



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH TECHNOLOGIÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION

ÚSTAV VÝKONOVÉ ELEKTROTECHNIKY A ELEKTRONIKY

DEPARTMENT OF POWER ELECTRICAL AND ELECTRONIC ENGINEERING

MĚŘENÍ IMPEDANCE TKÁNĚ PŘI ELEKTROPORACI

MEASUREMENT OF TISSUE IMPEDANCE DURING ELECTROPORATION

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jakub Uher

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Dalibor Červinka, Ph.D.

BRNO 2020

Bakalářská práce

bakalářský studijní program **Silnoproudá elektrotechnika a elektroenergetika**

Ústav výkonové elektrotechniky a elektroniky

Student: Jakub Uher

ID: 203506

Ročník: 3

Akademický rok: 2019/20

NÁZEV TÉMATU:

Měření impedance tkáně při elektroporaci

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1. Provedte literární rešerši v oblasti měření impedance tkáně při elektroporaci.
2. Navrhněte vhodnou měřicí metodu a sestavte příslušné pracoviště.
3. Zpracujte a vyhodnoťte změřená data, porovnejte s dostupnými informacemi v literatuře.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] PATOCKA, Miroslav. Magnetické jevy a obvody ve výkonové elektronice, měřicí technice a silnoproudé elektrotechnice. 1. vyd. V Brně: VUTUM, 2011, 564 s. ISBN 978-80-214-4003-6.

[2] Vorel P., Patocka M., Průmyslová elektronika, Vydání 1., skriptum FEKT VUT Brno, 2007

Termín zadání: 3.2.2020

Termín odevzdání: 10.6.2020

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

doc. Ing. Petr Toman, Ph.D.
předseda rady studijního programu

UPOZORNĚNÍ:

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

Abstrakt

Bakalářská práce se věnuje impedanci tkáně ve vztahu k moderní lékařské metodě elektroporaci. Bakalářská práce je rozdělena do pěti kapitol. První tři kapitoly popisují chování tkáně a její impedance, ať už při průchodu elektrického proudu, nebo jevy před a po provedení elektroporačního zákroku. Čtvrtá a pátá kapitola zkoumá jevy zmíněné v předešlých kapitolách na měřeních provedených na živočišné a rostlinné tkáni.

Klíčová slova

Elektroporace, Impedance, Tkáň, QuadTech 7600, Elektrický odpor

Abstract

The Bachelor's thesis is devoted to the impedance of tissue in relation to the modern medical method electroporation. The Bachelor's thesis is divided into five chapters. The first three chapters describe the behaviour of the tissue and its impedance, whether during the passage of an electrical current or a phenomenon before and after the electroporation procedure. The fourth and fifth chapters examine those phenomena in the previous chapters on measurements made on animal and plant tissue.

Keywords

Electroporation, Impedance, Tissue, QuadTech 7600, Resistivity

Bibliografická citace:

UHER, Jakub. *Měření impedance tkáně při elektroporaci*. Brno, 2020. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/125833>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, Ústav výkonové elektrotechniky a elektroniky. Vedoucí práce Dalibor Červinka.

Prohlášení

„Prohlašuji, že svou bakalářskou práci na téma Metody měření impedance živé tkáně jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

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

V Brně dne: **10. června 2020**

.....
podpis autora

Poděkování

Děkuji vedoucímu bakalářské práce Ing. Daliboru Červinkovi, Ph.D. za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé bakalářské práce.

V Brně dne: **10. června 2020**

.....
podpis autora

Obsah

Úvod.....	16
1. Úvod do problematiky elektroporace	17
1.1 Vratná elektroporace	17
1.2 Nevratná elektroporace	18
1.3 Úspěšnost elektroporačního zákroku	19
2. Měření impedance tkáně	21
2.1 Popis bioelektrické impedance	21
2.2 Metody měření bioelektrické impedance	23
2.2.1 Jednofrekvenční bioelektrická impedanční analýza	24
2.2.2 Multifrekvenční bioelektrická impedanční analýza.....	24
2.2.3 Segmentální bioelektrická impedanční analýza.....	25
2.2.4 Lokalizovaná bioelektrická impedanční analýza.....	25
2.2.5 Bioelektrická analýza vektorů impedance	25
3. Náhradní model tkáně.....	27
3.1 Zmodernizovaný model tkáně.....	29
3.2 Změna vodivosti tkáně způsobená elektroporací	30
4. Přístroj k měření impedance tkáně QuadTech 7600	33
4.1 Měření impedance pomocí QuadTech 7600	35
4.2 Korekce měření přístroje QuadTech 7600	36
5. Měření stejnosměrného odporu tkáně.....	38
Závěr	44

Seznam symbolů a zkratk

Zkratky:

RNA	...	Elektrogenová terapie
ECT	...	Elektrochemo terapie
AC	...	Alternating Current – Střídavý proud

Symboly:

U	...	napětí	[V]
I	...	proud	[A]
f	...	frekvence	[Hz]
L	...	délka vodiče	[m]
S	...	plocha vodiče, plocha elektrod	[m ²]
Z	...	impedance	[Ω]
ρ	...	rezistivita	[Ω·(mm) ² ·m ⁻¹]
V	...	objem	[m ³]
R	...	odpor	[Ω]
C	...	elektrická kapacita	[F]
j	...	imaginární člen	[-]
X _c	...	kapacitní reaktance	[Ω]
R _e	...	extracelulární odpor tekutiny	[Ω]
R _i	...	intracelulární odpor tekutiny	[Ω]
R _m	...	odpor membrány	[Ω]
R _{EP}	...	odpor závislý na elektroporaci	[Ω]
C _m	...	kapacita buněčné membrány	[F]
G	...	elektrická vodivost	[S]
σ	...	měrná elektrická vodivost	[S/m]
t	...	čas	[s]
C _s	...	sériová kapacita	[F]
C _p	...	paralelní kapacita	[F]
L _s	...	sériová indukčnost	[H]
L _p	...	paralelní indukčnost	[H]
R _s	...	sériový odpor	[Ω]
R _p	...	paralelní odpor	[Ω]
X _s	...	reaktance	[Ω]
Y	...	admitance	[S]
G _p	...	vodivost	[S]
B _p	...	susceptance	[S]
Z _{sér}	...	impedance nakrátko	[Ω]
Z _p	...	impedance naprázdno	[Ω]
Z _{změř}	...	změřené hodnoty impedance	[Ω]
Z _{korekce}	...	impedance po korekci	[Ω]
Y _{korekce}	...	admitance po korekci	[S]
Z	...	absolutní hodnota impedance	[Ω]
R _e	...	reálná složka impedance	[Ω]
I _m	...	imaginární složka impedance	[Ω]
d _{1,2,3}	...	průměr elektrod	[mm]

E	...	intenzita elektrického pole	$[\text{V}\cdot\text{m}^{-1}]$
I ₁	...	proud hlavní elektrodou	[A]
I ₂	...	proud pomocnou elektrodou	[A]

Seznam obrázků

Obr. 1-1 Princip elektroporace	17
Obr. 1-2 Zničení nádorové buňky pomocí nevratné elektroporace	18
Obr. 1-3 Napěťový obdélníkový pulz používaný při elektroporaci.....	19
Obr. 2-1 Vodič o ploše S a délce L	21
Obr. 2-2 Bioelektrická impedance	23
Obr. 2-3 Komerční přístroj Bodystat	23
Obr. 2-4 Standardní poloha elektrod.....	24
Obr. 2-5 Bioelektrická analýza vektoru impedance.....	26
Obr. 3-1 Elektrický model pro buňku (A) a tkáň (B)	27
Obr. 3-2 Průchod proudu tkání při nízkých a vysokých frekvencích	28
Obr. 3-3 Upravený elektrický model živé tkáně	29
Obr. 3-4 Graf velikosti impedance v závislosti na frekvenci před a po elektroporaci ...	30
Obr. 3-5 Změna vodivosti krysích jater po elektroporaci	31
Obr. 4-1 Měřič impedance QuadTech 7600	33
Obr. 4-2 Měření impedance před a po elektroporaci ve školní laboratoři.....	35
Obr. 4-3 Graf s korekcí měření impedance před a po elektroporaci.....	37
Obr. 5-1 Graf změny vodivosti v závislosti na intenzitě elektrického pole odpovídající chtěné, sigmoidální funkci.....	38
Obr. 5-2 Náčrt měřicího přípravku	39
Obr. 5-3 Fotografie kontaktního systému	40
Obr. 5-4 Elektrický odpor plátku brambory před a po elektroporaci	41
Obr. 5-5 Graf změny vodivosti v závislosti na intenzitě elektrického pole.....	42

Seznam tabulek

Tab. č. 4-1 Měřicí parametry přístroje QuadTech 7600	33
Tab. č. 5-1 Tabulka naměřených a vypočtených hodnot při experimentu na bramboře.	40

ÚVOD

Moderní medicína se nepřestává zdokonalovat a s jejím zvětšujícím se polem působnosti se objevují i nové lékařské metody. Jednou z nich je i elektroporace, která by se v budoucnu mohla stát důležitou součástí léčby rakovinových onemocnění.

Tato práce popisuje změny, které elektroporace vyvolává ve tkáni. Konkrétně sleduje chování impedance tkáně před a po elektroporačním zákroku a jak pomocí změny impedance můžeme určit úspěšnost daného zákroku.

Hlavním cílem této bakalářské práce je seznámit se s impedancí tkáně, jejími vlastnostmi a k jakým změnám dochází po provedení elektroporačního zákroku. Dále provést kontrolní měření, díky kterému bude možno zdokonalit měřící přípravek pro budoucí měření živočišné tkáně.

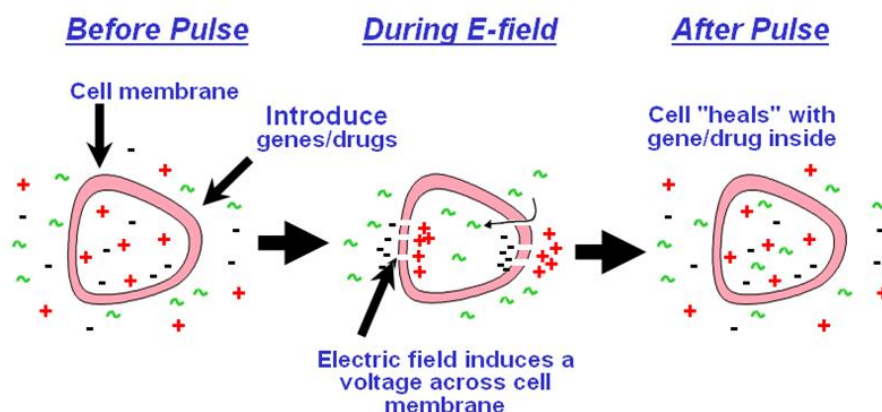
1. ÚVOD DO PROBLEMATIKY ELEKTROPORACE

Výzkum této metody trvá pouhých 30 let, můžeme tedy říci, že se jedná o poměrně novou léčebnou metodu [1]. Elektroporace je metoda, při níž pomocí elektrických pulsů dochází ke změně permeability buněčné membrány. To má za následek dočasné vytvoření pórů v buněčné membráně. Pomocí těchto pórů potom můžeme přepravovat různé látky, například nukleové kyseliny, léky atd. [2]. Elektroporace si našla své místo v medicíně v mnoha odvětvích, například elektrogenová terapie (RNA), při které dochází ke vkládání genů do buňky. Pokud ale elektrické pole překročí práh membrány (200mV až 1V), dochází ke ztrátě schopnosti zatažení pórů. To má za následek smrt buňky z důvodu ztráty homeostáze (schopnost udržovat stabilní vnitřní prostředí) [3]. Rozeznáváme tedy elektroporaci vratnou a nevratnou.

