

SYSTÉM PRO SNÍMÁNÍ A VYHODNOCENÍ KONTRAKCE IZOLOVANÉ SRDEČNÍ BUŇKY V PROSTŘEDÍ LABVIEW

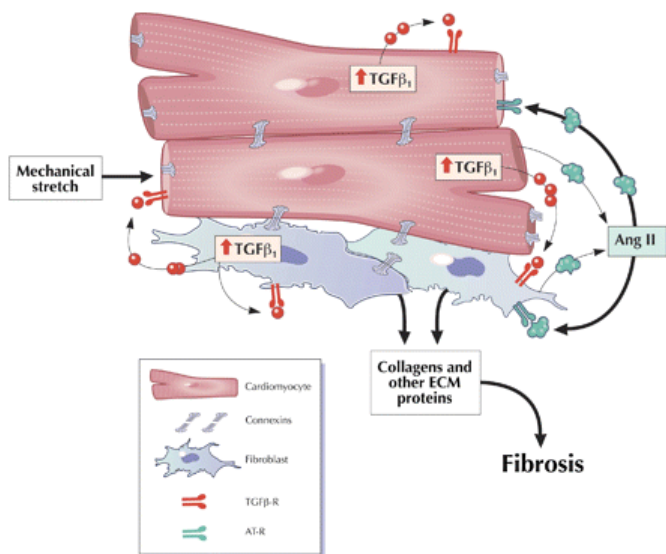
Ing. Vratislav Čmiel
prof. Ing. Ivo Provazník, Ph.D.

Ústav biomedicínského inženýrství
Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií
Vysoké učení technické v Brně, Kolejní 4, 61200 Brno
Email: xcmiel01@stud.feec.vutbr.cz

V článku je představeno kompletní hardwarové a softwarové řešení pro snímání, záznam a vyhodnocení kontrakce stimulované izolované srdeční buňky. Systém je realizován v prostředí LabVIEW.

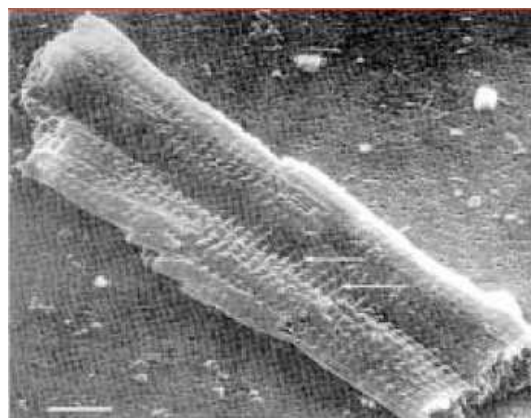
1. ÚVOD

Srdeční buňka, kardiomyocyt, je základní morfologickou a funkční buňkou srdečního svalu - myokardu. Je to specializovaná svalová buňka, jejíž průměr je 10 - 20 μm a je asi 100 μm dlouhá [1]. Je obvykle podélného tvaru, jeden konec se často rozděluje a připomíná písmeno epsilon, jak je možné vidět na obrázku 1 níže.



Obr. 1: Ilustrovaná ukázka tvaru kardiomyocytů a jejich vzájemného spojení [2].

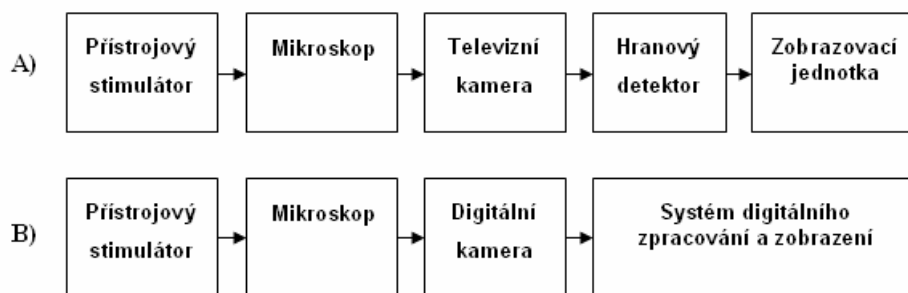
Srdeční myocyty jsou ohraničeny tenkou membránou – sarkolemou. Vnitřek každého kardiomyocytu obsahuje svazky podélně uspořádaných myofibril, které mají příčně pruhovaný vzhled, stejně jako kosterní svalovina. Základ tohoto vzhledu je dán opakujícími se sarkomerami, jak je vidět na elektronovém snímku na obr. 2.



