



ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE

FAKULTA BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

Katedra biomedicínské techniky

**Numerický model ablace srdeční tkáně
elektroporačním přístrojem**

**Numerical model of heart tissue ablation
by electroporation device**

Bakalářská práce

Studijní program: Biomedicínská technika
Vedoucí práce: doc. Ing. David Vrba, Ph.D.

Jakub Zelenka

Kladno 2023

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Zelenka** Jméno: **Jakub** Osobní číslo: **499883**
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**
Garantující katedra: **Katedra biomedicínské techniky**
Studijní program: **Biomedicínská technika**

II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

Numerický model ablace srdeční tkáně elektroporačním přístrojem

Název bakalářské práce anglicky:

Numerical model of heart tissue ablation by electroporation device

Pokyny pro vypracování:

V prostředí numerického simulátoru COMSOL Multiphysics (dále jen simulátoru) vytvořte 3D geometrii jednoduchého experimentálního uspořádání skládajícího se z ablované tkáně, elektroporačních elektrod a okolí. Nastavte materiálové vlastnosti a okrajové podmínky pro fyziku elektrického pole. Porovnejte velikosti ablačních zón a elektrických odporů elektrod pro následující scénáře: 1) relativní permitivita a vodivost ablované tkáně jsou konstantní dle hodnot z odborné literatury, 2) relativní permitivita je konstantní viz výše a vodivost je závislá na aplikovaném elektrickém poli, 3) vodivost je konstantní a relativní permitivita je rovna 1, 4) vodivost je závislá na aplikovaném elektrickém poli a relativní permitivita je rovna 1. Vytvořte experimentální uspořádání a změřte elektrický odpor/impedance elektroporačních elektrod přiložených ke vzorku tkáně. Dále změřte průběhy napětí a proudů na elektrodách během aplikace elektroporačních pulzů. V simulátoru vytvořte model elektrického obvodu s diskrétními obvodovými prvky, který bude virtuálně generovat obdobné časové průběhy elektrického napětí typické pro elektroporační přístroje. Porovnejte průběhy napětí a proudů naměřené a vypočítané pro výše uvedené čtyři scénáře a určete scénář s největší shodou mezi naměřenými a vypočítanými průběhy napětí a proudů na elektrodách. Tento scénář aplikujte v simulátoru na zjednodušeném anatomickém modelu srdce obsahující ouško levé síně, elektrody a přilehlé tkáně a nervy. Vyhodnoťte elektrické pole v oblastech, kde má být provedena ablace a zároveň vyhodnoťte elektrické pole v místě přilehlých nervů.

Seznam doporučené literatury:

- [1] J. Vrba, Lékařské aplikace mikrovlnné techniky, ed. 1st, ČVUT Praha, 2003, ISBN 80-01-02705-8
- [2] Punit Prakash, Govindarajan Srimathveeravalli, Principles and Technologies for Electromagnetic Energy Based Therapies, ed. 1, Academic Press Elsevier, 2021, ISBN 78-0-12-820594-5
- [3] Moeller Torsten Bert, Pocket Atlas of Sectional Anatomy, Vol. II: Thorax, Heart, Abdomen and Pelvis: Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging, ed. 2, Thieme Medical Publ Inc, 2013, ISBN 9783131256041

Jméno a příjmení vedoucí(ho) bakalářské práce:

doc. Ing. David Vrba, Ph.D.

Jméno a příjmení konzultanta(ky) bakalářské práce:

prof. Dr.-Ing. Jan Vrba, M.Sc.

Datum zadání bakalářské práce: **14.02.2023**

Platnost zadání bakalářské práce: **20.09.2024**

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem „Numerický model ablace srdeční tkáně elektroporačním přístrojem“ vypracoval samostatně a použil k tomu úplný výčet citací použitých pramenů, které uvádím v seznamu přiloženém k bakalářské práci.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 Zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 17. 8. 2023

.....

Jakub Zelenka

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval mému vedoucímu bakalářské práce doc. Ing. Davidu Vrbovi, Ph.D. za ochotné rady, asistenci při tvorbě modelů, a především odborný přístup a trpělivost po celou dobu řešení práce. Dále bych rád poděkoval Ing. Marku Novákovi Ph.D. za poskytnutí elektroporačního přístroje a za asistenci při experimentálním měření.

ABSTRAKT

Numerický model ablace srdeční tkáně elektroporačním přístrojem:

V rámci této práce byly vytvořeny numerické modely ouška levé síně srdeční (OLS) a přiléhajících nervus phrenicus (NP) a tepny levý cirkumflex (LCx), na kterých byly provedeny simulace elektrických polí a ohřevu. Elektrické simulace byly provedeny pro čtyři scénáře nastavení materiálových vlastností srdeční tkáně a pro každý scénář bylo graficky a numericky zhodnoceno rozložení intenzity elektrického pole E v objektech simulace. Pro každý scénář byl určen elektrický odpor tkáně a proud protékající do tkáně. Bylo zjištěno, že scénáře 1 a 3 a scénáře 2 a 4 vedou ke stejným výsledkům simulace. Při experimentálním měření byly pomocí osciloskopu zobrazeny průběhy pulzů dodávaných elektroporačním přístrojem. Byly určeny hodnoty elektrického odporu tkáně a proudu do tkáně vtékajícího a byly porovnány s hodnotami získanými ze simulátoru. Výsledky se nejvíce podobaly scénářům 2 a 4. Bylo provedeno měření a následně simulace změny teploty tkáně po dodání elektroporačních pulzů. Při simulaci i při experimentu byl naměřen nezanedbatelný nárůst teploty, v případě simulace o 1,68 °C, v případě experimentálního měření o 3,1 °C.

Klíčová slova

Elektroporace, COMSOL Multiphysics, elektrická vodivost, relativní permitivita

ABSTRACT

Numerical model of heart tissue ablation by electroporation device:

In this work, numerical models of the left atrial appendage (OLS) and the adjacent nervus phrenicus (NP) and left circumflex (LCx) artery were created and used to simulate electric fields and heating. Electrical simulations were performed for four scenarios of cardiac tissue material property settings, and for each scenario the distribution of the electric field E across the simulated objects was evaluated graphically and numerically. For each scenario, the electrical resistance of the tissue and the current flowing into the tissue were determined. It was found that scenarios 1 and 3 and scenarios 2 and 4 lead to the same simulation results. During the experimental measurements, the pulse waveforms delivered by the electroporation device were displayed using an oscilloscope. The values of the electrical resistance of the tissue and the current flowing into the tissue were determined and compared with the values obtained from the simulator. The results were most similar to scenarios 2 and 4. Experimental measurements and then simulation of the change in tissue temperature after delivery of the electroporation pulses were performed. In both the simulation and the experiment, a non-negligible increase in temperature was measured, $1.68\text{ }^{\circ}\text{C}$ in the case of the simulation and almost double, i.e., $3.1\text{ }^{\circ}\text{C}$, in the case of the experimental measurement.

Keywords

Electroporation, COMSOL Multiphysics, Electrical conductivity, Relative permittivity

Obsah

Seznam symbolů a zkratk.....	9
1 Úvod	10
2 Přehled současného stavu.....	11
2.1 Populární ablační metody	11
2.1.1 Radiofrekvenční ablace	11
2.1.2 Kryoablace.....	12
2.1.3 Ireversibilní elektroporace.....	13
2.2 Mechanismus elektroporace	14
2.2.1 Tvorba pórů v membráně	14
2.2.2 Buněčná smrt způsobená elektrickým polem	15
2.3 Ouško levé síně a síňová fibrilace.....	16
2.3.1 Anatomie srdce a OLS.....	16
2.3.2 Síňová fibrilace.....	19
2.4 Typické parametry ablačních pulzů	20
2.4.1 Amplituda ablačního pulzu.....	21
2.4.2 Tvar ablačního pulzu	21
2.4.3 Doba vystavení tkáni pulzům	22
2.5 Účinek pulzů na různé tkáně	22
2.5.1 Kardiomyocyty	22
2.5.2 Nervová tkáň	23
2.5.3 Cévní tkáň.....	23
2.6 Nežádoucí účinky ablace elektrickým polem.....	23
2.6.1 Studie elektrických proudů.....	39
2.6.2 Svalové kontrakce	23
2.6.3 Vznik plyných mikroembolií.....	23
2.6.4 Rázové vlny	24
2.7 Generátor elektroporačních pulzů	24
3 Cíle práce.....	27
4 Metody	28
4.1 Tvorba numerického modelu	28

4.1.1	Parametry.....	28
4.1.2	Geometrie modelu	29
4.1.3	Materiálové vlastnosti	33
4.1.4	Teplotní simulace	39
4.1.5	Elektrický obvod v simulátoru	40
4.1.6	Mřížka.....	43
4.2	Experimentální ověření	43
4.3	Zpracování výsledků	48
5	Výsledky.....	49
5.1	Rozložení elektrického pole	49
5.1.1	Scénář 1	49
5.1.2	Scénář 2	51
5.1.3	Scénář 3	52
5.1.4	Scénář 4	53
5.2	Objemy tkání	55
5.3	Elektrický proud a elektrický odpor.....	57
5.4	Výsledky experimentu.....	58
5.4.1	Měření průběhu elektroporačních pulzů.....	58
5.4.2	Výpočet elektrického odporu a proudu	59
5.4.3	Měření teploty a teplotní simulace	59
5.5	Porovnání simulací a experimentu	62
6	Diskuse.....	64
7	Závěr	68
	Seznam použité literatury	69

Seznam symbolů a zkratek

Seznam symbolů

Symbol	Jednotka	Význam
σ	S/m	Elektrická vodivost
ϵ_r	-	Relativní permitivita
E	V/cm	Intenzita elektrického pole
ρ	kg/m ³	Hustota
C_p	J/kg·K	Tepelná kapacita za konstantního tlaku
k	W/m·K	Tepelná vodivost
T	K, (°C)	Teplota
Q_{rh}	W/m ³	Výkon ztracený v tkáni, parametr zdroje ohřevu
U	V	Elektrické napětí
I	A	Elektrický proud
R	Ω	Elektrický odpor
V	m ³ , (mm ³)	Objem

Seznam zkratek

Zkratka	Význam
OLS	Ouško levé síně
RE	Reversibilní elektroporace
IRE	Ireversibilní elektroporace
RFA	Radiofrekvenční ablace
AF	Atriální fibrilace
LCx	Tepna levý cirkumflex
NP	Nervus phrenicus

1 Úvod

Fibrilace síní je nejčastější poruchou srdečního rytmu a je doprovázena komplikacemi jako je bolest na hrudi, dušnost, celková slabost a zvýšení rizika tvoření trombů a výskyt tromboembolické nemoci. [1, 2] Příčinou síňové fibrilace je abnormální elektrická aktivita v atriální srdeční tkáni, která přebere kontrolu nad fyziologickým srdečním rytmem a způsobí chaotické kontrakce myokardu. Častým centrem síňové fibrilace je ouško levé síně (OLS), které je zároveň rizikovou oblastí pro tvorbu trombů. Cirkulace krve v OLS může být kvůli tvaru ouška omezena a krev se v oušku snáze sráží. Pokud by se trombus v oušku vytvořil, při fibrilaci může dojít k jeho uvolnění do krevního oběhu, kde vzniká nebezpečí ucpaní cév. [2, 3]

V dnešní době je stále standardním postupem v léčbě a prevenci fibrilace použití antiarytmických léčiv. Tato léčiva mohou přinést tížený výsledek, nicméně jejich dlouhodobé užívání paradoxně přináší riziko zhoršení stávající arytmie, mají tedy proarytmické účinky. Z těchto důvodů je v posledních letech snaha taková léčiva opustit a nalézt nové nefarmakologické způsoby léčby. Mezi těmito novými metodami můžeme nalézt kontrolovanou destrukci tkáně, ablace, v místě zdroje fibrilací. Ablace může být prováděna různými způsoby a jedním z nich je právě elektroporace jež se v poslední době těší rostoucí popularitě pro značné výhody oproti ostatním ablačním metodám. [4]

Jelikož ablace prostřednictvím elektroporace je v dnešní době metoda stále relativně nová, je nutné co nejvíce porozumět jejím principům a prozkoumat její možná využití. Takovému zkoumání mohou značně přispět simulační programy jako například COMSOL Multiphysics, který umožňuje vytvořit model zkoumaného objektu a aplikovat na něj různé fyzikální jevy, v případě elektroporace pak zejména elektrické pole a proud či ohřev způsobený průchodem proudem. Výhodou simulací oproti fyzickému experimentu je hlavně možnost libovolně měnit různé parametry a nastavení modelu a prověřovat tak jejich vliv na zkoumaný model za konstantních podmínek, které lze přesně nadefinovat. Simulace je ovšem vždy vhodné experimentálně ověřit a zhodnotit tak jejich výpovědní hodnotu.

Jedním z důvodů provádění simulací je ověření bezpečnosti použití elektroporace v klinickém prostředí, jelikož jako každá terapeutická metoda i elektroporace přináší riziko vzniku vedlejších nežádoucích jevů, které by mohly narušit průběh zákroku. Mezi takové nežádoucí jevy patří například svalová kontrakce způsobena stimulací nervové tkáně, vznik plyných mikroembolií nebo tepelné poškození tkáně. [5]

2 Přehled současného stavu

Elektroporace je proces, kdy elektrické pole působící na živé buňky rozruší jejich buněčnou membránu vznikem pórů. Vzniklými póry vzniká spojení extracelulárního a intracelulárního prostoru, dochází k neregulované výměně nabitých částic mezi prostředími a rapidnímu nárustu vodivosti buňky, což zásadně naruší buněčnou homeostázu. [5–8] Buňka aktivně usiluje o uzdravení membránových lézí a pokud poškození nedosáhlo kritické úrovně, je buňka v uzdravení úspěšná a elektroporaci přežívá.

Taková elektroporace se pak označuje jako reversibilní (RE) a využití skýtá například při vpravování enzymů, protilátek, či obecně molekul, které by samovolně membránou nemohly proniknout, do těla buňky. Stejně tak je možné materiál z buňky odebírat, kupříkladu při extrakci DNA, mitochondrií či dalších buněčných struktur. Po vnesení či extrakci materiálu a ukončení elektroporační procedury dojde postupem času k samovolnému uzavření pórů a buňka dále pokračuje v životu. [7, 9].

Je-li ovšem intenzita elektrického pole dostatečně vysoká, náboje indukované na membráně udržují póry otevřené a přispívají k jejich rozšiřování. Buňka již nedokáže poškozenou membránu opravit a nevyhnutelně dojde k buněčné smrti. Elektroporaci v takovém případě označujeme jako ireversibilní elektroporace (IRE) a je využívána při cílené destrukci tkání, tedy ablací. [5–7]

2.1 Populární ablační metody

Kromě IRE existují, a jsou klinicky využívány, další ablační metody. Ačkoli má IRE mnohé výhody, je tato metoda také zatížena řadou nevýhod, které ji brání v naprosté dominanci v oboru ablačních terapií. Mezi nevýhody patří například nedostatek přesných ablačních protokolů, popisů postupů procedur a detailního porozumění konkrétních dějů při elektroporaci. [5]

V dnešní době je v klinické praxi kromě elektroporace hojně využívána také kryoablace [10, 11] a radiofrekvenční ablace (RFA) [12, 13]. Obě tyto metody spadají do kategorie tepelných ablací, jelikož hlavním mediátorem buněčné smrti je navození teplot neslučitelných se životem buňky.

2.1.1 Radiofrekvenční ablace

Základem RFA je aplikace elektrického proudu o frekvenci 500-1000 kHz pomocí katetru zavedeného do léčené oblasti. Průchod elektrického proudu způsobí pohyb iontů v tkáních a vzniku tepla vlivem tření. Tímto způsobem může být tkáň ohřáta až na teploty blízké se 110 °C. [12, 13]

Ne vždy je ovšem vysoká teplota vhodným měřítkem účinnosti provedení RFA. Vyšší teplota znamená větší množství zasažené tkáně, a to i té zdravé. Je tedy nutné dbát na vysokou účinnost chlazení tkání, které nejsou cílem léčby. To je často problematické a poškození zdravé tkáně patří k hlavním problémům RFA. [12, 13]

Další významnou nevýhodou je časová náročnost celé procedury. Zákrok často trvá v rozmezí dvou až tří hodin. Takto dlouhý zákrok nadbytečně zabírá personál a výrazně zvyšuje riziko výskytu lidské chyby kvůli únavě. RFA také disponuje významným výskytem komplikací (zhruba 4 %), například cévní mozkovou příhodou, cévní poranění, okluzi plicních žil a další. [12, 14]

Všem těmto záporům oponuje významné plus, a to fakt, že RFA je oproti ostatním metodám velmi dobře prozkoumána. Praktické využití rádiových frekvencí pro léčbu na lidech se začalo objevovat již na začátku 20. století a komerčně dostupné RF generátory využívané pro léčbu nádorů později v 90. letech 20. století. Léčba nádorů je stále nejvýznamnější využití pro RFA a další využití jsou například při léčbě srdečních arytmií, chronické bolesti zad, krční páteře a problémech s periferními nervy. [15, 16]

2.1.2 Kryoablace

Kryoablace spadá do kategorie tepelné ablace, ale oproti RFA je buněčná smrt způsobena podchlazením buněk na teploty daleko pod bodem mrazu. Cílová teplota se výrazně liší podle typu tkáně. Například pro kryoablace kůže jsou běžné teploty v rozmezí $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, zatímco při léčbě nádorů prostaty je zapotřebí teploty v rozmezí $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. [17]

Léčba pomocí nízkých teplot se vyvíjela bok po boku s RFA a největší technologický průlom nastal v 60. letech a poté v 90. letech minulého století. Dnes je kryoablace jedna z efektivních ablačních metod, hojně využívaná při léčbě nádorů. [17]

Mnohé zdroje ukazují, že kryoablace je obecně lepší než RFA. Kryoablace je méně časově náročná, vykazuje menší výskyt komplikací, zjizvená tkáň je více homogenní, díky čemuž se lépe hojí a způsobuje minimální tkáňovou kontrakci. Zároveň si zachovává stejnou či lepší účinnost než RFA. [10, 11, 17, 18]

Kryoablace je možné provádět dvěma způsoby, buďto při otevřené chirurgické operaci, či pomocí speciálních katetrů. První příklad sice umožňoval snadnější technické provedení zákroku, ovšem nesl s sebou zvýšené riziko výskytu komplikací. Proto se dnes spíše upřednostňuje využití katetrů, díky kterým je riziko výskytu komplikací nižší. [17–19]

Nicméně kryoablace je stále zatížena značnými komplikacemi jako je například regulace poškození okolních tkání a přesná monitorace teploty v tkáni. Nejčastěji se pro navigaci kryoablačních katetrů využívá ultrazvukového zobrazování, to ovšem zobrazuje pouze dvourozměrný obraz a nepřenáší žádnou informaci o teplotě tkáně. Je tedy obtížné

přesně umístit katetr a určit, zda tkáň dosáhla požadované teploty. Je možné využít jiné zobrazovací metody, například CT či MRI, které ovšem přináší další komplikace při provedení zákroku. Při použití CT získáme trojrozměrný obraz a zavedení katetru je tedy přesnější. Nicméně snímky není možné pořizovat neustále, kvůli bezpečnosti použití ionizujícího záření a CT stále neposkytuje informaci o teplotě tkáně. V případě využití MRI získáme trojrozměrný snímek a je možné pomocí matematických modelů určit teplotu tkáně. Na druhou stranu není možné využít kovové předměty, tedy katetr i veškeré další vybavení musí být předem pro použití s MRI připraveno. [17–19]

2.1.3 Ireversibilní elektroporace

IRE je klinicky nejmladší z uvedených metod ačkoli patrně první popis tohoto jevu sahá až do 18. století. V té době pozorovali nezávisle na sobě J.A. Nollet a J.P. Reilly zarudnutí tání, které byly vystaveny elektrickým jiskrám, ačkoliv dnes není prokazatelné, zda se jednalo čistě o efekt elektroporace, či zda hrálo významnou roli také tepelné poškození. [20]

Další významný pokrok zaznamenala IRE až v polovině 20. století, kdy A.L. Hodgkin navrhl, že abnormálně vysoké napětí na membráně může narušit její izolační vlastnosti. Od té doby získává metoda stále více pozornosti vědecké společnosti a v 70. letech 20. století dochází k řadě objevů. S větším množstvím experimentů bylo dosaženo závěru, že zvýšení vodivosti membrány je skutečně způsobeno vznikem pórů v membráně. Dalším závěrem bylo také že tento efekt není způsoben nadměrným ohřevem, nýbrž přímo elektrickým polem a je úměrný intenzitě elektrického pole, které elektroporaci vyvolává. [20]

V 80. letech se začíná využívat reversibilní elektroporace pro tzv. buněčnou fúzi a zavádění genů do buněk. Díky tomu se opět dostalo větší pozornosti pro elektroporační metody a také se začalo experimentovat s různými tkáněmi, oproti pouze experimentech na buňkách. V 90. letech se reversibilní elektroporace stala standardní mikrobiologickou metodou, zatímco IRE byla vnímána spíše jako vedlejší nežádoucí účinek. [20]

Na přelomu milénia dochází k rozšíření pokusů zaměřených na cílenou IRE na tkáních jako jsou svaly a ledviny. Hlavním cílem bylo prozkoumat využití IRE jako ablační metodu při léčbě nádorů. Také je v této době prověřována bezpečnost použití IRE v blízkosti cév a nervů a postupně se začíná uvažovat o léčbě dalších nemocí například fibrilací a v roce 2008 začala produkce prvního klinicky schváleného systému pro IRE měkkých tkání. [20]

2.2 Mechanismus elektroporace

Jak již bylo zmíněno, elektroporace je jev, při kterém dochází ke zvýšení propustnosti buněčné membrány působením elektrického pole. Elektrické pole je přiváděno v podobě pulzů pomocí elektrod aplikovaných přímo v místě léčby. Hlavními výhodami IRE oproti ostatním ablačním metodám je předvídatelné poškození tkání, výrazné ostré přechody mezi zasaženou a nezasaženou tkání a rychlost zákroku. Díky tomu a, spolu s faktem, že IRE není tepelná ablační metoda, byla IRE začleněna mezi klinicky využívané metody léčby nádorů či arytmií a její popularita stále roste. [5–7, 20, 21]

I přes klinické nasazení stále chybí kompletní pochopení principů navození buněčné smrti a různí autoři často popisují stejný jev z protichůdných pohledů či připisují efekt ablace odlišným příčinám. Řada studií popsala ablaci navozenou pulzním elektrickým polem a řada těchto studií navrhuje vztah mezi intenzitou pole, počtem a dobou trvání pulzů a celkovou dobou vystavení tkání elektrickému poli. Některé studie ovšem nacházejí přímý vztah mezi buněčnou smrtí a celkovou energií dodanou pulzem a jiné nikoli, jiné studie navrhují korelaci s celkovým dodaným nábojem. [20–22]

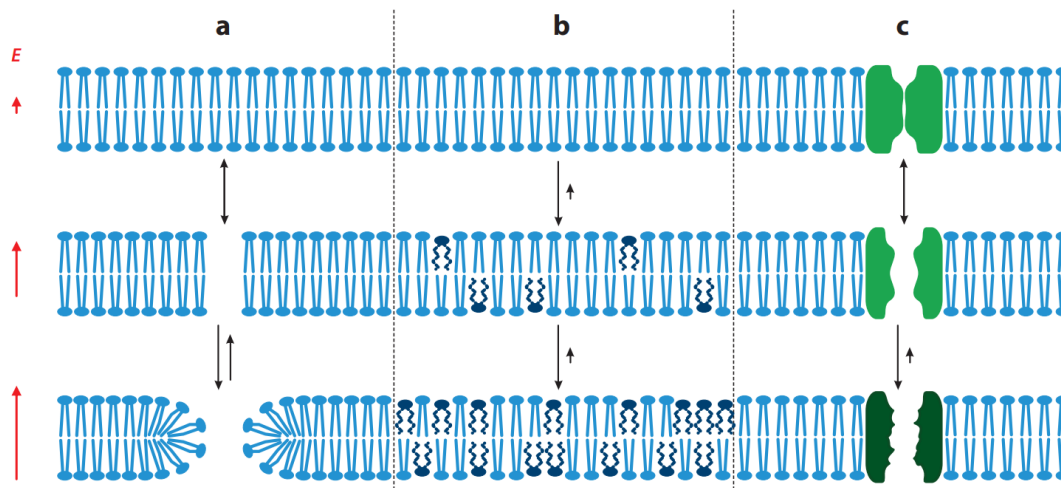
Jelikož pochopení mechanismů elektroporace je základem dalších experimentů, jsou v dalších kapitolách uvedeny základní akceptované účinky elektrického pole na membránu buněk a principy navození buněčné smrti.