1.1 Vratná elektroporace

Vratná elektroporace se dá označit za vratnou tehdy, pokud se po aplikaci léčby póry, vytvořené elektroporací, samy zatahnou. Velikost pórů se pohybuje mezi 40 až 120 nm a začínají se otevírat přibližně 40 ms po působení pulzu. Otevřeny bývají až několik minut, než se kompletně zatahnou a zmizí.

Vratná elektroporace je hojně využívána při léčbě rakoviny (elektrochemo terapie – ECT), kdy do postižených buněk rakovinou pomocí otevřených pórů zavádíme medikamenty. Další metodou je elektrogenová terapie (RNA), u níž se přenášejí geny (nebo jiné buněčné materiály) přímo do buňky [4].



Obr. 1-1 Princip elektroporace

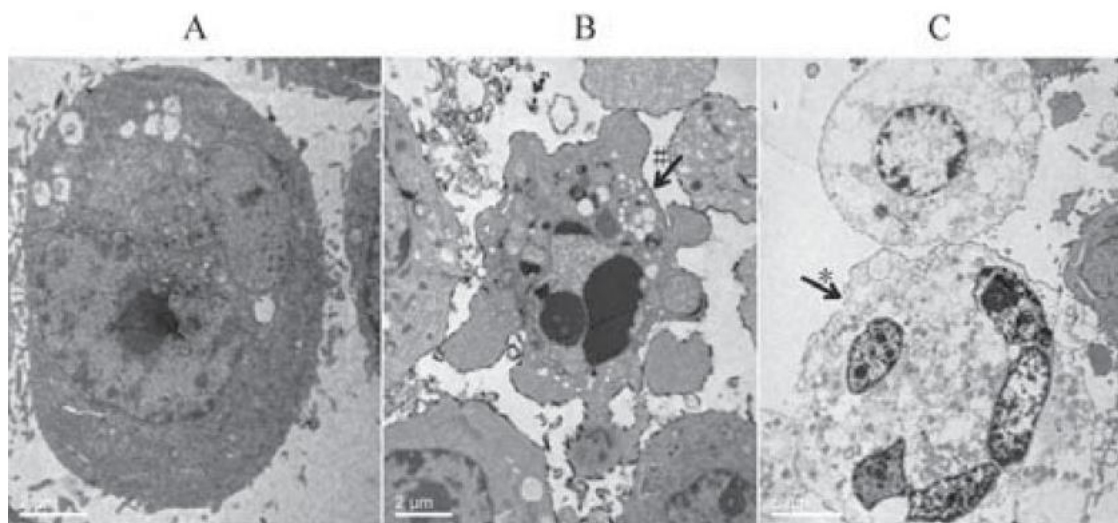
Na obrázku (Obr. 1-1) lze vidět chování buňky před a po zásahu elektrickým polem. V první části obrázku je vyobrazena situace před přiložením elektrického pole – buněčná membrána má pouze svůj pasivní přenos látek pomocí difúze a osmózy.

Ve druhé části je vyobrazena situace, kdy po přiložení elektrického pole na buňku, dochází k vytvoření dočasných pórů/kanálků, kterými je poté do buňky dopraven lék nebo gen (označeno zeleně). Po několika minutách dojde k úplnému uzavření pórů, kdy se lék už nachází uvnitř buňky.

1.2 Nevratná elektroporace

Jestliže vystavíme buňku intenzivnějšímu elektrickému poli (nebo ho budeme udržovat po delší čas), dojde ke ztrátě homeostáze buňky a jejímu následnému úmrtí. Tento fenomén označujeme jako nevratnou elektroporaci.

Největší výhodou nevratné elektroporace je možnost vyhnout se použití léků, jelikož se celý děj odvíjí jen od přiloženého elektrického pole. Díky tomuto faktu, se tato metoda dá využít pro léčbu nezhoubných nádorů [5].

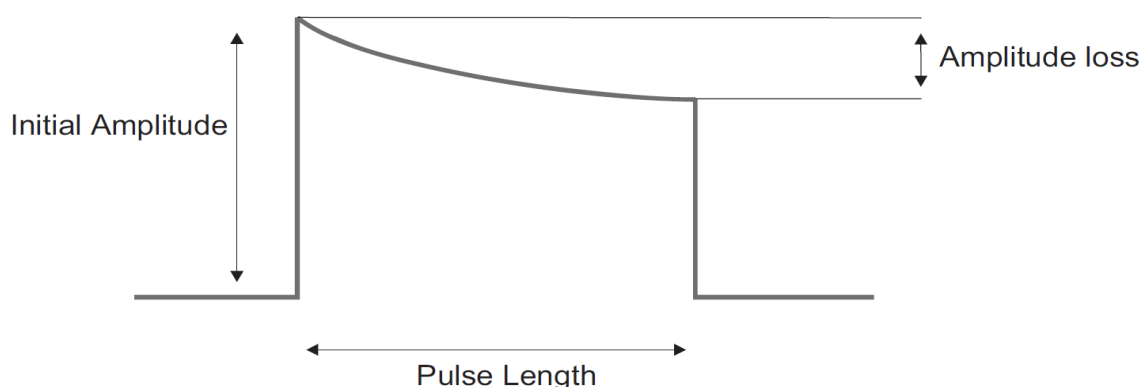


Obr. 1-2 Zničení nádorové buňky pomocí nevratné elektroporace

Na Obr. 1-2 je průběh ničení nádorové buňky za pomoci nevratné elektroporace. V části A je zobrazena poškozená buňka, která je v části B zasažena pěti 400 V pulzy. V části C je dodatečné zničení buňky pomocí dvou pulzů o hodnotě 900 V [6].

Aby bylo možné provést takovýto zákrok, používá se napětí řádově v kV. Zařízení pro elektroporaci musí obstat minimální hodnotu 800 V/cm tkáně, abychom mohli považovat tkáň za elektroporizovanou. Používané elektrody jsou vpíchnuty přímo do léčené tkáně. Nejčastěji jsou používané elektrody vyrobené z nerezové oceli, 15 cm dlouhé, o průměru 1 cm, které jsou částečně izolované. Vodivá, neizolovaná část může být dlouhá až 4 cm. Abychom se elektrodami dostali na správnou pozici a pokryli jsme co nejvíce postižené tkáně, můžeme je zavádět pod ultrazvukem [5].

Při používání vysokonapěťových zdrojů, jsou akumulční kondenzátory spojeny přímo se zátěží jen pomocí spínačů.



Obr. 1-3 Napěťový obdélníkový pulz používaný při elektroporaci

Kvalita těchto pulsů závisí na zátěži. Takovýto puls by mohl být čistě obdélníkový, bez ztráty amplitudy za předpokladu, že na zátěži bude velmi nízký proud. Průchodem proudem na zátěži dochází k vybíjení kondenzátoru, a tím i ke snižování amplitudy napětí (a proudu), jak je patrné z Obr. 1-3.

Kondenzátor by tedy měl být dimenzován tak, že délka poklesu napětí (vybíjení) je mnohem delší než trvání jednotlivých elektroporačních pulsů i při nejhorší možné zátěži [3].

1.3 Úspěšnost elektroporačního zákroku

V současnosti je elektroporace tkáně, jako i ostatní metody molekulární medicíny, prováděna bez krátkodobé kontroly. Jinými slovy, během zákroku není dostupná žádná informace o stupni a rozsahu provedené elektroporace. Jediný ukazatel úspěšnosti je tedy dlouhodobá reakce tkáně na dostatek nebo nedostatek medikamentů.

Čím větší je frekvence přiloženého pole, tím více se tkáň stává vodivější. Zvýšení vodivosti má za následek snížení impedance tkáně. Tento impedanční rozdíl můžeme změřit a pomocí něj určit úspěšnost zákroku na elektroporizované tkáni. Jeden pár elektrod obstarává proud procházející tkání po zákroku, zatímco druhým párem provádíme měření impedance. Je nutné podotknout, že elektrické pole vytvořené během sběru dat je mnohem menší než to při elektroporaci, tudíž nijak nerozšiřuje a ani neprohlubuje provedenou elektroporaci.

Data, tedy napětí, proud a případně samotná geometrie elektrod, jsou potom graficky zpracována a vyhodnocována (např. termokamerou), zdali byla zasažena celá oblast vystavená elektroporaci, aniž by byla ovlivněna okolní tkáň [7].

2. MĚŘENÍ IMPEDANCE TKÁNĚ

Měření bioelektrické impedance bylo, a je, využíváno pro sledování řady fyziologických událostí. I přesto, že byly získány důležité poznatky a vyvinuty užitečné techniky, existuje řada omezení pro používané metody. Mezi ně patří neschopnost přesně určit kudy vede elektrický proud, neschopnost rozlišit objemové změny a změny vlastností materiálu (tkáně). K řešení těchto omezení lze použít metody, které byly úspěšně použity v materiálové vědě – tyto metody zahrnují měření skutečných i reaktivních složek v širokém frekvenčním rozsahu, spojeném s různými vykreslovacími a analytickými technikami. Přesné měření reaktivní složky je poměrně obtížné, protože biologické systémy jsou vysoce vodivé. Navíc, s ohledem na bezpečnost, je měření bioelektrické impedance u lidí omezeno na frekvenci vyšší než 20 kHz. Z těchto důvodů nebyly tyto techniky rozšířeny pro použití *in vivo*, neboli „v živém organismu“, avšak své místo si našly ve studiích buněčných suspenzí a biologické tkáně [8].

