

電機資訊學院 2020 實作專題競賽 BRAIN PLUS HAND

Noninvasive Heart Rate Measurement of Adult Zebrafish 非侵入式成年斑馬魚心率量測

組別：EECS06 組員：馬婕芸 魏上清

摘要

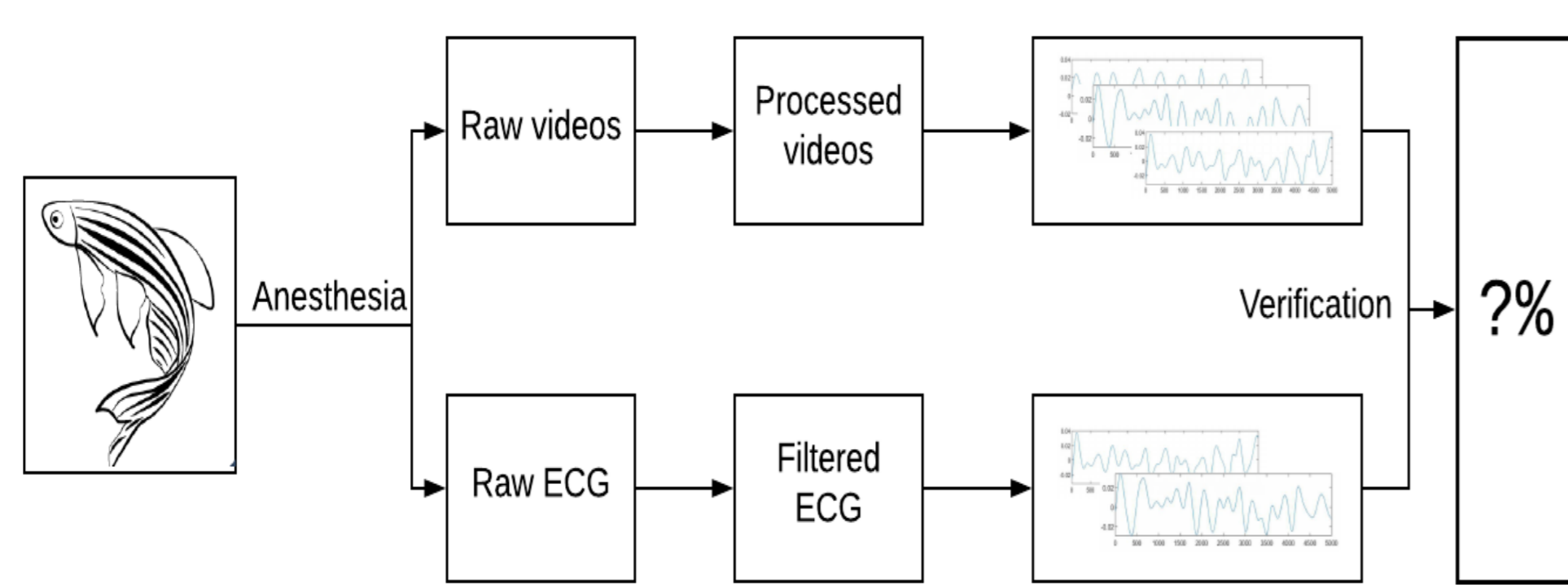
斑馬魚 (*Danio rerio*)，其胚胎常被用來做為疾病的研究，因為其心率及心電圖跟人類相近，更被用來作為心血管疾病方面的研究，考慮到斑馬魚實驗成本相對低，近來已有研究轉移到測試轉成年斑馬魚，但其心率主要還是用心電圖等侵入式的方法量測而得，此方法不僅容易影響成年斑馬魚本身的生理現象，量測的過程繁瑣耗時，且設備相對昂貴。因此本專題將著重於成年斑馬魚，提出透過非侵入式影像分析來估計心率，期能減少未來成年斑馬魚相關的研究成本。

