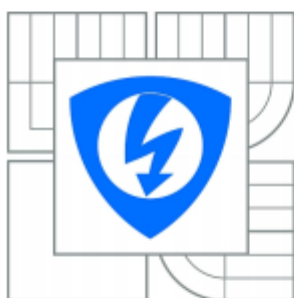




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA ELEKTROTECHNIKY A KOMUNIKAČNÍCH
TECHNOLGIÍ

ÚSTAV BIOMEDICÍNSKÉHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF ELECTRICAL ENGINEERING AND COMMUNICATION
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL ENGINEERING

MĚŘENÍ A ZPRACOVÁNÍ ELEKTROGRAMŮ

ELECTROGRAM PROCESSING AND ANALYSIS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

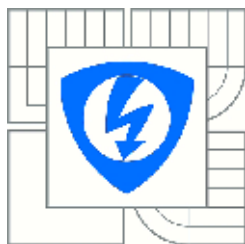
AUTHOR

Bc. Pavel Hanák

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

ING. OTO JANOUŠEK



**VYSOKÉ UČENÍ
TECHNICKÉ V BRNĚ**

**Fakulta elektrotechniky
a komunikačních technologií**

Ústav biomedicínského inženýrství

Diplomová práce

magisterský navazující studijní obor
Biomedicínské a ekologické inženýrství

Student: Pavel Hanák

ID: 98587

Ročník: 2

Akademický rok: 20011/2012

NÁZEV TÉMATU:

Měření a zpracování elektrogramů

POKYNY PRO VYPRACOVÁNÍ:

1) Proved'te literární rešerši měření elektrogramů optickou metodou. Zaměřte se na problematiku šumu, který toto měření znehodnocuje a dále pak na možnosti automatické detekce charakteristických parametrů akčního potenciálu z elektrogramů. 2) Formulujte hlavní cíl práce směřující k návrhu odstranění všech typů rušení doprovázejících měření a návrhu metod pro automatickou detekci charakteristických parametrů akčních potenciálů. 3) Vyhodno'te použitelnost navržených metodik. 4) Navrhněte programové řešení algoritmů vybraných metodik v programovém prostředí MATLAB. Dále v grafickém prostředí programového nástroje Matlab (GUI) vytvořte aplikaci umožňující vykreslení elektrogramů v originální formě i po aplikaci navržených metod pro odstranění rušení, a vyhodnocení parametrů akčního potenciálu. 5) Proved'te návrh metodiky pro ověření navržených postupů na reálných datech a navrženou metodu ověřte. 6) Proved'te diskuzi získaných výsledků a zhodno'te účinnost a využitelnost řešení.

DOPORUČENÁ LITERATURA:

[1] ROSENBAUM D.S., JALIFE J., Optical Mapping of Cardiac Excitation and Arrhythmias, Futura Publishing Company, New York, 2001, ISBN: 0-87993-481-6

[2] NORTHROP R.B., Signals and systems analysis in biomedical engineering, CRC Press, London, 2003, ISBN: 0-8493-1557-3.

Termín zadání: 6.2.2012

Termín odevzdání: 18.5.2012

Vedoucí práce: Ing. Oto Janoušek

doc. Ing. Radim Kolár, Ph.D.

Předseda oborové rady

UPOZORNĚNÍ:

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

ABSTRAKT

Cílem projektu bylo seznámit se s problematikou měření elektrogramů z živé tkáně. Dále bylo cílem prostudování měření elektrogramů optickou metodou a s ním spojené typy rušení. Hlavním cíle práce bylo následné odstranění těchto nežádoucích vlivů. Odstranění rušení bylo provedeno v programovém prostředí Matlab pomocí filtrace dolní propusti a vlnkovou transformací. V praktické části práce byla vytvořena aplikace v grafickém prostředí Matlabu (GUI).

KLÍČOVÁ SLOVA

Optické měření, Langendorffův model, LED, fotodioda, pohybový artefakt, akční napětí, dolní propust, vlnková transformace, Matlab.

ABSTRACT

The aim of the study was focused on problem of electrograms recording from alive tissue. Study of electrograms recording was extended with noise analysis and its elimination. Elimination of noise and disturbance was made in program Matlab; lowpass filtration and wavelet transformation was used. Application for electrograms analysis was developed in latter part of this work.

KEYWORDS

Optical measuring, Langendorff model, LED, photodiode, motion artefact, action potential, lowpass, wavelet transform, Matlab.

HANÁK, P. *Měření a zpracování elektrogramů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2011. 43 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Oto Janoušek.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že svou diplomovou práci na téma Měření a zpracování elektrogramů jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou všechny citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce.

Jako autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že v souvislosti s vytvořením této diplomové práce jsem neporušil autorská práva třetích osob, zejména jsem nezasáhl nedovoleným způsobem do cizích autorských práv osobnostních a/nebo majetkových a jsem si plně vědom následků porušení ustanovení § 11 a následujících zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, včetně možných trestněprávních důsledků vyplývajících z ustanovení části druhé, hlavy VI. díl 4 Trestního zákoníku č. 40/2009 Sb.

V Brně dne: 18. května 2012

.....
(podpis autora)

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji vedoucímu diplomové práce ing. Oto Janouškovi za účinnou metodickou, pedagogickou a odbornou pomoc a další cenné rady při zpracování mé diplomové práce.

V Brně dne: 18. května 2012

.....
(podpis autora)

OBSAH

1	Úvod.....	1
2	Srdce	2
2.1	Stavba srdce	2
3	Elektrická aktivita srdce.....	4
3.1	Převodní systém srdce	4
3.2	Šíření vzruchů srdcem	5
3.3	Řízení srdeční frekvence	6
4	Elektrická aktivita srdeční buňky	7
4.1	Elektrické jevy na membráně	7
4.2	Buněčná membrána	7
4.2.1	Membránové napětí.....	8
4.2.2	Klidové membránové napětí	8
4.2.3	Pasivní transport iontů přes membránu	9
4.2.4	Aktivní transport iontů přes membránu	9
4.3	Akční potenciál.....	10
5	Mechanická aktivita srdce.....	11
6	Měření elektrogramů.....	13
6.1	Měření akčního napětí	13
7	Typy rušení při snímání elektrogramů optickou metodou.....	15
7.1	Zdroje excitačního světla.....	15
7.2	Fotodetektory emisního světla.....	16
7.3	Pohybový artefakt.....	18
7.4	Další typy rušení	19
8	Návrh odstranění rušení v programovém prostředí Matlab.....	28
8.1	Filtrace signálu dolní propustí	21
8.2	Filtrace signálu vlnkovou transformací	25
9	Charakteristické parametry akčních potenciálů.....	30
10	Vytvoření grafické prostředí programového nástroje Matlab (GUI)	34
11	Závěr.....	35
12	Seznam použité literatury.....	37

1 Úvod

Srdce patří mezi nejdůležitější orgány lidského těla. Slouží jako výkonná pumpa, která svými kontrakcemi zajišťuje oběh krve v cévách, tepnách, žilách. Rozvádí tak živiny do celého těla. Během jediné minuty dokáže přečerpávat až 6 litrů krve. Při zátěži, kdy srdce musí pracovat rychleji, je to i více. Normální tepová frekvence se pohybuje kolem 70 tepů/min. Sportovci mají nižší klidovou tepovou frekvenci, než „netrénovaný“ člověk. [8]

Srdce podléhá vlivům různých chorob, které způsobují jeho poruchy, jako jsou např. infarkt myokardu, arytmie srdce, ischemická choroba srdeční, angína pectoris, nebo poškození srdečních chlopní. Aby bylo možno tyto poruchy diagnostikovat, je potřeba snímat elektrickou aktivitu srdce. K tomu účelu obvykle slouží elektrokardiogram (EKG). EKG se získává pomocí přístroje nazývaného elektrokardiograf, využívajícího 12 svodů. Obvykle se využívá 6 unipolárních hrudních svodů (V1-V6), 3 unipolární svody (aVR, aVL, aVF) a 3 bipolární končetinové svody (I, II, III). Kromě konvenčního měření pomocí EKG lze elektrickou aktivitu srdce snímat optickou metodou.

Tato práce se zabývá měřením elektrogramů optickou metodou. Na rozdíl od běžného EKG, snímaného z povrchu kůže, se při použití optické metody záznam elektrogramu snímá přímo ze stěn srdce (invazivně), a to měřením akčního napětí (U_A) z povrchu srdce za pomoci napětově citlivého barviva, při kterém nedojde k narušení srdeční tkáně.

Optická metoda je náchylná na nežádoucí výskyt rušení a proto tato práce je zaměřena na prostudování různých typů rušení, které doprovázejí měření elektrogramů optickou metodou a návrh jejich odstranění.

Návrh na odstranění těchto typů rušení, které provázely změřený signál akčního potenciálu (AP), proběhl s využitím programového prostředí Matlab. Práce se zabývá zejména odstraněním rušení dolní propustí (DP) a vlnkovou transformací (DTWT). Práce dále vyhodnocuje charakteristické parametry akčního potenciálu, mezi které patří např. amplituda, rychlost náběhu AP a jiné.

2 Srdce

Srdce je dutý orgán, který se svou rytmickou činností (systola a diastola) podílí na oběhu krve v krevním řečišti a na udržování krevního tlaku. Má velikost sevřené pěsti. Je uloženo mezi plícemi v dutině hrudní za hrudní kostí. Ze srdce vystupují velké cévy, kterými proudí krev z těla do srdce (žíly) a ze srdce do těla (tepny). [7]

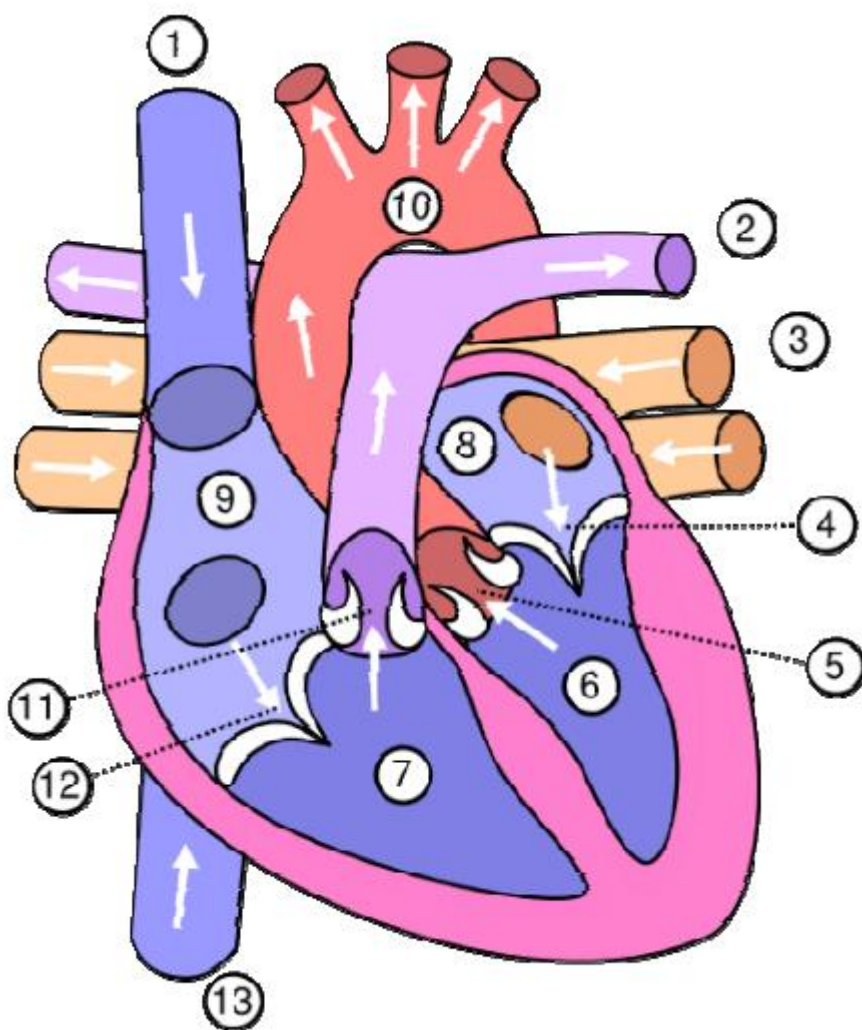
2.1 Stavba srdce

Stěna srdce je tvořena třemi vrstvami – endokardem, myokardem, epikardem. Endokard je tenká vazivová blanka vystýlající vnitřek srdce a pokrývající také povrch všech srdečních chlopní. Tloušťka blanky se pohybuje mezi 50 a 200 μm a zabraňuje prosakování krve ze srdce. Vrstva srdeční svaloviny (myokard) tvoří hlavní složku stěny srdce a je tvořena zvláštním typem svalové tkáně. Vnější povrch myokardu je pokryt serosním povrchovým povlakem – epikardem. [1, 2]

Srdce je rozděleno na pravou a levou část přepážkami. Přepážky dělí srdce na tzv. pravé a levé srdce. Každá část srdce obsahuje komoru a předsíně. Komory a předsíně jsou od sebe odděleny cípatými chlopněmi. Do pravé předsíně ústí horní a dolní dutá žíla, přivádějící neokysličenou krev z těla. Z pravé komory vystupuje plicní tepna, která přivádí odkysličenou krev ze srdce do plic. Do levé předsíně je z plic plicními žilami přiváděna okysličená krev, které se potom z levé komory pomocí aorty dostává do těla. [1, 2]

Srdeční chlopně jsou vychlípeniny endokardu, vyztužené vazivovými vlákny. V místech všech srdečních chlopní a rovněž mezi nimi jsou dále ještě podpůrné prstence, tvořené hustým fibrozním vazivem. Mezi pravou předsíní a pravou komorou se nachází trojcípá chlopeň, která stejně jako dvojcípá chlopeň mezi levou předsíní a levou komorou zabraňuje zpětnému toku krve z komor do předsíní při komorovém stahu (systole). Ve výtokové oblasti obou komor se nacházejí poloměsíčné chlopně (aortální a pulmonální), které při uvolnění komor (diastole) zabraňují zpětnému nasátí krve z tepen do srdce. Všechny srdeční chlopně tedy umožňují pouze jednosměrný průtok krve. Otevírání a uzavírání chlopní je dáno rozdílnými tlaky na obou stranách chlopní. Při zpětném toku krve se okraje chlopní přikládají těsně k sobě, čímž uzavírají chlopněvé ústí a opačný tok krve tak znemožňují. [1]

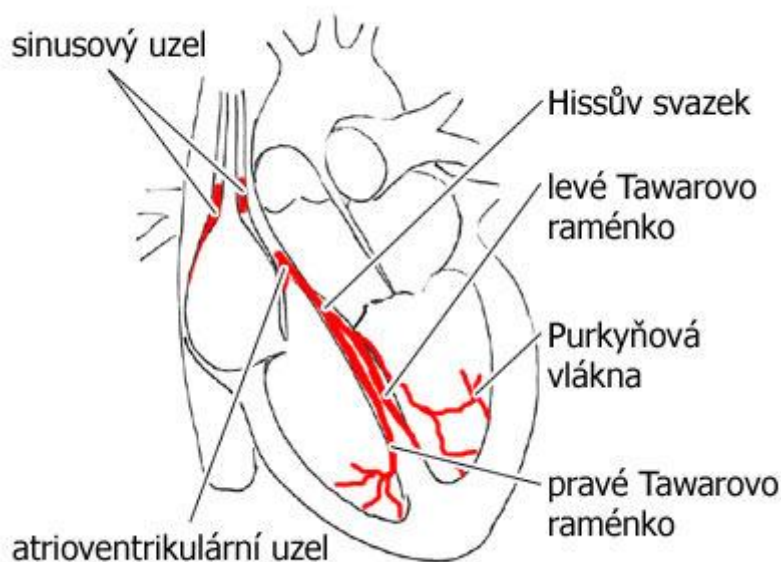
Anatomie srdce je zobrazena na obr. 1.



