

**4. Workshop
Automatisierungstechnische
Verfahren für die Medizin vom
26. bis 27. März 2003 in
Karlsruhe**



**„Visualisierung der Erregungsausbreitung gekoppelt mit
elastomechanischen Messungen im Herzmuskel“**

J. P. Thiele, O. Dössel

Institut für Biomedizinische Technik, Universität Karlsruhe (TH), Karlsruhe, Deutschland

E-Mail: joern.thiele@ibt.uni-karlsruhe.de

Copyright: Forschungszentrum Karlsruhe GmbH
Band: AUTOMED 2003 - 4 . Workshop "Automatisierungstechnische Methoden
und Systeme für die Medizin"
Editors: U. Voges, G. Bretthauer
ISSN: 0947-8620
Pages: 4-5

Visualisierung der Erregungsausbreitung gekoppelt mit elastomechanischen Messungen im Herzmuskel

J. P. Thiele, O. Dössel

Universität Karlsruhe (TH), Institut für Biomedizinische Technik
Geb. 30.33, 76131 Karlsruhe

joern.thiele@ibt.uni-karlsruhe.de

Abstract—Many vital processes depend on the generation and conduction of cellular transmembrane potentials. These membrane potentials can be measured optically by using voltage-sensitive dyes e.g. for studying the spread of excitation on cardiac muscle.

In this paper we present a first set-up to examine auxotonic contractions of isolated cardiac muscles fibers combined with the optical mapping of the transmembrane potential. A probe constructed from fiber optics is used to deliver excitation light for the fluorescence of the voltage-sensitive dye di-4-ANEPPS. Excitation is provided by a diode pumped solid state laser at 473 nm. The spread of the electrical excitation of the tissue is imaged with a CCD camera of high temporal resolution, which enables high fidelity recordings of the transmembrane potential.

Altogether the system permits a real-time measurement of the sarcomere length, the force development and the excitation spread simultaneously.

Keywords—transmembrane potential, voltage-sensitive dye, mechanoelectric coupling

EINLEITUNG

Die optische Potentialmessung hat sich in den letzten Jahren zu einem häufig angewendeten Verfahren etabliert [Nassif88], [Mueller89], [Tritthart97], [Baxter97], [Baxter01], welches die räumlich und zeitlich sehr komplexen Muster transmembraner Potentialänderungen zu messen erlaubt. Im Vergleich zur „voltage-clamp“-Technik, bei welcher mittels einer intrazellulären Mikroelektrode Aktionspotentialänderungen einzelner Zellen gemessen werden, bietet das optische Mapping den Vorteil, berührungsfrei mit höchster räumlicher und zeitlicher Auflösung an vielen Messstellen gleichzeitig Potentialänderungen zu erfassen und somit die Erregung zweidimensional darzustellen.

Die optische Spannungsmessung beruht auf dem Effekt, dass sich spezielle Farbstoffmoleküle (sog. voltage-sensitive dyes) in die Zellmembran einlagern. In Abhängigkeit der transmembranen Feldstärke ändern sich ihre Eigenschaften der Fluoreszenz und markieren somit visuell die fortschreitende Erregungsfront.

Mittlerweile gibt es eine große Auswahl an spannungs-sensitiven Farbstoffen, so dass hinsichtlich des Absorptions- und Fluoreszenzspektrums sowie toxischer Eigenschaften in den Proben dem Anwender verschiedene Substanzen zur Verfügung stehen.

Derzeit entwickeln wir an unserem Institut eine Methode, welche die Messung mechanischer Eigenschaften von Muskelfasern gekoppelt mit dem „optical potential mapping“ ermöglicht.

Die hierbei gewonnenen Ergebnisse dienen der Validierung von Computermodellen, welche die elektromechanischen Kopplungen im Herzmuskel simulieren [Glaenzel02].

MESSAUFBAU

Herzstück der Anordnung (Abb. 1) ist eine Einspannvorrichtung, in welche die Herzmuskelstücke (Länge 6-8 mm, Durchmesser 1-2 mm) zwischen zwei Klammern aufgespannt werden. Über einen Sensor wird die bei der Kontraktion der Muskelfaser entstehende Kraft gemessen. Ein Linearmotor, an welchem eine der Klammern befestigt ist, erlaubt die Messung isotonischer sowie isometrischer Kontraktionen. Somit können die mechanischen Vorgänge, wie sie bei einer normalen Kontraktion im Herzen ablaufen, in dieser Anordnung simuliert werden.

Zur Anregung der Fluoreszenzflüssigkeit di-4-Anepps wird ein diodengepumpter Halbleiterlaser mit einer Wellenlänge von 473 nm verwendet. Das Emissionslicht wird mit einer CCD-Kamera aufgezeichnet, wobei zwei verschiedene Systeme zur Verfügung stehen: eine Hochgeschwindigkeitskamera mit einer maximale Bildrate von bis zu 10.000 Bildern pro Sekunde sowie eine hochempfindliche gekühlte CCD-Kamera, welche eine sehr hohe räumliche Auflösung besitzt.

Im eingespannten Zustand befindet sich die Muskelfaser in einem temperierten Becken, welches von einem Kulturmedium durchströmt wird. Die Durchflussgeschwindigkeit sowie die Temperatur kann hierbei manuell eingestellt werden. Der Plattformboden besteht aus durchsichtigem Glas, welches einen sehr kleinen Abstand (< 3 cm) von der Probe zu einem Aufnahmesystem ermöglicht.