此專題將使用Tricane (Sigma, USA)和Isoflurane (Baxter, USA)的混合物作為成年斑馬魚的麻醉劑，將心率誤差降到最低，接著使用Dino-Lite 2.0手持式數位顯微鏡搭配客製化工具所得的心跳影像來分析心率。此外，為了驗證所提出心率量測技術的正確性，透過影像分析所得的心率同時與AD8233CB-EBZ開發板連接自製的探針測得的心電圖波型一同分析心率進行比對。

而經過比對心率，可得用非侵入式的紀錄影像的方式的確可以測量得到與心電圖相似度非常高的心跳速率，因此可知道紀錄影像的方式是更有效率且更經濟的方式取得成年斑馬魚心率的資訊。

在未來，此專題將會以實驗不同藥物下成年斑馬魚心率的變化，比對每一段影像和心電資訊所代表的生理意義是否也能有高度相關，期能另外提供其他與心電相關的參數。以及將此實驗流程標準化並開發軟體以方便成年斑馬魚的慢性毒性、心血管疾病等醫學上等量測。

研究方法及步驟



工作流程圖

成年斑馬魚麻醉劑配置及麻醉

專題麻醉劑選用Tricane 溶劑200(ml)，加上0.13(ml) isoflurane，裝在深棕色玻璃瓶內保存在4°C；麻醉過程是將斑馬魚置於裝有麻醉劑的燒杯約2分鐘，再於培養皿上的濕海綿上固定，實驗過程不超過10分鐘，實驗完畢隨即方回原水族箱中。

