (napětí, proud, tvar, délka, amplituda, frekvence či počet pulzů a časový interval mezi nimi), ale také vlastnosti buněk a tkání v daném elektrickém poli (typ tkáně nebo buněk, tvar, velikost, hustota, teplota, vodivost buněk, jejich orientace vůči směru působení elektrického pole, pružnost a propustnost membrány, apod.), viz [2].

1.1 Historie elektroporace

První zmínka o fenoménu elektroporace pochází již z roku 1754, kdy J. A. Nollet popsal vznik červených skvrn na pokožce lidí a zvířat způsobených aplikací elektrických jisker. Během 18. a 19. století se zájem o bioelektrické jevy dále prohluboval. Do této éry patří například pokusy L. Galvaniho a A. Volty s pohybem svalů mrtvých žab či objev elektrofyziologie J. W. Richtermem, viz [1].

Pravděpodobně první práce zabývající se IRE byla studie G. W. Fullera o baktericidním účinku vysokonapěťových výbojů při čištění vody v řece Ohio. Ve druhé polovině 20. století již byl akceptován dnešní pohled na elektroporaci. Tedy, že elektrické pole může mít termální i netermální účinek a způsobuje rozrušení buněčné membrány. Výzkum IRE probíhal paralelně v biomedicině a v technologiích zpracování potravin. Reverzibilní elektroporace se také stala velmi populární v biotechnologiích a medicíně a to díky objevům s fúzí buněk a zaváděním genů do buňky, podrobněji viz [1,3,4]. V roce 2004 C. Yao se svým týmem provedli řadu experimentů s rychle rostoucími (200 ns) a pomalu exponenciálně klesajícími (200 μ s) elektrickými pulzy tvořenými vybíjením kondenzátoru, viz [5]. Prováděli *in vivo*¹ ablaci² a zpomalování

¹*in vivo* – lat. „v živém“. Pokusy na organismu, lidském nebo zvířecím.

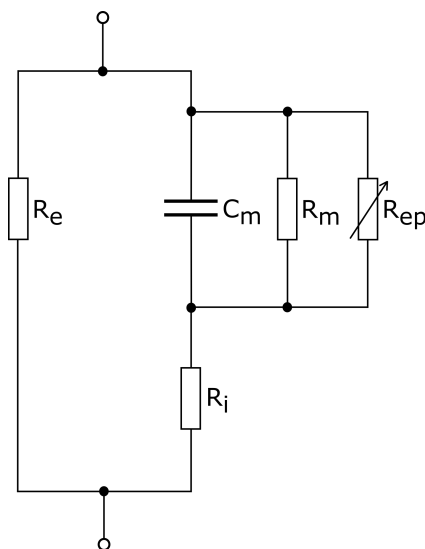
²ablace – Odstranění části těla či tkáně.

růstu nádoru. Byli tak pravděpodobně první vědci, kteří získali empirická data o ablačních schopnostech ireverzibilní elektroporace.

Nejvýraznějšími jmény v oblasti elektroporace jsou však R.V. Davalos, B. Rubinsky a Ch. B. Arena, kteří mají na svém kontě celou řadu vědeckých publikací, viz např. [6–11] a patentových přihlášek např. [12, 13]. V roce 2007 byl na americký trh uveden firmou AngioDynamics první komerčně dostupný přístroj pro ireverzibilní elektroporaci. Toto zařízení se skládá ze zdroje vysokonapěťových pulzů a jednorázových jehlových elektrod, viz [1, 14]. Od roku 2011 se začaly objevovat také práce zkoumající elektroporaci vyvolanou střídavými elektrickými pulzy a v roce 2016 si Ch. Arena, R. Davalos a M. Sano patentovali zařízení pro vysokofrekvenční elektroporaci nádorů H-FIRE, které však zatím není komerčně dostupné, viz [15]. Z důvodu obtížné dostupnosti zařízení pro velké množství organizací v České republice započala v roce 2014 spolupráce UVEE VUT v Brně a brněnských lékařských týmů na vývoji zařízení pro ireverzibilní elektroporaci, viz kapitola 3 a 4.

1.2 Náhradní elektrické zapojení buňky

Jak již bylo naznačeno, buňky mají elektrické vlastnosti. Lze tedy sestavit náhradní elektrické schéma popisující pasivní elektrické vlastnosti buněk. Elektrický model buňky, který je více méně platný dodnes, navrhl Fricke ve dvacátých letech dvacátého století. Základní náhradní zapojení buňky obsahuje odpor R_e reprezentující extracelulární médium, který je zapojen paralelně se sériovým zapojením odporu vnitřního prostředí R_i a kapacitou plazmatické membrány C_m a tvoří tak vlastně RC obvod. Pokud toto schéma zapojíme sério-paralelně, získáme náhradní zapojení tkáně.



Obr. 1.1: Elektrický model buňky s fenoménem elektroporace [1].

Pro účely elektroporace je třeba základní schéma modifikovat. Nejčastěji lze v literatuře nalézt rozšířený model, který je na Obr. 1.1. K základnímu zapojení je přidán svodový odpor membrány R_m , protože membrána není perfektní dielektrikum a dochází k unikání proudu přes iontové kanály. Dále je zde navíc proměnný odpor R_{ep} reprezentující proces elektroporace,

viz [1, 16]. Ani tento model však není zcela dokonalý pro určení jmenovaných parametrů. Problematice změny impedance během elektroporačního procesu a další modifikaci modelu buňky se věnuje kapitola 5.

1.3 Reverzibilní elektroporace

Reverzibilní elektroporace je proces, kdy v buněčné membráně vznikají dočasné póry jako důsledek aplikace krátkého vysokonapěťového pulzu. Reverzibilní elektroporace je hojně využívaná metoda pro vpravování léčiv, chemikálií, barev, cizích genů, DNA, RNA a jiných molekul, které za normálních podmínek neprojdou přes buněčnou membránu dovnitř buňky. Využívá se také pro buněčnou fúzi a transdermální aplikaci léků proti rakovině (elektrochemoterapie – ECT). Je tedy užitečná v biomedicínských aplikacích, mikrobiologii nebo genovém inženýrství, viz [1, 17]. Pomocí reverzibilní elektroporace je také možné zprůchodňovat žlučové a močové cesty. V této problematice byly prováděny experimenty ve spolupráci s Radiologickou klinikou Fakultní nemocnice Brno Bohunice. Experimentům se dále věnuje kapitola 3.2.3.

1.4 Ireverzibilní elektroporace

Ireverzibilní neboli nevratná elektroporace (IRE) vzniká při dostatečně intenzivním elektrickém impulzu, kdy membrána již není schopna póry zacelit. K tomuto dochází tehdy, dosáhne-li elektrická intenzita v elektroporované tkáni hodnoty okolo $800 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$, viz [1]. Nejdříve byla IRE využívána spíše pro sterilizaci potravin a tekutin. Až od roku 2004 se o ní můžeme dočíst jako o ablační technice a to hlavně zásluhou Rafaela V. Davalose a Borise Rubinskeho. Nejčastěji využívaným zařízením pro IRE je pak systém NanoKnife od firmy AngioDynamics.

IRE je netermální, minimálně invazivní ablační metoda, která za použití vysokonapěťových pulzů podněcuje přirozenou buněčnou smrt (apoptózu) a regeneraci zdravé tkáně v uvolněném prostoru, viz [1, 18]. V porovnání s termálními ablačními technikami, které ničí vše v daném prostoru včetně citlivých struktur (pojiva, cévy, nervy, žlučové cesty, atd.), ovlivňuje IRE tyto jen minimálně. Při IRE také nedochází k fibróze, jizvení a nežádoucí imunoreakci, lze léčit větší nádorová ložiska a zákrok není negativně ovlivněn průtokem krve v okolních cévách.

IRE může být vyvolána buď stejnosměrnými nebo střídavými pulzy. Tradičně jsou využívány stejnosměrné obdélníkové pulzy o amplitudě jednotek kilovoltů. Značnou nevýhodou DC IRE je však nutnost úplné anestezie pacienta a svalové relaxace, aby nebyl narušen prováděný zákrok. Stejnosměrné napětí je nebezpečné také kvůli riziku vzniku fibrilace komor, je-li elektroporační pulz aplikován do vulnerabilní fáze³ srdečního rytmu, viz kapitola 3.

Při použití střídavých pulzů AC IRE je nežádoucí vliv na srdce minimalizován a pulzy nezpůsobují svalové záškuby, tedy je zde naděje, že by mohla být eliminována nutnost celkové anestezie a další medikace. Předpokládá se však, že při použití vyšších frekvencí roste oteplující účinek, což je nežádoucí efekt. Je tedy třeba provést řadu experimentů, aby bylo zařízení bezpečně použitelné v klinické praxi. Elektroporační generátor střídavých pulzů zatím není komerčně dostupným zařízením. Jeho vývoji se věnuje kapitola 4.

³vulnerabilní fáze – citlivá fáze srdečního rytmu při níž dochází k repolarizaci srdečních komor. Odpovídá zhruba vlně T EKG signálu.

2 | Matematické modelování elektroporace tkáně

Modelování a simulace jsou užitečným nástrojem při zkoumání jevu elektroporace. Poskytují cenné informace o procesu zákroku, aniž by bylo třeba reálných pokusů na zvířatech nebo lidech. Výsledky, které jsou získávány modelováním děje je možné následně korelovat s reálnými naměřenými daty, kdy může být potvrzena nebo vyvrácena jejich správnost. V ideálním případě, přesné simulace pomáhají chirurgovi naplánovat zákrok na základě zadaných informací o ložisku nádoru (velikost, tvar) a lze tak rozhodnout jaké parametry pulzů budou vyhovující pro daný případ, viz [11]. Dají se využít pro statistickou predikci velikosti ablovaného objemu tkáně, viz [19], nebo pro stanovení prahů mezi zákrokem bez efektu, reverzibilní elektroporací, ireverzibilní elektroporací a termálním poškozením tkáně.

Pomocí modelování a simulací se zkoumá hlavně rozložení elektrického pole v tkáni, viz např. [20–23] a její teplotní namáhání a s tím spojené šíření tepla v průběhu zákroku, viz např. [10,24–28]. K modelování bývá použita metoda konečných prvků s tím, že modely jsou nejčastěji realizovány v programovém prostředí COMSOL Multiphysics (FEMLab, Stockholm, Sweden), stejně jako v případě této práce. Nejčastěji se jako simulovaná tkáň uvažují játra. Elektrody se volí buď jehlové nebo plošné, viz [10,20,24,25].

Modelování nejdříve začíná analýzou elektrického pole, které způsobuje zvýšení potenciálu na buněčných membránách. Většinou se ireverzibilní elektroporace provádí sekvencí obdélníkových pulzů, které jsou mnohem delší než elektrická časová konstanta buněk a tkání. Což znamená, že indukované transmembránové napětí dosáhne svého maxima dlouho před tím, než pulz skončí, viz [29], a proto je možné zanedbat přechodové stavy a uvažovat rozložení elektrického pole při ustáleném stavu.

Intenzitu elektrického pole je možné řešit pomocí diferenciální rovnice v podobě Laplaceovy rovnice

$$\nabla \cdot (\sigma \nabla \varphi) = 0, \quad (2.1)$$

kde σ je měrná elektrická vodivost, φ je elektrický potenciál definovaný vztahem $\mathbf{E} = -\nabla \varphi$, viz [30], a ∇ je Laplaceův operátor. Z intenzity elektrického pole $\mathbf{E}$ je možné vypočítat proudovou hustotu $\mathbf{J}$ pomocí Ohmova zákona v diferenciálním tvaru

$$\mathbf{J} = \sigma \mathbf{E}. \quad (2.2)$$

Ze znalostí rozložení proudové hustoty v tkáni lze vypočítat Jouleovy měrné objemové ztráty

$$p_e = \frac{dP}{dV} = \frac{J^2}{\sigma}, \quad (2.3)$$

kde J je proudová hustota, P jsou Jouleovy ztráty a V je objem. Po získání rozložení Jouleových ztrát v daném objemu tkáně je dále možné počítat rozložení tepla.

Pro popis šíření tepla se využívá Poissonova parciální diferenciální rovnice. Může být vyjádřena také stavovou rovnicí vycházející z prvního termodynamického zákona.

$$\rho c_p \frac{\partial T}{\partial t} - \nabla \cdot (k \nabla T) = \dot{q}_v, \quad (2.4)$$

kde ρ je hustota hmoty, c_p je měrná tepelná kapacita, T je teplota, t je čas, k je tepelná vodivost a $\dot{q}_v$ je objemový zdroj tepla (ztráty). Vhodnou volbou $\dot{q}_v$ lze získat tzv. Pennesovu rovnici přenosu tepla v živé tkáni, viz [10, 11, 25, 31–34], která v sobě zahrnuje funkci metabolismu, průtok krve i teplo generované působením vnějšího elektrického pole, ale nebere v potaz směr, kterým krev systémem proudí.

Pennesova rovnice je nejpoužívanější rovnicí pro matematický popis šíření tepla v tkáni. Rovnice byla navržena Harry Pennesem v roce 1948 a publikována v časopise aplikované fyziologie. Pennes měřil rozložení teploty jako funkci radiální pozice v předloktí devíti osob. Jeho data odhalila rozdíl teplot na povrchu a uvnitř ruky asi o tři až čtyři stupně Celsia. Pennes připisoval tuto změnu teploty efektu vzniku metabolického tepla a perfuze krve v paži. Pennesova rovnice popisuje vliv metabolismu a perfuze krve na energetickou bilanci živé tkáně. Modifikovaná Pennesova rovnice má tvar

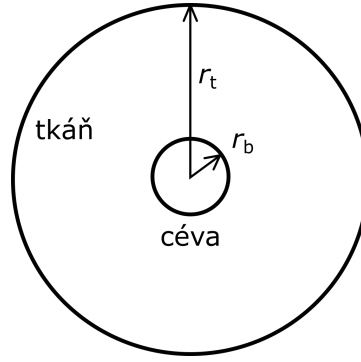
$$\rho_t c_t \frac{\partial T_t}{\partial t} = \nabla \cdot (k \nabla T_t) - \rho_b \omega_b c_b (T_t - T_b) + q_m + p_e, \quad (2.5)$$

kde ρ_t je hustota tkáně, c_t je tepelná kapacita tkáně, k je tepelná vodivost tkáně, ω_b je perfuze krve (objemový průtok krve na jednotku objemu tkáně), ρ_b je hustota krve, c_b je tepelná kapacita krve, T_b je teplota arteriální krve, T_t je teplota tkáně, q_m je měrné objemové metabolické teplo a p_e je měrný výkon přiváděný elektrickými pulzy a představuje teplo způsobené Jouleovými objemovými ztrátami.

Člen $\rho_t c_t \frac{\partial T_t}{\partial t}$ rovnice (2.5) reprezentuje míru změny teploty. Je to tzv. akumulované teplo, což je množství měrného výkonu v tkáni, které nestihlo opustit tkáň, radiací, kondukcí nebo konvekcí. Člen $\nabla \cdot (k \nabla T_t)$ na pravé straně rovnice představuje vedení tepla v těle způsobené teplotním gradientem. Tedy je to výkon odcházející z povrchu objemového elementu. Člen $\rho_b \omega_b c_b (T_t - T_b)$ představuje vedení tepla mezi tkání a perfuzí krve v kapilárách, tedy výkon odváděný pryč krví. Členy q_m a p_e představují generování tepla metabolismem a externím tepelným zdrojem (elektroporace).

2.1 Analytické řešení Pennesovy rovnice přenosu tepla

Tato část textu se zabývá analytickým řešením Pennesovy rovnice pro speciální případ geometrie, viz např. [35], skládající se z osově symetrického segmentu tkáně s cévou uvnitř podle Obr. 2.1. Analytické řešení je počítáno pro dva speciální případy. V prvním případě se předpokládá, že teplota arteriální krve (ϑ_a) je rovna teplotě krve proudící v hlavní cévě (ϑ_b). Tato céva tedy zásobuje krví daný orgán. V druhém případě se jedná o velkou cévu, která pouze prochází napříč tkání, ale nemá zásobní funkci a její teplota je po celé délce konstantní. Dalším předpokladem je, že veškeré materiálové vlastnosti krve a tkáně jsou nezávislé na teplotě.



Obr. 2.1: Geometrie modelu tkáně a cévy.