Obrázek 1: Stavba srdce: (1) Horní dutá žíla, (2) Plicní tepny, (3) Plicní žíly, (4) Mitrální – dvojcípá chlopeň, (5) Poloměsíčitá – aortální chlopeň, (6) Levá komora, (7) Pravá komora, (8) Levá předsíň, (9) Pravá předsíň, (10) Aorta, (11) Poloměsíčitá – pulmonální chlopeň, (12) Trojcípá chlopeň, (13) Dolní dutá žíla [1].

3 Elektrická aktivita srdce

3.1 Převodní systém srdce



Obrázek 2: Převodní systém srdce [3].

Převodní systém srdce (viz obr. 2) se skládá ze sinoatriálního uzlu a atrioventrikulárního uzlu, dále z Tawarových ramének, Hisova svazku a dalších vláček. [1, 2, 3]

Jednotlivé části lze definovat takto:

SA uzel je lokalizován v pravé síni v oblasti vyústění v.cava superior. V tomto uzlu vznikají vzruchy, které jsou šířeny směrem z AV uzlu.

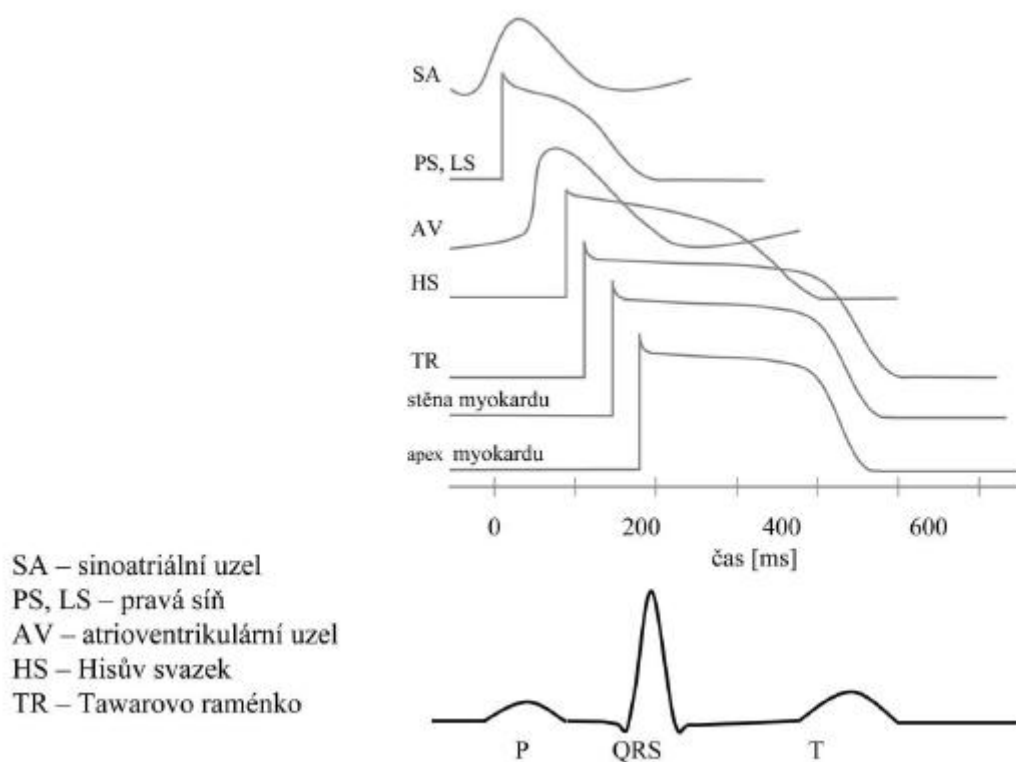
AV uzel je lokalizován v srdeční stěně na rozmezí pravé síně a komory. Produkuje vzruchy o frekvenci 40/min. AV uzel je řízen sympatickým a parasympatickým uzlem. Při ztrátě koordinace mezi SA a AV uzlem dochází k rozdílné odpovědi síní a komor, která se projevuje poruchou srdečního rytmu.

Hisův svazek se nachází v mezikomorové přepážce, z jejíž horní části prostupuje levé Tawarovo raménko, které se dělí na přední a zadní svazek vláken a pokračování levého raménka je pravé raménko Tawarovo a obě vlákna jsou umístěny před endokardem, dále navazují k jednotlivým částem obou komor jako Purkyňova vlákna.

Purkyňova vlákna realizují rozvod vzruchu ke konečným receptorům srdečního svalu.
[3]

3.2 Šíření vzruchů srdcem

SA je zodpovědný za šíření vzruchu a patří do převodní soustavy srdce. SA uzel udává srdeční frekvenci (kolem 70/min). Šíření vzruchu v AV uzlu je pomalé. AV uzel je druhým bodem, který řídí srdeční frekvenci. Pomocí Hisova svazku, Tawarova raménka a Purkyňova vlákna je veden vzruch do myokardu komor. Hisův svazek, Tawarova raménka a Purkyňova vlákna jsou dalším bodem převodního systému srdce, jejich frekvence je 30-40/min. Vzruchy, které dosáhnou myokardu, je možné zaznamenat jako sérii akčních potenciálů, nebo jako EKG. Složením jednotlivých akčních potenciálů vznikne výsledný elektrogram (viz obr. 3), kde na horní části jsou vykresleny jednotlivé akční potenciály na jednotlivých uzlech srdce, a na spodním obrázku je vykreslen elektrogram, vzniklý jejich sumací). Akční potenciál, který přes Purkyňova vlákna dosáhne myokardu, způsobí kontrakce buněk. [3]



Obrázek 3: Šíření vzruchů srdcem [2].

3.3 Řízení srdeční frekvence

Srdeční činnost řídí autonomní nervový systém – ANS, pomocí sympatických a parasympatických nervu.

Vliv parasympatiku na srdeční činnost:

Parasympatikus snižuje tepovou frekvenci a sílu srdeční kontrakce. Zpomaluje síňokomorový převod a snižuje vzrušivost myokardu. Přenos vzruchu je zprostředkován acetylcholinem.

Vliv sympatiku (taktéž Vagu):

Sympatikus zvyšuje srdeční frekvenci a sílu srdeční kontrakce. Zrychluje síňokomorový převod a zvyšuje vzrušivost myokardu. Přenos vzruchu zprostředkovává noradrenalin.

Reflexní řízení

Reflexní řízení představuje další ze systému řízení tepové frekvence. Patří mezi ně například řízení srdeční činnosti v závislosti na krevním tlaku. Změna krevního tlaku je snímána baroreceptory v oblouku aorty. Při zvýšení krevního tlaku sympatikus tlumí karotické siny a tím dojde k poklesu tepové frekvence a následně i poklesu krevního tlaku. [3]

4 Elektrická aktivita srdeční buňky

Předchozí kapitola popisovala globálně elektrické jevy na srdci, zatímco v této kapitole jsou popisovány elektrické jevy na membráně srdeční buňky.

4.1 Elektrické jevy na membráně

K šíření vzruchu tkání dochází při podráždění buňky. Na plazmatické membráně se vyskytuje elektrický potenciál, který je dán rozdílem koncentrací kladně nabitých kationů a záporně nabitých anionů vně a uvnitř buňky. Buňky jsou schopny svůj membránový potenciál měnit pomocí bílkovinných přenašečů, např. iontové kanály, nebo pumpy, až k hodnotě akčního potenciálu. [1]

Buňky srdečního svalu jsou buňky vzrušivé. Akční potenciál srdečních buněk trvá delší dobu než u jiných vzrušivých tkání. Buňky srdce můžeme dělit na pracovní myokard, jehož funkce je kontrakce, a převodní systém, který tvoří vzruchy. [3]

4.2 Buněčná membrána

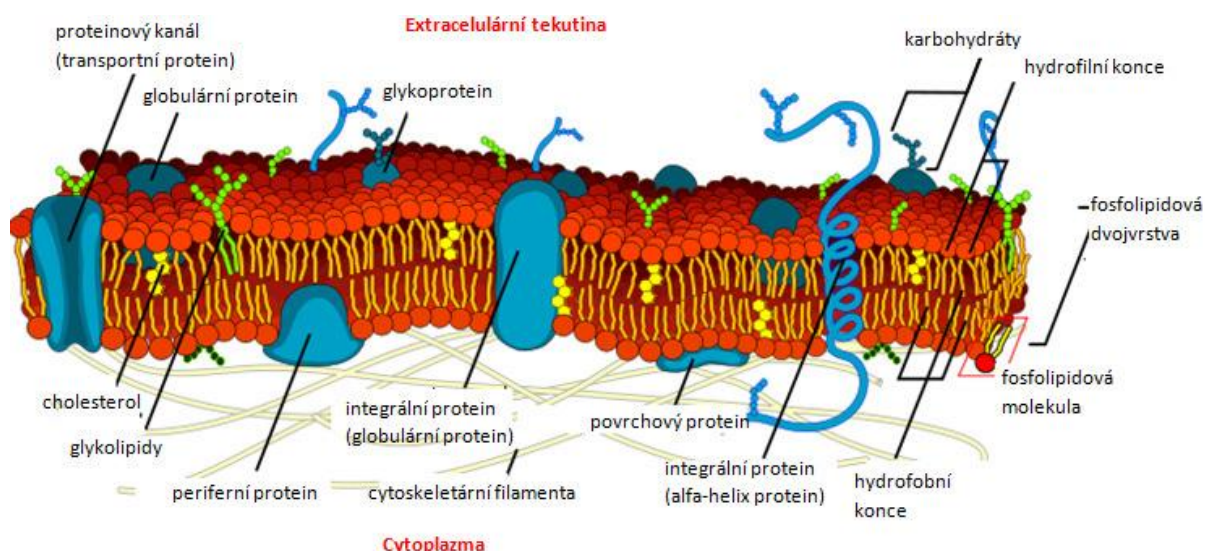
Základem buněčné membrány je fosfolipidová dvojvrstva (tloušťka cca 7,5 nm). V membráně jsou obsažené proteiny, které jsou zodpovědné za aktivní transport Na^+ z buňky a K^+ dovnitř buňky. Proteiny dělíme na kanály a přenašeče. Jejich úkolem je přenos iontu přes membránu. Situaci ilustruje obr. 4.

Přenašečové systémy

Nejdůležitějším systémem je sodíko-draslíková pumpa, která vytěsňuje Na^+ ionty a mění je za K^+ ionty, čímž zajišťuje různou koncentraci iontu v extracelulárním i intracelulárním prostředí. Sodíko-draslíková pumpa potřebuje pro svoji činnost přísun energie, kterou získává z adenosintrifostátu – ATP štěpením na adenosindifosfát a fosfátovou skupinu. Koncentrační spád iontu Na^+ a K^+ na buněčné membráně vede k vytvoření elektrického napětí, které slouží k vytváření nových akčních impulzů. [3]

Membránové kanály

Membránové kanály jsou bílkovinné molekuly zajišťující přenos iontu mezi intracelulárním a extracelulárním a prostředím. Propustnost kanálu je řízena chemickými vazbami látek, napětím na membráně a dalšími vlivy. Podle druhu propuštěných iontu nazýváme kanály sodíkové, draslíkové, vápníkové a chloridové. [2, 3]



Obrázek 4: Buněčná membrána [3].

Aktivní transport buněčných iontů dává vzniknout membránovému napětí.

4.2.1 Membránové napětí

Membránové napětí je rozdíl elektrických potenciálů na vnější a vnitřní straně buněčné membrány. Membránové napětí lze měřit pomocí dvou elektrod, přičemž jedna je umístěná vně buňky a druhá uvnitř. Klidové membránové napětí se pohybuje okolo -90mV až -50mV. Při dosažení prahové hodnoty napětí začnou vzrušivé buňky generovat akční napětí, které způsobí změnu iontové propustnosti membrány. Přenos akčního napětí mezi buňkami probíhá tak, že buňka, v níž vzniklo akční napětí, vyvolá podráždění nevybuzené sousední buňky, která se depolarizuje až na spouštěcí hodnotu. [1, 3]

Změny membránového napětí jsou charakteristickým projevem vitality srdeční buňky a jsou proto v této práci měřeny. Srdeční buňka se může nacházet ve dvou stavech. Prvním stavem je tzv. stav klidového membránového napětí, druhým stavem je přítomnost akčního potenciálu. V následující části práce budou oba stavy detailně popsány.

4.2.2 Klidové membránové napětí

Na membráně, která se chová jako izolační dielektrikum, vzniká díky nerovnoměrnému rozložení elektrického náboje vně a uvnitř buňky potenciálový rozdíl – membránové napětí, které je v klidovém stavu uvnitř buňky vždy záporné, zatímco vně buňky je vždy kladné. Při klidovém membránovém napětí se buněčná membrána označuje jako polarizovaná.

Na klidovém membránovém potenciálu se podílí především koncentrace iontů draslíku (K^+) a v menší míře koncentrace iontů sodíku (Na^+), vápníku (Ca^{2+}) a chloru (Cl^-). Uvnitř srdeční buňky převažuje koncentrace draselných iontů až 30x hodnotu koncentrace těchto

iontů vně buňky, zatímco vně buňky převažují koncentrace sodíkových (až 10x) a chloridových iontů.

Fosfolipidová dvojvrstva buněčné membrány je v klidu pro elektricky nabitě částice prakticky nepropustná, s výjimkou selektivní propustnosti pro ionty draslíku. Transport ostatních iontů přes membránu je přesto možný prostřednictvím bílkovinných přenašečů (např. iontových kanálů). Vzhledem k volné průchodnosti iontů přes membránu buňky ať už selektivně nebo transportními kanály, mají ionty tendenci přecházet po koncentračním gradientu z vnitřního (intracelulárního) prostředí buňky do prostředí vnějšího (extracelulárního) nebo naopak, se snahou vyrovnat koncentrační rozdíly iontů mezi oběma prostředími. [1, 2, 3]

Transport iontů přes membránu může být dvojí: pasivní a aktivní.

