VILNIAUS GEDIMINO TECHNIKOS UNIVERSITETAS

Gediminas STAIGVILA

MIKROSEKUNDINIŲ MAGNETINIŲ
IMPULSŲ GENERATORIŲ KŪRIMAS
LĄSTELIŲ PLAZMINĖS MEMBRANOS
PRALaidUMUI VALDYTI

DAKTARO DISERTACIJA

TECHNOLOGIJOS MOKSLAI,
ELEKTROS IR ELEKTRONIKOS INŽINERIJA (T 001)

Vilnius, 2020

Disertacija rengta 2016–2020 metais Vilniaus Gedimino technikos universitete.

Vadovas

doc. dr. Vitalij NOVICKIJ (Vilniaus Gedimino technikos universitetas, elektros ir elektronikos inžinerija – T 001).

Vilniaus Gedimino technikos universiteto Elektros ir elektronikos inžinerijos mokslo krypties disertacijos gynimo taryba:

Pirmininkas

prof. dr. Algirdas BAŠKYS (Vilniaus Gedimino technikos universitetas, elektros ir elektronikos inžinerija – T 001).

Nariai:

dr. Matej REBERŠEK (Liublianos universitetas, Slovėnija, elektros ir elektronikos inžinerija – T 001),

prof. dr. Artūras SERACKIS (Vilniaus Gedimino technikos universitetas, elektros ir elektronikos inžinerija – T 001),

doc. dr. Dainius UDRIS (Vilniaus Gedimino technikos universitetas, elektros ir elektronikos inžinerija – T 001),

prof. dr. Algimantas VALINEVIČIUS (Kauno technologijos universitetas, elektros ir elektronikos inžinerija – T 001).

Disertacija bus ginama viešame Elektros ir elektronikos inžinerijos mokslo krypties disertacijos gynimo tarybos posėdyje **2021 m. sausio 7 d. 10 val.** Vilniaus Gedimino technikos universiteto senato posėdžių salėje.

Adresas: Saulėtekio al. 11, LT-10223 Vilnius, Lietuva.

Tel.: (8 5) 274 4956; faksas (8 5) 270 0112; el. paštas doktor@vgtu.lt

Pranešimai apie numatomą ginti disertaciją išsiųsti 2020 m. gruodžio 4 d.

Disertaciją galima peržiūrėti Vilniaus Gedimino technikos universiteto talpykloje <http://dspace.vgtu.lt>, Vilniaus Gedimino technikos universiteto bibliotekoje (Saulėtekio al. 14, LT-10223 Vilnius, Lietuva) bei Lietuvos mokslų akademijos Vrublevskių bibliotekoje (Žygimantų g. 1, LT-01102 Vilnius, Lietuva).

Vilniaus Gedimino technikos universiteto 2020-044-M mokslo literatūros knyga

doi:10.20334/2020-044-M

© Vilniaus Gedimino technikos universitetas, 2020

© Gediminas Staigvila, 2020

gediminas.staigvila@vgtu.lt

VILNIUS GEDIMINAS TECHNICAL UNIVERSITY

Gediminas STAIGVILA

DEVELOPMENT OF MICROSECOND
MAGNETIC PULSE GENERATORS FOR
CELL MEMBRANE PERMEABILIZATION
CONTROL

DOCTORAL DISSERTATION

TECHNOLOGICAL SCIENCES,
ELECTRICAL AND ELECTRONIC ENGINEERING (T 001)

Vilnius, 2020

Doctoral dissertation was prepared at Vilnius Gediminas Technical University in 2016–2020.

Supervisor

Assoc. Prof. Dr Vitalij NOVICKIJ (Vilnius Gediminas Technical University, Electrical and Electronic Engineering – T 001).

The Dissertation Defence Council of Scientific Field of Electrical and Electronic Engineering of Vilnius Gediminas Technical University.

Chairman

Prof. Dr Algirdas BAŠKYS (Vilnius Gediminas Technical University, Electrical and Electronic Engineering – T 001).

Members:

Dr Matej REBERŠEK (University of Ljubljana, Slovenia, Electrical and Electronic Engineering – T 001),

Prof. Dr Artūras SERACKIS (Vilnius Gediminas Technical University, Electrical and Electronic Engineering – T 001),

Assoc. Prof. Dr Dainius UDRIS (Vilnius Gediminas Technical University, Electrical and Electronic Engineering – T 001),

Prof. Dr Algimantas VALINEVIČIUS (Kaunas University of Technology, Electrical and Electronic Engineering – T 001).

The dissertation will be defended at the public meeting of the Dissertation Defence Council of Electrical and Electronic Engineering in the Senate Hall of Vilnius Gediminas Technical University at **10 a. m. on 7 January 2021**.

Address: Saulėtekio al. 11, LT-10223 Vilnius, Lithuania.

Tel.: +370 5 274 4956; fax +370 5 270 0112; e-mail: doktor@vgtu.lt

A notification on the intend defending of the dissertation was send on 4 December 2020.

A copy of the doctoral dissertation is available for review at Vilnius Gediminas Technical University repository <http://dspace.vgtu.lt>, at the Library of Vilnius Gediminas Technical University (Saulėtekio al. 14, LT-10223 Vilnius, Lithuania) and the Wroblewski Library of the Lithuanian Academy of Sciences (Žygimantų st. 1, LT-01102, Vilnius, Lithuania).

Reziumė

Disertacijoje nagrinėjami magnetinio lauko impulsų generatoriai ir technologijos, skirtos valdyti ląstelės plazminės membranos pralaidumą. Naudojant impulsinius induktorių kaip apkrovą, disertacijoje buvo bandoma bekontaktiniu būdu indukuoti grįžtamus ir negrįžtamus pokyčius biologiniuose objektuose, apžvelgiamos sukuriama magnetinio lauko impulsų poveikio priklausomybės nuo impulso formos ir kitų parametrų.

Disertaciją sudaro įvadas, trys skyriai, bendrosios išvados, naudotos literatūros ir autoriaus publikacijų disertacijos tema sąrašai.

Įvadiniam skyriuje aptariama tiriamoji problema, darbo aktualumas, aprašomas tyrimų objektas, formuluojamas darbo tikslas bei uždaviniai, aprašoma tyrimų metodika, darbo mokslinis naujumas, darbo rezultatų praktinė reikšmė, ginamieji teiginiai. Įvado pabaigoje pristatomos disertacijos tema autoriaus paskelbtos publikacijos ir pranešimai konferencijose bei disertacijos struktūra.

Pirmasis skyrius skirtas literatūros apžvalgai. Jame analizuojami įvairių generatorių schemų veikimo principai ir pritaikymas. Skyriaus pabaigoje formuluojamos išvados ir tikslinami disertacijos uždaviniai.

Antrajame skyriuje aprašomi Markso topologijos, ignitrono ir tiristorių pagrindu sukurti magnetinio lauko generatoriai bei apžvelgiami atskirų grandinių veikimo principai.

Trečiajame skyriuje pateikti induktorių imitacinių modelių tyrimo rezultatai, indukuoto elektrinio lauko parametrai bei taikomųjų eksperimentų rezultatai su skirtingų tipų ląstelėmis.

Disertacijos tema paskelbti 5 straipsniai: keturi – moksliniuose žurnaluose, įtrauktuose į *Clarivate Analytics Web of Science sąrašą*, turinčiuose citavimo indeksą, vienas – konferencijų medžiagoje, įtrauktoje į *Clarivate Analytics Web of Science* duomenų bazę. Disertacijos tema perskaityti 8 pranešimai nacionalinėse bei tarptautinėse konferencijose.

Abstract

The dissertation deals with magnetic field pulse generators and technologies for controlling the plasma membrane permeability of cells. In this work, pulse inductors were used as a load, the work, and attempted contactlessly induce reversible and irreversible changes in biological objects, by magnetic field pulses of different shapes and parameters.

The dissertation consists of an introduction, three chapters, general conclusions, references and lists of the author's publications on the topic of the dissertation.

The introductory chapter discusses the research problem, the relevance of the work, describes the object of research, formulates the aim and objectives of the work, describes the research methodology, scientific novelty, the practical significance of results, defended statements. At the end of the introduction, the author's publications and conference papers on the topic of the dissertation and the structure of the dissertation are presented.

The first chapter is devoted to a review of the literature. It presents the principles of operation and application of various generator circuits. At the end of the chapter, conclusions are formulated and the tasks of the dissertation are specified.

The second chapter describes the three developed magnetic field generators and working principle of separate circuits.

The third chapter presents the results of inductor simulation models, the parameters of the induced electric field and the results of applied experiments with different cell types.

On the topic of the dissertation 5 articles were published: four in scientific journals included in the *Clarivate Analytics Web of Science* list with impact factor, and one in conference proceedings included in the *Clarivate Analytics Web of Science* database. 8 presentations on the topic of the dissertation were read at national and international conferences.

Žymėjimai

Santrumpos

B – (angl. *magnetic field*) magnetinio srauto tankis;

BJT – (angl. *bipolar junction transistor*) dvipolis tranzistorius;

CFU – (angl. *colony-forming unit*) kolonijas formuojantys vienetai;

CHO – (angl. *Chinese hamster ovary cell*) Kiniško žiurkėno kiaušidžių ląstelės;

DC – (angl. *direct current*) nuolatinė srovė;

E – (angl. *electric field*) elektrinis laukas;

GTO – (angl. *gate turn-off thyristor*) valdomo išjungimo tiristorius;

HV – (angl. *high voltage*) aukštoji įtampa;

HVHCS – (angl. *arc-quenching chambers of high-voltage high-current switches*) aukštos įtampos aukštos srovės jungiklių lanko gesinimo kameros;

IEBA – (angl. *intense electron-beam accelerator*) intensyvus elektronų pluošto greitintuvas;

IGBT – (angl. *insulated-gate bipolar transistor*) dvipolis tranzistorius su izoliuota užtūra;

MOSFET – (angl. *metal–oxide–semiconductor field-effect transistor*) metalo, oksido ir puslaidininkio lauko efekto tranzistorius;

PEMF – (angl. *pulsed electromagnetic field*) impulsiniai elektriniai ir magnetiniai laukai;

PGR – (angl. *polymerase chain reaction*) polimerazės grandinės reakcija;
PI – (angl. *propidium iodide*) propidžio jodidas;
PMF – (angl. *pulsed magnetic field*) impulsiniai magnetiniai laukai;
PWM – (angl. *pulsed width modulation*) impulsų pločio moduliacija;
RMF – (angl. *rotating magnetic field*) besisukantys magnetiniai laukai;
SCR – (angl. *silicon controlled rectifier*) tiristorius;
SMF – (angl. *strong magnetic field*) stiprūs magnetiniai laukai;
TMS – (angl. *transcranial magnetic stimulation*) galvos magnetinė stimuliacija;
TRD – (angl. *galvanically isolated trigger*) galvaniškai atskirtas triggeris.

Turinys

IVADAS.....	1
Problemos formulavimas	1
Darbo aktualumas.....	2
Tyrimų objektas	2
Darbo tikslas	2
Darbo uždaviniai	2
Tyrimų metodika	3
Darbo mokslinis naujumas	3
Darbo rezultatų praktinė reikšmė	3
Ginamieji teiginiai.....	3
Darbo rezultatų aprobavimas	4
Disertacijos struktūra.....	4
 1. MAGNETINIO LAUKO GENERAVIMO TECHNOLOGIJŲ IR JŲ TAIKYMŲ LITERATŪROS APŽVALGA.....	 5
1.1. Elektromagnetinių laukų taikymai biomedicinoje ir biotechnologijose	5
1.2. Stiprių impulsinių elektromagnetinių laukų taikymai biotechnologijoje.....	7
1.3. Įtaisai naudojami stipraus magnetinio lauko generatoriuose	8
1.4. Esamos magnetinio lauko generatorių technologijos	13
1.5. Pirmojo skyriaus išvados ir disertacijos uždavinių formulavimas	23

2. IMPULSINIŲ DIDELĖS GALIOS GENERATORIŲ KŪRIMAS IR TYRIMAS	25
2.1. Markso topologija grįstas magnetinio lauko generatorius	25
2.2. Magnetinio lauko generatorius su ignitrono raktu	30
2.3. Impulsinis generatorius grįstas tiristoriniais raktais	36
2.4. Generatorių skirtų magnetoporacijai palyginimas	40
2.5. Antrojo skyriaus išvados	42
3. SUKURTŲ IMPULSINIŲ INDUKTORIŲ ANALIZĖ IR TAIKOMIEJI	
MAGNETOPORACIJOS TYRIMAI.....	43
3.1. Impulsinių induktorių parametrinė analizė	43
3.2. Taikomieji magnetoporacijos tyrimai	49
3.3. Trečiojo skyriaus išvados	50
BENDROSIOS IŠVADOS	51
LITERATŪRA IR ŠALTINIAI.....	53
AUTORIAUS MOKSLINIŲ PUBLIKACIJŲ DISERTACIJOS TEMA SĄRAŠAS	63
SUMMARY IN ENGLISH.....	77
PRIEDAI ¹	81
A priedas. Disertacijos autoriaus sąžiningumo deklaracija.....	83
B priedas. Bendraautorių sutikimai teikti publikacijose skelbtą medžiagą mokslo daktaro disertacijoje.....	84
C priedas. Autoriaus mokslinių publikacijų disertacijos tema kopijos	99

¹ Priedai pateikti pridėtoje kompaktinėje plokštelėje.

Contents

INTRODUCTION.....	1
Problem formulation	1
Relevance of the thesis.....	2
Object of research	2
The aim of the thesis	2
Tasks of the thesis.....	2
Research methodology	3
Scientific novelty of the thesis.....	3
Practical value of research findings	3
Defended statements	3
Approval of the research findings.....	4
Structure of the dissertation.....	4
1. LITERATURE OVERVIEW OF MAGNETIC FIELD GENERATION	
TECHNOLOGIES AND APPLICATIONS	5
1.1. Applications of electromagnetic fields in biomedicine and biotechnology.....	5
1.2. Applications of strong pulsed electromagnetic fields in biotechnology	7
1.3. The devices are used in strong magnetic field generators.....	8
1.4. Existing magnetic field generator technologies.....	13
1.5. Conclusions of the first chapter and formulation of dissertation tasks	23

2. DEVELOPMENT AND RESEARCH OF HIGH POWER PULSE GENERATORS	25
2.1. A magnetic field generator based on the Marx topology	25
2.2. Magnetic field generator with ignitron key.....	30
2.3. The pulse generator is based on thyristor keys.....	36
2.4. Comparison of generators for magnetoporation	40
2.5. Conclusions of the second chapter	42
3. ANALYSIS OF DEVELOPED PULSED INDUCTORS AND APPLIED MAGNETOPORATION RESEARCH.....	43
3.1. Parametric analysis of pulse inductors.....	43
3.2. Applied magnetoporation research.....	49
3.3. Conclusions of the third chapter	50
GENERAL CONCLUCIONS.....	51
LITERATURE AND SOURCES.....	53
AUTHOR'S PUBLICATION ON THE TOPIC OF THE DISSERTATION.....	63
SUMMARY IN ENGLISH.....	77
ANNEXES ²	81
Annex A. Dissertation author's declaration of academic integrity	83
Annex B. Co-authors' consents to submit the material published in the publications in the doctoral dissertation	84
Annex C. Copies of the author's scientific publications on the topic of the dissertation.	99

² The annexes are supplied in the enclosed compact disc.

Įvadas

Problemos formulavimas

Elektroporacija tai elektrinio lauko iššauktas reiškinys, leidžiantis valdyti biologinių ląstelių plazminės membranos pralaidumą. Jis naudojamas biomedicinoje ir biotechnologijose, vaistams ir genams įterpti į ląsteles, audinių abliacijai, vakcinacijai, maisto perdirbimui, biorafinavimui, baltymų ekstrakcijai.

Magnetoporacija – tai stiprių magnetinių laukų sukeltas reiškinys, kuris savo poveikiu yra panašus į elektroporaciją. Skirtingai nuo elektroporacijos padidintas ląstelių pralaidumas yra iššaukiamas be tiesioginio kontakto su bandiniu, tačiau poveikio mechanizmas nėra pilnai ištirtas, o taikomųjų mokslinių darbų su parametrine analize skaičius yra ribotas. Dėl šių priežasčių kuriami nauji magnetinio lauko generatoriai ir impulsiniai induktoriai, kurie naudojami magnetoporacijai.

Tačiau, norint sugeneruoti pakankamai stiprų magnetinį lauką, reikia taikyti impulsines sroves, kurių diapazonas gali siekti nuo kelių šimtų amperų iki kelių kiloamperų, ir dėl to atsiranda Džaulio šilumos ir jos valdymo problemos (V. Novickij *et al.*, 2013). Atitinkamai, dėl technologinių problemų ir inžinerinio sudėtingumo dauguma mokslinių darbų apsiriboja μT – mT diapazono impulsiniais magnetiniais laukais arba statinio iki 2 T magnetinio lauko impulsų generavimo technologijomis (Bae *et al.*, 2011; Ghodbane *et al.*, 2013; Radhakrishnan *et al.*,

2012). Tačiau, norint sukelti detektuojamus pokyčius biologinėse ląstelėse reikalingi impulsiniai generatoriai formuojantys aukšto magnetinio lauko pokyčio per laiko vienetą (dB/dt) impulsus.

Dėl šių priežasčių reikia tolimesnių tyrimų ir technologijų vystymo, norint užtikrinti naujų ląstelių membranos pralaidumo metodų sukūrimą ir integraciją biomedicinos ar biotechnologijų srityse.

Darbo aktualumas

Šiuo metu trūksta magnetinio lauko impulsinių sistemų, kurios gali būti taikomos ląstelių membranų pralaidumo tyrimuose. Dėl šių priežasčių pats ląstelių membranos pralaidumo reiškinys yra nepakankamai ištirtas, o pritaikymas daugumoje atveju apribotas ikiklinikiniais tyrimais. Naujų technologinių sprendimų šioje srityje sukūrimas potencialiai leistų padidinti šios technologijos prieinamumą.

Tyrimų objektas

Darbo tyrimų objektas – didelės galios impulsiniai magnetinio lauko generatoriai ląstelių membranų pralaidumą valdančių aukšto magnetinio lauko pokyčio per laiko vienetą impulsų formavimui.

Darbo tikslas

Šio darbo tikslas sukurti magnetinio lauko generatorius, kurie be tiesioginio kontakto su bandiniu sukeltų valdomus ląstelių membranų pralaidumo pokyčius.

Darbo uždaviniai

Darbo tikslui pasiekti darbe reikia spręsti šiuos uždavinius:

1. Ištirti didelės galios impulsų technologijas ir pasiūlyti aukšto magnetinio lauko pokyčio per laiko vienetą magnetinių impulsų formavimo grandines, skirtas biologinių ląstelių membranų pralaidumo valdymui be tiesioginio kontakto su bandiniu.
2. Įvertinti impulsinių induktorių struktūrą, indukuoto elektrinio lauko pasiskirstymus, įšilimo efektus ir užtikrinti induktoriuose stabilią temperatūrą poveikio metu.
3. Atlikti taikomuosius eksperimentinius sukurtų generatorių tyrimus, parodant fluorescencinių dažų pernašą per biologinių ląstelių membraną.

Tyrimų metodika

Darbe taikomi skaitmeninio imitavimo ir eksperimentiniai tyrimo metodai: skaitmeninio imitavimo metodai COMSOL aplinkoje, eksperimentiniai elektronikos grandinių signalų apdorojimo metodai; tekės citometrija ir fluorescencinių dažų pernašos metodai.

Darbo mokslinis naujumas

Rengiant disertaciją buvo gauti šie elektros ir elektronikos inžinerijos mokslui reikšmingi rezultatai:

1. Sukurti impulsinių induktorių imitaciniai modeliai ir nustatyti tiksliniai lauko parametrai ląstelių membranų pralaidumo valdymui.
2. Sukurtas Markso topogijos magnetinio lauko generatorius, taikytinas magnetoporacijos tyrimuose, skirtas formuoti 3,3 T magnetinio lauko 450–500 ns fronto impulsus 100 μ l tūryje.
3. Sukurtas generatorius su ignitronu impulsų formavimo grandinėje, galintis generuoti iki 3 T magnetinio lauko 650–700 ns fronto impulsus 100 μ l tūryje, užtikrinant impulsų amplitudės ir dažnio valdymą.
4. Sukurtas impulsų generatorius, taikytinas magnetoporacijos tyrimuose, su tiristorine impulsų formavimo grandine, galintis generuoti iki 10 T magnetinio lauko mikrosekundinės trukmės (10–15 μ s) impulsus 50 μ l tūryje, užtikrinant impulsų amplitudės ir dažnio valdymą.

Darbo rezultatų praktinė reikšmė

Darbo rezultatai pritaikomi magnetoporacijos srityje ir prisideda prie šio biologinio reiškinių supratimo ir metodikos vystymo. Darbo rezultatai taip pat buvo panaudoti vykdant Link ateities technologijų programos projektą LAT-16001 „Mikrogravitacijos sąlygose suaktyvėjančių ir odos infekcijas sukeliančių mikroorganizmų biokontrolė naudojant elektro-magnetoporaciją“.

Ginamieji teiginiai

1. Markso grandinės topologijos 3,3 T sub-mikrosekundinio fronto impulsų generatorių galima taikyti magnetoporacijos tyrimuose, užtikri-

nant iki 0,2 kV/cm indukuoto elektrinio lauko generavimą ląstelių suspensijoje, neviršijant 3 °C temperatūros pokyčių induktoriaus efektyviame tūryje.

2. Sukurta impulsų formavimo grandinė, naudojant ignitroną, užtikrina pasikartojančių iki 5 kA impulsų formavimą su 650–700 ns frontu, naudojant apkrovas artimas trumpajam jungimui ir gali būti taikoma aukšto dB/dt magnetinių impulsų formavimui.
3. Tiristorinis formuotų mikrosekundinių (10–15 μ s) iki 10 T impulsų generatorius yra tinkamas indukuoti padidintą ląstelių membranos pralaidumą, neviršijant 5 °C temperatūros pokyčių induktoriaus efektyviame tūryje.

Darbo rezultatų aprobavimas

Disertacijos tema paskelbti 5 straipsniai: keturi – moksliniuose žurnaluose, įtrauktuose į *Clarivate Analytics Web of Science* sąrašą (V. Novickij 2017, V. Novickij 2018, Staigvila 2019, V. Novickij 2020), turinčiuose citavimo rodiklį, vienas – konferencijų medžiagoje (Staigvila 2017), įtrauktoje į *Clarivate Analytics Web of Science* duomenų bazę.