2.1.1 Analytické řešení pro případ procházející cévy

Pennesovu rovnici je pro další výpočty vhodné přepsat do tvaru:

$$\frac{1}{\tilde{r}} \frac{d\tilde{\theta}(\tilde{r}, \tilde{z})}{d\tilde{r}} + \frac{d^2\tilde{\theta}(\tilde{r}, \tilde{z})}{d\tilde{r}^2} - \tilde{P}^2 [\tilde{\theta}(\tilde{r}, \tilde{z}) - \tilde{\theta}_a] + 1 = 0. \quad (2.6)$$

Tato rovnice teploty tkáně představuje Besselovu diferenciální rovnici, jejíž řešení je:

$$\tilde{\theta}(\tilde{r}, \tilde{z}) = \mathcal{X}_1(\tilde{r})\tilde{\theta}_s(\tilde{z}) + \mathcal{X}_2(\tilde{r}) [\tilde{\theta}_a\tilde{P}^2 + 1], \quad (2.7)$$

kde $\tilde{\theta}$ je teplota tkáně a $\tilde{\theta}_s$ je teplota cévní stěny, $Y_0(\cdot)$ je Besselova funkce druhého druhu nultého řádu a $I_0(\cdot)$ je modifikovaná Besselova funkce prvního druhu nultého řádu, viz [36], a kde $\mathcal{X}_1$ a $\mathcal{X}_2$ jsou pomocné funkce definované následovně:

$$\mathcal{X}_1(\tilde{r}) = \frac{Y_0(-j\tilde{P}\tilde{r})I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) - I_0(\tilde{P}\tilde{r})Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right)}{Y_0(-j\tilde{P})I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) - I_0(\tilde{P})Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right)}, \quad (2.8)$$

$$\mathcal{X}_2(\tilde{r}) = \frac{[Y_0(-j\tilde{P}) - Y_0(-j\tilde{P}\tilde{r})] I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) + I_0(\tilde{P}) [Y_0(-j\tilde{P}\tilde{r}) - Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right)]}{\tilde{P}^2 [Y_0(-j\tilde{P})I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) - I_0(\tilde{P})Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right)]} + \frac{I_0(\tilde{P}\tilde{r}) [Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) - Y_0(-j\tilde{P})]}{\tilde{P}^2 [Y_0(-j\tilde{P})I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) - I_0(\tilde{P})Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right)]}. \quad (2.9)$$

Teplota cévní stěny pro $\tilde{r}=1$ má tvar:

$$\tilde{\theta}_s(\tilde{z}) = \tilde{\theta}_a\mathcal{X}_3 + \tilde{\theta}_b(\tilde{z})\mathcal{X}_4 + \mathcal{X}_5 \quad (2.10)$$

a konstanty $\mathcal{X}_3$, $\mathcal{X}_4$ a $\mathcal{X}_5$ jsou definovány následovně:

$$\mathcal{X}_3 = \frac{\tilde{P}^2 [-I_1(\tilde{P})] [Y_0(-j\tilde{P}) - Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right)] - j\tilde{P}^2 Y_1(-j\tilde{P})I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) + j\tilde{P}^2 Y_1(-j\tilde{P})I_0(\tilde{P})}{\tilde{P} [\tilde{P}I_1(\tilde{P}) - \text{Bi}I_0(\tilde{P})] Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) + \tilde{P} [\text{Bi}Y_0(-j\tilde{P}) - j\tilde{P}Y_1(-j\tilde{P})] I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right)}, \quad (2.11)$$

$$\mathcal{X}_4 = \frac{\text{Bi}\tilde{P}Y_0(-j\tilde{P})I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) - \text{Bi}\tilde{P}I_0(\tilde{P})Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right)}{\tilde{P} [\tilde{P}I_1(\tilde{P}) - \text{Bi}I_0(\tilde{P})] Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) + \tilde{P} [\text{Bi}Y_0(-j\tilde{P}) - j\tilde{P}Y_1(-j\tilde{P})] I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right)}, \quad (2.12)$$

$$\mathcal{X}_5 = \frac{-I_1(\tilde{P}) \left[Y_0(-j\tilde{P}) - Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) \right] - jY_1(-j\tilde{P})I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) + jY_1(-j\tilde{P})I_0(\tilde{P})}{\tilde{P} [\tilde{P}I_1(\tilde{P}) - \text{Bi}I_0(\tilde{P})] Y_0\left(-j\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right) + \tilde{P} [\text{Bi}Y_0(-j\tilde{P}) - j\tilde{P}Y_1(-j\tilde{P})] I_0\left(\frac{\tilde{P}r_t}{r_b}\right)}. \quad (2.13)$$

Teplota krve v cévě je pak dána rovnicí

$$\tilde{\theta}_b(\tilde{z}) = \frac{e^{-2\text{St}(1-\mathcal{X}_4)\tilde{z}} \left(\frac{2q_b k}{q_m k_b \text{Pe}} + 2\text{St}(\tilde{\theta}_a \mathcal{X}_3 + \tilde{\theta}_{b,i}(\mathcal{X}_4 - 1) + \mathcal{X}_5) \right) - \frac{2q_b k}{q_m k_b \text{Pe}} - 2\tilde{\theta}_a \text{St} \mathcal{X}_3 - 2\text{St} \mathcal{X}_5}{2\text{St}(\mathcal{X}_4 - 1)}. \quad (2.14)$$

V posledním kroku by se dosadily získané teploty $\tilde{\theta}_s(\tilde{z})$ a $\tilde{\theta}_b(\tilde{z})$ zpět do obecného řešení $\tilde{\theta}(\tilde{r}, \tilde{z})$. Vzhledem ke komplexnosti řešené rovnice, tato zde není uvedena. Poměr poloměrů tkáně a cévy reprezentuje vliv geometrie na model, $\tilde{P}$ lze chápat jako bezrozměrný koeficient perfuze, Bi reprezentuje sílu proudění cévy, St je pak míra proudění v rámci cévy. $2q_b k / q_m k_b \text{Pe}$ je míra poměru síly tepelného zdroje v rámci tkáně vůči cévě, $\tilde{\theta}_a$ je konstantní teplota arteriální krve a Pe určuje vztah mezi prouděním a vedením tepla.

2.1.2 Výsledky analytických řešení Pennesovy rovnice přenosu tepla

Analytické řešení je ukázáno na modelu jater, která jsou bohatě prokrvena. Z tohoto důvodu je možné mnoho hodnot parametrů modelu, viz Tab. 2.1, uvažovat stejné pro jaterní tkáň i krev.

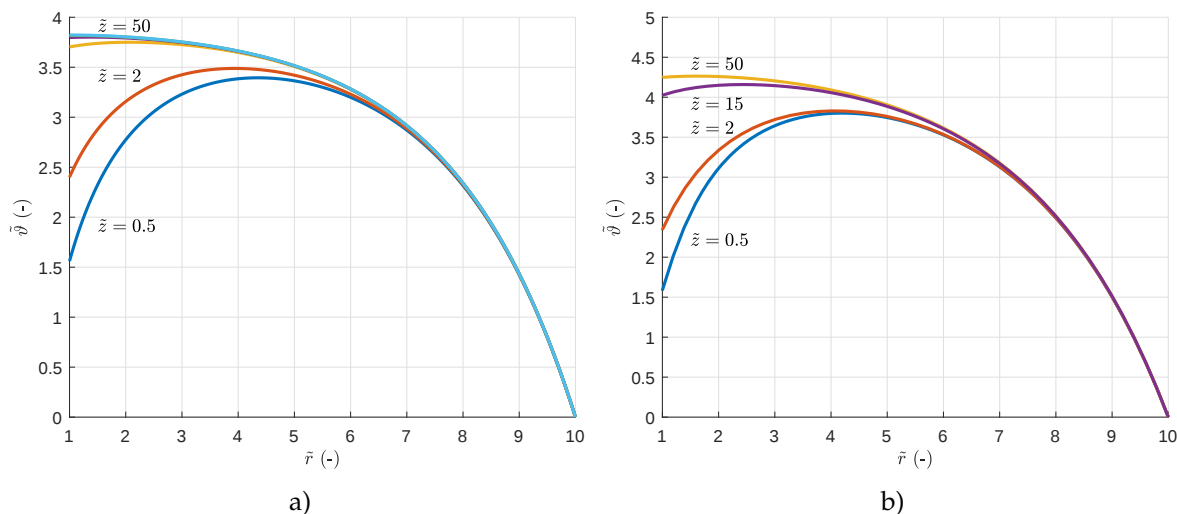
Tab. 2.1: Hodnoty parametrů analytického řešení pro jaterní tkáň.

Parametr	Symbol	Hodnota	Jednotka
Poloměr tkáně	r_t	4	cm
Poloměr cévy	r_b	4	mm
Biotovo číslo	Bi	2	–
Nusseltovo číslo	Nu	4	–
Pecletovo číslo	Pe	8	–
Hustota tkáně	ρ_t	1050	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$
Hustota krve	ρ_k	1060	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$
Bezrozměrná arteriální teplota	$\tilde{\theta}_a$	0	–
Tepelná vodivost tkáně/krve	k	0,52	$\text{W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
Měrná tepelná kapacita krve	c_b	3617	$\text{J} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
Perfuze krve na jednotku objemu	ω_b	10	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$
Měrné objemové teplo v cévě	q_b	0	$\text{W} \cdot \text{m}^{-3}$
Měrné objemové metabolické teplo	q_m	9930	$\text{W} \cdot \text{m}^{-3}$

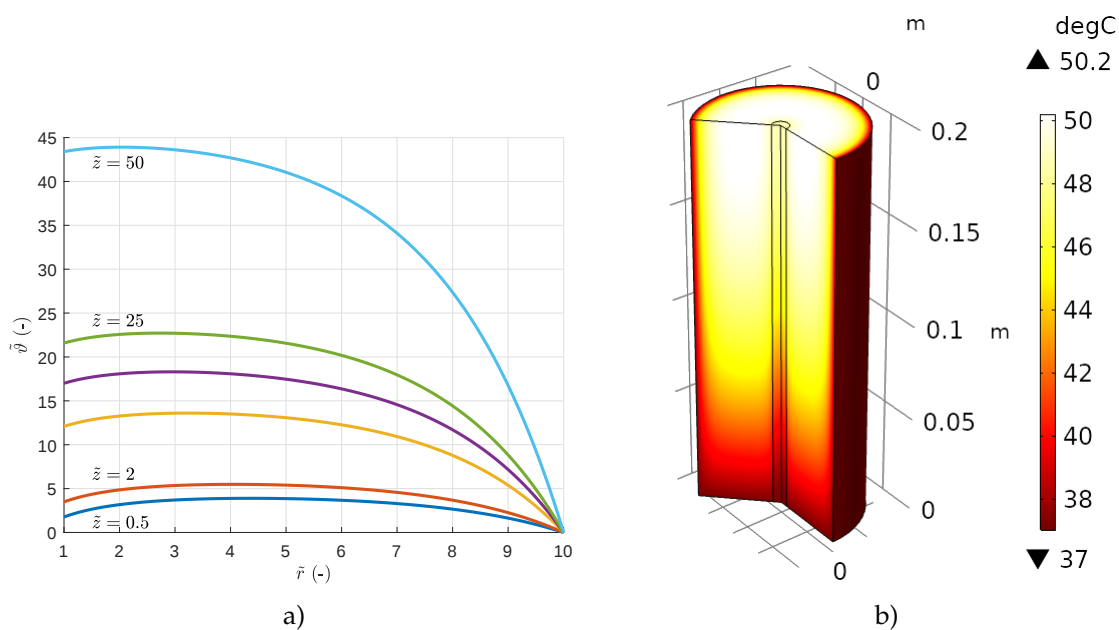
Obr. 2.2 a) a Obr. 2.3 a) mapují závislost teploty tkáně pro daný poloměr $\tilde{r}$ a délku cévy $\tilde{z}$ pro procházející a zásobující cévu získanou analytickým výpočtem. V obou případech jsou uvažovány hodnoty $2q_b k / q_m k_b \text{Pe} = 0$, $\text{St} = 0,5$, $\tilde{P} = 0,5$, $\text{Nu} = 4$, $\text{Bi} = 2$, $r_t / r_b = 10$, $\tilde{\theta}_{b,i} = 0$, $\tilde{\theta}_a = 0$ a $\tilde{z} = \{0,5, 2, 10, 15, 25, 50\}$. V případě procházející cévy je patrné, že teplo tkáně je cévou odváděna, nicméně při hodnotě $\tilde{z} \geq 15$ dochází ke snižování množství odváděného tepla. Odvod tepla se zvyšuje s rostoucím průměrem cévy a průtokem krve v cévě.

Pro porovnání diskutovaných závislostí zobrazují Obr. 2.2 b) a Obr. 2.3 b) data vypočtená pomocí programu COMSOL Multiphysics. Z grafů je patrné, že oba způsoby dávají podobné výsledky, ne však zcela totožné. Dá se předpokládat, že rozdíly jsou dány způsobem řešení

Pennesovy rovnice zejména pak tím, že se v analytickém řešení neuvažuje vzájemnou interakci teploty v radiálním a axiálním směru.



Obr. 2.2: Závislost teploty tkáně na poloze $\tilde{r}$ a $\tilde{z}$ pro procházející cévu. a) vypočtená analyticky a b) vypočtená pomocí COMSOL Multiphysics.

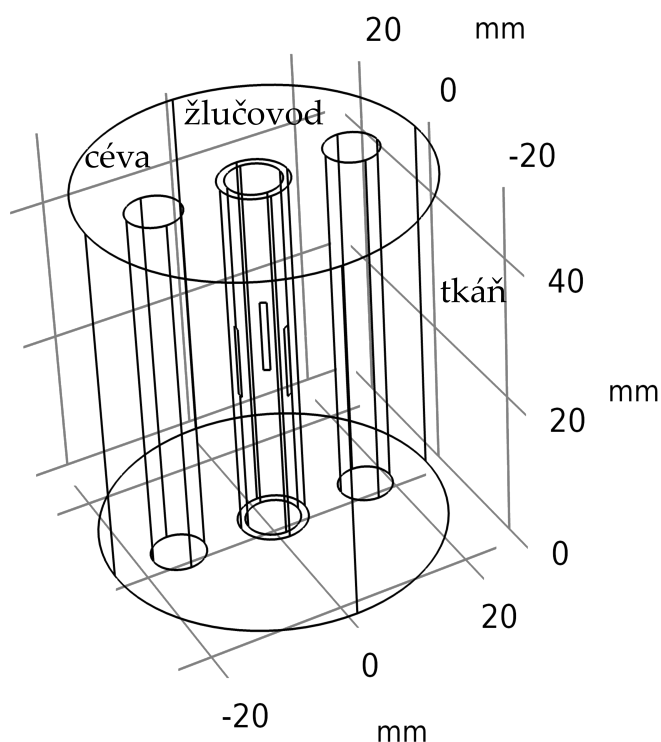


Obr. 2.3: Závislost teploty tkáně na poloze $\tilde{r}$ a $\tilde{z}$ pro zásobující cévu. a) vypočtená analyticky a b) vypočtená pomocí COMSOL Multiphysics.

2.2 Simulace elektroporace balónkovým katetrem

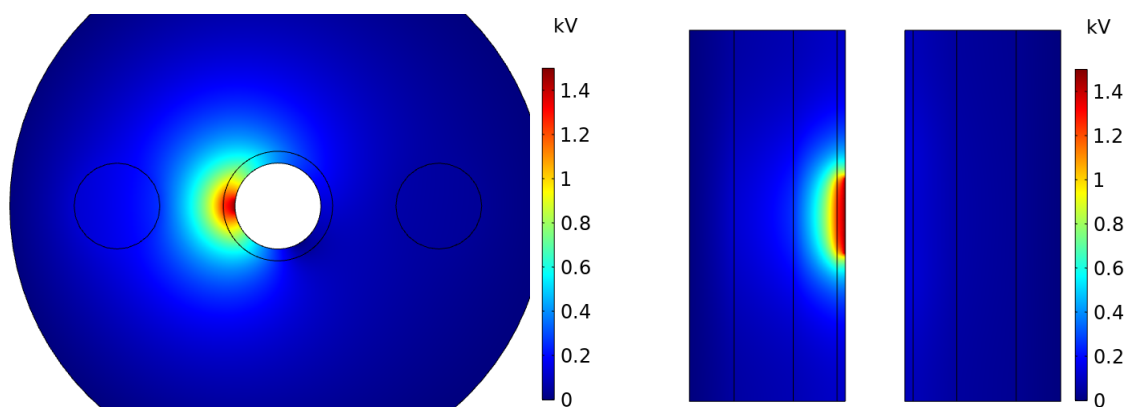
Tento model byl rovněž vytvořen v návaznosti na reálné experimenty. Geometrie tohoto modelu je na Obr. 2.4 a parametry modelu v Tab. 2.2. V segmentu jaterní tkáně jsou dvě cévy a žlučovod. Do žlučovodu je vložen balónkový katetr opatřený třemi elektrodami. Při této simulaci jsou elektrody cyklicky přepínány a to tak, že na první z dvojic je přiváděno napětí 1500 V po dobu

90 pulzů a následně se takto napájí druhá i třetí dvojice elektrod. Celkem je tedy aplikováno 270 pulzů.



Obr. 2.4: Geometrie modelu tkáně s balónkovým katetrem.

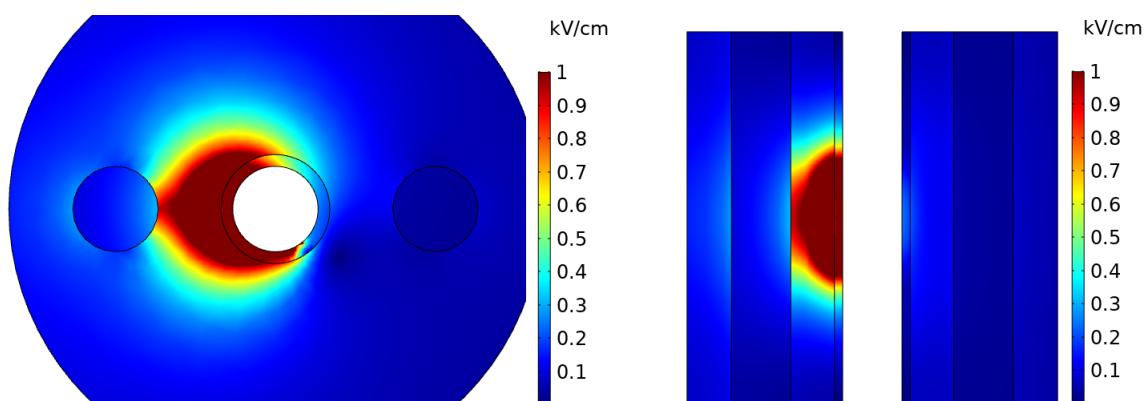
Rozložení aplikovaného napětí v modelu elektroporace balónkovým katetrem s vodivostí nezávislou na intenzitě elektrického pole je zobrazeno na Obr. 2.5. Odpovídající hodnoty intenzity elektrického pole jsou na Obr. 2.6 a Jouleovy ztráty jsou zobrazeny na Obr. 2.7. Ze získaných dat bylo vypočteno šíření tepla v tkáni po jednom cyklu pulzů, viz Obr. 2.8. Obr. 2.9 zobrazuje graf vývoje maximální teploty v prvních deseti pulzech pro oba případy. Teplota exponenciálně roste až na ustálenou hodnotu 43 °C.



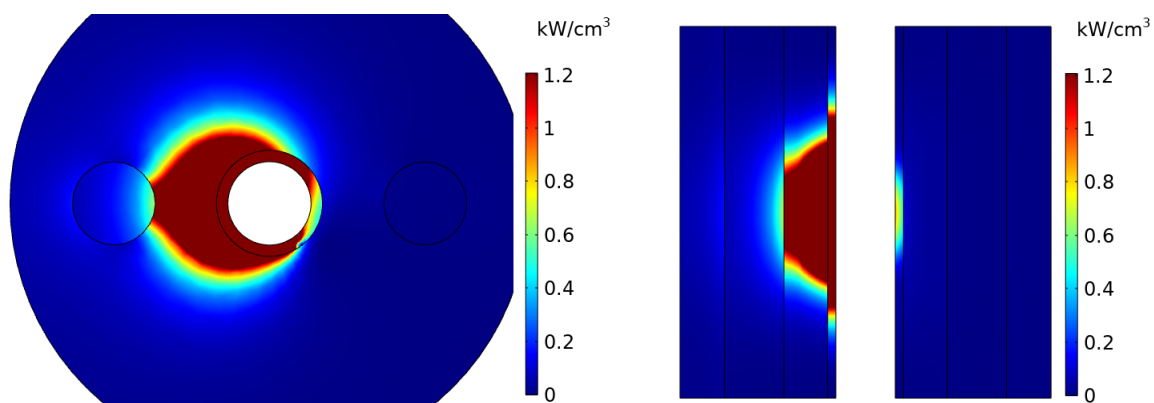
Obr. 2.5: Rozložení elektrického potenciálu v modelu tkáně s balónkovým katetrem pro případ vodivosti nezávislé na intenzitě elektrického pole.

