

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Brno, 2022

Bc. Jakub Uher



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

MĚŘENÍ VODIVOSTI ŽIVÉ TKÁNĚ PŘI VYSOKÉ INTENZITĚ ELEKTRICKÉHO POLE

HIGH-VOLTAGE METHOD FOR MEASURING THE SPECIFIC CONDUCTIVITY OF TISSUE

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Jakub Uher

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Dalibor Červinka, Ph.D.

BRNO 2022

Diplomová práce

magisterský navazující studijní program **Silnoproudá elektrotechnika a výkonová elektronika**

Ústav výkonové elektrotechniky a elektroniky

Student: Bc. Jakub Uher

ID: 203506

Ročník: 2

Akademický rok: 2021/22

NÁZEV TÉMATU:

Měření vodivosti živé tkáně při vysoké intenzitě elektrického pole

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1. Ověřte spolehlivost vysokonapěťové měřicí metody na vzorku materiálu se známou vodivostí.
2. Pokuste se ověřit teorii sigmoidální závislosti měrné vodivosti na elektrické intenzitě na předloženém vzorku živé tkáně.
3. Proveďte zhodnocení pravděpodobných zdrojů nepřesnosti navržené měřicí metody.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

- [1] Vorel P., Patočka M., Prumyslová elektronika, Vydání 1., skriptum FEKT VUT Brno, 2007
- [2] Patočka M., Magnetické jevy a obvody ve výkonové elektronice, měřicí technice a silnoproudé elektrotechnice. 1. vyd. V Brně: VUTIUM, 2011, 564 s. ISBN 978-80-214-4003-6.

Termín zadání: 7.2.2022

Termín odevzdání: 22.5.2022

Vedoucí práce: Ing. Dalibor Červinka, Ph.D.

doc. Ing. Ondřej Vítek, Ph.D.
předseda rady studijního programu

UPOZORNĚNÍ:

Autor diplomové práce nesmí při vytváření diplomové práce porušit autorská práva třetích osob, zejména nesmí zasahovat nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a musí si být plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č.40/2009 Sb.

Abstrakt

Diplomová práce se věnuje neustále se zdokonalující lékařské metodě – elektroporaci. Práce je rozdělena do šesti kapitol. První dvě kapitoly popisují, co elektroporace obnáší a jaký má vliv na tkáň, jak ji můžeme vyhodnotit a jak velký vliv má na měření změna teploty tkáně. Třetí kapitola se věnuje návrhu koaxiálního uspořádání elektrod – od prvotní simulace, až po fyzický výrobek. Ve čtvrté kapitole je ukázáno měřicí pracoviště. V předposlední kapitole jsou popsány a zpracovány jednotlivé experimenty provedené na živočišné tkáni. Poslední, šestá, kapitola shrnuje možné nepřesnosti, které při měření vznikají a tím pádem mají vliv na výsledky.

Klíčová slova

Elektroporace, Elektrický odpor, Tkáň, Vodivost, Elektrody

Abstract

This master's thesis is dedicated to the ever-improving medical method - electroporation. This work is divided into six chapters. The first two chapters describe what electroporation entails and how it affects the tissue, how we can evaluate it and how much influence the change in tissue temperature has on measurements. The third chapter deals with the design of coaxial arrangement of electrodes - from the initial simulation to the physical product. In the fourth chapter, the measuring workplace is shown. The penultimate chapter is described and processed by individual experiments carried out on animal tissue. The last, sixth chapter summarizes the possible inaccuracies that arise in the measurement and therefore affect the results.

Keywords

Electroporation, Electrical resistance, Tissue, Conductivity, Electrodes

Bibliografická citace

UHER, Jakub. *Měření vodivosti živé tkáně při vysoké intenzitě elektrického pole* [online]. Brno, 2022 [cit. 2022-05-22]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/142715>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav výkonové elektrotechniky a elektroniky. Vedoucí práce Dalibor Červinka.

Prohlášení autora o původnosti díla

Jméno a příjmení studenta: *Jakub Uher*

VUT ID studenta: *203506*

Typ práce: *Diplomová práce*

Akademický rok: *2021/22*

Téma závěrečné práce: *Měření vodivosti živé tkáně při vysoké intenzitě elektrického pole*

Prohlašuji, že svou závěrečnou práci jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucí/ho závěrečné práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené závěrečné práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této závěrečné práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících autorského zákona č. 121/2000 Sb., včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne: 22. května 2022

podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucímu diplomové práce Ing. Daliboru Červinkovi, Ph.D. a Ing. Martinu Hemzalovi za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé bakalářské práce. Dále děkuji doc. Ing. Radoslavu Cipínovi za poskytnutí simulací při návrhu elektrod.

V Brně dne: 22. května 2022

podpis autora

Obsah

SEZNAM OBRÁZKŮ	8
ÚVOD	9
1. ELEKTROPORACE	10
1.1 VRATNÁ ELEKTROPORACE	11
1.2 NEVRATNÁ ELEKTROPORACE	12
1.3 PROVEDENÍ ELEKTROPORAČNÍHO ZÁKROKU	12
1.3.1 Elektrický model tkáně	13
1.4 VYHODNOCENÍ ELEKTROPORAČNÍHO ZÁKROKU	14
2. MĚŘENÍ ELEKTRICKÉHO ODPORU TKÁNĚ	16
2.1 ELEKTRICKÝ ODPOR MĚŘENÉHO VZORKU	16
2.2 VLIV TEPLoty NA MĚRNOU ELEKTRICKOU VODIVOST TKÁNĚ	17
3. MĚŘÍCÍ ELEKTRODY	21
3.1 PRVOTNÍ NÁVRH MĚŘÍCÍCH ELEKTROD	21
3.2 NOVÁ GEOMETRIE ELEKTROD	22
3.3 VLIV VZDUCHOVÉ MEZERY NA HOMOGENITU POLE	24
3.4 VÝROBA MĚŘÍCÍCH ELEKTROD	24
3.5 KOMPLETACE MĚŘÍCÍHO PŘÍPRAVKU	26
4. MĚŘÍCÍ PRACOVNÍ MÍSTO	27
5. EXPERIMENT NA ŽIVOČIŠNÉ TKÁNĚ	29
5.1 EXPERIMENT ČÍSLO 1 – VÝŠKA VZORKU $L = 11$ MM	29
5.2 EXPERIMENT ČÍSLO 2 – CHOVÁNÍ TKÁNĚ PŘI KONSTANTNÍM NAPĚTÍ	32
5.3 EXPERIMENT ČÍSLO 3 – VÝŠKA VZORKU $L = 8,5$ MM	34
5.4 EXPERIMENT ČÍSLO 4 – VÝŠKA VZORKU $L = 7$ MM, $U = \text{KONST.}$	36
5.5 KOREKCE VLIVU POČTU PULZŮ	38
6. ZDROJE MOŽNÝCH NEPŘESNOSTÍ PŘI MĚŘENÍ	42
6.1 MĚŘENÝ VZOREK	42
6.2 ELEKTRODY	42
6.3 TEPLOTA	43
6.4 HYDRATACE TKÁNĚ	43
6.5 MĚŘÍCÍ PŘÍSTROJE	44
7. ZÁVĚR	46
SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK	51

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 – Princip elektroporace.....	10
Obrázek 2 – Vratná elektroporace	11
Obrázek 3 – Působení nevratné elektroporace na nádorovou buňku	12
Obrázek 4 – Elektrický model tkáně.....	13
Obrázek 5 – Průchod střídavého elektrického proudu tkání	14
Obrázek 6 – Změna vodivosti různých tkání v závislosti na zvyšující se intenzitě elektrického pole	15
Obrázek 7 – Válcový vodič představující měřenou tkáň	16
Obrázek 8 – Změna měrné vodivosti vepřových jater v závislosti na zvyšující se teplotě	17
Obrázek 9 – Hodnoty měrné vodivosti při koagulaci s krokem 5 °C.....	18
Obrázek 10 – Změna teploty při různých intenzitách elektrického pole.....	18
Obrázek 11 – Katetr měřící teplotu a elektrický odpor kousku jater	19
Obrázek 12 – Změna elektrického odporu tkáně v závislosti na rostoucí teplotě	19
Obrázek 13 – Změna elektrického odporu tkáně do 32,5 °C	20
Obrázek 14 - Původní rozměry měřících elektrod	21
Obrázek 15 - Řez měřícími elektrodami.....	22
Obrázek 16 – Nová geometrie elektrod	23
Obrázek 17 – Návrh tištěného spoje	24
Obrázek 18 - Detailní pohled přední a zadní strany elektrod.....	25
Obrázek 19 – Elektroda ve formě desky plošných spojů	25
Obrázek 20 – Vyhotovené měřící elektrody	26
Obrázek 21 – Měřící pracoviště	27
Obrázek 22 – Detailní náčrt měřícího přípravku	28
Obrázek 23 – Příklady použitých vzorků jater.....	29
Obrázek 24 – Závislost elektrického odporu R na zvyšujícím se napětí s každým pulzem.....	31
Obrázek 25 – Závislost měrné elektrické vodivosti na zvyšujícím se napětí s každým pulzem	31
Obrázek 26 – Závislost měrné elektrické vodivosti na intenzitě přiloženého elektrického pole	32
Obrázek 27 - Závislost elektrického odporu na počtu pulzů při konstantním napětí	33
Obrázek 28 – Závislost měrné elektrické vodivosti na počtu pulzů při konstantním napětí.....	34
Obrázek 29 - Závislost elektrického odporu R na zvyšujícím se napětí s každým pulzem (čerstvá játra)..	35
Obrázek 30 - Závislost měrné elektrické vodivosti na zvyšujícím se napětí s každým pulzem (čerstvá játra)	35
Obrázek 31 - Závislost měrné elektrické vodivosti na intenzitě přiloženého elektrického pole (čerstvá játra)	36
Obrázek 32 - Závislost elektrického odporu na konstantním napětí při každém pulzu (čerstvá játra).....	37
Obrázek 33 - Závislost měrné elektrické vodivosti na počtu pulzů při konstantním napětí.....	37
Obrázek 34 – Průběh reálného a ideálního obdélníkového pulzu	38
Obrázek 35 – Příspěvek u-t pro jednotlivé pulzy	39
Obrázek 36 – Detail příspěvku u-t pro jednotlivé pulzy z Obrázku 35	39
Obrázek 37 – Závislost poměrné změny vodivosti na příspěvcích jednotlivých pulzů	40
Obrázek 38 – Průběhy naměřených a korigovaných hodnot měrné vodivosti	41
Obrázek 39 – Řez játry napadenými motolicí.....	42
Obrázek 40 – Ilustrační průběhy napětí a proudů elektrodami	44

ÚVOD

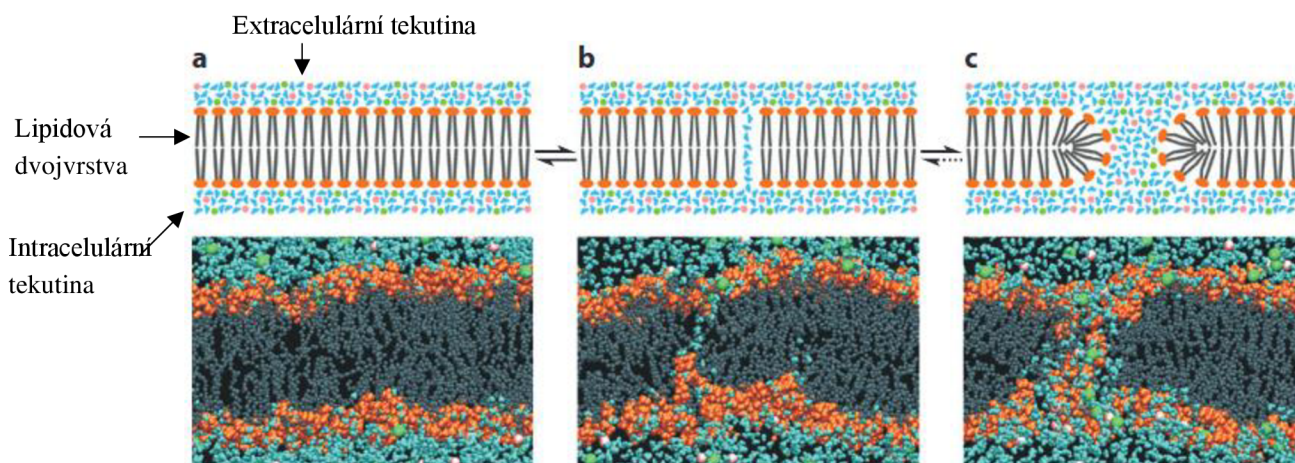
Moderní medicína se nepřestává vyvíjet a zdokonalovat. Jednotlivé technické a lékařské obory se začínají víc a víc prolínat a díky tomu vznikají i nové lékařské metody. Jedna z nich je i elektroporace, která by se v budoucnu mohla stát důležitou součástí léčby nádorových onemocnění.

Hlavním cílem této práce bylo zkoumání změny vodivosti živočišné tkáně v závislosti na přiložené intenzitě elektrického pole při elektroporačním zákroku. Dále zde čtenář najde různé vlivy, které nepříznivě působí na měřené veličiny, jako je například teplota, nebo samotný měřicí přípravek.

Tato práce je rozdělena do šesti hlavních kapitol. První kapitola vysvětluje samotnou elektroporaci a jak jí dělíme podle jejího rozsahu ve vzorku. Druhá kapitola popisuje měření elektrického odporu tkáně a jaký má na něj vliv teplota. Třetí kapitola se věnuje návrhu koaxiálního zapojení elektrodového systému, který byl použit pro experimenty v této práci. Čtvrtá kapitola slouží jako ilustrace toho, jak vypadalo měřicí pracoviště, a jaké přístroje byly použity. V páté kapitole jsou pak popsána a zpracována jednotlivá měření na vzorcích jater, na kterých byla provedena elektroporace. Poslední, šestá, kapitola obsahuje možné nepřesnosti, které mohly mít vliv na měřené veličiny, a tím pádem i na samotné výstupy jednotlivých experimentů.

1. ELEKTROPORACE

Při aplikaci krátkých pulzů o vysoké amplitudě na buňky a tkáň dochází ke zvýšení jejich permeability. Za toto zvýšení permeability může vytvoření dočasných pórů uvnitř buněčné membrány – tento jev se nazývá elektroporace [1]. Takto vytvořenými póry můžeme do buňky vpravovat například léky [2].



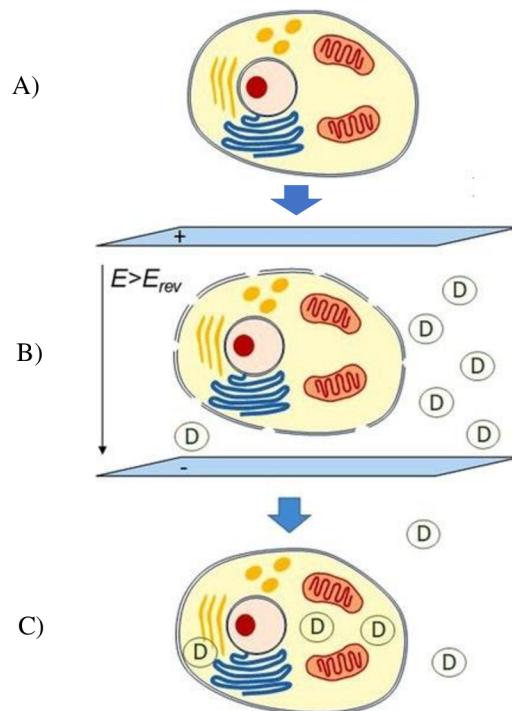
Obrázek 1 – Princip elektroporace

Obrázek 1 popisuje princip vytvoření pórů v buněčné membráně. Vrchní série obrázků reprezentuje idealizované vytvoření póru. Spodní série obrázků je simulace. V části a) je netknutá lipidová dvojvrstva – buněčná membrána. Po přiložení elektrického pole na buňku (b) dojde v prvních nanosekundách k vytvoření kanálku, kterým začnou procházet zejména molekuly vody nacházející se v extracelulární tekutině. Řádově po mikrosekundě dojde k polarizaci pole mezi extracelulární a intracelulární částí membrány (c). Lipidy se začnou přeorientovávat a začnou do buňky pronikat společně s molekulami vody. Pór se stabilizuje a dojde k většímu přenosu molekul a iontů do buňky [1].

Pokud při vytváření pórů dojde k překročení prahového napětí membrány (200 mV až 1 V), buňka ztratí schopnost zpětně zacelit vytvořené póry. Následuje smrt buňky z důvodu ztráty homeostáze – schopnosti udržovat stabilní prostředí vně buňky [3]. Rozeznáváme tedy elektroporaci vratnou a nevratnou.

1.1 Vratná elektroporace

Popis vratné elektroporace je zobrazen na Obrázku 2. Buňka se nachází v jejím původním stavu A). Ve stavu B) je buňka vystavena elektrickému poli o dostatečně velké intenzitě, aby došlo k vytvoření pórů v membráně – řádově desítky až stovky V/cm. Pomocí vzniklých kanálků se do buňky dopraví médium. Pokud po provedení elektroporačního zákroku dojde k zacelení nově vzniklých pórů v membráně (stav C)), označujeme tento zákrok jako vratný. Vytvořené póry jsou schopny přetrvat až několik minut, než dojde k jejich úplnému zatáhnutí [4].