Disertacijoje atliktų tyrimų rezultatai buvo paskelbti aštuoniose mokslinėse konferencijose Lietuvoje ir užsienyje:

- Jaunųjų mokslininkų konferencijoje „Elektronika ir elektrotechnika“ 2017, 2018, 2019 m. Vilniuje;
- Tarptautinėje konferencijoje „Open Readings“ 2017, 2019 m. Vilniuje;
- Tarptautinėje konferencijoje „Electronics“ 2017 m. Palangoje;
- Tarptautinėje konferencijoje „The 5th IEEE Workshop on Advances in Information, Electronic and Electrical Engineering AIEEE'2017“ 2017 m., Rygoje.
- Tarptautinėje konferencijoje „The 3rd World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine, and Food & Environmental Technologies“ 2019 m. Tulūzoje.

Disertacijos struktūra

Disertaciją sudaro įvadas, trys skyriai ir bendrosios išvados. Taip pat yra 3 priedai.

Darbo apimtis yra 82 puslapiai, neskaitant priedų, 37 paveikslai ir 4 lentelės. Rašant disertaciją buvo panaudota 104 literatūros šaltiniai.

Magnetinio lauko generavimo technologijų ir jų taikymų literatūros apžvalga

Šiame skyriuje apžvelgiami magnetinių impulsų taikymai biomedicinoje ir biotechnologijose, magnetinio lauko generavimo metodai, įtaisai ir induktoriai, kurie naudojami magnetinio lauko generatoriuose. Taip pat skyriuje apžvelgiamos pereinamųjų procesų kompensavimo grandinės ir jų taikymai. Dalis skyriuje pateiktos medžiagos skelbta autoriaus mokslinėse publikacijose (V. Novickij, *et al.*, 2017, Staigvila, *et al.*, 2019).

1.1. Elektromagnetinių laukų taikymai biomedicinoje ir biotechnologijose

Magnetiniai laukai apima stiprius magnetinius laukus SMF (angl. *strong magnetic field*), impulsinius elektromagnetinius laukus PEMF (angl. *pulsed electromagnetic field*), besisukančius magnetinius laukus RMF (angl. *rotating magnetic field*) ir kintamuosius elektromagnetinius laukus. Magnetoterapija yra neinvazinis, saugus ir paprastas būdas gydyti sužalojimo vietą, skausmo ir uždegimo šaltinį bei kitas ligas. SMF ir PEMF yra du modifikuoti magnetinių laukų tipai. SMF buvo

suskirstyti į kategorijas pagal jų intensyvumą: ypač silpnas ($5 \mu\text{T}$ – 1 mT), silpnas (1 mT), vidutinis (1 mT – 1 T), stiprus (1 – 5 T) ir ypač stiprus ($> 5 \text{ T}$) (Xia *et al.*, 2018). Silpni magnetiniai laukai taip pat gali veikti įvairias ląsteles. Taip valdant jonų pernaša galima bakterijų ląstelėse. Taip pat veikiant ląsteles magnetiniu lauku sutrinka ląstelių judrumas ir dauginimosi greitis. Dauginimosi greitis priklauso nuo magnetinio lauko stiprumo (Masood, *et al.*, 2017).

Magnetinio lauko intensyvumo poveikio pavyzdžiai biologinėms ląstelėms pateikti 1.1 lentelėje.

1.1 lentelė. Magnetinio lauko poveikis biologinėms ląstelėms (Albuquerque *et al.*, 2016)
Table 1.1. Magnetic field effects on biological cells (Albuquerque *et al.*, 2016)

Magnetinio lauko intensyvumas, mT	Lastelės	Magnetinio lauko poveikis
200	Salmonella (May, <i>et al.</i> , 2009)	Ląstelių augimui neturėjo įtakos, tačiau sumažėjo kolonijų nuo 3–6 h ir vėl pradėjo didėti nuo 6–9 h
35 iki 120	Fibroblastai, melanomos ląstelės ir adipozė kamieninės ląstelės (Sullivan <i>et al.</i> , 2011)	20% slopina žmogaus melanomos ląstelių augimą ir nedaro jokio poveikio kamieninėms ląstelėms
300	Miofibroblastai (Gruchlik <i>et al.</i> , 2012)	Ląstelių proliferacija padidėjo nepakitus ląstelių gyvybingumui, veikiant SMF
12	Endotelio ląstelės (Martino <i>et al.</i> , 2010)	Ląstelių skaičius padidėjo 40 %, lyginant su kontroline grupe
220	Saccharomyces cerevisiae (Muniz <i>et al.</i> 2007)	Biomasė padidėjo 2,5 karto
15	Žiurkės kaulų čiulpų kamieninės ląstelės (Sarvestani, <i>et al.</i> , 2010)	Ląstelių skaičiaus padidėjimas G2/M fazėje, bet tik iš anksto paveikus rentgeno spinduliais
45 ir nuo 450 iki 3500	Escherichia coli (Ji, <i>et al.</i> , 2009)	Ląstelių gyvybingumas ir kolonijas formuojantys vienetai (CFU) sumažėjo po ilgesnio poveikio
6	HL60 (žmogaus promielocitinės leukemijos ląstelių linija) (Teodori, <i>et al.</i> , 2002)	SMF poveikis neturėjo įtakos ląstelių gyvybingumui
100, 500, 1000	Alternaria alternata Curvularia inaequalis Fusarium oxysporum (Nagy, <i>et al.</i> , 2004)	Konidijų augimas padidėjo 68 % – 33 %, palyginti su Alternaria alternata ir Curvularia inaequalis.

Kaip matoma iš 1.1 lentelės biologiniams eksperimentams dažniausiai naudojamas mT eilės magnetinis laukas.

1.2. Stiprių impulsinių elektromagnetinių laukų taikymai biotechnologijoje

Per paskutinį dešimtmetį buvo pasiūlytas bekontaktis metodas, grįstas stipriais impulsiniais magnetiniais laukais, skirtas grįžtamajam ir negrįžtamajam biologinių ląstelių membranos pralaidumo valdymui (permeabilizavimui) (Kardos *et al.*, 2016; Kranjc *et al.*, 2016). Veikiant ląsteles impulsiniais kelių teslų magnetiniais laukais, jų membrana tampa laidu fluorescencinėms žymenims (Towhidi *et al.*, 2012). Metodas galėtų būti naudojamas kaip alternatyva elektroporacijai, kur naudojami impulsiniai elektriniai laukai membranų pralaidumui pakeisti (Kotnik *et al.*, 2015; Yarmush *et al.*, 2014). Šiuo metu manoma, kad impulsinis magnetinis laukas indukuoja elektrinį lauką ir tokiu būdu poliarizuoja ląstelės membraną, kas įtakoja porų formavimą panašiai kaip elektroporacijoje (Kranjc *et al.*, 2016; Towhidi *et al.*, 2012). Tačiau, greitai kintančio magnetinio lauko indukuojamas elektrinis laukas yra keliomis eilėmis mažesnis nei elektroporacijai reikalingas elektrinis laukas (Lucinskis *et al.*, 2014; V. Novickij, Dermol, *et al.*, 2017; V. Novickij, Grainys, Lastauskiene, *et al.*, 2016). Dėl to, taip pat svarstomi kiti įtakojantys reiškiniai, tokie kaip elektroforezė (Schoenbach *et al.*, 2015), ląstelių receptorių aktyvavimas (Shankayi *et al.*, 2014), elektroendocitozė (Ben-Dov *et al.*, 2012) ar magnetomotorinės jėgos (Yao *et al.*, 2014), nors vis dar neįmanoma vienareikšmiškai nustatyti poveikio mechanizmo. Taip pat nustatyta, kad pavieniai impulsai iki 16,4 T nesukelia aptinkamų ląstelių pralaidumo valdymų (permeabilizacijos). Tačiau pritaikius 2,9 T impulsus (bet didesnio dB/dt), atsiranda ląstelių atsakas (V. Novickij, Grainys, 2015; Shankayi *et al.*, 2013; Towhidi *et al.*, 2012). Manoma, kad mažas ląstelių permeabilizacijos efektyvumas buvo dėl mažo indukuoto elektrinio lauko, kuris visais atvejais buvo žemiau 1 kV/cm.

Tuomet didelio intensyvumo impulsiniai elektriniai laukai yra naudojami biologinių objektų veikimo tyrimams (Bhawandeep *et al.*, 2017; Rems, Miklaviči, *et al.*, 2016; Yarmush *et al.*, 2014). Jau ištirti elektroporacijos metodai apima platų pritaikymą biotechnologijose, maisto perdirbime ir biomedicinoje, įskaitant klinikinę praktiką (Calvet, Mir, *et al.*, 2016; Golberg *et al.*, 2016; Kotnik *et al.*, 2015; Lambricht *et al.*, 2016; Yarmush *et al.*, 2014). Nustatyta, kad procedūros yra saugios ir veiksmingos žmonėms, ir galimos naudoti gydymui piktybinių kepenų, kasos, plaučių, limfmazgių ir kitų organų augliams (Jiang *et al.*, 2015; Kluger *et al.*, 2016; Scheffer *et al.*, 2014). Nepaisant to, elektroporacijos metodas turi tam tikrų ribojančių veiksnių, tokių kaip nuo bioimpedanso priklausomas elektrinio lauko pasiskirstymas (Neal *et al.*, 2012), įtampos iškraipymai

(Guenther *et al.*, 2015), nuo naviko dydžio priklausantis gydymo efektyvumas (Muratori *et al.*, 2016), sudėtingas elektrodų padėties nustatymas esant giliems navikams (Langus *et al.*, 2016), elektrocheminės reakcijos elektrodo sąsajose (Bhonsle *et al.*, 2015; Miklavčiū *et al.*, 2014; Rodaite-Riseviciene *et al.*, 2014). Dėl to atsiranda alternatyvių metodų, tokių kaip neterminis šaltos plazmos gydymas ar sonoporacija, leidžiantys pagerinti priešvėžinio gydymo efektyvumą konkrečioje taikymo srityje (Amini, *et al.*, 2016; Guerrero-Preston *et al.*, 2014; Tamošiūnas *et al.*, 2016; Timmermans *et al.*, 2014). Todėl, viena iš tokių alternatyvų, gali būti impulsiniai magnetiniai laukai, kurie gali sukelti padidintą ląstelių membranų pralaidumą vaistams ar kitoms molekulėms (Kardos *et al.*, 2016; Kranjc *et al.*, 2016; V. Novickij, Grainys, Butkus, *et al.*, 2016; Towhidi *et al.*, 2012). Magnetoporacija buvo patvirtinta *in vivo* įterpiant žaliąją fluorescencinę plazmidę į raumenį (Kardos *et al.*, 2016) ar cisplatiną į navikus (Kranjc *et al.*, 2016), todėl įvertinant poveikį ląstelėms galima palyginti su įprastine elektroporacija. *In vitro* tyrimai, kuriuose nagrinėjama magnetoporacijos metodika, taip pat įrodo, kad įmanoma pasiekti ląstelių pralaidumo valdymą (permeabilizaciją). Tačiau gydymo efektyvumas yra kelis kartus mažesnis, palyginti su elektroporacija (Firoozabadi *et al.*, 2015; V. Novickij, Grainys, Lastauskienė, *et al.*, 2015; Towhidi *et al.*, 2012). Buvo nustatyta, kad indukuotas elektrinis laukas negali būti laikomas vieninteliu parametru, atsakingu už membranos pralaidumą magnetoporacijos metu (V. Novickij *et al.*, 2016).

Remiantis esamais tyrimais, mikrosekundinės trukmės magnetiniai impulsai su stačiais frontais yra labiau pritaikomi magnetoporacijoje bei atsiranda poreikis kurti didelio dB/dt magnetinio lauko sistemas (Kardos *et al.*, 2016; V. Novickij, Dermol, *et al.*, 2017; V. Novickij, Girkontaite, *et al.*, 2017; Towhidi *et al.*, 2012).

1.3. Įtaisai naudojami stipraus magnetinio lauko generatoriuose

Stiprių magnetinių laukų generavimas reikalauja kA eilės srovių, tačiau tai sukuria inžinerines ir technologines problemas formuojant didelės galios impulsus. Tokiam impulsui formuoti reikia įtaisų – raktų galinčių sukomutuoti visą kondensatoriuose sukauptą energiją į apkrovą (magnetoporacijos atveju į induktorių). Magnetoporacijoje tokių raktų dV/dt ir dI/dt turi būti pakankamai didelis (Hulangamuwa *et al.*, 2020), kad galima būtų užtikrinti pakankamą elektrinio lauko indukciją. Raktai gali būti skirstomi į dielektrinio pramušimo ar puslaidininkinius (Vechalapu, *et al.*, 2016). Vieni paprasčiausių raktų yra kibirkštkiliai (angl. spark gap – dielektrinio pramušimo raktai), kurie naudojami nuosekliai sujungti su apkrova ir susideda iš dviejų ir daugiau elektrodų bei dielektriko (1.1 pav.) (Jerzy, 2020).

1.1 pav. Elektrodai su oro tarpu (Jerzy, 2020)

Fig. 1.1. Electrodes with air gap (Jerzy, 2020)

Pasiekus ribinę pramušimo įtampą dielektrikas esantis tarp elektrodų yra pramušamas, susiformuojant plazmai kibirkštiniai gali praleisti kA eilės srovės ir komutuoti įtampas iki dešimčių kV. Todėl kibirkštiniai gali būti naudojami įvairiose generatorių topologijose: Markso, Bloumleina ar kombinuotose grandinėse (Beyer, *et al.*, 2004; Ponnirana *et al.*, 2016; Rose *et al.*, 2017). Dielektrinio pramušimo raktai yra keičiami puslaidininkine technologija, nes yra neatsparūs korozijai, ir tokie raktai taip pat praranda savo valdymo/komutavimo savybes (Achour *et al.*, 2018; Achour, *et al.*, 2017). Kibirkštiniais grįstos sistemos turi ribotas impulsų parametrų valdymo galimybes, t. y. negalima valdyti trukmės ir/ar amplitudės, arba yra apribotas impulsų pasikartojimo dažnis.

Puslaidininkiniai raktai gali išspręsti problemas susijusias su impulsų pasikartojimo dažniu ar ne ilgaamžiškumu, kuris yra tipinis dielektrinio pramušimo raktams, tačiau atsiranda apribojimai komutuojamos srovės ir įtampos dydžiams (Liu *et al.*, 2019; Yasu *et al.*, 2017). Dėl šios priežasties stiprių magnetinių laukų generavimui dažniausiai naudojami tiristoriai, dėl kilo amperų eilės srovės palaišymo (Grainys *et al.*, 2015), tačiau dėl mažo dI/dt (tipiškai iki kelių šimtų A/ μ s) šio tipo raktai turi ribotą pritaikymą aukšto dB/dt magnetinio lauko sistemoms. IGBT ir MOSFET raktų pritaikomumas yra apribotas mažos komutuojamos galios, ką galima išspręsti jungiant nuosekliai/lygiagrečiai raktus ir masyvus (V. Novickij, Grainys, *et al.*, 2014; V. Novickij, Grainys, *et al.*, 2017).

Įvertinant šio darbo specifiką, reikia rinktis raktus atsižvelgiant į komutuojamą galią, raktų valdymo lankstumą ir ilgaamžiškumą. Šiam tikslui gali tikti ignitronai – gyvsidabrio pripildytos lempos su valdymo elektrodu. Tokie raktai gali komutuoti iki šimtų kV įtampas ir šimtų kA srovės, užtikrindami didesnę ilgaamžiškumą negu dujiniai kibirkštiniai. Puslaidininkinių raktų pavyzdžiai ir jų parametrai yra pateikti 1.2 lentelėje.

Srovės esančias kA ir kelių kV įtampas užtikrina tiristorių puslaidininkinė technologija arba dielektrinio pramušimo raktai (kibirkštiniai, ignitronai). Taip pat įvertinant magnetoporacijos metodikos naujumą, gaunama išvada, kad reikia išbandyti visus tinkamus raktų tipus.

1.2 lentelė. Tipinių impulsų formavimo raktų parametrų palyginimas**Table 1.2.** Typical characteristics of pulse forming switches

Raktas	Modelis	Įtampa	Srovės stipris	t_r	t_f
IGBT	IXGH32N170 (Mwaniki, <i>et al.</i> , 2019)	1,7 kV	75 A	42 ns	560 ns
	AUIRGPS4070D0 (Rashitov <i>et al.</i> , 2019)	0,6 kV	240 A	110 ns	125 ns
	CM600HA-24A (Moonesan <i>et al.</i> , 2011)	1,2 kV	600 A	190 ns	350 ns
	FZ3600R17HP4B2BOSA2 (Modul, <i>et al.</i> , 2013)	1,7 kV	3,6 kA	290 ns	315 ns
MOSFET	C2M0045170D (El-Helw <i>et al.</i> , 2018)	1,7 kV	72 A	20 ns	18 ns
	STY145N65M5 (Abbatelli <i>et al.</i> , 2018)	0,65 kV	138 A	11 ns	82 ns
	CAS300M17BM2 (Rabkowski, <i>et al.</i> , 2015; Zhang <i>et al.</i> , 2017)	1,7 kV	325 A	72 ns	56 ns
	CAS325M12HM2 (McNutt <i>et al.</i> , 2018)	1,2 kV	444 A	35 ns	29 ns
Tiristoriai	DCR3980H85 (Dy nex, <i>et al.</i> , 2013)	8,5 kV	59,58 kA	dV/dt 2000 V/ μ s dI/dt 200 A/ μ s	
	TZ240N36KOFHPSA1 (Eigenschaften, <i>et al.</i> , 2010)	3,6 kV	700 A	dV/dt 100 V/ μ s dI/dt 100 A/ μ s	
	T9G0121203DH (Dunlea <i>et al.</i> , 2019)	1,2 kV	1,88 kA	dV/dt 2400 V/ μ s dI/dt 150 A/ μ s	
Kibirkštinis	IEBA (angl. intense electron-beam accelerator) (Cheng <i>et al.</i> , 2009)	360 kV	32 kA	60 ns	120 ns
	HVHCS (angl. arc-quenching chambers of high-voltage high-current switches) (Budin <i>et al.</i> , 2017)	1,5 kV	70 kA	400 μ s	600 μ s
Ignitronas	NL-1057 (Giesselmann, <i>et al.</i> , 1993)	25 kV	300 kA	4,5 ms	4 ms
	NL7703EHV(Kumar, <i>et al.</i> , 2018)	50 kV	100 kA	5 μ s	15 μ s

Tačiau, magnetinio lauko generavimui taip pat reikalingi impulsiniai induktoriai (ritės), o lauko homogeniškumas ir atitinkamai poveikio parametrai priklauso nuo ritės geometrijos. Įvertinant, kad biologiniams eksperimentams reikalingas iki kelių ml tūris, geriausia naudoti solenoido tipo daugiasluoksnes rites

(Lucinskis *et al.*, 2014). Tokių ričių (1.2 pav.) sukuriamas magnetinis laukas priklauso nuo ritės apvijų, sluoksnių skaičiaus ir apvijos dydžio (J. Novickij *et al.*, 2004).

Komutuoiant kilo amperų eilės srovės impulsus per tokio tipo induktorių, dėl Lorencio jėgos, atsiranda deformacijos tarp apvijų (Bartkevičius & Novickij, 2008). Todėl siekiant sutvirtinti apvijas, visas korpusas patalpinamas į metalinį šarvą. Apvijų izoliavimui naudojamos kompozitinės medžiagos, pavyzdžiui stiklo-epoksido pluošto kompozitinė medžiaga, o apvijų sutvirtinimui Zylon, Kapton, S2 stiklo pluoštas (Bartkevičius & Novickij, 2008; Ka, *et al.*, 2009).

1.2 pav. Daugiasluoksnis induktorius

Fig. 1.2. Multilayered inductor

Vienas iš pagrindinių neigiamų faktorių, komutuoiant kilo amperų eilės srovės yra Džaulio šiluma atsirandanti apvijos ir galinti paveikti biologinius mėginius. (V. Novickij, Grainys, Švediene, *et al.*, 2014). Dėl šios priežasties šilimas magnetoporacijos eksperimentuose privalo būti ribojamas, kuriant aktyvias aušinimo sistemas ir/ar didelio tūrio induktorių, užtikrinant efektyvią/pasyvią oro konvekciją ir/arba didelį šiluminių mainų inertiškumą. Bet kuriuo atveju, biologiniams eksperimentams bandinio temperatūra privalo būti apribota fiziologinių temperatūrų ruože (iki $37\text{ }^{\circ}\text{C}$) viso impulsinio poveikio metu.

Galiausiai impulsinių induktorių struktūra apriboja ir įtakoja ne tik patį bandinį, bet ir kuriamo magnetinio lauko parametrus. Priklausomai nuo induktyvumo keičiasi visos impulsinės grandinės apkrova, o dominuojant reaktyviajai komponentei gali atsirasti nevaldomi pereinamieji procesai (V. Novickij *et al.*, 2015). O esant, dideliems svyravimas atsiranda didelė tikimybė sugadinti puslaidininkinį raktą, o magnetoporacijos kontekste tampa sudėtinga interpretuoti poveikio priklausomybes nuo impulso parametrų. Norint, slopinti parazitinio ir apkrovos ritės induktyvumą įtaką didelės galios grandinėse, naudojamos pereinamųjų procesų kompensavimo grandinės (angl. *snubber circuits*) (Staigvila, *et al.*, 2019).

Pereinamųjų procesų kompensavimas priklauso nuo sukauptos energijos dydžio apkrovoje ir rakto greitaveikos, kurios pagalba komutuojama energija (Delshad *et al.*, 2017). Didelės galios impulsų generatoriuose dominuoja dviejų tipų grandinės: 1) kirtiklio grandinės lygiagrečiai apkrovai ir 2) RC, RCL, RCD grandinės lygiagrečiai raktui (Staigvila, *et al.*, 2018).

Kirtiklio (angl. crowbar) grandinės naudojamos impulsų fronto kritimo laiko formavimo tikslais ir apriboti raktų viršįtampius dėl atgalinių srovių (Pawar & Patil, 2016; Yang *et al.*, 2016). Paprasčiausia pasyvinė kirtiklio grandinė (1.3 pav.) sudaryta iš didelės galios diodo ir nuosekliai sujungtos varžos, kurie yra jungiami lygiagrečiai apkrovai (Tang *et al.*, 2018). Induktyviojoje didelės galios grandinėje impulso metu sukuriamą atvirkštinę įtampą (Dong *et al.*, 2016), dėl ko gali būti neigiamai perkraunamas kondensatorius ir/ar susidarantys viršįtampiai ant puslaidininkinio rakto.