Obr. 2: Snímek pořízený elektronovým mikroskopem. Na snímku je patrný příčně pruhovaný vzhled [3].

Kontrakce se vizuálně projevuje periodickým přiblížením obou konců kardiomyocytu. Zjednodušený mechanismus kontrakce srdeční buňky je následující. Po podráždění membrány krátkým neprahovým proudem dochází ke vzniku impulzu akčního napětí. Akční napětí se šíří membránou podél osy buňky a také dovnitř buňky tubulárním systémem. Vápníkové ionty (Ca^{2+}), které proudí do buňky prostřednictvím kalciového proudu, spustí regenerativní proces uvolňování Ca^{2+} ze sarkoplazmatického retikula do cytoplazmy. Ca^{2+} difundují do kontraktálního aparátu, kde působí jako spouštěcí mechanismus kontrakce. Velikost kontrakce vzrůstá s množstvím uvolněných a působících vápníkových iontů. Kontrakce je ukončena tím, že ionty Ca^{2+} uvolňované z vazby v kontraktálním aparátu jsou odčerpávány.

Enzymaticky izolovaná srdeční buňka zaujala přední místo mezi experimentálními modely pro výzkum souvislosti mezi srdeční excitací a kontrakcí. Měření změny délky během kontrakčního cyklu u izolované srdeční buňky umožňuje popsat dynamiku celé srdeční buňky i sarkomer a zkoumat některé základní vlastnosti kardiomyocytu.



Obr. 3: Blokové schéma běžného systému pro obrazové zpracování kontrakce.
 A) Dřívější způsob zpracování. B) Současný způsob řešení zpracování.

Již bylo vyvinuto velké množství optických technik pro vyhodnocení změn délky během kontrakčního cyklu, různé systémy jsou navrženy pro konkrétní experimentální aplikaci. Užívají se různé techniky od světelné difrakce až po přímé optické zobrazení. Představené řešení je navrženo tak, aby využívalo poslední trendy dvojrozměrného obrazového snímání pomocí mikroskopické CCD kamery v dostatečném rozlišení a následného využití technik zpracování obrazu zahrnující detekci konců buňky a následné grafické a číselné vyhodnocení kontrakce.

2. SYSTÉM PRO SNÍMÁNÍ A VYHODNOCENÍ

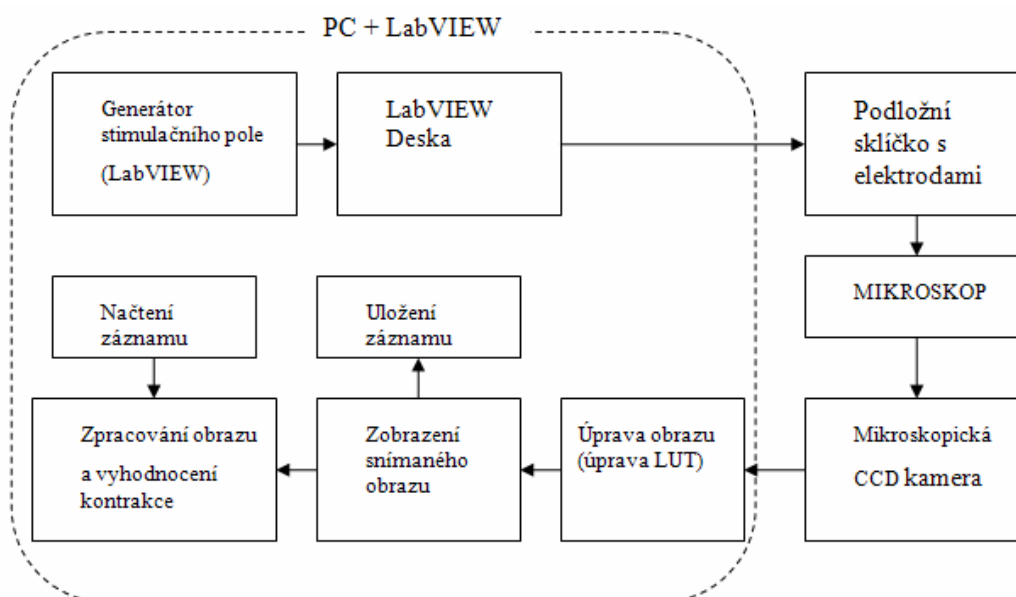
Běžné zařízení pro snímání mikroskopického obrazu sestává ze samostatného plně nastavitelného stimulačního přístroje pro generování stimulačních impulzů, mikroskopu s kamerou, přístrojových a programových částí pro snímání a zpracování obrazu a vyhodnocení kontrakce. V 80. a 90. letech byla snímací část obvykle tvořena televizní kamerou, zpracování probíhalo v hardwarovém signálovém procesoru pro

