

## METODY NIEINWAZYJNEGO POMIARU PRENATALNEGO KARDIOGRAMU PTASICH EMBRIONÓW

Marek IWANIEC

Department of Mechanical Engineering and Robotics, AGH University of Science and Technology  
Mickiewicz Alley 30, 30 – 059 Cracow

### Streszczenie

Celem pracy było opracowanie całkowicie nieinwazyjnej i bezpiecznej metody diagnostyki czynności serca embrionów ptasich. Zarodki te wykorzystywane są w fizjologii jako czuły detektor i model do badania wpływu czynników fizycznych oraz substancji chemicznych na prenatalne procesy życiowe. Przedstawione metody nieinwazyjnego pomiaru kardiogramu ptasich embrionów oparte są o proste idee i zasady pomiarowe. Pomimo użycia niezbyt drogiego sprzętu metody umożliwiają pomiar już po kilku dniach życia embrionu.

Słowa kluczowe: diagnostyka balistokardiogramu, nieinwazyjne metody pomiarowe

### NON-INVASIVE METHODS FOR BIRD EMBRYOS PRENATAL CARDIOGRAM MEASUREMENTS

#### Abstract

The paper concerns non-invasive and safe method of bird embryo heart action diagnostics. Such embryos are used in physiology as a sensitive detector and a model for testing the influence of physical factors and chemical substances on prenatal life processes. Presented methods of non-invasive measurement of bird embryos cardiograms are based on simple ideas and measurement principles. In spite of the fact that the used equipment is inexpensive, the methods make it possible to carry out the measurements after a few days of embryo life.

Keywords: balistocardiogram diagnostics, non-invasive measurement methods

## 1 WPROWADZENIE

Ptasie zarodki wykorzystywane są w fizjologii jako czuły detektor i model do badania wpływu czynników fizycznych oraz substancji chemicznych na procesy życiowe embrionów. Badania te prowadzone są m.in. w celu określania teratogennego wpływu środków farmakologicznych, substancji chemicznych pochodzących z zanieczyszczonego środowiska oraz czynników fizycznych takich jak temperatura, wilgotność, pole elektryczne pole magnetyczne.

Celem pracy było opracowanie całkowicie nieinwazyjnej i bezpiecznej metody diagnostyki czynności serca embrionów ptasich. W tym celu zaproponowano dwie nowe metody diagnostyki pracy serca w oparciu o balistokardiogram. Pierwsza z przedstawianych metod wykorzystuje pomiar głębokości modulacji amplitudy prądu płynącego przez kondensator o pojemności zależnej od przemieszczenia jaja. Druga metoda oparta o prawo Snella polega na zastosowaniu detektora położenia wiązki światła odbitego od przemieszczającej się skorupki jaja.

Jednym ze znanych sposobów przeprowadzania takiego pomiaru jest zastosowanie mikrofonu [1], którego duża czułość pozwala na rejestrację dźwięków strukturalnych pochodzących z embrionu.

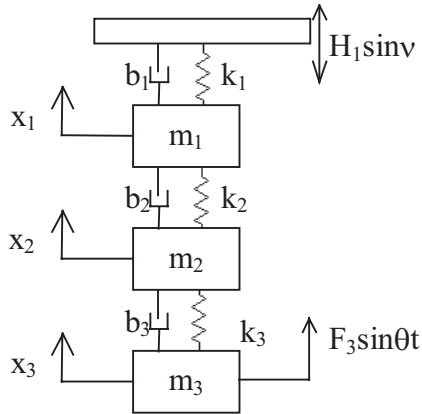
Wadą tej metody jest rejestracja fali akustycznej, która w pożądanym zakresie częstotliwości nie jest dobrym przekaźnikiem informacji. Czynność serca mimo, iż wywołuje efekty drganiowe i hydrodynamiczne generuje tylko niewielkie efekty akustyczne dodatkowo zakłócone przez szum wywołany ruchami płodu.

Opracowanie nieinwazyjnej metody wiąże się z doбором odpowiedniego układu wibroizolacji umożliwiającego wzmacnianie drgań jaja wynikających z pracy serca i odizolowania zarodka od wibracji propagujących z otoczenia.