1.3 pav. Kirtiklio grandinė

Fig. 1.3. Crowbar circuit

Kirtiklio grandinė sukuria atskirą kontūrą, kuris išspinduliuoja induktyvumo sukauptą energiją. Atitinkamai sumažėja pereinamųjų procesų įtaka (Arias & Nunes, 2017; Jayanthi & Devaraj, 2019; Rihan, 2018; Wang *et al.*, 2019).

Papildomai rakto apsaugai gali būti naudojamos RC, RCD ar RCL grandinės, kurios pavyzdys pavaizduotas 1.4 paveiksle.

1.4 pav. Apsauginė pereinamųjų procesų kompensavimo grandinė
Fig. 1.4. Protectional transient process compensation circuit

Tokio tipo grandinės yra ypatingai paplitusios, kadangi leidžia valdyti impulsų dI/dt ir dV/dt (F. Liu *et al.*, 2017; Yatsugi *et al.*, 2018). Išskirtiniais atvejais, gali būti naudojama modifikuota su papildomu induktyvumu (RCL), padidinant apsaugos grandinės efektyvumą ribojant srovę (Merz & Grimes, 2012).

1.4. Esamos magnetinio lauko generatorių technologijos

Šiame poskyryje apžvelgiami paskutinių metu impulsinių elektromagnetinių laukų generatorių pavyzdžiai, kurie yra taikomi eksperimentuose su biologiniais objektais.

Dauguma darbų naudoja dvipolių impulsų sistemas taikomiesiems tyrimams elektromagnetiniuose laukuose, tuo tarpu vienas iš populiarių būdų generuoti dvipolius impulsus yra H-topologija, kuri taikoma ir impulsinių magnetinių sistemų srityje (Elserougi *et al.*, 2016). Xiong *et al.* 2018 metais pasiūlė magnetinio lauko generatorių, kurį sudaro $VT_1, \dots, VT_8$ puslaidininkiniai MOSFET raktai, valdomi mikrovaldikliu naudojant impulso pločio moduliaciją PWM (angl. *pulsed width modulation*) pateikta 1.5 paveiksle. Kai VT_5 ir VT_6 raktai atidaryti, tuomet sudaromas RLC grandinės kontūras, kuris sudarytas iš energijos kaupimo kondensatoriaus C_1 , ritės L_1 ir šunto varžos R_2 . Kai kondensatorius yra nepakankamai įkrautas, energija iš ritės L_1 kaupiama kondensatoriuje C_1 . Tokiu būdu energija gali būti naudojama pakartotinai.

1.5 pav. H topologijos magnetinio lauko generatoriaus schema
(Xiong *et al.*, 2018)

Fig. 1.5. Circuit of H topology magnetic field generator
(Xiong *et al.*, 2018)

Kai raktai VT₁, VT₆, ir VT₇ yra atidaryti, srovė teka per RLC grandinę. Tuo pačiu metu, kondensatorius C₁ yra įkraunamas. Įtampai kondensatoriuje pasiekus maksimalią reikšmę srovė ritėje nukrenta iki 0 A, o energija sukaupta kondensatoriuje C₁ gali būti panaudota dar kartą.

Kai raktai VT₂, VT₆, ir VT₇ yra atidaryti, susidaro kontūras tarp įtampos šaltinio ir kondensatoriaus. Energija kaupiama kondensatoriuje C₁ ribojant srovę per R₁ varžą. Tuo tarpu, kai raktai VT₁, ir VT₂ yra uždaryti, o raktai VT₅, VT₆, atidaryti, sudaromas RLC kontūras ir sukaupta energija kondensatoriuje C₁ iškraunama ritėje L₁. Tokio tipo generatorius gali sukurti 130 A srovės ir 70 mT magnetinį lauką (Xiong *et al.*, 2018).

Matoma, kad nors pasiūlytas generatorius turi pakankamą lankstumą reguliuojant impulsų trukmę, tačiau dėl ribotos galios jis negali būti naudojamas magnetoporacijos srityje ir yra apribotas tiriant silpnų elektromagnetinių laukų poveikį biologiniams objektams. Tokio tipo generatoriai dažnai yra pritaikomi nervų stimuliacijai, pavyzdžiui, transkranijinei magnetinei stimuliacijai TMS (angl. *transcranial magnetic stimulation*).

Impulsinio magnetinio lauko generatoriaus pavyzdys, kuris yra skirtas transkranijinei magnetinei stimuliacijai yra pavaizduotas 1.6 paveiksle.

1.6 pav. Magnetinio lauko generatoriaus schema transkranijinei magnetinei stimuliacijai (Bouda *et al.*, 2014)

Fig. 1.6. Magnetic field generator circuit for transcranial magnetic stimulation (Bouda *et al.*, 2014)

Dažniausiai šioje srityje naudojamos vienfazės ir dvifazės signalų formos. Dvifazį impulsą galima sukurti keliais būdais: kaip ir buvo minėta anksčiau, naudojant pilną H-tiltelio ir modifikuoto H-tiltelio metodus. Šiuo atveju naudojami du MOSFET raktai su atskirais valdikliais. Sistema gali būti padalinta į keletą posistemių: galios šaltinis, energijos kaupiklis, užtūros valdymo grandinė ir apkrova. Galios šaltinio pagalba kondensatorius C_1 yra įkraunamas teigiama įtampa, o kondensatorius C_2 įkraunamas neigiama įtampa. Per TMS impulsą apkrovos ritė L yra prijungta prie vieno iš dviejų energijos kaupiklių C_1 ir C_2 atitinkamai naudojant MOSFET raktus. Prietaisą galima valdyti išjungiant ir įjungiant VT_1 ir VT_2 raktus. Magnetinis laukas sukuriamas ritėje yra proporcingas srovei tekančiai per ritę L .

Bouda *et al.* 2014 pasiūlytoje sistemoje C_1 ir C_2 yra įkraunami galios šaltinio per D_1 ir D_2 lyginimo grandinę sujungta su $115 V_{ac}$ maitinimo šaltiniu. Dėl žemimo problemų nenaudojama pilno lyginimo tiltelio schema. Prietaisas suprojektuotas su dviem vienodais kondensatoriais $C_1=C_2=24600 \mu F$ ir $100 V$ įtampos naudojimo riba. Valdymo grandinėje naudojamas transformatorius (1:1) galvaniniam atšišimui. Mikrovaldiklis sugeneruoja stačiakampį impulsą pirminėje apvijoje, o antrinė apvija prijungta MOSFET raktams (VT_1 ir VT_2) valdyti.

Generatoriai skirti TMS nėra visiškai suderinami su magnetoporacija ir šiame etape netgi $>3 T$ TMS sistemos netinka indukuoti plazminės membranos padidintą pralaidumą *in vitro*, bet *in vivo* buvo gauti teigiami rezultatai (Brezar *et al.*, 2020; Kardos & Rabussay, 2012; Kranjc *et al.*, 2016). Manoma, kad poveikio nebūvimas *in vitro* yra įtakojamas nepakankamo tokių sistemų dB/dt .

Viena pirmųjų sistemų, kurios tinka *in vitro* magnetoporacijai pasiūlė Van Bree *et al.* 2013. Sistema sudaryta iš galios grandinės (maitinimo šaltinis, kondensatoriai, dielektrinio pramušimo rakto), kurie sudaro kontūrą su vienos apvijos kilpa (1.7 pav.).

1.7 pav. Principinė didelio dB/dt generatoriaus schema (Van Bree *et al.*, 2013)

Fig. 1.7. Principle circuit of high dB/dt generator (Van Bree *et al.*, 2013)

Srovė vienos vijos kilpoje sugeneruojama nuosekliai sujungta RLC grandine, kur kondensatorius C įkraunamas DC įtampa U_0 . Kilpoje indukuotas elektrinis laukas priklauso nuo impulso fronto laiko, srovės dydžio kilpoje, srovę ribojančios varžos $R = 50 \, \Omega$ ir vidinio grandinės induktyvumo L . Naudojant Kirchofo įtampos dėsnis RLC grandinėje, srovei $i(t)$ gali būti pritaikyti trys sprendimai: kai $R^2 < \frac{4L}{C}$ (angl. *under damped*), $R^2 > \frac{4L}{C}$ (angl. *over damped*), $R^2 = \frac{4L}{C}$ (angl. *critically damped*) (Elgenedy *et al.*, 2018). Daugiapakopis dielektrinio pramušimo raktas pasirinktas sumažinti rakto atsidarymo laiką. Grandinės vidinis induktyvumas yra laikomas mažas ir nesiekia 80 nH, o pati sistema suprojektuota taip, kad kondensatoriai yra kuo arčiau vienas kito.

Kilpa suprojektuota taip, kad galima būtų patalpinti ml eilės mėgintuvėlį su ląstelėmis. Didžiausia generatoriaus palaikoma srovė yra 1250 A, o impulso fronto laikas siekia tik 5 ns, todėl dI/dt yra $\sim 250 \, A/ns$. Pagal autorių skaičiavimus, tai atitinka didžiausią elektrinį lauką iki 10 kV/cm.

Kita grandinių topologija, kuri tinka stiprių magnetinių laukų generavimui yra modulinė ir dažnai taikoma įvairiose galios elektronikos srityse, t. y. Markso generatoriaus topologija.

Markso topologijos generatorius sudaromas iš vienetų pakopų. Pakopas sudaro kondensatoriai ir raktai (dažnai dielektrinio pramušimo). Įkrovimo būsenoje kondensatoriai yra įkraunami lygiagrečiai, o pasiekus įkrautą kritinę įtampą (kuri priklauso nuo tarp elektrodų esančio tarpo dydžio) įvyksta dielektrinis pramušimas dėl kurio kondensatoriai susijungia nuosekliai ir sukaupytą energiją iškrauna per apkrovą. Kadangi dielektrinio pramušimo raktai yra sunkiai valdomi ir turi ribotą veikimo ciklą, vis dažniau jie yra pakeičiami puslaidininkiniais. Tačiau, tokiu atveju atsiranda srovės ir įtampos apribojimai bei gedimo rizika dėl pereinamųjų procesų grandinėje. Puslaidininkinio Markso generatoriaus pavyzdys yra pateiktas 1.8 paveiksle. (Redondo *et al.*, 2018).

Valdymo signalai kiekvienam MOSFET raktui generuojami atskirai kiekvienai pakopai, synchronizuotas triggerio signalas siunčiamas iš impulsinio transformatoriaus. Šiame generatoriuje MOSFET raktai pasirinkti dėl greitaveikos, pakankamos raktų darbinės įtampos 900 V, 65 mΩ vidinės varžos ir 90 A impulsinės srovės.

1.8 pav. Markso topologijos generatorius su puslaidininkiniais raktais
(Redondo *et al.*, 2018)

Fig. 1.8. Marx topology generator with semiconductor switches (Redondo *et al.*, 2018)

Norint padidinti generuojamo impulso srovę pakopose naudojami raktai yra sujungiami lygiagrečiai. Redondo *et al.* 2019 pasiūlytoje sistemoje pakopose sujungiami 24 raktai lygiagrečiai, o naudojant 50 pakopų galima generuoti impulsus

40 kV ir 3,2 kA srovės su kylančiu ir krentančiu impulso frontu, kurio trukmė yra tik 30 ns, o impulso plotis 3 μ s. Tačiau, pasiūlytoje sistemoje naudojama varžinė apkrova. Magnetoporacijos tyrimuose apkrovoje yra dominuojanti induktyvioji komponentė (naudojamas induktorius). Atitinkamai grandinėje būtų indukuojamos atgalinės srovės ir įtampos, o dešimčių raktų sinchronizavimas taptų pernelyg sudėtingas. Galiausiai impulso frontas taip pat ženkliai padidėtų dėl RLC parametrų galios grandinėje, bet tai nereiškia, kad Markso generatoriaus topologija negali būti pritaikyta sub-mikrosekundinio fronto magnetinių impulsų generavimui. Įvertinant, kad magnetoporacijos metodika tik pradeda vystytis, ypatingų reikalavimų impulsų parametrų lankstumui šiuo metu srityje nėra – svarbu indukuoti valdomą bekontaktį pernašą ląsteliniame lygyje. Dėl šios priežasties trumpų ir didelių dB/dt impulsų generavimui gali tikti Markso generatoriaus topologija su dielektrinio pramušimo raktais.

Įvertinant, kad srovė tokiaame generatoriuje siektų bent kelis kA, o impulsų skaičius vienam bandiniui gali būti šimtai, pagrindinis tokio generatoriaus trūkumas yra elektrodų korozija. Tokiu atveju arba nepavykus pasiekti reikiamų parametrų, galima būtų panaudoti Markso generatoriaus topologiją grįstą tiristoriniais raktais analogiškai grandinei, kuri buvo pasiūlyta Pécastaing *et al.*, 2006. Grandinė pavaizduota 1.9 paveiksle.

1.9 pav. Tiristorinis Markso topologijos generatorius su sinchronizuotu valdymu naudojant toroidinius transformatorius (Pécastaing *et al.*, 2006)

Fig. 1.9. Thyristor-based Marx topology generator with synchronous control using toroid transformers (Pécastaing *et al.*, 2006)

Šiame generatoriuje energijos komutavimui naudojami tiristoriai iškrauti 6,6 kV įtampą. Kadangi kiekvieno tiristoriaus srovė turi būti apribota iki 75 A, generatorius suprojektuotas taip, kad būtų sudarytas iš dviejų lygiagrečių Markso grandinės topologijų. Kiekvieną Markso generatorių sudaro dešimt pakopų, pakrautų iki 1 kV, su 22 nF kondensatoriais kiekvienoje pakopoje (suminė kondensatorių talpa – 4,4 nF). Kiekvienoje pakopoje naudojami mažos galios tiristoriai. Abiejų generatorių dvidešimt tiristorių įjungiami tuo pačiu metu, kad būtų pasiektas pastovus ir santykinai greitas impulso frontas (≈ 70 ns). Kiekvienas tiristorius sujungtas su feritine šerdimi. Antrinė grandinė sujungta tarp tiristoriaus užtūros ir katodu, sudaryta iš kelių apvijų, o pirminėje grandinėje tik viena apvija. Tokia sistema užtikrina galvaninę izoliaciją tarp kiekvieno tiristoriaus ir tarp valdymo ir aukštos įtampos grandinės.

Taip pat įjungus tiristorių, jo valdyti negalima. Norint išjungti, anodo – katodo srovės vertė turi būti mažesnė už ribinę tiristoriaus užsidarymo srovę. Nurodymame pavyzdyje papildomai suprojektuota išjungimo grandinė, kurią sudaro „ R_{lim} “ varža ir „apkrovos tiristorius“. Šis tiristorius pirmiausia įjungiamas valdymo grandine, kad būtų galima pakrauti kondensatorius. Kai kiekvieno kondensatoriaus įtampa yra artima įkrovimo įtampai, apkrovos tiristorius išsijungia. Tada valdymo grandine įjungiami Markso generatoriaus tiristoriai. Kai išėjimo srovės vertė nukrenta žemiau darbinės srovės vertės, 20 tiristorių išsijungia, nes Markso generatorius yra izoliuotas nuo nuolatinės srovės tiekimo kai išjungtas apkrovos tiristorius.

Jeigu nėra reikalavimo generuoti trumpus impulsus, magnetinio lauko generatoriaus grandinės labai supaprastėja ir gali pakakti netgi vieno modulinio rakto (Grainys *et al.*, 2015). Tokio generatoriaus principinė schema pavaizduota 1.10 paveiksle.

1.10 pav. 43 kJ magnetinio lauko generatoriaus principinė schema (Grainys *et al.*, 2015)

Fig. 1.10. Principle circuit of a 43 kJ magnetic field generator (Grainys *et al.*, 2015)

Šiame formuotų impulsų generatoriuje kA dydžio srovė yra komutuojama per impulsinį induktorių. Sistemoje panaudotas VS_1 tiristorinis raktas (4,2 kV ir didžiausia srovė 53 kA). Vietoj dešimčių lygiagrečiai sujungtų tranzistorių parinktas vienas didelės galios tiristorinis raktas, tačiau jis yra apribotas pagal dI/dt . Dėl šios priežasties minimalus impulso frontas siekia šimtus mikrosekundžių, tačiau pats iškrovimo principas tinka magnetoporacijos sistemoms. Ši sistema sudaryta iš aukštos įtampos maitinimo sistemos, kondensatorių bloko, matavimo grandinės, didelės galios rakto su valdymo grandine, kirtiklio grandinės ir apkrovos ritės. Visa sistema valdoma mikrovaldikliu. Aukštos įtampos įkrovimo grandinė valdoma $K_{1,1}$ rele. Avarinio iškrovimo metu naudojama $K_{1,2}$ relė, kuri iškrauna visą sukaupią energiją C_1 kondensatoriuje. R_1 yra srovę apribojanti varža. Matavimo grandinę sudaro voltmetras ir analoginis keitiklis, o R_4 ir R_2 yra įtampos dalikliai. Tiristorius VS_1 valdomas optiškai atskirtu valdikliu. Kirtiklio grandinė sudaryta iš R_3 ir D_1 , kurios paskirtis sumažinti atgalinę įtampą ir kondensatorių perkrovą (Gregory *et al.*, 1998). Šią sistemą reikia optimizuoti parenkant arba didelio dI/dt raktus (pavyzdžiui, impulsiniai GTO tiristoriai (angl. *gate turn-off thyristor*) arba kaip buvo minėta aukščiau, panaudojus IGBT (angl. *insulated-gate bipolar transistor*) ar MOSFET (angl. *metal-oxide-semiconductor field-effect transistor*) raktų masyvus. Būtent tokio tipo grandinė buvo pasiūlyta Novickij *et al.* 2014 (1.11 pav.).

Impulsinį magnetinio lauko generatorių sudaro keturi pagrindiniai moduliai: 1) kondensatoriaus įkrovimo modulis; 2) impulsą formuojantis modulis; 3) induktyvinė apkrova; ir 4) valdymo blokas. Įkrovimo modulį sudaro impulsinių kondensatorių blokas ($4 \times 40 \mu F$, 4,5 kV lygiagrečiai sujungti kondensatoriai, $C_B = 160 \mu F$) ir aukštos įtampos reguliuojamas 4 kV ir 7,5 mA maitinimo šaltinis, pagrįstas „Cockroft – Walton“ daugikliu. Impulsą formuojanti dalis yra sudaryta iš keturių didelės galios VT_{IGBT} tranzistorių, kirtiklio diodo ir pereinamųjų procesų kompensavimo grandinės. Keturi VT_{IGBT} (Semikron, $U_{CE} = 1700 V$, $I_{C_{peak}} = 1200 A$) raktai yra sujungti nuosekliai, kad būtų galima valdyti aukštą įtampą ($U_{max} = 6800 V$). Generatoriaus kondensatoriai įkraunami iki 4 kV. Apsauginę grandinę sudaro keturi greito veikimo diodai („ $I_{peak} = 3600 A$, $dI/dt = 6400 A/\mu s$, „Semikron“) ir suderintos 10Ω ($R_1 - R_4$) ir $0,15 \mu F$ ($C_1 - C_4$) RC grandinės, apsaugančios raktus nuo didelių dI/dt srovių ir viršįtampių impulsų iškrovimo metu. $10 M\Omega$ daliklio varžos ($R_{D1} - R_{D4}$) tolygiai paskirsto nuolatinę įtampą.

Kirtiklio grandinė (D_C , $R_5 = 2,5 \Omega$) naudojama atgalinės įtampos sumažinimui. Panaudoti keturi greiti ($< 100 ns$, Fairchild) RHRG75120 diodai, kurie sujungti nuosekliai. Generatoriaus apkrovą sudaro balastinė varža ($R_{balastas} = 4 \Omega$), apkrovos ritė su $R_6 = 20 M\Omega$ lygiagrečiai sujungta varža ir matavimo šunto varža

R_s yra $0,025 \, \Omega$. Balastinė varža naudojama maksimaliai generuojamai srovei apriboti. Be to, norint sugeneruoti stačiakampius srovės impulsus apkrovoje turi dominuoti varžinė apkrova.

1.11 pav. Magnetinių impulsų generatoriaus skirtas magnetoporacijos tyrimams. Optinių valdiklių schema supaprastinta (V. Novickij, Grainys, Novickij, *et al.*, 2014)

Fig. 1.11. Magnetic field generator circuit for magnetoporation experiments. Optical drivers circuit is simplified (V. Novickij, Grainys, Novickij, *et al.*, 2014)

Varža R_6 yra naudojama tam, kad būtų išvengta aukštos įtampos kritimo ant ritės nutrukus apvijai ar atjungus induktorių. Tiksliai $0,025 \Omega$ šunto varža naudojama impulsų formai išmatuoti ir įvertinti maksimalią ritėje tekančią srovę.

Iškrovimo grandinė naudojama staigiam energijos iškrovimui iš kondensatorių, kas užtikrina papildomą apsaugą (1.12 pav.). Ją sudaro trys tiristoriai ($VS_1 - VS_3$), sujungti nuosekliai ($IC = 8 \text{ A}$ ir $U_{CE} = 2000 \text{ V}$) ir iškrovos varža $R_{iškrovimo} = 1 \text{ k}\Omega$. Tiristoriai yra valdomi galvaniškai atskirtu impulsiniu transformatoriumi.

1.12 pav. Avarinio iškrovimo grandinė (V. Novickij, Grainys, Novickij, *et al.*, 2014)

Fig. 1.12. Emergency discharge circuit (V. Novickij, Grainys, Novickij, *et al.*, 2014)

Tiristorių veikimas yra sinchronizuotas. Toks įgyvendinimas leidžia iškrauti $160 \mu\text{F}$ kondensatorius C_B iki 50 V per 700 ms ; priešingu atveju sistema lėtai išsikrauna per varžas $R_{D5} - R_{D7}$ ir $R_{iškrovimo}$ (ekvivalentinė $3 \text{ M}\Omega$ varža), jei 4 kV aukštos įtampos šaltinis yra išjungtas. Be to, varžos $R_{D5} - R_{D7}$ naudojamos kaip dalikliai tolygiai paskirstyti nuolatinę įtampą tarp tiristorių. Pagrindinis šios magnetoporacijos sistemos trūkumas yra mažas induktoriaus tūris ir apribota maksimali impulsinė srovė.