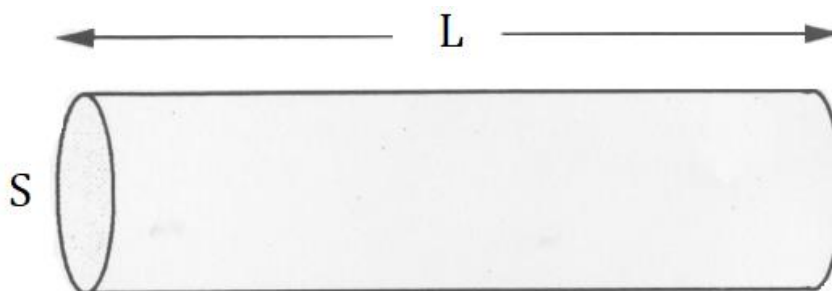
Elektrické vlastnosti tkání můžeme s ohledem na zdroj elektrické energie rozdělit do dvou kategorií – aktivní a pasivní.

Aktivní vznik elektrického proudu vychází z iontových aktivit v buňkách. Mezi aktivní elektrické projevy tkání můžeme zařadit například akční potenciály vzrušivých tkání. Vzniklé elektrické aktivity využívá hned několik elektrofyziologických metod, jako jsou elektrokardiografie (snímání srdeční aktivity), elektroencefalografie (snímání mozkové aktivity) a elektromyografie (snímání svalové aktivity).

Pokud vystavíme tkáň průchodu proudu z vnějšího zdroje, nastává tzv. pasivní elektrický projev tkáně [9].

2.1 Popis bioelektrické impedance

Základním principem bioelektrické impedance je, že se impedance vodiče odvíjí od jeho délky, průřezu a aplikované frekvence.



Obr. 2-1 Vodič o ploše S a délce L

Z Obr. 3-1 můžeme určit impedanci jako:

$$Z = \frac{\rho \cdot L}{S} \quad , \quad (2.1)$$

kde Z je celková impedance vodiče, ρ značí rezistivitu materiálu, L je délka vodiče a S plocha vodiče.

Pokud vzorec (2.1) rozšíříme jedničkou neboli L/L, dostaneme:

$$Z = \frac{\rho \cdot L}{S} \cdot \frac{L}{L} \quad (2.2)$$

Víme, že objem V je roven ploše násobené délkou. Rovnici tedy upravíme tak, abychom mohli vypočítat objem V, za předpokladu, že je používána konstantní frekvence, délka a impedance vodiče:

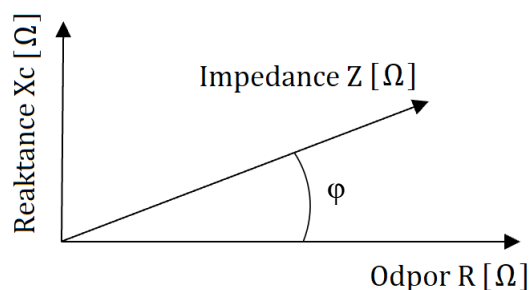
$$V = \frac{\rho \cdot L^2}{Z} \quad (2.3)$$

Měření tohoto „elektrického objemu“ tělesného prostoru, jako je celková zavodněnost těla nebo beztuková hmota, je založeno na principu, že se jednotlivé tkáně chovají jako vodiče, polovodiče nebo izolátory. Elektrická vodivost v těle je iontového typu a souvisí s volným obsahem iontů v různých solích, kyselinách, jejich koncentrací, mobilitou a teplotou vodivého média. Zatímco svalová tkáň je díky velkému množství vody a elektrolytů vysoce vodivá, tuk a kosti se chovají jako dielektrika. Jelikož se elektrický proud bude snažit projít cestou nejmenšího odporu, největší roli při určování celkové tělesné impedance budou mít svaly a extracelulární tekutina [10].

Tkáň má tedy při průchodu proudu impedanční charakter. Bioelektrická impedance je komplexní veličinou, která se skládá z odporu R a kapacitní reaktance X_C a můžeme ji definovat podle vztahu:

$$Z = R + jX_C \quad , \quad (2.4)$$

kde Z je bioelektrická impedance, odpor R představuje odpor tekutin v těle, písmeno j označuje imaginární jednotku a reaktance X_C představuje kapacitu buněčné membrány [9].



Obr. 2-2 Bioelektrická impedance

2.2 Metody měření bioelektrické impedance

Metod měřících bioelektrickou impedanci je více. Liší se hlavně v používané frekvenci, počtu poloze elektrod a podle místa měření.

Metoda bioelektrické analýzy se s postupem času vyvinula z mnoha studií, týkajících se elektrických vlastností tkání.

V porovnání s jinými metodami má mnoho výhod. Tato metoda je neinvazivní, je bezpečná a snadno proveditelná. Přístroje jsou snadno přenositelné a nemají vysoké nároky na jejich provozování [9].

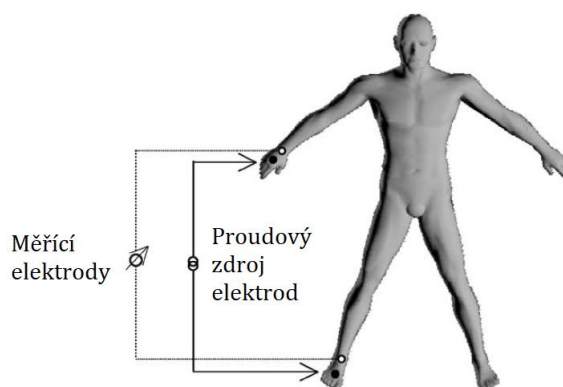


Obr. 2-3 Komerční přístroj Bodystat

Tento komerčně využívaný přístroj z Obr. 3-3 dokáže na základě měření bioelektrické impedance určit složení těla – procentuální tukovou hmotu, svalovou hmotu a celkové množství vody v těle. Nejnovější přístroje dokáží rozlišit intracelulární a extracelulární tekutiny [11].

2.2.1 Jednofrekvenční bioelektrická impedanční analýza

Tato metoda pracuje na frekvenci 50 kHz s povrchovými elektrodami situovanými na zápěstí a kotníku (Obr. 3-4).



Obr. 2-4 Standardní poloha elektrod

Měří se vážený součet extrabuněčné tekutiny a odpor vnitrobuněčné tekutiny. Metoda tedy dovoluje odhadnout beztukovou hmotnost, ale nemůže určit rozdíly v intracelulárních tekutinách. Tato metoda není použitelná při velkých změnách hydratace organismu [12].

2.2.2 Multifrekvenční bioelektrická impedanční analýza

Tato metoda pracuje s různými frekvencemi (0, 1, 5, 50, 100, 200 až 500 kHz) k vyhodnocení beztukové hmoty, zavodnění organismu, intracelulární a extracelulární tekutiny.

Vícefrekvenční analýza je přesnější při měření extracelulární tekutiny, než jednofrekvenční analýza, ale naopak jednofrekvenční analýza je přesnější při určování celkového zavodnění organismu [12].

2.2.3 Segmentální bioelektrická impedanční analýza

Metoda se realizuje pomocí dvou přídavných elektrod umístěných na zápěstí a chodidlu (např. levé zápěstí, pravé chodidlo a naopak) nebo umístěním senzorových elektrod na zápěstí, rameno, horní část páteře a kotník.

Trup těla představuje přibližně 50 % hmotnosti celého těla, ale k celkové impedanci těla přispívá jen z 10 %. Z toho vyplývají tři aspekty analýzy:

1. Změny impedance blízce souvisí se změnami beztukové tkáně jednotlivých končetin.
2. Změny beztukové tkáně (nebo svalové) trupu jsou nejspíše neadekvátně popsány měřením impedance celého těla.
3. Velké změny objemu tekutin v břišní dutině mají malý vliv na měření beztukové tkáně.

Metoda závisí především na použití správných elektrod a jejich rozmístění. Využívá se k určení proudění tekutin a distribuci tekutin při různých onemocněních (např. selhání ledvin) a může být nápomocná při získávání informací o hromadění tekutin v plicích nebo břišní dutině [12].

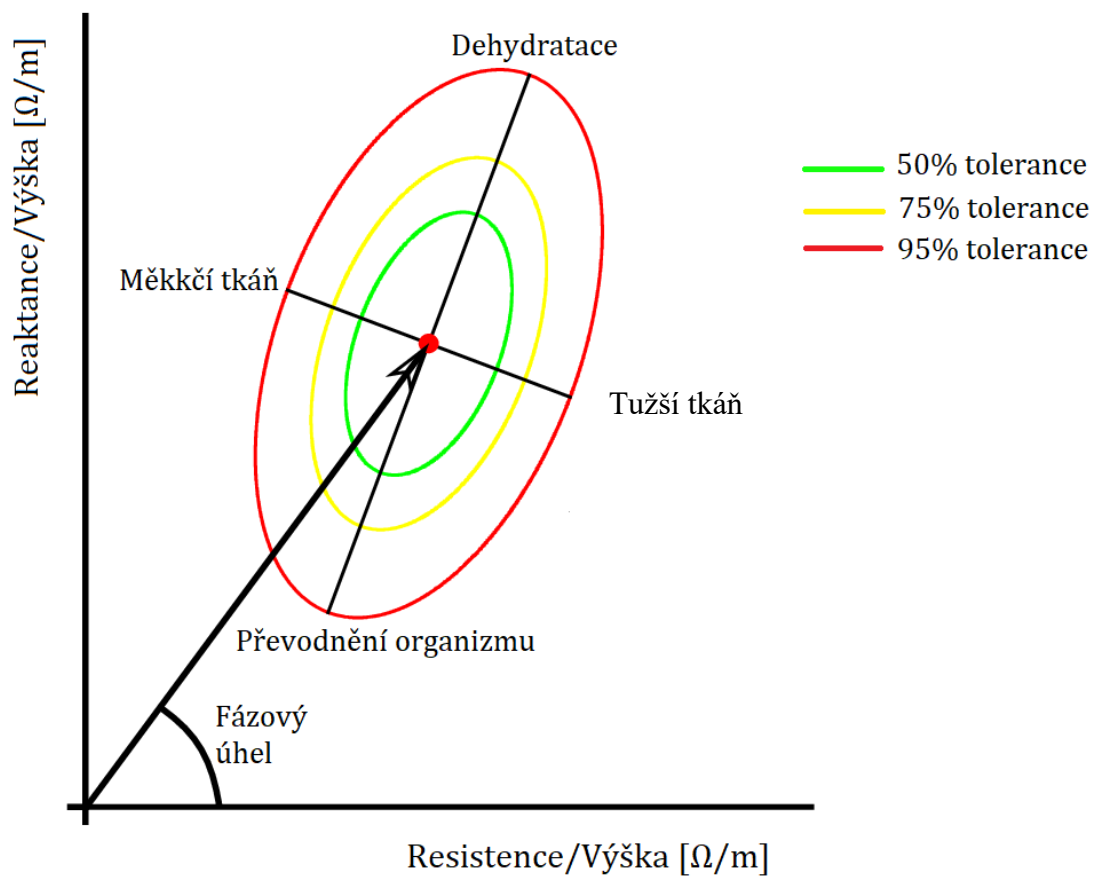
2.2.4 Lokalizovaná bioelektrická impedanční analýza

Metoda měří různé části těla, přičemž je ovlivněna řadou faktorů (např. hydratace, tuk, atd.). Z těchto důvodů je platnost jednoduchých empirických modelů specifická pro každého jedince – proto byla navržena lokalizovaná bioelektrická impedanční analýza, která se zaměřuje na dobře definované části těla a minimalizuje tak rušivé faktory [12].