detekci hran a systémem pro další vyhodnocení. Moderní základní sestava se liší zejména v druhé části, kde je televizní kamera nahrazena CCD kamerou a zpracování obrazu a vyhodnocení probíhá programově na PC. Příklad je uveden na obr. 3.

Základní řešení, které umožňuje moderní digitální snímání a zpracování obrazu je představeno v tomto článku. Celý systém sestává z hardwarové a softwarové části. Celá softwarová a řídicí část je realizována v LabVIEW.

Výhodou daného řešení je možnost současné stimulace kardiomyocytu, zobrazení a vyhodnocení kontrakce, či pořízení záznamu v jednom programovém vybavení. Obrazové zpracování a vyhodnocení kontrakce kardiomyocytu je tedy možné provádět v reálném čase, případně také z již pořízeného záznamu. Blokové rozvržení systému je uvedeno na obr. 4.

Celý systém sestává z hardwarové části – PC, měřicí karty LabVIEW, stimulační vaničky s elektrodami, mikroskopu a mikroskopické kamery. Programové vybavení, jak už



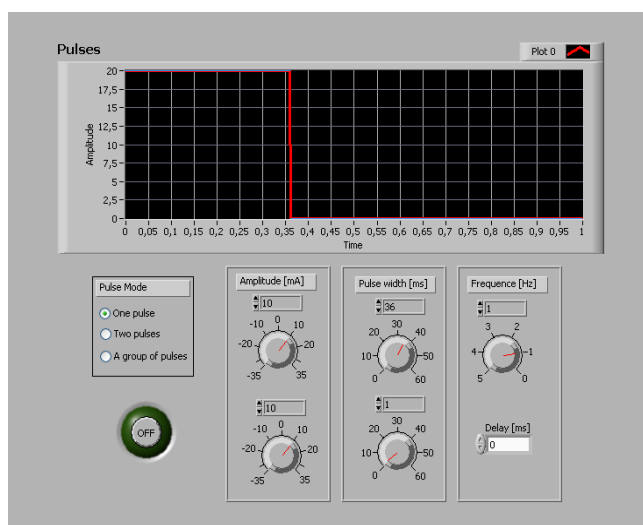
Obr. 4: Blokové schéma systému

bylo zmíněno dříve, je celé kompletně navrženo v LabVIEW. Tvoří ho generátor stimulačního pole, zobrazovací a záznamový systém, systém pro obrazové zpracování a vyhodnocení kontrakce.

Systém LabVIEW umožnil vyloučit jakékoli další externí přístroje a ovládací prvky. Jak stimulace izolovaného kardiomyocytu, tak systém zobrazení záznamu a měření kontrakce jsou ovládány z jednoho panelu na monitoru PC, kde jsou umístěny všechny potřebné virtuální ovládací prvky. Nyní budou představeny jednotlivé části zařízení.

