

Noninvasive heart rate measurement system of nontransparent wild-type adult zebrafish

不透明野生種成年斑馬魚非侵入性心率量測系統

組別：A15 組員：林均容 指導教授：李夢麟

摘要

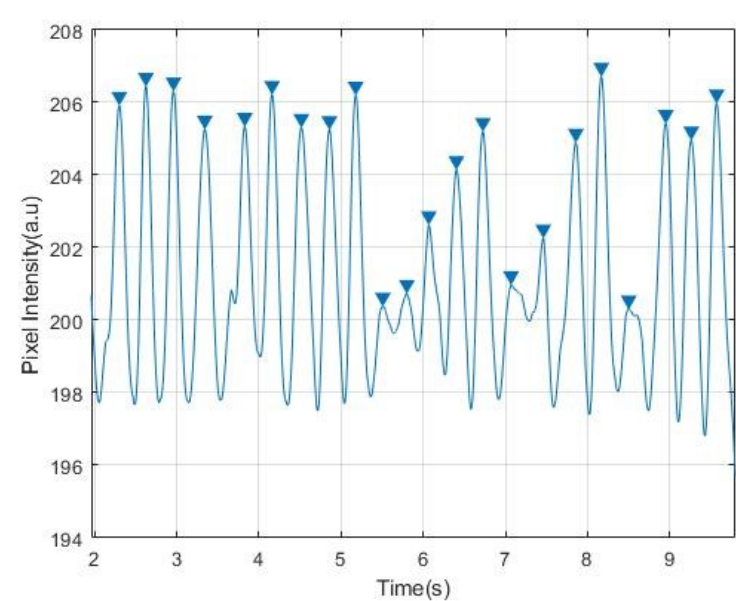
本專題之研究目標，是期望能對不透明成年斑馬魚建立一個簡便的非侵入性心率量測系統，以降低斑馬魚心律量測的複雜度並減少實驗成本，讓此系統在臨床藥物實驗中，更方便快速的觀察斑馬魚施藥後心率變化。

本專題使用 Tricaine 和 Isoflurane 之混合物作為麻醉劑，Dino-lite 手持式數位顯微鏡作為影像擷取設備，MATLAB 作為影像分析及系統整合的軟體。透過將影像轉換成灰階並計算影像平均亮度之變化，求得不透明成年斑馬魚之心率，最後簡化實驗裝置並將所有功能整合成一完整的量測系統，並將實驗流程標準化，讓使用者能夠在無經驗的情況下，在 20 秒內快速求得斑馬魚之心率。

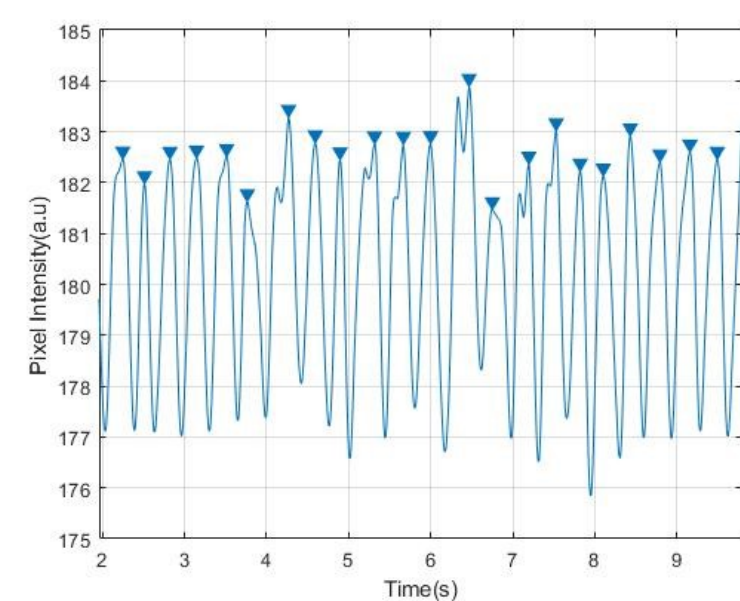
研究方法

一、斑馬魚之麻醉與否

在無麻醉的情況下對斑馬魚進行實驗，此方法相較於有麻醉的實驗方式，完全消除了麻醉劑對斑馬魚心率的影響，然而目前的實驗裝置並不能完全限制斑馬魚的行動，若是斑馬魚在攝影過程中劇烈掙扎，便有可能會脫離實驗平台。