2.2.1 Tvorba pórů v membráně

Buněčná membrána je tvořena fosfolipidovou dvouvrstvou, která je charakteristická svým uspořádáním a schopností propouštět pouze určité látky. Normální činností buňky a termálními fluktuacemi na membráně dochází ke vzniku hydrofobních pórů. Tyto póry jsou prakticky díry v membráně, které ovšem pro jejich hydrofobní vlastnosti nepropouští vodu ani částice v ní rozpustné a nenarušují tak normální funkci membrány. Tyto póry neustále vznikají a zanikají a nepředstavují pro buňku hrozbu. [5, 24, 25]

Působením elektrického pole je možné způsobit převrácení lipidových struktur a vytvoření tak kanálu, který je po stěnách lemován hydrofilními lipidovými hlavičkami. Tak vzniká hydrofilní pór, přes který proudí voda z extracelulárního prostředí i se všemi částicemi v ní rozpuštěnými do prostoru intracelulárního. Pohybem iontů tak dochází k drastickému navýšení vodivosti membrány a celé buňky, která není pro takový stav přizpůsobena. Proces je schematicky vyobrazen na obrázku 2.1. [24, 25]

Na obrázku 2.1 je v části (a) znázornění nejprve běžné membrány (*nahoře*), poté vytvoření hydrofobního póru (*uprostřed*) a jeho přeměna na pór hydrofilní (*dole*). V části (b) jsou popsány chemické změny vyvolané elektrickým polem, které deformují hydrofobní části fosfolipidů a tím zvyšují propustnost membrány. Část (c) popisuje změny na napětím řízených iontových kanálech. [25]



Obrázek 2.1: Znázornění principu elektroporace, převzato z [25]

Běžné hydrofobní póry dosahují poloměru v jednotkách nanometrů, zatímco velikost hydrofilních pórů se vlivem elektrického pole může pohybovat přibližně až okolo 40 nanometrů. Velikost póru přímo souvisí se zvýšením vodivosti, jelikož větším pórem vniká více iontů do prostoru buňky. [25]

2.2.2 Buněčná smrt způsobená elektrickým polem

Obecně řečeno, buněčná smrt může probíhat jedním ze dvou způsobů, a to buďto programovanou smrtí či nekroticky. Charakteristiky nekrotické buněčné smrti jsou otékání buňky a poté ruptura membrány, což má za následek vylití obsahu buňky, tedy cytoplazmy, organel a dalších struktur, do extracelulárního prostředí. To často způsobuje v okolí nekrotické buňky zánětlivou reakci. Oproti tomu programovaná smrt, nejvýznamněji apoptóza, označuje kaskádu dějů, které zajistí šetrné odstranění buňky. Typicky tento proces zahrnuje scvrkávání buňky, degradaci membrán, tvorbu apoptických tělísek a jejich následnou fagocytózu. Apoptóza je tedy šetrnější vůči okolním buňkám a nedochází k tvorbě zánětu, celý proces ovšem trvá delší dobu. [26]

Zdali vlivem působení elektrického pole dochází v buňkách k nekrotické či apoptické smrti je dnes stále předmětem debat a experimentů. Zatímco někteří autoři přikládají větší podíl odumřelé tkáně apoptóze [27, 28], další tuto teorii vyvrací a předkládají důkazy o převaze nekrotické buněčné smrti. [29, 30] Je ovšem čím dál jasnější, že dochází jak k nekrotické, tak apoptické smrti, ačkoliv poměr jejich působení není zcela jednoznačný. To přináší značné výhody při ablační terapii, a zejména při léčbě nádorů se tato dvojí povaha buněčné smrti ukazuje být efektivní. [30]

I mimo léčbu nádorů je pochopení buněčné smrti navozené elektrickými pulzy důležité pro lepší předvídatelnost léčby. V klinické praxi je nutné správně předpokládat rozsah zásahu, zejména jedná-li se o zásah na vitálních orgánech jako je srdce.

Z dosavadních studií vyplývá, že nekrotická buněčná smrt nastává prakticky okamžitě, a to zejména v blízkosti aktivních elektrod, s pozdějším projevem apoptických indikátorů dále od elektrod. [28, 30, 31]

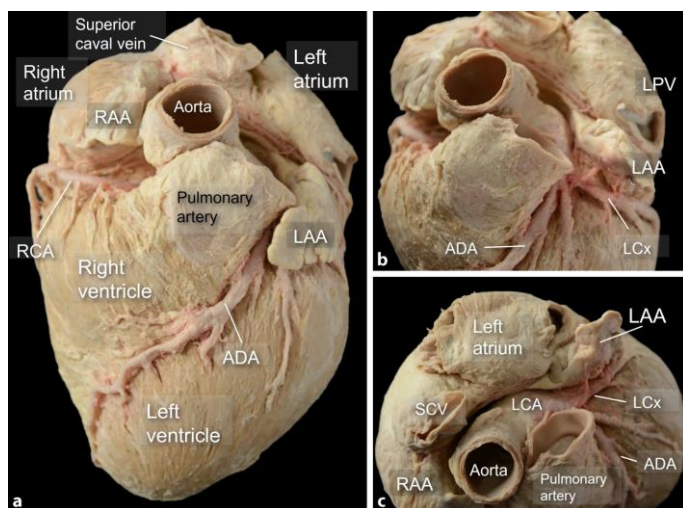
2.3 Ouško levé síně a síňová fibrilace

Primárním zaměřením této práce je využití IRE pro léčbu fibrilace síní (AF). Je tedy vhodné zmínit základy tohoto stavu a alespoň stručně popsat anatomii srdce, zejména popsat strukturu hlavního místa zájmu této práce – ouška levé síně (OLS).

2.3.1 Anatomie srdce a OLS

Srdce je uloženo v levé části hrudního koše a je jedním z nejdůležitějších orgánů v lidském těle. Pravidelnými kontrakcemi srdeční svaloviny pumpuje krev do oběhu a zajišťuje tak pohyb živin, krevních plynů a odpadních látek po celém těle. Je rozděleno na čtyři dutiny oddělené chlopněmi – síně a komory, které dále rozlišujeme na levé a pravé. [32]

Ouško levé síně, jak již název napovídá, je výrůstek levé síně, ouškovitého tvaru. Leží blízko vnější stěny levé síně a v těsné blízkosti tepny levý cirkumflex (LCx) a nervus phrenicus (NP). Průměrně dosahuje délky přibližně 46 mm a objemu přibližně 9 ml. OLS je zobrazeno na následujících snímcích převzatých od Gonzales-Casal et al. [33] a Ucerler et al. [34].



Obrázek 2.2: Anatomie srdce s odstraněným epikardem, převzato z [33]

Na obrázku 2.2 jsou popsány následující útvary, (a) *LAA* = Left Atrial Appendage (ouško levé síně), *RAA* = Right Atrial Appendage (ouško pravé síně), *RCA* = Right Coronary Artery (pravá koronární tepna), *ADA* = Anterior Descending Artery (přední sestupná tepna), (b) *LPV* = Left Pulmonary Vein (levá plicní žíla), *LCx* = Left Circumflex (tepna levý cirkumflex), (c) *SCV* = Superior Caval Vein (horní dutá žíla), *LCA* = Left Coronary Artery (levá koronární tepna). [33]

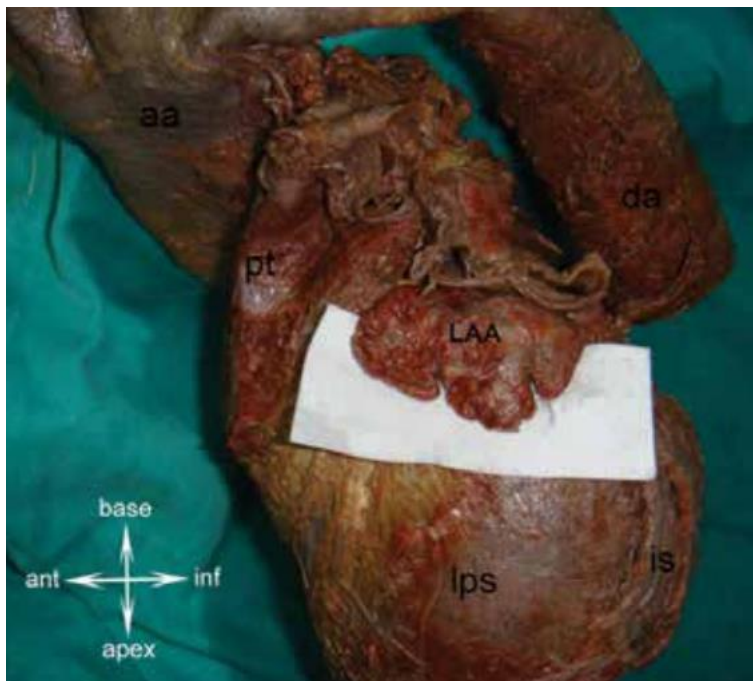


Obrázek 2.3: Různé morfologie OLS, převzato z [33]

Na obrázku 2.3 jsou vidět nejčastější morfologie OSL klasifikované podle Gonzales-Casal et al., (a) *Windsock* („Větrný pytel“), jeden dlouhý dominantní lalok bez podružných laloků, (b) *Chicken Wing* („Kuřecí křídlo“), výrazný záhyb ve střední části dominantního laloku, (c) *Cauliflower* („Květák“), chybí dominantní lalok, kratší délka, komplexnější vnitřní struktura, (d) *Cactus*, dominantní centrální lalok s dalšími sekundárními laloky z něj vystupujícími. [33]

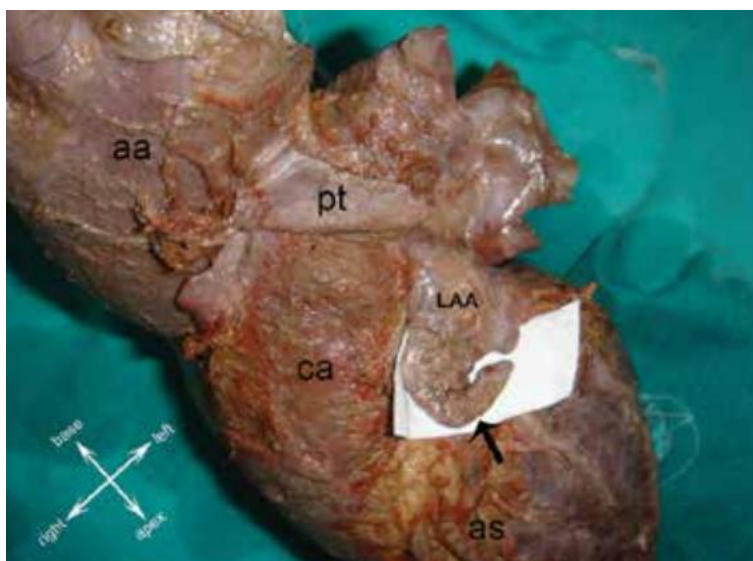
Gonzales-Casal et al. dále ve své studii o 932 pacientech uvádí, že nejčastějším typem je „kuřecí křídlo“ (48 %) a dále „kaktus“ (30 %), „větrný pytel“ (19 %) a nejméně častým typem je „květák“ (3 %). [33]

Na obrázku 2.4 a 2.5 jsou vidět snímky převzaté od Ucerler et al. [34], který používá vlastní klasifikaci tvaru OLS, tedy „*Slender like a crooked finger*,“ volně přeloženo „Štíhlý jako křivý prst,“ a „*Stump-like*,“ volně přeloženo „Pahýlovitý tvar.“



Obrázek 2.4: Záběr OLS (LAA) o třech dominantních lalocích, převzato z [34]

Na obrázku 2.4 je dále popsáno *aa* = Aortic Arch, *da* = Descending Aorta, *is* = Inferior Surface, *ips* = Left Pulmonary Surface a *pt* = Pulmonary Trunk. Na obrázku 2.5 jsou kromě již vyjmenovaných popsány *as* = Anterior Surface a *ca* = Conus Arteriosus. [34]



Obrázek 2.5: Záběr OLS s jedním zahnutým dominantním lalokem, převzato z [34]

Kvůli svému členitému a často zahnutému tvaru je OLS náchylné na špatnou výměnu krve a může zde docházet ke vzniku trombů. Ty zejména v kombinaci s atriální fibrilací (AF), kterých je také OLS často zdrojem, mohou představovat riziko jejich uvolnění a vstupu do krevního oběhu, kde mohou způsobit embolii a v případě vniku trombů do mozku až cévní mozkovou příhodu. Uvolnění trombů z OLS se dnes často předchází jeho uzavřením či odstraněním. Tyto metody jsou především vhodné u pacientů s AF bez nasazení antikoagulačních léčiv. [35, 36]

OLS vzniká z levé síně, ale je od ní embryologicky odlišná. To má také za následek rozdíly v anatomii a fyziologii OLS oproti síni. Například zatímco síň je z vnitřní strany lemována hladkým endokardem, OLS má na vnitřní straně myokard značně drsnější. Dále vykazuje ohniska zvýšené automaticity srdeční tkáně, které mohou vést ke vzniku AF. V takovém případě může být vhodnou léčbou úplná amputace OLS či ablace pouze části tkáně pomocí některé z metod popsanych v kapitole 2.1. [35–38]

2.3.2 Síňová fibrilace

Atriální fibrilace je nejčastější poruchou srdečního rytmu a se stárnoucí populací se stává čím dál častější. Při AF dochází ke špatné synchronizaci převodního systému srdečního a převládnutí chaotického a rapidního rytmu v srdečních síních, které v důsledku nadržují rytmus s komorami a každý srdeční oddíl tak bije jiným rytmem. [37, 39, 40]

Fyziologický srdeční rytmus je udáván hlavním pacemakerem srdce, který se nazývá sinoatriální uzel (SA uzel). Z SA uzlu se signál přenáší přes atrioventrikulární uzel, tzv. sekundární pacemaker, a dále přes Hisův svazek, Tawarova raménka a Purkyňova vlákna a prochází tak celým srdcem. Při AF se signál nadržuje popsané cesty, ale v síních dojde k jeho zacyklení a putování měnicími se okruhy. [37, 39, 40] Průběh EKG křivky při AF je znázorněn na obrázku 2.6.



Obrázek 2.6: EKG při síňové fibrilace (nahore), Fyziologický průběh EKG (dole), červená šipka označuje místo chybějící P vlny. Převzato z [41]

Délka AF je různá a obecně se dělí do tří kategorií podle doby odeznění. Paroxysmální AF představuje záchvaty s rychlým nástupem a samovolným odezněním v rámci několika hodin. V některých případech může taková fibrilace trvat i několik dní, nejdéle však jeden týden. Persistentní AF charakterizuje záchvat fibrilace trvající déle než

sedm dní, která samovolně ustane, či takovou fibrilaci, pro jejíž zástavu je nutný lékařský zákrok. V případě permanentní fibrilace se již nejedná o záchvaty, ale o trvalý stav, kdy není možné navodit pravidelný rytmus a je nutné rytmus regulovat pomocí medikací a lékařských zákroků. [37, 39, 40]

Mezi nejčastější symptomy AF patří bolest na hrudi, závratě, únava, dušnost a pocit rychlého bušení srdce, nicméně někteří lidé na sobě žádné příznaky nepozorují, ačkoli fibrilacemi trpí. Největší komplikací AF je zejména riziko embolie a mozkové cévní příhody, pokud dojde k vysrážení krve a tvorbě trombů v srdečních síních při fibrilaci a jejich následným uvolněním do krevního oběhu. [37, 39, 40]

Léčba fibrilací především závisí na typu popsaném výše. První léčbou je většinou předpis antiarytmik. V posledních dekáдах se ovšem od medikací ustupuje pro jejich možné proarytmické účinky. Při persistentní AF je pak možná léčba zákrok zaměřený na odstranění centra původu abnormálních elektrických signálů, například využitím zmiňovaných ablačních metod či amputací OLS. [4, 5, 35–38, 40]

2.4 Typické parametry ablačních pulzů

Účinnost ablace je funkcí o mnoha proměnných a jejich správné nastavení je kritické pro zajištění maximálního efektu a minimalizaci rizika poškození okolních tkání. Mezi hlavní parametry patří uspořádání elektrod, tvar signálu, amplituda signálu, frekvence a počet pulzů a doba vystavení tkáně elektrickému poli. Obecně můžeme říci, že pro dosažení buněčné smrti je zapotřebí dostatečné amplitudy a dostatečné doby vystavení, nicméně pro dosažení podobného efektu je možné navýšit amplitudu a zkrátit dobu vystavení, či naopak prodloužit dobu vystavení a snížit amplitudu. Stručný přehled charakteristik některých parametrů je uveden dále a také na obrázku 2.7. [5, 20–25]

Parameter	Parameter Change	Lesion Size	Muscle Contraction	Temperature Rise	Treatment Delivery Time	Gaseous Emboli Risk	Electrical Arcing Risk	Electrode Breakdown Risk	Barotrauma Risk
Voltage	↑	↑	↑	↑	⊞	↑	↑	↑	↑
Waveform	Monophasic	↑	↑	⊞	⊞	↑	↑	↑	↑
Fundamental Frequency	↑	↓	↓	⊞	⊞	↓	⊞	⊞	↓
Packet Duration	↑	↑	↑	↑	⊞	↑	↑	↑	↑
Number of Packets	↑	↑	⊞	↑	↑	⊞	⊞	⊞	⊞
Packet Delivery Rate	↑	⊞	⊞	↑	↓	⊞	⊞	⊞	⊞

Obrázek 2.7: Přehled vztahů mezi parametry procedury a vzniklými jevy, převzato z [5]. Jako základ porovnání je v [5] uveden bifázový čtvercový pulz složený z několika paketů.

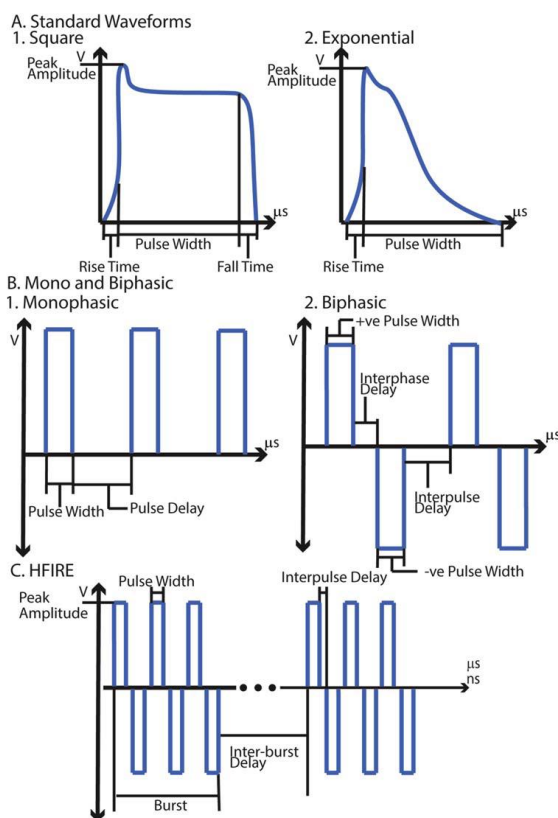
Nastavení všech parametrů, které zajistí ideální ablační účinek je výsledkem rozsáhlých experimentů a empirických pozorování. Jelikož prakticky všechny parametry lze téměř libovolně upravovat, vzniká tak nepřehledné množství možných technických provedení ablační terapie. Pro usnadnění výběrů parametrů je možné využít matematických a fyzikálních modelů, které umožní simulovat efekt konkrétního ablačního protokolu pro danou tkáň. [5, 20–25]

2.4.1 Amplituda ablačního pulzu

Amplituda napětí má přímý efekt na intenzitu elektrického pole při šíření tkáněmi. Vyšší amplituda znamená větší účinnost při navození buněčné smrti, zároveň ale také znamená větší nárůst teploty vlivem Joulova ohřevu. Dalším rizikem je navození svalových kontrakcí při ablacích v blízkosti nervových vláken, nárůst vzniklých plyných mikroembolií a nárůst rizika vzniku elektrického oblouku, který by způsobil nežádoucí poškození. [5, 20–25]

2.4.2 Tvar ablačního pulzu

V dnešní době se nejčastěji využívá čtvercových pulzů, u kterých se dále rozhoduje mezi monofázovým či bifázovým provedením. Historicky se experimentovalo také s DC proudem, ten však způsoboval příliš vysoký ohřev a představoval další bezpečnostní rizika a není tak v moderním klinickém nasazení využit. Často využívané pulzy jsou zobrazeny na obrázku 2.8. [5, 42]



Obrázek 2.8: Typické tvary pulzů využívaných při elektroporacích, převzato z [24]

Bifázové pulzy jsou většinou upořádány jako sled čtvercových pulzů střídajících fázi s prodlevou mezi jednotlivými pulzy. Pulz má velmi krátkou dobu trvání, často v rámci jednotek nanosekund, prodleva mezi pulzy je relativně dlouhá, dosahující až jedné milisekundy. Hodnoty se ovšem mohou řádově výrazně měnit podle konkrétního uspořádání procedury. Výhodou bifázových pulzů je redukce Joulova ohřevu a svalových kontrakcí, dále také snížení rizika nežádoucích jevů jako vzniku plyných mikroembolií či elektrického oblouku. Zároveň ale klesá terapeutický efekt a je tedy nutné najít rovnováhu parametrů. [5, 20–25, 43]

Monofázové pulzy mají prakticky opačné účinky než pulzy bifázové, poskytují největší terapeutický efekt, ale zároveň přináší vyšší riziko svalových kontrakcí, vzniku plyných mikroembolií a elektrického oblouku a dochází k výraznějšímu nárůstu teploty vlivem Joulova tepla. Opět je nutné pečlivě zvážit všechny parametry a najít rovnováhu, stejně jak ukazuje Mercadal et al. ve své studii, kde byly úspěšně aplikován monofázový pulz bez výskytu nežádoucích jevů. [5, 20–25, 44]

2.4.3 Doba vystavení tkáně pulzům

Při aplikaci rapidních pulzů s prodlevou v rámci nanosekund až mikrosekund, je jejich efekt na tkáň kumulativní a lze na něj pohlížet jako na kolektivní pulz neboli paket. Množství pulzů v paketu zvyšuje trvání tohoto kolektivního pulzu, a to zvyšuje účinnost ablační procedury zároveň s výskytem výše zmíněných nežádoucích jevů. Obdobné pravidlo platí i při aplikaci více paketů v řadě. Obecně tedy delší celková doba vystavení tkáně pulzům přináší vyšší účinnost v navození buněčné smrti ale zároveň vyšší riziko výskytu nežádoucích jevů a vyšší celkový nárůst teploty. [5, 20–25]

2.5 Účinek pulzů na různé tkáně

Co dále ovlivňuje vývoj ablace je samotná tkáň, která je elektrickým polem zasažena. Různé tkáně reagují odlišně na stejný ablační protokol. Například tkáň s menšími buňkami mění membránový potenciál rychleji ale do menší míry než v tkáni s většími buňkami. Tkáň jako nervy či kardiomyocyty přirozeně reagují na elektrickou aktivitu odlišně než kupříkladu svaly. [5]

2.5.1 Kardiomyocyty

Při aplikaci elektrického pole na srdeční tkáň dochází v intervalu několika hodin k viditelnému zarudnutí v místě působení. Je pozorovatelný jasný přechod mezi zasaženou a nedotčenou tkání, kdy nedotčená tkáň zarudnutí nevykazuje. Po několika dnech se v místě zásahu objevují příznaky zánětlivé reakce. Okolo dvou týdnů je zánětlivá reakce téměř u konce a dochází k náhradě tkáně fibroblasty. Poté se dále tvoří jizva a nedochází k obnově kardiomyocytů v zasažené oblasti. [5]

2.5.2 Nervová tkáň

Li et al. [44] ve své studii popisuje experiment kdy na krysí ischiatický nerv aplikovali tři čtvercové pulzy o intenzitě 3800 V/cm a délce 100 μ s. Po zákroku proběhly kontroly ischiatického nervu a jeho funkcí, a to ihned po zákroku, tři dny a jeden, tři, pět, sedm a deset týdnů po zákroku. Výsledky ukazují na omezenou funkci nervu až do třetího týdne po zákroku. Od sedmého týdne nerv nabývá normální činnosti. [45]

Nervová tkáň je tedy dolnější vůči dlouhodobému poškození, a i při akutním poškození dokáže částečně zachovat svoji funkčnost a v rámci několika týdnů se zcela uzdravit.

2.5.3 Cévní tkáň

Cévy jsou tkání, která by mohla představovat bezpečnostní riziko při nežádoucím zasažení elektrickým polem. Bylo prověřeno, že cévy a kardiomyocyty mají podobné úrovně kritických hodnot pro ireversibilní elektroporaci. Jelikož ale ablace zachová extracelulární matrici tkání, dochází k regeneraci buněk a zachování funkčnosti cév. Použití IRE pro ablaci v blízkosti cév by tedy nemělo vyústit ve větší komplikace spojené se zasažením cévy elektrickým polem [5, 46]

2.6 Nežádoucí účinky ablace elektrickým polem

Jak již bylo zmíněno v předchozích kapitolách, vlivem elektrického pole může dojít ke vzniku nežádoucích jevů, které mohou představovat zásadní bezpečnostní riziko. V této kapitole jsou stručně popsány některé významné nežádoucí efekty a jejich následky.

2.6.1 Svalové kontrakce

Při aplikaci elektrického pole v blízkosti nervů může dojít k jejich stimulaci a vyvolání svalových kontrakcí. Taková kontrakce může vyvinout dostatečnou sílu a narušit rozmístění elektrod, či zasáhnout do plánovacích metod zákroku. I malý pohyb pacienta na operačním stole může způsobit vychýlení celého plánovacího systému, následně by bylo potřeba znovu provést mapování prostoru ablace, čímž se výrazně prodlouží doba celého zákroku. [5, 47]

2.6.2 Vznik plyných mikroembolií

Příčina vzniku plyných mikroembolií se liší pro aplikace využívající tepelné účinky a aplikace využívající elektrická pole. V případě tepelných aplikací může docházet ke vzniku mikrobublinek vlivem přehřívání tkání a tekutin v místě působení, oproti tomu v případě použití elektrického pole se může jednat o vliv elektrolýzy. Mikrobublinky jsou

složené převážně z kyslíku či vzduchu, nicméně použití medicinálních plynů jako dusíku, oxidu uhličitého a oxidu dusného může také vyvolat vznik mikrobublinek. [5, 48, 49]

Mikrobublinky jsou schopny podle jejich velikosti nezanedbatelně omezit proudění krve a vyvolat tak ischemii v tkáních. Zároveň je spuštěna zánětlivá odpověď v reakci na mikrobublinky jako tělu neznámou látku. Dále již velmi malé množství plynu (0,1-0,2 ml) je schopné vyvolat cévní mozkovou příhodu, pokud se mikrobublina dostane až do mozku. [48, 49]

2.6.3 Rázové vlny

Vznik rázové vlny úzce souvisí s tvorbou bublin vlivem hydrolyzy krve při aplikaci elektrických pulzů do tkáně. Pokud dojde k vytvoření dostatečně velké bubliny, která je schopna obalit a izolovat celou elektrodu od krve dochází k nárůstu impedance a přerušení proudu elektronů z elektrody do krve, respektive do tkáně. Proud elektronů do elektrody nicméně neustává a ty se akumulují, dokud nedosáhnou dostatečné hustoty pro vytvoření oblouku. Oblouk probíje mezi elektrodou a tkání a dosahuje teplot v řádu tisíců stupňů celsia. Tak rapidní a drastický nárůst teploty způsobí další tvorbu bublin a tím drastický nárůst tlaku, což může mít za následek rupturu tkání. [5, 50]

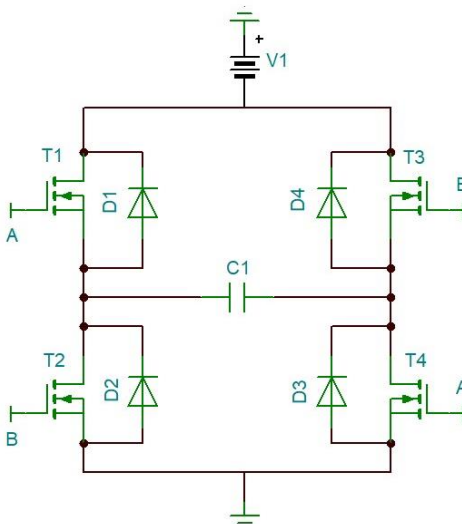
Poškození tkání rázovou vlnou bylo velmi problematické při použití DC proudu pro ablační proceduru. S moderními technologiemi a přechodem na alternativní průběhy pulzů již prakticky nedochází ke vzniku oblouků a rázových vln, které by způsobovaly tak drastické poškození. [5]

2.7 Generátor elektroporačních pulzů

V neposlední řadě se také chci věnovat možnému provedení návrhu generátoru pulzů vhodných pro ablační terapii neboli elektroporátoru, respektive jeho hlavním částem. Jak již bylo zmíněno, nejčastější tvar pulzů při ablacích elektrickým polem je bifázový čtvercový pulz o běžné délce trvání řádově v nanosekundách až mikrosekundách [5], je tedy zapotřebí vytvořit obvod, který dokáže tvarovat napětí libovolné amplitudy.