4.2.3 Pasivní transport iontů přes membránu

Pasivním transportem rozumíme průchod látek buněčnou membránou bez nutnosti dodání energie. Transport probíhá pouze jednosměrně, ve směru koncentračního gradientu. Pasivní transport může probíhat jak prostřednictvím iontových kanálů, tak pomocí bílkovinných přenašečů. Iontové kanály jsou propustné jen pro určité typy iontů nebo molekul. Hustota iontových kanálů ovlivňuje rychlost průchodu iontu nebo molekuly přes membránu. Iontové kanály mohou být trvale otevřené nebo mohou být tzv. vrátkovány. Tzn. otevírání a zavírání kanálu v důsledku změn konformací bílkovinné molekuly. K nejčastějším způsobům vrátkování patří napěťové vrátkování, kdy ke změnám konformace bílkoviny dochází při změnách elektrického napětí buněčné membrány. Další typ vrátkování je tzv. chemické vrátkování, které se vyznačuje změnou konformace bílkoviny po navázání určitého ligandu. Poslední typ vrátkování je mechanické vrátkování, které se projevuje roztážením, či smrštěním buněčné membrány. [1, 2]

4.2.4 Aktivní transport iontů přes membránu

O udržování koncentrací iontů uvnitř a vně buňky se starají mechanismy aktivního transportu. Zajišťuje přenos přes membránu proti směru koncentračního gradientu, k němuž je potřeba dodat energii.

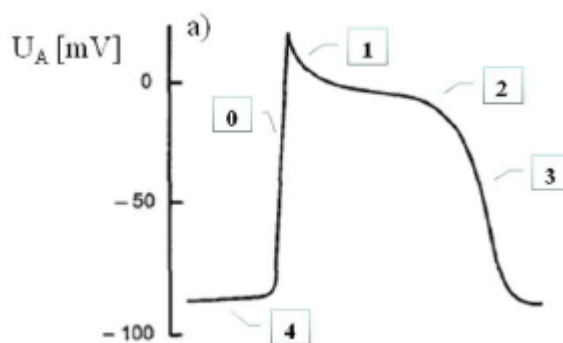
Přenos Na^+ a K^+ se aktivní transport uskutečňuje pomocí sodíko-draslíkové pumpy (viz. kap. 3.2). Tato pumpa je uložena v membráně buňky a oxidačním štěpením vazeb molekul adenosintrifosfátu (ATP) působením enzymu $\text{Na}^+ \text{K}^+$, získává potřebnou energii pro transport.

Základem sodíko-draslíkové pumpy je integrální bílkovina buněčné membrány, která zajišťuje transport iontů a molekul ve dvou fázích. V první fázi se bílkovinná molekula přenašeče na vnitřní straně membrány aktivuje K^+ za vzniku komplexu Na^+ a bílkovina, který se na vnější straně membrány rozpadne za uvolnění Na^+ . Druhá fáze spočívá v navázání K^+ na změněnou molekulu bílkoviny za vzniku komplexu K^+ a bílkovina. Fáze končí uvolněním draselných iontů na vnitřní straně membrány. Sodíko-draslíkovou pumpou se mohou oba typy iontů přenášet v různých poměrech. Nejčastěji však v poměru 3:2, kdy se čerpají 3 ionty Na^+ ven z buňky a 2 ionty K^+ do buňky. [1, 2]

Souslednost dějů popsaných výše dává vzniknout klidovému membránovému napětí. Reakcí buňky na přivedený vzruch je akční potenciál.

4.3 Akční potenciál

Akčním potenciálem rozumíme změnu napětí na membráně některých tzv. vzrušivých buněk. Je-li při napěťové změně překročeno určité prahové napětí, dojde k rychlému růstu napětí a následnému přepólování buňky až do kladných hodnot, poté se napětí vrací zpět do klidového stavu. Při přepólování se do záporně nabitě buňky dostávají iontovými kanály kladně nabité ionty, čímž se buňka stává kladnější. Toto je označováno jako depolarizace. Přepólování membránového napětí do kladných hodnot se označuje jako transpolarizace. Při návratu napětí zpět ke klidovým hodnotám do buňky vnikají záporné ionty, buňka se tak stává zápornější, a tento děj je nazýván repolarizací [2, 3]. Jednotlivé fáze akčního potenciálu zobrazuje obr. 5.



Obrázek 5: Akční potenciál, 0 - depolarizace, 1 - nespojitý přechod depolarizace, 2 - plató, 3 - repolarizace, 4 - klidové napětí [2].

Dříve než bude v práci popsáno měření elektrické aktivity srdce, je třeba popsat jeho mechanickou aktivitu. Ta s elektrickou aktivitou koreluje a v případě optického záznamu působí rušivým vlivem.

5 Mechanická aktivita srdce

Srdeční svalovina (myokard) je zvláštním typem svalstva, které kombinuje některé vlastnosti příčně pruhované svaloviny a zároveň některé vlastnosti hladkého svalstva. Příčně pruhovanému kosternímu svalstvu se myokard podobá mechanismem kontrakce a také příčným pruhováním svalových buněk (myocytů). Hladkému svalstvu se srdeční sval podobá zase tím, že není ovlivnitelný vůlí a že se mezi srdečními buňkami nacházejí těsná spojení typu gap junctions (nexy). Srdeční svalovinu lze z hlediska vlastností charakterizovat elektrickou dráždivostí, vodivostí, automacií a stažlivostí (kontraktibilitou):

- **Dráždivost** je schopnost podráždění myokardu elektrickým vzruchem.
- **Vodivost** myokardu je schopnost vést vzruch vzniklý elektrickým podrážděním.
- **Automacie** srdce je schopnost si v pravidelném rytmu vytvářet vlastní vzruchy (elektrické potenciály).
- **Stažlivost** je schopnost myokardu reagovat stahem na podráždění – koná mechanickou práci.

Myokard rozlišujeme dvojího typu: pracovní myokard a vodivý myokard. Některé části srdce, tzv. převodní systém srdeční, jsou tvořeny vodivým myokardem, který je specializován pouze pro tvorbu a přenos elektrických signálů (vzruchů), které zajišťují srdeční automacii. Veškeré další buňky srdečního svalu se označují jako pracovní myokard. Buňky pracovního myokardu tvoří stěny síní, komor i přepážek mezi nimi a svými stahy zajišťují čerpání krve. Schopnost vytvářet stahy je hlavní úlohou pracovního myokardu. Automacie pracovního myokardu je minimální a projevuje se pouze při patologických okolnostech. [1, 2]

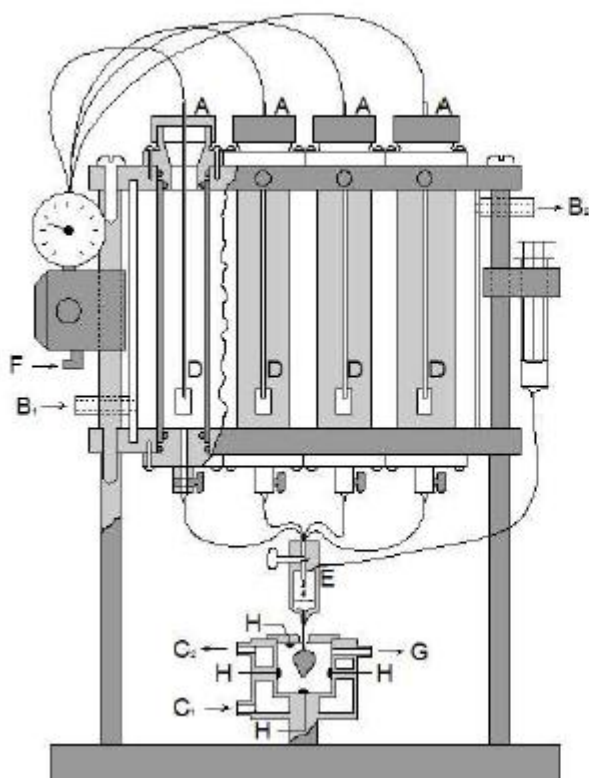
Po uvedení popisů mechanické a elektrické aktivity srdce, je možné přistoupit k popisu jejího měření.

6 Měření elektrogramů

Aby bylo možné elektrogramy měřit, musí být srdce chirurgicky vyňato z těla organismu. Vyjmutí srdce se provádí v hluboké anestezii zvířete. Nejčastěji se experimenty provádí na zvířecích srdcích, které jsou následně umístěny do perfúzního prostředí. Při experimentu se snímají různé fyzikální veličiny z povrchu srdce, jako je např. akční napětí (U_A), které se snímá na membránách buněk ze síní a komor.

Langendorffův perfúzní systém (LPS) zajišťuje nutné fyziologické potřeby izolovaného srdce během celého experimentu. Funkci srdce je pak možno sledovat pomocí různých veličin. Elektrické projevy srdce se sledují pomocí již popsaného elektrogramu.

Perfúzní systém je zařízení, které umožňuje průtok roztoku koronárním systémem izolovaného srdce – což je označováno jako perfúze. Perfúze zajišťuje zásobování srdeční tkáně důležitými látkami (kyslík, vápník, atd.) obsaženými v roztoku.



Obrázek 6: LPS systém (vlevo): A - dvouplášťová měřicí komůrka, B - snímač teploty, C – snímač teploty v nádobě, D – okysličováný roztok, E – kanyla s odstraňovačem bublin, F – systém tlakové kontroly, G – přepadový odtok, H – Ag-AgCl elektrody; LPS realizace (vpravo) [2].

Jako perfuzát se používá např. Krebs-Henseleitův (K-H) roztok, Tyrodeův, Lockeův nebo Magnusův roztok, jež se liší obsahem jednotlivých látek a způsobem použití. [2] Ukázka Langendorffova systému použitého pro perfuzi izolovaných srdcí v této práci je na obr. 6.

6.1 Měření akčního napětí

Akční napětí lze měřit dvojím způsobem: pomocí mikroelektrod, nebo s použitím napětově citlivých barviv.

Konvenční měření membránového napětí pomocí mikroelektrod je běžně užívaný přístup. Jeho použití je však omezeno tím, že intervence mikroelektrod do tkáně ovlivňuje fyziologii zkoumaného orgánu. Použití konvenčních elektrod je také svázáno s obtížemi při jejich upevnění na měřenou tkáň. Pro fixaci se používají kontaktní elektrody ve tvaru háčku, nebo se elektrody k povrchu srdce přišívají. Další možností je použití přísavných elektrod, které jsou přiloženy na tkáň a pod plochou elektrody je vytvořen podtlak [2]. Použití kontaktních elektrod je však invazivní a tkáň je porušena v místech vpichu nebo pod přísavnou elektrodou. Není-li elektroda připevněna kvalitně, může dojít k jevům spojeným s dislokací elektrod z měřeného místa vlivem kontrakce tkáně. Taková situace nastává například při zkoumání elektrofyzologie izolovaného srdce.

Druhý způsob - zobrazení U_A pomocí napětově citlivých barviv - se v posledních desetiletích stal důležitým nástrojem pro studium propagace elektrické aktivity v srdci. Umožňuje výzkum v oblasti základní srdeční elektrofyzologie, obzvláště tehdy, když není možné použít konvenční mikroelektrody. Toto snímání napětí se používá u bezkontaktních elektrod. Výhodou použití bezkontaktních elektrod je možnost dlouhodobého měření ze stejného místa srdce. [2, 12]

Využívá napětově citlivá barviva, která se navážou na buněčnou membránu a vyvolají tak změnu svých optických vlastností na základě změny napětí. Optický senzor využívá elektrochromismu, kdy změna barevného odstínu detekovaného světla je způsobená změnou elektrického proudu nebo změnou rozdílu potenciálů v důsledku změny elektrické veličiny. Mezi napětově citlivá barviva patří např. *di - 4 - ANEPPS*, *RH - 421*, *RH - 237*, *WW - 781* a *Rhodamin123*. [2, 4]

Napětově citlivé barvivo

Jako optický senzor pracují molekuly napětově citlivého barviva, které se naváží na vnější vrstvu lipidů v buněčné membráně. Molekuly jsou excitovány elektromagnetickým zářením příslušných vlnových délek ve viditelné oblasti. Po excitaci molekula změní svůj energetický stav. Molekuly mohou existovat jen v určitých energetických stavech, proto

absorbují světlo pouze určitých vlnových délek. Návrat do stabilního stavu je provázen emisí světla na jiné vlnové délce, než je vlnová délka excitačního světla. Spektrum emitovaného světla vykazuje rozdíly při excitaci barviva při různých hodnotách U_M .

Napětově citlivé barvivo by mělo mít následující vlastnosti:

- Dobrá návaznost barviva na buněčnou membránu a následná reakce vyvolaná změnou U_M .
- Barvivo musí reagovat změnou fluorescence nebo změnou absorpce při změně U_M .
- Změna barviva musí být závislá pouze na změně U_M .
- Barvivo nesmí způsobovat nechtěné změny preparátu (toxické, farmakologické).
- Stabilita barviva - stejná intenzita emitovaného světla pro různou dobu excitace barviva.

Ve skutečnosti se však vlastnosti napětově citlivého barviva těmto ideálním vlastnostem blíží. Pro kontinuální záznam U_M optickou metodou, musí napětově citlivé barvivo splňovat navíc podmínku rychlé odezvy. V případě elektrochromismického barviva je odezva po excitaci přibližně 10^{-12} s. Odezva emise je přibližně za dalších 10^{-6} s. Celková časová odezva barviva je $10^{-12}+10^{-6}$ s. Nejrychlejší změna U_M je v průběhu depolarizace (náběžná hrana U_A), která trvá přibližně 1ms. [2]

Napětově citlivá barviva mají dvě nevýhody – nemožnost změřit absolutní hodnotu U_A a rušení zaznamenávaného signálu vzniklé pohybovým artefaktem. Naměřený signál (U_A) je snímán z kontrahujícího srdce a lze jednoduše odvodit, neboť je dobře znám. Během kontrakce srdce mění svůj objem a s tím je spojena měnící se vzdálenost srdeční stěny od fotodetektoru. [2]

7 Typy rušení při snímání elektrogramů optickou metodou

Optická metoda je považována za metodu schopnou zachytit velmi detailní změny v průběhu zaznamenávaného akčního potenciálu. Na rozdíl od konvenčního elektrogramu tato metoda zaznamenává individuální repetice akčního potenciálu, jejichž amplituda je velmi malá. Měření signálů s velmi malou amplitudou je velmi náchylné na vliv rušení. Tato práce se proto v následujících kapitolách zabývá analýzou šumových vlastností jednotlivých komponent, které se pro konstrukční řešení optické metody používají. Jinými slovy, tato kapitola se bude zabývat rušením při snímání elektrogramů, které je nejčastější příčinou znehodnocení signálu.

První komponentou, kterou je třeba analyzovat vliv šumu, je zdroj excitačního světla.

7.1 Zdroje excitačního světla

Pro optické měření U_M z povrchu izolovaného srdce se používají barviva, která jsou excitována v oblasti viditelného světla. Používá se excitace elektromagnetickým zářením v oblasti modrého a zeleného světla. Intenzita excitačního světla se musí zvolit s ohledem na intenzitu emisního světla. Z toho plyne fakt, že nedostatečné osvětlení srdce vede k nedostatečné emisi světla a tudíž malé hodnoty U_M . Nevýhodou je, že velká část emitovaného světla se vyzáří do prostoru. Při snímání malých intenzit světla je potřeba mít detekční plochu detektoru co nejbližší zdroji světla - srdeční tkáni. Pokud se vyskytne problém, kdy detektor nelze umístit poblíž srdce, používají se tzv. čočky pro usměrnění, jak excitačního, tak emitovaného světla.