實驗所需斑馬魚由國立清華大學莊永仁老師提供。



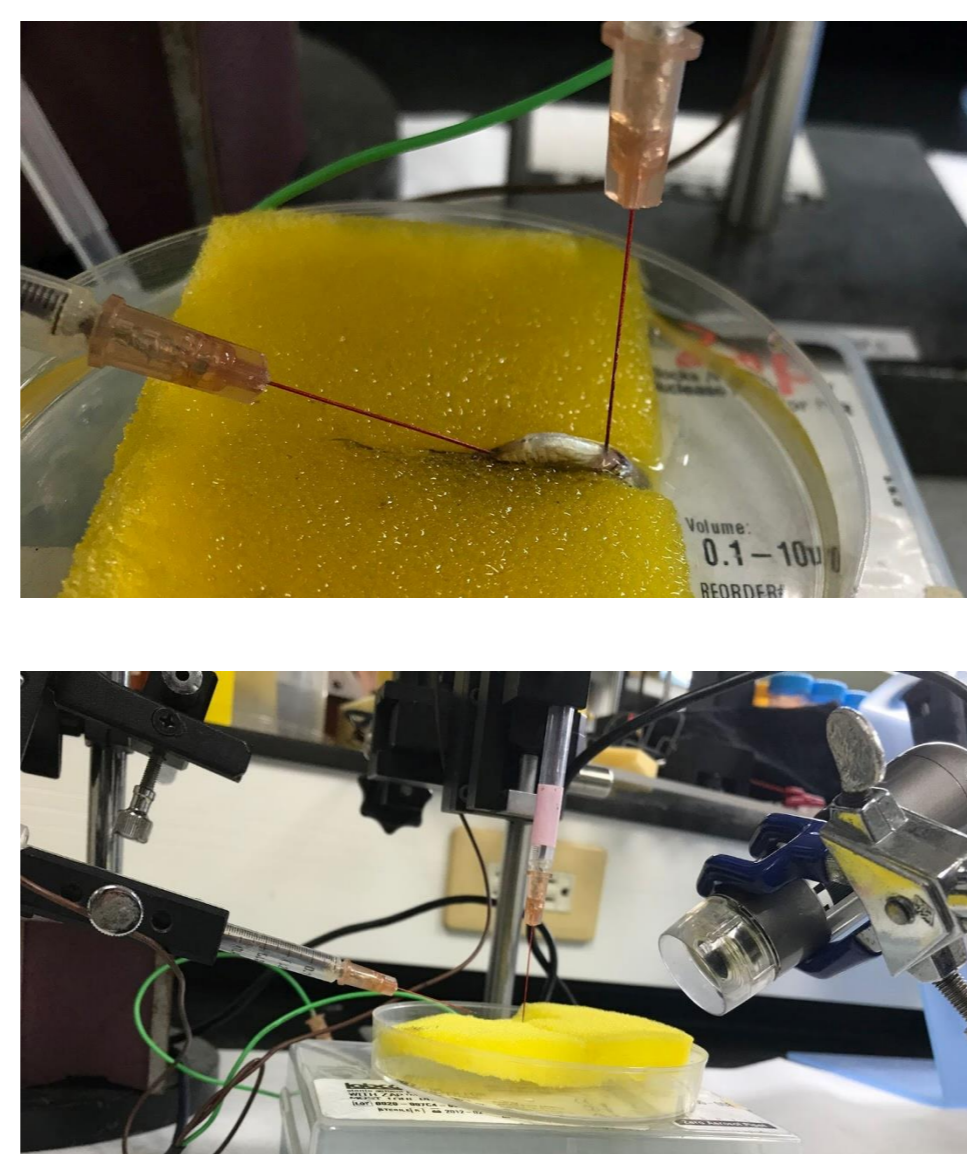
數位顯微鏡量測

專題所使用的Dino-Lite 2.0數位顯微鏡架設，實驗過程將成年斑馬魚以腹部朝上置於顯微鏡下，顯微鏡頭大約距離斑馬魚表皮1公分，錄製約1分鐘。

心電圖量測

心電圖量測硬體架構由探針、顯微三向定位器、開發板和筆電所組成；控制泄殖腔與心臟的探針是由胚胎顯為操作自動注射分注裝置的顯微三向定位器組裝而來，而探針是由不鏽鋼標本針焊接製成，另外以開發板作為訊號放大器及簡易的濾波器來處理測得的訊號。

全程置於26°C環境下，不超過3分鐘，以確保斑馬魚不因鎮靜狀態太久而影響到其生理現象；測得的心電圖訊號大約落在2-45赫茲的頻率；另外，尚有60赫茲電源雜訊及環境雜訊，所以需要另外經過濾波的處理才能得到能夠分析的心電圖。