Tab. 2.2: Hodnoty parametrů modelu tkáně s balónkovým katetrem.

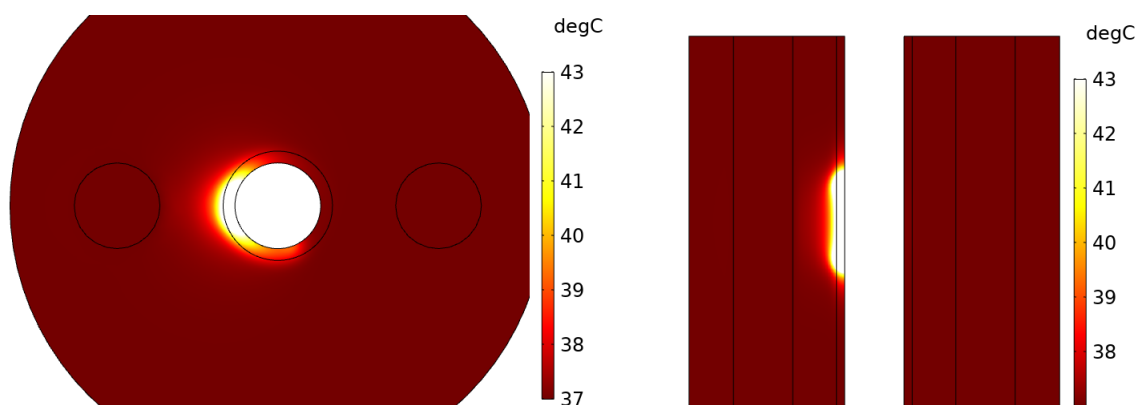
Parametr	Symbol	Hodnota	Jednotka
Velikost ocelové elektrody	d	1×10	mm
Výška segmentu jaterní tkáně	D_t	5	cm
Hustota jaterní tkáně	ρ_t	1079	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$
Tepelná vodivost tkáně a krve	k	0,52	$\text{W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
Měrná tepelná kapacita tkáně	c_t	3540	$\text{J} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
Elektrická vodivost tkáně	σ_t	0,0221	$\text{S} \cdot \text{m}^{-1}$
Relativní permitivita tkáně a krve	ϵ_t	1	–
Hustota krve	ρ_b	1060	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$
Elektrická vodivost krve	σ_t	0,66	$\text{S} \cdot \text{m}^{-1}$
Měrná tepelná kapacita tkáně	c_t	3617	$\text{J} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
Tepelná vodivost žlučového	k	0,58	$\text{W} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
Měrná tepelná kapacita žlučového	c_t	3500	$\text{J} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
Elektrická vodivost žlučového	σ_t	1,4	$\text{S} \cdot \text{m}^{-1}$
Relativní permitivita žlučového	ϵ_t	120	–
Hustota krve	ρ_b	1050	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$
Průtok krve v cévě	v_b	23	$\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$
Počáteční teplota	T_0	37	$^{\circ}\text{C}$
Perfuze krve na jednotku objemu	ω_b	10	$\text{kg} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{s}^{-1}$
Měrné objemové metabolické teplo	q_m	9930	$\text{W} \cdot \text{m}^{-3}$
Délka pulzu	T_p	100	μs
Počet pulzů	N_p	270	–
Napětí pulzů	U_p	1500	V



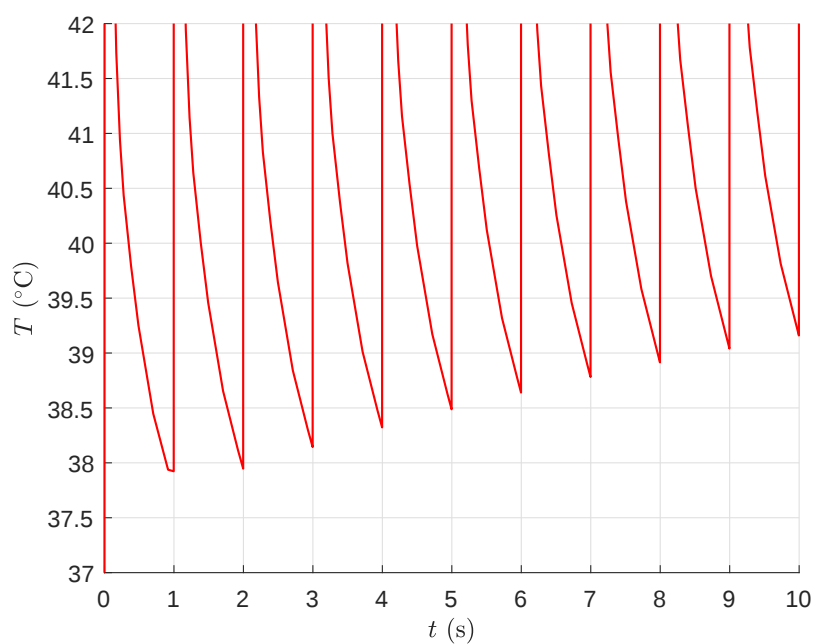
Obr. 2.6: Rozložení intenzity elektrického pole v modelu tkáně s balónkovým katetrem pro případ vodivosti nezávislé na intenzitě elektrického pole.



Obr. 2.7: Rozložení Jouleových ztrát v modelu tkáně s balónkovým katetrem pro případ vodivosti nezávislé na intenzitě elektrického pole.



Obr. 2.8: Rozložení teploty v modelu tkáně s balónkovým katetrem pro případ vodivosti nezávislé na intenzitě elektrického pole.



Obr. 2.9: Graf vývoje teploty pro model tkáně s balónkovým katetrem v prvních deseti pulzech pro případ vodivosti nezávislé na intenzitě elektrického pole.

2.3 Simulace elektroporace endokardiálním katetrem

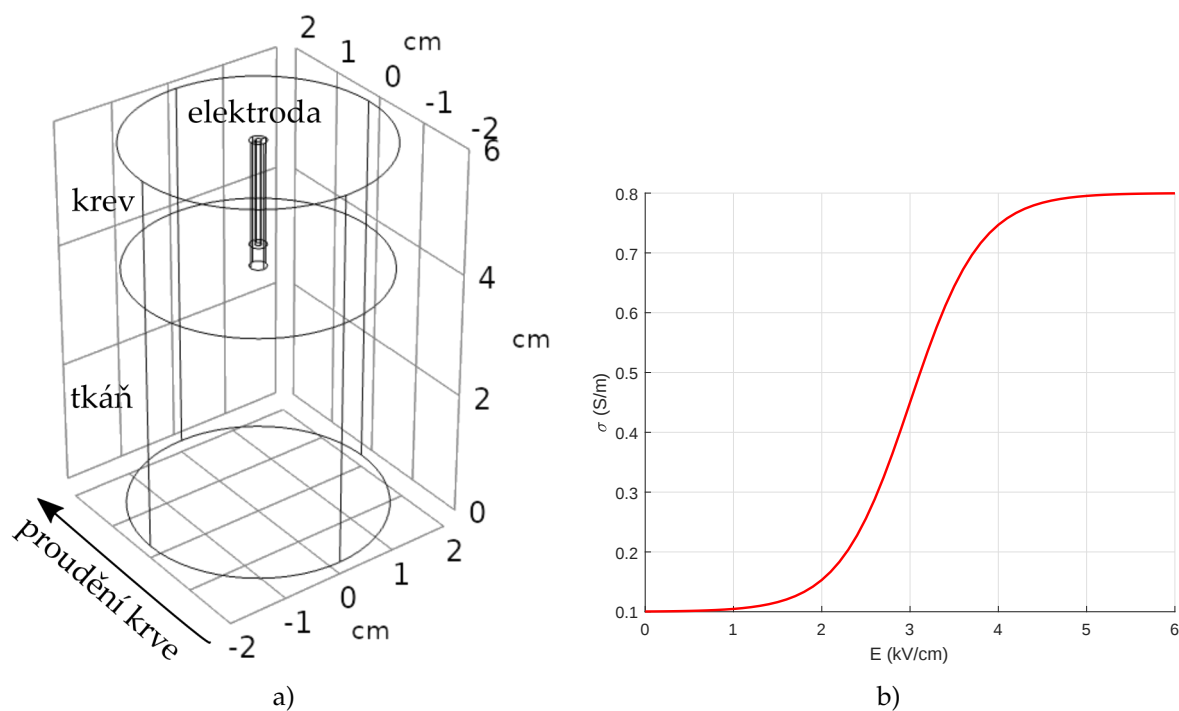
Simulace elektroporace za použití endokardiálního katetru byla vytvořena v souvislosti s reálnými experimenty uvedenými v kapitole 4.2. Parametry modelu jsou uvedeny v Tab. 2.3. Na Obr. 2.10 a) lze vidět analyzovanou geometrii modelu se zvolenou orientací proudící krve. Elektroda je tvořena izolovaným vodičem, který má na svém konci odizolovaný válcový segment. Tato elektroda je zcela obklopena proudící krví, kdy pouze její čelní část je v kontaktu s vnitřní stěnou srdeční. Na monopolární elektrodu je přiváděno kladné napětí 900 V a vnější obal modelu je spojen se zemí. Výpočet byl taktéž proveden pro dva případy uvažované vodivosti srdeční tkáně a to pro vodivost závislou a nezávislou na velikosti intenzity elektrického pole. Na Obr. 2.10 b) je graficky zobrazena zvolená závislost elektrické vodivosti na velikosti intenzity elektrického pole srdeční tkáně.

Tab. 2.3: Hodnoty parametrů modelu tkáně s endokardiálním katetrem.

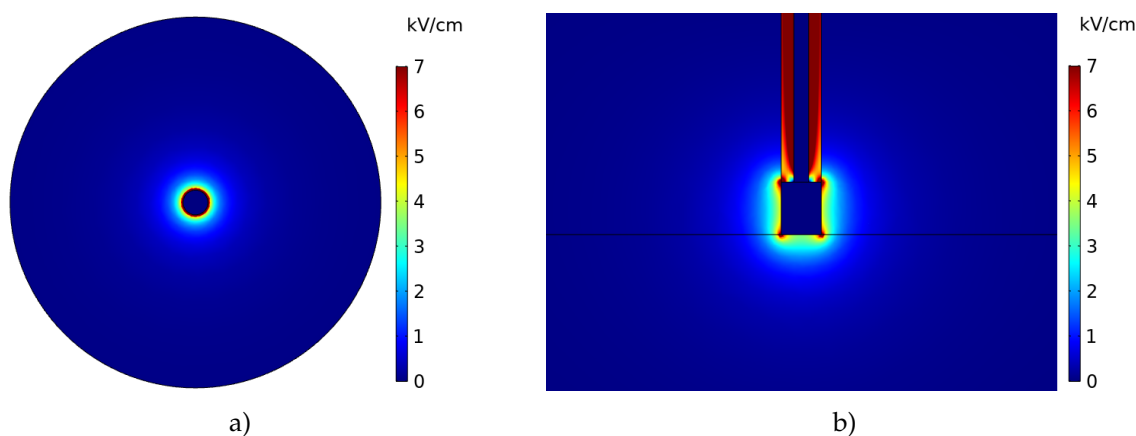
Parametr	Symbol	Hodnota	Jednotka
Průměr elektrody	D_e	2,667	mm
Poloměr segmentu srdeční tkáně	r_t	2	cm
Výška segmentu srdeční tkáně	D_t	4	cm
Výška segmentu krve	D_b	4	cm
Tloušťka kaptonové izolace	r_b	0,83	mm
Délka odizolované části elektrody	d	3,5	mm
Hustota vnitřní srdeční stěny	ρ_t	1050	$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$
Hustota krve	ρ_k	1060	$\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$
Tepelná vodivost tkáně/krve	k	0,52	$\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$
Měrná tepelná kapacita krve/tkáně	c_t	3617	$\text{J}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$
Elektrická vodivost tkáně	σ_t	0,7	$\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$
Elektrická vodivost krve	σ_b	0,66	$\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$
Relativní permitivita tkáně	ϵ_t	5260	–
Relativní permitivita krve	ϵ_b	1	–
Počáteční teplota	T_0	37	$^{\circ}\text{C}$
Rychlost proudění krve	v_b	11	$\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$
Délka pulzu	T_p	100	μs
Počet pulzů	N_p	60	–
Napětí pulzů	U_p	900	V

Rozložení intenzity elektrického pole v daném modelu s nezávislou a závislou vodivostí na intenzitě elektrického pole je zobrazeno na Obr. 2.11 a Obr. 2.13. Jouleovy ztráty jsou zobrazeny na Obr. 2.12 a Obr. 2.14. Ze získaných dat bylo vypočteno šíření tepla v tkáni při aplikaci 60 pulzů. Obr. 2.15 a Obr. 2.16 zobrazují rozložení teploty ve zkoumaném modelu. Na Obr. 2.17 jsou k vidění grafy vývoje maximální teploty v prvních deseti pulzech pro oba případy. Teplota exponenciálně roste až na ustálenou hodnotu 45°C pro případ konstantní vodivosti a $40,7^{\circ}\text{C}$ pro případ proměnné vodivosti.

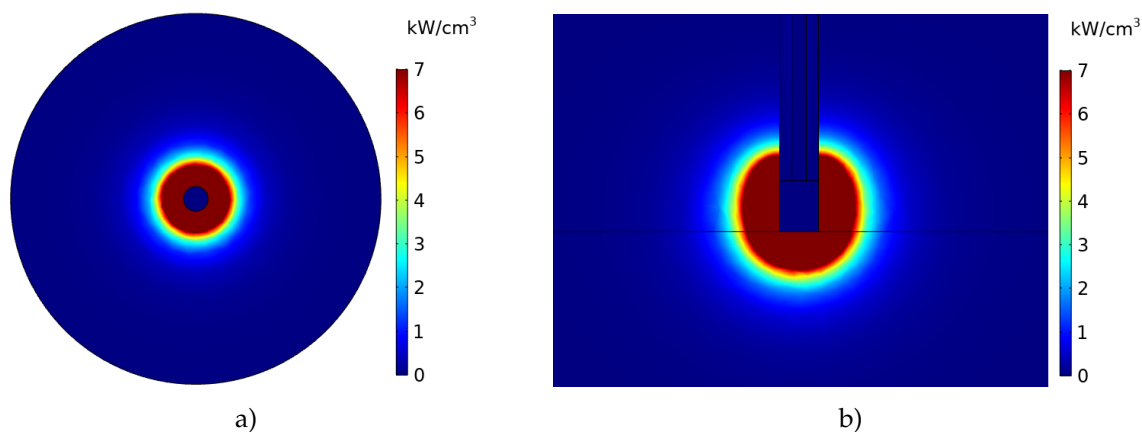
Z Obr. 2.15 a Obr. 2.16 je patrné, že proudící krev má významný vliv na výsledné rozložení teploty v tkáni. Dále je z těchto obrázků zřejmé, že v případě proměnné vodivosti je většina vznikajícího tepla odvedena proudící krví. Tomu odpovídá také nižší maximální ustálená teplota než v případě s konstantní vodivostí. Toto je dáno tím, že v případě s proměnnou vodivostí má srdeční tkáň ve většině případů nižší elektrickou vodivost oproti krvi, kde se tím pádem generuje většina Jouleových ztrát. Výše popsané skutečnosti byly experimentálně potvrzeny.



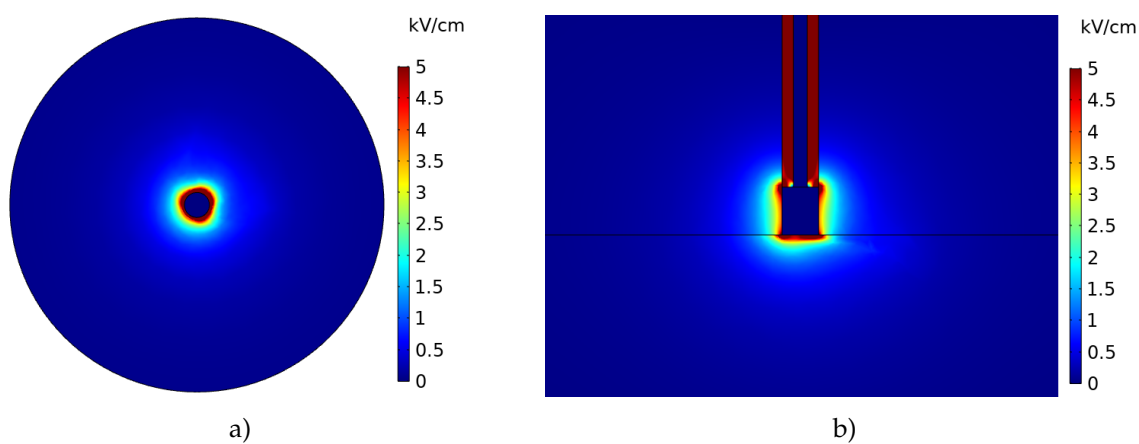
Obr. 2.10: a) Geometrie modelu tkáně s endokardiálním katetrem a b) Závislost elektrické vodivosti na velikosti intenzity elektrického pole pro vnitřní stěnu srdce.



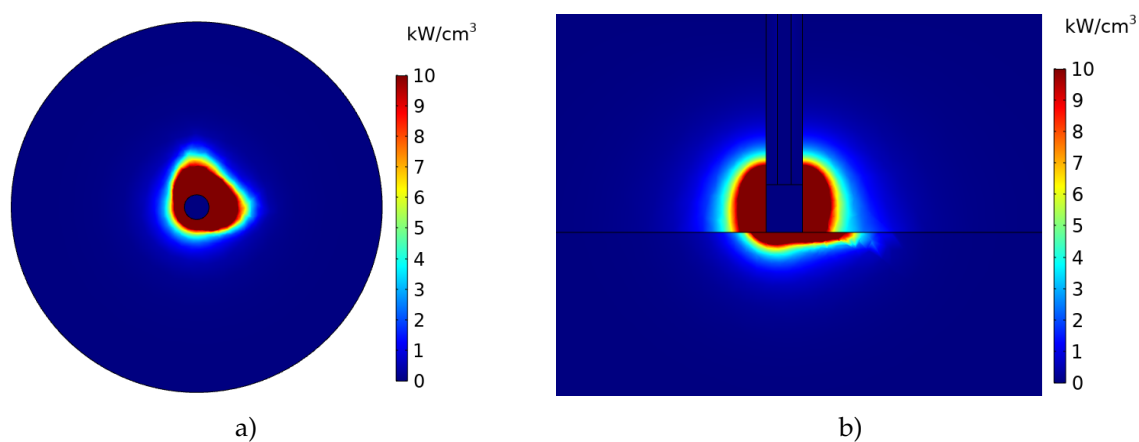
Obr. 2.11: Rozložení intenzity elektrického pole v modelu tkáně s endokardiálním katetrem pro případ vodivosti nezávislé na intenzitě elektrického pole.



