

# Proceedings of Clinical Innovation

**Bachelor of Science Projects in Biomedical Engineering,  
Lund University**

**Volume 6, 2019**

## **Editors:**

**Josefin Starkhammar**, Assistant Professor, Department of Biomedical Engineering,  
Lund University

**Tomas Jansson**, Professor, Clinical Sciences Lund, Biomedical Engineering,  
Lund University, and Clinical Engineering Skåne, Medical Services

Department of Biomedical Engineering  
Faculty of Engineering, Lund University  
Box 118  
SE-221 00 Lund, Sweden  
[www.bme.lth.se](http://www.bme.lth.se)

ISSN 2001-9629  
Printed by Tryckeriet E-huset, Lund University, Sweden

# Contents

## Preface

## Lund University Innovation Prize in Clinical Innovation

### Theses (in alphabetical order, sorted by title)

Amanda Nilsson and Maren Høibø

*Design of prototypes for performing resisted wrist extension*

Amina Gojak and Valeriia Grudtsyna

*Framtagning av IrOx-pH-sensor tillämpad för kontinuerlig mätning i munhåla*

Hjalmar Tingberg, Martin Rosencrantz Ollén

*Justering av kamerahöjd vid operationsbordsförflyttningar*

Amanda Nilsson and Lina Samnegård

*Kopietalsförändringar i lungcancer av typen adenocarcinom*

Rasmus Sobel and Anton Jigsved

*Luftflödesmätning vid reglering av motstånd i hjärtevalueringsystem*

Enrico Corato

*Microchannel acoustic convective flow to guide nanoparticles*

Caroline Katstrup Frostemark

*Mobil Röntgen*

Filip Winzell and Max Mauritsson

*Nanowires for Retinal Prostheses - a Study of Retinal Microglial Cells*

Sanna Nordberg and Matilda Dahlström

*Optimal camera displacement to recreate pediatric cardiac surgeries with stereo vision in VR*

Jessica Kågeman and Mia Cicovic

*Purification of free plasma hemoglobin using affinity chromatography*

Ruben Bergengrip and Pontus Wahlqvist

*The Development and Characterization of Curcumin-Infused Silk-Based Lenses*

Kristina Gehrisch and Lykke Månsson

*Tvådimensionell ultraljudsbaserad blodflödesmätning*

Elin Johansson and Fanny Månefjord

*Ultrasound evaluation of beating hearts ex vivo during transplantation*

Andreas Bennström and Andreas Gustafsson

*Uppbyggnad av databas för signaler från, samt placering av, radiovågsradar vid gång över vardagliga hinder*

Emil Rydén and Mattias Seth

*Utformning av framtidens primärvård*

Malin Hjärtström and Linnea Wenäll

*Utvärdering av GlycoCheck som verktyg inom preeklampsivård*



## Preface

This is the third volume in a series of Bachelor of Science theses authored by students in the Biomedical Engineering program at Lund University. Again, all theses are based on scientific problems or clinical needs stemming from activities at Skåne University Hospital or the Faculty of Medicine at Lund University. Sixteen projects are presented which cover a wide range of topics ranging from fabrication and characterization of a new material for corneal implants and evaluation of a flow sensor for use in a system for evaluation of transplanted hearts, to analysis of patient flow in a primary care unit. All projects were conducted during the spring of 2019 in the format of a course, including also a lecture series on topics relevant to the project development, e.g., sustainability, technical writing, ethics, and perspectives from people employed by the healthcare sector and industry. New for this year was a class on project management.

The examination consisted of a report, included in this volume, and public defense held at Skåne University Hospital on June 3, 2019 when each group gave a presentation of their work followed by opposition from their peers. The reports are formatted as journal papers with the goal to train students in scientific communication; the students could choose to author the reports in Swedish (preferred) or English.

The project course is designed to have a clear focus on innovation and entrepreneurship. In these respects, the active and supportive participation of Simon Jegou and Thomas Rundqvist with co-workers at Lund University Innovation have been instrumental—they have prepared the students to perform a successful pitch of their project as half-time evaluation. As conclusion of the examination, pitching was taken to a more serious level: three projects were elected to qualify for the Lund University Innovation System Prize in Clinical Innovation. The best pitch was awarded with 10 000 SEK, to be spent on further development of the project (see next page).

We would like to express our gratitude to the following persons at Skåne University Hospital and the Medical Faculty at Lund University, who have willingly served as initiators and advisors to the projects: Camilla Dahlqvist, Bodil Ivarsson, Johan Staaf, Helena Strevens, Damon Tojjar, and Phan-Kiet Tran,

We would also like to express our gratitude to the following persons who have willingly served as supervisors: Per Augustsson, Martin Bengtsson, Magnus Cinthio, Cedric Dicko, Henrik Enquist, Tobias Erlöv, Måns Magnusson, Nebojsa Malesevic, Maria Thereza Perez, Harry Pigot, Vijayalakshmi Rajendran, Anders Robertsson, Emanuel Smeds, Kristian Soltesz, Johan Staaf, Damon Tojjar, and Phan-Kiet Tran.

Lund, September 2019

Josefin Starkhammar

Tomas Jansson



## Lund University Innovation Prize in Clinical Innovation

Lund University Innovation has again this year generously offered 10 000 SEK as a prize to the group presenting the best arguments for commercial potential or project urgency. The sum can be used to develop the project further, for instance acquisition of materials or market surveys. Three groups were selected as finalists by the course management, based on the reports handed in at the first deadline, the criteria being innovative potential, scientific execution, and quality of the written report:

- Emil Rydén and Mattias Seth—Utformning av framtidens primärvård
- Malin Hjärtström and Linnea Wenäll—Utvärdering av GlycoCheck som verktyg inom preeklampsivård
- Jessica Kågeman and Mia Cicovic—Purification of free plasma hemoglobin using affinity chromatography

The jury, consisting of Simon Jegou and Louise Wrange, Lund University Innovation and the course management, selected Malin Hjärtström and Linnea Wenäll as recipients of the prize, after having delivered an excellent pitch for their project *Utvärdering av GlycoCheck som verktyg inom preeklampsivård*.



Malin Hjärtström (far left) and Linnea Wenäll (center left) receiving the Lund University Innovation Prize in Clinical Innovation from Simon Jegou (far right) and Louise Wrange (center right).



# Design of prototypes for performing resisted wrist extension

Amanda Nilsson (BME-16), Maren Høibø (BME-16)

**Abstract**—Musculoskeletal disorders are responsible for many of the reported work-related injuries in Sweden. Risk assessments can provide important information about the relationship between work-related injuries and exposure. Surface electromyography (EMG) is used to assess the risk of developing work-related disorders in forearms. The EMG results are normalized with reference values obtained during resisted wrist extensions. The equipment used to perform resisted wrist extension is not ideal. The aim of this project, on behalf of Occupational and Environmental Medicine in Lund, Sweden, was to improve the current equipment, making it more comfortable for the user, easier to clean, and less time-consuming to adjust. The needs for the new equipment were determined and prototypes were made after a design process. Both prototypes have the same design, but different methods for force measurement. The prototypes are easier to disassemble and clean than the original, and the shape makes them more comfortable for the user.

## I. INTRODUCTION

WORK-RELATED injuries cause problems for both the individual and the society. They can cause pain and suffering, and result in economic costs, where loss of production and absence from work are the biggest contributors [1]. In the EU, work-related injuries account for as much as 2.6–3.8 % of the BNP [1]. There are different types of work-related injuries, and an important group is musculoskeletal disorders. In Sweden musculoskeletal disorders are responsible for the majority of the reported work-related injuries; they represent as much as 60 % [1]. There is a relationship between musculoskeletal disorders and exposure to tasks that are repetitive, force demanding or involve fast movements of the wrists [2] [3].

### A. Anatomy of the forearm

The forearm is composed of several muscles, and the bones *ulna* and *radius*. The muscles of the forearm are skeletal muscles. Their principle function is to move the fingers, and the hand at the wrist [4]. This report focuses on the *extensor carpi radialis longus* and the *extensor carpi radialis brevis*, the extensor muscles. When the hand is pronated the distal part of the radius is positioned above the ulna [4] and the extensor muscles are located on the lateral side of the forearm, see Fig. 1.

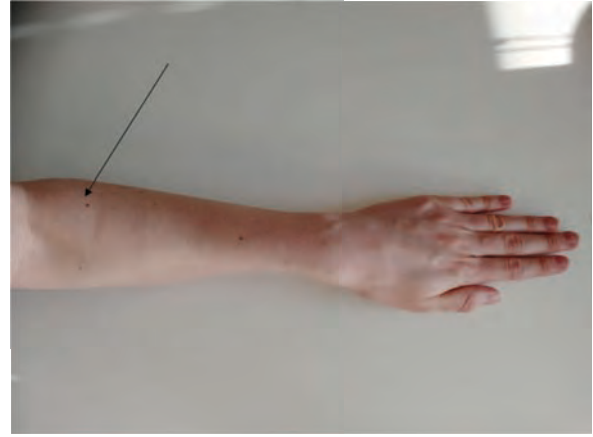


Figure 1. The location of the extensor muscles of the forearm when the hand is pronated.

### B. Surface electromyography

Skeletal muscles, such as the extensor muscles of the forearm, contract in response to action potentials [5]. The resulting signals can be recorded with surface EMG [6]. With surface EMG, electrodes are placed on the skin, and the potential difference between them is measured [7]. The difference in potential is due to an electrical field that moves across the tissue [7] [8].

When placing the electrodes, incorrect placement in relation to the innervation zone<sup>1</sup>(IZ) can affect the measured EMG signals. The amplitude of the EMG signal will decrease if the electrodes are placed on each side of- and with the same distance to the IZ. [9]

### C. Risk assessment for work-related musculoskeletal disorders

Risk assessments for occupational disorders assess the risk of getting injured at work, and can help determine if an injury is work-related. Occupational and Environmental Medicine South (OEM South) in Lund, Sweden, specialises in, amongst others, risk assessment of work-related disorders, and its correlation to exposure [10]. OEM South has proposed guideline values for all day exposure, to assess risks for work-related injuries in the upper extremities. A high percentage of maximum voluntary electrical activity during work, and long exposure times, increase the risk of developing musculoskeletal disorders. In addition to the magnitude of the contraction and the exposure time, there are also guidelines for the minimum amount of rest forearms need during a

Submitted June 9, 2019

E-mail: am0434ni-s@student.lu.se, ma2835ho-s@student.lu.se

Technical supervisor: Henrik Enquist, OEM South

Clinical supervisor: Camilla Dahlqvist, OEM South

<sup>1</sup> The innervation zone is where the depolarization of a motor unit begins and is often located in the middle of a motor unit. A motor unit consists of several muscle fibres and a single neuron, which they are innervated by [7].

work day. If the guideline values are exceeded there is a risk of developing work-related musculoskeletal disorders. To reduce the risk, preventive measures can be introduced at the workplace, but first risk assessments must be performed [2] [3].

It is important that the methods to assess risks are reliable, accurate and as objective as possible [2]. The assessments can be based on observations, self-reporting, checklists, assessments by experts, and measuring devices and software for analysis [2]. Physical workload can be difficult to estimate visually, therefore test methods based on observations are not ideal. Neither is self-reporting, since self-reporting as well as observations are subjective [2]. Use of measuring devices and software for analysis, on the other hand, have many advantages. They are objective and some can collect data over extended periods of time [2]. To perform reliable risk assessments for musculoskeletal disorders, it is therefore recommended to use technical measurements instead of observational assessments when possible [11].

#### D. Measuring muscle activity in forearm extensor muscles

OEM South visits workplaces to study the risks of developing work-related musculoskeletal disorders. They use surface EMG to measure muscle activity in the extensor muscles to assess the workload in the forearms during work [12]. By matching the time for each work task with the EMG results, the workload of the task can be evaluated. The amount of rest can also be measured [2].

EMG signals performed during work are normalized with, and expressed as a percentage of the maximum voluntary electrical activity (MVE) of the forearm extensors. This is done to make comparison between individuals possible [13] [9].

OEM South uses resisted wrist extension to perform maximal isometric voluntary contractions (MVC) to obtain MVEs. Resisted wrist extension is a procedure where the hand is pronated and pushed upwards in an isometric contraction against a resistance, activating the extensor muscles of the forearm [12] [9]. By measuring the muscular activity with surface EMG during MVC, the reference value, MVE, is obtained [9]. Force measurements are used to ensure that the test subject performs *maximal* voluntary contractions during all measurements. This can be determined by comparing the force results to known data, and checking whether a test subject's force measurements are of similar size [14].

The method currently used by OEM South to perform resisted wrist extensions involves wearing a work glove attached to a wooden disk. The glove is connected with an inelastic band to a load cell (Lutron Electronics Enterprise CO., LTH, FG-6100SD, Taipei, Taiwan), which is attached to a wooden board placed on the floor, see Fig. 2. The force applied on the load cell is measured with a dynamometer (Lutron Electronics Enterprise CO., LTH, FG-6100SD, Taipei, Taiwan).

The current product is uncomfortable to wear and is not possible to adjust to different hand sizes. The adjustment bands and the wooden disk can also cause local pressure points on the wrist and hand. Furthermore, the product is not possible



Figure 2. Current method used to perform resisted wrist extensions at OEM South.

to clean, due to its shape and that it consists of different inseparable materials. It is also time-consuming to assemble, since the product and its ancillary equipment consist of several parts.

As an alternative to resisted wrist extension, MVE of the forearm extensor muscles can be measured with surface EMG by using the hand dynamometer Jamar (Sammons Preston, 5030J1, Bolingbrook, IL, USA) [9]. During this method, the test subject holds the Jamar in one hand, and performs an isometric grip with maximal force. With Jamar, less equipment is needed than with resisted wrist extension. Therefore, the Jamar might be more convenient to use at workplaces. However, higher EMG signals have sometimes occurred while performing work tasks, than during MVC with Jamar. This indicates that when using Jamar, the extensor muscles are not always fully activated, and MVE might not be reached. Therefore, resisted wrist extension might be better when MVE in forearm extensor muscles is measured. [9]

#### E. Purpose

This project is done on behalf of OEM South. The product they currently use to perform resisted wrist extensions is not ideal. It is uncomfortable for the user, and not possible to clean. The purpose of this project is therefore to come up with an alternative solution to the already existing equipment. The aim is to develop a prototype for performing resisted wrist extensions, while measuring force and surface EMG, during MVC of extensor muscles in forearms. Besides being

able to make accurate measurements, the prototype should be comfortable, easy to clean and user-friendly.

### F. Agenda

To understand why an improved product for performing resisted wrist extension is needed, the first part of this report focused on the assessment of risk for developing work-related disorders, and existing methods to assess these risks. The process of developing prototypes will be described below. The results of the project, and a discussion of the results as well as possible improvements, are presented at the end.

## II. METHOD

### A. Research

Research was done to gain a better understanding of the current test methods and why they are needed. To know where the extensor muscles are located and what happens when they are activated, the anatomy of the forearm was studied.

The current test, with both EMG measurements and maximal force measurements with the Jamar and with the load cell and dynamometer, was learned. This was done to understand the issues with the current product and why there is need of a new one. How to apply EMG electrodes and perform EMG measurements and force measurements was learned.

### B. Design process

To determine the issues with the old product and the needs for a new, brainstorming with post-it notes was done with a method from *101 design methods* by Kumar [15]. The original MVC test procedure was divided into categories. They were "preparation", "transport of equipment to and from workplaces", "assembly", "test", "disassembly" and "cleaning". Problems and needs for each category were found and written down on post-it notes, see Fig. 3. The category "test" was found to have the most problems, it was also the category with most needs, see Fig. 3.

As told by our supervisors and seen when taught the old methods, the main problems were that the current solution is time consuming, uncomfortable and not possible to clean. The needs were accordingly that there should be few adjustments needed to set up the equipment, and that there should not be anything that could cause local pressure points on the hand. The number of components should also be as few as possible, and if the product consisted of different materials it should be easy to disassemble, and easy to clean.

A user journey map, which is a detailed description of each step of a process [15], was made to determine the details of the test procedure for the current product. By doing this it was easier to see what was done when and why, and discover any unknown issues regarding the testing. Then, the most important needs were determined, and a new brainstorming session was held to generate ideas on how to meet each need separately.

Possible solutions to the problems were sketched. Then the solutions were discussed with our supervisors. The solutions were narrowed down to two main ideas, one using the load cell

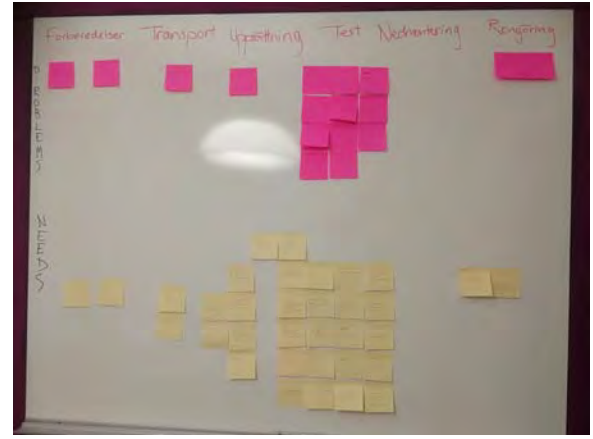


Figure 3. Brainstorming problems and needs at different stages of the test process with the current equipment. The stages "preparation", "transport of equipment to and from workplaces", "assembly", "test", "disassembly" and "cleaning" are respectively seen in red at the top. The pink post-it notes are problems and the yellow needs, each grouped together for the different stages.

and dynamometer from the original setup, the other using a pressure sensor. These solutions will from here on be referred to as prototype 1 and 2 respectively. To fit different finger lengths, an idea of a fingerless glove underneath a hard shell was worked on. The fingerless glove and shell were eventually replaced by just a hard shell, after advice from our technical supervisor, and covered in a soft fabric. Both ideas were thought to have similar hard shells.

The fixed point for the current product is a board placed on the floor, see Fig. 2. Measuring force without the need of the board on the floor was considered. However, to measure force, a fixed point is needed. The possibility of replacing it with a smaller board attached to a table was discussed.

### C. Building preprototypes

The first preprototypes were made of cardboard, plastic bottles and cloth. This made it easier to decide what would work, and what would not. The first preprototype of a hard shell was made of a plastic bottle and cardboard. It was later developed into a more solid preprototype. By using cheap, accessible materials the process could start quickly, and changes could be made easily.

To explore the concept of a hard shell shaped after the top of a hand, preprototypes of salt dough were made. Four different shells were made, each with slightly different shapes, and three of them had differently placed slits for attachment of inelastic bands. One of the shells was tested in the lab attached to a load cell and a dynamometer, see Fig. 4. It worked well regarding pushing up towards it, but its shape needed to be more rounded to prevent the hand from moving out of the shell during testing. The slits for the inelastic band had to be far out on the shell to avoid interference with hand movement. Then, new shells were made of salt dough. The new shells were more rounded, thus keeping the hand better in place. Two of them were too rounded, making them uncomfortable for the thumb and leaving a hollow space above the hand when worn.



Figure 4. Testing of a preprototype made of salt dough with existing force measuring equipment. An inelastic black band connects the preprototype with load cell.

#### D. Building prototype 1

A new shell was made of the polyester polycaprolactone (PCL) (Moldit, Moldit Blue, Svendborg, Denmark). PCL is a nontoxic, biodegradable plastic that is mouldable when heated in warm water [16] [17], and has a melting point at approximately 60 °C [18]. The shell was made after the salt dough shell found most comfortable. By using PCL the shell could be moulded while it set. Small adjustments could be made by reheating it several times. A clean shell without slits was made to find the correct shape. It was decided that the shell without slits was preferable since the slits might interfere with the hand movement. Therefore, an inelastic band was attached to the shell with a press stud instead. A soft, thick fabric was placed underneath the shell. To keep it in place a thin fabric pocket was made to cover it, see Fig. 8.

#### E. Building prototype 2

The second prototype consisted of the same shell as prototype 1, but a pressure sensor was placed between the thick and thin fabric. First, a 50 kg half bridge load cell (Lastcell 50 kg, Art.nr: 41015516, Electrokit, Malmö, Sweden) with digital output, was tried. The sensor required an amplifier (SparkFun, HX711, Boulder, CO, USA) to scale the output signals. The load cell was connected to a microcontroller (Kjell & Company, Arduino-compatible Uno, Malmö, Sweden) via the amplifier and a breadboard. An LCD shield (Luxorparts, LCD keypad shield) was placed on the microcontroller. The microcontroller was also connected to a computer. Since

the load cell was a half bridge it was coupled with two resistors to become a complete Wheatstone bridge [19], after instructions from SparkFun [20]. The sensor and LCD screen were programmed in Arduino Web Editor (online Integrated Development Environment) [21] with code from Kjell & Company [22] and code written by Seidle [23]. Some new code was also added. The code did not work properly, and it was decided to try different sensors instead. One was a 10 kg load cell (Lastcell 10 kg, Art.nr: 41016404, Electrokit, Malmö, Sweden), also with digital output. The code did not work properly for it either. The size of the sensor was also too big to fit in the prototype.

A third sensor was tested. It was a force sensitive resistor (Interlink Electronics, force sensitive resistor square, Camarillo, CA, USA), which does not measure force very accurately [24], but is small in size. The code was changed, and code from Adafruit [25] and Kjell & Company [22] was used. Some extra code was added. Loads ranging from 100 g to 10 kg could be applied. By exerting different loads on the sensor, its resistance changes, the higher the load, the lower the resistance. The output from the sensor was measured in voltage [24]. The sensor was coupled to the microcontroller and LCD shield via the breadboard, and the microcontroller was connected to a computer. The electric circuit was coupled after the sensor's specifications [26] and instructions on Adafruit [25] using a 10 k $\Omega$  resistor. After the electric circuit was tested on the breadboard, a circuit board was made to replace it, see Fig. 5.

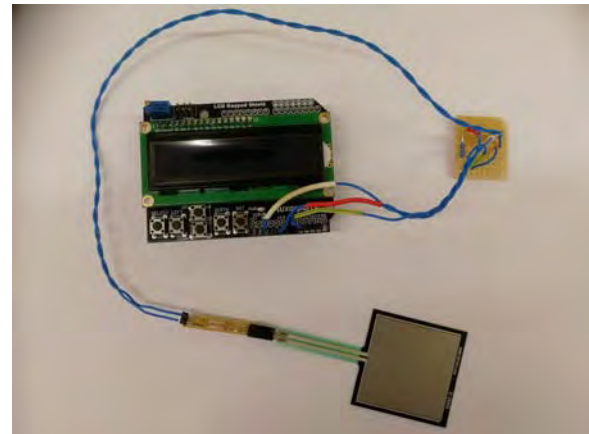


Figure 5. The force sensitive resistor coupled to an circuit board, then to a microcontroller and an LCD shield.

To get the specific force sensitive resistor to work properly, the sensor had to be calibrated and the code modified. To calibrate it, the load cell and dynamometer from the original product were used as reference while resisted wrist extensions were performed, see Fig. 6. Force was measured with the original product's dynamometer and load cell, while the output voltage from the sensor was recorded simultaneously with the microcontroller. The code included a function that expressed the voltage as conductance, since the sensor's resistance corresponds to applied force. The measurement was repeated 30 times. The resulting values were plotted in MATLAB [27], and the first degree function explaining the relationship between the conductance of the sensor and the reference force the best,

was found by using MATLAB's polyfit function. The slope and y-intercept were used to calibrate the sensor, this was done by changing the code to express force as a function of conductance. Thereafter, the force sensitive resistor was tested again with the dynamometer from the original product as a reference, see Fig. 6, to see whether the force sensitive resistor and load cell with dynamometer registered similar forces.



Figure 6. Calibration of the force sensitive resistor by performing resisted wrist extensions with a load cell and dynamometer as reference.

#### F. Test procedure for MVE- and force measurements

Prototype 1 and the original product were tested, as described below, according to a modified version of a test procedure used at OEM South. The test subject performed MVC during resisted wrist extension, and maximal force and surface EMG were recorded simultaneously.

For both prototype 1 and the original product the extensor muscles were first located by palpation of the pronated forearm. The most prominent part of the muscles was found, cleaned with hand disinfectant and then rubbed with emery cloth. Two electrodes (Ambu A/S, Ambu Neuroline 720 72000-S/25, Ballerup, Denmark) were placed on each side of the most prominent part of the muscles, orthogonal to the muscles, see Fig. 7. Another electrode, a ground electrode, was placed on a bony surface at the test subject's upper back [12].

EMG cords (TMSi, 95-7673-0015-0-1, Oldenzaal, The Netherlands) were then attached to the electrodes on the arm, and a different cord (TMSi, 95-7173-5015-0-2, Oldenzaal, The Netherlands) was attached to the electrode at the upper back. Tape was used to keep both the cords and the electrodes on the arm in place. After this, the cords from the electrodes were



Figure 7. Electrodes placed on the most prominent part of the extensor muscles of the forearm.

connected to a Mobi (TMSi, Mobi8, Oldenzaal, The Netherlands) which was used to record the EMG measurements [12].

The test subject was seated with a small gap between their back and the back of the chair. Then the shell or original product was placed on the hand, while the wrist was resting at the edge of the table. An inelastic band connected the shell or the original product to the load cell on the floor, in the same way as with the original setup, see Fig. 2. The subject was asked to push the shell upwards as much as possible during the MVC, while encouraged by the instructor. The instructor sat on the wooden board on the floor preventing it from lifting of the ground. Three MVCs were performed with 1.5-2 min break between. [12]

With prototype 1 the test procedure was repeated three times for test subject 1, twice for test subject 2, and once for test subject 3. With the original product the test procedure was repeated once for all test subjects. The EMG-data was analysed with the EMINGO software suite [28] developed by OEM South using MATLAB [29] to obtain MVEs.

### III. RESULT

Two different prototypes were created, prototype 1 uses the load cell and dynamometer from the original setup, while prototype 2 measures force with a force sensitive resistor.

Both prototype 1, and prototype 2 consist of the same hard shell made of PCL, shaped after the back of a hand, with an inelastic band attached with a press stud. The press stud is placed in a more proximal position than in the original product. A thick fabric covers the side of the shell that is in contact with the skin, held in place with a thin cloth pocket, see Fig. 8. Both prototypes are possible to disassemble completely, except for the press stud, which is permanently fastened in the inelastic band and the PCL shell. The surface of the shell is not completely smooth, it has some irregularities in the surface. The prototypes fit both hands.

Prototype 2 uses the same shell as prototype 1, but measures force with a force sensitive resistor, instead of using a load cell and dynamometer. The force sensitive resistor is placed between the thick and thin fabric covering the inside of the PCL shell, positioned below the press stud, see Fig. 9. The shape of the sensor worked well with the shell and did not



Figure 8. Prototype 1: A shell made of PCL with an inelastic band attached with a press stud. A thin fabric pocket covers the inside and part of the outside of the shell.

seem to affect the user-experience much. The prototype was able to measure differences in force after calibration. However, the measurements were not accurate, nor consistent when compared with measurements from the reference load cell and dynamometer. The resulting forces were presented on the computer screen.

Force measurements and MVE results for tests with prototype 1 and the original product are shown in Table 1. Lower forces were obtained for all test subjects when using the original prototype, compared to when using prototype 1. The MVEs for each test subject were similar, regardless of the equipment used during MVC.

Feedback on the design of the prototypes included that the shell had an overall comfortable shape, except for the area close to the wrist. The fabric was experienced to be slightly thin. Furthermore, the prototypes appeared to slip on the hand when force was not applied. However, this problem was not noticed during performed MVCs.

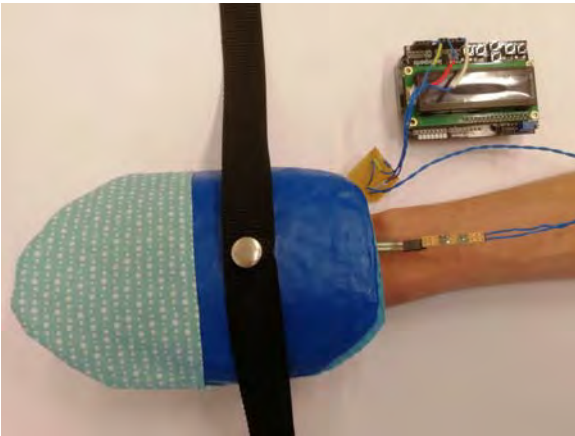


Figure 9. Prototype 2: A shell made of PCL with an inelastic band attached with a press stud. A thin fabric pocket covering the inside and part of the outside of the shell. Between the thick and thin fabric a force resistive sensor is placed. The sensor is connected to a microcontroller and an LCD shield. The microcontroller is connected to a computer when used. That is not shown in this picture.

Table 1  
FORCE MEASUREMENTS AND MVEs FROM PERFORMED MVCs DURING RESISTED WRIST EXTENSION FOR TEST SUBJECT 1, 2 AND 3.

|                  | Subject | Force [N] |       |       | MVE [ $\mu$ V] |
|------------------|---------|-----------|-------|-------|----------------|
| Prototype 1      | 1       | 108.4     | 99.8  | 104.4 | 1085.93        |
|                  | 1       | 96.8      | 98.8  | 101.4 | 912.03         |
|                  | 1       | 101.6     | 97.6  | 99.6  | 1281.19        |
|                  | 2       | 84.2      | 78.4  | 80.4  | 284.98         |
|                  | 2       | 93.0      | 89.2  | 97.6  | 290.95         |
|                  | 3       | 134.8     | 112.4 | 107.8 | 720.04         |
| Original product | 1       | 66.2      | 72.8  | 67.4  | 1264.82        |
|                  | 2       | 56.4      | 58.8  | 57.0  | 347.17         |
|                  | 3       | 77.0      | 76.4  | 73.2  | 752.62         |

#### IV. DISCUSSION

By eliminating the glove, the product could fit more hand sizes and would be easier to clean. The shell used in both prototype 1 and 2 is easier to disassemble than the original work glove and wooden disk, which also makes it much easier to clean properly. The shell is made of PCL, which can not withstand temperatures above 60 °C. If the finished product were to be cleaned with heat or warm water, it should be made in a material that is more heat resistant. Alternatively, it could be made with a completely smooth surface, making it possible to disinfect properly. This might be possible with PCL, if made in a cast that makes the surface completely smooth. While the shape of the shell seems to work pretty well when force is applied, it easily slides off the hand during rest. This could possibly be solved either with a shell with more prominent edges, or, as our technical supervisor commented, with for example a band of hook-and-loop fastener around the hand or wrist.

Overall the prototypes were experienced as more comfortable than the original product. However, the fabric on the prototypes, which formed a soft barrier between the hard shell and the skin, was experienced as somewhat thin. This caused some local points of pressure on the hand. Using a thicker fabric might make the prototypes even more comfortable compared to the original product.

When resisted wrist extensions were performed with prototype 1 and the original product, approximately the same MVEs were obtained. The three force measurements that were done in each test, also seemed to be similar in magnitude for most tests, except for the measurements for test subject 3 with prototype 1, see Table 1. This might indicate that the MVCs were performed correctly, except for that specific test. The difference in measured force between the original product and prototype 1 could be due to the placement of the inelastic band. However, the difference is not important as long as the measurements within each test are similar, and maximum MVEs are obtained. The low values in MVEs for test subject 2 might be due to the placement of the electrodes in relation to the IZ or because of individual differences. It does not seem to be due to the design of prototype 1, since it was observed for both prototype 1 and the original product. However, it is not possible to draw any conclusions based on the given data, due to the limited number of test subjects and measurements.

Prototype 2 might be a better solution than prototype 1, since it has a built-in sensor and does not require an external

load cell and dynamometer. However, the force sensitive resistor used is not very accurate and possibly not calibrated correctly. Therefore, it would have to be substituted with a different sensor if the prototype were to be developed into a product. To be able to choose the best sensor, and be sure it is programmed and calibrated correctly, further reading about sensors and coding would have to be done. The sensor would also have to be able to measure higher loads than 10 kg, since higher forces might be applied, as seen during testing of prototype 1. A load cell might work, even though the first and second sensor tried in this project did not. Most likely the code for the first sensors, or the circuits were faulty, leading to incorrect results. The chosen sensor would have to be tested more thoroughly and be calibrated correctly. Even though the force measurement with prototype 2 does not work properly, it might work as a proof of concept for measuring force in alternative ways.

The LCD screen could be used to present the resulting force instead of showing them on the computer if the code was altered. This could easily be done in the future.

If it was possible to attach the shell to a table instead of having the fixed point at the floor, then the size of the equipment could be smaller and easier to transport. Furthermore, by eliminating the board on the floor the instructor would not have to sit on it during testing. This could be worked on in another project.

#### A. Ethics

It is important that equipment used to assess risk gives reliable results. The current product for resisted wrist extensions is not very comfortable, which might result in incorrect MVE values. More comfortable equipment might lead to more reliable results, and consequently more accurate risk assessments, since pain during measurements might keep the test subject from pushing upwards with maximal force.

As with the old product, the prototypes are non-invasive and used for short periods of time. In addition, they are better fitted to multiple hand sizes, and have a differently placed inelastic band. This makes the product more comfortable to use.

The solutions have to be tested further and be completely developed before they can be used at workplaces. It is important that the final product is safe to use. Since the prototypes are non-invasive and only used for a limited amount of time, the risk of getting harmed using the equipment is low. Since PCL is nontoxic, it is a suitable material to use. If prototype 2 were to be developed into a product, the electronics would have to be covered to avoid contact with users.

#### B. Sustainability

The prototypes are reusable with no single-use parts. They are possible to disassemble, since the inelastic band is attached to the PCL shell with a press stud. This makes it possible to replace parts if they break, without replacing the entire product. It also makes the products easy to clean.

While PCL might not be ideal for a finished product since it can not be cleaned at high temperatures, it is well suited for prototypes since it is mouldable, non-toxic and biodegradable.

By using a thermoplastic that could be moulded multiple times while making the shell, the amount of plastic used to make the shell could be minimised.

Both the original product and the prototypes require an external energy source to measure force. Even though the products need energy to run, the amount is very small. However, to perform maximal voluntary contractions with resisted wrist extension this might be necessary. From an environmental perspective, Jamar might be a better choice since it is mechanical and does not require electricity.

### V. CONCLUSION

This project resulted in a prototype using two different methods to measure force. The prototype with a force sensitive resistor was not able to measure force accurately. However, it could work as proof of concept for alternative ways of measuring force. The prototypes were experienced as more comfortable than the original product and they fit both hands. They are also easier to disassemble and clean than the original product.

### VI. ACKNOWLEDGMENT

We are grateful to our technical supervisor, Henrik Enquist and our clinical supervisor, Camilla Dahlqvist at Occupational and Environmental Medicine South in Lund for their help and feedback throughout the project. We would also like to thank Christian Antfolk for guidance about sensors, Nebojsa Malesevic and Pamela Svensson for help with the sensors and programming, and Axel Tojo for help with soldering and for the idea of making a circuit board. The work has been divided evenly between the authors.

### REFERENCES

- [1] C. Edling, G. Nordberg, M. Albin, and M. Nordberg, Eds., *Arbets- och miljömedicin - en lärobok om hälsa och miljö*, 3<sup>rd</sup>ed., Lund: Studentlitteratur, 2011, pp. 21, 171.
- [2] G. Hansson, I. Arvidsson, and C. Nordander, "Riktvärden för att bedöma risken för belastningsskador, baserade på tekniska mätningar av exponeringen," Arbets- och Miljömedicin, Lund, Sweden, Report 4, 2016. [Online]. Available: <http://fhvmetodik.se/wp-content/uploads/2013/05/Riktv%C3%A4rden-f%C3%B6r-att-bed%C3%B6ma-risken-f%C3%B6r-belastningsskador-baserade-p%C3%A5-tekniska-m%C3%A4tningar-av-exponeringen.pdf>
- [3] I. Arvidsson, C. Dahlqvist, H. Enquist and C. Nordander, "Åtgärdsnivåer mot belastningsskada" Arbets- och Miljömedicin, Lund, Sweden, Report 18, 2017. [Online]. Available: <http://fhvmetodik.se/wp-content/uploads/2015/01/%C3%83%E2%80%A6%C3%83%C2%A4rdsniv%C3%83%C2%A5er-mot-belstningsskada.pdf>
- [4] R. L. Drake, A. W. Vogl, and A. W. M. Mitchell, *Gray's Anatomy for Students*, 3<sup>rd</sup>ed., Philadelphia: Churchill livingstone Elsevier, pp. 693, 775.
- [5] P. Holck, "muskene," *Store medisinske leksikon*, 2018 [Online]. Available: <https://sml.sn.no/muskene>. [Accessed April 4, 2019].
- [6] D. H. Ingvar, contributor, "EMG", *Nationalencyklopedin*. [Online]. Available: <https://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/emg>. [Accessed April 18, 2019].
- [7] M. Barbero, R. Merletti, and A. Rainoldi, *Atlas of Muscle Innervation Zones, Understanding Surface Electromyography and Its Applications*. Milan: Springer, 2012, pp. 3, 8, 26, 29, 71.
- [8] J.D. Enderle, and J.D. Bronzino, *Introduction to Biomedical Engineering*, 3<sup>rd</sup>ed., Oxford: Academic Press, 2012, p. 668.
- [9] C. Dahlqvist, C. Nordander, L. Granqvist, M. Forsman, and G. Hansson, "Comparing two methods to record maximal voluntary contractions and different electrode positions in recordings of forearm extensor muscle activity: Refining risk assessments for work-related wrist disorders," *Work*, vol. 59, no. 2, pp. 231-242, 2018. DOI:10.3233/WOR-172668

- [10] Södra regionvårdsnämnden, Uppdragsbeskrivning Arbets- och miljömedicin Syd, Oct. 2017. [Online]. Available: <https://sodrasjukvardsregionen.se/amm/om-oss/>. [Accessed: May 16, 2019].
- [11] M. Forsman, "Ergonomic risk assessments – a need for reliable and attractive methods," in *NES2016 - Ergonomics in theory and practice. 48th Annual Conference of Nordic Ergonomics and Human Factors Society*, Kupio, Finland, 2016, pp. 28-32. ISBN: 978-952-61-2192-5.
- [12] C. Dahlgvist. Oral information. Occupational and Environmental Medicine South, Lund, Sweden, Jan. 29, 2019.
- [13] I. Åkesson, G. Hansson, I. Balogh, U. Moritz, and S. Skerfving, "Quantifying work load in neck, shoulders and wrists in female dentist," *International Archives of Occupational and Environmental Health*, vol. 69, no. 6, pp. 461-474, 1997.
- [14] H. Enquist. Oral information. Occupational and Environmental Medicine South, Lund, Sweden, May 15, 2019.
- [15] V. Kumar, *101 design methods: a structured approach for driving innovation in your organization*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2013, pp. 183.
- [16] Moldit, "Frequently Asked Questions," *Moldit*. [Online]. Available: <https://molditworld.com/faq/>. [Accessed: April 15, 2019].
- [17] Moldit, "This is Moldit", *Moldit*. [Online]. Available: <https://molditworld.com/about/> [Accessed: April 15, 2019].
- [18] Wikipedia, "Polycaprolactone," *Wikipedia*, 2019 [Online]. Available: <https://en.wikipedia.org/wiki/Polycaprolactone>. [Accessed April 18, 2019].
- [19] Electrokit, "Lastcell 50Kg," *Electrokit*. [Online]. Available: <https://www.electrokit.com/produnkt/lastcell-50kg/>. [Accessed: April 3, 2019].
- [20] S. Al-Mutlaq and A. The Giant, contributors, "Load Cell Amplifier HX711 Breakout Hookup Guide", *Sparkfun*. [Online]. Available: <https://learn.sparkfun.com/tutorials/load-cell-amplifier-hx711-breakout-hookup-guide> [Accessed: April 24, 2019].
- [21] Arduino Web Editor, Version 5.5.3, Arduino. [Web App]. Available: <https://create.arduino.cc/>.
- [22] Kjell & Company, "Luxorparts LCD-shield för Arduino", *Kjell & Company*. [Online]. Available: <https://www.kjell.com/se/sortiment/el-verktyg/elektronik/optokomponenter/led-lcd-displayer/luxorparts-lcd-shield-for-arduino-p87876#ProductDetailedInformation> [Accessed: April 8, 2019].
- [23] N. Seidle, "Load Cell Amplifier HX711 Breakout Hookup Guide", *Sparkfun*. Code, Nov. 19, 2014. [Online]. Available: <https://learn.sparkfun.com/tutorials/load-cell-amplifier-hx711-breakout-hookup-guide> [Accessed: April 24, 2019].
- [24] "Pressure sensitive resistor square", *Electrokit*. [Online]. Available: <https://www.electrokit.com/en/product/pressure-sensitive-resistor-square/>. [Accessed: May 21, 2019].
- [25] L. Ada, and D. Nosenowitz, contributors, "Using an FSR", *Adafruit*. [Online]. Available: <https://learn.adafruit.com/force-sensitive-resistor-fsr/using-an-fsr> [Accessed: May 13, 2019].
- [26] Interlink electronics, *FSR Force Sensing Resistor Integration Guide and Evaluation Parts Catalog with Suggested Electrical Interfaces*, Version 1, Interlink electronics, Inc. Camarillo, CA, USA.
- [27] MathWorks Inc, *MATLAB R2017b*. [Software]. Natick, MA, USA, 2017.
- [28] Occupational and Environmental Medicine, *EMG 170901*. [Software]. Lund University Hospital, Lund, Sweden, 2017.
- [29] MathWorks Inc, *MATLAB R2016b*. [Software]. Natick MA, USA, 2016.

# Framtagning av IrOx-pH-sensor tillämpad för kontinuerlig mätning i munhåla

Amina Gojak (BME-16), Valeriia Grudtsyna (BME-16)

**Sammanfattning**—Tandkaries drabbar många människor och skapar besvär för patienten som utsätts för sjukdomen och påverkar dessutom tandvården ekonomisk för att behandlingarna är dyra. Det är därför av intresse att motverka karies. Orsaken till sjukdomen är framförallt sur miljö som varar i munnen under längre tidsperioder. För att möjliggöra att mer information erhålls kring relationen mellan pH-värdet i munhålan och kariesbildning har ett sensorsystem, tillsammans med teknisk handledare vid Lunds Tekniska Högskola, tillverkats. I studien undersöktes huruvida det tillverkade systemet uppfyller kraven för storlek, responstid, känslighet, noggrannhet samt drifttemperatur för att kunna tillämpas i munhålan. Kravspecifikationen för detta sammanställdes tillsammans med klinisk handledare. En sensor baserad på IrOx-teknologi som kunde mäta spänningsskillnader beroende på pH-värde framställdes genom cyklisk voltammetri. Denna integrerades i ett system med en förstärkningskrets och en Arduino MICRO som mikrokontroller. Tester för att undersöka om kraven uppfylls utfördes genom att placera sensorn i lösningar med olika pH-värden samt att ändra pH-värdena genom successiv pipettering. Resultatet visade att den tillverkade sensorn inte hade tillräckligt god responstid, känslighet eller noggrannhet. Ett val av en annan tillverkningsmetod, en annan mikrokontroller samt brusreducering hade förbättrat utfallet.

## I. INLEDNING

**T**ANDKARIES är den mest utbredda icke-smittsamma sjukdomen i världen och är därför ett stort hälsoproblem globalt [1]. Sjukdomen förekommer i alla åldrar och andelen som drabbas i Sverige ökar i barnens mjölkttänder samt hos äldre mellan 80-90 år [2] [3].

Karies orsakas av skador på de två yttersta lagren på tänderna: dentinet och emaljen. Emaljen består till största del av mineralen hydroxylapatit vilket gör att den är tät och hård. Dentinet, som befinner sig precis under emaljen, består i sin tur av mineraliserad kollagenvävnad, alltså levande vävnad som reagerar på kariesangrepp [4]. Den ekologiska plackhypotesen menar att det är en obalans i den orala mikrofloran i placket, d.v.s. bakteriebeläggningen som finns på tänderna, som framkallar sjukdomen genom att organiska syror bildas då bakterierna omsätter socker. När placket utsätts för socker och producerar syror orsakas på sikt en förändring i sammansättningen så att syrabildande och syratåliga bakterien ökar i relativt antal. Syrabildningskapaciteten ökar och upplösning av tandmineral sker så ofta att en nettoförlust av mineral sker och en kariesskada bildas [5] [6].

Inlämnat den 11 juni 2019

Emeljadress: {am1347go-s@student.lu.se, va3208gr-s@student.lu.se}

Teknisk handledare: Martin Bengtsson, Institutionen för Biomedicinsk teknik, Lunds Tekniska Högskola

Klinisk handledare: Dan Ericson, Odontologiska fakulteten, Malmö Universitet

Saliven är övermättad med mineralämnen vid neutralt pH och hjälper tänderna att remineraliseras mellan perioderna med sur miljö. Om sur miljö förekommer för ofta förlorar tänderna mineral i större utsträckning i förhållande till vad som återupptas och då kan kaviteter uppstå. Det kritiska pH-värdet för emaljen är ungefär 5,5 och cirka 6,3 för dentinet. Tandmineral kan även lösas upp av syror från kosten, exempelvis av juice, läsk eller av magsyra genom sura uppstötningar [5]. Vid upprepade syraattacker får tänderna s.k. erosionsskador, vilka på sikt kan radera ett helt bett. Skadan har hunnit utvecklas när den kan registreras kliniskt. Det är enklare att få processen att stanna upp när skadan är i början på sitt förlopp. Förloppet är mycket långsamt och det kan ta cirka åtta år för en skada i emaljen att tränga sig in i dentinet [7]. Det innebär att möjligheten att få skadan att avstanna finns under en lång tidsperiod. Karies kan både behandlas och förebyggas, men kostnaderna för behandlingen är höga [8]. Det är därav av stor vikt att vården fokuserar på prevention istället för behandling för att lösa problemet.

## A. Tes

För att möjliggöra för kariesforskningen att samla information som sedan kan användas för att konkretisera tillvägagångssättet för prevention är det av intresse att skapa ett system som mäter pH-värdet kontinuerligt i munhålan. I dagsläget finns det inget sådant som är kommersiellt tillgängligt, utan forskare skapar sina egna pH-sensorer till sina respektive studier. I denna studie undersöks huruvida ett system med lämpliga egenskaper kan göras tillräckligt litet för att i framtiden kunna användas av såväl forskare som tandläkare på patienter.

## B. Agenda

Vid framtagning av sensorn som mäter pH-värdet kontinuerligt har en kravspecifikation tillsammans med klinisk handledare sammanställts som utgångspunkt. En litterär undersökning gjordes för att ta reda på vilken typ av sensor som enligt teorin är mest lämplig. I rapporten beskrivs vilken metod som använts för att tillverka systemet samt vilka tester som utfördes för att undersöka hur väl dess egenskaper stämmer överens med kravspecifikationen. Valet av metoderna gjordes i samråd med teknisk handledare. Tillverkningen av olika sensorer resulterade i att den med mest optimalt beteende undersöktes grundligare än de andra. Det framtagna systemet och dess egenskaper presenteras i rapporten.

### C. System

Det krävs en sensor som är av tillräckligt passande storlek för att inte orsaka besvär för personen som bär den i munnen. Mätområdet bör ligga inom ett intervall som täcker alla tänkbara värden på pH-skalan som kan förekomma i munhålan under dygnet. En mekanisk stabilitet hos systemet som håller olika måltiders påfrestningar är också av stor vikt. Kravet för rengöringen är också betydande, då det bör vara tillfredsställande nog för att kunna återanvändas på andra patienter i framtiden [9]. Systemet borde innehålla en sensor, en förstärkningskrets, en energikälla och en mikrokontroller med tillräckligt stort minne för att kunna lagra data. Samtliga konkreta villkor och mättekniska krav för systemet i fråga presenteras i tabell I.

Tabell I: Kravspecifikation för systemet.

|                 |                                               |
|-----------------|-----------------------------------------------|
| Dimensioner     | 10 x 10 mm <sup>2</sup>                       |
| Mätområde       | pH 3-7                                        |
| Responstid      | < 1 s                                         |
| Rengöring       | Autoklivering eller rengöring med 70 % etanol |
| Noggrannhet     | 0,01 pH                                       |
| Känslighet      | 61 mV/pH                                      |
| Drifttemperatur | 30-38 °C                                      |

För att mäta pH-värden med hjälp av elektronik finns det tre huvudsakliga sensortekniker: användning av glaselektrod, *Ion Sensitive Field Effect Transistor* (kort ISFET) eller IrOx-baserad sensor, där IrOx står för iridiumoxid.

Samtliga metoder för att registrera pH-värdet bygger på Nernst ekvation, [10] [11] [12]

$$E = E_o - \frac{RT}{zF} \ln \frac{c_1}{c_2} \quad (1)$$

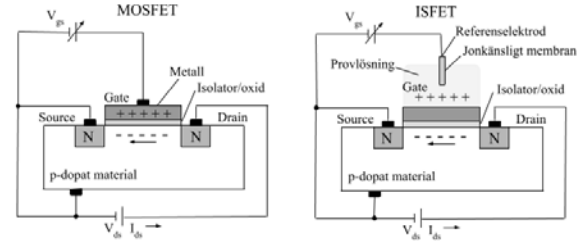
där  $E$  är elektrodpotentialen,  $E_o$  är standard-elektrodpotentialen,  $R$  är den allmänna gaskonstanten,  $T$  är temperaturen i K,  $z$  är laddningen för jonen som betraktas - i detta fall  $H^+$  - och  $F$  är Faradays konstant.  $c_1$  och  $c_2$  är de koncentrationer som ställs i relation till varandra. Dessa är olika beroende på vilken typ av pH-mätande sensor som används.

Utöver de tre traditionella sensorteknikerna finns det även andra alternativ i forskningsstadiet som ska möjliggöra mätning av pH-värdet i munnen. På Tuft University utvecklar Tseng *et al.* [13] en annan typ av teknik som bygger på att en hydrogel ändrar dimensioner genom att svälla upp beroende på pH och temperatur. Sensorn ska bestå av flera lager med den känsliga hydrogel-substansen i mitten med ett ytterligare lager av guld som fungerar som antenn. Denna sensor ska vara 2 x 2 mm<sup>2</sup> och kunna förmedla data via en radiofrekvens eller genom att ändra färg. Tekniken för detta system är inte kommersiellt tillgänglig, och därav läggs större vikt på de traditionella sensor-teknologierna i detta arbete istället.

En glaselektrod består av en tunn elektrod i ett glashölje med en stabil koncentration av en HCl-lösning i vilken en Ag-AgCl-referenselektrod sätts in. När glaselektroden placeras i en lösning utvecklas en spänningsskillnad mellan lösningen i glashöljet och provlösningen. Denna skillnad kan sedan räknas om till ett pH-värde [14]. Tekniken används däremot inte för att göra kontinuerliga pH-mätningar i munhålan med sensorn

integrerad i ett system. Detta beror på att vanliga glaselektroder är alltför stora för att kunna användas för ändamålet. Även miniaturiserade glaselektroder är opassande, då de är för ömtåliga för att stå emot de mekaniska påfrestningarna och de är dessutom inte stabila [11].

Istället brukas oftast ISFET-sensorer för intraorala pH-mätningar. Givaren introducerades år 1970 av P. Bergveld [11]. Sensortypen fungerar enligt MOSFET-teknologin och har samma kretsschema. Dess gate är istället för en metallplatta en referenselektrod och lösningen vars pH-värde som ska undersökas. Figur 1 visar schematiskt skillnaden mellan en ISFET och en MOSFET.



Figur 1: En MOSFET-krets (vänster) och en ISFET-krets (höger).

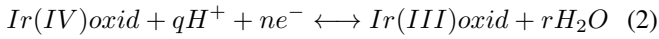
Det finns ett antal studier som har gjorts med ISFET-sensorer för att mäta pH-värdet i munhålan kontinuerligt. De tidigaste av dem inkluderar att partiella proteser tas bort och ersätts med ett sensorsystem. Igarashi *et al.* [15] har gjort en studie där en partiell protes hos en studiedeltagare ersattes med en tand från nötkreatur som har en ISFET-sensor integrerad i sig. De kontinuerliga mätningarna på pH-värdet hos deltagaren registrerades via trådbunden telemetri under 90 minuter. Några år senare genomförde Igarashi *et al.* [16] en mätningsskema som är mycket lik. Användningen av partiella proteser och sladdar för att möjliggöra pH-mätningar har även gjorts i nyare studier. Ett exempel på en sådan studie är den av Watanabe *et al* i studien *Salivary clearance of acid and the pH in the different regions of the mouth*, där pH-värdet mättes kontinuerligt under 30 minuter [17]. Det som har påvisats är att ISFET-sensorer kan mäta pH-värdet kontinuerligt, däremot kräver dessa studier deltagare som har en partiell protes som kan avlägsnas och ersättas med ett system som dessutom är trådbundet. Dimensionerna för en konventionell ISFET-sensor underskrider sällan kravspecifikationen som anges i tabell I.

Det tredje sensoralternativet är IrOx-baserade sensorer. Denna teknologi kan enligt teorin uppfylla kraven i tabell I [18]. Forskare från Imperial College i London har gjort en självtillverkad sensor av en iridiumoxid-elektrod som är integrerad i en bettskena av epoxyresin. Sensorn registrerar data kontinuerligt och överför den trådlöst via *Near Field Communication* (NFC) till en smart-phone [19] [20].

pH-mätningen med hjälp av en iridiumoxid-sensor är potentiometrisk där själva sensordelen består av två delar; en oxiderad iridiumtråd och en referenselektrod. En ändring i pH-värde genererar en potential mellan dessa elektroder och det är denna skillnad som registreras. Referenselektroden ska

konstant hålla samma potential och inte reagera på en pH-ändring i en vattenhaltig lösningen medan iridiumtråden ska ge en linjär respons [19].

Iridiumoxidens pH-respons beror på övergången mellan två oxidationstillstånd som sker när metallen interagerar med vätejoner. Dessa tillstånd är Ir(III)- och Ir(IV)oxid. Formeln för denna reaktion är följande [21]:

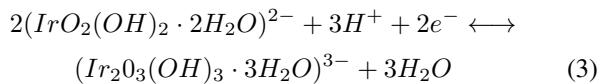


där  $q$ ,  $n$  och  $r$  är stökiometriska koefficienter. Det finns olika tillverkningsmetoder för att åstadkomma oxidation av iridium. En av metoderna är termisk oxidation som ofta resulterar i ett ernstiant beteende som stämmer överens med det teoretiska värdet -61 mV/pH vid temperaturen 35° C [22].

En annan metod är elektrokemisk tillväxt som utförs med hjälp av cyklisk voltammetri. Det resulterar i regel i superernstiant beteende vilket innebär en varierad pH-känslighet som är högre än det teoretiska värdet. [22] Variationer kan bland annat bero på skillnader vid tillverkning, iridiumelektrodens tjocklek och kristallstruktur [23].

Cyklisk voltammetri utförs med hjälp av en potentiostat, där potentialen mellan en arbetselektrod och en referenselektrod varieras linjärt inom ett valt intervall ett visst antal cykler, medan dessa befinner sig i en elektrolytlösning. Samtidigt mäts den resulterade strömmen upp mellan arbetselektroden och motelektroden, som också befinner sig i lösningen. Motelektroden måste vara av ett inert material, exempelvis platina. Redoxreaktioner sker på grund av påtvingad elektronöverföring. Eftersom reaktionerna sker på arbetselektrodens yta måste den vara ren och väldefinierad [24]. Ir(III)oxid förväntas att oxideras till Ir(IV)oxid när potentialen är högre än 0,7 V. [22].

För tillverkningsmetoden som görs genom cyklisk voltammetri är reaktionsformeln följande [21]:



Nernst ekvation kan beskrivas på två sätt:

$$E = E_0 - 2.3 \frac{RT}{2F} \log \frac{[Ir_2O_3]}{[IrO_2]^2[H^+]^2} \quad (4)$$

eller

$$E = E_0 - 2.3 \frac{RT}{2F} \log \frac{[Ir_2O_3]}{[IrO_2]^2[H^+]^3} \quad (5)$$

Iridium är ett sällsynt ämne, vars medelhalt i jordskorpan uppskattas till 3 miljondels g/ton. Vanligtvis utvinns iridium som biprodukt i nickel- och koppargruvor. Metallen, vars smältpunkt är 2446 °C, tål höga temperaturer och är kemiskt resistent [25] [26]. Det möjliggör för steriliseringssätt som autoklavering och rengöring med etanol.

1) *Förstärkningskrets:* För att elektroderna ska få ut en stabil signal krävs en förstärkningskrets. Denna krets bör operera vid mycket låg ström för att det ska vara möjligt för sensorsystemet att kunna operera trådlöst i framtiden. En Texas Instruments LMP91200 är en förstärkningskrets som är tillverkad för pH-sensorer med två elektroder som strömförsörjs med 50 µA. Kretsen opererar på temperaturer som täcker intervallet enligt kravspecifikationen i tabell I och är av dimensionen 6,4 x 5 mm<sup>2</sup> [27].

2) *Mikrokontroller och energikälla:* Systemet kräver utöver elektroder och förstärkningskrets även en mikrokontroller. Initialt är en Arduino MICRO tillräcklig som mikrokontroller då systemets funktion ska undersökas, även om denna inte passar kravspecifikationens dimensionskrav. En annan fördel med Arduino är att en spänningsförsörjning till en början inte behövs till kretsen då försörjningen kan ske via Arduinon. Ofördelaktigt är däremot upplösningen som beror av AD-omvandlaren, som inte är bättre än 0,01 V på grund av att antalet bitar för den är 10.

## II. METOD

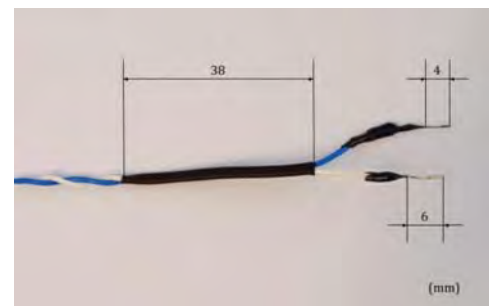
### A. Systemtillverkning

Sensorerna tillverkades genom att oxidera iridiumelektroder som var 250 µm i diameter. Oxidationen gjordes med hjälp av cyklisk voltammetri där arbetselektroden var en cirka en centimeter lång idiumtråd och motelektroden var av platina. Dessa elektroder placerades i en lösning som bestod av utspädd svavelsyra. I programmet för cyklisk voltammetri ställdes antalet cykler in där tiden per cykel var 2 sekunder. Spänningen varierade mellan -0,2 V till 1,2 V med en hastighet på 1,4 V per sekund.

Det tillverkades fyra sensorer där sensorerna A, B och C placerades i en lösning som bestod av 5 % svavelsyra i destillerat vatten och sensor D i en lösning med 4 % svavelsyra i destillerat vatten.

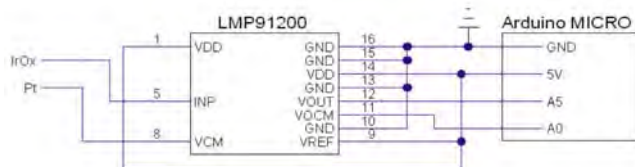
Sensorerna A och B ställdes in på 5000 cykler vardera medan sensor C genomgick 6000 cykler och sensor D 5400.

När iridiumtråden var färdigoxiderad löddes den ihop med en elektriskt ledande tråd. För att lödningen skulle fungera användes ett kontaktelement mellan iridiumoxidtråden och den elektriskt ledande tråden. Även referenselektroden, en platinatråd med diameter 500 µm, löddes ihop med en annan elektriskt ledande tråd. För att avståndet mellan arbetselektroden och referenselektroden skulle förbli detsamma under samtliga laborationer drogs sladdarna med elektroderna genom en tunn krympslang där de två referenserna stack ut på ena sidan. På andra sidan av slangen tvinnades de elektriskt ledande trådarna ihop för att minska induktiv påverkan från omgivningen. För att säkerställa att det endast är elektroderna av intresse som har kontakt med de vätskor som senare skulle undersökas isolerades allt som var ledande förutom några millimeter av iridiumoxidtråden och platinatråden med nagellack, se figur 2.



Figur 2: Tillverkade sensorn IrOx B med dimensioner på krympslangen, iridiumtråden och platinatråden.

En LMP91200 användes som förstärkningskrets och den kopplades till arbetselektroden, referenselektroden samt en Arduino MICRO. Kretsen försörjdes med 5 V genom att kopplas till en dator via mikrokontrollern. Eftersom differensen mellan iridiumtråden och platinatråden kan anta negativa värden, men en Arduino används för avläsning, kopplades de två utgångarna från LMP91200-kretsen till två olika ingångar hos AD-omvandlaren. Dessa läste av de positiva spänningarna i arduinon, se figur 3. I koden för systemet subtraherades sedan ingång  $V_{OUT}$  med  $V_{OCM}$  så att negativa spänningssvärden kunde erhållas.



Figur 3: Kretsschema som beskriver kopplingen mellan IrOx, Pt, LMP91200 och en Arduino MICRO. De pins som inte användes är inte synliga i kretsschemat.

#### B. Jämförelse av tillverkade sensorer

För att undersöka sensorernas funktion gjordes tester med det tillverkade systemet som består av de komponenter som beskrivs ovan. Varje sensor som tillverkades undersöktes på följande sätt: Systemet kopplades utefter kretsschemat i figur 3 med hjälp av en kopplingsplatta. Rumstempererade lösningar med pH 3, 4, 5, 6 och 7 förbereddes i små bägare. I varje bägare lades en magnet och i sin tur placerades bägarna, en i taget, på en magnetomrörare. En tillverkad sensor placerades i de olika bägarna då magnetomrörningen pågick för att mäta spänningen mellan  $V_{OUT}$  och  $V_{OCM}$ . Var och en av de tillverkade sensorerna mätte denna skillnad sex gånger i varje pH-lösning med ett tidsspänn på tio sekunder mellan varje mätning. Denna procedur upprepades två gånger till och på så sätt erhöles 18 mätpunkter per pH-värde per sensor.

#### C. Tester inom mätintervallet

Genom att successivt pipettera in en syra i en lösning med ett pH-värde över 7 undersöktes beteendet för varje sensor vidare inom kravspecifikationens intervall. En bägare med 50 ml kranvatten och en magnet på botten placerades på en magnetomrörare som både rörde om innehållet i bägaren och dessutom värmden lösningen till 35 °C för att efterlikna temperaturen i munnen och testa om drifttemperaturen passar systemet. I bägaren placerades en glaselektrod-pH-meter som fungerade som referens för varje mätpunkt. Därefter lades även den egentillverkade sensorn i lösningen. Den sura lösningen som pipetterades i successivt var citronjuice. Efter varje pipettering mättes spänningen som sensorn gav som svar sex gånger under en minut med jämna mellanrum. Denna data, samt värdet på referens-pH-metern, antecknades. Volym citronjuice som pipetterades in för varje minut kan ses i tabell II.

Tabell II: Volym citronjuice som pipetterades in vid varje minut.

| Pipettering nr.              | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6  | 7  | 8   | 9   |
|------------------------------|---|---|---|---|---|----|----|-----|-----|
| Volym citronjuice ( $\mu$ l) | 1 | 1 | 2 | 5 | 5 | 10 | 20 | 100 | 200 |

#### D. Responstid

För att undersöka responstiden för sensorn placerades den i en bägare med 50 ml kranvatten där vattnet genomgick omrörning med hjälp av en magnetomrörare. Denna värmden vattnet till 35 °C. Till ingången A0 placerades en prob för att signalen skulle synliggöras i ett oscilloskop. I bägaren med vattnet som sensorn gjorde sina mätningar på pipetterades 500  $\mu$ l citronjuice. Efter någon sekund togs en bild med oscilloskopet på förändringen mellan vattnets spänning innan citronjuicen lades till i lösningen och efter. På bilderna utfördes mätningar på responstiden med hjälp av funktionen cursor på oscilloskopet. Detta upprepades sex gånger och ett medelvärde samt en standardavvikelse beräknades på de erhållna tiderna. I dessa bilder kunde även brusets magnitud ses.

#### E. Känslighet och noggrannhet

För att beräkna känsligheten och noggrannheten hos den sensor som visade bäst egenskaper användes data från laborationen där sensorn placerades i fasta pH-lösningar. Beräkningar på lutningen av en linjär anpassning och ett 95 % konfidensintervall utfördes med hjälp av MATLAB.

#### F. Mätning över tid

Slutligen undersöktes även hur sensorn beter sig över längre tid. Då placerades den i en pH-buffert med värde 7 som genomgick magnetisk omrörning samtidigt som en mätning utfördes. Ett mätvärde registrerades per minut och totalt genomfördes 60 mätningar. Ett medelvärde av samtliga mätpunkter beräknades också.

### III. RESULTAT

#### A. Jämförelse av tillverkade sensorer

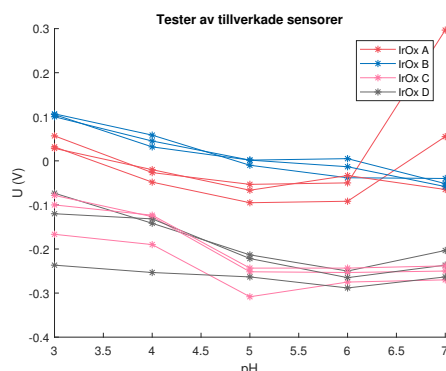
Mätningarna då sensorerna testades i pH-lösningarna 3, 4, 5, 6, och 7 visas i figur 4, där varje punkt motsvarar medelvärdet av de sex mätpunkter som togs under en minuts tid. Graferna representerar de olika mätomgångarna för respektive sensor där sensor A, B, C och D skiljs färgmässigt åt.

Sensor IrOx A beter sig approximativt linjärt inom intervallet pH 3-5 och spridningen mellan mätomgångarna är inte markant. I det resterande intervallet tilltar spänningen med ökat pH-värde och därutöver är spridningen mer uppenbar mellan mätningarna.

Grafen som erhöles från mätvärdena framtagna med sensor IrOx B är approximativt linjärt avtagande inom intervallet 3-7 på pH-skalan. Vid pH 6 är spridningen störst bland de tre mätomgångarna.

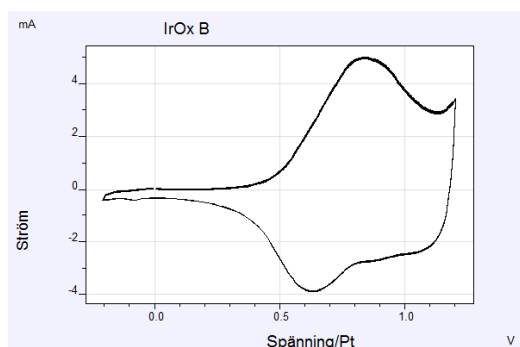
I figur 4 har sensor IrOx C ungefär samma beteende i alla mätomgångar men med en skild offset på en av dem. Graferna är dock inte linjära.

Mätvärden registrerade med sensor IrOx D påvisar stor spridning. Framförallt avviker en mätomgång mer än vad de två övriga mätningarna gör. Sensorns beteende är dessutom icke linjärt vilket kan ses på beteendet mellan pH-värde 6-7.



Figur 4: Figuren visar grafer som plottats baserat på hur den uppmätta spänningen beror av pH-värdet i lösningen som sensorerna A, B, C och D placerats i. Varje punkt motsvarar ett genomsnitt av 6 uppmätta mätpunkter och varje kurva representerar en mätomgång.

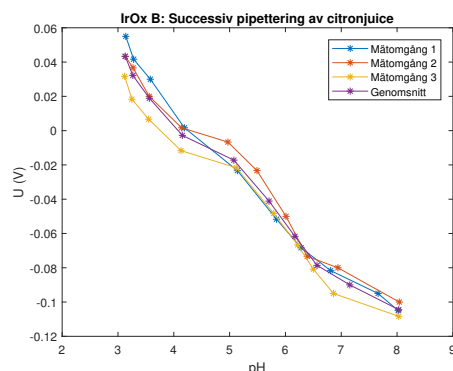
I figur 5 visas det cykliska voltammogrammet för sensor IrOx B. Grafen föreställer de tio sista cyklerna och har endast en oxidationspeak som befinner sig vid 0,85 V. Voltammogrammen för sensor A, C och D finns i bilaga -B.



Figur 5: Grafen visar de tio sista cyklerna av ett cykliskt voltammogram av IrOx B som arbetselektrod.

### B. Tester inom mätintervallet

Mätvärdena som registrerades med sensor IrOx B under tre mätomgångar visas i figur 6 tillsammans med en kurva som representerar genomsnittet av dem. En punkt på i grafen motsvarar ett medelvärde på de sex punkter som mättes per pH-värde. Kurvorna i grafen är approximativt linjära över hela pH spannet. Sensorns beteende är likt vid jämförelse av de olika mätomgångarna med viss spridning. Den beräknade lutningen på en linjär anpassning av samtliga mätpunkter beräknades till -30,5 mV.



Figur 6: Responsen för sensor IrOx B vid successiv pipettering av citronjuice. Grafen innehåller mätvärden som motsvarar 3 mätomgångar och dess genomsnitt. Varje punkt i grafen motsvarar medelvärdet av sex uppmätta värden per pH.

### C. Responstid

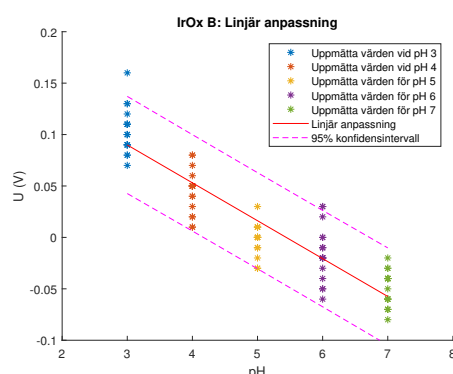
Responstiden från sex mätningar visas i tabell III. Tiderna varierar men överskrider inte två sekunder. Medelvärdet av de uppmätta responstiderna är 1,83 s. Standardavvikelsen beräknas till 0,11. I bilaga -A återfinns en bild på en av de tagna bilderna för responstiden där dessutom bruset åskådliggörs.

Tabell III: Responstiden för de olika mätomgångarna

| Försök nr.     | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    |
|----------------|------|------|------|------|------|------|
| Responstid (s) | 1,84 | 1,88 | 1,68 | 1,92 | 1,96 | 1,72 |

### D. Känslighet och noggrannhet

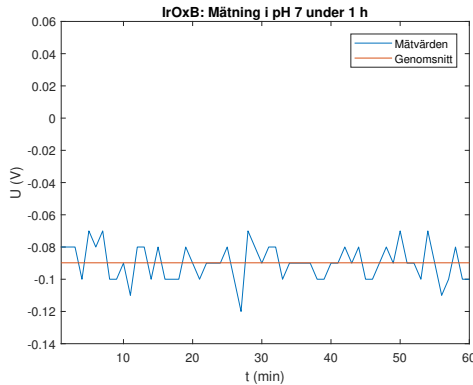
De mätvärden som erhöles då sensorn IrOx B placerades i pH-lösningarna med värde 3, 4, 5, 6, och 7 visas som punkter i figur 7. Intensiteten av punkterna i grafen beror på antalet uppmätta värden som motsvarar punkten. I figuren visas dessutom en linjär anpassning med beräknad lutning -36,8 mV och ett 95 % konfidensintervall. Standardavvikelsen beräknades till 1,42.



Figur 7: Värden registrerade med IrOx B sensorn i olika lösningar med pH värden 3, 4, 5, 6 och 7. Varje pH-värde motsvaras av 18 mätpunkter. Den röda linjen är en linjär anpassning av samtliga punkter och de rosa streckade linjerna avgränsar konfidensintervallet som är 95 %. Intensiteten av punkterna i grafen beror på antalet mätvärden som motsvarar punkten.

### E. Mätning över tid

Mätvärden som registrerades med sensor IrOx B med samplingshastigheten ett värde per minut under en timme visas i figur 8. Mätvärdena varierar över tid. Det lägsta registrerade värdet under en timmes mätning är -120 mV och det högsta är -70 mV. Medelvärde beräknades till -89,8 mV.



Figur 8: Registrerade mätvärden för sensor IrOx B under en timme. Mätvärden registreras en gång per minut i en buffertlösning med pH 7. Den röda linjen visar genomsnittet av samtliga mätpunkter och är -89,8 mV.

## IV. DISKUSSION

Samtliga mätningar som utfördes har två huvudsakliga felkällor. En av dem är Arduinos AD-omvandlare och den andra är bruspåverkan. Mikrokontrollerns AD-omvandlare tillåter inte tillräckligt bra upplösning i förhållande till de utslag som det tillverkade systemet ger ut. Den högsta spänningsskillnad som går att upplösa är en skillnad på cirka 5 mV. Bruset som åskådliggjordes i bilaga -A med hjälp av oscilloskopet kunde bli upp till 10 mV. Tillsammans med felet som mikrokontrollern kan ge upphov till, kan ett fel fås som avviker 15 mV från sensorns egentliga spänningsvärde.

Det finns stora skillnader i graferna som motsvarar de fyra tillverkade sensorerna i figur 4. Olika heterna antas huvudsakligen bero på tillverkningen. Det cykliska voltammogrammet för sensor B har en peak vid 0,85 V vilket kan ses i figur 5. Detta stämmer väl överens med teorin, då oxidationen från Ir(III)oxid till Ir(IV)oxid ska ske då potentialen är över 0,7 V. De andra sensorerna hade också en peak vid > 0,7 V vilket kan ses i bilaga -B, men fungerade ändå inte som önskat. Samma iridiumtråd har används vid tillverkningen av samtliga sensorer. Det innebär att dess kristallstruktur samt tjocklek är identisk och har inte bidragit till skillnader vid oxidering. Den troligtvis mest avgörande orsaken till skillnaderna mellan sensorerna är att iridiumelektroden inte rengjordes tillräckligt väl innan den cykliska voltammetrin. Dessutom var delen av elektroden som befann sig i elektrolytlösningen olika stor vid de olika sensorernas tillverkning. Det resulterade i olika stora kontaktytor. Uppsättningen för den cykliska voltammetrin är inte optimal för att lyckas tillverka varje sensor på exakt samma sätt. Exempelvis är det besvärligt att kontrollera hur mycket av iridiumelektroden som befinner sig i svavelsyralösningen utan att riskera att ha med den elektriskt ledande

tråden i lösning och på så sätt orsaka oönskad oxidation på den. Detta orsakar sämre kontakt mellan den elektriskt ledande tråden och iridiumelektroden. Sannolikt är att detta har skett med någon av de tillverkade sensorerna som påvisat sämst egenskaper. Dessutom är koncentrationen för sensor A, B och C är densamma, men sensor D tillverkades med en lägre koncentration svavelsyra. Detta skulle också kunna vara en bidragande faktor till att egenskaperna för de olika sensorerna skiljer sig åt.

Sensor IrOx B valdes för vidare tester eftersom dess beteende är mest linjärt och har minst spridning, se figur 4. När den testades genom successiv pipettering blev kurvorna i figur 6 approximativt linjära och mätomgångarnas värden skilde inte mycket sinsemellan. Detta är någonting som kunde förväntas eftersom sensorn påvisade goda egenskaper redan i försöket vars resultat presenteras i figur 4. Lutningen som erhöles genom linjär anpassning för den successiva pipetteringen var -30,5 mV/pH. Detta skiljer sig från värdet -61 mV/pH, som finns i kravspecifikationen. Den spridning som finns mellan de olika mätningarna är förväntad på grund av brus samt Arduinos låga upplösning. Lösningens temperatur mellan mätomgångarna var inte identisk, vilket också kan ha påverkat resultatet.

När responstiden testades beräknades genomsnittsvärdet till 1,83 s. Standardavvikelsen påvisar att spridningen inte var stor. Denna tid är inte mycket längre än 1 s och det är möjligt att även en responstid på under 2 s är tillräckligt bra för systemet. Vid pipetteringen blir förändringen hos sensorns utslag störst i början, men det tar tid för kurvan att stabilisera sig, se figur i bilaga -A. Försöken resulterade i olika utseenden på responskurvorna. Detta kan bero på att den pipetterade vätskan hamnade olika nära sensorn vid varje försök. En annan tänkbar anledning till att utseendet på responstiden inte alltid är detsamma är att temperaturen i lösningen skilde sig något från gång till gång.

Känslighetstestet som presenteras i figur 7 medförde en linjär anpassning med lutning -36,8 mV och skiljer sig från lutningen som erhöles i figur 6. Skillnaden i lutning är 6,3 mV. Detta kan bero på de mättekniska felkällorna och eller att testerna inte utfördes i samma temperatur. Lösningens temperatur vid känslighetstestet var 35 °C och 25 °C vid testet från figur 6. Att båda tester däremot skiljer sig markant från det i kravspecifikationen uppsatta värdet är negativt. Troligt är att lutningarna är ett resultat av oxidationsmetoden för iridiumtråden, som inte påvisar optimal prestanda. Noggrannheten visar inte heller önskvärda resultat. I figur 7 kan exempelvis ett värde som förekommit på pH 4 även ha förekommit på pH 6, vilket innebär att noggrannheten är mycket låg. Kravet på en noggrannhet på 0,01 pH har alltså inte uppfyllts. Bruset och upplösningen på mikrokontrollern kan vara orsaken till att konfidensintervallet är stort.

Mätningen som gjordes på sensor IrOx B över tid påvisar ett instabilt resultat. Eftersom sensorn befann sig i en buffertlösning med pH-värde 7 borde de uppmätta värdena inte skilja så mycket som de gjorde i försöket. Förväntat var att det skulle bli skillnader mellan de uppmätta värdena i storleksordning 15 mV. En slutsats om detta delresultat kan däremot inte dras med tanke på att detta är den enda mätningen

som gjordes över tid med sensor IrOx B.

Huruvida sensorsystemet uppfyller dimensionskravet har inte hunnit testas. Eftersom iridiumelektroden, platinaelektroden och förstärkningskretsen är så små är det möjligt att få systemet att bli tillräckligt litet i framtiden. Viktigt är då att hitta en liten mikrokontroller samt en källa som ska försörja systemet med ström. Tänkbart är då att sensorsystemet skulle kunna fungera trådlöst, exempelvis genom NFC.

#### A. Framtid

För att minska felen som förekommer under laborationerna behöver bruset reduceras. Detta kan åstadkommas genom flera olika alternativ som kan kombineras. Ett av alternativen är skärmning. Dessutom kan bruset minskas genom att tillämpa filtrering på den uppmätta signalen. Miniaturisering av systemet hade också resulterat i minskat upptag av störningar.

En bättre upplösning på AD-omvandlaren kan lösa problemet med den grova avrundningen som uppstått i denna studiens undersökningar. En mikrokontroller med fler bitar hade resulterat i bättre representation för det faktiska mätvärdet. Ett alternativ för en högre upplösning med samma mikrokontroller hade varit att avgränsa de spänningar som ska läsas in av Arduino eller att använda en förstärkare innan AD-omvandlingen.