Pro excitaci se pro optické mapování používají různé zdroje:

- Halogenové nebo xenonové lampy se používají pro optické mapování větších ploch a používají se žárovky s výkonem 100 - 300W. Světlo je širokopásmové a pro excitaci je nutno optickým filtrem vybrat pouze úzkou část spektra podle excitačních vlastností použitého barviva. Výhoda je velká svítivost, delší životnost, nekolísá světelný tok, neobjevuje se žádný šum, který by ovlivňoval měření signálu, generují méně tepla. Za nevýhodu se dá považovat cena.

- Laser je zdroj monochromatického světla o vlnové délce např. v modré oblasti 488nm a v zelené oblasti 532nm . Výkony laseru závisí na velikosti osvětlované plochy. Osvětluje se vždy pouze malá plocha mm^2 nebo cm^2 a výkony laseru pak jsou 1mW – 5W . Za nevýhody se dá považovat tepelná nestabilita, která může negativně ovlivňovat generovaný signál (kvanta fotonů). Tento problém by se dal řešit účinným chlazením daného zařízení. Další nevýhodou může být často eliptický astigmatický svazek, který se projevuje osvětlením ve tvaru úsečky, místo bodu.
- LED diody generující úzkopásmové světlo jsou kompromisem mezi výše uvedenými typy zdrojů. Výhodou je, že pracují s malými hodnotami proudu a napětí, mohou vyzařovat světlo jakékoliv barvy bez použití barevných filtrů. Nevýhodou je menší svítivost (ovlivňování měřeného signálu), vyšší náklady, než je tomu např. u Xenonové lampy, nejsou schopné dobré směrovosti svazku - což vede k nepřesnému osvětlování preparátu. Možné je také rušení vyvolané pohybem fotonů přes PN přechod, které se na výstupu šíří všemi směry. Světlo bílých LED může zkreslovat barvy. Jako usměrnění světla lze použít optických čoček.

Pro snímání emitujícího světla se používají detektory, které svými vlastnostmi mohou výrazně ovlivnit výsledný šum, jimž je zaznamenávaný signál nepříznivě modifikován. Proto je důležité věnovat se šumovým vlastnostem optických prvků pro záznam signálu a zvolit pro konstrukční řešení záznamové aparatury nejvhodnější z nich.

7.2 Fotodetektory emisního světla

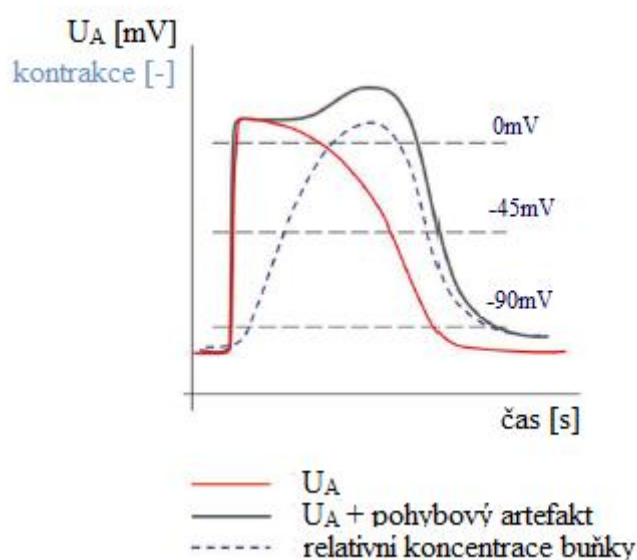
- **Fotodioda** se používá pro detekci emitovaného světla v úzkém pásmu zvolených vlnových délek. Fotodioda s citlivostí pro široké spektrum vlnových délek elektromagnetického záření lze použít v kombinaci s optickým filtrem, který propustí světlo jen o určitých vlnových délkách. Optický filtr se používá dvojího typu: pásmová nebo horní propust pro světlo s vlnovou délkou odpovídající emitovanému světlu. Fotodiody lze použít pro snímání světla s intenzitou od 10^{-13} W/cm^2 až po 10^{-1} W/cm^2 a změny intenzity jsou schopny zaznamenat v řádech pikosekund. Pro snímání U_A z velmi malé plochy srdeční tkáně (přibližně jednotky buněk) lze použít detekci pouze jedním fotodetektozem. Získaný elektrický signál je úměrný součtu okamžitých hodnot membránového napětí buněk. Nevýhoda spočívá v superponování šumu (fotonů) na užitečný signál. Mezi další nevýhody patří šumový proud za tmy, který

negativně ovlivňuje měřený signál, při neosvětlené fotodiodě. Dalším negativním ovlivněním signálu je výskyt výstřelového šumu, kvantového šumu.

- **Fotonásobič** se využívá pro měření velmi malých světelných záblesků na úrovni jednotlivých fotonů. Pomocí fotocitlivého materiálu, vstupní elektronové optiky a systému dynod a anody lze světlo velmi malé intenzity převést na elektrický signál. Tato soustava dynod je schopná zesílit slabý elektrický proud (proud elektronů) emitovaný z fotokatody zhruba milionkrát, tzn., že jeden dopadající foton na fotokatodu způsobí vznik zhruba $10^5 - 10^7$ elektronů. Časové rozlišení dosažitelné pomocí fotonásobiče se pohybuje v řádu nanosekund. Fotonásobič se také pro detekci emitovaného světla kombinuje s optickým filtrem. Snímání světla se provádí z jednoho bodu nebo z větší plochy. Pro mapování elektrické aktivity větší plochy srdce se používá jeden fotonásobič pro detekci světla z jednoho bodu a postupně se skenuje celá plocha po jednotlivých bodech v řádcích. Nevýhodou pro měření signálu proti fotodiodě je, že rušivé elementy se zde násobí díky fyzikálnímu principu fotonásobiče. Proto i malé hodnoty optického šumu ve výsledku způsobí obrovské zkreslení zaznamenávaného signálu.
- **Pole fotodiod** s citlivostí pro celé spektrum bílého světla se kombinují s optickým filtrem. Výhodou detekce světla pomocí pole fotodiod je kontinuita záznamu ze všech fotodiod najednou. Nevýhodou je velký počet opticko-napěťových převodníků a zesilovače stejných vlastností. Z toho plynou nevýhody pro snímání emitovaného signálu. V dnešní době se standardně používá až 256 fotodiod. Další nevýhody vyplývají z principu fotodiody, která je popsána výše. Nevýhody jsou umocněny použitím fotodiod v poli.
- **CCD a CMOS** kamery mají velkou rychlostí pořízení záznamu. Záznam obrazu se však provádí bod po bodu a signál není spojitý. Nejrychlejší kamery jsou schopny zaznamenat obraz 1280 x 1024 obrazových bodů $6,7 \times 6,7 \mu m$ s plným rozlišením obrazu do 1ns (např. Ultrafast CCD camera, The Cook Corp.). Jiný systém pro optické mapování z plochy o velikosti $2,5 \times 2,5 cm$ je např. systém s rychlostí záznamu 300 snímků/s při rozlišení 100 x 100 pixelů. Nevýhoda CCD kamery vyplývá z její konstrukce – pole fotodiod. Nevýhody fotodiody jsou popsány výše. Mezi nevýhodu CMOS detektoru patří malý podíl detekční plochy, tzv. fill factor. Z toho plyne snížení citlivosti detektoru, poměru S/N. Další nevýhodou je také homogenita detekční plochy, která hraje roli při detekci signálu. Naopak výhodou CMOS detektoru je malá spotřeba, rychlost.

7.3 Pohybový artefakt

Signál U_A je pohybem sledovaného objektu nepříznivě ovlivněn. Pohyb srdce působí změnu vzdálenosti tkáně vůči detektoru. Mění se tak intenzita zaznamenávaného emitovaného světla. Tím pádem je ovlivněna morfologie U_A , jak je možno vidět na obr. 7. Kromě toho kontrakce srdce způsobí změnu počtu buněk v zorném poli fotodetektoru. To změní celkovou intenzitu zaznamenávaného emitovaného světla ze srdeční tkáně. Důvodem je to, že molekuly barviva jsou navázány na membrány buňky a při kontrakci srdce se zvýší počet buněk na sledované části tkáně, což vede ke zvýšené intenzitě celkového zaznamenávaného světla. Tato změna intenzity emitovaného světla může činit 8 - 10%. [2]



Obrázek 7: Vliv pohybového artefaktu [2].

Odstranění pohybového artefaktu

- Užitím farmakologických blokátorů dojde k omezení kontrakce buněk srdce. Podaná látka ovlivní funkci vápníkových transportních proteinů. Tento druh odstranění pohybového artefaktu má i své nevýhody, a to ovlivnění elektrofyzologie buněk. Používá se jen k některým experimentům.
- Dalším bodem je filtrace signálu. Dojde tak k potlačení pohybového artefaktu, který může a nemusí doprovázet měřený signál (AP). Oba signály jsou si podobné frekvenčním rozsahem.

- Modifikace optické metody - tato modifikace bývá označována jako poměrová metoda. Akční potenciál se snímá pomocí dvou detektorů, kdy jeden detektor snímá emitované světlo na vlnové délce odpovídající náběžné hraně emisního spektra a druhý detektor snímá emitované světlo na vlnové délce odpovídající sestupné hraně emisního spektra. Při posunu spektra k vyšším vlnovým délkám je signál úměrný intenzitě emisního světla nižší u zeleného světla než u červeného světla. I když je sejmutá intenzita vyšší, poměr intenzity červeného a zeleného světla je stejný. Když je na buněčné membráně nižší napětí, spektrum emitovaného světla je posunuto k nižším vlnovým délkám. Poměr detekovaných světél se změnil - intenzita červeného světla je nižší než intenzita zeleného světla. Stejně to bude i při pohybu srdce, kdy bude intenzita detekovaného světla záviset na vzdálenosti detektoru od srdeční tkáně. [2]
- Zpracování obrazů – zaznamenávají se akční napětí měřené v jednotlivých bodech (pixelech). Eliminace artefaktu - registrace časové sekvence snímků. Nevýhoda této metody je, že odstraňuje pouze pohyb ve svislém směru. Při snímání je srdce přitlačeno na průhlednou (skleněnou) stěnu, čímž se zabrání pohybu srdce. [2]

7.4 Další typy rušení

Dalšími typy rušení mohou být:

- *Výstřelový šum* – jedná se o šum, který vzniká statickými procesy při rekombinaci jednotlivých proudových nosičů produkujících optická kvanta. Projevuje se kolísáním elektrického proudu a následným kolísáním světelného toku laseru. Tento typ šumu lze odstranit např. stabilizací napájecího napětí [6, 10].
- *Šum z napájecí sítě* – projevuje se nasuperponováním sinusového průběhu na užitečný signál. Lze jej odstranit např. filtrem pásmové zádrže v oblasti 50Hz, což je frekvence napětí ze sítě.
- *Šum fotodetektoru za tmy* – zvaný také jako proud za tmy, má větší spektrum než frekvence užitečného signálu. Je to dáno tím, že část temného šumu je způsobena použitými operačními zesilovači, které nejsou omezeny šířkou pásma signálu. Temný proud je proud, který protéká fotonásobičem při neosvětlené fotokatodě. S rostoucí

teplotou se proud zvětšuje. Proud za tmy lze omezit, nebo zmenšit, když bude fotodetektor umístěn v chlazeném prostředí.

- *Vlastní šum A/D převodníku* – může být ovlivněn vlastním šumem použitých součástek při konstrukci, nebo šumem, který vzniká při společném napájení analogové a digitální části A/D převodníku. Vhodným řešením tohoto šumu může být např. použití součástek s malými šumovými vlastnostmi, nebo v případě napájení, napájet zvlášť analogovou a digitální část A/D převodníku. [5, 11]
- *Kvantovací šum A/D převodníku* – vstupní signál může nabývat libovolné úrovně dané vstupním rozsahem. Kvantuje se do určitého počtu kvantovacích úrovní. Zde může vzniknout kvantovací chyba, neboli kvantovací šum. Tento šum lze odstranit použitím více kvantovacích úrovní, nebo použitím filtru dolní propusti, aby nedošlo k aliasingu. [5]
- *Rušení elektromagnetického pole* – jedná se o různé druhy šumu, jakou jsou např. počítačové monitory, vysokonapěťové a napěťové zdroje, výboje atd. Eliminace takového šumu se může provést např. rozdělením napájecích a signálových zemí nebo stíněním.
- *Vlastní šum zesilovačů* – šum může vzniknout několika důvody. Za prvé vlastní šum tranzistorů na vstupu. Jako další to může být rušení způsobené špatným zemněním a průnikem okolních rušivých signálů, anebo zvlnění zdroje. Pro odstranění těchto zdrojů rušení mohou být použity zesilovače s nízkým šumovým číslem, dodržení vhodného odstupu užitečného signálu od šumu, použití stabilního napájení.

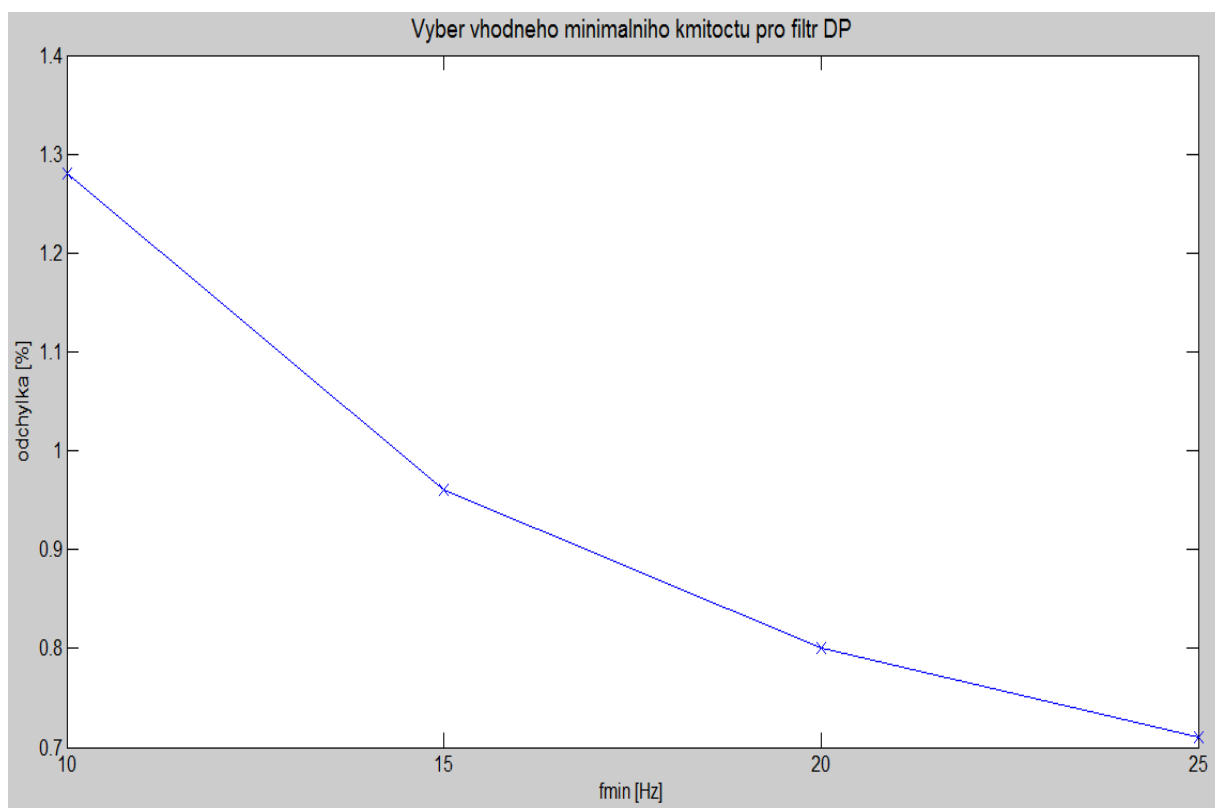
8 Návrh odstranění rušení v programovém prostředí Matlab

Prvým úkolem bylo zjistit, na kterých frekvencích se nachází užitečný signál a odlišit ho tak od šumu, který znehodnocuje analyzovaný záznam. Signál byl převeden do frekvenční oblasti pomocí Fourierovi transformace (FFT) k získání spektra signálu a kvůli možnosti určit užitečné frekvence (signálové) a odlišit je tak od šumu, jenž má být eliminován.