2.2.5 Bioelektrická analýza vektorů impedance

Tato metoda nezávisí na matematických modelech nebo rovnicích, jelikož pacienta vyhodnocuje z přímého měření vektoru impedance. Metoda je ovlivněna pouze chybou měření impedance.

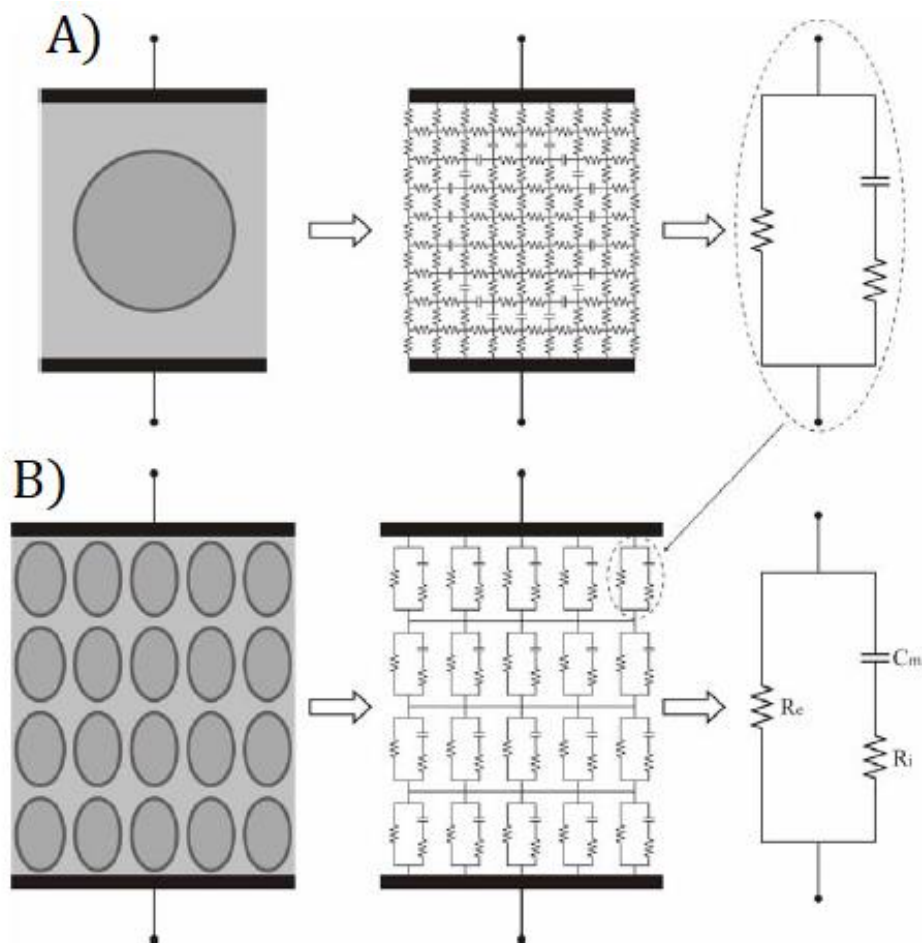
Odpor R a reaktance X_c jsou standardizovány podle výšky a jsou vykresleny jako bodové vektory v rovině R - X_c . Jednotlivé vektory jsou následně porovnány s referenčními elipsami tolerance (50 %, 75 % a 95 %), které byly vypočítané u zdravých lidí stejného pohlaví a rasy. Elipsa se mění podle věku a “velikosti” těla pacienta (váha, zavodnění organismu) (viz. Obr. 2-5) [12].



Obr. 2-5 Bioelektrická analýza vektoru impedance

3. NÁHRADNÍ MODEL TKÁNĚ

Ve 20. století vznikl první model tkáně, který je dodnes považován za poměrně přesné přenesení pasivních elektrických vlastností jedné buňky pro frekvence až do několika MHz. V tomto modelu je extracelulární a intracelulární tekutina zobrazena jako elektrický odpor a buněčná membrána jako kondenzátor – viz Obr. 3-1 [5].



Obr. 3-1 Elektrický model pro buňku (A) a tkáň (B)

V Obr. 3-1 je v části A) zobrazen elektrický model jedné buňky, kde střed je tvořen elektrickými odpory reprezentujícími intracelulární tekutinu. Kondenzátory obklopující tyto elektrické odpory představují kapacitanci buněčné membrány. Kondenzátory jsou opět obklopeny elektrickými odpory, které znázorňují odpor extracelulární tekutiny.

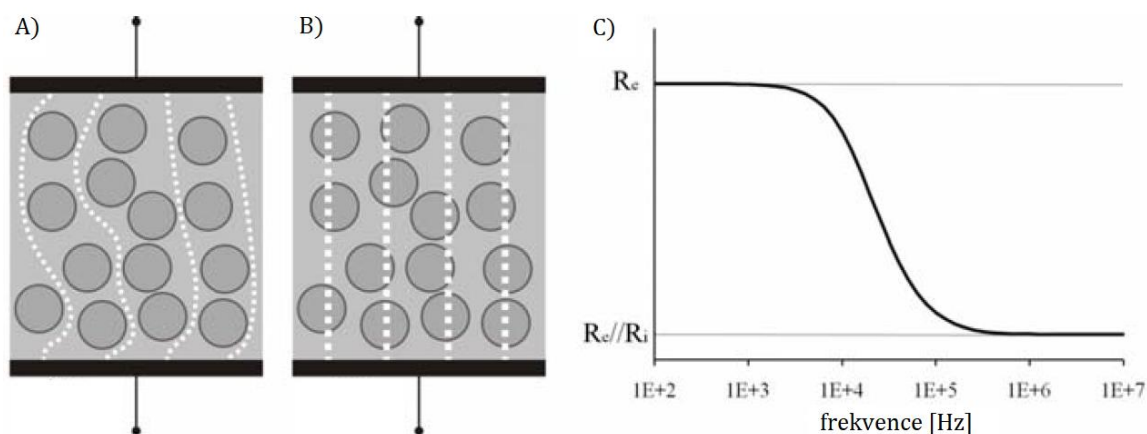
V části B) je z modelu pro buňku utvořena tkáň. Schéma elektrické tkáně je kombinací jednotlivých modelů buněk do jednoduchého ekvivalentu.

Výsledné elektrické schéma tkáně je tvořeno odporem R_e (odpor extracelulární tekutiny) v paralelní kombinaci s kapacitancí buněčné membrány C_m , která je do série spojena s odporem R_i (odpor intracelulární tekutiny).

Rezistivní chování extracelulární a intracelulární tekutiny je způsobeno jejich obsahem iontů. V extracelulární tekutině jsou nejpočetnější kladně nabití ionty sodíku Na^+ a záporně nabití ionty chloru Cl^- , zatímco v intracelulární tekutině převládají kladně nabití ionty draslíku K^+ . Měrná elektrická vodivost krevní plazmy se udává 1,5 S/m, při teplotě 37° C. Tato hodnota, která představuje extracelulární vodivost, je používána většinou výzkumníků. Pro intracelulární tekutinu se udává nižší hodnota, a to 0,6 S/m.

Buněčná membrána je tvořena tenkou lipidovou dvouvrstvou, která je přibližně 7 nm tlustá. Membrána je částečně propustná pro lipidy a molekuly vody, ale téměř nepropustná pro ionty. Vnitřní elektrická vodivost buněčné membrány je velmi nízká, proto ji můžeme považovat za dielektrikum. Kapacita buněčné membrány se pohybuje kolem 10 mF/m².

Na základě toho, že se buněčná membrána chová jako kondenzátor, můžeme říci, že proudy o nízkých frekvencích neproniknou skrze buněčnou membránu a naopak, proudy o vysokých frekvencích jí budou volně procházet (viz Obr. 3-2).



Obr. 3-2 Průchod proudu tkání při nízkých a vysokých frekvencích

V části A) u Obr. 3-2 je zobrazen proud o nízké frekvenci, který prochází pouze extracelulární tekutinou. Impedance v tomto případě bude větší než v případě B), protože $|Z| = R_e$.

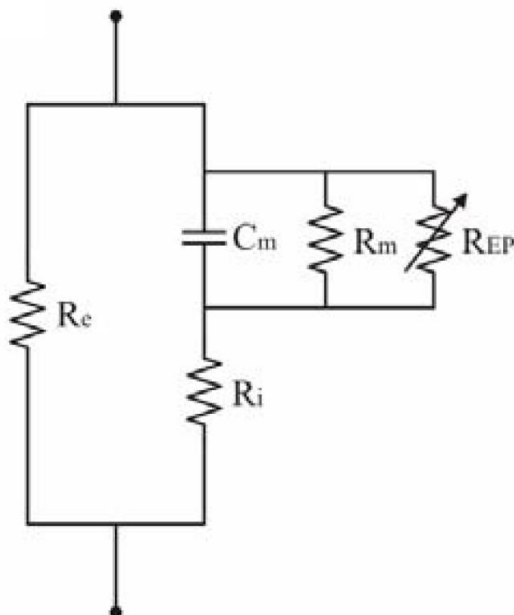
Část B) zobrazuje proud o vysoké frekvenci, který volně prochází skrze extracelulární i intracelulární tekutinu tkáně a tedy impedance bude menší než v části A), protože $|Z| = R_e // R_i$.