Dar vienas generatorius skirtas magnetoporacijai išsaukti buvo pasiūlytas Novickij *et al.*, 2013. Impulsinį generatorių sudaro didelės galios greitai veikiantys tiristoriaus raktai, kondensatoriai, aukštos įtampos šaltinis, apkrovos ritė ir valdymo grandinė (1.13 pav.).

Trys didelės galios tiristoriai yra sujungti nuosekliai, kad būtų galima padidinti maksimalią įtampą, kuri yra $1,8 \text{ kV}$. Kondensatoriaus C_2 vertė siekia $0,3 \mu\text{F}$. Magnetinio lauko generatoriaus valdymas įgyvendintas naudojant mikrovaldiklį. Mikrovaldiklis reguliuoja impulsų darbo ciklą ir valdo MOSFET tranzistorių VT_1 ,

kuris reguliuoja išėjimo įtampą. Taip pat suprojektuota kirtiklio grandinė apsaugai nuo viršįtampių susidarymo. Taip pat tiristorių apsaugai naudojama RC apsauginė grandinė. Didžiausias impulsų pasikartojimo dažnis yra 40 Hz ir gali kisti intervale nuo 1–40 Hz, kai didžiausia srovė yra 0–550 A diapazone. Impulsai valdomi mikrovaldiklio per valdymo grandinę. Impulsų dažnis yra apribotas dėl šiluminio poveikio susidarancio ritėje, kuri naudojama kaip apkrova.

1.13 pav. Tiristorinis magnetinio lauko impulsų generatorius (V. Novickij *et al.*, 2013)

Fig. 1.13. Thyristor-based magnetic field pulse generator (V. Novickij *et al.*, 2013)

Analogiškai anksčiau apžvelgtai grandinei, pagrindinis šios magnetoporacijos sistemos trūkumas yra ribota komutuojama srovė ir induktoriaus tūris. Galiausiai, dėl riboto efektyvaus induktoriaus tūrio (ul eilės) ir pasikartojančių impulsų, Džaulio šilumos įtaka yra neišvengiama.

1.5. Pirmojo skyriaus išvados ir disertacijos uždavinių formulavimas

1. Stiprių magnetinių laukų taikymas biologinėms ląstelėms gali sukelti valdomą ląstelių plazminės membranos pralaidumą, tačiau reikia didelės galios sistemų, kurių generuojamų magnetinių lauko impulsų amplitudė viršija kelias Teslas.

2. Kuriant magnetoporacijai skirtus magnetinio lauko generatorius reikia pasiekti kompromisą tarp raktų greitaveikos, pereinamųjų procesų grandinių ir valdymo sudėtingumo bei maksimalių impulsų parametrų, užtikrinant kuo didesnę dB/dt .
3. Naujausios magnetoporacijos sistemos naudoja IGBT, MOSFET ir tiristorinių raktų masyvus didelės galios impulsų formavimui induktyviojoje apkrovoje, tačiau reikia kurti pereinamųjų procesų grandines, norint apsaugoti raktus nuo viršįtampių ir viršsrovių.

Disertacijoje suformuluoti uždaviniai:

1. Ištirti didelės galios impulsų technologijas ir pasiūlyti aukšto magnetinio lauko pokyčio per laiko vienetą magnetinių impulsų formavimo grandines, skirtas biologinių ląstelių membranų pralaidumo valdymui be tiesioginio kontakto su bandiniu.
2. Įvertinti impulsinių induktorių struktūrą, generuojamo indukuoto elektrinio lauko pasiskirstymus nuo srovės impulso formos, įšilimo efektus ir užtikrinti temperatūros stabilizavimą poveikio metu.
3. Įvertinti taikomuosius eksperimentinius sukurtų generatorių tyrimus, įrodant efektyvumą ir pritaikomumą ląstelių membranų pralaidumo valdymui.

Impulsinių didelės galios generatorių kūrimas ir tyrimas

Skyriuje nagrinėjamos trijų skirtingų grandinių topologijų generatorių struktūros, apžvelgiami prototipai ir pagrindiniai sukurtų impulsinių didelės galios generatorių parametrai. Skyriaus medžiagos pagrindu paskelbtos keturios publikacijos (V. Novickij *et al.*, 2020; V. Novickij, Grainys, *et al.*, 2017; V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017; Staigvila *et al.*, 2019).

2.1. Markso topologijos magnetinio lauko generatorius

Magnetoporacijos darbuose trūksta informacijos apie impulsinio magnetinio lauko amplitudę ar impulsų formą, nors tai turi įtakos sukeltos ląstelių pralaidumo valdymo efektyvumui. Todėl, naudojant tipinę Markso generatoriaus topologiją ir dielektrinio pramušimo raktus buvo sukurtas aukšto dB/dt generatorius. Šis generatorius sukurtas siekiant įvertinti tikslinius magnetinio lauko parametrus.

Šiame darbe Markso generatorius buvo sudarytas iš 6 pakopų (bendra įtampa 23 kV, pakopos įtampa 3,85 kV). Kiekvienoje pakopoje naudojama 0,15 μF kondensatoriai (Cornell Dubilier, SC, JAV). Generatoriaus apkrovai naudojamas in-

duktorius (ritė) (2 sluoksnių, 6 apvijų, kurių bendras induktyvumas $1,1 \mu\text{H}$). Induktorius buvo suprojektuotas taip, kad tilptų $0,2 \text{ ml}$ PGR (angl. *polymerase chain reaction*) sterilus mėgintuvėlis (Quali, SC, JAV) biologiniams mėginiams. Vieno impulso energija yra intervale nuo 6 iki 7 J. Pagrindinė generatoriaus schema ir gaunamas magnetinio lauko impulsas parodyti 2.1 paveiksle.

2.1 pav. Markso generatorius su induktyvine apkrova
(V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017)

Fig. 2.1. Marx generator with inductive load (V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017)

Pakopos varža R_{ST} yra $150 \text{ k}\Omega$, o įkrovimo srovę ribojanti varža $R_C = 20 \text{ k}\Omega$. Iškvos metu buvo gautas charakteringas LC apkrovai impulsas. Gautas impulsas yra gėstantis sinusas, kurio didžiausia amplitudė yra $3,3 \text{ T}$. Didžiausia komutuo-jama srovė buvo lygi 5 kA . Generatorius gali generuoti pasikartojančius impulsus, kurių pasikartojimo dažnis yra $0,25\text{--}0,5 \text{ Hz}$.

Įvertinant, kad indukuotas elektrinis laukas turi didelę reikšmę biologiniam poveikiui, pikinė indukuoto elektrinio lauko amplitudė siekė iki $0,19 \text{ kV/cm}$ dėl aukšto dB/dt (priekinis frontas 450 ns). Magnetinio lauko impulsas gautas, nau-do-jant sukalibruotą kilpinį magnetinio lauko jutiklį, o elektrinio lauko – naudojant „Comsol multiphysics“ (2.2 pav.).

2.2 pav. Markso generatoriaus impulsas (V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017)

Fig. 2.2. Pulse of the Marx generator (V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017)

Indukuotas elektrinis laukas dešimtis kartų viršija tipines elektrinio lauko amplitudes, kurios yra naudojamos magnetoporacijos darbuose. Bendra impulso trukmė yra apie 12 μ s, tačiau siekiant įvertinti poveikį ląstelėms taip pat turi būti įvertintas magnetinio ir elektrinio lauko homogeniškumas. Pasitelkta COMSOL Multiphysics (COMSOL, Stokholmas, Švedija) programinė įranga kurti imitacinius modelius. Induktoriaus modelis, magnetinio ir indukuoto elektrinio lauko erdviniai pasiskirstymai parodyti 2.3 paveiksle.

Kaip matyti 2.3 paveiksle, daugiasluoksnis solenoido tipo induktorius leidžia generuoti homogenišką (>90 %) magnetinį lauką ritės vidiniame tūryje, tačiau indukuotas elektrinis laukas yra nehomogeniškas ir tiesiškai mažėja link induktoriaus centro. Tai reiškia, kad ląstelės yra veikiamos nevienodai.

Taip pat Džaulio šiluma yra dažna problema biologiniuose tyrimuose kadangi gali įtakoti ląstelių atsaką į impulsinį poveikį. Dėl šių priežasčių mėginio įšilimas privalo būti apribotas fiziologinių temperatūrų ruože. Tikslui pasiekti induktoriuje buvo naudojama didelio skerspjūvio emaliuota varinė viela ($1,5 \times 2$ mm), kuri užtikrina mažesnę aktyviąją varžą ir didesnę šiluminės energijos išsisklaidymą, kas sumažina temperatūros pokytį iki $2 \pm 0,5$ °C po 50 impulsų (3,3 T, 0,25 Hz) sekos. Matavimams buvo naudojamas „Pt1000“ jutiklis (Innovative Sensor Technology, Wattwil, Šveicarija).

2.3 pav. Impulsinio magnetinio (viršuje) ir indukuoto elektrinio lauko (apačioje) erdvinis pasiskirstymas induktoriuje (V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017)

Fig. 2.3. Spatial distribution of magnetic (top) and electric (bottom) fields in the inductor (V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017)

Nustačius impulsinio poveikio parametrus, buvo atlikti taikomieji Markso topologija grįšto generatoriaus tyrimai su mielių ląstelėmis. Eksperimentai buvo atlikti naudojant tradicinę elektroporaciją ir magnetoporaciją atskirai bei kartu, siekiant nustatyti galimą sinergistinį poveikį. Elektroporacijai buvo naudojamas stačiakampių impulsų generatorius (V. Novickij, Grainys, Butkus, *et al.*, 2016) ir 1 mm tarpo kiuvetė (VWR International, Radnor, JAV). Tyrimui buvo pasirinktos *Candida albicans* (ATCC14053) mielės.

Poveikis buvo tiriamas, vertinant mielių gyvybingumą ir permeabilizaciją po magnetoporacijos ir elektroporacijos. Permeabilizacijos efektyvumas buvo vertinamas fluorescenciniais dažais PI – propidžio jodidas (angl. *propidium iodide*) naudojant tėkmės citometriją (vidutinės fluorescencijos lygis, fluorescuojančių ląstelių skaičius). Gyvybingumas buvo vertinamas sėjimais ant agarizuotos terpės. Kolonijų formavimo vienetų po poveikio skaičius CFU_T (angl. *colony-forming unit*) buvo lyginamas su kontrole CFU_C – bandiniais, kurie nebuvo veikiami impulsiniais laukais.

Elektroporacijai buvo naudojami pavieniai 100 μ s stačiakampiai impulsai, kurių amplitudė siekė 8, 10, 13 ir 17 kV/cm. Magnetoporacijai buvo naudojamos 3,3 T impulsų sekos po 10, 25 ir 50 impulsų.

Permeabilizacija buvo detektuojama kai stebimas fluorescencijos spektro poslinkis kuris yra pavaizduotas 2.4 paveiksle.

2.4 pav. Ląstelių fluorescencijos pavyzdžiai: a) fluorescencijos spektro poslinkis po elektroporacijos ir magnetoporacijos; b) kontrolė; c) bandinys po poveikio (V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017)

Fig. 2.5. Examples of cell fluorescence are: a) shift of the fluorescence spectrum after electroporation and magnetoporation; b) control; c) post-exposure sample (V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017)

Kiekybinis rezultatų įvertinimas pateikiamas 2.5 paveiksle. Matoma, kad mielės yra atsparios nurodytų parametrų magnetoporacijai ir skirtumai tarp kontrolės ir bandinių po poveikio impulsiniu magnetiniu lauku yra statistiškai nereikšmingi. Tačiau, veikiant mieles elektriniu lauku matomas ženklus permeabilizuotų ląstelių skaičiaus padidėjimas, didinant elektrinio lauko amplitudę. Kombinuojant magnetoporaciją ir elektroporaciją matomas statistiškai patikimas ($P < 0,05$) skirtumas, tačiau skirtingai negu tikėtasi, matomas permeabilizuotų ląstelių skaičiaus sumažėjimas. Eksperimentinių bandymų metu konstatuota, kad nurodytų parametrų generatorius gali būti naudojamas sukelti detektuojamus pokyčius mielių ląstelėse. Tačiau, mielių ląstelės dėl išorinės sienelės yra daug atsparesnės fiziniam poveikiui negu gyvūninės ląstelės, todėl sukurtas generatorius buvo taip pat pritaikytas su Sp2/0 vėžinėmis ląstelėmis (V. Novickij, Girkontaite, *et al.*, 2017). Nustatyta, kad nurodytų parametrų magnetinio lauko impulsai yra tinkami sukelti grįžtamąją magnetoporaciją gyvūninėse ląstelėse.

2.5 pav. *C. Albicans* permeabilizacija (kairėje) ir gyvybingumas (dešinėje) po impulsinio poveikio, kur žvaigždutė (*) rodo statistiškai reikšmingą ($P < 0,05$) skirtumą lyginant su elektroporacija (V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017)

Fig. 2.5. Permeabilization (left) and vability (right) of *C. albicans* after pulsed treatment, where asterisk (*) corresponds to statistical difference ($P < 0.05$) versus electroporation only treatment (V. Novickij, Lastauskiene, *et al.*, 2017)

Matoma, kad nors vidutinis gyvybingumo lygis krito kombinuojant elektroporaciją ir magnetoporaciją, tačiau daugelyje atvejų skirtumai nėra statistiškai patikimi.

Įvertinant visų biologinių eksperimentų rezultatus buvo patvirtinta, kad 3 T impulsinis magnetinis laukas yra pakankamas sukelti detektuojamus pokyčius biologiniuose objektuose, todėl nurodyta amplitudė buvo pasirinkta kaip minimali tolimesniems generatorių prototipams.

2.2. Magnetinio lauko generatorius su ignitrono raktu

Eksperimentiškai patvirtinta, kad 3 T submikrosekundinio fronto impulsų pakanka sukelti magnetoporaciją, tačiau tam reikalingos 4–5 kA srovės. Atsižvelgiant į aukštą dI/dt ir kV diapazono įtampą, buvo padaryta išvada, kad tokiems impulsams formuoti geriausiai tinka ignitronas.

Sukurtas impulsinis generatorius grįstas Ignitrono (NL-1038, National Electronics, Farmingdale, NY, USA) tipo raktu. Ignitronas tai nepuslaidininkinis elektronikos įtaisas, kurio viduje yra gyvsidabrio. Naudojant ignitroną kaip pagrindinį komutavimo įrenginį, prietaisas sudėtingėja, nes reikia sukurti 2 atskirus generatorius. Vienas generatorius skirtas energijos kondensatoriuose iškrovimui per induktyvią apkrovą, kitas – formuoti valdymo impulsui.

Generatoriaus supaprastinta struktūrinė schema pavaizduota 2.6 paveiksle. Valdymo impulso formavimas grįstas RC grandinės iškrovimu naudojant 2 tiristorinius raktus VS_{1-2} (IXYS MCO500-12IO1, USA). Energija, reikalinga sukurti impulsui, kaupiama C_3 0,33 μ F kondensatoriuje, tam naudojame nuolatinės aukštos įtūros 2 kV šaltinį.

2.6 pav. Principinė impulsinio magnetinio lauko generatoriaus su ignitrono tipo raktu schema (Staigvila *et al.*, 2019)

Fig. 2.6. Principle circuit of a magnetic field generator with ignitron switch (Staigvila *et al.*, 2019)

Valdymo generatoriuje naudojami 2 nuosekliai sujungti tiristoriniai raktai VS_{1-2} , lygiagrečiai prijungtos dvi R_B 50 M Ω („OHMITE“) varžos, tam, kad vienodai paskirstytų nuolatinę įtampą. Valdymo grandinės impulso srovei apriboti tiristoriai nuosekliai sujungti su R_3 10 Ω varža. Generatorius suprojektuotas taip, kad nuolatinė valdymo įtampa 1500 V yra palaikoma kondensatoriuje C_3 . Siekiant sumažinti induktyvumo įtaką valdymo impulsui panaudoti trys diodai atgalinės įtampos kirtiklio grandinei sudaryti (angl. crowbar) (D_{1-3}) 75 A 1200 V. Susidaręs kontūras tarp apkrovos ir diodų neleidžia atgalinei įtampai paveikti ignitrono atsidarymo.

Varža R_2 (10 k Ω) apsaugo valdymo grandinės aukštos įtampos šaltinį (Spellman 2 kV), kad energijos iškrovimo metu dėl kondensatoriaus C_3 nesusidarytų trumpas jungimas grandinėje.

Generatoriaus valdymui naudojamas mikrovaldiklis XMEGA128A3U (Atmega, San Jose, CA, USA), kuris galvaniskai atskirtas valdikliu ADUM4223ARWZ (Analog Devices, Norwood, MA, USA).

Pagrindinė generatoriaus maitinimo grandinė sudaryta iš nuolatinės aukštos įtampos maitinimo šaltinio 8 kV „Spellman“ bei kondensatorių $C_1 = 20$ μ F ir $C_{DIS} = 0,75$ μ F. Energija kaupiama kondensatoriuose C_1 , bet dėl to, kad reikalingi pasikartojantys impulsai, papildomai naudojami Cornell Dubilier kondensatoriai. Varža R_1 1880 Ω naudojama srovės apribojimui ir aukštos įtampos 8 kV šaltinio apsaugai nuo trumpo jungimo iškrovimo metu.

Apsauginė iškrovos grandinė suprojektuota tam, kad sukauptą energiją kondensatoriuose C_1 ir C_{DIS} būtų galima iškrauti varžoje R_D 470 Ω . Grandinė sudaryta iš keturių tiristorių VS_{3-7} , ir jiems lygiagrečių varžų R_B 10 M Ω . Apsauginė grandinė veikia nepriklausomai nuo visos likusios generatoriaus grandinės ir yra valdoma naudojant transformatorių ir fizinį mygtuką.

Prototipo valdymo ir maitinimo grandinės yra galvaniskai atskirtos. Generatoriuje kaip apkrova naudojama ritė L. Impulso formos matavimai atliekami ant nuoseklios varžos $R_{\text{šuntas}}$ 0,1 Ω . Generatoriaus eksperimentinis prototipas yra pavaizduotas 2.7 paveiksle.

Norint užtikrinti suprojektuotos schemos veikimą ir sumažinti pagrindinių raktų gedimo rizikas visos grandinės buvo ištirtos atskirai. Ignitroną valdo du tiristoriai ir mikrovaldiklis. Visos grandinės yra galvaniskai atskirtos naudojant izoliacinius transformatorius arba valdiklius. Atsižvelgiant į ignitrono aprašymą, valdymui reikia 5–10 μ s, 1,5–3 kV impulsų, srovei viršijant 100 A. Valdymo grandinių impulsas matuojamas tarp ignitrono triggerio ir katodo, gauti rezultatai pavaizduoti 2.9 paveiksle B.

2.7 pav. Generatoriaus prototipas
(Staigvila *et al.*, 2019)

Fig. 2.7. The generator prototype
(Staigvila *et al.*, 2019)

Matoma, kad mikrovaldiklis generuoja $20\ \mu\text{s}$ $3,3\ \text{V}$ impulsus į optinio atšimo valdiklius (2.6 pav.), kurie šį signalą galvaniškai atšia ir sustiprina iki $4\ \text{V}$ ir maksimalios $5\ \text{A}$ srovės, skirtos valdyti tiristorinius raktus. Paveiksle 2.9 A išmatuoti mikrovaldiklio impulsų matavimai išėjimo taškuose ir tiristorių U_{GT} tarp užtūros ir katodo. U_{GT} yra 66 % nuo maksimalios kritinės įtampos, kurią palaiko nurodytų modelių tiristoriai, kas pilnai atitinka projektavimo užduotį. Taip pat galima pastebėti, kad valdymo impulsų amplitudės nedaug skiriasi tarp dviejų tiristorių, nors valdymo grandinės ir pakrovimo įtampos yra identiškos. Šie skirtumai gali būti įtakojami gamyklinių parametrų tarp skirtingų raktų, tačiau skirtumai yra nedideli ir neįtakoja raktų atidarymo, kadangi U_{GT} ir paleidimo srovė daug kartų viršija minimalią ribinę srovę šių tiristorių valdymui.

Tiristoriai iškrauna visą energiją sukaupią talpoje C_3 . Įvertinant, kad ignitrono paleidimas yra griežtai apribotas $5\text{--}10\ \mu\text{s}$ trukmės diapazone, buvo parinktas $C_3 = 0,33\ \mu\text{F}$, kad bendra RC grandinės konstanta apribotų valdymo impulsų trukmę. 2.9 B paveiksle matoma, kad impulso trukmė neviršija $10\ \mu\text{s}$, kas atitinka darbo užduotį.

2.8 pav. Valdymo grandinių išėjimo impulsai: a) valdiklių impulsai;
b) ignitrono valdymo grandinės impulsas (Staigvila *et al.*, 2019)

Fig. 2.8. Control circuit output pulses: a) controllers pulses;
b) ignitron control circuit pulse (Staigvila *et al.*, 2019)

Šio modelio ignitronas yra skirtas komutuoti daugiau negu 20 kV įtampa ir srovės viršijančias 100 kA. Tačiau, jis naudojamas mažesnėms galioms komutuoti, todėl U_{IGN} siekiančios 62 % nuo maksimalios ribinės įtampos tikrai pakanka 8 kV, iki 10 kA impulsams komutuoti. Kaip matoma valdymo srovė yra 180 A, kas ženkliai viršija minimalią 100 A valdymo srovę.

Generatoriaus bandymui kaip apkrova buvo naudojama ritė (dviejų sluoksnių, šešių apvijų ir $L = 1,4 \mu$ H). Apvijoms buvo pritaikyta didelio skerspjūvio emaliuota varinė viela ($1,5 \times 2 \text{ mm}^2$). Palyginimui, kaip apkrova, taip pat buvo naudojama $2,4 \Omega$ varža. Atitinkamų impulsų formos yra pavaizduotos 2.9 paveiksle.

2.9 pav. Generatoriaus impulso formos naudojant induktyvią ir varžinę apkrovą (Staigvila *et al.*, 2019)

Fig. 2.9. The output waveforms of the generator with inductive and resistive loads (Staigvila *et al.*, 2019)

Matoma, kad generatorius gali formuoti didelės galios impulsus su sub-mikrosekundinės trukmės frontu (640 ns, kai $L = 1,4 \mu\text{H}$), kuris užtikrina aukštą dB/dt ir tokiu būdu leidžia indukuoti pakankamą elektrinį lauką magneto-poracijos tyrimams. Generuojamo srovės impulso aukščiausia vertė yra 4,9 kA, kai įkrovimo įtampa yra 6,5 kV, o didžiausias dI/dt – 6,6 kA/ μs . Bandymo metu taip pat buvo sugeneruotas ir RC impulso signalas įsitikinti, kad ignitronas formuoja mikrosekundinius impulsus nepriklausomai nuo apkrovos tipo.