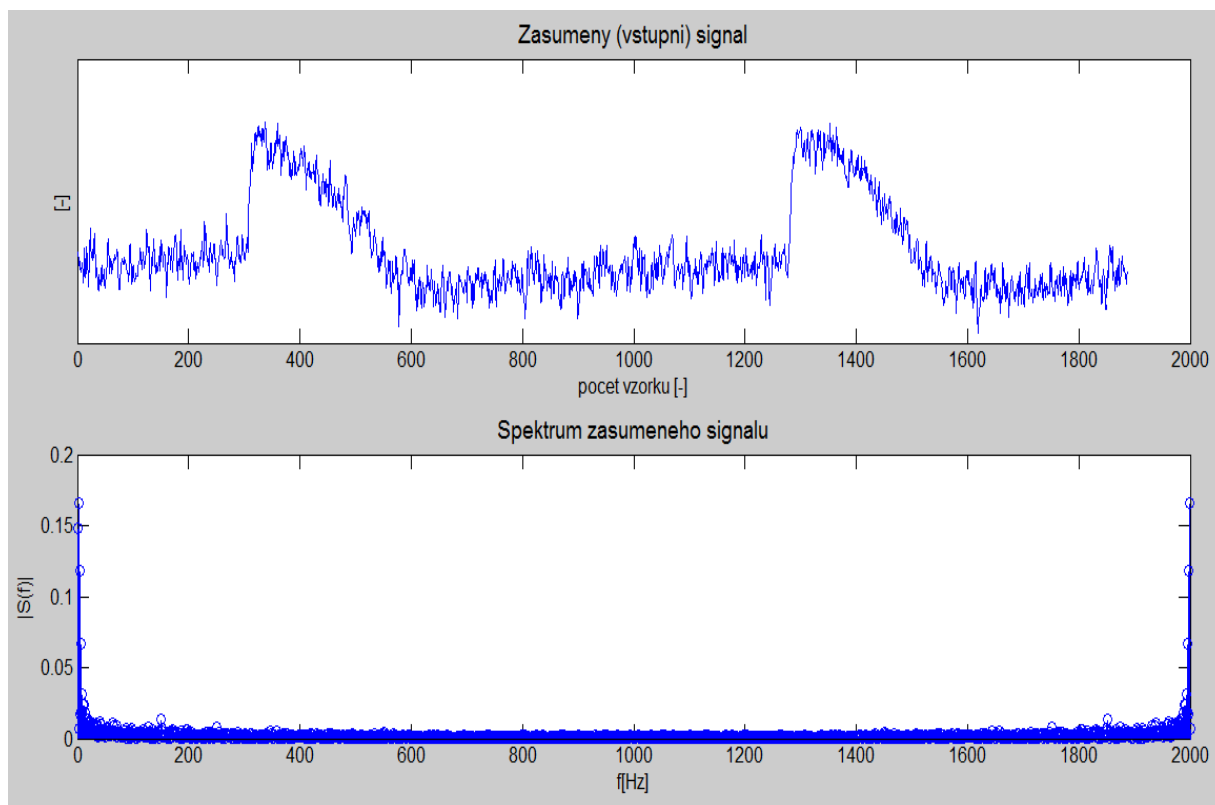
8.1 Filtrace signálu dolní propustí

Užitečný signál, který měl být vyfiltrován, byl na základě vykresleného spektra odhadnut na frekvencích od cca 1 Hz do cca 25 Hz (viz obr 10). K odstranění šumu ze signálu byla použita dolní propust, která potlačovala frekvence 30 Hz - 2 kHz. Byl použit filtr typu FIR, který má lineární fázovou charakteristiku a používá se k eliminaci takových typů rušení. Jeho amplitudová a fázová charakteristika je na obr. 11. Nelinearita fázové charakteristiky totiž vede k fázovému zkreslení, tudíž ke vzniku artefaktu, který do signálu určitě nechceme zahrnout. Obr. 9 představuje vstupní signál a jeho frekvenční spektrum. Na obr. 12 je možno vidět už filtrovaný signál po aplikaci navržené dolní propusti. Z obrázku lze vidět, že navržená filtrace byla úspěšná. Šum, který znehodnocoval signál, byl odstraněn. Obr. 13 je srovnáním zašuměného signálu a filtrovaného signálu. Důležité je také třeba zmínit zpoždění signálu po průchodu FIR filtrem, které je díky lineární fázové charakteristice konstantní a je rovno $(N-1)/2$ vzorkovacích intervalů, což odpovídá polovině délky impulzní charakteristiky h_n . Zpoždění je dáno také řádem filtru.

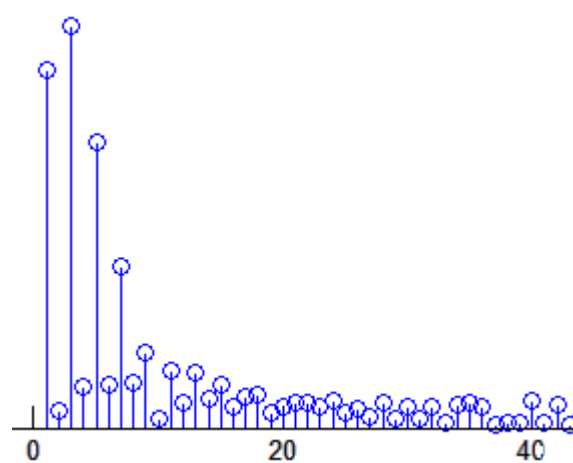
Pro správné určení $f_{\min}$ filtru DP, byl sestrojen graf závislosti frekvence na odchylce rozdílu dvou signálů (vstupní a filtrovaný (DP)). Při zkoumání nejvhodnější frekvence, změnou hodnoty $f_{\min}$, se jevila jako nejlepší hodnota s nejmenší odchylkou frekvence 25 Hz (viz. obr. 8). Křivka dále klesala i pro frekvenci 30 Hz bez známků šumu, ale nedostatkem této frekvence bylo, že filtrovaný signál neodpovídal fyziologickému tvaru akčního potenciálu.



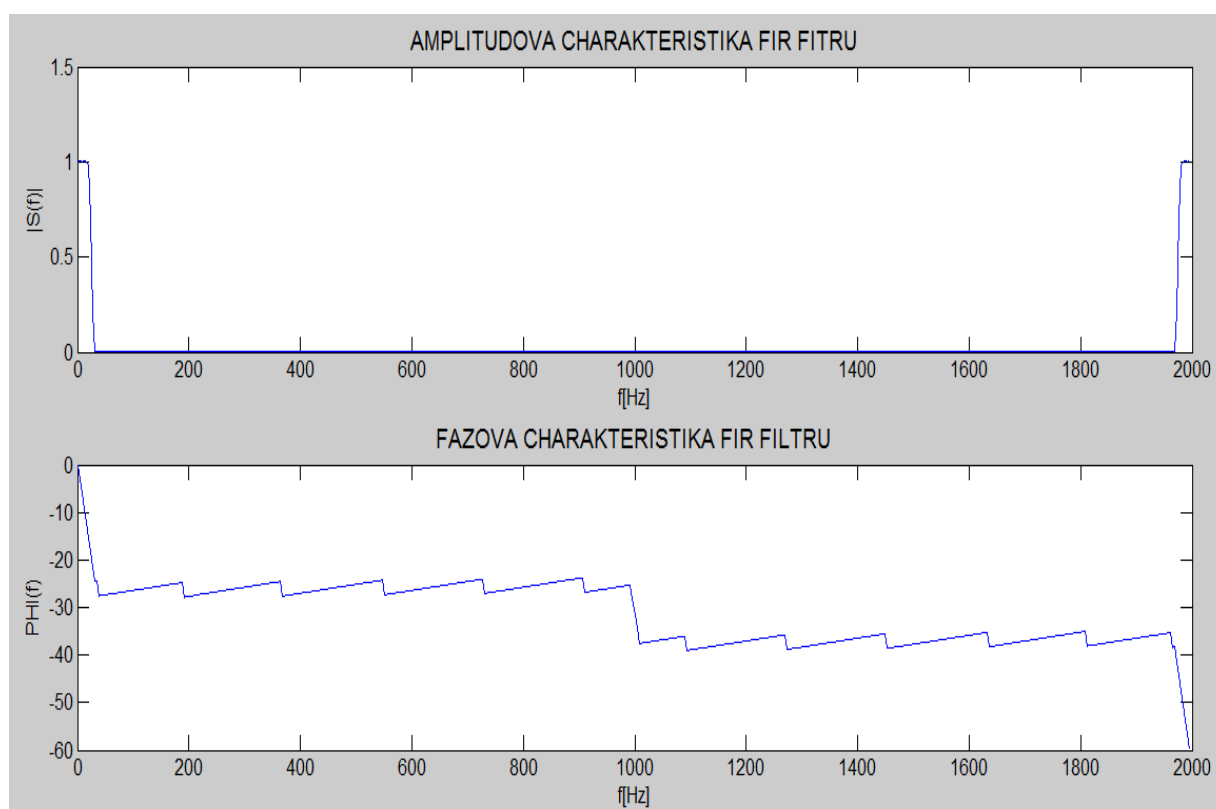
Obrázek 8: Graf závislosti odchylky na $f_{\min}$.



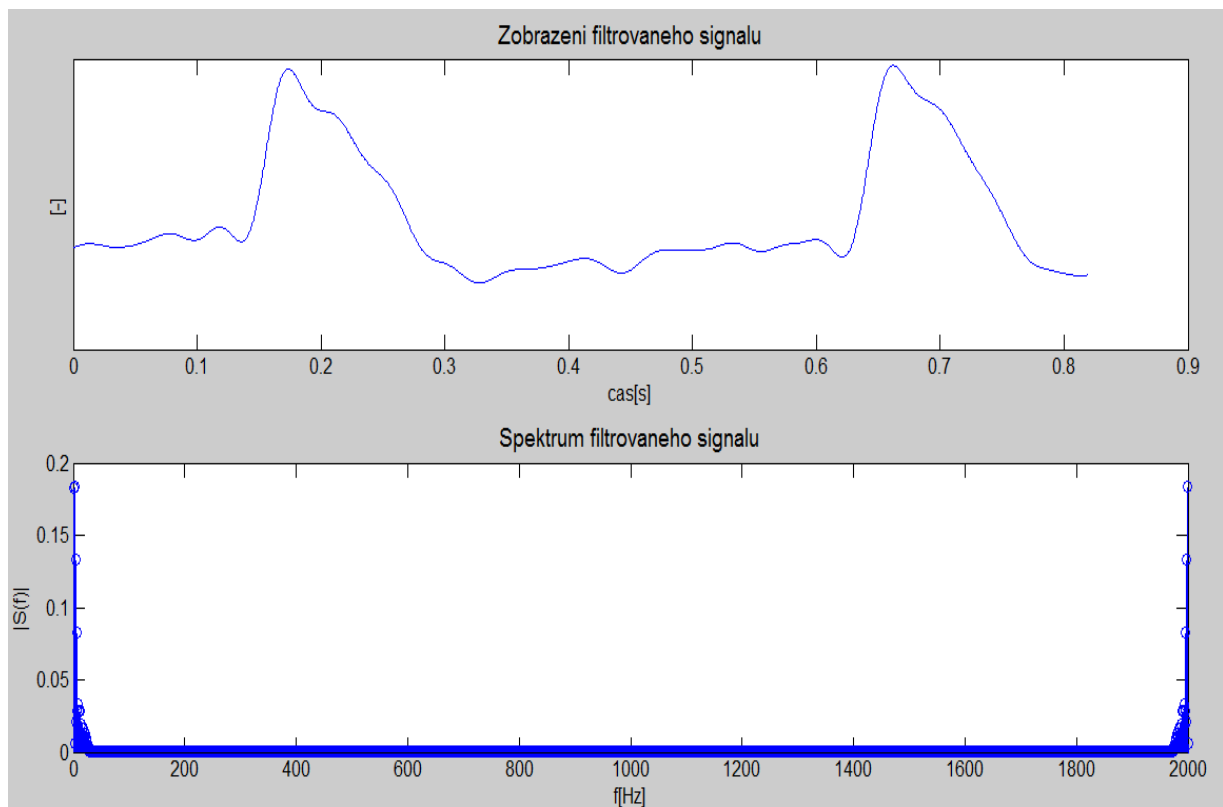
Obrázek 9: Ukázka zašuměného signálu AP a jeho spektra.