Varje enskild laboration som utfördes hade kunnat optimeras genom att fler tester utförs.

För att förbättra undersökningen som gjordes över tid är ett förslag att undersöka bruset med ett oscilloskop samtidigt som mätvärden tas. Då kan mer information fås om resultatet. Oscilloskopet kan även användas mer i de andra undersökningarna.

Det viktigaste för att hela systemet ska fungera är att sensortillverkningen bildar lager av IrOx III och IrOx IV. Om detta inte sker kan inte någon av de förbättringsförslag som nämnts ovan förbättra utfallet. Att tillverka sensorn genom cyklisk voltammetri har visat sig vara svårt eftersom sensorn blir instabil och skillnaden är stor mellan de sensorer som har tillverkats. En rekommendation för framtida studier inom detta område är därför att istället tillverka sensorn genom exempelvis termisk oxidation, då denna metod enligt tidigare studier har påvisat ett stabilare resultat.

#### B. Hållbar utveckling

Monitorering av pH-värdet i munnen kan komma att öka kunskaperna ytterligare kring hur och när kariesskador kan uppkomma. Detta kan bidra till att karies motverkas istället för att behandlas, vilket kommer reducera kostnaderna att laga skadorna inom tandvården. Dessutom kommer fler människor, oavsett socioekonomisk bakgrund, ha möjligheten att bevara en god tandhälsa genom att veta hur karies motverkas snarare än betala för behandlingar. Det tillverkade sensorsystemet bör vara fritt från material som på något sätt är skadligt för miljön. En redan färdigtillverkad sensor ska också vara återanvändbar efter rengöring för att all form av ytterligare påverkan ska undvikas.

#### C. Etik

Eftersom det framtagna systemet består av elektronik ska material som är framställt av konfliktmineraler eller mineraler som är framtagna under andra oetiska omständigheter undvikas. Vidare kommer en färdigutvecklad pH-meter av IrOx slutligen finnas i munhålan hos patienter under längre tid. Detta kan upplevas som en inskränkning av personlig integritet hos bäraren av sensorn eftersom data på dennes kostvanor sparas och utvärderas. Dessutom kan det upplevas vara obekvämt att ha systemet i munhålan över längre tid. Det är därav av stor vikt att patientens samtycke ges när denna typ av sensor ska användas, vare sig det är i tandvårds- eller forskningssyfte.

#### V. SLUTSATSER

Sensorsystemet tillverkat av oxiderad iridiumtråd, platina-referens, en LMP91200 förstärkningskrets och en Arduino har visat sig fungera rent tekniskt. Kraven för responstid, känslighet och noggrannhet är däremot inte uppfyllda. Att systemet inte fungerar optimalt beror troligtvis på sensortillverkningens metod, bristen av tillräckligt god brusreducering samt AD-omvandlarens upplösning i mikrokontrollern.

#### VI. EFTERORD

Vi vill rikta ett stort tack till Martin Bengtsson för all tid, teknisk vägledning och allt engagemang han har ägnat åt projektet. Vi vill även tacka Dan Ericson för klinisk handledning och Nebojša Malešević för hjälpen med förstärkningskretsen.

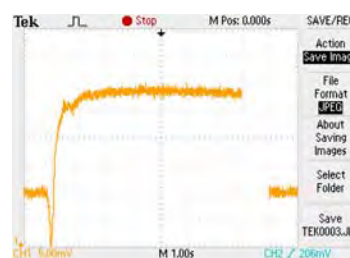
#### REFERENSER

- [1] World Health Organization, 2017. Tillgängligt: <https://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/sugars-dental-caries-keyfacts/en/>. [Hämtad: 2019-02-22]
- [2] J. Suslick, "Oroväckande ökning av karies hos barn," *Tandläkartidningen*, 6 Feb., 2017. <https://www.tandlakartidningen.se/arkivet/nyhet/orovackande-okning-av-karies-hos-barn/>. [Hämtad: 2019-02-22]
- [3] J. Suslick, "Karies ökar hos de äldsta," *Tandläkartidningen*, 7 Nov., 2018. <https://www.tandlakartidningen.se/arkivet/nyhet/karies-okar-hos-de-aldsta/>. [Hämtad: 2019-02-22]
- [4] B. O. Hansson and D. Ericson, *Karies - sjukdom och håll*, Slovenien: GPS group/Ednas Print, 2016. s. 28-29
- [5] B. O. Hansson and D. Ericson, *Karies - sjukdom och håll*, Slovenien: GPS group/Ednas Print, 2016. s. 17-18
- [6] H. Hassan, "Effect of acid and alkali formation on pH in the dental biofilm with reference to caries", Doktorsavhandling, Institutionen för odontologi, Sahlgrenska akademien, Göteborg, 2018, s. 9-12.
- [7] B. O. Hansson and D. Ericson, *Karies - sjukdom och håll*, Slovenien: GPS group/Ednas Print, 2016. s. 41-42
- [8] 1177 Vårdguiden, "Vad kostar tandvård?," *1177 vårdguiden*, 1 Jan., 2019. Tillgängligt: 1177. <https://www.1177.se/sa-fungerar-varden/kostnader-och-ersattningar/kostnader-och-ersattningar-inom-tandvard/vad-kostar-tandvard/>. [Hämtad: 2019-02-23]
- [9] D. Ericson, "RE: Kandidatarbete från LTH" Personligt mail (Januari 28, 2019).
- [10] Y. Abe, M. Maeda, "Origin of pH-Glass Electrode Potentials and Development of pNa-Responsive Glasses," *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 147, nr. 2, s. 787-791, Feb. 2000. Tillgängligt: Researchgate. [https://www.researchgate.net/publication/238141209-Origin\\_of\\_pH-Glass\\_Electrode\\_Potentials\\_and\\_Development\\_of\\_pNa-Responsive\\_Glasses](https://www.researchgate.net/publication/238141209-Origin_of_pH-Glass_Electrode_Potentials_and_Development_of_pNa-Responsive_Glasses). [Hämtad: 2019-04-08]
- [11] P. Bergveld, "ISFET, Theory and Practice," IEEE sensor conference Toronto, 2003, s. 1-26.
- [12] X. Yang och J. C. Chiao, "Integrated pH and Sodium Sensor Array Based on Iridium Oxide Film," Conference: 2018 IEEE SENSORS, 2018, s. 1-4.

## BILAGA

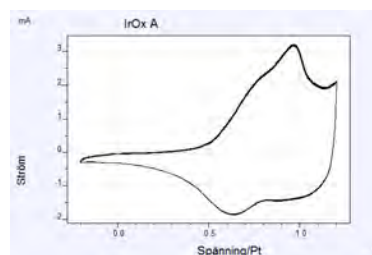
- [13] Tufts University, Scientists develop tiny tooth-mounted sensors that can track what you eat: Wireless real-time monitoring could add precision to the linkage between diet and health," *ScienceDaily*, 22 Mar., 2018.
- [14] ScienceDirect, "Glass Electrodes," *ScienceDirect*, [dokument online], 2015. Tillgängligt: ScienceDirect, <https://www.sciencedirect.com/topics/earth-and-planetary-sciences/glass-electrodes>. [Hämtad: 2019-05-17]
- [15] K.Igarashi, K.Kamiyama och T.Yamada, "Measurement of pH in the human dental plaque in vivo with an Ion-Sensitive Transistor electrode", *Archives of Oral Biology*, vol. 26, nr. 3, s. 203-207, 1981. [Sammanfattning]. Tillgänglig: ScienceDirect, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/000399698190131X>. [Hämtad: 2019-02-22]
- [16] K.Igarashi, IK. Lee och CF. Schachtele, "Comparison of in vivo human dental plaque pH changes within artificial fissures and at interproximal sites", *Caries Research*, vol. 23, nr. 6, s. 417-422, Februari 1989. [Sammanfattning]. Tillgänglig: ResearchGate, [www.researchgate.net/publication/20558445\\_Comparison\\_of\\_in\\_vivo\\_Human\\_Dental\\_Plaque\\_pH\\_Changes\\_within\\_Artificial\\_Fissures\\_and\\_at\\_Interproximal\\_Sites](http://www.researchgate.net/publication/20558445_Comparison_of_in_vivo_Human_Dental_Plaque_pH_Changes_within_Artificial_Fissures_and_at_Interproximal_Sites). [Hämtad: 2019-04-11]
- [17] K.Suse, K.Tanase, K.Eda, T.Kataumi, T.Miki, A.Nakamura, K.Watanabe och S.Watanabe, "Salivary clearance of acid and the pH in the different regions of the mouth", *Dental, Oral and Craniofacial Research*, vol. 3, s. 1-4, April, 2017. [Sammanfattning]. Tillgänglig: Open Access Text, <https://www.oatext.com/Salivary-clearance-of-acid-and-the-pH-in-the-different-regions-of-the-mouth.php>. [Hämtad: 2019-04-11]
- [18] C.Ratanaporncharoen, M.Tabata, Y.Kitasako, M.Ikeda, T.Goda, A.Matsumoto, J.Tagami, Y.Miyahara, "Miniaturized Ir/IrOx pH sensor for quantitative diagnosis of dental caries," *Procedia Engineering*, vol. 168, s. 598-601, 2016. [Sammanfattning], Tillgänglig: ScienceDirect, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S187705816335354>. [Hämtad: 2019-04-11]
- [19] D. Ma, C. Mason, and S. Ghoreishizadeh, "A Wireless system for continuous in-mouth pH monitoring," *IEEE BioCAS 2017*.
- [20] P. Tseng, B. Napier, L. Garbarini, D. Kaplan, and F. Omenetto, "Functional, RF-Trilayer Sensors for Tooth-Mounted, Wireless Monitoring of the Oral Cavity and Food Consumption," *Advanced Materials*, vol. 30, nr. 18(18):1703257
- [21] S.Kakoei, M.Che Ismail och B.Ari-Wahjoedi, "An overview of pH Sensors Based on Iridium Oxide: Fabrication and Application," *International Journal of Material Science Innovations*, vol. 1, s. 62-72, 2013. [Sammanfattning]. Tillgänglig: Semantic Scholar, <https://pdfs.semanticscholar.org/63ba/f0793b5997852d200de8256675ab87d7ecd0.pdf>. [Hämtad: 2019-04-09]
- [22] J. Juodkazyte, B. Šebeka, I. Valsiunas and K. Juodkasis, "Iridium Anodic Oxidation to Ir(III) and Ir(IV) Hydrated Oxides," *Electroanalysis*, vol. 17, nr. 11, s. 947 - 952, June 2005. Tillgänglig: ResearchGate, [https://www.researchgate.net/publication/230469906\\_Iridium\\_anodic\\_oxidation\\_to\\_IrIII\\_and\\_IrIV\\_hydrated\\_oxides](https://www.researchgate.net/publication/230469906_Iridium_anodic_oxidation_to_IrIII_and_IrIV_hydrated_oxides). [Hämtad: 2019-05-18]
- [23] S. Yao, M. Wang, M. J. Madou, "A pH Electrode Based on Melt-Oxidized Iridium Oxide," *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 148, nr. 4, s. H29-H36, April 2001. [https://www.researchgate.net/publication/236682250\\_A\\_pH\\_Electrode\\_Based\\_on\\_Melt-Oxidized\\_Iridium\\_Oxide](https://www.researchgate.net/publication/236682250_A_pH_Electrode_Based_on_Melt-Oxidized_Iridium_Oxide). [Hämtad: 2019-05-18]
- [24] N. Elgrishi, K. J. Rountree, B. D. McCarthy, E. S. Rountree, T. T. Eisenhart, J. L. Dempsey, "A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry," *J. Chem. Educ.*, vol. 95, nr. 2, s. 197-206, 2018. Tillgänglig: ACS Publications, <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.jchemed.7b00361>. [Hämtad: 2019-05-19]
- [25] A. Bradford, "Facts About Iridium," *Livescience*, 1 December, 2016. Tillgängligt: <https://www.livescience.com/39143-iridium.html>.
- [26] NE och L. Elding, "Iridium," in *Nationalencyklopedin*, NE, [online document], 2019. Tillgängligt: NE Online. <https://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/iridium> [Hämtad: April 15, 2019]
- [27] Texas Instruments, "LMP91200 Configurable AFE for Low-Power Chemical-Sensing Applications," Datablad SNAS571E, Jan. 2012, [Reviserad Feb. 2016].

## A. Responstid

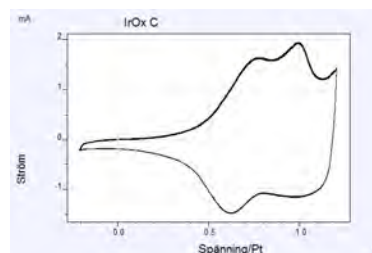


Grafen över responstiden som även visar signalens brus.

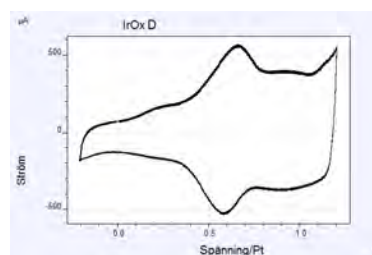
## B. Cykliska voltammogram



Cykliskt voltammogram för de tio sista cyklerna för IrOx A.



Cykliskt voltammogram för de tio sista cyklerna för IrOx C.



Cykliskt voltammogram för de tio sista cyklerna för IrOx D.

# Justering av Kamerahöjd vid Operationsbordsförflyttningar

Hjalmar Tingberg (BME-16), Martin Rosencrantz Ollén (BME-16)

**Sammanfattning**—I dagsläget är kartläggning av operationer bristfällig med diktering av kirurg som huvudsaklig metod. För att samla in information på ett bättre sätt så sattes projektet ”Kirurgens Perspektiv” i kraft.

I projektets tidigare stadie monterades en kamerarigg fast i britsen inför operation. Tanken med detta var att kunna filma operationen i sin helhet, men då riggen var otymplig och i vägen under operationens gång så var detta inte optimalt. Istället kom idén att utveckla en kamerarigg som på något sätt skulle kunna filma ovanför britsen utan att störa operationen.

I nuläget har ett styrsystem utvecklats som skickar avstånddata, nyttjandes en Raspberry Pi och tre seriekopplade VL53L0X avståndsmätare, till en YuMi-robot som flyttar kamerariggen antingen upp eller ned beroende på vilken information som mottagits. Anledningen till att detta styrsystem har utvecklats är på grund av att kamerornas egna autofokus inte är tillfredställande under operation. Detta för att kirurgernas händer och verktyg kan komma i vägen för bilden så att kamerornas fokus skiftas från operationsområdet.

Förhoppningen är att projektet ska fungera som ett utbildningsmedel, så att kirurger ska kunna vidareutveckla och bevara sitt hantverk. Detta genom att studera klipp från sina egna operationer och lära av sina misstag, men även genom att ta del av klipp från andra länder och kulturer där man behandlar någon sjukdom som för oss är ovanlig här i Sverige.

flera brister uppkom och projektet gick vidare för att istället skapa en ställning för kamerariggen. Denna ställning används fortfarande, men nya lösningar undersöks då ställningen är i vägen under operation, se figur 1.



Figur 1. Ställningen med kamerariggen

## I. INTRODUKTION

### A. Bakgrundsteckning

Operationssalar har länge setts som någon form av ”svart låda”. Läkarna skriver upp i operationsjournalen när operationen börjar, när kritiska moment utförts och när operationen har avslutats. Man noterar även ifall någon större händelse har uppkommit såsom eventuellt hjärtstopp eller liknande, men småsaker som dåliga stygn dokumenteras inte. Detta kan i längden visa sig vara essentiell och viktig information.

Detta projekt har som syfte att fånga upp information som annars hade gått förlorad. Denna information kan komma att effektivisera lärandet för läkarstudenter som studerar kirurgi, läkare som läser en specialisering inom kirurgi, men även fullt utbildade toppkirurger som vill upprätthålla sitt hantverk genom att ta del av de senaste operationsmetoderna inom sitt område.

Sedan projektet startades 2016 så har tanken varit att uppfångandet av informationen ska göras med hjälp av en kamerarigg som filmar operationsområdet. Från början var planen att ha denna rigg i en operationslampa så att operationspersonal manuellt kunde styra den. En prototyp togs fram, men

I nuläget är tanken att kamerariggen ska fästas i en projektorlift som ska röra sig upp och ned automatiskt när britsen rör sig i samma riktning, vilket innebär att om britsen åker närmare taket så ska projektorliften följa efter och hålla samma avstånd. Detta görs för att fixerat fokus från kamerorna ska ha en klar bild av operationsområdet. Det fungerar ej att ha autofokus på kamerorna, då detta kan komma att fokusera på kirurgens händer eller verktyg som kommer ivägen. Med autofokus så fås suddiga filmer av operationen och kan därför inte användas.

Liften kombineras med rails som har monterats i taket för att kunna röra sig över hela britsens längd. Tanken med detta är att enkelt kunna flytta kamerariggen när den inte ska användas så att den inte tar onödig plats i operationsutrymmet.

### B. Tes

Det huvudsakliga målet med detta projekt är att det ska fungera som utbildningsmedel, för både studenter och utbildade kirurger.

Kirurger skulle kunna använda tekniken och den insamlade datan för att studera diverse moment som förekommer under operationers gång. Detta kan vara för eget lärande eller för

Inlämnat den 10 juni 2019

E-mailadress: {hj0713ti-s@student.lu.se, ma0661ro-s@student.lu.se}

Teknisk handledare: Anders Robertsson

Klinisk handledare: Kiet Tran

uppföljning av en viss patient som till exempel haft komplikationer under läkningsprocessen eller där det finns misstanke om felsteg. Genom att kirurger studerar varandras operationsfilmer i grupp kan tips eller råd ges för att gemensamt vidareutveckla sitt hantverk. Detta skulle i sin tur leda till en säkrare och tryggare vård.

Just nu finns intresse från kirurgiska kliniker över hela världen att ta del av datan. Länder som Uganda och England har bjudit in till att filma på deras kliniker. Att få filma i ett land som Uganda är speciellt intressant då patienter som söker kirurgisk vård där ofta har annorlunda problem än de som stöts i västvärlden. Genom att filma dessa operationer kan man enkelt få en överblick på hur man hanterar ovanliga kirurgiska ingrepp på bästa sätt ifall någon här i Sverige skulle drabbas.

### C. Agenda

Tidigt i projektet hölls möten och studiebesök, som beskrivs i detalj under *Metod*, tillsammans med handledare Kiet Tran och Måns Magnusson för att gemensamt komma fram till en plan. För att utveckla ett fungerande styrsystem åt kamerariggen krävdes kunskaper om Raspberry Pi, Python programmering samt VL53L0X-sensorer och seriekopplingen av dessa. Detta erhöles parallellt med projektets utveckling och beskrivs under rubriken *Seriekoppling av VL53L0X sensorer i Metod*. Tester av systemet utfördes kontinuerligt i robotlabbet på Maskin-huset (LTH) och i operationssal på Barnhjärtcentrum vid Skånes Universitetssjukhus. Utifrån dessa tester gavs resultat och feedback om hur vidare utveckling kan gå till, som redovisas under *Resultat* respektive *Diskussion*.

## II. METOD

### A. Identifiering

För att identifiera och sätta upp problemställning så började projektet med möte på sjukhuset. I laborationssal, tillsammans med handledare Kiet Tran och Måns Magnusson, undersökte och diskuterades olika möjligheter för att kunna få en kame-lift att följa en brits rörelser.

Vad som kan kontrolleras är liftens position i höjdlid, vad som inte kan kontrolleras är britsens position. Då avståndet mellan lift och brits skall vara konstant så blev huvudfrågan ”Hur ska information om britsens position insamlas, hanteras och överföras till liften?”. Planen blev att lösa detta problem först och därefter hitta en lösning på frågan ”Hur ska informationen om liftens önskvärda position omvandlas till faktisk förflyttning dit?”.

### B. Fältstudier

Fältstudier utfördes vid två separata tillfällen för att få en bättre förståelse av problemställningen. Vid dessa tillfällen följdes överläkare Kiet Tran under sin arbetsdag på Barnhjärtcentrum, Skånes Universitetssjukhus i Lund. I detta ingick deltagande på rond, möte med patienter och personal, men det centrala var operationsmomentet. Under operation iaktogs operationsteam och hur deras normala arbetsflöde såg ut. Var utrustning skulle kunna placeras utan att störa detta flöde

blev en central diskussionpunkt under operationerna och personalens åsikter togs till samt dokumenterades. Postoperativt följdes Kiet vid diktering av operationsförloppet, ett arbete som utförs efter var operation. Därefter undersöktes britsar och den rigg som hittills använts för att filma hjärtoperationer. Denna rigg sitter fast på britsen istället för att hänga från taket, *se figur 1*. Efterföljande diskussion fördes med Kiet om tidigare idéer och hans vision framåt.

### C. Studier

Det fanns två alternativ för att samla in datan. Det första var att använda en RealSense djupkamera och det andra var att använda en time-of-flight sensor. Men oberoende av vilket tillvägagångssätt som skulle användas, så behövdes någonstans att spara ned den insamlade datan. För detta ändamål så införskaffades en Raspberry Pi 3 (RP3), en liten dator. Med hjälp av ett styrningsprogram så skulle datan kunna behandlas och skickas som en signal till liften.

**1) Arbete i Robotlabbet:** Majoriteten av arbetet utfördes i robotlabbet på Maskin-huset, LTH. Här installerades, med hjälp av handledare Anders Robertsson, en lift till vårt förfogande. Med tillhörande fjärrkontroll och liftens styrmodul var idén att kunna pröva olika sensorer, mäta avstånd och skicka tillbaka rörelsekommandon till liften om den skulle åka upp eller ner.

Innan arbete med sensorer, hölls många möten tillsammans med handledare Måns Magnusson för att lära sig hur RP3n fungerar samt hur man kodar i Python. All programmeringskod under projektets gång fördes i Python3.

**2) RealSense djupkamera:** Första lösningen byggde på en Intel RealSense D435 djupkamera. Denna skulle sitta på liften och vara riktad ner mot britsen. Kameran jobbar genom en aktiv IR-sensor, har en uppdateringshastighet på 90 frames per sekund och kan mäta djup på upp till 10 meter. Detta är mer än nog för användningsområdet, där avståndet från golv-till-tak ej överstiger 3 meter. Kameran skulle kunna ge värden på djup i en matrisform, där man sedan med hjälp av egetskrivet program kan läsa ut avstånd från lift till brits. Med RealSense och Raspberry sittandes på liften, så borde steget att skicka rörelsekommandon till liften vara relativt simpelt. RealSense kameror är även specifikt utformade för att fungera bra på objekt i rörelse, vilket i detta fall var ett krav.

Problem med RealSense kameran tillkom vid installation och ihopkoppling med Raspberryn. Efter flera misslyckanden med att få ut faktiska värden från RealSensen, samt svårigheter med att sälla ut själva avståndet till britsen utifrån matrisvärden, gjorde att denna idé lades åt sidan. [1]

**3) VL53L0X Time-of-flight sensor:** Då RealSensen ej fungerat prövades nu en ny idé, att sätta en VL53L0X sensor under britsen och mäta avstånd från golv till brits. Det uppmätta avståndet planerades sedan att med hjälp av sladd skickas upp till liften där Raspberry Pin skulle sitta. Raspberryn skulle där räkna om britsavståndet till liftens önskade position. Man vet

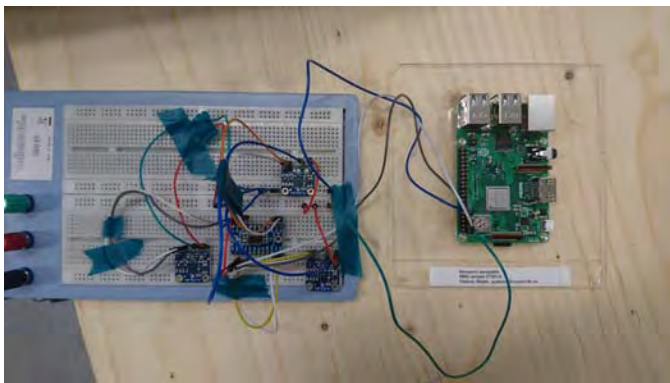
avståndet från golv till tak och även avståndet från brits till lift, ett avstånd som motsvarar fokuseringsdjupet. På så sätt kan man räkna ut var liften skall vara i förhållande till britsen och dess rörelser.

En VL53L0X nyttjar en osynlig 940 nanometers laser för att mäta tiden det tar för fotoner att skickas ut, reflekteras mot ett material, och sedan tas upp av sensorn igen. Sensorn sitter kopplad till pins på Raspberryn som strömförsörjer sensorn samt tar upp och sparar mätdata. Fördelar med en sensor av detta slag är att den är liten och kan placeras under britsen där det finns låg risk att något ska komma ivägen och störa dess kontinuerliga mätningar. Den är snabb och kan mäta avstånd upp till två meter. Avståndet från golv till brits kommer aldrig överstiga 1.3 meter, så detta är klart tillräckligt. Nackdelen med en sensor av detta slag är att sladd måste dras från under britsen upp till liften. Detta kan vara komplicerat i en operationsmiljö där det redan är fullt med utrustningar och sladdar. Oerhört viktigt för detta projekt är att operationen inte störs på något sätt. [2]

Vid test av en sensor användes liften på robotlabbet som flyttades till 6 olika höjder och mätningar gjordes varje sekund. Datan sparades ner på Raspberry Pin.

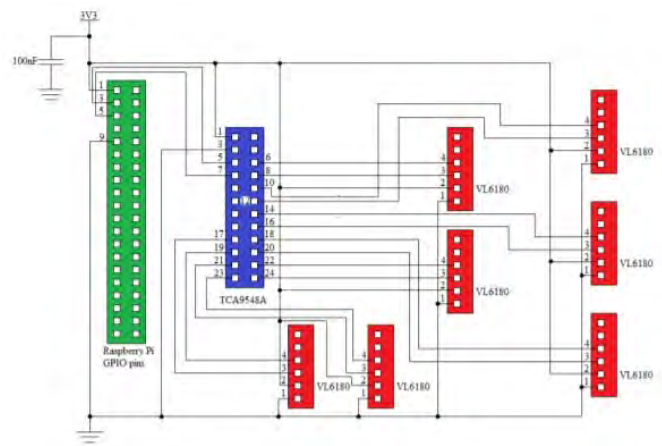
#### D. Seriekoppling av VL53L0X sensorer

För att få en mer noggrann avståndsmätning så kom idén att använda flera seriekopplade sensorer. Med tre sensorer sittandes under britsen och konstant avståndsmätning så kan felaktig avläsning från en sensor kompenseras upp av de andra. För att veta hur sensorerna skulle seriekopplas användes Cristopher Tvede-Möllers rapport där liknande seriekoppling nyttjats. [3]



Figur 2. Seriekopplade sensorer och multiplexer kopplade till Raspberry Pi3

Vid seriekopplingsförsök användes tre stycken sensorer. Då alla tre jobbar mot samma databuss så fungerar det ej att enkelt koppla in var sensor i Raspberry Pin. Istället användes en multiplexer av modell TCA9548A som tillåter dem att jobba på samma resurs. Sladdarna tejpades ner och ihop för att undvika täckning av laserstrålarna som används för avståndsmätningen. Försök med sensorerna gjordes på lift i robotlabbet där olika avstånd registrerades.



Figur 3. Kopplingsschema för TCA9548A. VL6180 sensorerna har bytts mot VL53L0X för projektet

#### E. Kodning av styrningsprogram

Då avståndsmätarna mäter upp avstånd till brits så behövs omräkningar för att ta reda på vilken position liften skall ha. För att ta reda på detta används omräkningen  $L = T - F - U$  där L är liftens avstånd från taket, T är takhöjden, F är det fasta avståndet mellan brits och lift, samt U som är det uppmätta avståndet från golv till brits givet av sensorerna.

Mätningar från en sensor differentierar, så att vid mätning på ett fixerat objekt tas värden upp som skiljer från varandra. För att minska detta fel används tre sensorer tillsammans med kod som beräknar ett medelvärde av deras gemensamma mätningar. Vidare så filtreras även alla sensormätningar som är under 30 cm eller över 150 cm, då britsavståndet aldrig kommer hamna i dessa intervall under operation. Om mätningar som dessa fås, så kan vi anta att sensorn felar och dess värden räknas ej med.

Koden är skriven så att var sensor tar upp mätvärden fem gånger per sekund. Om en mätning ligger inom ett lämpligt intervall så sparas värdet ner i tre respektive vektorer, en för var sensor. 10 mätningar per sensor görs och därefter jämförs värdena i var vektor. Om maxvärdet subtraherat med minvärdet i en vektor överstiger 30 mm, så går ej programmet vidare utan tar istället nya värden. Detta på grund av att man då kan anta att britsen är i rörelse och undviker på så sätt att liften flyttar på sig innan britsen stannat. Om 30 mm ej överstigs så fortsätter programmet med att skapa ett medelvärde av de 30 senaste mätningarna från sensorerna. Programmet jämför detta medelvärde mot den föregående satta liftpositionen. Ifall differensen mellan dessa överstiger fyra cm så skickas kommando till liften att flytta sig till den nya positionen.

### F. Test med YuMi-robot och bord

För att undersöka styrningsprogrammet och de seriekopplade sensorerna så sattes ett försök upp med ett höj- och sänkbart bord *Se figur 4*. Sensorerna anslöts till Raspberryn och sattes under bordet för att mäta avstånd vid olika höjder. Ovanför bordet sattes en YuMi-robot som kopplades till Raspberryn. Därefter ändrades i koden så att robotens armar skulle hålla det exakta avståndet 40 cm från bordet. Sedan testades uppställningen genom att höja och sänka bordet för att se om robotens armar skulle följa och hålla exakt avstånd.



Figur 4. Försök med seriekopplade sensorer, höj-och sänkbart bord samt YuMi-robot

### G. Test med YuMi-robot i operationssal

Rails sattes upp i operationssal och YuMi-roboten hängdes upp i dessa. Brits rullades in och sattes under railsen, därefter lades en docka med ett låtsatshjärta på britsen. Plattan med sensorer lades under britsen och det kontrollerades att laserstrålarna hade fri väg upp till britsen. Raspberry Pin placerades intill sensorerna och kopplades in till sensorer, multiplexer och robot. Två kameror, sittandes i vardera av YuMi-robotens händer, kopplades in till laptop och började filma. Avståndssensorerna tog fram kontinuerliga värden och skickade dessa till roboten. Avstånd mellan kameror och brits ställdes in som 1.1 meter. Försök gjordes där britsen höjdes och sänktes till olika nivåer. Roboten följde britsens rörelser

och bild från kamerorna observerades, särskilt tittades det på hur fokus ändrades.



Figur 5. YuMi-robot uppsatt i operationssal

## III. RESULTAT

Data tagen från en VL53L0X sensor syns i *tabell 1* och *figur 6*. Standardavvikelsen för sensorn i intervallet 210-280 sekunder räknades ut till 5.33 mm.

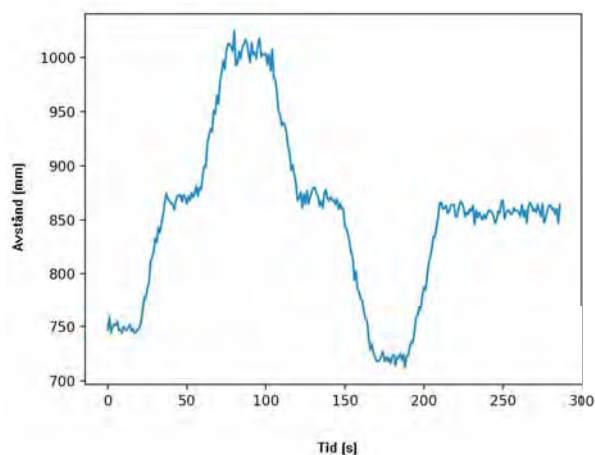
För försöket med YuMi-robot och bord så betedde den sig enligt koden. När bordet började röra på sig så stod roboten stilla och först när bordet stannat vid en ny position så började den höjas/sänkas enligt bordets rörelse. Den höll fast vid samma avstånd före och efter flytt, 40 cm.

Vid försök med YuMi i operationssal så följde roboten britsens rörelser och höll det konstanta avståndet 1.1 meter. Kamerornas fokus släppte en aning vid britsens förflyttningar, men återupprättades snabbt när robotens rörelse avtagit.

| Tid [s] | Faktiskt avstånd<br>från lift till sensor [mm] |
|---------|------------------------------------------------|
| 0-25    | 750                                            |
| 35-55   | 870                                            |
| 75-105  | 1000                                           |
| 120-145 | 870                                            |
| 170-185 | 725                                            |
| 210-280 | 860                                            |

Tabell I

FAKTTISKA AVSTÅND MELLAN LIFT OCH SENSOR FÖR FÖRSÖK I *figur 4*.



Figur 6. Mätdata taget från en VL53L0X

#### IV. DISKUSSION

Försök med VL53L0X sensorerna var lyckade och vi kunde visa att dessa fungerar bra för att mäta avstånd till brits. Standardavvikelsen, som räknades ut till 5.33 mm, är tillräckligt liten för att sensorerna med säkerhet ska klara deras uppgift. Kamerorna som kommer användas under försök är välutvecklade och även om de har fixerat fokus så kommer de fortfarande ge skarpa bilder i ett intervall av  $\pm 10$  cm. Med en standardavvikelse på 5.33 mm och marginalen  $\pm 10$  cm att arbeta med så kan man fundera på om koden kan skrivas enklare eller om man skulle kunna använda färre sensorer. Istället för att räkna ut medelvärden från 30 stycken värden, 10 från var sensor, så kan man fundera på om en mätning i sekunden kan vara tillräckligt. På så sätt kan man spara datorkraft under operationer som lätt kan övergå tre timmar i tid. Men att använda färre sensorer är däremot något som vi kom fram till att vara en dålig idé. Fler sensorer ger mer exakta mätvärden, men man får även en säkerhet ifall en eller flera sensorer går sönder och visar felaktiga värden. Sammanfattningsvis om sensorerna så är deras differentierande mätningar den mest uppenbara felkällan vid avståndsmätning, men trots detta så är de klart tillräckliga för detta ändamål.

Att kamerorna flyttas när britsen flyttas gör inget, då kirurgerna ej utför något aktivt arbete medan britsen flyttar sig. Men ett annat problem som kan uppkomma i operationssal är att duken som ligger på britsen knuffas in och blockerar sensorerna (se figur 8). I koden har vi löst detta problem genom att bara ta mätningar i ett intervall där duken inte skulle kunna hamna, men det kommer fortfarande behövas försök vid faktisk operation för att säkerställa att inget sådant fel skulle kunna inträffa. Om sensorerna blir blockerade så används inte några av mätvärdena och fokus kommer bli dåligt under operationens gång. Men att filmen för någon enstaka operation blir dålig är inte hela världen, det problem som vi helst vill förhindra är att kamerorna flyttar sig även om britsen står still. Vid det fallet finns en faktisk risk, då rörelser

ovanför kirurgernas huvuden kan vara störande under moment som kräver fokusering. Detta skulle behöva testas så feedback från operationsteam kan ges och man får höra ifall de finner roboten störande. I så fall kan man behöva sträma åt intervallet ytterligare eller komma på en annan lösning för att filtrera ut felaktiga mätningar från sensorer.

Förhoppningen är att projektet som helhet ska vara klart i år och i skrivande stund har arbetet kommit en bra bit på vägen. Arbetsgruppen har lyckats ta fram ett styrsystem som tar in och analyserar avståndsdata från tre stycken VL53L0X sensorer för att sedan kommunicera och skicka kommandon till en YuMi-robot som rör sig ifall höjdskillnaden mellan bordet och roboten har ändrats från det satta fixerade värdet, se figur 3.

Men trots framgångarna är det fortfarande en bit kvar till dess att målet om projektet som utbildningsmedel uppnåtts. Även fast arbetsgruppen har lyckats utveckla ett fungerande styrsystem, så är detta endast optimerat för att användas tillsammans med YuMi-roboten. I operationssal är det tänkt att fungera tillsammans med en projektorlift placerad ovanför britsen. En projektorlift skulle kunna bära fler kameror än YuMi-robot och det är även billigare med en lift. Ett problem just nu är att få fram avståndsdata mellan projektorliften och britsen, något som vi ännu inte lyckats hitta en bra lösning på. Under avsnitt 2.3.5 *Kodning av styrningsprogram* beskrivs en metod för hur man kan gå tillväga för att bibehålla det konstanta avståndet. Det som krävs är ett styrsystem för projektorliften och en kommunikation mellan Raspberry Pi:n på golvet under britsen, samt Raspberry Pi:n ovanpå projektorliften för att säkerställa att avståndet mellan britsens ovansida och kamerariggen är konstant. Just nu lutar det åt att man använder sig av VL53L0X sensorer som kontinuerligt mäter under upp- och nedsänkning av projektorliften och kommunicerar med liftens styrmodul för att se till att liften faktiskt hamnar på rätt höjd.



Figur 7. Bild tagen från försök med YuMi-robot i operationssal. Två kameror gör det möjligt för VR-films konstruktion.

Tekniken är inte heller optimerad för sjukhusmiljö. Det finns ännu problem med kabelhantering och placering av de olika komponenterna som projektet är beroende av. Man kan nämligen inte låta sladdar och Raspberries ligga hur som helst över golv och tak då man riskerar att störa operationen. Det finns även risk att tekniken tar skada genom att någon i personalen är oaktsam och råkar komma åt utrustningen på ett eller annat sätt. Samtliga i arbetsgruppen har varit på besök i en operationssal - både under och utanför schemalagd operation

- och studerat hur mycket operationspersonalen interagerar med diverse ytor där man eventuellt kunnat placera olika komponenter.



Figur 8. Brits i operationssal med kopplingsdäck och Raspberry Pi undertill. YuMi-robot syns ovanför liften.

I dagsläget så ligger sensorerna kopplade med multiplexer på ett kopplingsdäck. Detta ger en viss avsaknad av flexibilitet och gör det endast möjligt att mäta på ett område som har storleken av kopplingsdäcket. Nästa steg i vidareutveckling av detta skulle vara att ha sensorerna sittandes på små kopplingsdäck och endast vara anslutna till varandra genom sladdar. På så sätt skulle man kunna placera sensorerna på flera olika platser under britsen. Detta skulle kunna lösa ytterligare ett problem, nämligen tippning av britsen.

Britsen sitter fast i golvet med en teleskoplift, *se figur 8*. Denna går att höja och sänka, men även tippa åt olika håll. Problemet med detta är att om kopplingsdäcket med sensorer sitter på ena sidan så kommer de skicka felaktiga kommandon till kamerorna. Exempelvis, kamerorna filmar en hjärtoperation och sensorerna ligger under britsen i nivå med patientens ben. Om britsen tippas så att fötterna rör sig mot golvet och huvudet mot taket så kommer avstånd registreras som motsvarar en flytt nedåt av hela britsen. Kamerorna kommer då att röra sig neråt. Men vad som har hänt med hjärtats placering är att det har åkt upp, vilket ger ett felaktigt fokus. Problemet med tippning av britsen är ännu inte löst, men i teorin skulle det kunna ordnas genom att separera sensorerna från kopplingsdäcket och placera de runt om britsens golvfäste. På så sätt kan man skriva

ett program som kan känna igen lutning utifrån mätdata från sensorerna.

#### A. Hållbar utveckling

När man talar om Hållbar Utveckling finns det tre dimensioner man refererar till: Social hållbarhet, Ekologisk Hållbarhet samt Ekonomisk Hållbarhet. Vid social hållbarhet ligger fokus på den individuella människan och handlar om välbefinnande, rättigheter samt behov. Ekologisk hållbarhet innefattar allt som har med ekosystemet att göra. Den Ekonomiska hållbarheten har två definitioner. Den ena definieras som att en ökning av ekonomiskt kapital inte får påverka negativt den sociala eller ekologiska hållbarheten. Den andra definitionen är raka motsatsen, där ekonomisk hållbarhet likställs med ekonomisk tillväxt och får ske på bekostnad av resterande tillgångar iform av naturresurser, ekosystemtjänster eller välfärd. [4]

I introduktionen så nämndes att tanken med detta projekt är att det ska fungera som ett inlärningsmedel för vårdpersonal. Detta för att bibehålla och eventuellt förbättra personalens hantverk och därmed effektivisera operationer samt förbättra den post-operativa hälsan hos patienten. Med hjälp av kamerariggen är förhoppningen att minska antalet kirurgiska vårdskador och därmed reducera de kostnader som uppkommer på grund av dessa. Projektet strävar alltså för att göra vården mer ekonomiskt hållbar genom att effektivisera kirurgernas arbete och därmed öka patientsäkerheten.

Om projektet når ut mer globalt, så att man kan filma operationer med hög kvalitet i flera olika länder och vårdkulturer, så kan man dela denna data till kirurger världen över. Detta är värdefullt då det finns många folksjukdomar i till exempel Uganda som för oss i Sverige och våra läkare ses som extremt ovanliga fall. Genom att filma operationer av dessa ovanliga fall och göra datan tillgänglig för läkare världen över, kan man på ett enklare sätt utbilda kirurger. Detta kommer att stärka vår beredskap vid akutsituationer och göra så att vi inte behöver sitta hjälplösa medan vi inväntar en expert från utlandet för att rädda ett liv. Projektet strävar alltså för en social hållbarhet då målet är att öka och förbättra den globala hälsan genom att på ett enkelt sätt dela information och kunskap om vård- och behandlingsmetoder från länder och kulturer världen över.

Valet av material är också en viktig aspekt av hållbar utveckling. Vid framtagandet av prototyper till styrsystem är det viktigt att sträva efter en så ekologiskt hållbar produkt som möjligt. Detta görs genom att aktivt välja material och tillverkningsprocesser med minsta möjliga miljöpåverkan.

Sammanfattningsvis anser författarna att projektet i sin helhet är ekonomiskt, socialt och ekologiskt hållbart.

#### B. Etik

Vårt projekt behandlar kritisk information som eventuellt kan riskera patientens personliga integritet. Därför ställs det en del krav på hur man använder och behandlar datan som samlas in under inspelningarna.

För att kontrollera att dessa krav har uppfyllts gör man en så kallad etikprövning, där man väger riskerna gentemot "vinsten". I vårt projekt så är det den användbara datan som utgör "vinsten", medan risken är till exempel ifall en patients

personliga integritet äventyras. Så om patienten inte utsätts för några risker, så finns här inget dilemma. Detta åtgärdas genom att man på något sätt döljer patientens personliga information genom att exempelvis dokumentationen kodas, alternativt anonymiseras, så att risken för att patienten ska identifieras minimeras.

För projektet har man också ansökt och beviljats ett Etiskt-tillstånd, som gör det möjligt att stoppa operationen i tio minuter för att filma utan att händer eller instrument skymmer operationsområdet och kamerabilden. Undantag gäller vid livsuppehållande maskiner.

Det krävs att man har godkännande från patient eller målsman innan man börjar filma. Har man sedan detta får man både filma och dela klipp hur man vill, även i det offentliga rummet såsom Youtube med mera. Operationsfilmer anses okontroversiella och får delas fritt i utbildningssyfte. Detta förutsätter dock att klipp anonymiserats innan delning.

## V. SLUTSATSER

För både säkerhet och utbildningssyfte behövs bättre dokumentation av operationer. Dokumentation genom återberättelse och nedskrivning är svårare att följa och mer inexakt än filmning av händelseförloppet.

Momentet att filma en operation ska ske genom minimal störning av personalen, något som kan uppnås genom filmning upp ifrån taket. Kamerorna från taket kan ej ha autofokus, då kirurgernas händer och utrustning kommer ändra fokusområdet hela tiden under operation. På grund av detta behövs ett konstant fixerat fokus. Då britsen kan komma att flyttas upp och ner under operationens gång så behöver kamerorna följa dessa rörelser. För att ta reda på hur mycket kamerorna ska flyttas så behöver man mäta britsens rörelse. Genom seriekopplade VL53L0X sensorer så kan ett tillräckligt exakt avstånd tas fram kontinuerligt under operation. Med hjälp av styrningsprogram till kameralift kan avståndsmätningarna räknas om och styra liften till korrekt position. Detta sker helt automatiskt och leder till korrekt fokus under hela operationen.

## VI. EFTERORD

Vi skulle vilja ge ett stort tack till våra handledare Måns Magnusson, Kiet Tran, Anders Robertsson och Maj Stenmark. De har varit med oss under hela projektets gång med stort engagemang. Med ett enormt tålamod och gott humör har de inte bara varit till stor hjälp, utan även tydliga förebilder som tagit fram det bästa ur oss.

Båda författarna har i lika delar bidragit till detta arbete.

## REFERENSER

- [1] Intel realsense, *intelrealsense.com* <https://www.intelrealsense.com/depth-camera-d435i/>
- [2] Adafruit, *adafruit.com* <https://www.adafruit.com/product/3317>
- [3] Robot-held camera platform for medical applications, *lup.lub.lu.se* <https://lup.lub.lu.se/student-papers/search/publication/8962998>
- [4] Kungliga Tekniska Högskolan (KTH), *kth.se* <https://www.kth.se/om/miljo-hallbar-utveckling/utbildning-miljo-hallbar-utveckling/verktygslada/sustainable-development/hallbar-utveckling-1.350579>

# Kopietalsförändringar i lungcancer av typen adenocarcinom

Amanda Nilsson (BME-16), Lina Samnegård (BME-16)

**Sammanfattning**—Lungcancer är en vanlig typ av cancer och är den typ av cancer som varje år tar livet av flest personer i världen. Rökning är en stor bidragande faktor för att utveckla lungcancer. Hela 80-90% av de drabbade är cigarettökare. Cancer beror på att celler delar sig okontrollerat på grund av olika sorters genförändringar. Exempel på detta är mutationer och förändringar i genkopietal, så kallade kopietalsförändringar. Det senare innebär att en DNA-sekvens har fler eller färre kopior än normalt. Förändringarna kallas gains respektive loss. Lungcancer delas kliniskt in i fyra olika stadier baserat på spridningsgrad och aggressivitet. Av dessa är tumörer i stadium I-III oftast operabla medan stadium IV är icke-operabla. Studiens syfte är att undersöka kopietalsförändringar i lungcancer av typen adenocarcinom hos personer med cancer av stadium I-III samt hos personer med stadium IV. Detta gjordes med hjälp av redan befintlig data som analyserades med statistiska metoder i programmet R studio. Antalet gains och loss mellan de olika grupperna jämfördes för att se hur antalet kopietalsförändringar skiljde sig åt. Det undersöktes även på vilka kromosomer i tumörgenomet förändringarna oftast var lokaliserade. Resultaten av analysen synliggjordes i kopietalsprofiler samt frekvensgrafer. Undersökningen visade att det är vanligare med kopietalsförändringar bland tumörer i stadium IV. Resultaten visade att de flesta signifikanta skillnaderna mellan grupperna befann sig på kromosom 13 och 14.

## I. INTRODUKTION

### A. Prevalens

Lungcancer är den femte vanligaste typen av cancer i Sverige och drabbar varje år 1,6 miljoner människor internationellt. Med 1,3 miljoner som avlider på grund av sjukdomen årligen medför detta att sjukdomen blir den form av cancer med högst dödlighet. [1] Lungcancer drabbar framförallt människor över 60 år och är idag vanligast bland kvinnor. På senare tid har antalet drabbade kvinnor ökat. Detta beror på den starka korrelationen till rökning, kvinnor började historiskt sett röka senare än män vilket gör att de nu kommer upp i åldern där risken för lungcancer ökar. [2]

### B. Orsak och symtom

Idag är det inte helt känt varför en cell omvandlas till en malign cell med förmåga att dela sig okontrollerat. Det finns dock kända bidragande faktorer som kan vara cancerframkallande. Cigarettökning är den största riskfaktorn till lungcancer, då 80-90% av alla som drabbas är cigarettökare. [3] Även passiv rökning och miljöfaktorer höjer risken att

drabbas av lungcancer. Ett exempel på detta är asbestfibrer. Enligt socialstyrelsen dör det fortfarande 100 personer per år i lungcancer till följd av att ha blivit utsatta för asbest i arbetet. [4] Även ämnen såsom damm, avgaser, strålning och vissa kemikalier kan gynna cancertillväxt.

Symtomen som lungcancer kan ge är ofta svåridentifierade och liknande de som andra lungsjukdomar kan ge. Dessutom ses symtom oftast inte förrän i ett sent skede av sjukdomen. Hosta är ett vanligt symtom, som uppkommer på grund av infektion i luftvägarna. Det kan både vara torrhosta och slemhosta, samt i vissa fall slemhosta kan som innehålla blod. Även andfäddhet, smärta i bröstkorgen eller pipig andning kan vara tecken på lungcancer. Dessa kan uppkomma om tumören skapar förträngningar i luftvägarna. Eftersom symtomen är så icke-specifika, samt att många av de som drabbas är rökare med nedsatt lungfunktion, blir lungcancer ofta diagnostiserat i ett sent skede, vilket är huvudorsaken till den dåliga prognosen. [1]

### C. Stadier och behandling

Lungcancer delas generellt in i två undergrupper, vanligast är icke småcellig lungcancer som drabbar ca 80% av fallen. Den andra varianten är småcellig lungcancer och är desto mer ovanlig. Icke småcellig lungcancer kan i sin tur delas upp i adenocarcinom, skivepitelcarcinom och storcellscarcinom där den förstnämnda har högst förekomst. [3] Klassificering kan göras med hjälp av biopsi och bildgivande system så som CT eller MR. Adenocarcinom är en elakartad cancertyp som utvecklas från epitelceller i körtlar och är förutom i lungan även vanligt förekommande vid prostatacancer och cancer i bukspottskörteln. [5] Lungcancer delas kliniskt in i fyra olika stadier, efter hur stor tumören är samt om den har spridit sig. I stadium I är det en lokal tumör som inte spridit sig utanför luftrören eller lungan. I stadium II är det fortfarande en lokal tumör, men som kan ha spridit sig till lungportens lymfkörtlar. Om cancer är i stadium III har cancer spridit sig till lymfkörtlar och i stadium IV har cancer metastaserats till andra organ. Om en patient har lungcancer i stadium I,II och lättare stadium III kan det vara aktuellt med operation och strålbehandling i terapeutiskt syfte. Vid allvarigare fall då cancer spridit sig undviks kirurgi och istället utförs strål- och cystostatikabehandling eller immunterapi beroende på vilka förändringar som finns i tumörgenomet. [6]

### D. Genetik

Den största delen av den mänskliga arvsmassan finns i cellkärnan. DNA-kedjan är där uppdelad på 23 stycken kro-

Inlämnat den 9 juni 2019

Emejladress: {am2825ni-s@student.lu.se, li6783sa-s@student.lu.se}

Handledare: Johan Staaf, Avdelningen för Onkologi och Patologi, Lunds Universitet.

mosompar, där varje par består av två kopior av samma DNA-sekvens. Varje del i ett sådant par kallas allel. Endast en liten del av DNA:t kodar för proteiner. Dessa sekvenser kallas gener. [7] Det mänskliga genomet består av omkring 20 000 gener. [8]

Celler förökar sig ständigt i kroppen. Detta görs genom celledelning (mitos) som sker genom att kromosomerna dubblas i en process som kallas replikation. Därefter kommer cellen dela sig på sådant sätt att de två nya dottercellerna får en kromosomuppsättning som är identisk med den ursprungliga cellen. Under hela mitosen sker kontroll så att allt i delningen har skett på rätt sätt. Om cellen upptäcker något fel sker apoptos (celldöd). En cell delar sig bara ett visst antal gånger, vilket kontrolleras av ett antal olika faktorer som stimulerar alternativt hämmar starten av celledelning. Cancerceller saknar denna reglering, vilket gör att cellen kommer dela sig okontrollerat. [9]

### E. Kopietalsförändringar

Det har länge varit känt att det kan uppstå kopievariationer av en gen på olika ställen i det mänskliga genomet. Detta har historiskt setts i mikroskop av forskare. I samband med att hela det mänskliga genomet kunde sekvenseras upptäcktes att dessa förändringar var mer betydande än tidigare antagits. Förändringar kan innebära amplifiering eller deletion av en del av DNA:t. Ökat antal kopior kallas gain och en minskning i antalet kopior kallas loss. I normala fall finns två dubletter av varje gen men på grund av fel under celledelningen skapas fler eller färre kopior. Studier har visat att 12% av det mänskliga genomet innehåller kopietalsförändringar. Förändringarna finns på olika platser men är vanligt förekommande på positioner som utvecklats snabbt, såsom gener som är betydelsefulla för immunförsvaret och hjärnan. Kopietalsförändringar uppkommer ofta i block som kan variera enormt i storlek inom en kromosom. [10]

Kopietalsförändringar återfinns ofta i cancerceller. Gener som kodar för receptorer till tillväxtfaktorer, som alltså gynnar celltillväxt har ofta ökat antal kopior. I tumörceller kallas dessa gener för onkogener. Suppressorgener är motsatsen till onkogener och förhindrar att cellen delas okontrollerat. Dessa gener har ofta färre antal kopior. [11] Genom att göra analys på ett stort antal personer med samma sjukdom kan man påvisa vilka gener som kan ha betydelse för utvecklingen av sjukdomen. [12]

### F. Syfte och frågeställning

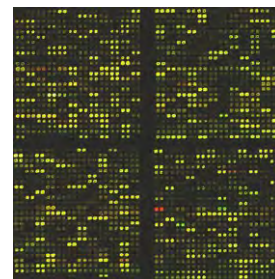
Syftet med analysen är att undersöka om det finns skillnader i kopietalsförändringar mellan olika stadium av adenocarcinom. Finns det fler förändringar hos tumörer i stadium IV än hos tumörer i stadium I, II och III? Alltså finns det skillnader mellan operabla och icke-operabla tumörer? Undersökningen kan ge ökad förståelse för biologin hos tumörer, något som kan utnyttjas kliniskt för diagnostik och val av terapi.

Rapporten inleds med en genomgång av metod där de statistiska tester som gjorts beskrivs. Därefter redovisas resultatet med bilder och tabeller. Slutligen diskuteras resultatet. Även delar om framtid, etik och hållbar utveckling innefattas.

## II. DATA

### A. Framtagning av data

All analys i detta arbete har gjorts på redan existerande data. Datan har tagits fram med hjälp av en metod som kallas aCGH (Microarray-based Comparative Genomic Hybridization). Principen går ut på att små bitar av DNA, som kallas oligonukleotider, placeras i olika ordnade positioner på ytan av ett mikroskopglas, i form av små spots. Detta skapar en så kallad microarray. Varje spot innehåller miljontals av samma, korta, kända DNA-sekvens och motsvarar därmed en mätpunkt i genomet. I varje spot finns det ett stort antal kopior av likadana oligonukleotider som alla hör till en viss plats i genomet, det vill säga en unik position på en kromosom. När en patient ska analyseras extraheras DNA från ett tumörprov och prepareras genom att komplementära DNA-strängar syntetiseras där nukleotider med kopplade fluorocerande ämnen infogas. Det preparerade DNA:t placeras sedan på microarrayen och en del binder in till de olika spotsen baserat på sekvenslikhet. Ju fler kopior det finns av en sekvens desto mer kommer binda in. De sekvenser som inte bundit in tvättas bort och en laser används sedan för att mäta hur mycket fluorescens som bundit in i varje spot. Ju starkare det lyser desto mer kopior finns på aktuell plats. Detta omvandlas sedan till olika mätvärden. Oftast analyseras många olika sorters celler i tumören, det som ges är alltså ett medelvärde av dessa. [12] [13]



Figur 1. Exempel på en microarray belyst med laser. Gula prickar innebär att det finns normal mängd DNA. Röda prickar innebär att det finns mer DNA hos tumören än hos en normal cell. [14].

### B. Sammanställning av data

I undersökningen analyserades data från tumörceller från 346 personer, med 40000 mätpunkter var (samma för alla personer). Personer med cancer i stadium I-III kommer fortsättningsvis benämnas grupp 1, och personer med cancer i stadium IV kommer benämnas grupp 2. Prov från 329 stycken personer kom från grupp 1 och 17 stycken från grupp 2. I grupp 1 var det 238 personer där tumören var i stadium I, 47 personer där tumören var i stadium II och 44 personer där tumören var i stadium III. Mer detaljerad information kan ses i tabell I. Datan var given i en matris där varje mätpunkt visade antalet kopior av DNA:t på just den platsen. Då man följde matrisen i x-led kunde alltså kopietalsförändringen på en mätpunkt ses hos samtliga personer. Mätpunkterna var tagna på 22 olika kromosomer hos varje person, där det för oss var känt hur många mätpunkter det var på varje kromosom. Datan togs fram genom tidigare beskriven metod och fanns

för oss tillgänglig i en databas. [15] Datan analyserades med statistiska metoder med programmeringsspråket R med hjälp av det grafiska användargränssnittet R-studio. [16]

Tabell I  
SAMMANSTÄLLNING AV PERSONER VARS TUMÖRER ANALYSERADES I  
UNDERSÖKNINGEN.

|                   | Grupp 1 | Grupp 2 |
|-------------------|---------|---------|
| Totalt            | 329     | 17      |
| Antal kvinnor     | 82      | 5       |
| Antal män         | 37      | 4       |
| Ej angivet kön    | 210     | 8       |
| Antal rökare      | 158     | 12      |
| Icke rökare       | 62      | 2       |
| Ej angivet rökare | 109     | 3       |

### III. METOD

#### A. Frekvensgrafer

I denna undersökning gjordes datan om till diskreta nivåer. De mätpunkter som hade värden större än 0.1 tilldelades siffran 1 och dessa definierades som gains. De som istället hade värden mindre än -0.1 tilldelades siffran -1 och definierades som loss. De värden som låg mellan 0.1 och -0.1 tilldelades värdet 0 och definierades som att inte ha någon kopietalsförändring. Just dessa nivåer är väl etablerade inom forskning och har använts i många andra studier. För varje mätpunkt i respektive grupp beräknades det totala antalet gains och loss. Dessa plottades sedan i ett diagram för att visa frekvensen för gains samt loss i varje mätpunkt. Även vertikala streck lades in för att visualisera skillnader mellan de olika kromosomerna. Syftet med analysen var att illustrera vilka kopietalsförändringar som var frekventa på grupp-nivå i respektive grupp.

#### B. Låddiagram

En sammanställning gjordes av den genomsnittliga andelen gains och loss per person i respektive grupp. Detta visualiserades med ett låddiagram. Med hjälp av detta kunde skillnader i mängd kopietalsförändringar mellan grupperna observeras. Ett T-test gjordes för att se om skillnaden var signifikant med p-värde  $< 0.05$ .

#### C. T-test och Chi2-test

Datamatriken separerades i två delar, utifrån de två grupperna. Ett T-test gjordes mellan var och ett av mätvärdena i grupperna. Signifikanta mätpunkter definierades som punkter med ett p-värde  $< 0.05$ . Ingen korrektion för multipeltestning gjordes. Även ett Chi2-test gjordes på den data som tidigare gjordes om till diskreta nivåer. Signifikanta mätpunkter med p-värden mindre än 0.05 sparades undan. T-testet tar hänsyn till hur amplifierad en gain eller loss är vilket Chi2-testet inte gör. I det senare fallet undviker man därmed signifikans på grund av små skillnader i mätvärde och liten varians som hade kunnat bli signifikanta med T-test. P-värdena för de olika testerna jämfördes för att se vilka mätpunkter som innehöll signifikanta skillnader i båda testerna. Därmed försvinner en del falska

signifikanta värden. Dessa placerades ut i frekvensplotten. Därefter gjordes analys för att se på vilken kromosom det fanns flest signifikanta skillnader.

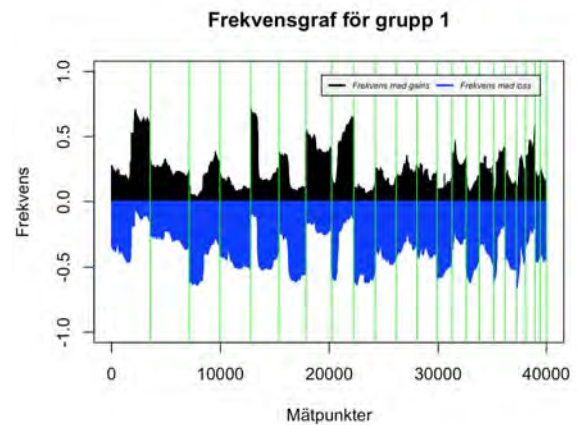
#### D. Kopietalsprofil

För varje person gjordes en kopietalsprofil. Denna visar hur en persons kopietalsförändringar varierar längs mätpunkterna. En profil gjordes även för varje kromosom personerna för att se på vilka kromosomer det fanns variation. Med hjälp av detta tydliggjordes var det fanns gains samt var det fanns loss.

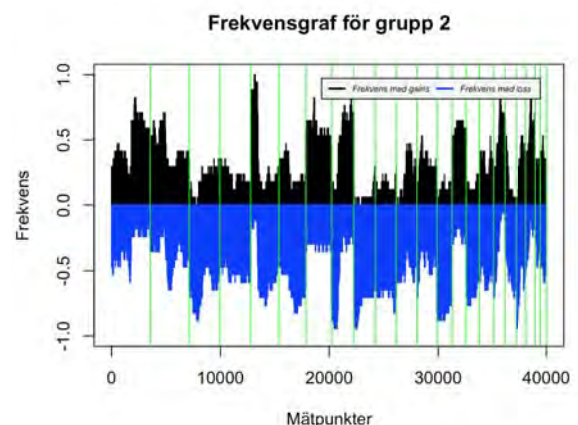
### IV. RESULTAT

#### A. Frekvensgrafer

Figur 2 och figur 3 illustrerar frekvensgrafer för grupp 1 respektive 2. Det svarta i bilden speglar frekvensen av gains medan det blå speglar frekvensen av loss. De gröna vertikala strecken markerar var en ny kromosom börjar.



Figur 2. Frekvensgraf för grupp 1 med kromosomer markerade som gröna streck, kromosom 1 längst till vänster och 22 längst till höger. Det svarta representerar gains och det blå representerar loss. Y-axeln visar proportion förändrade prov.



Figur 3. Frekvensgraf för grupp 2 med kromosomer markerade som gröna streck, kromosom 1 längst till vänster och 22 längst till höger. Det svarta representerar gains och det blå representerar loss. Y-axeln visar proportion förändrade prov.

### B. Låddiagram

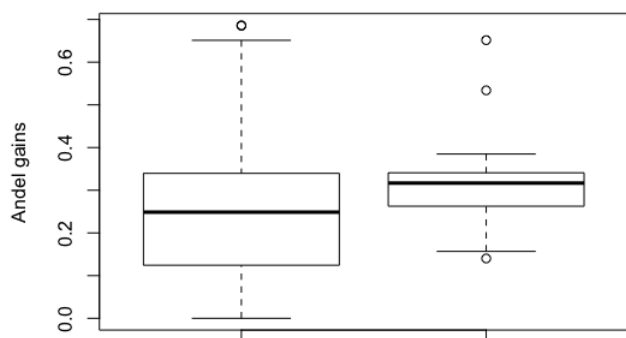
Den genomsnittliga andelen gains och loss för varje person i respektive grupp kan ses i tabell II.

Tabell II  
GENOMSNTLIGT ANDEL GAINS OCH LOSS PER PERSON I DE TVÅ GRUPPERNA ANGIVET I PROCENT.

|         | Gains | Loss  |
|---------|-------|-------|
| Grupp 1 | 24.70 | 37.48 |
| Grupp 2 | 32.16 | 48.98 |

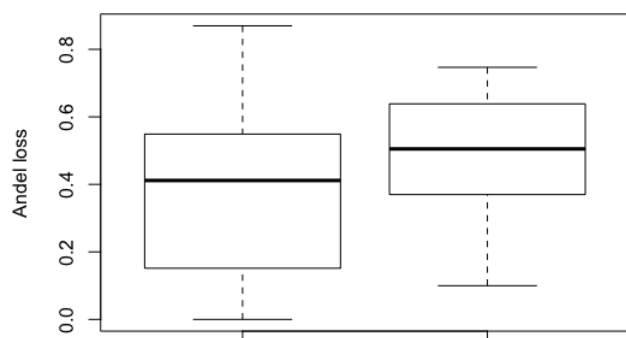
I figur 4 visas låddiagram över andelen gains för samtliga personer i grupp 1 respektive 2. Figur 5 visar samma sak men för andelen loss. Det svarta strecket i mitten av lådan visar medianvärdet. Längden på lådan visar spridningen på datan och prickarna representerar utstickande värden, så kallade outliers. T-test för skillnader i gains och loss gav p-värdet 0.0215 respektive 0.0259. Dessa var alltså signifikanta.

Låddiagram grupp 1 respektive 2



Figur 4. Bilden visar låddiagram över andelen gains i de två grupperna. Till vänster grupp 1 och till höger grupp 2. Det svarta strecket i mitten av lådan är medianen och lådans längd visar spridningen av datan.

Låddiagram grupp 1 respektive 2



Figur 5. Bilden visar låddiagram över andelen loss i de två grupperna. Till vänster grupp 1 och till höger grupp 2. Det svarta strecket i mitten av lådan är medianen och lådans längd visar spridningen av datan.

### C. T-test och Chi2-test

I tabell III visas resultatet för antalet mätpunkter med signifikanta skillnader mellan grupp 1 och 2 med T-test samt

Chi2-test. Vi ser även antalet mätpunkter som hade signifikanta skillnader med båda testerna. De punkter som är signifikanta är alltså de med ett P-värde mindre än 0.05.

Tabell III  
ANTAL SIGNIFIKANTA VÄRDEN MED OLIKA STATISTISKA TESTER.

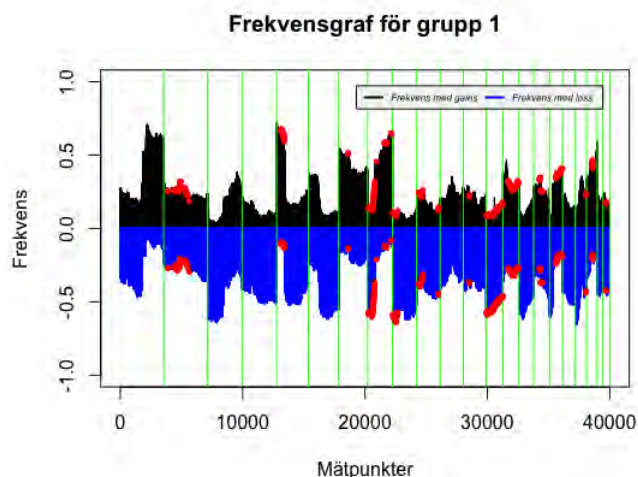
| T-test | Chi2-test | T-test och Chi2-test |
|--------|-----------|----------------------|
| 5303   | 9628      | 4041                 |

I tabell IV visas andelen signifikanta mätvärden i procent med både T-test och Chi2-test för varje kromosom. Utifrån detta ser vi att andelen signifikanta skillnader är störst på kromosom 13.

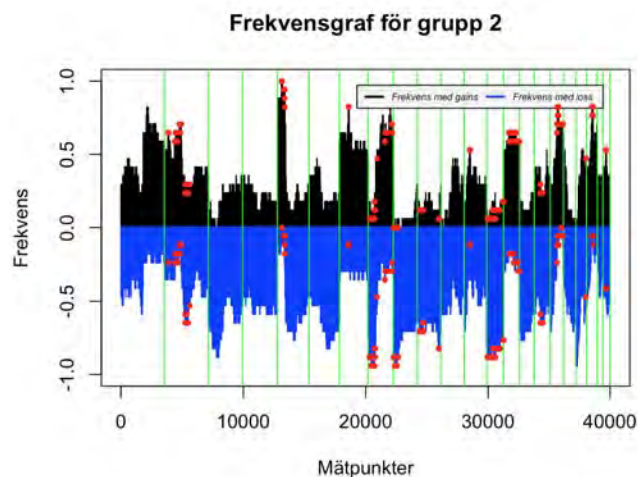
Tabell IV  
ANDEL SIGNIFIKANTA VÄRDEN MED BÅDE CHI2-TEST OCH T-TEST FÖR VARJE KROMOSOM ANGIVET I PROCENT.

| Kromosom | Andel signifikanta |
|----------|--------------------|
| 1        | 0                  |
| 2        | 14.77              |
| 3        | 0                  |
| 4        | 0                  |
| 5        | 3.66               |
| 6        | 0                  |
| 7        | 0.67               |
| 8        | 9.58               |
| 9        | 3.91               |
| 10       | 8.44               |
| 11       | 0                  |
| 12       | 0.64               |
| 13       | 21.50              |
| 14       | 18.67              |
| 15       | 0                  |
| 16       | 5.05               |
| 17       | 10.00              |
| 18       | 0                  |
| 19       | 0.72               |
| 20       | 1.95               |
| 21       | 0                  |
| 22       | 0.42               |

Figur 6 och figur 7 visar frekvensgrafer där alla värden som var signifikanta i både T-test och Chi2-test har markerats ut som röda punkter.



Figur 6. Frekvensgraf för grupp 1 med mätpunkter med signifikanta skillnader markerade som röda punkter. Kromosomer är markerade som gröna streck, kromosom 1 längst till vänster och 22 längst till höger. Det svarta representerar gains och det blå representerar loss. Y-axeln visar proportion förändrade prov.

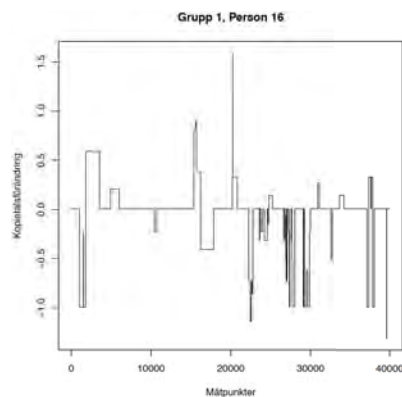


Figur 7. Frekvensgraf för grupp 2 med mätpunkter markerade med signifikanta skillnader som röda punkter. Kromosomer är markerade som gröna streck, kromosom 1 längst till vänster och 22 längst till höger. Det svarta representerar gains och det blå representerar loss. Y-axeln visar proportion förändrade prov.

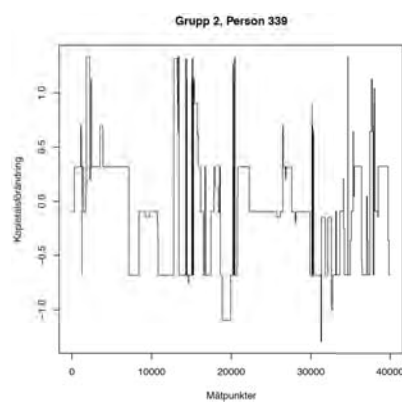
#### D. Kopietalsprofil

Figur 8 och figur 9 visar två stycken kopietalsförändringar för en person i respektive grupp.

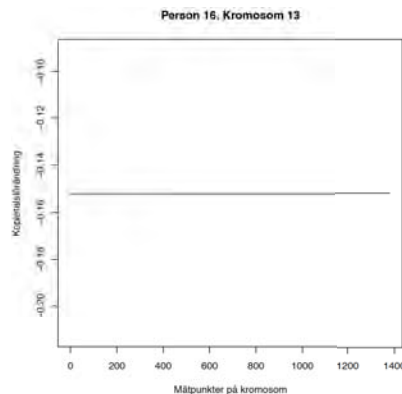
I figurerna 10 och 11 visas kopietalsprofil för enbart kromosom 13 för respektive person från figur 8 och figur 9.



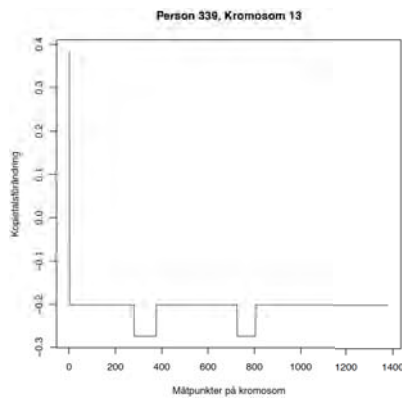
Figur 8. Kopietalsprofil för en person i grupp 1. På x-axeln visas mätpunkter och på y-axeln kopietalsförändringar. Skalan på y-axeln motsvarar den logaritmerade ( $\log_2$ ) ration av tumör / normal DNA. Det innebär att om det finns lika mycket DNA i tumören som i en normal cell för en mätpunkt är värdet 0. Värdet  $>0$  indikerar ökat kopietal i tumören, medan värdet  $<0$  indikerar minskat antal kopior i tumören jämfört med en normal cell.



Figur 9. Kopietalsprofil för en person i grupp 2. På x-axeln visas mätpunkter och på y-axeln kopietalsförändringar. Skalan på y-axeln motsvarar den logaritmerade ( $\log_2$ ) ration av tumör/normal DNA. Det innebär att om det finns lika mycket DNA i tumören som i en normal cell för en mätpunkt är värdet 0. Värdet  $>0$  indikerar ökat kopietal i tumören, medan värdet  $<0$  indikerar minskat antal kopior i tumören jämfört med en normal cell.



Figur 10. Kopietalsprofil för kromosom 13 hos en person i grupp 1. På x-axeln visas mätpunkter och på y-axeln kopietalsförändringar. Skalan på y-axeln motsvarar den logaritmerade ( $\log_2$ ) ration av tumör/normal DNA. Det innebär att om det finns lika mycket DNA i tumören som en normal cell för en mätpunkt är värdet 0. Värdet  $>0$  visar ökat kopietal i tumören, medan värdet  $<0$  visar minskat antal kopior i tumören jämfört med en normal cell.



Figur 11. Kopietalsprofil för kromosom 13 hos en person i grupp 2. På x-axeln visas mätpunkter och på y-axeln kopietalsförändringar. Skalan på y-axeln motsvarar den logariterade ( $\log_2$ ) ration av tumör / normal DNA. Det innebär att om det finns lika mycket DNA i tumören som i en normal cell för en mätpunkt är värdet 0. Värderna  $> 0$  indikerar ökat kopietal i tumören, medan värdena  $< 0$  indikerar minskat antal kopior i tumören jämfört med en normal cell.

## V. DISKUSSION

### A. Diskussion av resultat

Då vi jämförde de två frekvensgraferna för respektive grupp, figur 2 och 3, kunde vi se en tydlig skillnad. Det är betydligt fler personer i grupp två som har gains och loss i varje mätpunkt. Detta kunde även tydligt ses i tabell II. Det här tyder på att de tumörer som är av allvarligare grad (grupp 2) och som har spridit sig mer, har ett ökat antal kopietal. Teorin om att kopietalsförändringar påverkar cancers utveckling tycks alltså stämma överens med denna undersökning.

Då vi studerar frekvensgraferna mer i detalj på kromosom 5 för de båda grupperna kan intressanta förändringar ses. I figuren för grupp två ser vi att det på kromosom 5 finns några mätpunkter där nästintill alla prover innehåller en gain. När vi tittar på motsvarande punkt för grupp 1, är frekvensen något lägre, men ändå tydligt förhöjd. Då denna förändring finns i så hög grad i båda grupperna är detta inte en förändring som är unik för en tumör i något speciellt stadium. Det skulle däremot kunna vara en markör för tumörtypen adenocarcinom.

Då vi studerade tabell IV kunde vi se att vissa kromosomer till större del innehöll signifikanta skillnader mellan de två grupperna, där kromosom 13 och 14 utmärker sig med störst andel skillnader. Detta stämmer även väl överens med att kopietalsförändringar sker i block, det vill säga serier av mätpunkter ändras tillsammans. När de signifikanta skillnaderna placerades som punkter på frekvensgraferna, figur 6 och figur 7, kunde vi även se att punkterna ligger tätt på de tidigare nämnda kromosomerna.

Vi är medvetna om att antalet mätpunkter per kromosom varierar. De tidigare kromosomerna innehåller fler mätpunkter än de senare. Detta beror på att antalet baspar på kromosomerna varierar. Exempelvis har kromosom 1 över 240 miljoner baspar medan kromosom 22 endast innehåller drygt 40 miljoner baspar. [17] Vi har kompenserat för detta genom att beräkna andel signifikanta skillnader per kromosom istället för antal.

I figur 8 och figur 9 ser vi alltså en hel kopietalsprofil för en person från varje grupp, innehållande samtliga kromosomer.

Vi ser att profilen från personen i grupp 2 innehåller mer variationer. Dessa två profiler är dock ett litet urval av våra analyser och vi måste notera att en del av profilerna i grupp 1 hade betydligt mer variationer än just detta exempel. Vissa av proverna i grupp 1 hade profiler som i stor grad liknade de i grupp 2, de hade alltså väldigt mycket förändringar. Detta kan bero på att gränserna mellan de olika stadierna är diffusa ur ett tumör genomiskt perspektiv och det kan ibland vara svårt att särskilja dem. En intressant aspekt att undersöka är huruvida ett prov från grupp 1 med mycket variationer har en sämre prognos än ett med färre.

Viktigt att ha i åtanke är att kopietalsvariationer inte bara är ett tecken på cancer utan finns till viss del helt normalt i DNA:t. Normalt sett kommer kopietalsförändringar i block. I figur 8 kan en tydlig smal topp ses i mitten av mätpunkterna. Att denna topp skulle bero på en kopietalsförändring kan därför ifrågasättas. Mer troligt är att denna uppkommit på grund av ett fel i framtagningen av datan. Det kan bero på segmenteringsmetoden, hur bra analysen är eller hur bra kvalitet DNA:t var av då datan togs fram. Det kan även bero på normalvariationen hos den undersökta individen.

För båda personerna i figur 8 och i figur 9 har vi studerat kopietalsprofilen för en enskild kromosom. Vi valde kromosom 13 eftersom den till störst del innehöll signifikanta skillnader mellan grupperna. Vi kan i figur 10 (grupp 1) se att samtliga mätpunkter på kromosomen ligger på ca -0.15, alltså loss. I figuren från grupp 2, se figur 11, har vi däremot mer variation. Därmed stärks teorin om att det är stor skillnad mellan grupperna på just denna kromosom.

I datan som vi tilldelades fanns många fler prover från grupp 1 jämfört med grupp 2. Detta beror på att provtagning görs vid kirurgiskt ingrepp. De tumörer som är i grupp 2 anses inte vara gynnsamma att operera bort då de redan har spridit sig till andra organ. Anledningen till att vi överhuvudtaget har prover från denna grupp beror sannolikt på att läkarna initialt trott att tumören varit av en mildare grad och inte spridit sig. Under operation har det senare visat sig att tumören metastaserats. Ur ett forskningsperspektiv hade det varit idealt att ta prov från tumörer i samtliga stadium.

I låddiagrammen, figur 4 och figur 5, kan median för andelen gains och loss per person i respektive grupp ses. Vid jämförelse med medelvärdena i tabell II kan vi se att medianerna i respektive fall ligger nära medelvärdena vilket känns rimligt. Vi ser även att spridningen för grupp 1 är betydligt större, detta tror vi beror på att denna grupp innehåller mycket fler prover.