Galiausiai buvo ištirta avarinio iškrovimo grandinė. Kondensatoriai buvo įkrauti ir iš karto iškrauti. Iškvos impulso forma išmatuota ant varžos R_D parodyta 2.10 paveiksle.

Kaip matyti 2.10 paveiksle, kondensatoriai visiškai išsikrauna mažiau nei per 1,5 ms. Grandinė nepriklauso nuo mikrovaldiklio, todėl veikia net esant mikrovaldiklio gedimui tokiu būdu apsaugant vartotoją.

Galiausiai buvo sumodeliuotas generuojamo magnetinio lauko erdvinis pasiskirstymas induktoriuje, naudojant COMSOL programinę įrangą. Rezultatai yra pateikiami 2.11 paveiksle.

Matoma, kad imitaciniame modelyje nustatytos reikšmės atitinka išmatuotą 3 T magnetinio lauko amplitudę ir disertacijoje iškeltą tikslą sistemos parametrams. Sistema gali generuoti pavienius ir pasikartojančius (1 Hz) impulsus su sub-mikrosekundiniu frontu.

2.10 pav. Avarinio iškrovimo grandinės impulso forma
(Staigvila *et al.*, 2019)

Fig. 2.10. The output pulse of the emergency discharge circuit
(Staigvila *et al.*, 2019)

Didelis dB/dt taip pat leidžia indukuoti iki 68 V/cm elektrinį lauką, kas dešimtis kartų viršija ribinius elektrinius laukus magnetoporacijos darbuose.

2.11 pav. Magnetinio lauko erdvinis pasiskirstymas induktoriaus viduje
(Staigvila *et al.*, 2019)

Fig. 2.11. Spatial distribution of magnetic field inside the inductor
(Staigvila *et al.*, 2019)

2.3. Impulsinis generatorius grįstas tiristoriniais raktais

Buvo sukurta trečioji impulsinė sistema skirta generuoti iki 10 T, > 10 V/cm pasikartojančius impulsus. Impulsų formavimui buvo naudojami du MCC255-16io1 (IXYS, JAV) tiristoriniai (SCR) moduliai VS_1 ir VS_2 . Struktūrinė generatoriaus schema pavaizduota 2.12 paveiksle.

2.12 pav. Tiristorinio impulsinio magnetinio lauko generatoriaus schema
(V. Novickij *et al.*, 2020)

Fig. 2.12. The scheme of the thyristor-based magnetic field generator
(V. Novickij *et al.*, 2020)

Dėl dI/dt apribojimo (šiuo atveju 500 A/ μ s), maksimali srovė grandinėje apribota iki $1,5$ kA. Tokiu būdu apsaugomi ne tik tiristoriniai raktai bet ir sumažinama Džaulio šilumos įtaka, naudojant daugiasluoksnius induktorių.

Maitinimo grandinė sudaryta iš dviejų kondensatorių baterijų analogiškai, kaip ignitronu grįstas generatorius, užtikrinant galimybę generuoti pasikartojančius impulsus. Pirmoji kondensatorių baterija susideda iš filtro tipo kondensatorių

(KNG1914, ISKRA, Slovėnija) ($3 \times 200 \mu\text{F}$ nuosekliai = $66,67 \mu\text{F}$), o antroji – aukšto dI/dt impulsinių kondensatorių (940C20W1K-F, Cornell Dobilier, JAV; $6 \times 1 \mu\text{F}$ nuosekliai ir lygiagrečiai = $1,5 \mu\text{F}$). Kondensatorių baterijų pakrovimo įtampa buvo apribota iki 3 kV (0–3 kV) naudojant UM4 * 4 (Spellman, JAV) įtampos keitiklį. Tarp atskirų kondensatorių baterijų naudojama $20 \text{ k}\Omega$ varža, kuri riboja impulsinių kondensatorių įkrovimo srovę. Šių parametrų grandinė palaiko pasikartojančių impulsų dažnį iki 5 Hz.

Kirtiklio (angl. *crowbar*) grandinė (D_{1-3} , RC) buvo naudojama kondensatorių perkrovai ir atgalinės įtampos ribojimui. Pagrindiniai generatoriaus raktai (tiristoriai) buvo sujungti nuosekliai, siekiant padidinti maksimalią komutuojamą įtampą iki 3,2 kV. Kaip apkrova, šiame generatoriuje gali būti naudojamas bet kokio tipo induktorius, kurio rekomenduojama induktyvumo vertė yra $<10 \mu\text{H}$, kas užtikrintų $>1 \text{ kA}$ srovę ir pakankamus kilimo/kritimo frontus magnetoporacijai užtikrinti. Generatoriaus prototipas pavaizduota 2.13 paveiksle.

2.13 pav. Sukurto generatoriaus: a) elektronikos komponentai; b) korpuse; (V. Novickij *et al.*, 2020)

Fig. 2.13. Developed generator: a) The electronic components; b) the housing (V. Novickij *et al.*, 2020)

Taip pat kaip ir ignitrono generatoriuje buvo įdiegta avarinio iškrovimo grandinė (VS_3 – VS_7). Ją įjungia galvaniškai atskirtas trigeris (T_D), kuris valdomas mygtuku atskirai nuo pagrindinio mikrovaldiklio (XMEGA128, Atmel, JAV). Apkrovai buvo panaudoti trys skirtingi induktoriai (11,8–14 μH), keičiant efektyvų tūrį ir apvijų skaičių. Buvo sukurtos tokios ritės: A ritė: ($6L \times 8W$, viela: 0,5 mm, $r = 2$ mm); B ritė: ($6L \times 8W$, viela: 0,8 mm, $r = 2$ mm); C ritė: ($6L \times 8W$, viela: 0,8 mm, $r = 3$ mm), kur L ir W atitinkamai yra sluoksniai ir apvijos. Vidinių ričių minimalus skersmuo buvo pritaikytas taip, kad atitiktų standartinio 0,2 ml sterilaus PGR mėgintuvėlio skersmenį (ABgene, ThermoFisher Scientific, JAV).

Induktoriai ir magnetinio lauko impulsų formos parodytos 2.14 paveiksle.

2.14 pav. Magnetinio lauko priklausomybės sąryšis: a) sukurtų induktorių; b) magnetinio lauko impulsų formos (Staigvila *et al.*, 2019)

Fig. 2.14. Magnetic field dependence relationship: a) created inductors; b) pulse shapes of magnetic fields (Staigvila *et al.*, 2019)

Magnetinis laukas buvo išmatuotas sukalibruotu kilpiniu jutikliu (VGTU, Vilnius, Lietuva). Srovių stiprio vertės buvo nustatytos naudojant šuntą $R_{\text{šuntas}}$ nuosekliai sujungtą su apkrovos rite (žr. 2.12 pav.). Kadangi gaunami ričių induktyvumai yra panašūs, srovės taip pat yra panašios (0,92–1 kA), tačiau ričių fizikiniai matmenys skiriasi, todėl magnetinio lauko impulsų amplitudės taip pat skiriasi. 2.14 paveiksle matoma, kad didžiausią magnetinio lauko vertę (6,7 T, 3 kV įkrovimo įtampa) pasiekama naudojant A ritę (mažiausias efektyvus tūris).

Norint įvertinti Džaulio išilimą buvo naudojama šviesolaidinė temperatūros jutiklių sistema (opSens, Québec, Kanada), kurią sudarė „ProSens“ signalų apdorojimo blokas ir temperatūros jutiklis OTG-M170. Jutiklis buvo įdėtas į PGR mėgintuvėlį, užpildytą ląstelių terpe, ir buvo sugeneruota 100 impulsų (1 Hz) su maksimalia amplitude (6,7 T). Papildomam aušinimui buvo naudojamas ledas. Rezultatai pateikiami 2.15 paveiksle.

2.15 pav. Temperatūros pokyčiai ritėse: a) skirtingų struktūrų ritėse po 100 impulsų, be aušinimo; b) po 300 impulsų naudojant ritę A su aušinimu (V. Novickij *et al.*, 2020)
Fig. 2.15. Temperature changes in coils: a) in coils of different structures at 100 pulses, without cooling; b) 300 pulses using coil A with cooling (V. Novickij *et al.*, 2020)

Matoma, kad nenaudojant papildomo aušinimo bandinys įkaista greitai, viršijant fiziologines temperatūras, todėl nurodytų parametrų induktoriai negali būti naudojami magnetoporacijos tyrimuose be aušinimo. Panaudojus ledą visų trijų ričių išilimas yra sėkmingai apribotas, tačiau įvertinant, kad ritė A užtikrina didžiausią dB/dt todėl ir buvo pasirinkta tolimesniems tyrimams.

Generuojant ilgesnes sekas (pvz. 300 impulsų) temperatūra yra taip pat sėkmingai apribota ± 5 °C ruože, kas atitinka darbo tikslą. Aušinimo efektyvumui

turi įtakos ledo padėties pakitimas kai pradeda tirpti ledas, tačiau nukrypimas yra nežymus ± 3 °C.

Norint įvertinti erdvinį magnetinio ir elektrinio laukų pasiskirstymą buvo sudarytas COMSOL modelis. Rezultatai pateikiami 2.16 paveiksle.

2.16 pav. Erdviniai pasiskirstymai: a) magnetinio lauko; b) elektrinio lauko
(V. Novickij *et al.*, 2020)

Fig. 2.16. Spatial distributions: a) magnetic field; b) electric field
(V. Novickij *et al.*, 2020)

Matoma, kad imitacinio modelio rezultatai atitinka išmatuotą magnetinio lauko amplitudę, kur pasiskirstymas yra sąlyginai homogeniškas (>90 %). Didžiausia indukuoto elektrinio lauko amplitudė viršija 15 V/cm, tačiau pasiskirstymas yra nehomogeniškas, kas yra tipiška šios struktūros induktoriams.

2.4. Generatorių skirtų magnetoporacijai palyginimas

Magnetoporacijos sritis yra nauja ir sistemų pritaikytų magnetoporacijos tyrimams yra nedaug. Sistemos skirtos *in vitro* turi palaikyti dideles sroves ir aukštą dB/dt , kas yra sudėtinga su indukcinė apkrova. Šiame disertaciniame darbe buvo sukurti trys magnetinio lauko generatoriai skirti magnetoporacijos tyrimams. Norint preciziškiau įvertinti sukurtų sistemų naujumą ir aktualumą, sukurti prototipai turi būti palyginti su prieš tai sukurtais *in vitro* sistemomis (V. Novickij, Grainys, *et al.*, 2017; V. Novickij, Grainys, Novickij, *et al.*, 2014; V. Novickij *et al.*, 2013; Van Bree *et al.*, 2013; Xiong *et al.*, 2018).

Matoma, kad pagrindinis pirmųjų sistemų trūkumas (Novickij *et al.*) yra mažas kelių μ l efektyvus bandinio tūris, kuris apriboja biologinių eksperimentų vyk-

dymą, tačiau toks tūris leido užtikrinti stiprių magnetinių laukų generavimą neviršijant 1 kA srovės. Šios sistemos tinka tik pirminiams magnetoporacijos tyrimams, tačiau dėl Džaulio šilumos ir mažo efektyvaus tūrio pritaikymas yra ribotas. Labai išsiskiria Van bree *et al.* sistema, kuri skirta ypatingai aukšto dI/dt impulsų formavimui. Ši sistema gali generuoti iki 10 kV/cm nehomogeniškus elektrinius laukus bandinyje bei pasižymi dideliu (2 ml) bandinio tūriu.

2.1 lentelė. *In vitro* magnetoporacijai skirtų magnetinio lauko generatorių palyginimas

Table 2.1. Comparison of *in vitro* magnetic field generators for magnetoporation

Generatorius	B , T	Bandinio tūris, μ l	Impulso trukmė, μ s	Impulso frontas, μ s	Dažnis, Hz	Srovės stipris, kA
(V Novickij <i>et al.</i> , 2013)	<5	2,4	~3	~1	Iki 40	0,55
(Van Bree <i>et al.</i> , 2013)	Nėra duomenų	2000	~0,005	~0,006	Iki 50	1,25
(V. Novickij, Grainys, Novickij, <i>et al.</i> , 2014)	<10	20	5–20	~2,5	Iki 200	1
(V. Novickij, Grainys, <i>et al.</i> , 2017)	<5,5	10	10–100	~2	Iki 100	0,9
(Xiong <i>et al.</i> , 2018)	0,007	Nėra duomenų	ms ruožo	~50	<100	0,13
Šiame darbe sukurti generatoriai						
Markso grandinė	3,3	100	~10	0,450	Iki 0,5	5,5
Ignitrono grandinė	3	100	~17	0,640	Iki 5	6,5
Tiristorinė grandinė	<10	50	10	~2,5	Iki 5	1,5

Tačiau, ši sistema yra bekontaktės elektroporacijos sistemos prototipas, kadangi magnetinio lauko komponentė yra neženkli, o indukuotas elektrinis laukas viršija ribinio elektrinio lauko amplitudes, kurios yra reikalingos klasikinei elektroporacijai. Magnetoporacijos tyrimuose abi poveikio komponentės (magnetinis ir elektrinis laukai) yra svarbios eksperimentiniam rezultatui. Dėl šios priežasties šiame darbe iš pradžių buvo sukurtas prototipas grįstas Markso grandine, kuris iš parametrinės pusės yra panašus lyginant su Van bree *et al.* sistema.

Įvertinant, kad Markso grandinė su dielektrinio pramušimo raktais (kibirkštikliai) turi labai ribotas impulsų parametrų valdymo galimybes, šiame disertaciniame darbe buvo pasiūlytas magnetinio lauko generatorius su ignitrono raktu. Šis generatorius pasižymi pakankamu (iki 100 μ l) efektyviu tūriu, palaiko aukštą dB/dt impulsų formavimą (ko reikia magnetoporacijai) bei Džaulio šilumos įtaka yra sėkmingai valdoma srovės viršijant kelis kA. Taip pat, šiame darbe buvo sukurta tiristorinė sistema, kuri yra tiesioginis (V. Novickij *et al.*, 2013) sistemos patobulinimas – ženkliai padidintas bandinio tūris (nuo 2,4 iki 50 μ l) bei trigubai padidinta komutuojama srovė. Impulsų pasikartojimo dažnis naujuose sistemose buvo apribotas iki 5 Hz, kadangi nebuvo pastebėta ženklios šio parametro įtakos magnetoporacijos procesui. Taip pat didesnis dažnis apsunkina temperatūros valdymą bandinyje.

2.5. Antrojo skyriaus išvados

1. Sub-mikrosekundinio fronto (450 ns), 3,3 T impulsiniai magnetiniai laukai sukelia detektuojamus biologinius pokyčius mielių ląstelėse.
2. Markso grandinės topologija su dielektrinio pramušimo raktais gali būti pakeista ignitronu sub-mikrosekundinio fronto impulsų generavimui, užtikrinant geresnį impulsų sekos parametrų valdymą.
3. Tiristoriniai puslaidininkiniai raktai tinka stiprių magnetinių laukų generatorių kūrimui ir magnetoporacijos tyrimams, tačiau dėl srovės pokyčio per laiko vienetą (dI/dt) ir Džaulio šilumos išsiskirančios induktoriuje, komutuojama srovė yra apribota kelių kA ruože, todėl reikia daugiau apvijų induktoriuose norint užtikrinti pakankamą magnetinio lauko amplitudę.
4. Daugiasluoksniai induktoriai tinka magnetoporacijos tyrimams, užtikrinant bent 3 T magnetinio srauto tankio amplitudę ir neviršijant 5 °C temperatūros pokyčių, tačiau indukuoto elektrinio lauko nehomogeniškumas yra pagrindinis tokių induktorių struktūros apribojimas.

Sukurtų impulsinių induktorių analizė ir taikomieji magnetoporacijos tyrimai

Šiame skyriuje nagrinėjama induktorių struktūros ir generuojamo magnetinio ir elektrinio lauko priklausomybės nuo apvijų skaičiaus, ritės tūrio, komutuojamo impulso formos. Analizei naudojamas COMSOL Multiphysics programų paketas. Taip pat skyriuje pateikiami eksperimentinių taikomųjų magnetoporacijos tyrimų rezultatai. Skyriaus medžiagos pagrindu paskelbtos dvi publikacijos (V. Novickij *et al.*, 2020; V. Novickij, Grainys, *et al.*, 2017).

3.1. Impulsinių induktorių parametrinė analizė

Magnetoporacijos poveikiui sukelti reikalingas tinkamas generatorius, galintis suformuoti didelius dB/dt impulsus. Nepriklausomai nuo impulsų formavimo grandinės, generatoriaus apkrova yra induktorius, tačiau induktoriaus struktūra gali skirtis, t. y. apvijų skaičius ir skerspjūvis, vidinis ir išorinis skersmuo bei ritės aukštis gali būti keičiami. Įvertinant, paskelbtus mokslinius darbus šioje srityje ir išnagrinėjus naudotų induktorių struktūras, šiame skyriuje atliekama indukuoto transmembraninio potencialo analizė ir jo priklausomybė nuo impulso formos. Generuojamų magnetinio ir elektrinio laukų parametrų analizei naudojama

COMSOL Multiphysics programinė įranga. Modeliams sudaryti pasitelktas simetrinis ašies atžvilgiu 2D modelis, o pats induktorius imituojamas kaip varinis įvairaus skerspjūvio laidas suvyniotas sluoksniais analogiškai modeliams, kurie yra pateikiami antrame skyriuje. Magnetoporacijos poveikiui charakterizuoti reikia įvertinti generuojamų elektrinio ir magnetinio lauko amplitudes. Daugiasluoksnio induktoriaus struktūros pavyzdys ir naudojamo modelio tipinis rezultatas ($I = 940$ A) yra pateikiami 3.1 paveiksle.

3.1 pav. Impulsinio magnetinio lauko (viršuje) ir indukuoto elektrinio lauko (apačioje) pasiskirstymas daugiasluoksniame induktoriuje (V. Novickij, Grainys, *et al.*, 2017)

Fig. 3.1. The spatial distribution of magnetic field (top) and electric field (bottom) inside a multilayered inductor (V. Novickij, Grainys, *et al.*, 2017)

Paveiksle 3.1 paveiksle pateikiami mažo tūrio induktoriaus ($r = 1,2$ mm) tipiniai elektrinio ir magnetinio lauko pasiskirstymai. Matoma, kad daugiasluoksnė struktūra leidžia generuoti homogenišką magnetinį lauką vidiniame induktoriaus tūryje, tačiau elektrinis laukas tiesiškai mažėja, tolstant nuo apvijų. Norint užtikrinti aukštą elektrinio lauko amplitudę ląstelių suspensijoje, panaudojant solenoidus, galima panaudoti fizinius ribotuvus kiuvetės viduje, fiziškai apribojant ląstelių erdvėje šalia apvijų. Tačiau, šiuo atveju reikia didinti induktorių efektyvų tūrį, kas įtakos ženklų energijos poreikio padidėjimą, norint pasiekti tas pačias amplitudes.

Taip pat technologiniai apribojimai neapsiriboja lauko homogeniškumu. Indukuoto elektrinio lauko amplitudė yra tiesiškai priklausoma nuo magnetinio lauko impulso dB/dt . Didinant induktoriaus apvijų skaičių bei keičiant formą, kartu keičiasi ir apkrovos induktyvumas, kas ženkliai įtakoja generuojamų impulsų frontus. Tačiau, norint įvertinti transmembraninio potencialo vertes ir tokiu būdu numatyti poveikį biologiniams objektams, buvo ištirtos antrame skyriuje naudotos ritės.

Tyrimui naudotos dvi ritės keičiant vidinį tūrį ir vielos storį. Ričių parametrai:

- Ritė A: $6L \times 8W$, viela $d = 0,5$ mm, ritės $r = 2$ mm;
- Ritė C: $6L \times 8W$, viela $d = 0,8$ mm, ritės $r = 3$ mm, kur: L – ritės sluoksniai, W – apvijų skaičius. Ritės struktūra COMSOL aplinkoje pavaizduota 3.2 paveiksle.

3.2 pav. Induktoriaus struktūra naudojama imitaciniame modelyje
Fig. 3.2. The structure of inductor in the model

Generuojamų laukų priklausomybei ištirti naudojami 3 skirtingų frontų srovės impulsai: 100 ns, 300 ns, 1000 ns, šiame etape apsiribojant vienodo dydžio srove $I_{\max} = 1000 \text{ A} \pm 30 \%$. Kadangi amplitudinis srovės dydis yra vienodas tarp ričių, pirmos ritės atveju numatomas iki 7 T magnetinis laukas, o antros ritės atveju tik apie 5 T dėl padidėjusio ritės tūrio ($r = 3$ mm).

Imituojamų magnetinių impulsų forma pavaizduota 3.3 paveiksle. Matoma, kad impulso forma atitinka antrame skyriuje empiriškai gautų impulsų formą, tačiau dirbtinai sumažinta impulso trukmė, siekiant nustatyti tolimesnį mokslinį pagrindumą mažinti impulsų trukmę ir frontą magnetoporacijos tyrimuose.

3.3 pav. Imituojamų magnetinio lauko impulsų forma
Fig. 3.3. The waveforms of modelled magnetic field pulses

Indukuoto elektrinio lauko pikinės vertės priklausomybė nuo impulso fronto ir srovės ritei A pavaizduota 3.4 paveiksle. Matoma, kad indukuoto elektrinio lauko amplitudę galima didinti didinant srovę ir mažinant impulso frontą.

3.4 pav. Indukuoto elektrinio lauko priklausomybė nuo priekinio fronto ir srovės dydžio ritėje A

Fig. 3.4. The dependence of induced electric field on the rise time and current amplitude in coil A

Analogiškas rezultatas gautas ritėje C. Rezultatai pateikiami 3.5 paveiksle.

3.5 pav. Indukuoto elektrinio lauko priklausomybė nuo priekinio fronto ir srovės dydžio ritėje C

Fig. 3.5. The dependence of induced electric field on the rise time and current amplitude in coil C

Kadangi ritė C yra didesnio tūrio, sukuriamas magnetinis ir atitinkamai indukuotas elektrinis laukas yra mažesni. Abejoms induktorių struktūroms naudojant „Comsol multiphysics“ buvo įvertinta pikinė indukuoto transmembraninio potencialo vertė. Rezultatai pateikiami lentelėje 3.1. Analizei buvo naudojamas Krasowska analitinis modelis (Krassowska & Filev, 2007).