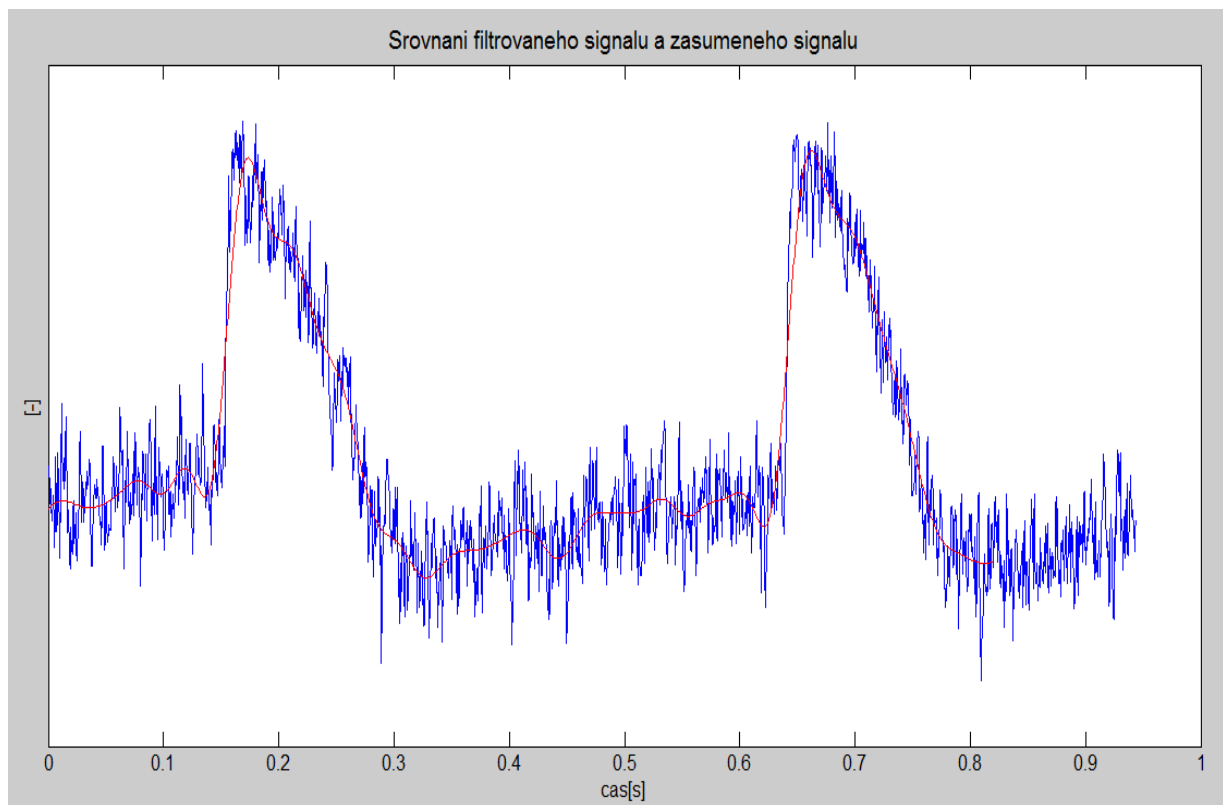
Obrázek 10: Výřez frekvenčního spektra vstupního signálu



Obrázek 11: Amplitudová a fázová charakteristika navržené dolní propusti.



Obrázek 92: Ukázka filtrovaného signálu AP filtrem dolní propusti.

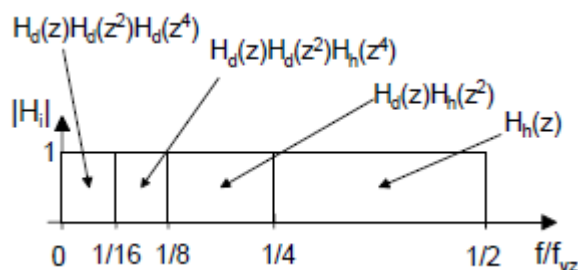


Obrázek 13: Srovnání zašuměného a vyfiltrovaného signálu AP.

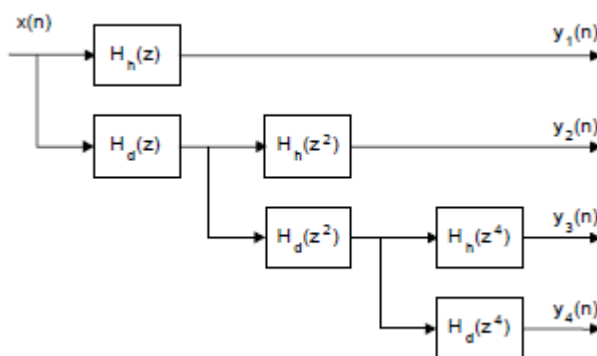
8.2 Filtrace signálu vlnkovou transformací

Další možností filtrace signálu je vlnková transformace. Byla použita redundantní vlnková transformace s diskretním časem (DTWT).

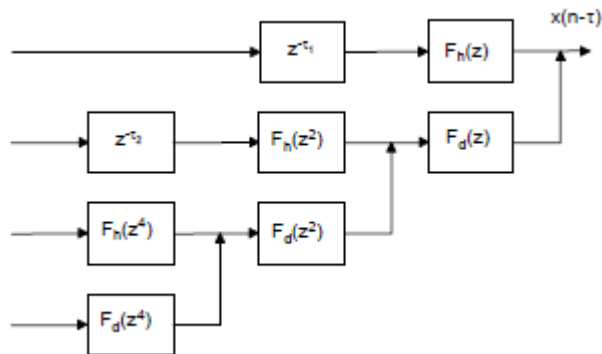
Podstatou vlnkové transformace je rozklad signálu pomocí banky oktavových filtrů, které tvoří horní a dolní propusti na pásma. Dolní propust propouští pásmo od 0 do $f_{vz}/4$. Horní propust pak $f_{vz}/4$ do $f_{vz}/2$. Navržený algoritmus používal pětistupňového rozkladu signálu. Pro jednoduchost je na obr. 14 zobrazen třístupňový rozklad signálu. Na obr. 15 a 16 je znázorněn rozklad signálu a jeho následné (inverzní) složení.



Obrázek 14: Modulové frekvenční charakteristiky ideálních oktavových filtrů.



Obrázek 15: Třístupňová rychlá redundantní DTWT s rozkladovými dolními propustmi H_d a horními propustmi H_h .



Obrázek 16: Inverzní transformace pro třístupňovou DTWT. F_d (resp. F_h) je rekonstrukční dolní (resp. horní) propust.

Rozkladové a rekonstrukční filtry pro ortogonální DTWT musí mít stejně dlouhé impulsní charakteristiky, které nejsou korelované. Vlnková transformace rozkládá signál na frekvenční pásma a v jednotlivých pásmech se snaží o úpravu koeficientů signálu, při kterých potlačuje šumové koeficienty a propouští užitečné koeficienty. Odlišení šumových koeficientů od užitečných se nastavuje prahem koeficientů DTWT.

8.2.1 Stanovení prahu koeficientů DTWT

Základními typy prahování jsou měkké a tvrdé prahování. Existuje ještě také hybridní prahování, což je v podstatě směs měkkého a hybridního prahování.

Pro tvrdé prahování:

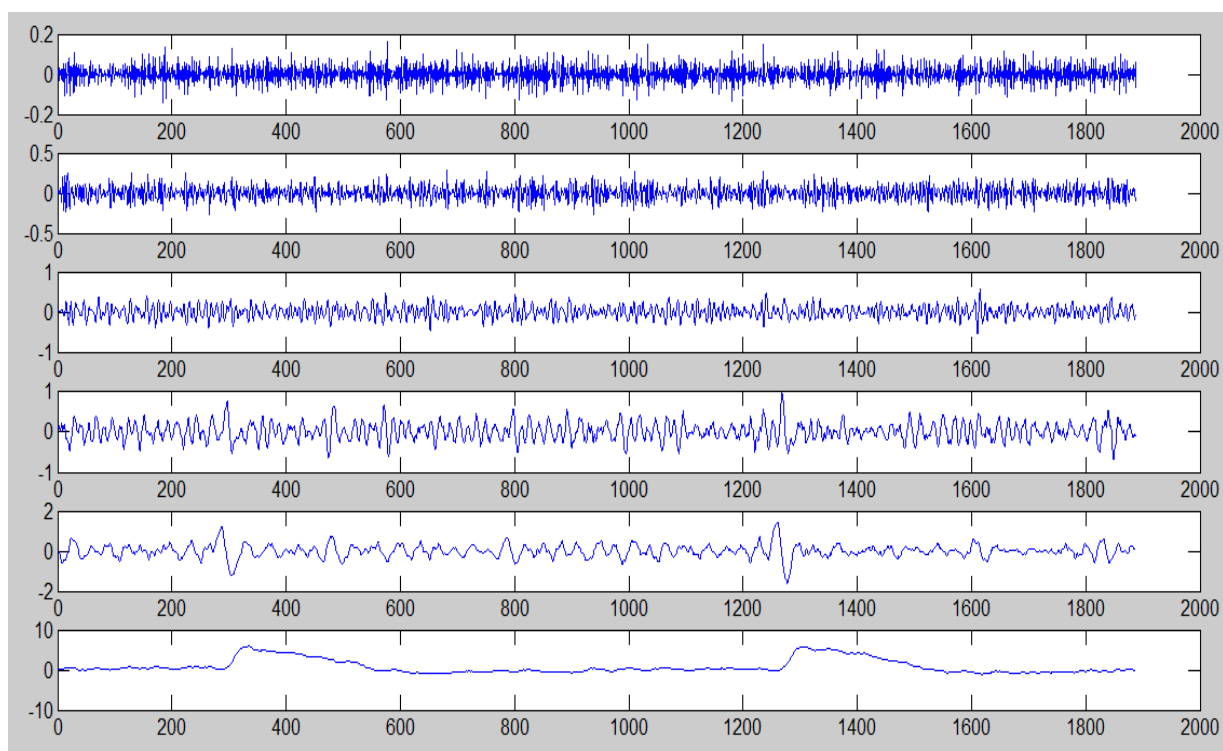
$$\lambda x = \begin{cases} x & \text{pro } |x| > \lambda \\ 0 & \text{pro } |x| \leq \lambda \end{cases} \quad (1)$$

kde λ značí práh, x vstupní signál a λx výstupní signál.

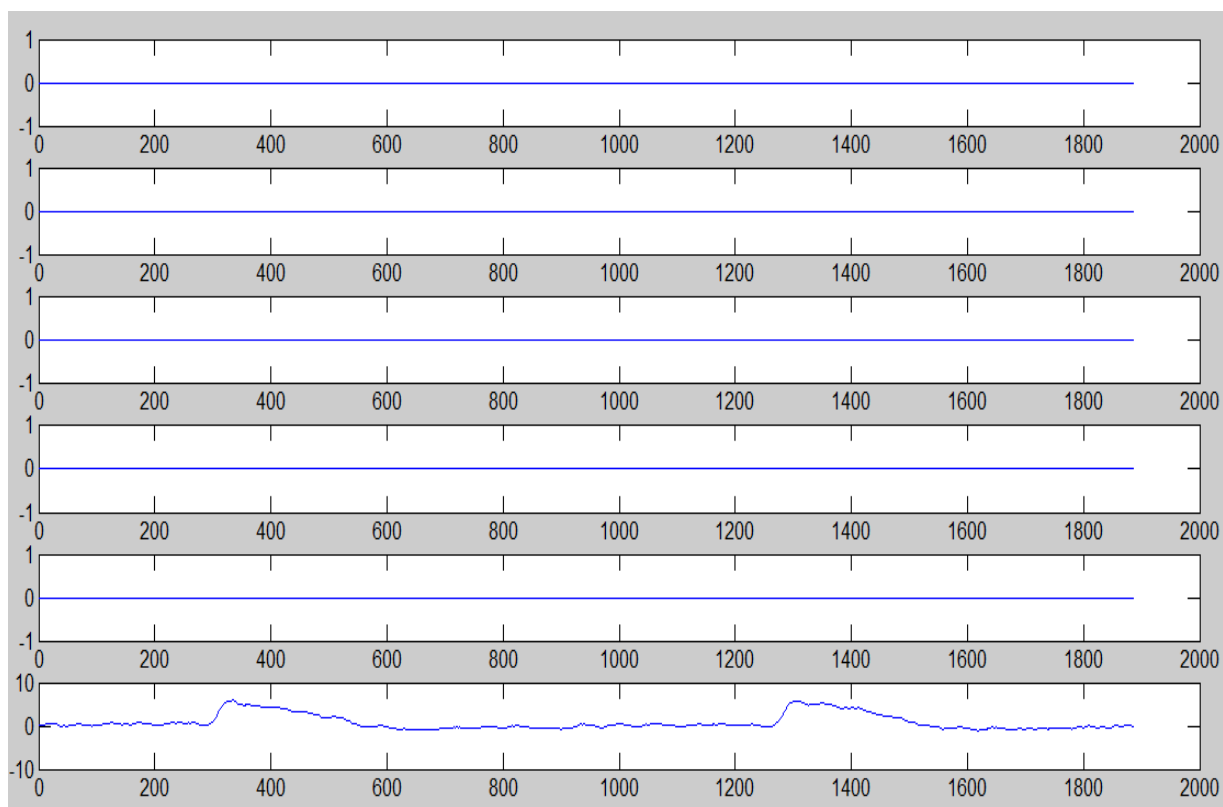
Pro měkké prahování:

$$\lambda x = \begin{cases} \text{sign}(x)(|x| - \lambda) & \text{pro } |x| > \lambda \\ 0 & \text{pro } |x| \leq \lambda \end{cases} \quad (2)$$

Po aplikaci různých typů prahování se jako nejlepší jevílo měkké prahování.

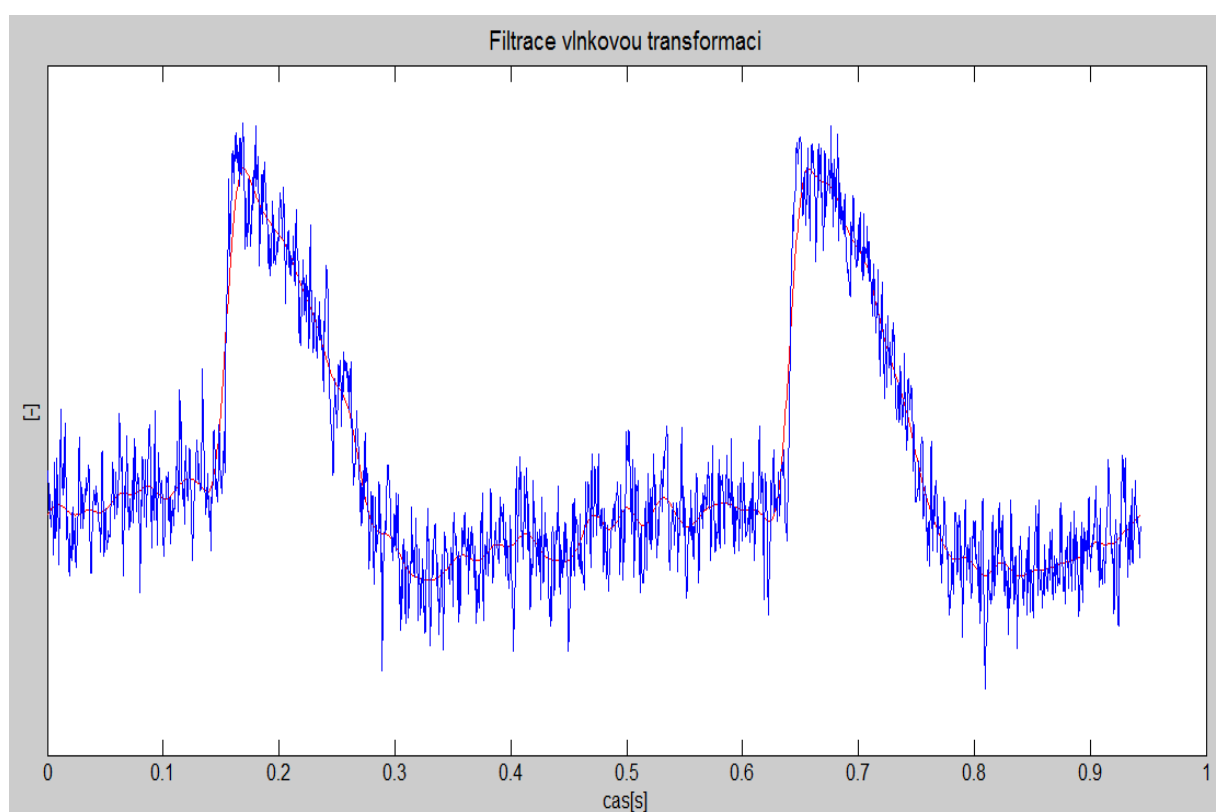


Obrázek 17: Rozklad signálu na pásma (5) a odhad šumu.