### B. Framtid

I framtiden kan detta sätt att analysera data vidareutvecklas. En möjlighet är att med hjälp av machine learning kunna klassificera olika typer av tumörer. Detta genom att skapa en typisk kopietalsprofil för de olika stadierna som sedan kan jämföras med tumörer hos patienter i kliniken.

Genom att koppla ihop kopietalsprofil med patientens utfall hade en prediktor för prognos varit möjlig att utveckla. Till exempel genom att hitta likheter i kopietalsprofiler hos personer som har samma typ av tumör. Med hjälp av prediktorn kan patienten få en prognos baserad på tidigare fall.

Ett annat potentiellt användningsområde är att hitta targets för läkemedel. Om en viss amplifiering av en gen karakteriserar en tumörtyp kan detta utnyttjas för riktade läkemedel, så kallad målstyrd terapi.

### C. Etik och hållbar utveckling

För den del av undersökningen som vi har gjort, endast dataanalysen, har inga större resurser krävts. Datan som har använts fanns redan tillgänglig och är inget vi har tagit fram själva. Dock måste man ha i åtanke att tekniken som ligger till grund för att få fram datan är både kostsam och avancerad. Detta gör att användningen begränsas till ekonomiskt stabila länder.

Med hjälp av vår analys hade ett verktyg för att klassificera tumören efter stadium kunnat utvecklas. Därmed hade läkare kunnat få ett hjälpmedel för att besluta om vilken behandling som är bäst lämpad. Cancersjukvården idag kostar samhället enorma summor och genom att bättre anpassa varje individs behandling efter rådande stadium hade pengar kunnat sparas. Även en patients lidande hade kunnat besparas genom att enbart ge den behandling som är nödvändig.

För att få lagra en patients data i en databas måste patienten ha skrivit under ett patientgodkännande samt att forskningsprojektet ska vara godkänt av en etikprövningsnämnd. Patientgodkännandet reglerar vad som får göras med provet. Det är alltid patienten som äger sin egen data och kan alltid dra tillbaka godkännandet. Då ska all data raderas samt kvarvarande prov förstöras. Datan som sparas är alltid anonym och forskare kan inte komma åt personuppgifter. [18] Ett etiskt dilemma med patientgodkännandet är att varierad utbildningsnivå samt språkbarriärer bland de som blir tillfrågade gör att förståelsen för vad som skrivs under är olika. Detta tror vi kan skapa en viss bias bland de medverkande i studien.

Vid studier av DNA finns alltid problemet med hur mycket man som patient vill veta. Vill man exempelvis verkligen få reda på om man har förhöjd ärftlig risk att få en allvarlig sjukdom? Ett sådant beslut påverkar även ens nära släktingar. I patientgodkännandet finns information angående just detta. Det är viktigt att återkoppling sker på rätt sätt, ett tufft besked bör förmedlas av personer med rätt kompetens.

## VI. SLUTSATSER

Resultaten av undersökningen tyder på att det finns en skillnad i antal kopietalsförändringar hos personer med lungcancer av typen adenocarcinom i stadium I-III och personer med stadium IV. De icke operabla tumörerna i stadium IV tenderar att i högre grad innehålla kopietalsförändringar. Skillnaderna existerar men det finns även en stor homogenitet mellan tumörerna. De signifikanta skillnaderna finns till störst del på kromosom 13 och 14.

## VII. EFTERORD

Vi riktar ett stort tack till vår handledare Johan Staaf, forskare och docent vid avdelningen för Onkologi och Patologi på Lunds Universitet, som under hela projektet hjälpt oss i arbetet. Johan har försett oss med data samt bidragit med sin kompetens både inom cancerbiologi och programmering.

Båda författarna har bidragit lika mycket till arbetet under gott samarbete.

## REFERENSER

- [1] Cancerfonden. 2018. *Lungcancer*. [https://www.cancerfonden.se/om-cancer/lungcancer?gclid=Cj0KCQiA-onjBRDSARIsAEZXCcKZ5glEoZZkrp7\\_jDgwLiQFHkG7C5CRI5kdNJMIRVCmGJB2CDITO\\_wsaAumYEALw\\_wcB](https://www.cancerfonden.se/om-cancer/lungcancer?gclid=Cj0KCQiA-onjBRDSARIsAEZXCcKZ5glEoZZkrp7_jDgwLiQFHkG7C5CRI5kdNJMIRVCmGJB2CDITO_wsaAumYEALw_wcB) [Hämtad : 2019 – 02 – 12]
- [2] Folkhälsomyndigheten. 2019. *Dödlighet i lungcancer*. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/folkhalsorapportering-statistik/folkhalsans-utveckling/halsa/dodlighet-i-cancer/lungcancer-dodlighet/> [Hämtad : 2019 – 02 – 12]
- [3] Netdoktor. 2012. *Lungcancer*. <https://www.netdoktor.se/cancer/lungcancer/sjukdomar/lungcancer-2/> [Hämtad : 2019 – 02 – 12]
- [4] Arbetsmiljöverket. 2016. *Huvudsakliga risker med asbest*. <https://www.av.se/produktion-industri-och-logistik/asbest/huvudsakliga-risker-med-asbest/> [Hämtad : 2019 – 02 – 12]
- [5] Cancer treatment centers of America. *Adenocarcinoma*. <https://www.cancercenter.com/adenocarcinoma> [Hämtad : 2019 – 02 – 12]
- [6] Ekman, Simon. Internetmedicin. 2019. *Lungcancer*. <https://www.internetmedicin.se/page.aspx?id=618> [Hämtad : 2019 – 02 – 12]
- [7] Genteknik. 2016. *DNA:t bygger upp arvsmassan som förpackas i kromosomer*. <https://genteknik.nu/dna-och-kromosomer/> [Hämtad : 2019 – 04 – 11]
- [8] 2015. *Overview of concepts and methods for analysis of DNA copy number alterations using array or sequencing based methods*. CARES research school. [Hämtad : 2019 – 05 – 06]
- [9] Söderlund Leifler, Karin. Nationalencyklopedin. *Cellcykel*. <https://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/cellcykel> [Hämtad : 2019 – 04 – 11]
- [10] Gene quantification. *Copy number variations*. <https://www.gene-quantification.de/cnv-faq.pdf> [Hämtad : 2019 – 04 – 11]
- [11] Ruminski Lowe, Dana. Seracare. 2018. *CNVs and tumor profiling: New CNV materials for breast, lung, and brain cancer*. <https://blog.seracare.com/cnvs-and-tumor-profiling-new-cnv-specific-reference-material-for-gene-amplification/> [Hämtad : 2019 – 04 – 11]
- [12] *Introduction to aCGH data analysis*. Lunds universitet. [Hämtad : 2019 – 05 – 06]
- [13] CeGaT Array-CGH. <https://www.cegat.de/en/diagnostics/array-cgh/> [Hämtad : 2019 – 05 – 07]
- [14] Vetenskap och hälsa. *Mikroarray*. [http://unga.vetenskaphalsa.se/dna\\_microarray/](http://unga.vetenskaphalsa.se/dna_microarray/) [Hämtad : 2019 – 05 – 08]
- [15] Staaf et al. International journey of cancer. 2012. *Landscape of somatic allelic imbalances and copy number alterations in human lung carcinoma*
- [16] *The R Project for Statistical Computing*. <https://www.r-project.org/> [Hämtad : 2019 – 05 – 15]
- [17] Bethesda. National Center for Biotechnology Information. 1998. *Genes and Disease*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22266/> [Hämtad : 2019 – 05 – 20]
- [18] Johansson.M. Lunds Universitet. 2019. *Forskningsetik*. <https://www.forskningsetik.lu.se/forskningsetisk-information/informerat-samtycke> [Hämtad : 2019 – 05 – 23]

# Luftflödesmätning vid reglering av motstånd i hjärtevalueringssystem

Rasmus Sobel (BME-16), Anton Jigsved (BME-16)

**Sammanfattning** – För att göra en funktionell utvärdering av donerade hjärtan innan transplantation har Igelösa Life Science AB påbörjat utveckling av ett system som bland annat använder sig av dynamiskt styrda motstånd för att mäta hjärtats funktion. Dessa motståndets storlek beror av lufttrycket i dem, och det är därför önskvärt att mäta luftflöde in och ut ur dessa. Projektet gick ut på att undersöka ifall en differentialtrycksensor skulle kunna mäta luftflöde med större upplösning och noggrannhet än en luftflödessensor.

För att mäta luftflöde med en differentialtrycksensor behövs ett flödesmotstånd som gör upphov till en tryckskillnad. Lämplig längd på denna togs fram för att passa givna specifikationer och utifrån detta tillverkades en enkel prototyp. En funktion för hur differentialtrycket berodde på flödets hastighet beräknades. Denna testades sedan för att se hur väl den motsvarade uppmätt flöde.

Resultatet visar att det med en differentialtrycksensor finns möjlighet att mäta flödet med likvärdig noggrannhet som en flödessensor, skillnaden hamnade inom en standardavvikelse för mätningar med flödessensorn. Med differentialtrycksensor fick vi något bättre upplösning; mellan 10-17 ml/minut, beroende på trycket, jämfört med flödessensorns 34 ml/minut. Dock varierade resultaten mycket mellan mätningar gjorda olika dagar vilket misstänks bero på att prototypen till flödesmotståndet som konstruerats var undermålig. En mer permanent lösning skulle ha behövts konstrueras för att kunna dra definitiva slutsatser.

## I. INTRODUKTION

HJÄRT-KÄRLSJUKDOMAR är idag den vanligaste dödsorsaken i Sverige. Trots att andelen de senaste åren har minskat dör över en tredjedel av alla svenskar på grund av hjärt-kärlsjukdomar [1]. En lösning på allvarliga eller obotliga hjärtproblem är att utföra en hjärttransplantation. Utvecklingen inom detta fält har kommit långt och idag kan en person som genomgått en hjärttransplantation oftast få sitt gamla liv tillbaka. Andelen som överlever ett år efter en transplantation är hela 96% och motsvarande siffra för 10 år är 80% [2].

Det genomförs ungefär 60 transplantationer per år i Sverige, trots att många fler står i kö i väntan på ett nytt hjärta. Den begränsande faktorn är antalet donatorhjärtan som finns tillgängliga. Detta leder till att många avlider i akut hjärtsvikt utan att ha någon möjlighet till en transplantation. [3] Samtidigt är Sverige det land i världen som är mest positivt inställda

till att donera sina organ. Enligt en undersökning från 2015 var hela 85 % villiga till detta [4]. För att i framtiden kunna ta till vara på dessa organ krävs ny teknik som gör fler hjärtan tillgängliga för transplantation.

## A. Bakgrundsteckning

När ett hjärta ska transplanteras plockas det först ut ur donatorn, spolas med en kall kardioplegisk vätska och lagras sedan i en ischemisk miljö till dess att det ska opereras in i mottagaren. Idag får ett hjärta vara utanför kroppen i max fyra timmar innan det opereras in i mottagaren. Detta för att man har visat en högre dödlighet bland mottagare av hjärtan som varit längre tid i kall ischemisk miljö [5].

En ny metod för att bevara hjärtan i upp till 24 h har tagits fram genom att man kontinuerligt pumpar blod genom hjärtat så det fortsätter vara syresatt [5]. Detta gör många fler hjärtan tillgängliga för transplantation genom att möjliggöra längre transport eller förvaring av det utopererade organet om patient och donator befinner sig på olika ställen. Detta gör även att behovet av att kunna undersöka utopererade hjärtan har ökat. Dels för att avgöra vilka organ som är värda att transportera, men även för att säkerställa att hjärtat klarat transporten utan att ta skada. Trots detta finns det idag inget säkert sätt att göra en funktionell utvärdering av donerade hjärtan. Detta gör att man endast väljer de hjärtan som kommer från de friskaste donatorerna när man utför transplantationer. Om man hade möjlighet att undersöka hjärtat inför operationen skulle man inte behöva vara lika konservativ vid urvalet av organ som används till donation, vilket skulle leda till att färre hjärtan gick till spillo.

Därför har Igelösa Life Science AB påbörjat utveckling av ett system som ska kunna evaluera hjärtats funktion innan hjärtat är transplanterat. Systemet fungerar genom att hjärtat själv pumpar runt blod samtidigt som hjärtminutvolymen och hjärtats tryck-volymförhållanden mäts. Systemet har två dynamisk kontrollerade flödesmotstånd som ska efterlikna kärlmotståndet i kroppen. Systoliskt och diastoliskt tryck i det lilla och stora kretsloppet kan kontrolleras oberoende av varandra vid varje hjärtslag med hjälp av dessa motstånd. Blodet som hjärtat pumpar runt blir också syresatt och temperaturkontrollerat av systemet.

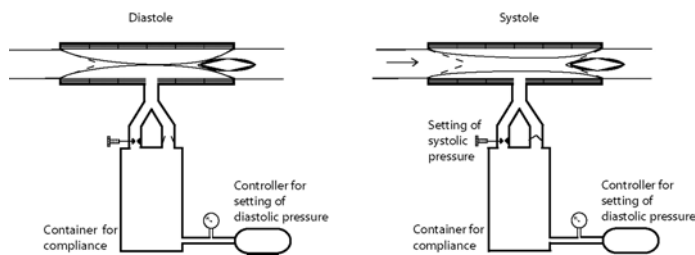
Dessa dynamiska motstånd består av uppblåsbara ballonger som ökar motståndet i slangarna där blodet cirkulerar, se figur 1. Ju mer luft som pumpas in desto större blir motståndet. För

Inlämnat den 11 juni 2019

Emailadress: {ra2561so-s@student.lu.se, an8224ji-s@student.lu.se}

Teknisk handledare: Harry Pigot, Igelösa Life Science AB

att kunna styra motståndet skulle det underlätta om man med stor säkerhet kunde mäta luftflöde in och ut ur dessa ballonger.



Figur 1. Principskiss över hur de dynamiska motstånden fungerar. [13]

## B. Tes

Syftet med detta arbete är att undersöka vilket som är det bästa sättet att mäta luftflödet in till de dynamiskt styrda flödesmotstånd i den hjärtevalueringsapparat som är under utveckling på Igelösa.

En sensor som mäter flödet direkt används som referensvärde och dess mätningar jämförs med mätningar gjorda genom att mäta tryckändringen över ett egendesignat flödesmotstånd och utifrån detta beräkna flödet. Målet är att dra slutsatser om det är möjligt att få mätningar med högre noggrannhet och upplösning med en differentialtryckssensor, samt presentera olika fördelar och nackdelar med de olika mätteknikerna.

## II. METOD

### A. Förstudie

1) *Inledning av projektet:* I början av projektet gjordes ett besök på Igelösa. Syftet med detta var att ge inspiration till projektet genom att ge en inblick i hur hjärtevalueringsystemet fungerar i praktiken. I samband med detta besök diskuterades även vilket upplägg projektet skulle ha.

Under de första månaderna av projektet gjordes inga tester alls. Detta berodde på att sensorerna fortfarande inte hade levererats. Denna tid lades på att förbereda allt som behövdes inför testerna. Det som undersöktes var hur luftflödet till testriggen skulle genereras, samt hur man bör utforma ett flödesmotstånd på bästa sätt.

2) *Luftflöde:* En kravlista på luftflödet skapades. Som underlag till denna lista gjordes efterforskning där ett skolarbete publicerat 2016 vid California State University San Luis Obispo [6] gav mycket inspiration. Dessutom diskuterades saken med handledaren. Detta resulterade i följande kravlista:

Luftflödet måste kunna hållas konstant under en längre tid

Luftflödet måste kunna regleras med hög känslighet

Luftflödet måste kunna ökas snabbt

Luftflödet måste kunna nå hastigheter på minst 60 liter/minut

Utifrån denna kravlista diskuterades olika lösningar. Saker som kom på tal var bland annat luftfyllda ballonger, dammsugare och luftpumpar men det slutgiltiga valet föll på en luftkompressor. Därefter gjordes vidare efterforskning för att hitta en tillräckligt bra kompressor till ett rimligt pris.

3) *Flödesmotstånd:* Ett flödesmotstånd behövs för att det ska skapas en tryckskillnad som differentialtrycksensorn kan mäta. Flödesmotståndet fungerar genom att friktion skapas mellan gas och flödesmotståndets yta. Arealen som ligger parallellt med flödet gör att trycket minskar linjärt i förhållande till flödet. Ändtyor och deras kanter skapar turbulens vilket ger ett kvadratisk minskande tryck i förhållande till flödet. I praktiken är därför förhållandet mellan tryck och flöde i ett flödesmotstånd alltid en kombination av dessa två komponenter. En linjär tryckminskning är att föredra eftersom det ger bättre sensitivitet nära noll och ger inte lika stora tryckfall vid stora flöden. För att uppnå ett linjärt samband bör man ha stor yta parallellt med flödet och liten genomskärningsarea. Ju längre motståndet är desto större blir ytarean längs med luftflödet. Teoretiskt borde därför ett längre motstånd ge upphov till en större tryckskillnad och även ett mer linjärt samband mellan tryckskillnaden och flödet. [7]

### B. Hårdvara

1) *Sensorer:* Två olika sensorer användes under projektet, båda tillverkade av Sensirion. Sensorerna valdes av handledaren utifrån följande specifikationer:

**Övre tryckgräns:** 300 mmHg

**Typiskt tryck:** 100 mmHg

**Luftflöde övre gräns:** 60 liter/minut

**Typiskt luftflöde:** -15 till 10 liter/minut

**Viktigt att de mäter noggrant vid 1 liter/min**

**Medium:** Luft i rumstemperatur

**Minsta samplingshastighet:** 250 Hz

**Koppling:** Ansluts till 3/8 silikonnör

**Möjlighet att mäta bidirektionellt**

För att göra direkta mätningar av luftflödet valdes den digitala flödessensorn SFM3300, se figur 2, och för att mäta tryckskillnaden valdes differentialtrycksensorn SDP810-125, se figur 3.



Figur 2. Luftflödessensorn SFM3300. [14]

flödessensorn SFM3300 är specialdesignad för medicinska applikationer och klarar av att mäta flödet av icke-aggressiva gaser såsom luft och syrgas. Den har ett mätspann på  $\pm 250$  liter/minut och har enligt tillverkaren en typisk noggrannhet på 3% vid flöden under 100 liter/minut. Mätningarna har en upplösning på 34 ml/minut. [8]



Figur 3. Differentialtrycksensorn SDP810-125. [15]

Differentialtrycksensorn SPD810-125 är designad för att mäta tryckförändringen i luft eller andra icke-aggressiva gaser. Den modell som användes hade ett mätspann på  $\pm 125$  Pascal och har enligt tillverkaren en noggrannhet på 0,08 Pascal vid mätningar nära noll och vid högre tryck har den en noggrannhet på 3%. Mätningarna har en upplösning på 17 mPa. [9]

Alla experiment utfördes under samma förhållanden som gällde då sensorernas specifikationer tagits fram. Dessa var horisontellt luftflöde, rumstemperatur (25°C) och normalt lufttryck (955 hPa). Båda sensorerna hade dessutom inbyggda temperaturkompensatorer vilket gjorde att de eventuella temperaturskillnader som fanns mellan testerna försumrades.

Båda sensorerna var enkla att använda då de kunde kopplas in till en dator via USB-kabel. Alla mätningar gjordes med hjälp av ett program som tillverkaren designat [11].

2) *Kompressorn:* För att kunna skapa och reglera ett luftflöde användes luftkompressorn 15-24 från Biltema, se figur 4. Den har ett maximalt arbetstryck på 8 bar vilket räckte mer än väl till att hålla önskat luftflöde under tillräckligt lång tid för att genomföra alla tester [10]. Flödet kunde enkelt regleras med en vridbar ventil. Med denna ventil kunde efter lite träning alla de krav som satts upp för luftflödet uppnås. Vid varje test fylldes kompressorn upp till ett tryck på 7 bar för att öka repeterbarheten mellan testerna.

3) *Testriggen:* För att utföra testen tillverkades en testrigg. Denna rigg utvecklades under projektets gång. Under de första testerna bestod den endast av en plåt vars funktion var att höja upp mätanordningen till samma höjd som kompressorn. Ett kortare rör på ca 10 centimeter kopplades mellan utloppet på kompressorn och mätanordningen. Denna lösning användes i början när syftet med testerna var att bekanta sig med all utrustning. Något som noterades då var att med detta korta rör blev mätningarna brusiga redan vid låga flödeshastigheter. Detta antogs bero på att flödet var för turbulent. För att åtgärda detta byttes det kortare röret ut mot ett som var en meter långt för att säkerställa att flödet skulle



Figur 4. Luftkompressorn 15-24. [16]

hinna bli fullt utvecklat.

Efter detta blev flödesmätningarna mindre brusiga vid låga hastigheter. Ett problem med detta var nu istället att inloppsröret lätt kunde böjas och därmed var reproducerbarheten mycket lägre. Dessutom kunde röret flytta sig under pågående mätningar vilket även det försämrade mätningarna. Därför byggdes en anordning som placerades ovanpå plattan där man kunde fixera alla rör som användes vid mätningarna. Detta var den slutgiltiga testriggen som användes under de mätningar som presenteras i rapporten, se figur 5.



Figur 5. Slutgiltiga testriggen som användes vid mätningarna. Sensorer och flödesmotstånd är inkopplade till höger i bild. [17]

4) *Flödesmotstånd:* I brist på tid och annat material skapades en prototyp med sugrör i en slang med innerdiameter på 9,525 millimeter (3/8 inches). Efter att ha testat olika varianter konstaterades att 3 sugrör var bra för att de var tillräckligt enkla att tillverka utan att sugrören gick sönder men satt samtidigt fast ordentligt i röret, se figur 6 och 7.

### C. Tester

1) *Framtagning av rätt längd på flödesmotstånd:* För att avgöra vilken längd på flödesmotståndet som passade bäst jämfördes mätningar med olika längder. Målet var att hitta ett flödesmotstånd som utnyttjade hela mätspannet hos differentialtrycksensorn inom de önskade flödeshastigheterna.



Figur 6. Flödesmotstånd som de såg ut mot luftflödet. [17]



Figur 7. Flödesmotstånd monterad i testriggen. Blå slangar uppåt i bilden leder till differentialtrycksensorn, luftflödet rör sig åt höger i bilden mot luftflödessensorn. [17]

Eftersom övre gräns för luftflöde hade specificerats till 60 liter/minut och differentialtrycksensorn kunde mäta upp till 125 Pa valdes dessa gränser för att hitta en lämplig längd på flödesmotståndet.

Flödesmotstånd testades med olika längder med ett intervall på 1,5 cm vid 6 olika mätpunkter inom mätspannet för tryckmätaren. Dessa valdes till 10, 30, 50, 70, 100 och 125 Pascal. Mätningarna gjordes genom att öka flödet tills de olika trycken var nådda och sedan visuellt läsa av vad flödes hastigheten var, uppskattat till närmaste 0,5 liter/minut. För att få ett referensvärde undersöktes även tryckskillnaden över ett rör som var 4,5 centimeter långt, men inte innehöll några sugrör.

2) *Förhållandet mellan tryck och flöde vid olika flödes hastigheter:* För att få fram en funktion för sambandet mellan det uppmätta trycket över flödesmotståndet och det uppmätta flödet genomfördes mätningar där flödet långsamt och så kontinuerligt som möjligt ökades från 0 till det önskade spannet för funktionen. Olika mätspann användes beroende på vilket område som undersöktes. Det spann som undersöktes mest var inom de typiska flödes hastigheterna, upp till 15 liter/minut, men även hur det såg ut vid låga flöden mellan 0-2 liter/minut undersöktes.

Med mätvärden från differentialtrycksensorn på x-axeln och mätvärden från flödessensorn på y-axeln plottades med

hjälp av Excel det uppmätta flödet som funktion av det uppmätta trycket. På denna figur anpassades en trendlinje för att få fram den funktion som beskrev sambandet.

3) *Undersökning av noggrannhet hos funktionen:* Nya mätningar gjordes och uppmätta värden på tryckskillnaden över flödesmotståndet sattes in i den framtagna funktionen. Dessa mätningar innehöll mer snabba förändringar i flödes hastighet, till skillnad från när funktionen togs fram, för att efterlikna mer realistiska förhållanden. Det luftflödet som räknats ut från tryckskillnaden jämfördes med de uppmätta mätvärdena från flödessensorn för att se hur väl de överensstämde. Totalt genomfördes cirka 50 mätningar uppdelat på 12 dagar.

4) *Negativt flöde:* Eftersom endast möjlighet att blåsa luft och inte suga in luft fanns, kunde inte negativt flöde mätas. Det som gjordes istället var att vända på trycksensorn åt andra hållet för att på så vis mäta flödet i andra riktningen. Tyvärr fanns inte möjligheten att vända på flödessensorn eftersom den inte är symmetrisk, ingångssidan är anpassad för 3/8"-rör men sidan luften blåser ut genom är något större vilket ledde till att röret inte satt fast ordentligt.

#### D. Databehandling i Excel

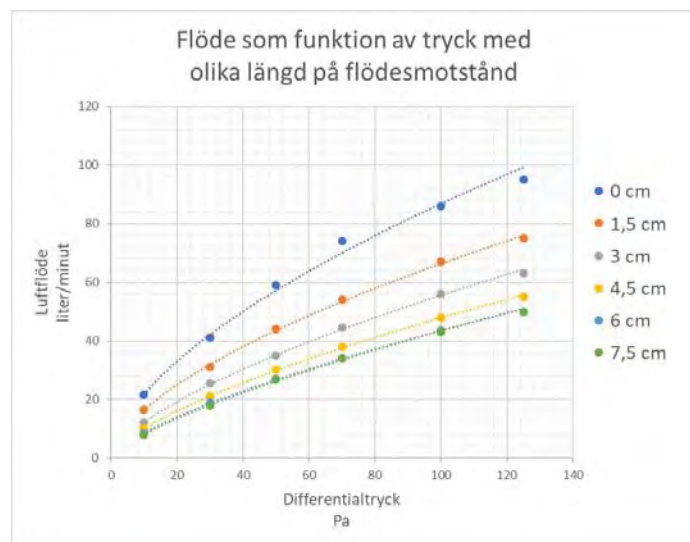
Den datan som genererades från mätningarna behandlades i Excel för att på ett överskådligt sätt kunna se på datan. Eftersom två olika sensorer användes erhöles två olika filer med data som behövdes kopieras in i ett gemensamt dokument. Det fanns ingen möjlighet att starta mätningarna på samma gång, vilket gjorde att datan behövde justeras så att tiderna stämde överens. Det gick dock att ställa in så att datorns klocktid sparades ner för varje mätvärde, som sedan kunde jämföras för att anpassa mätpunkterna. Tyvärr skiljde det en liten del på de två mätningarnas samplingshastigheter, trots att de var inställda på samma tid, vilket ledde till att det blev lite problem när de två mätningarna skulle anpassas till varandra. Det kunde skilja upp emot en sekund i tid trots att lika många mätvärden hade uppmätts. Detta löstes i Excel genom att ta tiden på mätvärdet för varje mätpunkt på tryckmätningen och hitta den flödesmätning vars tid stämde bäst överens, och sedan para ihop dessa två mätningar.

### III. RESULTAT

#### A. Framtagning av rätt längd på flödesmotstånd

Resultatet från mätningarna vid framtagning av rätt längd på flödesmotstånd presenteras i figur 8. Utifrån detta valdes att det flödesmotstånd som var 7,5 centimeter långt skulle användas. Att denna inte riktigt fick med hela spannet upp till 60 liter/minut bortprioriterades då det ansågs viktigare att ha så hög upplösning som möjligt vid de typiska flödes hastigheterna. Anledningen till att inte ännu längre flödesmotstånd användes för att på så sätt kunna öka upplösningen vid lägre flödes hastigheter ännu mer var dels att det var svårt att tillverka utan att göra skador på sugrören.

Men den främsta anledningen var att våra resultat tydde på att skillnaden mellan längderna i princip var obefintlig när vi närmade oss 7,5 centimeter då graferna för flödesbegränsarna med längd 6 respektive 7,5 cm nästan var identiska. I figur 8 är mätpunkterna för flödesmotstånd på 6 cm helt täckt av mätpunkter från 7,5 cm och syns därför inte.



Figur 8. Graf över mätningen med olika längder på flödesmotstånd. Ett längre motstånd leder till större tryckfall.

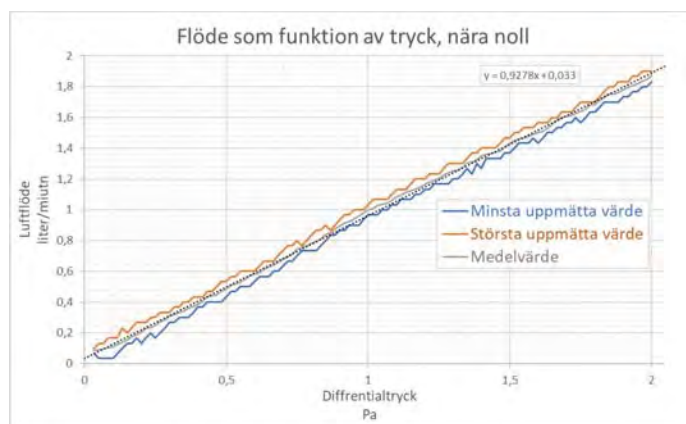
### B. Förhållandet mellan tryck och flöde vid olika flödes hastigheter

Om man gjorde mätningar mellan 0 och 2 liter/minut var förhållandet mellan tryck och flöde nästan helt linjärt med ett förhållande nära 1:1, se figur 9. Eftersom differentialtrycksensorn har en upplösning på 17 mPa betyder det att vi får en upplösning på ungefär 17 ml/minut, vilket är dubbelt så högt som flödessensorns 34 ml/minut. Sambandet övergick sedan från linjäritet till att följa en exponentialfunktion när flödes hastigheterna ökade, se figur 10. Upplösningen blir bättre vid högre tryck, eftersom lutningen på kurvan blir flackare. Vid en flödes hastighet på 15 liter/minut är upplösningen ungefär 10 ml/minut.

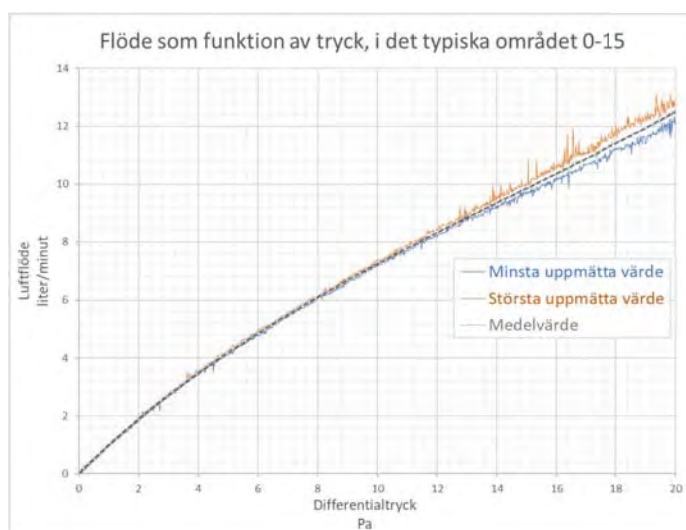
### C. Undersökning av noggrannhet i funktionen

Funktionerna från mätningar olika dagar var väldigt olika, de kunde skilja sig från varandra med så mycket som 15%.

Mätningar gjorda samma dag stämde dock bra överens med varandra. Figur 11 visar en mätning där funktionen som användes i mätningen var framtagen tidigare under samma dag. Från figuren kan man se att de stämmer väl överens förutom vid flöden högre än 10 liter/minut där mätningarna blir brusiga, och vid snabba förändringar är det lite längre responstid på differentialtrycksensorn. På grund av att mätningarna var brusiga var det svårt att kunna bestämma för vilket tryck som man fick ett visst flöde. Därför



Figur 9. Graf över mätning mellan 0 och 2 liter/minut med inlagt trendlinje. Nära noll är sambandet mellan tryck och flöde linjärt, med en lutning på ungefär 1.



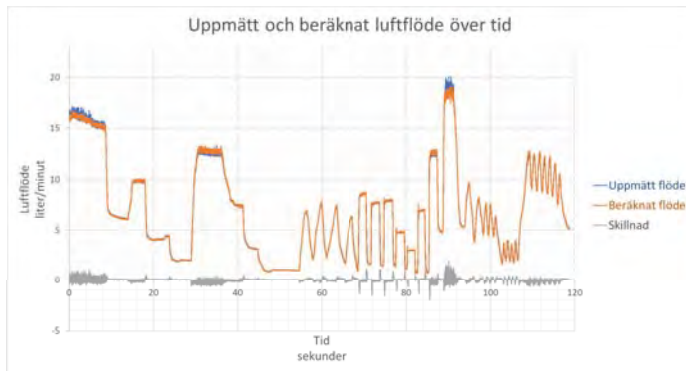
Figur 10. Graf över mätning mellan 0 och 15 liter/minut.

var medelvärdet för uppmätta flödes hastigheter för en viss tryckskillnad det värde som utgicks från. Standardavvikelsen för det uppmätta flödet vid ett visst tryck bestämdes också.

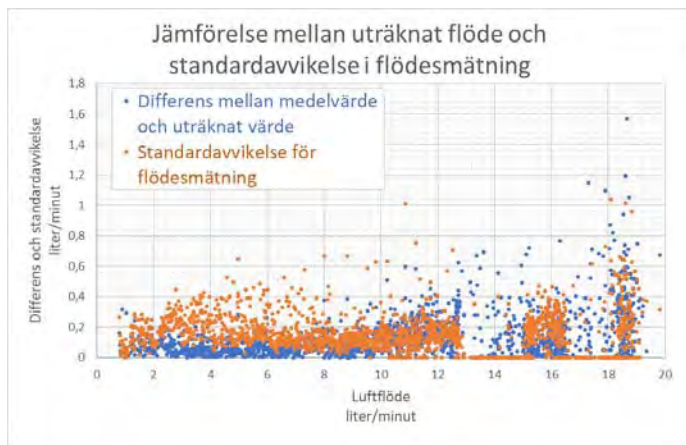
När funktion, medelvärde, och standardavvikelse hade bestämts jämfördes differensen mellan uträknat värde och flödets medelvärde med standardavvikelsen på flödetmätningen. Som figur 12 visar är denna differens ungefär lika stor som en standardavvikelse för hur väl flödet kunde mätas med flödessensorn. Värdena är tagna från mätningen som presenteras i figur 11.

### D. Negativt flöde

Som man ser i figur 13 så mäter trycksensorn likadant oberoende åt vilket håll sensorn är satt. I figuren är de negativa mätpunkterna multiplicerade med 1 för att de enkelt ska kunna jämföras med de positiva mätpunkterna. Vid flöden inom det typiska området upp till 15 liter/minut är mätningarna så lika att de positiva mätpunkterna döljs av de negativa.



Figur 11. Beräknat och uppmätt värde på luftflödet över tid. Grå linje visar skillnaden mellan det med luftflödessensorn uppmätta flödet (blå linje) och det flöde som beräknats från uppmätt tryckskillnad (orange linje).



Figur 12. Jämförelse mellan uträknat flöde och standardavvikelsen i flödesmätningen vid olika flödes hastigheter. Differensen mellan uträknat flöde och medelvärde på det uppmätta flödet motsvarar ungefär standardavvikelsen för det uppmätta flödet.

#### IV. DISKUSSION

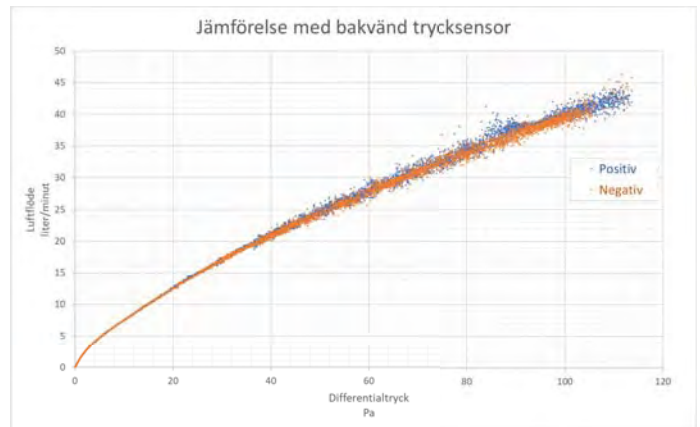
##### A. Fördelar och nackdelar med att använda differentialtrycksensor

###### Fördelar

Bättre upplösning, nära noll är upplösningen ca 17 ml/minut jämfört med flödessensorns 34 ml/minut. Man skulle kunna anpassa sina mätningar efter behov genom att byta flödesmotstånd.

###### Nackdelar

Kan vara krångligt att använda flera komponenter. Har en något sämre responstid vilket ger lite sämre mätningar vid snabba förändringar av luftflödet. Kan komma att behöva kalibreras mellan varje försök ifall inte en mer stabil konstruktion konstrueras. Eftersom vi använder flödessensorn till att bestämma funktionen för vilken differentialtrycksensorn bestämmer flödet kommer säkerheten på denna aldrig kunna bli bättre än vad flödessensorn mäter.



Figur 13. Jämförelse mellan differentialtrycksensor rätvänd och bakvänd. Bilden visar att differentialtrycksensorn mäter lika oberoende av vilket håll den är vänd.

##### B. Felkällor och förbättringsmöjligheter

Det tog relativt lång tid innan sensorerna levererades vilket gjorde att det inte fanns lika mycket tid som man kunnat önska. Det gjorde att det inte fanns tid att till exempel 3D-printa en mer permanent lösning på flödesmotståndet. Hade ett fast flödesmotstånd funnits skulle möjligtvis en mer stabil funktion mellan tryckskillnad och luftflöde kunnat framtagas.

Mätresultaten kunde variera relativt mycket mellan olika dagar vilket gjorde att en väl överensstämmande funktion aldrig hittades. Sent under projektets gång upptäcktes att flödessensorn SFM3300 mätte väldigt olika beroende på hur den var roterad. Detta visade sig bero på att änden på röret som kopplades in till sensorn var ojämnt klippt och när detta åtgärdades blev felet betydligt mindre. Detta tros inte ha påverkat testerna inom respektive dag nämnvärt då sensorn satt ordentligt monterad och inte roterade utan yttre mekanisk påverkan. Däremot kan detta vara en av orsakerna till att repeterbarheten mellan olika dagar var dålig då testanordningen demonterades efter varje avslutat försök. Hade detta upptäckts tidigare under projektets gång hade kanske resultatet blivit bättre mellan olika dagar.

Eftersom en sampelhastighet på 5 ms användes och en mätning kunde pågå i minuter ledde det till att tiotusentals mätpunkter genererades vid varje test. Så mycket data kunde inte alltid Excel beräkna och kraschade därför flera gånger. Mycket tid och frustration hade sparats om kortare mätningar eller en lägre samlingshastighet hade används, men vi gjorde stora mätningar i hopp om att få bättre resultat.

Något vi märkte var att alla mätningar blev brusigare vid högre luftflöden. Vi tror att detta beror på att vi får ett mer turbulent flöde. Vi lyckades förbättra mätningar genom att låta luften flöda genom ett längre rör innan de kommer till sensorerna, men mätningar blir fortfarande brusiga över cirka 10 liter/minut. Mer förbättringar skulle förmodligen kunna göras för att få ett mindre turbulent flöde. Exempelvis skulle

man kunna testa alternativa sätt att skapa luftflöde. Jämnare luftflöde skulle leda till att det blir lättare att jämföra de två sensorerna eftersom brusiga mätningar ger stora osäkerheter. Väldigt sent under projektets gång, efter att alla mätningar var gjorda, fick vi reda på att vi hade anslutit rören till flödessensorn på ett inkorrekt sätt. Istället för att trä röret utanpå den inre cirkeln på flödessensorn hade vi satt röret innanför. Detta kan vara ytterligare en anledning till att mätningarna blev brusiga vid högre flödes hastigheter då änden på röret var en skarp kant som kan orsaka turbulens.

Eftersom vi inte haft möjlighet att suga luft eller att vända på båda sensorerna, har vi valt att bara fokusera på hur sensorerna mäter i positiv riktning. Tester med att vända på differentialtrycksensorn tyder på att det inte spelar någon roll vilken håll den är vänd, vilket är rimligt eftersom mätaren borde mäta likadant oberoende av riktning.

### C. Hållbar utveckling

Hållbar utveckling består av tre dimensioner som samspelar och stödjer varandra. Dessa är ekologisk hållbarhet, social hållbarhet och ekonomisk hållbarhet. [12]

Då vi som skrivit rapporten inte är tillräckligt insatta i hur den slutgiltiga produkten utvecklas kan vi inte säga något relevant om vare sig ekonomisk eller ekologisk hållbarhet. När det gäller social hållbarhet kan det dock konstateras att produkten kan göra skillnad. Som tidigare konstaterats finns det i dagsläget inte tillräckligt med donerade hjärtan tillgängliga. Detta innebär att många med allvarliga hjärtfel lever med en stor ovisshet då de inte vet om de kommer att överleva. Detta är ofta väldigt påfrestande både för dem och för deras anhöriga. Om fler donerade hjärtan skulle kunna komma till användning så att fler kunde genomgå en transplantation skulle det leda till en förbättrad social tillvaro både för patienten och dess anhöriga.

### D. Etik

En relevant etisk aspekt gällande denna produkt är djurförsök. Detta är så klart någonting man inte ska använda sig av i onödan men med tanke på att vilken potential denna produkt har anser vi det vara ett nödvändigt ont. Dessutom är det en teknik som vid felaktig användning på människor skulle kunna få fatala konsekvenser. Då det inte finns någon liknande teknik ute på marknaden finns det inga tidigare studier att använda som referens. Därför är det av yttersta vikt att noggranna tester genomförs så att man kan säkerställa dess funktion utom rimliga tvivel innan den börjar användas på människor. Detta kräver att tester på riktiga hjärtan från djur måste genomföras.

## V. SLUTSATS

Eftersom flödessensorn utgicks från när mätningarna genomfördes kunde inga slutsatser dras gällande ifall noggrannheten i mätningarna med differentialtrycksensorn är bättre än

flödessensorn. Resultaten tyder dock på att de hade likvärdig noggrannhet. Däremot kunde vi med differentialtrycksensorn uppnå en något bättre upplösning än den som flödessensorn hade. Med tanke på de relativt enkla metoder som användes vid framtagning av flödesmotståndet visar våra resultat indikationer på att man kan göra bättre mätningar med en differentialtrycksensor. För att kunna dra några definitiva slutsatser krävs dock att ytterligare tester med ett mer välutvecklat flödesmotstånd genomförs.

## VI. EFTERORD

Stort tack till vår handledare Harry Pigot, doktorand vid institutionen för reglerteknik vid Lunds tekniska högskola, för hans hjälp och vägledning i detta projekt. Ett stort tack riktas även till Igelösa Life Science AB, som gjorde detta projekt möjligt.

Under mätningarna har A. Jigsved mestadels skött kompressorn och testtriggen medan R. Sobel har hanterat databehandlingen. I övrigt har arbetet delats lika mellan författarna.

## REFERENSER

- [1] Anna Aderlund och Karin Strand, Hjärt-lungfonden, *Hjärtrapporten 2017*, [https://www.hjart-lungfonden.se/Documents/Rapporter/Hj%C3%A4rtrapporten\\_2017%20slutversion\\_ny.pdf](https://www.hjart-lungfonden.se/Documents/Rapporter/Hj%C3%A4rtrapporten_2017%20slutversion_ny.pdf), 2017
- [2] Hjärt-lungfonden, *Hjärtan som räddar liv*, <https://www.hjart-lungfonden.se/Forskning/Milstolpar-inom-forskningen/Hjarttransplantation/>, 2017
- [3] Hjärt-lungfonden, *Hjarttransplantation - en skrift om hjarttransplantation*, <https://www.hjart-lungfonden.se/Documents/Skrifter/Hj%C3%A4rttransplantation-Final.pdf>, 2017
- [4] Mer organdonation, *Statistik*, <https://merorgandonation.se/om-organdonation/statistik/>, 2018
- [5] Stig Steen, Audrius Paskevicius, Qiuming Liao och Tryggve Sjöberg, *Scandinavian Cardiovascular Journal, Safe orthotopic transplantation of hearts harvested 24 hours after brain death and preserved for 24 hours*, <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/14017431.2016.1154598>, april 2016
- [6] Cory Davis, Emily Guss och Michael Swartz, California State University San Luis Obispo, *Flow meter test rig - Final design report*, <https://digitalcommons.calpoly.edu/cgi/viewcontent.cgi?referer=https://www.google.com/&httpsredir=1&article=1355&context=mesp>, juni 2016
- [7] Andries Bosma, Sensirion, *Efficient Gas Flow Measurements in Bypass*, [https://www.sensirion.com/fileadmin/user\\_upload/customers/sensirion/Dokumente/14\\_Specialist\\_Articles/Sensirion\\_Specialist\\_Article\\_Gas\\_Flow\\_Bypass\\_EN.pdf](https://www.sensirion.com/fileadmin/user_upload/customers/sensirion/Dokumente/14_Specialist_Articles/Sensirion_Specialist_Article_Gas_Flow_Bypass_EN.pdf)
- [8] Sensirion, *Data sheet SFM3300*, [https://www.sensirion.com/fileadmin/user\\_upload/customers/sensirion/Dokumente/0\\_Datasheets/Mass\\_Flow\\_Meter/Sensirion\\_Mass\\_Flow\\_Meters\\_SFM3300\\_Datasheet.pdf](https://www.sensirion.com/fileadmin/user_upload/customers/sensirion/Dokumente/0_Datasheets/Mass_Flow_Meter/Sensirion_Mass_Flow_Meters_SFM3300_Datasheet.pdf), januari 2019
- [9] Sensirion, *Data sheet SDP810*, [https://www.sensirion.com/fileadmin/user\\_upload/customers/sensirion/Dokumente/0\\_Datasheets/Differential\\_Pressure/Sensirion\\_Differential\\_Pressure\\_Sensors\\_SDP8xx\\_Digital\\_Datasheet.pdf](https://www.sensirion.com/fileadmin/user_upload/customers/sensirion/Dokumente/0_Datasheets/Differential_Pressure/Sensirion_Differential_Pressure_Sensors_SDP8xx_Digital_Datasheet.pdf), april 2019
- [10] Bilema, *Manual Luftkompressor 15-24*, [https://www.bilema.se/BilemaDocuments/Manuals/17-668\\_man.pdf](https://www.bilema.se/BilemaDocuments/Manuals/17-668_man.pdf), juli 2013
- [11] Sensirion, *Download Center*, <https://www.sensirion.com/en/download-center/mass-flow-meters/mass-flow-meter-evaluation-kits/>
- [12] AnnaLena Andrews och Berith Granath, FN-förbundet, *FN-fakta - Hållbar utveckling*, <https://fn.se/wp-content/uploads/2016/08/Faktablad-2-12-H%C3%A5llbar-utveckling.pdf>, 2012

## BILDKÄLLOR

- [13] Bild från Igelösa Life Science AB
- [14] <https://datasheets.globalspec.com/ds/508/sensirion/D4D6F4C2-60DE-4F51-851B-02C6029E4286>
- [15] <https://se.farnell.com/Sensirion/sdp810-125pa/tryckgivare-digital-125pa-5-5v/dp/2886665>
- [16] <https://www.biltema.se/verktyg/tryckluft/kompressorer/kompressor-15-24-2000033784>
- [17] Bild tagen av författarna

# Microchannel acoustic convective flow to guide nanoparticles

Enrico Corato (BME-18)

**Abstract**—Acustophoresis is a branch of microfluidics which implies mechanical vibrations applied to chips and therefore to the embedded structures, like microchannels: it has proved itself able to manipulate particles down to few microns, while with smaller particles it struggles with the streaming of liquid. Recently it has been shown that, using molecular concentration gradient, acoustic body forces on the liquid can decrease, or even suppress, the intensity of acoustic streaming.

In this project, the main focus is generating and maintaining a temperature gradient across the channel to study how this affects the acoustic streaming field. The idea is to understand if the difference in density in the liquid inside the cavity can generate acoustic body forces and of which intensity, studying the velocity fields via fluorescent particles. This interaction has never been studied before and in this first project we had to figure out how to efficaciously conduct the heat on the sides of the channel, while having a standing acoustic wave inside the cavity and without compromising the visualization.

The designed system managed to generate and maintain a temperature gradient across the channel and this, combined with a parallel acoustic half standing wave, seems to affect the streaming accelerating the liquid, compared to the sound field only.

## I. INTRODUCTION

Microfluidics is a field that has grown exponentially over the last two decades. The small dimensions of the channels, in the order of hundreds of  $\mu m$ , enable laminar flows (low Reynolds number) and thus allowing precise conditions setting, thanks to the small volumes involved and the high surface-to-volume ratio. The predictable behaviour of these systems allows various applications and there are numerous examples of microfluidic chips used in life science to perform various reaction, like PCR [1] or protein crystallization [2], or cell and particles assessments, through different techniques like biomimetics (t.ex. margination [3]), Deterministic Lateral Displacement (DLD, [4]), micro-scaled filters [5], dielectrophoresis [6] and many more [7].

The project is focused on microchannel acoustophoresis, a consolidated technique which, through ultrasonic standing wave fields, allows manipulation of microscopic objects [8], [9] by tuning the waves frequency, in order to have resonance across the channel width. It has numerous advantages, like being a label-free method, with no chemicals involved, and being gentle in the manipulation of cells or particles, with low mechanical stresses by the acoustic forces.

## A. Background

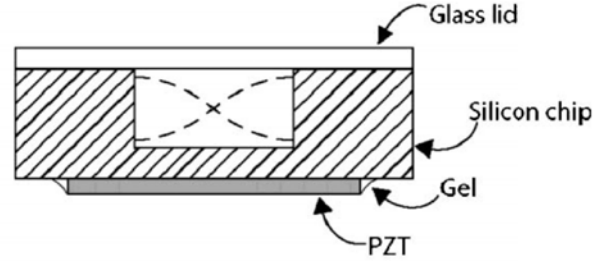


Figure 1. Scheme of half standing wave across a microfluidic channel, the so called "Lund method". Reproduced from [10].

The optimal ultrasound wave is to be designed with wavelength (or its multiples) long as the width of the channel  $w$  (Fig. 1), which would generate pressure nodes and anti-nodes in which particles would be driven accordingly to their acoustic properties.

$$w = n \frac{\lambda}{2}$$

There are multiple phenomena generated by this standing wave:

**Primary radiation force (PRF):** this is the main acoustic force acting on the particles; it has two components, the axial one (that for an half wavelength standing wave can be written as in Eq. 1), which is the most significant and acts parallel to the wave propagation direction, while the transverse PRF (Eq. 3) acts in the perpendicular direction. The former is the one of main interest for this work and it is responsible for the translation of particles (index  $p$ ) in the fluid (index  $o$ ), towards the standing wave node or anti-node.

$$\mathbf{F}_{\text{Axi}} = 4 a^3 k_y E_{ac} \sin(2k_y y) \mathbf{e}_y \quad (1)$$

$$= \frac{1}{3} + \frac{1}{2 + 1} \quad (2)$$

$$\mathbf{F}_{\text{Lat}} = V_p E_{ac} \frac{3(\frac{p}{o} + 2 \frac{o}{p})}{o} \cos^2(kx) - \frac{o}{o} \frac{p}{o} \sin^2(kx) \mathbf{e}_x \quad (3)$$

With

$$= \frac{p}{o} = \frac{p}{o} \quad \text{and} \quad k_y = \frac{\pi}{c_o}$$

$k$  as wavevector,  $c_o$  as speed of sound in the medium,  $a$  as particle radius and  $E_{ac}$  as acoustic energy. It is worth

noticing that the compressibility is inverse proportional with the density and the speed of sound  $c$

$$\frac{1}{c}$$

**Acoustic streaming:** the acoustic standing waves propagation generates pressure and velocity fields oscillations in the fluid. Being a real situation, not an ideal fluid, viscosity causes a loss of energy which results in a non-zero net displacement of fluid particles for each cycle: this usually leads to global formation of streaming rolls. Therefore, acoustic streaming could be defined as a steady flow of fluid generated by viscous dissipation of acoustic energy; it emanates from the thin layers at the boundary walls parallel to the wave propagation, where spatially fixed pressure nodes and anti-nodes generate a steady boundary layer vortices, called “Schlichting streaming” [12]. Due to the fluid viscosity, these flows generates counter rotating streaming in the bulk, denominated outer boundary layer streaming or “Rayleigh streaming” [14]. Here, the velocity field is independent from the  $z$ -coordinate, while at the boundaries, on the contrary, considering a no slip condition, there is a steep velocity gradient that goes from the free-stream value to zero velocity at the channel surface, as seen in the COMSOL simulation in Fig. 2.

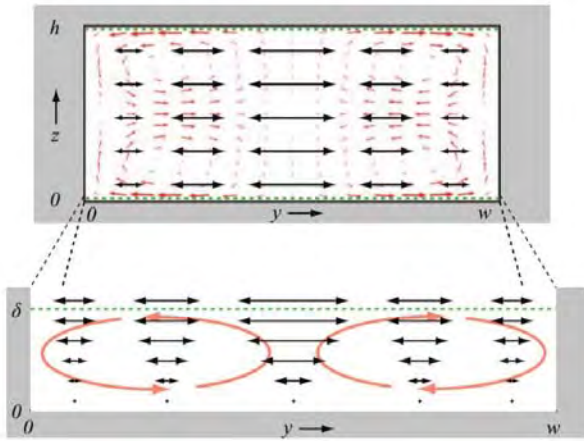


Figure 2. Acoustic streaming in the channel cross section: the oscillating first order acoustic velocity field (black arrows) can be seen decaying towards the walls in the lower part of the figure (boundary layer of thickness  $\delta$ , green dashed line), while it is independent from  $z$  in the channel bulk. The Schlichting streaming can be appreciated in the inner boundary layer, while the Rayleigh one can be seen in the upper part of the figure, both defined by red arrows. Reproduced from [13].

In this figure, a half standing wave generates a pressure node in the middle of the channel and two anti-nodes on the side walls.

### B. Addressed issue

The action of the primary radiation force is counteracted by the drag force (due to the Stokes effect of motion in fluid). Thus, for each particle, neglecting its momentum, one can write the following force balance:

$$F_{rad} = F_{drag} = 6 \pi \eta a u_{rad} \quad (4)$$

with  $\eta$  as dynamic viscosity and  $u_{rad}$  the particle velocity. From this, the particle velocity  $u_{rad}$  can be written:

$$u_{rad} = \frac{dy}{dt} = \frac{2}{3\rho} a^2 k_y E_{ac} \sin(2k_y y) \quad (5)$$

Based on Lord Rayleigh’s findings [14], the streaming velocity induced in the boundary layer by a standing wave with same propagation direction as the underneath rigid surface is defined as:

$$u_{str} = \frac{3}{8} \frac{v_a^2}{c_o} \sin(2k_y y) = \frac{3}{2} \frac{E_{ac}}{c_o} \sin(2k_y y) \quad (6)$$

With  $v_a$  particle velocity.

Comparing the particles velocities due to the acoustic force  $u_{rad}$  (Eq. 5) and the streaming  $u_{str}$  (Eq. 6) leads to:

$$\frac{u_{str}}{u_{rad}} = \frac{9\rho}{8 a^2 m f} = \frac{9\rho}{4 a^2 m c_m} \quad (7)$$

It is therefore possible to calculate a critical radius  $a_c$  for which Eq. 7 equals 1, meaning that  $u_{str} = u_{rad}$ . This implies that, assuming identical conditions and materials, for particles with  $a < a_c$  the streaming would be predominant (ratio higher than one), while for particles with radius  $a > a_c$  the primary radiation force would be stronger (ratio lower than one), thus ruling the motion. There is a growing interest in going

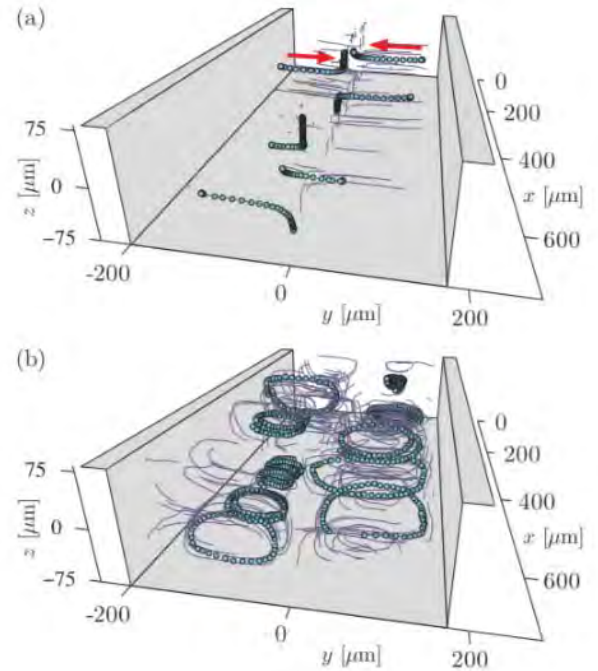


Figure 3. Particles trajectories from experimental data (horizontal half-wave resonance) using 3D-APTV technique. a) 5  $\mu m$  particles are pushed towards the pressure minimum and then, when they’ve reached the center, the acoustic streaming slowly drag them towards the top and bottom of the channel; b) 0.5  $\mu m$  particles are characterized by circular motion, due to the poor PRF and thus they follow the four vertical vortices in the bulk. Reproduced from [9].

below the critical size  $a_c$  in particles manipulation for clinical reasons, thus enabling, for example, higher throughput and standardization in bacteria [15] and exosomes [16] analysis.

Considering the forces generated by acoustic waves dependence on the relative compressibility and density, some studies [17] has proven that acoustic streaming can be suppressed by gradients within the fluid bulk of these two parameters, generated by solutes added to the medium to make it inhomogeneous. Our project wants to create this nonuniformity in the fluid characteristic via a temperature gradient; doing so, we would alter the property of the fluid, like density and speed of sound, and thus the compressibility. Besides, as a radiator in a room generates air convection (less dense air goes up, while gravity pushes down colder and denser air), the temperature difference across the channel would generate a gravity-driven convection of fluid in the channel cross-section.

Hence, the interaction between the acoustic field and the density inhomogeneity of the fluid would be affected by the convective gravity-induced motion. This is the first time this issue has been addressed and our purpose is to describe the interaction between a sound field and a thermal gradient applied on the same direction (both across the channel width).

## II. MATERIALS AND METHODS

### A. Materials

The goal is to have a set-up able to generate both an acoustic standing wave and maintaining a temperature gradient across the channel. Considering the chips in our disposal (Fig. 4 and 5), some decision had to be made on how technically achieve the wanted characteristic for the system (ending with the one shown in Fig. 6).

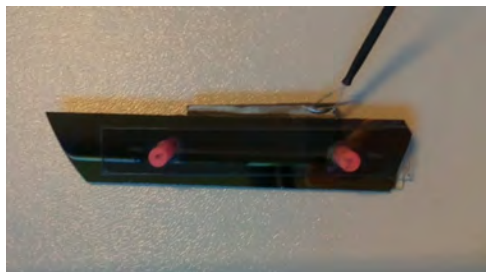


Figure 4. Chip 1, in which one can definitely see the damage on the right side (broken silicon).

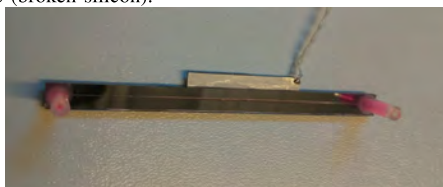


Figure 5. Chip 2, used after the first one could not be used anymore.

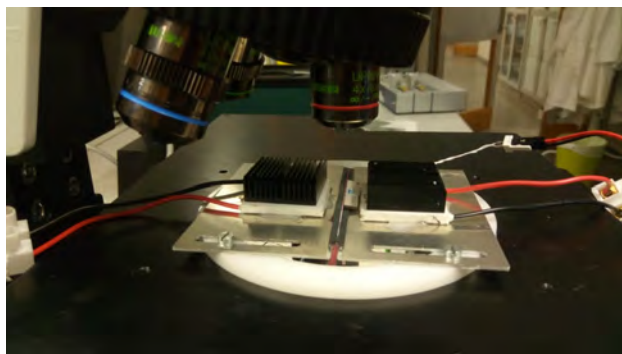


Figure 6. Experimental set up for chip 2, in which the aluminum plates were edged half the thickness ( $500\ \mu\text{m}$ ) for  $1.5\ \text{mm}$  in order to fit the channel, but allows microscope visualization. The two peltier elements (white on the Al plates) allow independent T control.

1) *Chip and holder*: For this project two microchannels (chip 1: BME laboratory, Lund; chip 2: Ångström laboratory, Uppsala) were used, etched in silicon and sealed with glass via anodic bonding (chip 1 channel:  $750\ \mu\text{m}$  width,  $300\ \mu\text{m}$  height,  $3.2\ \text{cm}$  length; chip 2 channel:  $375\ \mu\text{m}$  width,  $300\ \mu\text{m}$  height,  $6.5\ \text{cm}$  length), with silicon tubing attached to inlet and outlet via silicon glue (ELASTOSIL, A07, Wacker, Germany) and a piezoelectric transducer (PZT) (PZ26, Ferroperm Piezoceramics, Denmark) was glued as well (Loctite Bruch-on Super Glue, Henkel Corporation, Connecticut). Among the methods to control the temperature in microfluidic systems [18], the conduction via direct contact was chosen. Considering this, a good interface between the chip and the temperature controlled surfaces is crucial in order to achieve an homogeneous gradient.

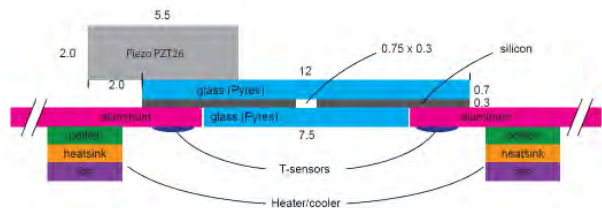


Figure 7. Scheme representing chip 1 and its support system: realizing the supports, the peltier-heatsink-fan complexes were placed on the other side of the plates.

Thus, the system in Fig. 7 was designed; the support was made aluminum for its good conductor characteristics: four plates ( $8.4\text{cm} \times 5\text{cm} \times 0.1\text{cm}$ ), two for each chip, were cut in order to make them slide on the microscope plane and then tailored to specific chip to be able to uphold it, as shown in Fig. 6; on each of these plates, one peltier module (CP393365H, CUI inc.) was attached with thermal paste (High-Density Polysynthetic Silver Thermal Compound, Artic Silver 5, USA) and silicon glue (ELASTOSIL, A07, Wacker, Germany) one one side, while on the other a thermoresistance (Pt1000 NB-PTCO-165, TE connectivity) was attached with rapid glue (Loctite Bruch-on Super Glue, Henkel Corporation, Connecticut) in order to control the temperature at which the aluminum plates were heated by the peltiers. Two peltier controllers (TC0806-RS232, CoolTronic) were used to set the temperature

on each plate, acting as PID controllers and thus adjusting the voltage on the peltier modules depending on the temperature registered by the Pt1000. On the top of each peltier element, an heat sink forced with fan (CEBF0127271803-00, MALICO inc.) was placed.

To power the peltier controllers a triple output DC power supply (HEWLETT PACKARD, E3631A) was used and an AGILENT 33250A was used as waveform generator to activate the PZT. A syringe pump (HARVARD APPARATUS, 98-0532) was used to have controlled flow inside the channels.

2) *Solutions*: To calibrate the temperature control system and to see the effectiveness of heat conduction into the channel, a Rhodamine B (laser grade, 99+%, ACROS organics,  $M_w = 478.68$ ) 0.1 *mMol* solution (RB solution) was used.

For the flow tracking, 5 *mL* of a 0.4% solution of 0.5  $\mu m$  green fluorescent particles (G500, 1% solid, ThermoScientific) was prepared, adding little amount (10  $\mu L$ ) of surfactant (Tween 20) to prevent particles agglomeration.

All the observations were made with an OLYMPUS BX51WI microscope equipped with a XM-10 camera (Olympus), using a mercury lamp (X-Cite, SERIES 120 Q, Lumen Dynamics) to perform fluorescence measurement with two different filters: EtBr for RB (Olympus U-MWIG2; Ex 520-550 *nm*; Em 580 *nm*; Mirror 565 *nm*) and FITC for particles tracking (Olympus U-MNB2; Ex 470-490 *nm*; Em 520 *nm*; Mirror 500 *nm*).

### B. Methods

1) *T calibration*: In order to study the heat conduction efficacy between the aluminum plates and the channel, the RB solution was used to observe the temperature variation; the peltier controllers were set to the same T, and then, after 2 minutes for T stabilization, a fluorescence image was taken. This procedure has been done taking images each 2 *C* in a random sequence for temperature between 20 *C* and 40 *C*. In order to avoid photobleaching, a constant flow of 30  $\mu L/s$  was kept all through the duration of the experiment. The obtained images have been analyzed via ImageJ, extracting the mean intensity value in a channel sector in the center of each image.

2) *Flow tracking*: To obtain the velocity field, the particles were injected in chip 1 and then several sequence of images were taken in each case, after few minutes to obtain stable conditions; the focus plane was moved for each situation in the bottom, the middle and the top of the channel, taking frames with 100 *ms* exposition time and 200 *ms* between each image.

First it was applied just the T gradient, with the hot wall steady at 38°C and the cold one at 23°C.

Secondly, just the piezo was activated with voltage 10 V peak-to-peak, a frequency of roughly 1 *MHz* (994 *kHz*) and a linear sweep with 10 *kHz* span and 2 *ms* duration. Eventually the two phenomena (T gradient and acoustic waves) were combined with the same parameters stated above.

The obtained images were processed via ImageJ, using the Particle Image Velocimetry (PIV) plug-in, with 2 subsequent analysis: the first one with a square interrogation window of 128 pixels and the second one with a 64x64 one.

## III. RESULTS AND DISCUSSION

### A. T calibration

The support revealed itself to be effective in the heat transfer from and to the chips, as shown in the calibration curves in Fig. 8 and 9. As previously stated, the temperature was the same on both the aluminum plates and it was held constant for a period of time before acquiring the RB intensity value. Doing so, the assumption made was that the temperature wouldn't depend no more on the distance from the walls, especially considering the higher heat conduction of aluminum ( $K_{Al} = 237 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ ) and silicon ( $K_{Si} = 149 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ ), compared to the one for glass ( $K_{glass} = 1.05 \text{ Wm}^{-1}\text{K}^{-1}$ ). The temperature determination is particularly important in this project because it would affect the overall fluid inside the channel: precise and uniform temperature results crucial to generate a constant gradient across the acoustic cavity. Especially for chip 2 (Fig. 9), more data has to be gathered in order to obtain more reliable curves, while for chip 1 two sets of measurements seem to be enough to obtain the linear relationship that one would expect for Rhodamine B [19].

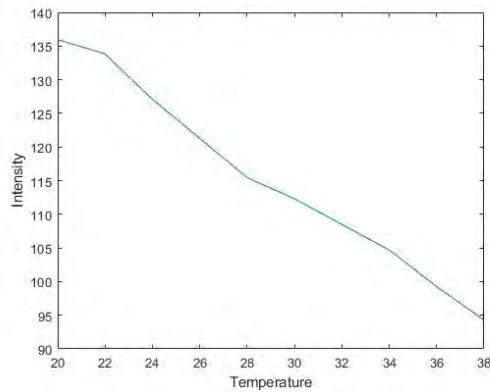


Figure 8. T calibration curve for chip 1, with temperature (from 20°C till 38°C) on the x-axis and the intensity value on the y one.

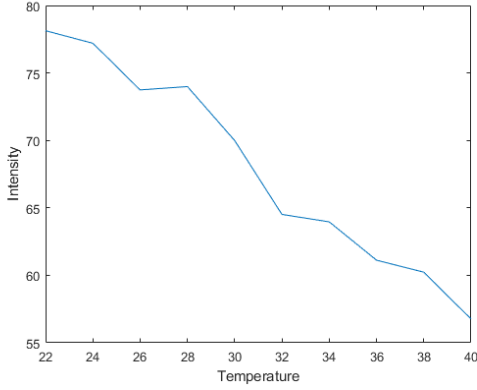


Figure 9. T calibration curve for chip 2, with temperature (from 22°C till 40°C) on the x-axis and the intensity value on the y one.

From definitive data, the channel temperature could be estimated using Eq. 8, in which  $I$  represents the intensity normalized with the background and  $T$  is the temperature (*low* and *high* states the lower and upper boundary of the calibration, respectively).

$$T_x = T_{low} + \frac{I_x - I_{low}}{I_{high} - I_{low}} * (T_{high} - T_{low}) \quad (8)$$

Doing so, in future works it will be possible to process every pixel of channel (containing RB) images with the steady temperature gradient, thus creating a temperature field. This process has not been done for the present work due to a lack of time and some problems with the microscope, but it will be a crucial part for future developments.

### B. Flow tracking

The flow tracking data could be gathered for chip 1 only while, after this one was damaged, there was not enough time to observe the phenomena in chip 2 as well. In order to observe the fluid streaming, sequences of images were taken at three focal levels (bottom, middle and top of the channel), for each of the three different phenomena, i.e. just temperature gradient, just acoustic stimulation and the two combined.

In Fig. 10, on the left image, one can observe the theorized behaviour (Comsol simulation) in the cross section (38°C wall on the right, 23°C wall on the left), with the gravity convection due to the temperature gradient. Looking at the right images, one can see that the velocity fields as viewed from above agree with the simulated behaviour (the middle plane PIV analysis got a sliding towards right possibly due to the fact that the flow was not fully stopped and, being pressure-driven and thus with parabolic profile, it was noticeable in the middle of the channel).

In Fig. 11 there is the same disposition of images: on the left there is the simulated behaviour (Comsol), while on the right the plane-by-plane results of the PIV analysis. In this case as well, there is an agreement between the expected and observed streaming: the rolls, symmetric both with respect the middle y axis and with the middle z one, can be identified

in the three focal images.

The last experiment results, combining T gradient and PZT activation, is shown in Fig. 12. First of all, it must be pointed out that the interaction between these two phenomena seems to greatly affect the streaming: as a quick visual comparing with Fig. 11 can show, the same acoustic field does not generate the same effects (the four theorized acoustic rolls of Fig. 2) in the channel cross-section. As one can see from the PIV analysis (Fig. 12), there are some rolls in the  $xy$  plane, here called “thermal-acoustic convection vortices”, which weren’t expected: this may be due to the non uniformity of the acoustic field along the channel length that is exacerbated by the thermal gradient. These vortices affect a lot the flow, hence making impossible to distinguish its characteristics in the cross-section. Furthermore, the Comsol simulation itself is less reliable in this last case, considering that the physics of this phenomenon has not been exhaustively studied yet and thus it is merely based on the superposition of the effects of the previous two simulation (from Fig. 11 and 10).

According to the simulations and the energies involved, one would have expected an acoustic streaming dominating the flow, with the temperature gradient induced gravity roll being less present. The chip 1, used to get the image sequences for the PIV analysis, may have been damaged or have some flaws that would make the acoustic field less powerful. Further work with new and simpler designed chips are needed to get more information and an acoustic field intensity that agrees more with the theorized one.

## IV. CONCLUSIONS

This work has proven that heat conduction is a effective method to have controlled temperature across a microfluidic channel; anyway, the uniformity and the distribution of the gradient need indeed further evaluations, as stated in section III.A (Eq. 8). The results we have obtained confirm the assumptions made and the literature studies about both convection and acoustic streaming. Regarding the interaction between the temperature gradient and the PZT activation of the channel, there weren’t sufficient data to drive definite conclusions, but these preliminary results give a clear indication that this phenomena together are worth further investigation.

No papers have been published so far on the combination of temperature gradient and acoustic waves in microchannels and the protocol used in this exploratory study needs to be refined. Using less concentrated particles solutions, as well as different sizes, could improve the experiments, while other methods, t. ex. General Defocusing Particle Tracking (GDPT) [20], can be used for more detailed analysis of the data.

## ACKNOWLEDGMENT

I would love to thank Per Augustsson, supervisor of this project, and all his group for teaching me all I need to know for my work, from the basis of soldering, to high concepts about acoustofluidics. An huge acknowledgment also to the whole BME department at LTH.

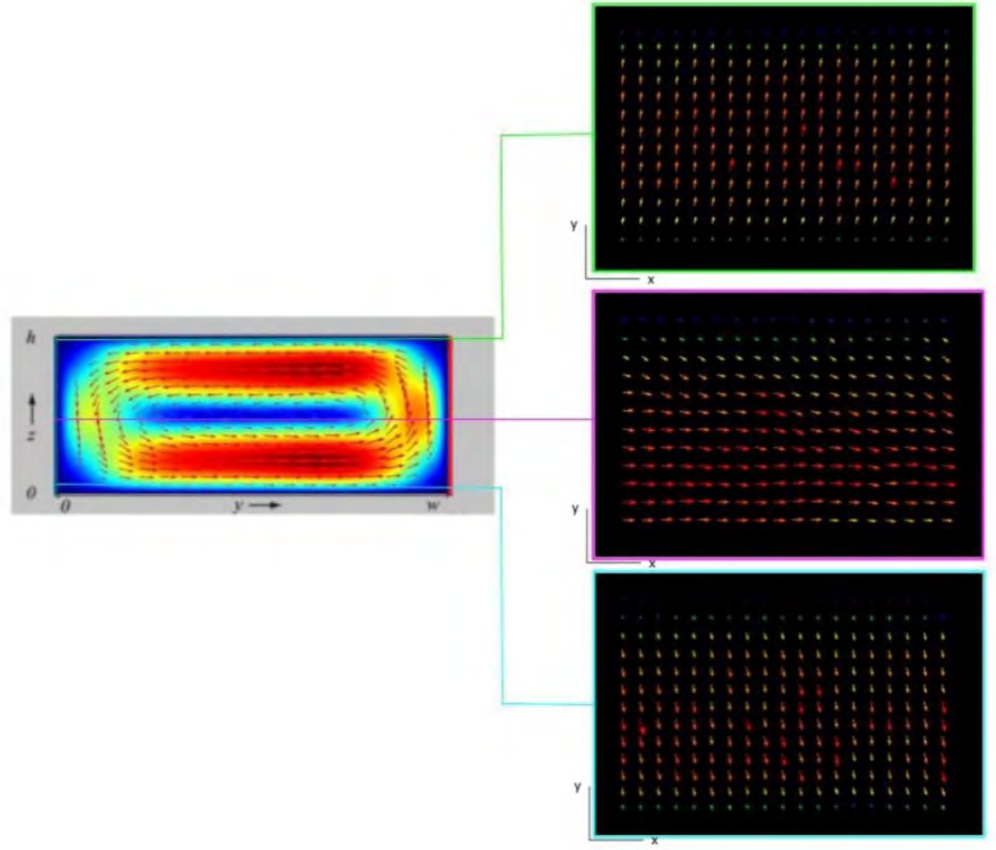


Figure 10. Just temperature gradient ( $T = 15^\circ\text{C}$ ) applied: theoretical behaviour in the cross section on the left ( $yz$  plane), while on the right there are the respective images in the focal planes ( $xy$  plane). The reference system is the same as in Fig. 3, while the arrow colours go from blue (weakest) to red (strongest).

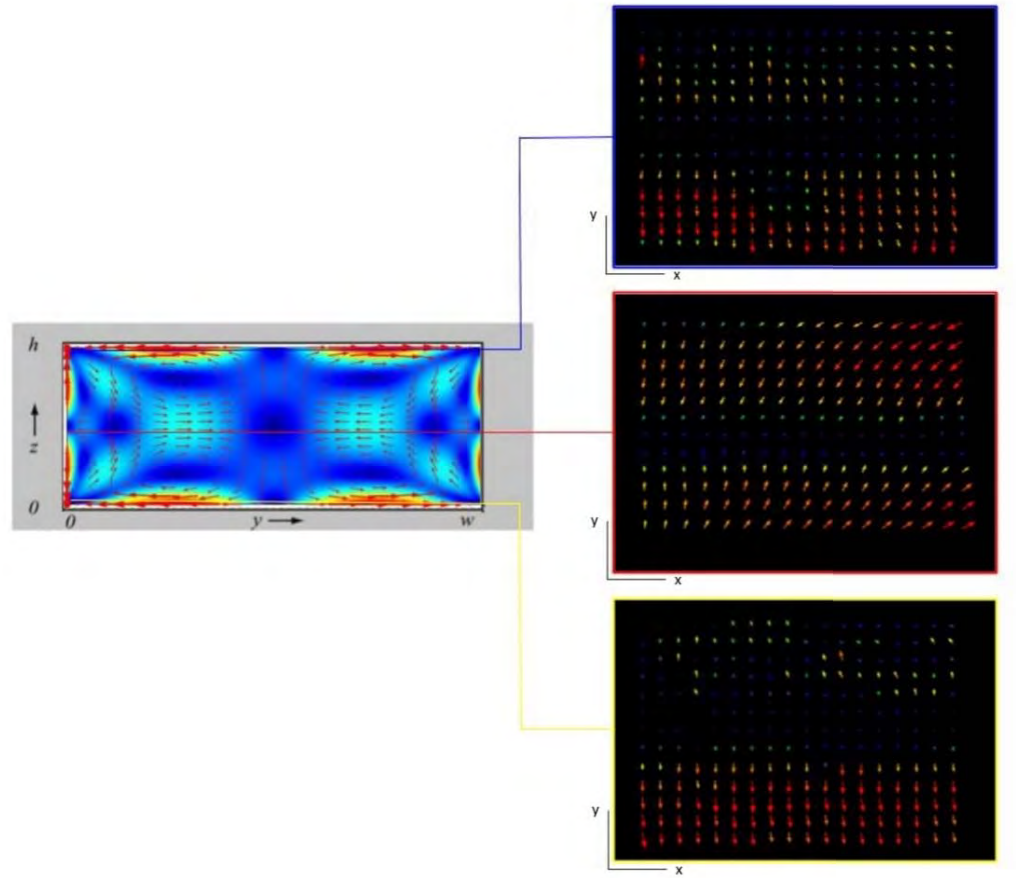


Figure 11. Just acoustic wave applied: theoretical behaviour in the cross section on the left ( $yz$  plane), while on the right there are the respective images in the focal planes ( $xy$  plane). The reference system is the same as in Fig. 3, while the arrow colours go from blue (weakest) to red (strongest).