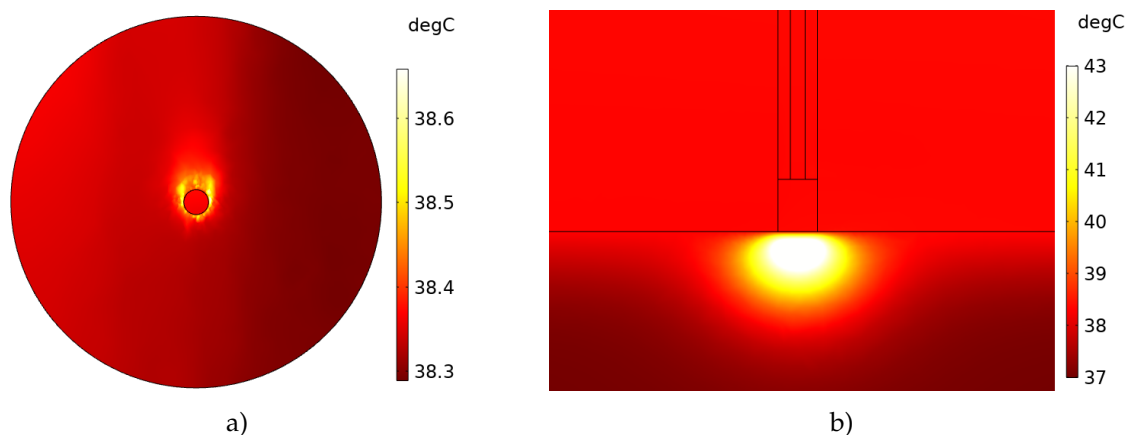
Obr. 2.12: Rozložení Jouleových ztrát v modelu tkáně s endokardiálním katetrem pro případ vodivosti nezávislé na intenzitě elektrického pole.



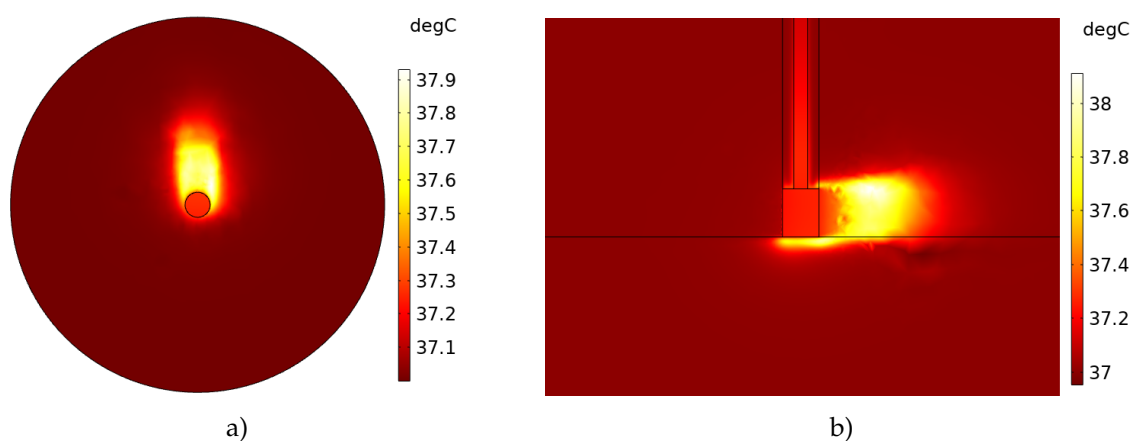
Obr. 2.13: Rozložení intenzity elektrického pole v modelu tkáně s endokardiálním katetrem pro případ vodivosti závislé na intenzitě elektrického pole.



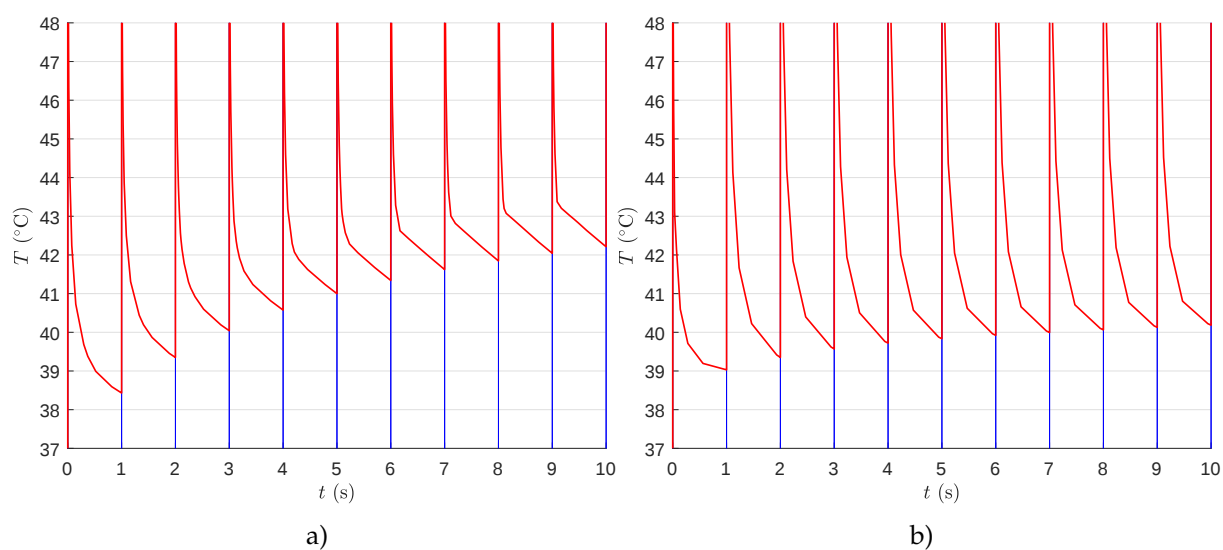
Obr. 2.14: Rozložení Jouleových ztrát v modelu tkáně s endokardiálním katetrem pro případ vodivosti závislé na intenzitě elektrického pole.



Obr. 2.15: Rozložení teploty v modelu tkáně s endokardiálním katetrem pro případ vodivosti nezávislé na intenzitě elektrického pole.



Obr. 2.16: Rozložení teploty v modelu tkáně s endokardiálním katetrem pro případ vodivosti závislé na intenzitě elektrického pole.



Obr. 2.17: Graf vývoje teploty pro model tkáně s endokardiálním katetrem v prvních deseti pulzech pro případ vodivosti nezávislé a závislé na intenzitě elektrického pole.

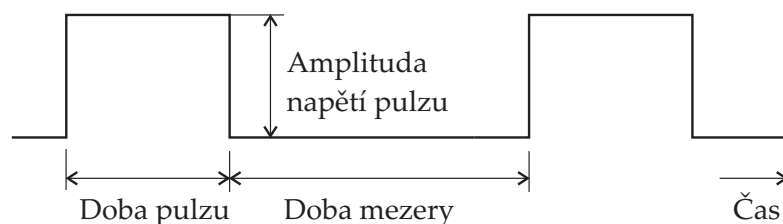
3 | Experimentální zdroj stejnosměrných pulzů pro elektroporaci

3.1 Vývoj zdroje stejnosměrných pulzů pro IRE

Drtivá většina světových vědeckých týmů zkoumající ireverzibilní elektroporaci pracuje se systémem NanoKnife. V České republice je k dispozici pouze jeden jediný přístroj tohoto druhu, který je v IKEM v Praze, odkud si jej mohou zapůjčit jiná lékařská a lékařsko-vědecká pracoviště. Tato kapacita je však nedostatečná. Díky iniciativě lékařů z FN Brno byl na UVEE VUT v Brně vyvinut a zkonstruován funkční vzorek nového přístroje pro elektroporaci. Toto zařízení bylo vytvořeno pro účely experimentů vedoucích k hlubšímu pochopení procesu elektroporace a k hledání jejích nových aplikačních oblastí v lékařství.

3.1.1 Konstrukce zdroje stejnosměrných pulzů

Bylo nutné navrhnout a sestavit zařízení s vysokonapěťovým zdrojem, které je schopno dodat impuls o napětí v jednotkách kilovoltů a proudu v desítkách ampérů. Požadovaná elektrická intenzita v elektroporované tkáni by měla dosahovat hodnot okolo $800 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$, viz [1], což je považováno za práh IRE. Inspirací byl sice přístroj NanoKnife, ale jeho konkrétní vnitřní řešení vyžaduje komplikovaný řídicí a bezpečnostní systém pro zajištění přijatelné míry bezpečnosti. Problémem je také nutnost použití vysokonapěťového IGBT tranzistoru. Jak bylo uvedeno, zařízení bylo zkonstruováno za účelem experimentálního použití. Maximální hodnoty jeho výstupních parametrů byly tedy zvoleny vyšší než u NanoKnife a dalším důležitým požadavkem byla vysoká variabilita nastavení všech parametrů, viz Tab. 3.1, která definuje výchozí návrhové parametry přístroje. Ideální průběh aplikovaných pulzů je na Obr. 3.1.



Obr. 3.1: Ideální tvar výstupního napětí zařízení pro stejnosměrnou elektroporaci.

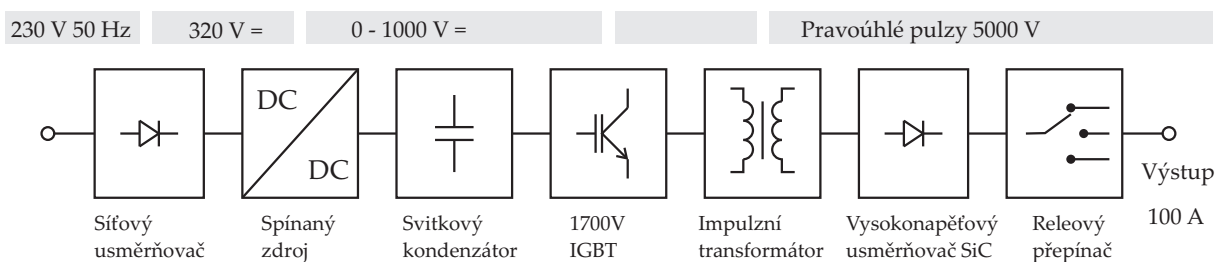
Tab. 3.1: Požadované parametry nově navrhovaného zdroje stejnosměrných vysokonapětových pulzů pro elektroporaci.

Parametr	Hodnota
Výstupní napětí pulzu	0 – 5000 V
Maximální výstupní proud	100 A
Doba pulzu pulzu	20 – 150 μ s
Doba mezery	0,2 – 2 s

Z uvedených důvodů je princip zdroje vysokonapětového impulzního zdroje vyvinutého na UVEE naprosto odlišný od zařízení NanoKnife. Jako hlavní zásobník energie slouží baterie svitkových impulzních kondenzátorů, umístěná v napětovém meziobvodu se jmenovitým napětím 1000 V, který je galvanicky oddělen od sítě. Kondenzátory meziobvodu jsou nabíjeny regulovatelným spínaným zdrojem, viz Obr. 3.2. Z napětového meziobvodu je prostřednictvím tranzistorů IGBT napájeno primární vinutí výstupního impulzního transformátoru. Jeho sekundární vinutí je připojeno přes vysokonapětový diodový usměrňovač k výstupnímu reléovému přepínači elektrod. Blokové schéma přístroje je na Obr. 3.3.



Obr. 3.2: Vyvinutý zdroj stejnosměrných pulzů pro elektroporaci.



Obr. 3.3: Blokové schéma realizovaného zařízení pro DC IRE.

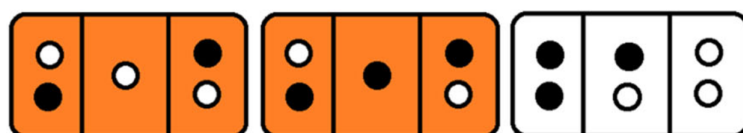
Diskutované zařízení je navrženo pro experimentální účely, preklinické studie a zatím se nepočítá s využitím daného funkčního vzorku v klinické praxi. I přes tuto skutečnost je navrženo s maximálním důrazem na bezpečnost obsluhujícího personálu i pacienta. Toho je docíleno mimo jiné dvojnásobným galvanickým oddělením výstupu od sítě. První oddělení je pomocí transformátoru ve stejnosměrném zdroji a druhé pomocí dobře izolovaného hlavního impulzního transformátoru. Dalším bezpečnostním faktorem je přirozené omezení maximální délky výstupního napětového pulzu na 150 μ s. Dojde-li k selhání některé řídicí nebo silové části zařízení, což znamená, že by se mohl na výstupu objevit pulz o delší než bezpečné délce, tak se jádro transformátoru přesytí. To způsobí strmý nárůst primárního proudu, čímž se vybaví nadproudová ochrana silového IGBT tranzistoru. Díky tomuto konstrukčnímu řešení není třeba dalších bezpečnostních zařízení hlídajících délku pulzu, jako je to u zařízení NanoKnife. Tím jsou řídicí obvody značně zjednodušeny.

3.2 Experimenty provedené pomocí zdroje stejnosměrných pulzů

3.2.1 Srovnání účinků RFA a IRE *in vivo*

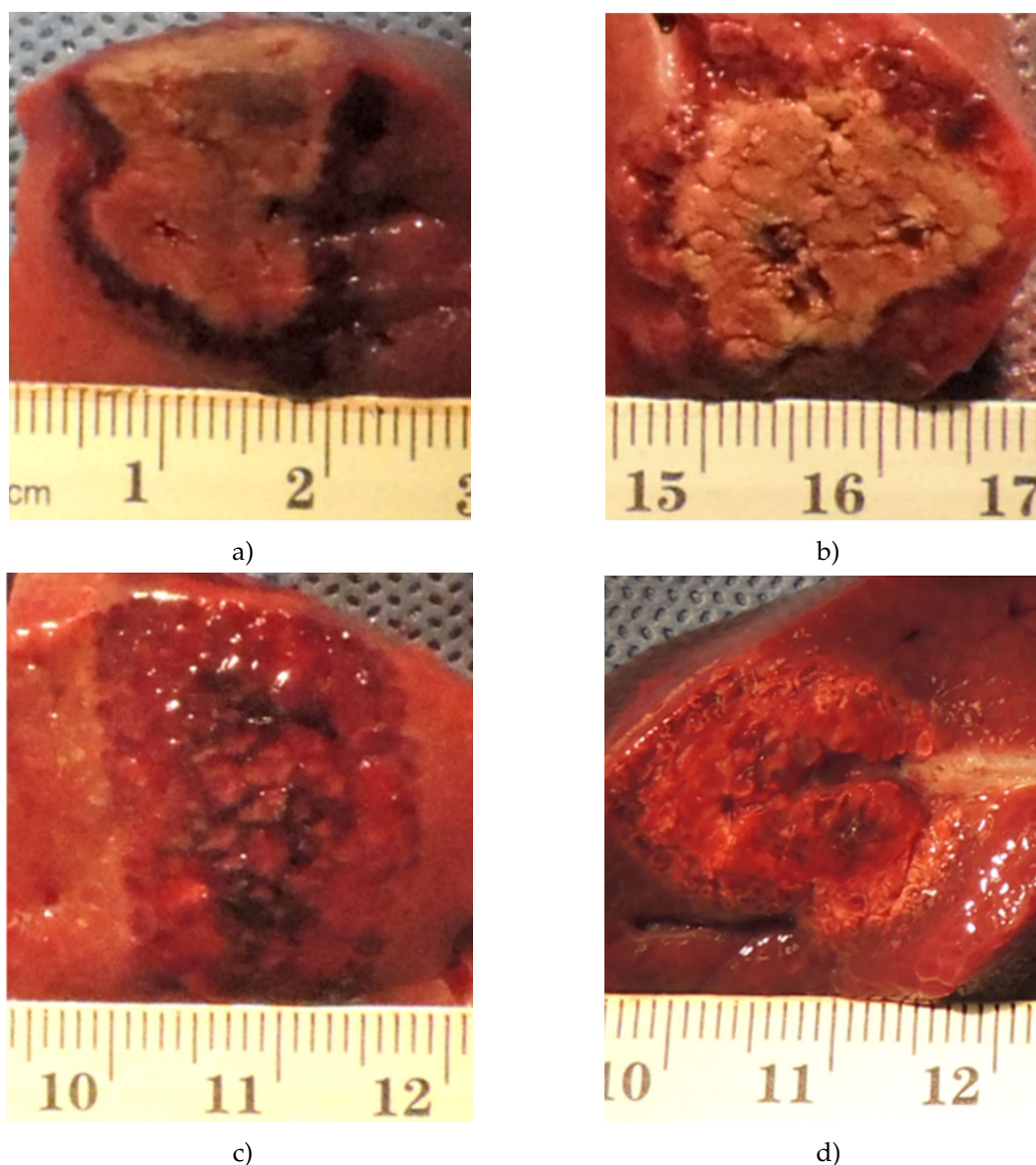
Tato studie měla za cíl srovnání efektu a hromadění lipozomálního doxorubicinu v tkáni léčené pomocí RFA a IRE. V porovnání s klasickým chirurgickým odstraněním nádoru mají některé minimálně invazivní ablační techniky nevýhodu v tom, že je zde vyšší riziko návratu nádoru, viz [37]. U termálních ablačních technik míra návratnosti roste s velikostí nádoru. Jednou z možností zvýšení účinnosti zákroku je současná intraarteriální embolizace pro snížení průtoku krve v dané části orgánu nebo podávání chemoterapeutik, viz [38]. Nejzkoumanějším z nich je doxorubicin, používaný často ve formě molekuly zapouzdřené do lipozomu, kdy je bezpečnější a přijatelnější pro srdce a gastrointestinální trakt. Dle některých studií, viz [39, 40], lipozomální doxorubicin významně zvětšuje ablační objem při RFA. Během elektroporace se očekával podobný efekt. V blízkém okolí aplikačních elektrod dochází k ireverzibilní elektroporaci a na okrajích ablačního objemu pak k elektroporaci reverzibilní. Ta se sama o sobě používá pro zvýšení propustnosti membrán za účelem vpravování makromolekul.