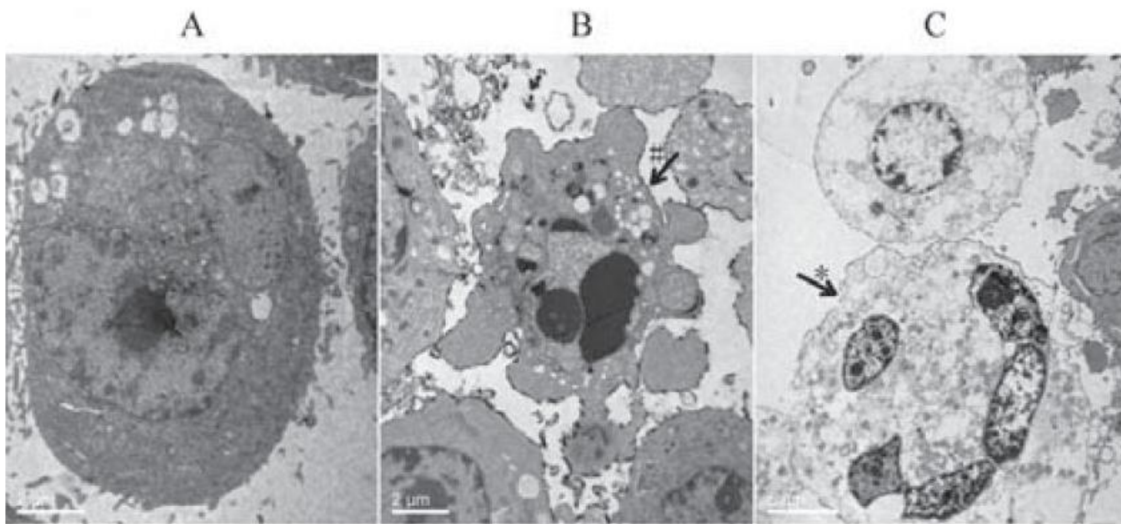
Obrázek 2 – Vratná elektroporace

Vratná elektroporace má největší využití při léčbě a zmírnění nádorových onemocnění. Tato léčba se nazývá elektrochemo terapie (ECT). Na buňkách postižených rakovinou dojde k vytvoření pórů, pomocí kterých jsou do buňky dopraveny medikamenty. Další rozšířenou metodou je elektrogenová terapie (RNA). Zde dochází pomocí pórů k přenosu genových informací přímo do buňky [5].

1.2 Nevratná elektroporace

Přiložíme-li na buňku (tkáň) elektrické pole o větší intenzitě (stovky až tisíce V/cm), nebo ním budeme působit na buňku po delší čas, tak buňka začne ztrácet schopnost udržet svoje vnitřní prostředí stabilní neboli dochází k narušení homeostáze. To je způsobeno vytvářením dalších a dalších pórů na povrchu buněčné membrány.

Dojde-li ke ztrátě homeostáze, buňka dále není schopna držet pohromadě a dojde k jejímu zničení. Tento jev se označuje jako nevratná elektroporace.



Obrázek 3 – Působení nevratné elektroporace na nádorovou buňku

Velkou výhodou nevratné elektroporace je, že se léčebný proces obejde bez použití léků. Nevratná elektroporace závisí pouze na přiloženém elektrickém poli a jeho intenzitě. Proto je tato metoda vhodná pro ničení nádorových onemocnění (viz Obrázek 3) [6].

Na Obrázku 3 v části A) je zobrazena nádorová buňka. V části B) byla buňka zasažena pěti pulzy o hodnotě 400 V, což mělo za následek ztrátu její homeostáze. Část C) zobrazuje dodatečné zničení buňky dvěma pulzy o hodnotě 900 V [7].

1.3 Provedení elektroporačního zákroku

Pro úspěšné provedení nevratného elektroporačního zákroku je potřeba použít vysokonapěťový zdroj, který je schopen dodat napětí řádově v kV a elektrický proud o desítkách A [6].

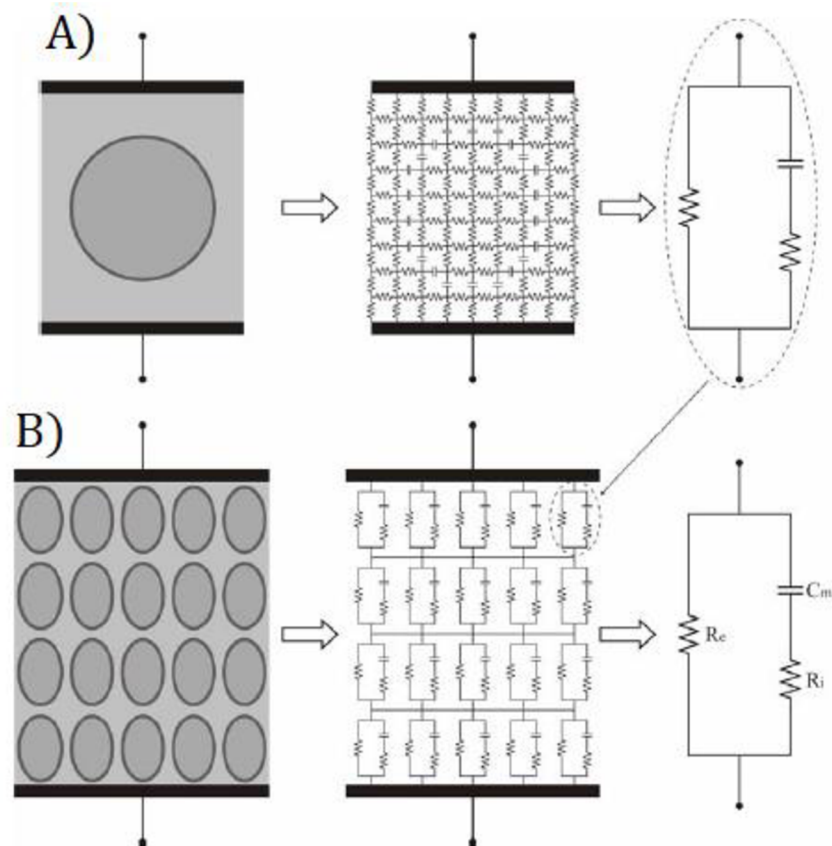
V ideálním případě je zdroj schopen dodat obdélníkové pulzy. Ovšem se zvyšujícím se napětím roste i náročnost vytvoření takovýchto pulzů, a to z důvodu nutnosti použití

zesilovače pro vysoké napětí, což je finančně nákladné. V našem případě jsme využili pulsního transformátoru. Primární strana transformátoru byla napájena nižším napětím, zatímco na straně sekundární jsme dostali 3,73 násobek primárního napětí.

Velikost napětí a proudu potřebného pro elektroporaci se odvíjí od měřeného vzorku, zejména od jeho tloušťky a přirozeného elektrického odporu, který závisí na druhu tkáně. Chování tkáně z elektrického hlediska je popsáno v kapitole 1.3.1, níže.

1.3.1 Elektrický model tkáně

Ve 20. století vznikl elektrický model tkáně, který ji ze střídavého hlediska reprezentuje jako paralelní kombinaci kondenzátoru C a elektrického odporu R . Elektrické vlastnosti tkáně byly zkoumány od jednotek Hz až po MHz [6].

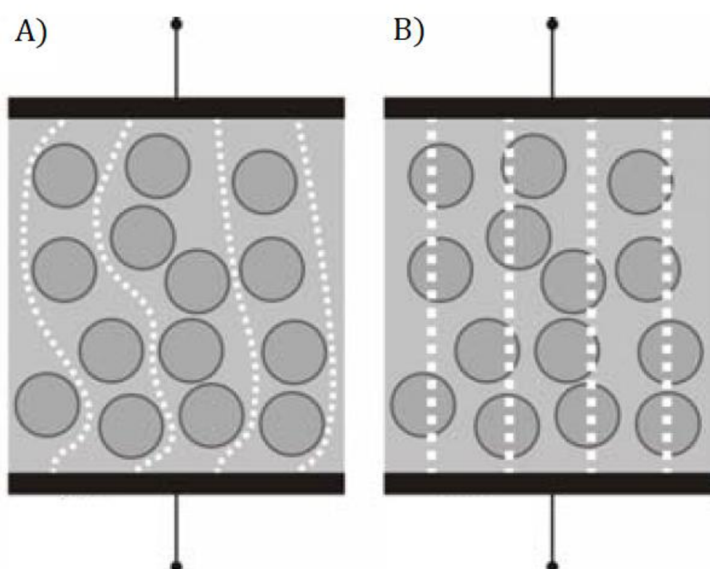


Obrázek 4 – Elektrický model tkáně

Vrchní část Obrázku 4 označená A) reprezentuje buňku. Vnitřní část buňky je tvořena primárně intracelulární tekutinou, která je zde reprezentována elektrickými odpory. Buněčnou membránu představují kondenzátory, které oddělují intracelulární a extracelulární prostředí. Okolí buňky je tvořeno extracelulární tekutinou, kterou opět reprezentují elektrické odpory.

V části B) je elektrické schéma tkáně. To vzniklo spojením jednotlivých elektrických modelů buněk. Výsledný elektrický model tkáně je reprezentován elektrickým odporem intracelulární tekutiny R_i v sériové kombinaci s elektrickou kapacitou buněčné membrány C_m . Okolní prostředí je charakterizováno elektrickým odporem extracelulární tekutiny R_e .

Ze střídavého hlediska se tedy tkáň chová následovně (viz Obrázek 5) – v části A) proudy o nízkých frekvencích neprochází buněčnou membránou a uplatňuje se tedy jen odpor extracelulární tekutiny R_e . Naopak proudy o vyšších frekvencích budou v části B) volně procházet skrze buňky (kondenzátor C_m představuje zkrat) a uplatní se pouze odpory extracelulárních a intracelulárních tekutin R_e a R_i [6].



Obrázek 5 – Průchod střídavého elektrického proudu tkání

Pokud však budeme uvažovat průchod stejnosměrného proudu (viz experimentální měření v Kapitole 5), tak se bude kondenzátor C_m , představující membránu, chovat jako nekonečně velký odpor [8]. Jelikož má membrána velkou plošnou kapacitu $\approx 1 \mu\text{F}/\text{cm}$, tak dojde k průrazu dielektrika poměrně snadno, a to v závislosti na velikosti přiloženého napětí [6].

1.4 Vyhodnocení elektroporačního zákroku

Při elektroporaci jsou elektrody umístěny kolem, nebo přímo v měřeném vzorku tkáně. Pomocí elektrod jsou aplikovány elektrické pulzy. Ty mají na tkáň vliv podle specifických vlastností každého pulzu – velikost pulzu, doba trvání pulzu, tvar pulzu atd. Tkáň vystavená elektrickým pulzům může reagovat následovně:

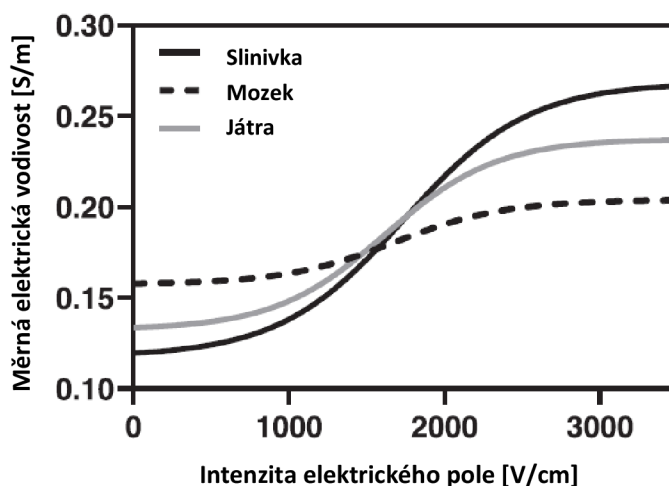
1. Beze změny – vlastnosti tkáně se nijak nezmění

2. Reverzibilně (vratná elektroporace) – dojde k vytvoření kanálků na povrchu membrány, které se po určitém čase samy zatáhnou
3. Ireverzibilně (nevratná elektroporace) – nastává zničení buňky

V současné době se elektroporační zákrok provádí bez kontroly v reálném čase. To znamená, že během zákroku nejsou dostupné žádné informace o stupni a rozsahu provedeného zákroku. Výsledek elektroporace jde tedy pozorovat jen z dlouhodobější reakce tkáně [9].

Extracelulární a intracelulární tekutiny obsahují elektrolyty, které jsou velmi dobrými vodiči elektrického proudu. Během elektroporace se buněčná membrána, která se jinak chová jako izolant, stává vodivou v důsledku vytvoření přenosových kanálků. Začne docházet k přenosu elektrolytů z a do buňky, což má za následek pokles elektrického odporu jednotlivých buněk, zasažených elektroporačními pulzy [9].

V biomedicině se primárně bere jako ukazatel změna vodivosti tkáně. Víme, jakou vodivost měla tkáň před provedením experimentu. Při samotném experimentu se zaznamenávají parametry jednotlivých kopů, tedy napětí a elektrický proud. Pro zpracování dat je však potřebné znát i parametry elektrod a tloušťku měřeného vzorku. Výsledky elektroporace se nejčastěji vynášejí jako závislost měrné elektrické vodivosti na intenzitě přiloženého elektrického pole.



Obrázek 6 – Změna vodivosti různých tkání v závislosti na zvyšující se intenzitě elektrického pole

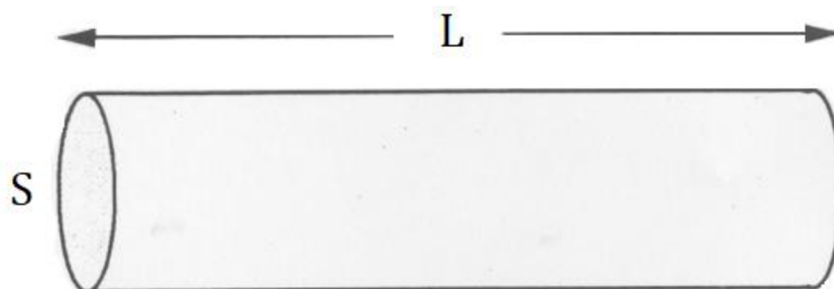
2. MĚŘENÍ ELEKTRICKÉHO ODPORU TKÁNĚ

Podle zdroje elektrické energie můžeme rozdělit elektrické vlastnosti tkání do dvou kategorií – aktivní a pasivní. Aktivních vlastností tkáň nabývá následkem iontových aktivit v buňkách. Mezi tyto vlastnosti patří například akční potenciály vzrušivých tkání. Detekování těchto elektrických signálů se využívá u elektrofyziologických metod – EKG (elektrokardiografie – snímání mozkové aktivity), EMG (elektromyografie – snímání svalové aktivity) a EEG (elektroencefalografie – snímání mozkové aktivity). Pokud je tkáň vystavena vnějšímu zdroji elektrické energie, dochází k pasivní odezvě tkáně [10].

Mezi největší komplikace při měření elektrického odporu tkáně patří neschopnost rozlišit objemové změny a změny vlastností tkáně a nemožnost určení proudovodné dráhy [11].

2.1 Elektrický odpor měřeného vzorku

Pro měření v této práci byly použity kruhové elektrody. Elektrický odpor měřeného sloupce si proto můžeme představit jako válec – o průřezu S a délce L [12].



Obrázek 7 – Válcový vodič představující měřenou tkáň

Z Obrázku 7 můžeme elektrický odpor R určit jako:

$$R = \frac{\rho \cdot L}{S} [\Omega], \quad (1)$$

kde ρ představuje rezistivitu dané tkáně, L délku (tloušťku) vzorku a S je jeho průřez.

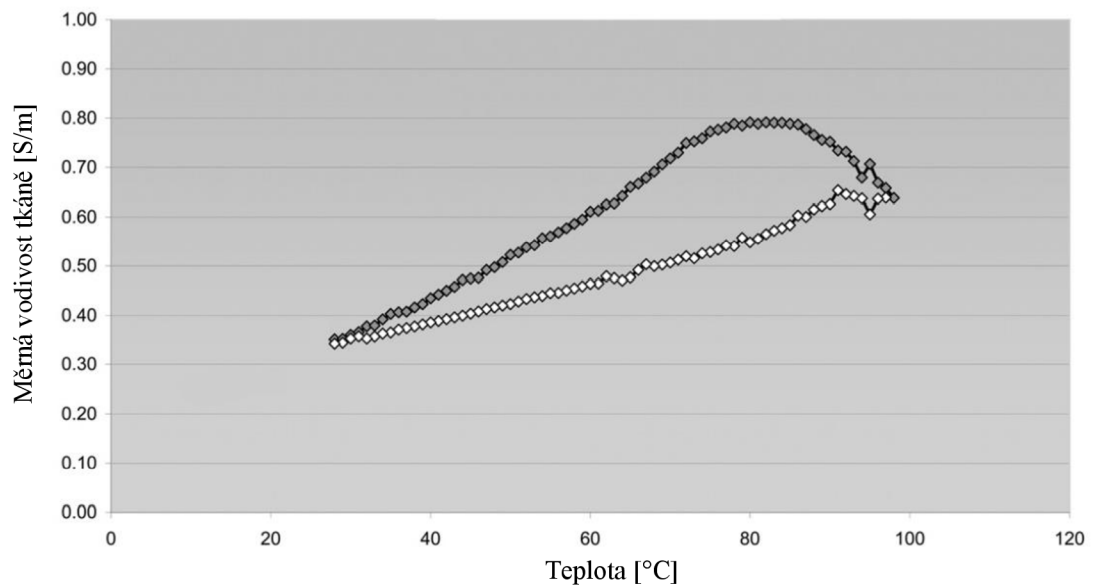
Tloušťka vzorku je konstantní, a proto nemá vliv na změnu elektrického odporu R . Stejně tak průřez S , jelikož uvažujeme neměnný průřez homogenního pole pod vnitřní elektrodou (viz Kapitola 3). Rezistivita ρ je proměnná s teplotou T v závislosti na intenzitě přiloženého elektrického pole.