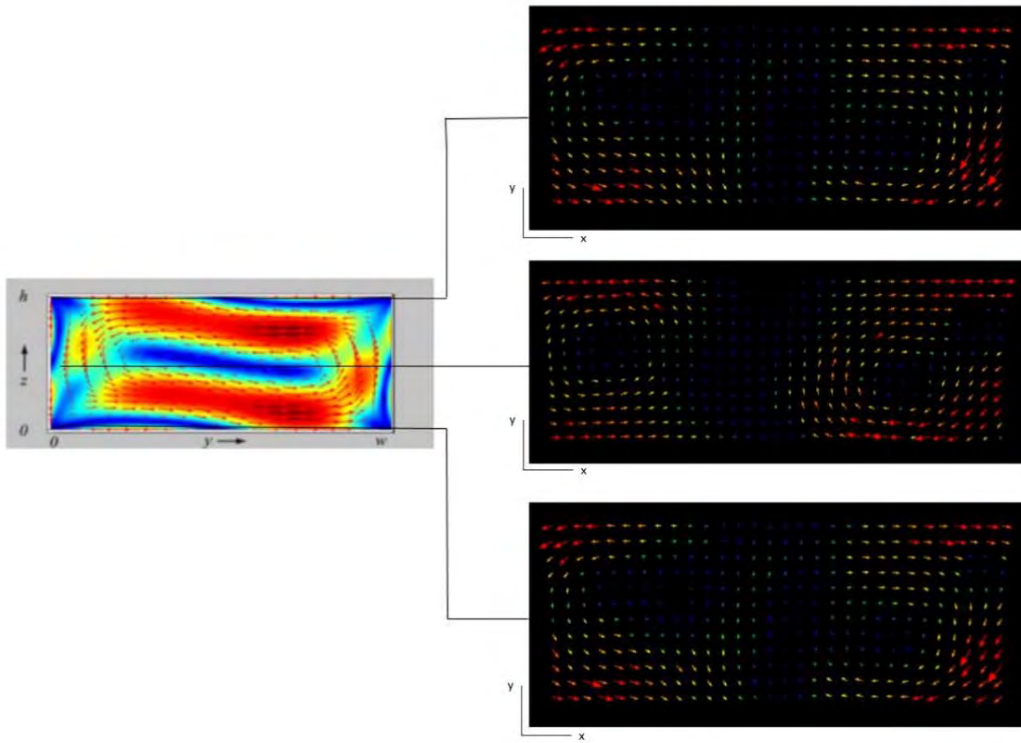


Figure 12. Both temperature gradient ( $T = 15^\circ\text{C}$ ) and acoustic wave applied: theoretical behaviour in the cross section on the left ( $yz$  plane), while on the right there are the respective images in the focal planes ( $xy$  plane). Particular interesting are the vortexes on the side of the right images: they have the same direction independently on the  $z$ -coordinate, which can greatly affect the PIV analysis goodness. The reference system is the same as in Fig. 3, while the arrow colours go from blue (weakest) to red (strongest).

## REFERENCES

- [1] Qui et al., *Lab Chip*, 2010, 10, 3170-3177.
- [2] Laval et al., *Lab Chip*, 2007, 7, 829-834.
- [3] Han et al., *Lab Chip*, 2010, 10, 2605-2613.
- [4] Huang et al., *Science*, 2004, 304, 5673, 987-990.
- [5] Lay et al., *Lab Chip*, 2008, 8, 830-833.
- [6] Bhattacharya et al., *Lab Chip*, 2008, 8, 1130-1136.
- [7] Lenshof and Laurell, *Technology Review*, 2011, 16, 443-449.
- [8] Augustsson et al., *Microchim Acta*, 2009, 164, 269-277.
- [9] Muller et al., *Physical Review*, 2013, 88, 023006.
- [10] Laurell et al., *Chemical Society Reviews*, 2007, 36, 492,506.
- [11] Weiser et al., *Acustica*, 1984, 56, 114-119.
- [12] Schlichting, *Physikalische Zeit*, 1932, 33, 327-335.
- [13] Augustsson, *Doctoral thesis*, 2011.
- [14] Lord Rayleigh, *Phil Trans R Soc London*, 1884, 175, 1-21.
- [15] Hammarström et al., *Lab Chip*, 2012, 12, 4296-4304.
- [16] Contreras-Naranjo et al., *Lab Chip*, 2017, 17, 3558-3577.
- [17] Karlsen et al., *Physical Review*, 2018, 120, 054501.
- [18] Miralles et al., *Diagnostics*, 2013, 3, 33-67.
- [19] Evander et al., *Anal. Chem*, 2007, 79, 2984-2991.
- [20] R. Barnkob et al., *Lab on a Chip*, 2015, 15, 35563560.

# Mobil Röntgen

Caroline Kattrup Frostemark (BME-14)

**Sammanfattning**—Med inspiration hämtad från Norge var Skånes Universitetssjukhus först i Sverige med att erbjuda mobil röntgen. Den mobila röntgenverksamheten har erbjudits på äldreboenden sedan år 2008 och har visat sig ge positiva effekter för patient och boendepersonal och även vara ekonomiskt lönsamt ur ett hälsovårds- och samhällsperspektiv. I hopp om att underlätta arbetet för röntgenpersonalen efterfrågas en utrustning av lägre vikt och annan strömförsörjning. En framtida användning av mobil röntgen i ambulanser kan även vara önskvärt.

I föreliggande litteraturstudie undersöks främst utbudet av högspänningsgeneratorer, med utgångspunkt inom veterinärområdet. Högspänningsgeneratoren Gierth TR90/30, som används idag av veterinärer har en så låg vikt att den är bärbar. Dock kan denna generator inte generera tillräckligt hög rörspänning för aktuella undersökningar inom den mobila röntgenverksamheten och den är inte heller utrustad med en DAP-meter.

Av samma tillverkare finns däremot en högspänningsgenerator, Gierth 400ML, som kan leverera tillräckligt hög rörspänning och rörladdning och det bör också vara möjligt att på denna generator fästa en separat DAP-meter. Vikten på denna generator är högre än för Gierth TR90/30, men den är fortfarande så låg att den, enligt Arbetsmiljöverkets riktlinjer, kan lyftas vid enstaka tillfällen. Dessutom strömförses Gierth 400ML via enfasuttag, vilket är det sätt som efterfrågas.

Slutsats för föreliggande studie är därför att en upphandling av utrustning med en lägre vikt och bättre strömförsörjning för den mobila röntgenverksamheten vid Skånes Universitetssjukhus, är möjlig. Inköp av sådan utrustning skulle innebära ökad trygghet för patienten, mindre icke vårdrelaterat arbete för boendepersonal, besparingar för samhället, såväl som för Skånes Universitetssjukhus och dessutom underlätta arbetet för röntgenpersonalen i den mobila röntgenverksamheten.

## I. INTRODUKTION

Två studier för röntgenundersökningar med mobil röntgen på äldreboenden har utförts i Lund och kringliggande kommuner. Den första studien avsåg att avgöra nyttan med röntgenundersökningar utförda på äldreboenden ur patienternas och personalens perspektiv och utvärderades genom frågeformulär [1]. Den andra studien avsåg att jämföra kostnader för en röntgenundersökning utförd med mobil röntgen på äldreboenden jämfört med en röntgenundersökning utförd på sjukhus med sedvanlig utrustning [2].

Data som samlades in via frågeformulär besvarade av röntgenpersonalen behandlade frågor om typ av röntgenundersökning, bildkvalitet och huruvida röntgenundersökningen bekräftade att patienten behövde sjukhusvård, vård lokalt i kommunen eller ingen vård alls. Frågeformulär besvarade av patienterna avsåg ge svar på hur patienten upplevde en mobil röntgenundersökning, eventuellt

i jämförelse med röntgenundersökning utförd på sjukhus. Data som samlades in via frågeformulär besvarade av personal vid äldreboendena innehöll total tid som patienterna vanligtvis var frånvarande från äldreboendet i de fall de röntgades på sjukhus, om personalen eller närstående i dessa fall behövde ledsaga patienten och hur de upplevde röntgenundersökningarna utförda på äldreboendet.

Svar från patienter och personal visade på en positiv upplevelse av den mobila röntgenverksamheten. Andel sjukresor där personalen ledsagade patienten var 38 %, motsvarande siffra för då patienten blev ledsagd av närstående var 42 % [9]. Uppskattad tid för frånvaro från äldreboendet för en röntgenundersökning på sjukhus var i snitt 4,6 timmar för personalen och 4,4 timmar för patienten, vilket kan jämföras med medeltiden för undersökning med mobil röntgen som var 2,2 timmar.

Svar från röntgenpersonal visade på att den vanligast förekommande undersökningen med mobil röntgen var av höft/bäcken, 37 % av undersökningarna var av övriga muskuloskeletala systemet, 4 % av bröstorg och resterande 3 % var undersökning av buk. Undersökningarna bekräftade att 12 av de totalt 123 undersökta patienterna behövde sjukhusvård och att 22 av patienterna kunde behandlas lokalt i kommunen. De övriga 89 patienterna behövde ingen vård alls. Enbart i ett av de 123 fallen behövde patienten röntgas om på sjukhus till följd av underkänd bildkvalitet [1].

I studien som avsåg kostnadsjämförelser jämfördes 312 stycken undersökningar med mobil röntgen med 97 stycken undersökningar på sjukhus med sedvanlig utrustning. Studien visade på en skillnad i kostnad på 127 EUR respektive 197 EUR per röntgenundersökning ur ett hälsovårds- respektive samhällsperspektiv till fördel för undersökningarna utförda med mobil röntgen. Detta kan sättas i relation till att en undersökning, med sedvanlig röntgenutrustning på sjukhus, i genomsnitt kostade 253 EUR respektive 338 EUR ur ett hälsovårds- respektive samhällsperspektiv [2].

Användandet av mobil röntgenutrustning har alltså visat sig ge en bra upplevelse för patienten och ha goda positiva effekter ur personalens perspektiv. Det har även visat sig ha potential ur ett ekonomiskt perspektiv, med möjlighet till besparingar både ur ett hälsovårdsperspektiv så väl som ur ett samhällsekonomiskt perspektiv. Därtill har man även kunnat konstatera att bildkvalitet och bildöverföring till sjukhus för diagnostik är på godkänd nivå.

Det finns dock utmaningar med den utrustning som hittills använts vid Skånes Universitetssjukhus för mobil röntgen, se figur 1. Vikten på utrustningen och även den strömförsörjning som krävs försvårar användningen. Det är därför önskvärt med en lägre vikt och en annan typ av strömförsörjning.

I nuläget är den sammanlagda vikten för utrustningen är ca 90 kg, vilket gör att utrustningen kräver hiss eller

Inlämnat den 12 juni 2019

Emejladress: {caroline.frostemark.505@student.lu.se}

Teknisk handledare: Josefin Starkhammar, Lunds Tekniska Högskola

Klinisk handledare: Bodil Ivarsson, Region Skåne

trappklättrare för att förflyttas mellan våningsplan och för att förflyttas in och ut ur fordonet som transporterar utrustningen mellan sjukhus och undersökningslokalen. Detta gör dessutom att det krävs ett speciellt fordon att transportera utrustningen i och det förlänger också den totala tiden för en mobil röntgenundersökning. I framtiden skulle det eventuellt även kunna vara intressant att kunna transportera den mobila röntgenutrustningen i ambulanser av olika slag, vilket den höga vikten omöjliggör.



Figur 1. Utrustning som används idag; Canon DR CXDI-50G digital detektor, Sedecal Mobile Dragon radiografenhet och Radpro generator.

Även strömförsörjningen utgör en utmaning. Den nuvarande lösningen är inte optimal, då den innebär att utrustningen behöver kopplas in via ett trefasuttag, något som normalt sätt inte finns lättillgängligt i bostäder eller på äldreboenden. Dessutom omöjliggör denna typ av strömförsörjning också användning av mobil röntgen i ambulanser [3].

Det finns utrustning som strömförses via enfasuttag, dock används denna sortens utrustning enbart för mobil röntgen inne på sjukhusen, då patienten av olika anledningar inte kan förflyttas till röntgenkliniken från en annan klinik. Röntgenutrustning som har så låg vikt att den är bärbar, finns inte tillgänglig för användning på människor, som det ser ut idag. Det finns däremot bärbar mobil röntgenutrustning som är avsedd att användas på djur och denna sortens utrustning har, av veterinär Ursula Palm [4], använts i Sverige sedan år 2005, se figur 2.

Mobil röntgenverksamhet på djur är mycket användbar, framför allt på hästar, då det kan vara komplicerat att transportera en häst, särskilt om denna har ett benbrott. Utrustningen som används av veterinärer idag strömförses via enfasuttag och väger ca 20 kg sammanlagt, vilket gör den bärbar och lätt att koppla in i en bostad och det finns även röntgenutrustning som är batteridrivna. Det finns flera orsaker till att denna utrustning inte används på människor och jag kommer i denna rapport att framföra möjliga lösningar på hur veterinär- och humanvård kan sammanföras.

Denna uppsats inleds med **Metod** som beskriver aktuella utmaningar med den utrustning som i dag används i den mobila röntgenverksamheten och tillvägagångssätt för undersökningen. I **Resultat** förklaras krav och lösningar på olika parametrar för utrustningen och i **Diskussion** diskuteras slutsatsen av undersökningen samt hållbar utveckling och etik.

## II. METOD

Projektet inleddes med ett möte med idégivaren och forskningschefen Bodil Ivarsson, Medicinsk serviceförvaltning, Region Skåne [3]. Samtal under detta möte i kombination med artiklar från gjorda studier [1] [2], visade på en stor möjlighet för en bättre sjukvårdsupplevelse för de aktuella patienterna. De visade också på möjligheter till besparingar ur ett samhälls- och hälsovårdsperspektiv, men även ett behov av en mobil röntgenutrustning med lägre vikt och smidigare strömförsörjning.

Genom mötet med Bodil knöts även kontakt med före detta röntgensjuksköterska Karin Eklund [5] och röntgensjuksköterska Agne Persson [6]. Eklund är medförfattare till de gjorda studierna och har bidragit med insamlad data för dessa och har under arbetets gång fungerat som rådgivare. Persson har bidragit med information om parametervärden för utförda undersökningar med den nuvarande utrustningen för mobil röntgen.

Röntgensjuksköterska Ali Azimi [7] har bidragit med allmän information om den nuvarande utrustningen och verksamheten för den mobila röntgenverksamheten vid SUS.

För att få en djupare förståelse om fysiken bakom en röntgenundersökning lästes dokumenten "Teknik, Fysik och Strålsäkerhet i Röntgendiagnostik" [8]. Kompletterande och fördjupande kunskap inom ämnet gavs av universitetslektor Lena Jönsson [9]. Lena förklarade också olika tekniska begrepp och vad olika parametrar vid en röntgenundersökning har för betydelse för bildgivning och stråldos.

På grund av egen kännedom fanns tidigt tankar kring eventuella möjligheter att anpassa veterinärutrustning så att denna skulle kunna användas för undersökningar av människor. Nästa steg i processen var därför ett telefonmöte med veterinär Ursula Palm [4]. Palm bidrog med information om den utrustning hon använder sig av och namngav även återförsäljare av utrustningen.

I Sverige finns en återförsäljare, Medivet Scandinavian AB, av mobil röntgenutrustning för veterinärer. Utrustningen är av tyska märket Gierth som tillverkar röntgenutrustning avsedd för djur, såsom häst, hund och katt. I Medivets utbud finns röntgenutrustning som strömförses via enfasuttag och även

via uppladdningsbart batteri [10]. Under arbetets gång bidrog ingenjör Torbjörn Hallenheim [11], som är grundare och ägare av Medivet Scandinavian AB, med information och tankar kring skillnader mellan röntgenutrustning avsedd för djur och människor.

Även sjukhusfysiker Kristina Ydström [12] på SUS bidrog med information kring skillnader i utrustning. Hon förklarade olika tekniska begrepp inom röntgen. Ydström gav även information om stråldosberäkning och strålskydd.

Roger Svensson [13] på SUS bidrog med information om hur man går tillväga vid en inköpsprocess och hur en kravspecifikation skrivs. Svensson förklarade de olika stegen i en inköpsprocess och i sammansättningen av en kravspecifikation. Han bidrog också med ett exempel för hur en kravspecifikation kan se ut.

För att få en förståelse avseende strålskydd för veterinärer och djur respektive sjukvårdspersonal och en mänsklig patient lästes föreskrifter författade av Strålsäkerhetsmyndigheten [14] [15]. Information och förtydligande inom detta område erhöles även från inspektör vid medicinska bestrålningar Carl Bladh [16] på Strålsäkerhetsmyndigheten.

### III. RESULTAT

#### A. Strålskydd

Enligt dokument författade av Strålsäkerhetsmyndigheten, SSM, samt information från Carl Bladh [16] finns det inga skillnader angående regler och föreskrifter gällande sjukvårdspersonal jämfört med veterinärpersonal. För båda yrkesgrupperna gäller en accepterad dos för hela kroppen av högst 20 mSv per år och för de som utsätts för en stråldos mellan 6-20 mSv per år finns dessutom särskilda regler [14] [15].

I de fall SSM anser att det är nödvändigt skall persondosimeter bäras av personal som utför och assisterar vid röntgenundersökningar, oavsett om undersökningen görs på ett djur eller människa och oavsett om undersökningen utförs på sjukhus, klinik eller ute i fält. Denna personal skall även bära lämplig skyddsutrustning och ha rätt kompetens och avvikelser gällande strålning skall dokumenteras och eventuellt anmälas.

Det finns föreskrifter om hur strålskyddet skall vara utformat och användas av eventuella närstående eller ledsagare till patienten. Även dessa föreskrifter är samma oavsett om patienten är en människa eller ett djur. Att kraven följs kontrolleras av SSM både på veterinär- som humanvårdssidan. För verksamheter som innehar, förvärvar, använder, överlåter eller upplåter röntgenutrustning för röntgendiagnostik råder anmälningsplikt, oavsett om verksamheten är avsedd för diagnostik av människor eller djur [17].

Olikheterna mellan veterinär- och humanvårdssidan ligger alltså inte i mängden primär eller sekundär strålning som personal och eventuella närstående eller ledsagare utsätts för. Skillnaden ligger i den mängd primär och sekundär strålning som patienten, människa eller djur, utsätts för. För denna mängd strålning finns det skillnader i regelverk och föreskrifter, utefter om patienten är ett djur eller en människa.

#### B. DAP-meter

Patientstråldosen, alltså den faktiska absorberade strålningens energi i patienten, är inte mätbar. I stället är det strålningen som lämnar röntgengeneratoren och som patienten bestrålas med multiplicerat med arean, som mäts eller beräknas. Detta görs med hjälp av en så kallad DAP-meter.

DAP står för dose area product [ $Gym^2$ ] och med hjälp av DAP-metern kan man uppskatta patientstråldosen genom att använda en konversionsfaktor [ $mSvGym^2$ ] som är beroende av vilken del av kroppen som bestrålas. Vid röntgenundersökningar av människor är det ett krav från Strålsäkerhetsmyndigheten att utrustningen anger DAP-värdet och en delmängd av uppmätta eller beräknade DAP-värden skall dessutom rapporteras till SSM minst var tredje år [9]. Vid röntgenundersökning av djur finns inget krav på att utrustningen skall vara utrustad med en DAP-meter och de produkter som säljs av Medivet Scandinavian AB är, enligt Hallenheim [11], inte utrustade med en sådan.

En DAP-meter kan vara utformad på två olika sätt. Den kan vara integrerad i röntgenutrustningen, men den kan också vara utformad som en separat mätutrustning som sätts utanpå generatoren på röntgenutrustningen, enligt Lena [9]. För generatoren Gierth HF400ML är det den sistnämnda utformningen som är aktuell.

#### C. Exponeringsautomatik

Exponeringsautomatik brukar förkortas AEC, som står för Automatic Exposure Control. I de fall röntgenutrustningen är försedd med exponeringsautomatik kan den, enligt universitetslektor Lena Jönsson [9], vara integrerat med den bildgivande detektorn och bestå av en jonkammare. När tillräcklig mängd strålning, som motsvarar en önskad brusnivå i bilden, passerat jonkammaren avbryts exponeringen automatiskt av exponeringsautomatiken.

Jönsson förklarar vidare att exponeringsautomatik alltså ökar sannolikheten att inte bestråla patienten med en högre stråldos än nödvändigt för önskad bildkvalitet. Röntgenutrustningen som hittills använts inom den mobila röntgenverksamheten vid Skånes Universitetssjukhus är dock inte, enligt Jönsson, utrustad med AEC. Däremot finns det bildgivande detektorsystem avsedda för veterinärt bruk, vilka är utrustade med AEC.

#### D. Rörspänning

Röntgenutrustning kan, i grova drag, delas upp i fyra olika komponenter; kontrollpanel, högspänningsgenerator, röntgenrör och en bildgivande detektor. Kontrollpanelen möjliggör användarinställningar och högspänningsgeneratoren förser röntgenröret med spänningar och strömmar. Den bildgivande detektorn registrerar och återger röntgenstrålningen i synlig form och röntgenröret är den komponent som genererar själva röntgenstrålningen.

Röntgenröret består i sin tur av ett lufttomt rör innehållandes en katod och en anod. När katoden upphetas med hjälp av en kraftig elektrisk ström avges fria elektroner från katoden. Läggs det sedan en hög positiv elektrisk spänning

över anoden kommer detta leda till att elektronerna attraheras av anoden. Den elektriska spänningen gör att elektronerna kommer accelereras och förflyttas med hög hastighet mot anoden. När de accelererade elektronerna når anoden överförs deras rörelseenergi till anoden. Energin sänds då ut som röntgenstrålning i form av fotoner.

Den pålagda elektriska spänningen kallas rörspänning. Storleken på denna bestäms av användaren utifrån patientstorlek och vilken del av kroppen som undersökningen avser. I de flesta medicinska sammanhang används en rörspänning i storleksordningen 25-150 kV.

Om ingen annan parameter i röntgenutrustningen ändras kommer en ökad rörspänning att ge en ökad patientstråldos och även en ökad dos till röntgenpersonal, eventuella närstående och ledsagare. Detta gör att det strävas efter att använda en så låg rörspänning som möjligt. Dock kräver vissa organ eller delar av kroppen en högre rörspänning.

Lunga är ett organ som vid en röntgenundersökning generellt kräver att en högre rörspänning används. Detta på grund av att lungorna ligger relativt djupt i människokroppen och för att de innehåller mycket luft, som dämpar röntgenstrålningen. Rörspänningen behöver därför vara relativt hög för att tillräckligt mycket strålning skall ta sig igenom patienten och vidare till den bildgivande detektorn och därmed ge en bra bild [8].

Högspänningsgeneratorerna som veterinär Palm [4] använder sig av har maximala rörspänningar på 80 kV respektive 90 kV. En rörspänning på 90 kV skulle inte ge en tillräckligt bra bild vid en röntgenundersökning av mänskliga lungor. Enligt röntgensjuksköterska Agne Persson [6] används en rörspänning om 115 kV vid undersökning av lungor med den mobila röntgenutrustningen.

I Medivets utbud finns en högspänningsgenerator, Gierth HF400ML, med en maximal rörspänning på 120 kV [10]. Denna högspänningsgenerator skulle alltså, i teorin, kunna användas för röntgenundersökning av lungor på människor i den mobila röntgenverksamheten. Detta gör att Gierth HF400ML, i teorin, skulle kunna användas för alla aktuella röntgenundersökningar i den mobila röntgenverksamheten, då övriga organ generellt inte kräver högre rörspänning.

Utöver att maximal rörspänning behöver vara tillräckligt hög behöver rörspänningen kunna väljas över en tillräckligt liten skala per steg. Detta för att med så hög precision som möjligt kunna justera rörspänningen så att stråldosen hålls så låg som möjligt, samtidigt som den resulterande röntgenbilden blir av tillräckligt hög kvalitet. Enligt universitetslektor Jönsson [9] ger en skala om 2 kV per steg möjlighet att välja rörspänning med tillräckligt hög precision vid röntgenundersökning av människa.

Rörspänningen kan väljas i en skala om 1 kV per steg för den batteridrivna generatoren Poskom VET-20BT. För generatoren Gierth HF400ML kan rörspänningen väljas i en skala om 2 kV per steg. Användning av nämnda generatorer vid röntgenundersökning av människor skulle alltså ge användaren möjlighet att välja rörspänning med tillräckligt hög precision.



Figur 2. Föreslagen högspänningsgenerator; Gierth HF400ML [10]

### E. Röström och rörladdning

Röström och rörladdning är parametrar som påverkar stråldosen. Röström anges i enheten mA, alltså milli-Ampere, vilket anger elektronströmmen mellan katod och elektrod i röntgenröret. Rörladdning anges i enheten mAs, alltså milli-Ampere-sekund och anger hur många elektroner som totalt accelereras under exponeringen. Ju högre mAs som används under en undersökning, desto högre blir stråldosen. Samtidigt måste rörladdningen vara så hög att det ger en tillräckligt hög bildkvalitet [8].

Ett för lågt värde på rörladdningen kan ge kvantbrus och låg spatiell upplösning i bilden. Ett för högt värde på rörladdningen ger en onödigt hög stråldos och om det är exponeringstiden som ökas ger det dessutom en högre risk för rörelseoskärpa. Detta gör att utrustningen måste vara konstruerad så att en optimal kombination av rörspänning och röström/rörladdning kan väljas av användaren [9].

För Gierth HF400ML är följande kombinationer av rörspänning och maximal röström möjlig [10]:

| Rörspänning | Maximal röström |
|-------------|-----------------|
| 40-50 kV    | 100 mA          |
| 52-60 kV    | 80 mA           |
| 62-80 kV    | 70 mA           |
| 82-100 kV   | 60 mA           |
| 102-120 kV  | 40 mA           |

Enligt röntgensjuksköterska Ali Azimi [7] bör denna kombination vara tillräcklig för de undersökningar som görs inom den mobila röntgenverksamheten.

### F. Vikt

Högspänningsgeneratoren Gierth HF400ML väger 21.5 kg, vilket kan jämföras med de generatorer, Gierth TR90/30 samt Gierth HF80/20, som veterinär Palm [4] använder sig av, som väger 6.5 kg [10]. Men det skall också hållas i åtanke att en röntgenutrustning innehåller mer än enbart en

högspänningsgenerator. Den, i avsnitt **Introduktion** nämnda siffran 20 kg, syftar till den sammanlagda vikten för hela utrustningen inklusive generator, strålskydd, bildbehandlings-apparat och så vidare.

Det finns broschyrer och föreskrifter om belastningsergonomi som är utarbetade av Arbetsmiljöverket. I broschyren 'Bedöm risker vid manuell hantering - lyfta/bära (ADI 627)' kan en bedömning av risk för överbelastning av muskler och benstomme göras utifrån olika faktorer [18]. Arbetsmiljöverket har satt två olika tyngdgränser för tunga lyft, där den ena tyngdgränsen berör enstaka lyft och den andra berör lyft i det dagliga arbetet.

På Arbetsmiljöverkets hemsida finns följande att läsa;

*"Manuella lyft av bördor som väger över 25 kg skall normalt inte förekomma. Ett enstaka lyft på 25 kg kan göras om arbetsställningen är bra och bördan hålls nära kroppen. I det dagliga arbetet är det inte alltid lätt att hålla bördan nära kroppen och lyften blir ofta fler, då är det olämpligt att hantera bördor som är tyngre än 15 kg.*

*För att bedöma risken med ett lyft måste hänsyn tas till bördans vikt och avstånd till bördan. Hur ofta lyften förekommer och hur länge lyftarbetet pågår under arbetsdagen är också faktorer att ta med i bedömningen. För att undvika tunga lyft kan man ha rullande hantering eller använda tekniska hjälpmedel."* [19]

En vikt på 21.5 kg, som i fallet med Gierth HF400ML, skulle därmed eventuellt behöva hanteras med hjälp av något slags hjälpmedel. Vikten utgör dock inte en så hög risk för överbelastning att den inte alls bör förekomma.

#### G. Strömförsörjning

Tidigare nämnda Gierth HF400ML strömförses via enfasuttag, vilket är vad som efterfrågas för den mobila röntgenverksamhet som finns idag. För en eventuellt framtida mobil röntgenverksamhet i ambulanser av olika slag krävs, av förklarliga skäl, en utrustning med batteridrift. I Medivets utbud finns en högspänningsgenerator, Poskom VET-20BT, som drivs med batteri, se figur 3.

Poskom VET-20BT väger 7.2 kg och är därför lätthanterlig och kan, ur Arbetsmiljöverkets synvinkel hanteras i det dagliga arbetet utan någon större risk för överbelastning av muskler och benstomme. Den främsta anledningen till att denna generator inte skulle kunna användas i den mobila röntgenverksamhet som finns idag, är att den maximala rörspänningen inte är tillräckligt hög. Maximal rörspänning för Poskom VET-20BT är 90 kV, vilket som nämnts tidigare inte är en tillräckligt hög rörspänning för röntgenundersökning av mänskliga lungor [10].

#### IV. DISKUSSION

Slutsatsen i föreliggande studie är att utrustning, som idag är avsedd att användas för röntgenundersökning av djur, bör kunna användas även för röntgenundersökning av människa. Till exempel kan högspänningsgeneratoren Gierth HF400ML



Figur 3. Föreslagen högspänningsgenerator; Poskom VET-20BT [10]

i kombination med en bildgivande detektor och kontrollpanel vara en möjlig lösning. Denna utrustning bör kunna ge användaren tillräckliga val för inställningar av de olika parametrarna, rörspänning, rörladdning och rörström, nämnda i avsnitt **Resultat**.

Utrustningen bör även uppfylla krav från Strålsäkerhetsmyndigheten eftersom det är möjligt att sätta fast en DAP-meter på generatoren. En extern DAP-meter gör inte heller att vikten på utrustningen ändras avsevärt, då den väger under 1 kg. Möjligheten att integrera en DAP-meter i föreslagen röntgenutrustning bör dock undersökas närmare, då detta alternativ minskar arbetet för användaren. Och det faktum att föreslagen utrustning är utrustad med exponeringsautomatik gör att den rentav har en fördel framför den utrustning som används i dagens läge, sett till stråldos.

Då vikten på de olika delarna av föreslagen utrustning är under 25 kg skulle den, vid de fall det behövs, kunna bäras av röntgenpersonalen i den mobila röntgenverksamheten. Då de flesta flervåningshus i Sverige är utrustade med hiss skall det i de flesta fall inte bli aktuellt att bära utrustningen mellan olika våningsplan. För övrig förflyttning av utrustningen än mellan olika våningsplan är rullande hantering och tekniska hjälpmedel en möjlig lösning.

Vikten på föreslagen utrustningen är hög i jämförelse med den som till exempel veterinär Palm [4] använder sig av, men sett i relation till utrustningen som används i den mobila verksamheten vid SUS, är vikten låg och skulle därmed underlätta handhavandet. Enligt röntgensjuksköterska Ali Azimi [7] skulle den klart lägre vikten på utrustningen eventuellt kunna göra att fler i röntgenpersonalen känner sig bekväma med att jobba i den mobila verksamheten. Detta på grund av att utrustningen då kan transporteras i ett mindre och mer lättmanövrerat fordon.

Ännu en faktor som skulle underlätta handhavandet av utrustningen är att föreslagen utrustning strömförses med

enfasuttag. Detta gör att undersökningslokaliteten, till exempel äldreboenden, inte behöver installera trefasuttag för att göra undersökning med mobil röntgen möjlig.

I framtiden skulle det eventuellt vara önskvärt med mobil röntgenutrustning i ambulanser. Då skulle till exempel generatoren Poskom VET-20BT kunna användas, då den drivs med batteri. Denna generator har inte tillräckligt hög maximal rörspänning för undersökning av lungor om det är en misstänkt sjukdom, till exempel lunginflammation, som skall utredas. Vid röntgenundersökning i ambulans i samband med en olycka av något slag är det dock inte någon sjukdom, utan eventuella benbrott eller dylikt som behöver utredas. Kliniska fynd av denna karaktär kan vara möjlig att se även kring lungorna med den maximala rörspänning som Poskom VET-20BT kan leverera.

Denna undersökning är utförd på relativt kort tid och är avgränsad till svenska återförsäljare. Eftersom att slutsatsen av denna undersökning är att just den föreslagna utrustningen skulle vara möjlig att använda vid undersökningar på människor, anser jag att det visar på att det på marknaden bör finnas utrustning för detta ändamål. Även om det i praktiken inte skulle fungera med någon av i denna uppsats föreslagna utrustningar, är sannolikheten stor att det finns utrustning som skulle uppfylla alla krav hos återförsäljare utanför Sveriges gränser.

Till exempel finns en human version av Gierth HF400ML; Gierth QP400, som har en tillräckligt hög maximal rörspänning och rörladdning. Denna högspänningsgenerator är CE-märkt, uppfyller kraven för MDD<sup>1</sup> och har dessutom en integrerad DAP-meter [20]. Även för Poskom VET-20BT finns en human version; Medical Econet Xprime meX+20BT lite. Denna högspänningsgenerator har, precis som Poskom VET-20BT, en enbart maximal rörspänning på 90 kV, men den är CE-märkt och uppfyller kraven för MDD-direktivet [21]. Dessa två högspänningsgeneratorer kan därför vara alternativ som är intressanta att undersöka närmare.

#### A. Hållbar utveckling

Röntgenutrustning har generellt en lång livslängd. Som ett exempel kan nämnas att den mobila röntgenutrustningen inköpt år 2008 av SUS, nu 11 år senare, fortfarande används. Föreslagna högspänningsgeneratorer i föreliggande uppsats har en uppskattad livslängd på 7-10 år.

Röntgenutrustning kräver inte några förbrukningsvaror. Inte heller vid själva röntgenundersökningen används några förbrukningsvaror. Avseende miljökonsekvenser kräver den mobila röntgenverksamheten drivmedel till transporteringsfordonet men i gengäld kan röntgen i hemmet eller på en olycksplats leda till att patienter och närstående slipper att förflytta sig till sjukvårdsinrättning.

Den mobila röntgenverksamheten är, som den ser ut idag, riktad till en patientgrupp som ofta behöver transporteras med hjälp av sjukresor. Detta innebär att det ofta blir dubbelt så många resor för en röntgenundersökning på sjukhus jämfört med en med mobil röntgen och därmed även krävs mer drivmedel och slitaget ökar.

<sup>1</sup>Medicintekniska direktivet

En nackdel med röntgenundersökningar i allmänhet, och mobil röntgen i synnerhet, är att röntgenstrålning har en negativ påverkan på miljö och människor. Vid undersökningar på sjukhus är undersökningsrummen utformade med extrastrålskydd för att så mycket som möjligt av strålningen skall attenueras och inte nå ut utanför rummet. Vid mobil röntgen är förutsättningarna inte desamma och kan därför ge en större påverkan.

#### B. Etik

Utrustningen måste vara kompatibel med ett PACS<sup>2</sup> och ett RIS<sup>3</sup> som uppfyller de säkerhetskrav som ställs för att upprätthålla patientsäkerheten. Dessutom behöver även krav för GDPR uppfyllas. Denna undersökning har inte behandlat om det är möjligt eller ej.

Överföring av röntgenbilder från den mobila utrustningen till sjukhus för diagnostik uppfyller i dagsläget de säkerhetskrav som ställs för att upprätthålla patientsäkerheten och GDPR. Föreslagen utrustning måste dock också vara kompatibel med denna överföring, vilket denna undersökning inte heller har behandlat.

#### V. SLUTSATSER

Den samlade slutsatsen för denna undersökning är att en upphandling av utrustning med en lägre vikt och bättre strömförsörjning för den mobila röntgenverksamheten vid SUS, är möjlig. Inköp av en sådan utrustning skulle innebära mindre lidande för patienten, underlätta arbetet för röntgenpersonalen och även leda till besparingar för samhället, såväl som för SUS.

#### VI. EFTERORD

Jag vill tacka min handledare Josefin Starkhammar, doktorand vid Avdelningen för Biomedicinsk teknik, och min vägledare Bodil Ivarsson, forskningschef vid Medicin serviceförvaltningen, Region Skåne, för stöttning genom projektet. Jag vill även rikta ett stort tack till Torbjörn Hallenheim, ägare och grundare av Medivet Scandinavian AB, och Lena Jönsson, universitetslektor vid Medicinsk Strålningsfysik, Lund, som get mig värdefull information.

#### REFERENSER

- [1] K. Eklund, M. Geijer, B. Ivarsson, R. Klefsgård (2011). "Positive Experience of a Mobile Radiography Service in Nursing Homes" *Gerontology*. (Online). DOI: 10.1159/000329452
- [2] A. Dozet, K. Eklund, M. Geijer, B. Ivarsson, R. Klefsgård (2016). "Radiography on wheels arrives to nursing homes – an economic assessment of a new health care technology in southern Sweden" *Journal of Evaluation in Clinical Practice*. (Online). DOI: 10.1111/jep.12590
- [3] B. Ivarsson. (2018, 3 december - 2019, 23 maj). Emails och intervju
- [4] U. Palm. (2019, 24 januari). Telefonintervju
- [5] K. Eklund. (2019, 28 januari - 23 maj). Emails
- [6] A. Persson. (2019, 25 april). Email
- [7] A. Azimi. (2019, 15 maj). Intervju
- [8] Å. Cederblad (2010). "Teknik, Fysik och Strålsäkerhet i Röntgendiagnostik" *emphSahlgrenska Universitetssjukhuset*
- [9] L. Jönsson. (2019, 15 april-8 maj). Intervju och föreläsningar

<sup>2</sup>Picture Archiving and Communication System

<sup>3</sup>Röntgeninformationssystem

- [10] Medivet Scandinavian AB (2017). <https://www.medivet.se> [Hämtad: 2019, 21 maj]
- [11] T. Hallenheilm. (2019, 4 februari-3 april). Emails
- [12] K. Ydström. (2019, 3 april – 7 maj). Emails och intervju
- [13] R. Svensson. (2019, 1 mars). Email och intervju
- [14] Strålsäkerhetsmyndigheten (2018). ” Strålsäkerhetsmyndighetens föreskrifter och allmänna råd (SSMFS 2018:5) om medicinska exponeringar” Tillgänglig: <https://www.stralsakerhetsmyndigheten.se/publikationer/foreskrifter/ssmfs-2018/ssmfs-20185/> [Hämtad: 2019, 21 maj]
- [15] Strålsäkerhetsmyndigheten (2018). ”Strålsäkerhetsmyndighetens föreskrifter (SSMFS 2018:7) om tillståndspliktig veterinärverksamhet” Tillgänglig: <https://www.stralsakerhetsmyndigheten.se/publikationer/foreskrifter/ssmfs-2018/ssmfs-20187/> [Hämtad: 2019, 21 maj]
- [16] C. Bladh. (2019, 29 januari). Email
- [17] Strålsäkerhetsmyndigheten (2018). ” Strålsäkerhetsmyndighetens föreskrifter (SSMFS 2018:2) om anmälningspliktiga verksamheter” Tillgänglig: <https://www.stralsakerhetsmyndigheten.se/publikationer/foreskrifter/ssmfs-2018/SSMFS-20182/> [Hämtad: 2019, 21 maj]
- [18] Arbetsmiljöverket (2008). ”Bedöm risker vid manuell hantering - lyfta/bära (ADI 627)” Tillgänglig: <https://www.av.se/arbetsmiljoarbete-och-inspektioner/publikationer/broschyrer/bedom-risker-vid-manuell-hantering—lyftabara-adi627-broschyr/> [Hämtad: 2019, 21 maj]
- [19] Arbetsmiljöverket (2008). ”Manuell hantering” Tillgänglig: <https://www.av.se/halsa-och-sakerhet/arbetsstallning-och-belastning—ergonomi/manuell-hantering/> [Hämtad: 2019, 21 maj]
- [20] <https://www.or-technology.com/en/> [Hämtad: 2019, 22 maj]
- [21] <https://www.medical-econet.com/en/> [Hämtad: 2019, 22 maj]

# Nanowires for Retinal Prostheses

- a Study of Retinal Microglial Cells

Filip Winzell (BME16), Max Mauritsson (BME16)

**Abstract**—*Retinitis Pigmentosa* is a genetic disorder that causes degeneration of the visual cells in the retina and eventually leads to complete blindness. Currently, there is no cure or single treatment for the disease. The overall aim of this project is to develop a type of implantable retinal prosthesis that uses nanowires to return, at least partially, visual function to the patients. To evaluate the function of such an implant, the immunological response of the retina needs to be studied. The aim of this study is to establish a protocol to examine the behaviour of microglial cells (immunological cells of the retina) when cultured on nanowires. Retinal cells extracted from postnatal day 5 mice eyes were used. The cell cultures were kept in an environment that favours their proliferation and migration. The mice came from a strain where the microglial cells had been genetically modified to express the GFP-gene, which makes them distinguishable from other glial cells using a fluorescence microscope. Our main method of studying the cells was creating time lapses of the cell cultures, using a confocal microscope with a chamber that maintained good conditions for the cells. Pictures were taken every 4 minutes over periods of several hours, creating five movies of four different dishes, using different protocols. The conclusion of the report is that the protocol used in the fourth movie was the best. It was started 72 hours after passaging, taken over the period of 10 hours with 20x magnification.

## I. INTRODUCTION

### A. Background

Degenerative pathologies often have a slow progression, which can be observed in diseases such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease and multiple sclerosis. This allows for intervention to take place before complete loss of function occurs. This is also the case for degenerative diseases affecting the retina. For those affected by these diseases there is no treatment available, and these patients' vision will gradually deteriorate. An alternative for these patients is a retinal prosthesis device that simulates the function of certain cells of the retina. Such prosthesis will today provide some degree of light detection, pattern recognition and object recognition which leads to improved mobility, sense of direction and hand-eye coordination. [1]

1) *Vision*: Our eyes are immensely complex organs that provide the function for our most important sense, our vision. Vision is made a reality through our visual system, which is a part of our central nervous system (CNS) [2]. Light enters the eye through the cornea and the pupil whose size is regulated by the iris, a beautifully pigmented circular muscle that regulates

how much light is being allowed to enter the eye by adjusting the size of the pupil [2]. The light is focused at the retina by the cornea and the lens where it is converted to neuronal signals.

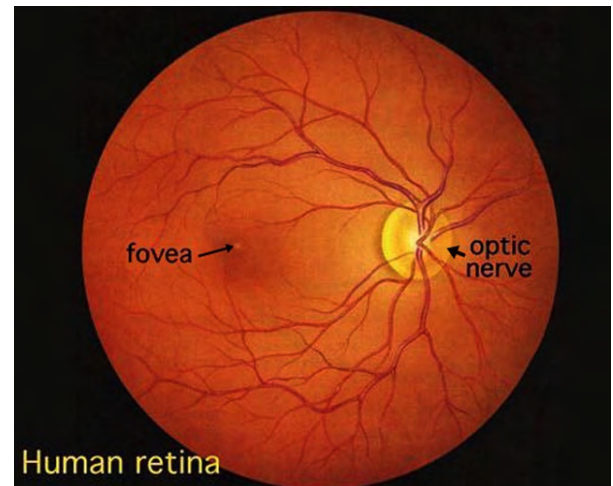


Figure 1. Retina as seen through an ophthalmoscope (H. Kolb, 2011, *Simple anatomy of the retina* by Helga Kolb)

2) *Retina*: Looking at the retina through an ophthalmoscope, you can clearly identify the optic nerve head, the major blood vessels of the eye, which radiate from the optic nerve head, as well as the macula, with the fovea at the centre (see Figure 1). It is approximately 0.5 mm thick, and consists of many layers of cells. The side of the retina closest to the front of the eye, facing the vitreous body, is referred to as the inner retina and the side closest to the back of eye as the outer retina. The 'wall' of the eye, that the outer retina is facing, is a layer of cells called the pigment epithelium [3]. The photoreceptors are located in the outermost layer of the retina, lying against the pigment epithelium, so the light rays have to travel through the entire retina, before they are detected by the photoreceptors (except in the middle of the fovea, where the cell bodies of cone photoreceptors are reached directly). The retina is specialized to prevent light rays from being blocked or scattered. A special type of glial cells called *Müller cells*, which act like fiber-optic cables, deliver the light rays from the surface of the retina to the photoreceptors (see Figure 2) [2].

When light passes through the retina, it is absorbed by the two types of photoreceptors, *rods* and *cones*. The light that manages to pass the photoreceptors is absorbed by the pigment epithelium to prevent reflection. The rods are sensitive

Handed in: May 24, 2019

Email: {filip.winzell96@gmail.com, max\_mauritsson@hotmail.se}

Technical supervisor: Tomas Jansson, Biomedical Engineering, Lund

Clinical supervisor: Maria-Therese Perez, Ophthalmology, Lund

Clinical supervisor: Vijayalakshmi Rajendran, Ophthalmology, Lund

to low levels of light and the cones to different wavelengths of light (colour vision). When the light is absorbed by photosensitive proteins in the photoreceptors, a process called the phototransduction cascade starts by hyperpolarization of the photoreceptors. The rods and cones make synaptic contacts with cells called bipolar cells, and in the absence of light they continuously release neurotransmitters on to them, which the hyperpolarization prevents. Some bipolar cells will not be stimulated due to the hyperpolarization and other will respond to this hyperpolarization by transmitting the signal forward to the retinal ganglion cells, whose axons converge towards the optic nerve. The ganglion cells fire action potentials carrying the visual information, via the optic nerve, to the visual cortex in the brain. [2], [3]

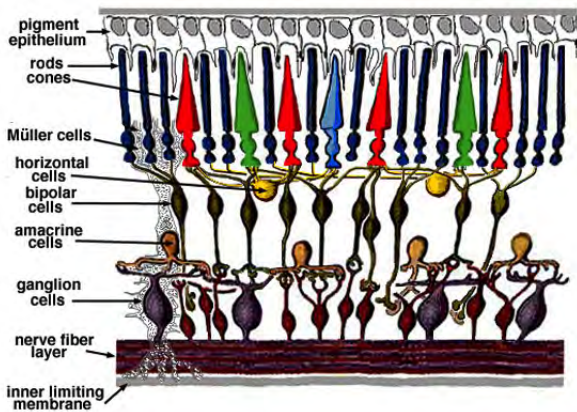


Figure 2. Simple diagram of the organization of the retina (H. Kolb, 2011, Simple anatomy of the retina by Helga Kolb)

3) *Retinal degeneration: Retinitis pigmentosa* (RP) is the umbrella term for several genetic diseases that cause the visual cells (rods and cones) of the retina to degenerate, and consequently lead to loss of vision [4], [5]. RP is linked to mutations in more than 70 different genes, both dominant and recessive, meaning that it may be present for several generations before appearing in an individual [6].

Symptoms of the disease vary depending on the specific mutation. Early forms of RP affect the vision from birth. Children with RP may display nystagmus (involuntary eye movement), poor night vision and are often sensitive to light [4]. Usually, the rods are affected before the cones causing the patient to have limited vision in low light, as well as having difficulties adjusting from dim to bright light and vice versa. Progressing, the disease causes restriction of the field of view and spots of limited resolution due to the degradation of the rods [5]. As of today, there is no single treatment for *Retinitis Pigmentosa*. Research has shown that patients may be helped by intake of some vitamins, however, this is not true for all patients with the disease [7].

4) *Retinal implants*: Diseases such as RP affect primarily specific cell types of the retina (the photoreceptors), while leaving the other cells mostly intact. By replacing the damaged cells, the vision could be restored, at least partially, to those affected and this is what retinal prosthesis aims to do. Usage of retinal prosthesis is currently very limited due to the narrow

range of products available on the market. As of today the only retinal prosthesis approved by the FDA as well as marketing in Europe is the Argus II-system [8].

These prosthetic devices utilize electrical stimulation of the remaining cells of the retina, replacing the role of the photoreceptors. This electrical stimulation is performed by using micro-electrode arrays or micro-photodiode arrays placed either epiretinally (in front of the retina, next to the ganglion cells) or subretinally (under the retina, next to the bipolar cells). Micro-photodiode arrays use photodiodes to generate electrical impulses at the site of stimulation while micro-electrode arrays utilize an external camera and computer to steer the stimulation.

Retinal prosthesis of today will not restore the sight fully and is therefore only applicable to patients with severely restricted vision. For example, the Argus II-system gives a resolution of only 60 pixels. To increase the resolution, the retinal prostheses need to have more points of stimulation, i.e. more electrodes. However, this would result in larger prosthetic arrays that would, among other things, make the surgery more difficult. [8]

5) *Nanowires*: The nanowires used in this project are generated by depositing gold (Au) nanoparticles on a Gallium Phosphate (GaP) substrate [9]. The substrate is then placed in a growth chamber (Aix 200/4, Aixtron AG, Germany) which essentially "bakes" the substrate at 470°C. This process causes the gold nanoparticle to "stretch" the substrate and generates nanowires (NW). The length of the nanowires is determined by the "baking time" and their diameter is determined by the size of the gold nanoparticles.

6) *Glial cells*: There are three general types of glial cells in the retina; Müller cells, astrocytes and microglia. The Müller cells are the main glial cells which form a supportive structure that extends through the entire retina, and limits it at the outer and inner limiting membranes. Other than as previously mentioned, delivering light rays through the retina, Müller cells have many different functions that are essential for the health of the retinal neurons, for example degradation of waste like used neurotransmitters. [10]

Astrocytes have a characteristic star-shaped appearance. They exist in the entire CNS, where their main task is to support the blood-brain barrier. In the retina, they almost exclusively occur in the nerve fibre layer, where they, in addition, to contributing to the blood-retina barrier, supply the ganglion cells with different nutrients. [10] Microglia are prevalent in all the layers of the retina. They have small cell bodies with irregular processes. Microglia act as the phagocytes of the CNS and in the retina, they are activated when some trauma or disease cause the neurons in the retina to degenerate [10] (see Figure 3).

Glial cells are interesting in the context of retinal prosthesis because activation and proliferation of these cells is believed to affect the long-term functionality of the devices. The glial cells surround the electrodes, insulating them and preventing optimal contact between the electrodes and the neurons. This phenomenon has been shown following implantation of similar devices into the brain and it is therefore important to establish means of controlling the glial activation. [11]

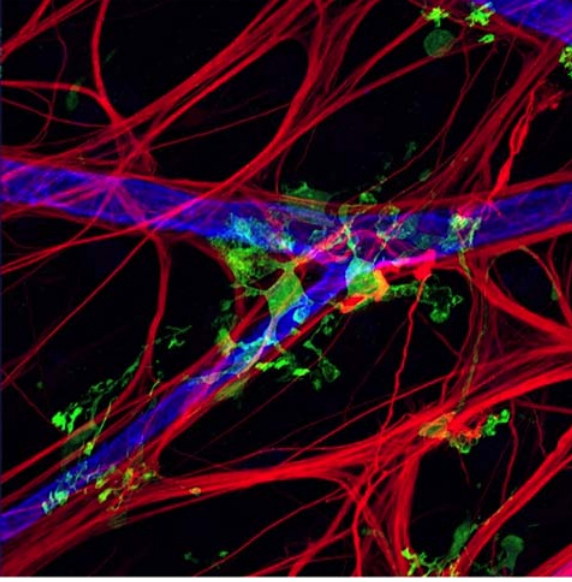


Figure 3. Human retina with Astrocytes (red) and Microglia (green) surrounding blood vessels (blue) (H. Kolb, 2013, *Glial cells of the Retina* by Helga Kolb)

Previous studies have shown that GaP NW reduce the proliferation of Müller cells and astrocytes, suggesting that using electrodes with such nanotopography could offer a way to control these cells. However, it is not known if this effect occurs with all types of glial cells . [9]

#### B. Thesis

The overall goal of this project was to examine the possibility of utilizing nanowires in retinal prostheses.

The current studies were focused towards the nanowires' effect on the specific cell types of the retina. As mentioned above, previous studies have shown that the proliferation of certain glial cells of the retina is affected when they are cultured on nanowires. However, it is not known if all or just specific types of glial cells are affected. Our tests aimed at establishing a protocol to examine the behaviour of microglial cells when cultured on the nanowires. Microglial cells are part of the retinal immunological response and act by migrating towards the site of damage, and will therefore, also encapsulate foreign objects in the retina, including retinal implants. This encapsulation will affect the implant negatively and may cause it to lose its function due to, for example, electrical isolation. Knowledge of what factors affect the activation of microglial cells may be used in the future to create better implants that are not influenced by the microglial cells.

#### C. Agenda

This project, to examine the nanowires' effect on microglial cells, is only a smaller part of the overall aim of the project. Therefore, only results and conclusions gathered from previous studies, within the overall project, that are of relevance to this project will be included. Sections *Method* and *Data* will give the reader an introduction to how the experiments were conducted, and which materials were used. The results of

these experiments are presented in *Results* and discussed under *Discussion*. The conclusions that could be drawn from the experiments will be found under *Conclusions*.

## II. DATA

In order to study the activity and migration of microglial cells, time lapses of glial cell cultures were created. An inverted confocal microscope was used, that took pictures of the sample every 4 minutes for 3-10 hours. Five time lapses were created like this.

## III. METHOD

### A. Ethical considerations and sustainability

Cells used in these experiments originated from a primary cell culture obtained from postnatal day 5 (PN 5) mice. These mice were handled according to the guidelines set by the European Council Directive 2010/63/EU and the ARVO statement for the Use of Animals in Ophthalmic and Vision Research. Furthermore, the experiments have been approved by the local animal experimentation ethics committee.

Antibiotics (penicillin streptomycin, Sigma Aldrich, USA) were used in the medium the cells were cultured in. Extensive usage of antibiotics might contribute to certain strains of bacteria developing resistance to the used antibiotic, causing it to lose its function. However, this specific type of antibiotic was used exclusively in cell culture media and was handled in virtually sterile environments. Therefore, it seems very unlikely that our project would contribute to this problem substantially. Disposal of culture media containing antibiotics is handled according to established and approved disposal procedures.

### B. Cell culture

1) *Eye and retina dissection*: After decapitation, the eyes were dissected and kept in Dulbeccos Modified Eagle's Medium (DMEM)-antibiotics (Life Technologies, UK) for 24 hours. In total, 6 eyes were used. To access the retina, all of the surrounding tissue was removed as well as the retinal pigment epithelium (RPE).

2) *Glial cell culture*: The clean retinal pieces were placed in a 60 mm plastic dish (Sarstedt, Germany) with DAF-medium: filtered DMEM, antibiotics penicillin, streptomycin (Sigma Aldrich, USA) and heat inactivated Fetal Bovine Serum (FBS) (Life Technologies, UK). This dish was labeled "Glial Cell Culture 23,GCC23 -Primary dish". After 5 days *in vitro* (5 DIV), the medium was changed and some pieces of retina that had not yet attached to the bottom of the dish (a.k.a. "floating pieces") were transferred to another dish labeled "GCC23 - Floating dish 1". Three days later (8 DIV), the primary dish was checked again and some pieces were still floating. These pieces were moved to a new dish labeled "GCC23 - Floating dish 2". Every third day the medium in the dishes was changed. In connection to this, pictures of the cultures were taken using an inverted fluorescence microscope (Olympus IX71, Olympus corporation, Japan) to monitor the cell cultures' progress. At 15 DIV, the retinal pieces were

removed from the primary dish and at 19 DIV from floating dishes 1 and 2, by flushing them with DAF-medium so that the retinal pieces detached from the dish, while leaving the cells that had migrated from the retinal pieces still attached to the dish.

3) *GFP*: An essential part of this study was to establish a way to distinguish microglia from the other glial cell types during the time lapse experiments. This is because the cell culture protocol used promotes the survival of all three types of glial cells. Since the three types are interdependent [12], a protocol that only generates microglial cells would not be ideal. The mice used were therefore from a strain that had been genetically modified to express the GFP-gene (Green Fluorescent Protein) in microglial cells. GFP is a protein that glows in green (510nm) when exposed to 488nm light. Microglia are characterized by their expression of the gene  $CX_3CR1$ , which encodes a chemokine receptor. In the CNS, microglia are the only cells that express the gene and therefore it is a suitable target for expression of a fluorescent protein like GFP. By replacing the  $CX_3CR1$  gene with DNA that produces GFP when expressed, microglia can easily be distinguished from Müller cells and astrocytes under a fluorescence microscope. Homozygous mice ( $CX_3CR1_{gfp=gfp}$ ) will lose the normal function of the  $CX_3CR1$ -gene, which could alter the normal function of the microglial cells and impact the result of the studies. So far, however, no studies have shown that there is any loss or alteration of function in heterozygous mice ( $CX_3CR1_{gfp=+}$ ). [13]

4) *Passage*: At 37 DIV, cells in both of the floating dishes were passaged to four 35mm IBIDI glass-dishes (Ibidi GmbH, Germany), to facilitate growth of the cells at a lower density as well as to prepare them for the upcoming experiments. If the cell density of a dish gets too high or too low, proliferation may stop or slow down [14]. The passage step is, therefore, a crucial part of the cell culture procedure. In this process a solution containing trypsin-EDTA (Life technologies, UK) was added to the dishes. Trypsin causes the cells to detach from the bottom of the dish and EDTA neutralizes calcium, which may be abundant in the medium during the passaging. The dishes were rinsed with Hanks balanced salt solution (Life technologies, UK) several times before they were left in the incubator with trypsin-EDTA, for 14 minutes, to let the cells detach from the bottom of the dishes properly. The trypsin was then neutralized by adding DAF-medium to the dishes, and the suspension was moved to a plastic tube and centrifuged. The supernatant was carefully removed by using a pipette and new DAF-medium was added to the cells, which were resuspended and seeded, evenly, into the IBIDI-dishes. These four dishes were later used for live cell imaging in the time lapses.

At 71 DIV, the cells from the primary dish were passaged, the reason being that they were getting old. At the time of the passaging, there were still plenty of cells expressing GFP (GFP-positive) in this dish. The passaging was performed according to the same protocol as described above, aside from that this dish needed to be incubated longer in trypsin-EDTA. This, supposedly, because the cells had been cultured for a long time, allowing for the cells to produce larger amounts of adhesion molecules. Despite the longer incubation, only about

half of the cells came off from the dish. After centrifugation, the cells were placed in DAF-medium (total volume of 2mL). After determining the cell density in the solution, the cells were seeded onto a 35 mm IBIDI-dish (1mL of the solution), a double-side polished (DSP) NW-sample (500 $\mu$ L) and on a DSP GaP Flat-sample (no nanowires present) (500 $\mu$ L).

### C. Time lapse live cell imaging

The time lapses were made using an inverted confocal microscope (LSM 780, Carl Zeiss GmbH, Germany) equipped with a chamber that maintained good conditions for the cells (37C, 5% CO<sub>2</sub>). As mentioned above, the four IBIDI-dishes from the passage at 37 DIV were used for the time lapses (from now on referred to as dish 1-4). In total five time lapses were made. For more information about each time lapse see Table I.

## IV. RESULTS

### A. Cell culture

After dissection, a good number of GFP-positive microglial cells were found on the retinal pieces in the primary dish. At 5 days *in vitro* (DIV) some of the floating pieces (pieces which had not yet attached to the bottom of the petri dish) in the primary dish were collected and placed in a new separate dish during the medium change. On the following medium change (8 DIV) additional floating pieces were collected and placed in a second new dish. The following days a continuous good number of GFP-positive microglial cells were observed in the primary dish (see Figure 4).

### B. Movies

At 37 DIV, cells from both floating dishes were passaged to four IBIDI-dishes. The density of cells was slightly lower than the 'ideal' density.

Table I  
TIME LAPSES

| Movie | Dish | Time from passaging to start of recording | Duration | Magnification | Zoom |
|-------|------|-------------------------------------------|----------|---------------|------|
| 1     | 1    | 0 DIV (1.25 hour)                         | 3 hours  | 10x           | 0.6  |
| 2     | 2    | 1 DIV (24 hours)                          | 3 hours  | 10x           | 0.6  |
| 3     | 3    | 2 DIV (48 hours)                          | 3 hours  | 20x           | 0.6  |
| 4     | 4    | 3 DIV (72 hours)                          | 10 hours | 20x           | 0.8  |
| 5     | 4    | 6 DIV (144 hours)                         | 9 hours  | 20x           | 0.8  |

1) *Movie 1*: Immediately after the passaging (0 DIV), one of the IBIDI-dishes was placed under the microscope. After 30 minutes an additional volume of 500  $\mu$ L DAF-medium were added to the dish. Recording started after an additional 45 minutes (in total: 1 hour and 15 minutes after transferring the cells to the new dish). The total duration of the recording was 3 hours. Slight changes in the shape of the cells were observed among both the GFP-positive cells and cells not expressing GFP (non-GFP) (see Figure 5). A few non-GFP cells showed a lot of movement, but overall most cells stayed still.

2) *Movie 2*: Movie 2 (not shown) was started 24 hours after the passaging (1 DIV). The total duration of the movie was 3 hours. The cells at 1 DIV changed shape more than cells imaged at 0 DIV.

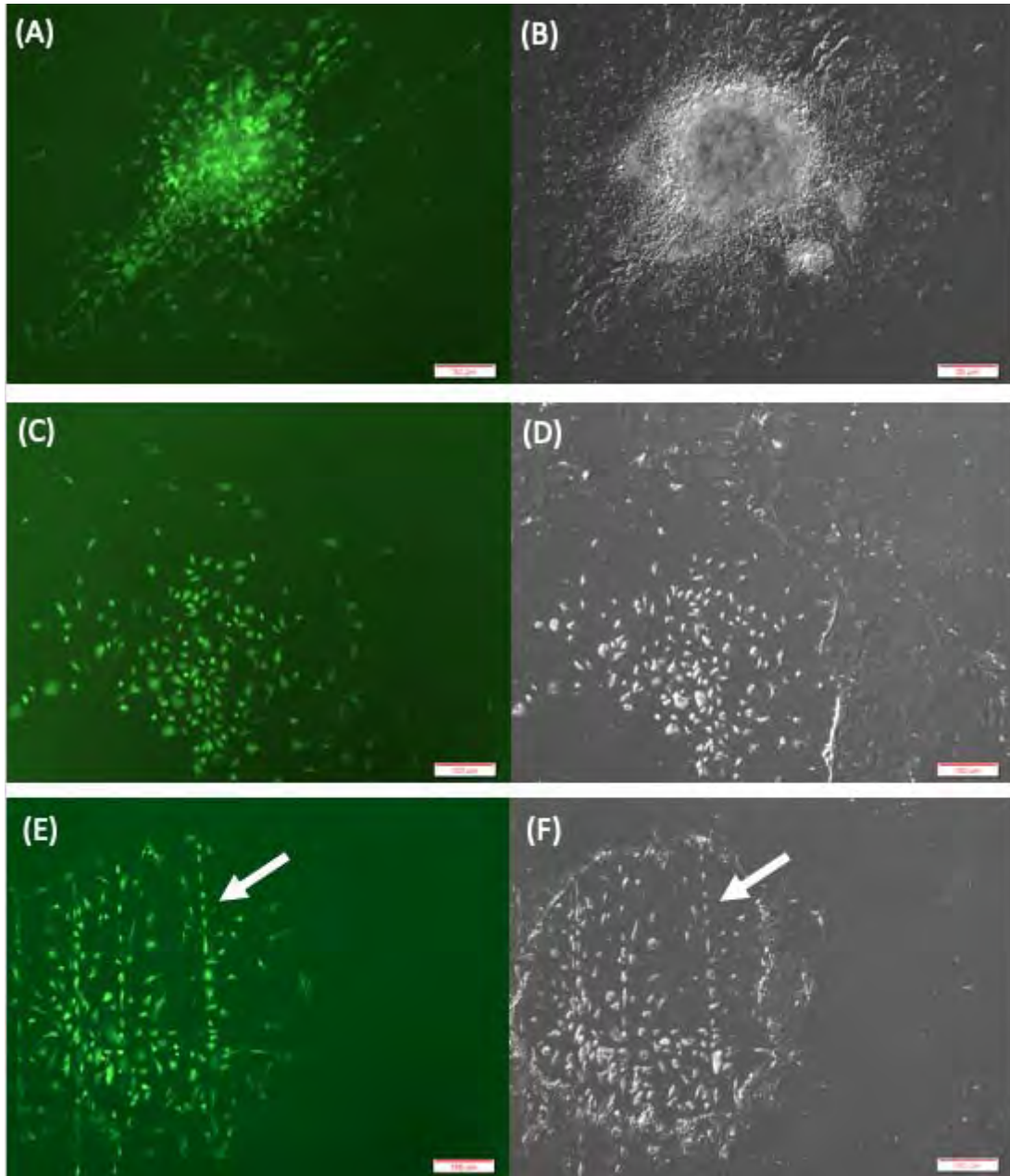


Figure 4. Images of primary dish from fluorescence microscope with and without GFP-filter: (A & B) 10 DIV - A good number of microglia (GFP-positive cells) are seen in the attached retinal piece. Scale bars = 50  $\mu$ m. (C & D) 15 DIV - A good number of cells are prevalent after flushing. Scale bars = 100  $\mu$ m. (E & F) 15 DIV - Microglia happily follow along what is likely scratches on the surface of the dish (white arrows). Scale bars = 100  $\mu$ m.

3) *Movie 3*: Recording of movie 3 started 48 hours after passaging. Some cells changing their shape were observed, but very little movement was noted. This movie was recorded with a 20x magnification as opposed to 10x, used in the previous movies.

4) *Movie 4*: Movie 4 was started 72 hours after passaging, but with a change of medium 12 hours before the start. The total time of the movie was 10 hours, in which considerable movement and changes of shape were observed in both GFP-positive and non-GFP cells (see Figure 7).

5) *Movie 5*: After 6 DIV since the passage, the fifth movie was started, again on dish 4. The medium was changed on 5 DIV and the total time of the movie was 9 hours. Three

evident GFP-positive cells (marked in Figure 8) changed their shape, but did not move. A few moving non-GFP cells were also seen.

## V. DISCUSSION

Movies 1 and 2, which were taken with 10X magnification, produced hardly any results. Only a few non-GFP cells showed any movement. Some GFP-positive cells were observed that changed their shape, but the magnification was too low to determine the exact cell behavior. Also, the time points at which the movies were started (within the first 24 hours after passaging), appeared to be too short to observe any considerable changes in cell shape or migration.

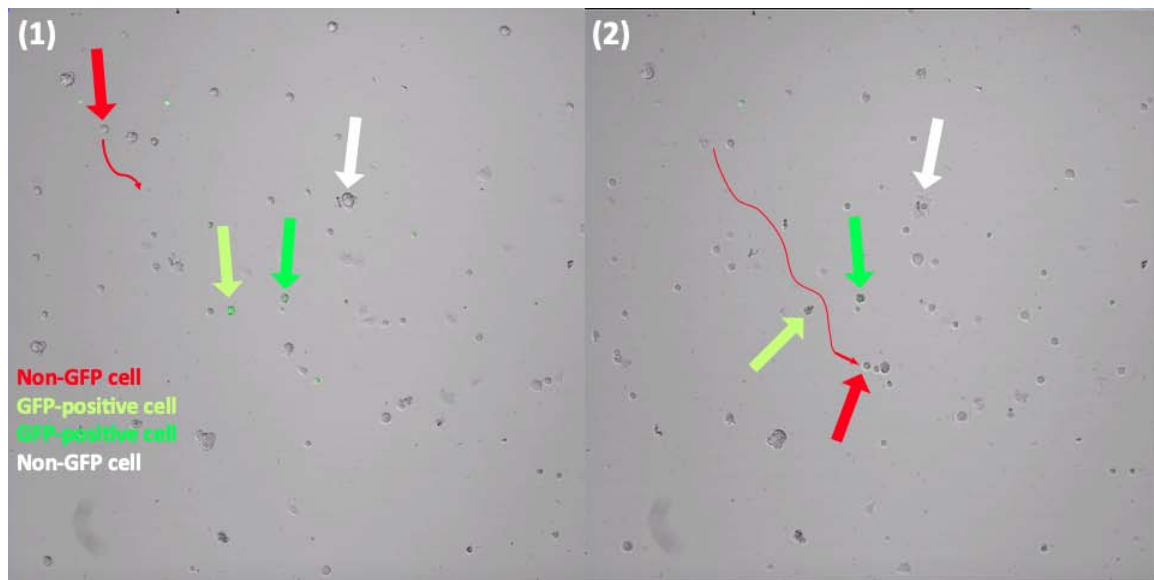


Figure 5. *Movie 1: Dish 1, (1) Picture taken at the start of the movie (0 hours). Four interesting cells marked with arrows. The thin red arrow indicates movement of that cell. (2) Picture taken at the end of the movie (3 hours). The thin red arrow indicates the path of the moving cell. The other arrows indicate the positions of two GFP-positive cells and one non-GFP cell at 0 hours and 3 hours.*

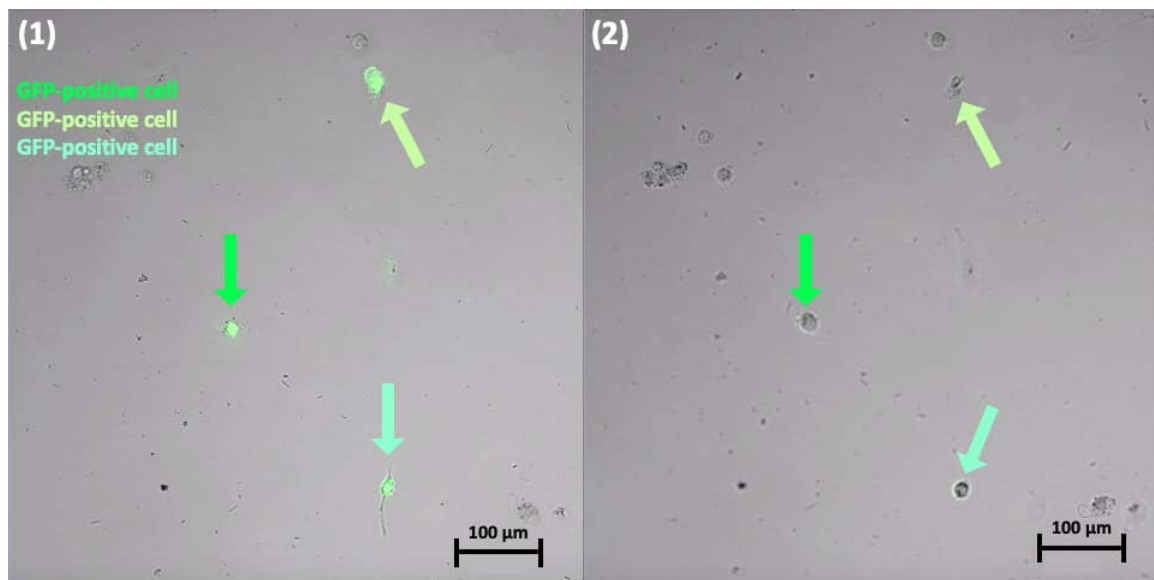


Figure 6. *Movie 3: Dish 3, (1) Picture taken at the start of the movie (0 hours). Three GFP-positive cells marked with arrows. (2) Picture taken at 1.5 hours from the start. Scale bars = 100 μm.*

In Movie 3, 20X magnification was used which made the cells much clearer. Three GFP-positive cells could be seen (see Figure 6) which all changed their shape. Although the image was of good quality, the movie was again only 3 hours, which was too short to note any considerable changes. For Movie 4 the time was increased to 10 hours which produced more conclusive results (see Figure 7). Both GFP-positive and non-GFP cells changed their shape and migrated across the image. The bright green arrow (close to the middle of picture 1 and 2) in Figure 7 follows the movement of a GFP-positive cell. Its migration across the image is clearly shown. By following the white arrow at the bottom, a non-GFP cell can be seen emerging, being rounded, and then moving towards the bottom

of the picture. Because of the good results obtained with Movie 4, a fifth movie was made on the same dish, with a duration of 9 hours, at 6 DIV. GFP-positive cells were clearly identified to change shape, but only non-GFP cells seems to migrate (see Figure 8). In all the movies, green cells seemed to lose their green color over time. However, this was caused by their movement toward and away from the focal point of the microscope, and not due to a loss in their expression of GFP.

As mentioned above, under *Passage*, cells from the primary dish were passaged onto DSP-samples, both with and without nanowires (NW and Flat). Although the double-side polished (DSP) samples are a lot more translucent than regular sub-

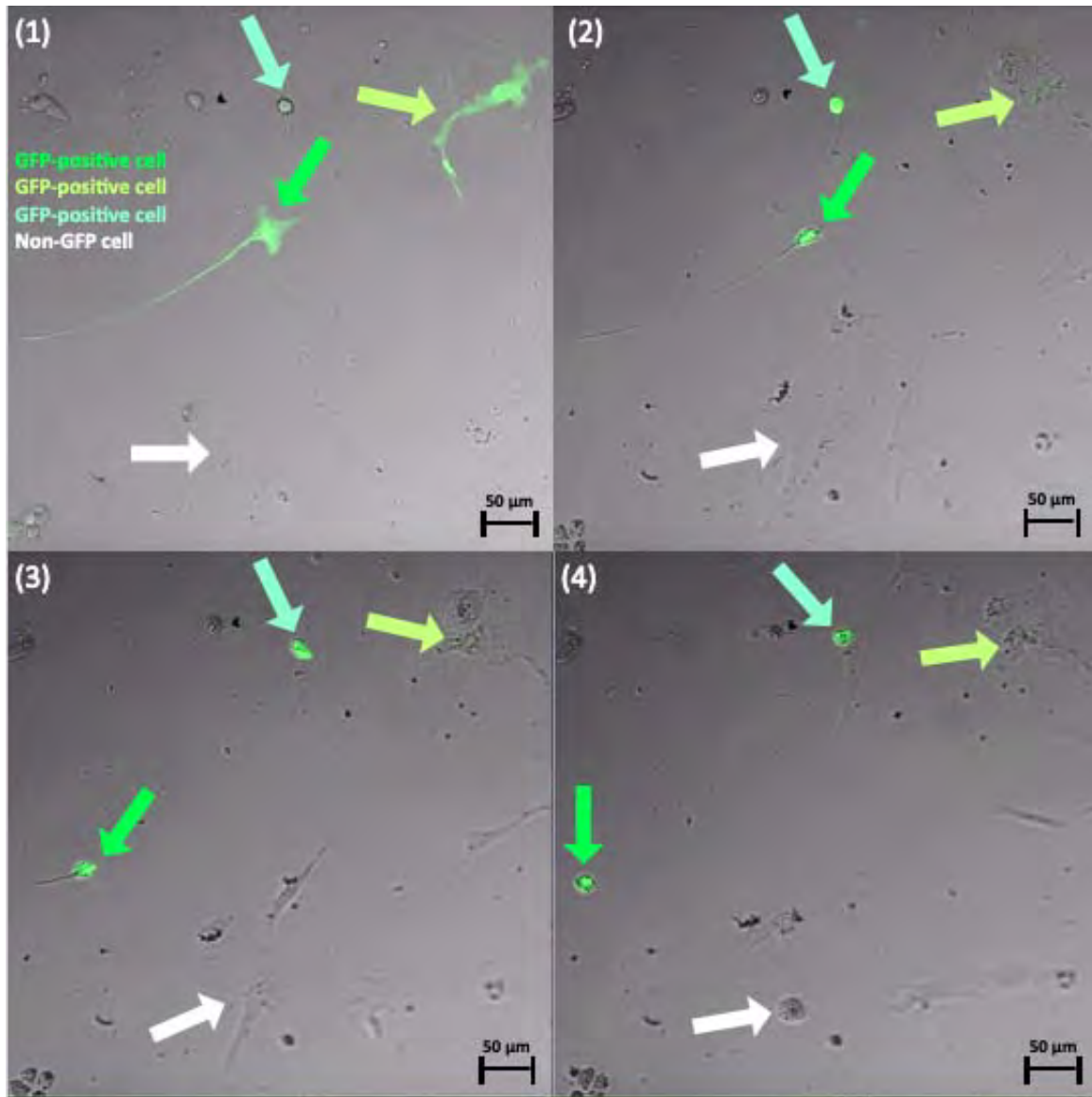


Figure 7. *Movie 4: Dish 4, (1) Picture taken at the start of the movie (0 hours). Four interesting cells marked with arrows. (2) Picture taken after 2 hours. (3) Picture taken after 4 hours. (4) Picture taken after 6 hours. Some, but not all cells, moved over large distances for the period of the recording. Scale bars = 50 μm.*

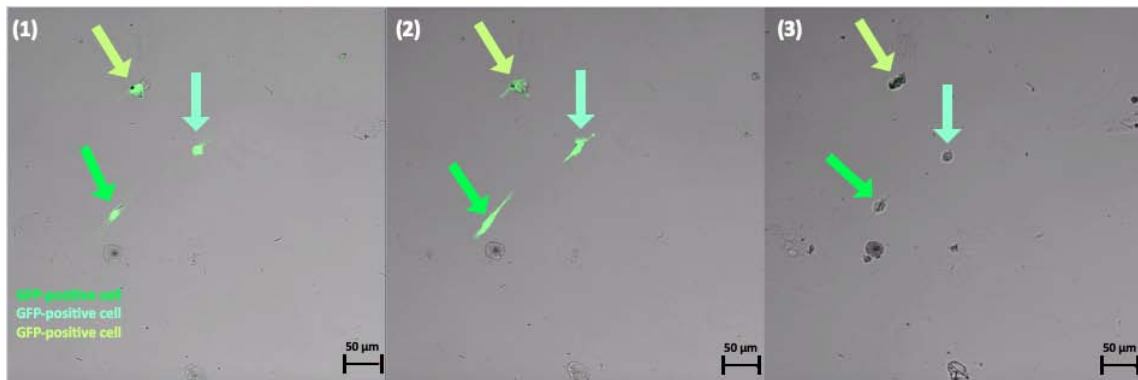


Figure 8. *Movie 5: Dish 4, (1) Picture taken at the start of the movie (0 hours). Three GFP-positive cells marked. (2) Picture taken after 1 hour. (3) Picture taken after 4.5 hours. Scale bars = 50 μm.*

strates, still no movies could be made with these, due to the fact that the material these samples are made from (Gallium phosphide, GaP) absorbed the wavelength needed to excite GFP. This made the sample non-translucent and GFP-positive cells impossible to detect. As a consequence, no comparison between cells cultured on nanowires and cells cultured on a flat surface could be made. To evade this problem in future experiments, a different fluorophore that is excited by light of a longer wavelength could be used. Alternatively, a microscope that both excites and views the sample from above (an upright microscope) could be used, to avoid the light having to pass through the sample.

Initial studies have shown that retinal cells cultured on GaP-nanowires facilitate the growth of neurites while constraining the proliferation and mobility of glial cells [15]. Similar results have been observed in studies of fibroblasts cultured on GaP-nanowires, in which the cells showed an impaired tendency to migrate and proliferate [16]. These observations are of interest since these processes (proliferation and mobility of glial cells) affect the formation of glial scars (gliosis). Gliosis is a natural response to damage in the CNS, such as when electrodes are implanted in therapeutical purposes (for example when treating Parkinson's disease, Epilepsy and OCD). However, the performance of the electrodes performance is negatively affected by the glial scar, due to it altering the impedance and resistance of the adjacent tissue [11]. Perhaps GaP-nanowires can be used as a coating on future implantable electrodes to reduce the immunological response, and thereby, also the formation of the glial scar. Such implantable electrodes could possibly improve treatment of degenerative neurological diseases by providing more effective electrical stimulation and more stable implants.