Elektroporátor použitelný v praxi by tedy měl splňovat následující požadavky: nastavení amplitudy v rozmezí stovek až tisíců voltů, tvar vlny čtvercový bifázový, případně nastavitelný s různými režimy, doba trvání pulzů řádově od jednotek nanosekund až po milisekundy.

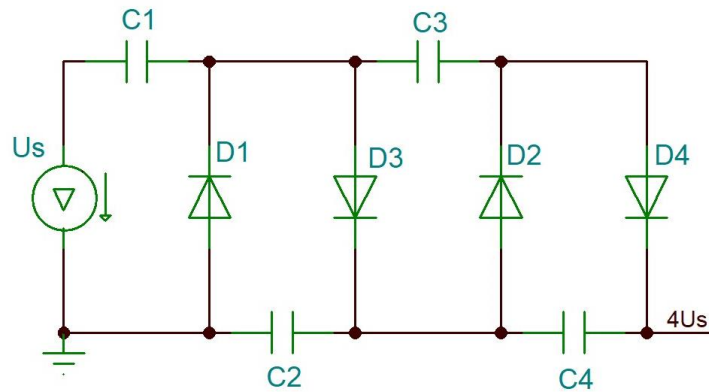
Pro realizaci obvodu schopného generovat rychlé skoky v napětí je zapotřebí tranzistorů, které tak vysokou frekvenci spínání umožňují s dostatečnou účinností. Pro tyto účely mohou být vhodným kandidátem MOSFET tranzistory, jelikož se obecně vyznačují vysokou spínací rychlostí oproti typům BJT nebo IGBT. [51] Tranzistory je možné umístit do tzv. H-můstku a vytvořit tak jednoduchý obvod, který dokáže přepínat polaritu napětí. H-můstek je znázorněn na obrázku 2.9.



Obrázek 2.9: Schéma H-můstku, převzato z [52], upraveno.

Princip H-můstku spočívá v čase sepnutí tranzistorů, na obrázku 2.9 označených T1 až T4. Vždy jsou totiž sepnuty dva tranzistory, a to buďto T1 a T4, nebo T2 a T3. Zátěží, na schématu kondenzátor C1, tedy probíhá proud nejprve jedním směrem a při přepnutí větví se polarita obrátí a proud protéká směrem druhým. Pro zajištění správného průběhu proudu je navíc možné použít diody, na schématu označené D1 až D4. Při vhodném nastavení přepínání a dostatečné rychlosti sepnutí je takto možné vytvořit čtvercové pulsy se střídající se polaritou, tedy přesně námi požadovaný průběh pulzu pro IRE. [52]

Nastavení amplitudy je možné provést pomocí násobiče napětí, schéma je zobrazeno na obrázku 2.10. Jedná se o jednoduchý obvod, který zpravidla pomocí kondenzátorů a diod přemění střídavý proud na proud stejnosměrný o amplitudě rovné celočíselnému násobku maximální hodnoty střídavého proudu. Podle konstrukce násobiče je pak možné získat různé násobky napětí, běžně dvou až čtyřnásobky, ale limit násobení je teoreticky neomezený. Z praktického hlediska by byl při vyšších násobcích přítomný také velký šum a bylo by obtížné průběh signálu kvalitně vyhladit. Velmi kvalitní násobiče mohou umožňovat výstupní napětí v řádu tisíců voltů, předpokládají ale velmi nízké proudy v řádech miliampérů. [53]



Obrázek 2.10: Schéma násobiče napětí, převzato z [54], upraveno

Princip činnosti násobiče napětí spočívá v nabíjení kondenzátorů $C1$ až $C4$ na hodnotu napětí zdroje U_s střídavého napětí. Díky rozmístění diod $D1$ až $D4$ se pak na kondenzátory můžeme dívat jako na sériově spojené zdroje a v takovém případě se napětí které dodávají do obvodu sčítá. Získáváme tak násobek původního napětí, který je možný regulovat podle počtu kondenzátorů v obvodu.

Pro účely konstrukce elektroporačního přístroje jsou tyto dva obvody nenahraditelné. Násobič napětí umožňuje nastavit požadovanou amplitudu a slouží jako napájení pro H-můstek, který tvaruje napětí do požadovaného průběhu. Pro účely simulací ovšem není potřeba násobič napětí implementovat, jelikož v simulačním programu je amplituda řízena zadávaným parametrem na zdroji napětí.

3 Cíle práce

Hlavním cílem této práce je pomocí programu COMSOL Multiphysics vytvořit numerický model ouška levé síně srdeční (OLS), na kterém budou provedeny simulace rozložení elektrického pole, a to pro různá nastavení materiálových vlastností srdeční tkáně. Scénáře se týkají relativní permitivity a elektrické vodivosti a podle zadání byly scénáře následující:

- 1) Relativní permitivita i elektrická vodivost mají konstantní hodnotu podle odborné literatury,
- 2) Relativní permitivita je konstantní, elektrická vodivost je závislá na intenzitě elektrického pole,
- 3) Relativní permitivita je rovna jedné, elektrická vodivost je konstantní,
- 4) Relativní permitivita je rovna jedné, elektrická vodivost je závislá na intenzitě elektrického pole.

V modelu budou obsaženy přilehlé tkáně OLS, tedy nervus phrenicus (NP), tepna levý cirkumflex (LCx) a také prstenec elektrod. Elektrody budou napájeny ze simulovaného elektrického obvodu, který bude poskytovat vhodný průběh stimulačního pulzu – tedy bifázický čtvercový průběh, o amplitudě 1 000 V a době trvání jednoho pulzu v řádu mikrosekund.

Po provedení simulací bude graficky zobrazeno rozložení intenzity elektrického pole E v různých řezech, dále bude proveden výpočet objemu zasažené tkáně určitou hodnotou intenzity elektrického pole, výpočet elektrického proudu tekoucího elektrodami do tkáně a výpočet elektrického odporu mezi elektrodami a tkání.

Nakonec proběhne ověření modelů pomocí pilotního experimentu, při kterém budou naměřeny průběhy elektroporačních pulzů pomocí osciloskopu. Podle naměřených hodnot napětí bude určena velikost odporu elektrod a tkání a velikost proudu protékajícího do tkáně. Výsledky experimentu budou následně komparovány s výsledky simulací a bude zhodnoceno, kterému scénáři experiment nejlépe odpovídá. Zároveň s pomocí infrakamery bude naměřena teplota v blízkosti elektrod pro prozkoumání výpovědní hodnoty teplotních simulací.

4 Metody

V této kapitole jsou popsány postupy využití při tvorbě numerického modelu OLS, přilehlých tkání, prstence stimulačních elektrod a dále nastavení materiálových vlastností a scénářů pro různé hodnoty. Dále jsou popsány náležitosti simulovaného elektrického obvodu a uspořádání experimentu pro ověření simulací.

4.1 Tvorba numerického modelu

Model byl tvořen v prostředí programu COMSOL Multiphysics, kde lze zjednodušenými tvary idealizovat složitou reálnou stavbu anatomických struktur a provést komplexní výpočty, které by byly bez pomoci numerického simulátoru příliš obtížné.

Tvoření modelu bylo rozděleno do několika po sobě jdoucích kroků. Nejprve bylo nutné nastavit samotné prostředí modelu, tedy 3D prostor, a určit příslušné obory fyzikálních studií, které mají být použity. Dále bylo zapotřebí zvolit jak stacionární, tak časově závislou oblast studie. Dalším důležitým, ač z pohledu proveditelnosti simulace nepovinným krokem, bylo definování parametrů, kterým byla přiřazena určitá velikost a jednotka. Parametry slouží jako globální proměnná pro použití napříč celým modelem.

V dalším kroku byla vytvořena samotná geometrie modelu. Zde se volily vhodné tvary, rozměry a jejich vzájemná poloha. Těmto tvarům byl poté přiřazen příslušný materiál, který nadále reprezentovaly. Pro přiřazení je možné využít vestavěnou knihovnu materiálů jenž je obsažena přímo v programu COMSOL, či vytvořit prázdný materiál a vlastnosti přiřadit libovolně.

Po určení materiálu všech objektů bylo potřeba nastavit parametry simulace. V případě studie elektrických proudů je především důležité správné rozložení zdrojových elektrod a zemnicích elektrod, při teplotních simulacích je důležité nastavit všechny objekty v simulaci jako zdroj tepla. Je nutné, aby každý objekt v modelu byl zařazen do alespoň jedné skupiny studie, v opačném případě by nebyl součástí simulace.

Program COMSOL nabízí řadu možností zobrazení výsledků simulace. K dispozici je například zobrazení rozložení volené veličiny ve vybraném objemu či řezu rovinou, nechybí ani vykreslení grafů či označení maximálních a minimálních hodnot.

4.1.1 Parametry

Ačkoli definice parametrů není při tvorbě modelu nutná, je to postup, který může ušetřit spoustu času a zároveň usnadnit přehlednost. Parametry je možné používat napříč celým modelem, a proto je dobré je definovat na začátku práce. Parametry mohou mít jakoukoli velikost a jednotku.

V této práci byly použity parametry, jenž se týkají rozměrů a vzdáleností útvarů. Velikosti aplikátoru a elektrod byly poskytnuty vedoucím projektu. Aby bylo možné zjistit rozměry jednotlivých struktur, byl využit program Mimics Materialise, který umožňuje pomocí snímků z CT vytvořit přesný model anatomických struktur. V tomto programu bylo následně pomocí vestavěných funkcí proměřeno vzdálenosti NP a LCx od OLS a jejich průměr.

Reálné nervy a cévy mají proměnlivé rozměry a pohybují se v řádu jednotek milimetrů, ve své velikosti se také liší individuálně u každého jednotlivého pacienta. [55] V rámci této práce je cílem sestavit zjednodušený model, který umožňuje simulovat obecný princip problematiky. Nebudou tedy brány v potaz veškeré jednotlivé odchylky. Po změření byla jako hodnota parametru zapsána přibližná hodnota, která se podobá hodnotě naměřené. Parametry použité v modelu jsou vidět na obrázku 4.1.

Name	Expression	Value
a_semiaxis	11.5[mm]	0.0115 m
b_semiaxis	9[mm]	0.009 m
x0	6.8927[mm]	0.0068927 m
y0	$b_semiaxis * \sqrt{1 - x0^2 / a_semiaxis^2}$	0.0072043 m
ellipse_h	$(a_semiaxis - b_semiaxis)^2 / (a_semiaxis + b_semiaxis)^2$	0.014872
ellipse_perimeter	$\pi * (a_semiaxis + b_semiaxis) * (1 + 3 * ellipse_h / (10 + \sqrt{4 - 3 * ellipse_h}))$	0.064642 m
alpha	$50 / 180 * \pi$	0.87266
applicator_height	8[mm]	0.008 m
electrode_radius	(1.43/2)[mm]	7.15E-4 m
electrode_length	3[mm]	0.003 m
phrenicus_radius	0.5[mm]	5E-4 m
phrenicus_length	30[mm]	0.03 m
vzdalenost	1.2[mm]	0.0012 m
LCx_radius	1.5[mm]	0.0015 m
LCx_delka1	8.4[mm]	0.0084 m
LCx_delka2	13.7[mm]	0.0137 m
LCx_delka3	11.4[mm]	0.0114 m
LCx_delka4	16.2[mm]	0.0162 m
LCx_distance	1.7[mm]	0.0017 m

Obrázek 4.1: Seznam použitých parametrů, jejich velikost a jednotka

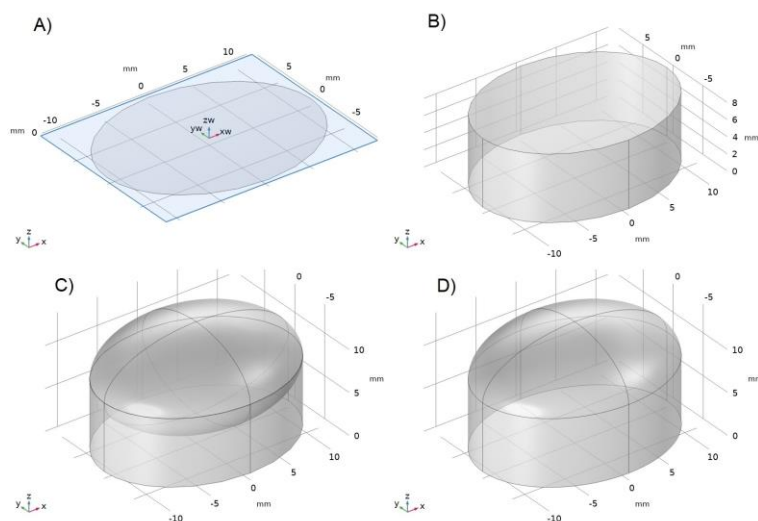
4.1.2 Geometrie modelu

Geometrii modelu je nutné tvořit postupně v krocích. Nejprve bylo potřeba určit který útvar je zamýšleno vytvořit. Na výběr je ze základních tvarů jako blok, koule, kužel a válec. K dispozici jsou také složitější tvary pro zmínění například spirála, elipsoidy, a mnoho dalších. Modelování komplikovanějších objektů, které nejsou součástí nabídky programu, je možné provést pomocí sjednocení či odčítání prvků, dokud nevytvoří požadovaný tvar. Zde byly například využity parametry pro definování přené velikosti objektů a jejich polohy v 3D prostoru modelu. S takto umístěnými objekty je možné provádět funkce jako například sjednocení, průnik, rotace, duplikace a mnohé další.

Pro potřeby této práce byl zvolen následující postup tvorby geometrie modelu:

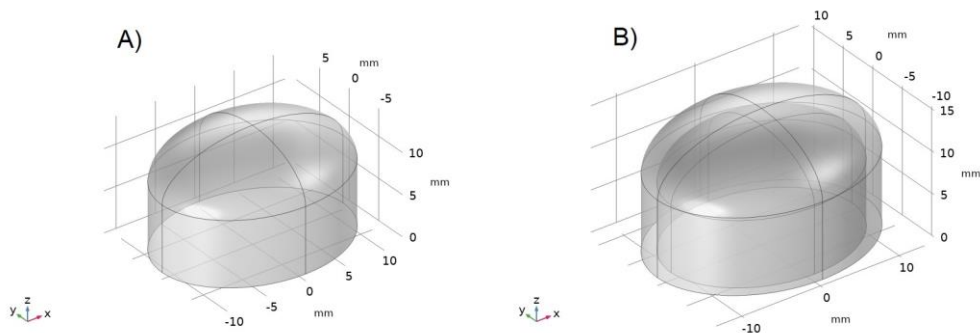
1. Levé ouško – krev a sval
2. Elektrody
3. Frenický nerv
4. Levý cirkumflex
5. Ohraničení

Levé ouško, viz obrázek 4.2., v této fázi zatím reprezentováno pouze krví obsažené uvnitř OLS, bylo vytvořeno plochou tvaru elipsy, která byla do prostoru vytlačena funkcí *Extrude* a následně zhora uzavřena další elipsou. Dále byly objekty sjednoceny a zůstává pouze finální tvar, viz obrázek 4.2.



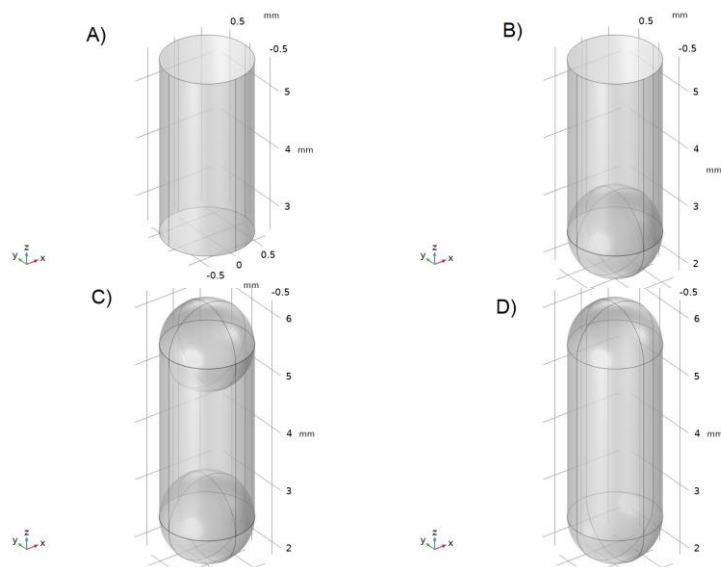
Obrázek 4.2: Model krve v levém oušku. A) Plocha tvaru elipsy jako základna. B) Plocha je funkcí *Extrude* vytlačena do prostoru. C) Na horní straně je vytvořena elipsa, která tvar uzavírá. D) Sjednocení tvarů funkcí *Union* zanechá jeden objekt

Pro vytvoření svalů, který krev obklopuje, lze vytvořit totožný tvar a zvětšit jej o určitou hodnotu, pro potřeby této práce byla zvolena přibližná hodnota 1,15. Model svalů s krví je zobrazen na Obr 4.3.

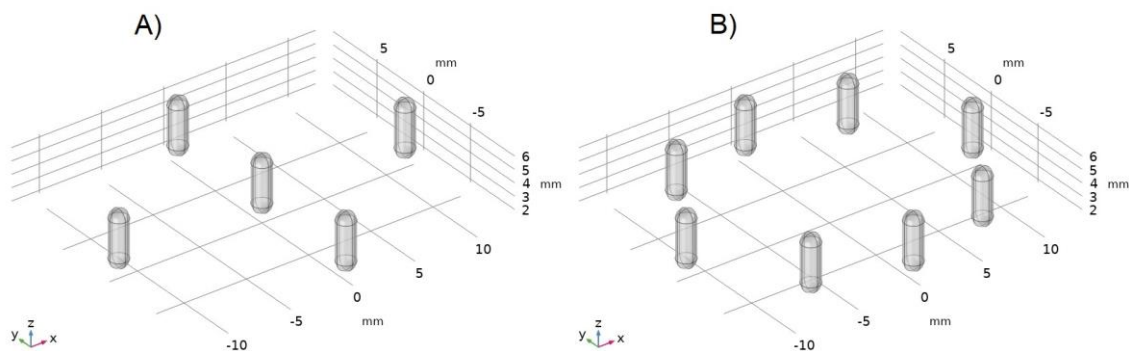


Obrázek 4.3: A) Krev. B) Svalová tkáň obklopující krev

Základ elektrod tvoří válec, jenž je na obou koncích zakončený koulí. Tvar po sjednocení je znázorněn na obrázku 4.4. Elektrody jsou rozmístěny na místo pomocí funkce *Copy* a vektoru, který řídí posunutí. Rozmístění elektrod je zobrazeno na obrázku 4.5

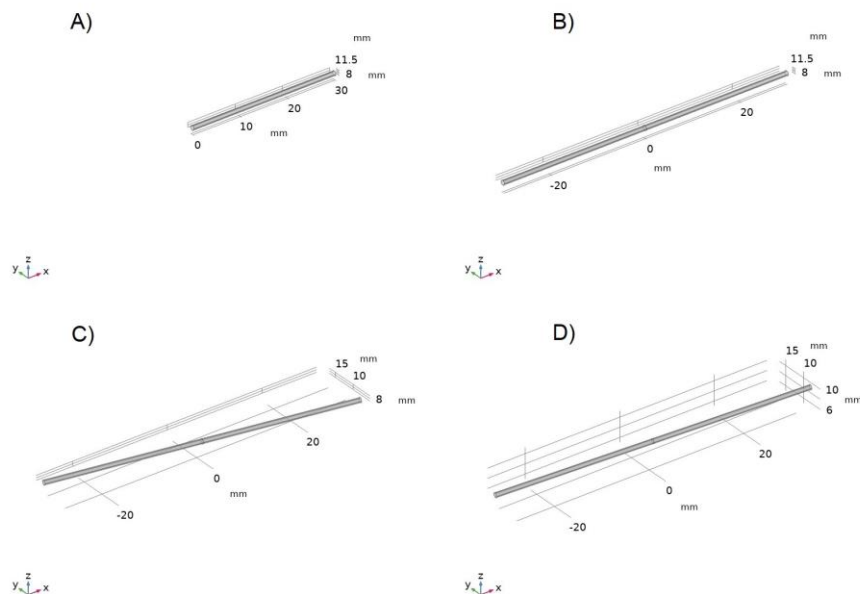


Obrázek 4.4: Model elektrody. A) Válec jako tělo elektrody. B) a C) Válec zakončený koulemi. D) Sjednocení tvarů, finální elektroda

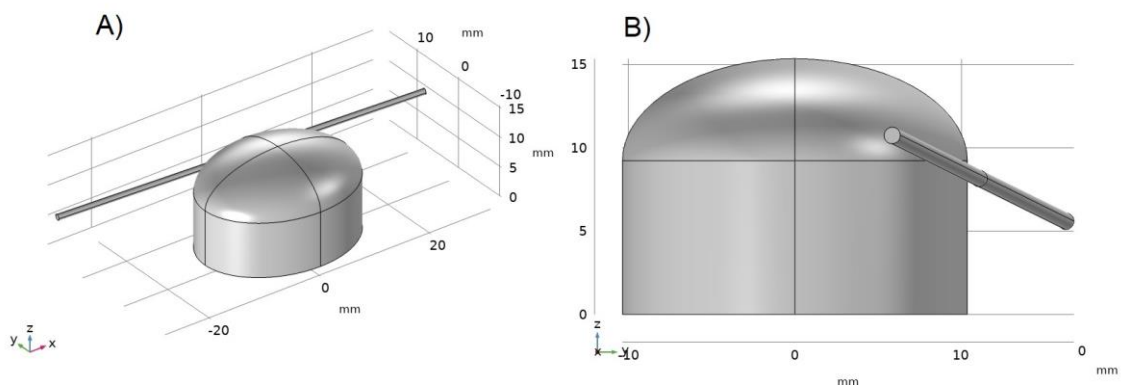


Obrázek 4.5: A) Rozmístění po první kopii s původní elektrodou uprostřed. B) Výsledné rozmístění elektrod po kopii druhé

Frenický nerv je tvarově taktěž jednoduchý. Tělo představuje válec, který byl v modelu tvořen dvěma částmi, nejprve prvním válcem a druhým válcem k němu zrcadlově otočeným. Tento postup tvorby modelu značně zjednodušuje manipulaci s válci a napomáhá snadnému určení konkrétního bodu rotace. NP totiž není vůči OLS kolmý, ale je natočený pod úhlem přibližně 10° okolo osy z a o 5° okolo osy y . Nejprve byla tedy vytvořena první půlka válce, ta byla následně zrcadlově otočena a bylo vytvořeno tělo celého NP. Po sjednocení tvarů pomocí funkce *Union* je NP otočen na finální umístění. Model NP je viditelný na obrázku 4.6 a poloha NP vzhledem k OLS na obrázku 4.7.

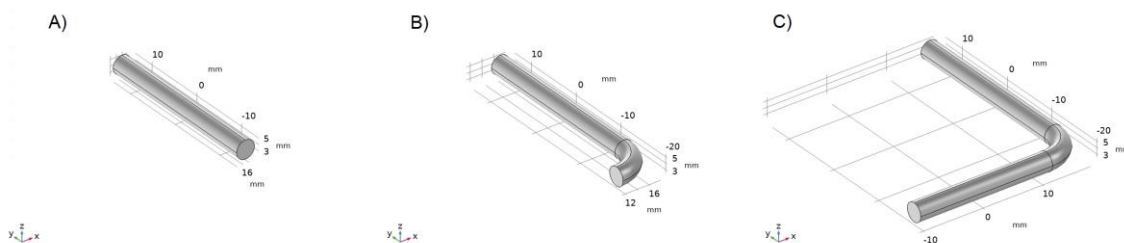


Obrázek 4.6: A) První polovina NP. B) Zrcadlově vytvořená druhá polovina NP, bod otáčení je ve středu NP. C) První rotace okolo osy z. D) Druhá rotace okolo osy y

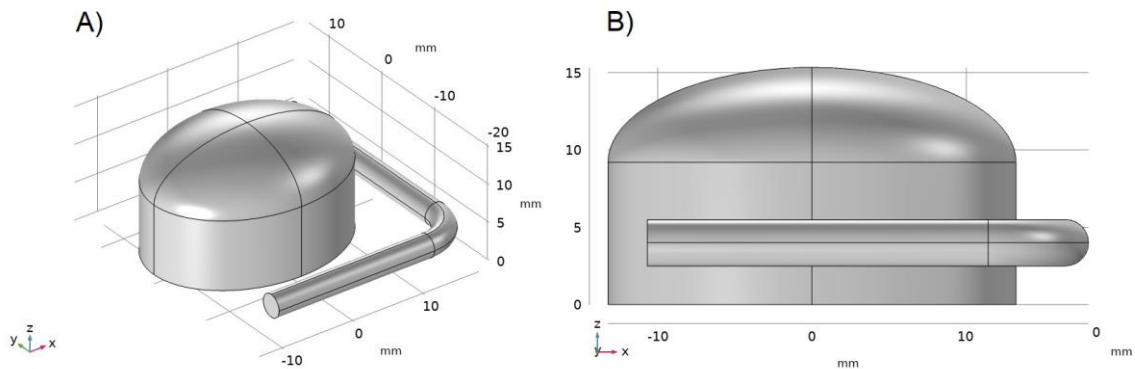


Obrázek 4.7: A) Poloha NP a OLS z výchozího pohledu B) Pohled z boku

Tělo LCx je tvořeno válcem, který zahýbá okolo OLS. LCx bylo tedy tvořeno třemi jednotlivými tvary, nejprve válec, oblouk a opět válec. Oblouk byl vytvořen pomocí toru, který koná pouze 90° rotace. Byl tak docílen pravý úhel otočení a na konec toru byl napojen zbytek LCx. Tělo LCx je na obrázku 4.8 a poloha vůči OLS je na obrázku 4.9.