2.2 Vliv teploty na měrnou elektrickou vodivost tkáně

Při nevratné elektroporaci jsou známy dva děje, které mají vliv na vodivost tkáně – samotná elektroporace a teplota. Elektroporace zvyšuje vodivost ničením buněk v závislosti na velikosti intenzity elektrického pole a oteplení je způsobeno Joulovým teplem, které vzniká průchodem elektrického proudu vodičem [15].

Na změnu měrné vodivosti tkáně má vliv i krevní koagulace. Koagulace je proces, při kterém dochází k zástavě krvácení v důsledku poškození tkáně. Při koagulaci dochází k vytvoření krevní sraženiny – buňky se na sebe nahušťují a tím se zvyšuje vodivost tkáně [13].

V [14] bylo provedeno 25 měření vodivosti, při kterém docházelo k postupnému ohřevu a následně i ochlazování živého kusu vepřových jater (vně těla). Bylo zjištěno, že s rostoucí teplotou roste i vodivost tkáně, k čemuž dochází právě i při již zmíněné koagulaci. Ze všech měření byla vypočítána střední hodnota, viz Obrázek 8.



Obrázek 8 – Změna měrné vodivosti vepřových jater v závislosti na zvyšující se teplotě

Měření probíhalo od 27 °C až do 90 °C, kde měrná vodivost tkáně (šedě) rostla až do teploty 86 °C. Chování měrné vodivosti při ochlazování (bíle) není pro tuto práci důležité.

Na Obrázku 9 je výňatek středních hodnot z naměřených dat s krokem 5 °C.

Teplota °C	Měrná vodivost (průměr z 25 měření)
30	0.36 S/m (0.28; 0.47)
35	0.40 S/m (0.31; 0.51)
40	0.43 S/m (0.36; 0.57)
45	0.47 S/m (0.35; 0.61)
50	0.52 S/m (0.40; 0.66)
55	0.56 S/m (0.42; 0.69)
60	0.61 S/m (0.46; 0.73)
65	0.66 S/m (0.50; 0.70)
70	0.71 S/m (0.56; 0.84)
75	0.77 S/m (0.61; 0.89)
80	0.79 S/m (0.70; 0.87)
85	0.78 S/m (0.58; 0.87)
90	0.75 S/m (0.54; 0.86)

Obrázek 9 – Hodnoty měrné vodivosti při koagulaci s krokem 5 °C

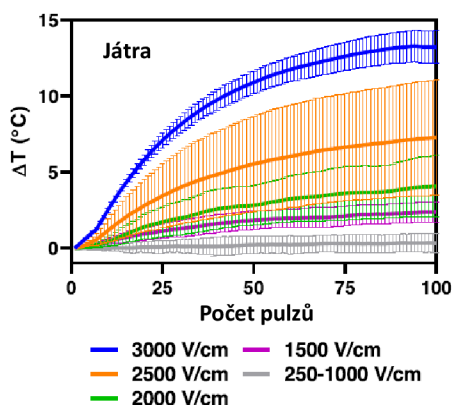
Nárůst vodivosti (pokles rezistivity) vlivem teploty je definován součinitelem přestupu tepla α . Tento parametr definuje procentuální změnu vodivosti tkáně vlivem zvyšující se teploty. Jelikož jsou však změny teploty a vodivosti diskrétní veličiny, tak se musí vypočítat v rozsahu provedených pulzů [15].

Z tohoto důvodu byl v [15] zaveden koeficient β , aby bylo jasné, že změna vodivosti není ekvivalentem koeficientu přestupu tepla α :

$$\beta = 100 \cdot \frac{\sigma_2 - \sigma_1}{\sigma_1 \cdot (T_2 - T_1)}, \quad (2)$$

kde σ_1 a T_1 jsou počáteční hodnoty vodivosti a teploty a σ_2 a T_2 jsou konečné hodnoty vodivosti a teploty po provedení počtu pulzů X.

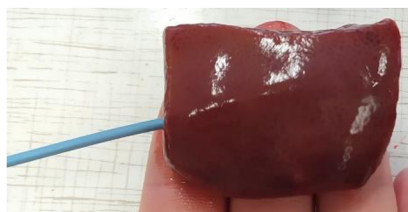
Zvýšení vodivosti v důsledku změny teploty bylo kvantifikováno podle vzorce (2) v rozsahu 20 pulzů. K výpočtu β byly použity vzorky vystavené elektrickému poli o intenzitách 1000, 1500, 2000 a 3500 V/cm. Při nižších intenzitách (<1000 V/cm) nedochází k výrazným změnám vodivosti.



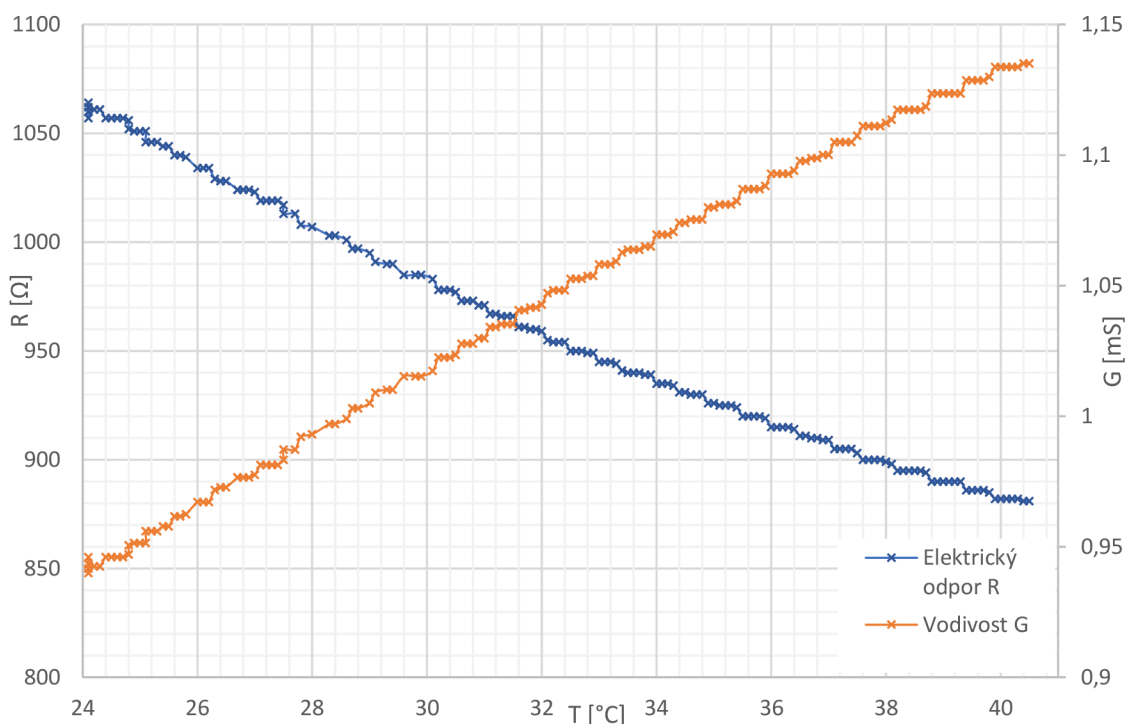
Obrázek 10 – Změna teploty při různých intenzitách elektrického pole

Z Obrázku 10 je patrné, že se rostoucí intenzitou elektrického pole roste i změna teploty tkáně, a tedy i samotná vodivost [15].

V experimentálních měřeních (viz Kapitola 5) byla přesáhnuta intenzita elektrického pole 1000 V/cm, a proto byl v této práci proveden experiment, který zkoumal, jak se bude měnit elektrický odpor mrtvého vzorku jater v závislosti na oteplení tkáně. Měření bylo realizováno vodní lázní, do které byl ponořen kus veřřových jater, ve kterém byl zapíchnut katetr, pomocí kterého byla měřena teplota a elektrický odpor vzorku.

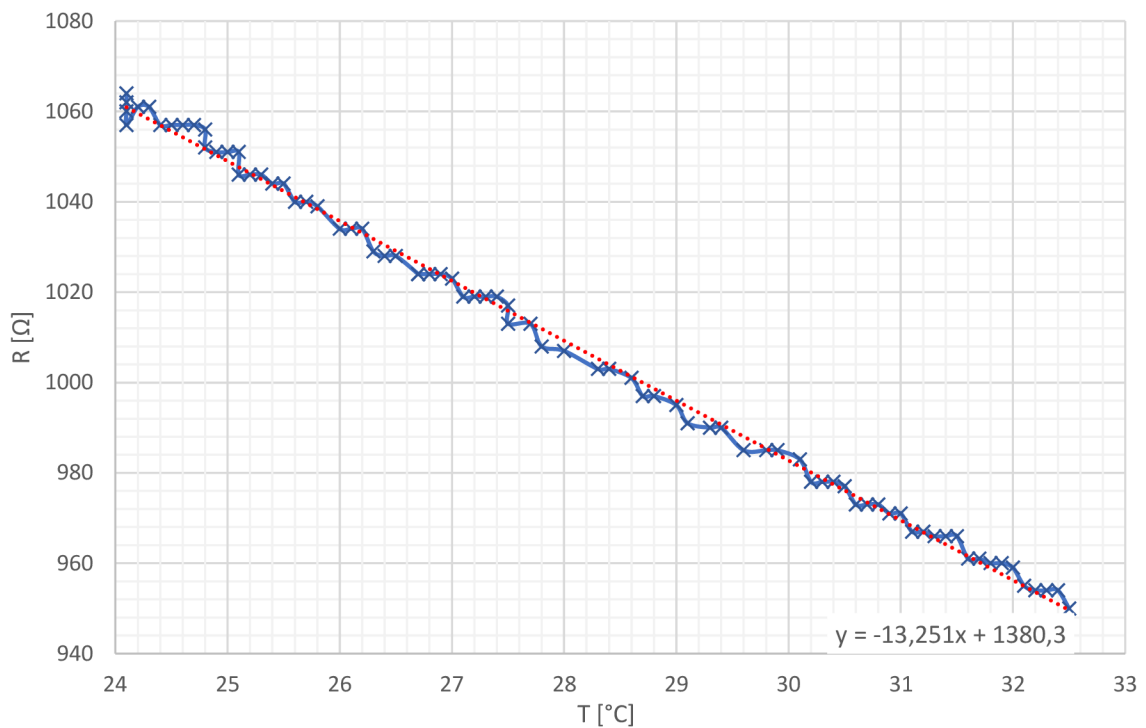


Obrázek 11 – Katetr měřící teplotu a elektrický odpor kousku jater



Obrázek 12 – Změna elektrického odporu tkáně v závislosti na rostoucí teplotě

Měření probíhalo od teploty okolí 24 °C až do teploty 40,5 °C. V testovacím měření z Kapitoly 5.2 byla však dosažena nejvyšší teplota vzorku 26,9 °C, a proto byla vybrána oblast s menší rezervou do teploty 32,5 °C – viz Obrázek 13.



Obrázek 13 – Změna elektrického odporu tkáně do 32,5 °C

Po proložení přímkou byla uvažována lineární změna elektrického odporu tkáně. Pomocí rovnice přímky byla následně provedena korekce, aby byl vyřazen vliv nárůstu teploty měřené tkáně (viz Kapitola 5.2).

Z rovnice pro elektrický odpor R v závislosti na teplotě byl vyjádřen chtěný odpor při nárůstu teploty. Odpor R představuje vypočítanou hodnotu ze změřených veličin napětí a proudu, Δt reprezentuje rozdíl mezi naměřenou (t_{nam}) a původní teplotou ($t_0 = 24 \text{ °C}$). Teplotní součinitel má zápornou hodnotu, protože s rostoucí teplotou klesá odpor R a je vyjádřen parametry přímky z Obrázku 13.

$$R = R_T \cdot \left(1 - \frac{13,251}{1380,3} \cdot \Delta t\right) \rightarrow R_T = \frac{R}{\left(1 - \frac{13,251}{1380,3} \cdot \Delta t\right)} [\Omega], \Delta t = (t_{nam} - t_0) [^\circ C] \quad (3)$$

3. MĚŘÍCÍ ELEKTRODY

Elektrody jsou elektricky vodivá zařízení, která mají za úkol přenášet elektrický proud. Elektrody můžeme dělit podle velikosti, materiálu, způsobu aplikace a kontaktu [16].

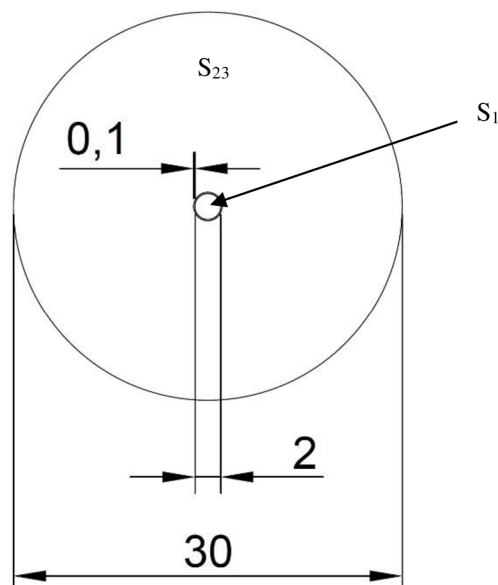
Základní typy elektrod:

1. Povrchové elektrody – plovoucí kovové elektrody (nejběžnější, využívají se například u EKG, EEG atd.)
2. Podpovrchové elektrody – vpichové elektrody ve formě jehly (využití při EMG, popřípadě ve formě implantabilních elektrod pro kardiostimulátory)
3. Mikroelektrody – nejčastěji ve formě tenké kovové elektrody s izolovaným tělem (využití pro snímání potenciálů na buněčné úrovni) [17]

V této práci byly použity kruhové povrchové elektrody. Jako elektrolytická vrstva mezi elektrodou a měřeným vzorkem byl použit fyziologický roztok.

3.1 Prvotní návrh měřících elektrod

V předcházející semestrální práci byl navržen systém elektrod metodou konečných prvků panem doc. Ing. Radoslavem Cipínem, Ph.D (viz Obrázek 14). Z tohoto důvodu nebyl bližší návrh uveden v této práci.



Obrázek 14 - Původní rozměry měřících elektrod

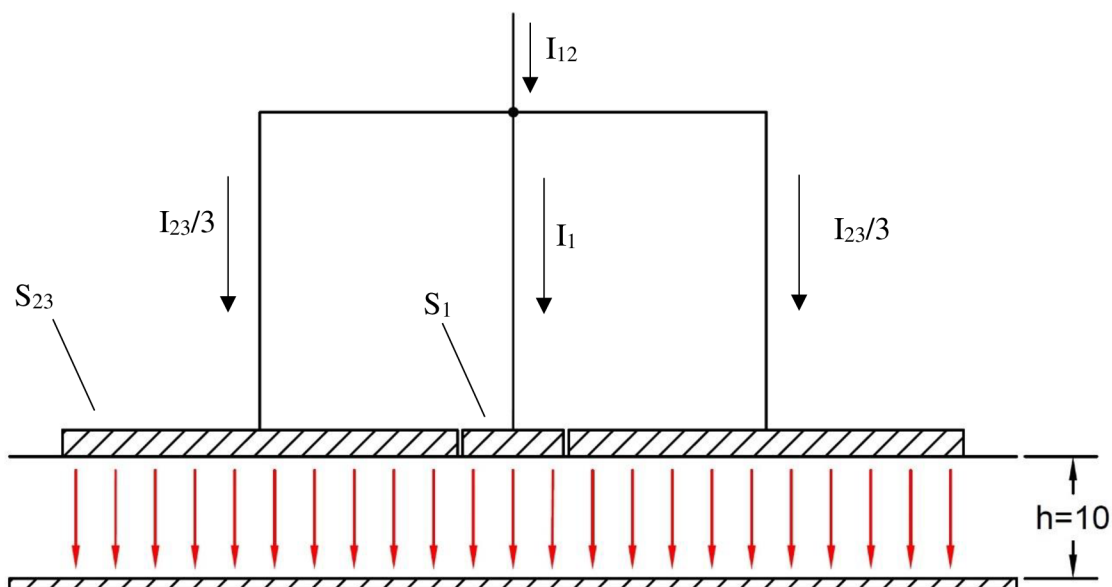
Tato geometrie zajišťovala mezi celkovou vodivou plochou S_{12} a plochou vnitřního segmentu S_1 proudový poměr $S_{12}/S_1=225$.

$$\frac{I_{12}}{I_1} = \frac{S_{12}}{S_1} = 225 \quad [\text{A, A; m}^2, \text{m}^2; -] \quad (4)$$

To však mělo za následek, že vnitřní elektrodou (plochou S_1) tekla malý proud, který byl složitě změřitelný. K přesnému měření by musel být použit proudový transformátor.

Přesnost měření byla proto vyřešena úpravou samotné geometrie elektrod.

Na Obrázku 15 je řez elektrodami. Je zde ukázáno, jakým způsobem dochází k rozložení elektrického proudu jednotlivými plochami. Červené šipky reprezentují směr působení elektrického pole na měřený vzorek.