## VI. CONCLUSION

The experiments showed that the settings used in movies 4 and 5 gave the best results, and that the protocol for movie 4 was the best. Therefore, these settings should be used in upcoming experiments.

When performing experiments with the cells on the GaP-NW substrates, the microglial cells could not be viewed due to the wavelength of the light used to excite GFP being absorbed by the substrate, making the sample non-translucent.

## VII. ACKNOWLEDGEMENTS & POSTSCRIPT

First of all, we would like to thank our supervisors, Maria-Thereza Perez and Vijayalakshmi Rajendran at the Division of Ophthalmology at the Department of Clinical Sciences at Lund University, who have supported and guided us through the entire project. We also want to thank the whole Division of Ophthalmology for letting us use their laboratory and equipment to perform our experiments. Our thoughts also go out to the families and friends of the mice who gave their lives for science in this project.

Throughout the entire duration of the project, the work has been evenly distributed between the authors.

## REFERENCES

- [1] A. P. Finn, D. S. Grewal and L. Vajzovic (Jun. 2018) "Argus II retinal prosthesis system: a review of patient selection criteria, surgical considerations, and post-operative outcomes" [online] *NCBI* available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6005308/>
- [2] E. Widmaier, H. Raff and K. Strang "Chapter 7.6: Sensory Physiology - Vision", *Vander's Human Physiology* 14th edition, pp. 204-211, 2016.
- [3] H. Kolb (Oct. 2011) "Part I: Foundations; Simple anatomy of the retina by Helga Kolb" [online] available at: <https://webvision.med.utah.edu/book/part-i-foundations/simple-anatomy-of-the-retina/> [20 Jan. 2019]
- [4] Socialstyrelsen "Retinitis pigmentosa" (Version 5.1 Aug. 2016) [online] available at: <http://www.socialstyrelsen.se/ovanligadiagnoser/leberskongenitalaamauros> [8 Mars 2019]
- [5] Ögonfonden "Vad är Retinitis pigmentosa (RP)?" [online] available at: <http://www.ogonfonden.se/sjukdomar/retinis-pigmentosa/vad/>
- [6] N. Bravo-Gil, M. González-del Pozo, M. Martín-Sánchez, C. Méndez-Vidal, E. Rodríguez-de la Rúa, S. Borrego and G. Antiñolo (2017) "Unravelling the genetic basis of simplex Retinitis Pigmentosa cases" [online]. *Nature* available at: <https://www.nature.com/articles/srep41937>
- [7] K. Boyd and R. H. Janigian (Mar. 2019) "Retinitis Pigmentosa Diagnosis and Treatment" [online] available at: <https://www.aao.org/eye-health/diseases/retinitis-pigmentosa-treatment>
- [8] K. C. Firl, P. H. Tang and S. R. Montezuma (Nov. 2018) "Retina Prosthesis" [online] available at: [https://eyewiki.aao.org/Retina\\_ProsthesisRetina\\_Prostheses](https://eyewiki.aao.org/Retina_ProsthesisRetina_Prostheses)
- [9] G. Piret, M-T. Perez and C. N. Prinz (2015) "Support of Neuronal Growth Over Glial Growth and Guidance of Optic Nerve Axons by Vertical Nanowire Arrays"
- [10] H. Kolb (Nov. 2013) "Part II: Anatomy and Physiology of the retina; Glial cells of the retina" [online] available at: <https://webvision.med.utah.edu/book/part-ii-anatomy-and-physiology-of-the-retina/glial-cells-of-the-retina/>
- [11] J. W. Salatino, K. A. Ludwig, T. D. Y. Kozai and E. K. Purcell (Nov. 2017) "Glial responses to implanted electrodes in the brain" [online] *Nature* available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6261524/>
- [12] K. R. Jessen (2006) "A brief look at glial cells" [online] *PubMed* available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16805420>
- [13] Y. Wolf, S. Yona, K. W. Kim and S. Jung (Mar. 2013) "Microglia, seen from the CX<sub>3</sub>CR1 angle" [online] *PubMed* available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23507975>
- [14] Thermo Fisher "Guidelines for Maintaining Cultured Cells" [online] available at: <https://www.thermofisher.com/se/en/home/references/gibco-cell-culture-basics/cell-culture-protocols/maintaining-cultured-cells.html>
- [15] G. Piret, M-T. Perez and C. N. Prinz (Jan. 2013) "Neurite outgrowth and synaptophysin expression of postnatal CNS neurons on GaP nanowire arrays in long-term retinal cell culture" [online] *ScienceDirect* available at: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961212011775?via%3Dihub>
- [16] H. Persson, C. Købler, K. Mølhave, L. Samuelson, J. O. Tegenfeldt, S. Oredsson and C. N. Prinz (Jun. 2013) "Fibroblasts cultured on Nanowires Exhibit Low Motility, Impaired Cell Division, and DNA Damage" [online] *Wiley Online Library* available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/smll.201300644>

# Optimal camera displacement to recreate pediatric cardiac surgeries with stereo vision in VR

Sanna Nordberg (BME-16), Matilda Dahlström (BME-16)

**Abstract**—The operating rooms today are sterile and crowded with personnel and machines. This makes it difficult for medical students to attend surgeries in a satisfactory way. A better way of education is needed. A solution is to record videos of surgeries and recreate them with stereo vision in VR. The aim of this study is to find the optimal distance between the cameras recording the videos, to recreate the videos as realistic as possible. This could lead to a new way of educating medical students, without having the barriers that the operating rooms yields.

The study has been conducted at the Centre of Pediatric Cardiac Surgery, Lund University Hospital. In the interest of this department, the study has been targeting cardiac surgeries.

The means to achieve the purpose of the project has involved a design process, where a study has been formed and reshaped until it was satisfactory to its purpose. The process has also involved the development of new attachments for the YuMi robot.

In the end, it was not one optimal distance that was found for the cameras, but an accepted range. According to the test subjects, the recreated videos were comfortable and realistic to watch in the range of 70 mm to 140 mm for a convergence point of 1100 mm. With this information it is possible to continue the research and narrow it down even more, until an optimal distance has been found.

## I. INTRODUCTION

**S**URGEONS today are skilled in their area of expertise, but it has taken them a long way to get there. To achieve the experience and skills needed, medical students must watch and experience surgeries in real life. But as a medical student it can take years before you even enter an operating room. Once you do, you might not even get a good view of the surgery since the room is crowded with personnel and machines. The fact that the environment in operating rooms has to be sterile, also contribute to an inadequate learning environment. These factors makes it difficult for the students to attend surgeries in a satisfactory way. Therefore, a better environment for education is needed.

It is believed that letting medical students encounter surgeries in an early stage of their education, and more often, is highly desired since this would improve their education.

An existing project called Surgeons Perspective is working on resolving this problem. Their solution is to generate 3D-videos from operating rooms, in the perspective of the surgeons, and letting medical students view these in VR as part of their education. In this way, their education will include seeing

surgeries from an early stage which would better their learning experience. Letting medical students view these videos in 3D is preferred since this will give a greater depth perception and a more correct recreation of the anatomy than 2D videos. The goal of the project is to also let the videos be used in clinical work and in the development of autonomic robotic surgery.

The project has been running since 2016. One of the challenges in the project is to find the optimal distance between the cameras that will be put in the operating room in order to generate the best 3D-videos.

The aim of this project is to define this optimal distance. The best distance is defined as the distance that is most comfortable to watch, as the videos are reconstructed in VR, and where the image is most accurate to the reality in terms of depth perception and correct anatomy.

To be able to find the optimal distance between the cameras, one must have knowledge about the human visuals and how humans perceive their surroundings depending on their visuals.

## II. BACKGROUND

### A. Stereopsis

Stereopsis is the process that creates a depth perception from the two visuals that are projected on the retina in the eyes. If the visuals differ from each other, the brain creates depth perception by combining the images. The difference depends on the different positions of the eyes, which makes each eye see the scene or object from different angles. This can be compared to where two cameras record the same point, from different views, which is the case in this study. The two images recorded are then placed in a program, which makes it possible to watch the video in a VR headset. The eyes perceive one image each, and the brain has to combine them. This leads to a 3D-image with depth perception.

The reason for this is the horizontal difference that appear in the visuals of the two eyes, since they are positioned horizontally next to each other. They will perceive two slightly different images. Objects at different distances in the two images will lead to the images on the retina to differ in the horizontal plane, which generates an illusion of depth in 2D-pictures. [12]

The question arises; which distance between the cameras is the most optimal to make the perfect 3D-video?

### B. Binocular vision

Binocular vision is the basis for stereopsis and important for depth perception. This type of vision can be found in both humans and animals with two eyes. Monocular vision is the

Handed in June 11, 2019

Email address: {bmp15sno@student.lu.se, ma2447da-s@student.lu.se}

Technical adviser: Måns Magnusson, Centre of Pediatric Cardiac Surgery, Lund University Hospital

Clinical adviser: Kiet Tran, Centre of Pediatric Cardiac Surgery, Lund University Hospital

field that the individual can see with only one eye, whilst binocular vision is the field that can be seen with both eyes. This field of the view is where the brain can perceive depth. This is illustrated in figure 1. [10]

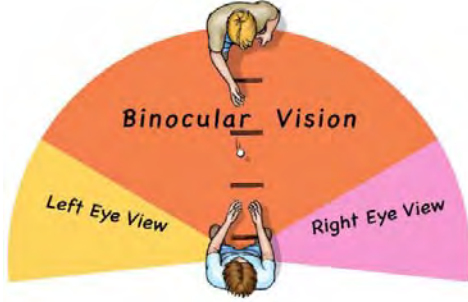


Fig. 1. Shows the binocular and monocular vision of a human [2]

### C. Field of view

Field of view (FOV) is the open observable area that can be seen by one eye or an optical device. In human vision, the field of view is composed of two monocular field of views, one from each eye. The brain then combines these two FOV and generates the binocular FOV.

Each eye has a horizontal FOV of about 135 degrees and a vertical just over 180 degrees. The binocular FOV becomes 114 degrees of view horizontally and peripheral vision makes up the remaining 60-70 degrees. In the peripheral, there is only monocular vision, and no depth can be perceived. [9]

### D. Stereo blindness

Stereo blindness is the inability to see in 3D. This means that the person can not perceive stereoscopic depths by combining and comparing the images of the two eyes. The condition appear in individuals with only one functioning eye, and in individuals where the eyes does not function properly together. [11]

### E. Stereo vision in cameras

There are stereo cameras on the market. These cameras have two or more image sensors, which allows the camera to simulate human binocular vision and thereby depth perception. [8] In this study, the authors have decided not to use this type of camera but to use a number of cameras, more specifically two cameras. The reason for this is that when surgeries are to be recorded, this will be done by multiple cameras in a rig in the ceiling. By having multiple cameras, one is able to switch between which two cameras the video will be reconstructed from. This allows for a change if the view (of the body) is blocked by hands, tools or the surgeon's head.

### F. Camera settings

The distance between the cameras is defined as the distance between the center of the camera image sensor in each camera.

The focus point, or focal point, of the camera is set on each camera. This is the point to where the camera is most focused.

This point lies on the axis of the lens in the camera, and it is where parallel rays of light converge in to, or seem to diverge out of, one single point. The distance from the lens to this point is called the focal length. [13]

The point of convergence is not to be confused with the focal point of the camera. With two cameras, the point of convergence is defined as the point where the two cameras converge; where the two cameras aim at the same point in space. The distance to the point of convergence is measured from the center of the camera sensor. This point of convergence has nothing to do with the focus point or the focal length of the cameras, but for a person with no visual defects, the convergence point and focus point almost always coincide. This is because of the eyes ability to accommodate. [3] An assumption can be made that the same conditions should be applied to the study; for the focus point and point of convergence to coincide in the recorded videos.

### G. Conditions of the operating surgeon

The average distance between two eyes for surgeons is 58 mm according to the company Se-Bra Scandinavia AB [7]. The distance from the middle of the operation table to the surgeons eyes varies between 40 to 60 cm, which gives an average of 50 cm. [4] The camera in the study is set to be at 1.05 meters from the operating table. With this information at hand, the distance between the cameras can be estimated. This is done by using the following equation and distances. The average distance between the eyes of a surgeon (A), the distance from the surgeon's eyes to the operating table (C) and the distance from the cameras to the operating table (D). The distance between the cameras (B) is unknown.

$$A/B = C/D \quad (1)$$

To find B the following equation was calculated.

$$B = 58 * 1050/50 = 1218 \quad (2)$$

A hypothesis can be made that the cameras should be at a distance of circa 122 mm from each other to achieve the most accurate image.

### H. Hypothesis

Based on the background research presented in section F and G, the hypothesis is that the optimal distance between the cameras should be around 122 mm and that the best videos are generated when the point of convergence coincides with the focus point. In this project a study has been designed in order to determine and validate this hypothesis. The process of designing the study, conducting the study and evaluating the results is being presented in this report.

## III. METHOD

"The Engineering Design Process" is a design method that was used in this project. It includes a number of steps that were used when designing the study. The following section describes the different steps and how they have been applied. This design method is described in figure 2.

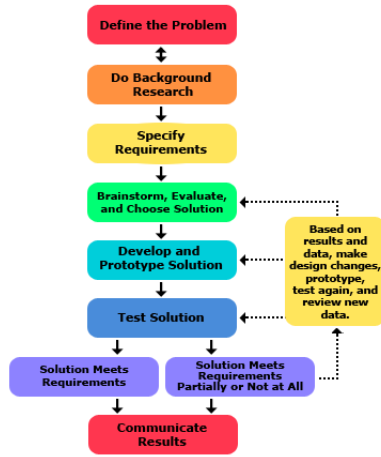


Fig. 2. The Engineering Design Process [6].

#### A. Define the problem

When designing a study it is important to understand the need for it; who needs what and why? The study was conducted to determine the optimal distance between two cameras filming an operation in order to show the recorded material in educational purpose later on. As of today, the optimal distance is not known and if the wrong distance is chosen it can be uncomfortable to view the videos. It was concluded that medical students and clinical staff are the ones in need of a solution in viewing surgical videos that would give the viewers a better understanding of anatomy and therefore improve their training. With the help of this project, hopefully this need will be met.

#### B. Do Background Research

A literary research including stereo vision, field of view and stereoscopic imaging in surgery was conducted to get more background to the study. Research on potential users and existing solutions was conducted. Information on who the users were, what their conditions were and in which situations they would use the final product was gathered. With this information at hand, the users needs could be included in the design process.

#### C. Specify The Requirements

To reach a viable result from the study, the requirements must be specified. The study should be done with as high accuracy as possible. This means that when the distance and point of convergence is changed, it should be done with high certainty in order to eliminate possible sources of error.

To be able to record a video of good quality, requirements of the cameras needs to be met. The requirements taken into account in this study were possibility of high frames per second, high resolution and camera synchronization.

In the study the population to be tested on is surgeons, medical students and others who have basic knowledge in the human anatomy. To get a valid result the study needs to be randomized in this population. The study therefore needs to include both sexes, different ages and different experience

within the area. It also needs to involve people with perfect eye sight as well as people with visual defects.

Since a part of the study will include filming videos in a operating room, this has to be taken in consideration while designing the study. Therefore any material used needs to be able to be sterilized.

#### D. Brainstorm, Evaluate and Choose Solution

It was decided that the best way to determine the optimal distance between two cameras was to record videos, at different distances and with different points of convergence, and let a test group view them. Each participant would be instructed to decide which videos they experienced were the best, based on a few criteria, and the optimal distance could then be determined based on which distances was most frequently preferred among the test group.

The chosen criteria were; how well one was able to asses distances in the video compared to reality and if it was comfortable to view the videos. It was highly problematic to come up with a way of quantifying these criteria since they were based on personal preferences. The solution chosen for this problem was to let the test subjects grade ones experience while viewing videos with different settings.

Before it was possible to involve the test group, the videos had to be recorded. Many different variations of camera setups were tested before the final one was chosen. In the following subsections, a few of these setups are presented.

1) *Setup one:* The very first setup was two cameras that pointed down towards a plastic model of a heart. The cameras used in the study are of model MX050xG-SY [14], since they met the requirements that was set earlier. The cameras were fixed on a rig. This meant that it was problematic when the distance and angle needed to be altered. Setting, and changing, the distance and point of convergence was done by hand and the risk of errors was therefore high. The distance was measured with a ruler and it was difficult to do with accuracy. The point of convergence was changed by looking at the real-time video on the computer. This was also difficult to do with accuracy.

2) *Setup two:* Changing the distance between the cameras while keeping the point of convergence constant was proven to be problematic. One approach in solving this was attaching the cameras on two metal bars and letting these be connected by a hinge in the shape of a “V”. This setup can be viewed in figure 3. By changing the angle of the “V”, the distance between the two cameras would change while the point of convergence was kept constant. By changing the position of where the cameras were attached to the beam, the point of convergence could be adjusted.

This allowed for more accuracy in adjusting the settings while recording and therefore more accuracy in the study than setup one. But it was proven problematic to change the point of convergence and distance while filming.

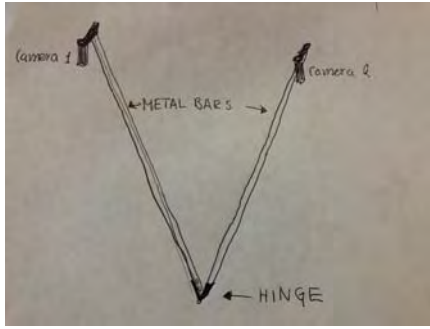


Fig. 3. The schematic drawing of setup two; the two metal bars connected with a hinge in the bottom and cameras on top of each metal bar. Drawn by the authors.

3) *Setup three:* A problem that was encountered in the earlier setups was the fact that it was difficult to adjust the settings, i.e. distance between cameras and point of convergence, in an accurate way while recording. In order to increase the accuracy, a solution involving a robot was born. The robot in question was the YuMi robot, see figure 4. The idea was to attach two cameras on each arm of the robot and code a robot program that would move the arms so that the cameras could move along a circle arc pointing towards the center of the circle. This would be done with an accuracy higher than achievable by a person.



Fig. 4. The YuMi robot from ABB [1].

### E. Develop and prototype solution

The solution chosen was the following: recording videos with the help of the YuMi robot where distance between cameras and point of convergence were changed. These videos would then be viewed by a test group and based on their experiences, an optimal distance and point of convergence would be determined.

In order to record videos with the YuMi robot, specialized attachments were needed to connect the cameras to the robot. These attachment were not available on any market and thereby had to be developed. The initial prototypes were made in metal, see figure 5. These prototypes were tested on the robot. It was concluded that the solution involving the

robot gave better videos than the earlier solutions. It was also concluded that the prototypes needed to be improved since their measurements were not as precise as desired.



Fig. 5. The prototypes in metal attached to the YuMi robot

The final products were drawn in CAD and 3D-printed in white nylon. This allowed the final attachments to be made with more precise measurements than the original prototypes in metal. This was possible because the measurements for the YuMi robot were available and used as a reference when drawing in CAD. These measurements are shown in figure 6. Since the attachments would be connected to the robot and the cameras, the measurement for the screw holes in the cameras were also needed. These are shown in figure 7. The final attachments are shown in the Result section.

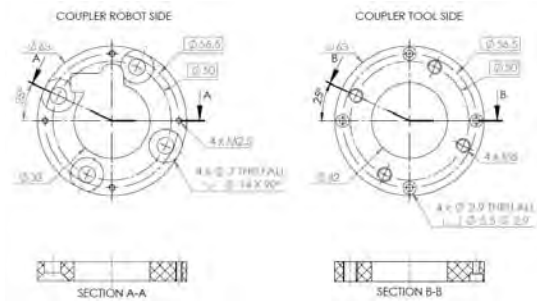


Fig. 6. The measurements for the YuMi robot that were used when drawing in CAD [5]

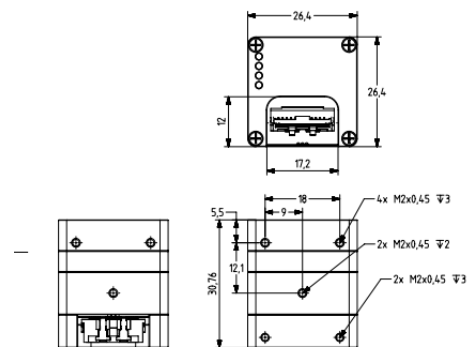


Fig. 7. The measurements for the cameras that were used when drawing in CAD [14]

With the attachments at hand, the programming of the YuMi robot could begin. This was done with the help of Maj

Stenmark at Cognibotics. The point of convergence was set as a constant and the distance between the cameras was altered continuously.

#### F. Test Solution

There was a desire to create an environment similar to a real surgery and therefore the test took place in an operating room. The cameras were attached to the robot, with the developed attachments, and placed in the operating room. The object to be recorded, a plastic upper body with and open chest, was placed in the operating room, see figure 8. To achieve an environment similar as possible to a real surgery, the same lighting was used.



Fig. 8. Filming a plastic heart with the YuMi robot in an operating room.

In total, three videos were recorded with cameras at a distance of 1050 mm from the top of the heart. The focus point was set to 1100 mm, to get the focus in the center of the plastic heart. While the focus point was constant throughout the videos, the point of convergence was changed between the three videos. This led to three different convergence points, presented in table I. In each video, the point of convergence was held constant while the distance between the cameras changed continuously by the robot.

These points were chosen based on the hypothesis that the focus and convergence point should coincide. This meant that the videos were thought to be most comfortable at 1100 mm. In order to test this theory a point of convergence above and underneath the object was also chosen.

TABLE I  
DISTANCES CHOSEN FOR THE POINT OF CONVERGENCE

| Distance (mm) | 800 | 1100 | 1400 |
|---------------|-----|------|------|
|---------------|-----|------|------|

As stated earlier, the point of convergence was held constant in each video as the distance between the cameras changed. The arms of the YuMi robot moved from the shortest distance to the longest. The robot was still for 10 seconds at each distance, allowing the cameras to record a sequence for every distance. For each video 20 different distances were recorded, these are presented in table II.

TABLE II  
DISTANCE BETWEEN TWO CAMERAS

| Distance (mm) | 50  | 70  | 90  | 100 | 110 | 120 | 125 | 130 |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|               | 135 | 140 | 145 | 150 | 160 | 180 | 200 | 220 |
|               | 240 | 260 | 280 | 300 |     |     |     |     |

#### G. Does the solution meet the requirements?

While evaluating this test and viewing the videos recorded, it was concluded that this setup provided videos that were good enough to be viewed by the intended test group. It was also believed that showing these videos to the test group and collecting data regarding their experiences would meet the requirements of this study and provide information on which distance that was experienced to be the best.

#### H. Implementation of the study

With the videos at hand, the study could be conducted. This was done by letting each individual in the test group view the three videos through a VR headset and describe their experience. The study was divided into two parts:

1) *Part one:* While viewing the videos for the first time, the test subject was asked to inform the authors when they thought it felt uncomfortable. This meant when they began to feel nauseous, got an headache or could not force the two pictures together as one. In the videos viewed by the test subjects there was a ruler in the field of view which indicated which distance the sequence was filmed at. This was used to communicate at which distance the test subjects felt uncomfortable.

2) *Part two:* In the second part of the study the test subjects were asked to evaluate how much alike the heart in the videos were to the reality. They viewed the videos in the same way as part one, through a VR headset, and compared it with a plastic model of a heart they had in front of them. They were asked to communicate at which distance they felt it started to look realistic, when it was most accurate (compared to reality), and when it no longer looked realistic. In this way, an interval was given in which the heart looked most like the reality.

In order to get more statistics on which distances the test subjects started to feel uncomfortable at, they were asked to communicate this once again.

## IV. RESULT

### A. The study

The results from the study are presented in the following section for the different distances and points of convergence. The results are separated into two parts; what distance the test group found most comfortable and at what distance they experienced the videos to be most realistic. The test group consisted of 19 people; of which 16 were men and three were women, 17 were engineering students and two studied medicine. All within the age range of 19 to 26.

This is presented in the following tables, where the outer numbers of each interval are the average or median, based on the individual answers. In table III (average) and table IV (median) the results regarding the most comfortable distance is presented. The interval given by trial one is given by the first time the test subjects viewed the videos. The interval in trial two is given by the second time they viewed the videos (part two of the study).

TABLE III  
DISTANCES PREFERRED BY THE TEST GROUP, GIVEN IN MM.  
NUMBERS ARE BASED ON THE AVERAGE.

| Point of convergence | 800    | 1100   | 1400   |
|----------------------|--------|--------|--------|
| Interval trial one   | 52-183 | 50-239 | 54-256 |
| Interval trial two   | 52-171 | 50-256 | 54-247 |

TABLE IV  
DISTANCES PREFERRED BY TEST GROUP, GIVEN IN MM.  
NUMBERS ARE BASED ON THE MEDIAN.

| Point of convergence | 800    | 1100   | 1400   |
|----------------------|--------|--------|--------|
| Interval trial one   | 50-180 | 50-280 | 50-280 |
| Interval trial two   | 50-150 | 50-300 | 50-260 |

In table V (average) and table VI (median) the results regarding the distances which gave the most realistic recreation of the plastic heart are presented.

TABLE V  
DISTANCES WITH MOST LIFELIKE RECREATION OF PLASTIC HEART,  
GIVEN IN MM. NUMBERS ARE BASED ON THE AVERAGE.

| Point of convergence                   | 800    | 1100   | 1400   |
|----------------------------------------|--------|--------|--------|
| Interval                               | 66-113 | 72-141 | 82-157 |
| Distance with most accuracy to reality | 89     | 105    | 108    |

From table V, it can be shown that the intervals for the convergence points 1100 and 1400 are similar to each other, with the difference that the intervals have been shifted about ten millimeters upwards, from 72-141 mm at 1100 mm, to 82-157 mm at 1400 mm. While the interval for 800 mm lies between 66-113 mm. The sizes of the intervals are for convergence point 800 mm; 47 mm, 1100 mm; 69 mm and for 1400; 75 mm.

TABLE VI  
DISTANCES WITH MOST LIFELIKE RECREATION OF PLASTIC HEART,  
GIVEN IN MM. NUMBERS ARE BASED ON THE MEDIAN.

| Point of convergence                   | 800    | 1100   | 1400   |
|----------------------------------------|--------|--------|--------|
| Interval                               | 70-110 | 70-140 | 90-140 |
| Distance with most accuracy to reality | 90     | 100    | 110    |

Table VI shows the intervals based on median. In this table the intervals for the different convergence point are as following; for convergence point 800 mm the interval is 40 mm wide, for 1100 mm it is 70 mm and for 1400 mm it is 50 mm.

### B. The prototype

The finished prototypes developed for the hands of the YuMi robot are shown in figure 9. One for the left hand and a mirrored version for the right hand. The thickness for the prototypes were set to 8 mm. The four holes are 3D-printed with a diameter of 4 mm, then threaded to a diameter of 6 mm to fit the screws that the YuMi robot tool already uses. The three smaller holes are to fix the camera on the prototypes. These were 3D-printed with a diameter of 2 mm to fit the cameras.



Fig. 9. The 3D-printed prototypes

In figure 10 the cameras are attached to the prototypes.



Fig. 10. The 3D-printed prototypes with the cameras attached

Figure 11 shows the final setup in the operating room, where YuMi robot is hanging from a stand with the prototypes and cameras attached.



Fig. 11. The YuMi robot with the cameras attached to the finished prototypes.

## V. DISCUSSION

In this project, a study was designed and conducted. Designing the study was done in an iterative way. This means that every idea was discussed, tested and evaluated in order to improve the study. Looking back and analyzing the design method, it seems like the final solution was indeed the best one. The fact that the videos were recorded with high accuracy, meant that any source of error regarding the measurements and settings, could be eliminated. Letting the test subject view the recorded videos and somehow quantifying their experience was problematic. But in the end, it was proven that the design chosen for the study actually could provide the authors with viable results. However, while analyzing the results it is important to know that the test subjects had been looking through the VR headset for about 30 minutes while giving the last answers (when it became uncomfortable to watch the video with 1400 mm). Using a VR headset can be demanding. There is a chance that the the answers would be different if the videos were viewed in a different order. The fact that the test subject felt tired at the end of the study could indicate that the results would have been different than if they were alert the whole time. It is also difficult to assess whether one perceives depth correctly, which can be a source of error in this study.

In general, it is believed that the results in this study are more accurate when they are based on the median than the average. This is because there were some sources of error that possibly affected the results. These errors comes from people with stereo blindness and people who easily get motion sickness. Looking at the videos, the people with stereo blindness never experienced depth perception and the people with motion sickness could not watch the videos for more than a few minutes before saying it was uncomfortable. While basing the results of the study on the average, these sources of errors probably alter the average in different ways. By looking at the median, the errors can more easily be excluded.

It also important to note that the requirements set for the study, were not fully met. A diverse population was wanted, but not achieved. The study ended up with a majority of men and engineering students, who were all in the same age range. This might have affected the study in ways that can not be determined at this point. In future studies, a more diverse population is needed.

Based on the background research, it was guessed that the best point of convergence would be 1100 mm, since this is the closest to the heart and where it coincides with the focus point. Having the point of convergence and the focus point at the same distance is preferred, since this condition is most like the reality considering the fact that our eyes accommodate themselves to have focus on the convergence point.

While viewing the results it seems like it became uncomfortable earlier for 800 mm than 1100 and 1400 mm. The reason for this might be that that when looking at the videos with 800 mm point of converge, the point of convergence is lying above the focus point. This means that the two separate images that are viewed by the test subject is being put together in an incorrect way in the brain. The video filmed by the left

camera meets the video filmed by the right camera in the point of convergence. Since this point lies above the focus point and the object observed, the videos will be centered around a point beside the object. This means that the right camera is aimed slightly to the left of the heart and the left camera is aimed slightly to the right. This is similar to when a person is cross eyed. When these separate videos are being combined in the VR headset and viewed by someone, it is difficult for the brain to manage and to generate a 3D picture. This error increases with the distance between the cameras, and it becomes more challenging to view the videos. Since the conditions at 800 mm differs so much from how one views objects in real life, it was not a surprise that these results were received.

The difference between 1100 mm and 1400 mm is not as significant as compared to 800 mm. This can be seen by looking at table IV where it is clear that the test subjects felt it to be uncomfortable at approximately the same distance for 1100 mm and 1400 mm.

When looking at 1400 mm, the conditions also differs from reality, but not in the same extreme way that for 800 mm since the images are not crossed. This is believed to be the reason why it was comfortable for many people to view the videos at 1400 mm.

In order to determine which point of convergence was the best, considering recreating the most realistic videos, one will have to look at table VI. It appears that it was possible to recreate a video with good depth perception and realistic anatomy in all three points of convergence. This means that no matter what point of convergence one chooses, it will always give videos that resembles the reality well.

If one had to choose one specific point of convergence, it would probably be 1100 mm since the interval for this is somewhat wider. It is important to take this in consideration since the future users of this solution will have different preferences and in order to meet these preferences, it might be wiser to choose the point of convergence that gives a wider interval.

The hypothesis before conducting the study was that the optimal distance would be 122 mm, regarding most accurate recreation of reality and for the video to be comfortable. While viewing the results it appears that this hypothesis may not be validated. While looking at table VI it can be seen that the optimal distance was somewhere between 90 mm and 110 mm for the different points of convergence, which is smaller than 122 mm.

This project have been a part of a bigger project (Surgeons Perspective). The next move is to conduct another, more extensive study, in order to statistically determine the best distance. With the results from this study, the distances between the cameras have been narrowed down drastically, which means that a more specific study can be conducted. Since they are interested in an interval in which the videos are comfortable and most realistic, it is not important for this study to give a definitive conclusion. However, in this study it has been identified that the optimal distance between cameras is not a definitive distance, but lies within the range of 70-140 mm (for 1100 mm) and 90-140 mm (for 1400 mm), and that the point of convergence should be close to the object you are filming.

### A. Sustainable development

By educating medical students, as well as fully trained surgeons, with cardiac surgeries in VR the hope is to minimize mistakes made and injuries in health care. In this way, more patients can be saved and the burden on the health care can be minimized.

### B. Ethics

In general, while recording videos, it is important to have people's consent. Regarding this project, the next step is to record real cardiac surgeries on real life people. Doing so, one have to have an Ethical Review approved. In the project, the Surgeons Perspective, this has already been applied for and approved. The Ethical Review allows Kiet Tran and his associates to stop a surgery for ten minutes and record the thorax during this time if the patient or their guardian has given consent.

## VI. CONCLUSIONS

It seems like the study in this project was designed and executed in a way that gave results that were valid enough to draw some conclusion about the hypothesis. An optimal distance could not be concluded, but a range of acceptance was found instead. The range that seem acceptable for comfort and most realistic view in VR lies within 70 mm to 140 mm with a convergence point of 1100 mm. However, the result varies both individually and between individuals. Many test subjects found the convergence point of 1400 comfortable and realistic as well. However, in order to draw a definitive conclusion, a more extensive study is needed with this as a foundation for further work.

## VII. POSTSCRIPT

First, we would like to thank Kiet Tran, Måns Magnusson and Maj Stenmark for all of their help and involvement in the project. Without them we would not have been able to do this. Secondly, we would like to thank all of the persons who volunteered in our study. The study would not have been possible to execute without them.

Both authors have participated equally in this project and contributed to the report. They have worked along side throughout the process.

## REFERENCES

- [1] ABB. *The YuMi robot*, 2019, Available: <https://new.abb.com/products/robotics/industrial-robots/irb-14000-yumi>, Retrieved 2019-05-20
- [2] Arnett, M. Science Buddies. *Exploring the Depths-of Vision!*, 2019. Scientific American. Available: <https://www.scientificamerican.com/article/exploring-the-depths-of-vision/>, Retrieved 2019-05-22
- [3] Kersten, D. Legge, G. E. *Convergence Accommodation*. Department of Psychology, University of Minnesota, Minneapolis, 1982.
- [4] Kiet Tran; Attending physician in Pediatric Cardiac Surgery at Lund University Hospital, 2019.
- [5] SARAFun project, *Measurement description for the Yumi robot*, 2018. Available: <http://archive.control.lth.se/Research/Robotics/SARAFun.html?fbclid=IwAR376KnNCoSsxv5cA6nJedIcgSSVZsFsaf0biv2k8HIgc49xFv3wC6HWYBk>, Retrieved 2019-04-20
- [6] Science buddies. *The Engineering Design Method*. Available: <https://www.sciencebuddies.org/science-fair-projects/engineering-design-process/engineering-design-process-steps>, Retrieved 2019-03-11
- [7] Se-Bra Scandinavia; 2019.
- [8] Vision team. *What is a stereo vision camera? — Camera blog*. 2018. E-consystems.com. Available: <https://www.e-consystems.com/blog/camera/what-is-a-stereo-vision-camera/>, Retrieved 2019-05-16
- [9] WhatIs.com. *What is Field of View (FOV)? - Definition from WhatIs.com*, 2019, Available: <https://whatistechtarget.com/definition/field-of-view-FOV>, Retrieved 2019-03-10
- [10] Wikipedia. *Binocular vision*, 2019, Available: [https://en.wikipedia.org/wiki/Binocular\\_vision](https://en.wikipedia.org/wiki/Binocular_vision), Retrieved 2019-05-16
- [11] Wikipedia. *Stereoblindness*, 2019, Available: <https://en.wikipedia.org/wiki/Stereoblindness>, Retrieved 2019-05-14
- [12] Wikipedia. *Stereopsis*, 2018, Available: <https://sv.wikipedia.org/wiki/Stereopsis>, Retrieved 2019-05-16
- [13] Wikipedia. *Focal length*, 2019, Available: [https://en.wikipedia.org/wiki/Focal\\_length](https://en.wikipedia.org/wiki/Focal_length), Retrieved 2019-05-16
- [14] Ximea. *3D step files and dimensional drawings of PCIe cameras*. Available: <https://www.ximea.com/support/attachments/download/8897/MX050MG-SY-X2G2-FV.pdf>, Retrieved 2019-04-20

# Purification of free plasma hemoglobin using affinity chromatography

Jessica Kågeman (BME16), Mia Cicovic (BME16)

**Abstract**—Hemolysis clinically refers to a decreased lifespan of erythrocytes but practically means an increase in destruction of these cells. Hemolysis results in harmful consequences for the patient but can also interfere with analysis of whole blood and plasma as free hemoglobin is released from the erythrocyte. It is therefore desirable to remove free hemoglobin. A possible method to do so is using affinity chromatography via column purification. In order to bind free hemoglobin two ligand options with strong affinity for hemoglobin were tested; haptoglobin (Hp) and IsdB. Two columns were prepared and tested according to protocols where the two ligands first were bound to CNBr-activated Sepharose. The two columns were both loaded with a highly concentrated human HbA in PBS solution and a solution of low concentration human HbA and plasma in PBS. Flow through was collected and the columns were then eluted. All samples were analyzed using ELISA. The results showed that the IsdB failed to bind effectively to the Sepharose and also did not bind as expected to the HbA. This could be due to either the human factor, inexperience in lab environment, occasional dryness of the column, old IsdB or inaccurate binding conditions. The column containing Hp did however perform better in both binding to Sepharose and binding HbA and was deemed the better option. This proves the concept of using affinity chromatography when purifying plasma.

## I. INTRODUCTION

### A. Hemoglobin

**H**EMOGLOBIN, also known as Hb, can be found in all red blood cells, also called erythrocytes. The protein has a ratio of 200-300 million per erythrocyte and its main function is to transport oxygen,  $O_2$ , and carbon dioxide,  $CO_2$ . There are three main forms of the protein, HbA1 ( $\alpha_2\beta_2$ ), HbA2 ( $\alpha_2\delta_2$ ) and HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ).



Fig. 1: Shows the structure of hemoglobin. Image is from OpenStax College [1].

These contain two pairs of globin chains that could either be  $\alpha$ ,  $\gamma$  and  $\delta$ , as seen above and in figure 1. Each chain binds an oxygen binding heme group. HbA is the most important version as it makes up approximately 97% of an adult persons total Hb. The remaining 3% is made up of small quantities of HbA2 and even smaller quantities of HbF. [2]

### B. Hemolysis

Hemoglobin is normally enclosed in the erythrocyte but if the erythrocyte could degrade abruptly or if the membrane would be impaired the hemoglobin would leak out into the blood plasma. This phenomenon is called hemolysis. In clinical contexts this refers to the condition where the lifespan of the erythrocytes is decreased under normal values, i.e. 110-120 days. In healthy individuals the concentration of free plasma hemoglobin ranges between 6 and 34 mg/L. In chronic hemodialysis patients concentration levels are around  $196 \pm 43$  mg/L and increased to  $285 \pm 109$  mg/L when undergoing hemodialysis treatment [3]. The body's own response to free hemoglobin is to release a plasma protein called haptoglobin, Hp, that has the ability to bind the molecule irreversibly. These hemo-haptoglobin complexes are then collected and processed by the functional tissue in the liver via the Hp-CD163-HO-1 pathway. The complex binds to the CD163 receptor on a macrophage and experiences lysosomal breakdown in the cell. The heme is converted into biliverdin which then converts into bilirubin and is transported to the liver for excretion via the bile [4]. However, the amount of haptoglobin is limited which means that the amount of free hemoglobin could exceed it and result in serious consequences that are discussed in section D. [2]

### C. Reasons for hemolysis

The cause for hemolysis in a patient could be either innate or acquired. The innate causes refer to genetic defects that result in membrane defects, enzyme defects or structural defects [5]. Examples of genetic illnesses are thalassemia and sickle cell disease. Acquired hemolysis is caused by flaws in the immune system or other rather specific reasons. The first refers to autoimmune diseases or reactions to certain pharmaceuticals. Other reasons could be infectious diseases or the exposure to toxic chemicals. There could also be a mechanical reason as to why erythrocytes break such as an implanted mechanical heart valve. Most of these conditions lead to an increased phagocytosis and destruction of faulty erythrocytes by macrophages. This destruction is mostly located in the spleen, called extravascular hemolysis, but could also happen in the vessels, called intravascular hemolysis. [6] [2]

Hemolysis can also occur in a lab environment when dealing with whole blood and plasma samples. Apart from hemolysis in the patient the reason could be improper treatment of the

Submitted: May 24, 2019

E-mail: {je1284ka-s@student.lu.se, mi0454ci-s@student.lu.se}

Supervisor: Emanuel Smeds, Department of Clinical Sciences Lund (IKVL)  
Division of Infection Medicine, Lund University

samples such as mistakes during the collection of samples, carelessness during the handling of samples, transportation or incorrect storage.

#### D. Consequences of hemolysis

The direct consequence of hemolysis is hemolytic anemia, which means a decrease in the amount of functioning erythrocytes in the blood. This leads to a reduced transportation of oxygen and carbon dioxide molecules in the body which provides symptoms such as fatigue, dizziness, headache, fainting and uneven heart pace. Intravascular hemolysis leads to the leakage of free hemoglobin into the bloodstream. This triggers specific pathophysiological signalling pathways that have harmful consequences. Acute and chronic vascular diseases, inflammation, thrombosis and decreased kidney function are a few examples. One of the central properties of the free hemoglobin is that it can move freely to and through the extravascular tissue due to its small size and therefore cause oxidative damage in a bigger area. Reactive oxygen radicals are created and initiate a cascade of other radical molecules that affect and harm surrounding tissue. [7] [6] [8]

As for the hemolytic samples the free hemoglobin is an error source as it creates a disturbance and interferes with the analysis method. This increases the risk of injury and infection in addition to a prolonged hospital stay for the patient. It is estimated that approximately 40-70% of all pre-analytic laboratory errors that result in rejection of test results are due to hemolytic samples [9]. This is especially a problem during proteomics studies since a lot of free hemoglobin could hide the presence of low concentration proteins. It poses a problem for example when identifying specific diseases by detecting potential biomarkers [8]

#### E. Treatment of hemolysis

As hemolysis often is a secondary symptom or result of some other disease or medical condition the clinical treatment of hemolytic anemia varies depending on the cause and where the breakdown is located. To restore the balance in the body treatment of the underlying cause is therefore prioritized rather than removing the free hemoglobin. However there is one method that treats the hemolysis directly, plasmapheresis [10]. It is used to separate erythrocytes from plasma by extracting blood from the body. The erythrocytes are then returned to the body, in contrast to the plasma which is replaced by a saltwater solution with albumin or plasma from a donator [11]. The downside to this treatment is that it needs to be done in several intervals over a couple of days and that it is very expensive, with a direct cost of 125 000 SEK/treatment. [12]

#### F. Affinity chromatography

Another way of separating substances is *affinity chromatography* using column purification. This is a method that makes use of a column to remove a specific substance from a mixture, see figure 2 [11]. The column is made up of a cylinder containing a material that composes the stationary phase. This phase is made up of a gel matrix and a ligand that has a strong

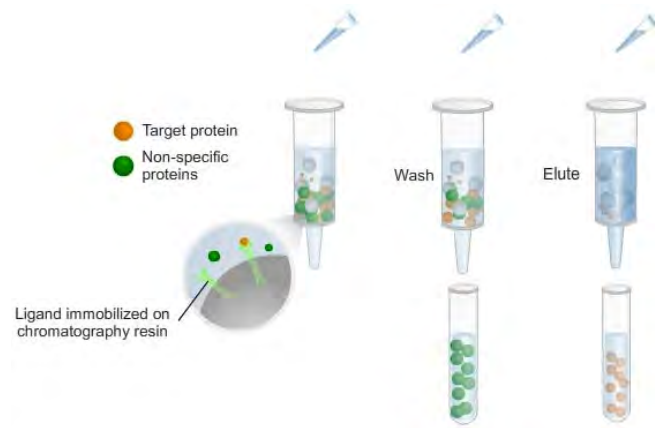


Fig. 2: Affinity chromatography. Column loaded with mobile phase, washed and eluted. Figure sourced from and its fair use approved by Thermo Fisher Scientific [13].

affinity for the substance that is to be removed. The mobile phase containing the selected substance is poured through the stationary phase and the substance is bound to the ligand while the rest of the phase continues through the column. While it appears an easy solution the question of the most appropriate ligand takes many aspects into consideration. It needs to have high affinity for hemoglobin and also be able to bind strongly to the gel matrix as well as not binding other proteins. [13].

There are several published studies relating to affinity chromatography where haptoglobin was successfully used as a ligand to bind hemoglobin. Two examples are *Tsapsis et al (1980)* [14] and *Klein et al (1973)* [15]. The well known bacteria *Staphylococcus aureus* is also a possible candidate for binding hemoglobin. It requires iron to grow and can express a receptor called IsdB when cultured in iron deprived environments. This receptor can bind hemoglobin and remove the heme group for transport into the cytoplasm. The receptor has a strong affinity for hemoglobin which could be taken advantage of in affinity chromatography [16]. Currently it seems that there is only one product on the market that utilizes column purification to remove hemoglobin from plasma. It is called HemogloBind [17]. The manufacturers argue that it has high specificity for hemoglobin and can remove it from many different species. They use a polyhydroxy and polycarboxyl acid network as a stationary phase and use elastomeric polyelectrolytic surfaces to bind proteins. This product is used in research laboratories but not clinically, which means that it does not address the problem that exists in clinical environments.

#### G. Aim

Our study investigates an alternative method for removal of free hemoglobin, more specifically free HbA, using column purification. Two different ligand will be tested and our aim is to prove a concept that opens up for further research. The body's own hemolysis response protein haptoglobin will be tested as a possible ligand as well the receptor IsdB. The aim is to create a method that is efficient, inexpensive and can be

applied both in clinics and in laboratories. We believe that affinity chromatography using one of the two ligands will answer to these aims.

To investigate the capacities of the three possible options test samples were prepared according to protocols, which will be described in the Method. The results from each of the ligands' capacities will be shown in Results, and they will be compared both to each other and previously published results in the Discussion. The last section will also take other factors into account, such as possible sources of error as well as the cost and sustainability.

## II. METHOD

The methods for preparing and testing the three different options was mainly based on the work by *Tsapis et al.* [14] and the instruction manual provided by the manufacturer of the stationary phase. The work by *Kavran and Leahy* [18] [19] was also included in the procedure. The methods used for IsdB and haptoglobin were almost identical, with only the elution process as a difference.

### A. Preparation of hemoglobin solution

Two HbA solutions were made, one with a high concentration diluted in PBS and one with a lower concentration diluted in PBS and plasma (5%). PBS is a pH-adjusted blend of phosphate buffers and saline solutions that sustains physiological pH and balance. For a highly concentrated HbA solution with PBS, 0.29 ml of concentrated human HbA (49 mg/ml) was added to 7.5 ml of PBS to produce a final concentration of 1.84 mg/ml. For the lower concentrated HbA solution with PBS and plasma 0.03 ml of concentrated human HbA (49 mg/ml) was added to 10 ml of a PBS and plasma solution. This solution consisted of 5% plasma and 95% PBS. The final concentration was 0.15 mg/ml.

### B. IsdB

Frozen IsdB solute was removed from the freezer and thawed. It was originally produced in *E.coli* and contained amino acids 120-459 of the original IsdB protein. A quantity of 1.43 g freeze dried stationary phase, in our case CNBr-activated Sepharose, was suspended in 25 ml of 1 mM HCl in a 50 ml tube. The mixture was incubated on a nutator for 2 h in 4°C. After the swelling of the Sepharose, the solution was divided evenly into four different 15 ml tubes and centrifuged at 1000xg for 5 minutes. The supernatant was removed and the four divided Sepharose mixtures were pooled.

A volume of an IsdB solution was calculated to correspond to 150 nmol. The IsdB solution had a concentration of 1.51 mM and a volume of 1.0 ml was added to the Sepharose along with 20 ml of coupling buffer (100 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 500 mM  $\text{NaCl}$ , pH 8). The mixture was incubated on a nutator overnight. During the next session the mixture was divided into four 15 ml tubes and centrifuged at 1000xg for 5 minutes and the supernatant was removed and saved in eppendorf tubes. These samples were later used to decide the binding capacity of IsdB to Sepharose.

Excessive ligands were washed out by adding 6.25 ml coupling buffer to each tube and incubating on a nutator for 15 minutes in room temperature. Afterwards the tubes were centrifuged at 1000xg for 5 minutes and the supernatant was removed and saved. The final step was to add 10 ml blocking buffer (100 mM  $\text{Tris}$ , pH 8) to each tube and incubate on a nutator overnight in 4 °C. A final centrifugation was made at 1000xg for 5 minutes and the supernatant was removed and saved.

The final step in the preparation of the Sepharose-IsdB matrix was washing it using buffers with alternating pH. First 10 ml of a low pH wash buffer (100 mM  $\text{NaOAc}$ , 500 mM  $\text{NaCl}$ , pH 4) was added to each tube and the mixture was centrifuged at 1000xg for 5 minutes. The supernatant was removed. Then the same steps were done but with a high pH wash buffer (100 mM  $\text{Tris}$ , 500 mM  $\text{NaCl}$ , pH 8) instead. This method was repeated an additional two times. The final matrix in the tubes was then suspended by adding 10 ml of storage buffer (0.02% (w/v)  $\text{NaN}_3$  suspended in PBS) to each tube. The tubes were centrifuged at 1000xg for 5 minutes and the supernatant was removed. Finally 2 ml of storage buffer was added to each tube and they were then pooled and stored in a closed column at 4°C.

To prepare the matrix for testing, an additional 25 ml of storage buffer were added to the column and allowed to run through. A volume of 2.5 ml of HbA solution in PBS and plasma was added to the matrix followed by a wash of 50 ml of PBS, and the flow through was collected and analyzed using ELISA.

To elute the bound hemoglobin an elution buffer (100 mM  $\text{Glycine}$ , pH 2.7) was used. First a selection of 10 eppendorf tubes were prepared and 200  $\mu\text{l}$  neutralization buffer (1 M  $\text{Tris}$ , pH 9) was added to each one. A volume of 10 ml elution buffer was added to the column and the flow through was collected in the tubes. The mixture was immediately stirred to neutralize the solution. This was repeated 5 times and the samples were later analyzed with ELISA. Lastly the column was washed with 10 ml of neutralization buffer and 50 ml of PBS buffer. The matrix was then stored in storage buffer at 4°C.

The same procedure was performed using concentrated HbA in PBS instead.

### C. Haptoglobin

The method for preparing and testing the Hp column was executed similarly as for IsdB, with the exception of the column elution in order to break the irreversible HbA-Hp complex. From a solution containing Hp (69 mg/ml) 0.19 ml was added to the Sepharose. When washing with alternating pH the supernatant was pooled and stored in a 15 ml tube instead of eppendorf tubes.

The first step to removing the bound HbA was to remove the heme groups. To do this 50 ml of elution buffer (0.02% (v/v)  $\text{HCl}$ , 0.98% (v/v)  $\text{Acetone}$ ) were added in aliquots and the flowthrough was collected in tubes. The color change was observed. To remove the globin chains 50 ml of formic acid (5%) was added in aliquots. Similarly to IsdB the column was

washed with neutralization buffer and 50 ml of PBS before storing in storage buffer.

#### D. Analysis method

The samples were analyzed using ELISA at either 280 nm or 415 nm. The wavelength 280 nm was used for globin chains in the Hp-elution with formic acid and 415 nm was used when analysing the concentration of hemoglobin or heme groups.

An amount of 100  $\mu\text{l}$  of each sample collected from the column was added to a well on an ELISA plate, figure 3, and its position was noted in order to correlate the result with the specific sample. The concentrations of each sample were calculated with ELISA. This was achieved by creating a dilution series and a blank sample with the buffer used in the solution.



Fig. 3: ELISA plate with wells. Dilution series for HbA in PBS shown at the top.

The dilution series is a substance specific curve with known concentrations that is used to calculate the concentrations for each sample. The curve was made by adding a series of decreasing concentrations containing the protein to be investigated to each plate. The first concentration in the series was higher than that of the solution added to the column. It was diluted with a factor two multiple times.

The calculation for determining the binding capacity of the ligand to Sepharose is presented in equation 1.  $C_0$  is the original concentration of the added HbA in the coupling buffer and  $C$  is the accumulated concentration of the HbA that had not bound.

$$\text{Binding capacity} = \frac{C_0 - C}{C_0} \quad (1)$$

For the samples containing both PBS and plasma the blank sample consisted of said substances and for the samples containing only PBS apart from HbA the blank was made up of PBS. For the elution samples the blanks also consisted of PBS, despite the samples containing acetone, HCl, formic acid or glycine. The samples that were analyzed to determine how well Hp and IsdB had bound to Sepharose were calibrated using a blank containing coupling buffer.

### III. RESULTS

Our results show that the column with haptoglobin as a ligand had a better Sepharose binding effectiveness than the column with IsdB as a ligand. This is shown in table I. The amount of bound haptoglobin to the Sepharose beads is more than double the amount of bound IsdB molecules.

| Ligand      | Percentage bound to Sepharose |
|-------------|-------------------------------|
| IsdB        | 31,0%                         |
| Haptoglobin | 73,4%                         |

TABLE I: Table presenting a comparison between the two ligands' binding capacities to Sepharose

#### A. IsdB column

When loading the IsdB column with concentrated HbA in PBS it turned bright red. However as the column was washed with PBS the red color slowly faded into an orange one, and later turned nearly white, see figure 6a. This was all prior to elution of the column. When analyzing the samples it showed that the first 10-15 samples containing the collected flowthrough had a high concentration of HbA. The later samples showed a decline in concentration. This can be seen in figure 4. As for the loading of the HbA in PBS and plasma the color was not as strong, due to a lower concentration, but once again it faded as more PBS was added. This can be seen in figures 5 and 6b. A similar early peak in concentration can be seen.

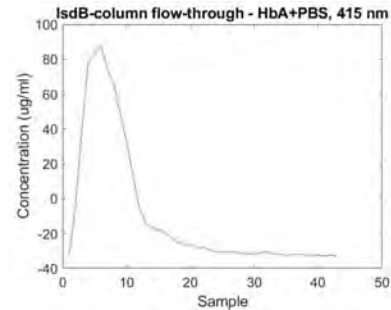


Fig. 4: Collected flow through in fractions 1-43 after loading the IsdB column with concentrated HbA in PBS.

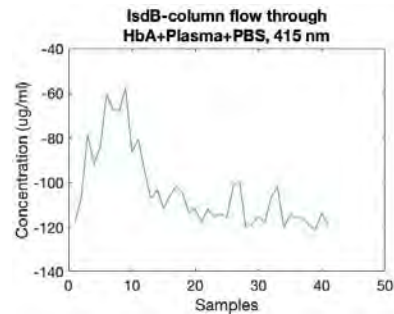
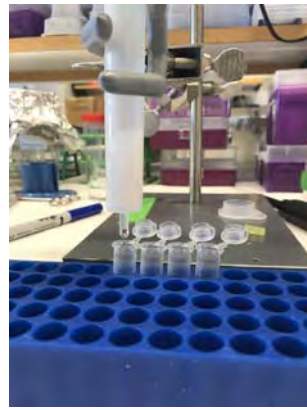


Fig. 5: Collected flow through in fractions 1-43 after loading the IsdB column with HbA in PBS and plasma.



(a) IsdB column loaded with concentrated HbA and PBS solution after washing with 50 ml of PBS.



(b) IsdB column loaded with HbA, PBS and plasma solution after washing with 50 ml of PBS.

Fig. 6

The elution of the IsdB column changed the colour of the column from very slightly pink to white as soon as the process was started. The results are shown in figure 7 and 8. There is a slight increase in concentration during the first 1-10 samples with a following decrease and stationary phase.

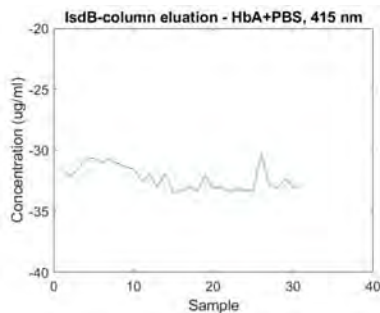


Fig. 7: Elution of the IsdB column after loading with HbA in PBS.

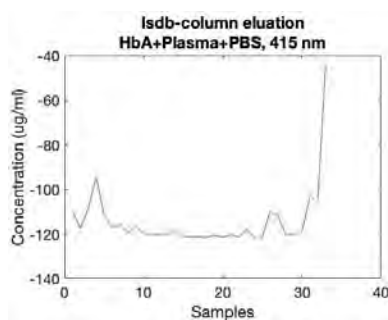


Fig. 8: Elution of IsdB column after loading with HbA in plasma and PBS.

### B. Hp column

When the Hp column was loaded with concentrated HbA in PBS the solution's bright red color stayed in the column and

remained so throughout the washing with additional PBS, see figure 11a. The analyzed samples of the collected flowthrough displayed an almost constant concentration, as can be seen in figure 9. The only exception are two outliers around sample 30 and 40. Similarly, the faint red color of the HbA, plasma PBS solution stayed in the column when it was loaded with this solution and was constant throughout the following wash, figure 11b. The belonging samples' analysis is showed in figure 10.

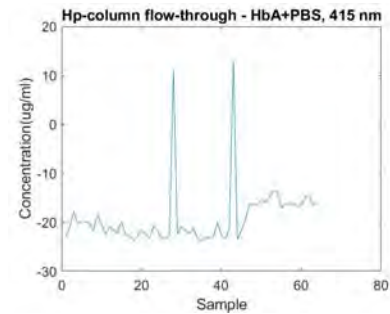


Fig. 9: Collected flow through in fractions 1-53 following the loading of the Hp column with HbA in PBS.

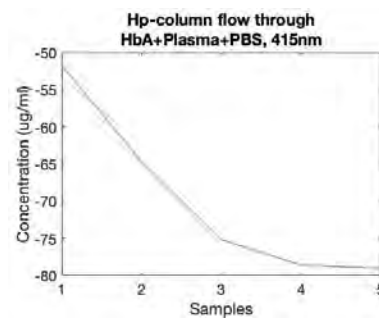
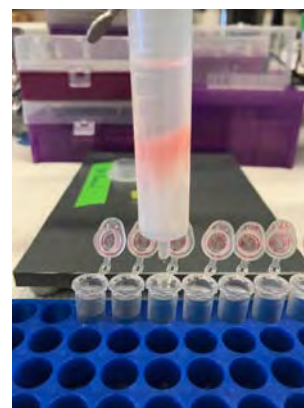
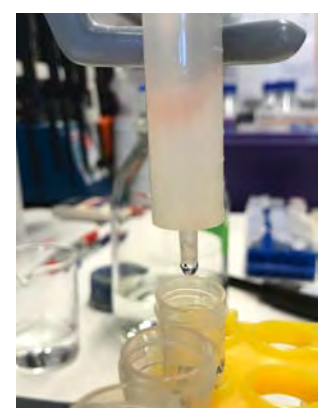


Fig. 10: Collected flow through in fractions 1-5 following the loading of the Hp column with HbA in plasma and PBS.



(a) Hp column loaded with concentrated HbA and PBS solution after washing with 50 ml of PBS.



(b) Hp column loaded with HbA, PBS and plasma solution after washing with 50 ml of PBS.

Fig. 11

As the Hp column was loaded with the first elution buffer of acetone and HCl the heme groups appeared to move down through the column and out of it as well as turning into a more brown color, see figure 14. The results for the analysis of the elution samples are shown in figure 12 for concentrated HbA in PBS and figure 13 for HbA in plasma and PBS. Both demonstrate a concentration peak during the first 10 samples which later declines and remains on a fairly constant level around 40  $\mu\text{g/ml}$ . For concentrated HbA in PBS there are some single outliers.

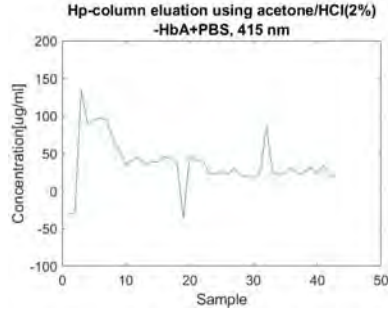


Fig. 12: Elution of the Hp column using Acetone/HCl(2%) buffer after loading with HbA in PBS.

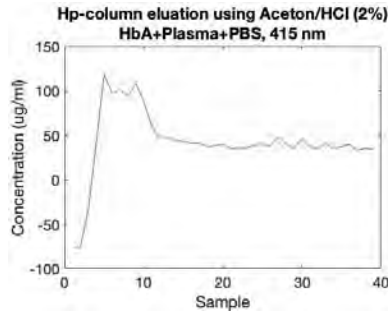
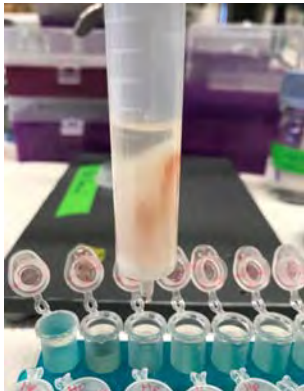
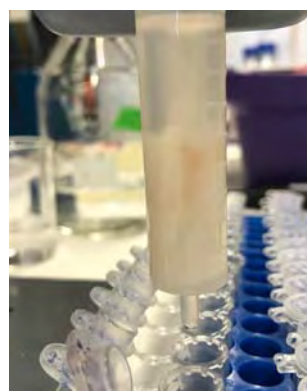


Fig. 13: Elution of Hp column using Acetone/HCl(2%) buffer after loading with HbA in plasma and PBS.



(a) Hp column loaded with concentrated HbA and PBS solution after adding 5 ml of elution buffer (Acetone/HCl(2%)).



(b) Hp column loaded with concentrated HbA, PBS and plasma solution after adding 5 ml of elution buffer (Acetone/HCl(2%)).

Fig. 14

Following the elution with Acetone/HCl(2%) buffer the elution with formic acid (5%) was initiated to remove the globin chains. The results of the analysis is shown in figure 15 for concentrated HbA in PBS and in figure 16 for HbA in plasma and PBS. Both graphs display a decline in concentration as the elution progressed. The load of concentrated HbA in PBS had one outlying value.

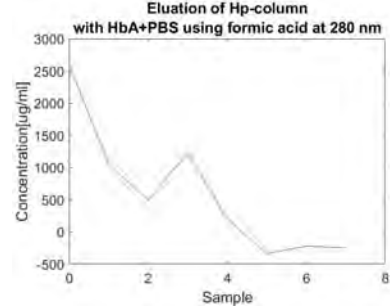


Fig. 15: Elution of Hp column using formic acid (5%) buffer after loading with HbA in PBS.

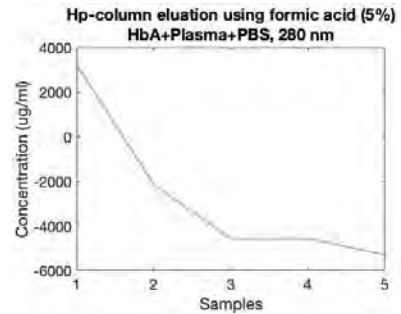


Fig. 16: Elution of Hp column using formic acid (5%) buffer after loading with HbA in plasma and PBS.

### C. Cost

The initial cost of creating a Hp column of 5 ml is estimated to 26 000 SEK, see table II.

|                         |             |
|-------------------------|-------------|
| Cost of haptoglobin     | 2000 SEK/mg |
| Cost of Sepharose       | 267 SEK/g   |
| Total cost of Hp column | 26 181 SEK  |

TABLE II: Costs for 5 ml Hp column

## IV. DISCUSSION

### A. Column Performance

From our figures and tables it is clear that the Hp column performed better in all aspects. This has great impact on all results and comparisons. As to why the binding to Sepharose was so low for IsdB there could be many possible reasons where human factor, inexperience in lab environment, occasional dryness of the column, old IsdB or inaccurate binding conditions could be examples.

The high binding capacity of Hp to Sepharose meant that more of the added HbA could be bound. In the study by

*Tsapis et al.* [14] a binding ratio of 2/3 was achieved. This was exceeded in this trial reaching a level of 73,4%. However, some of the bound molecules might not have bound correctly or strong enough, thus being washed out during later steps of the preparation or not being able to bind HbA. This means that the actual binding capacity possibly is lower than the calculated percentage. This was taken into account by adding an amount of HbA that left the column with an excess of active Hp sites.

The binding capacity of Hp to Sepharose is shown in figure 11 and figure 9 where the bright red color of HbA stays in the column and the flow through concentration stays at a rather constant level implies that nothing is washed out. However, when the load of HbA in plasma and PBS was introduced into the column the results in figure 10 do not comply with figure 9. There is a constant decline and since the load was a mixture of both plasma and HbA it is hard to tell which protein is decreasing. Outliers can be neglected since they are composed of single outlying values. The negative concentrations in both figures generally indicate that there is a lower concentration in the sample washed out than in the blank used. This is not a surprise for the HbA and plasma load since the blank used was a mixture of the original concentrated plasma and PBS. Consequently, the washed out fluid could not have had a higher concentration than that. However, the negative values in the HbA load are not as plausible since the blank used was PBS. It indicates that there must have been a problem with either the blank or samples. As this is a problem throughout the whole step the general shape of the curve is assumed to be accurate.

The first step of the elution of both loads went successfully as seen in figures 12 and 13, with high values in the first samples indicating an elution of HbA and a following decrease and steady state around 40  $\mu\text{g/ml}$ . The threshold could be explained by the acetone/HCl buffer that was present in the solution but not used as blank. The second step of the elution again resulted in similar figures 15 and 16, with a steady decline implying that proteins were eluted. The very high concentrations could again be explained by the lack of formic acid in the blank sample. Furthermore, a possible insufficient elution in the first step could imply that there were still heme groups left that increased the concentration.

The IsdB column did not display as consistent results as the Hp column, which can be explained by the poor binding to Sepharose. Figures 4, 5 and 6 indicate that most, if not all, HbA was eluted during the washing since both concentration curves display an early peak and following decline as well as a significant color change from bright red to lightly pink. The unevenness of figure 5 is most likely from interference caused by plasma proteins. The following elution, figures 7 and 8, show a slight increase during the first 10 samples implying that some IsdB bound to the column but that most had not.

### B. Sustainability and ethics

The Hp is primarily derived from human plasma, which raises the question of how plasma should be collected and who will provide it. It is important that the plasma is ethically sourced so that it comes from voluntary donors. Buying blood

and plasma is a tested method that still occurs in some countries, but has many drawbacks. It could result in an exploitation of people in socioeconomically poor conditions if they become dependent on selling blood as a source of income. It could also decrease the quality and access to blood and plasma as people tend to be less honest with increasing dependence and the principle of supply and demand. [20]

As many of the chemicals are either very acidic or basic it is of high importance how they are managed to prevent environmental damage. There needs to be standards set in place for the handling of the columns as well as the eluted liquids. To increase environmental sustainability the column should be able to be reused on the same patient without much change in binding capacity and columns that no longer serve their purpose should be recycled as much as possible and taken care of accordingly.

### C. Clinical relevance and cost

Since both columns are eluted using buffers with low pH this itself may cause damage to the column. It is possible that not only the hemoglobin will be affected but also the ligand and the Sepharose. This could decrease the lifespan of the column if the binding function is affected. Furthermore, elution of the protein might not remove all HbA and therefore less active sites are free to bind HbA during the next use. The amount of times a column can be used before it needs to be substituted decides the lifespan and is essential in estimating the cost of it. However, the actual lifespan of the column cannot be decided from our results since the elution figures for Hp are so strongly affected by the lack of elution buffers in the blank samples. Another contributing cost factor is sterilization that must occur before each new patient. This could be done by radiation treatment or chemical sterilization [21].

For clinical use both the size and production of the column would be on a bigger scale to meet the amount of free HbA during hemolysis as well as the market. A bigger column would however increase the duration for HbA purification and elution which was about 3-4 hours when using our 5 ml column. To reduce the time a development could be introducing a pump. Upscaling would also decrease the cost of each column since the price of components is lower when buying large quantities. It is therefore difficult to conclude whether this method of purification would be less expensive than plasmapheresis or more efficient than HemogloBind based on this proof of concept study.

### D. Suggestions for the future

More time to redo and retry steps in the preparation could provide better final results as well as more time to get used to a laboratory setting. This could have affected the quality of the columns. As the IsdB option was tested first, it is possible that it suffered more errors due to inexperience.

To increase the certainty of the results the blank samples for the samples containing acetone or formic acid should have had acetone or formic acid in them, as well as the blank samples with PBS and plasma could have been without the plasma. The samples from elution with acetone should have

been measured at 380 nm instead of 415 nm, as it is a more optimal wavelength for heme groups.

## V. CONCLUSIONS

In conclusion, both haptoglobin and IsdB showed potential in purifying free hemoglobin in plasma and PBS as well as only in PBS. Problems were encountered when coupling IsdB to Sepharose that affected the rest of the IsdB results making it hard to draw any conclusions about the effectiveness of IsdB as a ligand. Haptoglobin on the other hand showed more promising results with high binding capacity to HbA, proving the concept of using affinity chromatography for purification of free hemoglobin in plasma.

## VI. ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank our supervisor Dr. Emanuel Smeds for the help and guidance in putting together and executing this project as well as Division Head Dr. Bo Åkerström. We are also grateful for PhD students Amanda Kristiansson and Jesper Bergwik for always answering our questions. Special thanks to Dr. Magnus Gram and Niklas Ortenlöf for providing haptoglobin and concentrated HbA.

## REFERENCES

- [1] OpenStax College, "Anatomy & physiology, connexions web site," June 2013. [Online]. Available: <http://cnx.org/content/col11496/1.6/>
- [2] G. Gahrton and G. Juliusson, *Blodets sjukdomar*. Studentlitteratur, 2012.
- [3] M. Hulko, M. Kunz, M. Yildirim, S. Homeyer, O. Amon, and B. Krause, "Cell-free plasma hemoglobin removal by dialyzers with various permeability profiles," *Scientific Reports*, vol. 5, 2015.
- [4] J. H. Thomsen, A. Etzerodt, P. Svendsen, and S. K. Moestrup, "The haptoglobin-cd163-heme oxygenase-1 pathway for hemoglobin scavenging," *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2013.
- [5] J.-O. Jeppson, "Hemoglobinopati," 2019. [Online]. Available: <https://www.ne.se/uppslagsverk/encyklopedi/l%C3%A5ng/hemoglobinopati>
- [6] D. J. Schaer, P. W. Buehler, A. I. Alayash, J. D. Belcher, and G. M. Vercellotti, "Hemolysis and free hemoglobin revisited: exploring hemoglobin and heme scavengers as a novel class of therapeutic proteins," *Blood*, vol. 121, no. 8, pp. 1276–1284, 2013. [Online]. Available: <http://www.bloodjournal.org/content/121/8/1276>
- [7] H. Nilsson-Ehle, "Anemi, allmän utredning," 2019. [Online]. Available: <https://www.internetmedicin.se/page.aspx?id=258>
- [8] L. M. Williams, Z. Fu, P. Dulloor, T. Yen, E. Barron-Casella, W. Savage, J. E. Van Eyk, J. F. Casella, and A. Everett, "Hemoglobin depletion from plasma: Considerations for proteomic discovery in sickle cell disease and other hemolytic processes," *PROTEOMICS – Clinical Applications*, vol. 4, no. 12, pp. 926–930, 2010. [Online]. Available: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/prca.201000054>
- [9] E. J. McCaughey, E. Vecellio, R. Lake, L. Li, L. Burnett, D. Chesher, S. Braye, M. Mackay, S. Gay, T. C. Badrick, J. I. Westbrook, and A. Georgiou, "Current methods of haemolysis detection and reporting as a source of risk to patient safety: a narrative review," *The Clinical biochemist. Reviews*, vol. 37, no. 4, p. 143–151, December 2016. [Online]. Available: <http://europepmc.org/articles/PMC5242478>
- [10] P.-O. Andersson, "Anemi, hemolytisk," 2016. [Online]. Available: <https://www.internetmedicin.se/page.aspx?id=334#>
- [11] Akademiska sjukhuset, "Dialys." [Online]. Available: <https://www.akademiska.se/for-patient-och-besokare/ditt-besok/undersokning/dialys/>
- [12] Socialstyrelsen, "Nationella riktlinjer för vård vid multipel skleros (ms)," 2016. [Online]. Available: <https://www.socialstyrelsen.se/SiteCollectionDocuments/2016-12-1-Halsoekonomiskt-underlag-MS.pdf>
- [13] ThermoFisher Scientific, "Overview of affinity purification," 2019. [Online]. Available: <https://www.thermofisher.com/se/en/home/life-science/protein-biology/protein-biology-learning-center/protein-biology-resource-library/pierce-protein-methods/overview-affinity-purification.html>
- [14] A. Tsapis, N. Hinard, U. Testa, A. Dubart, W. Vainchenker, P. Rouyer-Fessard, Y. Beuzard, and J. Rosa, "Globin-chain affinity chromatography on sepharose-haptoglobin a new method of study of hemoglobin synthesis in reticulocytes, in bone marrow and in colonies of erythroid precursors," *European Journal of Biochemistry*, vol. 112, no. 3, pp. 513–519, 1980. [Online]. Available: <https://febs.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1432-1033.1980.tb06114.x>
- [15] M. Klein and C. Mihaesco, "Affinity chromatography: Specific binding of hemoglobin on agarose linked haptoglobin," *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 52, no. 3, pp. 774 – 778, 1973. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0006291X73910048>
- [16] E. P. Skaar, G. Pishchany, D. E. Heinrichs, J. R. Sheldon, C. F. Dickson, D. A. Gell, M. T. Alam, and T. D. Read, "IsdB-dependent Hemoglobin Binding Is Required for Acquisition of Heme by Staphylococcus aureus," *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 209, no. 11, pp. 1764–1772, 12 2013. [Online]. Available: <https://doi.org/10.1093/infdis/jit817>
- [17] Biotech Support Group, "Hemoglobind™ hemoglobin depletion from hemolyzed serum/plasma," 2019. [Online]. Available: <https://www.biotechsupportgroup.com/HemogloBind-Hemoglobin-Depletion-From-Hemolyzed-p/h0145.htm>
- [18] J. M. Kavan and D. J. Leahy, "Coupling antibody to cyanogen bromide-activated sepharose," *Methods in Enzymology*, vol. 541, pp. 27 – 34, 2014. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124201194000033>
- [19] J. M. Kavan and D. J. Leahy, "Immunoaffinity purification of proteins," *Methods in Enzymology*, vol. 559, pp. 27 – 36, 2015. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0076687914000718>
- [20] E.-L. Grantén, "Att köpa andras blod," june 2012. [Online]. Available: <https://geblod.nu/blodochblodgrupper/att-kpa-andras-blod/>
- [21] S. Ostrove, "[29] affinity chromatography: General methods," in *Guide to Protein Purification*, ser. Methods in Enzymology, M. P. Deutscher, Ed. Academic Press, 1990, vol. 182, pp. 357 – 371. [Online]. Available: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/007668799082031V>

# The Development and Characterization of Curcumin-Infused Silk-Based Lenses

Ruben Bergengrip (BME-16), Pontus Wahlqvist (BME-16)

**Abstract**—Silk is a soft, environmentally friendly and biocompatible material that can be used to create thin, transparent lenses. The purpose of this report is to test if silk-based lenses can be used to administer a drug, and if they are soft enough to be placed on the cornea as an alternate form of ocular medication. This experiment, performed at Kemicentrum in Lund, created lenses by mixing a regenerated silk solution with Laponite, to stabilize the lenses, and a cyclodextrin-bound curcumin solution. The resulting solution was pipetted to create small droplets that dried to form the lenses. For the purpose of this experiment, curcumin was used as a substitute for a drug due to its chemical properties.

The lenses were tested through indentation testing, UV-Vis spectroscopy, liquid chromatography and Fourier-transform infrared spectroscopy. The lenses were found to be transparent, smooth and pliable. The lenses released curcumin primarily in proportion to the curcumin concentration of the lens. The Laponite had some effect on the structure and the mechanical properties, but the effect was not enough to predict future results. The lenses tested were found to be very soft and able to release curcumin; as such, the results are promising for both future research development and future potential applications.

## I. INTRODUCTION

**S**ILK is a substance that, in recent years, has been shown to be exceedingly useful in a variety of fields. One speculative application of silk is that of thin transparent films [1], potentially useful as contact lenses. This report further studies the possibility of using silk based lenses with a focus on developing a method for therapeutic drug delivery.

### A. Ocular Medication

Delivering medicine to the eye is a challenge that is, as of yet, missing an effective and widely applicable solution [2]. Currently around 90 % of all ocular medication is delivered through eye drops [3]. However, they have repeatedly been shown to be a highly ineffective method of drug delivery as a large portion of the drug is washed away by the eyelid or the lacrimal fluid when blinking [3] [2]. To counteract the low absorption, eye drops are required to contain high concentrations of a drug [3]. Furthermore, eye drops have a very short residence time of around 1–3 minutes and require regular redosing, which leads to drug concentrations in the eye being very unstable, varying from high to low concentrations between doses [2].

Researchers have, for a long time, studied the potential of alternative methods of drug delivery to offset the disadvantages

that eye drops bring [2]. One promising solution is the use of therapeutic contact lenses. Contact lenses would allow the drug to have a residence time of around 30 minutes, substantially longer than the 1–3 minutes of the eye drops [2]. As an effect of the longer residence time, the use of therapeutic contact lenses has been shown to increase the bioavailability of a drug from 5 % up to 50 % [3].

### B. Silk

Silk obtained from *Bombyx mori*, the common silkworm, has been used for centuries by the textile industry. Since it is still used in large quantities worldwide, it is both cheap and widely available [4]. Recently, due to the useful properties of silk, it has been used to create a wide variety of materials, such as hydrogels, sponges, fibers and films [4].

The silk consists primarily of the two proteins fibroin and sericin. Fibroin creates fibers which are covered and held together by a gum-like layer of sericin [4]. When creating biomaterials, typically only the fibroin is of interest; therefore, the sericin is removed before the silk fibroin is dissolved and utilized [4]. Fibroin has excellent mechanical properties; its toughness is greater than that of Kevlar and its ultimate tensile strength is about 740 MPA (ten times greater than collagen) [4]. Furthermore, fibroin is both biocompatible and biodegradable [4].

Using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), and various mathematical algorithms, several properties of interest can be measured. These properties include the tyrosine ratio, which indicates the hydrogen bonding of tyrosine [5],  $\beta$ -sheet crystallinity, which relates to mechanical properties, and the amide I/II ratio [6]. The amide I/II ratio is the ratio between two specific bands of the FTIR spectrum called amide I and amide II. Both bands are related to the secondary structure of the protein; the amide I band relates to the C=O bond and the amide II band relates to the N–H bond [7]. Therefore, a change in the amide I/II ratio signifies a structural change in the protein. Silk can also be identified in the UV region with UV-vis spectroscopy as it consists of proteins, which have a peak at 280 nm [8].