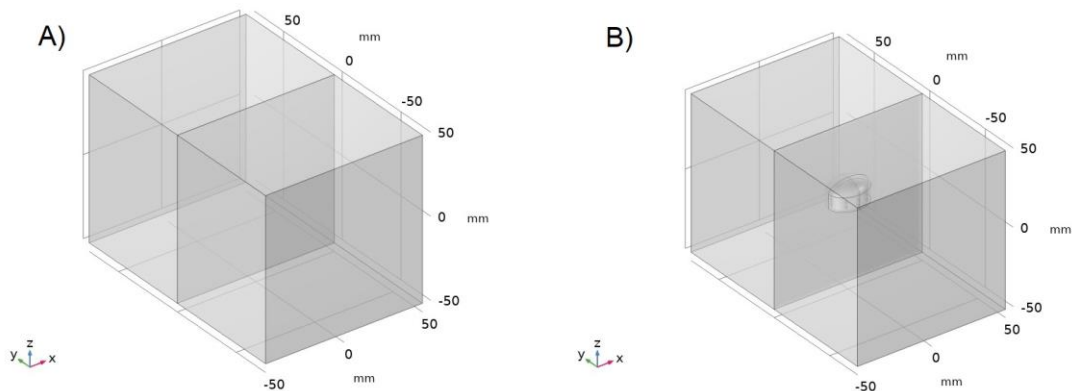


Obrázek 4.8: A) první část těla LCx. B) Ohyb tvořený neuzavřeným torem. C) Poslední část těla LCx a její finální podoba



Obrázek 4.9: Poloha LCx vůči OLS. A) Výchozí zobrazení B) Pohled ze strany

Model byl obklopen dvěma různými prostředími. Z jedné strany je svalová tkáň, ze strany druhé je vzduch. Rozdílná prostředí byly namodelovány jako dva bloky, které model rozdělují napůl a blokům byly poté přiřazeny různé vlastnosti. Bloky jsou zobrazeny na obrázku 4.10.



Obrázek 4.10: A) Bloky okrajových podmínek samostatně. B) Bloky spolu s OLS

4.1.3 Materiálové vlastnosti

Aby bylo možné provést jakoukoliv simulaci, je zapotřebí vytvořeným objektům přiřadit vlastnosti příslušného materiálu, který mají reprezentovat. Pro různé druhy studií jsou důležité různé parametry. Výhodou je, že je zapotřebí zadat pouze ty vlastnosti, které se přímo týkají konkrétní studie a v případě studie elektrických proudů je zapotřebí zadat pouze elektrickou vodivost σ (S/m) a relativní permitivitu ϵ_r (-), pro teplotní studie jsou zapotřebí hustota ρ (kg/m³), tepelná kapacita za konstantního tlaku C_p (J/kg·K) a tepelná vodivost k (W/m·K).

K určení vlastností materiálů, především tedy biologických tkání, je velkou pomocí volně dostupná databáze dielektrických vlastností, jež byla zpřístupněna nadací pro zlepšování bezpečnosti a kvality nových elektromagnetických technologií IT'IS Foundation. [56] Díky této databázi je možné zjistit dielektrické vlastnosti materiálů například svalů, krve, tukové tkáně a mnoha dalších. Materiály použité v projektu jsou

kev, sval, vzduch, nervová tkáň a nerezová ocel duplex 2101 a jejich dielektrické vlastnosti pro elektrické simulace jsou v tabulce 4.1.

Tabulka 4.1: Hodnoty relativní permitivity a elektrické vodivosti příslušných materiálů

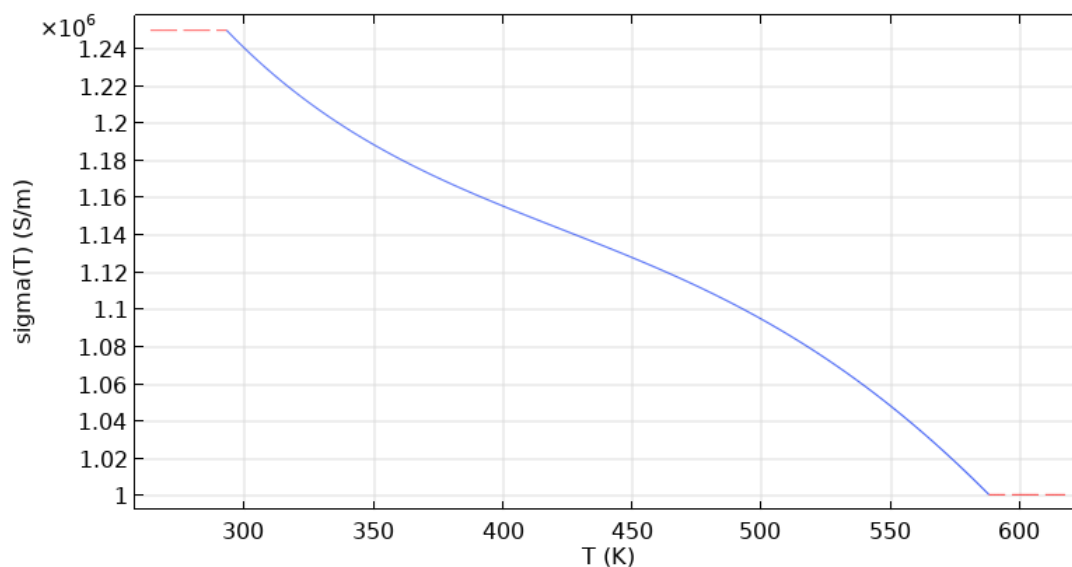
Materiál	Relativní permitivita ϵ_r (-)	Elektrická vodivost σ (S/m)
Krev	4 190,00	0,660
Svalová tkáň	$2,74 \cdot 10^5$	0,733
Vzduch	1	0,01
Nervová tkáň	4 190,00	0,348
Nerezová ocel duplex 2101	1,00	σ_{ocel} *

* Hodnota označuje funkci závislosti parametru a je převzata z vestavěné knihovny COMSOL

Funkce pro elektrickou vodivost nerezové oceli je řízena teplotou T, její předpis s počáteční a koncovou hodnotou teploty v Kelvinech je vidět na obrázku 4.11, její průběh pak na obrázku 4.12.

Start	End	Function
293.0	588.0	$1/(1.110399E-14*T^3-1.387961E-11*T^2+6.197833E-09*T-1.037212E-07)$

Obrázek 4.11: Předpis funkce určující elektrickou vodivost oceli σ_{ocel}



Obrázek 4.12: Průběh funkce řídící elektrickou vodivost oceli σ_{ocel}

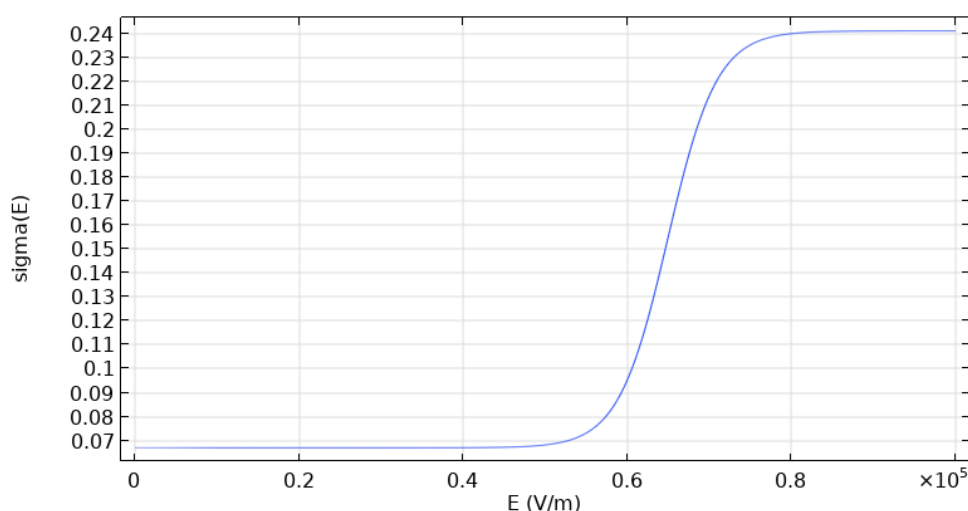
Pro přehlednost jsou zde uvedeny také materiálové vlastnosti při jednotlivých scénářích tak, jak jsou zadané v simulátoru.

Tabulka 4.2: Hodnoty relativní permitivity a vodivosti srdeční tkáně pro dané scénáře

Scénář	Relativní permitivita ϵ_r (-)	Elektrická vodivost σ (S/m)
1	90,8	0,733
2	90,8	$\sigma_{\text{srdce}}(E)^*$
3	1	0,733
4	1	$\sigma_{\text{srdce}}(E)^*$

* Tyto hodnoty označují analytickou funkci závislosti vodivosti σ na intenzitě el. pole E

Funkce závislosti elektrické vodivosti srdeční tkáně $\sigma_{\text{srdce}}(E)$ na intenzitě elektrického pole byla vytvořena analytická funkce podle [60] a [61], na obrázku 4.13 je vidět její průběh.



Obrázek 4.13: Závislost elektrické vodivosti σ_{srdce} na intenzitě elektrického pole

Dále jsou v tabulce 4.3 uvedeny materiálové vlastnosti pro teplotní simulace, tedy hustota ρ , tepelná kapacita za konstantního tlaku C_p a tepelná vodivost k .

Tabulka 4.3: Materiálové vlastnosti pro teplotní simulace

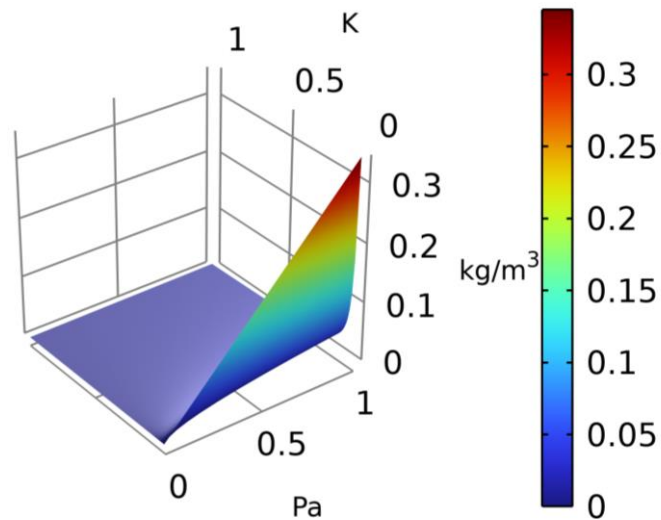
Materiál	Hustota ρ (kg/m ³)	Tepelná kapacita za konstantního tlaku C_p (J/kg·K)	Tepelná vodivost k (W/m·K)
Krev	1050	3617	0,52
Svalová tkáň	1081	3686	0.56
Vzduch	ρ_{vzduch}^*	$C_{p_{\text{vzduch}}}^*$	k_{vzduch}^*
Nervová tkáň	1075	3613	0.49
Nerezová ocel duplex 2101	ρ_{ocel}^*	$C_{p_{\text{ocel}}}^*$	k_{ocel}^*

* Tyto hodnoty označují analytickou funkci z vestavěné knihovny materiálů programu COMSOL.

Předpisy a průběhy jednotlivých vestavěných funkcí pro hustotu, tepelnou kapacitu a tepelnou vodivost vzduchu jsou na následujících obrázcích.

Expression: $pA \cdot 0.02897 / R_{\text{const}} [K \cdot \text{mol} / J] / T$
 Arguments: pA, T

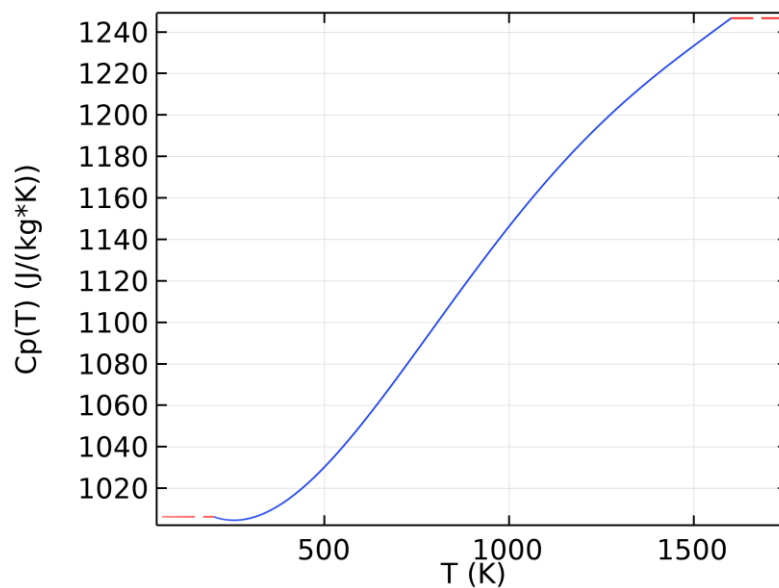
Obrázek 4.14: Výraz funkce určující hustotu vzduchu ρ_{vzduch} , parametry jsou tlak a teplota



Obrázek 4.15: Analytická víceparametrová funkce určující hustotu vzduchu ρ_{vzduch}

Start	End	Function
200.0	1600.0	$1047.63657 - 0.372589265 \cdot T^1 + 9.45304214 \cdot 10^{-4} \cdot T^2 - 6.02409443 \cdot 10^{-7} \cdot T^3 + 1.2858961 \cdot 10^{-10} \cdot T^4$

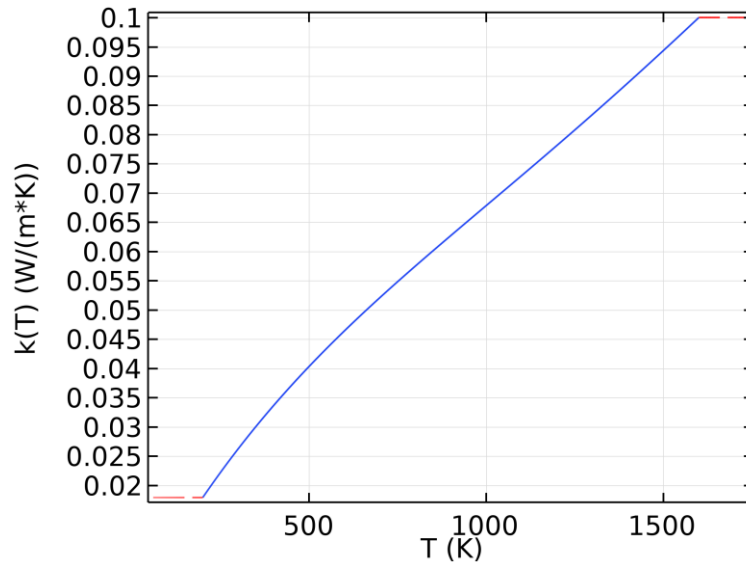
Obrázek 4.16: Předpis funkce určující tepelnou kapacitu vzduchu $C_{p_{\text{vzduch}}}$



Obrázek 4.17: Průběh funkce tepelné kapacity vzduchu $C_{p_{\text{vzduch}}}$

Start	End	Function
200.0	1600.0	$-0.00227583562 + 1.15480022E-4 * T^1 - 7.90252856E-8 * T^2 + 4.11702505E-11 * T^3 - 7.43864331E-15 * T^4$

Obrázek 4.18: Předpis funkce určující tepelnou vodivost vzduchu k_{vzduch}

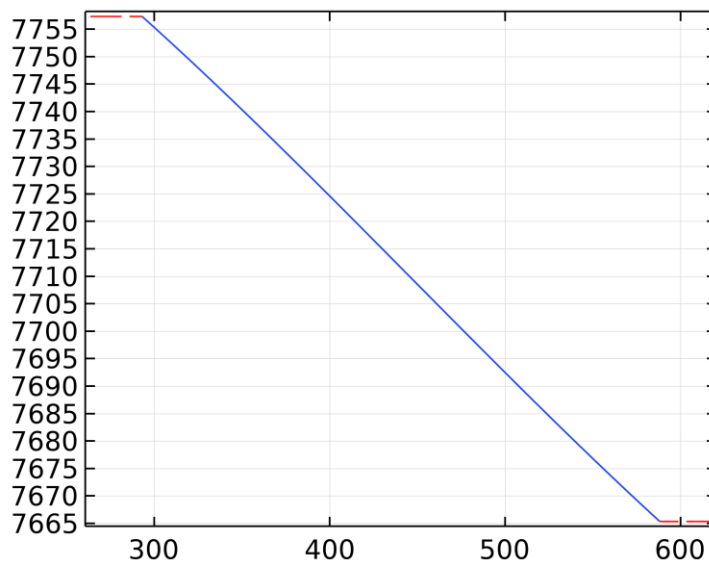


Obrázek 4.19: Průběh funkce tepelné vodivosti vzduchu k_{vzduch}

Předpisy a průběhy jednotlivých vestavěných funkcí pro hustotu, tepelnou kapacitu a tepelnou vodivost vzduchu jsou na následujících obrázcích

Start	End	Function
293.0	588.0	$7808.381 - 0.01837453 * T^1 - 6.803493E-4 * T^2 + 5.067998E-7 * T^3$

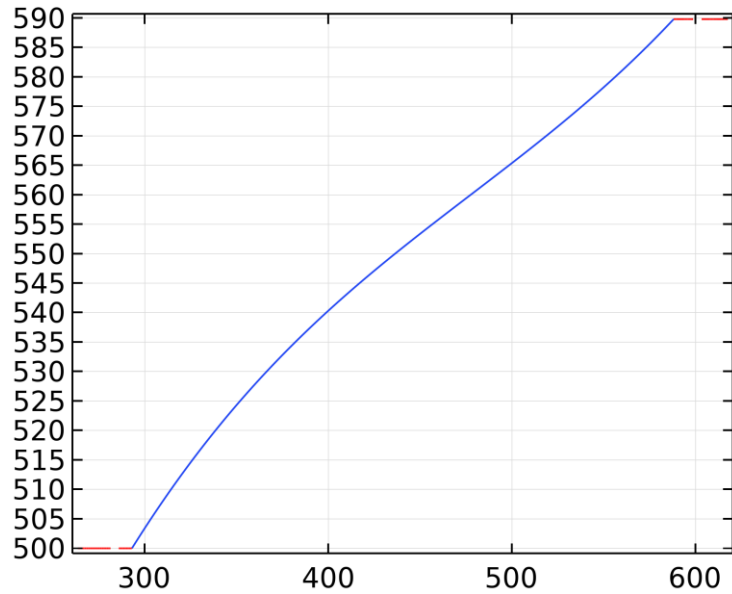
Obrázek 4.20: Předpis funkce hustoty oceli ρ_{ocel}



Obrázek 4.21: Průběh funkce hustoty oceli ρ_{ocel}

Start	End	Function
293.0	588.0	$168.437966 + 1.9833616 \cdot T - 0.00365458551 \cdot T^2 + 2.55149106E-6 \cdot T^3$

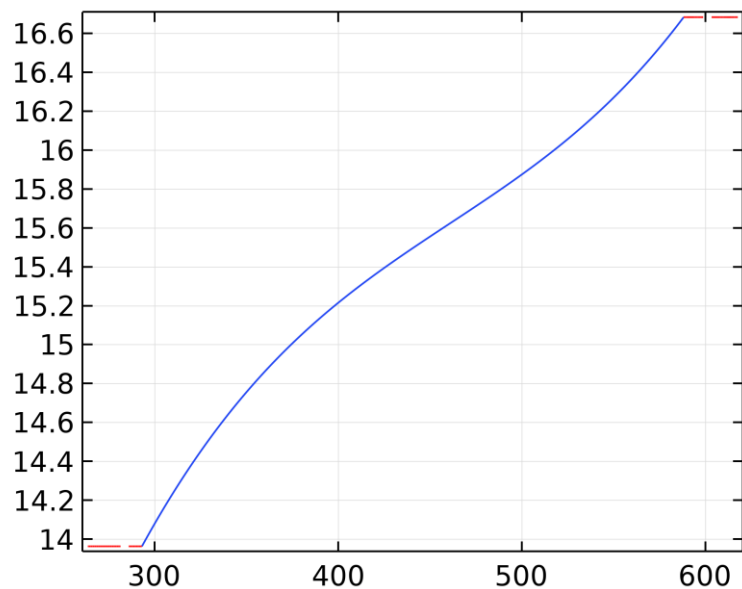
Obrázek 4.22: Předpis funkce tepelné kapacity oceli $C_{p_{ocel}}$



Obrázek 4.23: Průběh funkce tepelné kapacity oceli $C_{p_{ocel}}$

Start	End	Function
293.0	588.0	$-0.005279774 + 0.08929753 \cdot T - 1.802642E-4 \cdot T^2 + 1.303917E-7 \cdot T^3$

Obrázek 4.24: Předpis funkce tepelné vodivosti oceli k_{ocel}

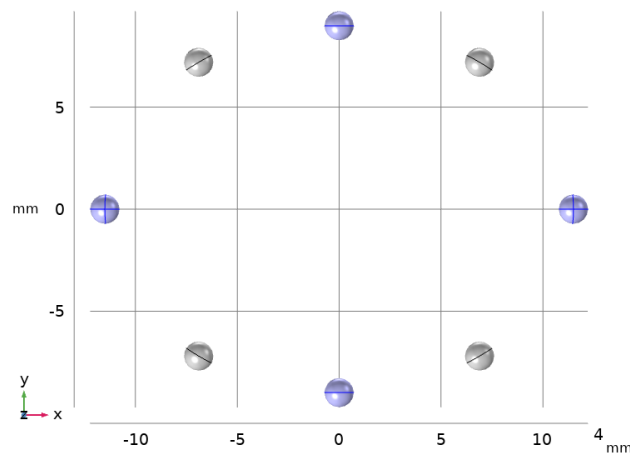


Obrázek 4.25: Průběh funkce tepelné vodivosti oceli k_{ocel}

4.1.4 Studie elektrických proudů

Při nastavení studie bylo zapotřebí nastavit pět kategorií, které určují, jak daný objekt reaguje na elektrické pole. *Electric conservation* obsahuje ve výchozím nastavení všechny objekty, ovšem v případě elektrod byla tato kategorie přepsána. *Electric insulation* definuje okrajové podmínky hraničních bloků. *Initial values* udává počáteční hodnotu všech objektů, která je v tomto případě 0 V. *Terminal* označuje zdroj napětí či proudu, který propojuje model s elektrickým obvodem, který je blíže popsán dále. Do této kategorie patří aktivní elektrody, které přivádí elektroporační pulz do tkáně. Napětí terminálu je nastaveno na 1 000 V. A nakonec *Ground* je kategorie pro zemnicí elektrody, a tedy napětí je rovno 0 V.

Rozložení aktivních a zemnicích elektrod bylo zvoleno tak, aby vzniklé elektrické pole bylo co nejvíce homogenní. Toho bylo dosaženo tím, že každá aktivní elektroda je z vždy mezi dvěma zemnicími elektrodami. Rozložení elektrod je znázorněno na obrázku 4.11.

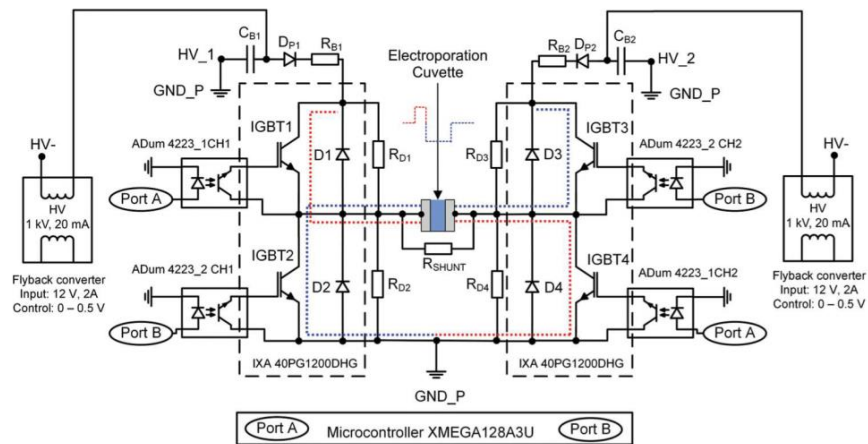


Obrázek 4.11: Rozložení elektrod. Aktivní elektrody jsou modré, zemnicí šedé, pohled shora

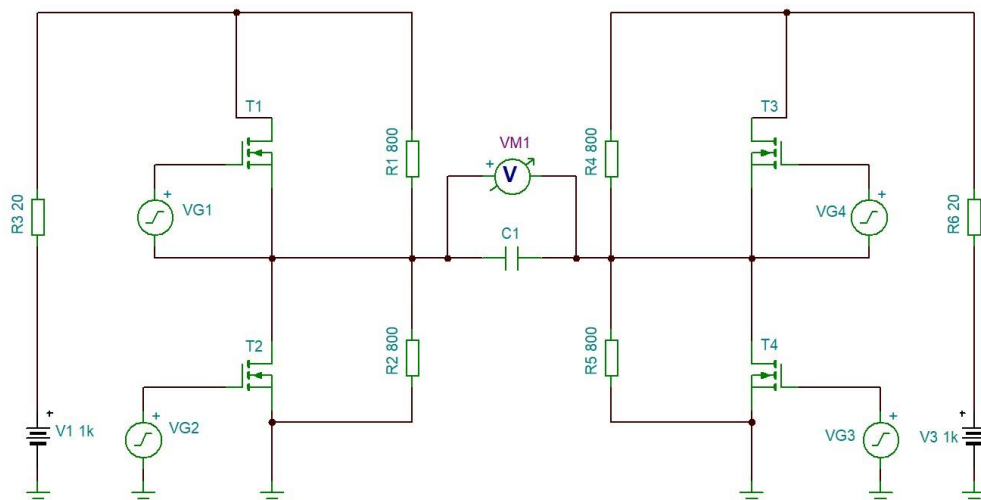
Elektrické simulace jsou počítány pomocí časově závislých studií, které svým trváním a časovým krokem berou ohled na elektroporační pulz popsany v následujících kapitolách. Trvání simulací je 100 μs a časový krok je 0,5 μs . Po dokončení simulace bylo vytvořeno grafické znázornění rozložení intenzity elektrického pole v objemu celého simulovaného objektu a také samostatných částí a byla určena maximální hodnota intenzity a její rozložení v objemu tkání.