Část C) je grafické znázornění závislosti impedance na frekvenci při průchodu proudů živou tkání. Osa x, na které je frekvence, je logaritmická. $R_e // R_i$ představuje hodnotu paralelní kombinace R_e a R_i , tedy odporu extracelulární a intracelulární tekutiny. Tato hodnota je dána vztahem [5]:

$$R_e // R_i = \frac{R_e \cdot R_i}{R_e + R_i} \quad (3.1)$$

3.1 Zmodernizovaný model tkáně

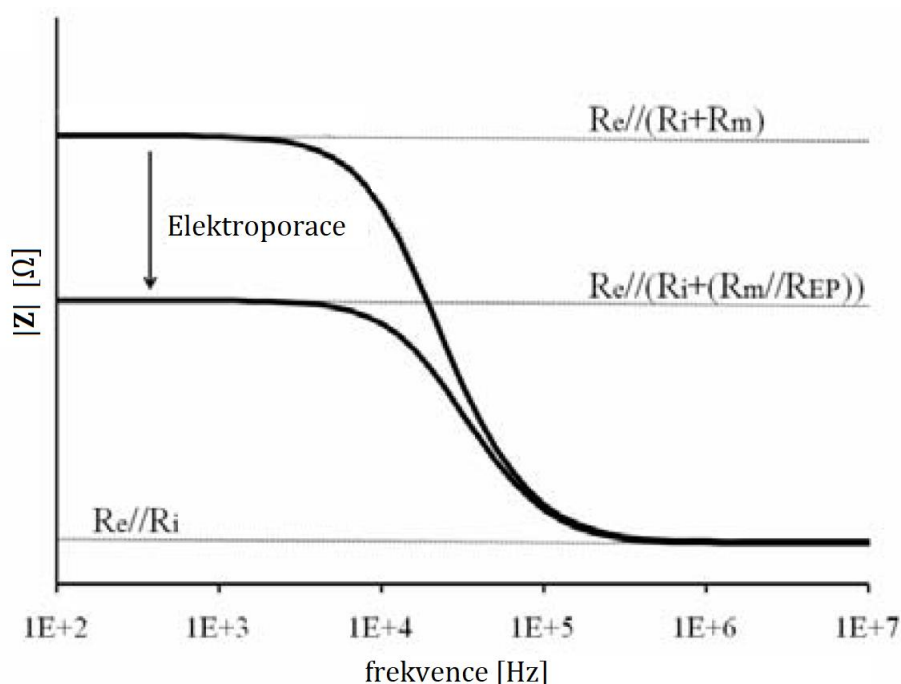
V lipidové dvojvrstvě (buněčné membráně) se nachází různé druhy bílkovinných struktur, které mají zásadní roli v buněčných aktivitách (např. přenos látek přes membránu, mezibuněčná komunikace, rozpoznávání povrchu). Zvláštní význam zde mají iontové kanálky, které jsou pórovité struktury a umožňují tak průtok některých iontů skrz membránu. Tyto struktury jsou selektivní pro specifické ionty a mohou být otevřeny nebo uzavřeny v závislosti na různých parametrech jako je např. transmembránový potenciál neboli rozdíl napětí mezi vnitřkem a vnějškem membrány. Z těchto důvodů je potřeba elektrický model na Obr. 3-1 upravit tak, aby zahrnoval zkratovací efekt způsobený těmito strukturami. Jinými slovy, buněčná membrána není dokonalým dielektrikem a může zde protékat malý proud [5].



Obr. 3-3 Upravený elektrický model živé tkáně

V upraveném obrázku pro živou tkáň (Obr. 3-3) přibyl odpor R_m , který reprezentuje zkratový odpor membrány v důsledku přenosu iontových kanálků. Zvýšenou vodivost, která vzniká v důsledku elektroporačního zákroku, představuje odpor R_{EP} , který má proměnnou hodnotu v závislosti právě na velikosti provedené elektroporaci.

Na Obr. 3-4 je zobrazen teoretický průběh impedance elektrického modelu živé tkáně z Obr. 3-3 po elektroporačním zákroku. V důsledku elektroporace se buněčná membrána stává propustnější, a proto se zvyšuje i její vodivost. Při nízkých frekvencích lze pozorovat výrazný pokles impedance. Se zvyšující se frekvencí rozdíl impedance před a po elektroporaci klesá [5].



Obr. 3-4 Graf velikosti impedance v závislosti na frekvenci před a po elektroporaci

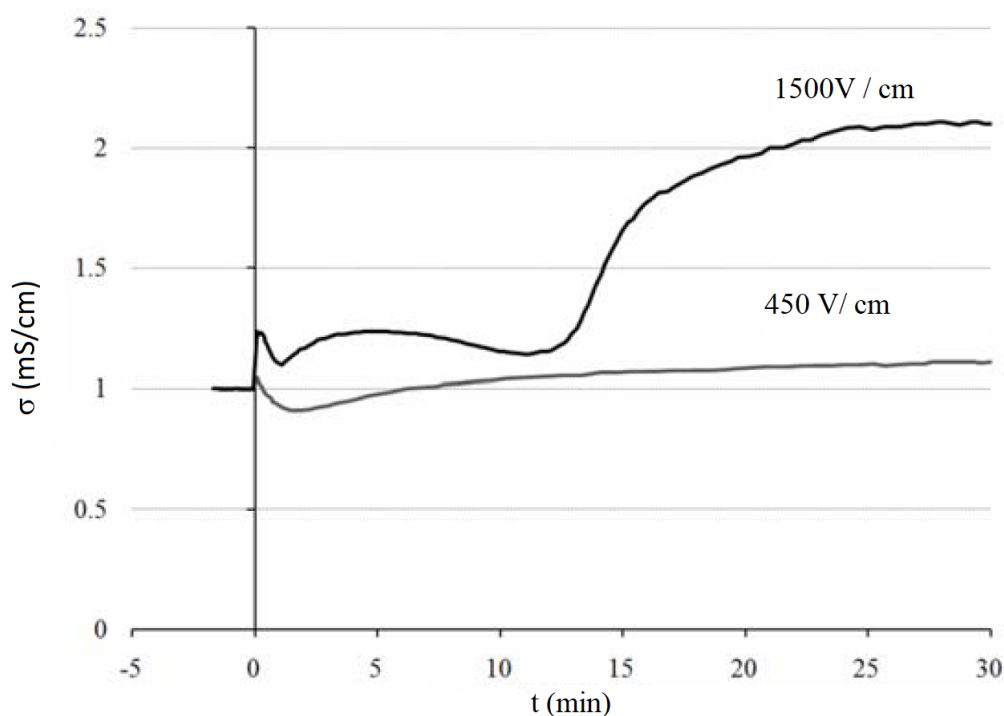
3.2 Změna vodivosti tkáně způsobená elektroporací

Elektrická vodivost se měří buď po aplikaci elektroporačního pulsu, nebo mezi nimi při aplikaci více pulsů. Odbornými studiemi se dospělo k několika důležitým poznatkům [5, 14, 15, 16]:

1. Po skončení vysokonapěťového pulsu vodivost membrány rychle klesne ($\ll 1$ ms) na hodnotu, která je mnohem menší než vodivost membrány během pulsu, ale výrazně větší než hodnota vodivosti před pulsem. Jev je spojen se zacelením krátkodobě vytvořených pórů.

2. Vodivost celého vzorku klesá pomaleji (řádově v sekundách) a postupně se přibližuje původní hodnotě vodivosti. Toto pomalé zotavování membránového odporu je spojeno s dlouhodobě vytvořenými póry, které mohou existovat až několik minut. Pokud bude použit dostatečně velký a dlouhý puls, může dojít k nevratnému ději a membrána už nikdy nedosáhne původního odporu.
3. Při použití více elektroporačních pulsů vykazují změny vodivosti paměťový efekt – u každého pulsu závisí vodivost během pulsu a po něm na pulsech, které byly předtím aplikovány. Obecně pozorovaným jevem je, že vodivost membrány se s každým pulsem zvyšuje.

Typické chování vodivosti po elektroporaci ($8 \times 100 \mu\text{s}$ pulsů při 10 Hz) je zobrazeno na Obr. 3-5.



Obr. 3-5 Změna vodivosti krysích jater po elektroporaci

Obr. 3-5 ukazuje, jak se změnila vodivost krysích jater po přiložení dvou rozdílných hodnot elektrického pole. První hodnota, 450 V/cm, je ještě považována za vratnou elektroporaci, zatímco hodnotou 1500 V/cm bylo dosaženo nevratné elektroporace.

V prvním případě, kdy bylo dosaženo vratné elektroporace, se vodivost rázově zvýšila ($<10\%$) a následně pomalu klesala do svého minima. V čase $t=2$ min začíná vodivost pomalu vzrůstat a dosahuje hodnoty větší, než byla původní hodnota. V druhém

případě, kdy došlo k nevratné elektroporaci, byl nárůst vodivosti větší (o 35 %). Křivka vykazuje stejné chování jako v prvním případě – minimum po jedné minutě, poté pomalý nárůst ke stabilní hodnotě. Mezi desátou a patnáctou minutou došlo k dramatickému nárůstu vodivosti, který byl způsoben hromadnou destrukcí jaterních buněk [5].

4. PŘÍSTROJ K MĚŘENÍ IMPEDANCE TKÁNĚ QUADTECH 7600

Při měření impedance tkáně byl použit přístroj QuadTech 7600 precision LCR meter od firmy IET Labs (Obr. 5-1). Přístroj byl vyroben v 90. letech 20. století. Je schopen měřit 14 impedančních parametrů (dva současně). Základní přesnost měření je 0,05 %. Má nastavitelnou frekvenci a to od 10 Hz až do 2 MHz. Jeho největší nevýhodou je ukládání dat na disketu.



Obr. 4-1 Měřič impedance QuadTech 7600

Jednotlivé parametry a jejich rozsahy měřicího přístroje, které je zařízení schopno měřit jsou uvedeny v Tab. č. 4-1.