## 2 MODEL I RÓWNANIA RUCHU UKŁADU WIBROIZOLACJI

Aby ograniczyć propagację drgań z podłoża zastosowano wielostopniową wibroizolację pasywną. Jest to liniowy układ drgający o trzech stopniach swobody. Układ pobudzany jest do drgań wymuszeniem kinematycznym  $H_1$  pochodzącym od ruchów podłoża oraz zastępczym wymuszeniem siłowym  $F_3$  wynikającym z pracy serca zarodka. Model układu wibroizolacji stanowiska do wyznaczenia balistokardiogramu przedstawiono na rys. 1. Badany embrion o masie  $m_3$  spoczywa na układzie zawieszenia wykonanym z dwóch sprężyn piórowych o zastępczym współczynniku sztywności

$k_3$ . W celu zapewnienia stałych warunków pomiarowych układ ten znajduje się w termoizolowanej klatce Faraday'a o masie  $m_2$  elastycznie zamocowanej do konstrukcji wsporczej o masie  $m_1$ . Całość jest zamocowana do sufitu pomieszczenia za pomocą czterech sprężyn śrubowych o zastępczym współczynniku  $k_1$ .



Rys. 1. Model układu wibroizolacji.

Równania ruchu dla układu wibroizolacji wyprowadzono stosując równania Lagrange'a drugiego rodzaju:

$$\frac{d}{dt} \left( \frac{\partial L}{\partial \dot{q}_i} \right) - \frac{\partial L}{\partial q_i} + \frac{1}{2} \frac{\partial \Phi}{\partial \dot{q}_i} = Q_i, \quad i = 1, \dots, s \quad (1)$$

gdzie:  $L$  – funkcja Lagrange'a

$$L = E - U \quad (2)$$

$E$  – energia kinetyczna,  $U$  – energia potencjalna sprężystości,  $\Phi$  – funkcja Rayleigha,  $Q_i$  – siła uogólniona działająca na odpowiednią masę,  $q_i$  – współrzędna uogólniona

Układ równań ruchu układu wibroizolacji ma postać:

$$\begin{bmatrix} m_1 & 0 & 0 \\ 0 & m_2 & 0 \\ 0 & 0 & m_3 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \ddot{x}_1 \\ \ddot{x}_2 \\ \ddot{x}_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} b_1 + b_2 & -b_2 & 0 \\ -b_2 & b_2 + b_3 & -b_3 \\ 0 & -b_3 & b_3 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \dot{x}_1 \\ \dot{x}_2 \\ \dot{x}_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} k_1 + k_2 & -k_2 & 0 \\ -k_2 & k_2 + k_3 & -k_3 \\ 0 & -k_3 & k_3 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} k_1 H_1 \sin vt + b_1 H_1 v \cos vt \\ 0 \\ F_3 \sin \theta t \end{bmatrix} \quad (3)$$

Zagadnienie własne dla układu równań (3) zdefiniowane jest zależnością:

$$(\lambda_r^2 [M] + \lambda_r [B] + [K]) \Psi_r = 0 \quad (4)$$

gdzie:  $\lambda_r$  – wartości własne,  $\Psi_r$  – wektory własne  
Wyznaczenie pierwiastków równania (4) pozwoliło na obliczenie częstotliwości drgań własnych. Parametry i masy układu dobrano tak, aby uzyskać jak najmniejsze wartości częstotliwości drgań własnych, które w modelowanej konstrukcji wynoszą 0,5 Hz, 1,1 Hz i 2,4 Hz. Częstotliwości te są więc znacznie mniejsze od dolnej granicy

pożądanego pasma pomiarowego wynoszącej ok. 6 Hz.

### 3 METODY POMIARU BALISTO-KARDIOGRAMU

Diagnostyka pracy serca na podstawie balistokardiogramu opiera się na założeniu, że ruchy skorupki jaja są skorelowane z akcją serca. W rzeczywistości ta korelacja zależy od szeregu czynników, w tym najtrudniejszych do określenia czynników fizjologicznych:

- stopień rozwoju zarodka, a więc i jego serca ma bezpośredni wpływ na wielkość sił generowanych w czasie jego pracy. Serce zarodka rozpoczyna pracę już w drugim dniu po zapłodnieniu, jednak w tym czasie jest zbyt słabe, aby wywoływać mierzalne przemieszczenia całego jaja. Z kolei wraz z rozwojem, ok. 14 dnia inkubacji inne ruchy płodu są tak częste i silne, że zaczynają całkowicie maskować rytm pracy serca.

- temperatura w czasie pomiarów jest stabilizowana, ale nawet niewielkie zmiany temperatury w dłuższym okresie czasu mają wpływ na amplitudę i puls balistokardiogramu. Wzrost temperatury powoduje przyspieszenie akcji serca, której towarzyszy obniżenie siły skurczów mięśnia sercowego.