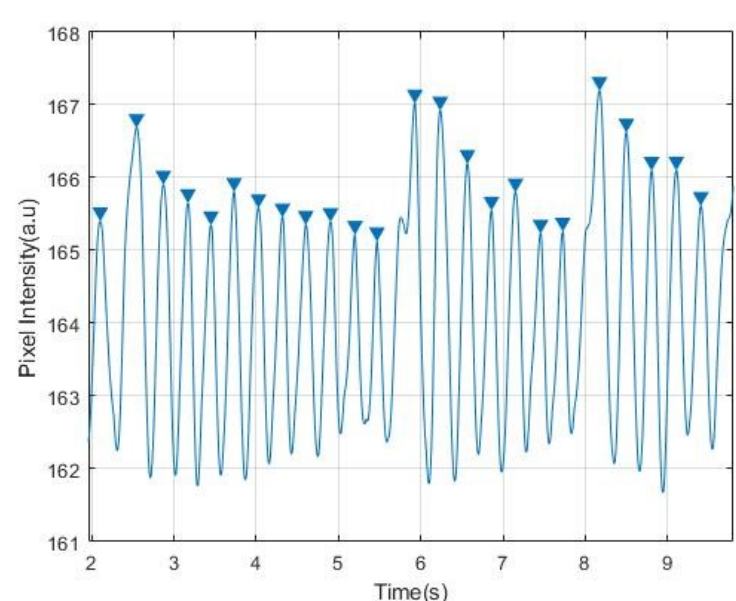
(A)有麻醉之心率圖



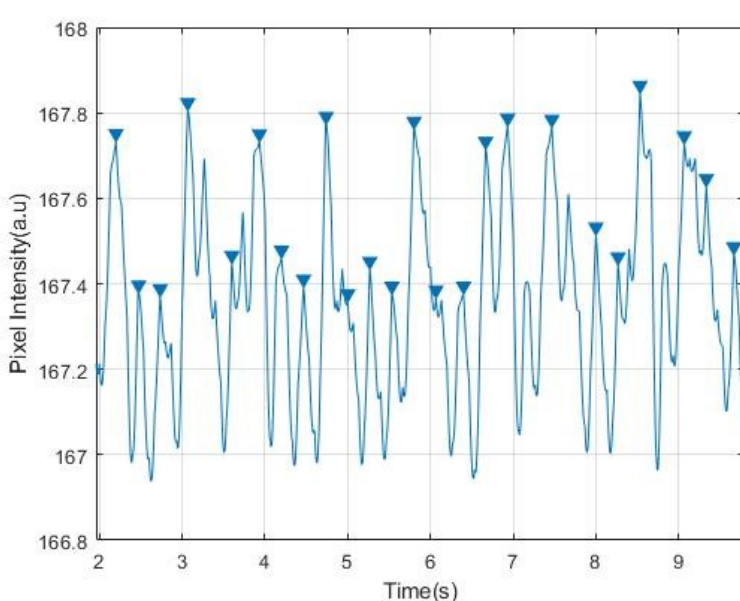
(B)無麻醉之心率圖

二、斑馬魚之固定方式

將已麻醉之斑馬魚腹部朝上置於培養皿上的濕海綿夾縫中，並在胸口覆蓋一玻片而後進行實驗，玻片的功能，其一是為了要固定斑馬魚防止他在實驗過程中掙扎，其二是為了降低顫動造成的雜訊對心率分析的影響。