Parametr	Rozsah měření	Přesnost měření při určité rychlosti měření		
		Rychlá	Střední	Pomalá
C_s, C_p	1E-15 - 9,999999 F	$\pm 0,5\%$	$\pm 0,25\%$	$\pm 0,05\%$
L_s, L_p	0,001 nH - 99,99999 H	$\pm 0,5\%$	$\pm 0,25\%$	$\pm 0,05\%$
$ Z , R_s, R_p, X_s$	0,1 Ω - 99,99999 M Ω	$\pm 0,5\%$	$\pm 0,25\%$	$\pm 0,05\%$
$ Y , G_p, B_p$	0,01 $\mu\Omega$ - 9,999999 MS	$\pm 0,5\%$	$\pm 0,25\%$	$\pm 0,05\%$
Fázový úhel	-180 - +179,9999 °	$\pm 1,8\%$	$\pm 0,9\%$	$\pm 0,18\%$

Tab. č. 4-1 Měřicí parametry přístroje QuadTech 7600

Základní vlastnosti přístroje QuadTech 7600, které pro nás při měření byly nejpodstatnější [13]:

Testovací frekvence: Rozsah: 10 Hz – 2 MHz

Rozlišení: 0,1 Hz pro 10 Hz – 10 kHz; 5 digitů pro >10 kHz

Přesnost: $\pm (0,25\% + 0,02 \text{ Hz})$

Rychlost měření: Rychlá: 25 vzorků/s

Střední: 8 vzorků/s

Pomalá: 1 vzorků/s

Ranging: Automatické, volitelné uživatelem

Trigger: Vnitřní (automatický), Vnější a Manuální

AC Testovací signál: Napětí: 20 mV – 1 V, 500 kHz – 1 MHz s kroky 5 mV

Proud: 250 μA – 100 mA s kroky 50 μA

Impedance zdroje: 25 Ω , 400 Ω , 6,4 k Ω nebo 100 k Ω

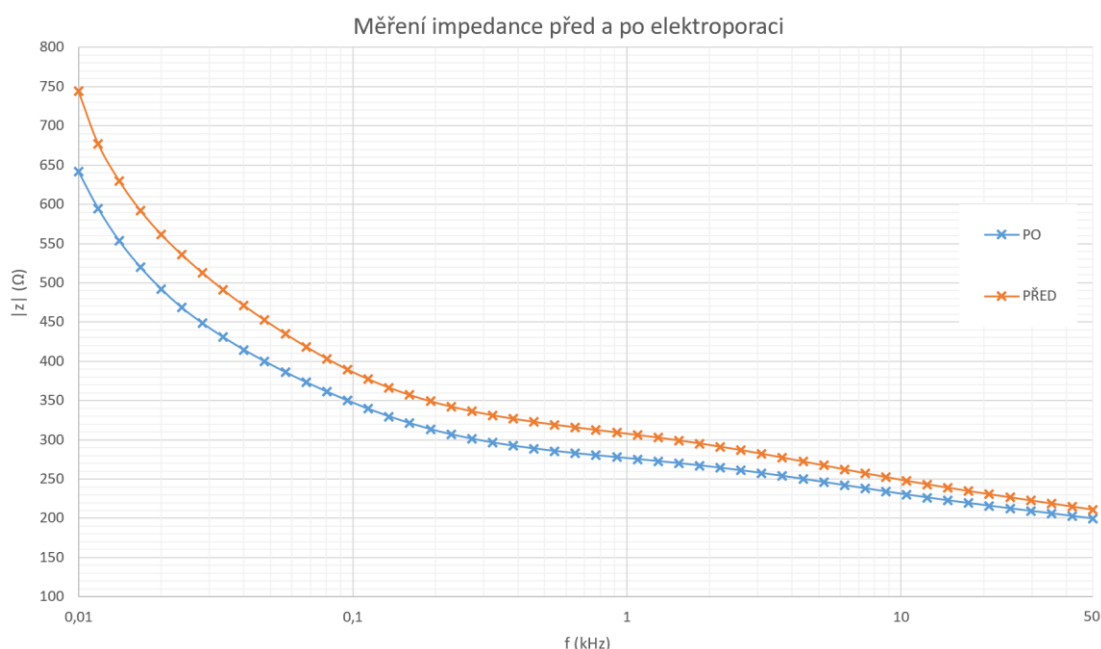
Displej: LCD displej s podsvícením a nastavitelným jasnem

Napájení: 90 – 250 V AC, 47/63 Hz, 100 W max.

4.1 Měření impedance pomocí QuadTech 7600

Pomocí měřiče impedance QuadTech 7600 bylo provedeno několik experimentálních měření, ve kterých se měřila impedance tkáně před a po elektroporačním zákroku. Měření byla provedena ve školní laboratoři a jako vzorek bylo využito kravské srdce.

Při každém měření byla zaznamenávána frekvence, impedance a fázový úhel. Měření probíhalo v rozmezí 10 Hz – 50 kHz. Z každého měření bylo vždy 50 vzorků, které byly následně zpracovány pomocí programů Matlab a Excel.



Obr. 4-2 Měření impedance před a po elektroporaci ve školní laboratoři

Na Obr. 4-2 je graf jednoho měřeného experimentu, který ukazuje, jak se změnila impedance tkáně po elektroporaci. Pokud provedeme srovnání s teoretickým průběhem na Obr. 3-4, můžeme vidět, že při školním experimentu (uvažujeme $f > 100$ Hz) není průběh konstantní. To by mohlo naznačovat, že moderní elektrické schéma tkáně, popřípadě buňky, (Obr. 3-3) není kompletní, a že v něm chybí nějaká elektrotechnická součástka představující vnější stranu buňky (tkáně).

4.2 Korekce měření přístroje QuadTech 7600

Ve snaze o co nejpresnější měření pomocí přístroje QuadTech 7600, bylo provedeno korekční měření pro vyloučení vlivu sériového odporu, indukčnosti a paralelní kapacity měřicího pracoviště. Bylo provedeno měření impedance naprázdno a nakrátko pro hodnoty frekvence v rozsahu 10 – 50 kHz. Při měření naprázdno byla měřena hodnota paralelní impedance Z_p – výstupní svorky přístroje byly rozpojeny. U měření nakrátko byly výstupní svorky zkratovány a byly měřeny hodnoty sériové impedance $Z_{sér.}$.

Od změřených hodnot se následně odečetly hodnoty sériové impedance $Z_{sér.}$:

$$Z_{změř.-Z\ sér.} = Z_{změř.-Z_{sér.}} \quad (4.1)$$

Výsledné hodnoty byly převráceny na admitanci, tzn. $1/(Z_{změř.-Z_{sér.}})$ a odečetly se od nich převrácené hodnoty paralelní impedance Z_p , tedy:

$$Y_{korekce} = \frac{1}{Z_{změř.-Z\ sér.}} - \frac{1}{Z_p} \quad (4.2)$$

Výsledná admitance se zpátky převrátila na impedanci:

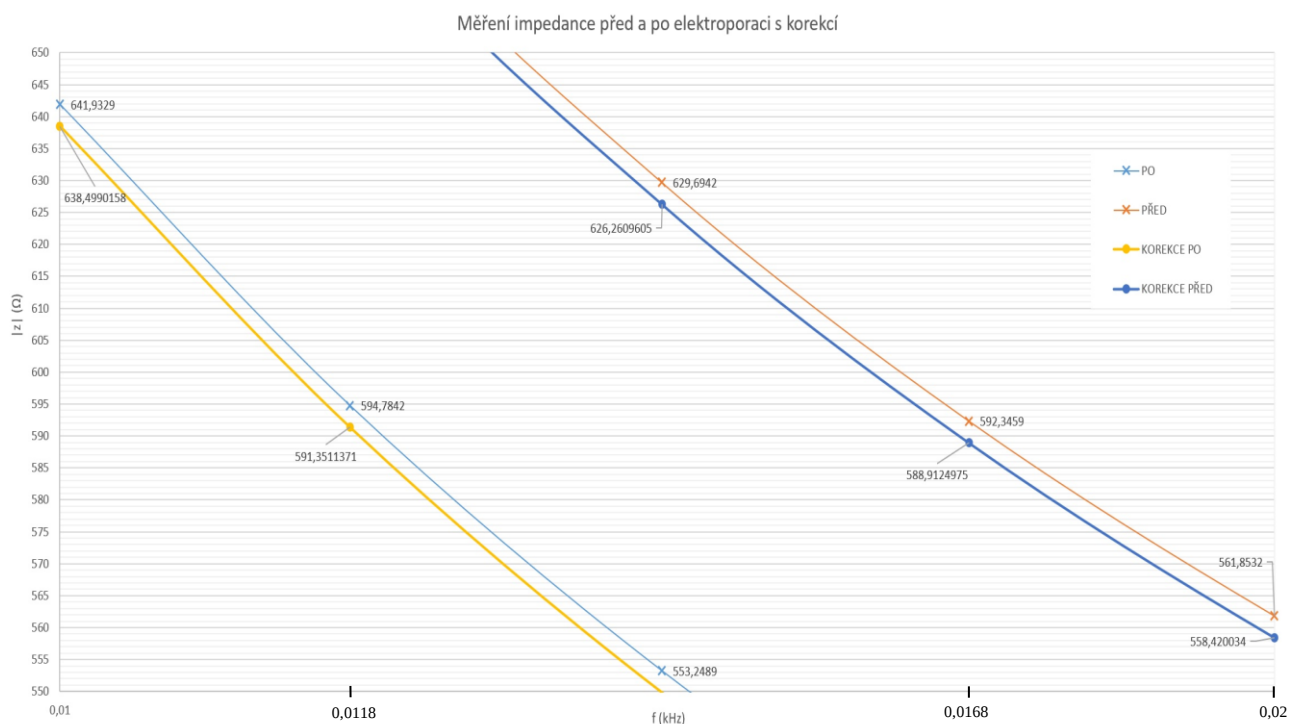
$$Z_{korekce} = \frac{1}{Y_{korekce}} \quad (4.3)$$

Výsledná impedance v absolutní hodnotě, ze které byl následně sestaven graf korekčního měření:

$$|Z| = \sqrt{R_e^2 + I_m^2}, \quad (4.4)$$

tedy:

$$|Z| = \sqrt{R_{e\ korekce}^2 + I_{m\ korekce}^2} \quad (4.5)$$

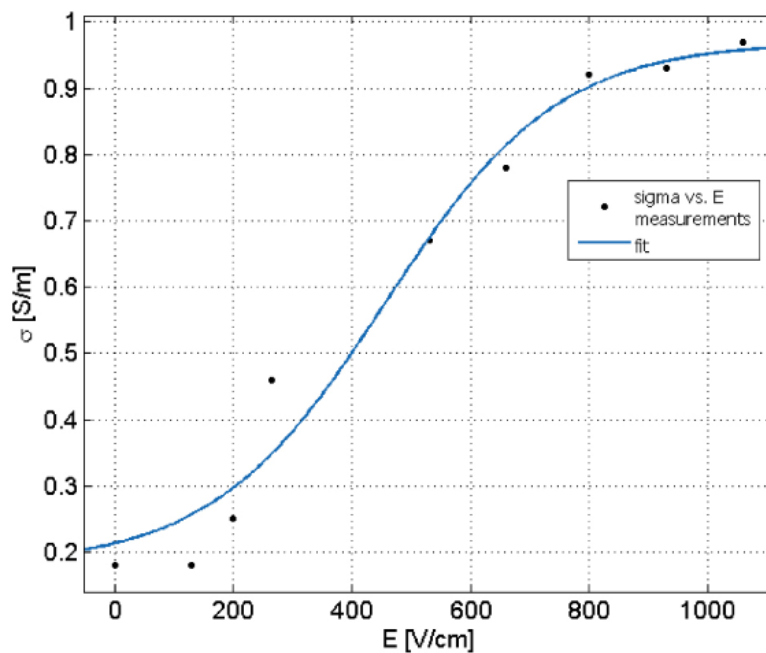


Obr. 4-3 Graf s korekcí měření impedance před a po elektroporaci

Jelikož se hodnoty impedance po zmíněné korekci měření téměř neliší od naměřených hodnot, byl zde přiložen pouze výřez grafu (Obr. 4-3). Hodnoty se vzájemně liší v průměru o $3,4 \pm 1 \text{E-}2 \text{ } \Omega$ po celé délce křivky, což se dá považovat za minimální odchylku, se kterou se bude počítat i při dalších měřeních pomocí přístroje QuadTech 7600 s danou konfigurací měřicích přívodů k vzorku.