4.1.5 Elektrický obvod v simulátoru

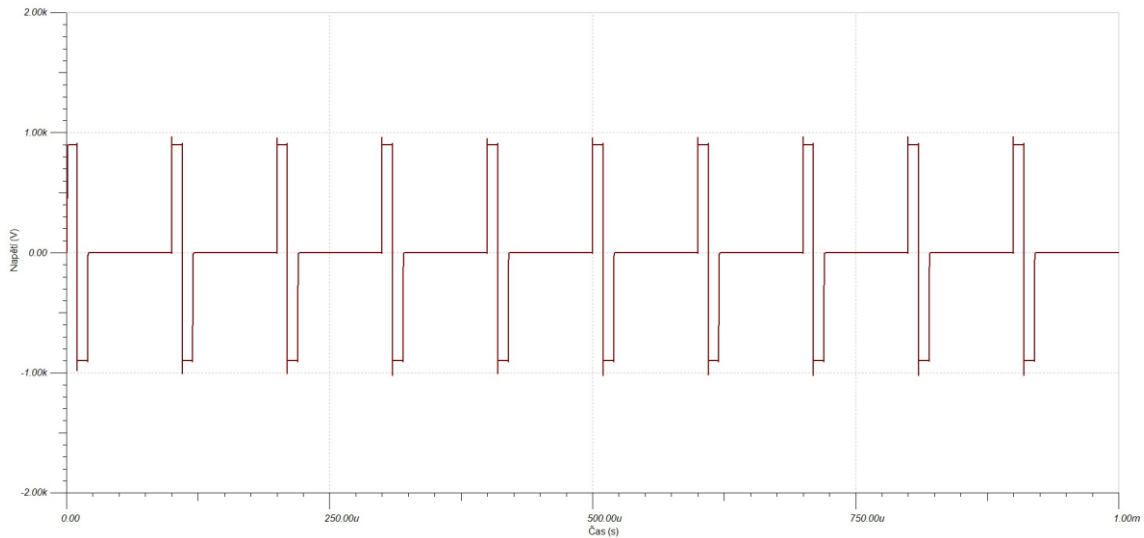
Jako zdroj elektropračních pulzů pro elektrody byl zamýšlen simulovaný elektrický obvod bifázických pulzů založen na schématu na obrázku 4.13. Ten následně byl zjednodušen a vytvořen v programu pro simulaci elektronických obvodů TINA-TI, ve kterém je také provedena analýza napětí na elektroprační kyvetě. Schéma vytvořené v TINA-TI je na obrázku 4.14, analýza obvodu je na obrázku 4.15.



Obrázek 4.13: Schéma elektropračního zdroje založeného na H-můstku, převzato z [61]



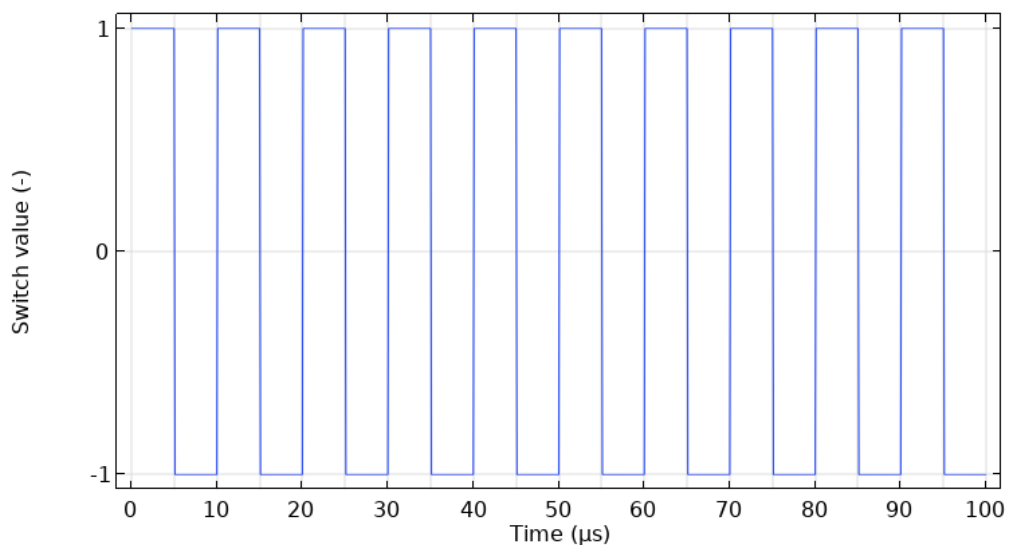
Obrázek 4.14: Schéma v programu TINA-TI pro implementaci v simulátoru



Obrázek 4.15: Průběh napětí na elektroporační kytvě v obvodu, simulace z TINA-TI

Kvůli limitacím programu COMSOL nebylo možné takto vytvořený obvod implementovat do simulací. Napěťové zdroje, na obrázku 4.14 označené VG1-VG4 jsou totiž řízeny tzv. *piecewise* funkcí a jsou nastaveny na spínání v určitých časových bodech. Toto nebylo možné v programu COMSOL zcela zaimplementovat a bylo tak nutné využít alternativní metody. Samotný elektroporační pulz byl tedy vytvořen pomocí rozhraní *Events*.

V tomto rozhraní lze přepínat v diskrétních časových úsecích proměnou mezi hodnotami jedna a mínus jedna. Proměnná byla poté implementována jako spínač zdroje napětí nastavený na hodnotu 1 000 V, čímž došlo k získání krokové změny napětí mezi hodnotami 1 000 V a -1 000 V a požadovanému průběhu pulzů, který je zobrazen na obrázku 4.16.



Obrázek 4.16: Průběh spínací funkce rozhraní *Events*

4.1.6 Teplotní simulace

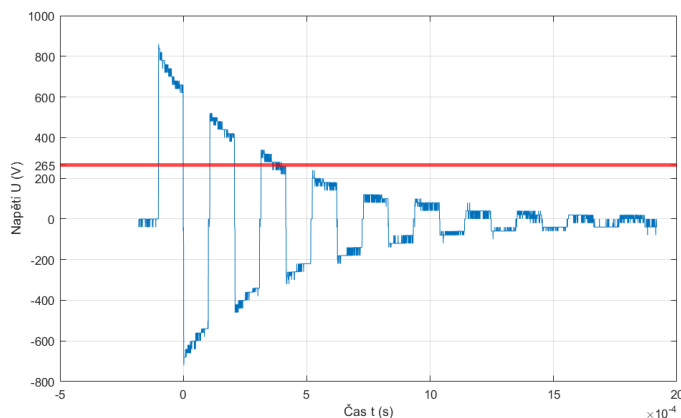
Pro zkoumání ohřevu tkáně byla využita studie přenosu tepla v pevných látkách neboli *Heat Transfer in Solids*. Materiálové vlastnosti jsou popsány v předchozí kapitole 4.1.3 a v tabulce 4.3. Podobně jako při simulaci elektrických proudů, i zde je nutné nastavit několik kategorií, které udávají, jak se dané těleso bude chovat s ohledem na výměnu tepla a teplotu. *Solids* zahrnuje všechny objekty v simulaci, pro zjednodušení je zde uvažováno s krví jako pevným tělesem. *Initial values* nastaví počáteční teplotu simulace, jsou zde opět zahrnuty všechny objekty v simulaci a teplota byla nastavena na 37 °C. *Thermal insulation* zahrnuje pouze stěny bloků okrajových podmínek.

Nakonec *Heat source* označuje objekty, které generují teplo. Zde jsou také zahrnuty všechny objekty v simulaci, jelikož bylo cílem zjistit teplotní stav v celém simulovaném objektu. Jako parametr určující ohřev nám poslouží hodnota ztrátového výkonu Q_{rh} , který je součástí simulace elektrických proudů, a tedy do nastavení tepelného zdroje byl vepsán parametr *ec.Qrh*, což je označení parametru ztrátového výkonu v elektrických simulacích.

Záměrem bylo využít rozhraní *Events* i pro teplotní simulace, to se ovšem ukázalo jako neproveditelné, neboť výpočet simulací se ukázal jako příliš náročný, a to do takové míry, že samotný program COMSOL při každém spuštění výpočtu přestal odpovídat a simulátor byl pokaždé ukončen. Bylo tedy nutné vytvořit alternativní přístup. Pro potřeby této práce tak byl zvolen takový přístup, kde pro každý pulz a každou prodlevu byla vytvořena vlastní studie. Celkem bylo tedy vytvořeno 20 studií, a to konkrétně 10 studií pro jednotlivé pulzy o 1,5 ms a dalších 10 studií pro prodlevy o 5 s.

Nastavení studie s pulzem bylo takové, že nejprve došlo v první studii k provedení stacionárnímu výpočtu elektrického pole, ze kterého je převzat parametr ztrátového výkonu Q_{rh} . Následně byl proveden časově závislý výpočet, který trval 1,5 ms s časovým krokem 0,5 ms, při tomto kroku dochází k ohřevu tkáně. Poté je vytvořena další studie, kde byl proveden časově závislý výpočet trvajícím 5 s o délce časového kroku 1 s, který představoval prodlevu mezi pulzy. V této studii došlo k ochlazení tkáně. Tento sled výpočtů byl opakován celkem 10krát a při každém výpočtu lze graficky znázornit teplotu v simulovaném objektu a určit její maximální hodnotu.

Jelikož byl tedy výpočet elektrické simulace proveden stacionárně, nebylo možné použít časově závislé pulzující napětí na zdroji. Proto po provedení experimentu a naměření průběhu pulzů, byla z naměřených dat vypočítána efektivní hodnota napětí v prostředí Matlab za využití funkce *rms*, která byla rovna 265 V, tato hodnota poté byla nastavena jako hodnota zdroje napětí elektrod. Průběh naměřený při experimentu s vyznačenou efektivní hodnotou je zobrazen na obrázku 4.12



Obrázek 4.12: Průběh naměřeného pulzu s vyznačenou efektivní hodnotou 265 V

4.1.7 Mřížka

Posledním nastavením před spuštěním simulace bylo vygenerování mřížky (*Mesh*). Mřížka je 3D reprezentací objektů pomocí polygonů a je základem simulačních programů a metody konečných prvků, anglicky *finite element method*. V každém elementu je proveden výpočet příslušné sady parciálních diferenciálních rovnic. Nakonec se výsledky výpočtů z jednotlivých elementů skombinují do výsledných rovnic, a tak dojde k získání finálního výsledku, který lze, například graficky, zobrazit. Čím vyšší jemnost mřížky je použita, tím více elementů bude vytvořeno, tím vzrůstá počet výpočtů, které je nutné provést a vzrůstají tak i nároky na výpočetní paměť. V modelu využitém v této práci bylo použito nastavení *Finer*.

4.2 Experimentální ověření

Pro ověření modelů byl navržen experiment, při kterém byl využit elektroporační přístroj vyvinutý a zkonstruovaný členy výzkumného týmu Bio-elektromagnetismu na FBMI ČVUT. Elektroporátor je možné nastavit pomocí řídicí počítačové aplikace, rovněž vytvořené výzkumným týmem. Parametry elektroporátoru a rozsah nastavení jsou následující:

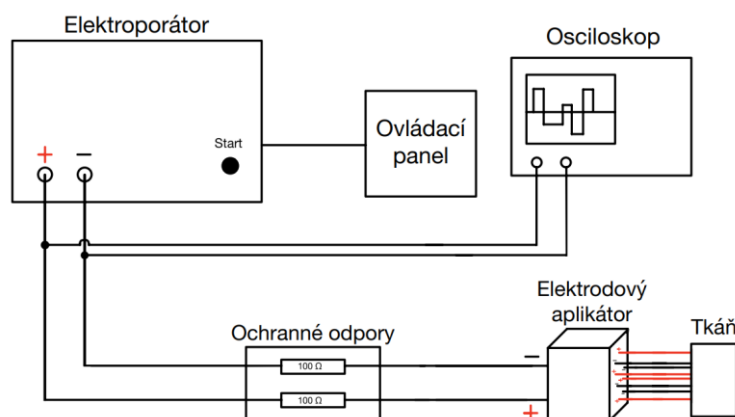
- Napětí pulzu: 300 V až 3 200 V
- Počet pulzů: 1 až 1 000
- Délka pulzu: 250 ns až 50 ms
- Pauza mezi pulzy: 5 μ s až 50 ms

- Typ pulzů: Monofázické nebo Bifázické
- Rychlost náběžné a sestupné hrany: $>40 \text{ kV}/\mu\text{s}$
- Teoretický maximální dodávaný proud: 150 A
- Kapacita interních kondenzátorů: 6 μF
- Maximální energie uložena v interních kondenzátorech (při 3,2 kV): 30,72 J

Elektroporátor napájí pomocí dvou přívodních kabelů elektrodový aplikátor, který byl vytvořen podle předlohy v modelu, tedy osm elektrod rozmístěných na elipse, které jsou po čtyřech napájeny vždy jedním kabelem.

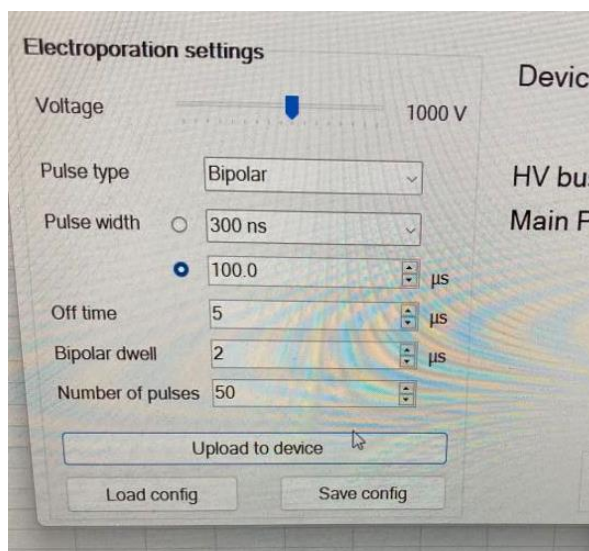
Pro simulaci tkáně bylo použito kuřecí prsí maso. Pro potřeby tohoto experimentu nejsou konkrétní parametry jako například rozměr či hmotnost použité simulované tkáně podstatné. Zásadní je však skutečnost, že lze všechny elektrody celé umístit do simulované tkáně. Kuřecí maso bylo jako simulovaná tkáň použito pro jeho dostupnost, vzniká ovšem chyba z důvodu rozdílných materiálových vlastností oproti těm nastavených v simulátoru, tedy elektrické vodivosti σ a relativní permitivity ϵ_r . Podle [57] je relativní permitivita kuřecího prsího masa při teplotě 25,0 °C a rovna 74,2 pro frekvenci 100 MHz. Podle [58] je elektrická vodivost kuřecího masa pro teplotu 25 °C $0.665 \pm 0.048 \text{ S/m}$. V simulátoru jsou použité hodnoty převzaté z literatury, tedy relativní permitivita rovna 90,3 a elektrická vodivost rovna 0,733 S/m a. Pro pilotní měření je tato odchylka přijatelná.

Schéma experimentu je znázorněno na obrázku 4.17. Zde je viditelný samotný elektroporátor, jehož nastavení je prováděno na ovládacím panelu na řídicím počítačovém softwaru. Elektroporátor má dva výstupy, do kterých jsou připojeny napájecí kabely elektrodového aplikátoru, elektrody jsou po čtyřech vodivě spojeny a napájeny jedním přívodním kabelem. V obvodu jsou také na každé větvi umístěny ochranné odpory, celkem pět rezistorů o hodnotě 20 Ω , tedy celkové hodnotě 100 Ω pro obě větve. Ochranné rezistory chrání vnitřní strukturu elektroporátoru, především interní kondenzátory a další součástky. Průběh pulzu je zobrazen pomocí osciloskopu GW Instek a sondy osciloskopu jsou připojeny na kabely mezi elektroporátorem a ochrannými odpory. Jelikož jsou elektrody v blízké vzdálenosti od sebe a jsou napájeny ze stejného zdroje, bude průběh pulzů na všech elektrodách stejný jen s velmi drobnými rozdíly, proto byl zvolen postup měření na přívodních kabelech elektrodového aplikátoru oproti měření na každé elektrodě.



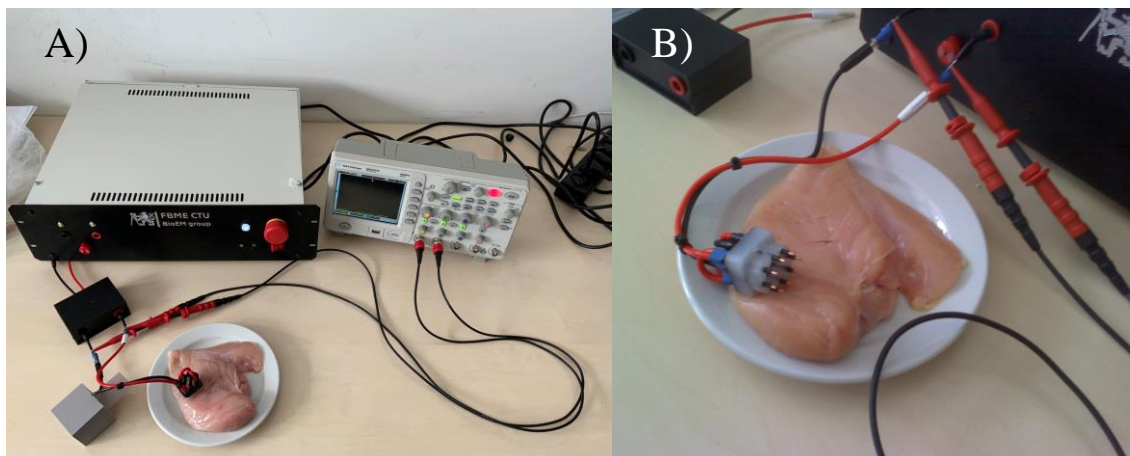
Obrázek 4.17: Schéma experimentálního měření

Na obrázku 4.18 je vidět snímek z aplikace pro nastavení elektroporátoru. Nastavený elektroporační protokol pro měření průběhu pulzů je následující: amplituda 1 000 V, bipolární průběh pulzu, šířka pulzu 100 μ s, počet pulzů 10 (pozn. na snímku je chybně zaznamenán počet pulzů 50). Další parametry jsou tzv. off time nastavený na 5 μ s, což je čas, který představuje prodlevu mezi pulzy, a tzv. bipolar dwell nastavený na 2 μ s. Off time i bipolar dwell byly nastaveny na nejnižší povolenou hodnotu.



Obrázek 4.18: Snímek z aplikace pro nastavení elektroporátoru

Na elektroodovém aplikátoru je, stejně jako v simulátoru, připraveno osm elektrod, z toho jsou čtyři připojeny na jednu větev a čtyři připojeny na větev druhou. Díky tomu, že je na větvích opačná polarita, získáme bifázické pulzy, které zobrazíme na osciloskopu. Elektrody jsou upevněny do tkáň tak, aby byly všechny celé zanořené a nedocházelo k jejich vypadávání. Reálné uspořádání experimentu podle schématu, viz obrázek 4.17, je vidět na obrázku 4.19A a elektroodový aplikátor je blíže vidět na obrázku 4.19B.



Obrázek 4.19: A) Reálné uspořádání experimentu, B) bližší záběr na aplikátor

Zde je tedy viditelný elektroporační přístroj s dvěma výstupními větvemi, ochranné odpory v černém boxu, také zobrazeny na obrázku 4.20, elektrody v masě a osciloskop se sondami.

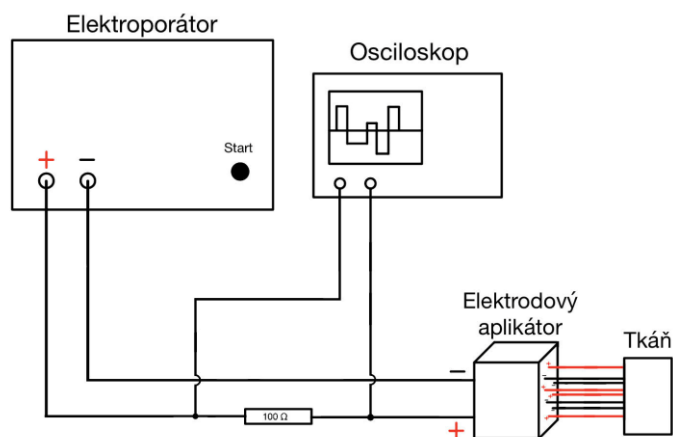


Obrázek 4.20: Bezpečnostní rezistory $5 \times 20 \Omega$, dva rezistory na každé větvi jsou přelepeny izolační páskou

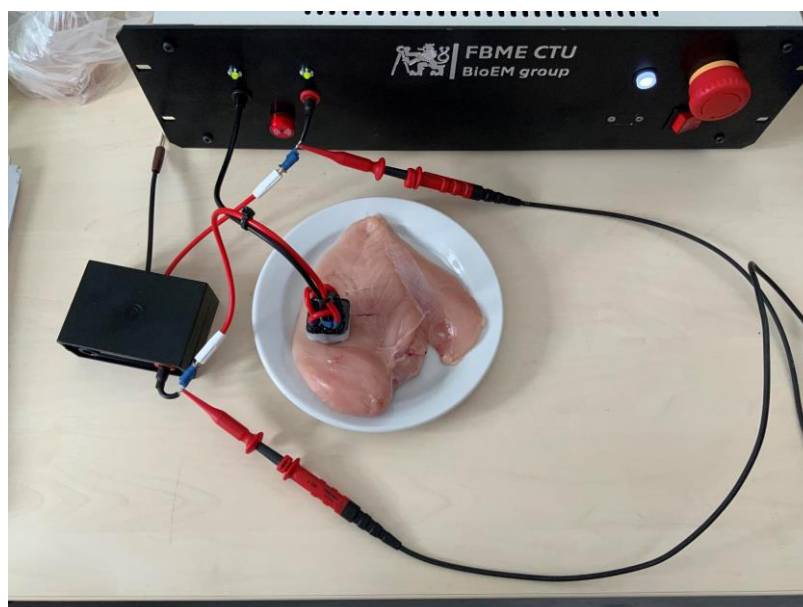
Pro výpočet odporu bylo použito schéma podle obrázku 4.21. Zde jsou sondy osciloskopu připojeny tak, aby bylo možné změřit úbytek napětí na bezpečnostním odporu, viz dále obrázek 4.22. Pomocí naměřených hodnot z osciloskopu proběhl výpočet odporu tkáně. Pro výpočet byl použit vztah pro výpočet děliče napětí,

$$U_2 = U_1 \cdot \frac{R_2}{R_1 + R_2}, \quad (1)$$

kde U_2 je napětí naměřené na vstupu, U_1 je napětí na výstupu, R_1 je hodnota ochranného odporu a R_2 je odpor tkáně.



Obrázek 4.21: Schéma nastavení experimentu pro výpočet elektrického odporu



Obrázek 4.22: Reálné zapojení pro výpočet elektrického odporu tkáně

Pomocí Ohmova zákona byl určen proud procházející tkání, který rovněž posloužil k porovnání experimentu a simulace,

$$U = R \cdot I. \quad (2)$$

Nakonec byl termokamerou FLIR změřen ohřev tkáně ze vzdálenosti cca 15 cm pro specifický elektroporační protokol, který dodává do tkáně větší energii a následně byla provedena teplotní simulace, viz kapitola 4.1.5.

4.3 Zpracování výsledků

V první části byly porovnány výsledky simulací. Předmětem porovnání je jednak grafické zobrazení rozložení intenzity elektrického pole pro různé scénáře nastavení materiálových vlastností srdeční tkáně a jednak tabulka s objemem tkáně, kde intenzita elektrického pole přesáhla určitou hodnotu. Objem je udávám v mm^3 a úrovně intenzity elektrického pole jsou 1000 V/cm, 500 V/cm a 300 V/cm a pro lepší zhodnocení objemu NP byly přidány hodnoty 200 V/cm a 100 V/cm. Pro jednotlivé scénáře byly rovněž uvedeny maximální hodnoty intenzity elektrického pole v dané tkáni, velikost proudu na elektrodách a odpor tkáně vůči elektrodám vypočítaný simulátorem.

Dále byly zobrazeny průběhy pulzů naměřené pomocí osciloskopu GW Instek při experimentu. Podle vzorce (1) pro napěťový dělič byl vypočítán elektrický odpor tkáně a procházející elektrický proud a byly porovnány s hodnotami získanými ze simulací. Pomocí termokamery FLIR byl určen ohřev tkáně po aplikaci elektroporačního protokolu o 10 pulzech o délce trvání 1,5 ms a záznam byl porovná s teplotní simulací.

5 Výsledky

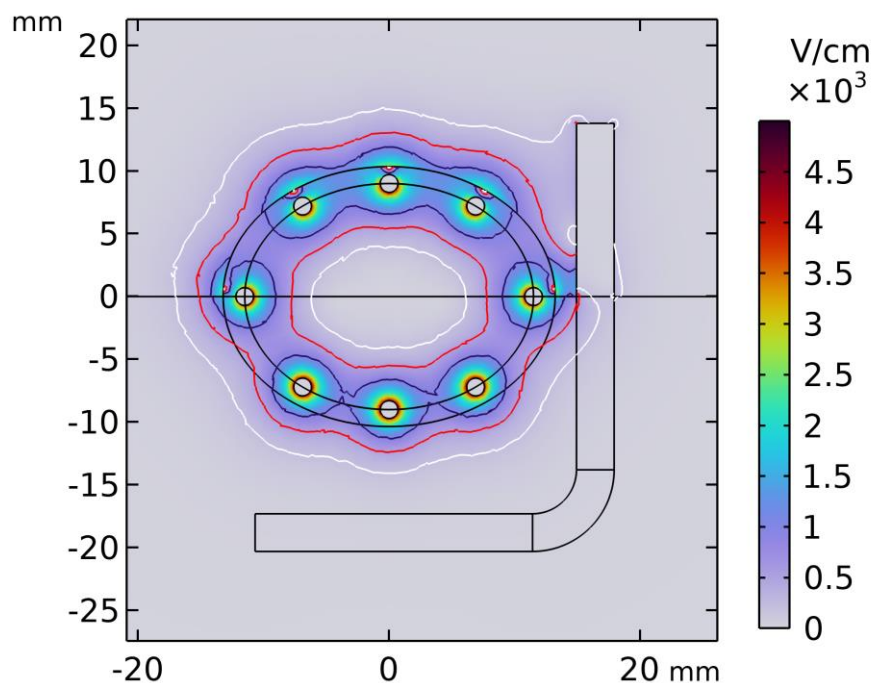
V této kapitole jsou přehledně zobrazeny výsledky simulací, tedy rozložení elektrického pole, zasažené objemy tkání a hodnoty proudu a odporu pro dané scénáře, teplotní rozložení a výsledky z experimentu, tedy průběh elektroporačního pulzu dodávaný elektroporátorem, naměřené teploty tkáně, výpočet odporu tkáně a porovnání simulací a experimentu.