3.1 lentelė. Transmembraninio potencialo priklausomybė nuo impulso fronto ir ritės
Table 3.1. The dependence of transmembrane potential on pulse rise time and coil

Impulso fronto trukmė	100 ns	300 ns	1000 ns
Ritė A	–0,25 V	–0,14 V	–0,055 V
Ritė C	–0,19 V	–0,11 V	–0,042 V

Matoma, kad sub-mikrosekundinio fronto impulsai leidžia indukuoti didesnę transmembraninį potencialą, kas pagal elektroporacijos teoriją didina porų susidarymą, tačiau paskutiniai tyrimai (V. Novickij *et al.*, 2020; V. Novickij *et al.*, 2018) rodo, kad magnetoporacijos metu reikia pasiekti tik ribinį (kelių mV eilės) transmembraninį potencialą, kuris yra ženkliai mažesnis už lentelėje 3.1 pateiktas vertes. Naudojant šiame disertaciniame darbe sukurtą Markso generatorių taip pat nustatyta, kad stiprių magnetinių laukų impulsų fronto sumažinimas nėra efektyvus būdas pasiekti geresnę permeabilizaciją (V. Novickij *et al.*, 2018). Tokius pačius arba net geresnius permeabilizacijos efektyvumus įmanoma pasiekti naudojant mikrosekundinius impulsus (V. Novickij *et al.*, 2020; V. Novickij, Dermol, *et al.*, 2017). Dėl šių priežasčių viena iš pirminių disertacijos hipotezių apie sub-mikrosekundinių impulsų aktualumą pasiteisino tik dalinai.

3.6 pav. Indukuoto elektrinio lauko impulso formos priklausomybė nuo induktoriaus
(V. Novickij *et al.*, 2020)

Fig. 3.6. The dependence of electric field pulse on inductor (V. Novickij *et al.*, 2020)

Įvertinant gaunamus rezultatus šio disertacinio darbo ribose nutarta apsiriboti trečiojo tiristorinio generatoriaus induktorių analize. Indukuoto elektrinio lauko impulso formos priklausomybė nuo induktoriaus pavaizduota 3.6 paveiksle.

Kadangi ritė A užtikrina didžiausią dB/dt indukuotas elektrinis laukas yra taip pat didžiausias. Siekiant įvertinti transmembraninį potencialą buvo naudojamas žinduolių ląstelės modelis grįstas poliarizacija. COMSOL aplinkoje buvo sudarytas 2D asimetrisinis modelis sudarytas iš laidžios sferos imituojančios citoplazmą ($0,5 \text{ S/m}$; $4 \text{ }\mu\text{m}$ spindulys) ir plono (5 nm) mažo laidumo ($5 \times 10^{-7} \text{ S/m}$) sluoksnio, kuris imituoja membraną.

Rezultatai yra pateikiami 3.7 paveiksle. Papildomai buvo ištirta ląstelės poliarizacijos priklausomybė nuo išorinės ląstelių terpės laidumo. Matoma, kad pikinė indukuotos įtampos vertė siekia 10 mV , o išorinės terpės laidumas neturi ženklios įtakos šiam procesui. Toks rezultatas gautas, kadangi naudojami ilgesni negu $1 \text{ }\mu\text{s}$ impulsai, kas viršija tipinės žinduolių ląstelės poliarizacijos konstantą.

Gauti rezultatai neprieštaruja rezultatams gautiems analitiškai skaičiuojant transmembraninį potencialą (Lucinskis *et al.*, 2014).

3.7 pav. Maksimalus transmembraninis potencialas impulso metu ritėje A

Fig. 3.7. The peak transmembrane potential durin the pulse in coil A

Tačiau, akivaizdžiai matoma, kad indukuotos įtampos vertė yra daug mažesnė negu ribinės vertės, kurios yra deklaruojamos klasikinėje elektroporacijoje. Dėl šios priežasties vieningos nuomonės apie magnetoporacijos mechanizmą šiuo metu nėra.

3.2. Taikomieji magnetoporacijos tyrimai

Taikomieji magnetoporacijos tyrimai buvo atlikti naudojant tiristorinį generatorių ir ritę A. Eksperimentui buvo naudojamos Kinijos žiurkėno kiaušidžių ląstelės (Europos autentiškų ląstelių kultūrų kolekcija ECACC, ląstelės CHO-K1, kat. Nr. 85051005, gautos tiesiogiai iš saugyklos), kurios buvo auginamos 25 cm² kultūrinėse kolbose (TPP, Šveicarija) HAM F-12 augimo terpėje (PAA, Austrija) 2–3 dienas inkubatoriuje (Kambič, Slovėnija), esant 37 °C temperatūrai ir 5 % CO₂. Auginimo terpė (naudojama atliekant visus eksperimentus) buvo papildyta 10 % serumo (Sigma Aldrich, Vokietija), L-glutamino (StemCell, Kanada) ir antibiotikų penicilino/streptomicino (PAA, Austrija) ir gentamicino (SigmaAldrichas, Vokietija). Eksperimentų dieną buvo paruošta ląstelių suspensija. Ląstelės buvo atskirtos 10×tripsino-EDTA (PAA, Austrija), praskiestos santykiu 1:9 Hanko bazinės druskos tirpale (StemCell, Kanada), ir tripsinizuotos. Ląstelės buvo perkeltos į 50 ml mėgintuvėlį (TPP, Šveicarija) ir centrifuguotos 5 minutes 180 g, 22 °C temperatūroje. Supernatantas buvo pašalintas, o ląstelės buvo pakartotinai suspenduotos augimo terpėje HAM F12, esant ląstelių tankiui 10⁷ ląstelės/ml. Permeabilizacijai detektuoti ląstelių suspensija buvo sumaišyta su propidžio jodidu, kurio galutinė koncentracija buvo 136 μM. 40 μl ląstelių ir dažo mišinio buvo perkelta į 0,2 ml PGR mėgintuvėlį ir apdorota stipriu impulsiniu magnetiniu lauku.

3.8 pav. CHO ląstelių magnetoporacija, čia CTRL – neveikta kontrolė; PEMF – ląstelės veiktos stipriu impulsiniu magnetiniu lauku;

* – statistiškai patikimi ($P < 0,05$) skirtumai (V. Novickij *et al.*, 2020)

Fig. 3.8. Magnetoporation of CHO cells, where CTRL – untreated control; PEMF – cells after magnetoporation; * – statistically significant differences ($P < 0.05$) (V. Novickij *et al.*, 2020)

Generatorius buvo išbandytas, naudojant maksimalią ritės A amplitudę (6,7 T, 17 V/cm), o 100, 200 ir 300 impulsų sekos buvo generuojamos naudojant 1 Hz pasikartojimo dažnį. Induktorius buvo pastoviai aušinamas ledu, tokiu būdu stabilizuojant temperatūrą.

Praėjus trims minutėms po paskutinio impulso, ląstelių suspensija buvo sumaišyta su PBS buferiu (10 mM KH_2PO_4 / K_2HPO_4) ir perkelta į 5 ml mėgintuvėlį (Sarsted, Vokietija) tolimesnei analizei naudojant tėkmės citometriją (Life Technologies, Attune NxT, JAV). Ląstelės buvo sužadintos lazeriu, esant 488 nm bangos ilgiui, ir skleidžiama fluorescencija buvo aptikta naudojant 574/26 nm juostos filtrą. Fluorescencija buvo nustatyta kaip vidutinė išmatuoto signalo (MFI) fluorescencijos vertė. Rezultatai yra apibendrinami 3.8 paveiksle.

Matoma, kad veikiant ląsteles stipriu magnetiniu lauku didėja ląstelės membranos pralaidumas fluorescenciniams dažams, kas parodo sėkmingą magnetoporaciją. Taip pat poveikis priklauso nuo impulsų skaičiaus.

Nustatyta, kad sukurtas generatorius, galintis komutuoti srovės iki 1,5 kA ir palaikantis induktyvias apkrovas $>5 \mu\text{H}$ gali būti sėkmingai taikytinas ląstelių permeabilizacijos eksperimentuose. Parodyta, kad 6,7 T, 17 V/cm mikrosekundinio diapazono impulsų pakanka magnetoporacijai sukelti *in vitro*. Nepaisant to, indukuoto transmembraninio potencialo amplitudė buvo vos 10 mV.

3.3. Trečiojo skyriaus išvados

1. Sub-mikrosekundinio fronto magnetinio lauko impulsai leidžia indukuoti didesnę transmembraninę potencialą ląstelėse, tačiau atsižvelgiant į magnetoporacijos tyrimų rezultatus, magnetinių impulsų fronto mažinimas nėra efektyvus būdas padidinti magnetoporacijos efektyvumą.
2. Daugiasluoksniai induktoriai tinka magnetoporacijai sukelti, tačiau indukuoto elektrinio lauko erdvinis pasiskirstymas yra nehomogeniškas ir įtakoja skirtingą transmembraninio potencialo indukciją ląstelėse.
3. Tiristoriniais raktais grįstas impulsų generatorius, naudojant ritę A kaip apkrovą, tinka magnetoporacijai indukuoti žinduolių ląstelėse.

Bendrosios išvados

1. Markso generatoriaus topologija tinka sub-mikrosekundinio fronto magnetinių impulsų generavimui ir yra taikytina magnetoporacijos srityje.
2. Sub-mikrosekundinio fronto magnetinių impulsų formavimo grandinė su ignitronu užtikrina impulsų sekos parametrų valdymą, lyginant su Markso topologijos generatoriumi.
3. Impulsų formavimo grandinė su ignitronu užtikrina pasikartojančių iki 5 kA impulsų formavimą su 650–700 ns frontu, naudojant apkrovas artimas trumpajam jungimui.
4. Daugiasluoksniai induktoriai užtikrina pakankamą magnetinio lauko amplitudę ir temperatūros pokyčių valdymą, tačiau indukuoto elektrinio lauko nehomogeniškumas yra pagrindinis šios tipinės induktorių struktūros apribojimas.
5. Pasiūlytas stiprių magnetinių laukų generatorius su tiristoriniais raktais tinka magnetoporacijai indukuoti žinduolių ląstelėse, ląstelių suspensijos temperatūros pokyčiams neviršijant 5 °C.

Literatūra ir šaltiniai

Abbatelli, L., Catalisano, G., & Stella, C. G. (2018). Sic and silicon mosfet solution for high frequency dc-ac converters. *PCIM Europe Conference Proceedings*, 225809, 817–820.

Achour, Y., & Starzy, J. (2017). *New Marx Generator Architecture With a Controllable Output Based on IGBTs*. 45(12), 3271–3278.

Achour, Y., Starzynski, J., & Lasica, A. (2018). New embedded nanosecond pulse generator based on spark gap and IGBT. *IEEE International Pulsed Power Conference, 2017-June*, 41–44. <https://doi.org/10.1109/PPC.2017.8291324>

Albuquerque, W. W. C., Costa, R. M. P. B., de Salazar e Fernandes, T., & Porto, A. L. F. (2016). Evidences of the static magnetic field influence on cellular systems. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 121(1), 16–28. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2016.03.003>

Amini, M., & Ghoranneviss, M. (2016). Effects of cold plasma treatment on antioxidants activity, phenolic contents and shelf life of fresh and dried walnut (*Juglans regia* L.) cultivars during storage. *LWT – Food Science and Technology*, 73, 178–184. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.06.014>

Arias, P. D. M. A., & Nunes, M. V. A. (2017). Analysis of the impact of the crowbar protection on short-circuit level and quality index. *Renewable Energy and Power Quality Journal*, 1(15), 813–818. <https://doi.org/10.24084/repqj15.473>

Bae, J., Huh, M., Ryu, B., Do, J., Jin, S., & Moon, M. (2011). Biomaterials The effect of static magnetic fields on the aggregation and cytotoxicity of magnetic nanoparticles. *Biomaterials*, 32(35), 9401–9414. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.08.075>

Bartkevi, S., & Novickij, J. (2008). *The Investigation of Stress Distribution in Pulsed Magnets*. 7(7), 7–10.

Ben-Dov, N., Rozman Grinberg, I., & Korenstein, R. (2012). Electroendocytosis Is Driven by the Binding of Electrochemically Produced Protons to the Cell's Surface. *PLoS ONE*, 7(11), 1–8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050299>

Beyer, R. A., & Pesce-Rodriguez, R. A. (2004). The response of propellants to plasma radiation. *2004 12th Symposium on Electromagnetic Launch Technology*, 273–278. <https://doi.org/10.1109/elt.2004.1398089>

Bhawandeep, U., Khachatryan, V., Sirunyan, A. M., Tumasyan, A., Adam, W., Asilar, E., Bergauer, T., Brandstetter, J., Brondolin, E., Dragicevic, M., Erö, J., Flechl, M., Friedl, M., Frühwirth, R., Ghete, V. M., Hartl, C., Hörmann, N., Hrubec, J., Jeitler, M., ... Woods, N. (2017). The CMS trigger system. *Journal of Instrumentation*. <https://doi.org/10.1088/1748-0221/12/01/P01020>

Bhonsle, S. P., Arena, C. B., Sweeney, D. C., & Davalos, R. V. (2015). Mitigation of impedance changes due to electroporation therapy using bursts of high-frequency bipolar pulses. *BioMedical Engineering Online*, 14(Suppl 3), 1–14. <https://doi.org/10.1186/1475-925X-14-S3-S3>

Bouda, N. R., Mina, M., & Weber, R. J. (2014). High-current magnetic field generator for transcranial magnetic stimulation applications. *IEEE Transactions on Magnetics*, 50(11), 1–4. <https://doi.org/10.1109/TMAG.2014.2325796>

Brezar, S. K., Kranjc, M., Čemažar, M., Buček, S., Serša, G., & Miklavčič, D. (2020). Electrotransfer of siRNA to silence enhanced green fluorescent protein in tumor mediated by a high intensity pulsed electromagnetic field. *Vaccines*. <https://doi.org/10.3390/vaccines8010049>

Budin, A. V., Pinchuk, M. E., Kuznetsov, V. E., Leont'ev, V. V., & Kurakina, N. K. (2017). An experimental setup for investigation of arc and erosion processes in high-voltage high-current breakers. *Instruments and Experimental Techniques*, 60(6), 837–842. <https://doi.org/10.1134/S0020441217060033>

Calvet, C. Y., & Mir, L. M. (2016). The promising alliance of anti-cancer electrochemotherapy with immunotherapy. *Cancer and Metastasis Reviews*, 35(2), 165–177. <https://doi.org/10.1007/s10555-016-9615-3>

Cheng, X. B., Liu, J. L., Qian, B. L., Chen, Z., & Feng, J. H. (2009). Research of a high-current repetitive triggered spark-gap switch and its application. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 38(3 PART 2), 516–522. <https://doi.org/10.1109/TPS.2009.2038381>

Delshad, M. R., Rezanejad, M., & Sheikholeslami, A. (2017). A New Modular Bipolar High-Voltage Pulse Generator. *IEEE Transactions on Industrial Electronics*, 64(2), 1195–1203. <https://doi.org/10.1109/TIE.2016.2611460>

- Dong, S., Yao, C., Yang, N., Luo, T., Zhou, Y., & Wang, C. (2016). Solid-State Nanosecond-Pulse Plasma Jet Apparatus Based on Marx Structure with Crowbar Switches. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 44(12), 3353–3360. <https://doi.org/10.1109/TPS.2016.2627141>
- Dunlea, C., Xiao, C., & Hirose, A. (2019). *Co-axial Helicity Injection on the STOR-M Tokamak*. 1–22. <http://arxiv.org/abs/1909.12447>
- Dynex. (2013). *DCR3980H85 Phase Control Thyristor*. 2013(December), 1–10.
- Eigenschaft, E. (2010). *Datenblatt / Data sheet Datenblatt / Data sheet*. 1–8.
- El-Helw, S. R., Kozak, J. P., Burgos, R., Ngo, K., & Boroyevich, D. (2018). Static and Dynamic Characterization of a 2.5 kV SiC MOSFET. *2018 IEEE 6th Workshop on Wide Bandgap Power Devices and Applications, WiPDA 2018*, 199–203. <https://doi.org/10.1109/WiPDA.2018.8569044>
- Elgenedy, M. A., Massoud, A. M., Ahmed, S., & Williams, B. W. (2018). A High-Gain, High-Voltage Pulse Generator Using Sequentially Charged Modular Multilevel Converter Submodules, for Water Disinfection Applications. *IEEE Journal of Emerging and Selected Topics in Power Electronics*, 6(3), 1394–1406. <https://doi.org/10.1109/JESTPE.2017.2750244>
- Elserougi, A., Massoud, A., & Ahmed, S. (2016). Conceptual study of a Bipolar modular high voltage Pulse generator with sequential charging. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 23(6), 3450–3457. <https://doi.org/10.1109/TDEI.2016.005803>
- Firoozabadi, T. P., Ph, D., Shankayi, Z., Ph, D., Izadi, A., & Ph, D. (2015). *Can Lucifer Yellow Indicate Correct Permeability of Biological Cell Membrane under An Electric and Magnetic Field ?* 16(4), 560–563.
- Ghodbane, S., Lahbib, A., Sakly, M., & Abdelmelek, H. (2013). *Bioeffects of Static Magnetic Fields : Oxidative Stress , Genotoxic Effects , and Cancer Studies*. 2013.
- Giesselmann, M., & Loree, D. L. (1993). Results of lifetime testing of pulsed power switches using an electrolytic capacitor bank. *IEEE International Pulsed Power Conference - Digest of Technical Papers*, 2, 942–945.
- Golberg, A., Sack, M., Teissie, J., Pataro, G., Pliquett, U., Saulis, G., Stefan, T., Miklavcic, D., Vorobiev, E., & Frey, W. (2016). Energy-efficient biomass processing with pulsed electric fields for bioeconomy and sustainable development. *Biotechnology for Biofuels*, 9(1), 1–22. <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0508-z>
- Grainys, A., Novickij, J., Stankevič, T., Stankevič, V., Novickij, V., & Zurauskiene, N. (2015). Single Pulse Calibration of Magnetic Field Sensors Using Mobile 43 kJ Facility. *Measurement Science Review*, 15(5). <https://doi.org/10.1515/msr-2015-0033>
- Grainys, Audrius, Novickij, J., Stankevič, T., Stankevič, V., Novickij, V., & Zurauskiene, N. (2015). Single Pulse Calibration of Magnetic Field Sensors Using Mobile 43 kJ Facility. *Measurement Science Review*, 15(5), 244–247. <https://doi.org/10.1515/msr-2015-0033>

- Gregory, K., Stevenson, P., & Burke, R. (1998). Four-stage Marx generator using thyristors. *Review of Scientific Instruments*, 69(11), 3996–3997. <https://doi.org/10.1063/1.1149221>
- Guenther, E., Klein, N., Mikus, P., Stehling, M. K., & Rubinsky, B. (2015). Electrical breakdown in tissue electroporation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 467(4), 736–741. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.10.072>
- Guerrero-Preston, R., Ogawa, T., Uemura, M., Shumulinsky, G., Valle, B. L., Pirini, F., Ravi, R., Sidransky, D., Keidar, M., & Trink, B. (2014). Cold atmospheric plasma treatment selectively targets head and neck squamous cell carcinoma cells. *International Journal of Molecular Medicine*, 34(4), 941–946. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1849>
- Hulangamuwa, W., Acharya, B., Chikan, V., & Rafferty, R. J. (2020). Triggering Passive Molecular Transport into Cells with a Combination of Inhomogeneous Magnetic Fields and Magnetic Nanoparticles. *ACS Applied Nano Materials*. <https://doi.org/10.1021/acsanm.9b02537>
- Jayanthi, P., & Devaraj, D. (2019). Performance Study of DFIG Based Grid Connected WECS using Crowbar and Without Crowbar. *IEEE International Conference on Intelligent Techniques in Control, Optimization and Signal Processing, INCOS 2019*, 2019–2021. <https://doi.org/10.1109/INCOS45849.2019.8951426>
- Jiang, C., Davalos, R. V., & Bischof, J. C. (2015). A review of basic to clinical studies of irreversible electroporation therapy. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 62(1), 4–20. <https://doi.org/10.1109/TBME.2014.2367543>
- Ka, A. (2009). *Numerical Magneto-Mechanical Analysis of Destructive Coils with Reinforcement Cylinders of Various Thicknesses*. 115(6), 2–3.
- Kardos, T. J., & Rabussay, D. P. (2012). Contactless magneto-permeabilization for intracellular plasmid DNA delivery in-vivo. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*, 8(11), 1707–1713. <https://doi.org/10.4161/hv.21576>
- Kardos, T. J., Rabussay, D. P., Kardos, T. J., & Rabussay, D. P. (2016). *intracellular plasmid DNA delivery in-vivo Contactless magneto-permeabilization for intracellular plasmid DNA delivery in vivo*. 5515(March). <https://doi.org/10.4161/hv.21576>
- Kluger, M. D., Epelboym, I., Schrope, B. A., Mahendraraj, K., Hecht, E. M., Susman, J., Weintraub, J. L., & Chabot, J. A. (2016). Single-Institution Cancer: First 50 Patients. *Annals of Surgical Oncology*, 23(5), 1736–1743. <https://doi.org/10.1245/s10434-015-5034-x>
- Kotnik, T., Frey, W., Sack, M., Haberl Meglič, S., Peterka, M., & Miklavčič, D. (2015). Electroporation-based applications in biotechnology. *Trends in Biotechnology*, 33(8), 480–488. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2015.06.002>
- Kranjc, S., Kranjc, M., Scancar, J., Jelenc, J., Sersa, G., & Miklavcic, D. (2016). Electrochemotherapy by pulsed electromagnetic field treatment (PEMF) in mouse melanoma B16F10 in vivo. *Radiology and Oncology*, 50(1), 39–48. <https://doi.org/10.1515/raon-2016-0014>

- Krassowska, W., & Filev, P. D. (2007). Modeling electroporation in a single cell. *Biophysical Journal*. <https://doi.org/10.1529/biophysj.106.094235>
- Lambrecht, L., Lopes, A., Kos, S., Sersa, G., Prat, V., & Vandermeulen, G. (2016). Clinical potential of electroporation for gene therapy and DNA vaccine delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 13(2), 295–310. <https://doi.org/10.1517/17425247.2016.1121990>
- Langus, J., Kranjc, M., Kos, B., Šuštar, T., & Miklavi, D. (2016). Dynamic finite-element model for efficient modelling of electric currents in electroporated tissue. *Scientific Reports*, 6(May), 1–11. <https://doi.org/10.1038/srep26409>
- Liu, F., Liu, W., Zha, X., Yang, H., & Feng, K. (2017). Solid-state circuit breaker snubber design for transient overvoltage suppression at bus fault interruption in low-voltage DC microgrid. *IEEE Transactions on Power Electronics*, 32(4), 3007–3021. <https://doi.org/10.1109/TPEL.2016.2574751>
- Liu, Y., Fan, R., Zhang, X., Tu, Z., & Zhang, J. (2019). Bipolar high voltage pulse generator without H-bridge based on cascade of positive and negative Marx generators. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 26(2), 476–483. <https://doi.org/10.1109/TDEI.2018.007861>
- Lucinskis, A., Novickij, V., Grainys, A., Novickij, J., Tolvaisiene, S., & Magnetic, H. (2014). *Modelling the Cell Transmembrane Potential Dependence on the Structure of the Pulsed Magnetic Field Coils*. 9–12.
- Masood, S. (2017). Effect of Weak Magnetic Field on Bacterial Growth. *Biophysical Reviews and Letters*, 12(4), 177–186. <https://doi.org/10.1142/S1793048017500102>
- McNutt, T., Olejniczak, K., Minden, S., Martin, D., Hayes, J., Wijenayake, A., & Simco, D. (2018). Module and system considerations to maximize performance advantages of SiC power devices. *Materials Science Forum*, 924 MSF, 883–886. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/MSF.924.883>
- Merz, W., & Grimes, M. (2012). Fast opening switch approach for high-voltage vacuum tube protection application. *Proceedings of the 2012 IEEE International Power Modulator and High Voltage Conference, IPMHVC 2012*, 308–311. <https://doi.org/10.1109/IPMHVC.2012.6518741>
- Miklavi, D., Mali, B., Kos, B., Heller, R., & Sera, G. (2014). Electrochemotherapy: From the drawing board into medical practice. *BioMedical Engineering Online*, 13(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/1475-925X-13-29>
- Modul, I., & Daten, V. (2013). *FZ3600R17HP4 _ B2 Technische Information / Technical Information FZ3600R17HP4 _ B2*.
- Moonesan, M. S., Zhang, J. F., & Jayaram, S. H. (2011). IGBT based HV pulse generator for high conductivity liquid food treatment. *Digest of Technical Papers-IEEE International Pulsed Power Conference*, 1160–1164. <https://doi.org/10.1109/PPC.2011.6191574>

Muratori, C., Pakhomov, A. G., Xiao, S., & Pakhomova, O. N. (2016). Electrosensitization assists cell ablation by nanosecond pulsed electric field in 3D cultures. *Scientific Reports*, 6(November 2015), 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep23225>

Mwaniki, F. M., & Vermeulen, H. J. (2019). Characterization and Application of a Pseudo-Random Impulse Sequence for Parameter Estimation Applications. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, PP(c), 1–1. <https://doi.org/10.1109/tim.2019.2937447>

Neal, R. E., Garcia, P. A., Robertson, J. L., & Davalos, R. V. (2012). Experimental characterization and numerical modeling of tissue electrical conductivity during pulsed electric fields for irreversible electroporation treatment planning. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 59(4), 1076–1085. <https://doi.org/10.1109/TBME.2012.2182994>

Novickij, J., Ka, R., Ka, A., Balevičius, S., Žurauskienė, N., & Stankevič, V. (2004). *Axial Magnetic Field Measurements of Pulsed Solenoids*. 2(2), 15–20.