### C. Laponite

Laponite is a nanoclay that forms nanometer-sized discs. The edges of the discs are negatively charged and the faces are net-positively charged [1]. This can lead to interactions between the Laponite and other materials. Laponite has been used to stabilize silk, and they can be mixed to create stable, transparent and, when wetted, soft films [1].

Submitted June 10, 2019

E-mail address: {po0007wa-s@student.lu.se, ru7562be-s@student.lu.se}

Supervisor: Cedric Dicko, Department of Pure and Applied Biochemistry

#### D. Curcumin

Curcumin is a pigment found in the plant *Curcuma longa*, commonly known as turmeric. The substance is extracted in the form of a bright orange powder and is often used as a coloring agent, primarily in food [9].

Curcumin is an organic molecule that consists of two aromatic rings linked with a chain of 7 carbon atoms [10] [11]. The molecule is hydrophobic and therefore insoluble in water; however, it is readily soluble in solvents such as ethanol and dimethyl sulfoxide (DMSO) [10]. Curcumin degrades easily when dissolved in most solutions; at low concentrations as much as 90 % of the curcumin degrades in half an hour [11]. This degradation can be stalled by binding the curcumin to other molecules, such as lipids or cyclodextrins [10]. Moreover, the degradation is also affected by exposure to light, where a higher exposure leads to a quicker degradation [10]. Therefore, solutions containing curcumin should be safeguarded from light.

There are several ways to detect and quantify curcumin. A common method is through spectroscopy, at around 350–450 nm, as curcumin has an absorption band at around 420 nm [10]. The spectrometric measurements can be combined with liquid chromatography and mass spectrometry to give a more complete view of the properties of the molecule [10].

#### E. Cyclodextrin

Cyclodextrins are a family of oligosaccharides found in starch [12]. The molecules have the geometrical shape of a conical frustum with differing diameters depending on the specific type of cyclodextrin [12]. From here on "cyclodextrin" will refer exclusively to  $\beta$ -cyclodextrin as it is the type relevant to this report. Cyclodextrin has a water solubility of 18.5 g/L at room temperature [12]. The solubility is a result of hydrogen bonds between the hydroxyl-groups on the outer area of the frustum and the water molecules [12]. The most interesting property of cyclodextrin is that it can encapsulate small hydrophobic molecules within the frustum and thereby increase the water solubility of the guest molecule [12]. This property can be used to increase the solubility of hydrophobic drugs for ocular medication [13] as well as several other pharmaceutical products [12].

As mentioned earlier, curcumin is insoluble in water and degrades quickly. Therefore, it requires a stabilizing agent when an aqueous solution of curcumin is desired. Since cyclodextrin can encapsulate hydrophobic molecules while being hydrophilic itself, it can be used to increase the solubility of curcumin [14]. It has been shown that a cyclodextrin-curcumin complex increases the water solubility of curcumin by a factor of  $10^4$ ; furthermore, it has been shown to increase the stability of curcumin significantly [14]. Even at low concentrations of cyclodextrin, the stability of curcumin increased 50 times and at higher concentrations the stability was observed to increase by more than 500 times [14].

#### F. Objective

As mentioned earlier, eye drops are the main form of medication for treating ocular diseases. They are very ineffective as

less than 5 % of the drug is absorbed by the eye [3]. This report examines the possibility of using silk-based lenses as a method of drug delivery to the eye to attempt to find a more effective method of administration. The lenses were created using silk and Laponite with cyclodextrin-bound curcumin as the drug substitute. Both the mechanical properties of the lenses as well as the release of curcumin were tested. The objective of this experiment was to test whether the created lenses were able to release curcumin as well as being soft enough to be placed on the cornea.

The process, described in the method, demonstrates how the lenses were created and in which way the concentrations of curcumin and Laponite were changed to test the properties of the lenses. This is followed by a factual description of the data and results obtained. Finally, the results are discussed and inspirations for further studies are given.

Our hypothesis for the experiment was that the mechanical properties of the lenses depend mainly on the Laponite concentration and the release properties depend on both the curcumin and Laponite concentration.

## II. DATA

We have collected four types of data. The first is indentation data that measured the mechanical properties of the lenses. These were collected with a Micromechanical Systems, Biomomentum Mach 1. The second type is spectrometric data measuring the release of curcumin from the lenses collected with an Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis. Next, the release from the lenses was measured using liquid chromatography with an Agilent 1100 LC. Finally, Fourier-transform infrared spectroscopy was used to measure the structural properties of the lenses using a Nicolet 6700 FT-IR.

All tests were performed on a variety of lenses where the concentration of Laponite (L) was varied between low (l), medium (m) and high (h), and the concentration of curcumin (C) was varied between none (n), low (l), medium (m), high (h) and very high (vh) according to table I. The sample names in table I use the designations defined in the parentheses in the previous sentence. The factorial table has been sorted and the samples have been given logical designations in an attempt to facilitate understanding.

Table I  
THE FACTORIAL DESIGN TABLE

| Sample | Laponite Conc. (mg/ml) | Curcumin Conc. (%) |
|--------|------------------------|--------------------|
| lL-nC  | 0.100                  | 0                  |
| lL-lC  | 0.100                  | 1                  |
| lL-mC  | 0.100                  | 5                  |
| lL-hC  | 0.100                  | 10                 |
| lL-vhC | 0.100                  | 20                 |
| mL-nC  | 0.375                  | 0                  |
| mL-lC  | 0.375                  | 1                  |
| mL-mC  | 0.375                  | 5                  |
| mL-hC  | 0.375                  | 10                 |
| mL-vhC | 0.375                  | 20                 |
| hL-nC  | 0.500                  | 0                  |
| hL-lC  | 0.500                  | 1                  |
| hL-mC  | 0.500                  | 5                  |
| hL-hC  | 0.500                  | 10                 |
| hL-vhC | 0.500                  | 20                 |

### III. METHOD

Since the experiment has a relatively long and complex process it will be described in several steps. These steps begin with the creation of the silk solution and conclude with a description of how the different tests were performed on the resulting lenses.

#### A. Preparation of Silk

The first step of the process was the preparation of a silk solution. First, 7.8 g of lithium bromide was weighed and mixed with 10 mL of distilled water. This solution was heated to and kept at 65–75 °C while 1 g of silk fibroin from *Bombyx mori* silk worms was added; the solution was kept at this temperature for 30 minutes while under regular stirring.

Next, the solution was poured into a dialysis tube with a 12 kDa molecular weight cut-off and left to dialyze in a 2 liter jug of distilled water for 4 days. The water was changed daily to facilitate the osmosis of the lithium bromide. Then, the dialyzed solution was set to centrifuge for 10–20 minutes at 4500 rpm to remove unwanted debris.

After centrifugation, the concentration of silk ( $C_{silk}$ ) in the mixture was calculated. This was done using the weight of an empty aluminium cup ( $m_{empty}$ ), the weight of the aluminium cup filled with 500  $\mu$ L of the silk solution ( $m_{wet}$ ), and the weight of the cup after the silk solution had evaporated fully ( $m_{dry}$ ), see equation 1. The evaporation was aided by an oven set at 100 °C for 1–2 hours. The silk solution was kept refrigerated until used to delay the gelling process, which would render the silk unusable.

$$C_{silk} = \frac{m_{dry} - m_{empty}}{(m_{wet} - m_{empty})\rho_{water}} \quad (1)$$

#### B. Preparation of Curcumin and Cyclodextrin

The next step in the preparation process was the creation of a curcumin-cyclodextrin solution. First, curcumin was mixed with DMSO at a concentration of 1.8 mg of curcumin per ml of DMSO. Similarly, cyclodextrin was mixed with distilled water at 5.7 mg of cyclodextrin per ml of water. The curcumin solution was immediately wrapped in aluminium foil to prevent degradation due to light. Both solutions were shaken vigorously to stimulate the dissolution. When both chemicals were entirely dissolved, they were mixed together.

#### C. Preparation of Laponite

To create a 1.5 % solution of Laponite, 0.3 g of Laponite was added to 20 ml of distilled water. A magnet stirrer was used to stir the solution for one day until it was completely dissolved. The solution was stored in a refrigerator.

#### D. Preparation of the Films

Several solutions were required to create the films (also referred to as lenses). Using pipettes and following a factorial table (see table I), water, silk, Laponite and the curcumin/cyclodextrin-solution were added to fifteen 2 ml Eppendorf tubes sequentially, one for each run. The concentration



Figure 1. A well-plate containing parts of eight runs of lenses.



Figure 2. The parts of the lens-holder.

of silk was constant in each run, but the curcumin and Laponite concentrations varied according to table I. When all of the samples were independently mixed, 100  $\mu$ L were pipetted into a circular 9 mm well (see figure 1). Nine 100  $\mu$ L drops from each sample were placed into different wells and were left to dry in a New Brunswick Scientific: Innova 44 incubator shaker. It was set to shake at 25 RPM at a temperature of 15 °C until the DMSO and water had evaporated, leaving only the dried out lenses.

Several lenses without Laponite were made in earlier tests, but they proved too difficult to use and were therefore removed from the factorial table.

#### E. Indentation Testing

The indentation tests were performed using a Biomomentum Mach-1 mechanical tester. To perform tests in water, a holder was created through the use of 3D-printing. The holder consisted of two cylinders with inner diameters of 5 mm, outer diameters of 25 mm and 27.5 mm respectively, and heights of 10 mm and 3 mm respectively (see figure 2). The holder was used in conjunction with a 50 ml falcon tube that was sawed off at the 40 ml line.

After creating the holder, the taller cylinder was placed inside the ridge of the lid of the falcon tube and the shorter cylinder was wedged inside the sawed off tube (see figure 3). The inner void of the cylinder in the lid was filled with water until the water tension created a small extrusion above the edge of the hole. Then, a lens was carefully placed on top of the extrusion and allowed to absorb some of the water. The lens was wetted with a pipette until completely soaked. Next, the falcon tube was carefully screwed into the lid and tightened to hold the lens in place between the two cylinders. Lastly, water was added to the holder until the water level was



Figure 3. The partly assembled lens-holder.

roughly one centimeter above the lens to make sure the lens stayed wet throughout the entire testing process.

The actual testing procedure was created and improved upon throughout the experiment, but the final sequence used consisted of 33 separate steps (functions). Before the testing began, the tip of the indenter was lowered to the position where the lens would be placed to calibrate the zero position for the tests.

The indenter was raised and the holder with the lens was placed under the tip. Then, the sequence was started. First, the indenter was lowered to the zero position calculated earlier. At this point the measured load was set to zero. Following this, a stress relaxation function was started. During the stress relaxation, the indenter was moved down a total of 1 mm at a rate of 0.2 mm/s; then, the sample was allowed to relax until the measured load stabilized. Following the stress relaxation, a sinusoid subsequence was executed. The sinusoid subsequence consisted of four sinusoids of different frequencies (0.5, 1, 2 and 5 Hz), but the number of oscillations (5) and amplitude (0.05 mm) remained constant. Next, these functions were repeated, bringing the total depth of the indenter to 2 mm. From there, four more pairs of stress relaxation and sinusoid subsequences were performed. However, during these stress relaxation functions the indenter was lowered 0.5 mm each time. The last sinusoid subsequence was performed at a depth of 4 mm. Finally, the indenter was raised out of the sample. Regardless of whether or not the lens broke, the full sequence was performed each time.

#### F. UV-Vis Spectroscopy

When dry, one film from each factorial combination was put in a 1.5 mL cuvette and 1 mL of distilled water was added. In the same way, one lens per run was put in a 1.5 mL cuvette with 1 mL buffer of a modified (10 times concentrated) Dulbecco's phosphate-buffered saline (DPBS) solution. Paraffin was used to seal the cuvettes and to protect the solution from contaminants. The cuvettes were left enclosed in a container at room temperature for approximately 24 hours. After the time had passed, the lenses were removed from the cuvettes with a pair of tweezers. A spectrometric test was performed on the remaining liquid at the wavelengths 250–800 nm using an Agilent Technologies Cary 60 UV-Vis set at medium scan speed (600 nm/min). Finally, a simple baseline correction was performed using the average intensity of the last 100 measurements of each respective sample (as the expected intensity in this region was zero).

#### G. Liquid Chromatography

Following the spectrometry, the same solutions were further analyzed using liquid chromatography. The samples were moved from the cuvettes to 2 mL glass tubes. The glass tubes were loaded into an Agilent 1100 LC, with a C18 column, and the tests were performed. Several wavelengths were tested originally, but the most important for the scope of this experiment was 420 nm. Each test took approximately 15 minutes.

Additional tests were performed on pure curcumin dissolved in DMSO, curcumin mixed with cyclodextrin, and the pure buffer solution.

#### H. Fourier-Transform Infrared Spectroscopy

To determine the structural characteristics of the dry lenses, a Nicolet 6700 FT-IR was used to perform an FTIR measurement. First, a measurement of the baseline was taken using an average of 64 scans measuring from 400 to 4000  $\text{cm}^{-1}$ . Following this, a dry lens was placed on the diamond crystal and the head of the FTIR-machine was placed as closely as possible to the lens. The spectrum for the lens was calculated using the average of 64 scans. After the measurement was taken, the lens was removed and the diamond crystal was cleaned using distilled water. This procedure was repeated for one lens from each run. Following the tests, an ATR (attenuated total reflection) correction algorithm was used to compensate for systemic distortions that occurred due to the measuring technique. Finally, a premade MATLAB script was used to calculate the crystallinity index, tyrosine ratio and amide I/II ratio of the lenses.

#### I. Factorial Analysis

A statistical analysis of the results was performed using Minitab.

### IV. RESULTS

All of the lenses were transparent with a yellow hue depending on the concentration of curcumin (see figure 1). The lenses were extremely thin, and even though no accurate measurement could be taken of their thickness, they were estimated to be thinner than 200  $\mu\text{m}$ . Despite the thickness, the lenses showed high resilience to stretching.

While dry, the films were very brittle and would break or crack easily. On the other hand, when hydrated the lenses were extremely flexible and could easily be folded several times and return to their original shape when put in water. The lenses could be wetted and dried repeatedly and seemingly keep their shape. However, lenses created without Laponite would dissolve in water after several hours while the other lenses did not. After bathing the lenses in water for 24 hours in preparation for the spectrometry, several of the lenses had degraded slightly and upon being picked up fell apart or bundled up into a gelatinous mass. The lenses bathed in the buffer retained their shape without bundling up or falling apart.

Table II  
THE BREAKING POINTS OF THE LENSES AND THE MAXIMUM MEASURED FORCE

| Sample | Breaking Point (mm) | Maximum Force (gf) |
|--------|---------------------|--------------------|
| IL-nC  | 2.01                | 12.44              |
| IL-IC  | 3.01                | 9.76               |
| IL-mC  | -                   | 17.93              |
| IL-hC  | -                   | 13.99              |
| IL-vhC | -                   | 14.88              |
| mL-nC  | 2.95                | 11.35              |
| mL-IC  | -                   | 14.88              |
| mL-mC  | -                   | 6.42               |
| mL-hC  | 2.53                | 4.23               |
| mL-vhC | 2.98                | 4.98               |
| hL-nC  | 2.96                | 8.55               |
| hL-IC  | 1.88                | 8.66               |
| hL-mC  | -                   | 4.08               |
| hL-hC  | 1.96                | 2.74               |
| hL-vhC | 1.50                | 3.14               |

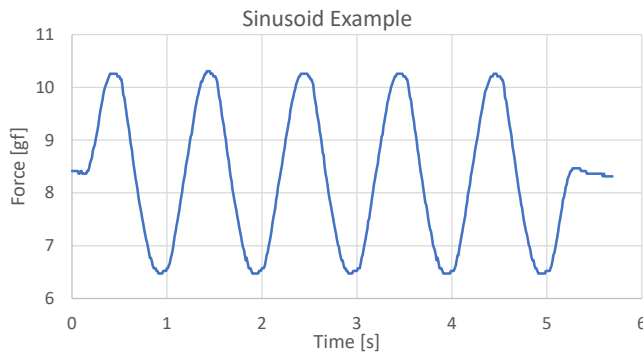


Figure 4. A sinusoid function measured at a depth of 3.0 mm at 1 Hz for the IL-mC lens.

#### A. Indentation Measurements

Following the tests, all lenses showed some deformation, and several were punctured by the indenter (see table II). The lenses that didn't break are marked without a value in the table. The maximum registered force for each sample is also presented in table II. Laponite was found to be a significant factor for the maximum registered force ( $p = 0.014$ ) with a predicted  $R^2$ -value of 5.89 %.

All of the sinusoids, both for different depths of the same lens and for different lenses, gave similar results. The force exerted on the indenter from the lens generally followed the indentation depth precisely (see figure 4 for an example).

#### B. Spectrometric Measurements

Not all of the graphs from the spectrometry (see figure 6 for an example) were identical; however, the graphs for lenses with some concentration of curcumin all showed a peak at around 425 nm that was not present in the graphs for the lenses without curcumin (see figure 5 at 0 % curcumin). All of the graphs for the release test done in water also showed a peak at around 280 nm and another at around 355 nm (see figure 6 for an example). The results for the lenses in the buffer showed signs of measurement errors in areas below 320 nm. Overall, the lenses in buffer showed a higher release of curcumin than

Table III  
CALCULATED FTIR VALUES

| Sample | Crystallinity Index | Tyrosine Ratio | Amide I/II Ratio |
|--------|---------------------|----------------|------------------|
| IL-nC  | 0.3316              | 0.6738         | 1.275            |
| IL-IC  | 0.3442              | 0.9406         | 1.36             |
| IL-mC  | 0.3187              | 0.8384         | 1.316            |
| IL-hC  | 0.3484              | 0.8771         | 1.246            |
| IL-vhC | 0.3516              | 0.9909         | 1.193            |
| mL-nC  | 0.3432              | 0.9873         | 1.421            |
| mL-IC  | 0.3406              | 1.001          | 1.482            |
| mL-mC  | 0.3306              | 1.415          | 1.224            |
| mL-hC  | 0.3267              | 0.9274         | 1.51             |
| mL-vhC | 0.3496              | 0.9691         | 1.497            |
| hL-nC  | 0.3432              | 0.9873         | 1.421            |
| hL-IC  | 0.3239              | 1              | 1.483            |
| hL-mC  | 0.3482              | 1.008          | 1.5              |
| hL-hC  | 0.3707              | 0.9819         | 1.516            |
| hL-vhC | 0.3552              | 1.037          | 1.568            |

the water based tests. The peaks at 425 nm can be seen in figure 5 as a function of curcumin concentration. The curcumin was found to be a significant factor for increasing intensity in both buffer ( $p = 5.69 \cdot 10^{-9}$ ) and water ( $p = 3.7 \cdot 10^{-5}$ ) with predicted  $R^2$ -values of 97.96 % and 83.32 % respectively. Additionally, Laponite was found to be a significant factor for the intensity in water ( $p = 0.01$ ) but not in the buffer.

#### C. Chromatographic Measurements

The chromatograms showed three clear peaks at around 7 minutes, 8.6 minutes and 11 minutes in all solutions from lenses with curcumin (see figure 7 for an example). The graphs for pure curcumin and curcumin mixed with cyclodextrin both showed the same three peaks suggesting that the peaks indicate the presence of curcumin. Some minor variance was found in the elution time of the peaks. In a manner very similar to the spectrometry results, the lenses that were put in buffer showed significantly higher peaks than the corresponding lenses in water. Furthermore, the curcumin concentration was found to be a significant factor for increasing intensity at the peak at 11 minutes in both water ( $p = 4.86 \cdot 10^{-5}$ ) and buffer ( $2.26 \cdot 10^{-10}$ ). The predicted  $R^2$ -values were 99.09 % for the lenses in water and 80.17 % for the lenses in buffer.

#### D. FTIR Measurements

After processing the data from the FTIR measurements, the crystallinity, tyrosine ratio and amide I/II ratio were calculated. These values are presented in table III. No significant relationship was found between the crystallinity and the Laponite or curcumin concentrations. The same held true for the tyrosine ratio. However, the amide I/II ratio was found to be significantly ( $p = 0.008$ ) affected by the Laponite. The predicted  $R^2$ -value was 9.11 %.

Some FTIR-graphs were shaped as a sinusoid instead of being flat. Nevertheless, the crystallinity, tyrosine ratio and the amide I/II ratio were able to be calculated for all lenses. The graph for one lens (mL-mC) seemed to differ from the rest as it had a lower amplitude and was more sensitive to noise.

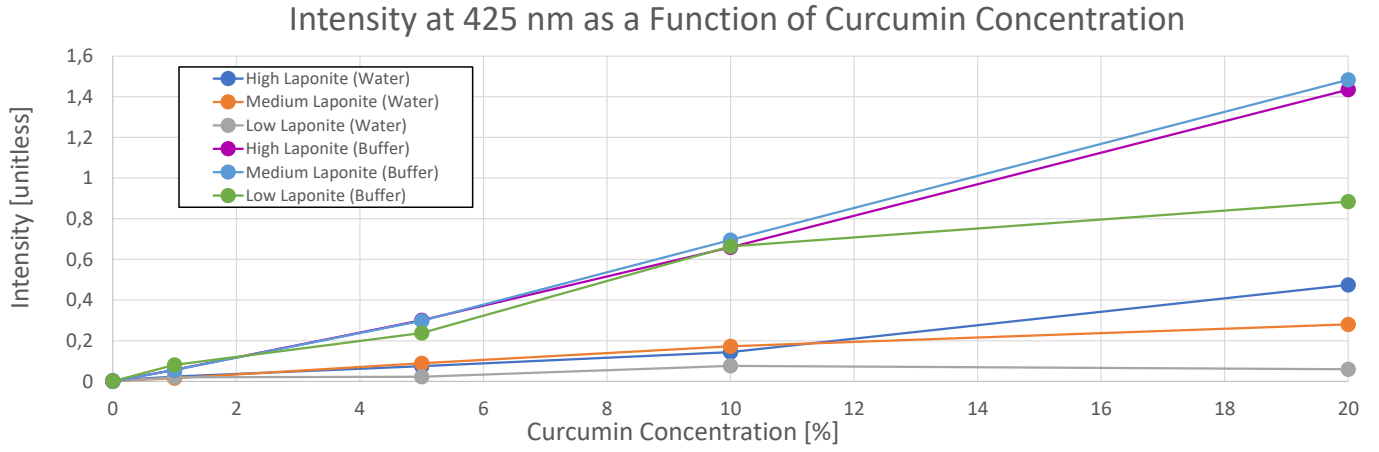


Figure 5. Spectrometry intensity measured at 425 nm, grouped by Laponite concentration, as a function of curcumin concentration.

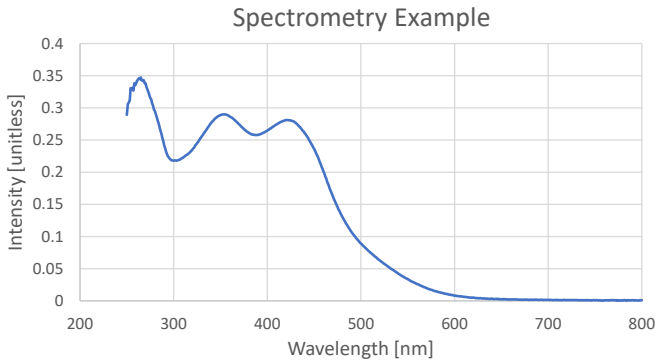


Figure 6. Spectrometry measurement for the mL-vhC lens in water.

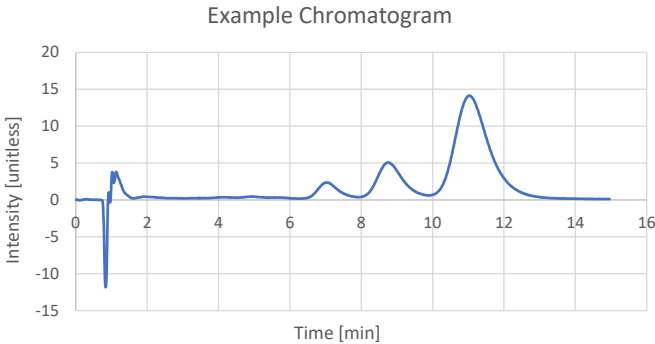


Figure 7. The chromatogram for the mL-hC lens in buffer.

## V. DISCUSSION

We believe that, even though the lenses are far from seeing clinical use, the results from this experiment are promising for both future research and future potential applications. Since the lenses were shown to be smooth and elastic, they could potentially be used on the eye in the future. However, we suspect that, currently, the lenses are so soft that they wouldn't be able to stay on the cornea without bundling up when blinking. Additionally, the lenses were shown to be able to release curcumin, which suggests that they could be infused with a drug in future applications.

An issue that encompassed the entire experiment was that

there seemed to be variations within each run, i.e. two lenses with the same concentrations may not have had the exact same properties. This could be a result of how the lenses were pipetted or dried, which led to lenses being uneven in thickness.

### A. Indentation Testing

We found that the Laponite affected the maximum force the lenses could exert on the indenter, where more Laponite led to a lower maximum force (as seen in table II). We know that Laponite acts as a stabilizing agent for the lenses, which could explain why a higher Laponite concentration led to seemingly more brittle lenses. However, the predicted  $R^2$ -value was very low, which suggests that the Laponite concentration alone isn't enough to describe the effect.

The sinusoid tests were less valuable than originally expected, as further properties, such as the exact thickness, would be necessary to make use of the data. However, the sinusoids consistently gave similar results for the different frequencies and depths. This points to the ability of the lenses to retain their properties even when stretched and also solidifies the robustness of the test.

Initially we did not suspect that the lenses would break during testing as those we tested while developing the method did not; however, the breaking point proved to be an interesting parameter as there was considerable variation between lenses.

### B. Spectrometry

The results from the spectrometry show that the lenses created with a higher concentration of curcumin exhibit a larger release. The absorbance was found to be linear with increasing curcumin concentration (see figure 5). This suggests that the release is directly proportional to the concentration in the lenses. Curiously, the Laponite concentration was found to be significantly affecting the intensity for the lenses in water, though to a lesser degree than the curcumin concentration.

As noted earlier, the lenses in the DPBS buffer yielded significantly higher intensities at 425 nm (see figure 5). While the cause is unclear, we have a couple of theories. Since the

buffer has a high ionic strength it might bind to the charged Laponite and allow the release of more curcumin. Another possibility is that the curcumin in water degrades quicker than the curcumin in the buffer; this could mean that they both release the same amount, but more is left in the buffer after 24 hours.

The release seems to be dependent on the curcumin concentration, but there could be several sources of error for the exact intensities that were measured. Since we were unable to measure the thickness of the lenses, there is no guarantee that all of the lenses were the same size. Since the lenses were prone to cracking, there was a risk of not being able to put the entire lens in the cuvette, thus limiting the measured release.

The peak that appeared in all samples at around 280 nm likely corresponds to the protein peak described in the introduction [8]. Furthermore, this phenomenon is likely responsible for the measurement error in the samples in the buffer as DPBS has a high concentration of proteins.

### C. Chromatography

The results for the chromatography showed the same trend of curcumin release as the spectrometry. This is expected as they are very similar types of measurements and they examined the same samples.

We hoped that the liquid chromatography would reveal further information about the state of the curcumin, such as whether or not the curcumin is bound to cyclodextrin, and the state of curcumin degradation, but the detection levels were too low to draw any robust conclusions.

### D. Fourier-Transform Infrared Spectroscopy

Some of the FTIR-plots had the form of a sinusoid instead of a flat line with peaks. An explanation is that some lenses were so thin that the measurement led to thin-film interference. If the lenses vary slightly in thickness, this would explain why only some of the lenses had this behavior. Visual inspection of the graphs from the MATLAB-script confirmed that the data had been processed correctly and that the data for the crystallinity, amide I/II ratio and the tyrosine ratio were correct for the spectra with the sinusoids as well as the standard spectra.

One significant outlier for the tyrosine ratio was observed; this was the mL-mC lens (see figure III). When analyzing the spectrum for that lens, we could clearly see that the fitting of the functions in MATLAB, to calculate the parameters, was sub-optimal, which suggests that the measurement was flawed in some way.

The Laponite concentration was found to affect the amide I/II ratio. Since the Laponite affects the stability of the silk, the observed change could be an indication of how the silk is affected by the Laponite. Curiously, while Laponite had an effect on the amide ratio, it did not relate to either the tyrosine ratio or crystallinity of the samples. Since all three parameters relate to the structure of the silk, it could be expected that more than one parameter would change. It is possible that this measurement is correct and that the structure of the silk is affected in a very specific way. Another possibility is that

Laponite is detectable by the FTIR in the same region used to calculate the amide I/II ratio, thus giving an incorrect calculation.

### E. Improvements to the Method

During the course of the experiment we continuously made several improvements and iterations to reach the method discussed above. The changes were made to improve the quality of both the lenses and the measurements. The final experiment, from which the presented results come, was done using the method described above, implementing all of the following improvements.

One change was the way the lenses were dried. The preliminary tests let the lenses dry in a standard fume hood overnight. This resulted in some lenses having a thicker edge and a very thin center, making tests difficult to perform. To remedy this, the incubator mentioned above was used. This kept a constant horizontal air flow on the lenses, leading to a more uniform thickness.

Another major change was replacing ethanol with DMSO as the solvent for curcumin. This change was to prevent ethanol from causing the gelation of the silk at high concentrations of curcumin solution. This change led to several other improvements to the experimental process as a whole, such as curcumin dissolving significantly faster and easier in DMSO than in ethanol.

The final significant change was the removal of lenses without Laponite from the factorial table. This was done for multiple reasons. The lenses without Laponite were found to break down in water significantly faster than the other lenses; this had the consequence that the results, both spectrometric and mechanical, were difficult to interpret and some tests were impossible to perform.

### F. Future Possibilities

As the focus of this project was mainly in the early development of silk films, it has not reached a state nearing the possibility of clinical use. However, many exploratory studies could be conducted to test various factors.

First, the lenses would need to be tested to examine whether the release properties are retained for other substances, such as a variety of medications.

Another interesting variable to consider is the release curve as a function of time. For this, the release would need to be measured after certain intervals. Additionally, repeated release tests could yield information regarding the amount of curcumin the lenses can release after repeated use. Release tests in combination with mechanical tests could be of interest as they mimic the pressure an eyelid would exert on the lenses if used. Performing FTIR tests on the lenses after mechanical or release tests could determine if the structure changes when the lenses release curcumin or experience mechanical stress.

Furthermore, the mechanical properties of the lenses could be further optimized to match the physiological conditions of the human eye. This could be combined with testing different types of silk to see which parameters change.

An interesting observation, made in the final stages of the experiment, was that the quality of the lenses left in the buffer for 24 hours seemed far superior to that of the lenses left in water. The lenses in the buffer retained their shape when picked up instead of bundling up into a gelatinous mass. Therefore, future experiments could try redoing tests, such as the indentation test, in the buffer solution instead of water.

### G. Sustainable Development

Throughout the planning and execution of the experiment, many thoughts and considerations were given to aspects concerning sustainable development, such as reusing certain plastic equipment and the use of environmentally friendly chemicals. However, due to the nature of the experiment, where a sterile environment is necessary, some equipment could only be used once. This includes several pipette tips, cuvettes and Eppendorf tubes among others. One of the most used substances was silk and since it is a renewable resource there is no danger of running out. However, even though silk is renewable, it is important that the production is sustainable as well. Finally, further development of the lenses could lead to a more environmentally friendly alternative to the current ocular medications.

### H. Ethics

None of the performed tests were done on humans or any other animals; therefore, no permission was needed from the Swedish Ethical Review Authority. However, an ethical concern that could be raised is that the silk worms are killed during the extraction process of the silk before the silk is degummed and used in our experiments. Since no tests have been performed on living test subjects, further tests are required if the lenses are to be used as a medical tool for drug delivery. Should the development of the lenses continue, they could potentially lead to better medical care.

## VI. CONCLUSIONS

The results of our experiments indicate that the originally stated hypothesis was correct to a certain degree. The Laponite was shown to affect the mechanical properties of the lenses, but it was likely not the only factor. The curcumin concentration affected the release linearly as predicted, but the Laponite concentration may also have had an effect. Furthermore, the lenses exhibited the desired properties as they were found to be very soft and able to release curcumin.

## VII. ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank Cedric Dicko for his guidance during the experiments, for training us to use various equipment, and for his preparation of data processing software as well as statistical analysis software. We would also like to thank Betina Pereira Ferreira for her assistance during both the lab training as well as the interpretation of related results.

The workload has been shared equally between the authors and most experiments were performed together with each author being responsible for separate tasks. The report was written collaboratively between the two authors.

## REFERENCES

- [1] A. Toytziaridis and C. Dicko. "Fabrication and optimization of stable, optically transparent, and reusable pH-responsive silk membranes," *IJMS*, vol. 17 (11), pp. 1–14, 2016.
- [2] F. Maulvi, T. Soni, and D. Shah. "A Review on Therapeutic Contact Lenses for Ocular Drug Delivery," *Drug Delivery*, vol. 23 (8), pp. 3017–3026, 2016.
- [3] O. Bamiro, R. Ubale and R. Addo. "Background of Ocular Drug Delivery," *Ocular Drug Delivery: Advances, Challenges and Applications*, pp. 1–9, Cham: Springer International Publishing, 2016.
- [4] D. Rockwood, R. Preda, T. Yücel, X. Wang, M. Lovett and D. Kaplan. "Materials fabrication from Bombyx mori silk fibroin," *Nature Protocols*, vol. 6 (10), pp. 1612–1631, 2011.
- [5] R. Takashi and T. Noguchi. "Criteria for determining the hydrogen-bond structures of a tyrosine side chain by fourier transform infrared spectroscopy: density functional theory analyses of model hydrogen-bonded complexes of p-cresol," *J Phys Chem B*, vol. 111 (49), pp. 13833–13844, 2007.
- [6] M. Boulet-Audet, F. Vollrath and C. Holland. "Identification and classification of silks using infrared spectroscopy," *The Company of Biologists Ltd.*, vol. 218 (19), pp. 3138–3149, 2015.
- [7] W. Gallagher "FTIR analysis of protein structure," *uwec.edu*, [Online]. Available: [http://www.chem.uwec.edu/Chem455\\_S05/Pages/Manuals/FTIR\\_of\\_proteins.pdf](http://www.chem.uwec.edu/Chem455_S05/Pages/Manuals/FTIR_of_proteins.pdf). [Accessed May 15, 2019].
- [8] A. Goldfarb, L. Saidel and E. Mosovich. "The ultraviolet absorption spectra of proteins," *J. Biol. Chem.*, vol. 193 (1), pp. 397–404, 1951.
- [9] V. Yadav, S. Suresh, K. Devi and S. Yadav. "Effect of Cyclodextrin Complexation of Curcumin on its Solubility and Antiangiogenic and Anti-inflammatory Activity in Rat Colitis Model," *AAPS PharmSciTech*, vol. 10 (3), pp. 752–762, 2009.
- [10] K. Priyadarsini. "The chemistry of curcumin: From extraction to therapeutic agent," *Molecules*, vol. 19 (12), pp. 20091–20112, 2014.
- [11] Y. Wand, M. Pan, L. Lin, Y. Ho, J. Lin, A. Cheng and C. Hsieh. "Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 15 (12), pp. 1867–1876, 1997.
- [12] G. Crini, S. Fourmentin, É. Fenyvesi, G. Torri, M. Fourmentin and N. Morin-Crini. "Fundamentals and Applications of Cyclodextrins," *Cyclodextrin Fundamentals, Reactivity and Analysis*, pp. 1–55, Cham: Springer International Publishing, 2018.
- [13] L. Bennet. "Drug Delivery to Specific Compartments of the Eye," *Ocular Drug Delivery: Advances, Challenges and Applications*, pp. 37–52, Cham: Springer International Publishing, 2016.
- [14] H. Tønnesen, M. Måsson and T. Loftsson "Studies of curcumin and curcuminoids. XXVII. Cyclodextrin complexation: solubility, chemical and photochemical stability," *Int. J. Pharm.*, vol. 244 (2002), pp. 127–135, 2002.

# Tvådimensionell ultraljudsbaserad blodflödesmätning

Kristina Gehrisch (BME-16), Lykke Månsson (BME-16)

**Sammanfattning**—Ultraljud är idag en mycket användbar metod för att studera olika vävnader och processer i kroppen. Ett användningsområde är att undersöka blodkärl för att till exempel titta på blodflöde och förträngningar. Att utföra dessa undersökningar i förebyggande syfte är av stor vikt då hjärt- och kärlsjukdomar idag är den vanligaste dödsorsaken i Sverige. Idag finns det ingen utbredd screening av dessa sjukdomar men det är alltså önskvärt att nå dit inom en snar framtid. För att hitta samband mellan kärlens rörelser och olika sjukdomstillstånd krävs algoritmer. I denna rapport utvärderas en algoritm skapad av ultraljudsgruppen på institutionen för biomedicinsk teknik, LTH, med syfte att vara tidseffektiv utan att förlora för mycket noggrannhet. För att på ett smidigt sätt kunna evaluera algoritmen skapades en Graphical User interface, GUI, i Matlab där metoden enkelt kunde testas på fantomer med facit som hämtades från en tävling.

Resultaten som erhöles presenterade medelvärde samt standardavvikelse för fantomernas hastighet och mätvinkel. Det genomsnittliga medelvärdet för hastighetsberäkningarna skiljde sig 5,39% respektive 7,65% från det korrekta värdet, motsvarande siffror för vinkelberäkningarna blev 0,58% respektive 3,34%. Med hänsyn till de snabba beräkningarna gav metoden ett bra resultat men utrymme för förbättring finns. Med hjälp av det program som skapades kommer framtida arbete och förbättringar kunna utvärderas på ett enkelt sätt.

## I. INTRODUKTION

**HJÄRT- OCH KÄRLSJUKDOMAR** är idag den vanligaste dödsorsaken i världen. Varje år tar de mer än 17 miljoner människors liv och i Sverige står sjukdomen för hela 34% av alla dödsfall. Denna siffra är 30% högre än den för människor som dör i cancer. [1], [2]

### A. Ultraljud

En metod som används för att undersöka kärl och ställa diagnoser är ultraljud. Ultraljud använder sig av ljud med mycket hög frekvens som det mänskliga örat inte kan höra. Frekvenser som används inom medicinskt ultraljud ligger mellan ca 1MHz-20MHz. En givare skickar ut ljudvågor och en detektor tar emot ekon som uppkommer då ljudvågorna reflekteras eller absorberas av olika vävnader i kroppen beroende på deras densitet och kompressibilitet. En bild kan sedan konstrueras utifrån den information som mottagits. Metoden är relativt billig i förhållande till andra undersökningsalternativ. Den är även helt ofarlig att använda till skillnad från andra

bildgivande system som kan utsätta patienten för strålning och radioaktivitet. [3]

Ultraljud kan användas för att studera många olika fenomen och processer i kroppen. De flesta förknippar ultraljud med fosterdiagnostik men metoden kan även användas för att studera organ så som lever, gallblåsa, njurar och blodkärl som tidigare nämnt [4]. Undersökningar av blodkärl med hjälp av ultraljud kan ge en bra bild över kärlens tillstånd och gör det möjligt att upptäcka förträngningar, bråck eller andra patologiska tillstånd i kärlen. Då det blotta ögat har svårt att detektera abnormala rörelser i kärlen kan algoritmer användas på sekvenser för att upptäcka dessa. Ultraljud har därför stor potential för att vara en bra undersökningsmetod att använda vid screening av hjärt- och kärlsjukdomar. [3]

### B. Screening

Screening innebär medicinska undersökningar av individer för att upptäcka sjukdomar innan några egentliga symtom har uppvisats. Detta innebär att livshotande sjukdomar kan upptäckas och börja behandlas i tid och därmed spara patienten från lidande och hindra eventuella dödsfall [5]. En mer utbredd tillämpning av screening leder till en mer förebyggande vård vilket kommer att gynna både patienter och sjukvård.

Trots att hjärt- och kärlsjukdomar är den vanligaste dödsorsaken i Sverige finns det idag endast screening mot en av sjukdomarna inom området, aortaneurysm. För detta kallas alla män över 65 år i Sverige till undersökning som sedan kan leda till ett förebyggande ingrepp vilket 95-98% överlever [6]. Denna siffra gentemot det faktum att hälften av alla som har ett aneurysm som brister dör innan de når sjukhuset trycker på vikten av dessa förebyggande undersökningar [7]. För att kunna hitta fler av sjukdomsförloppen inom området i tid är det alltså önskvärt att hitta effektiva metoder för screening av dessa.

Lunds universitet ligger i framkant gällande forskning på ultraljud och ultraljudsgruppen på institutionen för biomedicinsk teknik på LTH har tagit fram en algoritm som kan användas för att beräkna rörelsemönster på vävnadsrörelser [8]. Tidigare forskning på samma avdelning har visat att att kärlen inte bara rör sig i radiell led utan även longitudinellt [9]. Vid fortsatt forskning är förhoppningarna att man ska finna samband mellan olika sjukdomstillstånd och rörelsemönster i kärlväggarna. För att finna dessa behövs algoritmer som är snabba och korrekta i sina beräkningar.

### C. Motion tracking

Inom fluidmekaniken finns det framförallt två olika synsätt när det gäller att studera bilder på fluiders rörelser, Lagrangian

Inlämnat den 10 juni 2019

Emejladress: {kr2277ge-s@student.lu.se, ly0131ma-s@student.lu.se}

Teknisk handledare: Tobias Erlöv, Institutionen för Biomedicinsk Teknik, LTH

Teknisk handledare: Magnus Cinthio, Institutionen för Biomedicinsk Teknik, LTH

och Eulerian, båda är två typer av 'Motion Tracking'. Lagrangian går ut på att mäta rörelserna hos enskilda partiklar medan Eulerian mäter på ett särskilt område. I det första fallet väljer man ut en specifik partikel och följer den medan den rör sig genom fluiden, rörelserna kan då beskrivas som en funktion över tid. Vid användning av den andra metoden, Eulerian, studerar man rörelser som sker i ett specifikt område. [10] [11] Skillnaden mellan dessa två metoder kan beskrivas som att antingen sitta i en båt och följa med vattnets rörelser (Lagrangian) eller stå på en brygga och observera hur vattnet rör sig förbi ett visst område (Eulerian). [12]

Dessa två synsätt används för att analysera bilders rörelser i flera sammanhang, bland annat inom matematik, mekanik och ultraljud. Inom ultraljud brukar man prata om Block Matching och Phase Tracking som de två olika metoderna. Båda dessa kan använda sig av Eulerian-synsättet men om man ska utvärdera Lagrangian så är det Block Matching som måste användas. I den här rapporten kommer vi för enkelhetens skull att hänvisa de två synsätten som Block Matching istället för Lagrangian och Phase Tracking istället för Eulerian. Den främsta fördelen med Block Matching är att den oftast ger väldigt precisa och exakta bilder i jämförelse med Phase Tracking. Däremot kan det uppstå problem med Block Matching ifall den markerade partikeln försvinner ur bilden, då kan detektorn reagera på något annat och förstöra bildens noggrannhet. Fördelen med Phase Tracking är att metoden tar mycket kortare tid vilket innebär att bilder snabbare kan tas fram.

Många ultraljudsalgoritmer idag använder sig av Block Matching på grund av den höga precisionen. Algoritmen utvecklades av ultraljudsgruppen på institutionen för biomedicinsk teknik, LTH, som vi ska undersöka implementerar metoden Phase Tracking. Metoden betecknas som 'Intensity Phase Tracking' (IPT) och målet är att utvärdera ifall den kan bli lika precis som Block Matching på kortare tid.

#### D. Tes

Ultraljud är en enkel undersökningsmetod för att få en bra bild över blodflödet och kärlens tillstånd. Ultraljudsgruppen på institutionen för biomedicinsk teknik på LTH har utvecklat en IPT-algoritm som är utformad för att mäta vävnadsrörelser i två dimensioner. Syftet med vårt arbete är för första gången testa denna algoritm på en blodflödesliknande situation samt utvärdera detta för att avgöra om den kan användas inom vården.

#### E. Agenda

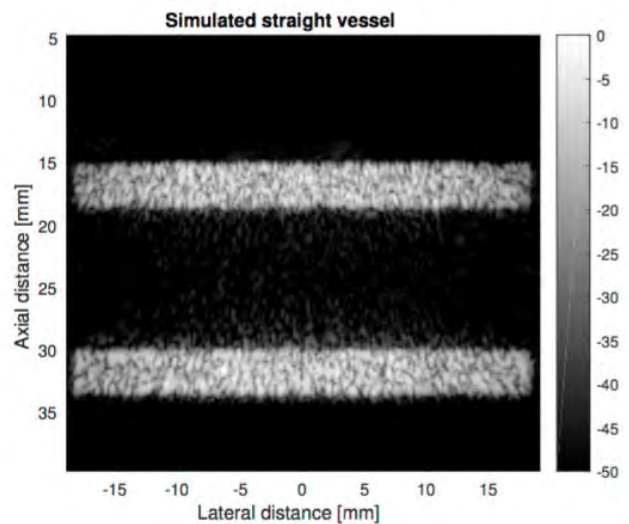
Målet är att hitta en ny och effektiv undersökningsmetod för att driva vården till att bli mer förebyggande. Detta kommer att genomföras genom implementering av algoritmen på simulerade ultraljudsbilder. För att uppnå detta krävs ett program i Matlab som på ett användarvänligt sätt tillåter evaluering av metoden. Därefter kan resultaten analyseras och slutsatser kring algoritmens användbarhet dras.

## II. DATA

För att kunna utvärdera algoritmen användes fantomer av olika slag. Från tävlingen IEEE International Ultrasonic Symposium fanns det tillgång till både uppmätta ultraljudsbilder på faktiska fantomer och även helt simulerade bilder gjorda i programmet Field II. Field II är en mjukvara skapad för att simulera givare, ljudvågornas utbredning samt mediets egenskaper beroende på användningsområde. I vår utvärdering användes endast de simulerade filmsekvenserna som algoritmen sedan kunde utföra sina beräkningar på.

### A. Straight Vessel 90°

Den ena fantomen som användes var 'Straight Vessel 90°', se figur 1. 90° står för vinkeln mellan blodets flöde och ultraljudsgivaren vilket även de simulerade bilderna ska representera. Flödet i den simulerade filmsekvensen är laminärt vilket är viktigt för att rörelseprofilen ska bli paraboliskt stabil. [13]



Figur 1. Simulerad version av fantomen 'Straight Vessel 90°'. [13]

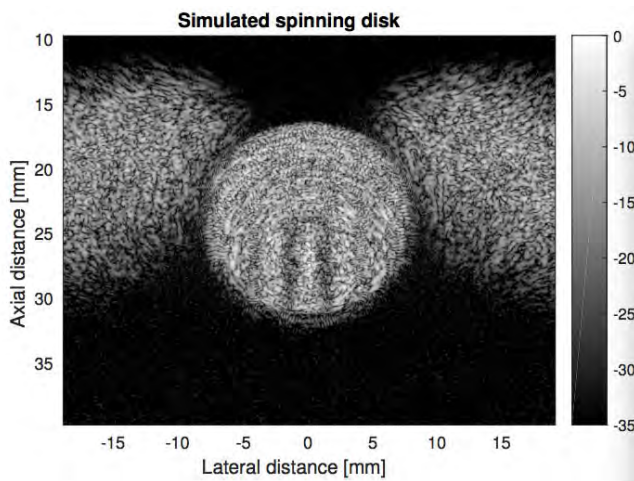
### B. Spinning Disk

Fantomen 'Spinning Disk', se figur 2, är en simulering av en disk som roterar moturs med en diameter på 1.5 cm. Datan är bra att använda då den testar metodens förmåga att mäta på alla olika vinklar. Maxhastigheten som återfinns i diskens ytterkant är 0,25 m/s. [13]

## III. METOD

Syftet med vårt kandidatarbete var att utvärdera IPT-algoritmen utvecklad av ultraljudsgruppen på institutionen för biomedicinsk teknik, LTH, som mäter rörelser i ultraljudsbilder i två olika riktningar. Evalueringen av algoritmen gjordes med hjälp av simulerade ultraljudsbilder från tävlingen IEEE International Ultrasonics Symposium som ägde rum 2018.

Tävlingen gick ut på att mäta blodflödes hastigheter på både uppmätta och simulerade ultraljudsbilder. På deras hemsida



Figur 2. Simulerad version av fantomen 'Spinning Disk'. [13]

finns dessa tillgängliga vilket gjorde det möjligt för oss att ladda ner dem och utföra egna mätningar. I vår utvärdering av IPT-algoritmen har vi använt oss av de simulerade ultraljudsbilderna angivna i avsnitt II, Data.

De simulerade ultraljudsbilderna var tagna i tur och ordning från fem olika vinklar: V1, V2, V3, V4, V5, V1, V2 osv. Ifall endast en vinkel studerades åt gången blev bilduppdateringshastigheten i förhållande till blodflödeshastigheten låg. På grund av låg frame rate uppstod en viss vinkningsdistorsion. För att undkomma detta gjordes en justering där alla fem vinklar i varje frame sattes ihop till en medelbild. Varje bild blev då ett medel av fem vinklar där tidsordningen i bild 1 var 'V1, V2, V3, V4, V5', bild 2 'V2, V3, V4, V5, V1' osv. Detta skapade fem gånger fler bilder där medelvinkeln som varje frame avbildade kärlet i fortfarande var densamma. Bilduppdateringshastigheten blev då som resultat fem gånger så hög och vinkningsfenomenet upphörde.

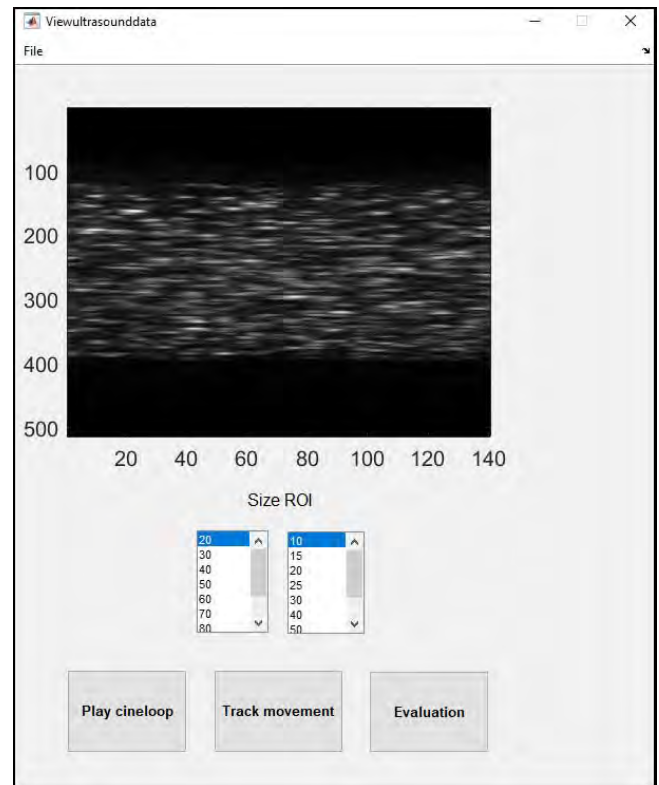
Eftersom de olika vinklarna har adderats i olika tidpunkter i förhållande till varandra så uppstår en skenbar variation i rörelsen. Vinklarna återgår till samma uppsättning efter fem frames vilket betyder att var femte frame kommer att ha samma förutsättningar. Vid analys av medelvärdsbildens rörelse blir det då orättvist att jämföra alla frames med varandra eftersom det sker en variation där emellan. För att åtgärda detta skapades en lösning som går ut på att man endast jämför var femte frame med varandra. Det interna jämförandet ger en mer rättvis bild av rörelserna hos medelvärdesbilden eftersom vinklarna kommer i rätt tidsordning. Resultatet blir även en lägre standardavvikelse.

#### A. Graphical User Interface

Det första steget i projektet var att utveckla en plattform för att kunna analysera och utvärdera ultraljudsbilderna. Med hjälp av kapitlet 'Importation and visualisation of ultrasound data' ur en bok som ännu ej släppts [14] skapades en Graphical User Interface (GUI) i Matlab, se figur 3.

Den första funktionen som vi skapade var 'File' som gjorde det möjligt att ladda upp ultraljudsbilder från datorn. När en fil

hade valts så visades den första bilden av ultraljudssekvensen i fönstret. För att kunna spela upp hela filmen skapade vi knappen 'Play cineloop', detta för att kunna få en uppfattning av hur filmen ser ut. Som förklarar tidigare går Phase Tracking ut på att mäta rörelser inom ett särskilt område och därför måste det finnas en möjlighet att välja storleken på området, även kallat för ROI, Region Of Interest. Storleken bestäms under 'Size ROI' där man anger hur många pixlar i x- och y-led ROI ska vara.



Figur 3. GUI som skapades.

Vid utvärderingen av Phase Tracking-metoden kan alltså ROI sättas till olika storlekar. Den nedre gränsen sattes till 20 x 10 pixlar och den övre till 100 x 70. Beroende på hur dessa värden väljs kan medelvärdet samt standardavvikelsen varieras. Hastigheterna inom ROI medelvärdesbildas vilket innebär att vid stora ROI kommer flera hastigheter att inkluderas, detta resulterar i ett medelvärde längre ifrån sanningen. Fördelen med stora ROI är att det kommer ske en överlappning mellan intilliggande mätningar vilket leder till en mindre standardavvikelse. Beroende på vilka förutsättningar man har kan man alltså anpassa ROI efter dessa. I de utvärderingarna vi utförde användes en ROI på 20 x 20 pixlar.

Efter att storleken har valts kan man påbörja själva mätningen genom att välja 'Track movement' där IPT-algoritmen för Phase Tracking är implementerad. Medan denna process är igång visas röda pilar på ultraljudsbilderna som demonstrerar hastighetsprofilen för blodflödet, se figur 4.

När Phase Tracking är avslutad sparas pixlarnas rörelser ner i två vektorer, Velocities.x för rörelserna i x-led och Velocities.z för rörelserna i z-led. För att kunna göra en utvärdering av

datan skapade vi funktionen 'Evaluation' där vi utnyttjade de evalueringsskripten som användes i själva tävlingen. Beroende på vilken fantom som utvärderas skapar skripten figurer som tydligt visar den uppmätta datan jämfört med facit. Med hjälp av dessa figurer kunde utvärderingen påbörjas.

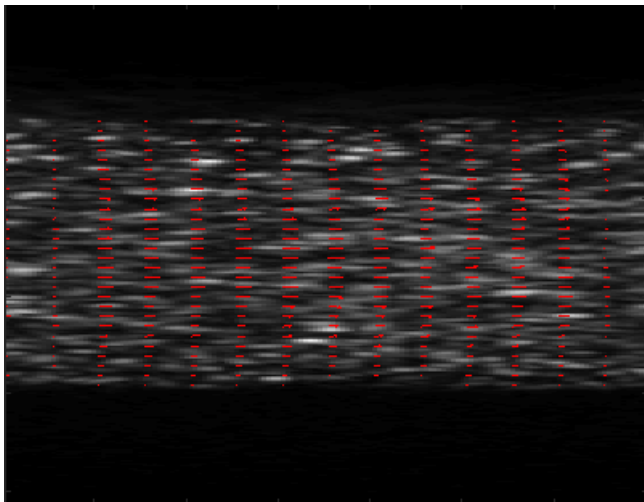


Figure 4. Blodflöde med pilar som representerar hastighetsprofilen.

#### IV. RESULTAT

Med hjälp av evalueringskoderna vi tagit från tävlingen kunde vi alltså på ett enkelt sätt få ett resultat på hur korrekta mätningar algoritmen gjorde.

##### A. Straight Vessel 90°

För evalueringen av 'Straight Vessel 90°' ritades två grafer upp, se figur 5. Den svarta linjen representerar medelvärdet av vår mätning, det gråa området är standardavvikelsen och den röda motsvarar simuleringens korrekta värden. I den övre grafen visas hastighetsprofilen blodet hade i kärlet och i den nedre syns vinkeln mellan kärlet och ultraljudsgivaren som alltså i denna simulering var 90°. I kommandofönstret i Matlab visades det även siffror på hur många procent det genomsnittliga medelvärdet skiljde sig från det korrekta samt vad den genomsnittliga standardavvikelsen blev för både hastigheten och den uppmätta vinkeln. Dessa är redovisade i tabell I och II.

Tabell I  
RESULTAT AV UPPMÄTT HASTIGHET

| Fantom              | Medelvärdesfel (%) | Standardavvikelse (%) |
|---------------------|--------------------|-----------------------|
| Straight Vessel 90° | 5.39               | 9.66                  |
| Spinning Disk       | 7.65               | 17.2                  |

Tabell II  
RESULTAT AV UPPMÄTT VINKEL

| Fantom              | Medelvärdesfel (°) | Standardavvikelse (°) |
|---------------------|--------------------|-----------------------|
| Straight Vessel 90° | 0.58               | 13.3                  |
| Spinning Disk       | 3.34               | 19.5                  |

##### B. Spinning Disk

För evaluering av 'Spinning Disk' fick man istället ut sex figurer bestående av 'Estimated Angle', 'Estimated Velocity', 'Angle Error', 'Velocity Magnitude Error', 'Velocity Standard Deviation' och 'Angle Standard Deviation'. De grafer som redovisas här är 'Estimated Angle', se figur 8, 'Estimated Velocity', se figur 6 samt 'Angle Error' och 'Velocity Magnitude Error', se figur 7. I figur 6 och 8 motsvarar de vita strecken och siffror de korrekta värden simuleringen antar. I figur 7 visas hur många grader fel algoritmen mäter samt hur många procent fel algoritmen mäter på hastigheten. Siffror på hur många procent det uppmätta medelvärdet skiljer sig från det korrekta samt standardavvikelse för hastighet och vinklar är redovisade i tabell I och II.

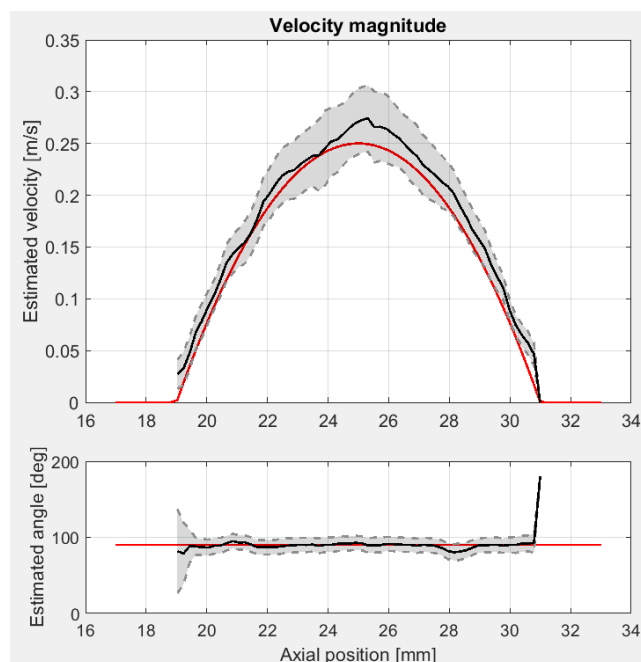
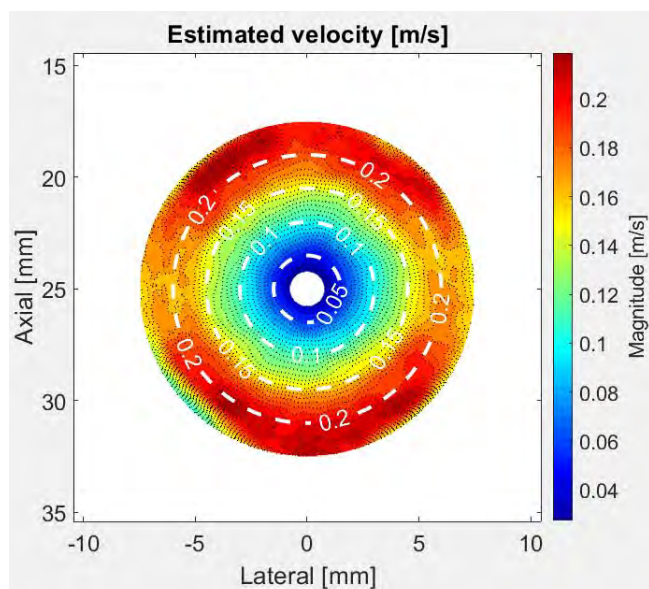


Figure 5. Resultat efter användning av algoritmen på simulering av 'Straight Vessel 90°'.

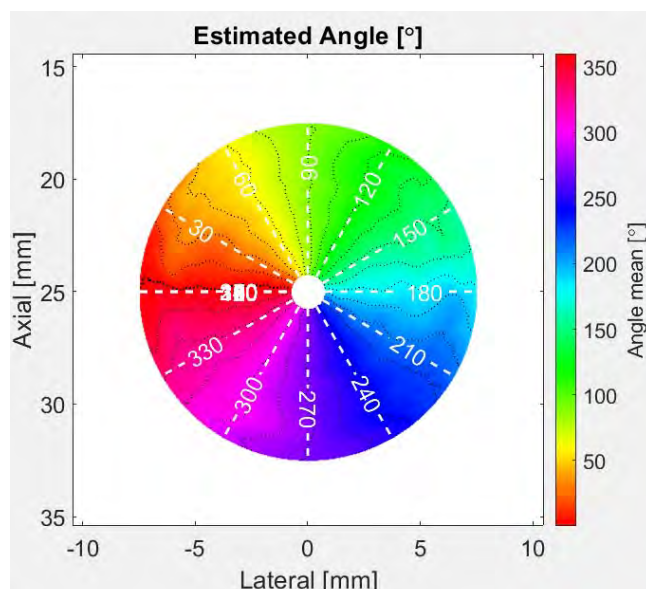
#### V. DISKUSSION

Vid användning av algoritmen på simuleringen 'Straight Vessel 90°' blev resultatet vid hastighetsmätningen att det uppmätta medelvärdet skiljde sig 5.39% från det korrekta. Med tanke på metodens snabba beräkningar är det absolut ett godkänt resultat som ger en bra indikation på hur hastighetsprofilen ser ut i kärlet. För att få ännu mindre fel i just denna mätning kan man använda sig av Block Matching vilket diskuteras nedan. Standardavvikelsen för hastigheten uppmättes till 9,66% vilket är betydligt högre än för långsammare metoder. Resultaten för den uppmätta vinkeln blev att medelvärdet skiljde sig 0,58° från det korrekta samt hade en standardavvikelse på 13,3%. Alltså ett nästintill felfritt medelvärde men även här lite högre standardavvikelse.

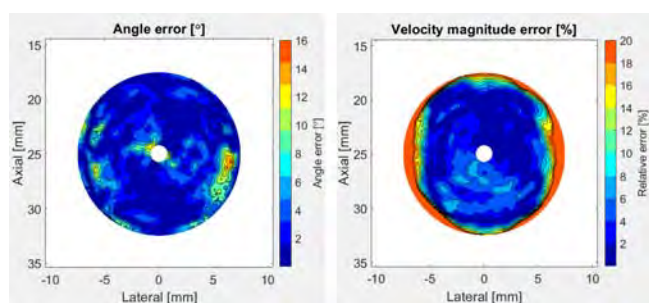
Resultaten för 'Spinning Disk' fick större fel gällande både hastighet och uppmätt vinkel. Även här var dock medelvärdet inte så långt ifrån det korrekta medans standardavvikelsen var lite högre.



Figur 6. Medelvärde av uppmätt hastighet med algoritmen på simuleringen 'Spinning Disk'.



Figur 8. Medelvärde av uppmätt vinkel med algoritmen på simuleringen 'Spinning Disk'.



Figur 7. Vinkelfel och hastighetsfel efter användning av algoritmen på simuleringen 'Spinning Disk'.

### A. Algoritmens egenskaper

Algoritmen av ultraljudsgruppen på institutionen för biomedicinsk teknik, LTH, är ursprungligen utvecklad för vävnadsrörelser vilket innebär att den är anpassad efter hastigheter med storleksordningen mm/s. Denna faktor måste tas hänsyn till vid mätningarna eftersom blodflöden rör sig med mycket högre hastigheter, storleksordning dm/s.

Beroende på hur ROI valdes kunde resultaten anpassas för att antingen få så precist medelvärde som möjligt eller så liten standardavvikelse som möjligt. Vid ultraljudsundersökningar måste en övervägning göras för att bestämma vad som är mest betydelsefullt. I de flesta situationerna är det viktigast att få en översiktsbild över hur blodflödet ser ut och med vilka hastigheter blodet flödar. I dessa fall är ett korrekt medelvärde mest intressant och därför är ett litet ROI lämpligast.

### B. Phase Tracking vs Block Matching

Långa vårdköer har länge varit ett av de största problemen inom den svenska sjukvården. [15] Sverige har i flera mätningar visat sig ha de längsta vårdköerna i Europa. [16] Köerna beror på flera faktorer såsom utmattad personal, brist

på vårdplatser samt felorganisering av sjukvården. [17] Det finns inga entydiga lösningar på problemet men ett steg i rätt riktning är att ersätta tidskrävande undersökningar med snabbare alternativ, utan att kvaliteten går förlorad.

Att införa en mindre tidskrävande screeningmetod för diverse hjärt- och kärlsjukdomar skulle innebära att fler patienter kan undersökas på samma tid. Ur en ekonomisk synvinkel hade det varit gynnsamt för sjukvården eftersom antalet svårt drabbade minskar drastiskt.

Trots att den nya metoden främst är avsedd för att användas i förebyggande syfte så finns det tillfällen då patienter kan behöva göra ultraljud akut. I sådana situationer är det av stor vikt att kunna få provsvar snabbt och då är det framförallt en helhetsbild man vill ha för att säkerställa att ingen allvarlig skada har inträffat.

Som tidigare nämnt finns det fördelar och nackdelar med Block Matching respektive Phase Tracking. Den huvudsakliga skillnaden är att Block Matching är mer precis medan Phase Tracking är snabbare. I mätningen av 'Straight Vessel 90°' blev det genomsnittliga medelvärdet ca 5% avvikande från det korrekta värdet och Spinning Disk knappt 8%. Trots att Block Matching i vissa fall kan ge ännu mer noggranna resultat gäller det att väga precision mot tid.

Visionen är att implementera Phase Tracking som en snabbare ultraljudsalgoritm för att kunna få en översikt över kärlens tillstånd. Utifrån resultaten kan då beslut fattas om patienten i fråga behöver utredas ytterligare. Ifall patologiskt tillstånd misstänks kan det möjligtvis krävas en mer noggrann metod för att analysera ultraljudsdaten, t.ex. Block Matching. Detta innebär att den ena metoden inte uteslutar den andra, de kan potentiellt användas tillsammans för att effektivisera vården.

En viktig faktor att ha i åtanke innan några riktiga beslut kan fattas angående skillnaden i noggrannhet mellan Block Matching och Phase Tracking är under vilka omständigheter ultraljudsdaten kommit till. Som vi nämnde tidigare i rapporten

har endast simulerade ultraljudsbilder använts vid våra evalueringar, dvs inga mätningar på fysiska fantomer har gjorts. Vinnarna av IEEE IUS använde sig av Block Matching och publicerade en artikel där vissa resultat presenterades. [18] Där framgår det att deras medelvärde och standardavvikelse är aningen mer precisa än de vi fått med Phase Tracking men även där har endast simulerade ultraljudsbilder använts. En stor nackdel med Block Matching är att metoden är väldigt känslig för bildkvalitet och kan ge upphov till felaktiga analyser ifall partiklar försvinner ur bildplanet. I simulerade ultraljudsbilder uppstår inte detta fenomen vilket innebär att Block Matching ger ett missvisande intryck av att leverera bättre resultat. I verkligheten är situationen mycket mer komplicerad och ofta kan Block Matching endast användas på vissa ställen i bilderna då risken för felaktiga resultat är för stor.

För att kunna utvärdera de två metoderna Block Matching och Phase Tracking ytterligare behövs utan tvekan mer forskning.

### C. Fortsatt forskning

Trots att inga slutgiltiga slutsatser har kunnat dras beträffande skillnaden i precision har vi lyckats skapa en enkel och snabb GUI. Med GUI:n kan förbättringar av algoritmen eller till och med nya algoritmer utvärderas på ett smidigt sätt. Detta innebär att det nu finns goda förutsättningar för fortsatt förbättring och fortsatt forskning inom området.

## VI. HÅLLBAR UTVECKLING

Hållbar utveckling delas ofta in i tre kategorier; ekologisk hållbarhet, social hållbarhet och ekonomisk hållbarhet [19]. Ekologisk hållbarhet har att göra med allt som innefattar jordens ekosystem. I korthet kan man säga att produktionen av varan eller tjänsten inte får kompromissa med naturens förmåga att hinna återskapa uttagna resurser. [20] Social hållbarhet handlar om att sikta mot ett samhälle där människans lika värde står i centrum. Alla människors grundläggande behov ska tillgodoses och alla människor ska vara inkluderade oavsett bakgrund. [21] Den ekonomiska hållbarheten kan tolkas på olika sätt men ett av de vanligaste är att en ekonomisk tillväxt kan ske utan någon bekostnad på de andra två kategorierna. [22]

Då vår produkt är en algoritm som kodas på en dator är allt man behöver vid framställningen just en dator och elektricitet. Elektricitet kan framställas på många olika sätt men för att sikta mot en ekologisk hållbar utveckling bör den vara förnyelsebar. Visionen är att produkten ska kunna användas för att hitta sjukdomar i tid och på så sätt gynna den sociala hållbarheten där alla människor ska ha rätt till den sjukvård de behöver. Den ekonomiska vinsten kommer alltså inte påverka den ekologiska eller den sociala hållbarheten negativt så länge man försöker använda sig av förnyelsebar energi vid undersökningar.

## VII. ETIK

Varken vid skapandet eller vid utvärderingen av algoritmen har några tester behövt utföras på riktiga människor. Detta då simuleringar har använts för att få fram data att utföra

utvärderingarna på. Skulle man i ett senare skede vilja testa metoden på människor är ultraljud ett helt ofarligt sätt att få fram bilder på.

## VIII. SLUTSATSER

Algoritmen som har utvärderats har visat sig vara mycket snabb och effektiv. Med hänsyn till metodens tidsåtgång är de resultat som presenterats mycket lovande. Det program som har tagits fram kommer underlätta framtida arbeten och förbättringar tack vare användarvänligheten hos GUI:n. Det finns fortfarande utrymme för förbättring och mer forskning behövs men vi ser absolut en potentiell användning av metoden inom vården.

## IX. EFTERORD

Vi vill rikta ett stort tack till vår tekniska handledare Tobias Erlöv för hans stöd och engagemang under hela projektets gång. Han har varit till stor hjälp med alla tekniska och teoretiska frågor samt gett oss givande vägledning.

Vi vill även tacka vår handledare Magnus Cinthio som är anledningen till att vi fick möjligheten att vara del av detta projekt. Han har hjälpt oss med att utforma vår frågeställning och visat stort intresse i arbetet.

Till sist vill vi även tacka Vincent Perrot som har svarat på våra frågor under projektets gång samt hjälpt oss att sätta ihop rådatan från tävlingen till färdiga bilder som vi sedan kunde använda oss av.

Under projektets gång har arbetet fördelats jämnt mellan de två författarna, båda har bidragit till projektets utformning, dataanalys samt rapportskrivande.

## REFERENSER

- [1] Socialstyrelsen. Statistik om dödsorsaker 2017. <https://www.socialstyrelsen.se/Lists/Artikelkatalog/Attachments/21101/2018-10-17.pdf> hämtad 2019.05.07.
- [2] World Health Organization. Cardiovascular diseases (cvds). [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) hämtad 2019.05.07.
- [3] Wikipedia. Ultraljud. <https://sv.wikipedia.org/wiki/Ultraljud> hämtad 2019.05.07.
- [4] 1177. Ultraljudsundersökning. <https://www.1177.se/Skane/behandling--hjalpmedel/undersokningar-och-provtagning/bildundersokningar-och-rontgen/ultraljudsundersokning/> hämtad 2019.05.07.
- [5] Wikipedia. Screening. <https://sv.wikipedia.org/wiki/Screening> hämtad 2019.05.07.
- [6] Hjärt-Lungfonden. Aortaaneurysm (pulsåderbräck). <https://www.hjart-lungfonden.se/Sjukdomar/Hjartsjukdomar/Aortaaneurysm/> hämtad 2019.05.07.
- [7] Håkan Roos. Aneurysm. <https://www.sahlgrenska.se/utbildning/karlkirurgi-for-kandidater/karlkirurgiska-sjukdomstillstand/aneurysm/> hämtad 2019.05.07.
- [8] Tobias Erlöv, Åsa Rydén Ahlgren, John Albinsson, Simon Segstedt, Jan Nilsson, Tomas Jansson, Hans W Persson och Magnus Cinthio. A fast 2d tissue motion estimator based on the phase of the intensity enables visualization of the propagation of the longitudinal movement in the carotid artery wall, 2013.
- [9] Magnus Cinthio, Åsa Rydén Ahlgren, Jonas Bergkvist, Tomas Jansson, Hans W. Persson, Kjell Lindström. Longitudinal movements and resulting shear strain of the arterial wall. Publicerad 2006.07.01, hämtad 2019.05.07.
- [10] Quora. What is the difference between lagrangian and eulerian approach? <https://www.quora.com/What-is-the-difference-between-lagrangian-and-Eulerian-approach> hämtad 2019.05.12.

- [11] PennState. Descriptions of fluid flows. [https://www.mne.psu.edu/cimbala/Learning/Fluid/Introductory/descriptions\\_of\\_fluid\\_flows.htm](https://www.mne.psu.edu/cimbala/Learning/Fluid/Introductory/descriptions_of_fluid_flows.htm) hämtad 2019.05.12.
- [12] Wikipedia. Lagrangian and eulerian specification of the flow field. [https://en.wikipedia.org/wiki/Lagrangian\\_and\\_Eulerian\\_specification\\_of\\_the\\_flow\\_field](https://en.wikipedia.org/wiki/Lagrangian_and_Eulerian_specification_of_the_flow_field) hämtad 2019.05.12.
- [13] Jørgen Arendt Jensen och Carlos Armando Villagomez-Hoyos. 2018 ieees sa-vfi challenge. [http://sites.ieee.org/ius-2018/files/2018/01/2018\\_IEEE\\_IUS\\_SA-VFI\\_Challenge.pdf](http://sites.ieee.org/ius-2018/files/2018/01/2018_IEEE_IUS_SA-VFI_Challenge.pdf) hämtad 2019.05.07.
- [14] M Cinthio, T Erlöv, T Jansson. Importation and visualisation of ultrasound data. pages 1–5, 2019.
- [15] Kristoffer Örstadius. Fakta i frågan: Har vårdköerna vuxit? <https://www.dn.se/nyheter/politik/fakta-i-fragan-har-vardkoerna-vuxit/> hämtad 2019.05.16.
- [16] Johan Hjertqvist och Arne Björnberg. Sverige har längsta vårdköerna i europa. <https://www.aftonbladet.se/debatt/a/a2aXwa/sverige-har-langsta-vardkoerna-i-europa> hämtad 2019.05.16.
- [17] Anette Holmqvist. Sjukvården – valets viktigaste fråga. <https://www.aftonbladet.se/nyheter/samhalle/a/rLKyW8/sjukvarden--valets-viktigaste-fraga> hämtad 2019.05.16.
- [18] D Garcia , V Perrot. Back to basics in ultrasound velocimetry: tracking speckles by using a standard piv algorithm. pages 1–4, 2018.
- [19] KTH. Hållbar utveckling. <https://www.kth.se/om/miljo-hallbar-utveckling/utbildning-miljo-hallbar-utveckling/verktygslada/sustainable-development/hallbar-utveckling-1.350579> hämtad 2019.05.13.
- [20] KTH. Ekologisk hållbarhet. <https://www.kth.se/om/miljo-hallbar-utveckling/utbildning-miljo-hallbar-utveckling/verktygslada/sustainable-development/ekologisk-hallbarhet-1.432074> hämtad 2019.05.13.
- [21] Folkhälsomyndigheten. Vad är social hållbarhet för oss? <https://www.folkhalsomyndigheten.se/motesplats-social-hallbarhet/social-hallbarhet/> hämtad 2019.05.13.
- [22] KTH. Ekonomisk hållbarhet. <https://www.kth.se/om/miljo-hallbar-utveckling/utbildning-miljo-hallbar-utveckling/verktygslada/sustainable-development/ekonomisk-hallbarhet-1.431976> hämtad 2019.05.13.

# Ultrasound evaluation of beating hearts ex vivo during transplantation

Elin Johansson (BME-16), Fanny Månefjord (BME-16)

**Abstract**—Evaluation of heart functionality ex vivo during transplantation is possible due to a preservation system developed by Igelösa Life Science AB. The evaluation system, also developed by Igelösa, examines the pumping function of the heart with different resistances and heart rates to mimic the recipient. This will enable selection based on heart functionality rather than the donor's characteristics. In this project the goal was to lay a foundation for the development of an ultrasound examination method which could be a complement to the evaluation system. A literature survey, an interview with a specialist in echocardiography and an experiment at Igelösa Life Science AB were performed. The literature survey covers the physiology of the heart, ultrasound imaging technology, donor demographics and related research. In the experiment it was possible to investigate the heart walls and the valves. The contractility of the heart walls shows the pumping function and earlier damages such as heart infarction. By investigating the valves, calcification and valve leakage can be identified. Possible benefits by the evaluation system are increasing the amount of acceptable donors, cross-border transplantation and a higher quality of the donated hearts. Before ultrasound examination can be used clinically for this purpose more research is needed, for example regarding standard imaging planes.

## I. INTRODUCTION

**H**EART transplantation, when a malfunctioning heart is replaced with a heart from a donor, is the only solution for many patients with severe heart disease. The waiting list is long and it is problematic to find a heart that matches the patient. Today there is a long list of donor selection criteria to reduce the risk of rejection or heart failure in the recipient. Although the criteria are more like guidelines, a donor who fails to meet some of the criteria could be a better match. Likewise, there is no guarantee that a heart that meets the requirements is safe to use. An ex vivo evaluation of the heart's function can enable use of some of today's discarded hearts, improve matching physiological properties and expand the accepted donor demographic i.e. the accepted group of possible donors. The evaluation can also reduce the amount of transplanted hearts with insufficient function and thus lower the risk of heart failure. Igelösa Life Science AB is developing such a system. This report includes a discussion of the use of ultrasound imaging to improve the evaluation.

### A. Background

Stig Steen et al. [1] have recently developed a device to safely preserve human hearts ex vivo. In the initial animal

studies, porcine hearts were harvested 24 hours after brain death and stored in the preservation system for another 24 hours before implantation. The long storage time is possible thanks to the hardware of the system, automatic control and pharmaceuticals. The system protects the heart from mechanical shocks and embolism and perfuses the heart with nutrition and oxygen. The preservation system enables longer transportation, less acute surgeries and gives time to evaluate the heart.