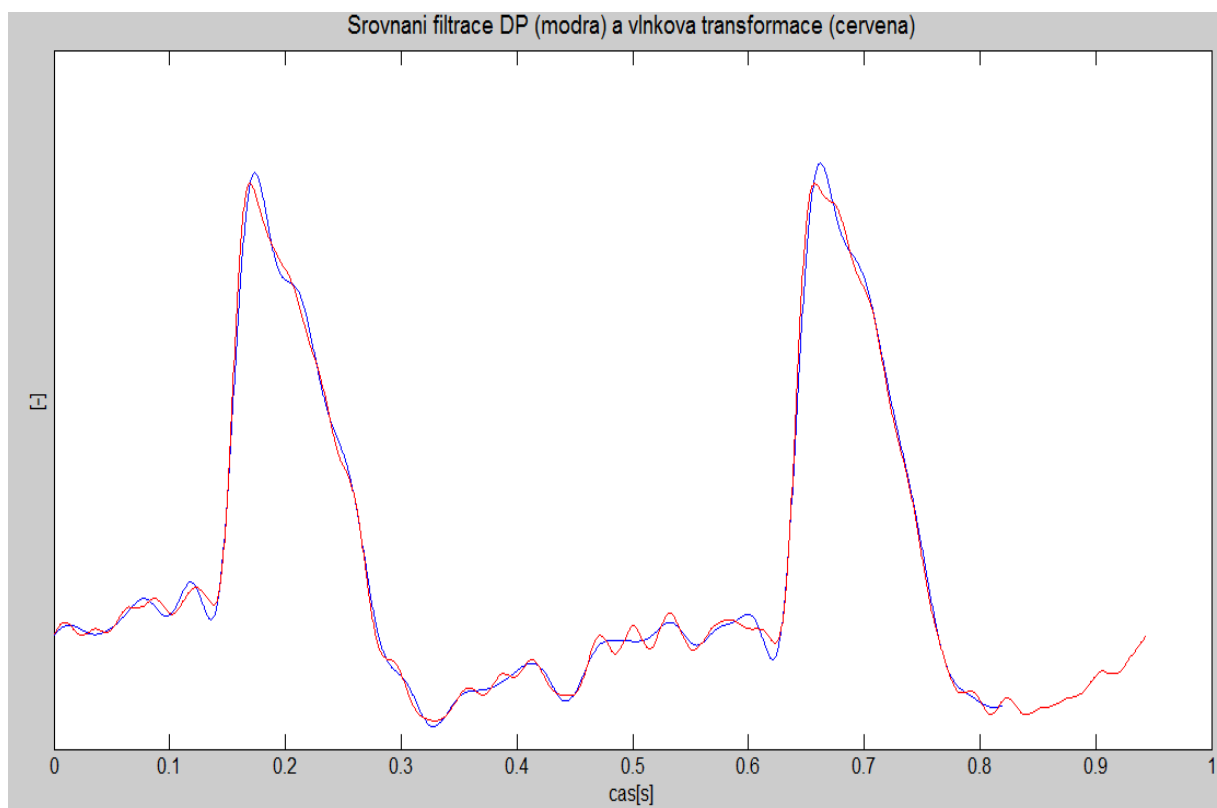


Obrázek 18: Výsledek po rekonstrukci DTWT.

Obrázek 17 znázorňuje rozklad signálu na jednotlivá pásma a odhad rozptylu šumu v jednotlivých pásmech. V prvních čtyřech pásmech (1000 Hz – 62,5 Hz) je vidět, že se zde objevuje hodně koeficientů šumu. Až v pátém pásmu (62,5 – 31,25) se objevují koeficienty užitečného signálu. Úkol pro vlnkovou transformaci byl, aby tyto koeficienty šumu potlačil. Výsledek potlačení koeficientů šumu je zřejmý z obr. 18. Inverzním rozkladem, čili složením signálu zpět do jednoho pásma, byl vytvořen filtrovaný signál, jenž je zobrazen na obr. 19. Potlačení a propouštění jednotlivých koeficientů se nastavuje prahem, který je uveden v kap. 5.2.1.



Obrázek 19: Ukázka filtrace vlnkovou transformací.



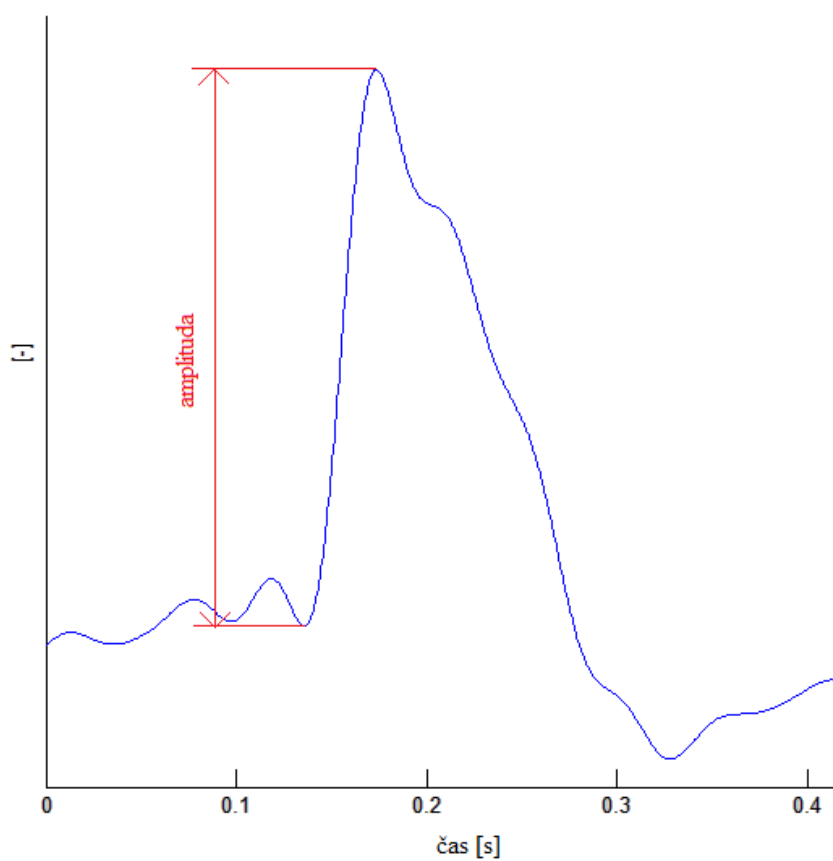
Obrázek 20: Ukázka srovnání filtrovaného signálu DP (modrá), vlnková transformace (červená).

Na obr. 20 jsou porovnány obě filtrace, modrá reprezentuje dolní propust (DP), červená vlnkovou transformaci. Jak lze sledovat, rychlost/strmost depolarizace je téměř totožná, kdežto ve fázi plató je možno si všimnout, že filtrovaný signál DP má výraznější fázi plató, než signál, který byl filtrovaný vlnkovou transformací. U DP se objevuje strmější repolarizační fáze, než je tomu u vlnkové transformace. V rozmezí 0,3s – 0,6s filtrace DP filtrovala signál lépe – neobjevuje se tak zjevné „kolísání“ signálu. Dalo by se říct, že má hladší průběh. Signál filtrovaný vlnkovou transformací má menší amplitudu, než je tomu u DP. Z hlediska zhodnocení průběhu akčního potenciálu na tom je lépe filtrace vlnkovou transformací, z důvodu hladšího průběhu v rozmezí 0,1s – 0,3s, který je cílem zájmu pro další zkoumání/hodnocení.

9 Charakteristické parametry akčních potenciálů

1) Amplituda akčního potenciálu

- Se vypočítá jako rozdíl mezi překmitem a RMP (resting membrane potencial)
- je vyjádřena v mV
- rozsah bývá 90 – 110 mV
- u optického měření nelze určit amplitudu, je vyjadřována pouze v procentech



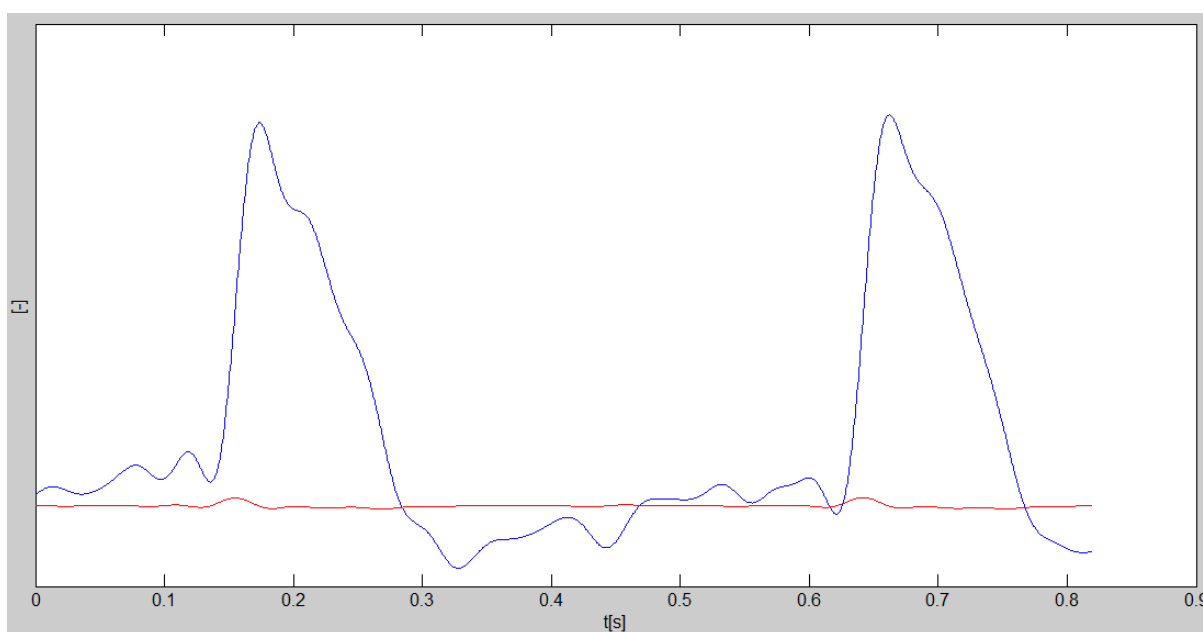
Obrázek 21: Amplituda akčního potenciálu.

Srovnání amplitud obou filtrovaných průběhů:

Filtrovaný signál filtrem DP měl velikost amplitudy 90,26 %, zatímco filtrovaný signál vlnkovou transformací měl velikost amplitudy 86,06 %. Lze tedy vidět, že filtrovaný signál vlnkovou transformací má menší amplitudu, než signál filtrovaný dolní propustí.

2) Maximální rychlost zdvihu AP

- počítána jako derivace (nejvyšší hodnoty/AP)
- jednotkou je mV / ms
- typická hodnota je 150-750 mV / ms



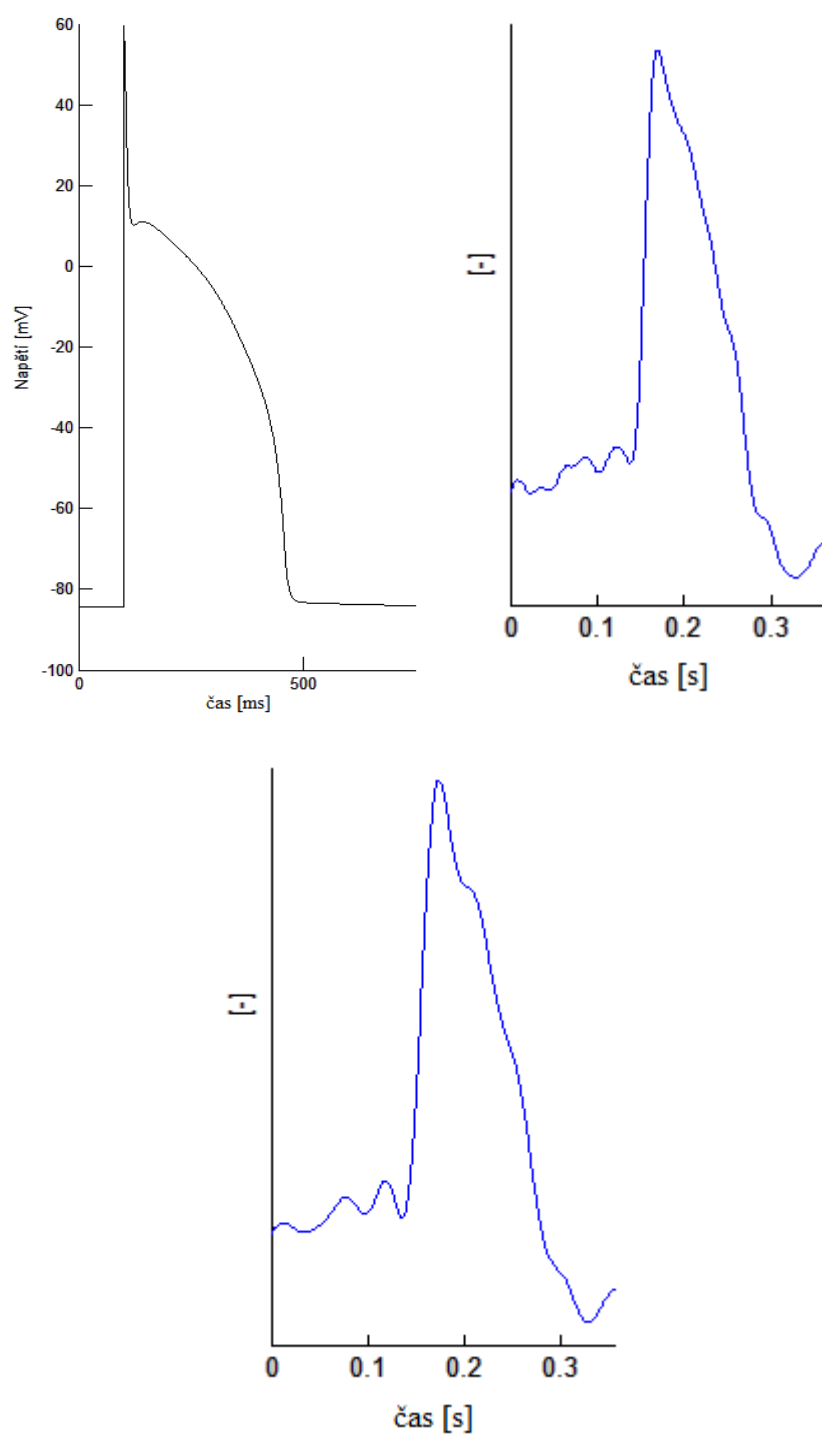
Obrázek 22: Maximální rychlost zdvihu akčního potenciálu.