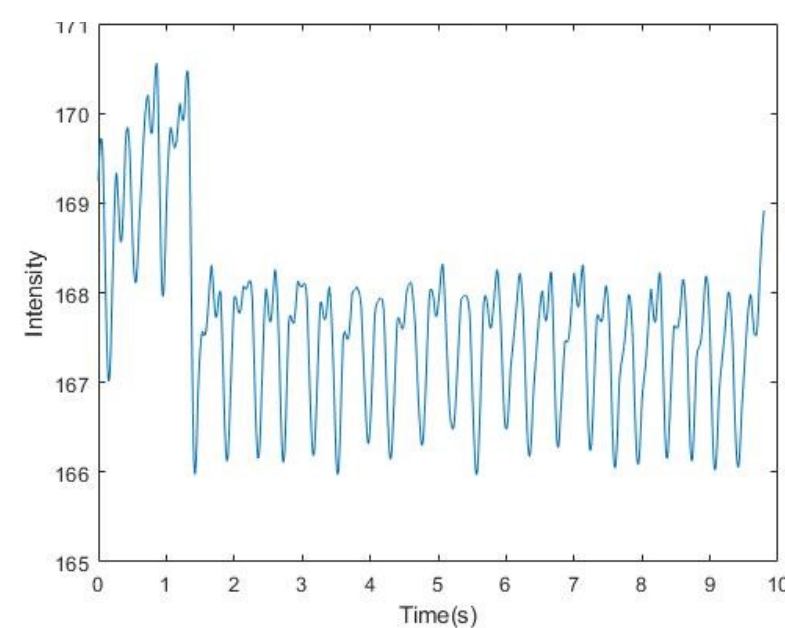
(A)有玻片之心率圖



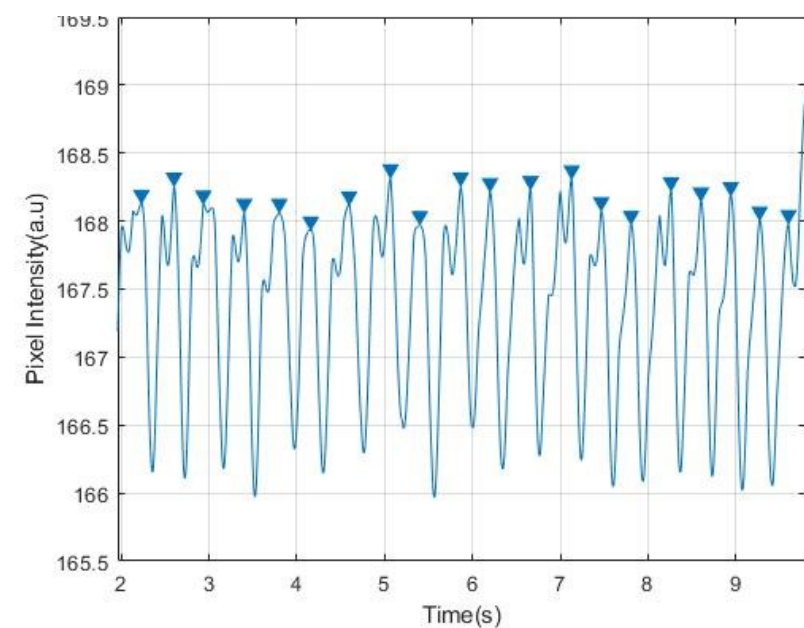
(B)無玻片之心率圖

三、影像分析之區段選取

將錄影時間設定為 10 秒鐘，再將最前面 2 秒鐘未穩定的亮度波動去除，再將後 8 秒之波型之中的每個相對最大值標並計數，再將所得之數目乘以 7.5 以求得每分鐘心率。