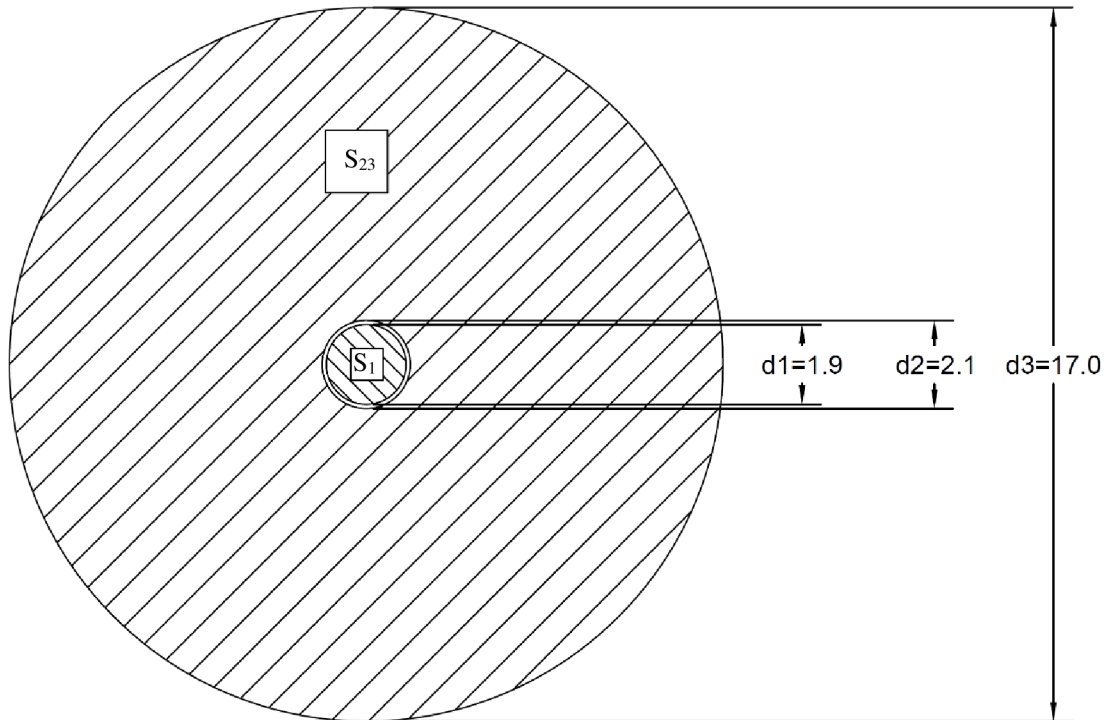


Obrázek 15 - Řez měřícími elektrodami

3.2 Nová geometrie elektrod

Nová a lepší geometrie vycházela opět z koaxiálního uspořádání elektrod. Simulace nových rozměrů proběhla v programu Ansys Maxwell panem doc. Ing. Radoslavem Cipínem, Ph.D. Hledalo se ideální uspořádání elektrod tak, aby byla zaručena dostatečná homogenita pole v měřeném vzorku pod plochou elektrody S_1 . Tato úloha má však technický rozpor – čím menší bude průřez plochy S_1 oproti průřezu plochy S_{23} , tím lepší bude homogenita pole. Se zmenšující se plochou S_1 se však zmenšuje i proud vnitřním segmentem, který se pak stává hůře měřitelným. Pokud v tomto případě požadujeme rozumně velkou hodnotu proudu vnitřní elektrodou (alespoň stovky mA), pak proud vnější elektrodou vychází řádově v desítkách A, což zvyšuje nároky na napájecí zdroj. Simulovaná vzduchová mezera oddělující jednotlivé elektrody však byla menší, než se

ve skutečnosti povedlo vyrobit (viz Kapitola 3.3). Pro posouzení homogenity ve vnitřním segmentu se dá použít srovnání poměru vnitřního a vnějšího proudu vypočítaného přímo z geometrie a poměru proudů simulovaných v programu Maxwell Ansys. Posouzením těchto dvou poměrů byla zvolena geometrie (představující kompromis), která je zobrazena na Obrázku 16, viz níže. Pro tuto geometrii platí odchylka, mezi proudem určeným z geometrie a proudem ze simulace, pouhých 5 %. Při takhle malé odchylce lze předpokládat dostatečně dobrou homogenitu.



Obrázek 16 – Nová geometrie elektrod

Nový teoretický proudový poměr se opět vypočítal z geometrie elektrod.

$$S_1 = \pi \cdot \frac{d_1^2}{4} = \pi \cdot \frac{0,0019^2}{4} = 2,8353 \cdot 10^{-6} \text{ m}^2 \quad [\text{m}^2] \quad (5)$$

$$S_{23} = \pi \cdot \frac{d_{23}^2}{4} - \pi \cdot \frac{d_{1+vz}^2}{4} = \pi \cdot \frac{0,017^2}{4} - \pi \cdot \frac{0,0021^2}{4} = 2,2352 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \quad [\text{m}^2] \quad (6)$$

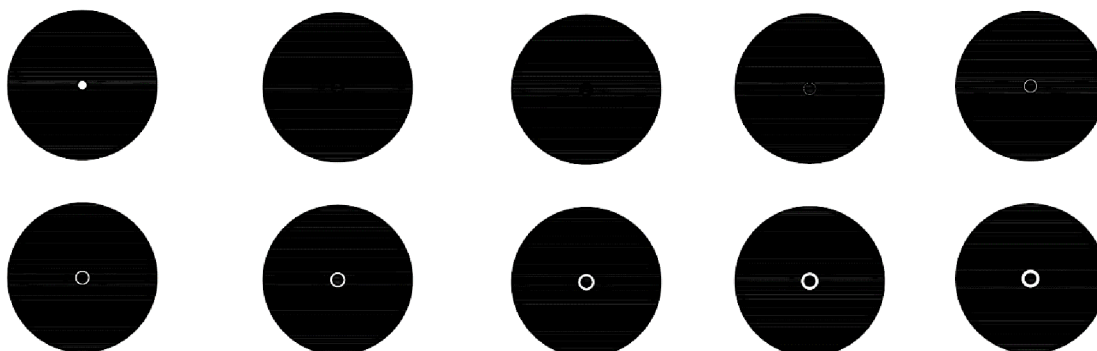
$$\frac{I_{12}}{I_1} = \frac{S_{23} + S_1}{S_1} = \frac{2,2352 \cdot 10^{-4} + 2,8353 \cdot 10^{-6}}{2,8353 \cdot 10^{-6}} = 79,83 \quad [\text{A}, \text{A}; \text{m}^2, \text{m}^2; -] \quad (7)$$

Tento proudový poměr by měl zajistit dostatečnou homogenitu pole ve vzorku, a zároveň by měl být proud vnitřní elektrodou natolik velký, aby se dal změřit s dostatečnou přesností.

3.3 Vliv vzduchové mezery na homogenitu pole

Dalším problémem koaxiálního rozložení elektrod je vzduchová mezera oddělující plochu S_1 od plochy S_{23} . Z experimentů provedených v minulý semestrálních prací bylo nabyto poznatku, že největší homogenity bude dosaženo při co nejmenší vzduchové mezeře. Výroba takto malé vzduchové mezery – ideálně jednotky μm , je však nerealizovatelná.

System elektrod byl vytvořen z desky plošného spoje, a proto velikost vzduchové mezery byla zvolena tak, aby ji bylo možno vyleptat.

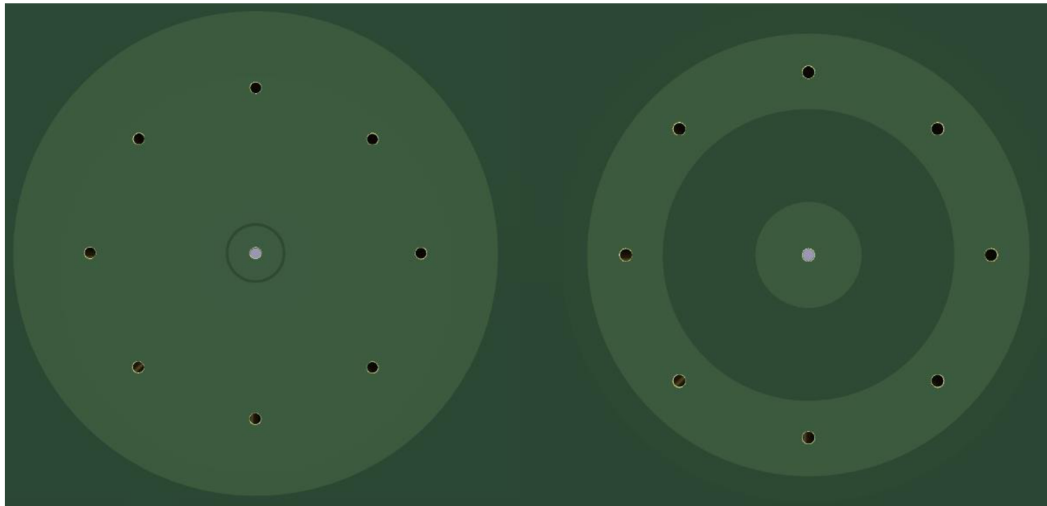


Obrázek 17 – Návrh tištěného spoje

Na Obrázku 17 jsou vyobrazeny elektrody s různou šířkou vzduchové mezery. Jak lze vidět, tak samotný export z programu AutoCAD nedokáže zajistit miniaturní velikost vzduchové mezery. Nejmenší vzduchová mezera, která se nám povedla vyrobít, měla šířku 0,1 mm.

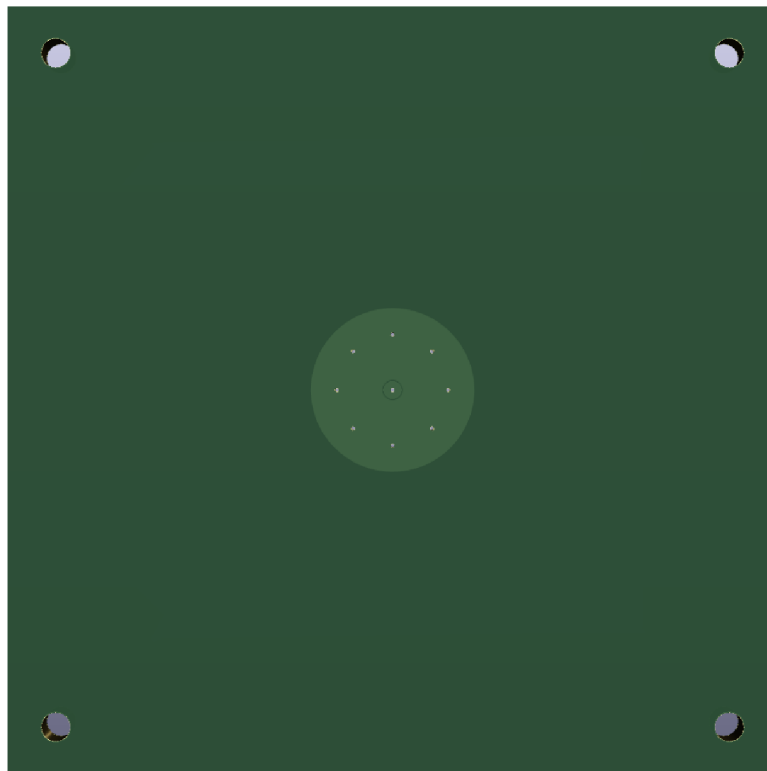
3.4 Výroba měřících elektrod

Z technologických nároků na výrobu byly měřící elektrody vyrobeny externí firmou. Návrh proběhl ve formě desky plošného spoje v programu KiCad. Propojení přední měřící strany elektrody (strana, která přichází do přímého kontaktu se vzorkem) a zadní napájecí strany bylo realizováno skrze desku, pomocí vyplněných prokůvů.



Obrázek 18 - Detailní pohled přední a zadní strany elektrod

Do rohů desky plošných spojů byly vyvrtány otvory pro uchycení kovové základny, která sloužila jako závaží pro lepší stykový kontakt na rozhraní elektroda – vzorek.

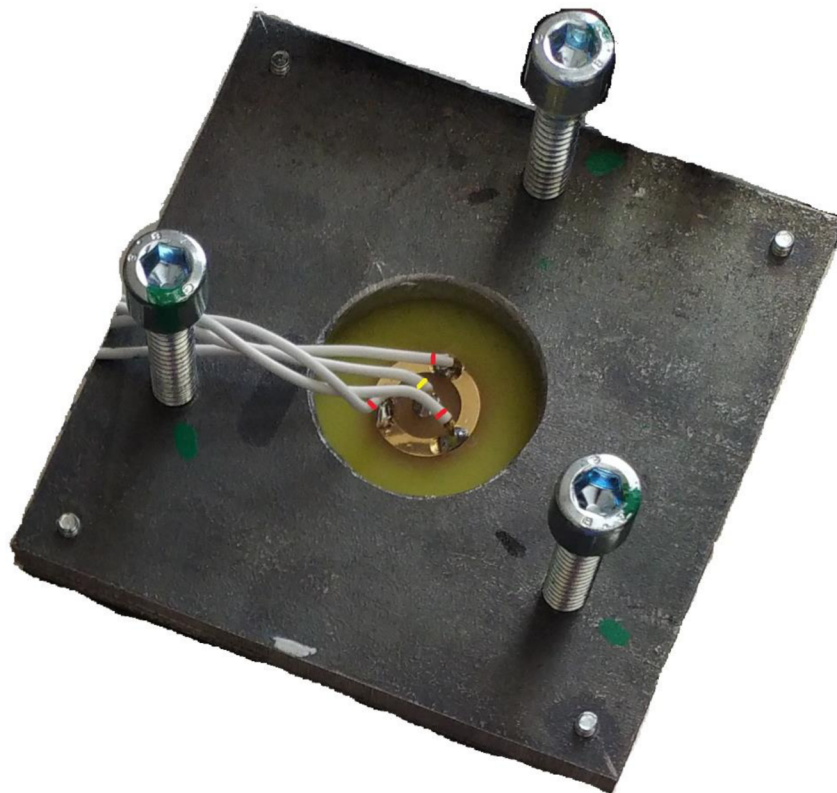


Obrázek 19 – Elektroda ve formě desky plošných spojů

Elektrody byly vyrobeny z mědi. Jelikož však docházelo k poměrně rychlé oxidaci měděného povrchu (zejména v důsledku solného fyziologického roztoku), tak bylo použito pokovování povrchu vrstvou zlata. Díky tomu bylo dosaženo přesnějších výsledků.

3.5 Kompletace měřicího přípravku

V kovové základně byly uchyceny 3 šrouby M10, se závitovým stoupáním 1 mm. Pomocí nich byla nastavována výška mezi napájecí elektrodou a nulovou elektrodou s přesností 0,25 mm. Tloušťka byla vždy nastaveny tak, aby byla elektroda po celé své šířce v kontaktu s měřeným vzorkem.

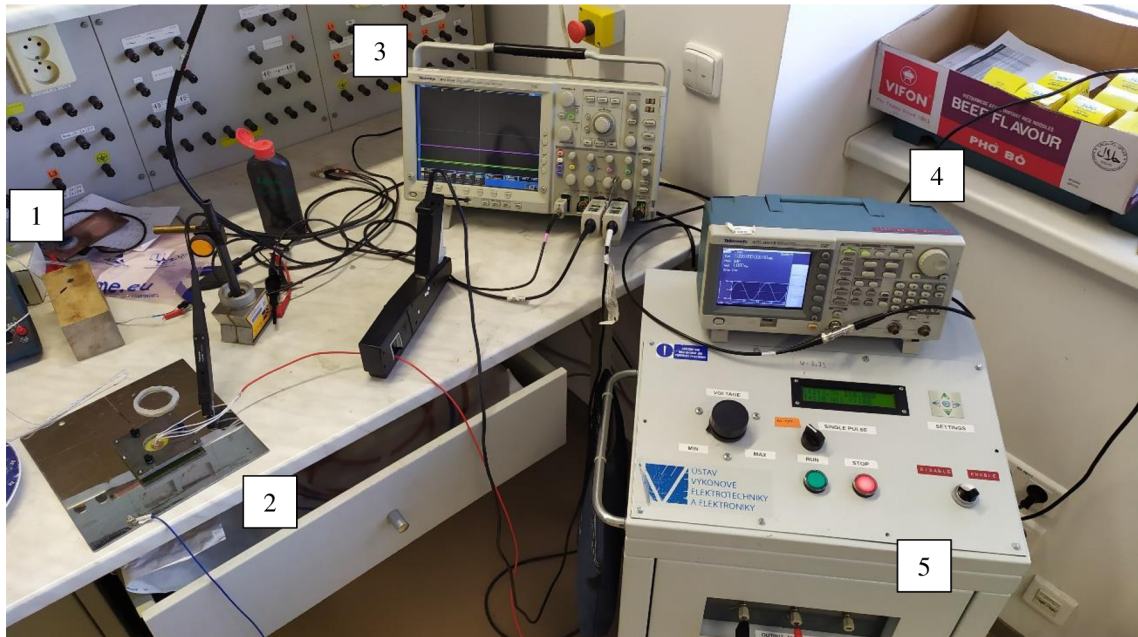


Obrázek 20 – Vyhotovené měřící elektrody

Vodiče označené červeným proužkem sloužily pro napájení vnější elektrody (plochy S_{23}). Napájení vnitřní elektrody (plochy S_1) bylo zprostředkováno vodičem označeným žlutým proužkem.

4. MĚŘÍCÍ PRACOVISTĚ

Měřicí pracoviště se skládalo z pulzního zdroje stejnosměrného napětí (5), osciloskopu pro odečítání měřených veličin (3), měřícího přípravku (2), teploměru (1) a z generátoru signálu (4), kterým byl automaticky spínán napěťový zdroj.