### B. The evaluation system

A schematic image of Igelösa's evaluation system can be seen in Figure 1. The heart is connected to the system via cannulation and gets perfused with washed red blood cells in a synthetic plasma. The heart is beating in sinus rhythm during the evaluation. To be able to mimic the recipient's vascular resistance, the system has dynamically controlled impedances. By changing the impedances different pressures can be tested. The temperature is controlled and the heart is constantly oxygenated and decarbonated. The flow and pressure is measured inside each impedance. The system provides information about cardiac output as well as the pressure-volume relations through the cardiac cycle. The evaluation has a clinical relevance since the quality of the heart could be determined by its function rather than by the donor's age, health and cause of death.

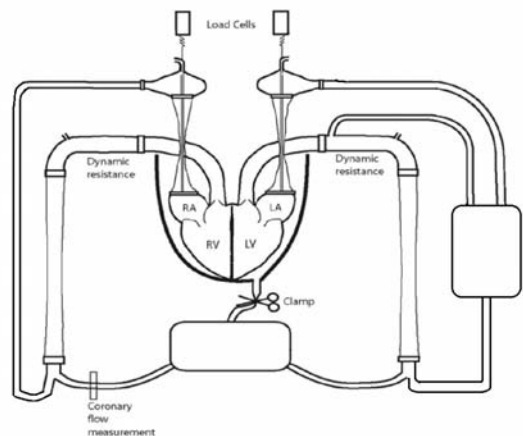


Fig. 1. A schematic image of the ex vivo heart evaluation system. Photo by Igelösa Life Science AB, modified and used with permission.

This project is focused on developing the evaluation system further by including ultrasound technology. We have

Submitted: 2019-05-24

Email: {el2220jo-s@student.lu.se, fa6650ma-s@student.lu.se}

Technical mentor: Kristian Soltesz, Department of Automatic Control

Clinical mentor: Harry Pigot, Department of Automatic Control

investigated how a diagnostic ultrasound examination can be done on hearts *ex vivo* and which health parameters such an examination can determine. A literature survey, an interview and an experiment lay the foundation for the discussion and conclusion.

### C. Ultrasound technology

Diagnostic ultrasound technology uses sound waves in the frequency range 2-15 MHz to produce images [2]. The sound waves are emitted from a transducer into the tissue and differences in acoustic impedance generate reflections of the sound waves. The echoes are detected by the transducer and an image is produced. The image can resemble a map of relative differences in acoustic impedance in the tissue. Properties of the ultrasound beam are frequency dependent. High frequencies give images with high resolution at a limited depth while lower frequencies can penetrate deeper but with a lower resolution.

Velocities and flows can be measured with Doppler technology. Moving blood cells scatter the sound waves and the echoes are modified due to the Doppler effect [2]. Particles moving towards the transducer compress the sound waves and particles moving away increase the wavelength. Pulsed wave Doppler uses a short pulse and the user chooses a location to collect data from. Echoes from the pulse are received and the real time velocity of the reflector can be determined. Continuous wave Doppler uses two elements on the transducer, where one is sending and one receiving. The velocity is measured continuously in the covered field by calculating the shift in phase between the sent and received wave. Colour Doppler is a technique where the mean velocity in a small volume is calculated and marked with a colour. A red and blue scale is often used, where red corresponds to velocities towards the transducer and blue corresponds to velocities away from it. Imaging of this type is used to visualise blood flow.

Echocardiography, ultrasound imaging of the heart, is a common examination method of heart diseases [3]. The sound waves have to travel a long way: through the chest wall, the pericardium and the heart. To be able to examine the heart's structure and function physicians use several standard imaging windows, see Figure 2. The windows are achieved by using the anatomy of the body as a reference. For example, the transducer is put in the third, fourth or fifth intercostal space, left of the sternum, to receive the long-axis view. By always using the same windows, the same plane views of the heart are received. This makes it easy for physicians to compare images and diagnose conditions.

Ultrasound imaging is considered to be one of the safest medical imaging techniques due to the lack of radiation [3]. Although, high intensity pulses contribute to an increase of the temperature in the tissue. Especially pulsed wave Doppler, where many high intensity pulses hit a small focal point for a long time, can result in harmful local heating. The risk of tissue injury from heating is higher in tissues with low or non-existing blood flow since flowing blood transports and spreads the heat. The risk factor for heating, thermal index (TI), is the ratio between acoustic power from the transducer

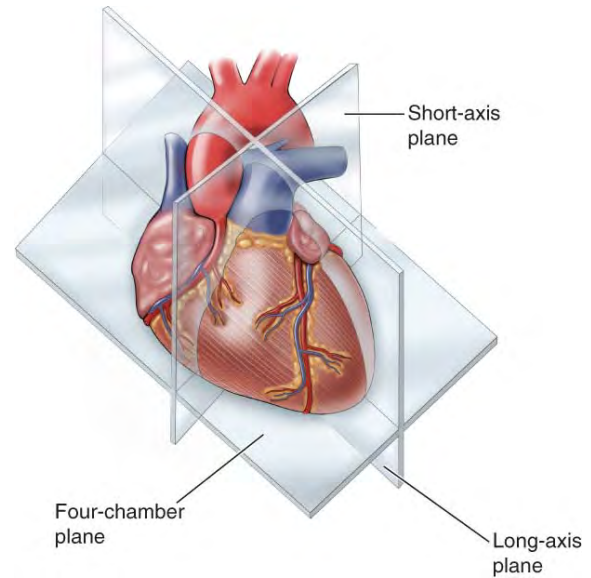


Fig. 2. The planes of the heart received from standard ultrasound windows [4].

and the estimated power needed to raise the temperature of the tissue 1 °C. Ultrasound operators usually work in a way that makes TI as low as possible and there is no specific upper limit for TI. Although, a TI below 2 is generally considered safe exposure for adults.

Cavitation is a state where gas bubbles oscillate and eventually burst [3]. When a bubble bursts the temperature can rise to 1 000-10 000 °C locally which makes cavitation another safety risk in ultrasound imaging. The risk factor for cavitation, mechanical index (MI), is an estimation of the risk of inducing cavitation. If gas bubbles are used as contrast agent the risk of cavitation increases. When contrast agents are used, inertial cavitation can usually be avoided if MI is kept below 0.3.

Both risk factors, TI and MI, can be calculated by the ultrasound machine if the tissue type is stated. Clinical ultrasound machines are constructed to always keep MI and TI in the safe zone.

### D. Physiology of the heart

The human heart consists of four chambers: two ventricles and two atria [5]. The septum separates the right and left halves. A schematic image of the heart can be seen in Figure 3. The right half pumps deoxygenated blood from the body to the lungs and the left half receives oxygenated blood from the lungs and pumps it out to the body. There are four valves to prevent backflow. The atrioventricular valves (AV valves) are located between the atrium and the ventricle in both halves of the heart. The pulmonary valve prevents backflow from the pulmonary artery into the right ventricle. The valve between the left ventricle and the aorta is called the aortic valve.

Pressure differences across the valves make them open and close in a passive process [5]. A healthy valve is soft and flexible when the blood flows out and closes entirely to prevent backflow. Healthy valves makes the blood flow laminar, which means it runs smooth in one direction. A narrowed and stiff

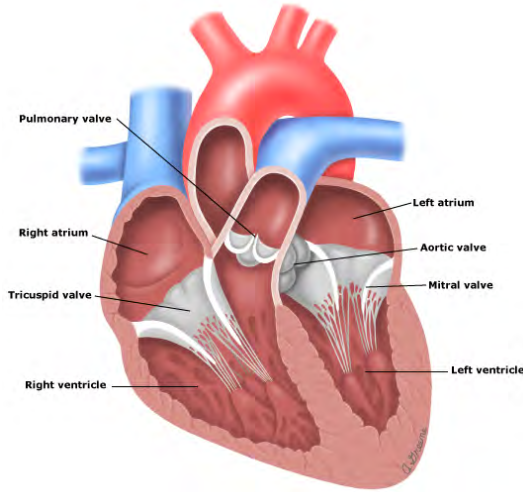


Fig. 3. A schematic figure of the anatomy of the heart [6].

(stenotic) valve causes turbulent flow. The heart needs to work harder to push the blood through a stenotic valve which stresses the heart. A damaged valve can leak, a state called insufficiency. The leakage results in a smaller stroke volume and thus the heart has to work harder.

Like all other muscles, the heart needs oxygen and nutrition which are supplied by the coronary circulation. The coronary arteries are branches from the aorta and split up into a fine network to supply all heart muscle cells with oxygen-rich blood [7]. A fully or partly blocked coronary artery can cause heart infarction [8]. Narrowed arteries limit the blood flow which leads to a lack of oxygen to the surrounding tissue. If the lack of oxygen lasts long enough the tissue will die and the dead area loses its ability to contract. This state of myocardial infarction is irreversible and can be confirmed with diagnostic ultrasound.

## II. METHOD

Background research including a literature survey was done. The survey included the following subjects:

- Ultrasound technology
- Physiology of the heart
- Acceptable donors now and in the future
- Related research
- Risks related to transplantation

Igelösa Life Science AB was visited to acquire knowledge of the evaluation system and to look at the ultrasound machine. To be able to plan the experiment, reports from related research were taken to consideration and an interview with Åsa Rydén Ahlgren [9], associate professor and clinical physiologist, specialised in echocardiography at Lund University, was done.

The results from the literature survey and the experiments were analysed and discussed in this report. Continuous contact with Kristian Soltesz, technical mentor, has been held to get feedback, discuss ideas and move forward throughout the project.

### A. Experiment

The experiment was performed in collaboration with Tomas Jansson, professor at Lund University, Åsa Rydén Ahlgren and the crew at Igelösa Life Science AB. The primary goal was to verify that the available ultrasound machine could produce images with diagnostic information. The following subjects were investigated as well:

- Which transducer is best for the purpose?
- Which settings should be used?
- Which areas of the heart are available to the transducer?
- Which parts of the heart can be examined?

The ultrasound machine used was Acuson Sequoia 512. Different frequencies, image settings and ultrasound transducers were tested to determine what is ideal for ex vivo evaluation. A picture from the experiment can be seen in Figure 4. It is important that no air is between the ultrasound transducer and the heart. Specific ultrasound gels can be used, but it was hard to keep the gel in place since the heart was wet, slippery and moving. Therefore the transducer was put into a latex condom with some millilitres of gel inside. The plastic tubes connected to the heart, see Figure 4, limits the available areas and angles for the transducer. A part of the experiment was to test the accessible areas and to see what could be visualised from them.

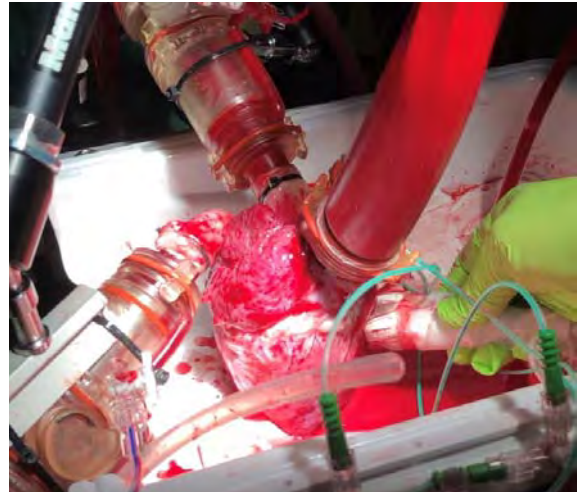


Fig. 4. A picture of an ongoing experiment on a porcine heart. An ultrasound transducer is held to the left ventricle.

To evaluate the heart walls, the transducer was put near the apex, on the left side of the heart. This gave an image of the thickness of the walls. The transducer was brought up towards the left atrium to evaluate the ventricle walls from apex to atria. When the transducer reached the plastic tube and was aimed upwards, see Figure 4, the mitral valve could be seen. By placing the transducer on the left atrium, pointing downwards, the mitral and aortic valves could be observed.

Colour Doppler was used to detect valve leakage (backflow), which would show an abnormal colour pattern. To visualise the flow colour Doppler was used. To make an estimation of the maximum velocity spectral Doppler (continuous and pulsed wave Doppler) were used. The velocity measurements from the

Doppler investigation can be used as complements to the flow meters connected to the heart in the evaluation system. The valves were also examined in a regular 2D image to evaluate morphology and discover e.g. calcification. Calcified valves have higher echogenicity and show decreased movement.

### III. RESULTS

#### A. Interview

In the interview, Rydén Ahlgren [9] gave an introduction to echocardiography. Among other things, she explained that echocardiography can be used to evaluate and examine diseased heart valves. Stenotic valves mostly have higher echogenicity and show decreased movement. Continuous wave Doppler is used to evaluate the magnitude of the stenosis since it can measure high velocities. To detect valve leakage and to find the area with maximum velocity in stenotic valves, Colour Doppler is used. Further, colour Doppler makes it possible to detect septal defects i.e. "holes" in the septum.

Additionally she explained that the heart muscle contracts and relaxes cyclically. With 2D imaging, the dimensions and movements of the cardiac chambers can be assessed. This gives an overview of the heart's general state. The pump function of the heart is partly received by contraction of the ventricle walls. The left ventricle has thicker walls than the right since it has to pump large amounts of blood at high pressures. Healthy ventricle walls contract equally from all directions.

#### B. Experimental results

The neonatal transducer (8V5) with frequency range 5.5 - 8.5 MHz worked best for the purpose. A neonatal transducer is suitable for the examination of hearts ex vivo because it delivers high frequency waves which have low penetration capacity and the images obtains high resolution. This is eligible when the examined object is close to the transducer. With the frequency 7.5 MHz the maximum depth was 80 mm. 33 Hz frame rate was used which means that a moving image is received. The photos in this report are screenshots from the videos.

The left side of the heart is more accessible than the right side due to the arrangement of the system. The tubes connected to the heart restricts the available areas to the transducer. By putting the transducer on the left ventricle near the apex the heart walls were examined for asymmetrical contractions and thickened heart walls, see Figure 5. Asymmetrical contractions can be an indicator of possible earlier damage such as heart infarction. Enlarged heart walls is a potential sign of ventricular hypertrophy.

The mitral valve as well as the aortic valve were visible when the transducer was held and slightly tilted on the left atrium, see Figure 6. It was possible to see the movement and morphology of the valves and to rule out valve leakage by using colour Doppler.

#### C. Acceptable donors

To achieve a successful transplantation there are several aspects to consider [10]. Since there is no established method



Fig. 5. An ultrasound image of A. the left ventricle and B. the right ventricle.

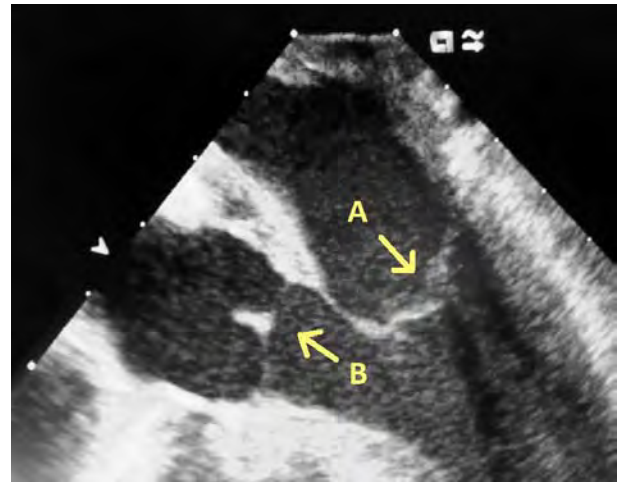


Fig. 6. Ultrasound image of A. the mitral valve and B. the aortic valve.

to evaluate the donated heart's function today, multiple selection criteria exist. Fulfilling the criteria lowers the risk for the recipient. With evaluation, the goal is to overlook some of these criteria since they narrow the donor demographics without any guarantees that the heart is safe to transplant. Some of the traditional cardiac donor selection criteria are listed below.

- Age <55 years old
- No history of chest trauma or cardiac disease
- No prolonged hypotension or hypoxemia
- Appropriate hemodynamics
- Normal electrocardiogram
- Normal echocardiogram

In Sweden today, it is only permitted to use hearts from people who died from brain death. This donation group is called Donation after Brain Death (DBD) [11]. The Uniform Determination of Death Act defines brain death this way [12]:

- An individual who has sustained either (1) irreversible cessation of circulatory and respiratory functions, or (2) irreversible cessation of all functions of the entire brain, including the brain stem,

is dead. A determination of death must be made in accordance with accepted medical standards.

The shortage of organs for transplantation as well as a technical improvement have lead to an interest in expanding the donation groups. Some countries have begun to accept Donation after Circulatory Death (DCD) for some organs [11]. Depending on the circumstances of the cardiac death, DCD donors are classified in four categories. A project performed by Văvnadsrådet [13] attempts to introduce DCD transplantation in Sweden. In Great Britain and Australia which have used DCD transplantation for many years, the group contribute to 20-25% of all donations.

To maximise the chance of finding a matching organ most countries in the EU have made an agreement about cross-border transplantation with the organisation Eurotransplant [14]. If no recipient for an organ can be found in the donor's country, the search continues on the waiting lists in other European countries. Cross-border transplantation is applicable on organs that manage many hours cold, without oxygen and nutrition or organs that are perfused in a preservation system.

#### D. Transplantation

After heart transplantation, many problems may arise despite the use of medication such as immunosuppressive agents. The immune system reacts on unknown objects or cells in the body as if they were dangerous. If the reaction is too severe the transplanted organ can be rejected. Acute rejection is a life threatening state for the recipient.

Primary graft failure is when the transplanted heart fails to deliver the cardiac output and the blood pressure the donor needs. This stands for up to 40 % of the deaths within 30 days after transplantation which makes it the most common acute cause of death [15]. The stage before primary graft failure is primary graft dysfunction (PGD). PGD may result in a low cardiac output syndrome i.e. reduced blood volume ejected every heartbeat. There are several risk factors for PGD and they can be categorised into donor, procedural or recipient factors [16]. Three of the risk factors and their explanation can be seen in Table I.

TABLE I  
RISK FACTORS FOR PGD

| Classification | State                        | Explanation                          |
|----------------|------------------------------|--------------------------------------|
| Donor          | Systolic dysfunction         | Decreased contractility              |
| Donor          | Left ventricular hypertrophy | Thickening of the ventricular walls  |
| Recipient      | Pulmonary hypertension       | High resistance in the lung arteries |

For recipients with pulmonary hypertension, the right ventricle has to work harder than in healthy people to pump the blood into the lungs. Eventually, this could cause the transplanted heart to weaken and fail if it is not strong enough. It is important to test the right side of a donated heart since it can be damaged during brain death. Kendall et al. [17] have proven that the right ventricle sustains more damage than the left during brain death. Left ventricular hypertrophy makes the

muscle tissue less elastic and the ventricle's ability to fill is impaired.

#### E. Related research

Petterson et al. have done a study on ultrasound imaging on ex vivo beating porcine hearts [18]. Cardiac output, the amount of blood pumped from the heart every minute, was measured based on five short-axis views and one long-axis view of the left ventricle. The heart views are visualised in Figure 2. The result was confirmed by flow meters in the aorta. The ultrasound transducer was fixed on a rail to ensure only one degree of freedom.

The experiments at Igelösa Life Science AB are done on porcine hearts. It is thus important to understand the differences in anatomy and function between porcine and human hearts. Crick et al. [19] have found that there are several differences between the hearts, as they inspected 27 porcine hearts. The location and shape of the pig hearts differs from the human hearts. Crick et al. conclude that the morphological differences can be explained by the fact that pigs stand on four legs and humans on two. The left ventricle wall of the porcine heart is thicker than in the human heart. This research by Crick et al. was done to investigate if the porcine heart can be used for xenotransplantation and some of their conclusions may not be relevant for ex vivo evaluation of porcine hearts as a model for human hearts.

## IV. DISCUSSION

#### A. Experiment

In the present set-up, it is convenient to fixate the gel in front of the transducer. If the set-up would be adjusted, for example with fluid surrounding the heart, the accessible areas and the need of gel would change.

The ultrasound machine used in the experiment had a limited amount of transducers available. It is possible that another transducer than the neonatal, with high frequency range is more appropriate.

The ultrasound machine in use for this experiment, Acuson Sequoia 512, is an old machine. A newer and more advanced ultrasound machine would provide better images. Ultrasound examinations are hard to perform and the settings vary a lot between different machines and brands. The examination demands training, both for handling the transducer and analysing the images. To use ultrasound imaging in evaluation of hearts ex vivo, an experienced physician specialised in echocardiography is needed. This person has to be familiar with the machine and be able to analyse the images from the evaluation.

The ultrasound examination gives a view of the heart walls, as in Figure 5. Ventricular hypertrophy, thickening of the ventricular walls, is possible to distinguish and the walls' contractility is visible. If a part of the wall is less flexible, it is an indicator of a possible earlier damage, e.g. heart infarction. This is valuable information about the heart since damages of the heart muscle contributes to a risk for the recipient.

As stated above, valve leakage and other abnormalities of the valves can be detected using 2D-imaging and Doppler. It is

a considerable risk to transplant a heart with leaky or stenotic valves and thus it is important to discover.

### *B. Safety*

Ultrasound imaging is considered to be very safe, however it is important to be aware of the risks: heating and cavitation. The risk factors of heating and cavitation, TI and MI, are dependent on the tissue and they are calculated by the ultrasound machine. It is uncommon to examine an organ without surrounding tissue and the default settings may not be suitable. New settings for TI and MI calculation on ex vivo hearts could be required. To reduce the risks of heating, the ultrasound machine should be freezed (paused) during measuring and no examination should be performed on a non-beating heart.

Sterility is important to consider during transplantation. The evaluation adds a step to the transplantation procedure and thus sterility is crucial in this step as well. The heart is fully exposed and equipment and operators are in the sterile area. This will lead to high demands on the equipment and the method.

### *C. Possibilities with evaluation*

The present donor selection criteria are no guarantee for a well functioning heart. Additionally they reduce the amount of available donors. With evaluation of the hearts, some of the criteria might become less strict. For example, hearts from older donors than 55 years could be evaluated and transplanted.

To use organs from donors who died from circulatory death, DCD, is another possibility to broaden the donor demographics. Although, it is relevant to notice that these organs stand a greater risk of being damaged. The evaluation system can be used to distinguish the damaged hearts from the healthy which is valuable for a safe introduction of DCD transplantation.

Cross-border transplantation of hearts will be possible thanks to the aforementioned preservation system invented by Steen et al. [1]. The evaluation system can be used to ensure the heart's capability, like a quality mark. This will ensure that the heart's function is good enough for the recipient no matter what country the donor is from.

Further, it is possible to test donated hearts in different contexts by varying the resistances and by adding pharmaceuticals. In this way, the evaluation can be adjusted to fit the recipient and its characteristics.

### *D. Risks related to transplantation*

Transplantation is a very dangerous procedure, nevertheless it is the only solution for many patients. One of the possible complications is primary graft dysfunction [16]. Left ventricular hypertrophy is a risk factor for PGD since the thickened ventricle walls make the tissue less elastic and it is harder for the heart to fill up with blood. The ultrasound evaluation of the heart ex vivo shows the thickness of the ventricle walls and a heart with ventricular hypertrophy can be discovered. It is important to note that the angle of the transducer can give a false image of the wall thickness since a tilted cross section of the wall is thicker than a perpendicular.

Another risk factor is systolic dysfunction which is decreased ventricular contractility. This state can be detected with the flow and pressure meters of the evaluation system. Although, an ultrasound examination can reveal reduced contractility as well.

Damages of the right ventricle enhance mortality of the recipients. This can be caused either by pulmonary hypertension in the recipient or during brain death of the donor [17]. The function of the right ventricle is tested in the evaluation system and ultrasound can be used to show that the walls contracts symmetrically. The resistances in the system can be set to simulate a high pulmonary pressure and ultrasound shows how the heart reacts.

To lower the recipient's risk of PGD, hearts with the discussed complications need to be avoided. The chance of finding them is increased with ultrasound imaging.

### *E. Future work*

When the trials advance into clinical trials on human hearts it is important to consider that porcine heart are not identical to human hearts. As Crick et al. [19] concluded, the left ventricle wall is thicker in porcine hearts. Higher frequencies might be needed on human hearts than in these experiments due to the fact that the object of interest will be closer to the transducer.

Additionally, variations of the hearts' sizes and the plastic tubes of the system might lead to a need for adjustment of the transducer's positions. In order to have a standard evaluation, a method with standard imaging planes has to be developed. With standard imaging planes, the ultrasound images can be compared and evaluated by specialists. To produce good quality images, the ultrasound transducer has to be adjusted a lot and additionally the size of the hearts differs. Crick et al. [19] used a rack for the transducer. In this case, it is probably better for the specialists to recognise the images and to find the planes by hand, like an echocardiography is performed on patients today.

Evaluation of the coronary arteries could be possible with high frequency ultrasound machines. It would be interesting to test if imaging with 70 MHz could visualise the flow in the coronary arteries and thus bring additional diagnostic information.

### *F. Ethics and sustainability*

In this project, ethical aspects are relevant because of the ongoing animal trials and future clinical trials. To save animal lives, it is important to do as much research as possible before the animal trials and to have a clear purpose with every experiment. Another aspect that needs to be taken to consideration is that every pig has an impact on the environment during its life. In a project that can save many human lives, it is nevertheless important to be able to test the equipment on animals first.

When the project moves on to clinical trials it is essential that the previous research implies that the method is safe for clinical use. It has to be equally good or better than the established method to enable a doctor to recommend a patient to participate in a trial.

Sustainability includes both economic and environmental aspects. To consider the environment a central part is the transportation which is usually done by flight. The longer preservation time allows the hearts to be transported with planned flights instead of chartering a jet-plane or helicopter with the single purpose to deliver the heart. If the heart is evaluated and considered to be malfunctioning or a bad match, unnecessary transportation can be avoided.

Another environmental aspect is the choice of materials. When disposables are required due to sterility, consideration of the material's impact on the environment is important. In ultrasound examinations the use of disposables is limited. Although gel and, in this case, something that keeps the gel in place is required. When it comes to economic sustainability, many possibilities exist. The ambition with the evaluation system is to make transplantation safer for the patients. This could decrease the number of hospitalisation days and prevent rejection of the hearts. The less aftercare and retransplantations needed, the more economic savings will be possible for the hospitals.

Since the demand of organs exceeds the availability, ethical questions regarding waiting lists are present. One major question is which person on the list should be given the available organ. Since there are many aspects to consider during transplantation the first person on the list is not always the best choice. An increased amount of usable organs would shorten the waiting list and many of the ethical questions would diminish.

## V. CONCLUSION

The conclusion of the project is that the use of ultrasound technology in the evaluation system is beneficial. It is possible to receive ultrasound images with diagnostic information of a beating heart ex vivo, which is proved by the experiment. The plastic tubes of the evaluation system limits the accessible areas for the ultrasound transducer and since the sizes of the hearts differ, adjustments of the transducer have to be done. Good quality images are easier to receive by hand than with the transducer on a rack. The heart valves can be examined to detect abnormalities such as stenosis and leakage. Reduced function of the heart muscle can be found by evaluating the heart's size and contractility. Specialists should perform the ultrasound evaluation since they have to recognise standard views and be able to evaluate the heart from ultrasound imaging. Further improvement of the heart transplantation procedure is possible if ultrasound technology is added to the evaluation system. This includes broadening the donor demographics, finding heart abnormalities and individualising the test.

## VI. ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to extend our gratitude to our technical mentor Kristian Soltesz who has helped us a lot during the project with technical issues as well as the writing of the report. We would also like to thank Åsa Rydén Ahlgren for the help with the ultrasound examination, the interview and the appreciated feedback of the report. Finally, we would like to

thank Tomas Jansson for help with the ultrasound machine and Harry Pigot and the rest of the team at Igelösa Life Science AB for letting us test our ideas and for valuable feedback.

The authors of the report have contributed equally throughout the project.

## REFERENCES

- [1] Steen S, Paskevicius A, Liao Q, Sjöberg T. "Safe orthotopic transplantation of hearts harvested 24 hours after brain death and preserved for 24 hours" *Scandinavian Cardiovascular journal*. Vol. 50, No. 3, pp. 193-200, 2016.
- [2] Dance DR, Christofides S, Maidment A.D.A, McLean I.D, Ng K.H. *Diagnostic Radiology Physics: A Handbook for Teachers and Students*. Vienna: International Automatic Energy Agency, 2014. E-book.
- [3] Nihoyannopoulos P, Kisslo J. *Echocardiography*. London: Springer, 2009. E-book.
- [4] The McGraw Hill Companies Inc. Ma and Mateer's Emergency Ultrasound, Third Edition, graphic. Accessed: [2019-04-08] Available at: [www.accessmedicine.com](http://www.accessmedicine.com)
- [5] Widmaier EP, Raff H, Strang KT. *Vander's Human Physiology, The Mechanisms of Body Function*. McGraw-Hill, 13th Edition, pp. 368-369, 381, 2014.
- [6] UpToDate. Graphic 58389 Version 12.0, graphic, accessed: [2019-04-05]. Available at: <https://www.uptodate.com/contents/image?imageKey=PI%2F58389>.
- [7] Texas Heart Institute. *Coronary Arteries* Available at: <https://www.texasheart.org/heart-health/heart-information-center/topics/the-coronary-arteries/> Cited: [2019-04-03]
- [8] Anderson J, M.D., Morrow D, M.D. "Acute Myocardial Infarction" *The New England Journal of Medicine* Vol. 376, No. 21, pp. 2053-64, 2017.
- [9] Rydén Ahlgren Å. (2019). Interview with Elin Johansson and Fanny Månefjord, 20 February 2019.
- [10] Kilic A, Emani S, Sai-Sudhakar C, Higgins R, Whitson B. "Donor selection in heart transplantation" *Journal of thoracic disease* Vol. 6, No. 8, pp. 1097-1104, 2017.
- [11] European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. "Guide to the quality and safety of organs for transplantation" *EDQM*. 7th edition, 2018.
- [12] Association of organ procurement organizations. *State Determination of Death Laws*. Available at: <http://www.aopo.org/state-brain-death-laws/> Cited: [2019-04-01]
- [13] Vänadsrådet. "Projektplan DCD-projektet" Version 1.4, 2017.
- [14] Eurotransplant. *International organ exchange*. Available at: <https://www.eurotransplant.org/cms/index.php?page=organexchange> Cited: [2019-04-11]
- [15] Dronavalli V, Rogers C, Banner N. "Primary Cardiac Allograft Dysfunction - Validation of a Clinical Definition" *Transplantation* Vol. 99, No. 9, pp. 1919-1925, 2015.
- [16] Chew H C, Kumarasinghe G, Iyer A, Hicks M, Gao L, Doyle A, Jabbour A, Dhital K, Granger E, Jansz P, Hayward C, Keogh A, Kotlyar E, Spratt P, Macdonald P. "Primary Graft Dysfunction After Heart Transplantation". *Current Transplantation Reports*. Vol. 1, No. 4, pp. 257-265, 2014.
- [17] Kendall SW, Brittnner HB, Peterseim DS, Campbell KA, Van Trigt P. "Right ventricular function in the donor heart" *European journal of cardio-thoracic surgery: Official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery* Vol. 11 No 4 pp. 609-15, 1997.
- [18] Pettersen N, Fixsen LS, Rutten MCM, Pijls NHJ, van de Vosse FN, Lopata RGP. "Ultrasound functional imaging in an ex vivo beating porcine heart platform" *Physics in Medicine & Biology*. Vol. 62, No. 23, 2017.
- [19] Crick S, Sheppard M, Yen Ho S, Gebstein L, Anderson R. "Anatomy of the pig heart: comparisons with normal human cardiac structure" *Journal of Anatomy*. No. 193, pp. 105-119, 1998.

# Uppbyggnad av databas för signaler från, samt placering av, radiovågsradar vid gång över vardagliga hinder

Andreas Bennström (BME16), Andreas Gustafsson (BME16)

**Sammanfattning**—I världen lever det idag många människor som har synnedsättning eller är blinda. Samtidigt blir mängden äldre personer i befolkningen också större. Dessa människor har en risk för att råka ut för fallolyckor. Därför syftar detta arbete till att undersöka och hitta optimal placering för en radar på foten samt för placeringen samla data från gång över vanliga hinder till en databas. Med en optimal placering avses i detta sammanhang en placering där radarn kan upptäcka olika typer av hinder och objekt framför användaren på ett så bra sätt som möjligt och därmed minska risken för att ramla.

Arbetet har utförts vid institutionen för biomedicinsk teknik vid Lunds Tekniska Högskola. Först genomfördes en pilotstudie där en mängd olika positioner av radarn testades på författarna (oss själva). Efter det valdes tre positioneringar ut som såg ut att fungera bra. Dessa positioner testades sedan på sju frivilliga personer. I testen ingick bland annat moment såsom trösklar och att gå i en trappa.

All data som samlades in studerades och analyserades. Den visade att överlag fungerade alla de tre valda positionerna relativt bra. Det var bara när testpersonerna gick över trösklar som radarsensorn gav dåliga mätningar då den var placerad på utsidan av foten med 45° vinkel. All data som samlades in för de tre positionerna lades till databasen. Varje person genomförde fyra tester för varje position av radarn.

## I. INTRODUKTION

Globalt lever uppskattningsvis 1,3 miljarder människor med någon typ av synnedsättning. När det kommer till seende på långt avstånd lider 217 miljoner av måttlig till svår synnedsättning, medan 36 miljoner människor är blinda i världen. Ett flertal ögonsjukdomar är åldersrelaterade och majoriteten av människorna som lever med en synnedsättning är över 50 år gamla [1]. Samtidigt upplever i princip alla länder i världen en ökning i både antalet och andelen äldre personer i befolkningen. Enligt beräkningar kommer antalet personer som är 60 år eller äldre mer än fördubblas fram till år 2050 [2].

Att lida av en svår synnedsättning, vara blind eller bli äldre innebär en större risk för att drabbas av en oavsiktlig risk eller skada. R. Manduchi och S. Kurniawan genomförde en intervjuundersökning med 289 personer som led av svår synnedsättning eller var blinda. Av dem uppgav 7 % att de råkar ut för fall minst en gång per månad och Manduchi och Kurniawan fann att dagens mobilitetsstöd inte hade någon signifikant, positiv effekt på minskning av denna siffra [3]. Detta tyder på att det finns ett behov för hjälpmedel för äldre

och personer med synnedsättning som gör att de kan ta sig fram lättare. U. R. Roentgen et al. tog 2012 fram en testbana i syfte att användas för att testa olika elektroniska hjälpmedel [4].

Det har genomförts olika projekt för att undersöka och försöka utveckla olika elektroniska hjälpmedel, så kallade Electronic Travel Aids (ETA), och vissa produkter finns redan på marknaden. N. Amin och M. Borschbach försöker utveckla ett system som en människa ska kunna bära för att upptäcka hinder, likt de system som bilar och drönare använder sig av. Detta planerar de göra genom att använda ultraljudssensorer och visuella system på en smartphone för att detektera och varna användaren om att det finns ett hinder i vägen. De har än så länge undersökt hur bra en ultraljudssensor kan detektera och avgöra hur långt bort ett hinder befinner sig [5]. T. Kiuru et.al har gjort en undersökning där 25 personer med synnedsättning fick testa en prototyp av en radar. Denna bärs över bröstet och sänder ut radiovågor med frekvensen 24 GHz. Efter att vågorna reflekterats mot objekt tar radarn emot dem. Med de mottagna signalerna kan apparaten beräkna var hinder finns framför personen. Informationen förs sedan över till användaren genom haptisk återkoppling och/eller ljud [6].

Företaget Sunu har också lanserat en produkt på marknaden som finns till försäljning. Produkten heter Sunu Band och det är ett armband som använder ekolokalisering för att upptäcka objekt upp till 5,5 meter bort. Genom haptisk vibrationsåterkoppling informeras sedan användaren om hur långt bort objektet eller hindret finns [7].

För utveckling av ETA har amerikanska National Research Council formulerat sju stycken riktlinjer i ett försök att se till att den utrustning som testas uppnår både teknisk och vetenskapligt värde. Dessa har D. Dakopoulos och N. G. Bourbakis tagit fasta på och i diskussion med både användare och utvecklare bedömt 14 egenskaper hos ETA som de funnit erbjuda en ännu bättre representation av ETA-teknik [8]. För att värna om användarupplevelsen kom de till slutsatsen att ansätta fyra karaktäristiska egenskaper som de ansåg ska ligga till grund för ETA-utvecklingen. Dessa var:

- Free-hands, användaren ska inte behöva låta ännu en sak ockupera deras händer, särskilt om de redan använder käpp.
- Free-ears, ETA (feedback) bör inte interferera med de resterande sinnen som är extra viktiga då synen inte fungerar.
- Wearable, ETA ska vara flexibel och dra nytta av alla fördelar vi har med dagens moderna teknik.

Inlämnat den 10 juni 2019

E-mailadress: {an1201be-s@student.lu.se, an2631gu-s@student.lu.se}

Teknisk handledare: Nebojsa Malesevic

- Simple, ingen extra inlärningstid eller träning bör behövas i stor utsträckning

Då behovet är stort och växande verkar det finnas stor innovationspotential inom detta område. Marknaden tycks vara öppen för olika lösningar då ingen ännu funnit "Den bästa" metoden. Då ett viktigt kriterium, enligt Dakopoulos och Bourbakis, är "Free-hands" och "Wearable" kan en radar-sensor på/kring foten eller ankel vara att föredra. Dessutom skulle en rätt utformad ETA kunna bidra till att dra ned på inlärningstiden för övriga hjälpmedel för synskadade, om den används i kombination eller som komplement. Vilket anspelar på, och kanske överträffar, önskemålet om att ETA ska vara "Simple".

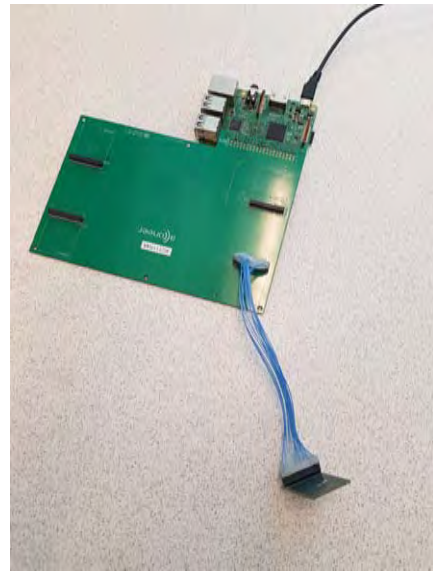
Vi ser också att det finns anledning att testa radar som använder sig av radiovågor då tidigare, testade system använder sig av tekniker som endast skickar tillbaka det första objekt de kan detektera. Med detta följer att sensorn blir invariant för olika ljussättningar och olika färger på underlaget, vilket ökar dess validitet, gentemot exempelvis laser. Då en fotmonterad, radiovågsradar ännu är en otestad teknik vill vi ta fram optimala placeringar av radarsensorn som kan upptäcka hinder framför användaren. Vi vill även bygga upp en databas från mätningar där användaren går över vanliga hinder.

För att undersöka tesen samlades data för olika positioner in. Hur detta genomfördes beskrivs under de närmast två följande avsnitten. Först hur en pilotstudie planerades och sen hur resultatet från denna användes i huvudstudien. Därefter redovisas resultaten, från båda delstudierna i samma följd som ovan, och diskuteras tillsammans med de viktigaste slutsatserna.

## II. DATA

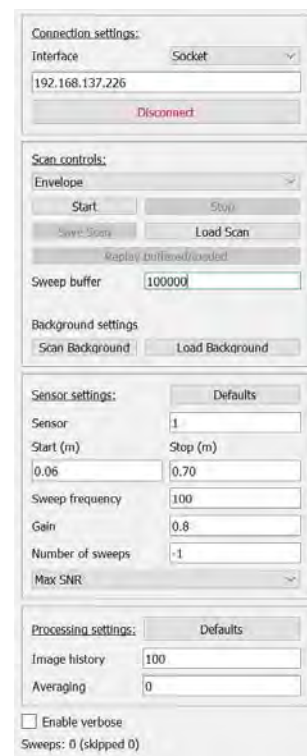
För att göra undersökningen och kunna göra en utvärdering av optimal placering användes en pulsad koherent radar som kopplades med sladdar till en connector-board, vilket ses i Figur 1. Radarn använde frekvensen 60 GHz. Tack vare att radarn kopplades via sladdar och inte direkt på connector-boarden var det möjligt att testa olika positioner av radarn på foten. Connector-boarden kopplades till en Raspberry Pi 3 som via en SSH-anslutning kunde kopplas samman med en bärbar dator. Således var det möjligt att köra radarn samt samla in, spara och analysera data via den bärbara datorn. På datorn användes två olika sätt för att köra radarn. Det första sättet användes i början av projektets gång för att lära sig hur radarn fungerade samt för att göra initiala tester. Det bestod av två olika python-script, där det ena visade vad radarn uppfattade i realtid och det andra sparade datan i en textfil. Samplingsfrekvensen var då ungefär 35 Hz. Den sparade datan importerades sedan till MATLAB där grafer på datan genererades.

Det andra sättet användes i slutet av projektet när det genomfördes tester med utomstående personer. Då användes Acconeer exploration Graphic User Interface (GUI) för att visualisera mätdata. Med GUI var det möjligt att både iakttaga vad radarn uppfattade i realtid liksom att spara datan i en H5-fil för senare uppspelning. Samplingsfrekvensen som



Figur 1. Radar kopplad till connector-board med sladdar.

användes med GUI var 100 Hz. De inställningar som användes i programmet visas i Figur 2.



Figur 2. Inställningar som användes i Acconeer exploration GUI.

Studien delades upp i en pilotstudie och en huvudstudie. Pilotstudien utfördes på oss själva som båda är män, 21 år gamla och har korrigerade synfel. Huvudstudien genomfördes med sju frivilliga utomstående personer. Fyra personer var män och tre var kvinnor. Samtliga var mellan 21 och 27 år gamla och hade antingen inga eller korrigerade synfel.

### III. METOD

#### A. Materiel

Allt materiel som har använts i projektet har erhållits från institutionen för biomedicinsk teknik vid Lunds Tekniska Högskola. Följande materiel användes:

##### 1) Hårdvara:

- Raspberry Pi 3 Model B
- Acconeer Connector-Board XC111, 60 GHz
- Acconeer Sensor Module Pulsed Coherent Radar XR111, 60 GHz
- Micro USB laddningskabel
- Deltaco Powerbank, Modell PB-812, 6000 mAh
- Bärbar dator med Windows 10
- Smartphone med Android
- Kardborreband
- Tejp
- Kartong

##### 2) Mjukvara:

- Acconeer A1 software development kit (A1 SDK)
- PuTTY Configuration, version 0.71, 64 bitar
- Python, version 3.7.3, 32 bitar
- Spyder, version 3.3.2
- MATLAB, version R2018b
- WinSCP, version 5.15.1
- Acconeer exploration GUI

#### B. Utformning av test-bana

Utifrån tidigare litteratur samt egna tester utformades en test-bana för att kunna utföra nödvändiga tester. Det beslutades om ett antal hinder som testade radarsensorn i vad som ansågs varadagliga situationer. De hinder som beslutades att använda var att gå i en trappa både upp och ned, samt tre olika typer av trösklar. Trappan som användes bestod av 20 trappsteg, den var av sten och trappstegen var 15 centimeter höga. De tre trösklarna tillverkades i kartong. Den lägsta tröskeln var 3 centimeter hög och 9 centimeter bred. Den mellersta tröskeln var 4,5 centimeter hög och 9 centimeter bred. Den högsta tröskeln var 5,5 centimeter hög och 8 centimeter bred. Dessutom testades det att gå vanligt på plant underlag samt att föra ut foten över två trappsteg för att symbolisera en högre avsats. Ett sista hinder som användes var en trottoarkant utomhus. Den var 10 centimeter hög av sten. Nedanför kanten var markmaterialet asfalt och ovanför jord med gles gräsväxt.

#### C. Uppkoppling till radar

Under projektet användes två olika sätt för att köra radarn via den bärbara datorn. Under den första delen av pilotstudien användes två olika python-script, vilka kördes i Spyder. Python-scripten tillhandahölls av handledare. Det fanns också redan två olika script inlagda på Raspberryn, där det ena körde radarn under fem sekunder och det andra körde radarn fram tills det gavs kommando om att avsluta. Raspberryn och den bärbara datorn kopplades samman med en SSH-anslutning genom PuTTY Configuration. För att anslutningen skulle fungera delades Wi-Fi från datorn som Raspberryn kopplade upp sig på. Scripten på Raspberryn startades genom

kommandofönstret och därefter startades önskat script i Spyder. Samma portnummer användes alltid på både Raspberryn och i scriptet i Spyder.

Under de avslutande testerna i pilotstudien samt under hela huvudstudien användes istället Acconeer exploration GUI. En streaming service flyttades över till Raspberryn med hjälp av WinSCP. På datorn skapades en ny environment inom Anaconda och där kördes sedan GUI. Raspberryn och datorn kopplades samman med en SSH-anslutning på samma sätt som tidigare via PuTTY Configuration. Genom kommandofönstret startades streaming servicen och sedan var det möjligt att koppla samman GUI och radarn.

#### D. Tester med radar

Till en början genomfördes en pilotstudie med enbart tester på oss själva. Dessa tester utfördes för att lära sig hur sensorn fungerade samt för att välja ut ett fåtal positioner som såg ut att fungera bra och som kunde tas vidare till huvudstudien. Under pilotstudien fästes radarn med hjälp av tejp på skorna. När radarn fästes längst fram ovanpå foten fästes den också mot en bit kartong som var böjd i rätt vinkel. Till huvudstudien konstruerades sedan ett prototyp-anordning för att lättare montera och omplacera radarsensorn på testpersonen. Detta redskap tillverkades genom att klippa ut två plastsdivor som var fästa till varandra i mitten med en axel, vilket möjliggjorde rotation. Dessutom fästes en elastisk rem i en av plastsdivorna för att konstruktionen lätt skulle kunna träs över bärarens ben eller sko. En bild på hur fästeanordningen såg ut finns i Figur 3. På denna kunde nu radarsensorn tejpas fast och tack



Figur 3. Fästeanordningen som användes i huvudstudien. Radarn tejpades fast på den mindre plastcirkeln.

vare dess rotations-egenskaper kunde man med lätthet byta mellan olika vinklar att testa. Tillhörande connector-board och Raspberry spändes fast med kardborrebandet kring fotled/ben. Powerbanken kunde antingen hållas i handen eller läggas i en byxficka beroende på vilket håll raspberryn var riktad åt. Till en början testades endast radarn med 0° vinkel mot marken,

placerad mitt mellan häl och tår på yttersidan av foten, för att testa utrustningen. Denna del av testerna kan även ses som en inramning av de extrempositioner som önskas testas då inga vinklar över dessa (såsom: negativa vinklar, bakåt riktade relativt brukarens rörelseriktning, etc.) kommer vara av värde för studien. Av samma anledning testades även radarn placerad längst fram på foten, helt vinkelrät mot marken (90°). Då mot en vägg eftersom den inte fick något utslag mot marken.

1) *Pilotstudie:* Därefter inleddes tester av olika vinklar och positioner. Följande positioner och vinklar testades:

- Tå/längst fram på foten, ca 2-3 cm över marken. Vinklarna 90°, 60°, 45° och 30°. (Se Figur 4)
- Utsida av foten, långt fram, ca 1-2 cm över marken. Vinklarna 60°, 45° och 30°. (Se figur 5)
- Inside av foten, över ankeln, ca 8 cm över marken. Vinklarna 60° och 45°. (Se figur 6)



Figur 4. Hur radarn placerades längst fram på foten. På bilden är den vinklad 60° mot marken.



Figur 5. Hur radarn placerades på utsidan av foten. På bilden är den vinklad 45° mot marken.



Figur 6. Hur radarn placerades på insidan av foten. På bilden är den vinklad 60° mot marken.

Vinklarna som testades bedömdes rimliga och vinklar emellan dessa gav för små variationer för man skulle kunna diskriminera mellan testerna. Dessutom togs i beaktning att experimentuppställning under tester kommer få utstå stötar och tryck som, tillfälligt eller under en längre del av testerna, får sensorn att anta just dessa vinklar och därmed ytterligare suddar ut deras skillnader mot de vinklar vi valde att studera.

Under ungefär första halvan av pilotstudien användes det första sättet att köra radarn. Detta innebar att datan som samlades in tolkades med MATLAB. De tester som utfördes då var samtliga vinklar längst fram på foten samt alla vinklar på utsidan av foten. Under andra halvan användes andra sättet för att köra radarn. Då studerades och tolkades datan direkt i GUI. De positioner som testades under denna delen av pilotstudien var båda vinklarna på insidan av foten, 60° och 45° på utsidan av foten samt 45° och 30° längst fram på foten. Detta åskådliggörs också i tabell 1.

Tabell I  
TESTER UNDER PILOTSTUDIE

|                 | Längst fram        | Utsida        | Insida   |
|-----------------|--------------------|---------------|----------|
| Spyder + MATLAB | 90°, 60°, 45°, 30° | 60°, 45°, 30° | Inga     |
| Exploration GUI | 45°, 30°           | 60°, 45°      | 60°, 45° |

De vinklarna som testades med båda systemen var vinklar som såg ut att fungera bra. Data som studerades med GUI visade sig vara betydligt mer lättolkad än med MATLAB. Därför testades de vinklar som såg ut att verka fungera bra med MATLAB igen. Detta för att en så bra slutsats som möjligt skulle kunna dras.

De situationer som testades var:

- Gå hela vägen uppför trappan
- Gå hela vägen nedför trappan
- Gå över de tre trösklarna som låg med ungefär 2 meters mellanrum. Trösklarna låg i höjdordning med den lägsta tröskeln först.
- Gå mot och upp på trottoarkanten. Gå några steg framåt, vända om och sedan gå ner för kanten igen.

Samtliga tester utfördes på alla positioner och vinklar under pilotstudiens tidiga skeende, medan den sista punkten prioriterades bort i testerna med Acconeer exploration GUI. Detta

då insikten nåddes att den information som gick att få fram ur dessa tester redan kunde tolkas ur de övriga testerna listade ovan.

Slutligen fick alla tidiga tester i studien, som tolkades med MATLAB, tillsammans med testerna med det nya programmet utgöra beslutsunderlag för vilka vinklar som skulle tas vidare och testas i huvudstudien.

2) *Huvudstudie:* Det beslutades om två olika positioner med en respektive två vinklar som skulle tas vidare från pilotstudien.

Testgruppen bestod av frivilliga personer med fullgod syn alternativt med korrigerade synfel, vilka inte heller hade något medicinskt problem med att gå. Dessa fick hjälp att montera sensorn och fästnanordningen vid foten medan connector-board och Raspberry Pi anspås vara bäst för dem att montera själva. Detta då bäraren själv känner hur bra anordningen sitter fast kring benet. Instruktioner till montering gavs dels muntligt men även genom att visa bilder från hur pilotstudien hade sett ut. Se exempelvis figur 6.

Testpersonen instruerades därefter till att under mätningarna försöka gå så vanligt som möjligt trots den klumpiga testuppsättningen kring ett av deras ben. Varje mätning spelades även in med mobilkamera för att ha en video till hjälp att tolka signalmönstren om det skulle behövas.

Alla testpersoner genomförde samma test tre gånger, vilket innebar en gång för varje position och vinkel av radarn. Testet var uppdelat i fyra delar:

- Testpersonen fick först gå några steg på plant underlag. Sedan lyfte personen foten med radarn och satte ner den igen tre gånger. Till sist gick personen över de tre trösklarna som var utlagda på golvet med ungefär två meters mellanrum. Trösklarna låg i höjddordning med den lägsta tröskeln först.
- Testpersonen fick gå hela vägen uppför trappan.
- Testpersonen fick gå hela vägen nedför trappan.
- Testpersonen fick stå på det tredje trappsteget nerifrån. Där förde personen foten ut och tillbaka över trappstegen nedanför tre gånger.

#### IV. RESULTAT

##### A. Pilotstudie

Då radarsensorn monteras i olika vinklar på tån kunde man i det tidiga skeendet av pilotstudien, då mätvärden ännu tolkades med MATLAB, se alla mätvärden relativt tydliga och fick lättolkade signalmönster av vanlig gång. Däremot kunde lite utläsas om respektive hinder, särskilt i nedåtgående trappa. När pilotstudien sedan närmade sig sitt slut och Acconeer exploration GUI användes kunde man bekräfta tidigare resultat. Vilket var att mycket lite kunde sägas om vilka hinder som fanns och inte fanns framför radarsensorn.

När man därefter testade olika vinklar på utsidan av foten och analyserade signalerna med MATLAB gav 60°vinkel mycket tydliga signaler i alla tester. 45°vinkel var generellt lite mer svårtydd men ändå betydligt bättre än 30° som i de flesta fallen gav mycket svårtydda signaler. I fortsatta tester, med

Acconeer exploration GUI, visade sig dock 45° ge aningen bättre signaler än 60°vinkel.

Radarsensorns position på insidan av ankeln testades enbart med Acconeer exploration GUI och gav relativt tydliga signaler för både 60° och 45°. Vid närmare kvalitativ bedömning kunde det dock konstateras att 60°vinkling bidrog till en mer konsekvent prestation.

Därför beslutades att de positioner som skulle användas i huvudstudien var:

- Insida av foten, över ankeln, ca 8 cm över marken. Vinkeln 60°.
- Utsida av foten, långt fram, ca 1-2 cm över marken. Vinkeln 60°.
- Utsida av foten, långt fram, ca 1-2 cm över marken. Vinkeln 45°.

##### B. Huvudstudie

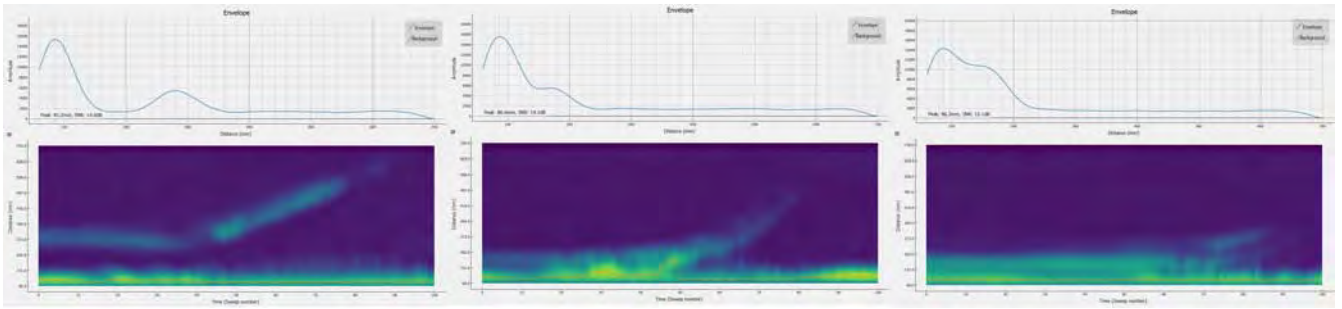
I figur 7 t.o.m. 11 visas de mätningar som radarns positioner bedömts efter. I övre delen av varje figur illustreras amplituden på y-axeln och avståndet från sensorn på x-axeln för varje mätning. I alla mätsignaler finns ett tydligt maximum mellan 60 och 150 mm som är oberoende av vad som kan detekteras längre bort från sensorn. Ett eventuellt objekt framför sensorn kan ses som ytterligare ett amplitudmaximum, vilket påträffas i de flesta av mätningarna i figur 7 t.o.m. 11.

I nedre delen av varje figur finns till respektive radarposition en presentation av avstånden, nu på y-axeln, från de senaste 100 mätningarna (x-axel). Signalstyrkan, amplituden, visas här i färgskala gul till blå där gul är starkast och blå svagast. För att förtydliga kan även sägas att den övre grafen i varje bild är vad som presenteras längst åt vänster i varje ögonblick i den undre grafen. Dessa skjuts till höger för varje ny mätning som spelas upp.

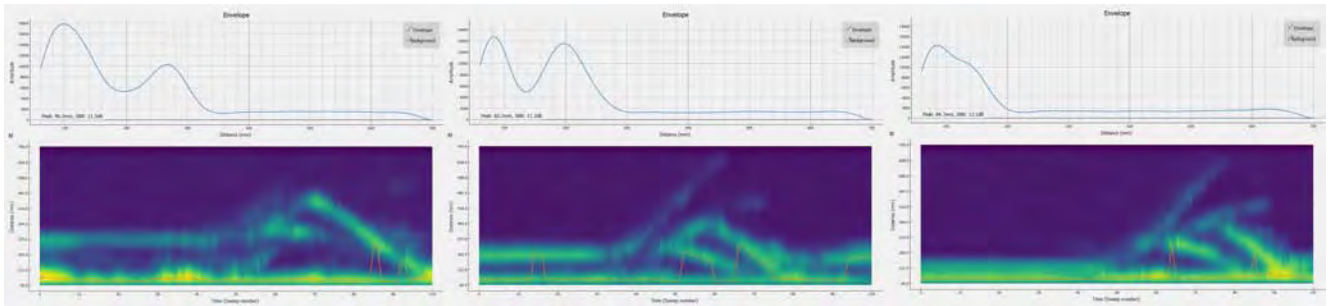
Bilderna har bedömts vara generella representationer av samtliga mätningar som utförts under studien.

I figur 7 visas hur foten närmar sig listen genom en markant signal (tydlig färgskillnad mot omgivning) som över tid dras mot sensorn. Detta påträffades i alla tre grafer men trots att den utmärkte sig som mest (här) för montering på insidan ankeln så gav de flesta mätningar bäst resultat för montering på utsidan av foten med 60°vinkling. Montering av radarsensorn på utsidan av foten med 45°lutning gav generellt relativt otydliga signaler och i vissa fall ej tolkningsbara, även för ett tränat öga. Framförallt för de två första (lägre) trösklarna i testuppsättningen.

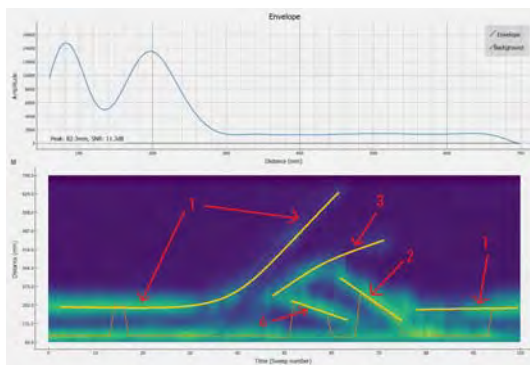
Vad som kunde ses vid jämförelse av figur 8 och 9 var att samma mönster från 9 kunde tydas ur samtliga grafer i figur 8. För radarsensorns montering vid ankeln och på utsidan av foten med 45°vinkling kunde avståndet till sättsteget tydligt urskiljas. Samtidigt höll sig signalkvaliteten generellt bättre för montering på insidan av ankeln och utsidan av foten med 60°vinkling då samtliga mätningar jämfördes med varandra.



Figur 7. Signaler från när foten närmar sig trösklar (här: mittersta tröskeln, 4,5cm hög) där radarsensorn var monterad enligt följande; **T.V.** på insidan av ankeln, vinklad  $60^\circ$  mot marken, **M.** på utsidan av foten, vinklad  $45^\circ$  mot marken, **T.H.** på utsidan av foten, vinklad  $60^\circ$  mot marken.



Figur 8. Signaler från ett trappsteg då man gick upp för trappan där radarsensorn var monterad enligt följande; **T.V.** på insidan av ankeln, vinklad  $60^\circ$  mot marken, **M.** på utsidan av foten, vinklad  $45^\circ$  mot marken, **T.H.** på utsidan av foten, vinklad  $60^\circ$  mot marken.



Figur 9. Signalmönster från när man tog ett steg då man gick upp för en trappa. Följande har kunnat tolkas; **1.** Sättsteg framför foten, **2.** plansteg man lämnar, **3.** plansteg man sätter ned foten på, **4.** stegnos foten passerar över.

I signalerna från figur 10 var det möjligt att se hur foten passerade ett plansteg och stegnos (första "backen" i grafen) innan foten närmade sig plansteget man satte ned foten på (andra "backen" varefter signalen håller sig plan). Under mätningarna tycktes alla positioner för radarsensorn uppvisa jämförbara signalmönster. Dock var monteringen på utsidan av foten, med  $45^\circ$  vinkling, konsekvent tydlig medan det var större kvalitativ variation i mätningarna med olika testpersoner med de andra positionerna.

I sista deltestet i studien varierade både kvalitet och mönsterformen ganska mycket mellan olika testpersoner. I figur 11 visas hur radarpositionen: utsida fot med  $45^\circ$  vinkling,

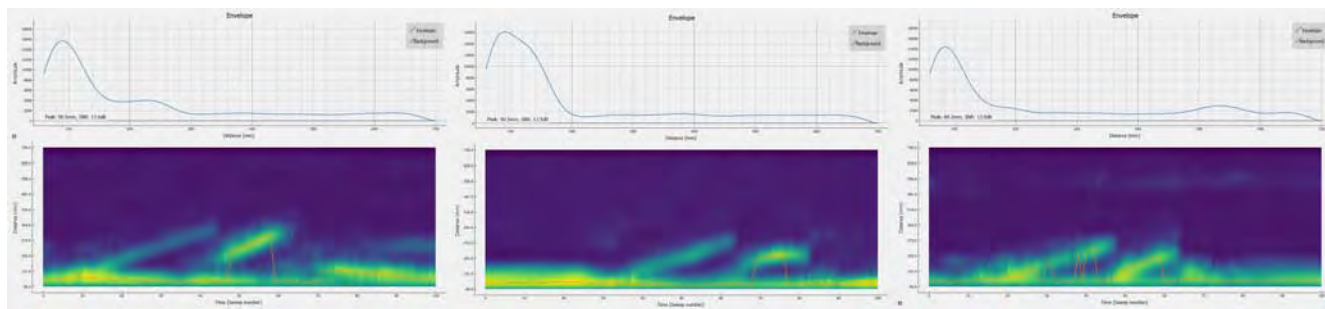
just denna gång, gav en relativt kontinuerlig signal medan de båda andra graferna gav signal av två skilda nivåer. För somliga testpersoner kunde signalmönstren vara ombytta. Vid sammanställning var utsida av foten med  $45^\circ$  vinkling den position för radarsensorn som gav tydligast signaler då de övriga två i vissa fall var så svaga att ingenting ens kunde sägas om att avståndet till marken drastiskt ökade.

## V. DISKUSSION

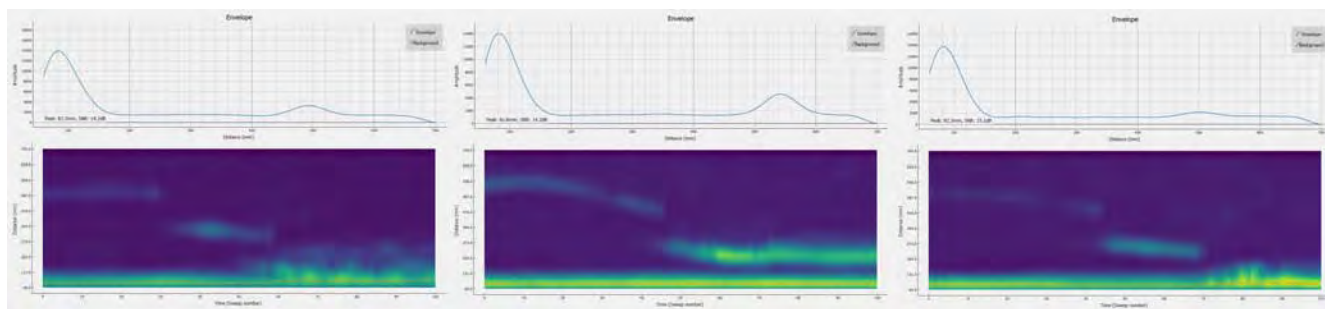
Vad som framgår av resultat är att ingen position konsekvent är bra i alla tester. Även om vissa av positionerna presterade väldigt bra i vissa tester fick alla minst en helt otolkbar mätning.

Vad som definierar en bra och dålig mätning fann vi vara subjektiva åsikter vi grundat genom att studera olika former av signalmönster under längre tid innan de egentliga testerna initierades. Krav som vi utgick efter var att ett tillräckligt starkt och tydligt signalmönster skulle kunna skiljas från bakgrundsbruset samt att en konsekvens av utseendet inom samma deltest skulle kunna påvisas. För somliga resultat har vi exempelvis ansett att positionen skulle vara brukbar med högre gain på insignalen och därefter bedömt den som god.

Angående testpersonernas individuella mätresultat och variation av dessa, måste man förstås också ta det ringa antalet testpersoner i beaktning. Denna gruppstorlek skulle enligt vår önskan ha varit större. Detta också för att få mer data till databasen. Få testdeltagare gör förstås att om testpersonen/-personerna gjorde så få som en eller två dåliga mätningar, drog det ändå ned helhetsintrycket av sensorpositionen som användes. Sådana bristande mätningar fick vi dock betydligt mindre av i pilotstudien. Det är kanske självklart då vi, som



Figur 10. Signaler från ett trappsteg då man gick nedför trappan där radarsensorn var monterad enligt följande; **T.V.** på insidan av ankeln, vinklad  $60^\circ$  mot marken, **M.** på utsidan av foten, vinklad  $45^\circ$  mot marken, **T.H.** på utsidan av foten, vinklad  $60^\circ$  mot marken.



Figur 11. Signaler från då man förde foten ut över en högre höjd där radarsensorn var monterad enligt följande; **T.V.** på insidan av ankeln, vinklad  $60^\circ$  mot marken, **M.** på utsidan av foten, vinklad  $45^\circ$  mot marken, **T.H.** på utsidan av foten, vinklad  $60^\circ$  mot marken.

själva utförde testerna i pilotstudien, efter en lång testprocess lärde oss och fick in en vana för hur man skulle gå för att generera bra signaler. Detta resonemang ger samtidigt anledningen till att ta in utomstående testpersoner då vi behövde kunna validera sensorpositionerna för olika gångstilar då alla har en egen sådan. På ett sätt kan alltså testgruppen anses ha varit en bra grupp, trots storleken, då alla hade markant olika gångstil. Angående gångstil så kan det inte heller sägas att alla använde deras "naturliga" sådan då monteringen av connector-board var klumpig. Dessutom kan man även i de fall som man tyckte den satt som bäst, säga att den satt på ett optimalt sätt.

Om man räknar totala antalet tydliga signaler fann vi att insida ankel med  $60^\circ$  vinkel verkade bäst trots en och annan avstickare med dålig mätsignal. Men för att göra en rättvisare bedömning fann vi att det kanske var värt att vikta betydelsen av vissa testbanor mer än andra. Generellt fick man tydliga signaler i trappan för samtliga vinklar och därav ansåg vi att relativt dåliga mätvärden här kanske inte skulle ha samma negativ funktion hos en ETA som en dålig signal då man för foten över en högre avsats. Om man går i en trappa kan man tycka att en enskild dålig signal inte skulle vara så allvarlig om en automatisk signalbehandling tilläts läsa signalmönstret i sin kontext. Exempelvis skulle programmet känna igen en trappa på signalmönstret och därav förvänta sig att om nästkommande signal är snarlik borde även denna vara i en trappa. En plötslig sluttning eller stup kommer kanske i stället som en överraskning, utan "kontext", och om detta inte går att upptäcka kan det sluta illa för bäraren.

I testet med tröskel visade sig montering på utsidan av foten med  $45^\circ$  lutning generellt inte ge särskilt bra signaler. I det här fallet kunde vi även med en liten testgrupp se en tydlig trend på

att de ottydligaste mätvärdena inte kunde vara en slump och var dåliga oavsett personernas gångstil. För att upptäcka listerna på ett tillförlitligt sätt var båda de återstående positionerna (särskilt på utsidan av foten) acceptabla. Då ett viktigt mål för vår studie är att bibehålla en hög levnadsstandard för bäraren av den slutgiltiga ETA lägger vi dock stor vikt vid just detta test då vardagliga turer exempelvis genom centrum eller på en parkväg kan innehålla ett flertal snubbel-faktorer som täcks av just denna mätning. Därav kan vi inte rekommendera någon position som presterat dåligt i detta test.

#### A. Framtida studier

För att ta projektet vidare skulle de tre positionerna gärna testas på ännu fler personer för att få ännu mer data till databasen. Då skulle man kunna se att det är samma mönster som uppenbarar sig vid de olika objekten. Det skulle också kunna vara möjligt att göra tester där man använder två radar istället för endast en. Med en sådan uppställning skulle det eventuellt kunna vara möjligt att se alla objekt och hinder på ett bra sätt. Ännu en alternativ lösning kan vara att öka signalförstärkningen på radarsensorn. Detta då ett flertal signaler visserligen gav fina signalmönster men hade problemet att de var för svaga för att kunna tolkas på ett lätt sätt.

Efter det så hade arbetet kunnat fortsätta med machine-learning. Detta innebär att datorn får lära sig hur det ser ut när man närmar sig olika hinder. Detta kan sedan kopplas samman med ett återkopplingssystem med antingen vibration eller ljud. På så sätt erhålls ett helt system som både upptäcker hinder och återkopplar detta till användaren.

## B. Hållbar utveckling

Begreppet "Hållbar Utveckling" innebär att uppfylla dagens behov utan att riskera att kommande generationer inte ska kunna tillgodose sina behov. Ofta talar man om tre olika dimensioner inom hållbar utveckling, vilka är ekologisk, social och ekonomisk hållbarhet. Det finns dock olika sätt att beskriva hur dessa tre dimensioner hänger ihop med varandra. En modell representeras vanligtvis med ett Venndiagram, där alla delar överlappar varandra och därmed ges lika tyngd och värde. Ett annat sätt att beskriva hur de hänger ihop är genom en hierarki, där ekologisk hållbarhet väger tyngst. [9].

Ett tekniskt hjälpmedel som kan hjälpa äldre och synskadade att upptäcka hinder och potentiella faror i omgivningarna hade varit väldigt bra. Med ett sådant hjälpmedel hade risken för att falla och också risken för att skada sig kunnat minska. Detta hade därmed kunnat öka livskvaliteten hos många människor, samtidigt som sjukvården hade kunnat spara pengar om färre personer skadar sig i fallolyckor. Det är dock viktigt att en eventuell produkt blir relativt billig och lättillgänglig, så att alla som behöver kan ta del av den. Det är också viktigt att radarn tillverkas av bra och hållbara material och är lätt att återvinna. Den bör också ha låg energiförbrukning och använda sig av förnyelsebara energikällor. Redan nu ligger vi bra till i fråga om energianvändning då radarsensorn vi använt oss av är mycket energisnål.

## C. Etiska aspekter

Inom vår studie fanns ingen högre grad av etiska aspekter att ta hänsyn till. Detta bedömdes utifrån att inga studier var kliniska eller alls utfördes på personer med grav synnedsättning, vilka utgör den slutgiltiga målgruppen. Mätningarna utfördes inte heller i en, för testpersonen, hotfylld miljö. I fråga om framtida studier kan den etiska diskussionen vara av större vikt då man förmodligen kommer behöva testa på den målgrupp som verkligen är i behov av produkten. Sådana tester behöver också göras i naturliga och mer farofyllda miljöer där personen tvingas interagera med rörliga objekt och andra personer.

Vi genomförde dock tester med utomstående personer i studien. När man gör det är det alltid viktigt att de frivilliga personerna informeras om vad det är de ska göra och varför. Det vill säga att informera dem vad studien handlar om och vad man önskar uppnå med den. Det är också viktigt att man behandlar datan som samlas in och personuppgifterna på ett korrekt sätt.

## VI. SLUTSATS

De slutsatser som kan dras är att då radarn placeras på utsidan av foten med 60° vinkel ges ofta ganska svaga signaler, men de syns och bedöms vara användbara. Om radarn placeras på insidan med 60° vinkel erhålls signaler som överlag är bra vid alla hinder och denna placering bedöms som bäst. När radarn är placerad på utsidan med 45° vinkel erhålls bra signaler i trappan och över "stup", men dåliga signaler vid trösklarna och därav anses placeringen inte vara bra. Alla mätningar från huvudstudien läggs till databasen, men för att få en ännu bättre databas krävs mätningar på fler personer.

## VII. EFTERORD

Vi vill rikta ett stort tack till vår tekniska handledare Nebojsa Malesevic som under hela projektets gång hjälpt oss med tekniska problem och funnits som stöd. Vi vill också tacka Filip Winzell, Rasmus Sobel, Fanny Månefjord, Sanna Nordberg, Anton Jigsved, Matilda Dahlström och Max Mauritsson som ställde upp och genomförde våra tester med radarn. Under hela projektets gång har arbetet fördelats lika mellan författarna.

## REFERENSER

- [1] World Health Organization, *Blindness and vision impairment*, Oktober 2018 [Online]. Tillgänglig: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/blindness-and-visual-impairment> [Hämtad: 21 maj, 2019]
- [2] United Nations, *Ageing*, [Online]. Tillgänglig: <https://www.un.org/en/sections/issues-depth/ageing/> [Hämtad: 21 maj, 2019]
- [3] R. Manduchi, S. Kurniawan, *Mobility-Related Accidents Experienced by People with Visual Impairment*. AERJOURNAL, vol. 4, nr 2, pp. 1,10, 2011 [Online]. Tillgänglig: <https://users.soe.ucsc.edu/~manduchi/papers/MobilityAccidents.pdf>
- [4] U. R. Rontgen, G. J. Gelderblom, L. P. de Witte, *The Development of an Indoor Mobility Course for the Evaluation of Electronic Mobility Aids for Persons Who Are Visually Impaired*. Assistive Technology, nr 24, p. 143, 2012 [Online]. Tillgänglig: <http://eds.a.ebscohost.com/eds/pdfviewer/pdfviewer?vid=4&sid=c5b6aac7-7ace-4f79-970b-815bb66f4943%40sessionmgr4009>
- [5] N. Amin, M. Borschbach, *Quality of Obstacle Distance Measurement using Ultrasonic Sensor and Precision of Two Computer Vision-based Obstacle Detection Approaches*. International Conference on Smart Sensors and Systems, 2015 [Online]. Tillgänglig: <https://ieeexplore.ieee.org/document/7873595>
- [6] T. Kiuru, M. Metso, M. Utriainen, K. Metsävainio, H. Jauhonen, R. Rajala, R. Savenius, M. Ström, T. Jylhä, R. Juntunen, J. Sylberg, *Assistive device for orientation and mobility of the visually impaired based on millimeter wave radar technology — Clinical investigation results*. Cogent Engineering, nr 5, pp. 1-24, 2018 [Online]. Tillgänglig: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/23311916.2018.1450322>
- [7] Sunu, *What is Sunu Band*. [Online]. Tillgänglig: <https://www.sunu.io/en/index.html> [Hämtad 21 maj 2019]
- [8] D. Dakopoulos, N. G. Bourbakis, *Wearable Obstacle Avoidance Electronic Travel Aids for Blind: A Survey* IEEE Transactions on systems, man and cybernetics-part:C: Applications and Reviews, vol. 40, nr 1, 2010 [Online]. Tillgänglig: <https://ieeexplore.ieee.org/document/5165018>
- [9] Kungliga Tekniska Högskolan, *Hållbar utveckling*, 2019, [Online]. Tillgänglig: <https://www.kth.se/om/miljo-hallbar-utveckling/utbildning-miljo-hallbar-utveckling/verktygslada/sustainable-development/hallbar-utveckling-1.350579> [Hämtad 22 maj, 2019]

# Utformning av framtidens primärvård

Emil Rydén (BME-16) och Mattias Seth (BME-16)

**Sammanfattning**—Den svenska primärvården står idag inför ökade kostnader och minskad effektivitet. Samtidigt visar statistik på en exponentiell befolkningstillväxt i Sverige och en ökad medelålder. För att med dagens resurser kunna möta morgondagens vårdbehov behöver vårdflödet effektiviseras. Flera studier visar att en bra utformad vårdmiljö tillsammans med digital teknik kan vara avgörande för att lyckas med detta arbete. Företaget Vårdinnovation har med sitt AI-baserade system *Vårdexpressen*, goda förutsättningar för att vara en nyckelkomponent under denna omställning. *Vårdexpressen* är ett digitalt, medicinteknisk verktyg som tillåter att patienter själva kan registrera sina symptom. Systemet tolkar svaren i realtid genom att ställa individanpassade frågor till patienten. Den medicinska informationen som samlats in av *Vårdexpressen* fungerar även som ett beslutstöd och administrationsverktyg för sjukvårdspersonalen, vilket möjliggör en effektivisering av hälso- och sjukvårdsverksamhet. Genom upphandling ska vårdcentralen Södertull i Lund implementera denna mjukvara i början av år 2019. Syftet med rapporten är att i samarbete med Vårdinnovation arbeta fram visuella modeller som visar på ett framtida vårdcentralen Södertull där *Vårdexpressen* implementerats i verksamheten. Fokus ligger i att möjliggöra ett mer effektivt vårdflöde där patienterna själva blir delaktiga i den egna vården. Modellerna har tagits fram genom en iterativ designprocess där slutresultatet visar på en effektiv och personcentrerad vård. De framtagna modellerna skapar ett underlag för fortsatt utvärdering samt beslutsfattande.

## I. INTRODUKTION

**P**RIMÄRVÅRDEN är en viktig samhällsfunktion som svarar för det grundläggande och förebyggande vårdarbetet. Under de senaste åren har kraven och förväntningarna på primärvården förändrats och vårdcentralernas uppdrag har i många avseenden blivit betydligt bredare [1] [2]. Ett förändrat sjukdomspanorama i kombination med historiskt hög befolkningstillväxt och skenande primärvårdskostnader är några av de styrande faktorerna. Dessutom ställer en ny generation av patienter högre krav på service, tillgänglighet och möjlighet till nya digitala kontaktvägar [1] [3]. Som ett resultat av att vårdvalet infördes år 2010 har kraven ökat ytterligare på vårdcentralerna, som nu i allt högre grad behöver agera aktör på en konkurrensutsatt marknad, där fokus ligger på patientens behov, krav och rättigheter [4] [5].