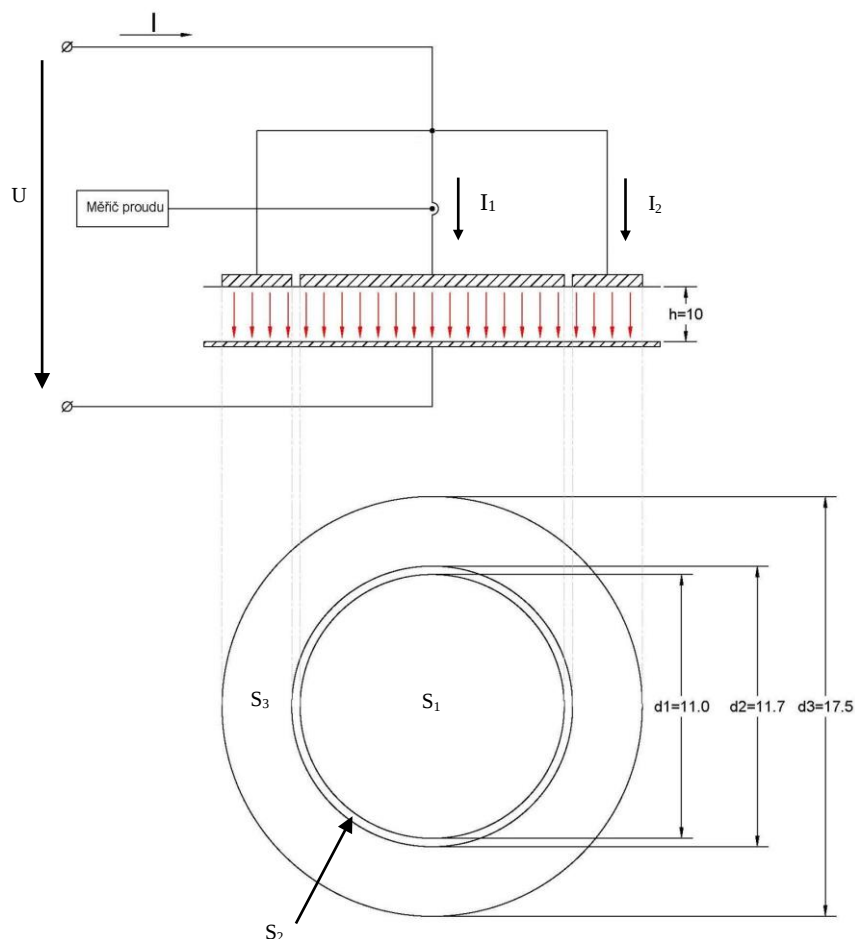
5. MĚŘENÍ STEJNOSMĚRNÉHO ODPORU TKÁNĚ

Jako výsledek očekáváme sigmoidální funkci (Obr. 5-1) měrné elektrické vodivosti v závislosti na intenzitě elektrického pole [17].



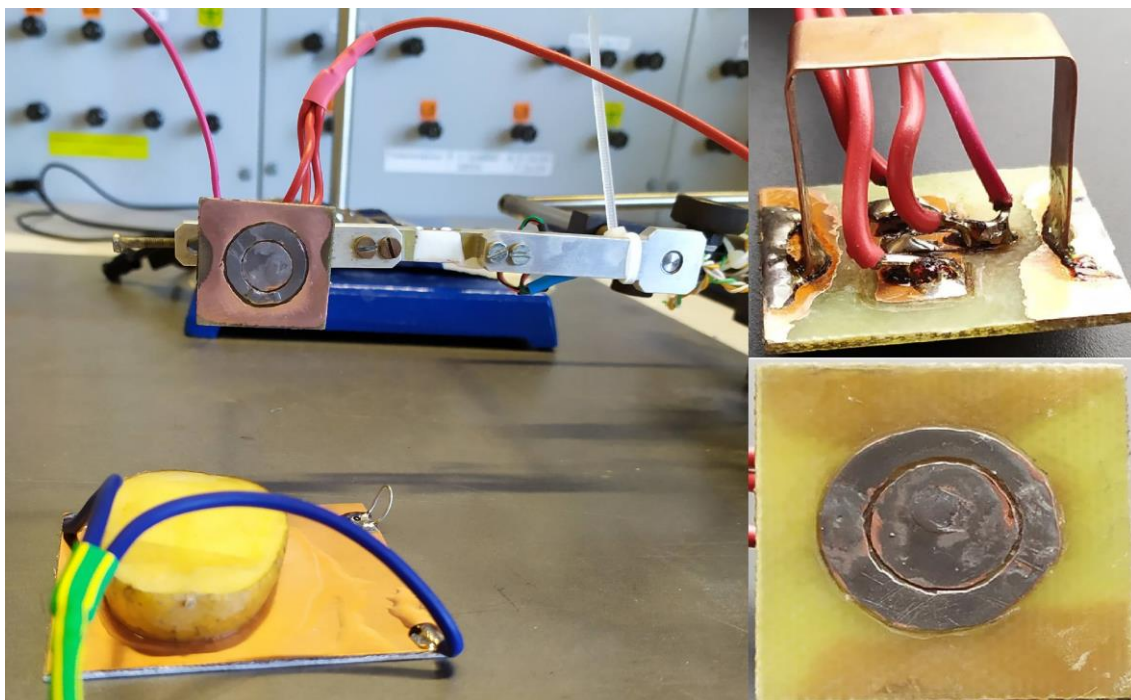
Obr. 5-1 Graf změny vodivosti v závislosti na intenzitě elektrického pole odpovídající chtěné, sigmoidální funkci

Pro experimentální měření byla použita rostlinná tkáň – plátek brambory. Ten byl umístěn mezi dvě hlavní elektrody. K vytvoření co nejhomogennějšího elektrického pole byl použit měřicí přípravek, skládající se z centrální hlavní a krajní (pomocné) elektrody (Obr. 5-2).



Obr. 5-2 Nákres měřícího přípravku

Na Obr. 5-2 plocha S_1 představuje plochu hlavní elektrody, S_2 je plocha vzduchové mezery mezi elektrodami a S_3 je plocha krajní pomocné elektrody.



Obr. 5-3 Fotografie kontaktního systému

Plátek brambory o tloušťce 1 cm byl umístěn pod hlavní elektrodu s průměrem 11 mm, na které se pomocí proudové sondy a osciloskopu měřil proud procházející plochou S_1 , celkový proud procházející plochou S byl měřen druhým snímačem. Pracoviště bylo napájeno stejnosměrným zdrojem, který vytvářel vždy 10 pulsů, kde jeden trval 20 μ s. Hodnoty napájecího napětí se nastavovaly v rozmezí 100 – 1700 V.

K vyhodnocení měření bylo potřeba dopočítat několik parametrů za pomoci změřeného napětí U , celkového proudu I a jednotlivých parametrů elektrod, popřípadě samotného měřeného vzorku. Příklad výpočtu byl proveden z prvního řádku tabulky naměřených hodnot:

Tab. č. 5-1 Tabulka naměřených a vypočtených hodnot při experimentu na bramboře

U [V]	I [A]	R [Ω]	h [m]	d_1 [m]	S_1 [m^2]	σ [S/m]	E [V/cm]
134	0,524	255,7252	0,01	0,011	9,50332E-05	0,411482	134

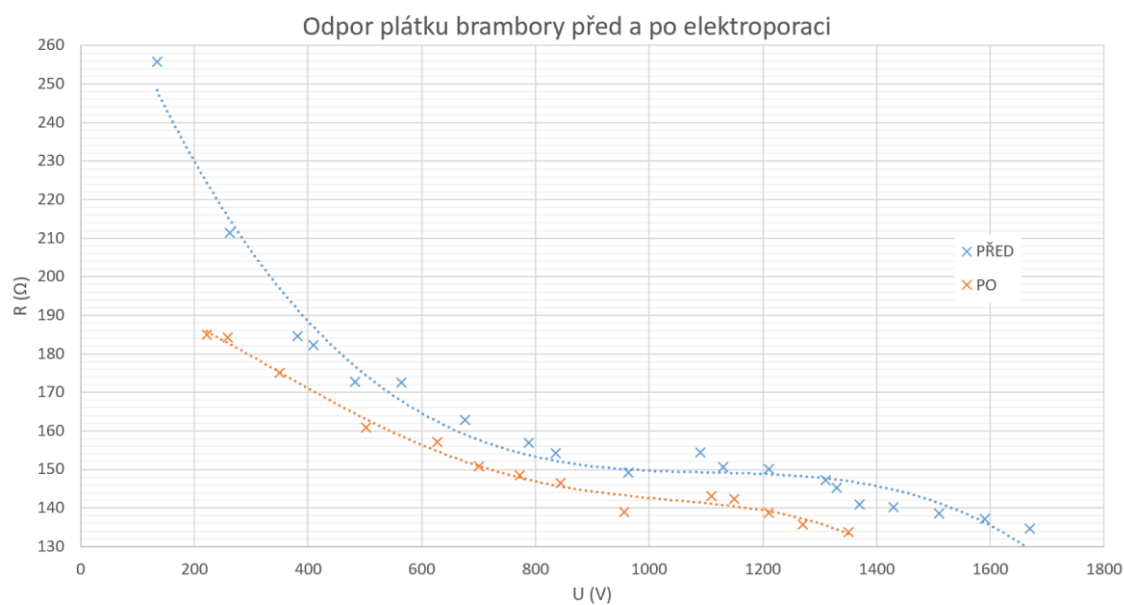
Stejnoseměrný odpor R v objemu válce definovaného plochou podstavy S_1 :

$$R = \frac{U}{I} = \frac{134}{0,524} = 255,725 \, \Omega \quad (5.1)$$

$$\text{Plocha hlavní elektrody } S_1: \quad S_1 = \pi \cdot \frac{d^2}{4} = \pi \cdot \frac{0,011^2}{4} = 9,503 \cdot 10^{-5} \, m^2 \quad (5.2)$$