5.1 Rozložení elektrického pole

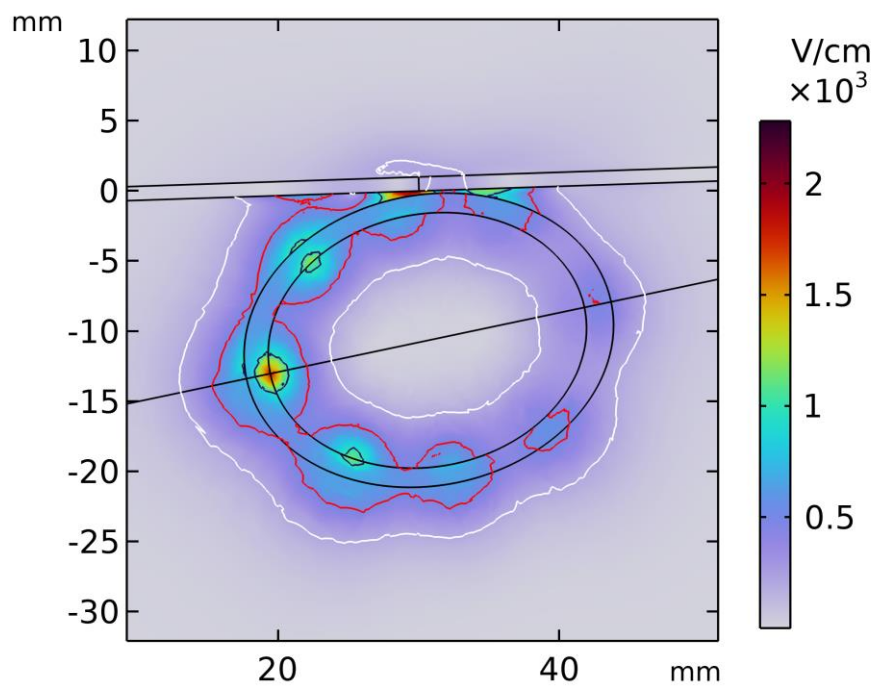
Byly vytvořeny scénáře s různým nastavením dielektrických vlastností srdeční tkáně, porovnání rozložení elektrického pole při časově závislé studii jsou zobrazeny na následujících obrázcích.

5.1.1 Scénář 1

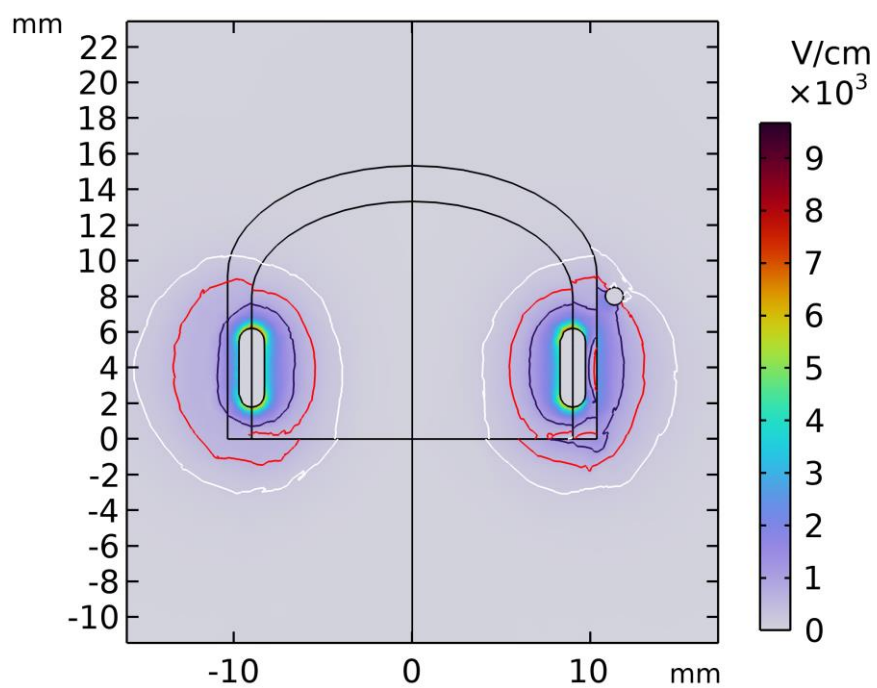
V tomto scénáři jsou hodnoty elektrické vodivosti a relativní permitivity srdeční tkáně konstantní podle odborné literatury [56]. Rozložení elektrického pole je znázorněno na následujících obrázcích, kde tmavě modrá izolinie představuje 1 000 V/cm, červená 500 V/cm a bílá 200 V/cm.



Obrázek 5.4: Rozložení elektrického pole v podélném řezu LCx, scénář 1



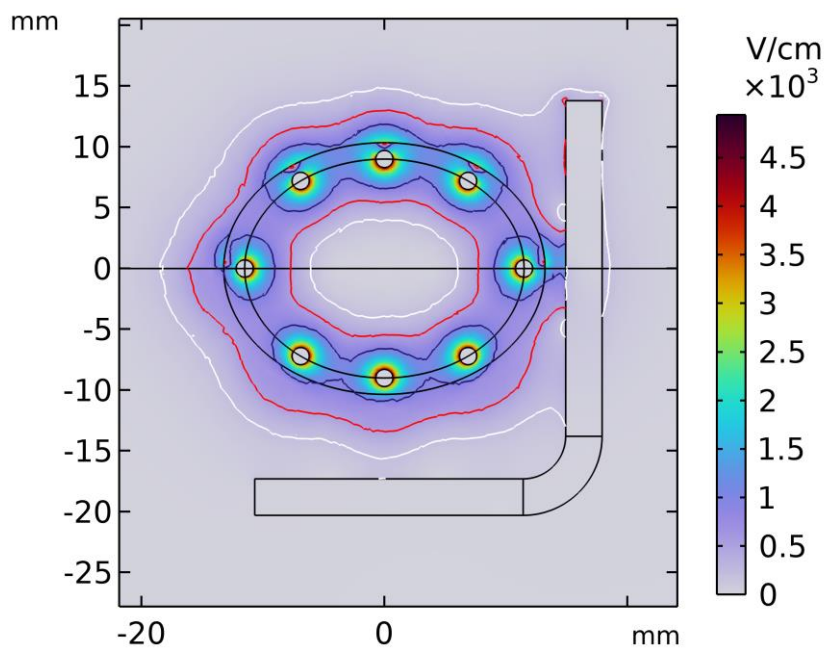
Obrázek 5.5: Rozložení elektrického pole v podélném řezu NP, scénář 1



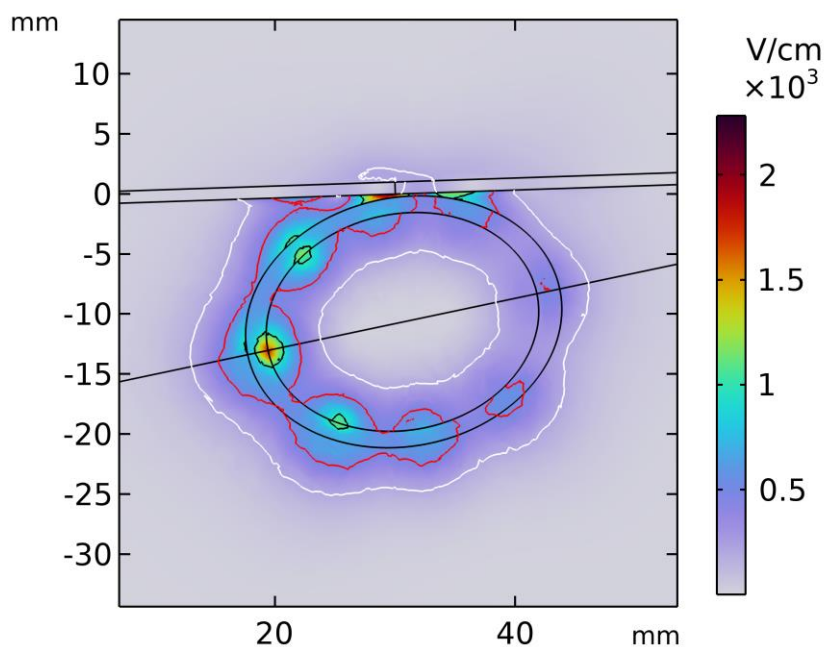
Obrázek 5.6: Rozložení elektrického pole v příčném řezu NP, scénář 1

5.1.2 Scénář 2

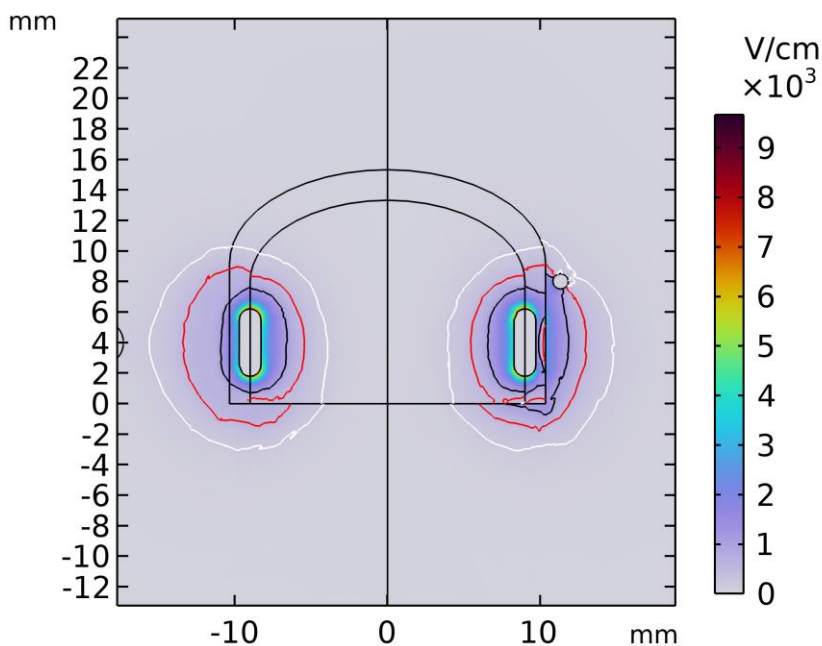
V tomto scénáři je hodnota elektrické vodivosti závislá na intenzitě elektrického pole E a relativní permitivita srdeční tkáně je konstantní podle literatury [56]. Rozložení elektrického pole je znázorněno na následujících obrázcích.



Obrázek 5.7: Rozložení elektrického pole v podélném řezu LCx, scénář 2



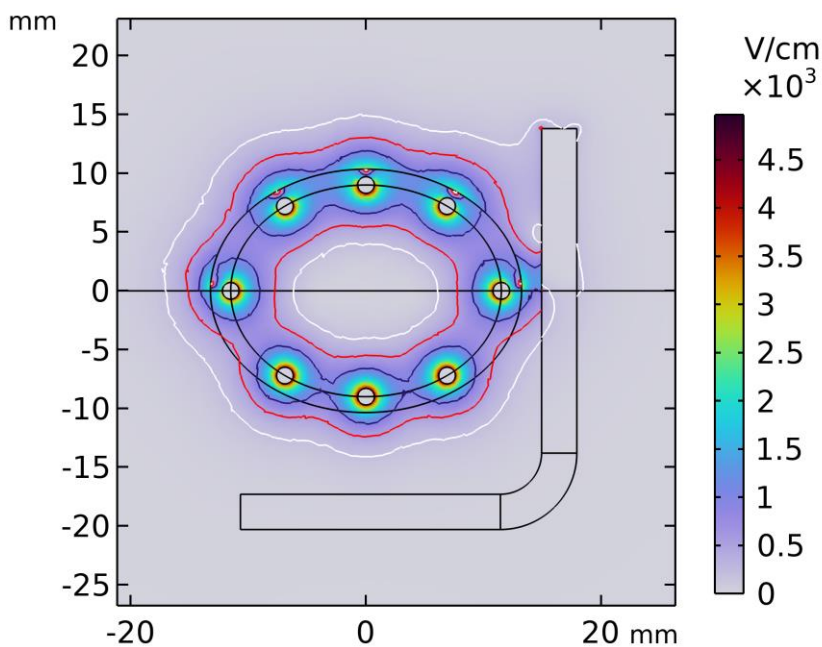
Obrázek 5.8: Rozložení elektrického pole v podélném řezu NP, scénář 2



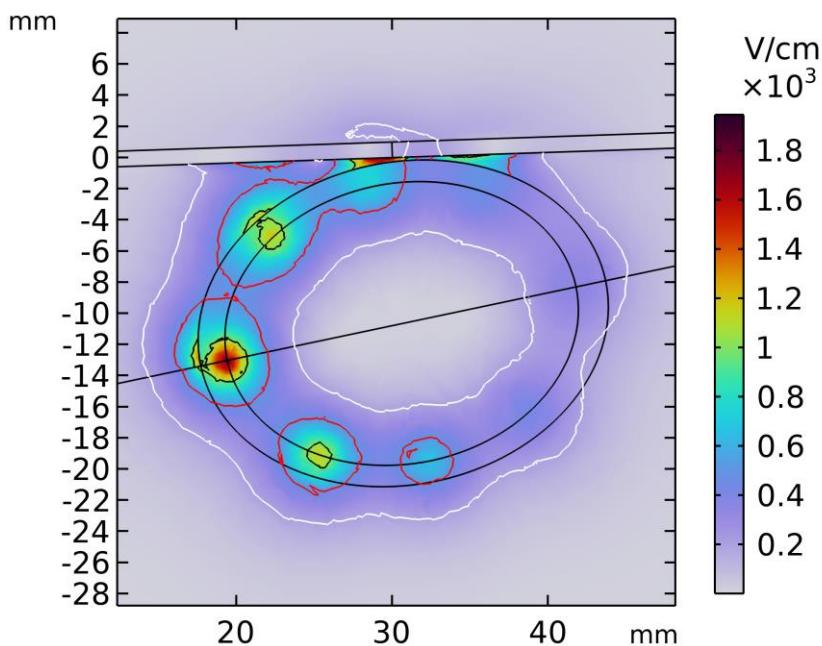
Obrázek 5.9: Rozložení elektrického pole v příčném řezu NP, scénář 2

5.1.3 Scénář 3

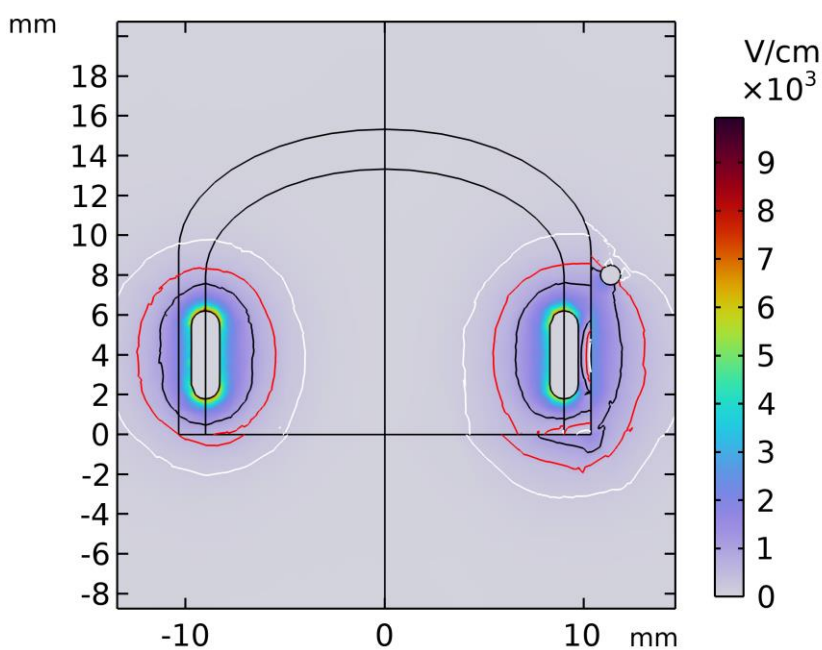
V tomto scénáři je hodnota elektrické vodivosti konstantní podle odborné literatury [56] a relativní permitivita srdeční tkáně je rovna jedné. Rozložení elektrického pole je znázorněno na následujících obrázcích.



Obrázek 5.10: Rozložení elektrického pole v podélném řezu LCx, scénář 3



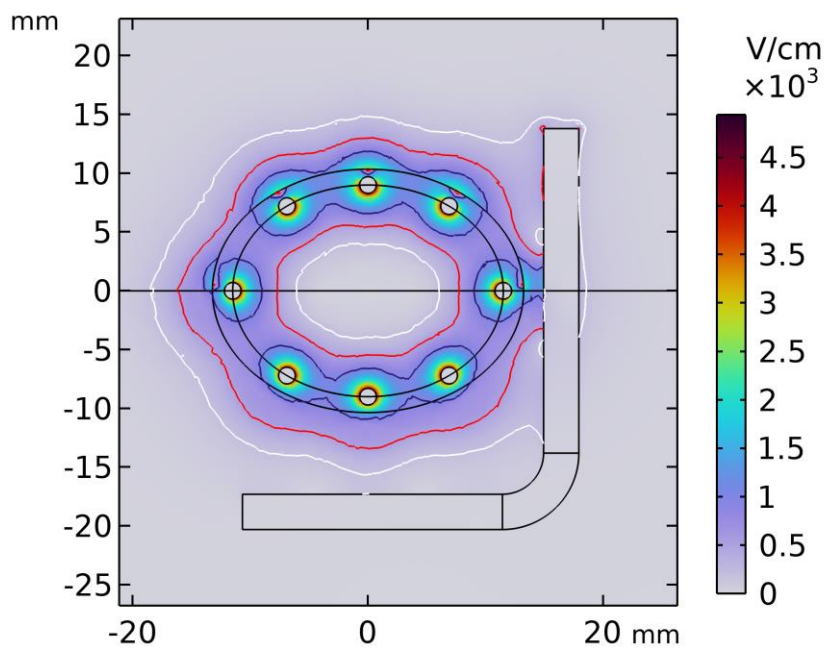
Obrázek 5.11: Rozložení elektrického pole v podélném řezu NP, scénář 3



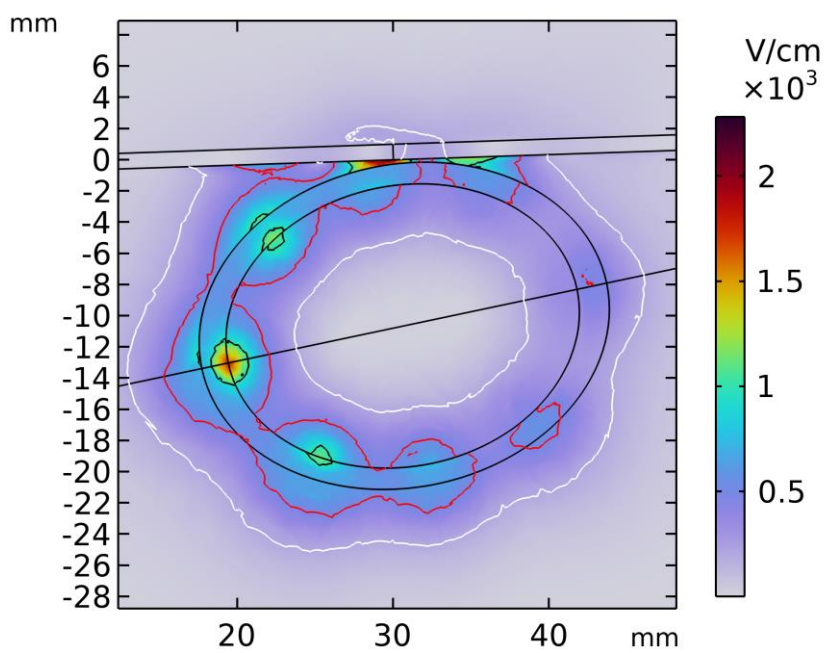
Obrázek 5.12: Rozložení elektrického pole v příčném řezu NP, scénář 3

5.1.4 Scénář 4

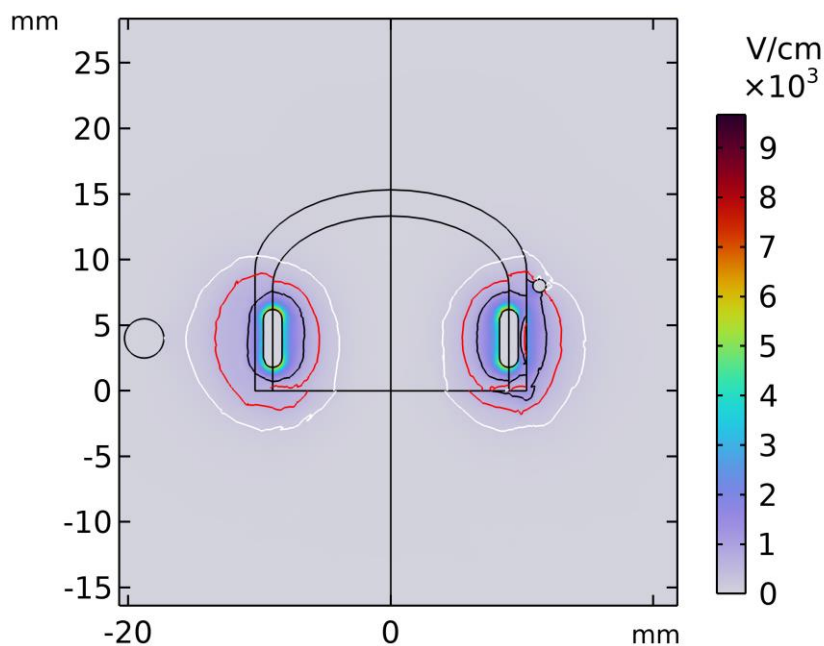
V tomto scénáři je hodnota elektrické vodivosti závislá na intenzitě elektrického pole a relativní permitivita srdeční tkáně je rovna jedné. Rozložení elektrického pole je znázorněno na následujících obrázcích.



Obrázek 5.13: Rozložení elektrického pole v podélném řezu LCx, scénář 4



Obrázek 5.14: Rozložení elektrického pole v podélném řezu NP, scénář 4



Obrázek 5.15: Rozložení elektrického pole v příčném řezu NP, scénář 4

5.2 Objemy tkání

V tabulkách jsou zobrazeny objemy tkání zasažené určitými hodnotami intenzity elektrického pole E pro jednotlivé scénáře. V tabulce 5.1 jsou pro úplnost celkové objemy těles v simulaci, v tabulce 5.2 jsou objemy NP a v tabulce 5.3 jsou objemy OLS.

Tabulka 5.1: Objemy objektů v simulaci

Objekt	Objem tkáně V (mm ³)
NP	46,90
LCx	406,82
OLS	1 931,50
Celá simulace	1 500 000,00

Tabulka 5.2: Objem NP zasažený různými hodnotami intenzity elektrického pole E

Scénář	Objem zasažené tkáně V_{NP} (mm ³)				
	E > 1000 S/m	E > 500 S/m	E > 300 S/m	E > 200 S/m	E > 100 S/m
1	0,00	0,00	0,00	1,63	8,26
2	0,00	0,00	0,00	2,03	9,45
3	0,00	0,00	0,00	1,63	8,26
4	0,00	0,00	0,00	2,03	9,45

Tabulka 5.3: Objem LCx zasažený různými hodnotami intenzity elektrického pole E

Scénář	Objem zasažené tkáně V_{LCx} (mm ³)				
	E > 1000 S/m	E > 500 S/m	E > 300 S/m	E > 200 S/m	E > 100 S/m
1	0,00	0,01	1,00	6,28	39,68
2	0,00	0,00	0,00	0,11	21,62
3	0,00	0,01	1,00	6,28	39,68
4	0,00	0,00	0,00	0,11	21,62

Tabulka 5.4: Objem OLS zasažený různými hodnotami intenzity elektrického pole E

Scénář	Objem zasažené tkáně V_{OLS} (mm ³)				
	E > 1000 S/m	E > 500 S/m	E > 300 S/m	E > 200 S/m	E > 100 S/m
1	324,38	732,49	904,32	1 027,00	1 291,80
2	307,27	850,95	966,88	1 091,10	1 363,00
3	324,38	732,49	904,32	1 027,00	1 291,80
4	307,27	850,95	966,88	1 091,10	1 363,00

Dále jsou v tabulce 5.5 uvedeny maximální hodnoty intenzity elektrického pole E v jednotlivých tkáních při scénářích.

Tabulka 5.5: Maximální hodnoty E v dané tkáni podle scénáře

Scénář	Maximální hodnota intenzity elektrického pole E (S/m)		
	NP	LCx	OLS*
1	231,40	587,90	10 537,20
2	245,43	275,50	9 960,21
3	231,40	587,90	1 0537,20
4	245,43	275,50	9 960,21

* V OLS jsou umístěny elektrody, na rozhraní tkání a elektrod jsou hodnoty extrémně vysoké, tyto hodnoty tedy slouží pouze pro doplnění.

5.3 Elektrický proud a elektrický odpor

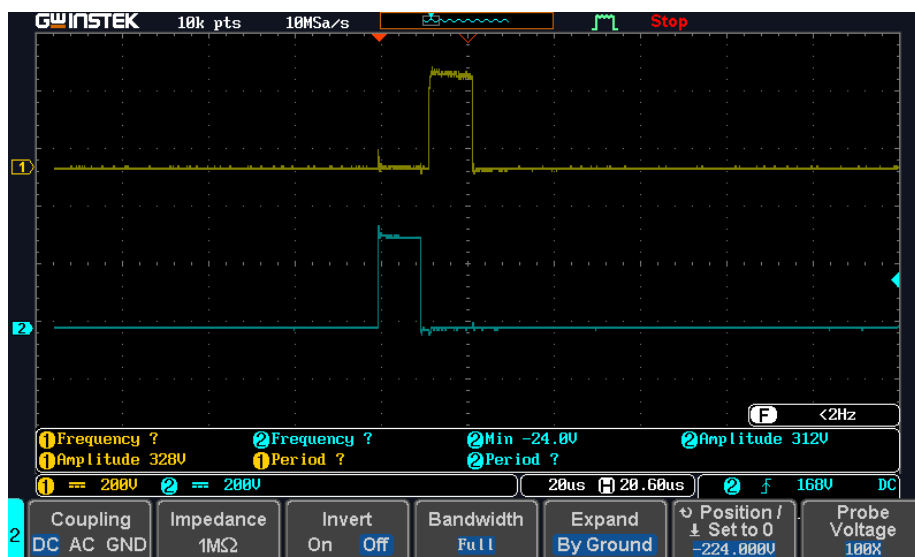
V tabulce 5.6 jsou uvedeny hodnoty elektrického proudu I a elektrického odporu elektrod a tkáně R jak jsou vypočítány v simulátoru.