訊號處理

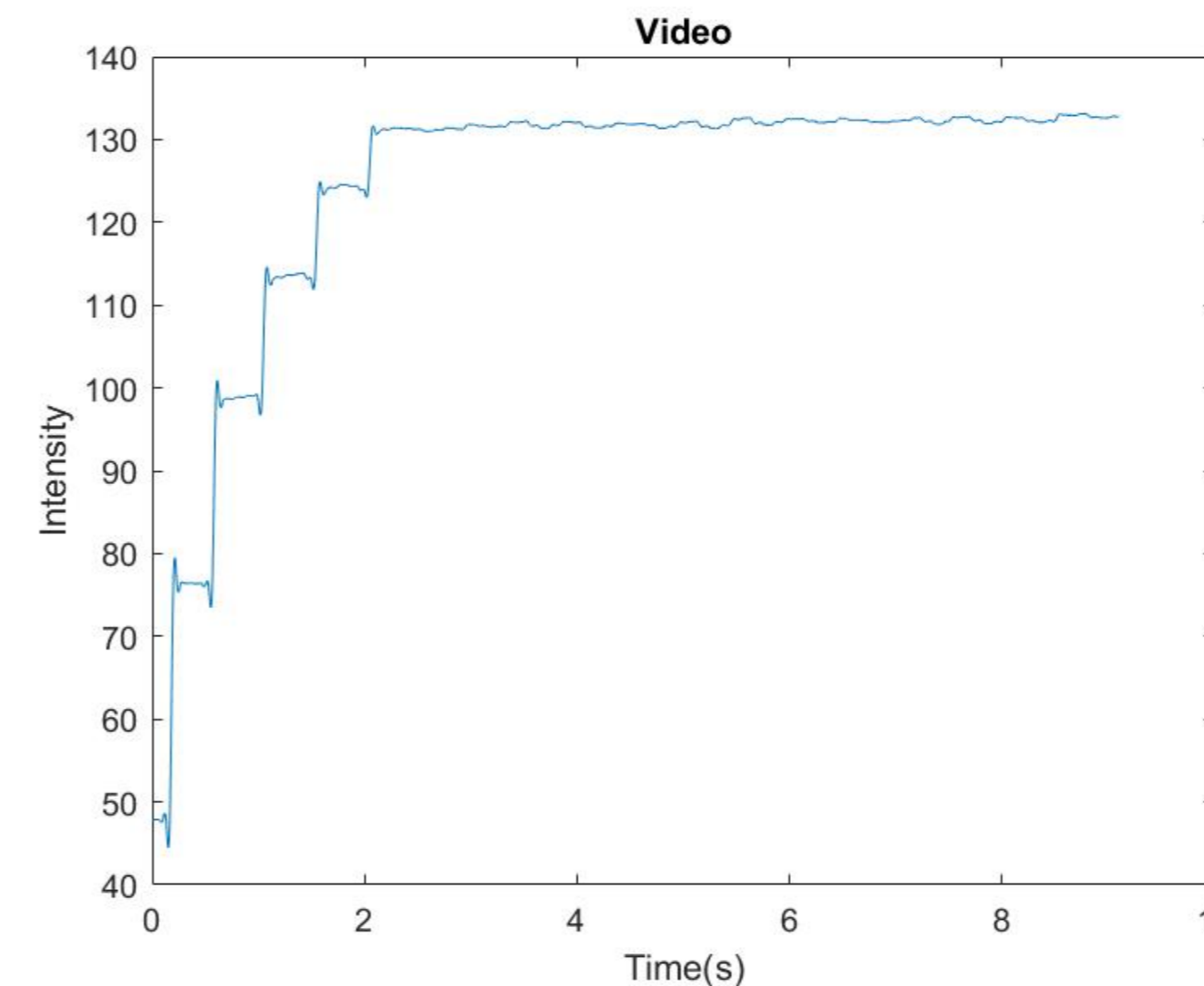
Dino-Lite手持式數位顯微鏡所得到的影像，其處理程序是：(1)轉為用Grayscale表示的影像，目的是為了想用像素的亮度分析心臟的運動速率、(2)在手動框出影片上成年斑馬魚心臟的位置以減少腮動對心臟亮度造成的影響、(3)將影片的每一幀心臟位置的亮度做平均、(4)找出平均亮度對時間圖的高點來計算平均心跳速率。

心電圖所得到的資訊，其處理程序是：(1)需先將開發板上因電源供應而承載的60赫茲雜訊使用Notch filter濾掉、(2)找出電壓對時間圖的高點來計算平均心律。