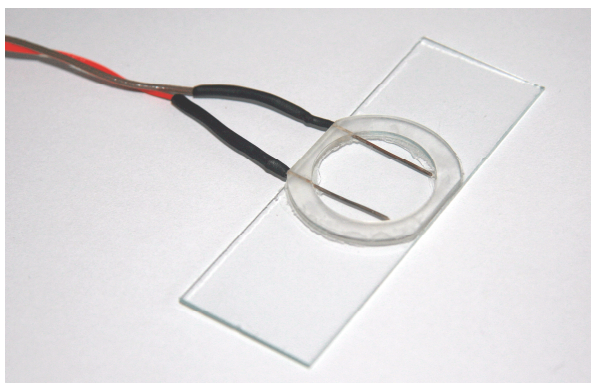
2.1. STIMULÁTOR SRDEČNÍ IZOLOVANÉ BUŇKY

Stimulátor izolované srdeční buňky je řešen jako pomocí laditelného generátoru impulzů, ovládací panel pro kontrolu a spuštění stimulatoru je uveden na obr. 5.



Obr. č. 5: Ovládací panel stimulatoru

Výstupem je vygenerovaný signál do LabVIEW karty, kde je převeden na reálné napětí impulzů ústící do elektroodového systému umístěného ve vaničce na podložním sklíčku. Tato vanička nahrazuje běžné podložní sklíčko. Detail stimulační vaničky s podložním sklíčkem je uveden na obr. 6.



Obr. č. 6: Systém elektrod na podložním sklíčku

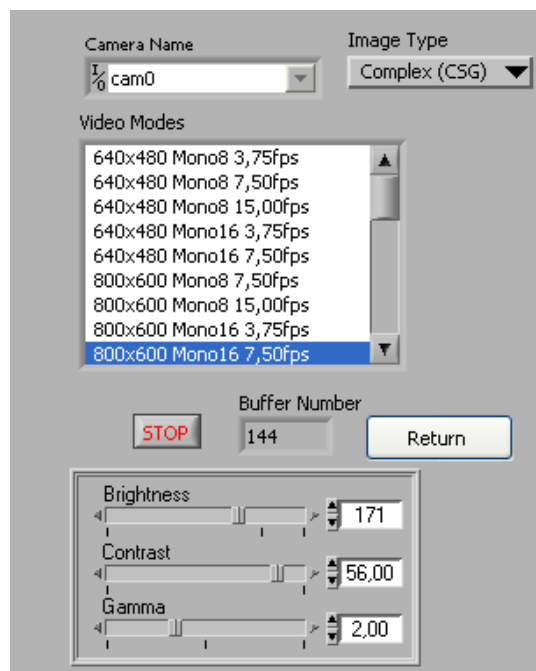
Stimulátor funguje ve dvou módech. Umožňuje spuštění jednoho, nebo dvojice impulzů libovolně nastavených. Maximální generovaný proud je 20 mV, horní hranice je omezena kartou. Volitelná je frekvence, šířka a amplituda impulzů a zpoždění druhého impulzu od prvního.

2.2. ZOBRAZENÍ A ÚPRAVA OBRAZU, ZÁZNAM

Druhá část systému sestává z optického systému mikroskopu, mikroskopické CCD kamery a modulu LabVIEW pro získávání obrazu z kamery, modulu pro úpravu obrazu a uložení obrazu.

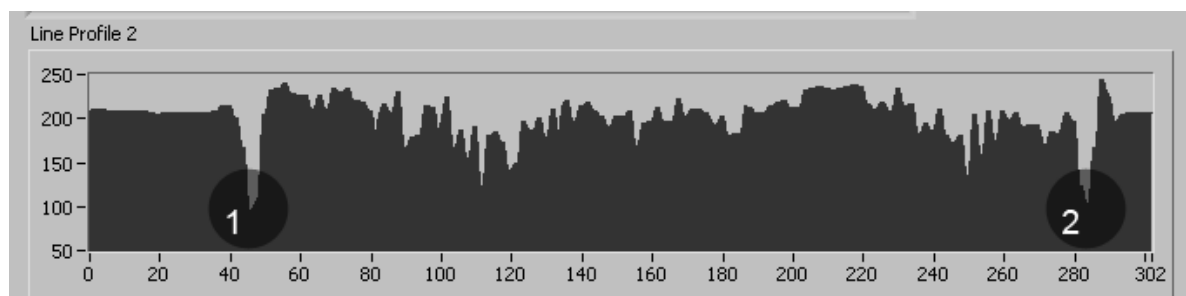
Obraz kardiomyocytu v kontrakci prochází objektivem a optickou soustavou mikroskopu a dopadá na detektor mikroskopické kamery. Jednotlivé snímky obrazu jsou načteny systémem *NI IMAQ*, který je součástí LabVIEW. Kamera je k PC připojena pomocí Firewire (IEEE 1394). Užity jsou vlastní ovladače LabVIEW *IMAQdx* pro komunikaci se snímacím zařízením, které nahrazují ovladače kamery.