Tabulka 5.6: Hodnoty elektrického proudu I a elektrického odporu R podle scénáře

Scénář	Elektrický proud I (A)	Elektrický odpor R (Ω)
1	37,06	26,98
2	28,06	35,64
3	37,06	26,98
4	28,06	35,64

5.4 Výsledky experimentu

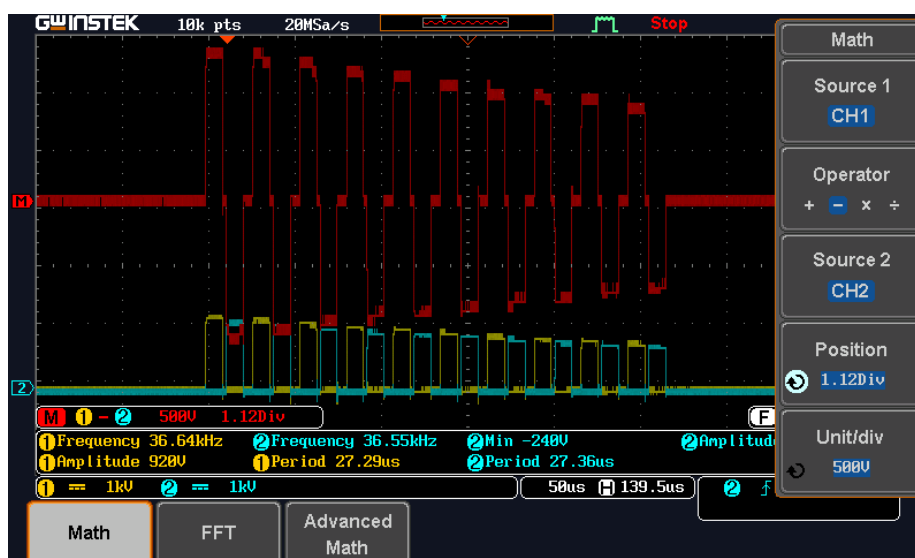
Po přípravě experimentu podle dříve popsaných schémat bylo nejprve provedeno ověření funkčnosti elektroporačnického celého zapojení. Funkčnost byla ověřena aplikací jediného bifázického pulzu o amplitudě přibližně 300 V, viz obrázek 5.16. Na snímku je modře a žlutě vidět průběh napětí na jednotlivých vstupech osciloskopu. Pomocí matematických funkcí osciloskopu byly od sebe pulzy odečteny a tím byl na osciloskopu vytvořen plynulý bifázický průběh pulzu, viz následující obrázky.



Obrázek 5.16: Záznam jednoho pulzu pomocí osciloskopu GW Instek

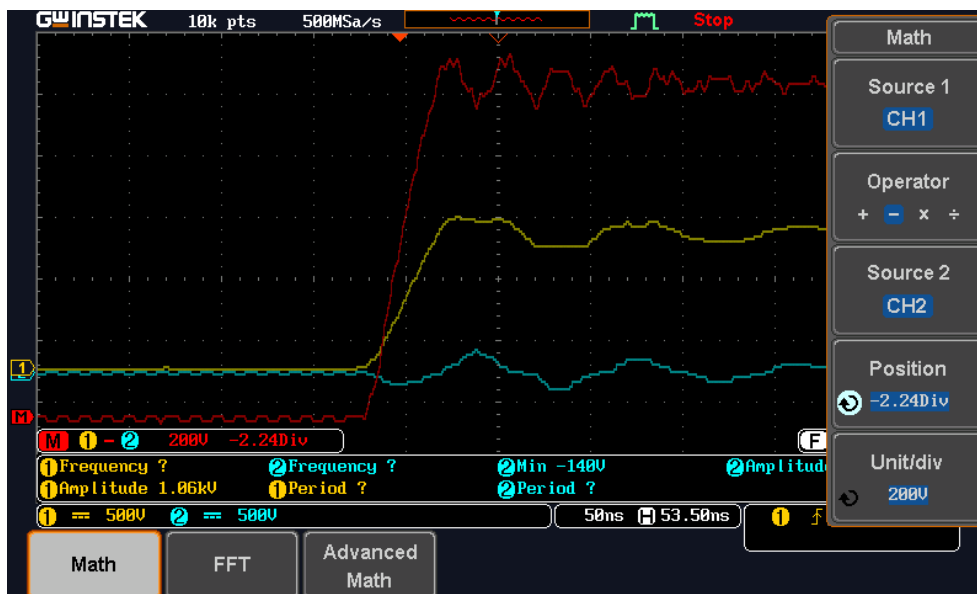
5.4.1 Měření průběhu elektroporačnických pulzů

Po testovacím pulzu byla postupně zvyšována amplituda až na úroveň 1 000 V, kdy byl pořízen snímek na obrázku 5.17, který červeně zobrazuje bifázický průběh napětí.



Obrázek 5.17: Průběh elektroporačnického pulzu s amplitudou 1 000 V

Pomocí osciloskopu byla nakonec pro doplnění změřena náběžná hrana pulzu, zobrazena je na obrázku 5.18, podle údajů na osciloskopu trvá náběh pulzu přibližně 40 ns a pozorujeme zde rozkmit na obou větvích elektroporátoru.



Obrázek 5.18: Náběžná hrana pulzu s rozkmitem, červeně je značen výsledný průběh po odečtení modrého a žlutého průběhu

5.4.2 Výpočet elektrického odporu a proudu

Při experimentu zapojeném podle schématu na obrázku 4.21 bylo změřeno napětí na tkáni jako $U_{tkáň} = 302,11$ V. Ze znalosti velikosti bezpečnostního odporu $R_{bezp} = 100 \Omega$ a vstupního napětí $U_{zdroj} = 1\,000$ V, byl podle vzorce (1) dopočítán odpor tkáně $R_{tkáň}$:

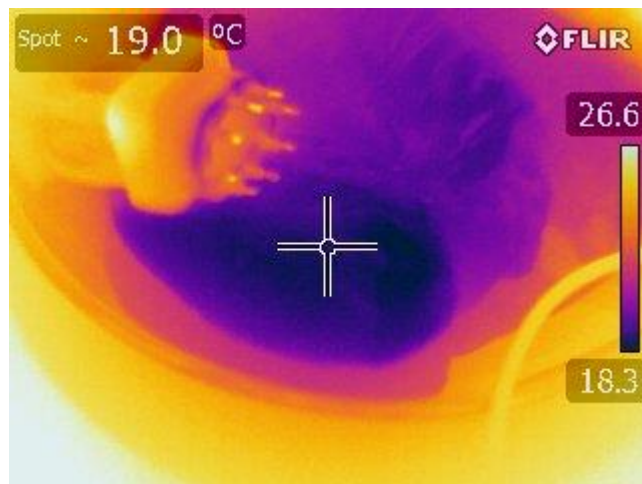
$$\begin{aligned} U_2 &= U_1 \frac{R_2}{R_1 + R_2} \rightarrow R_2 = R_1 \frac{U_2}{U_1 - U_2} = R_{tkáň} = R_{bezp} \frac{U_{tkáň}}{U_{zdroj} - U_{tkáň}} = \\ &= R_{tkáň} = 100 \frac{302,11}{1000 - 302,11} = \mathbf{43,29 \Omega}. \end{aligned}$$

Hodnota elektrického proudu protékajícího tkání byla vypočítána podle Ohmova zákona:

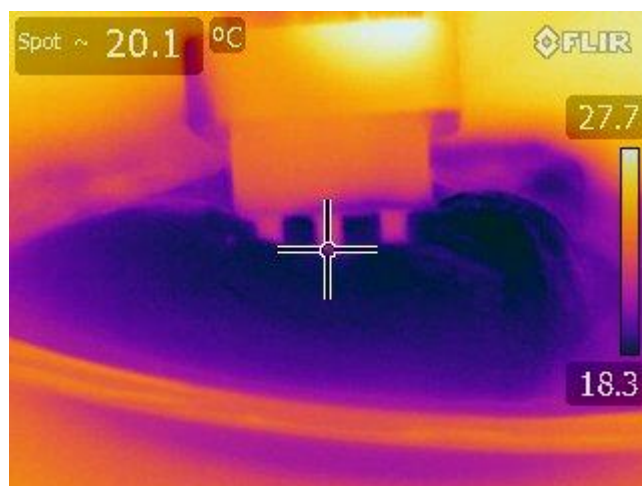
$$I = \frac{U}{R} = \frac{U_{tkáň}}{R_{tkáň}} = \frac{1000}{43,29} = \mathbf{23,10 \text{ A}}.$$

5.4.3 Měření teploty a teplotní simulace

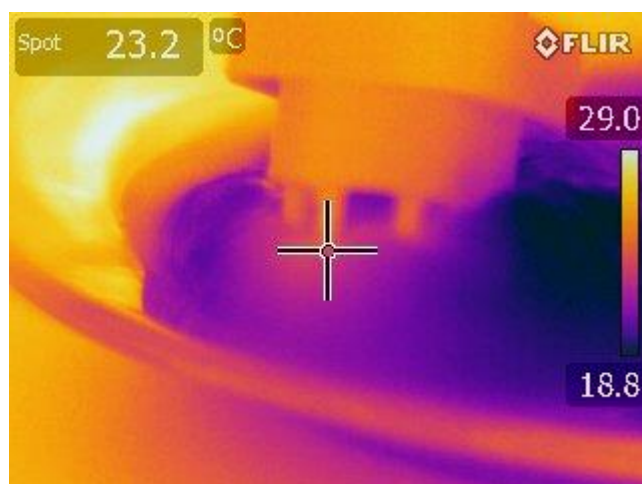
Nejprve byla změřena teplota samotného masa, viz obrázek 5.19, po vyrovnání teplot byl pořízen další snímek, viz obrázek 5.20. Následně byl dodán paket pulzů a pořízena série snímků, snímek po posledním pulzu viz obrázek 5.21.



Obrázek 5.19: Teplota masa na počátku experimentu



Obrázek 5.20: Teplota masa po vpravení elektrod a ustálení teploty



Obrázek 5.21: Záznam teploty po finálním pulzu

Naměřená teplota v jednotlivých pulzech, nárůst teplot od počátečního stavu, přírůstek mezi jednotlivými pulzy a průměrný přírůstek jsou zobrazeny v následující tabulce:

Tabulka 5.7: Teplota a její nárůst při experimentu

Pulz (-)	Teplota (°C)	Nárůst (°C)	Přírůstek (°C)
0	20,1	0	0
1	20,5	0,4	0,4
2	20,7	0,6	0,2
3	21,2	1,1	0,5
4	21,4	1,3	0,2
5	21,5	1,4	0,1
6	21,9	1,8	0,4
7	22,2	2,1	0,3
8	22,5	2,4	0,3
9	22,7	2,6	0,2
10	23,2	3,1	0,5
Průměr (°C)			0,31

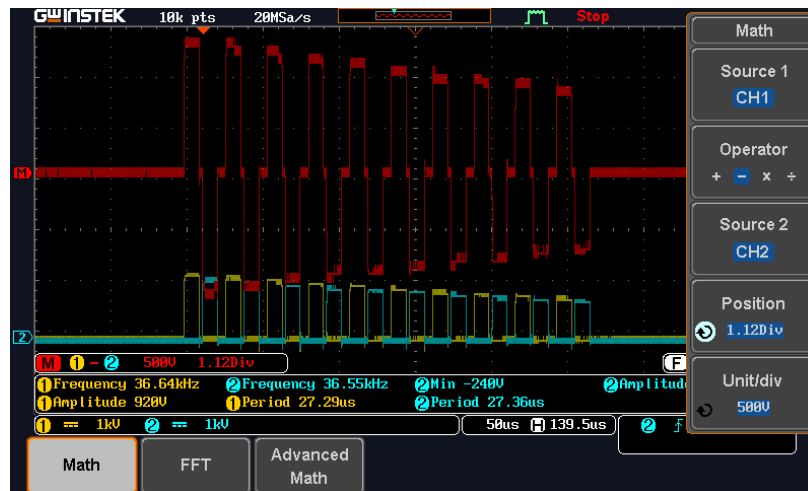
Teplotní simulace oproti experimentu vykazovaly větší nárůst teploty. Pro doplnění byla určena nejvyšší hodnota v celém objemu tkáně jako 64,9 °C, jednalo se ovšem o extrém, který vznikal pouze v malých bodech blízko elektrody. Teplota a nárůst mezi pulzy v simulátoru jsou zobrazeny v následující tabulce.

Tabulka 5.8: Teplota a její nárůst při simulacích

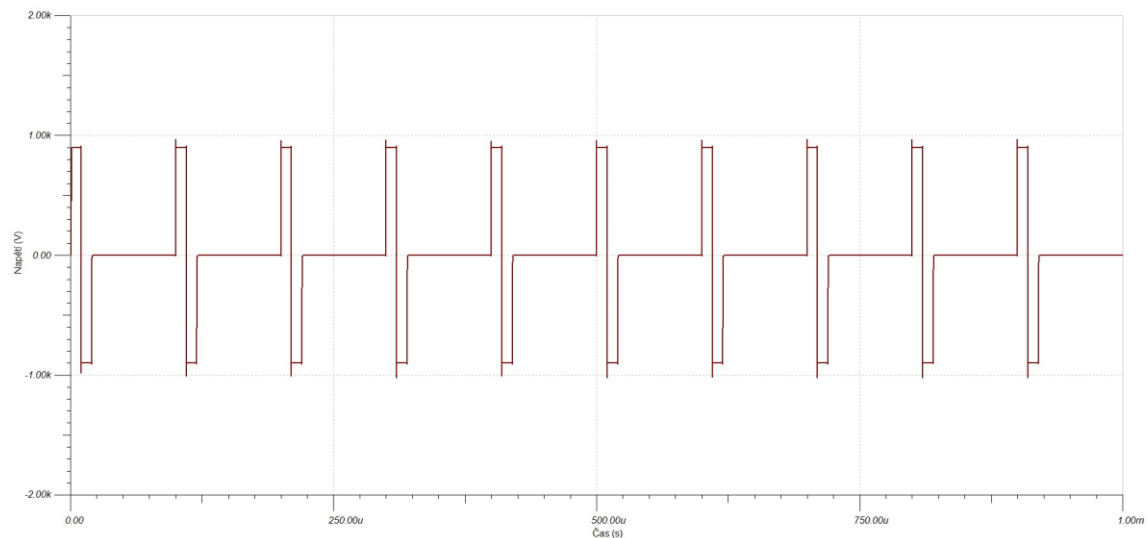
Pulz (-)	Teplota (°C)	Nárůst (°C)	Přírůstek (°C)
0	20,10	0,00	0,00
1	20,54	0,44	0,44
2	20,81	0,71	0,27
3	21,00	0,90	0,19
4	21,15	1,05	0,15
5	21,27	1,17	0,12
6	21,37	1,27	0,10
7	21,47	1,37	0,10
8	21,58	1,48	0,11
9	21,68	1,58	0,10
10	21,78	1,68	0,10
Průměr (°C)			0,17

5.5 Porovnání simulací a experimentu

Nejprve proběhlo vizuální porovnání simulovaných pulzů a pulzů dodávaných elektroporačním, průběhy jsou znovu zobrazeny na obrázcích 5.22 a 5.23. Simulovaný pulz z prostředí TINA-TI,



Obrázek 5.22: Pulz dodávaný elektroporačním přístrojem



Obrázek 5.23: Výstup analýzy obvodu v simulačním programu TINA-TI

V reálném pulzu docházelo ke snižování amplitudy s každým jednotlivým pulzem, prodleva mezi pulzy byla kratší než v simulovaném pulzu a v simulacích docházelo k viditelnému překmitu, ačkoli tento překmit nepřesahuje nastavenou amplitudu.

V následujících tabulkách jsou vedle sebe postaveny relevantní hodnoty získané ze simulátoru a hodnoty naměřené a vypočítané na základě provedeného experimentálního měření. V tabulce 5.9 jsou porovnány hodnoty elektrického odporu a proudu, je zřejmé, že se hodnoty experimentu nejvíce blíží výsledkům ze scénáře 2 a 4.

Tabulka 5.9: Hodnoty elektrického proudu a odporu

Výstup	Elektrický proud I (A)	Elektrický odpor R (Ω)
Experiment	23,10	43,29
Scénář 1	37,06	26,98
Scénář 2	28,06	35,64
Scénář 3	37,06	26,98
Scénář 4	28,06	35,64

Vypočítaný elektrický proud je oproti nejbližšímu scénáři rozdílný o 4,96 A, tedy oproti simulátoru je naměřená hodnota menší o 17,67 %. V případě elektrického odporu je absolutní rozdíl oproti nejbližšímu scénáři 7,65 Ω , a tedy oproti simulátoru je naměřená hodnota o 21,46 % vyšší.

Porovnání teplotních simulací a měření je v tabulce 5.10, kde jsou proti sobě postaveny celkový ohřev tkáně a průměrný přírůstek mezi pulzy.

Tabulka 5.10: Porovnání teplotní simulace a měření

Výstup	Celkový ohřev ($^{\circ}\text{C}$)	Průměrný přírůstek ($^{\circ}\text{C}$)
Experiment	3,1	0,31
Simulace	1,68	0,17

Při experimentu došlo přibližně ke dvojnásobnému ohřevu oproti simulacím, rovněž s přibližně dvojnásobným průměrným přírůstkem mezi pulzy.

6 Diskuse

V této práci byly popsány výsledky ze simulačního programu pro elektrické a teplotní studie elektroporace OLS a výstupy z experimentálního pilotního měření prováděného s prototypem elektroporačního přístroje. Cílem práce bylo zhodnotit výpovědní hodnotu simulovaného modelu oproti realitě pomocí porovnání naměřených výsledků.

V případě elektrických simulací bylo při porovnání rozložení intenzity elektrického pole s různými scénáři materiálových vlastností srdeční svaloviny zjištěno, že scénáře 1 a 3 a scénáře 2 a 4 vykazují totožné výsledky. Tyto dvojice scénářů mají vždy stejné nastavení elektrické vodivosti σ , avšak mění se hodnota relativní permitivity ϵ_r . Výsledky napovídají tomu, že elektrická vodivost má větší vliv na výsledné rozložení elektrického pole a relativní permitivita roli prakticky nehraje.

Na definitivní vyřčení takových závěrů by bylo zapotřebí provést rozsáhlejší průzkum, který je momentálně nad rámec této práce. Je to však vhodný podnět pro další prohloubení tematiky v budoucích pracích zabývajících se touto tematikou.

Dále je z výsledků možné poznamenat, že rozložení elektrického pole kolem elektrod není v OLS rovnoměrné. To může být způsobeno například různými materiály obklopující OLS v simulátoru. Intenzita elektrického pole roste buď s vyšším napětím nebo s nižším rozměrem, nejvyšší tedy bude na hranách či v rozích a COMSOL pracuje s bloky okrajových podmínek jako s pevnými kontakty dvou těles. To může vést právě k vyšším hodnotám intenzity elektrického pole na těchto přechodech a k zavádějícím výsledkům.

Nicméně pokud budeme uvažovat kritickou hranici pro ablaci 500 V/cm, je prostor OLS pokryt dostatečně silným polem a teoreticky by mělo dojít k ablaci v uzavřeném pásu objemu OLS, jak je vidět například na obrázcích 5.1, 5.3 a dalších z kapitoly 5.1, kde červená izolinie značící hodnotu $E = 500$ V/cm pokrývá velkou část OLS. V případě scénářů 1 a 2 je objem zasažený větší intenzitou elektrického pole než 500 V/cm přibližně 37 % a pro scénáře 2 a 4 dokonce přibližně 44 % objemu OLS, jak je možné usoudit podle výsledků v tabulkách 5.1 a 5.4.

Podle zbylých tabulek v kapitole 5.2 lze dále hodnotit, zdali jsou elektrickým polem ohroženy přilehlé tkáně. NP je zasaženo velmi slabě a to tak, že maximální intenzita, viz tabulka 5.5, je rovna 245,43 V/m a objem zasažený intenzitou vyšší než 200 V/cm odpovídá přibližně 4,3 % objemu NP. Nerv tedy není v přímém ohrožení ablace, nicméně stále přítomné je riziko stimulace nervu a navození tak svalových záškubů, které by mohly zákrok zkomplikovat či způsobit pacientovi škodu na zdraví. Proto je vhodné vliv elektrického pole na nerv minimalizovat a zabránit tak vzniku komplikací. To může

souviset se snížením amplitudy pulzů, či pokud jsou elektrody umístěny na katetru, tak manipulací s katetrem. Lékař, který zákrok vykonává, by měl zvolit nejlepší metodu vyhovující aktuální situaci a kontextu zákroku.

V případě tepny LCx bylo zasaženo intenzitou elektrického pole větší než 500 V/cm pouze 0,01 mm³ pro 1. a 3. scénář, tedy prakticky zanedbatelný objem z celkových 406,82 mm³. Maximální intenzita elektrického pole dosáhla 587,9 V/cm pro scénář 1 a 3. Zde je patrný velký rozdíl oproti zbylým dvěma scénářům, kde maximum intenzity bylo 275,5 V/cm, tedy více než polovina z maximální hodnoty scénářů 1 a 3. Důvod této odchylky není patrný, jelikož v ostatních případech nejsou rozdíly mezi scénáři tak výrazné. Maximální hodnota byla na rozhraní bloků okrajových podmínek a tepny a je tedy možné že COMSOL počítal s přechodem jako s hranou pevných těles, a tedy s velmi malou plochou, jak je popsáno již výše. I přesto nehrozí výraznému poškození tepny vlivem elektrického pole.

Při analýze elektrického odporu a proudu bylo zjištěno, že se naměřená data z experimentu nejvíce podobají scénářům 2 a 4, tedy scénářům s analytickou funkcí závislosti elektrické vodivosti srdeční tkáně na intenzitě elektrického pole. I přesto jsou obě hodnoty od sebe značně rozdílné a proud naměřený při experimentu je o 4,96 A nižší než v simulaci pro scénáře 2 a 4, což odpovídá poklesu o 17,68 %. V případě elektrického odporu hodnota získaná z experimentu vyšší o 7,65 Ω, což odpovídá nárůstu oproti simulacím v tentýž scénářích o 21,5 %.

Pro pilotní měření jsou tyto výsledky dostatečné, opět však implikují další podrobnější průzkum a úpravy modelu pro eliminaci těchto rozdílů. Pro další zkoumání by bylo vhodné hlouběji prověřit dielektrické vlastnosti masa použitého při experimentu a zhodnotit, jak velký vliv na výsledek mají. Využití dostupné simulované tkáně samozřejmě přináší chybu, avšak umožnilo experiment provést a naměřit výsledné hodnoty snadno a rychle. Zároveň ovšem není na mrtvé tkáni možné pozorovat vliv samotné elektroporace již z vlastní podstaty tohoto děje, který je založen na otevření pórů v membráně a pohybu částic mezi vnějším a vnitřním prostředím. Pro zkoumání ablace vlivem elektroporace se ve vědeckých výzkumech často experimentuje na živých zvířatech, například myších, prasatech, psech a dalších. Zákrok bývá prováděn pod celkovou anestézií a vliv a následek elektroporace jsou zkoumány buď pomocí zobrazovacích prostředků jako CT nebo MRI, případně jsou po určité době, řádově v měsících, zvířata usmrcena a účinek zákroku je zkoumán histologicky. [62,63,64] Příprava takového pokusu by byla velmi časově náročná a bylo by nutné zajistit například schválení etické komise pro pokusy na zvířatech, obstarat vhodná pokusná zvířata a odborný lékařský personál, který by vykonal zákrok.

Při měření experimentu bylo také ověřeno, že simulované pulzy a pulzy dodávané elektroporačním přístrojem si odpovídají pouze s drobnými rozdíly, viz obrázky 5.22 a 5.23. Pulzy jsou čtvercové, bifázické a o vhodné době trvání pulzu. Samozřejmostí je

přítomnost odchylek, například drobný amplitudy pulzu či překmit náběžné hrany, viz obrázek 5.18. Ty jsou způsobeny odchylkami reálných součástí od simulovaných ideálních. Odpory se od jejich nominální hodnoty drobně liší, jsou přítomny parazitické kapacitní a indukční účinky, kondenzátory se nestíhají zcela nabíjet a další.

Právě pomalé nabíjení kondenzátorů je hlavní důvod, proč při měření průběhu pulzů dochází k postupnému zeslabování. Pravděpodobně kvůli vysoké frekvenci a vysoké kapacitě kondenzátoru nedojde k jejich plnému nabití a s každým dalším pulzem je tak dodána o něco nižší amplituda, jak je vidět například na obrázku 5.22. Tento efekt je výraznější při delším trvání pulzů, například na obrázku 4.12, na kterém je pokles amplitudy velmi zřetelný. Zde byl aplikován pulz o délce 1,5 ms a došlo k poklesu z původní nastavené hodnoty 1 000 V až k pouhým desítkám voltů. To samozřejmě snižuje energii dodanou do tkáně a ohřev tkáně je nižší. Ačkoliv ohřev je obecně negativní vedlejší vliv, který je vhodné eliminovat, pokud by tak bylo konáno na úkor účinnosti ablace, je nutné najít vhodný kompromis, kdy ohřev bude stále bezpečný a účinnost zákroku dostatečně vysoká. Pro nápravu by bylo možné navrhnout kondenzátory s nižší kapacitou, či urychlit jejich nabíjení. Návrh úprav a vylepšení elektroporátoru může být další podnět pro budoucí práce zaměřené na tuto tematiku.

Dalším faktorem, který mohl ovlivnit výsledky bylo, že u použité tkáně nebyla brána v potaz imaginární složka impedance, ale pouze její reálná část, tedy pouze ohmický odpor. Kontakt elektrod s tkání ovšem nese i kapacitní složku, která by mohla mít vliv na měření. Imaginární složka impedance tkáně byla zanedbána z toho důvodu, že použitý průběh pulzů můžeme chápat jako sérii stejnosměrných průběhů se skokově měnící polaritou a při stejnosměrném proudu se kapacitní účinky neprojeví. Dalším důvodem bylo také to, že i program COMSOL provádí simulace v rovině DC proudu a napětí.