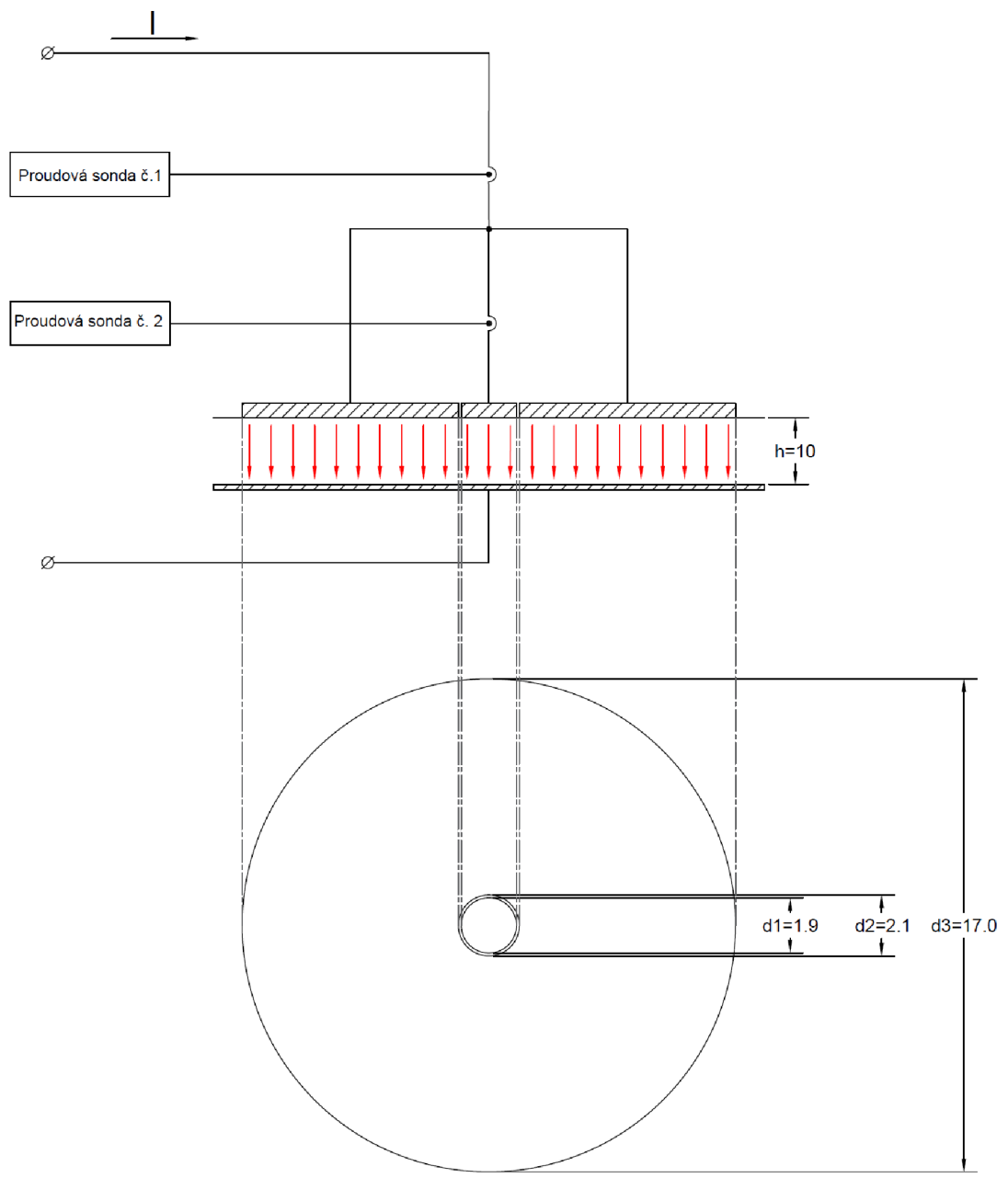


Obrázek 21 – Měřicí pracoviště

Pro měření proudu byly použity dvě proudové sondy – jedna na měření celkového proudu (I_{12}) a druhá na měření proudu vnitřní elektrodou (I_1). Napětí bylo měřeno pomocí napěťové sondy.

Na Obrázku 22, viz níže, je zobrazen detailnější náčrt elektrod a měřeného vzorku. Šířka měřeného vzorku musela být stejná nebo větší, než je průměr vnější elektrody. Tloušťka vzorku proto byla zvolena vždy větší, aby bylo zaručeno, že bude proud rovnoměrně distribuován měřeným vzorkem.

Červené šipky na Obrázku 22 symbolizují směr vytvořeného elektrického pole skrze vzorek. Jako nulová elektroda byla použita nerezová deska, ke které byl přichycen nulový vodič propojený se zdrojem.



Obrázek 22 – Detailní náčrtek měřicího přípravku

5. EXPERIMENT NA ŽIVOČIŠNÉ TKÁNI

Měřicí přípravek byl napájen stejnosměrnými pulzy, které se pohybovaly v rozmezí od 50 V do 1,8 kV. Z důvodu nemožnosti nastavení přesných hodnot napětí zdroje nebyly kroky napětí při všech měření stejné, a proto bylo nemožné je mezi sebou porovnávat. Snaha však byla o co nejmenší krok, aby bylo proměřeno co nejvíce hodnot.

Pro přesné nastavení měřících přístrojů proběhla série testovacích měření, na kterých byla ověřena správná funkčnost měřícího přípravku.

První měření byla provedena na játrech zakoupených v řeznictví. Játra byla silně podchlazena, což znamenalo, že musela být ohřata na teplotu okolí. Druhá série měření proběhla na vzorku jater, která byla jen pár hodin stará. Tato játra byla nasáklá krví, a proto se od těchto měření očekávala vyšší vodivost a zároveň přesnější přiblížení se teoretickým poznatkům z předchozích kapitol.

Tloušťka vzorku byla volena mezi 5 mm až 15 mm. Tím bylo dosaženo rozumně velkých hodnot elektrického napětí a proudu při měření.



Obrázek 23 – Příklady použitých vzorků jater

5.1 Experiment číslo 1 – výška vzorku $L = 11$ mm

Z rovnice (1) je patrné, že výška L má vliv na elektrický odpor vzorku. Zároveň ovlivňuje i měřená data, obzvláště proud vnitřní elektrodou I_1 . Ten se stává při vyšším odporu (a nižších hodnotách elektrického napětí) složitěji měřitelným. Zároveň však platí, že čím vyšší vzorek je, tím pomaleji se bude ohřívat v důsledku procházejícího elektrického proudu. Výška vzorku proto byla zvolena $l = 11$ mm, v rámci kompromisu.

Napětí zdroje bylo od 51 V až do 1,78 kV, kdy byla snaha jít s co nejmenším krokem. Délka pulzů byla vždy 40 μ s. Celkově bylo provedeno 74 pulzů. Měřeny byly hodnoty proudů – vnitřní a vnější elektrodou. Kvůli DC offsetu bylo pro přesnější odečítání hodnot využito kurzorů na osciloskopu. Odečítání hodnot mezi jednotlivými pulzy trvalo vždy

kolem třiceti sekund a z tohoto důvodu jsme mohli zanedbat vliv teploty při měření. Navíc samotná nerezová podložka fungovala jako chladič.

Elektrický odpor vnitřního sloupce se vypočítal jako podíl napětí a proudu vnitřní elektrodou:

$$R = \frac{U}{I_1} [\Omega] \quad (8)$$

Z elektrického odporu R byla následně vypočítána elektrická vodivost G jako:

$$G = \frac{1}{R} [S] \quad (9)$$

Z elektrické vodivosti G byla vypočítána měrná elektrická vodivost σ v závislosti na výšce vzorku L:

$$\sigma = \frac{G \cdot L}{S} = \frac{G \cdot L}{\frac{(\pi \cdot d)^2}{4}} = \frac{G \cdot 0,011}{\frac{(\pi \cdot 0,0019)^2}{4}} \left[\frac{S}{m} \right] \quad (10)$$

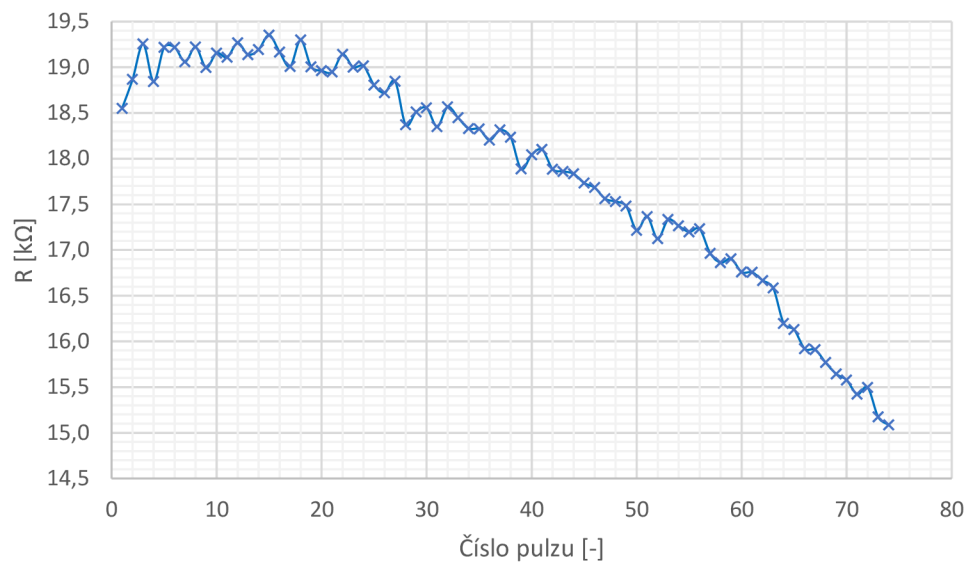
Výška vzorku L a průměr vnitřní elektrody d byly konstantní. Měrná elektrická vodivost se tedy měnila pouze v závislosti na měnícím se elektrickém odporu R.

Intenzita elektrického pole působící na vzorek při daném pulzu byla vypočítána následovně:

$$E = \frac{U}{L} = \frac{U}{1,1} \left[\frac{kV}{cm} \right] \quad (11)$$

Ve většině literatur zabývajících se elektroporací se intenzita elektrického pole uvádí v jednotkách kV/cm, kvůli jednoduššímu sestavení sigmoidální funkce, viz Obrázek 26.

Prvním grafickým výstupem byla závislost elektrického odporu R na zvyšujícím se napětí s každým pulzem. Pokud by napětí s jednotlivými pulzy rostlo (a úměrně i elektrický proud), tak by byl průběh elektrického odporu R ve tvaru přímky – tkáň by se tedy chovala jako rezistor. Jelikož se však hodnota odporu R mění, znamená to, že elektroporační zákrok proběhl úspěšně. Elektrický odpor R během zákroku klesl o 20 % z původní hodnoty.



Obrázek 24 – Závislost elektrického odporu R na zvyšujícím se napětí s každým pulzem

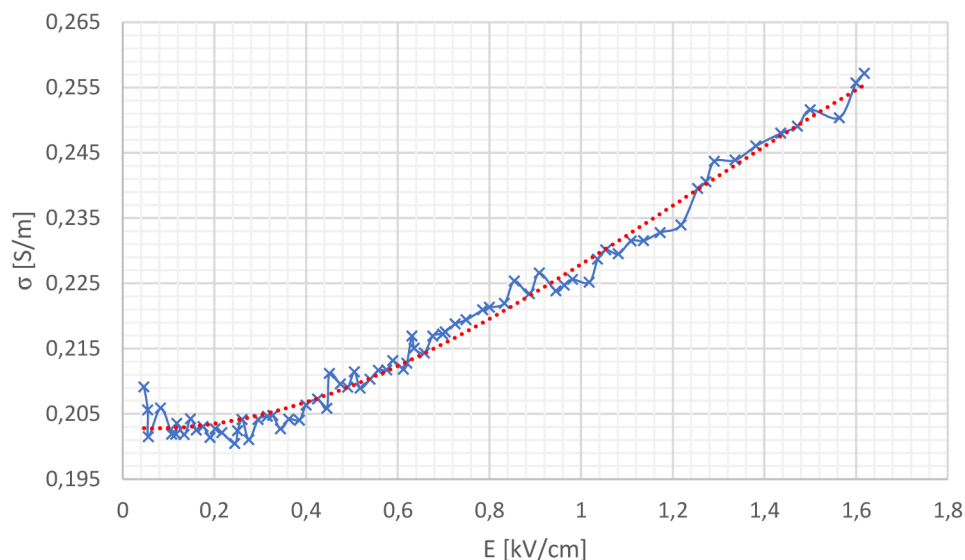
S klesajícím elektrickým odporem rostla měrná vodivost tkáně. Ta vzrostla z původní hodnoty 0,209 S/m na 0,257 S/m, tedy o necelých 23 %.



Obrázek 25 – Závislost měrné elektrické vodivosti na zvyšujícím se napětí s každým pulzem

Při vyhodnocování měření se snažíme přiblížit sigmoidálnímu průběhu měrné elektrické vodivosti v závislosti na intenzitě přiloženého elektrického pole. Pro porovnání byla uvažován průběh z Obrázku 6, kde šedý průběh popisuje chování jaterní tkáně. Maximální intenzita elektrického pole v daném experimentu dosahovala 3 kV/cm, zatímco při laboratorním měření jsme byli limitováni samotným zdrojem. Naše

maximální intenzita elektrického pole dosahovala pouze 1,6 kV/cm. Porovnáním průběhu z Obrázku 6 a 26 můžeme tvrdit, že po proložení polynomem bylo dosaženo pouze prvního kolene teoretického sigmoidálního průběhu, kvůli již zmíněným možnostem zdroje.



Obrázek 26 – Závislost měrné elektrické vodivosti na intenzitě přiloženého elektrického pole

5.2 Experiment číslo 2 – chování tkáně při konstantním napětí

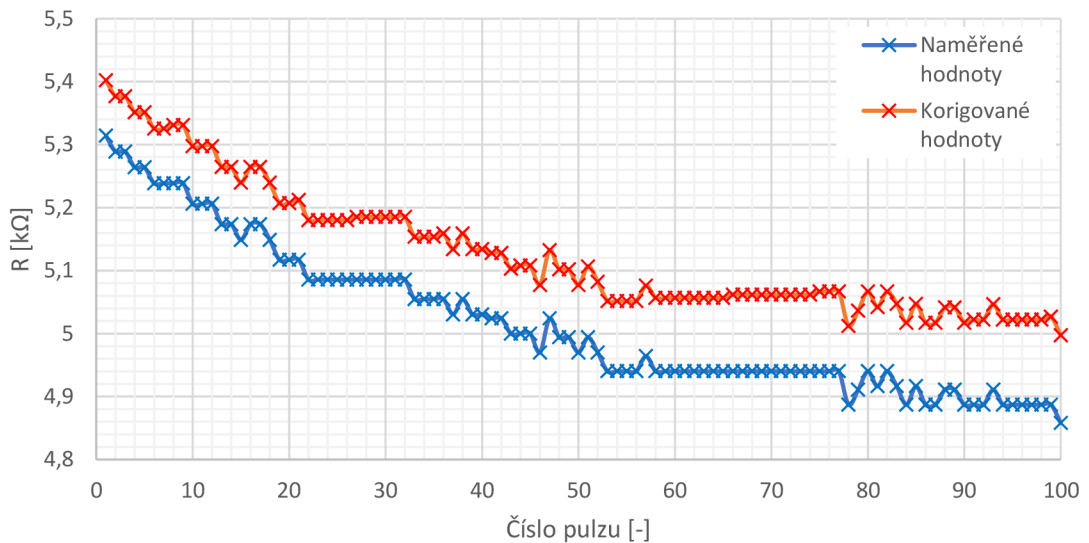
V tomto experimentu bylo zkoumáno chování tkáně po přiložení natolik velkého napětí, při kterém by již mělo docházet k elektroporaci. V literatuře [15] se změna vodivosti tkáně začíná projevovat při intenzitě elektrického pole ≈ 700 V/cm. Nejstrmější nárůst vodivosti se projevuje při intenzitě elektrického pole 2000 V/cm. Ve snaze přiblížení se této hodnotě byla zvolena menší výška vzorku – 4 mm. Napětí jednotlivých pulzů bylo zvoleno s ohledem na nemožnost nastavení přesné hodnoty 836 V. Při takovéto hodnotě napětí bylo dosaženo intenzity elektrického pole 2,09 kV/cm.

$$E = \frac{U}{L} = \frac{836}{4 \cdot 10^{-1}} = 2,09 \text{ kV/cm} \quad (12)$$

Menší výška vzorku s sebou nese i negativní účinky – dochází k rychlejšímu oteplování měřeného vzorku. Z tohoto důvodu bylo proto do vzorku implementováno čidlo teploty. Jelikož byl však hrot čidla teploty vodivý, nemohl být umístěn

v proudovodné dráze. To mělo za následek, že teplota byla měřena jen orientačně v okolí proudovodného sloupce ve vzorku.

Vzorek jater byl vystaven stu pulzům, kde každý trval 40 μs . Mezi pulzy byla vždy sekundová mezera. Po zaznamenání všech hodnot byl opět pro každý pulz vypočítán elektrický odpor, intenzita elektrického pole a měrná vodivost, podle vzorců (8), (10) a (11).