Srovnání strmosti obou průběhů:

Oba druhy filtrace mají velký vliv na strmost náběhu AP. Na obr. 22 je ukázka maximálního zdvihu AP, který je na obrázku ilustrován červenou barvou. Kde je maximální rychlost zdvihu AP, tam je nejvyšší amplituda červené křivky derivace.

3) Průběh AP

- posuzováno subjektivně (tvar signálu)



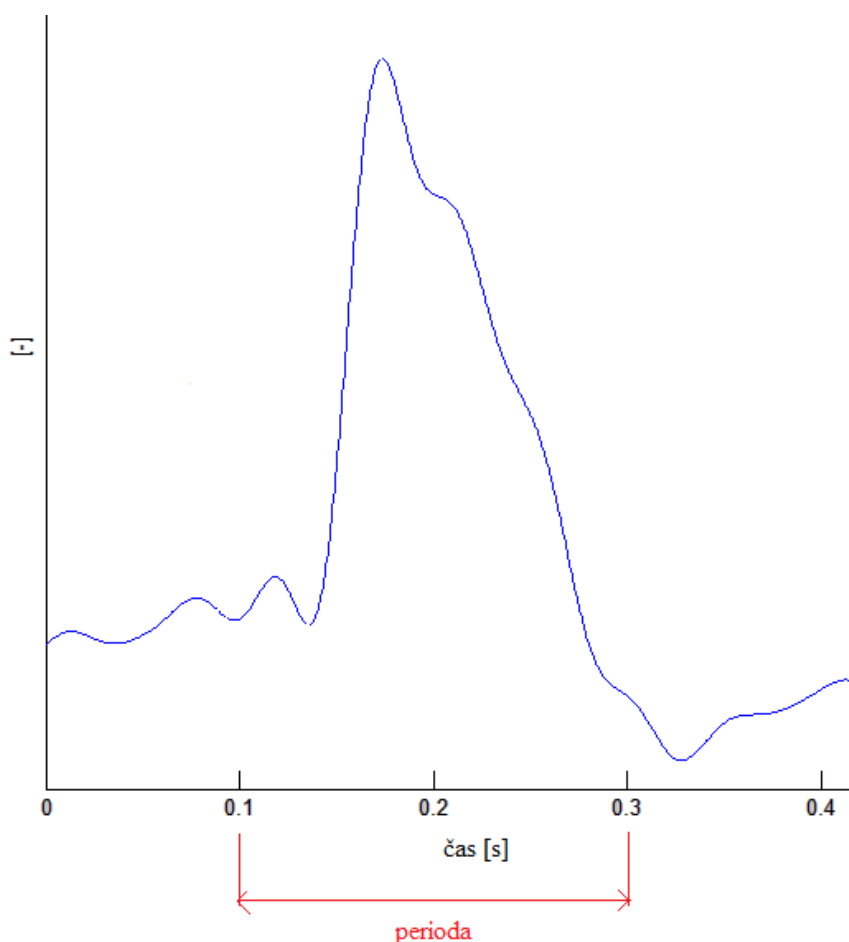
Obrázek 23: Srovnání tvaru signálu, vlevo nahoře teoretický, vpravo nahoře signál filtrovaný DTWT, dole signál filtrovaný DP.

Vliv filtrací na signál AP:

Obr. 23 ilustruje srovnání obou typů filtrace (DP, DTWT) s teoretickým signálem akčního potenciálu. Lze vidět, že průběh AP je ovlivněn v obou případech filtrace.

4) Perioda AP

- počítán jako rozdíl dvou sousedních maxim AP
- jednotka mV



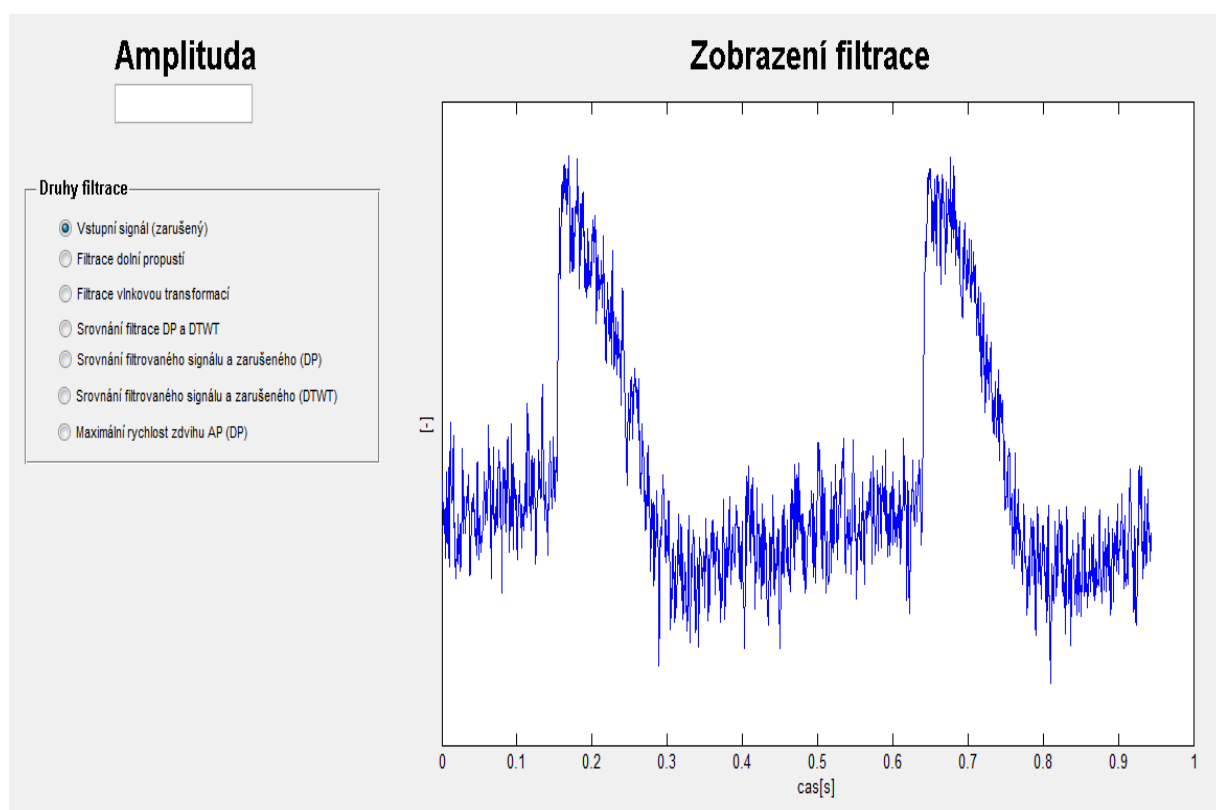
Obrázek 24: Perioda AP.

Vliv filtrací na periodu AP:

Perioda je téměř totožná u obou filtrovaných průběhů ve srovnání s charakteristickou hodnotou periody AP (200ms). Obr. 24 ilustruje periodu akčního potenciálu.

10 Vytvoření grafického prostředí programového nástroje Matlab (GUI)

V této kapitole je ukázka náhledu vytvořeného grafického prostředí v programovém nástroji Matlab (GUI), který je přiložen diplomové práci. Grafické prostředí se skládá s objektů zvaných „radiobutton“, pomocí kterých se volí mezi jednotlivými druhy filtrace. Vpravo je objekt „axes“, ve kterém se zvolená filtrace vykresluje (viz obr. 25).



Obrázek 25: Náhled grafického prostředí vytvořeného v programovém nástroji Matlab (GUI).

11 Závěr

Cílem projektu bylo seznámit se s problematikou měření elektrogramů z živé tkáně, prostudování měření elektrogramů optickou metodou a s tím spojené typy rušení a návrh odstranění těchto rušení v programovém prostředí Matlab.

V úvodní části práce jsou představeny základní veličiny, jimiž je elektrogram popisován. Dále je zde představena kardiologická terminologie, s důrazem na klíčové pojmy analýzy elektrických projevů srdce, jako je např. akční potenciál. Úvodní část práce dále popisuje podpůrné systémy pro zajištění vitality měřeného vzorku.

Pro záznam akčního napětí z povrchu izolovaného srdce se využívá dvou typů elektrod, a to kontaktních nebo bezkontaktních. U kontaktních se elektroda dostává do styku se srdcem a způsobí narušení srdeční tkáně. Vhodnějším způsobem je použití bezkontaktních elektrod, kde nedochází k porušení tkáně. Tohoto způsobu se využívá v optickém měření, kde hraje roli napěťově citlivé barvivo, které se vpraví do srdce buď injekčně, nebo penetruje dovnitř srdečních buněk perfuzí barviva v K-H roztoku.

Pro optické měření z povrchu srdce se používají barviva, které jsou excitována v oblasti viditelného spektra. Používá se excitace modrého a zeleného světla. Jako zdroj světla se používá halogenové nebo xenonové lampy. Dalším typem je laser, který generuje světlo vlnové délky v oblasti modrého světla (488nm) nebo zeleného světla (532nm). Používá se také LED dioda, která generuje úzkopásmové světlo a je kompromisem mezi výše uvedenými způsoby.

Měření znehodnocuje zejména pohybový artefakt, který je projevem aktivity srdce (kontrakce). Změna vzdálenosti srdce od fotodetektoru se projeví snížením jasu. Tento nežádoucí jev je možno odstranit několika způsoby. A to omezením kontrakcí buněk, které se realizuje pomocí farmakologických blokátorů. Toto použití může ovlivnit elektrofyzilogické vlastnosti buněk, proto se používá jen pro některé případy. Dalším způsobem je filtrace signálu. Frekvenční obsah akčního napětí je velmi podobný frekvenčnímu obsahu pohybového artefaktu. Nelze je časově oddělit. Jako další je modifikace optické metody, kde je akční napětí snímáno pomocí dvou detektorů. Tato metoda je označována jako poměrová. Posledním typem je zpracování obrazu, kde je pohybový artefakt eliminován registrací časové frekvence snímků.

Mezi další typy rušení patří například výstřelový šum, rušení ze sítě, fluktuace fotonů ze světelného zdroje, šum fotodetektoru za tmy, vlastní šum A/D převodníku, vlastní šum

zesilovačů, rušení elektromagnetického pole, kvantovací šum při digitalizaci signálů. Návrh odstranění těchto šumů je uveden v práci v kap. 4.1.

Další kapitola této práce, konkrétně kap. 5, se zabývá realizací odstranění šumového znehodnocení signálu akčního potenciálu. Tento návrh a samotná realizace probíhala s pomocí programového prostředí Matlab.

Signál byl filtrován dvěma typy filtrace, a to filtrací FIR filtrem dolní propusti a filtrací vlnkovou transformací. Pro určení vhodné minimální frekvence filtru dolní propusti bylo použito odhadu na základě odchylky rozdílu mezi původním a filtrovaným signálem, kdy nejmenší odchylky bylo dosaženo při filtraci signálu dolní propustí s horním mezním kmitočtem 25 Hz. Užitečný signál byl na základě frekvenčního spektra odhadnut v rozmezí 1 – 25 Hz. Poté následovala konstrukce filtru dolní propusti, který filtroval frekvence 25 Hz – 2 kHz. Navržená metoda byla úspěšná, neboť vyfiltrovaný signál akčního potenciálu má hladký průběh, bez známek rušení. Srovnání filtrovaného signálu se zarušeným ukazuje, že filtr DP ovlivnil strmost depolarizace akčního potenciálu.

Další filtrace byla filtrace vlnkovou transformací. Vlnková transformace na rozdíl od dolní propusti signál rozkládá do jednotlivých pásem a v jednotlivých pásmech se snaží o korekci koeficientů šumů a užitečného signálu na základě stanoveného prahu. Poté je provedena inverzní transformace, kde se signál opět složí do jediného pásma. I v tomto případě byla navržená metoda filtrace úspěšná, avšak stejně jako v případě filtru dolní propusti ovlivnila strmost depolarizace akčního potenciálu.

Srovnáním obou typů filtrace lze dojít k závěru, že tvar akčního potenciálu je zachován v obou případech, až na drobné odlišnosti, jako je strmější fáze plató v případě dolní propusti a větší kolísání signálu v případě vlnkové transformace v rozmezí 0,3 – 0,6 s.

Dalším cílem práce bylo vyhodnocení charakteristických parametrů akčního potenciálu. Mezi tyto charakteristické parametry patří amplituda, maximální rychlost depolarizační fáze akčního potenciálu, průběh akčního potenciálu a nakonec délka jeho trvání. Srovnáváním obou filtrací se objevují jejich odlišnosti, kdy amplituda akčního potenciálu u vlnkové transformace je menší (86,06 %), než je tomu v případě dolní propusti (90,26 %). Rozdíl průběhů akčních potenciálů u obou filtrací je popsán v odstavci výše. Perioda obou filtrovaných signálů je téměř totožná.

A jako posledním bodem byla realizace návrhu uživatelského prostředí, které bylo navrženo taktéž v Matlabu (GUI).

12 Seznam použité literatury

- [1] SEDLÁŘ, M. *Vektorkardiografie pro dlouhodobé záznamy*. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2010
- [2] KOLÁŘOVÁ, J. *Metody měření a analýzy elektrické aktivity srdce v základním kardiologickém výzkumu*. Habilitační práce. FEKT VUT Brno, 2009
- [3] VYSKOČILOVÁ, M. *Měření HRV a posouzení vlivu zátěže*. Bakalářská práce. FEKT VUT Brno, 2010
- [5] VRBA, R. *Digitální obvody a mikroprocesory*, FEKT VUT Brno, 2003
- [6] BÁRTA, M. *Vliv atmosférických turbulencí na optický svazek*, Diplomová práce, FEKT VUT Brno, 2009
- [7] Petrovický, P., Klepáček, I., Švehlíková, M. *Anatomický atlas*, Triton, 6. vyd, 2008, ISBN-13: 978-80-7387-131-4
- [8] Honzíková, N. *Biologie člověka*. Skripta, FEKT VUT Brno, 2003
- [9] G. Fast, V. *Recording Action Potentials Using Voltage-Sensitive Dyes*.
- [10] Laurita K, Libbus I: *Optics and detectors used in optical mapping*, 2001
- [11] Rosenbaum D, Jalife J, editors. *Optical Mapping of Cardiac Excitation and Arrhythmias*. Futura, Armonk, NY, pp 61–78, 2001
- [12] Salama, G., Sanger, T., Cohen, L. *Optical recordings of action potential propagation in intact heart*. Biological Bulletin, pp. 61–316, 1981