Uživateli je umožněno nastavit parametry obrazu, podobně jak je tomu u běžného programového vybavení ke snímání z mikroskopické kamery. Je možná změna video módu (*Video Modes* na obr. 7), kde lze navolit rozlišení kamery v kombinaci s možným počtem snímků za sekundu. Dále je možné nastavit jas, kontrast a gamma korekci obrazu (*Brightness, Contrast a Gamma* na obr. 7).



Obr. č. 7: Výřez z ovládacího panelu – část panelu pro úpravu obrazu.

V ovládacím panelu pro pořízení záznamu lze uložit záznam libovolné délky do nekomprimovaného AVI souboru.



Obr. č. 8: Profil úsečky, zobrazený jako stupnice šedi na jednotlivých souřadnicích úsečky.

2.3. ZPRACOVÁNÍ OBRAZU A MĚŘENÍ KONTRAKCE

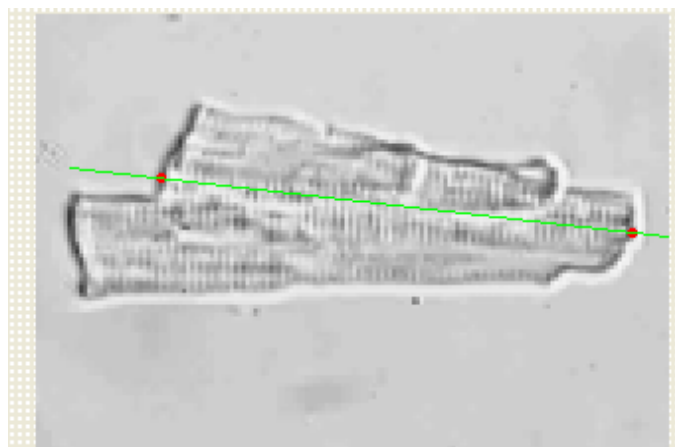
Samotné měření kontrakce je založeno na principu detekce počátečního a koncového bodu buňky v ose kontrakce a následném matematickém výpočtu vzdálenosti těchto bodů. Systém tak umožňuje měření kontrakce nikoli na úrovni sarkomer, ale na úrovni celé srdeční buňky. Uživatel nejdříve označí ROI (*Region Of Interest*) ve formě úsečky tak, aby odpovídala ose stahu a překračovala počáteční a koncový bod buňky při její

maximální délce, viz obr. 9. Označení je možné provést až po zhlédnutí části kontrakce, uživatel tak může úsečku a její parametry uzpůsobit konkrétnímu snímání.

Profil úsečky (*Line Profile* na obr. 8) znázorňuje úroveň šedi na jednotlivých bodech ROI. Změnou prahu lze separovat dva body, které odpovídají minimálnímu jasů v levé části úsečky a pravé části úsečky. Tyto stěžejní body v profilu úsečky jsou vyznačeny na obrázku č. 8 čísly 1 a 2. V poli *Number of Valleys* je zobrazen počet detekovaných bodů pod tímto prahem.

Technický postup digitálního zpracování je následující: Přetažení úsečky přes snímání obraz zaznamená tuto událost a zapíše do proměnné souřadnice úsečky. V každém novém snímku kamery jsou použity tyto souřadnice, dokud nedojde k novému zadání, úsečka je zobrazena v každém snímku. Úsečka je pomocí bloku *Convert line to ROI* transformována na ROI, ve které dochází k dalšímu zpracování. Dalším blokem (*IMAQ ROIprofile*) je generován profil úsečky a zobrazen v samostatném grafu. Významná funkce *IMAQ Peak-Valley* pod, resp. nad, zvoleným prahem. Následně jsou funkcí *Draw Edges Position* vykresleny detekované body v obraze, a to počáteční a koncový. Výpočet těchto bodů je prováděn v každém snímku, poloha bodů se tak s kontrakcí buňky mění.