- położenie embrionu w środku jaja jest najtrudniejszym do uwzględnienia czynnikiem mającym wpływ na wielkość i jakość mierzonego sygnału. Zwłaszcza w drugiej połowie okresu inkubacji zarodek jest tak ruchliwy, że bardzo często samodzielnie zmienia swe położenie.

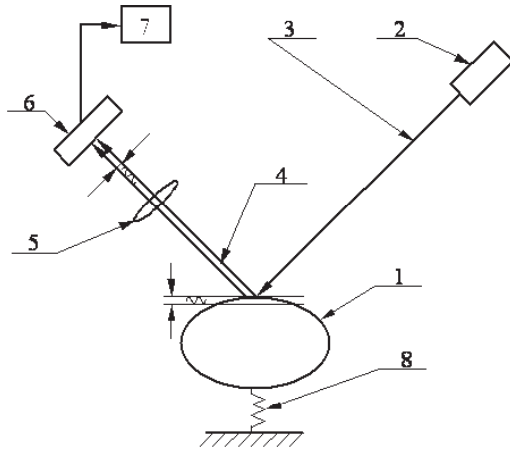
Opisywane w tej pracy metody wyznaczania balistokardiogramu mają podobny układ przetwarzania sygnału. Różnią się zasadą pomiaru oraz konstrukcją przetwornika pomiarowego.

#### 3.1 Metoda optyczna

Zasadę działania układu pomiarowego wykorzystanego w metodzie optycznej przedstawiono na rys. 2. Źródło światła (2), soczewka skupiająca (5) oraz detektor położenia (6) wchodzi w skład wibrometru laserowego. Dioda laserowa jako źródło światła emituje wiązkę świetlną o zbieżności ok.  $2 \cdot 10^{-3}$  [rad]. Wiązka ta pada pod kątem ostrym na powierzchnię badanego preparatu, który jest umieszczony na specjalnej konstrukcji stanowiącej układ zawieszenia (8). Strumień światła odbitego od drgającej powierzchni skorupki pada przez soczewkę skupiającą na detektor położenia, który wykrywa zmiany miejsca położenia odbitej wiązki proporcjonalnie do obwiedni drgań embrionu. Z detektora położenia otrzymuje się dwa sygnały analogowe  $I_1$  oraz  $I_2$ . Na podstawie zależności:

$$X = \frac{I_1 - I_2}{I_1 + I_2} = f(x_e) \quad (5)$$

po wykonaniu analogowego odejmowania, dodawania i dzielenia sygnałów otrzymuje się jeden sygnał  $X$  proporcjonalny do chwilowego przemieszczenia  $x_c$  promienia świetlnego padającego na powierzchnię światłoczułą detektora położenia.



Rys. 2. Głowica pomiarowa w metodzie laserowej. 1 – jajo, 2 – źródło światła 3 – wiązka światła padającego, 4 – wiązka światła odbitego, 5 – soczewka skupiająca, 6 – detektor położenia, 7 – analogowy układ wstępny przetwarzania sygnału, 8 – układ zawieszenia.

Następnie sygnał poprzez filtr dolnoprzepustowy jest kierowany do karty przetwornika A/C. Dzięki zastosowaniu przetwornika A/C sygnał jest zapisywany w postaci cyfrowej do pliku na twardym dysku.

### 3.2. Metoda pomiaru głębokości modulacji amplitudy AM

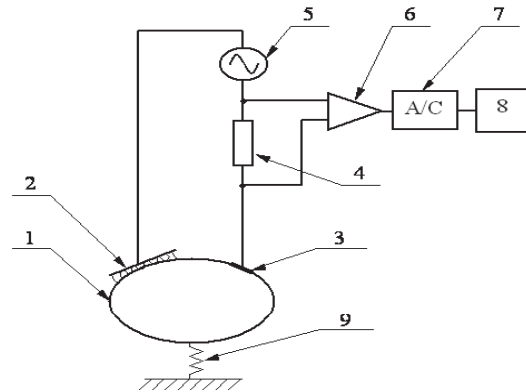
Schemat sposobu pomiaru drgań przedstawiono na rys. 3. Badany embrión (1), umieszczony na układzie zawieszenia (9), poddawany jest działaniu zmiennego pola elektrycznego wytwarzanego w układzie kondensatora, zasilanego z generatora napięcia zmiennego (5). Elektroda (2) umieszczona jest w pewnej odległości od powierzchni jaja. Prąd w obwodzie kondensatora utworzonego między elektrodami (2) i (3) ma wartość proporcjonalną do amplitudy drgań embriónu. Jego pomiar odbywa się za pomocą bocznika pomiarowego (4), a uzyskany sygnał po wzmocnieniu i przetworzeniu za pomocą przetwornika A/C (7) na sygnał cyfrowy kierowany jest do komputera (8), gdzie poddawany jest dalszej obróbce.