V tomto experimentu bylo použito šest laboratorních selat, která byla rozdělena do dvou skupin po třech. V každé skupině bylo provedeno osm zákroků RFA a IRE. K radiofrekvenční ablaci bylo použito zařízení Model 1500 RF generator a vícehrotové elektrody StarBurst XL (AngioDynamics, Lantham, NY, USA). Jehličky byly od sebe vzáleny 3 cm. Byl použit výkon 100 W, cílová teplota byla nastavena na 105 °C a procedura trvala 7 minut. K ireverzibilní elektroporaci byl použit diskutovaný experimentální zdroj pulzů a dvě monopolární elektrody. Bylo použito napětí o velikosti 2250 V, 100 pulzů o délce 100 μ s a s periodou opakování 1 s. Délka aktivní části elektrody byla 1,5 cm a elektrody byly od sebe vzdáleny $1,5 \pm 0,3$ cm.



Obr. 3.4: Schématický náčrt ablace pro IRE a RFA pro každé z testovaných selat obou skupin, převzato z [38].

Na Obr. 3.4 je schématický náčrt experimentu ablace pro RFA a IRE pro obě testované skupiny. Jednotlivé části každého z boxů naznačují laloky jaterní tkáně. Černá kolečka ukazují místa kde byla provedena RFA a bílá kolečka místa IRE. Dvěma selatům byl během ablace podán lipozomální doxorubicin přes pomalu kapající infuzi (oranžové boxy) a jedno sele sloužilo jako kontrola (bílý box). Jedna skupina selat (A) byla usmrcena 24 hodin po zákroku a druhá skupina (B) 72 hodin po zákroku. Ablované zóny byly vyříznuty, změřeny a podrobeny dalším testům. U skupiny A bylo provedeno imunohistochemické vyšetření a fotometrická kvantifikace doxorubicinu. Byla stanovena míra buněčného stresu, poškození DNA a úroveň vzniklé apoptózy. U skupiny B byla provedena pouze fotometrická kvantifikace doxorubicinu, viz [38].



Obr. 3.5: Játra po ablaci RFA (a, b) a IRE (c, d) a pro kombinovanou léčbu s lipozomálním doxorubicinem (a, c) a pro kontrolní vzorek (b, d), převzato z [38].

Experimenty ukázaly, že ablační zóny se chovají jinak co do akumulace doxorubicinu a míry buněčné smrti pro studované techniky RFA a IRE, viz Obr. 3.5. V rozporu s předpoklady, zóny po IRE ablaci nevykazovaly vyšší míru koncentrace než v kontrolním vzorku. Předchozí studie ukázaly, že hromadění doxorubicinu v tkáni ablované pomocí RFA závisí na mnoha faktorech (koncentraci, teplotě, čase, atd.). Zvyšující se teplota poškozuje endotel, čímž se zvyšuje mikro-

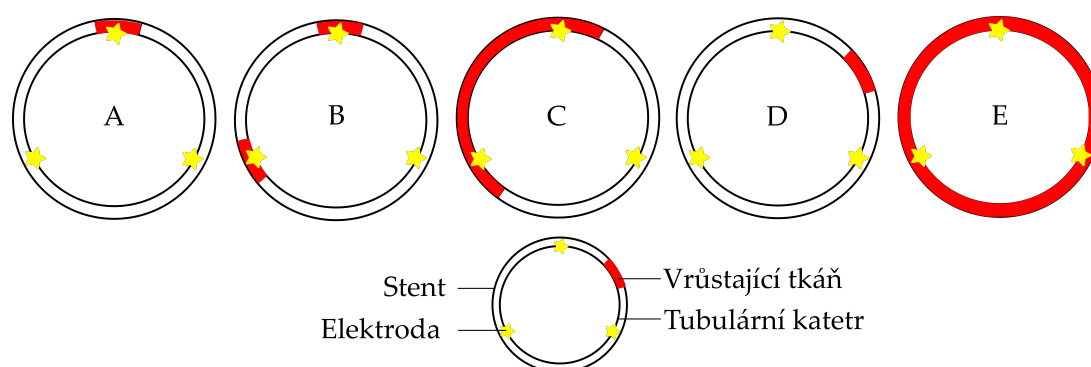
vaskulární perfuze a doxorubicin v lipozomálním obalu může do oblasti lépe pronikat, viz [38]. Jelikož při IRE dochází jen k minimálním teplotním změnám ve tkáni, nemá zřejmě tato technika významný vliv na míru koncentrace látky v ablované zóně. Je možné, že v případě IRE jsou lipozomy poškozeny přímo vysokonapěťovými pulzy, čímž ztrácejí svou funkci a jsou odneseny cévním systémem místo toho, aby byly zachytávány tkání. U RFA je tomu právě naopak.

Skutečnost, že se ablační zóna RFA při použití doxorubicinu zvětšuje, již byla v minulosti zdokumentována, viz [41]. Na druhou stranu to, že se ablační zóna v kombinaci IRE s doxorubicinem zmenšuje, bylo spíše překvapivé zjištění, viz [38]. Na základě výsledků experimentu lze také říci, že v případě IRE dochází k rychlejší apoptóze a hojení ablované zóny. Výsledky ukazují, že kombinace IRE s doxorubicinem nemá synergický efekt. Pro zlepšení účinnosti této kombinované léčby je třeba dalších klinických pokusů a optimalizací, aby byl její efekt lepší nebo srovnatelný s RFA.

3.2.2 IRE pro léčbu okluze kovového stentu ve žlučových cestách

Léčení obstrukce žlučových cest se dnes standardně provádí endoskopickým zavedením stentu do postiženého místa. Poměrně častým problémem je však snížení jeho průchodnosti vedoucí až k blokádě stentu nejčastěji způsobenou vrůstem nádoru nebo jeho zanesením žlučovým kalem, viz [42]. Experimenty byly prováděny za účelem prokázání bezpečnosti a proveditelnosti IRE pomocí tubulárního katetru pro léčbu okluze kovového stentu a to na *ex vivo* vepřových játrech.

Zdrojem pulzů byl experimentální generátor stejnosměrných pulzů pro IRE. Tubulární katetr se třemi elektrodami byl umístěn do kovového stentu EGIS o velikosti 10×80 mm. Vždy dvě elektrody byly aktivní a jedna spojená se zemí. Do jaterní tkáně bylo aplikováno vždy sto 100 μ s dlouhých pulzů o napětí 300, 650, 1000 a 1300 V. Okluze stentu byla simulována použitím jaterní tkáně různých tloušťek (2 ± 1 mm a 5 ± 1 mm). Testovalo se pět různých nastavení rozmístění stentu, elektrod a tkáně, viz Obr. 3.6. Při experimentu byly měřeny hodnoty proudu, impedance a výkonu. Dále bylo termograficky monitorováno potenciální termální poškození tkáně, viz [43].



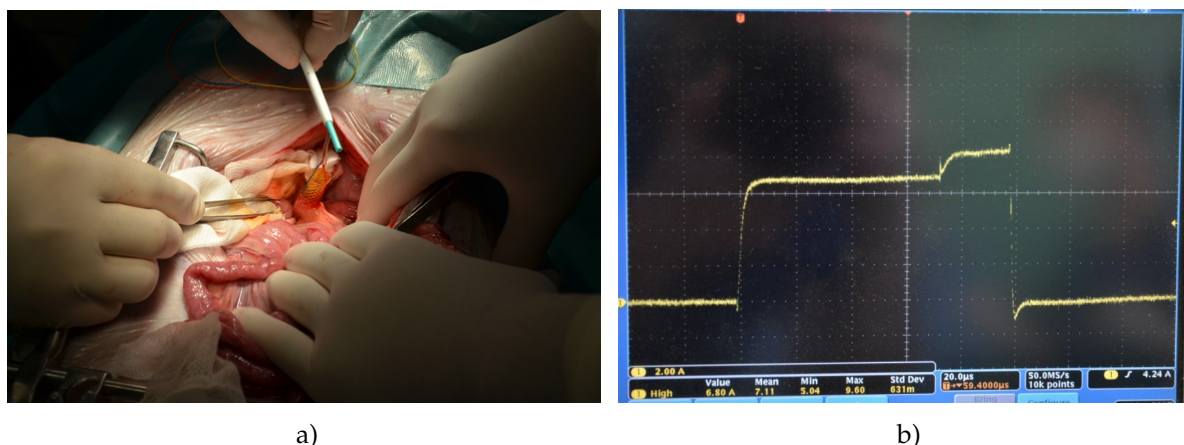
Obr. 3.6: Testovaná rozmístění stentu, elektrod a tkáně.

Elektroporace byla úspěšná pro všechny konfigurace při napětích 300 a 650 V. Maximální limitní proud generátoru byl překročen pro simulovaný případ vrůstajícího nádoru, a také pro všechna nastavení při 1300 V. Pro tyto případy bylo na tkáni viditelné tepelné poškození. Při napětí 300 a 650 V byly zaznamenané teplotní změny pouze v rozsahu jednoho až čtyř a půl

stupně Celsia. Byl zaznamenán výrazný rozdíl hodnot impedance mezi konfigurací jedné elektrody v kontaktu s vrůstající tkání a konfigurací obou elektrod v kontaktu s vrůstající tkání. Pomocí těchto experimentů byla dokázána funkčnost diskutované metody pro odstraňování okluzí kovového stentu a byl ustaven protokol pro následné *in vivo* pokusy.

3.2.3 Klinické ověření účinků elektroporace v žlučových cestách

Při těchto pokusech se testoval vliv různých velikostí aplikovaného napětí na elektroporovanou játerní tkáň. Pulzy byly aplikovány přímo v žlučovodu pomocí balónkového katetru nebo stentu s elektrodami vyvinutými pro aplikaci IRE v žlučových cestách, viz Obr. 3.7 a). Katetr má formu elektricky nevodivého stentu a je na vnějším povrchu opatřen vodorovně umístěnými elektrodami uspořádanými pro připojení k zdroji vysokonapěťových pulzů. Toto technické řešení aplikátoru elektroporace je právně chráněno užitným vzorem, viz [44]. Elektricky nevodivý povrch stentu je zajištěn vrstvou silikonu. Použitá napětí byla v rozmezí 1200 – 2000 V. Při napětí 2 kV již bylo zřetelně vidět poškození tkáně a vzniklou koagulační nekrózu. Při tomto napětí byl výkon komplikován perforací žlučovodu a následným hematodem. Velikost edému se zvětšovala s rostoucím počtem pulzů a aplikovaným napětím. Edém byl sledován pomocí MRI první a třetí den po výkonu, kdy bylo pozorováno jeho postupné zmenšování.



Obr. 3.7: Operace *in vivo* v žlučovodu vepře: (a) stent s elektrodami pro aplikaci pulzů; (b) projev „Handclap efektu“ na průběhu proudu do elektrody.

Během elektroporace byl při vyšších výkonech pozorován zajímavý jev doprovázený slyšitelným akustickým efektem. Z počátku se jev projevuje skokovou změnou vodivosti patrnou na průběhu proudu na osciloskopu. Ta je následována vznikem zvuku podobnému tlesknutí. Pozorovaný jev byl pojmenován „Handclap efekt“, viz Obr. 3.7 b). Lze se domnívat, že zde dochází k částečnému výboji v druhotně vzniklé vzduchové kapse na rozhraní elektrody a tkáně. Tento úkaz je předzvěstí vytvoření nízkoimpedančního oblouku vedoucího k vybavení nadproudové ochrany (zkrat výstupu). Elektrody mohou probíjet jak přímo v tkáni, tak hlavně na povrchu ošetřovaného orgánu. Z tohoto důvodu je důležité, aby aktivní část elektrody byla odhalena pouze v místě aplikace a eliminoval se tak vznik nežádoucího probití. Skokový pokles impedance v průběhu každého pulzu signalizuje tzv. „Handclap efekt“ vedoucí k budoucímu probití elektrod. Na druhou stranu jednorázový skokový nárůst impedance značí odpojení vodiče od aplikační elektrody. Analýza proudu v reálném čase může sloužit ke zvýšení spolehlivosti elektroporačního zákroku. Při včasné identifikaci „Handclap efektu“ mohou být automaticky sníženy parametry pulzu tak, aby nedošlo ke zkratu.

4 | Experimentální zdroj střídavých pulzů pro elektroporaci

Ireverzibilní elektroporace může být vyvolána také vysokofrekvenčními pulzy. Metoda vysokofrekvenční elektroporace pro odstraňování nádorů byla patentována již v roce 2016, viz [15]. Zařízení by mělo být schopno dodávat bipolární pulzy o frekvenci 250 kHz až 2 MHz, není však ještě komerčně dostupné.

Zařízení se v literatuře označuje také jako vysokofrekvenční generátor IRE (H-FIRE) používající frekvence v rozmezí 125 až 500 kHz. H-FIRE vyžaduje pro dosažení stejného efektu vyšší amplitudu napětí v porovnání se stejnosměrnou IRE. Z pohledu frekvence tak sice splývá hranice mezi AC IRE a RFA, nicméně je nutné vést v patrnosti, že u RFA působí proud trvale při nízké hodnotě výkonu, kdežto u H-FIRE je aplikován krátký pulz o vysokém výkonu. Nejnížší možná frekvence vyhovující pro ošetření bez svalových kontrakcí a nutnosti použití svalových relaxantů může být určena až na základě experimentů. Předpokládá se, že díky tomu by měla být eliminována také nutnost celkové anestezie při zákroku a není potřeba synchronizovat pulzy se srdečním rytmem, jako je tomu při DC IRE, viz [9].

Z výše uvedených důvodů, byl na základě potřeb ICRC FNUSA navržen a zkonstruován zcela nový vysokofrekvenční zdroj pulzů určený speciálně pro kardiologické účely, především pro léčbu arytmií. Zařízení nahrazuje jeden pravoúhlý 100 μ s pulz stejně dlouhým úsekem střídavého napětí o frekvenci stovek kilohertzů. Terapeutický účinek se při stejném napětí a proudu oproti elektroporaci stejnosměrnými pulzy sice o něco sníží, avšak svalové kontrakce jsou sníženy na pouhý zlomek původní hodnoty, což je při zákrocích v blízkosti myokardu zásadní, viz [9]. Jelikož se pracuje přímo v /na srdci, jsou nižší hodnoty napětí a proudu dostačující v porovnání s předchozími zákroky na játrech. Předpokládá se, že metoda je bezpečná a neporušuje koronární cévy v blízkosti elektroporované oblasti, což je výhodné v porovnání s jinými ablačními technikami.

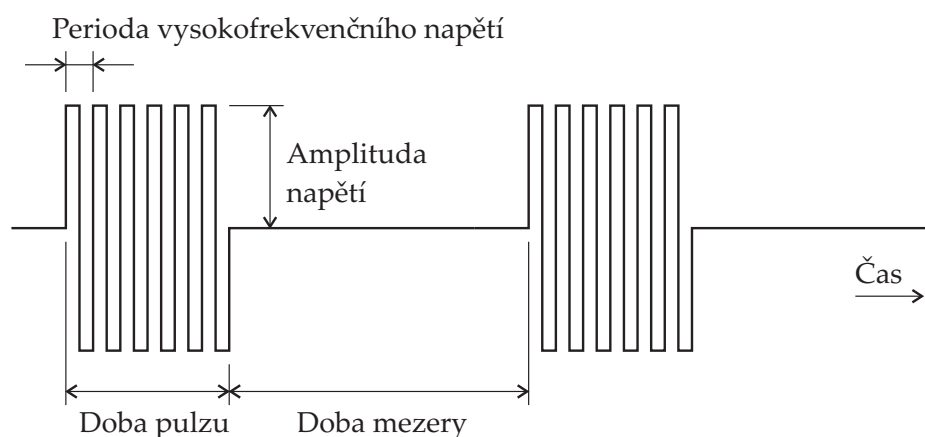
4.1 Vývoj zdroje pro AC elektroporaci

Návrh přístroje byl podřízen požadavkům na výstupní parametry uvedených v Tab. 4.1 a na Obr. 4.1. Zařízení bylo primárně navrhováno pro kardiologické účely kde nejsou potřebné tak vysoké hodnoty napětí a proudu. To umožnilo vytvořit kompaktní přístroj, jehož blokové schéma je na Obr. 4.2. Vysoká frekvence výstupního napětí umožňuje použití běžné konstrukce dvojčinného spínaného zdroje s ferritovým zvyšujícím transformátorem. Usměrněné napětí sítě je přivedeno na běžný lineární regulovatelný napěťový stabilizátor, který nabíjí velký akumulární kondenzátor. Stabilizátor je doplněn o vybíjecí obvod tvořený sériově zapojeným rezisto-

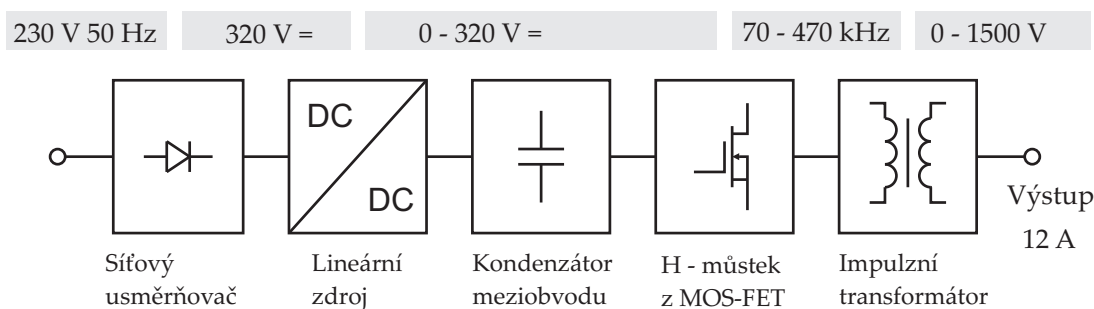
rem a tranzistorem, aby bylo možné napětí na kondenzátoru i snižovat. Ke kondenzátoru je připojen meziobvod H-můstku z tranzistorů MOSFET, do jehož úhlopříčky je připojeno primární vinutí transformátoru.