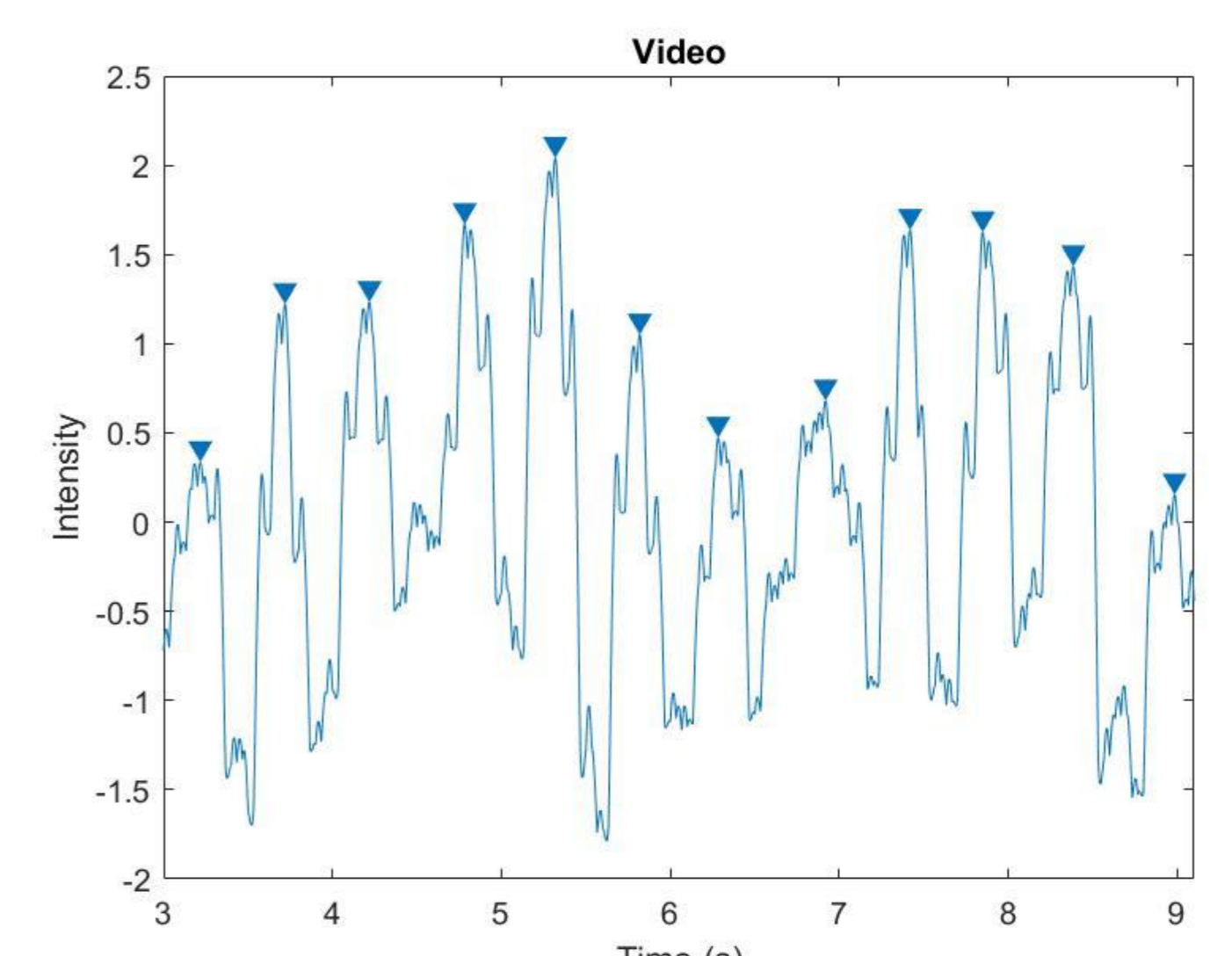
而上述兩種測量方式，是同時進行的。

研究結果

數位顯微鏡量測結果

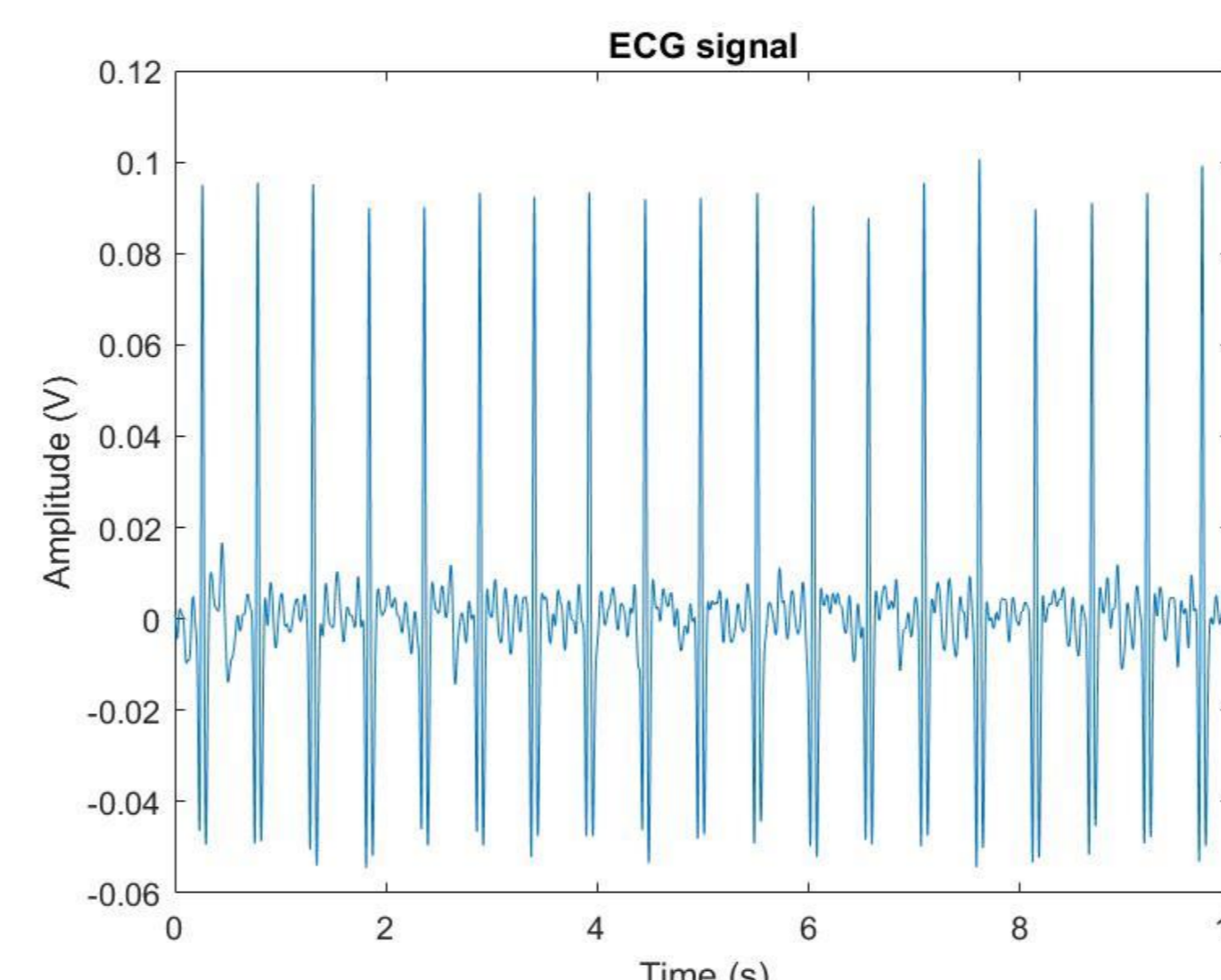


(A)平均亮度對時間作圖

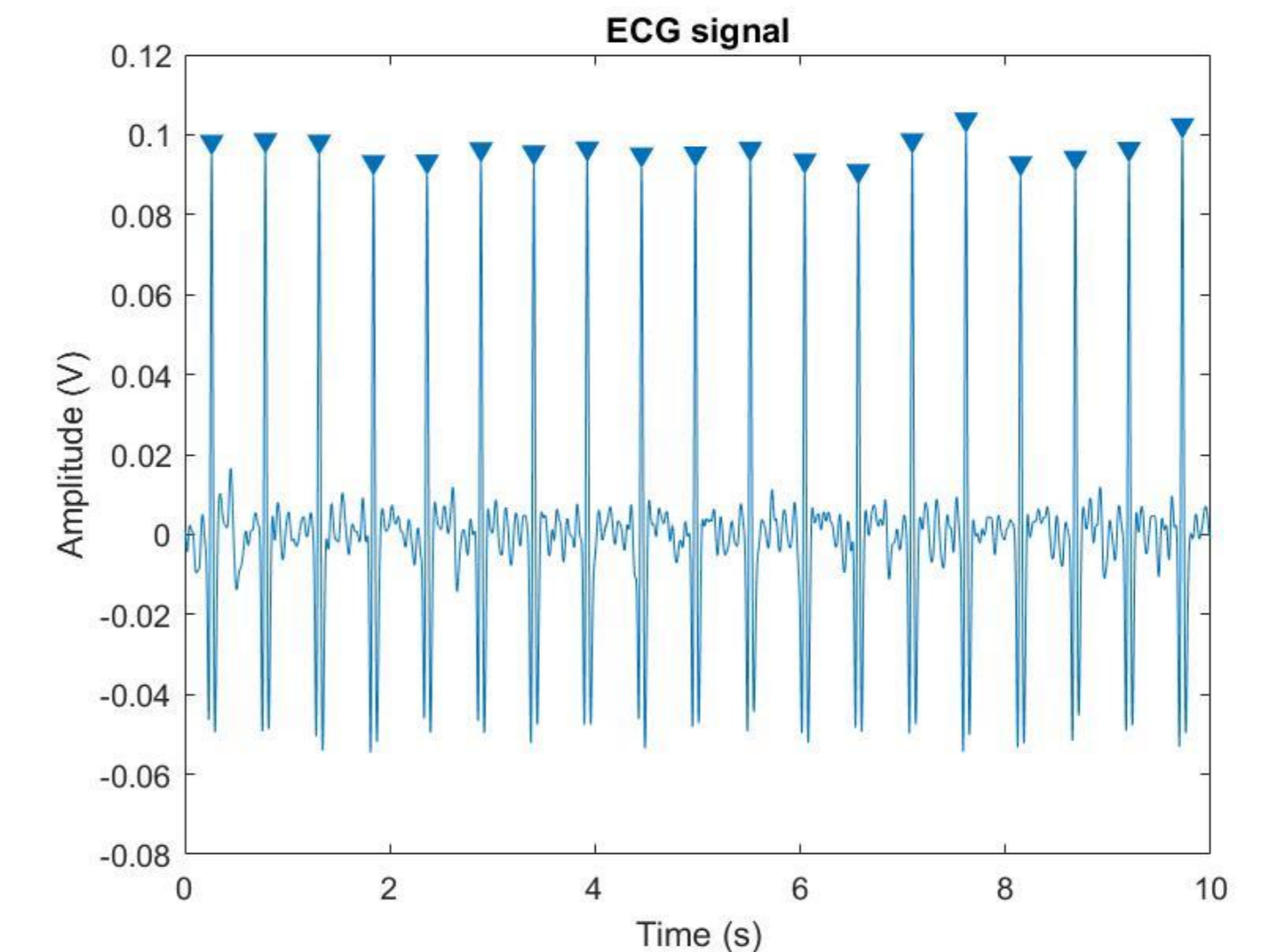


(B)取較平均的區段標出高點

心電圖量測結果



(A)濾掉60赫茲後的心電圖



(B)標出高點

如上圖可見，利用手持式數位顯微鏡所得的影像與心電圖得到的心率是一樣皆為144下/每分鐘，另外，顯微鏡與心電圖兩者資訊是在同一隻成年斑馬魚於同一時間測得，由此可知道利用紀錄影像的方式的確能得到心率資訊。

結論與未來展望

以數位顯微鏡紀錄影像的方式來量測成年斑馬魚心率的非侵入式量測的方法，可以大大減低時間與金錢上的花費，加上成年斑馬魚為目前主流用來做心血管疾病研究的生物，因此將會大幅減少心血管疾病的研究經費。

在未來，此專題將會以實驗不同藥物下成年斑馬魚心率的變化，比對每一段影像和心電資訊所代表的生理意義是否也能有高度相關來增加影像測量的準確度；更可望將此實驗流程標準化並開發軟體以方便成年斑馬魚的慢性毒性、心血管疾病等醫學上的研究及藥物開發。