Novickij, V., Dermal, J., Grainys, A., Kranjc, M., & Miklavčič, D. (2017). Membrane permeabilization of mammalian cells using bursts of high magnetic field pulses. *PeerJ*, 2017(4). <https://doi.org/10.7717/peerj.3267>

Novickij, V., Girkontaite, I., Zinkevičienė, A., Švedienė, J., Lastauskienė, E., Paškevičius, A., Markovskaja, S., & Novickij, J. (2017). Reversible Permeabilization of Cancer Cells by High Sub-Microsecond Magnetic Field. *IEEE Transactions on Magnetics*, 53(11). <https://doi.org/10.1109/TMAG.2017.2719699>

Novickij, V., Grainys, A., Lastauskienė, E., Kananaviciute, R., Pamedytyte, D., Kaledienė, L., Novickij, J., & Miklaveič, D. (2016). Pulsed Electromagnetic Field Assisted in vitro Electroporation: A Pilot Study. *Scientific Reports*, 6. <https://doi.org/10.1038/srep33537>

Novickij, V., Grainys, A., Novickij, J., & Lucinskas, A. (2014). Programmable pulsed magnetic field system for biological applications. *IEEE Transactions on Magnetics*, 50(11). <https://doi.org/10.1109/TMAG.2014.2323336>

Novickij, V., Grainys, A., Švedienė, J., Markovskaja, S., & Novickij, J. (2014). Joule heating influence on the vitality of fungi in pulsed magnetic fields during magnetic permeabilization. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 118(2). <https://doi.org/10.1007/s10973-014-3735-1>

Novickij, V., Stankevic, V., Grainys, A., Novickij, J., & Tolvaisiene, S. (2015). Microsecond electroporator optimization for parasitic load handling and damping. *Elektronika Ir Elektrotechnika*, 21(6). <https://doi.org/10.5755/j01.eee.21.6.13758>

Novickij, V., Grainys, A., Lastauskienė, E., Kananavi, R. I., Pamedytyt, D., Zinkevi, A. I., Kal, L., Novickij, J., Paškevi, A. I., & Švedien, J. (2015). *Growth Inhibition and Membrane Permeabilization of Candida lusitanae Using Varied Pulse Shape Electroporation*. 2015.

- Novickij, V, Grainys, A., & Novickij, J. (2015). *Magneto-Permeabilization of Viable Cell Membrane Using High Pulsed Magnetic Field*. 02(c), 1–5. <https://doi.org/10.1109/TMAG.2015.2439638>
- Novickij, V, Grainys, A., Novickij, J., Lucinskas, A., & Zapolskis, P. (2013). *Compact Microsecond Pulsed Magnetic Field Generator for Application in Bioelectronics*. i, 25–28.
- Novickij, Vitalij, Girkontaite, I., Zinkeviciene, A., Svediene, J., Lastauskiene, E., Paskevicius, A., Markovskaja, S., & Novickij, J. (2017). Reversible Permeabilization of Cancer Cells by High Submicrosecond Magnetic Field. *IEEE Transactions on Magnetics*, 9464(c). <https://doi.org/10.1109/TMAG.2017.2719699>
- Novickij, Vitalij, Grainys, A., Butkus, P., Tolvaišienė, S., Švedienė, J., Paškevičius, A., & Novickij, J. (2016). High-frequency submicrosecond electroporator. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 30(3), 607–613. <https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1150792>
- Novickij, Vitalij, Grainys, A., Lastauskiene, E., Kananaviciute, R., Pamedytyte, D., Kalediene, L., Novickij, J., & Miklaveič, D. (2016). Pulsed Electromagnetic Field Assisted in vitro Electroporation: A Pilot Study. *Scientific Reports*, 6(September), 1–10. <https://doi.org/10.1038/srep33537>
- Novickij, Vitalij, Zinkevičienė, A., Valiulis, J., Švedienė, J., Paškevičius, A., Lastauskienė, E., Markovskaja, S., Novickij, J., & Girkontaitė, I. (2018). Different permeabilization patterns of splenocytes and thymocytes to combination of pulsed electric and magnetic field treatments. *Bioelectrochemistry*, 122(2017), 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2018.04.006>
- Pawar, P., & Patil, A. B. (2016). *Electromagnetic Launcher*. 563–567.
- Pécastaing, L., Paillol, J., Reess, T., Gibert, A., & Domens, P. (2006). *Very Fast Rise-Time Short-Pulse High-Voltage Generator*. 34(5), 1822–1831.
- Ponniran, A. Bin, Orikawa, K., & Itoh, J. I. (2016). Fundamental operation of marx topology for high boost ratio DC-DC converter. *IEEJ Journal of Industry Applications*, 5(4), 329–338. <https://doi.org/10.1541/ieejjia.5.329>
- Rabkowski, J., & Platek, T. (2015). Comparison of the power losses in 1700V Si IGBT and SiC MOSFET modules including reverse conduction. *2015 17th European Conference on Power Electronics and Applications, EPE-ECCE Europe 2015*. <https://doi.org/10.1109/EPE.2015.7309444>
- Radhakrishnan, R., Diana, B., & Kumari, R. (2012). Plant Physiology and Biochemistry Pulsed magnetic field: A contemporary approach offers to enhance plant growth and yield of soybean. *Plant Physiology et Biochemistry*, 51, 139–144. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.10.017>

- Rashitov, P., Vershanskiy, E., & Gorchakov, A. (2019). Development of Control Algorithms to Ensure Optimal Thermal Modes of Semiconductor Switches in Distributed Static Synchronous Series Compensators. *Proceedings - 2019 IEEE International Conference on Environment and Electrical Engineering and 2019 IEEE Industrial and Commercial Power Systems Europe, IEEEIC/I and CPS Europe 2019*. <https://doi.org/10.1109/IEEEIC.2019.8783647>
- Redondo, L. M., Kandratsyev, A., & Barnes, M. J. (2018). Marx Generator Prototype for Kicker Magnets Based on SiC MOSFETs. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 46(10), 3334–3339. <https://doi.org/10.1109/TPS.2018.2808194>
- Rems, L., & Miklavčič, D. (2016). Tutorial: Electroporation of cells in complex materials and tissue. *Journal of Applied Physics*, 119(20). <https://doi.org/10.1063/1.4949264>
- Rihan, M. (2018). Comparison among different crowbar protection techniques for modern wind farms under short circuit occurrence. *2017 19th International Middle-East Power Systems Conference, MEPCON 2017 - Proceedings, 2018-Febru(December)*, 1113–1121. <https://doi.org/10.1109/MEPCON.2017.8301321>
- Rodaite-Riseviciene, R., Saule, R., Snitka, V., & Saulis, G. (2014). Release of iron ions from the stainless steel anode occurring during high-voltage pulses and its consequences for cell electroporation technology. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 42(1), 249–254. <https://doi.org/10.1109/TPS.2013.2287499>
- Rose, C. R., Crawford, M. T., Dale, G., Dighe, K., Johnson, J. B., Mccuistian, B. T., & Taccetti, J. M. (2017). *Multi-Pulse Diode-Isolated-Blumlein Induction-Cell Drivers*. 2–4.
- Scheffer, H. J., Nielsen, K., De Jong, M. C., Van Tilborg, A. A. J. M., Vieveen, J. M., Bouwman, A., Meijer, S., Van Kuijk, C., Van Den Tol, P., & Meijerink, M. R. (2014). Irreversible electroporation for nonthermal tumor ablation in the clinical setting: A systematic review of safety and efficacy. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, 25(7), 997–1011. <https://doi.org/10.1016/j.jvir.2014.01.028>
- Schoenbach, K. H., Pakhomov, A. G., Semenov, I., Xiao, S., Pakhomova, O. N., & Ibey, B. L. (2015). Ion transport into cells exposed to monopolar and bipolar nanosecond pulses. *Bioelectrochemistry*, 103, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2014.08.015>
- Shankayi, Z., Firoozabadi, S. M. P., Mansourian, M., & Mahna, A. (2014). The effects of pulsed magnetic field exposure on the permeability of leukemia cancer cells. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 33(2), 154–158. <https://doi.org/10.3109/15368378.2013.800103>
- Shankayi, Z., Firoozabadi, S. M. P., & Mansurian, M. G. (2013). *The Effect of Pulsed Magnetic Field on the Molecular Uptake and Medium Conductivity of Leukemia Cell*. 211–216. <https://doi.org/10.1007/s12013-012-9422-6>
- Skubis Jerzy, K. M. (2020). Analysis of the Possibility of Using Drill-Type Electrodes for Air Ionization. *Applied Sciences*, 10(11), 4030.

- Tamošiūnas, M., Mir, L. M., Chen, W. S., Lihachev, A., Venslauskas, M., & Šatkauskas, S. (2016). Intracellular Delivery of Bleomycin by Combined Application of Electroporation and Sonoporation in Vitro. *Journal of Membrane Biology*, 249(5), 677–689. <https://doi.org/10.1007/s00232-016-9911-4>
- Tang, C., Lu, Y., & Huang, T. (2018). Analysis on transient equivalent circuit of doubly fed induction generator with crowbar protection. *2017 2nd International Conference on Power and Renewable Energy, ICPRE 2017*, 2, 208–213. <https://doi.org/10.1109/ICPRE.2017.8390529>
- Thakur, S. K., & Kumar, Y. (2018). Design development and testing of high voltage power supply with crowbar protection for IOT based RF amplifier system in VECC. *Journal of Instrumentation*, 13(5). <https://doi.org/10.1088/1748-0221/13/05/T05009>
- Timmermans, R. A. H., Nierop Groot, M. N., Nederhoff, A. L., van Boekel, M. A. J. S., Matser, A. M., & Mastwijk, H. C. (2014). Pulsed electric field processing of different fruit juices: Impact of pH and temperature on inactivation of spoilage and pathogenic micro-organisms. *International Journal of Food Microbiology*, 173, 105–111. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.12.022>
- Towhidi, L., Firoozabadi, S. M. P., Mozdarani, H., & Miklavcic, D. (2012). *Lucifer Yellow uptake by CHO cells exposed to magnetic and electric pulses*. 46(2), 119–125. <https://doi.org/10.2478/v10019-012-0014-2>
- Van Bree, J. W. M., Geysen, J. J. G., Van Heesch, E. J. M., & Pemen, A. J. M. (2013). Novel nanosecond pulsed electric field device for noncontact treatment of cells in native culture conditions. *IEEE Transactions on Plasma Science*, 41(10), 2654–2658. <https://doi.org/10.1109/TPS.2013.2268321>
- Vechalapu, K., & Bhattacharya, S. (2016). Performance comparison of 10 kV#x2013;15 kV high voltage SiC modules and high voltage switch using series connected 1.7 kV LV SiC MOSFET devices. *ECCE 2016 - IEEE Energy Conversion Congress and Exposition, Proceedings*, 1(d). <https://doi.org/10.1109/ECCE.2016.7855339>
- Wang, R., Song, H., Han, L., Yan, L., Wang, B., & Zhao, P. (2019). Study on LVRT of DFIG wind power system based on crowbar protection circuit. *1st IEEE Student Conference on Electric Machines and Systems, SCEMS 2018*, 5–10. <https://doi.org/10.1109/SCEMS.2018.8624855>
- Xia, Y., Sun, J., Zhao, L., Zhang, F., Liang, X. J., Guo, Y., Weir, M. D., Reynolds, M. A., Gu, N., & Xu, H. H. K. (2018). Magnetic field and nano-scaffolds with stem cells to enhance bone regeneration. *Biomaterials*, 183(June), 151–170. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.08.040>
- Xiong, H., Sun, W., Liu, J., & Shi, J. (2018). A multifunctional energy-saving magnetic field generator. *Review of Scientific Instruments*, 89(3). <https://doi.org/10.1063/1.4990629>
- Yang, S., Zhou, T., Sun, D., Xie, Z., & Zhang, X. (2016). A SCR crowbar commutated with power converter for DFIG-based wind turbines. *International Journal of Electrical Power and Energy Systems*, 81, 87–103. <https://doi.org/10.1016/j.ijepes.2016.01.039>

Yao, J., Yang, M., & Duan, Y. (2014). Chemistry, biology, and medicine of fluorescent nanomaterials and related systems: New insights into biosensing, bioimaging, genomics, diagnostics, and therapy. *Chemical Reviews*, 114(12), 6130–6178. <https://doi.org/10.1021/cr200359p>

Yarmush, M. L., Golberg, A., Serša, G., Kotnik, T., & Miklavčič, D. (2014). Electroporation-Based Technologies for Medicine: Principles, Applications, and Challenges. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 16(1), 295–320. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071813-104622>

Yasu, K., Minamitani, Y., & Nukaga, K. (2017). Development of high power burst pulse generator based on magnetic switch for bioelectrics application. *2016 IEEE International Power Modulator and High Voltage Conference, IPMHVC 2016*, 392–396. <https://doi.org/10.1109/IPMHVC.2016.8012802>

Yatsugi, K., Nomura, K., & Hattori, Y. (2018). Analytical Technique for Designing an RC Snubber Circuit for Ringing Suppression in a Phase-Leg Configuration. *IEEE Transactions on Power Electronics*, 33(6), 4736–4745. <https://doi.org/10.1109/TPEL.2017.2731421>

Zhang, J., Rees, F. L., Allen, S., Hull, B., Palmour, J. W., & Casady, J. B. (2017). Impact of next-generation 1700V SiC MOSFETs in a 125kW PV converter. *2017 IEEE Energy Conversion Congress and Exposition, ECCE 2017*, 2017-January, 911–916. <https://doi.org/10.1109/ECCE.2017.8095882>

Autoriaus mokslinių publikacijų disertacijos tema sąrašas

Straipsniai recenzuojamuose mokslo žurnaluose

Novickij V., Lastauskienė E., Švedienė J., Grainys A., Staigvila G., Paškevičius A., Girkontaitė I., Zinkevičienė A., Markovskaja S., Novickij J. (2018). Membrane permeabilization of pathogenic yeast in alternating sub-microsecond electromagnetic fields in combination with conventional electroporation. *The Journal of Membrane Biology*. (Clarivate Analytics Web of Science) 2018 Apr 1, 251(2), 189–195. <http://doi.org/10.1109/TMAG.2020.2979120>

Staigvila G., Novickij V., Novickij J. (2019). Fast ignitron-based magnetic field pulser for biological applications. *IEEE Transactions on Magnetics*. (Clarivate Analytics Web of Science) 2019 Mar 22, 55(5), 1–5. <http://doi.org/10.1109/TMAG.2019.2902526>

Novickij V., Grainys A., Staigvila G., Tolvaisiene S., Ustinavicius T., Novickij J. (2019) Design and optimization of pulsed magnetic field generator for cell magneto-permeabilization. *Elektronika ir elektrotechnika*. (Clarivate Analytics Web of Science) 2017 Apr 20, 23(2), 21–5. <http://doi.org/10.5755/j01.eie.23.2.17994>

Novickij V., Kranjc M., Staigvila G., Dermol-Černe J., Meleško J., Novickij J., Miklavčič D. (2020). High-Pulsed Electromagnetic Field Generator for Contactless Permeabilization of Cells In Vitro. *IEEE Transactions on Magnetics*. (Clarivate Analytics Web of Science) 2020 Mar 6, 56(5), 1–6. <http://doi.org/10.1109/TMAG.2020.2979120>

Straipsniai kituose leidiniuose

Staigvila G., Novickij V. (2017), Concept of high dB/dt pulse forming system for biological cell membrane permeabilization. *In 2017 5th IEEE Workshop on Advances in Information, Electronic and Electrical Engineering (AIEEE) 2017 Nov 24*, 1–3. IEEE.

Summary in English

Introduction

Problem formulation

Electroporation is a phenomenon of transient increase of permeability in biological cell membranes caused by a pulsed electric field. Electroporation has found many applications in biomedicine and biotechnology for delivery of drugs and genes into cells, tissue ablation, vaccination, food processing, biorefining, protein extraction, and many more. However, the generation of homogeneous electric fields requires electrodes, which is a major challenge when exposed to inhomogeneous biological objects and deep-grown tumors. The use of electrodes can lead to various electrochemical reactions between the electrode and the tissue.

Strong pulsed magnetic fields can also cause permeabilization of the cell membrane and, therefore, may be the solution to many of the described electroporation problems due to non-contact effects. However, in order to generate a sufficiently strong magnetic field, pulsed currents in the range of several hundred A to several kA must be applied, resulting in a problem of Joule heating and its control (Novickij *et al.*, 2013). Accordingly, due to technological problems and engineering complexity, most of the works focusing on pulsed magnetic fields is limited to magnetic fields in the μT – mT range or static magnetic systems up to 2 T (Bae *et al.*, 2011; Radhakrishnan, Diana and Kumari, 2012; Ghodbane *et al.*, 2013). Pulsed fields of such parameters have limited application for cellular plasma membrane permeability control, which can be induced using > 2 T pulsed magnetic fields

(V. Novickij, Grainys, *et. al.*, 2014; V. Novickij, Grainys, *et. al.* 2014; Kardos *et al.*, 2016).

However, during contactless magnetic field-induced cell permeabilization, several exposure components must be considered: 1) pulsed magnetic field parameters; 2) parameters of the induced electric field and 3) thermal influence due to Joule heating, evaluating the influence of each of the components. Finally, to date, the mechanism of magnetic field-induced permeabilization is unknown, although the mechanism is thought to be similar to traditional electroporation.

Due to these reasons, the topic requires further research and technological development, which has the potential to ensure the development and application of new methods to increase cell membrane permeability in biomedicine or biotechnology.

Relevance of the thesis

There is currently a lack of magnetic field pulse systems that can be used in cell membrane permeability studies. For these reasons, the phenomenon of cell permeabilization itself has not been adequately studied, and its application is in most cases limited to preclinical studies. The introduction of new technological solutions in this field could potentially increase the availability and popularity of this technology, thus encouraging further research in the field.

Object of research

The object of the research is high-power pulsed electromagnetic field systems and their design methods for the formation of sub-microsecond and microsecond rise-time pulses for control of the permeability of cell membranes.

The aim of the thesis

The aim of this work is to develop magnetic field generators that, without direct contact with the sample, can cause changes in the permeability of cell membranes.

Tasks of the thesis

In order to achieve the aim of the thesis, the following tasks need to be solved:

1. To investigate high power pulse technologies and propose magnetic pulse generating circuits for high magnetic field variation per unit time for controlling the permeability of biological cell membranes without direct contact with the sample.
2. To evaluate the structure of pulsed inductors, the distributions of the induced electric field, the heating effects and ensure the stabilization of the temperature during exposure.
3. To perform applied experimental investigation of the developed generators, showing the transfer of fluorescent dyes across the membrane of biological cells.

Research methodology

Finite element method simulation methods are used in the work, electronic circuits are designed, circuit research is performed, applied tests are performed with different types of cells.

Scientific novelty of the thesis

During the preparation of the dissertation, the following results significant for electrical and electronic engineering science were obtained:

1. Simulation models of pulse inductors were developed and target field parameters for cell membrane permeability control experiments were determined.
2. A Marx topology-based magnetic field generator has been developed to generate magnetic pulses of 3.3 T with 450–500 ns rise time in a volume of 100 μl , and is applicable in magnetoporation studies.
3. Developed ignitron-based pulse generating circuit is capable of generating up to 3 T magnetic field pulses with 650–700 ns rise time in a volume of 100 μl , ensuring pulse amplitude and frequency control.
4. A new pulse generator with a thyristor-based pulse generating circuit is capable of generating microsecond duration (10–15 μs) magnetic field pulses up to 10 T in a 50 μl volume, providing pulse amplitude and frequency control, and is applicable for magnetoporation studies.