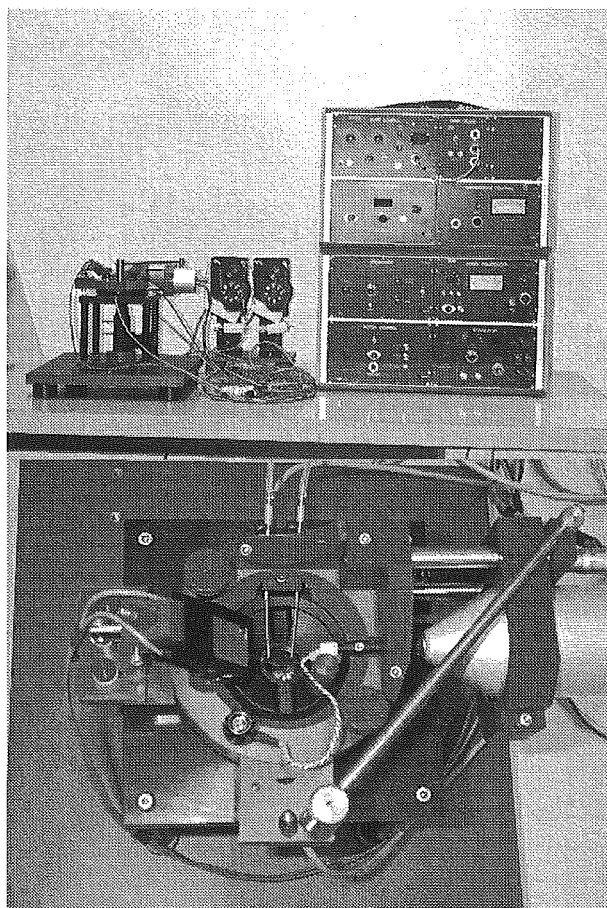


Abb. 1: Messaufbau zur elektrischen und mechanischen Stimulation von Herzmuskelzellen. Oben: Gesamtansicht mit Messplattform, Versorgungspumpen und der Steuereinheit. Unten: Detailaufnahme der Messplattform. Über zwei Kanülen wird die Nährflüssigkeit auf den temperierten Glasboden gepumpt bzw. wieder abgesaugt.

Über einen Elektrodenanschluss an der Klemme, welche mit dem Linearmotor verbunden ist, kann ein elektrisches Signal angelegt werden. Die Gegenklemme dient hierbei als Masse. Bei ausreichend großer Stromstärke werden Kontraktionen des Muskels ausgelöst, der dabei entstehende Kraftverlauf wird durch den Kraftaufnehmer registriert. Ebenso ist es möglich, über den Elektromotor eine tonische Vordehnung der Muskelfasern vorzugeben.

Unter physiologischen Bedingungen besteht zwischen elektrischer Erregung und mechanischer Aktivierung eine enge Kopplung. Durch entsprechende Steuerung können dem Gewebe Dehnungen oder Entdehnungen aufgezwungen werden, welche dem natürlichen Kontraktionsverlauf nachempfunden sind.

Die elektrischen und mechanischen Impulse werden über ein Computerprogramm gesteuert.

AUSBLICK

Die hier beschriebene Messanordnung ist nicht nur auf die Untersuchung von Herzmuskelfasern beschränkt. Bei entsprechender Anpassung lassen sich damit auch größere Herzmuskelstücke hinsichtlich Vorhofflimmern oder kreisenden Erregungen (re-entry) untersuchen.

ZUSAMMENFASSUNG

Die beschriebene Messanordnung erlaubt die mechanische Untersuchung von Herzmuskelfasern unter zeitgleicher Beobachtung der elektrischen Erregungsausbreitung. Durch entsprechende Wahl der mechanischen und elektrischen Parameter können physiologische bzw. pathologische Verhältnisse simuliert werden.

LITERATURHINWEISE

[Nassif88]

G. Nassif, F. Fillette, Ph. Aouate, G. Lascault, and Y. Grosogeat, „CCD Video Imaging of Cardiac Activity“, *SPIE Laser Surgery: Characterization and Therapeutics*, Vol. 907, p 44-50, 1988

[Mueller89]

W. Mueller, H. Windisch, H. A. Tritthart, „Fast optical monitoring of microscopic excitation patterns on cardiac muscle“, *Biophys. Journal*, Vol. 56, p 623-629, 1989

[Tritthart97]

H. A. Tritthart, H. Windisch, W. Mueller, A. Ahammer, and P. Schaffer, „Die Messung von Aktionspotentialen und Mustern der Erregungsausbreitung mittels optischer Methoden“, *Zeitschrift für Medizinische Physik*, Vol. 7, p 242-247, 1997

[Baxter97]

W. T. Baxter, J. M. Davidenko, L. M. Loew, J. P. Wuskell, and J. Jalife, „Technical Features of a CCD Video Camera System to Record Cardiac Fluorescent Data“, *Annals of Biomedical Engineering*, Vol. 25, p 713-725, 1997

[Baxter01]

W. T. Baxter, S. F. Mironov, A. V. Zaitsev, J. Jalife, and A. M. Pertsov, „Visualizing Excitation inside Cardiac Muscle Using Transillumination“, *Biophys. Journal*, Vol. 80, p 516-530, 2001

[Glaenzel02]

K. Glaenzel, F. B. Sachse, G. Seemann, C. Riedel, and O. Doessel, „Modelling Force Development in the Sarcomere in Consideration of Electromechanical Coupling“, *Biomedizinische Technik*, Vol. 47-1/2, p 774-777, 2002