Při zkoumání ohřevu tkáně bylo jednoznačně zjištěno, že energie dodaná elektrodami je dostatečná pro nezanedbatelný ohřev tkáně. V případě simulace byl nárůst od počátečního stavu 1,68 °C s průměrným přírůstkem 0,17 °C, při experimentu byl celkový ohřev 3,1 °C s průměrným přírůstkem 0,31 °C, viz tabulky 5.7 a 5.8. V případě simulací byl přírůstek prvních pulzů výraznější, 0,44 °C a 0,27 °C po prvním a druhém pulzu, a poté se ustálil přibližně na hodnotě 0,10 °C. V případě experimentu byl přírůstek kolísavý, prvotní rychlý nárůst není zřejmý, nejvyšší přírůstek byl naměřen po posledním pulzu a k ustálení nedošlo. Ohřev podle dat probíhal dvakrát rychleji při experimentu než v simulacích. Pro pilotní měření je dostačující, že výsledky experimentálního měření a simulací se k sobě přibližují a nedošlo k rozdílu dat o extrémní hodnotu.

Je nutné podotknout, že teplotní měření nebylo hlavním cílem experimentu a bylo provedeno pro doplnění výsledků nad rámec zadání. Nebyl tak kladen důraz na konkrétní postup měření. Například by bylo vhodné pro další měření termokameru pevně připevnit a zaměřit ji na jeden stálý bod na tkáni, jelikož i drobné posuny a náklony kamery mohou vést k nepřesným výsledkům. Pro lepší výsledky teplotního měření by do budoucna bylo

vhodné použití termokamery s přesnějším rozsahem, lépe termokameru nastavit a nepohybovat s ní. Dále by bylo vhodné přezkoumat hodnotu zdroje napětí, které bylo převzato z efektivní hodnoty pulzu při teplotním měření.

I přesto, že se od sebe výstupy z experimentu a simulací liší, práce položila kvalitní základ pro další zkoumání a vylepšování jak experimentálního měření, tak modelů a simulací. Navazující experimenty a vylepšení simulací a konstrukce nových prototypů elektroporátoru jsou hlavní cíle pro budoucí prohlubování tematiky práce, které by do probírané oblasti mohly přinést nové poznatky.

7 Závěr

Tato bakalářská práce se zabývala elektroporací a simulací jejího využití pro ablaci srdeční tkáně ouška levé síně. Při řešení práce byly vytvořeny simulace elektrického pole a ohřevu v modelu OLS a experimentální měření určené k naměření dat pro zhodnocení přesnosti simulací.

Byly vytvořeny čtyři scénáře simulací elektrického pole podle měnících se materiálových vlastností srdeční tkáně. Po provedení simulací bylo zjištěno, že scénáře 1 a 3 a scénáře 2 a 4 vykazují totožné výsledky. Výsledky poukazují na vyšší vliv elektrické vodivosti oproti relativní permitivitě tkáně, na definitivní závěr je však zapotřebí tyto výsledky prohloubit provedením dalších simulací a experimentů.

Byl určen objem tkáně zasažené různými hodnotami intenzity elektrického pole, v případě OLS je bylo pro scénáře 1 a 2 zasaženo 37 % objemu, pro scénáře 2 a 4 bylo zasaženo 44 % objemu. Žádný objem NP nebyl vystaven intenzitě pole vyšší než 300 V/cm a maximální hodnoty pro scénáře 1 a 3 byla 231,4 V/cm a pro scénáře 2 a 4 pak 245,43 V/cm. Ve scénářích 1 a 3 bylo v tepně LCx zasaženo pouze 0,01 mm³, tedy objem prakticky zanedbatelný, jelikož intenzitou větší než 300 V/cm byl zasažen pouze 1 mm³ celého objemu LCx.

Z naměřených dat při experimentu byl vypočítán elektrický odpor tkáně jako $R_{tkan} = 43,29 \Omega$ a elektrický proud protékající tkání jako $I_{tkan} = 20,77 \text{ A}$. Oproti simulacím je v případě všech scénářů odpor nižší a proud vyšší. Nejvíce se výsledky blíží scénářům 2 a 4, kde absolutní rozdíl hodnot proudu je 7,29 A, tedy oproti simulaci pokles o 26 % a v případě odporu je rozdíl 7,65 Ω , tedy oproti simulaci navýšení o 21,5 %.

Při zkoumání ohřevu tkáně byl při experimentu naměřen celkový nárůst teploty o 3,1 °C a průměrný teplotní přírůstek po pulzu 0,31 °C. Což je přibližně dvojnásobek výsledků ze simulátoru, kde teplota vzrostla o 1,68 °C a průměrný přírůstek byl 0,17 °C.

Seznam použité literatury

- [1] NATTEL, Stanley. New ideas about atrial fibrillation 50 years on. *Nature* [online]. 2002, 415(6868), 219-226 [cit. 2023-01-09]. ISSN 0028-0836. Dostupné z: doi:10.1038/415219a
- [2] LIPPI, Giuseppe, SANCHIS-GOMAR, Fabian a CERVELLIN, Gianfranco, 2020, Global Epidemiology of Atrial Fibrillation: An increasing epidemic and Public Health Challenge. *International Journal of Stroke*. 2020-19-01, 217–221. Dostupné z: DOI 10.1177/1747493019897870.
- [3] DI BIASE, Luigi, J. David BURKHARDT, Prasant MOHANTY, et al. Left Atrial Appendage. *Circulation* [online]. 2010, 122(2), 109-118 [cit. 2023-01-09]. ISSN 0009-7322. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.109.928903
- [4] NATTEL, S. Experimental evidence for proarrhythmic mechanisms of antiarrhythmic drugs. *Cardiovascular Research* [online]. 1998, 37(3), 567-577 [cit. 2023-01-09]. ISSN 00086363. Dostupné z: doi:10.1016/S0008-6363(97)00293-9
- [5] VERMA, Atul, Samuel J. ASIVATHAM, Thomas DENEKE, Quim CASTELVI a Robert E NEAL. Primer on Pulsed Electrical Field Ablation. *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology* [online]. 2021, 14(9) [cit. 2023-01-06]. ISSN 1941-3149. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCEP.121.010086
- [6] BATISTA NAPOTNIK, Tina, POLAJŽER, Tamara and MIKLAVČIČ, Damijan, 2021, Cell death due to electroporation – a review. *Bioelectrochemistry*. [online] Říjen 2021. [cit. 2023-01-09]. Dostupné z: DOI 10.1016/j.bioelechem.2021.107871.
- [7] GLASER, Ralf W., Sergei L. LEIKIN, Leonid V. CHERNOMORDIK, Vasili F. PASTUSHENKO a Artjom I. SOKIRKO. Reversible electrical breakdown of lipid bilayers: formation and evolution of pores. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* [online]. 1988, 940(2), 275-287 [cit. 2023-01-09]. ISSN 00052736. Dostupné z: doi:10.1016/0005-2736(88)90202-7
- [8] WEAVER, James C. a Yu.A. CHIZMADZHEV. Theory of electroporation: A review. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics* [online]. 1996, 41(2), [cit. 2023-01-09]. ISSN 03024598. Dostupné z: doi:10.1016/S0302-4598(96)05062-3
- [9] KOTNIK, Tadej, FREY, Wolfgang, SACK, Martin, HABERL MEGLIČ, Saša, PETERKA, Matjaž a MIKLAVČIČ, Damijan, 2015, Electroporation-based applications in biotechnology. *Trends in Biotechnology* [online]. [cit. 2023-01-10]. Dostupné z: doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.06.002

- [10] EL DIB, Regina, TOUMA, Naji J. a KAPOOR, Anil, 2012, Cryoablation vs radiofrequency ablation for the treatment of renal cell carcinoma: A meta-analysis of case series studies. *BJU International* [online]. [cit. 2023-01-14]. Dostupné z: doi.org/10.1111/j.1464-410X.2011.10885.x
- [11] GAGE, Andrew A. a BAUST, John, 1998, Mechanisms of tissue injury in cryosurgery. *Cryobiology* [online]. [cit. 2023-01-14]. Dostupné z: doi.org/10.1006/cryo.1998.2115.
- [12] Van der Ree et al., 2020, Cardiac radioablation—a systematic review. *Heart Rhythm*. 2020. Dostupné z: doi.org/10.1016/j.hrthm.2020.03.013
- [13] HAEMMERICH, Dieter. Biophysics of Radiofrequency Ablation. *Critical Reviews™ in Biomedical Engineering* [online]. 2010, 38(1), 53-63 [cit. 2023-01-14]. ISSN 0278-940X. Dostupné z: doi:10.1615/CritRevBiomedEng.v38.i1.50
- [14] BERTAGLIA, Emanuele et al. Early complications of pulmonary vein catheter ablation for atrial fibrillation: A multicenter prospective registry on procedural safety. *Heart Rhythm* [online]. 2007, 4(10), 1265-1271 [cit. 2023-01-14]. ISSN 15475271. Dostupné z: doi:10.1016/j.hrthm.2007.06.016
- [15] MCGAHAN, John P. a Vanessa A. VAN RAALTE. History of Ablation. *Tumor Ablation* [online]. New York, NY: Springer New York, 2005, 2005, 3-16 [cit. 2023-01-14]. ISBN 978-0-387-95539-1. Dostupné z: doi:10.1007/0-387-28674-8_1
- [16] Radiofrequency Ablation for Pain Management. Cleveland Clinic [online]. Cleveland, Ohio: Cleveland Clinic, c2023 [cit. 2023-01-14]. Dostupné z: <https://my.clevelandclinic.org/health/treatments/17411-radiofrequency-ablation>
- [17] BAUST, John G., Andrew A. GAGE a John M. BAUST. Principles of Cryoablation. *Dermatological Cryosurgery and Cryotherapy* [online]. London: Springer London, 2016-04-29, 9-16 [cit. 2023-01-14]. ISBN 978-1-4471-6764-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4471-6765-5_2
- [18] HUI, Gladwin C., Kemal TUNCALI, Servet TATLI, Paul R. MORRISON a Stuart G. SILVERMAN. Comparison of Percutaneous and Surgical Approaches to Renal Tumor Ablation: Metaanalysis of Effectiveness and Complication Rates. *Journal of Vascular and Interventional Radiology* [online]. 2008, 19(9), 1311-1320 [cit. 2023-01-14]. ISSN 10510443. Dostupné z: doi:10.1016/j.jvir.2008.05.014
- [19] DE POTTER, Tom, Martijn KLAVER, Alex BABKIN, Konstantinos ILIODROMITIS, Meleze HOCINI, Jim COX a Lucas BOERSMA. Ultra-Low Temperature Cryoablation for Atrial Fibrillation: Primary Outcomes for Efficacy and Safety. *JACC: Clinical Electrophysiology* [online]. 2022, 8(8), 1034-1039 [cit. 2023-01-14]. ISSN 2405500X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jacep.2022.05.017

- [20] IVORRA, Antoni a Boris RUBINSKY. Historical Review of Irreversible Electroporation in Medicine. Irreversible Electroporation [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010, 2010, 1-21 [cit. 2023-01-20]. Series in Biomedical Engineering. ISBN 978-3-642-05419-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-642-05420-4_1
- [21] RUBINSKY, Boris. Irreversible Electroporation in Medicine [online]. 2007, 255-259 [cit. 2023-01-21]. ISSN 1533-0346. Dostupné z: doi:10.1177/153303460700600401
- [22] NEU, Wanda Krassowska a John C. NEU. Mechanism of Irreversible Electroporation in Cells: Insight from the Models. Irreversible Electroporation [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010, 2010, 85-122 [cit. 2023-01-21]. Series in Biomedical Engineering. ISBN 978-3-642-05419-8. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-642-05420-4_4
- [23] ISAMBERT, Hervé. Understanding the Electroporation of Cells and Artificial Bilayer Membranes. Physical Review Letters [online]. 1998, 80(15), 3404-3407 [cit. 2023-01-21]. ISSN 0031-9007. Dostupné z: doi:10.1103/PhysRevLett.80.3404
- [24] SHEEHAN, Mary Chase a Govindarajan SRIMATHVEERAVALLI. Pulsed electric fields. In: Principles and Technologies for Electromagnetic Energy Based Therapies. Elsevier [online]. 2021, s. 71-106. [cit. 2023-01-21]. Dostupné z: doi:10.1016/C2019-0-00033-7.
- [25] KOTNIK, Tadej, Lea REMS, Mounir TAREK a Damijan MIKLAVČIČ. Membrane Electroporation and Electropermeabilization: Mechanisms and Models. Annual Review of Biophysics [online]. 2019, 48(1), 63-91 [cit. 2023-01-21]. ISSN 1936-122X. Dostupné z: doi:10.1146/annurev-biophys-052118-115451
- [26] MATTSON, Mark P. a Nicolas G. BAZAN. Apoptosis and Necrosis. Basic Neurochemistry [online]. Elsevier, 2012, 2012, 663-676 [cit. 2023-01-21]. ISBN 9780123749475. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-374947-5.00037-7
- [27] SCHOENBACH, Karl, Barbara HARGRAVE, Ravindra JOSHI, et al. Bioelectric Effects of Intense Nanosecond Pulses. IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation [online]. 2007, 14(5), 1088-1109 [cit. 2023-01-21]. ISSN 1070-9878. Dostupné z: doi:10.1109/TDEI.2007.4339468
- [28] REN, Wei a Stephen J. BEEBE. An apoptosis targeted stimulus with nanosecond pulsed electric fields (nsPEFs) in E4 squamous cell carcinoma. Apoptosis [online]. 2011, 16(4), 382-393 [cit. 2023-01-21]. ISSN 1360-8185. Dostupné z: doi:10.1007/s10495-010-0572-y

- [29]NUCCITELLI, Richard, Xinhua CHEN, Andrei G. PAKHOMOV, et al. A new pulsed electric field therapy for melanoma disrupts the tumor's blood supply and causes complete remission without recurrence. *International Journal of Cancer* [online]. 2009, 125(2), 438-445 [cit. 2023-01-21]. ISSN 00207136. Dostupné z: doi:10.1002/ijc.24345
- [30]PAKHOMOVA, Olga N., Betsy W. GREGORY, Iurii SEMENOV, Andrei G. PAKHOMOV a Maria Rosaria SCARFI. Two Modes of Cell Death Caused by Exposure to Nanosecond Pulsed Electric Field. *PLoS ONE* [online]. 2013, 8(7) [cit. 2023-01-21]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0070278
- [31]LEE, Edward W., Christine CHEN, Veronica E. PRIETO, Sarah M. DRY, Christopher T. LOH a Stephen T. KEE. Advanced Hepatic Ablation Technique for Creating Complete Cell Death: Irreversible Electroporation. *Radiology* [online]. 2010, 255(2), 426-433 [cit. 2023-01-21]. ISSN 0033-8419. Dostupné z: doi:10.1148/radiol.10090337
- [32]ČIHÁK, Radomír. *Anatomie. Třetí, upravené a doplněné vydání*. Praha: Grada, 2016. ISBN 978-80-247-5636-3.
- [33]GONZALEZ-CASAL, David, Tomás DATINO, Nina SOTO, Jorge GONZÁLEZ-PANIZO, Damián SÁNCHEZ-QUINTANA, Yolanda MACIAS a José-Ángel CABRERA. Anatomy of the left atrial appendage for the interventional cardiologist. *Herzschrittmachertherapie Elektrophysiologie* [online]. 2022, 33(2), 195-202 [cit. 2023-01-21]. ISSN 0938-7412. Dostupné z: doi:10.1007/s00399-022-00866-8
- [34]UCERLER, Hulya, Z. Asli AKTAN IKIZ a Tomris OZGUR. Human left atrial appendage anatomy and overview to its clinical significance. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi/The Anatolian Journal of Cardiology* [online]. 2013 [cit. 2023-01-21]. ISSN 13028723. Dostupné z: doi:10.5152/akd.2013.181
- [35]SAW, Jacqueline a Mathieu LEMPEREUR. Percutaneous Left Atrial Appendage Closure. *JACC: Cardiovascular Interventions* [online]. 2014, 7(11), 1205-1220 [cit. 2023-01-21]. ISSN 19368798. Dostupné z: doi:10.1016/j.jcin.2014.05.026
- [36]VERMA, Subodh, Deepak L. BHATT a Elaine E. TSENG. Time to Remove the Left Atrial Appendage at Surgery: LAAOS III in Perspective. *Circulation* [online]. 2021, 144(14), 1088-1090 [cit. 2023-01-21]. ISSN 0009-7322. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.121.055825
- [37]NISHIMURA, Marin, Florentino LUPERCIO-LOPEZ a Jonathan C. HSU. Left Atrial Appendage Electrical Isolation as a Target in Atrial Fibrillation. *JACC: Clinical Electrophysiology* [online]. 2019, 5(4), 407-416 [cit. 2023-01-21]. ISSN 2405500X. Dostupné z: doi:10.1016/j.jacep.2019.02.009

- [38] BARKER, JACQUES M.T., RICHARD N.W. HAUER, PATRICIA F.A. BAKKER, ANTON E. BECKER, MICHIEL J. JANSE a ETIENNE O. ROBLES MEDINA. Abnormal Automaticity as Mechanism of Atrial Tachycardia in the Human Heart, Electrophysiologic and Histologic Correlation. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* [online]. 1994, s. 335-344 [cit. 2023-01-21]. ISSN 1045-3873. Dostupné z: doi:10.1111/j.1540-8167.1994.tb01170.x
- [39] IWASAKI, Yu-ki, Kunihiro NISHIDA, Takeshi KATO a Stanley NATTEL. Atrial Fibrillation Pathophysiology. *Circulation* [online]. 2011, 124(20), 2264-2274 [cit. 2023-01-21]. ISSN 0009-7322. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.111.019893
- [40] Atrial Fibrillation Overview, Mayo Clinic, 2021 [online]. [cit. 2023-01-21]. Dostupné z: <https://www.mayoclinic.org/diseases-conditions/atrial-fibrillation/symptoms-causes/syc-20350624>
- [41] J. HEUSER. Atrial fibrillation ECG. In: Wikimedia Commons [online]. 2005 [cit. 2023-05-14]. Dostupné z: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Afib_ecg.jpg
- [42] NAKAGAWA, Hiroshi a Warren M. JACKMAN. Electroporation (Revival of Direct Current Ablation). *Circulation: Arrhythmia and Electrophysiology* [online]. 2014, 7(5), 779-780 [cit. 2023-01-21]. ISSN 1941-3149. Dostupné z: doi:10.1161/CIRCEP.114.002255
- [43] SANO, Michael B., Richard E. FAN a Lei XING. Asymmetric Waveforms Decrease Lethal Thresholds in High Frequency Irreversible Electroporation Therapies. *Scientific Reports* [online]. 2017, 7(1) [cit. 2023-01-22]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/srep40747
- [44] MERCADAL, Borja, Christopher B ARENA, Rafael V DAVALOS a Antoni IVORRA. Avoiding nerve stimulation in irreversible electroporation: a numerical modeling study [online]. 2017, 62(20), 8060-8079 [cit. 2023-01-21]. ISSN 1361-6560. Dostupné z: doi:10.1088/1361-6560/aa8c53
- [45] LI, Wei, Qingyu FAN, Zhenwei JI, Xiuchun QIU, Zhao LI a Ilya ULASOV. The Effects of Irreversible Electroporation (IRE) on Nerves. *PLoS ONE* [online]. 2011, 6(4) [cit. 2023-01-22]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0018831
- [46] MAOR, Elad, Antoni IVORRA, Boris RUBINSKY a Pieter H. REITSMA. Non Thermal Irreversible Electroporation: Novel Technology for Vascular Smooth Muscle Cells Ablation. *PLoS ONE* [online]. 2009, 4(3) [cit. 2023-01-22]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0004757

- [47] ARENA, Christopher B, Michael B SANO, John H ROSSMEISL, John L CALDWELL, Paulo A GARCIA, Marissa Nichole RYLANDER a Rafael V DAVALOS. High-frequency irreversible electroporation (H-FIRE) for non-thermal ablation without muscle contraction. *BioMedical Engineering OnLine* [online]. 2011, 10(1) [cit. 2023-01-22]. ISSN 1475-925X. Dostupné z: doi:10.1186/1475-925X-10-102
- [48] ES, René, Marijn H. A. GROEN, Marco STEHOUWER, Pieter A. DOEVENDANS, Fred H. M. WITTKAMPF a Kars NEVEN. In vitro analysis of the origin and characteristics of gaseous microemboli during catheter electroporation ablation. *Journal of Cardiovascular Electrophysiology* [online]. 2019, 30(10), 2071-2079 [cit. 2023-01-22]. ISSN 1045-3873. Dostupné z: doi:10.1111/jce.14091
- [49] BARAK, Michal a Yeshayahu KATZ. Microbubbles. *Chest* [online]. 2005, 128(4), 2918-2932 [cit. 2023-01-22]. ISSN 00123692. Dostupné z: doi:10.1378/chest.128.4.2918
- [50] BARDY, G. H., F. COLTORTI, R. B. STEWART, H. L. GREENE a T. D. IVEY. Catheter-mediated electrical ablation: the relation between current and pulse width on voltage breakdown and shock-wave generation. *Circulation Research* [online]. 1988, 63(2), 409-414 [cit. 2023-01-22]. ISSN 0009-7330. Dostupné z: doi:10.1161/01.RES.63.2.409
- [51] FET vs. BJT vs. IGBT: What's the Right Choice for Your Power Stage Design?. *All About Circuits* [online]. March 13, 2017 [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: <https://www.allaboutcircuits.com/technical-articles/fet-vs-bjt-vs-igbt-whats-the-right-choice-for-your-power-stage-design/>
- [52] H-Bridges – the Basics. *Modular Circuits* [online]. c2011 [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: <http://www.modularcircuits.com/blog/articles/h-bridge-secrets/h-bridges-the-basics/>
- [53] Voltage Multiplier. *Electronics Tutorials* [online]. c2014 [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: <https://www.electronics-tutorials.ws/blog/voltage-multiplier-circuit.html>
- [54] Voltage Multiplier. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2023 [cit. 2023-05-16]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Voltage_multiplier
- [55] SÁNCHEZ-QUINTANA, Damián, Siew Yen HO, Vicente CLIMENT, Margarita MURILLO a José Angel CABRERA. Anatomic evaluation of the left phrenic nerve relevant to epicardial and endocardial catheter ablation: Implications for phrenic nerve injury. *Heart Rhythm* [online]. 2009, 6(6), 764-768 [cit. 2023-01-22]. ISSN 15475271. Dostupné z: doi:10.1016/j.hrthm.2009.02.029

- [56] Dielectric Properties. IT'IS Foundation [online]. Curych, c2010-2022, c2022 [cit. 2023-01-22]. Dostupné z: <https://itis.swiss/virtual-population/tissue-properties/database/dielectric-properties/>
- [57] CARTHY, U. M., G. AYALEW, F. BUTLER, K. M. DONNELL, J. LYNNG a S. WARD. Permittivity of Meat Fish and their Components at UHF RFID Frequencies and Industry Relevant Temperatures. In: Semantic Scholar [online]. Agricultural Engineering International: The CIGR Journal, 2009 [cit. 2023-08-17]. Dostupné z: <https://www.semanticscholar.org/paper/Permittivity-of-Meat-Fish-and-their-Components-at-Carthy-Ayalew/977fc6f9df9602530d212df327e036ef3009eb9e>
- [58] SARANG, Sanjay, Sudhir K. SASTRY a Lynn KNIPE. Electrical conductivity of fruits and meats during ohmic heating. Journal of Food Engineering [online]. 2008, 87(3), 351-356 [cit. 2023-08-17]. ISSN 02608774. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfoodeng.2007.12.012
- [59] GRAINYS, Audrius, Vitalij NOVICKIJ a Jurij NOVICKIJ. High-power bipolar multilevel pulsed electroporator. Instrumentation Science & Technology [online]. 2015, 44(1), 65-72 [cit. 2023-05-17]. ISSN 1073-9149. Dostupné z: doi:10.1080/10739149.2015.1060607
- [60] NOVOTNA, Veronika, Radoslav CIPIN, Dalibor CERVINKA, Zdenek STAREK a Martin PESL. Numerical Modeling of Electroporation Process Using Endocardial Catheter. 8th European Medical and Biological Engineering Conference [online]. Cham: Springer International Publishing, 2021, 2021-11-30, 896-904 [cit. 2023-01-22]. IFMBE Proceedings. ISBN 978-3-030-64609-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-64610-3_100
- [61] SEL, D., D. CUKJATI, D. BATIUSKAITE, T. SLIVNIK, L.M. MIR a D. MIKLAVCIC. Sequential Finite Element Model of Tissue Electroporation. IEEE Transactions on Biomedical Engineering [online]. 2005, 52(5), 816-827 [cit. 2023-01-22]. ISSN 0018-9294. Dostupné z: doi:10.1109/TBME.2005.845212
- [62] LIN, Man-Xia, Ming KUANG, Ming XU, Bo-Wen ZHUANG, Wen-Shuo TIAN, Jie-Yi YE, Xiao-Hua XIE a Xiao-Yan XIE. Ultrasound and Contrast-Enhanced Ultrasound for Evaluation of Irreversible Electroporation Ablation: In Vivo Proof of Concept in Normal Porcine Liver [online]. 2016, 42(11), 2639-2649 [cit. 2023-08-15]. ISSN 03015629. Dostupné z: doi:10.1016/j.ultrasmedbio.2016.07.007
- [63] ZHANG, Yue, Sarah B. WHITE, Jodi R. NICOLAI, et al. Multimodality Imaging to Assess Immediate Response to Irreversible Electroporation in a Rat Liver Tumor Model. Radiology [online]. 2014, 271(3), 721-729 [cit. 2023-08-15]. ISSN 0033-8419. Dostupné z: doi:10.1148/radiol.14130989

[64]NEVEN, Kars, Anna FÜTING, Israel BYRD, Ronald W. HEIL, Jeffrey M. FISH, Daniel A. FEENEY, Elina DONSKOY a James A. JENSEN. Absence of (sub-)acute cerebral events or lesions after electroporation ablation in the left-sided canine heart. *Heart Rhythm* [online]. 2021, 18(6), 1004-1011 [cit. 2023-08-15]. ISSN 15475271. Dostupné z: doi:10.1016/j.hrthm.2021.02.015