Tab. 4.1: Výstupní parametry vyrobeného zdroje střídavých vysokonapěťových pulzů pro IRE.

Parametr	Hodnota
Amplituda výstupního napětí pulzu	0 – 1500 V
Maximální proud	12 A
Výstupní frekvence	70 – 440 kHz
Doba pulzu	40 – 120 μ s
Doba mezery	0,5 – 1,5 s



Obr. 4.1: Ideální tvar výstupního signálu zařízení pro AC IRE.

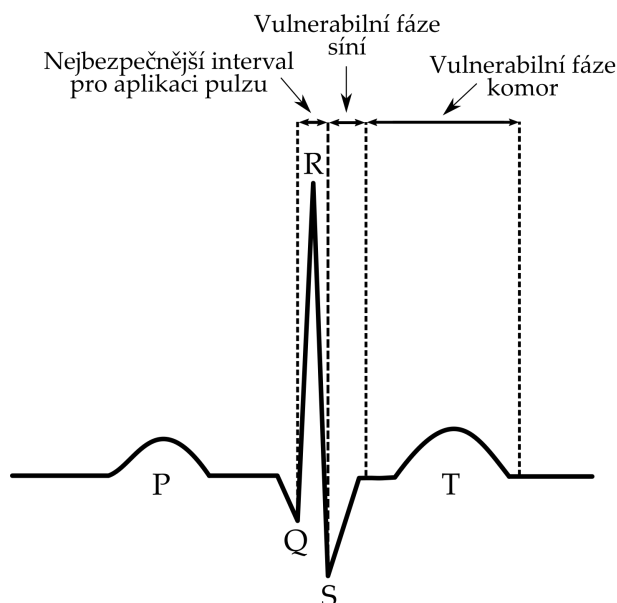


Obr. 4.2: Blokové schéma realizovaného zařízení pro AC IRE.

4.1.1 Synchronizace aplikačních pulzů se srdečním rytmem

Nejdůležitější součástí nadřazených řídicích systému jsou obvody zajišťující synchronizaci se srdečním rytmem. Srdeční synchronizace se používá při celé řadě diagnostických (CT, MRI, PET, SPECT, zátěžová echokardiografie) a terapeutických (elektrická kardioverze, kardiostimulace) technik. I když je vysokofrekvenční elektroporace relativně bezpečná, pracujeme-li v blízkosti myokardu je vhodné dodávané pulzy s rytmem srdce synchronizovat. Pokud by byl pulz aplikován do vulnerabilní fáze srdce (vlna T), mohlo by dojít k život ohrožující komorové fibrilaci. Fyziologický rytmus srdce, viz Obr. 4.3, obsahuje vlnu P, která odpovídá depolarizaci síní trvající okolo 80 ms. Dále je zde výrazný QRS komplex, který odpovídá depolarizaci komor

a trvá okolo 100 ms. V této době dochází rovněž k repolarizaci síní. Buňky srdeční svaloviny jsou v absolutní refrakterní fázi, což znamená, že jsou nedráždivé i na silný podnět. Proto je nejbezpečnější elektroporační pulz aplikovat právě do oblasti QRS komplexu. Bezpečná aplikace je možná až do momentu, kdy přichází vlna T, která odpovídá repolarizaci komor a je dlouhá okolo 160 ms.

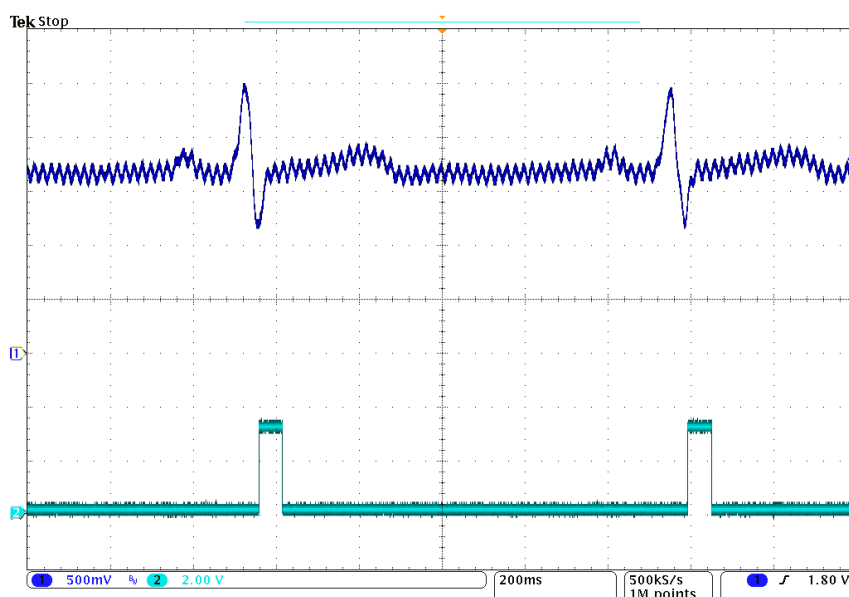


Obr. 4.3: Křivka EKG s vyznačenou vulnerabilní fází pro síně a komory, viz [45].

Detekci a analýzu signálu EKG je možné provést pomocí prospektivního nebo retrospektivního trigrování. Retrospektivní trigrování není pro účely elektroporace vhodné, protože jej nelze provádět v reálném čase, což je v případě elektroporace nezbytné. Prospektivní trigrování je založeno na detekování výrazné R vlny a měření R-R intervalů a je možné jej provádět v reálném čase. Pro účely elektroporace srdečního svalu byl vytvořen program pro synchronizaci aplikačního pulzu s rytmem srdce v programovém prostředí LabVIEW. K snímání signálů EKG slouží jednoduchý jednoúčelový obvod AD8232, ke kterému jsou připojeny tři elektrody. K synchronizaci se dále využívá ten signál z končetinových svodů, který má nejvýraznější vlnu R. EKG signál je dále zpracován softwarem běžícím na platformě NI myRIO-1900, takže je systém schopen práce i bez připojeného řídicího počítače.

Algoritmus synchronizace se skládá z fáze učení, detekce a rozhodování. Z EKG se určuje průměrná velikost RR intervalu a amplituda R vlny. Signál se nejdříve filtruje pásmovou propustí FIR, nebo IIR. Následně dochází k odhadu obálky signálu pomocí Hilbertovy transformace a mediánové filtrace⁴. Pro správnou funkčnost programu je důležité získání délky RR intervalu a amplitudy R vlny pro nastavení prahu detekce. Délka RR intervalu se zaznamenává a načítá do LIFO pole hodnot, odkud se počítá jeho průměrná délka a je odečten čas překročení prahu. S pomocí nastavených rozhodovacích pravidel se určí, zda je detekovaná R vlna fyziologická a v tom případě dojde k aplikaci elektroporačního pulzu. Pulz je tedy aplikován tehdy, je-li nově detekovaná vlna R a jí odpovídající RR interval v rozmezí mínus 7 % až plus 15 % průměrné délky RR intervalu. Podrobnější popis synchronizačního algoritmu je uveden v [46]. Na Obr. 4.4 je vidět průběhy EKG a synchronizovaných pulzů při experimentálním ověření funkčnosti programu.

⁴mediánová filtrace – Nelineární druhy filtrace vhodný k odstranění náhodného šumu a pro potlačení špiček v EKG signálu.



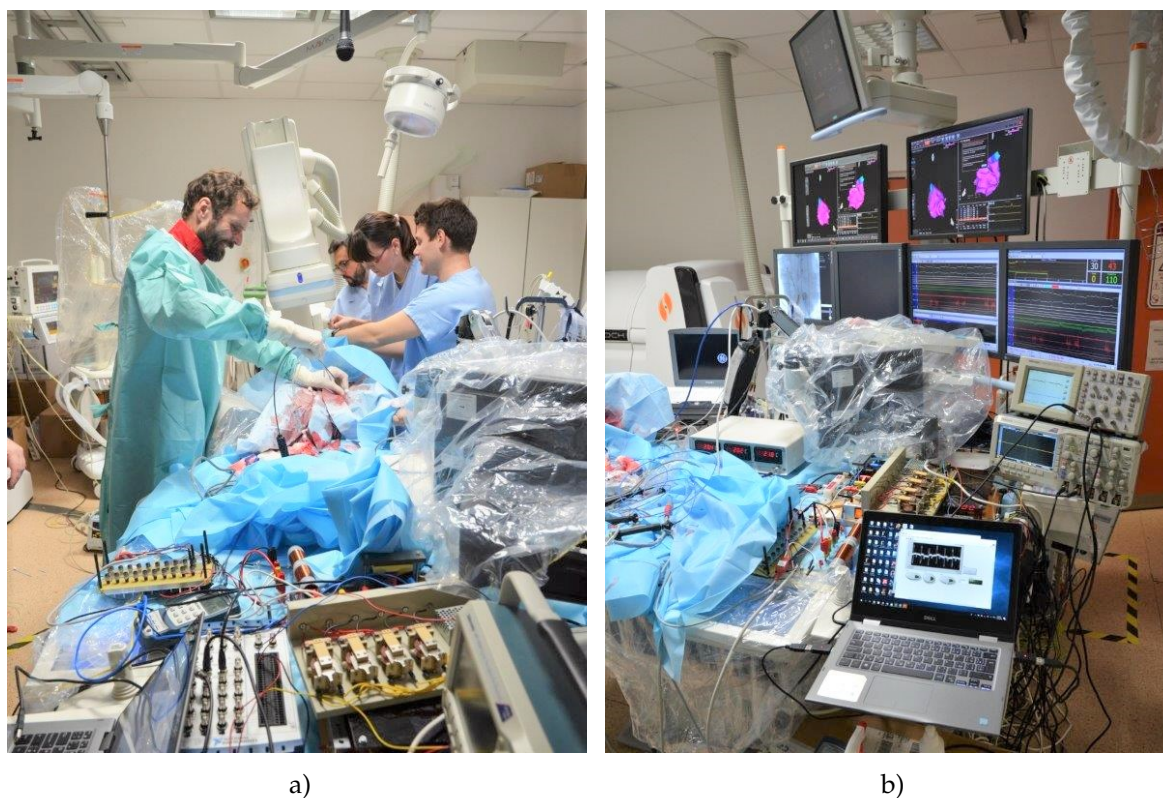
Obr. 4.4: Ukázka z experimentálního ověření funkčnosti synchronizace elektroporačních pulzů s EKG. Modrá křivka odpovídá EKG signálu a tyrkysová křivka zobrazuje synchronizační pulzy pro spouštění elektroporačních pulzů.

4.2 Endokardiální katetrová ablace provedená pomocí zdroje střídavých pulzů

Zdroj střídavých pulzů pro ireverzibilní elektroporaci byl sestaven zejména pro aplikace v kardiologii a to hlavně pro katetrovou ablací srdečních arytmií. Katetrová ablace srdečních arytmií je standardní terapeutický přístup pro pacienty, kteří trpí poruchami rytmu, ale jsou rezistentní na léky. Pokusy endokardiální katetrové ablace podstoupilo devět velkých prasnic *in vivo*. Pracoviště při zákroku je vidět na Obr. 4.5. Ablace byla prováděna v levé síni a na interventrikulárním septu. Přes tříselné cévy byly zavedeny diagnostické a ablační katetry. Současně byl v tříselné tepně invazivně monitorován krevní tlak.

Pulzy z generátoru AC IRE byly synchronizovány s EKG rytmem pacienta. Při tomto experimentu byla využita starší a méně sofistikovaná metoda, než která je popsána v kapitole 4.1.1. Signál EKG byl detekován a zpracován pomocí experimentálního zařízení pro detekci EKG propojeného s měřicí jednotkou National Instruments a programem vytvořeným v prostředí LabVIEW. Signál byl filtrován a prahován tak, aby docházelo k detekci R vln EKG signálu. Pokud byla zaznamenána R vlna, tak s průměrným zpožděním 75 ms byl aplikován také elektroporační pulz. Ablace v levé síni byla prováděna bipolárně pomocí Lasso katetru, který disponuje deseti póly se vzdáleností tři milimetry mezi póly. Dále byly prováděny ablace na ostiu plicní žíly a na laterální trabekulizované stěně. Celkově bylo aplikováno 60 pulzů o napětí 900 V. Velikost intenzity elektrického pole nepřesahovala 3 kV/cm.

Následně byla distální elektroda ablačního katetru Smarttouch spojena s aktivním pólem generátoru a diagnostický katetr s referenčním pólem generátoru. Katetry byly umístěny na proti sobě po obou stranách septa pod fluoroskopickou kontrolou. V této konfiguraci elektrod bylo aplikováno 120 pulzů o velikosti 1,2 kV. Velikost intenzity elektrického pole byla v tomto případě kolem 1 kV/cm. Intrakardiální potenciály byly po ablací buď rozšířené nebo prakticky vymizely, což potvrdilo akutní efekt zákroku. Po měsíci od zákroku byla tři zvířata znovu



Obr. 4.5: Snímky pracoviště při endokardiální katetrové ablaci.

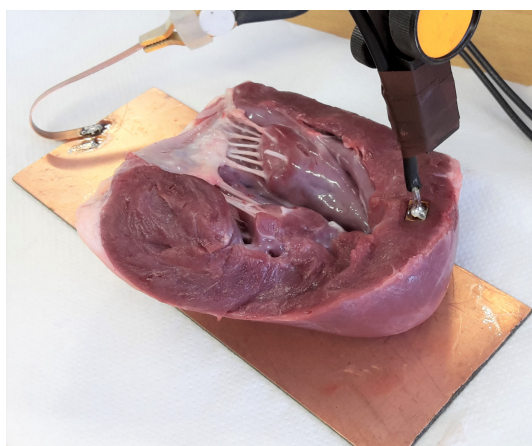
podrobena elektroanatomickému mapování, které ukázalo, že voltáž potenciálů v ablované oblasti poklesla. Následně byla provedena 9,4 T MRI na fixovaných vzorcích. Byla zřejmá změna kontrastu, což mohlo být způsobeno změnou zastoupení svalové a fibrotické (vazivové) tkáně.

Endokardiální katetrová ablace byla nejkomplexnějším experimentem ze všech provedených. V průběhu experimentu se vyskytlo několik technických problémů, které byly úspěšně vyřešeny. Z důvodu odstranění kapacitní špičky proudu byla realizována přídatná indukčnost. Byla odladována synchronizace pulzů s EKG, viz kapitola 4.1.1, a byl objeven problém měření impedance standardním RLC metrem, způsobujícím fibrilaci komor pacienta. Na základě odezvy od týmu odborníků z FNUSA ICRC je patrné že, získané výsledky jsou důkazem funkčnosti této nové metody a lze očekávat její nové aplikace v kardiologii i dalších lékařských oblastech.

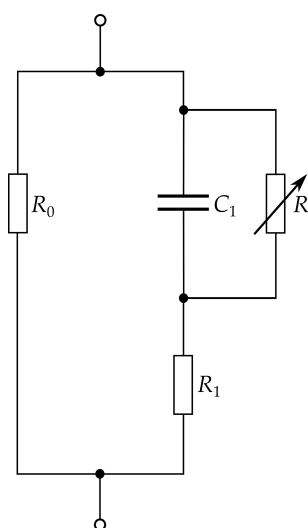
5 | Zpřesnění matematického modelu tkáně

Impedance je jedna z klíčových veličin, která vypovídá o procesu elektroporace. Znalost impedance zátěže je důležitá pro návrh a vývoj elektroporačních zařízení, ale také pro účely modelování a simulací procesů v tkáni v průběhu elektroporace. Měření elektrických vlastností během elektroporace poskytuje okamžitou zpětnou vazbu vypovídající o úspěšnosti celého procesu.

I přes známá fakta bylo vhodné provést měření impedance na našich vzorcích. Znalost impedance je důležitá jak z pohledu chování zkoumané tkáně, tak i chování celého systému zahrnujícího také elektrody a veškerou kabeláž. Měření impedance předcházelo vývoji a výrobě AC IRE a bylo prováděno ve stejné konfiguraci. Testovacím vzorkem byla prasečí srdeční svalová tkáň *ex vivo*. Nejdříve byla impedance měřena pomocí analyzátoru impedance QuadTech



a)



b)

Obr. 5.1: (a) Konfigurace experimentu měření impedance srdeční tkáně a (b) Náhradní elektrické schéma tkáně.

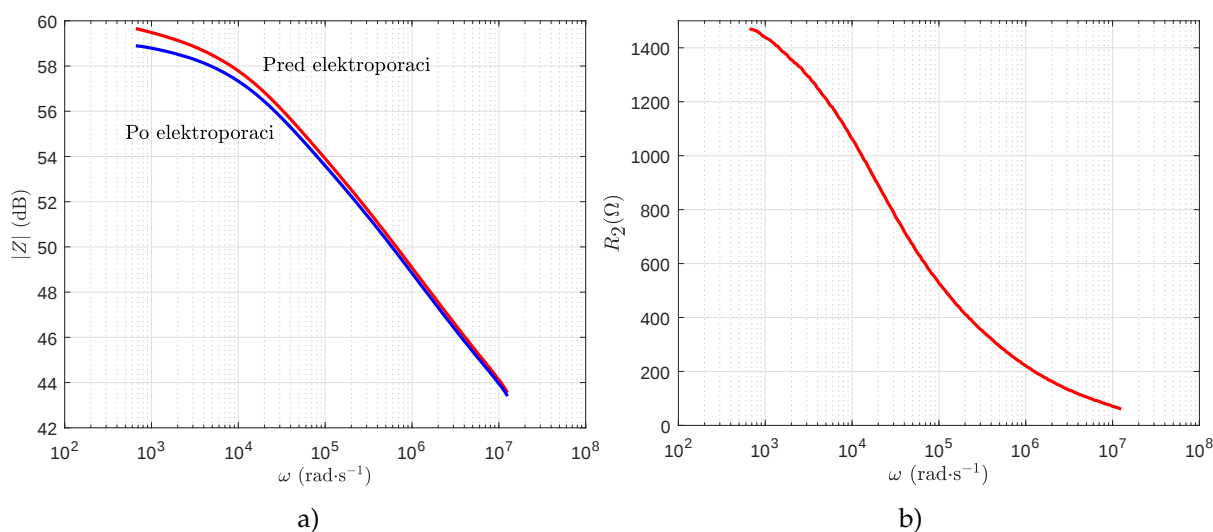
7600 (IET Labs Inc., NY, US) umožňujícího přesnou analýzu impedance s proměnnou frekvencí a napětím. Měřicí napětí bylo nastaveno na hodnotu 1 V a měřicí frekvence byla rozdělena na 200 hodnot v rozsahu 100 Hz až 2 MHz. K aplikaci elektroporačních pulzů byla použita elektroda o velikost 6×6 mm podobně jako při experimentu na živých prasatech. Druhý pól elektroporačního generátoru byl připojen k velkoplošné elektrodě, viz Obr. 5.1 a). Pro elektroporaci byla použita napětí 500, 600 a 800 V, frekvence 100, 200 a 300 kHz, délka pulzu byla 100 μ s. Pro každou kombinaci hodnot bylo aplikováno 60 pulzů. Impedance byla vždy měřena před

i po zákroku, aby mohlo být posouzeno, zda dochází při elektroporaci k její změně. Lze ukázat, že není možné jednoznačně identifikovat parametry běžně uváděného náhradního zapojení buňky na Obr. 1.1. Z tohoto důvodu je třeba pro identifikaci parametrů zapojení použití sofistikovanějších metod jako jsou například nelineární metoda nejmenších čtverců nebo genetické algoritmy apod.