Practical value of research findings

The results of the research can be used for further research in the field of magnetoporation and contribute to the development of understanding and methodology of this biological phenomenon. The results of the work were also used in the implementation of the Future Technology Program project LAT-16001, "Electro-magnetoporation mediated biocontrol of the microgravity affected and skin infections causative microorganisms".

Defended statements

1. A 3.3 T sub-microsecond rise-time pulse system based on a Marx generator is applicable in magnetoporation studies and ensures the generation of an induced electric field in the cell suspension of up to 0.2 kV/cm without exceeding 3 °C temperature changes in the effective volume of the inductor.
2. The developed pulse generating circuit using ignitron ensures the generation of repetitive pulses up to 5 kA with a 650–700 ns rise time, using loads close to short circuit and can be used for high dB/dt magnetic pulse generation.
3. A thyristor-based magnetic field generator can generate (10–15 μs) microsecond pulses up to 10 T and is suitable for inducing increased cell membrane permeability, while the temperature does not exceed 5 °C in the effective volume of the inductor.

Approval of the research findings

5 articles were published on the topic of the dissertation: four in scientific journals included in the list of *Clarivate Analytics Web of Science* (Novickij 2017, Novickij 2018, Staigvila 2019, Novickij 2020) with an impact factor, one – in conference proceedings (Staigvila 2017) included in *Clarivate Analytics Web of Science* database.

The results of the research conducted in the dissertation were presented in eight scientific conferences in Lithuania and abroad:

- Conference of Young Scientists "Electronics and Electrical Engineering" 2017, 2018, 2019. In Vilnius;
- International Conference "Open Readings" 2017, 2019, Vilnius;
- International Conference "Electronics" 2017, Palanga;
- International Conference "The 5th IEEE Workshop on Advances in Information, Electronic and Electrical Engineering AIEEE'2017 2017, Riga;
- International Conference "The 3rd World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology, Medicine, and Food & Environmental Technologies" 2019, Toulouse.

Structure of the dissertation

The dissertation consists of an introduction, three chapters and a summary in English. There are also 3 annexes.

The volume of the work is 82 pages, 37 figures and 4 tables. 104 literature sources were used in writing the dissertation.

1. Literature overview of magnetic field generation technologies and applications

In recent years, a non-contact method based on pulsed magnetic fields for reversible and irreversible membrane permeabilization of biological cells has been proposed (Kardos *et al.*, 2012; Kranjc *et al.*, 2016). By exposing cells to pulsed magnetic fields, their membrane becomes conductive to fluorescent markers (Towhidi *et al.*, 2012). The method could be used as an alternative to electroporation, where pulsed electric fields are used to change membrane permeability (Yarmush *et al.*, 2014; Kotnik *et al.*, 2015). It is currently thought that a pulsed magnetic field induces an electric field and thus polarizes the cell membrane, which affects pore formation similarly to electroporation (Towhidi *et al.*, 2012; Kranjc *et al.*, 2016). However, the electric field induced by a rapidly changing magnetic field is several orders of magnitude smaller than the electric field required for electroporation (Lucinskis *et al.*, 2014; V. Novickij, Grainys, *et al.*, 2016; V. Novickij, Dermol, *et al.* 2017). As a result, other influencing phenomena such as electrophoresis (Schoenbach *et al.*, 2015), cell receptor activation (Shankayi *et al.*, 2014), electroendocytosis (Ben-Dov, Rozman Grinberg *et al.*, 2012), or magnetomotive forces are also considered. (Yao, Yang and Duan, 2014), although it is still not possible to unambiguously determine the mechanism of action. It has also been found that single pulses up to 16.4 T do not cause detectable cell permeabilization, but application of 2.9 T pulses (but higher dB/dt) results in a cellular response (Towhidi *et al.*, 2012; Shankayi, Firoozabadi and Man-

surian, 2013; Novickij, Grainys and Novickij, 2015). The low cell permeabilization efficiency is thought to be due to the small induced electric field, which was below 1 kV/cm in all cases.

Magnetoporation was also confirmed by in vivo delivery of a green fluorescent plasmid into muscle (Kardos *et al.*, 2016) or cisplatin into tumors (Kranjc *et al.*, 2016), which is comparable in efficiency to conventional electroporation. In vitro studies investigating magnetoporation techniques also demonstrate that cell permeabilization can be achieved; however, treatment efficacy is several times lower compared to electroporation (Towhidi *et al.*, 2012; Firoozabadi *et al.*, 2015; V. Novickij *et al.*, 2015). Finally, it has been found that the induced electric field cannot be considered as the only parameter responsible for membrane permeability during magnetoporation (V. Novickij *et al.*, 2016).

Based on existing research, it can be argued that microsecond-length magnetic pulses with steep rise-time are more adaptable in magnetoporation, therefore, there is a need to develop high dB/dt magnetic field systems (Towhidi *et al.*, 2012; Kardos *et al.*, 2016; V. Novickij, Dermol, Grainys, *et al.*, 2017; V. Novickij, Girkontaite, Zinkevičienė, *et al.* 2017).

The generation of strong magnetic fields requires kA series currents, but this creates engineering and technological problems for formation of high-power pulses. To generate such a pulse, high power switches are needed that can transfer all the energy stored in the capacitors into a load (in the case of magnetoporation, an inductor). Also, in the context of magnetoporation, the dV/dt and dI/dt of such switches must be large enough (Hulangamuwa *et al.*, 2020) to ensure sufficient electric field induction. High power switches can be divided into dielectric breakdown or semiconductor ones (Vechalapu and Bhattacharya, 2016). In order to build a system various pulse forming circuit topologies can be used, which can involve both the dielectrical breakdown and semiconductor switches, however, the device should be able to drive predominantly inductive loads.

To summarize, the application of strong magnetic fields in the biomedical and biotechnological sciences can cause a controlled increase in the permeability of the plasma membrane of a cell, but requires high-power systems whose amplitude of magnetic field pulses exceeds a few T. In in vitro studies, high dB/dt systems have been shown to be desirable due to the induced biological effects in the cell membrane due to the increased efficiency of electromagnetic transfer. The development of pulsed inductors for magnetoporation studies requires the modification of their structure and effective volume in such a way as to reduce the influence of thermal processes and ensure the most homogeneous effect on cells.

Various types of semiconductor and dielectric breakdown switches are suitable for the development of magnetoporation systems, but a compromise must be reached between the dynamical characteristics of the switches, the transient circuits and control complexity, and the maximum pulse parameters. Marx generator circuit topology, IGBT and MOSFET key arrays and dielectric breakdown-based systems are suitable for high power pulse generation using inductive load.

2. Development and research of high power pulse generators

In magnetoporation works, there is no consensus on the amplitude or pulse shape of a pulsed magnetic field, although this affects the efficiency of induced cell permeabilization. Therefore, in this work, using a typical Marx generator topology and spark gaps, a high dB/dt generator was developed to evaluate the target parameters for the final prototype.

The Marx generator consisted of 6 stages (total voltage 23 kV, stage voltage 3.85 kV). 0.15 μF capacitors (Cornell Dubilier, SC, USA) are used in each stage. An inductor (coil) is used for the load of the generator (2 layers, 6 windings with a total inductance of 1.1 μH). The inductor was designed to accommodate a 0.2 ml PCR sterile tube (Quali, SC, USA) for biological samples. The energy of one pulse was in the range of 6 to 7 J. The basic scheme of the generator and the resulting magnetic field pulse are shown in Figure S2.1.

Fig. S2.1. Marx generator topology and resultant magnetic field pulses
(V. Novickij, Lastauskiene, et al., 2017)

Assuming that the induced electric field has a significant influence for the biological effect, the peak amplitude of the induced electric field was up to 0.19 kV/cm due to the high dB/dt (rise-time 450 ns).

The induced electric field is hundreds of times greater than the typical electric field amplitudes used in magnetoporation works. The total pulse duration is about 12 μs , but the homogeneity of the magnetic and electric fields must also be assessed to assess the effect on the cells. COMSOL Multiphysics (COMSOL, Stockholm, Sweden) was used to achieve this goal. Inductor model, spatial distributions of magnetic and induced electric field are shown in Figure S2.2.

After determining the pulse parameters, applied studies of a Marx topology-based generator with yeast cells were performed. The experiments were performed using conventional electroporation and magnetoporation separately and together to determine possible synergistic effects. A rectangular pulse generator (V. Novickij, Grainys, Butkus, et al., 2016) and a 1 mm gap cell (VWR International, Radnor, USA) were used for electroporation. Yeast *Candida albicans* (ATCC14053) was selected for the study.

Fig. S2.2. Spatial distribution of pulsed magnetic (top) and induced electric field (bottom) in the inductor (V. Novickij, Lastauskiene, et al., 2017)

The effect was investigated by evaluating yeast permeabilization after magnetoporation and electroporation. Permeabilization efficiency was assessed by fluorescent staining (PI, propidium iodide) using flow cytometry (mean fluorescence level, number of fluorescent cells). The results are presented in Fig. S2.3.

Fig S2.3. Permeability of *C. albicans* to propidium iodide after pulsed exposure, where an asterisk (*) indicates a statistically significant ($P < 0.05$) difference compared to electroporation (V. Novickij, Lastauskiene, et al., 2017)

It can be seen that the yeast is resistant to magnetoporation of the indicated parameters and the differences between the control and the samples after exposure to the pulsed magnetic field are statistically insignificant. However, exposure of yeast to an electric field shows an increase in the number of permeabilized cells. Combining magnetoporation and electroporation showed a statistically significant ($P < 0.05$) difference, but contrary to expectations, a decrease in the number of permeabilized cells was seen. Experimental tests have shown that the generator of the specified parameters can be used to induce detectable changes in yeast cells.

Nevertheless, use of spark gaps to generate kA range pulses is not convenient due to the degradation of the electrodes and poor control of pulsing parameters. Therefore, further in the study, a generator based on ignitron switch for generation of pulses similar to the Marx generator topology has been developed. The circuit is presented in Fig. S2.4.

The main power supply circuit of the generator consists of a constant high voltage power supply 8 kV Spellman and capacitors C1 20 μF and C_{DIS} 0.75 μF . Energy is stored in capacitors C1, but due to the need for repetitive pulses, Cornell Dubilier capacitors are used in addition. Resistor R1 1880 Ω is used for current limitation and protection of high voltage 8 kV source against short circuit during discharge.

Fig. S2.4. Structural scheme of the ignitron-based magnetic field generator (Staigvila et al., 2019)

The emergency discharge circuit is designed so that the energy stored in the capacitors C1 and C_{DIS} can be discharged in resistance R_D 470 Ω . The circuit consists of four thyristors SCR (D1-4), and their parallel resistances R_B 10 M Ω . The protection circuit

operates independently from the rest of the generator circuit and is controlled by a transformer and a physical button. The prototype control and power circuits are galvanically isolated. Coil L is used as a load in the generator. Pulse shape measurements are performed on a series resistor $R_{\text{Shunt}} 0.1 \Omega$. An experimental prototype of the generator is shown in Fig. S2.5.

The developed pulse generator is based on an Ignitron (NL-1038, National Electronics, Farmingdale, NY, USA) type switch.

The generator is controlled by a microcontroller XMEGA128A3U (Atmega, San Jose, CA, USA), which is galvanically separated by a controller ADUM4223ARWZ (Analog Devices, Norwood, MA, USA).

Fig. S2.5. Photo of the ignitron-based generator prototype (Staigvila *et al.*, 2019)

A coil (two layers, six windings and $L = 1.4 \mu\text{H}$) was used as the load for the generator test. A high cross-section of enameled copper wire ($1.5 \times 2 \text{ mm}^2$) was used. A 2.4Ω resistor was also used as a load for comparison. The shapes of the respective pulses are shown in Fig. S2.6.

Fig. S2.6. The waveforms of the generator using inductive and resistive loads (Staigvila *et al.*, 2019)

It can be seen that the generator can generate high power pulses with a sub-microsecond rise-time (640 ns at $L = 1.4 \mu\text{H}$), which ensures high dB/dt rate and thus allows to induce a sufficient electric field for magnetoporation studies. The highest value of the generated current pulse is 4.9 kA, when the charging voltage was 6.5 kV, and the maximum dI/dt was 6.6 kA/ μs . An RC pulse signal was also generated during the test to make sure that the ignitron is generating microsecond pulses regardless of the type of load.

Considering that there is no consensus on the influence of individual exposure components in the magnetoporation studies, a third pulse system was developed within this work to generate repetitive pulses up to 10 T, $>10 \text{ V/cm}$. Two MCC255-16io1 (IXYS, USA) thyristor (SCR) modules S1 and S2 were used for pulse generation. The structure of the generator is shown in Fig. S2.7.

Fig. S2.7. Structural scheme of the magnetic field generator based on thyristor switches (V. Novickij *et al.*, 2020)

The supply circuit consists of two capacitor batteries analogous to an ignitron-based generator, providing the ability to generate repetitive pulses. The first capacitor bank consists of filter type capacitors (KNG1914, ISKRA, Slovenia) ($3 \times 200 \mu\text{F}$ in series = $66.67 \mu\text{F}$) and the second high dI/dt pulse capacitors (940C20W1K-F, Cornell Dobilier, USA; 6×1 sequential and parallel = $1.5 \mu\text{F}$). The charging voltage of the capacitor batteries was limited to 3 kV (0–3 kV) using a UM4 * 4 (Spellman, USA) voltage converter. A 20 k Ω resistor is used between the individual capacitor batteries, which limits the charging current of the pulsed capacitors. The circuit supports the frequency of repetitive pulses up to 5 Hz. The main generator switches (thyristors) were connected in series to increase the maximum switching voltage to 3.2 kV. Any type of inductor with a recommended inductance value of $<10 \mu\text{H}$ can be used as a load in this generator to provide a current of >1 kA and sufficient rise/fall times for magnetoporation. A photo of the generator prototype is shown in Fig. S2.8.

Fig. S2.8. Developed generator: a) The electronic components; b) the housing (V. Novickij *et al.*, 2020)

Similarly, to the ignitron-based generator, an emergency discharge circuit (S3-S7) was introduced. It is activated by a galvanically isolated trigger (TRD), which is controlled by a button separately from the main microcontroller (XMEGA128, Atmel, USA). Three different inductors (11.8–14 μH) were used for load, varying the effective volume and winding number. The following coils were developed: Coil 1: (6L $\times$ 8W, wire: 0.5 mm, $r = 2$ mm); Coil 2: (6L $\times$ 8W, wire: 0.8 mm, $r = 2$ mm); Coil 3: (6L $\times$ 8W, wire: 0.8 mm, $r = 3$ mm), where L and W are layers and windings, respectively. The minimum diameter of the inner coils was adjusted to match the diameter of a standard 0.2 ml sterile PCR tube (ABgene, ThermoFisher Scientific, USA). Photographs of inductors and resultant pulse shapes are shown in Fig. S2.9.

Coil 1 was selected as optimal to be used as a load due to the highest $\text{d}B/\text{d}t$ ratio. When longer sequences of pulse are generated (e.g. 300 pulses), the temperature is also successfully limited to a range of ± 5 $^{\circ}\text{C}$ (Fig. S2.10.).

Fig. S2.9. Magnetic field dependence relationship between: a) created inductors; b) pulse shapes of magnetic fields (Staigvila *et al.*, 2019)

It can be seen that during ice repositioning the average temperature may have increased, however, the deviation was still within the limits that are formed in this dissertation. It was concluded that multilayered high wire density inductors are suitable for generation of high dB/dt pulses, and as a load of the proposed high-power generator.

Fig. S2.10. Temperature rise during pulsing (V. Novickij *et al.*, 2020)

Nevertheless, the induced electric field depends on the geometry of the inductor and the dB/dt ratio, therefore, analysis of pulsed should also cover optimization in terms of induced electric field. A trade-off between the magnetic field value, induced electric field and the Joule heating should be made.

3. Analysis of developed pulsed inductors and applied magnetoporation research

Magnetoporation requires a suitable generator capable of generating high dB/dt pulses. Regardless of the pulse generating circuit, the load on the generator is the inductor, but the structure of the inductor may vary, i.e. the number and cross-section of the windings, the inner and outer diameters and the height of the coil can be varied. In order to evaluate the influence of coil parameters on the induced transmembrane potential COMSOL Multiphysics software was used.

Increasing the number of inductor windings and changing the shape also changes the load inductance, which significantly affects the rise-times of the generated pulses. However, in order to evaluate the values of the transmembrane potential and thus predict the effects on biological objects, the coils used in the previous section were examined by changing the magnetic pulse rise-time.

Two coils were used for the study by varying the internal volume and wire thickness. Coil parameters: Coil A: $6L \times 8W$, wire $d = 0.5$ mm, coils $r = 2$ mm; Coil C: $6L \times 8W$, wire $d = 0.8$ mm, coil $r = 3$ mm, where: L – coil layers, W – number of windings. 3 bell-shaped current pulses with different rise-time were used to study the dependence of the generated fields: 100 ns, 300 ns, 1000 ns, limited to the same discharge current $I_{\max} = 1000 \text{ A} \pm 30 \%$.

The shape of the simulated magnetic pulses is shown in Fig. S3.1. It can be seen that the pulse shape corresponds to the shape of the pulses empirically obtained in the previous section, but the pulse duration was artificially reduced to establish further justification and actuality of the pulse duration reduction in magnetoporation studies.

The peak value of the induced transmembrane potential was evaluated analytically for both inductor structures. The results are presented in Table S3.1. The Krasowska analytical model was used for the analysis (Krasowska and Filev, 2007).

It can be seen that sub-microsecond range rise-time pulses can be seen to induce a higher transmembrane potential, which according to electroporation theory is better for pore formation, but recent studies (Novickij *et al.*, 2018, 2020) suggest that only marginal (mV order) transmembrane potential should be achieved during magnetoporation. Also, using the Marx generator developed in this dissertation, it was also found that reducing the pulse rise-time is not an effective way to achieve better permeabilization (V. Novickij *et al.*, 2018).

Fig. S3.1. Simulated pulses with different rise and fall times

The same or even better permeabilization efficiencies can be achieved using micro-second pulses (V. Novickij, Dermol, Grainys, *et al.*, 2017; Novickij *et al.*, 2020). Therefore, further applied research was performed using the third thyristor-based generator and Coil A. Chinese hamster ovary cells (European Authentic Cell Culture Collection ECACC, cells CHO-K1, Cat. No. 85051005) were used.

Table S3.1. The dependence of induced transmembrane voltage on pulse parameters

Pulse rise time	100 ns	300 ns	1000 ns
Coil A	−0.25 V	−0.14 V	−0.055 V
Coil C	−0.19 V	−0.11 V	−0.042 V

To detect permeabilization, the cell suspension was mixed with propidium iodide to a final concentration of 136 μM . 40 μl of the cell-dye mixture was transferred to a 0.2 ml PCR tube and treated with a strong pulsed magnetic field.

The generator was tested using the maximum amplitude of Coil A (6.7 T, 17 V/cm), and 100, 200, and 300 pulse sequences were generated using a repetition rate of 1 Hz. The inductor was constantly cooled with ice, thus stabilizing the temperature. Analysis was performed using flow cytometry (Life Technologies, Attune NxT, USA). Permeabilization was determined as the increase of mean fluorescence value of the measured signal (MFI). The results are presented in Fig. S3.3.

Fig. S3.3. Magnetoporation of CHO cells, where CTRL – control;

PEMF – cells were exposed to a strong pulsed magnetic field;

* – statistically significant ($P < 0.05$) differences (V. Novickij *et al.*, 2020)

It can be seen that exposure of cells to a strong magnetic field increases the permeability of the cell membrane to fluorescent dyes, indicating successful magnetoporation. The effect also depends on the number of pulses. It has been found that the developed generator capable of switching currents up to 1.5 kA and supporting inductive loads $>5 \mu\text{H}$ can be successfully applied in cell permeabilization experiments. Pulses in the microsecond range of 6.7 T, 17 V/cm have been shown to be sufficient to induce magnetoporation *in vitro*. Nevertheless, the amplitude of the induced transmembrane potential was only 10 mV.

General conclusions

1. A Marx generator topology is suitable for generation of sub-microsecond rise time magnetic field pulses and is applicable in magnetoporation field.
2. An ignitron-based circuit for sub-microsecond rise-time pulse generation ensures better control of pulse sequence parameters compared to Marx generator topology.
3. Ignitron-based pulse generator is suitable for generation of repetitive pulses up to 5 kA with 650–700 ns rise times, using loads close to short circuit.
4. Multilayer inductors ensure sufficient magnetic field amplitude and control of the temperature rise, while the inhomogeneity of the induced electric field is the main limitation of this typical inductor structure.
5. The proposed generator based on thyristor switches is suitable for inducing magnetoporation in mammalian cells, while the temperature change in the cell suspension does not exceed 5°C .

Priedai³

A priedas. Disertacijos autoriaus sąžiningumo deklaracija

B priedas. Bendraautorių sutikimai teikti publikacijose skelbtą medžiagą mokslo daktaro disertacijoje

C priedas. Autoriaus mokslinių publikacijų disertacijos tema kopijos

³ Priedai pateikiami pridėtoje kompaktinėje plokštelėje.

Gediminas STAIGVILA

MIKROSEKUNDINIŲ MAGNETINIŲ IMPULSŲ
GENERATORIŲ KŪRIMAS LĄSTELIŲ PLAZMINĖS
MEMBRANOS PRALaidUMUI VALDYTI

Daktaro disertacija

Technologijos mokslai,
elektros ir elektronikos inžinerija (T 001)

DEVELOPMENT OF MICROSECOND MAGNETIC
PULSE GENERATORS FOR CELL MEMBRANE
PERMEABILIZATION CONTROL

Doctoral Dissertation

Technological Sciences,
Electrical and Electronic Engineering (T 001)

2020 12 04. 8,0 sp. I. Tiražas 20 egz.

Leidinio el. versija <https://doi.org/10.20334/2020-044-M>

Vilniaus Gedimino technikos universitetas,

Saulėtekio al. 11, 10223 Vilnius,

Spausdino BĮ UAB „Baltijos kopija“,

Kareivių g. 13B, 09109 Vilnius