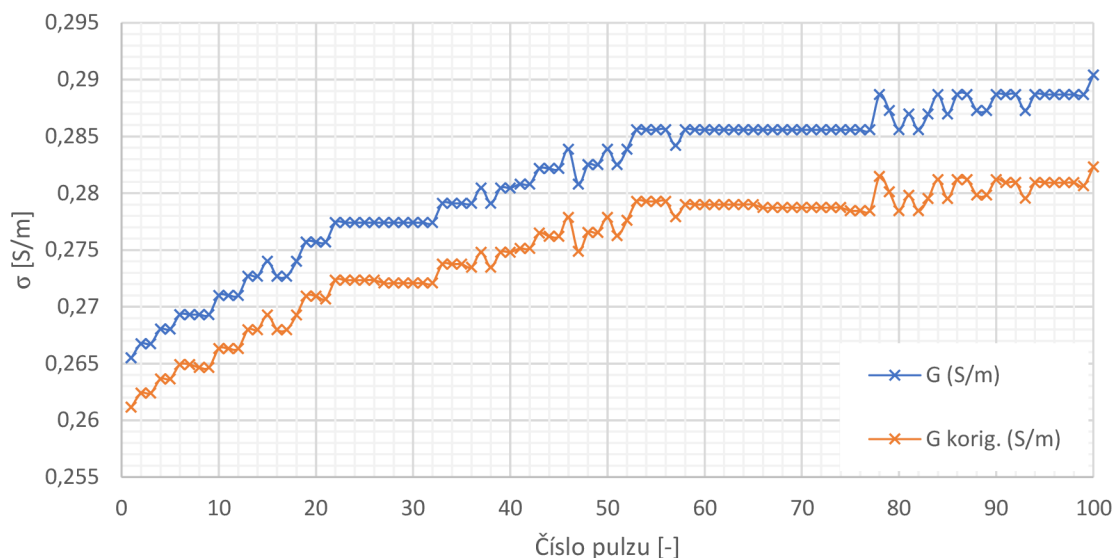


Obrázek 27 - Závislost elektrického odporu na počtu pulzů při konstantním napětí

Podle rovnice (3) byla následně provedena teplotní korekce, aby bylo vidět, jaký má teplota vliv na měření. Se zvyšujícím se počtem pulzů zároveň rostla i odchylka mezi naměřenými a korigovanými hodnotami. Ta se pohybovala od 88, 17 Ω až do 139, 13 Ω .

Z klesajícího průběhu elektrického odporu R lze vidět, že i při dostatečně velké, ale za to konstantní, intenzitě elektrického pole jde provést elektroporační zákrok. Průběh má však menší strmost a po zničení určité části tkáně se začne ustalovat.

Měrná elektrická vodivost byla vypočítána z naměřených a korigovaných hodnot. Odchylka se v tomto případě pohybovala od 4 mS/m do 8 mS/m.



Obrázek 28 – Závislost měrné elektrické vodivosti na počtu pulzů při konstantním napětí

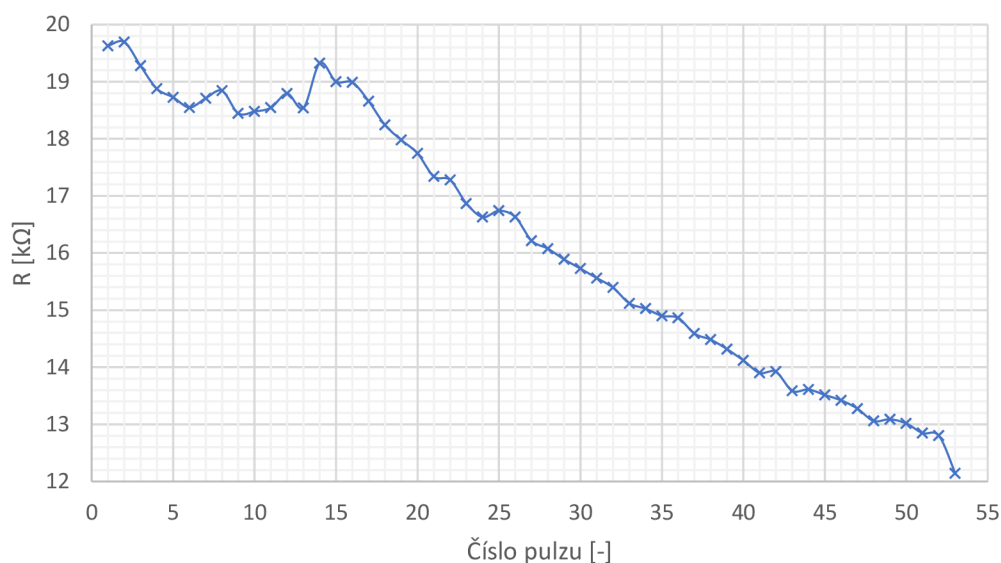
5.3 Experiment číslo 3 – výška vzorku $L = 8,5$ mm.

Experiment probíhal stejně jako v Kapitole 5.1, jen s tím rozdílem, že játra byla necelé tři hodiny po vyjmutí z těla prasete. Takto „čerstvá“ játra měla v sobě ještě krev, a tím pádem se předpokládalo, že budou vodivější.

Vzorek byl vystaven 53 pulzům, kde každý pulz měl dobu trvání $40 \mu\text{s}$. Napětí se pohybovalo v rozsahu 106 V až 1,87 kV. Po naměření dat byly podle rovnic (8), (10) a (11) dopočítány hodnoty elektrického odporu, měrné elektrické vodivosti a intenzity elektrických polí pro jednotlivé pulzy.

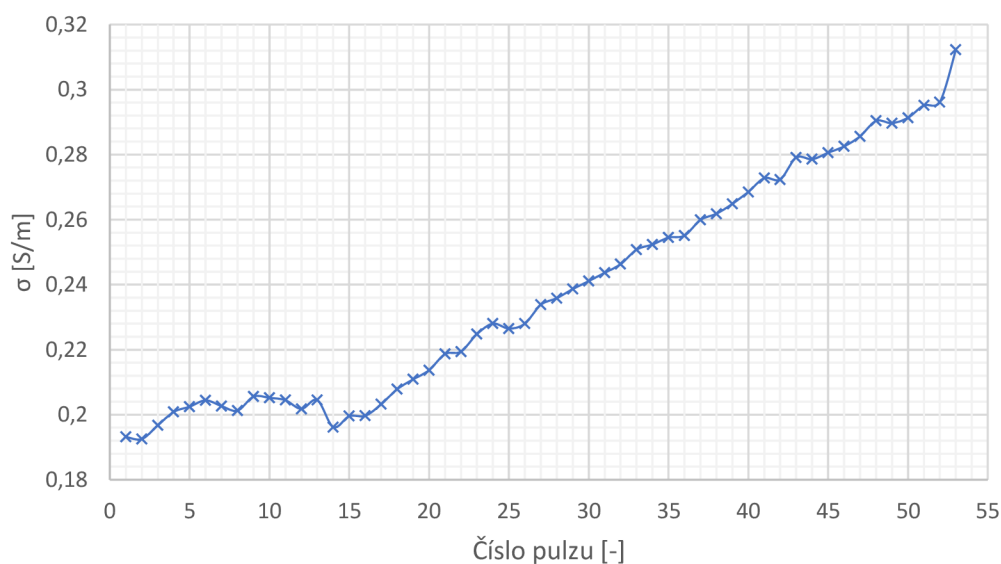
Na Obrázku 29 je průběh chování elektrického odporu v závislosti na přiloženém napětí. Strmý pokles na počátku průběhu mohl být způsoben vadou ve tkáni – pórovité otvory, krevní sraženina, případně autoimunitními procesy [18], nebo toxická hepatitida [19] jater v důsledku vysokých dávek anestetik.

S porovnáním průběhu na Obrázku 24 můžeme vidět, že při čerstvých játrech má pokles elektrického odporu strmější spád. To nám potvrdilo, že se játra budou chovat vodivěji právě kvůli zbytku krve.



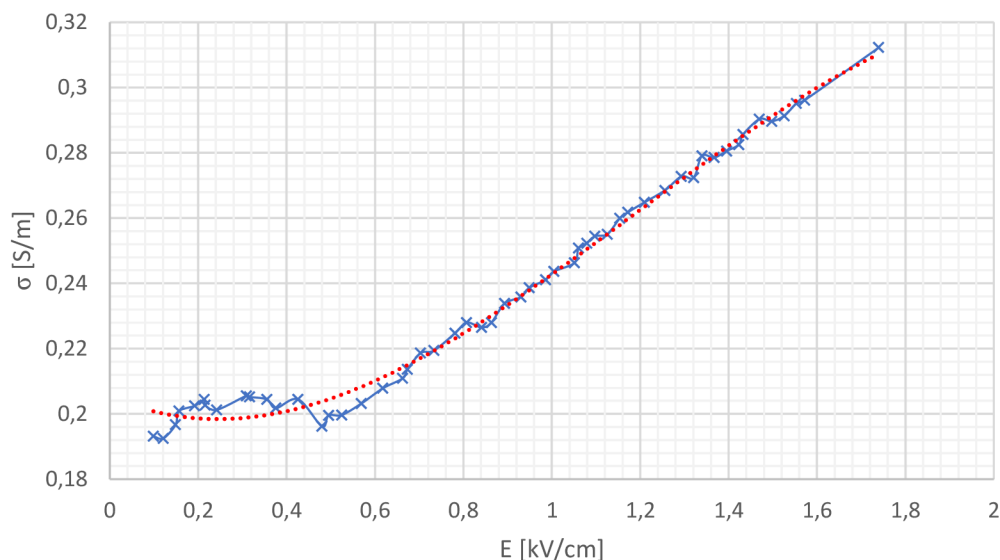
Obrázek 29 - Závislost elektrického odporu R na zvyšujícím se napětí s každým pulzem (čerstvá játra)

Strmější pokles elektrického odporu R měl vliv na strmější nárůst měrné vodivosti σ . Krev má lepší tepelné vlastnosti než tkáň jater [21],[22],[23], a proto mohlo docházet k většímu oteplení tkáně, což mělo za následek zvýšení vodivosti (viz Kapitola 2.2).



Obrázek 30 - Závislost měrné elektrické vodivosti na zvyšujícím se napětí s každým pulzem (čerstvá játra)

Proložení závislosti měrné elektrické vodivosti na intenzitě elektrického pole polynomem dostáváme sigmoidální průběh, který se blíží více tomu teoretickému (Obrázek 6), než při experimentu v Kapitole 5.1. Opět však nebylo dosaženo druhého kolene z důvodu nedostatečně velké intenzity elektrického pole.



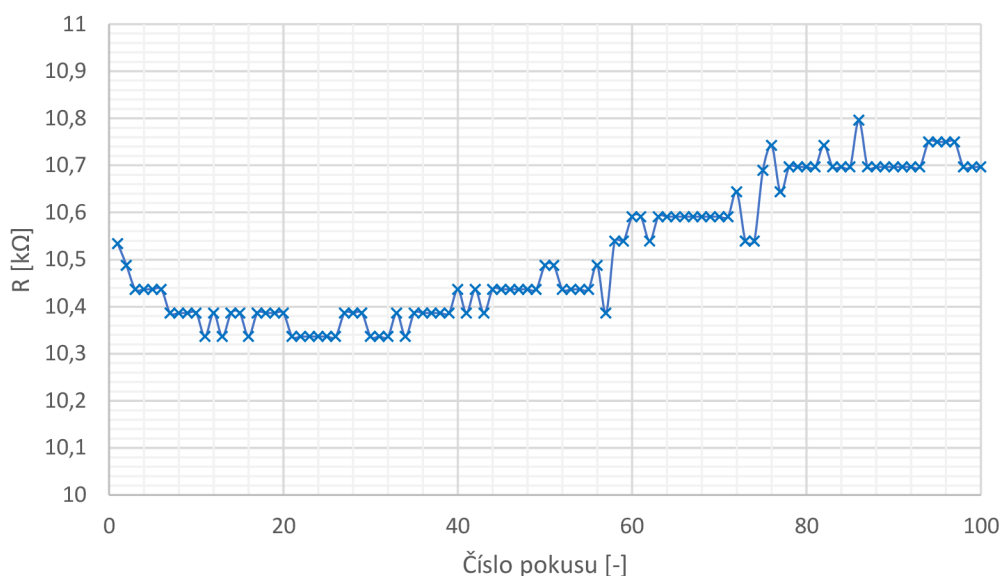
Obrázek 31 - Závislost měrné elektrické vodivosti na intenzitě přiloženého elektrického pole (čerstvá játra)

5.4 Experiment číslo 4 – výška vzorku $L = 7$ mm, $U = \text{konst.}$

Podobně, jako v Kapitole 5.2, bylo zkoumáno chování tkáně po přiložení natolik velkého napětí, při kterém by již mělo docházet k elektroporaci. Aby však byl vliv teploty na vodivost tkáně potlačen co nejvíce, tak byla zvolena intenzita elektrického pole blíže k hranici 700 V/cm. Pro výšku vzorku $L = 7$ mm byla zvolena intenzita 1,075 kV/cm. Rezerva 300 V/cm měla zaručit, že s jistotou dojde k elektroporaci.

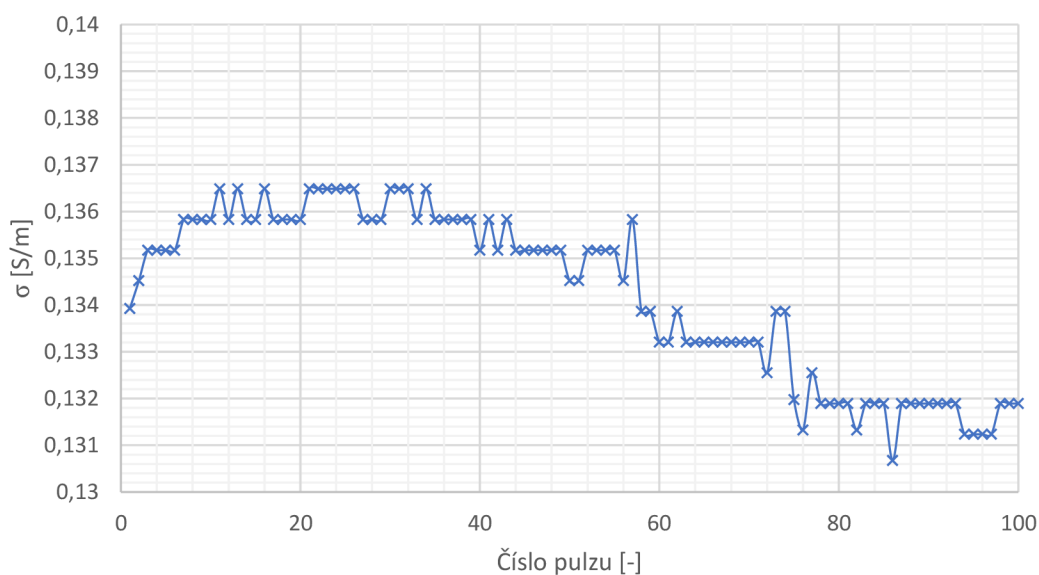
Pro zaručení ještě menšího vlivu teploty na tkáň byla pauza mezi jednotlivými pulzy pět sekund, a proto nebyla provedena ani teplotní korekce. Vzorek byl opět vystaven stu pulzům, kde každý jeden pulz měl dobu trvání 40 μs .

Po zaznamenání všech hodnot byl opět pro každý pulz vypočítán elektrický odpor, intenzita elektrického pole a měrná vodivost, podle vzorců (8), (10) a (11).



Obrázek 32 - Závislost elektrického odporu na konstantním napětí při každém pulzu (čerstvá játra)

Oproti průběhu v experimentu v Kapitole 5.2 elektrický odpor tkáně roste. To mohlo být způsobeno neustálým vysycháním vzorku, strukturou tkáně, případně vytvořením vzduchové bublinky po zvlhčení vzorku v elektrolytu.



Obrázek 33 - Závislost měrné elektrické vodivosti na počtu pulzů při konstantním napětí

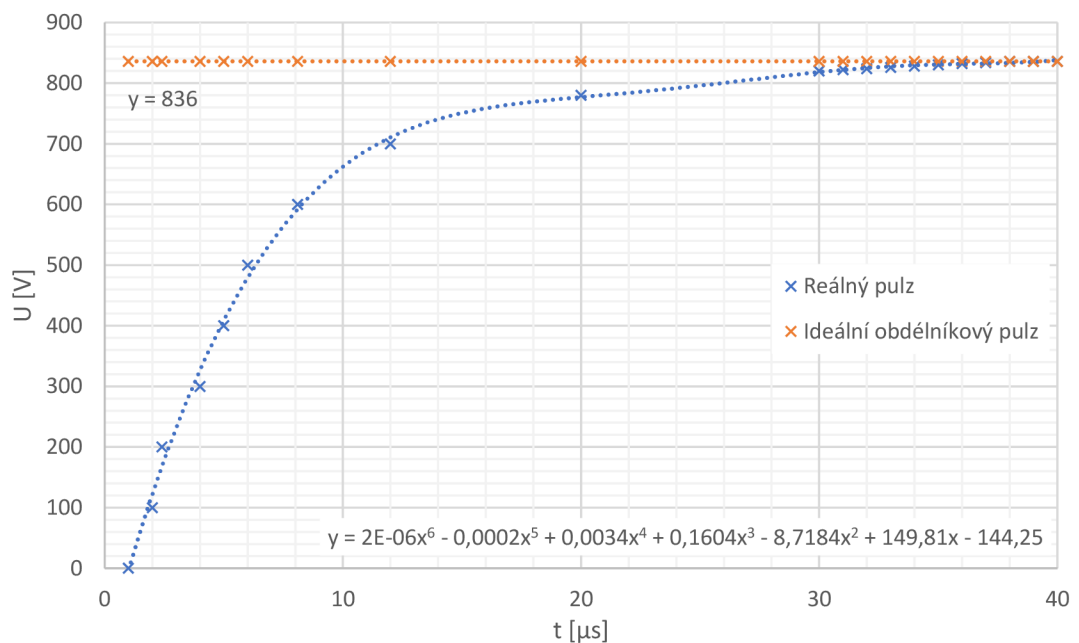
Vliv na průběhy jednotlivých veličin mělo nejspíše i nerovnoměrné rozložení proudu vzorkem. Teoretický poměr proudů I/I_1 nebyl konstantní a klesal, tedy proud vnitřní elektrodou nabýval v nepoměru vyšších hodnot než proud vnější elektrodou.