Na druhou stranu je třeba vědět jaká je závislost měřených parametrů R_{mer} a C_{mer} na frekvenci, respektive celkové impedance na frekvenci. Tato závislost před a po elektroporaci je zobrazena na Obr. 5.2 a). Impedance s rostoucí frekvencí klesá a to se strmostí přibližně pět decibelů na dekádu. Z klasické teorie elektrických obvodů je však známo, že prostá kombinace R a C nabízí pokles pouze 20 dB na dekádu. Prakticky to tedy znamená, že náhradní zapojení buňky Obr. 1.1 je pro výpočty použitelný, ale závislost odporu R_{ep} na ostatních parametrech nelze jednoznačně stanovit.

5.1 Identifikace parametrů náhradního zapojení tkáně

Pro identifikaci parametrů bylo náhradní elektrické zapojení na Obr. 1.1 běžně užívané v literatuře upraveno do podoby na Obr. 5.1 b). Lze ukázat, že je vždy možné převést R_2 na paralelní kombinaci odporů R_{ep} a R_m a vice versa.



Obr. 5.2: (a) Závislost modulu změřené impedance tkáně na úhlové frekvenci pro 800 V a 200 kHz. a (b) Graf závislosti odporu R_2 na úhlové frekvenci.

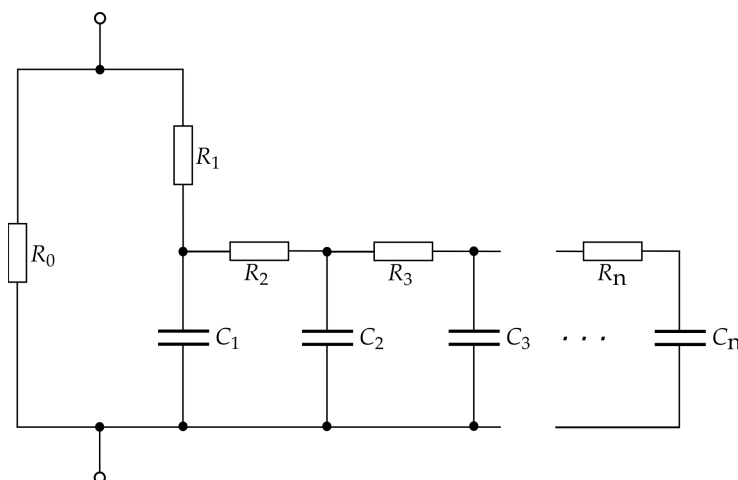
Identifikace vychází ze změřených dat podle Obr. 5.2 a). Pro identifikaci jsou důležité dva krajní body na nejnižší a nejvyšší frekvenci. Absolutní hodnota impedance při nejnižší frekvenci je označena Z_{max} . Při maximální frekvenci ω_{max} je označena Z_{min} . Jelikož není možné jednoznačně identifikovat všechny parametry, je nutné si předem některé zvolit. Je možné odvodit, že pro parametry R_0 , R_1 , R_2 a C_1 musí platit následující omezení:

$$\begin{aligned}
 R_0 &> 2Z_{\text{max}}, \\
 R_1 &\ll R_0, \\
 \omega_{\text{max}} C_1 &< \frac{1}{Z_{\text{min}}}, \\
 R_2 &\in \langle 0; R_0 \rangle.
 \end{aligned} \tag{5.1}$$

Pro identifikaci frekvenční závislosti impedance dle Obr. 5.2 a) byly zvoleny následující konstantní parametry $R_0=2000\ \Omega$, $R_1=100\ \Omega$ a $C_1=100\ \text{pF}$. Na Obr. 5.2 b) je graf závislosti odporu R_2 na úhlové frekvenci. Je třeba si uvědomit, že těchto křivek je možno získat nekonečně mnoho v závislosti na zvolených parametrech. Protože tuto křivku lze jen těžko matematicky popsat, není tento model příliš vhodný pro matematický model tkáně.

5.2 Identifikace parametrů upraveného náhradního zapojení tkáně

Výše uvedené nevýhody standardního náhradního zapojení je možné eliminovat upraveným náhradním zapojením tkáně dle Obr. 5.3, ve kterém jsou všechny parametry konstantní a nezávislé na frekvenci.



Obr. 5.3: Upravené náhradní elektrické schéma tkáně.

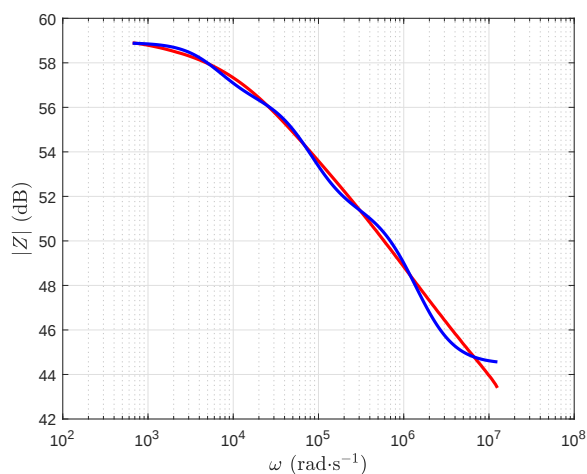
Pro toto náhradní schéma skládající se z n paralelně zapojených R-C článků je možné vypočítat celkovou impedanci tkáně následujícím způsobem:

$$\begin{aligned} Z_n &= R_n + \frac{1}{j\omega C_n}, \\ Z_i &= R_i + \frac{1}{j\omega C_i} \parallel Z_{i+1} \quad \text{pro } i = \{n-1, n-2, \dots, 2, 1\}, \\ Z_{\text{tk}} &= R_0 \parallel Z_1. \end{aligned} \tag{5.2}$$

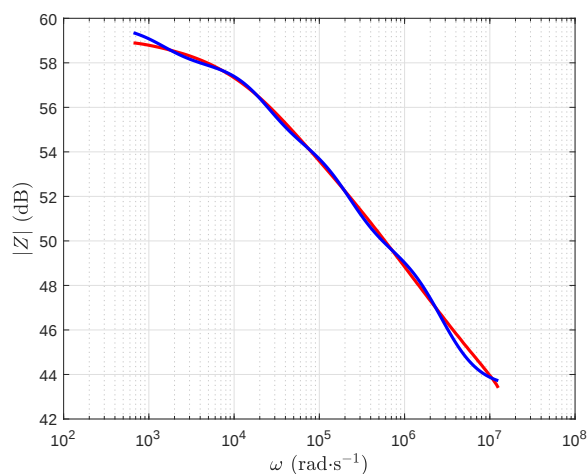
Stejným iterativním algoritmem je možné vypočítat také přenos, kde se $j\omega$ nahradí Laplaceovým operátorem. Pomocí genetického algoritmu sestaveného na základě [47] byly získány hodnoty parametrů náhradního zapojení. V Tab. 5.1 jsou uvedeny hodnoty RC pro jednotlivé řády modelu. Graficky je možné porovnat změřená a vypočtená data, viz Obr. 5.4. Na základě zjištěných výsledků je možné konstatovat, že pro dostatečně přesnou aproximaci elektrického modelu tkáně je vhodné použít model alespoň pátého řádu.

Tab. 5.1: Hodnoty RC pro jednotlivé řády modelu.

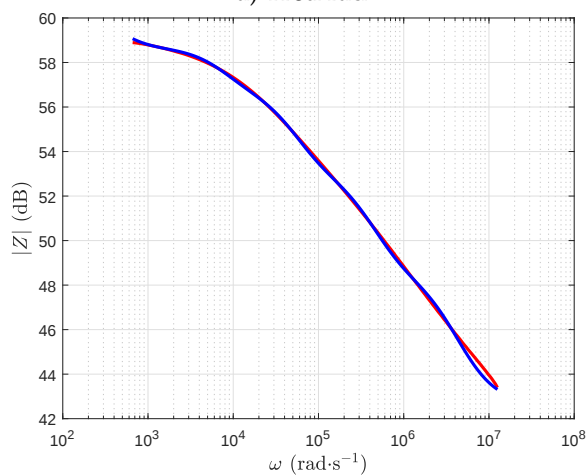
Řád	R_0 Ω	R_1 Ω	C_1 nF	R_2 Ω	C_2 nF	R_3 Ω	C_3 nF	R_4 Ω	C_4 nF	R_5 Ω	C_5 nF	R_6 Ω	C_6 nF
3.	882	207	3,3	527	16	2497	3,8	–	–	–	–	–	–
4.	962	175	2,3	337	10	903	3,2	3562	120	–	–	–	–
5.	1236	153	1,8	230	8,3	438	3,2	942	150	1266	960	–	–
6.	1225	152	1,8	228	8	441	3,1	946	140	1313	910	15562	3750



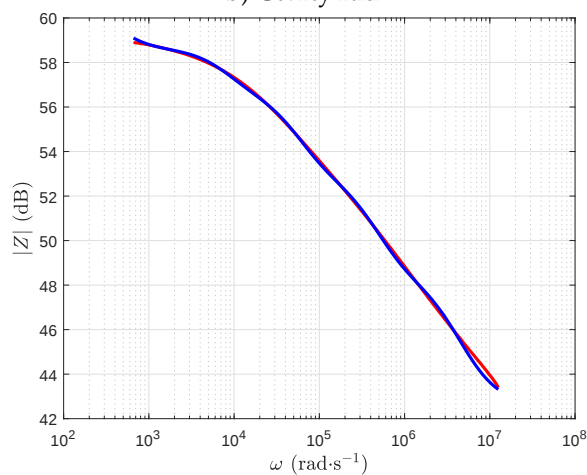
a) Třetí řád



b) Čtvrtý řád



c) Pátý řád



d) Desátý řád

Obr. 5.4: Závislost modulu změřené a vypočtené impedance tkáně na úhlové frekvenci. Červená křivka znázorňuje data změřená data a modrá křivka aproximovaná data.

Závěr

Tato práce je prvním uceleným dílem popisujícím výzkum elektroporace v České republice. Poskytuje průřez teorií elektroporace, matematickým modelováním tohoto procesu, technickým řešením zdrojů stejnosměrných a střídavých elektroporačních pulzů i experimenty a studiemi na *ex vivo* a *in vivo* zvířecích modelech za využití vyvinutých elektroporačních generátorů. Poskytuje tedy mezioborový vhled do problematiky a má za cíl rozšíření povědomí o této nadějně terapeutické technice.

Byl zpracován analytický model šíření tepla v tkáni v jedné konkrétní geometrii. Pro tento případ byla vyřešena analyticky Pennesova rovnice šíření tepla v živé tkáni. Výsledky řešení byly ověřeny v programu COMSOL Multiphysics.

Byla provedena celá řada simulací elektrotepelných dějů při elektroporaci. Modely pro simulaci byly vytvořeny na základě reálně provedených experimentů. Tyto simulace měly posloužit nejen ke zkoumání procesu elektroporace, ale také jako základ pro další vývoj a optimalizaci elektroporačních zařízení a procesů. Mezi nejzásadnější výstupy je možné zařadit výsledky tranzientní tepelné analýzy při elektroporaci endokardiálním katetrem uvnitř srdce. Ukázalo se, že většina generovaného tepla je odváděna proudící krví a díky tomu se tkáň během elektroporačního procesu ohřívá jen minimálně. To bylo ověřeno také při reálných experimentech.

Byl navržen a zkonstruován zdroj stejnosměrných elektroporačních pulzů s parametry až 5 kV a 100 A, viz kapitola 3. Jeho funkčnost byla ověřena v řadě medicínských experimentů. Na základě provedených experimentů je možné konstatovat, že pro klinickou praxi jsou dostatečné výstupní parametry stejnosměrného zdroje pulzů 3 kV a 40 A. Dále bylo prokázáno, že synchronizace elektroporačních pulzů se signálem EKG je v případech stejnosměrné elektroporace bezpodmínečně nutná, aby nedocházelo ke komorovým fibrilacím. Při experimentech bylo dokázáno, že elektroporace je skutečně netermální ablační technika a vzniklé tepelné namáhání tkáně je zanedbatelné.

Byl navržen a zkonstruován zdroj střídavých elektroporačních pulzů s parametry až 1,5 kV, 12 A a 440 kHz, viz kapitola 4, jehož funkčnost byla taktéž experimentálně ověřena. Na základě provedených experimentů bylo zjištěno, že i pro účely kardiologie by bylo výhodnější zvýšení výstupních parametrů zařízení alespoň na 2 kV a 20 A, přičemž frekvenční rozsah je vyhovující. Byla vyvinuta a implementována metoda synchronizace pulzů s EKG signálem z důvodu snížení rizika fibrilace. Eliminace extrasystol a aplikace pulzu do vulnerabilní fáze. Současně však bylo zjištěno, že i při nevhodně zvoleném čase aplikace pulzu mimo QRS komplex je riziko vzniku ventrikulární fibrilace nižší než se předpokládalo na základě předchozích pokusů se stejnosměrným zdrojem pulzů. Nevhodně aplikovaný pulz způsobí extrasystolu, která však není život ohrožující.

Provedené experimenty se stejnosměrným i střídavým zdrojem na jaterní a srdeční tkáni

přinesly cenné informace pro budoucí aplikace elektroporace v různých lékařských odvětvích. Například bylo zjištěno, že pro aplikaci elektroporace ve žlučových cestách je kritickým prvkem kontaktní systém tvořený elektrodami na balónkovém katetru. Nejvíce problémů při zákroku způsobovalo odlepování elektrod od balónku katetru nebo odpojení vodiče od kontaktní elektrody. Byla proto nastíněna metoda predikce selhání kontaktního systému na základě analýzy průběhu proudu v reálném čase.

Na základě naměřených dat byl vytvořen zpřesněný matematický model tkáně zohledňující frekvenční závislost impedance. Standardně uváděné náhradní elektrické schéma tkáně obsahuje odpor měnící se vlivem elektroporace, což je pro realizaci nevhodné. Schéma bylo upraveno do podoby příčkového článku skládajícího se pouze z odporů a kondenzátorů s konstantními hodnotami.

V budoucím výzkumu by se autorka chtěla věnovat měření impedance při elektroporaci jehož výstupy budou použity pro přesnější modelování elektroporačního procesu.

Literatura

- [1] Rubinsky, B.: *Irreversible Electroporation*. Berlin: Springer-Verlag, první vydání, 2010, ISBN 978-3-642-05419-8.
- [2] Jourabchi, N.; Beroukhi, K.; Tafti, B. A.; aj.: Irreversible electroporation (NanoKnife) in cancer treatment. *Gastrointestinal Intervention*, ročník 3, č. 1, 2014: s. 8–18.
- [3] Mir, L. M.: Application of Electroporation Gene Therapy. *Electroporation Protocols*, 2008: s. 3–17, doi:10.1007/978-1-59745-194-9_1.
- [4] Pichi, B.; Pellini, R.; Virgilio, A. D.; aj.: Electrochemotherapy: a well-accepted palliative treatment by patients with head and neck tumours. *Acta Otorhinolaryngologica italica*, ročník 38, č. 3, 2018: s. 181–187, doi:10.14639/0392-100X-1262.
- [5] Yao, C.; Sun, C.; Mi, Y.; aj.: Experimental Studies on Killing and Inhibiting Effects of Steep Pulsed Electric Field (SPEF) to Target Cancer Cell and Solid Tumor. *IEEE Transactions on Plasma Science*, ročník 32, č. 4, 2004: s. 1626–1633, ISSN 0093-3813, doi:10.1109/TPS.2004.832621.
- [6] Davalos, R. V.; Bhonsle, S.; Neal, R. E.: Implications and considerations of thermal effects when applying irreversible electroporation tissue ablation therapy. *The Prostate*, ročník 75, 2015: s. 1114–1118, doi:10.1002/pros.22986.
- [7] Bhonsle, S. P.; Arena, C. B.; Sweeney, D. C.; aj.: Mitigation of impedance changes due to electroporation therapy using bursts of high-frequency bipolar pulses. *Biomedical Engineering OnLine*, ročník 14, č. 3, 2015, doi:10.1186/1475-925X-14-S3-S3.
- [8] Bhonsle, S.; Lorenzo, M.; Safaai-Jazi, A.; aj.: Characterization of Nonlinearity and Dispersion in Tissue Impedance during High Frequency Electroporation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, ročník PP, č. 99, 2017: s. 1–12, ISSN 0018-9294, doi:10.1109/TBME.2017.2787038.
- [9] Arena, C. B.; Sano, M. B.; Rossmeisl, J. H.; aj.: High-frequency irreversible electroporation (H-FIRE) for non-thermal ablation without muscle contraction. *BioMedical Engineering On-Line*, ročník 10, č. 102, 2011: s. 1–21, doi:10.1186/1475-925X-10-102.
- [10] Davalos, R. V.; Mir, L. M.; Rubinsky, B.: Tissue Ablation with Irreversible Electroporation. *Annals of Biomedical Engineering*, ročník 33, č. 2, 2005: s. 223–231, doi:10.1007/s10439-005-8981-8.
- [11] Edd, J. F.; Davalos, R. V.: Mathematical modelling of irreversible electroporation for treatment planning. *Technology in Cancer Research and Treatment*, ročník 6, č. 4, 2007: s. 275–286, ISSN 1533-0346.