Pojemność kondensatora tworzącego się pomiędzy elektrodami (2) oraz (3) zależy od chwilowego położenia powierzchni jaja posadzonego na miękkim układzie zawieszenia.

$$C = \frac{\varepsilon S}{D_0 + A \sin \omega t} \quad (6)$$

gdzie:

$\varepsilon$  – przenikalność elektryczna,  $S$  – powierzchnia zastępcza elektrody,  $D_0$  – średnia odległość elektrody od powierzchni jaja,  $A$  – amplituda drgań powierzchni jaja,  $\omega$  – częstość wymuszenia pochodząca od drgań embriónu.



Rys. 3. Schemat układu do pomiaru głębokości modulacji. 1 – jajo, 2 – nieruchoma elektroda, 3 – elektroda grafitowa, 4 – bocznik pomiarowy, 5 – generator napięcia zmiennego, 6 – wzmacniacz, 7 – przetwornik A/C, 8 – komputer, 9 – układ zawieszenia.

Zaniedbując wpływ pojemności i indukcyjności pasożytniczych oraz pomijając impedancję preparatu prąd w obwodzie jest określony przez następujące równanie:

$$i \cong \frac{\varepsilon S}{D_0} \left[ 1 + \frac{A \sin \omega t}{D_0} \right] \Omega U_0 \cos \Omega t \quad (7)$$

gdzie:

$\Omega$  – częstość kołowa sygnału nośnego,  $\omega$  – częstość kołowa sygnału modulującego,  $U_0$  – amplituda sygnału nośnego,  $A$  – amplituda drgań powierzchni embriónu.

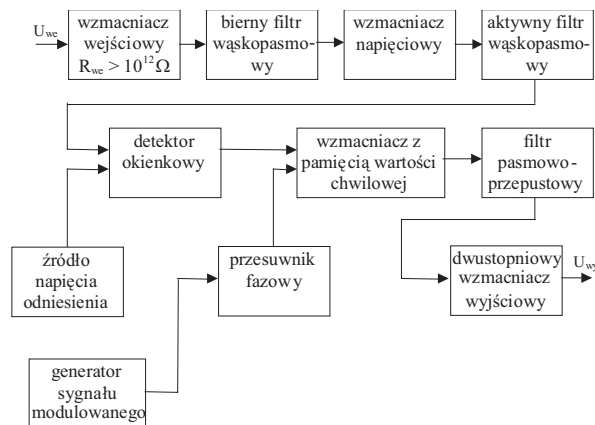
Głębokość modulacji AM określa współczynnik głębokości modulacji  $m$ :

$$m = \frac{\frac{\varepsilon S}{D_0} \frac{A}{D_0}}{\frac{\varepsilon S}{D_0} + C_p} \cong \frac{A}{1 + \kappa} \quad (8)$$

gdzie:  $\kappa = \frac{C_p}{C_0}$  – stosunek pojemności pasożytniczych do pojemności średniej

Napięcie wejściowe pochodzące z bocznika (4) jest wstępnie wzmacniane (rys. 4) przez wzmacniacz wejściowy o dużej rezystancji zbudowany w oparciu o dwa scalone wzmacniacze operacyjne CMOS. Następnie sygnał jest filtrowany przez bierny filtr pasmowoprzepustowy nastrojony na częstość sygnału modulowanego. Sygnał po wstępnym odfiltrowaniu jest wzmacniany przez wzmacniacz o dużym wzmocnieniu napięciowym. Po ponownym przejściu przez aktywny filtr o dużej dobroci sygnał jest kierowany do najważniejszych bloków: detektora okienkowego oraz wzmacniacza z

pamięcią wartości chwilowej o czasie zapamiętywania ok.  $2 \cdot 10^{-5}$  [s]. Wzmacniacz z pamięcią wartości chwilowej pełni funkcję precyzyjnego detektora AM.