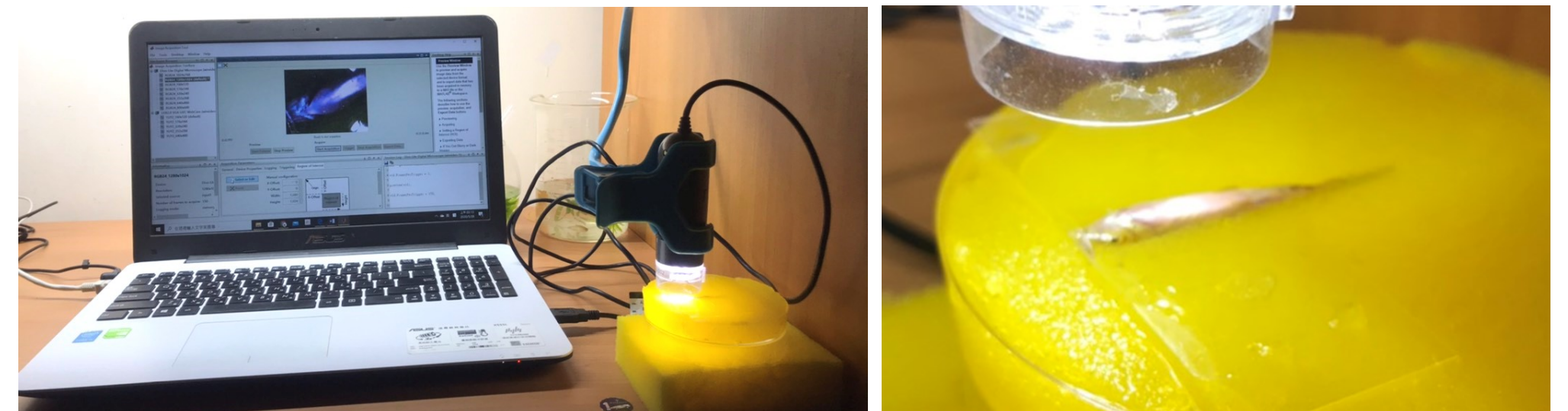


(A)全影片之亮度波型



(B)後 8 秒之亮度波型且標出心跳

研究裝置



本專題之實驗裝置

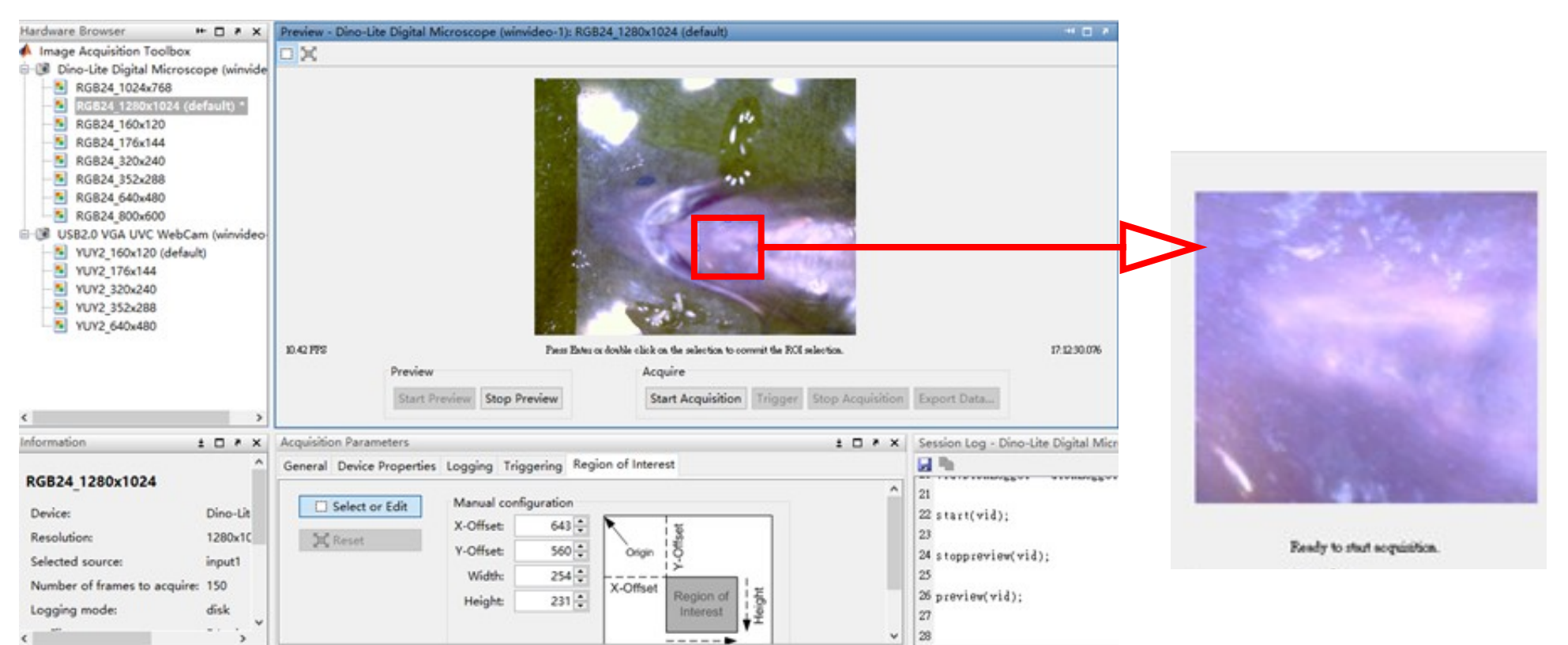
斑馬魚之固定方式

研究結果

一、系統介面整合

本專題使用 Dino-lite 數位顯微鏡拍攝，此攝影裝置之影格率為 15 個影格每秒，足以用來記錄心臟跳動的影像變化。

使用 Image acquisition toolbox 支援封包，該封包讓我們能夠隨意調整錄影區域以及瀏覽錄影畫面，並外加攝影機之 LED 燈照明指令，讓攝影期間自動補光以減少外界光線對實驗結果的影響。



錄影畫面預覽及錄影區域選取

二、實驗步驟標準化

不透明成年斑馬魚非侵入性心率量測的實驗標準流程：

1. 將斑馬魚腹部朝上固定於注滿水之培養皿上
2. 在斑馬魚之胸腔覆蓋一玻片以利實驗攝影
3. 選取適當拍攝位置後執行整合後的分析系統
4. 等待 15 秒便可獲得當時斑馬魚之心率

結論

以非侵入性的攝影及影像處理，來得到斑馬魚之心率的實驗方法，是可行且有效率的心率量測方式，經過系統的整合與實驗器材的簡化，可以大幅縮短實驗的時間，從開始攝影到獲得斑馬魚心率，僅需不到 20 秒的時間，且在無需麻醉的情況下對魚進行實驗，便可節省實驗花費在麻醉劑上的成本。

References:

- [1] Min-Hsuan Lin, Huang-Cheng Chou, Yu-Fu Chen, Wangta Liu, Chi-Chun Lee, Lawrence Yu-Min Liu & Yung-Jen Chuang. (2018) *Development of a rapid and economic in vivo electrocardiogram platform for cardiovascular drug assay and electrophysiology research in adult zebrafish*
- [2] Jie-Yun Ma, Shang-Cing Wei & Meng-Lin Li (2019). *Noninvasive heart rate measurement of adult zebrafish*. 清大電機實作專題競賽報告