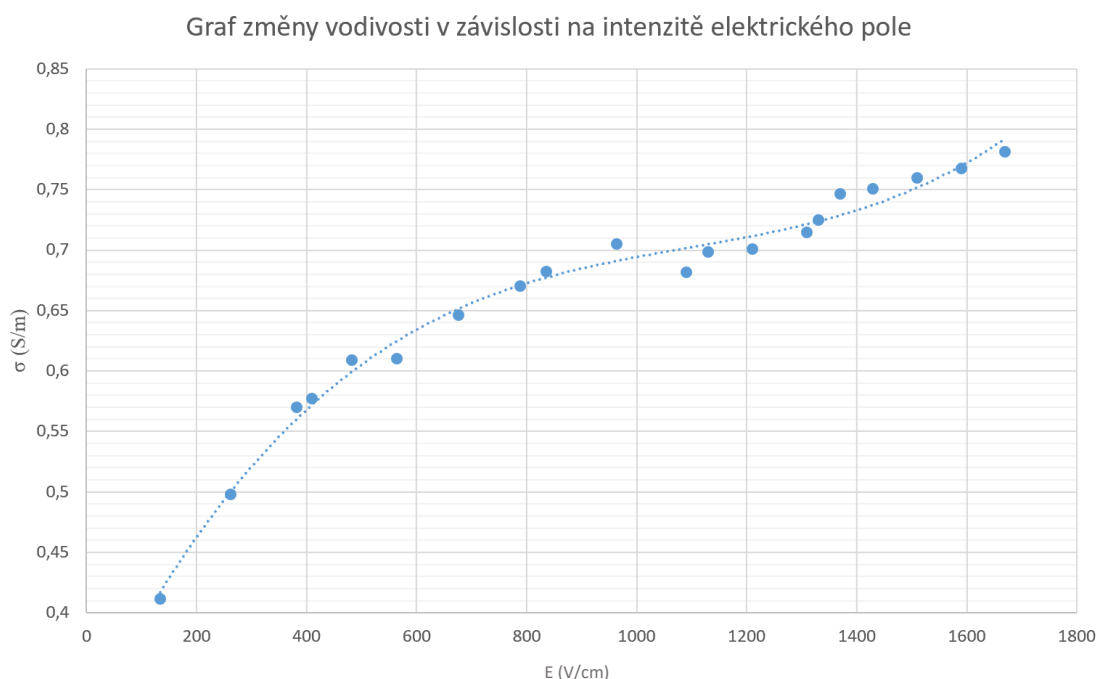
Měrná elektrická vodivost σ :
$$\sigma = \frac{h}{S_1 \cdot R} = \frac{0,01}{9,503 \cdot 10^{-5} \cdot 255,725} = 0,411482 \text{ S} \cdot \text{m}^{-1} \quad (5.3)$$

Intenzita elektrického pole E:
$$E = \frac{U}{h \cdot 100} = \frac{134}{0,01 \cdot 100} = 134 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1} \quad (5.4)$$



Obr. 5-4 Elektrický odpor plátku brambory před a po elektroporaci

Pro ověření správnosti měření byl ještě sestaven graf měrné elektrické vodivosti v závislosti na měnící se intenzitě elektrického pole $\sigma=f(E)$ (Obr. 5-5).



Obr. 5-5 Graf změny vodivosti v závislosti na intenzitě elektrického pole

Graf na Obr. 5-5 neodpovídá požadované sigmoidální funkci, která je uvedena v literatuře (Obr. 5-1) [17]. Důvody nám nejsou známy a budou podrobněji prozkoumány v navazující diplomové práci, kde bude provedeno přesnější měření na živočišné tkáni.

Změřený proudový poměr mezi celkovým proudem a hlavní elektrodou byl 23,5:6 A, tedy $I \approx 4 \cdot I_1$. Teoretický poměr proudů vypočtený z geometrie je však pouze $I \approx 2,53 \cdot I_1$.

Teoretický poměr proudů byl vypočítán pomocí poměrů ploch – celková plocha S (plocha hlavní elektrody S_1 a plocha pomocné elektrody S_3) ku ploše hlavní elektrody S_1 .

Plocha S_1 byla vypočítána pomocí vzorce (5.2). Plocha S byla spočítána obdobně, jen se změnou průměru:

$$S_1 = 9,503 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2,$$

$$S = \pi \cdot \frac{d_3^2}{4} = \pi \cdot \frac{0,0175^2}{4} = 2,405 \cdot 10^{-4} \text{ m}^2 \quad (5.5)$$

Výsledný teoretický proudový poměr je tedy:

$$\frac{I}{I_1} = \frac{S}{S_1} = \frac{2,405 \cdot 10^{-4}}{9,503 \cdot 10^{-5}} = 2,53 \quad (5.6)$$

ZÁVĚR

Bakalářská práce zpracovává teoretické poznatky o elektroporaci a jejích vlivech na tkáň, chování impedance živých organismů při průchodu elektrického proudu a jak vnímáme tkáň z elektrotechnického pohledu.

Bylo provedeno korekční měření přístroje QuadTech 7600, se kterým bude v navazující diplomové práci provedeno přesnější měření elektroporačního zákroku na živočišné tkáni, viz kapitola 4.

Byl sestaven měřicí přípravek, pomocí kterého byl změřen vliv elektroporace na plátku brambory. Nebylo dosaženo sigmoidální funkce uváděné v literatuře (viz kapitola 5), avšak paralelně s měřením byly provedeny simulace metodou konečných prvků, které prokázaly velkou citlivost metody na průměry jednotlivých elektrod, a především šířku vzduchové štěrbiny mezi koaxiálními elektrodami. Simulace nebyly prováděny autorem, proto nejsou uvedeny v této práci. Cenným výsledkem však bylo, že simulacemi vypočtený poměr proudu celkového a proudu hlavní elektrodou je téměř shodný s poměrem naměřeným při experimentu. Dále bylo zjištěno, že lze nalézt vhodnější geometrii přípravku, při které se simulované proudové poměry téměř rovnají poměrům vycházejícím z geometrie. V navazující diplomové práci bude vytvořen nový přípravek s optimalizovanou geometrií a měření bude zpřesněno. Primárním cílem této bakalářské práce však není exaktní stanovení měrného odporu, ale spíše zjištění změny odporu před a po elektroporačním zákroku. Pro tyto účely je prezentovaný měřicí přípravek vyhovující a hledaná významná změna vodivosti byla jednoznačně prokázána.

Literatura

- [1] JOURABCHI, Natanel, Kouros BEROUKHIM, Bashir A. TAFTI, Stephen T. KEE a Edward W. LEE. Irreversible electroporation (NanoKnife) in cancer treatment. *Gastrointestinal Intervention*. 2014, **2014**(57), 11.
- [2] Electroporation. *ThermoFisher* [online]. Česká republika: Thermo Fisher Scientific, 2016 [cit. 2020-01-06]. Dostupné z: <https://www.thermofisher.com/cz/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/transfection-basics/transfection-methods/electroporation.html>
- [3] BERTACCHINI, Claudio, Pier Mauro MARGOTTI, Enrico BERGAMINI, Mattia RONCHETTI, Ruggero CADOSSO a Andrea LODI. Design of an Irreversible Electroporation System for Clinical Use. *Technology in Cancer Research and Treatment*. 2007, **6**(4), 1-8. ISSN 1533-0346.
- [4] NOVOTNA, Veronika a Dalibor CERVINKA. Impedance Measurement of Muscular Tissue During Electroporation Procedure. In: *2018 IEEE International Conference on Environment and Electrical Engineering and 2018 IEEE Industrial and Commercial Power Systems Europe (EEEIC / I&CPS Europe)* [online]. IEEE, 2018, 2018, s. 1-5 [cit. 2020-01-08]. DOI: 10.1109/EEEIC.2018.8493907. ISBN 978-1-5386-5186-5. Dostupné z: <https://ieeexplore.ieee.org/document/8493907/>
- [5] RUBINSKY, Boris, ed. *Irreversible electroporation*. Berlin: Springer, c2010. Series in biomedical engineering.
- [6] ZHOU, Wei, Zhengai XIONG, Ying LIU, Chenguo YAO a Chengxiang LI. *Low voltage irreversible electroporation induced apoptosis in HeLa cells* [online]. 2012, **8**(1), 80-85 [cit. 2020-01-06]. Dostupné z: <http://www.cancerjournal.net/article.asp?issn=0973-1482;year=2012;volume=8;issue=1;spage=80;epage=85;aulast=Zhou>
- [7] DAVALOS, R.V., D.M. OTTEN, L.M. MIR a B. RUBINSKY. Electrical Impedance Tomography for Imaging Tissue Electroporation. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*. 2004, **51**(5), 761-767. DOI: 10.1109/TBME.2004.824148. ISSN 0018-9294. Dostupné také z: <http://ieeexplore.ieee.org/document/1288397/>
- [8] ACKMANN, J. J. Complex Bioelectric Impedance Measurement System for the Frequency Range from 5 Hz to 1 MHz. *Annals of Biomedical Engineering*. 1993, **21**(1), 135-146.
- [9] Elektrické vlastnosti tkání. In: *Ústav patologické fyziologie* [online]. Lékařská fakulta UK v Plzni [cit. 2020-01-06]. Dostupné z: <http://patofyziologie.lfp.cuni.cz/wp-content/uploads/2018/09/bia.pdf>

- [10] KUSHNER, Robert F. Bioelectrical Impedance Analysis: A Review of Principles and Applications. *Journal of the American College of Nutrition*. American College of Nutrition, 1992, **11**(2), 1-11.
- [11] Bodystat 1500 Touch Screen. *Bodystat* [online]. [cit. 2020-01-06]. Dostupné z: <https://www.bodystat.cz/1500>
- [12] *Clinical Nutrition*. 2004, **23**(5). ISSN 02615614. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0261561404000937>
- [13] *Series 7000 Precision LCR Meters*. 100 Nickerson Road, Marlborough, Massachusetts, USA: QuadTech, 1996.
- [14] Pavlin, M., Kanduser, M., Rebersek, M., Pucihar, G., Hart, F.X., Magjarevic, R., Miklavcic, D.: Effect of Cell Electroporation on the Conductivity of a Cell Suspension. *Biophys. J.* **88**, 4378–4390 (2005)
- [15] Schmeer, M., Seipp, T., Pliquett, U., Kakorin, S., Neumann, E.: Mechanism for the conductivity changes caused by membrane electroporation of CHO cell-pellets. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **6**, 5564–5574 (2004)
- [16] Suehiro, J., Hatano, T., Shutou, M., Hara, M.: Improvement of electric pulse shape for electroporabilization-assisted dielectrophoretic impedance measurement for high sensitive bacteria detection. *Sensors and Actuators B: Chemical* **109**, 209–215 (2005)
- [17] BERNARDIS, Alessia, Marco BULLO, Luca Giovanni CAMPANA, et al. Electric field computation and measurements in the electroporation of inhomogeneous samples. *Open Physics* [online]. 2017, **15**(1), 790-796 [cit. 2020-06-05]. DOI: 10.1515/phys-2017-0092. ISSN 2391-5471. Dostupné z: <http://www.degruyter.com/view/j/phys.2017.15.issue-1/phys-2017-0092/phys-2017-0092.xml>