5.5 Korekce vlivu počtu pulzů

Při měřeních v Kapitole 5.2 a 5.4 byla každá tkáň vystavena stu pulzům. „Číslo pulzu“ však nesymbolizuje přesnou hodnotou napětí, které bylo při daném pulzu použito. Každá hodnota napětí má jiný příspěvek energie $u \cdot t$. Doba pulzu byla vždy stejná, a to $40 \mu\text{s}$. Doba a průběh náběžné hrany byly uvažovány pro každý průběh stejné – viz Obrázek 35.

Při ideálním obdélníkovém pulzu by jeho celkový příspěvek byl $u \cdot t$. Reálný pulz však nemá obdélníkový průběh, a proto bylo potřeba vypočítat příspěvek $u \cdot t$ takového pulzu.

Z Obrázku 35 byly odečteny hodnoty napětí v různých časech, které byly následně vyneseny v podobě křivky. Rovnice křivky reálného průběhu je v pravém dolním rohu. Ideální obdélníkový pulz je konstanta popsána jako $y = 836$.



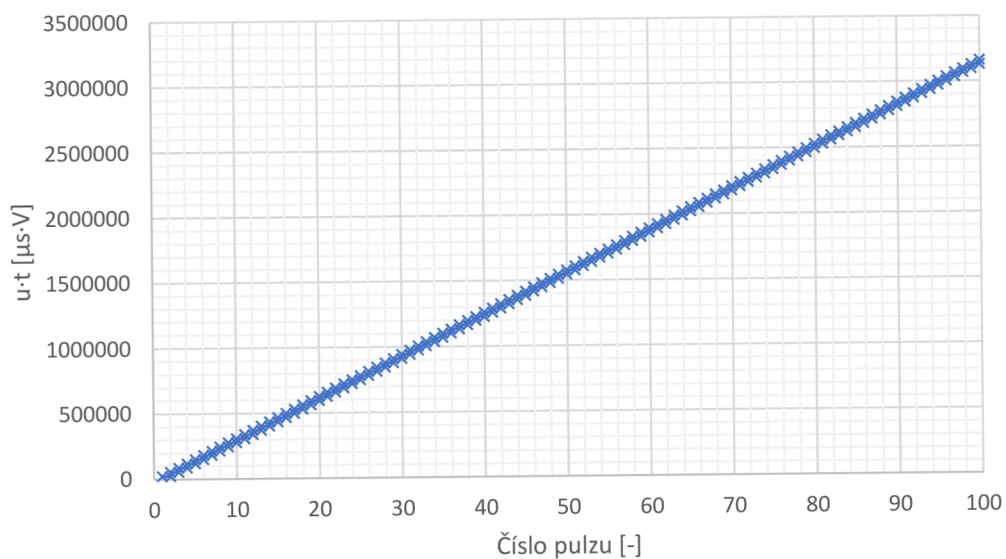
Obrázek 34 – Průběh reálného a ideálního obdélníkového pulzu

Plocha pod křivkou, tedy celkový příspěvek $u \cdot t$, byla získána jednoduchým součinem podle (13). Plochu reálného pulzu jsme dostali integrací rovnice křivky. Podílem plochy reálného pulzu ku ploše ideálního pulzu jsme dostali konstantu (14), která říká, kolik procent z ideálního obdélníkového pulzu je příspěvek od reálného pulzu.

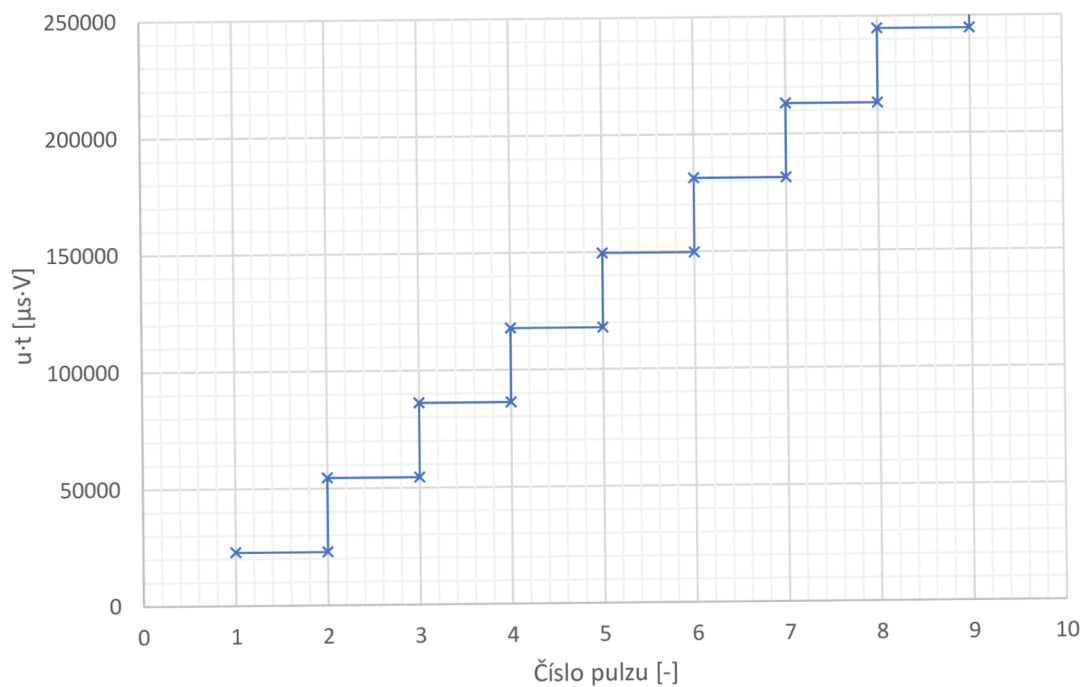
$$u \cdot t = 836 \cdot 40 = 33440 [\mu\text{s} \cdot \text{V}] \quad (13)$$

$$\frac{u \cdot t_{real}}{u \cdot t_{ideal}} \cdot 100 = \frac{22788,44}{33440} \cdot 100 = 68,1 [\%] \quad (14)$$

Příspěvek každého pulzu se vždy přičítal k velikosti $u \cdot t$ předchozích pulzů, aby byl zohledněn vliv všech předchozích pulzů na tkáň. Při konstantním napětí vypadá závislost $u \cdot t$ na počtu pulzů následovně:

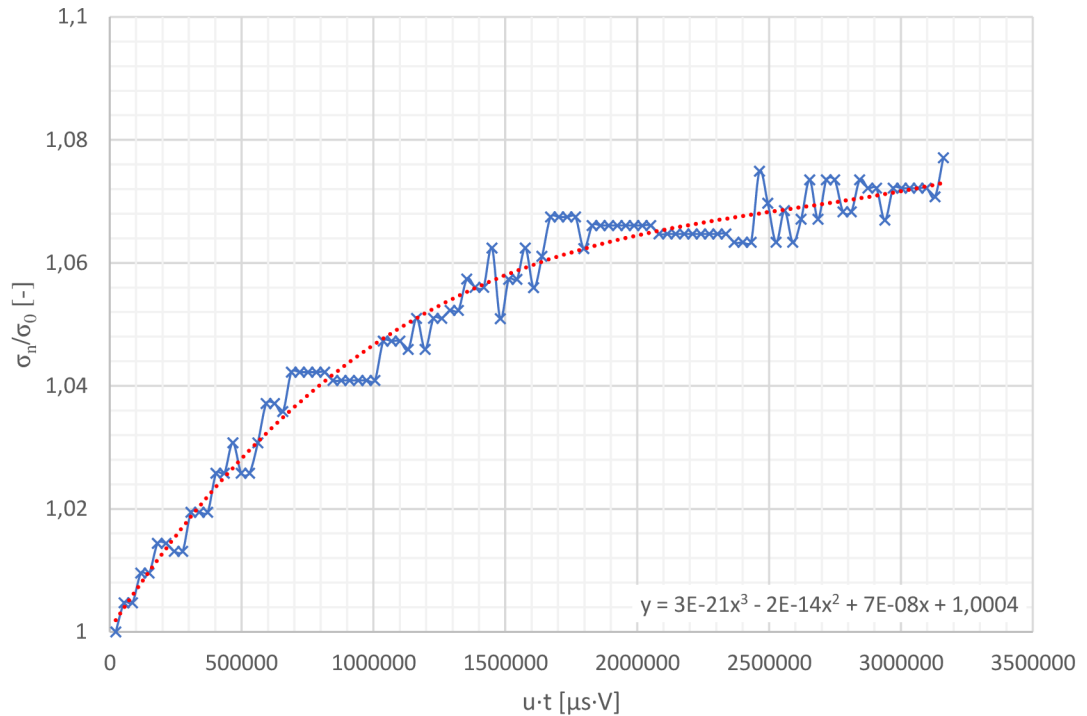


Obrázek 35 – Příspěvek $u \cdot t$ pro jednotlivé pulzy



Obrázek 36 – Detail příspěvku $u \cdot t$ pro jednotlivé pulzy z Obrázku 35

Každý pulz měl vliv na měrnou elektrickou vodivost tkáně. Poměrem nové měrné vodivosti vzorku σ_n (po zapůsobení následujícího pulzu) ku původní hodnotě měrné vodivosti σ_0 byl získán poměrný nárůst vodivosti od příspěvku $u \cdot t$ každého pulzu.



Obrázek 37 – Závislost poměrné změny vodivosti na příspěvcích jednotlivých pulzů

Po proložení polynomem byla získána rovnice křivky, která byla následně implementována pro korekci experimentu z Kapitoly 5.3.

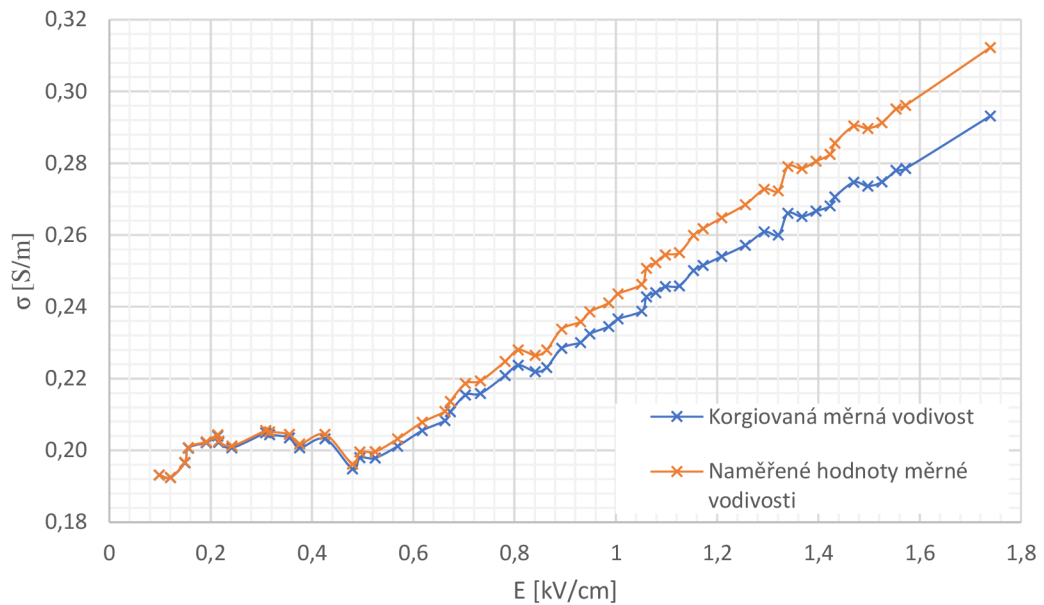
Pro korekci křivky byl nejdříve vypočítán příspěvek $u \cdot t$ od každého pulzu jako:

$$u \cdot t = U \cdot t \cdot \frac{u \cdot t_{real}}{u \cdot t_{ideal}} + (u \cdot t)_{n-1} [\mu\text{s} \cdot \text{V}], \quad (15)$$

kde n je číslo pulzu a U velikost napětí při každém pulzu. Doba trvání pulzu t a poměr příspěvku $u \cdot t$ od reálného průběhu ku ideálnímu jsou konstantní.

Dosazením příspěvku $u \cdot t$ do rovnice křivky jsme dostali poměrný nárůst měrné vodivosti. Změřené hodnoty měrné vodivosti byly následně poděleny jednotlivými poměry pro každé napětí, čímž jsme dostali korigovanou hodnotu měrné elektrické vodivosti.

Po vynesení naměřené a korigované měrné vodivosti v závislosti na intenzitě elektrického pole do jednoho grafu, můžeme konstatovat, že příspěvky u-t jednotlivých pulzů začínají mít vliv na následující pulzy až kolem 700 V/cm, kdy začíná docházet k elektroporačnímu jevu. Nárůst korigované vodivosti má tedy ve skutečnosti menší strmost než samotné naměřené hodnoty. Při maximální dosažené intenzitě elektrického pole $E = 1,74 \text{ kV/cm}$ se jednotlivé měrné vodivosti liší o 19 mS/m .



Obrázek 38 – Průběhy naměřených a korigovaných hodnot měrné vodivosti

6. ZDROJE MOŽNÝCH NEPŘESNOSTÍ PŘI MĚŘENÍ

6.1 Měřený vzorek

Jaterní tkáň má ze všech živočišných tkání nejhomogennější strukturu, a proto bylo u každého měření uvažováno, že dochází k vytvoření homogenního pole vně vzorku. Ve vepřové jaterní tkáni však byly pórovité otvory (na Obrázku 39 označeno červenými kroužky), které odpovídají napadení hostitele motolicí, která se vyskytuje zejména u krav a prasat [24]. Vytvoření pórů má za následek snížení vodivosti skrze vzorek, možnost vytvoření vzduchových bublinek a celkové narušení homogenity tkáně.



Obrázek 39 – Řez játry napadenými motolicí

Právě takovéto póry mohly mít vliv na počátek průběhu v experimentu z Kapitoly 5.3, kdy mohlo dojít k narušení proudovodné dráhy vzduchovou bublinkou.

Do jater je krev přiváděna portální žilou z oblasti střev, sleziny a žlučníku. Tato přiváděná krev má vysoký obsah živin z trávicího traktu, ale může obsahovat i toxické látky, například z léčiv [25]. Přesnost měření může být ovlivněna i vzorkem, ve kterém proudovodná dráha prochází skrze prázdnou portální žílu, případně její větve – ta je ve formě „šlachy“ a opět dochází k narušení homogenity. Na buněčné úrovni mohou mít vliv na vodivost již zmíněné látky v krvi.

6.2 Elektrody

Samotný elektrodový systém byl vyroben z vysoce vodivého materiálu – měď + pokovování zlatem, a tudíž by jeho ztráty měly být minimální. Problém však mohl nastat na rozhraní elektroda – vzorek a vzorek – vodivá podložka. Při špatném přiložení měřícího přípravku na tkáň může dojít k vytvoření přechodového odporu, a to buď ve formě vzduchové mezery, nebo kontaktu elektrod s játry bez elektrolytu.

Přechodový odpor by měl za následek nerovnoměrné rozložení elektrického proudu skrze vzorek. Došlo by k nahuštění proudovodné dráhy (nárůst proudové hustoty) ve zbytku vzorku a elektroporační děj by proběhl rychleji a s větší strmostí.

Na rozhraní vzorek – podložka může opět dojít k nedokonalému styku a tím pádem k vytvoření přechodového odporu. Pokud by k tomu došlo, následky by byly podobné jako při vytvoření přechodového odporu na rozhraní elektroda – vzorek.

Pro co největší potlačení vzniku přechodových odporů byl vzorek z obou stran navlhčen elektrolytem v podobě fyziologického roztoku.

6.3 Teplota

Největší vliv na měření má samotná teplota vzorku, konkrétně jeho oteplení v důsledku průchodu elektrického proudu. Chování jater v závislosti na teplotě je blíže popsáno v Kapitole 2.2.

Oteplování, případně ochlazování tkáně má přímý vliv na vodivost tkáně. Na teplotu tkáně působila i teplota okolí, které byl vzorek po celou dobu experimentu vystaven. Jelikož se teplota okolí mírně měnila i během samotných měření, tak se mírně měnila i teplota vzorku. Nulová elektroda navíc byla vyrobena z nerezového plechu, který se choval jako chladič. Teplota ve vzorku v těsné vzdálenosti pod elektrodami tedy mohla být jiná než teplota v těsné blízkosti nad nerezovým plechem

Dalším problémem je nemožnost přesného měření teploty tkáně. Jak bylo v Kapitole 5.2 zmíněno, čidlo teploty nemohlo být umístěno přímo ve středu proudovodné dráhy. Měření teploty vzorku se tedy stalo pouze orientačním.

Problémy týkající se teploty by se daly vyřešit několika způsoby. Prvním možným způsobem by bylo odizolování tkáně od okolí, například hermeticky uzavřeným boxem, ve kterém by se udržovala konstantní teplota. Pak už by zbýval jen vliv oteplování tkáně průchodem elektrického proudu, který by se dal zkorigovat do určité míry, a to díky znalostem o tepelných vlastnostech tkání.