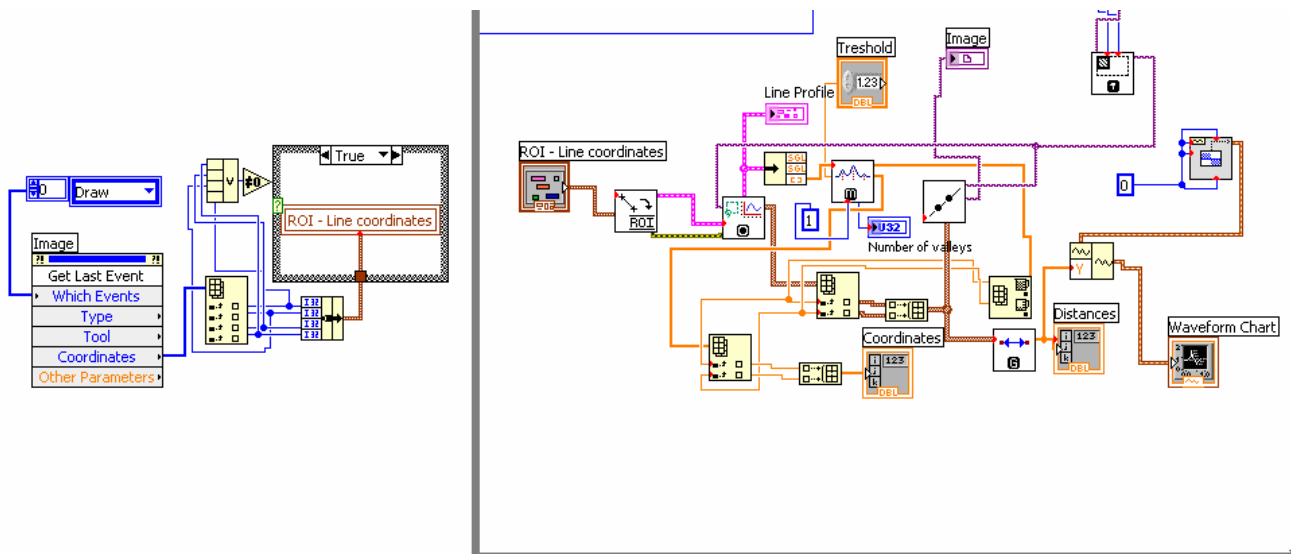
Ukázka detailu stahujícího se kardiomyocytu je na obr. 9. Světle zelenou barvou je označena vyznačená úsečka (ROI) a červenou barvou detekovaný počáteční a koncový bod.