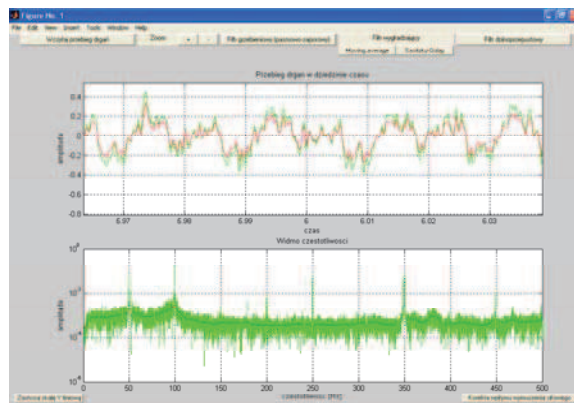


Rys 4. Analogowy układ przetwarzania sygnału

Moment zapamiętywania napięcia odpowiada przejściu wartości chwilowej sygnału przez maksimum. Aby precyzyjnie zapewnić synchronizację wyzwania detektora okienkowego wybrano taktowanie opóźnionym sygnałem pobieranym z generatora przebiegu modulowanego. Następnie sygnał jest całkowany przez filtr dolnoprzepustowy i po wzmożeniu zdemodulowany sygnał małej częstotliwości jest próbkowany przez kartę A/C.

#### 4 OPROGRAMOWANIE DO PRZETWARZANIA MIERZONYCH SYGNAŁÓW

Sygnały otrzymywane metodami pomiarowymi opisanymi w pkt. 3 obarczone są zakłóceniami, których źródłem są metody i aparatura pomiarowa oraz procesy fizjologiczne związane z żywym organizmem będącym przedmiotem badań. W celu poprawienia jakości mierzonego sygnału i jego dalszej obróbki opracowano program komputerowy, którego interfejs graficzny przedstawiono na rys. 5.



Rys. 5. Okno interfejsu graficznego.

Program umożliwia m.in. filtrację:

- pasmowozaporową – polegającą na odcięciu przez grzebieniowy filtr o dużej dobroci składowych harmonicznym częstotliwości sieci energetycznej,
- filtrami dolnoprzepustowymi,
- filtrami "Moving average" oraz Savitzky-Golay.

Program umożliwia również obliczanie żądanych przez użytkownika estymat w dziedzinie czasu oraz częstotliwości. Realizowane są również procedury:

- zmiany częstotliwości próbkowania,
- zmiany parametrów zastosowanych filtrów (częstotliwości granicznych liczby uśrednianych punktów, stopnia wielomianu),
- zmianę skali Y widma częstotliwości na skalę liniową i z powrotem na logarytmiczną,
- dowolną liczbę filtracji sygnału przy jednorazowym wczycaniu przebiegu,
- możliwość powiększania i pomniejszania widocznych przebiegów,

Program umożliwia również wykonanie korekty wpływu układu zawieszenia na charakterystyki amplitudowo – częstotliwościowe balistokardiogramu.

#### 5 WNIOSKI

Przedstawione metody nieinwazyjnego pomiaru prenatalnego kardiogramu ptasich embrionów oparte są o proste idee i zasady pomiarowe. Pomimo użycia niezbyt drogiego sprzętu udało się osiągnąć dużą czułość aparatury, która umożliwiła pomiary z rozdzielczością wynoszącą poniżej 1  $\mu$ m. Jednak, aby zblżyć zastosowanie prezentowanych metod diagnostycznych do początków życia konieczne jest dalsze zwiększanie czułości i rozdzielczości pomiarów. Implikuje to konieczność rozbudowy i komplikacji sprzętu.

Praca zrealizowana w ramach grantu KBN 7 T11E 05920

#### LITERATURA

- [1] Owsiak D., Nieckarz Z., Pawlak K., Micek S.: The acoustocardiographic method of measuring avian embryos heart beat in ovo affected by external electromagnetic field, Waves-Human-Biomedical Engineering, Vol. XIII, No.1. Acoustical Engineering, Kraków 2004.
- [2] Pawlak K., Niedziółka J., Szymański J.: An attempt to use ballistocardiography to depict the cardiac work of developing chick embryos. Ann. Anim. Sci., vol 2, No 2, 59-65, 2002.
- [3] Pawlak K., Niedziółka J.: Non-invasive measurement of chock embryo cardiac work. Czech J. Anim. Sci., 49, 8-15, 2004.
- [4] Rahn H., Poturalski S.A., Paganelli C.V.: The acoustocardiogram: a noninvasive method for

*IWANIEC, Metody nieinwazyjnego pomiaru prenatalnego kardiogramu ptasich embrionów*

measuring heart rate of avian embryo in ovo.  
J. Appl. Phy, 694, str. 1546-1548, 1990.

Autor pracuje na Wydziale Inżynierii Mechanicznej  
i Robotyki Akademii Górniczo Hutniczej w  
Krakowie.