6.4 Hydratace tkáně

Při měřeních na játrech *in vivo* (vně těla), kdy je pacient pod celkovou anestezií dochází k neustálému prokrvování tkáně. Játra se tak stávají vodivějšími, a to jak kvůli samotné krvi a jejím lepším elektrickým vlastnostem, tak i kvůli samotným živinám v krvi (viz Kapitola 6.1). Při měřeních *ex vivo* (mimo těla) byl vzorek při každém měření vystaven okolnímu vzduchu. Ten napomáhal dehydrataci tkáně odpařováním tekutin ze vzorku. Na dehydrataci měla vliv i teplota – okolí, i tkáně.

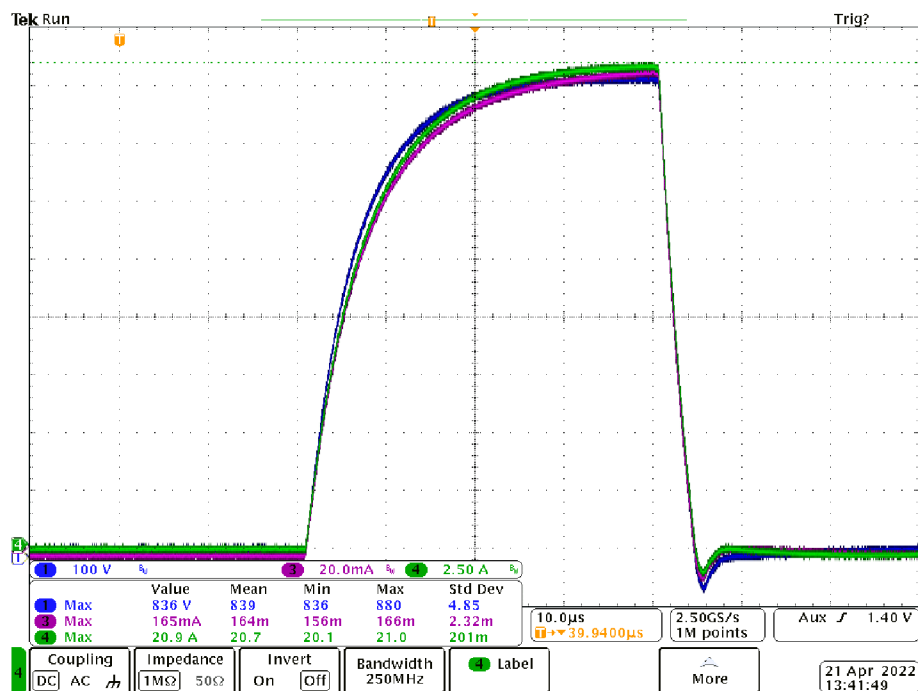
Simulovat prokrvování jater mimo tělo je takřka nemožné. Do jater by musela být přiváděna okysličená krev, která by obsahovala veškeré živiny tak, jako při přirozené funkci jater.

Zároveň bylo nemožné při měření pohybovat s měřícím přípravkem. Po jeho sejmutí by se sice dala tkáň hydratovat například fyziologickým roztokem, avšak po přiložení měřícího přípravku nazpět by nastalo riziko, že by nebyl položen na stejné místo. Pokud by na tkáň bylo přivedeno padesát pulzů (intenzita elektrického pole by přesáhla hranici 700 V/cm), po kterých by se měřící přípravek posunul na jinou část tkáně, tak by část proudovodné dráhy již byla elektroporizována a část ne. Výsledky měření by tedy byly nepravdivé.

6.5 Měřící přístroje

Nedílnou součástí přesného měření jsou samotné přístroje pro měření daných veličin. V této práci bylo měřeno napětí a elektrické proudy vnitřní a vnější elektrodou. Měření probíhalo pomocí jedné napěťové sondy a dvou proudových.

Zpracování naměřených dat zprostředkovával osciloskop. Ten však měl na přesnost měřených veličin největší vliv. Elektrický proud dokázal zaznamenat s přesností pouze na desetiny mA a setiny A. Napětí snímal s přesností desetín V a setin kV. Na měřící citlivost má dle [26] vliv počet bitů A/D převodníku.



Obrázek 40 – Ilustrační průběhy napětí a proudů elektrodami

Osciloskop měl DC offset, který se s rostoucími hodnotami a měnícími se rozsahy veličin také měnil. Kvůli přesnosti tedy muselo odečítání hodnot probíhat pomocí kurzorů.

Dalším měřícím přístrojem byl multimetr, ke kterému bylo připojeno čidlo teploty. Ten dokázal snímat teplotu na desetiny °C. Přesnost teploměru ovlivnila zejména korekci, provedenou v Kapitole 5.2.

Pro experimentální měření v této práci byla přesnost měřených veličin dostatečná.

7. ZÁVĚR

Cílem této diplomové práce bylo proměření, sestavení, a následné porovnání s teorií, závislosti měrné vodivosti tkáně na intenzitě elektrického pole na vzorku živočišné tkáně.

Tato práce je rozdělena do šesti kapitol. První kapitola seznamuje čtenáře se stále rozvíjející se lékařskou metodou – elektroporací. Popisuje, jaké druhy elektroporace rozeznáváme a jaké vlivy mají na tkáň. Dále je v této kapitole zmíněno, jak se elektroporační zákrok provádí a jak se při takovém zákroku tkáň chová. Poslední část kapitoly je věnována vyhodnocení elektroporačního zákroku, a zmiňuje, které veličiny se k posouzení míry elektroporace využívají. Druhá kapitola popisuje tkáň jako elektrický odpor, který potřebujeme změřit pro úspěšné vyhodnocení elektroporačního zákroku. Z kapitoly je patrné, že přirozený elektrický odpor tkáně je závislý na vlastnostech materiálu, a to zejména na jeho rezistivitě a rozměrech. Největší vliv na změnu elektrického odporu má teplota a případné oteplení tkáně. Na oteplení má vliv jak samotná elektroporace, tak i vzniklé teplo v důsledku průchodu elektrického proudu. Ve třetí kapitole je popsán celkový návrh měřicího přípravku, tedy koaxiálního zapojení elektrodového systému. Je zde zmíněno, jak proběhl předběžný návrh elektrod, samotná úprava návrhu, finální výroba a následná kompletace. Důležitým bodem této kapitoly je vliv vzduchové mezery, nacházející se mezi vnitřní a vnější elektrodou, na výslednou homogenitu elektrického pole vznikajícího v měřeném vzorku. Čtvrtá kapitola popisuje, z jakých přístrojů se skládalo měřicí pracoviště a jak byly jednotlivé veličiny měřeny. V páté, a zároveň nejrozsáhlejší kapitole, jsou popsány experimentální měření. Měření probíhala na vzorcích vepřových jater – a to kupovaných, odstátých a jen pár hodin mrtvých. Na játrech probíhala dvě různá měření. Prvním měřením byla samotná elektroporace – Kapitola 5.1. Výstupem tohoto měření byla sigmoidální funkce, popisující chování měrné elektrické vodivosti tkáně v závislosti na intenzitě přiloženého elektrického pole (Obrázek 26), kterou jsme se snažili přiblížit k teoretickému průběhu na Obrázku 6. Bylo dosaženo pouze prvního kolene sigmoidy a to z důvodu omezeného zdroje napětí. Z potřebných 3 kV/cm bylo dosaženo hranice pouze 1,61 kV/cm. Experiment v Kapitole 5.2 probíhal při konstantním napětí 836 V. Zvolená intenzita elektrického pole byla více než 2 kV/cm, aby s pulzy rostla i elektroporace (ta se začíná projevovat kolem 700 V/cm a výše). Tkáň byla vystavena stu pulzům, kde každý měl dobu trvání 40 μ s. Výsledné průběhy elektrického odporu a měrné vodivosti jsou na Obrázcích 27 a 28. Pro toto měření byla zároveň provedena korekce vlivu teploty vzorku. Experiment z Kapitoly 5.3 probíhal stejně jako ten v Kapitole 5.1, jen s tím rozdílem, že měřený vzorek byl jen pár hodin mrtvý. Průběhy měřených veličin byly strmější, což bylo způsobeno vyšší vodivostí tkáně v důsledku krve přítomné v játrech. Poslední experimentální měření v Kapitole 5.4 kopíruje postup experimentu v 5.2, opět s rozdílem v čerstvosti tkáně. Pro větší potlačení vlivu teploty na výsledky byla zvolena nižší

intenzita přiloženého elektrického pole, a to pouze 1,075 kV/cm. Na měření z Kapitoly 5.3 byla provedena korekce vlivu počtu pulzů. Při každém pulzu docházelo k jiné změně vodivosti tkáně, a to v důsledku různých příspěvků $u \cdot t$ každého pulzu v závislosti na jeho velikosti a době trvání. Izolováním hodnot na závislost pouze na napětí a době trvání pulzu byl získán průběh z Obrázku 38. Poslední, šestá, kapitola shrnuje možné nepřesnosti výsledků měření, jako jsou samotné vlastnosti živočišné tkáně, teplota okolí a samotného vzorku, nebo chyba měřících přístrojů.

Literatura

- [1] YARMUSH, Martin L., Alexander GOLDBERG, Gregor SERŠA, Tadej KOTNIK a Damijan MIKALVČIČ. *Electroporation-Based Technologies for Medicine: Principles, Applications, and Challenges*. 2014.
- [2] Electroporation. *ThermoFisher SCIENTIFIC* [online]. [cit. 2022-05-21]. Dostupné z: <https://www.thermofisher.com/cz/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/transfection-basics/transfection-methods/electroporation.html>
- [3] BERTACCHINI, Claudio, Pier Mauro MARGOTTI, Encio BERGAMINI, Andrea LODI, Mattia RONCHETTI a Ruggero CADOSSO. *Design of an Irreversible Electroporation System for Clinical Use*. Adenine Press, 2007, 8. ISSN 1533-0346.
- [4] López-Alonso, B., Hernáez, A., Sarnago, H. *et al.* Histopathological and Ultrastructural Changes after Electroporation in Pig Liver Using Parallel-Plate Electrodes and High-Performance Generator. *Sci Rep* **9**, 2647 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39433-6>
- [5] NOVOTNA, Veronika a Dalibor CERVINKA. Impedance Measurement of Muscular Tissue During Electroporation Procedure. In: 2018 IEEE International Conference on Environment and Electrical Engineering and 2018 IEEE Industrial and Commercial Power Systems Europe (EEEIC / I&CPS Europe) [online]. IEEE, 2018, 2018, s. 1-5 [cit. 2022-05-21]. DOI: 10.1109/EEEIC.2018.8493907. ISBN 978-1-5386-5186-5. Dostupné z: <https://ieeexplore.ieee.org/document/8493907/>
- [6] RUBINSKY, Boris, ed. *Irreversible electroporation*. Berlin: Springer, c2010. Series in biomedical engineering, 320.
- [7] ZHOU, Wei, Zhengai XIONG, Ying LIU, Chenguo YAO a Chengxiang LI. *Low voltage irreversible electroporation induced apoptosis in HeLa cells* [online]. 2012, **8**(1), 80-85 [cit. 2022-05-21]. Dostupné z: <http://www.cancerjournal.net/article.asp?issn=0973-1482;year=2012;volume=8;issue=1;spage=80;epage=85;aulast=Zhou>
- [8] Vorel P., Patočka M., Průmyslová elektronika, Vydání 1., skriptum FEKT VUT Brno, 2007
- [9] DAVALOS, R.V., D.M. OTTEN, L.M. MIR a B. RUBINSKY. Electrical Impedance Tomography for Imaging Tissue Electroporation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 2004, **51**(5), 761-767. DOI: 10.1109/TBME.2004.824148. ISSN 0018-9294. Dostupné také z: <http://ieeexplore.ieee.org/document/1288397/>

- [10] Elektrické vlastnosti tkání. In: *Ústav patologické fyziologie* [online]. Lékařská fakulta UK v Plzni [cit. 2022-05-21]. Dostupné z: <http://patofyziologie.lfp.cuni.cz/wp-content/uploads/2018/09/bia.pdf>
- [11] ACKMANN, J. J. Complex Bioelectric Impedance Measurement System for the Frequency Range from 5 Hz to 1 MHz. *Annals of Biomedical Engineering*. 1993, **21**(1), 135-146.
- [12] KUSHNER, Robert F. Bioelectrical Impedance Analysis: A Review of Principles and Applications. *Journal of the American College of Nutrition*. American College of Nutrition, 1992, **11**(2), 1-11.
- [13] PALTA, Sanjeev, Richa SAROA a Anshu PALTA. Overview of the coagulation system. *Indian Journal of Anaesthesia*. 2014, **58**(5). ISSN 0019-5049. Dostupné z: doi:10.4103/0019-5049.144643
- [14] ZURBUCHEN, Urte, Christoph HOLMER, Kai S. LEHMANN, Thomas STEIN, André ROGGAN, Claudia SEIFARTH, Heinz-J. BUHR a Jörg-Peter RITZ. Determination of the temperature-dependent electric conductivity of liver tissue ex vivo and in vivo: Importance for therapy planning for the radiofrequency ablation of liver tumours. *International Journal of Hyperthermia*. 2010, **26**(1), 26-33. ISSN 0265-6736. Dostupné z: doi:10.3109/02656730903436442
- [15] BEITEL-WHITE, Natalie, Melvin F. LORENZO, Yajun ZHAO, Rebecca M. BROCK, Shreyl COUTERMARSH-OTT, Irving C. ALLEN, Navid MANUCHEHRABADI a Rafael V. DAVALOS. Multi-Tissue Analysis on the Impact of Electroporation on Electrical and Thermal Properties. *IEEE Transactions on biomedical engineering*. 2021, 771-782.
- [16] KREJČOVÁ, Marie. Elektrody a jejich obaly, způsoby aplikace, kontaktní a bezkontaktní elektroterapie obecně. *MUNI* [online]. 2021 [cit. 2022-05-22]. Dostupné z: https://is.muni.cz/el/fsps/jaro2021/bp1264/Elektrody__kontaktni_a_bezkontaktni_ET.pdf?lang=en
- [17] HAVLÍK, Jan. Elektrody pro snímání biologických potenciálů. *ČVUT* [online]. Katedra teorie obvodů [cit. 2022-05-22]. Dostupné z: https://cw.fel.cvut.cz/b172/_media/courses/a6m31let/02-elektrody.pdf
- [18] URBÁNEK, Petr. *Autoimunitní hepatitida*. Interní klinika 1. LF UK a ÚVN Praha, 2019, 1-8.

- [19] BRODANOVÁ, Marie. *Toxické poškození jater - II. díl*. I. interní klinika 1. LF UK a VFN Praha, 2003, 19-23.
- [20] PONDER, Eric. The Coefficient of Thermal Conductivity of Blood and of Various Tissues. *The Journal of General Physiology*. Nassau Hospital, Mineola, Long Island, 1962, (45), 545-551.
- [21] P. Hasgall, E. Neufeld, and M. Gosselin, "It's database for thermal and electromagnetic parameters of biological tissues," 2013. [Online]. Available: <https://itis.swiss/virtual-population/tissue-properties/database/>
- [22] J. Werner and M. Buse, "Temperature profiles with respect to inhomogeneity and geometry of the human body," *J. Appl. Physiol.*, vol. 65, no. 3, pp. 1110–1118, 1988.
- [23] K. Rai and S. Rai, "Effect of metabolic heat generation and blood perfusion on the heat transfer in the tissues with a blood vessel," *Heat Mass Transfer*, vol. 35, no. 1, pp. 75–79, 1999.
- [24] Pavlata L., Pechová A.: Hepatopatie skotu – diagnostika, diferenciální diagnostika, zásady terapie a prevence. *Veterinářství* 2014, 64: 440-448
- [25] TOMÁŠEK, J., J. PRÁŠEK, I. KISS, L. HUSOVÁ a J. PODHOREC. *Hodnocení jaterní funkce v onkologické praxi*. Klinika komplexní onkologické péče, 2012, 427-433.
- [26] HAASZ, Vladimír. *Elektrická měření*. Praha: Vydavatelství ČVUT, 2003.

SEZNAM SYMBOLŮ A ZKRATEK

Zkratky:

FEKT	Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií
VUT	Vysoké učení technické v Brně

Symboly:

U, u	...	elektrické napětí	[V]
I	...	elektrický proud	[A]
L	...	výška měřeného vzorku	[m]
S	...	plocha	[m ²]
S ₁₂	...	celková vodivá plocha elektrod	[m ²]
S ₁	...	plocha vnitřní elektrody	[m ²]
S ₂₃	...	plocha vnější elektrody	[m ²]
ρ	...	rezistivita, měrný odpor	[Ω·m]
R	...	elektrický odpor	[Ω]
G	...	elektrická vodivost	[S]
σ	...	měrná elektrická vodivost	[S/m]
t	...	čas	[s]
d	...	průměr elektrod	[mm]
E	...	intenzita elektrického pole	[V·m ⁻¹]
I ₁₂	...	celkový proud elektrodami	[A]
I ₁	...	proud vnitřní elektrodou	[A]
I ₂₃	...	proud vnější elektrodou	[A]
T	...	absolutní teplota	[°C]
C	...	elektrická kapacita	[F]
R _e	...	elektrický odpor extracelulární tekutiny	[Ω]
R _i	...	elektrický odpor intracelulární tekutiny	[Ω]
C _m	...	kapacita buněčné membrány	[F]
α	...	koeficient přestupu tepla	[W·m ⁻² ·K ⁻¹]
Δt	...	oteplení	[°C]