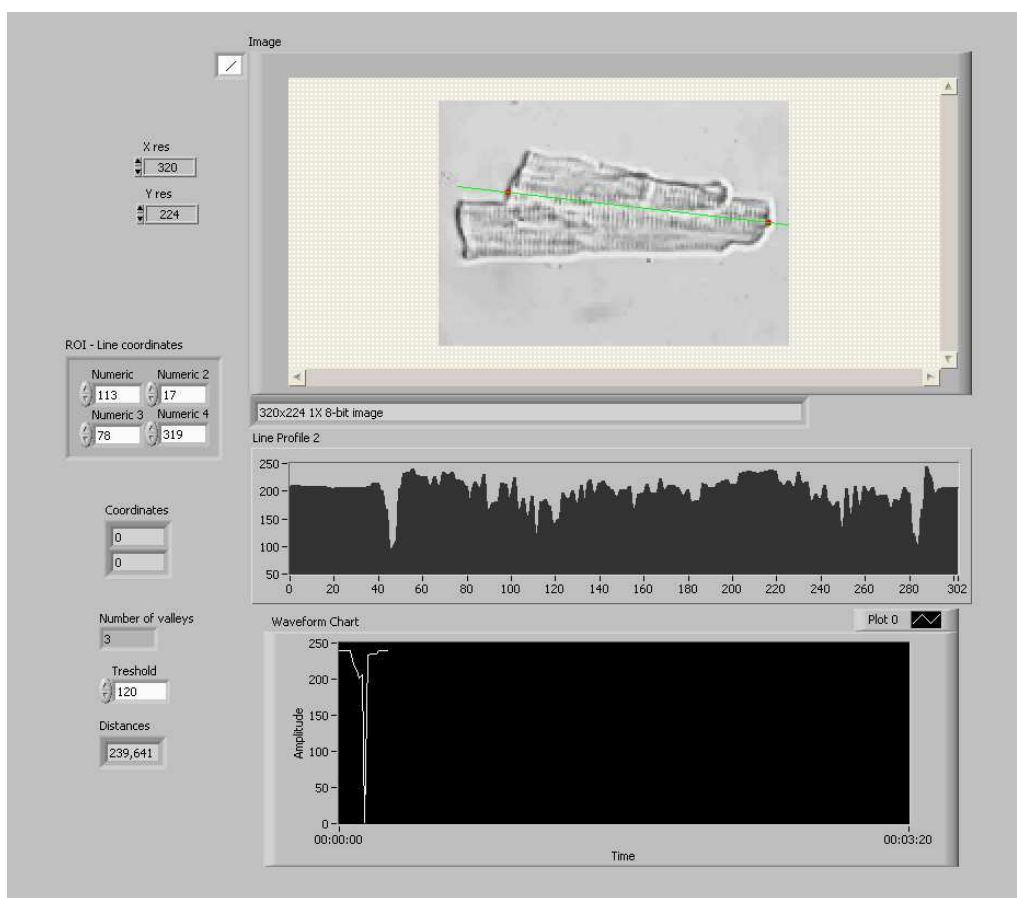
Obr. č. 9: Ukázka detekce bodů na buňce.

Na obr. 10 je uveden výřez z programu LabVIEW, jde o úsek zajišťující měření a zobrazení kontrakce.

Na obr. 11 je uveden hlavní panel pro ovládání, zobrazení a vyhodnocení kontrakce buňky s příkladem zpracování. Jde o zpracování kontrakce z pořízeného videozáznamu. Spodní graf vykresluje relativní vzdálenost detekovaných bodů, což odpovídá grafickému vyhodnocení kontrakce buňky.



Obr. č. 10: Řešení měření kontrakce v LabVIEW.



Obr. č. 11: Ovládací panel pro vyhodnocení kontrakce ze záznamu.

ZÁVĚR

Představený systém přináší zajímavé programově - přístrojové řešení zařízení pro snímání kontrakce izolované srdeční buňky. Toto zařízení může sloužit jednak k výzkumné činnosti na Ústavu biomedicínského inženýrství VUT v Brně a také jako demonstrační pomůcka při výuce předmětu Biofyzika a Bioelektrické jevy.

Část pro generování impulzů a stimulaci buňky a také snímací kamerová část jsou v konečné verzi. Naopak část zajišťující zpracování a vyhodnocení kontrakce je zatím v základní verzi umožňující další možnosti modifikace a rozšíření, které nabízí LabVIEW moduly IMAQ a Vision. Tato část může být rozšířena například o různé typy hranové detekce, segmentace nebo o zpracování obrazu pomocí morfologických operací.

Programové vybavení má i přes mnohé výhody, kterými je například možnost snímání a zpracování v reálném čase, několik omezení. Jedním z nich může být omezená podpora kamer pro snímání v LabVIEW. Systém umožňuje použít jen část z širokého spektra dostupných CCD a CMOS kamer různých výrobců a různých typů.

LITERATURA

- [1] KVAPIL, R. – Kardiomyopatie a genetika [online]. 2008 [cit. 2009-03-10]. Dostupný z WWW: <<http://http://www.vetweb.cz/projekt/clanek.asp?pid=2&cid=5665/>>.
- [2] BURSTEIN, B., NATTEL, S. Atrial Fibrosis: Mechanisms and Clinical Relevance in Atrial Fibrillation [online]. 2008 [cit. 2009-03-10]. Dostupný z WWW: <http://content.onlinejacc.org/cgi/content-nw/full/51/8/802/>.
- [3] Translational bioscience 2003 - 2008 [online]. [cit. 2009-03-10]. Dostupný z WWW: <http://www.tcd.ie/IMM/translational_bioscience_2003_2008/img/spiers3.jpg>.