- [12] Rubinsky, B.; Davalos, R.: *Tissue ablation with irreversible electroporation*, US2019/0046255 A1. USA, 2019.
- [13] Rubinsky, B.; Maor, E.; Ivorra, A.; aj.: *Balloon catheter method for reducing restenosis via irreversible electroporation*, US2019/0160222 A1. USA, 2019.
- [14] NanoKnife. 2018.
URL <https://nanoknife.com>
- [15] Areal, C.; Davalos, R.; Sano, M.: *High frequency electroporation for cancer therapy*, US2016/0287314 A1. USA, 2016.
- [16] Šimurda, J.: *Bioelektrické jevy*. Brno: Fakulta Elektrotechniky a komunikačních technologií VUT, první vydání, 2007.
- [17] Chang, D. C.; Reese, T. S.: Changes in membrane structure induced by electroporation as revealed by rapid-freezing electron microscopy. *Biophysical Society*, ročník 58, 1990: s. 1–12.
- [18] Chen, X.; Ren, Z.; Zhu, T.; aj.: Electric Ablation with Irreversible Electroporation (IRE) in Vital Hepatic Structures and Follow-up Investigation. *Scientific Reports*, ročník 5, 2015-11-9: s. 16233–, ISSN 2045-2322, doi:10.1038/srep16233.
- [19] Sharabi, S.; Kos, B.; Last, D.; aj.: A statistical model describing combined irreversible electroporation and electroporation-induced blood-brain barrier disruption. *Radiology and Oncology*, ročník 50, č. 1, 2016: s. 28–38, ISSN 1581-3207, doi:10.1515/raon-2016-0009.
- [20] Corovic, S.; Lackovic, I.; Sustaric, P.; aj.: Modeling of electric field distribution in tissues during electroporation. *Biomedical Engineering OnLine*, ročník 12, č. 16, 2013: s. 1–27.
- [21] Sel, D.; Cukjati, D.; Batiuskaite, D.; aj.: Sequential Finite Element Model of Tissue Electroporabilization. *IEEE transactions on biomedical engineering*, ročník 52, č. 5, 2005: s. 816–827, doi:10.1109/TBME.2005.845212.
- [22] DeBruin, K. A.; Krassowska, W.: Modeling Electroporation in a Single Cell. I. Effects of Field Strength and Rest Potential. *Biophysical Journal*, ročník 77, č. 3, 1999: s. 1213–1224, ISSN 00063495, doi:10.1016/S0006-3495(99)76973-0.
- [23] Pavselj, N.; Bregar, Z.; Cukjati, D.; aj.: The Course of Tissue Permeabilization Studied on a Mathematical Model of a Subcutaneous Tumor in Small Animals. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, ročník 52, č. 8, 2005: s. 1373–1381, ISSN 0018-9294, doi: 10.1109/TBME.2005.851524.
- [24] Lackovic, I.; Magjarevic, R.; Miklavcic, D.: Three-dimensional finite-element analysis of joule heating in electrochemotherapy and in vivo gene electrotransfer. *IEEE*, ročník 16, č. 5, 2009: s. 1338 – 1347, ISSN 1070-9878, doi:10.1109/TDEI.2009.5293947.
- [25] Davalos, R. V.; Rubinsky, B.: Temperature considerations during irreversible electroporation. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, ročník 51, 2008: str. 5617–5622.
- [26] Maruyama, S.; Okajima, J.; Komiya, A.; aj.: Estimation of temperature distribution in biological tissue by using solutions of bioheat transfer equation. *Heat Transfer-Asian Research*, ročník 37, č. 6, 2008: s. 374–386, ISSN 10992871, doi:10.1002/htj.20210.

- [27] Županič, A.; Miklavčič, D.: Tissue heating during tumor ablation with irreversible electroporation. *Elektrotehniški vestnik*, ročník 78, č. 1-2, 2011: s. 42–47.
- [28] O'Brien, T. J.; Bonakdar, M.; Bhonsle, S.; aj.: Effects of internal electrode cooling on irreversible electroporation using a perfused organ model. *International Journal of Hyperthermia*, ročník 35, č. 1, 2018: s. 44–55, ISSN 0265-6736, doi:10.1080/02656736.2018.1473893.
- [29] Pakhomov, A. G.; Miklavcic, D.; Markov, M.: *Advanced electroporation techniques in biology and medicine*. Boca Raton: CRC Press, první vydání, 2010, ISBN 9781439819067.
- [30] Griffiths, D. J.: *Introduction to electrodynamics*. New York, NY: Cambridge University Press, fourth edition vydání, 2018, ISBN 1108420419.
- [31] Lakhssassi, A.; Kengne, E.; Semmaoui, H.: Modified pennes' equation modelling bio-heat transfer in living tissues. *Natural Science*, ročník 02, č. 12, 2010: s. 1375–1385, ISSN 2150-4091, doi:10.4236/ns.2010.212168.
- [32] Pennes, H. H.: Analysis of Tissue and Arterial Blood temperatures in the Resting Human Forearm. *Journal of Applied Physiology*, ročník 2, č. 1, 1948: s. 93–122, doi:10.1152/jappl.1948.1.2.93.
- [33] Becker, S. M.: Skin Electroporation With Passive Transdermal Transport Theory. *Journal of Heat Transfer*, ročník 133, č. 1, 2010, doi:10.1115/1.4002362.
- [34] Mandel, Y.; Rubinsky, B.: Treatment of Uveal Melanoma by Nonthermal Irreversible Electroporation. *Journal of Heat Transfer*, ročník 134, č. 11, 2012, doi:10.1115/1.4005203.
- [35] Huang, H.; Chan, C.; Roemer, R.: Analytical Solutions of Pennes Bio-Heat Transfer Equation With a Blood Vessel. *Journal of Biomechanical Engineering*, ročník 116, č. 2, 1994: s. 208–212.
- [36] Rektorys, K.: *Přehled užití matematiky*. Praha: Prometheus, 7 vydání, 2000, ISBN 80-7196-180-9.
- [37] van Amerongen, M. J.; Jenniskens, S. F.; van den Boezem, P. B.; aj.: Radiofrequency ablation compared to surgical resection for curative treatment of patients with colorectal liver metastases – a meta-analysis. *HPB*, ročník 19, č. 9, 2017: s. 749–756, ISSN 1365182X, doi:10.1016/j.hpb.2017.05.011.
- [38] Andrašina, T.; Jaroš, J.; Jůza, T.; aj.: The Accumulation and Effects of Liposomal Doxorubicin in Tissues Treated by Radiofrequency Ablation and Irreversible Electroporation in Liver. *CardioVascular and Interventional Radiology*, ročník 42, č. 5, 2019: s. 751–762, ISSN 0174-1551, doi:10.1007/s00270-019-02175-z.
- [39] Andriyanov, A. V.; Koren, E.; Barenholz, Y.; aj.: Therapeutic Efficacy of Combining PEGylated Liposomal Doxorubicin and Radiofrequency (RF) Ablation. *PLoS ONE*, ročník 9, č. 5, 2014-5-1, ISSN 1932-6203, doi:10.1371/journal.pone.0092555.
- [40] Goldberg, S. N.; Girnan, G. D.; Lukyanov, A. N.; aj.: Percutaneous Tumor Ablation. *Radiology*, ročník 222, č. 3, 2002: s. 797–804, ISSN 0033-8419, doi:10.1148/radiol.2223010861.
- [41] Ahmed, M.; Liu, Z.; Lukyanov, A. N.; aj.: Combination Radiofrequency Ablation with Intratumoral Liposomal Doxorubicin. *Radiology*, ročník 235, č. 2, 2005: s. 469–477, ISSN 0033-8419, doi:10.1148/radiol.2352031856.

- [42] Ridditid, W.; Rerknimitr, R.: Management of an occluded biliary metallic stent. *World Journal of Gastrointestinal Endoscopy*, ročník 4, č. 5, 2012: s. 157–161, ISSN 1948-5190, doi:10.4253/wjge.v4.i5.157.
- [43] Andrašina, T.; Rohan, T.; Jůza, T.; aj.: Irreversible electroporation for treatment of metal stent occlusion in biliary tract - ex vivo experimental model. In *CardioVascular and Interventional Radiology*, ročník 41, CIRSE, 2018, ISSN 0174-1551, s. 51–513, doi:10.1007/s00270-018-2021-1.
- [44] Andrašina, T.; Kuběna, P.: *Katétr k ireverzibilní elektroporaci*. ČR, 2018.
- [45] Mali, B.; Jarm, T.; Jager, F.; aj.: An algorithm for synchronization of in vivo electroporation with ECG. *Journal of Medical Engineering & Technology*, ročník 29, č. 6, 2005: s. 288–296, doi:10.1080/03091900512331332591.
- [46] Nohel, M.: Synchronizace elektroporačních pulzů se srdečním rytmem. 2019.
- [47] Haupt, R. L.; Haupt, S. E.: *Practical genetic algorithms*. Hoboken, N.J.: John Wiley, druhé vydání, 2004, ISBN 04-714-5565-2.

Autorčiny články a ostatní výstupy

K tématu dizertační práce

- [A1] Andrašina, T.; Grolich, T.; Crha, aj.: The Methodology for Endoluminal Irreversible Electroporation in Porcine Models. *Acta Veterinaria Brno*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2019, **88**(2), 201-205. ISSN 0001-7213. DOI: <https://doi.org/10.2754/avb201988020201>.
- [A2] Pesl, M.; Caluori, G.; Wolf, J.; aj.: Epicardial delivery of diversified pulsed field potentials in animal model. In: *3rd World Congress on Electroporation*. France, 2019, s. 1-2.
- [A3] Červinka, D.; Novotná, V.; Folprecht, M.: Vysokonapěťové zdroje pro účely buněčné elektroporace. In: *Sborník XXXVI.konference o elektrických pohonech*. Plzeň: ZCU, 2019, s. 1-6.
- [A4] Novotná, V.; Červinka, D.: Current Distribution in The Tissue During Electroporation Process. In: *Proceedings of the 2018 18th International Conference on Mechatronics, Mechatronika (ME)*. 1. Brno: VUT, 2018, s. 1-5. ISBN 978-80-214-5543-6.
- [A5] Novotná, V.; Červinka, D.: Impedance Measurement of Muscular Tissue During Electroporation Procedure. In: *Conference Proceedings 2018 IEEE International Conference on Environmental and Electrical Engineering and 2018 IEEE Industrial and Commercial Power Systems Europe (EEEIC/ICPS Europe)*. Palermo: IEEE, 2018, s. 841-845. ISBN 978-1-5386-5185-8.
- [A6] Červinka, D.; Novotná, V.: High-Voltage Pulse Source for Cell Electroporation. In: *Mechatronics 2017*. Cham: Springer International Publishing, 2018, s. 80-86. Advances in Intelligent Systems and Computing. DOI: 10.1007/978-3-319-65960-2_11. ISBN 978-3-319-65959-6.
- [A7] Novotná, V.; Červinka, D.: The Novel Device for Irreversible Electroporation: Thermographic Comparison with Radiofrequency Ablation. In: *Mechatronics 2017*. Cham: Springer International Publishing, 2018, 2018-08-19, s. 72-79. Advances in Intelligent Systems and Computing. DOI: 10.1007/978-3-319-65960-2_10. ISBN 978-3-319-65959-6.

- [A8] Novotná, V.: Experimental Use of Novel Pulse Generator for Irreversible Electroporation. In: *Proceedings of the 23rd Conference STUDENT EEICT 2017*. [online]. 1. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2017, s. 568-572. ISBN 978-80-214-5496-5.
- [A9] Červinka, D.; Procházka, P.; Martiš, J., aj.: Ireverzibilní elektroporace (IRE). In: *VIII. Liberecká konference nelékařských oborů a IX. Studentská vědecká konference*. Liberec: Technická univerzita Liberec, Ústav zdravotnických studií, 2016, s. 57-61. ISBN 978-80-7494-273-0.
- [A10] Červinka, D., Martiš, J., Novotná, V., Folprecht, M.: *Osmikanálový vysokonapětový generátor 3,9MHz pro kosmetické účely*, Brno, 2018. URL: <https://medical.jett.eu/cs/>, funkční vzorek.
- [A11] Červinka, D.; Novotná, V.: *Synchronizační a měřicí modul ke střídavému elektroporačnímu generátoru*. Brno, 2018. URL: <http://www.uvee.feec.vutbr.cz/>, funkční vzorek.
- [A12] Červinka, D., Martiš, J., Novotná, V.: *Vysokonapětový zdroj pro střídavou elektroporaci*, Brno, 2017. URL: <http://www.uvee.feec.vutbr.cz>, funkční vzorek.
- [A13] Červinka, D., Martiš, J., Novotná, V.: *Radiofrekvenční zdroj 3.9MHz pro kosmetické účely*, Brno, 2017. URL: <http://www.uvee.feec.vutbr.cz>, funkční vzorek.
- [A14] Stárek, Z., Pešl, M., Wolf, J., Caluori, G., Červinka, D., Martiš, J., Novotná, V.: *Vysokonapětový střídavý zdroj pro účely elektroporace*. ČR. D19066280, Užitený vzor, Datum podání: 21.6.2019.
- [A15] Stárek, Z., Pešl, M., Wolf, J., Caluori, G., Červinka, D., Martiš, J., Novotná, V.: *Elektroporační generátor na ablaci srdečních tkání*. ČR. D19066262, Užitený vzor, Datum podání: 21.6.2019.
- [A16] Stárek, Z., Pešl, M., Wolf, J., Caluori, G., Červinka, D., Martiš, J., Novotná, V.: *Elektroporační generátor*. ČR. D19066175, Patent, Datum podání: 21.6.2019.

Mimo téma dizertační práce

- [A17] Harland, D. P.; Novotna, V.; Richena, M.; aj.: Helical twist direction in the macrofibrils of keratin fibres is left handed. *Journal of Structural Biology*. 2019, **206**(3), 345-348. DOI: 10.1016/j.jsb.2019.04.007. ISSN 10478477.
- [A18] Vaneckova, T.; Bezdekova, J.; Tvrdonova, M.; aj.: CdS quantum dots-based immunoassay combined with particle imprinted polymer technology and laser ablation ICP-MS as versatile tool for protein detection. *ACS Applied Materials and Interfaces*. 2019, **9**, 1-9. ISSN 1944-8244.
- [A19] Chronopoulos, D. D.; Medved, M.; Bloński, P.; aj.: Alkynylation of graphene via the Sonogashira C—C cross-coupling reaction on fluorographene. *Chemical Communications*. 2019, **55**(8), 1088-1091. DOI: 10.1039/C8CC08492K. ISSN 1359-7345.
- [A20] Harland, D. P.; Novotna, V.; Richena, M.; aj.: Hair-Structure Mystery Solved by Datamining Two Decades of Electron Tomograms. *Microscopy and Microanalysis*. 2019, **25**(S2), 1348-1349. DOI: 10.1017/S1431927619007475. ISSN 1431-9276.
- [A21] Neuman, J.; Novacek, Z.; Pavera, M. a Novotna, V.; Correlative Probe and Electron Microscopy CPEM — The Novel Technology for 3D Material Surface Analysis. *Microscopy and Microanalysis*. 2019, **25**(S2), 430-431. DOI: 10.1017/S1431927619002885. ISSN 1431-9276.

- [A22] Novotná, V.; Hrubanová, K.; Nebesarová, J.; aj.: Investigation of Electron Beam Induced Mass Loss of Embedding Media in the Low Voltage STEM. In: *Microscopy and Microanalysis*. 2014, **20**(S3), 1270-1271. DOI: 10.1017/S1431927614008083. ISSN 1431-9276.
- [A23] Krzyzanek, V.; Novotná, V.; Hrubanová, K.; aj.: Beam damage of embedding media sections and their investigations by SEM. In: *18th International Microscopy Congress*. Praha: Czechoslovak Microscopy Society, 2014, s. 120-123. ISBN 978-80-260-6720-7.
- [A24] Novotná, V.: *Electron Beam Induced Mass Loss of Sensitive Materials*. 1. LAP LAMBERT Academic Publishing, 2014. ISBN 978-3-659-62843-6.
- [A25] Novotná, V.: Investigation Of Electron Beam Induced Mass Loss of Embedding Media in the Low Voltage STEM. In: *Student EEICT - Proceedings of the 20th conference*. 1. Brno: Litera, 2014, s. 139-141. ISBN 978-80-214-4923-7.
- [A26] Novotná, V.: SNOM as a substitute for TEM in the observation of biological samples. In: *Student EEICT - Proceedings of the 18th Conference*. Brno: Litera, 2012, s. 83-85. ISBN 978-80-214-4462-1.
- [A27] Novotná, V.; Knápek, A.; Šafářová, Š.: SNOM as an Extension of Visible- Light Microscopy for Human Cancer Cells Research. In: *New Trends in Physics, NTF 2012*. Brno, 2012, s. 153-156. ISBN 978-80-214-4594-9.
- [A28] Novotná, V., Knápek, A., Tománek, P.; aj.: Scanning Probe Microscopy as a Tool for Investigation of Biomaterials. *Advances in Electrical and Electronic Engineering*. 2012, **10**(5), 350-354. ISSN 1804-3119.

Curriculum Vitae

Jméno: Veronika Novotná

Kontakt: veronika.novotna1@vutbr.cz, vercanovo@seznam.cz

Pracovní zkušenosti:

Čvc. 2018 – současnost	Aplikační specialista NenoVision, Brno
Čvc. 2017 – současnost	Technický pracovník UVEE FEKT VUT v Brně
Čvc. 2016 – led. 2017	Specialista mikroskopie AgResearch, Lincoln, Nový Zéland
Úno. 2016 – dub. 2016	Vědecký pracovník – stážista Malaghan Institute of Medical Research, Wellington, Nový Zéland
Dub. 2015 – pro. 2015	Specialista mikroskopie FNUSA-ICRC, Brno
Lis. 2014 – bře. 2015	Biomedicínský technik Fakultní nemocnice Brno Bohunice
Říj. 2013 – čvn. 2014	Vědecký asistent Ústav přístrojové techniky AV ČR, Brno

Vzdělání:

2015 – 2019	Elektrotechnika a komunikační technologie Doktorské studium, UVEE FEKT VUT v Brně
2012 – 2014	Biomedicínské inženýrství a bioinformatika Magisterské studium, UBMI FEKT VUT v Brně
2012 – 2013	Biomedicínské inženýrství a bioinformatika Magisterské studium, ERASMUS, TUT, Tampere, Finsko
2009 – 2012	Biomedicínská technika a bioinformatika Bakalářské studium, UBMI FEKT VUT v Brně
2005 – 2009	Všeobecné gymnázium T.G. Masaryka, Hustopeče