### A. Utmaningar för dagens primärvård

Sveriges primärvård står idag inför flera utmaningar och några av de mest omfattande listas här nedanför:

1) *Ökade kostnader och minskad effektivitet*: Trots att antalet fysiska besök inom primärvården minskat med 2% mellan åren 2011-2017 visar statistik sammanställt av Statistiska centralbyrån (SCB) och Sveriges Kommuner och Landsting

(SKL) att nettokostnaderna (hemsjukvård exkluderat) ökat med över 22% under samma period [4]. Sett utifrån en längre tidsperiod har kostnaderna för den svenska hälso- och sjukvården, sedan millennieskiftet, ökat med i snitt 4,2% per år, det vill säga 0,9 procentenheter mer än Sveriges BNP [6]. Av denna kostnadsökning drivs 1,1 procentenheter av en årlig ökning i vårdkonsumtionen till följd, och i linje med Sveriges befolkningsökning. Resterande ökning på 3,1 procentenheter är till följd av ökade enhetskostnader som bland annat är ett resultat av dagens ineffektiva vård [6]. Om trenden med ökade kostnader och minskad effektivitet fortsätter, betyder det att en allt större del av de offentliga medlen kommer behöva läggas på sjukvård i framtiden, utan att vare sig vårdkvaliteten eller effektiviteten förbättras [7].

2) *Skev fördelningsmodell*: Sveriges ekonomi belastas hårt av kroniska sjukdomar som idag står för en stor del av Sveriges totala sjukdomsbörda. I stort sett varannan vuxen har minst en kronisk sjukdom och var femte av de drabbade är under 20 år. I många av fallen hade sjukdomarna kunnat förebyggas om primärvården haft mer resurser till förebyggande och rehabiliterade insatser [8]. En av anledningarna till att dagens primärvård inte har de ekonomiska förutsättningar som krävs, är att en stor del av resurserna läggs på slutenvård vid sjukhusen. Denna skeva resursfördelning kommer från en oförändrad grundinriktning som härstammar från 1700-talets sjukvårdsmodell, där sjukvården främst innefattade vård av ineliggande patienter på sjukhusen [9] [2]. Än idag kan denna skeva resursfördelningen ses i form av att primärvården enbart utgör ca 17% av sjukvårdens totala nettokostnader. Redan idag behövs alltså en omfördelning av resurserna, där en allt större del av vårdinsatserna förflyttas över från sjukhusen till primärvården [4] [10].

3) *Fel perspektiv*: Senast under år 2017 bedrev SKL ett projekt vid namnet *Flippen*. Projektet var ett nationellt initiativ med målsättningen att främja utvecklingen av nya, innovativa arbetssätt inom primärvården. Syftet med projektet var att i högre grad än tidigare vända på perspektivet inom hälso- och sjukvården. Istället för att ha fokus på att möta patientens behov med den verksamhet man redan *har*, utgick Flippen från patienternas och medborgarnas *behov* vid utformandet av sjukvårdsverksamheten [11]. Att vända på perspektivet innebar också att utgå från vad patienten kan och vill göra själv, det vill säga att utgå från en personcentrerad vård. Här fungerar vården istället som ett stöd och komplement, där patienter antar en allt större roll i den egna vården och dess utveckling [12] [11].

Resultatet från Flippen visade att ett ökat utbud av de personcentrerade tjänsterna främjar effektiviteten, patientnyttan samt möjligheten till en bättre arbetsmiljö. I studien framgår vidare att digital teknik redan finns tillgänglig på marknaden idag och som skulle kunna tillåta en mer personcentrerad vård där patienter själva kan registrera sina mätvärden i

Inlämnat den 9 juni 2019

Mailadress: {mas14ery@student.lu.se, mattias.m.seth@gmail.com}

Teknisk handledare: Damon Tojjar, Medicinska fakulteten, Lunds universitet & Vårdinnovation Sverige AB

vårdgivarens journal. Vården får på så sätt en mer delaktig patient, som i sin tur får ökad trygghet och kontroll över sin sjukdom. Effektiviteten ökar i form av minskad arbetsbelastning för vårdpersonalen, där resurser frigörs för fysiska möten till de patienter med störst behov av detta [11].

4) *Bristande användning av digital teknik*: En rapport sammanställd av konsultföretaget McKinsey år 2016 visade på en minskad bruttoenhetskostnad om primärvården fullt ut börjar nyttja användandet av digital teknik år 2025. Det skulle innebära en kostnadsreducering på 25% jämfört med om inga satsningar görs och utvecklingen får fortsätta som hittills [6]. Rapporten diskuterar bland annat vikten av smarta sensorer uppkopplade mot mobila plattformar, artificiell intelligens och tekniska lösningar som tillåter en mer personcentrerad vård [6].

5) *Omoderna vårdmiljöer*: Studier visar att primärvården idag saknar det stöd som behövs för att utveckla nya arbetsmetoder som är nödvändiga för att ta till vara på nya innovationer [11]. Orsakerna bakom är att stora delar av dagens vårdmiljöer är byggda på 60- och 70-talet, vilket gör de svåradaptade till ny teknologi och nya arbetssätt [9]. Planlösningarna försvårar för personalen i deras dagliga arbete, där långa korridorer och centraliserade arbetsförråd ökar ineffektiviteten vilket leder till att personalen blir uttröttad [13] [14]. Vårdmiljöerna försvårar också för integreringen av ny teknik och den sterila utformningen av lokalerna bidrar till en ökad stressnivå för både patienter och personal [13] [9]. Dagens vårdmiljöer behöver därför omformas för att tillsammans med tekniken kunna besvara morgondagens vårdbehov [3].

## B. Vårdinnovation

Vårdinnovation är ett företag baserat i Lund som utvecklar mjukvara för effektivisering och digitalisering av hälso- och sjukvårdsverksamhet. Genom sitt egenutvecklade system vill företaget bidra med en lösning till många av de problem som dagens sjukvård står inför. Företagets digitala system, *Vårdexpressen*, är ett CE-märkt medicintekniskt verktyg som används av både patienter och sjukvårdspersonal. Vårdexpressen bygger på 10 års utvecklingsarbete och är både evidensbaserad och kliniskt utvärderad. I ett första skede registrerar sig patienten i systemet där Vårdexpressen klargör patientens besvär och fångar in viktig medicinsk information genom individanpassade frågor som sjuksköterskor, sjukgymnaster och läkare annars skulle behöva ställa. Frågorna besvaras i surfplattor som tillhandahålls av respektive vårdcentral eller i patienternas egna mobiltelefon. Systemet använder artificiell intelligens för att anpassa vilka uppgifter som inhämtas och all medicinsk information utgår från aktuell evidens.

Därefter presenterar systemet informationen för vårdpersonalen som en färdig journaltext tillsammans med beslutstöd för undersökning, utredning, diagnostik och behandling av patienten. Systemet föreslår också vad nästa steg i vårdprocessen bör vara, exempelvis provtagning eller läkarbesök. Vårdexpressen besparar vårdpersonalen tid eftersom patienten redan innan det fysiska besöket fått svara på frågor om sin sjukdomsbild, där flera av frågorna är standardiserade. Ur patientens perspektiv upplevs en

mer nära och personcentrerad vård där patienten själv får känna sig delaktig i vårdprocessen. Efter vårdbesöket sammanställs all data och systemet fungerar som en central där informationen finns lättillgänglig och väldokumenterad. Enligt upphandling med Region Skåne ska Vårdexpressen införas på samtliga landstingsägda vårdcentraler runt om i Skåne, där vårdcentralen Södertull i Lund är en av dessa vårdcentraler.

## C. Framtidens primärvård

Roger Ulrich är forskare inom miljöpsykologi och har med sin forskning visat att en god vårdmiljö förbättrar patientsäkerheten, effektiviteten och vårdkvaliteten [9]. Ulrichs forskning bygger på begreppet *evidensbaserad design* (EBD) som är ett tvärvetenskapligt ämnesområde och som undersöker effekten av den fysiska miljöns utformning på oss människor. Designprinciperna visar att god vårdarkitektur kan bidra till förkortade vårdtider, ökad patientsäkerhet och ökat välbefinnande för både personal och patienter [3] [9]. Framförallt är det kvalitéer såsom reducerande av ljud, simpel planlösning och positiva distraktioner i form av verklig och/eller simulerad natur som korrelerar väl med patienternas blodtryck, hjärtfrekvens och kortisolnivåer. Dessa designkvalitéer har en positiv effekt på oss människor och som bör beaktas vid utformandet av en nya framtida vårdmiljö [9].

Sammantaget bör framtidens vårdmiljöer utformas med utgångspunkt från Ulrichs designprinciper där även digital teknik integrerats i verksamheten [9] [1]. Tekniken bör vara av digital karaktär som tillåter att patienter kan utföra enklare analyser på sig själva och där genererad data sedan automatiskt kan laddas upp mot Vårdexpressen. Detta frigör resurser från vårdpersonal och säkerhetsställer att patientens behov möts med rätt typ av tjänster, i rätt tid [15]. Vårdmiljön bör utformas på ett sådant sätt som främjar det fysiska och psykiska välmåendet, samt förutsättningarna för att ett effektivt arbetssätt lätt kan implementeras och följas [3] [9]. I förmån för samhällets och vårdens ständiga förändringar bör de byggnads- och verksamhetsanknutna delarna vara generella och lätta att anpassa till ny teknik och nya arbetssätt. Det bör också finnas en tydlig uppdelning mellan lokalerna där patienter befinner sig och där personalen ofta rör sig, eftersom personal i vita rockor kan stressa patienter [3] [14].

## D. Syfte och agenda

Med bakgrund av de många utmaningar som finns inom dagens primärvård föreligger ett stort behov av förändring. För att med oförändrade resurser kunna möta morgondagens vårdbehov behöver en stor del av den svenska primärvården effektiviseras. Syftet med denna rapport är således att i samarbete med företaget Vårdinnovation utforma en ny vårdmiljö med fokus på vårdcentralen Södertull. Utifrån en systematisk litteraturstudie, inventeringsbesök och intervjuer konkretiseras behoven inom Sveriges primärvård. Problembilden appliceras sedan på vårdcentralen Södertull och därefter utformas ett förslag på en ny vårdmiljö som visar på ett mer effektivt - och personcentrerat vårdflöde. Projektet är färgat av kontinuerlig kontakt med Vårdinnovation och designdelen är formad utifrån

en iterativ designprocess. Rapporten beskriver de metoder som använts där slutresultatet är modeller som visar på en ny vårdmiljö för vårdcentralen Södertull, där Vårdexpressen och annan teknik integrerats i verksamheten.

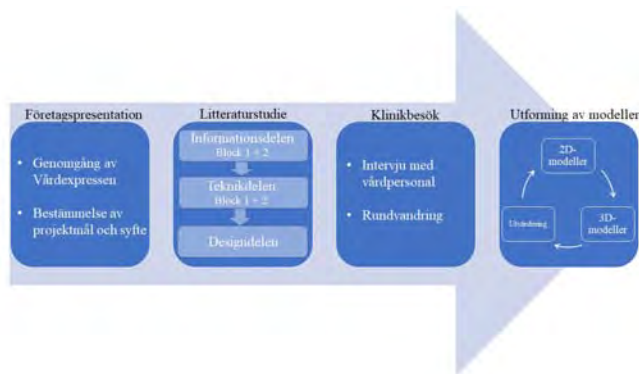
## II. METOD

Under projektets gång har möten med Vårdinnovation hållits kontinuerligt för att möjliggöra ständig uppföljning av projektet. Mötena har ägt rum varje fredag på Vårdinnovations kontor i Malmö där deltagare från både Vårdinnovation och Lunds Tekniska Högskola inkluderats. Genom mötena har varje delsteg i processen innefattat samtal för avstämning och uppföljning, där också en gemensam fortsatt riktning för projektet diskuterats. För att strukturera upp projektet har arbetet genomförts i olika delmoment. Delmomenten innefattar en presentation av företaget Vårdinnovation, insamlande av information och statistik, inventeringsbesök och intervjuer ute på kliniker, samt design av 2D- och 3D-modeller.

### A. Företagspresentation

I första skedet introducerade Vårdinnovation sig själva och sin teknik. Informationen om företaget och deras mjukvara, Vårdexpressen, låg senare till grund för det resterande arbetet. I projektets initiala fas identifierades ett gemensamt mål och syfte med projektet. Syftet fastställdes till att arbeta fram olika förslag på hur vårdcentralen Södertull skulle kunna se ut i framtiden, efter det att Vårdexpressen och övrig teknik implementerats i verksamheten.

Målet bestämdes vidare till att utforma förslag på en framtida vårdmiljö utifrån krav på evidensbaserade designprinciper och ett effektivt vårdflöde. Förändringarna skulle motiveras med hjälp av insamlad data som inhämtats genom en litteraturstudie och klinikbesök.



Figur 1: Visuellt presentation av projektets arbetsprocess. Varje delsteg inkluderar avstämning och uppföljning genom möten med Vårdinnovation (Modell: Mattias Seth, maj 2019).

### B. Litteraturstudie

Efter företagspresentationen genomfördes en systematisk litteraturstudie med syfte att undersöka utmaningarna inom dagens primärvård. Målet med studien var att införskaffa tillräckligt med kunskap för att kunna motivera eventuella

förändringsbeslut på vårdcentralen Södertull. Litteraturstudien strukturerades upp i följande tre delar, *informationsdelen*, *teknikdelen* och *designdelen*. Informationsdelen och teknikdelen delades i sin tur upp i två "undersökningsblock", varav det ena blocket bestod av en *nulägesanalys (block 1)* och den andra av en *framtidssanalys (block 2)* (se figur 1). Syftet med de två blocken var att skapa två olika problembilder, dels hur problematiken ser ut idag, men också hur det kan komma att se ut i framtiden. För att få en helhetsbild kombinerades sedan de två undersökningsblocken.

1) *Informationsdelen*: Syfte med informationsdelen var att undersöka vilka styrande faktorer som ligger till grund för förändringsbehovet inom den svenska primärvården. Olika vetenskapliga artiklar och studier genomsköptes, exempel på begrepp som dök upp var, "*förändrat sjukdomspanorama*", "*behov av digital teknik*", "*personcentrerad vård*", "*ökade kostnader*" och "*ineffektivitet*". För att få en kvantitativ problembild inhämtades vårdstatistik från SKL. Statistiken berörde bland annat kostnader, befolkningstillväxt och antalet besök inom primärvård. De bakomliggande faktorerna knöts sedan samman med kvantitativ data för att inte enbart visa på *vilka* faktorer det är som påverkar, utan också *hur* dessa påverkar.

För att få kunskaper som kan appliceras på flera vårdcentraler var målet under informationsdelen att skapa en generell och bred problembild över Sveriges primärvård. Anledningen bakom är att Vårdexpressen inte enbart ska implementeras på vårdcentralen Södertull utan också så småningom på andra vårdcentraler runt om i landet. Därför breddades informationssökningen genom att data inhämtades från både SKL och SCB. Statistiken var sammanställd utifrån flera vårdenheter runt om i landet och den inhämtade informationen låg sedan till grund för den problem- och behovsbild som skapades och som applicerades på vårdcentralen Södertull.

De olika undersökningsblocken under informationsdelen hjälpte till att svara på frågor som: "*Vilka problem finns inom primärvården idag?*", "*Vilka typer av problem kan/kommer uppstå i framtiden?*", "*Vilka typer av förändringar behöver göras?*". Svaren på dessa frågor låg sedan till grund för teknikdelen.

2) *Teknikdelen*: Denna del utgick från informationsdelen och bestod av en informationssökning kring vilka tekniska lösningar som finns tillgängliga på marknaden idag. De tekniska lösningarna som undersöktes skulle vara av den typ som enkelt och smidigt kan implementeras inom dagens primärvård och samtidigt kunna möta många av dagens och morgondagens behov. Det var också viktigt att tekniken visade kompatibilitet för uppkoppling mot mjukvara då tekniken lätt ska kunna integreras med Vårdexpressen.

Teknikdelen svarade på frågor som: "*vilka tekniska lösningar finns tillgängliga på marknaden idag?*", "*vilka tekniska lösningar kommer behövas i framtiden?*", och "*på vilket sätt skulle dessa lösningar kunna hjälpa till inom dagens/framtidens primärvård?*".

3) *Designdelen*: Med utgångspunkt från informationsdelen och teknikdelen var målet under designdelen att inhämta kunskap som visar på hur vårdmiljön bör utformas, samt hur tekniken på ett bra sätt ska implementeras. För att kunna

motivera designbeslut och utformningsidéer var det av stor vikt att införskaffa designkunskap som byggde på evidensbaserad forskning. Detta för att på ett trovärdigt sätt kunna svara på frågor som "Vart i rummet ska tekniken vara?", "Hur ska den nya vårdmiljön se ut?", "vilka färger och former bör användas vid utformandet?" etcetera. Syftet med evidensbaserad design och vårdarkitektur är att ta fram bättre planerings- och beslutsunderlag för när framtidens vårdmiljöer ska byggas. Genom att studera vetenskapliga artiklar från bland annat Ulrich och Chalmers, centrum för vårdens arkitektur, har ett sådant underlag kunnat skapats och användas i arbetet [3].

### C. Besök på kliniker

Eftersom fokus låg i att arbeta fram en ny vårdmiljö för vårdcentralen Södertull var det av stor vikt att studera vårdcentralens befintligt vårdflöde. Genom att studera patienternas rörelsemönster från det att patienten kommer in genom entrén, tills dess att patienten är klar med besöket, kan eventuella brister med vårdflödet upptäckas. Bristerna kan exempelvis vara olika flaskhalsar som stoppar upp eller saktar ner vårdprocessen. I projektet var tanken att studera vårdflödet utifrån vårdcentralen Södertulls befintliga planritning. Den mer generella informationen som inhämtats under litteraturstudien (informations- och teknikkdelen) användes här som kompletterande underlag.

Eftersom ingen planritning var tillgänglig användes vårdcentralen Södertulls utrymningskarta som underlag vid visualiserandet av vårdflödet. Med anledning av att drop-in patienter uteslutet befann sig på första våningen av vårdcentralen Södertull, var det endast av intresse att studera utrymningskartan för våning 1. För att planritningen sedan enkelt och flexibelt skulle kunna förvaras och redigeras var målet att förvara kartan i digitalt format. Under ett första besök på vårdcentralen fotograferades därför utrymningskartan med hjälp av en mobilkamera. Fotografiet överfördes till datorn, där programmet *BoxySVG* användes för att rita upp planritningen av vårdcentralen Södertull utifrån det inlagda fotot. Fotografiet på utrymningskartan fungerade här som en mall och en digital planritning kunde utifrån denna ritas upp. Det var önskvärt att fylla i vad de olika rummen hade för funktion eftersom det ansågs kunna underlätta vid planerandet av den nya vårdmiljön och det nya vårdflödet. Därför genomfördes en "inventeringsrunda" där de olika rummens funktioner noterades. Anteckningarna gjordes direkt i den digitala planritningen genom programmet *BoxySVG*.

Utifrån denna digitala planritning skulle sedan vårdflödet ritas upp. För att få information om hur ett typiskt vårdflöde skulle kunna se ut genomfördes ett andra besök på vårdcentralen Södertull där en intervju hölls med en sjuksköterska och en receptionist. Fokus under intervjun var att få information kring vilka utmaningar som finns kopplat till dagens vårdflöde, samt att genom en rundvandring få se hur ett typiskt vårdflöde för drop-in-besök skulle kunna se ut. Ytterligare fotografier på vårdlokalerna togs under besöket. Innan några fotografier tagits hade personalen tillfrågats för ett godkännande.

### D. Utformning av 2D-modeller

Syftet med 2D-modellerna var att visa på hur vårdflödet ser ut idag och hur det skulle kunna se ut i framtiden. Utformandet av 2D-modellerna grundade sig därför på den digitala planritningen som hade ritats upp utifrån vårdcentralen Södertulls utrymningskarta. I denna digitala planritning ritades sedan vårdflödet in med hjälp av *BoxySVG*. Från informationen som inhämtats under intervjun och rundvandringen på vårdcentralen Södertull kunde det befintliga vårdflödet ritas in (se figur 2). Olika flaskhalsar i vårdflödet valdes att visualiseras med så kallade *noder*, de färgade runda områdena.



Figur 2: Dagens vårdflöde vid vårdcentralen Södertull. Komplex flöde med många röda noder (Modell: Emil Rydén, april 2019).



Figur 3: Nya vårdflödet med färre röda noder och delvis turkosa noder (Modell: Emil Rydén, april 2019).

Vårdflödet valdes vidare att visualiseras med hjälp av pilar, som i sin tur visade på hur patienterna rör sig inuti lokalerna. Genom diskussioner inom gruppen och utifrån litteratursökningen kunde ett framtida vårdflöde ritas upp (se figur 3). För att särskilja de två olika vårdflödena representerades flödet och noderna med två olika färger, rött och turkost. Röd färg fick symbolisera noder i systemet som valdes att kallas för *negativa noder*. Dessa noder är väntzoner i flödet där patienterna själva inte kan påverka vårdflödet och/eller inte har någon insikt i vårdprocessen. Vid dessa noder måste patienten vänta på extern vägledning/hjälp för att ta sig vidare. Många röda noder och pilar betyder enligt litteraturen en ineffektiv och icke-personcentrerad vård. De turkosa noderna, *positiva noder*, motsvarades av zoner i vårdflödet där patienten själv kan vara med och påverka sin vård och/eller har en god insikt i vårdprocessen. Flera turkosa noder betyder således en effektiv och personcentrerad vård. Vilken typ av färg varje nod skulle ha hade diskuterats med personalen vid vårdcentralen Södertull, samt under ett möte med Vårdinnovation. Målet med den nya vårdmiljön var att skapa en mer personcentrerad och effektiv vård genom att försöka reducera negativa (röda) noder och integrera fler positiva (turkosa) noder (se figur 2 och 3).

### E. Utformning av 3D-modeller

Vid utformandet av 3D-modellerna användes de digitala planritningarna (2D-modellerna) som mall. Planritningarna

lästes in i datorprogrammet *SketchUp* och utifrån denna mall kunde sedan en 3D-modell av vårdcentralen Södertull ritas upp. Foton som tagits under klinikbesöket samt andra foton tagna av Vårdinnovation sedan tidigare användes också som mall vid utformandet. Utifrån dessa foton kunde verklighets-trogna vårdmiljöer ritas upp. Olika 3D-modeller av möbler och andra inredningsdetaljer laddades ner från gratisbiblioteket *3D-Warehouse*. Vid designen av den nya vårdmiljön behövdes tillgång till information från litteraturstudien samt från klinikbesöket. Detta för att kunna motivera valen kring den nya designen.

Utvärdering av 2D- och 3D-modellerna hölls kontinuerligt med Vårdinnovation under mötena. På så sätt har en iterativ designprocess kunnat implementeras, där diskussioner kring bland annat teknik och design bidragit till att det slutgiltiga resultatet arbetats fram under en längre tid.

### III. RESULTAT

Underlaget för arbetet med modellerna har varit evidensbaserade designprinciper och integrerande av teknik som enligt litteraturen tillåter en mer personcentrerad och effektiv vård. Vidare har utformningen utgått från Vårdexpressens funktion, där tekniken (se bilaga 1) som integrerats tillåter uppkoppling mot Vårdexpressen.

Projektet har resulterat i fyra modeller av vårdcentralen Södertull; två stycken 3D-modeller och två stycken 2D-modeller, där båda modellerna har en för- och eftermodell. Utöver detta har också en 3D-modell skapats för ett typ av undersökningsbås.

Den nya vårdmiljön är utformad på ett flexibelt och harmonisk sätt som tillåter en behaglig vårdmiljö som lätt kan anpassas och förändras. Harmonin kan bland annat ses i den nya vårdmiljön som är inspirerad av naturen och som skapar en trygg och lugn miljö för både patienter och personalen. Flexibiliteten ses i exempelvis de mobila avskärmningarna mellan de stationära surfplattorna, där patienterna kan stå upp och registrera sig i Vårdexpressen (se figur 4). Även anordningen med vilka surfplattorna sitter fast i väggen ska vara lätta att flytta. Patienter kan antingen logga in via dessa stationära surfplattor, eller med hjälp av mobila surfplattor som tillåter att patienter kan sätta sig på ställen där de känner sig bekväma och trygga.

Den befintliga planritningen (2D-modellen) bestod till en början av sju röda, negativa noder (se figur 3). I den nya planritningen som utformats har antalet röda noder reducerats till tre, där fyra röda noder omvandlats till turkosa, positiva noder (se figur 4). Detta har kunnat ske på grund av ett omstrukturerat arbetssätt där bland annat dagens reception helt tagits bort. Dessutom har ett *undersökningsbås* (se figur 7) och ett *patienttorg* (se figur 4-6) utformats som tillåter en mer personcentrerad vård och som ytterligare reducerar de negativa väntnoderna. Valet av design har utgått från diskussioner kring en avvägning mellan tid, effektivitet och patientnytta.

1) *Patienttorget*: Receptionen var en stor flaskhals (röd nod) i vårdcentralen Södertulls befintliga verksamhet där patienten oftast inte själv kunde ta sig vidare i vårdprocessen utan extern hjälp av sjukvårdspersonal. Den traditionella receptionen har därför ersatts av ett *patienttorg* där patienten

själv med hjälp av Vårdexpressen kan ta sig vidare i vårdflödet. Detta innebär också att det traditionella väntrummet har fått ett nytt utseende. Istället för att som idag, ha alla väntande patienter placerade på ett och samma ställe, tillåter det öppna patienttorget att patienterna kan placera sig lite varstans i lokalen. Anledningen till denna utformning är att bevara integriteten när patienterna ska besvara frågorna i Vårdexpressen, samt ett försök i att minimera smittspridning. Centralt i patienttorget har ett bord placerats där patienterna kan sitta eller stå och fylla i guiden till Vårdexpressen. Runt om i lokalen finns också tv-skärmar uppsatta på väggarna som tillåter att patienterna själva kan följa vårdflödet. På skärmarna kommer inga känsliga personuppgifter visas. Den information som visas kommer exempelvis vara patientens förnamn, aktuell väntetid och vart patienten ska röra sig härnäst. Informationen kommer automatisk upp på tv-skärmarna så fort patienten fyllt i formuläret i Vårdexpressen.

Denna nya utformning öppnar upp för en ny typ av receptionist som enligt diskussioner bör vara en serviceinriktad person med medicinsk kunskap och som bland annat kan hjälpa till att svara på frågor och visa hur olika analyser ska utföras i undersökningsbåsen. Denna nya roll förelås kallas *patientkoordinator* och kommer naturligt bidra till ett behagligare klimat och effektivare vårdflöde. Patientkoordinatorn bör inte vara klädd i vita sjukhuskläder, eftersom detta enligt litteraturen kan stressa patienter. Hursomhelst ska det tydligt framgå att patientkoordinatorn finns där som stöd och hjälp för patienter som är i behov av detta.

Vidare kommer patientkoordinatorn utgå ifrån en "sambandscentral" som är integrerad i bordet som placerats i mitten av patienttorget (se figur 5). På så sätt skapas en överblick över patienterna vilket gör att allmäntillståndet hos samtliga patienter inne i lokalen lätt kan observeras från ett och samma ställe. Vid sambandscentralen kommer extra surfplattor och material finnas att hämta ut för personalen, vilket reducerar behovet av att springa runt till andra ställen i lokalen och leta. Patientkoordinatorn har genom en egen surfplatta också tillgång till en personalvy av Vårdexpressen. Via denna vy fås en överblick över vilka patienter som befinner sig i lokalen, hur länge de väntat, deras sökorsak, samt nästa steg i vårdflödet.

2) *Undersökningsbåsen*: Undersökningsbåsen är tänkta att användas av patienter som har möjlighet att utföra enklare undersökningar på sig själva. För att möta behovet av vanligt förekommande symptom på en vårdcentral är tanken att det ska finnas tre olika typer av båsar: *hjärtbås*, *lungbås* och *bildbås*. Varje båsar är designat utifrån olika typer av sjukdomsbilder för att begränsa antalet medicintekniska produkter i varje båsar och på så sätt minska risken för förvirring hos patienterna. Gemensamt för samtliga båsar är designen, där temat är inslag av naturen (se figur 7). Genom en modern design med böljande former har båsen utformats utifrån evidensbaserade designprinciper. Båsen är tänkta att upplevas som privata och välkomnande men samtidigt inte för instängda och sterila. Väggarna består av ett glas som blir frostat när bålet är upptaget, vilket bevarar integriteten hos patienterna när de befinner sig i båsen. Samtidigt skapar designen hos båsen en känsla av trygghet, dels genom glasväggarna men också på grund av det mellanrummet som finns mellan väggarna



Figur 4: Bilden till vänster visar hur reception ser ut idag. Bilden till höger visar på en ny vårdmiljö där båsen har ersatt dagens reception. Båset närmast väggen är upptaget vilket kan ses på att det lyser rött ovanför dörren och att glaset är frostat (Modell: Mattias Seth, mars 2019).



Figur 5: Bilden till vänster visar en del av vårdcentralen Södertulls nuvarande väntrum. Bilden till höger visar den nya utformningen och en del av patienttorget (Modell: Mattias Seth, mars 2019).

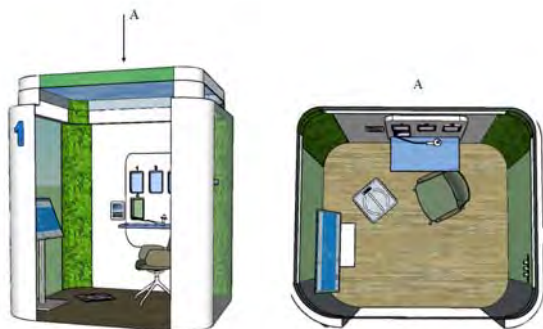


Figur 6: Till vänster ses vårdcentralen Södertulls nuvarande väntrum. Bilden till höger visar nya designen och en del av patienttorget (Modell: Mattias Seth, april 2019).

och taket (se figur 7). Taket i båsen är vidare utformat som en virtuell himmel med integrerad belysning vilket ytterligare ökar välbefinnandet hos patienterna. Medicintekniken som finns i båsen ska vara lätt att använda för att på så sätt minimera behovet av extern hjälp.

Inuti båsen finns en tv-skärm med touchfunktion som med hjälp av animerande instruktionsfilmer och steg-för-steg anvisningar ska leda patienten genom de olika undersökningarna. Medicintekniken är förvarad i boxar som är tillslutna av en tunn glasskiva för att inte stjäla onödig uppmärksamhet från patienten. Boxarna är numrerade och runt varje lucka finns integrerad belysning som lyser antingen i en svag ljusröd eller ljusgrön färg. När luckorna är stängda lysas luckorna till boxarna i rött vilket ger en indikation till patienten att denna teknik ej ska användas just nu. Patienten interagerar med tvn

genom touch-skärmen och när det är dags att utföra en viss typ av undersökning fås anvisningar om detta på tv-skärmen. Boxen i vilken den medicintekniska produkten ligger i lysas då upp i grönt och luckan öppnas automatiskt. Därefter kan patienten självständigt ta ut innehållet och använda medicintekniken utifrån anvisningarna på tv-skärmen. Medicintekniken är uppkopplad mot Vårdexpressen och mätdata som genererats under besöket sparas automatiskt i systemet. När patienten kommer in i båset, har personen i fråga redan registrerat sig i Vårdexpressen, således är det redan bestämt i förväg vilka typer av analyser som ska göras för att komplettera dokumentationen som redan registrerats av systemet. Detta sparar in på personalresurser eftersom patienter nu kan utföra analyser själva som tidigare krävde extern hjälp. När patienten



Figur 7: Modell över hur båsen är tänkta att se ut i två olika vyer (Modell: Mattias Seth, maj 2019).

är klar med undersökningen får personen i fråga en uppmaning om att lägga tillbaka innehållet i boxen. Patientkoordinatoren har via sin personalvy i Vårdexpressen full överblick över hur det går för patienterna inne i båsen och skulle en patient behöva hjälp får patientkoordinatoren en notis om detta i systemet.

3) *Medicintekniken*: Medicintekniken som valts till båsen är motiverad genom att den ska underlätta för vanligt förekommande undersökningar som kan genomföras lika väl av patienter själva som av sjukvårdspersonalen. De undersökningar som de olika medicintekniska produkterna möjliggör med tekniska specifikationer hittas i bilaga 1. Samtliga medicintekniska produkter har möjlighet till uppkoppling mot antingen WiFi eller Bluetooth och ger intrycket av att vara enkla och smidiga att använda. Dessutom är medicintekniken liten till storleken vilket är ett krav för att få plats i båsen. Att vanligt förekommande undersökningar kan genomföras av patienten själv sparar tid till det fysiska mötet mellan patient och sjukvårdspersonal. Vidare är det viktigt att uppmätt data alltid finns tillgänglig genom Vårdexpressen, vilket möjliggör övervakning och uppföljning av sjukdom som i sin tur behövs vid förebyggande och rehabiliterande vård.

#### IV. DISKUSSION

De slutgiltiga modellerna som utformats kan på ett visuellt och lättöverskådligt sätt visa på hur en framtida vårdmiljö skulle kunna se ut och fungera. Sett utifrån den kontinuerliga utvärderingen har 2D- och 3D-modellerna kompletterat varandra bra, där framförallt 2D-modellerna visat på det nya vårdflödet och 3D-modellerna på den nya vårdmiljön. Genom framtagandet av både för- och eftermodeller har det tydligt kunnat visas vilka förändringar som modellerna ämnat att resultera i. Tack vare det väl sorterade 3D-biblioteket i SketchUp har en realistisk 3D-miljö kunnat skapas, vilket ytterligare förenklat den fortlöpande utvärderingen. Det ska nämnas att inga mätningar eller kvantitativa analyser har gjorts för att stärka projektets resultat. Resultatet kan därför tänkas att fungera som ett underlag för vidare, kompletterande utvärdering. Det diskuterades att en väg för fortsatt arbete hade kunnat vara att analysera modellerna mera, genom att

förslagsvis relatera vårdflödet och noderna med kvantitativ data. En idé för detta hade kunnat vara att mäta tiden för patienter genom hela vårdflödet. På så vis hade en jämförelse mellan vårdflödet innan och efter kunnat genomföras med avseende på tidseffektivitet och kostnadsbesparingar. Inom projektets ramar fanns dock inte tid för det, då metoden ansågs vara allt för tidskrävande i relation till den mängd insamlade data som detta hade resulterat i. Rimligtvis bör också den nya vårdmiljön undersökas närmare gällande materialval, dimensioner och olika kostnadsberäkning.

Med stor sannolikhet stämmer inte alla mått på modellerna överens med verklighetens mått eftersom modellerna är uppritade utifrån en utrymningskarta som i sin tur är fotograferad med en mobilkamera. I projektet ansågs detta vara av mindre betydelse då modellerna främst är tänkt att fungera som ett kreativt och informerande exempel för när framtidens vårdmiljöer ska utformas. Under utformandet av modellerna har evidensbaserade designprinciper noga övervägts vilket resulterat i en ny vårdmiljö med mycket inslag av naturen. Detta kan ses i miljön som består av olika trämaterial samt med inslag av verkliga och konstgjorda växter.

Den medicinteknik som valts att implementeras (utöver Vårdexpressen) har motiverats utifrån studier i litteratursökningen. En mer djupgående utvärdering saknas även här. Innan de olika medicintekniska produkterna valts att ingå i projektet har den tekniska specifikationen studerats, där framförallt funktionen om möjlig uppkoppling mot mjukvara (WiFi eller Bluetooth) och att patienten själva ska kunna använda tekniken varit i fokus. Det bör också tilläggas att det resultat som arbetats fram under projektet har utgått från att Vårdexpressen integrerats i verksamheten. Det är något som bör finnas i åtanke om liknande arbete ska utföras i framtiden på andra vårdenheter.

Med utgångspunkt från den utvärdering som faktiskt gjorts, i kombination med jämförelser kring andra studier och forskningsresultat så *borde* den nya vårdmiljön för vårdcentralen Södertull skapa en mer harmonisk vårdmiljö samt en mer tidseffektiv och personcentrerad vård. De resulterade 2D-modellerna visade tydligt på ett mindre komplext vårdflöde med framförallt färre röda noder. Den nya vårdmiljön med båsen borde även möjliggöra att ny medicinteknik lätt kan implementeras, då tanken är att tekniken lätt ska kunna bytas ut i boxarna. Utformningen bör vidare tillåta en mer patientsäker vård där patienter som är i störst behov av fysisk undersökning får träffa vårdpersonal först. Den nya vårdmiljön bidrar också till en bättre arbetsmiljö för vårdpersonalen när patienterna själva blir mer delaktiga i den egna vårdprocessen. Den personcentrerade vården med effektivare triage<sup>1</sup> effektiviserar också vårdflödet och besparar vårdpersonalen på onödig stress och utmattning.

Även om bilderna på utrymningskartan hade räckt för att visa vårdflödet rent praktiskt, bestämdes istället att stor vikt skulle läggas på att få visuellt tilltalande bilder. Motivet bakom har varit att arbeta fram en lösning som ska kunna användas som säljande underlag för när Vårdexpressen ska implementeras i framtida vårdmiljöer. Trots att modellerna specifikt visar på vårdcentralen Södertull, kan arbetsprocessen lätt återskapas och användas på olika typer av vårdmiljöer.

1) *Hållbar utveckling*: Ur miljösynpunkt måste framförallt medicintekniken som används utvärderas mer noga. Det gäller parametrar som möjlighet till uppdatering av teknikens mjukvara, miljöpåverkan i form av tillverkningsprocess och återvinning. Även livslängden för tekniken bör tas i beaktning då medicintekniken som är tänkt att användas i båsen med stor sannolikhet får utstå en hel del slitage på grund av den höga användningsfrekvensen vid en vårdcentral. Metaller i batterier så som litium och kobolt kräver gruvbrytning, vilket är en ohållbar resurskälla och som starkt motiverar att teknik som bygger på denna typ av material har en lång livslängd. I projektet har det därför varit av stor vikt att tekniken varit miljömässigt hållbar med avseende på CE-märkning och FDA-godkännande.

2) *Etik*: I dagsläget söker sig patientgrupper till vårdcentralen Södertull för besvär som inte lämpar sig för primärvården. Det kan handla om allvarliga symptom så som kramper i bröstet som istället borde undersökas på en akutmottagning. Det kan också vara andra ärenden som lämpar sig bäst för självbehandling i hemmet. När en patient fysiskt söker vård via primärvården har personalen som tar emot patienten ansvar för personen. Det betyder att det i dagsläget går åt mycket tid för att ta hand om patienter som sökt fel, där patientens symptom inte går att behandla med de resurser som finns på en vårdcentral, alternativt inte behöver behandlas. Detta tar upp besökstid hos läkare eller sjuksköterskor för de patienter som sökt rätt och vars besvär faktiskt kan och behövs behandlas. Med anledning av denna problematik behövs en ny strategi för handläggning och behandling av patienter som söker sig till primärvården. Genom en ny utformning av vårdmiljön tillsammans med Vårdexpressen kan patienter triagera sig själva vilket ger ett mer effektivt vårdflöde. Detta öppnar upp för en mer patientsäker och personcentrerad vård, där vårdmiljöns utformning prioriterar patientens och personalens välmående.

## V. SLUTSATSER

Genom ett samarbete med Vårdinnovation har idéer kring utformningen av ett framtida vårdcentralen Södertull tagits fram. Arbetet har resulterat i visuella modeller som visar på en ny vårdmiljö där Vårdexpressen och annan digital teknik integrerats i verksamheten. Vårdflödet har kunnat effektiviserats genom utformning av undersökningsbås och ett patienttorg. Den nya vårdmiljön tillåter en mer personcentrerad vård, där modellerna utgör ett innovativt underlag för fortsatt utveckling och utvärdering.

## VI. EFTERORD

Vi vill rikta ett stort tack till Vårdinnovation och alla inblandade i arbetet. Framförallt Damon Tojjar, VD på Vårdinnovation och Elias Hinn, projektledare på Vårdinnovation som båda under mötena kommit med feedback och agerat som ett bollplank genom hela arbetets gång. Deras tilltro till oss har varit motivationshöjande och haft stor betydelse för projektets framgång. Vi vill även rikta ett tack till vårdpersonalen vid de besökta vårdcentralerna.

Arbetet har delats lika mellan författarna Mattias Seth och Emil Rydén. Rapportskrivningen har skett gemensamt.

## REFERENSER

- [1] Norrbottens läns landsting. *Framtidens primärvård - Projekt*, Sep. 2015. Hämtad 2019-04-04, <http://www.norrbotten.se/publika/ig/verk/Kansli/Lfu/2015/Bilagor/151014/Framtidens%20prim%C3%A4rv%C3%A5rd.pdf>.
- [2] R. Molin. "Hälso- och sjukvården år 2035". Rapport, Sveriges Kommuner och Landsting, Apr. 2016. Hämtad 2019-03-28, <https://webbutik.skl.se/bilder/artiklar/pdf/7585-389-5.pdf>.
- [3] Centrum för vårdens arkitektur och Program för Teknisk Standard. "Lokaler för öppenvård - kunskapsunderlag vid planering av vårdcentraler och mottagningar". Teknisk rapport, Chalmers Tekniska Högskola, Jan. 2016. Hämtad 2019-03-28, <https://www.chalmers.se/sv/centrum/cva/Forskning/Projekt/utvecklingsprojekt/Sidor/lokaler.aspx>.
- [4] Vården i siffror. *Nettokostnad för primärvård*. Sveriges Kommuner och Landsting. Hämtad 2019-03-28, <https://vardenisiffror.se/indikator?metadatameasure=a50e6bf1-75ce-459d-bc1c-313116195248&relatedmeasuresbyid=statistiska%20centralbyran%20och%20sveriges%20kommuner%20och%20landsting&units=se>.
- [5] Socialstyrelsen. *Socialstyrelsens termbank*, 2005. Hämtad 2019-03-28, <http://termbank.socialstyrelsen.se/?TermId=37&SrcLang=sv>.
- [6] M. Tyreman P. Hardy, O. Boldt-Christmas. "Värdet av digital teknik i den svenska vården". Rapport, McKinsey & Company, Juni 2016. Hämtad 2019-03-28, <https://www.mckinsey.com/~media/McKinsey/Industries/Healthcare%20Systems%20and%20Services/Our%20Insights/Digitizing%20healthcare%20in%20Sweden/Digitizing-healthcare-in-Sweden.aspx>.
- [7] Vården i siffror. *Kostnad per vårdkontakt i primärvården*. Sveriges Kommuner och Landsting. Hämtad 2019-04-04, <https://vardenisiffror.se/indikator?datefrom=2014-01-01&metadatameasure=bd7ada3c-d7ea-40cd-b009-9838618233ff&relatedmeasuresbyid=statistiska%20centralbyr%C3%A5n%20och%20sveriges%20kommuner%20och%20landsting&units=se>.
- [8] Socialstyrelsen. *Vården för kroniskt sjuka behöver förbättras*, Dec. 2015. Hämtad 2019-04-09, <https://www.socialstyrelsen.se/nyheter/2015december/vardenforkronisksjukabehoverforbattas>.
- [9] Centrum för vårdens arkitektur och Program för Teknisk Standard. "Den goda vårdavdelningen". Teknisk rapport, Chalmers Tekniska Högskola, Dec. 2011. Hämtad 2019-03-12, [https://research.chalmers.se/publication/176996/file/176996\\_Fulltext.pdf](https://research.chalmers.se/publication/176996/file/176996_Fulltext.pdf).
- [10] Vården i siffror. *Nettokostnad för hälso- och sjukvård*. Sveriges Kommuner och Landsting. Hämtad 2019-04-09, <https://vardenisiffror.se/indikator?datefrom=2014-01-01&metadatameasure=e9a6cd4e-ca48-4863-a401-a88f179c0cff&relatedmeasuresbyid=statistiska%20centralbyr%C3%A5n%20och%20sveriges%20kommuner%20och%20landsting&units=se>.
- [11] S. Kialt M. Blom Nilsson M. Skogman S. Ljungkvist M. A. Hilberth G. Hjelmgren, O. Norin. "Flippen i primärvården". Rapport, Sveriges Kommuner och Landsting, 2018. Hämtad 2019-04-04, <https://webbutik.skl.se/bilder/artiklar/pdf/7585-504-2.pdf?issuusl=ignore>.
- [12] C. Udo Å. Hörnsten. *Personcentrerad vård*. Vårdhandboken, Apr. 2018. Hämtad 2019-03-28, <https://www.vardhandboken.se/arbetssatt-och-ansvar/bemotande-i-var-d-och-omsorg/bemotande-i-var-d-och-omsorg-vardegrund/personcentrerad-var-d/>.
- [13] Institute of Medicine (US) Committee on the Work Environment for Nurses and Patient Safety; A. Page, Ed. *Keeping Patients Safe: Transforming the Work Environment of Nurses*. National Academies Press, Washington (DC), USA, 2004. DOI: 10.17226/10851 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25009849>.
- [14] P. Olsson M. Hanås, M. Carlsson. *Att patientanpassa en vårdcentral*, 2013. Hämtad 2019-03-29, [http://www.cheferochledare.se/sites/default/files/kcfinder/files/low\\_CoL\\_Design%20i%20varden\\_3-2013.pdf](http://www.cheferochledare.se/sites/default/files/kcfinder/files/low_CoL_Design%20i%20varden_3-2013.pdf).
- [15] S. Gerward J. Johansson P. Sommarlund F. Falkvall P. Sandberg A. Andersson P. Lindskog M. Ambjörnsson M. Norelius B. Stavenow, C. Vidarebäck. "En personlig och digital vårdupplevelse - framtidens primärvård". Rapport, Innovation Skåne AB, SP Sveriges Tekniska Forskningsinstitut, Nordic Healthcare Group, Apoteket AB, Okt. 2016. Hämtad 2019-04-12, <https://www.inrikta.se/files/rapport-l-ngversion.pdf>.

## BILAGA 1

Tabell I: Medicinteknik till undersökningsbås för utredning av hjärta och bröstsmärtor

| Undersökning             | Modell          | Uppkoppling      | CE/FDA | Tid [min] | Vikt [g] | Pris [SEK] |
|--------------------------|-----------------|------------------|--------|-----------|----------|------------|
| Blodtryck                | Withings BMP    | Bluetooth        | Ja     | ~ 6       | 344      | 1 035      |
| Pulssaturation           | Beurer PO60     | Bluetooth        | CE     | < 1       | 49       | 1 040      |
| EKG & Digitalt stetoskop | Coala           | Bluetooth        | Ja     | < 1       | 36       | -          |
| Vikt                     | Withings Body   | Bluetooth & WiFi | Ja     | < 1       | -        | 617        |
| Temperatur               | Withings Thermo | Bluetooth & WiFi | Ja     | < 1       | 75       | 1 035      |

Tabell II: Medicinteknik till undersökningsbås för utredning av lungor och andning

| Undersökning            | Modell             | Uppkoppling      | CE/FDA | Tid [min] | Vikt [g] | Pris [SEK] |
|-------------------------|--------------------|------------------|--------|-----------|----------|------------|
| Spirometri <sup>2</sup> | Spirobank II Smart | Bluetooth        | Ja     | < 1       | 145      | 11 345     |
| Vikt                    | Withings Body      | Bluetooth & WiFi | Ja     | < 1       | -        | 617        |
| Temperatur              | Withings Thermo    | Bluetooth & WiFi | Ja     | < 1       | 75       | 1 035      |

Tabell III: Medicinteknik till undersökningsbås för utredning med bilder

| Undersökning     | Modell             | Uppkoppling    | CE/FDA | Pris [SEK] |
|------------------|--------------------|----------------|--------|------------|
| Hud <sup>3</sup> | MoleScope II       | Fästs på mobil | Ja     | 3 127      |
| Ögon             | Dino-Lite IriScope | USB            | Ja     | 6 651      |
| Öron             | CelloScope Oto     | Fästs på mobil | FDA    | -          |

<sup>2</sup>Uppmätta värden: FVC, FEV1, FEV1%, PEF, FEF25-75, FET, Lungålder, VC, IVC<sup>3</sup>Kan användas för födelsemärken, eksem, akne, psoriasis och andra misstänkta hudproblem

# Utvärdering av GlycoCheck som verktyg inom preeklampsivård

Malin Hjärtström (BME-16), Linnea Wenäll (BME-16)

**Sammanfattning**—Preeklampsi står för en betydande del av döds- och sjukdomsfallen bland gravida och foster. Idag finns inget botemedel mot sjukdomen och orsakerna till sjukdomens uppkomst är inte heller fastställda. Tidigare forskning från USA visar på ett möjligt samband mellan preeklampsi och nedbrutet glykokalyxlager. Är så fallet finns potential att använda den medicintekniska apparaten *GlycoCheck* för att diagnostisera och gradera preeklampsi genom att mäta *perfused boundary region* (PBR) i det sublinguala endotelet. Denna potential behöver undersökas mer för att kunna bekräftas. För att möjliggöra en kompletterande svensk studie inom detta område studeras *GlycoChecks* tillförlitlighet genom två olika sorters mätningar. Påverkan av uppfyllda förberedelsekriterier undersöks i en jämförande studie, medan apparatens repeterbarhet studeras genom kontinuerliga mätningar. För att underlätta för den kommande studien har studieprotokoll och patientinformation utformats, vilka även har efterföljts i en småskalig fall-kontrollstudie utförd på Skånes universitetssjukhus. Fall-kontrollstudien är samstämmig med tidigare forskning om ett förhöjt PBR-värde vid preeklampsi, om än ej signifikant. Utifrån resultaten från den jämförande studien kan inga slutsatser dras om påverkan av förberedelsekriterierna, men mätvärdena indikerar att PBR-värdet stiger när dessa inte efterföljs. Märkbart är även patientens betydande roll vid mätningar med *GlycoCheck*, där främst svårigheter med fokus och stabilitet framträder. För att öka mätningarnas tillförlitlighet inför både kommande studie, och när *GlycoCheck* potentiellt i framtiden används som vårdverktyg, föreslås en ställning för att hålla patientens huvud och *GlycoChecks* prob stabil.

## I. INTRODUKTION

**H**AVANDESKAPSFÖRGIFTNING, eller preeklampsi, är en av de vanligaste döds- och sjukdomsorsakerna bland gravida och foster. I Sverige drabbas omkring 5 000 gravida varje år och det finns idag inga allmänna metoder för att tidigt identifiera sjukdomen [1]. Sjukdomen diagnostiseras vid högt blodtryck, hypertension, som uppstår efter gestationsvecka 20, i kombination med protein, bland annat albumin, i urinen. Gravitetens gestationsvecka räknas från den sista menstruationens första dag, där en förlossning vid normal graviditet förväntas ske i gestationsvecka 40. Förutom högt blodtryck kan patienten erfara huvudvärk, illamående och ödem [2].

Obehandlad preeklampsi kan leda till eklampsi, vilket karakteriseras av kramper och synstörningar, eller HELLP (*Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets counts*) då patientens organ snabbt tar skada. Fostret kan under en preeklampstisk graviditet drabbas av tillväxthämning och i värsta

fall avlida [2]. Idag är avlägsnandet av moderkakan [3] och därmed förlossning det enda botemedlet mot sjukdomen. Vid val av tidpunkt för förlossning görs kontinuerligt en avvägning för den gravida och fostret mellan för- och nackdelar av att fortsätta graviditeten eller förlösa den gravida [4].

För den som tidigare haft en preeklampstisk graviditet ökar förekomsten av hjärt- och kärlsjukdom så som kronisk hypertension, ischemisk hjärtsjukdom och stroke. Barn som föds efter en preeklampstisk graviditet löper ökad risk att drabbas av stroke, metabolt syndrom och kransartärsjukdom under sitt vuxna liv [4]. Eftersom sjukdomen påverkar patientens hälsa långt efter förlossningen, är det av stor vikt att förbättra vården för de som drabbas [3].

Trots sjukdomens höga prevalens är sjukdomsförloppet och -orsaken fortfarande inte helt klarlagd. Idag ses preeklampsi som en systemisk sjukdom som innefattar skada på blodkärlens endotel, insidan av blodkärlsväggen, och som i det långa loppet ökar risken för en rad sjukdomar [3]. Sjukdomen tros bero på ofullständig utveckling av blodkärlen i livmodern, vilket leder till syrebrist i moderkakan. Moderkakan släpper då ifrån sig vissa ämnen som när de når det maternella cirkulationssystemet bidrar till skada på endotelet [3].

En hypotes är att det så kallade glykokalyxlagret på blodkärlens endotel (se avsnitt II-A) förändras vid preeklampsi, vilket har påvisats vid tidigare forskning. Detta skulle kunna bana väg för nya sätt att diagnostisera och även gradera preeklampsi. För att säkerställa huruvida glykokalyxlagret förändras eller ej krävs dock fler studier där korrelationen mellan glykokalyxdegradering och preeklampsi undersöks.

Gandley et al. [5] [6] [7] har tidigare undersökt barriärfunktionen hos glykokalyx hos patienter med preeklampsi och patienter med okomplicerade graviditeter. Genom mätningar med den medicintekniska apparaten *GlycoCheck* har de visat att barriärfunktionen hos glykokalyx är reducerad ett år efter förlossning hos kvinnor som under graviditeten led av preeklampsi, jämfört med hos kvinnor som vid motsvarande tid genomgick en okomplicerad graviditet och förlossning. Detta kunde ses genom ett högre värde på den så kallade *perfused boundary region* (PBR) (se Figur 4) [6].

Även Weissgerber et al. [8] har forskat på förhållandet mellan preeklampsi och degradering av glykokalyx. I sin studie jämförde de värde på PBR hos patienter med okomplicerad graviditet med PBR hos patienter med tidig respektive sen preeklampsi (före respektive efter gestationsvecka 34). Deras slutsats var att glykokalyx bryts ner hos patienter med tidigt utvecklad preeklampsi, men inte hos patienter med sent utvecklad preeklampsi.

Vid preeklampsi kan patientens tillstånd försämrats snabbt

Inlämnat den 11 juni 2019

E-mailadress: gnv13mhj@student.lu.se, li5538we-s@student.lu.se

Teknisk handledare: Tomas Jansson, Institutionen för Kliniska vetenskaper Lund, Medicinsk teknik

Klinisk handledare: Helena Strevens, Institutionen för Kliniska vetenskaper Lund, Obstetrik och gynekologi

och frekventa mätningar är därför av stor vikt för att följa sjukdomsutvecklingen. GlycoCheck ger möjlighet till icke-invasiv mätning, vilket kan göras mer frekvent än invasiv mätning. Genom att resultatet erhålls omedelbart efter utförd mätning undviks även väntetid på provsvar från laboratorieanalyser.

För att med hjälp av GlycoCheck kunna undersöka huruvida tjockleken på endotelcellernas glykokalyxlager påverkas vid preeklampsi, behöver instrumentets tillförlitlighet studeras. GlycoChecks tillverkare rekommenderar vissa patientförberedelser som kräver att undersökningen planeras med minst 12 timmar i förväg, vilket är problematiskt då preeklampstiker kan behöva undersökas med kort framförhållning. Därför är det av stor vikt att undersöka hur GlycoChecks mätvärden påverkas av huruvida patienten har ätit, druckit och/eller motionerat innan mätningen. Från detta följer studiens frågeställning: *Påverkas GlycoChecks mätresultat av huruvida förberedelsekriterierna är uppfyllda?* Vidare undersöks även repeterbarheten hos de mätvärden som fås vid upprepade mätningar under samma förhållanden för att grundligare undersöka instrumentets tillförlitlighet.

Denna studie ämnar ta ett första steg mot ett kommande, mer djupgående forskningsprojekt om GlycoChecks potential att diagnostisera och gradera preeklampsi. Därför genomförs även en mindre teststudie där en preeklampstisk och en icke-preeklampstisk patient undersöks med GlycoCheck. Förhoppningen är att i framtiden kunna gradera sjukdomens allvarlighetsgrad och därmed även optimal tid för förlossning med hjälp av mätning av mikrocirkulationen under tungan (sublinguallt). Detta vore ett stort framsteg för obstetrisk vård då både fosters och födandes välmående i hög grad är beroende av förlossningens tidpunkt.

En bakgrund presenteras över ämnet för ökad förståelse för relationen mellan preeklampsi och mätning av glykokalyx med GlycoCheck. Då studien syftar till att både undersöka GlycoChecks tillförlitlighet samt att småskaligt testa PBR-mätning på gravida patienter presenteras först teststudiens metodval och sedan beskrivs tillvägagångssätt för att undersöka huruvida apparatens tillförlitlighet påverkas av patientens förtäring och rörelse innan mätningen. Sedan redogörs för hur mätresultaten påverkas av fast positionering av GlycoChecks prob. GlycoChecks tillförlitlighet diskuteras och vi presenterar svårigheter som behöver överbryggas inför den framtida studien och det framtida användandet av GlycoCheck inom preeklampsivård.

## II. BAKGRUND

### A. Det endotela glykokalyx

På endotelet finns det gelliknande lagret glykokalyx som består av proteoglykaner, glukosaminoglykaner och plasma-proteiner. Detta glykokalyxlager fungerar reglerande i interaktionen mellan blod och blodkärlsvägg och skyddar kroppen mot inflammation och trombos, blodproppar, genom att täcka områden där vita blodkroppar och blodplättar annars kan fästa in. Det endotela glykokalyx skyddar även mot proteinläckage och barriärfunktionen hos glykokalyx håller röda blodkroppar på ett visst avstånd från endotelet i kapillärerna [9]. Skadas glykokalyx leder det till hyperpermeabilitet och ökad adhesion av vita blodkroppar [10].

### B. Relationen mellan preeklampsi och glykokalyx

Idag finns en generellt accepterad tvåstegsmodell som visar den patiofysiologiska processen bakom preeklampsi (se Figur 1). Det första steget innefattar, som tidigare nämnts, patologisk bildning av moderkakan och ofullständig maternell blodtillförsel till moderkakan. Det andra steget innebär utvecklade maternella syndrom i form av högt blodtryck och proteinuri. Utifrån tvåstegsmodellen släpper den dysfunktionella moderkakan ifrån sig faktorer till den maternella blodcirkulationen där de leder till utvecklandet av den gravidas symptom [11]. Symptomen tros uppstå som följd av systemisk vaskulär inflammation [12], men det är fortfarande inte fastställt vilka faktorer som orsakar den systemiska inflammationen [11].



Figur 1. Tvåstegsmodellen visar de två steg inom preeklampsi som är generellt accepterade i den annars diffusa sjukdomsbilden. Fortfarande finns ingen konsensus kring vad som leder från patologisk bildning av moderkakan till utvecklandet av hypertension och proteinuri hos den gravida [11].

Flertalet forskare arbetar med att försöka förklara preeklampsins sjukdomsförlopp [3] [4] [11] [12]. Cackovic et al. [13] och Conrad et al. [14] har i oberoende studier uppmätt ökade serumnivåer av inflammationsfaktorn TNF-vid preeklampstiska graviditeter. På mänskliga glomerulära endotelceller har Galvis et al. [15] visat *in vitro* att TNF-stimulerar aktiviteten hos enzymet heparanas med följden att vissa glykosaminoglykaner i glykokalyx degraderas.

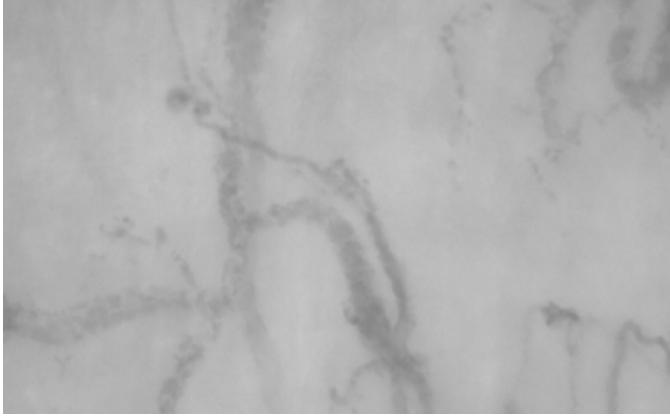
Samtidigt har Singh et al. [16] i *in vitro*-studier visat att heparanas, vars koncentration ökar vid tillstånd som karaktäriseras av proteinuri, bryter ner en viss sorts glukosaminoglykan som finns i glykokalyx. I samma studie observerades att den minskade tjockleken hos glykokalyx gjorde att mängden albumin som flödade över endotelet ökade.

Både Singh et al. och Galvis et al. har oberoende av varandra formulerat hypotesen att proteinuri kan bero på ett ökat flöde av albumin från blod till urin som följd av en tunnare tjocklek hos glykokalyx [15] [16]. För att undersöka glykokalyx degradationsnivå kan de röda blodkropparnas penetration i glykokalyxlageret undersökas med hjälp av *sidestream dark field (SDF) imaging* och videomikroskopi [17].

### C. Sidestream dark field imaging

Sidestream dark field (SDF) imaging är en teknik som används för att undersöka mikrocirkulation [18], det vill säga cirkulationen i blodkärl med en inre diameter mindre än 100  $\mu$ m [19]. I SDF används grönt LED-ljus med våglängden 530 nm, vilket absorberas av hemoglobinet i röda blodkroppar [18]. Vävnaden runt de röda blodkropparna absorberar inte det gröna ljuset, vilket gör att kontrast skapas mellan de röda blodkropparna och omkringliggande vävnad. De röda blodkropparna

kan då identifieras med hjälp av videomikroskopi, där de röda blodkropparna framträder i svart och vävnaden får en vit eller gråaktig färg (se Figur 2) [20].



Figur 2. Med *side-stream dark field (SDF) imaging* och videomikroskopi kan de röda blodkropparna identifieras som svarta prickar i blodkärlen i en realtidsbild. Vävnaden framträder med vit eller gråaktig färg [20].

#### D. GlycoCheck

GlycoCheck (se Figur 3), från GlycoCheck B.V., är en medicinteknisk produkt som använder sig av just SDF och videomikroskopi för att visa de röda blodkropparnas rörelse i kapillärerna sublinguallt. Denna icke-invasiva mätmetod kan utifrån mätning och sedermera beräkning av blodkärlets genomströmmade area beräkna glykokalys tjocklek [17].

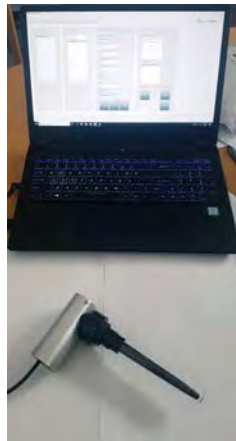
För att beräkna tjockleken på glykokalys mäts *perfused boundary region* (PBR), se Figur 4. Det görs genom att GlycoCheck detekterar de röda blodkropparnas storlek och mitten av blodkärlet [17]. Mjukvaran beräknar sedan medianvärdet på de röda blodkropparnas diameter och tar genom linjär regression fram diametern hos den area i blodkärlet som genomströmmas av blod. PBR beräknas sedan av mjukvaran med hjälp av Ekvation 1 [9].

$$PBR = \frac{1}{2}(P_D - RBC_D) \quad (1)$$

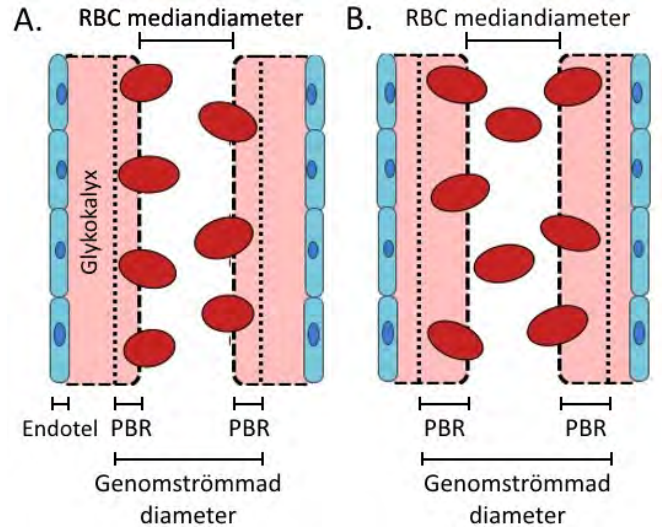
$P_D$  = Genomströmmad (perfused) diameter

$RBC_D$  = De röda blodkropparnas (RBC) mediandiameter

Värdet på PBR beräknas på 3 000 positioner och används för att beräkna ett slutgiltigt medelvärde. Utifrån detta medelvärde uppskattas glykokalys degradationsnivå [17]. Ett mer nedbrutet glykokalys (se Figur 4B) tillåter att röda blodkroppar



Figur 3. GlycoCheck är en icke-invasiv mätmetod som används för att identifiera de röda blodkropparnas rörelse i kapillärerna [17].



Figur 4. A. Friskt glykokalys. B. Patologiskt glykokalys.

*Perfused boundary region* (PBR) definieras som den laterala sträcka de röda blodkropparna (RBC) kan penetrera in i endotelet [20]. Ett högre värde på PBR visar på ett tunnare glykokalys [9], vilket ses i B.

penetrerar djupare mot endotelet, vilket ger ett högre värde på PBR [9]. På samma sätt håller ett friskare endotel (se Figur 4A) de röda blodkropparna på ett större avstånd, vilket ger ett lägre värde på PBR. Gränsvärdet för ett friskt glykokalys är  $PBR = 2.00$  [17]. Detta sätt att mäta PBR har validerats i flertalet studier [21] [22] [23] [24] [25].

#### E. Kriterier för optimerade mätresultat

Utifrån tillverkarens rekommendation bör patienten uppfylla följande kriterier för att erhålla korrekta mätresultat med GlycoCheck [17]:

Fastande 4 h innan mätningen.

Ingen pulshöjande fysisk aktivitet 12 h innan mätningen.

Ingen förtäring av alkohol 24 h innan mätningen.

Dricka minst 1 liter vatten 1 h innan mätningen.

Ej inta koffeinhaltig dryck samma dag som mätningen.

Vila 15-20 minuter innan mätningen för att minska stressnivån.

### III. METOD

#### A. Fall-kontrollstudiens utformning

För att underlätta för en framtida, mer omfattande studie och för att säkerställa att teststudien genomfördes på ett tillförlitligt sätt upprättades ett studieprotokoll efter *The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use's* riktlinjer för *Good Clinical Practice* [26]. Utifrån dessa riktlinjer utformades även en patientinformation (se Bilaga A).

Studien utfördes som en småskalig fall-kontrollstudie. Källpopulationen bestod av gravida patienter som sökt vård inom Skånes universitetssjukhus upptagningsområde under maj 2019. I källpopulationen identifierades ett (1) fall, det vill säga en patient med preeklampsi, samt en (1) kontroll, en patient utan preeklampsi att jämföra fallet med.

Särskilda inklusions- och exklusionskriterier gällde för fall respektive kontroll. Detta för att tydligt avgränsa grupperna. För att erhålla tillförlitliga resultat matchades studiedeltagarna även efter gestationsvecka och ålder. Denna data kan ses i Tabell I. Graviditeterna daterades genom rutinmässiga mätningar med ultraljud av fostrets skulldiameter och längden på lårbenet i gestationsvecka 17-18 [27].

### Fall

#### Inklusionskriterier:

- Gestational hypertoni
- Nydebuterad proteinuri

#### Exklusionskriterier:

- Diabetes
- Primär hypertoni
- Kliniskt detekterad njursjukdom

### Kontroller

#### Inklusionskriterier:

- Gestationsvecka 20 eller senare
- Matchas med patient i populationen med avseende på ålder ( $\pm 6$  år och gestationsvecka ( $\pm 3$  veckor).

#### Exklusionskriterier:

- Preeklampsi
- Proteinuri
- Diabetes
- Primär hypertoni
- Kliniskt detekterad njursjukdom

Gestational hypertoni diagnostiseras vid  $\geq 140/90$  mmHg vid två eller flera tillfällen med mer än 4 timmars mellanrum. Gestational hypertoni innebär högt blodtryck som inträffar efter graviditetens början, medan primär hypertoni är när patienten har haft högt blodtryck redan innan graviditeten inleddes. Nydebuterad proteinuri innebär att patienten har protein i urinen som inte kunnat detekteras innan graviditetens början. Tillståndet diagnostiseras då mängden protein är  $\geq 300$  mg/24h vid två urinprov med mer än 4 timmars mellanrum [27].

Tabell I

DATA FRÅN FALL (PREEKLAMPTIKER) OCH KONTROLLER (NORMAL GRAVIDITET), MATCHADE EFTER ÅLDER OCH GESTATIONSVECKA.

| Par | Fall  |                 | Kontroll |                 |
|-----|-------|-----------------|----------|-----------------|
|     | Ålder | Gestationsvecka | Ålder    | Gestationsvecka |
| 1   | 39    | 37+4            | 38       | 38+1            |

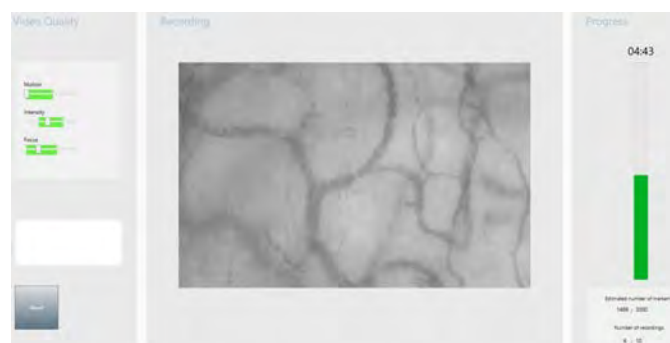
### B. Utförande av mätningar

Mätningarna utfördes på Skånes universitetssjukhus. Mätningarna på den preeklampiska deltagaren skedde under tiden då denna var inlagd, medan mätningarna på ickepreeklamp-tiker skedde vid ett tillfälle i slutet av den kliniska studiens tidsperiod. Dr Helena Strevens, Dr Sara Progiante och/eller Dr Dag Wide-Swensson kontrollerade att studiedeltagarna uppfyllde kriterier för fall- respektive kontrollgrupp. Mätningarna som gjordes för att säkerställa korrekta fall- och kontrollgrupper utfördes innan mätningen med GlycoCheck i samband med ordinarie undersökningar. Mätningarna med GlycoCheck på

patienterna gjordes av en av studiens författare. Författarna utbildades i hanterandet av GlycoCheck av Dr Hans Vink från GlycoCheck och Dr Helena Strevens. För att bli bättre bekanta med instrumentet gjorde författarna även ett antal testmätningar på varandra veckan innan studiens planerade mätningar påbörjades.

Under mätningen satt de gravida patienterna på en stabil stol med ett bord framför sig. På GlycoChecks prob sattes ett skyddshölje för att skydda instrumentet och undvika smittospridning. När mjukvaran aktiverades lystes probens spets upp med ett blinkande, grönt ljus. Patienten höll själv GlycoChecks prob i munnen under tungan, medan en av författarna ställde in instrumentets fokus. När fokus var korrekt inställt tog mjukvaran bilder, vilket visualiserades genom att den gröna stapeln till höger i bild ökade, se Figur 5. För att stabilisera proben var patientens armbågar placerade på bordet och patienten bet runt probens skyddshölje, se 6.

Då luftbubblor hindrade apparaten från att ta bilder, undveks luftbubblor i så hög grad som möjligt genom att patienten placerade sin tunga på proben. Vid vissa mätningar intogs vatten för att minimera förekomsten av luftbubblor och i de fall där luftbubblor syntes i bild förflyttades proben av patienten. Vid mätningarna på gravida patienter uppfylldes ej de förberedande kriterierna som rekommenderas av tillverkaren.



Figur 5. Användargränssnitt som GlycoCheck B.V. bistår med. Till vänster i bild under *Video Quality* ses parametrarna *Motion*, *Intensity* och *Focus*. När dessa är inom det gröna området tas bilder. Till höger i bild under *Progress* ses en stapel. Ju fler bilder som tas, desto mer av stapeln fylls i med grönt. När hela stapeln är grön är mätningen klar.

För att undersöka huruvida mätresultaten från GlycoCheck påverkas av de förberedande kriterierna utfördes mätningar på rapportens båda författare. Mätningarna utfördes på samma sätt som vid mätningarna på de gravida patienterna. En författare agerade testperson medan den andra författaren ställde in fokus.

Mätningarna på författarna utfördes vid fyra tillfällen; morgon samt eftermiddag under två efterföljande dagar. Vid mät-tillfällena utfördes total 36 mätningar på vardera författare, 18 på morgonen och 18 på eftermiddagen. Under dessa mätningar upplevdes problem med att hålla proben stabil, att luftbubblor fanns i bildområdet och främst svårigheter att ställa in fokus trots en stabil position. För att snabbt ställa in fokus under mätningarna utarbetades efter hand en metod som gav goda resultat. Istället för att ändra inställningarna för fokus vid en statisk position, förflyttades proben aningen. Detta resul-



Figur 6. Under mätningen satt studiedeltagaren ned och höll i apparaten med båda händerna. Proben placerades sublingualt i munnen. För att stabilisera proben stödde studiedeltagaren sina armbågar mot bordet.

terade i att en accepterad fokusnivå snabbt kunde uppnås. Vid mätningarna som utfördes under morgonen uppfylldes samtliga kriterier för optimerade mätresultat vid användandet av GlycoCheck (se Avsnitt II-E). Vid eftermiddagsmätningarna uppfylldes enbart kriterierna gällande frånvaron av alkoholin- tag och fysisk aktivitet.

För att ytterligare testa tillförlitligheten utfördes 12 mätning- ar vardera på respektive författare när proben hölls konstant positionerad i munnen. Mätningarna påbörjades när personen hade proben i munnen och fokus var inställt. Under mätserien behölls proben på samma position i munnen för att mätningen skulle ske på samma blodkärl vid samtliga mätningar. Vid dessa mätningar var inte förberedelsekriterierna uppfyllda. I de fall då författarna har agerat testpersoner benämns dessa som testperson 1 respektive testperson 2 i efterföljande avsnitt.

### C. Statistisk analys

Data från mätningarna gjorda med respektive utan förbere- delsekriterier uppfyllda analyserades med oberoende Student's t-test med hjälp av programvaran IBM SPSS Statistics 25 från IBM Corporation, utifrån nollhypotesen att förberedel- sekriterierna inte hade någon påverkan på mätresultaten. Även mätvärdena från fall-kontrollstudien analyserades med hjälp av oberoende Student's t-test, med nollhypotesen att det inte fanns någon skillnad mellan PBR-värde hos fall respektive kontroll. I båda analyserna användes enstjärnig signifikansnivå ( $P < 0.05$ ). De kontinuerliga mätningarna presenteras med hjälp av deskriptiv statistik. Samtliga grafer gjordes i Microsoft Excel från Microsoft Corporation.

## IV. RESULTAT

### A. Fall-kontrollstudie

För mätresultat vid mätning av PBR samt tidsåtgång för respektive mätning, se Tabell II. Vid den första mätningen på den preeklampiska fallpatienten syntes ett antal luftbubblor till en början. Mätning 2 gick utan anmärkning. Under mätning 3 var antalet luftbubblor stort, vilket förlängde mättiden. Samtli- ga mätningar på den friska, gravida kontrollpatienten gick utan anmärkning. Inga luftbubblor syntes och alla tre mätningar tog

under en minut. Resultatet från den statistiska analysen visas i Tabell III. Ur tabellen kan utläsas att nollhypotesen inte kan förkastas.

Tabell II

RESULTAT FRÅN MÄTNINGARNA MED PREEKLAMPTIKER (FALL) OCH ICKE-PREEKLAMPTIKER (KONTROLL).

|           | Fall                  |         | Kontroll              |         |
|-----------|-----------------------|---------|-----------------------|---------|
|           | PBR ( $\mu\text{m}$ ) | Tid (s) | PBR ( $\mu\text{m}$ ) | Tid (s) |
| Mätning 1 | 2.16                  | 60      | 2.09                  | 30      |
| Mätning 2 | 1.92                  | 30      | 1.94                  | 54      |
| Mätning 3 | 1.93                  | 150     | 1.88                  | 40      |

Tabell III

RESULTAT FRÅN MÄTNINGARNA MED PREEKLAMPTIKER (FALL) OCH ICKE-PREEKLAMPTIKER (KONTROLL). I TABELLEN PRESENTERAS ANTAL MÄTNINGAR (ANTAL), MEDELVÄRDE (MED.), STANDARDAVVIKELSE (STD AV.) SAMT SIGNIFIKANSNIVÅ (SIGN.NIVÅ).

|                           | Fall    | Kontroll |
|---------------------------|---------|----------|
| Antal                     | 3       | 3        |
| Med. ( $\mu\text{m}$ )    | 2.0033  | 1.9700   |
| Std av. ( $\mu\text{m}$ ) | 0.13577 | 0.10817  |
| Sign.nivå                 | 0.756   |          |

### B. Förberedande kriterier

Resultat från den statistiska analysen av mätningar tagna när förberedelsekriterierna var uppfyllda redovisas i kolumnen *Kriterier OK*, se Tabell IV. Resultat från den statistiska analysen av mätningar tagna när kriterierna inte var uppfyllda redovisas i kolumnen *Ej kriterier*. Ur tabellerna kan utläsas att nollhypotesen, att förberedelsekriterierna inte påverkar mätre- sultatet, kan förkastas för testperson 1 men inte för testperson 2. För extra tydlighet visas uppmätta värden även i grafer, se Figur 7 och 8.

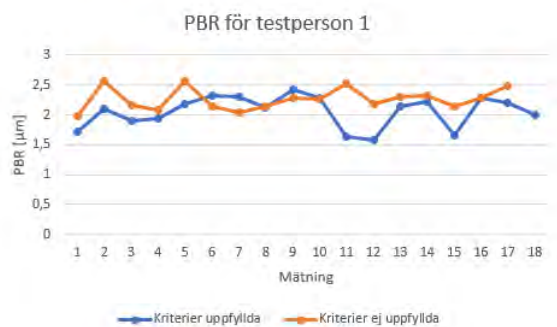
Tabell IV

DATA OCH RESULTAT FRÅN DE TVÅ MÄTNINGARNA MED UPPFYLLDA RESPEKTIVE INTE UPPFYLLDA KRITERIER. I TABELLEN PRESENTERAS ANTAL MÄTNINGAR (ANTAL), MEDELVÄRDE (MED.), STANDARDAVVIKELSE (STD AV.) SAMT SIGNIFIKANSNIVÅ (SIGN.NIVÅ).

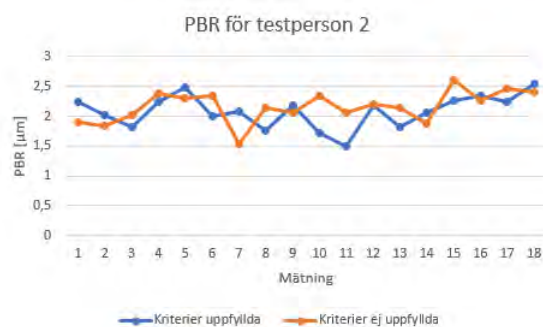
|                           | Testperson 1 |              | Testperson 2 |              |
|---------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|                           | Kriterier OK | Ej kriterier | Kriterier OK | Ej kriterier |
| Antal                     | 18           | 17           | 18           | 18           |
| Med. ( $\mu\text{m}$ )    | 2.0572       | 2.2647       | 2.0850       | 2.1628       |
| Std av. ( $\mu\text{m}$ ) | 0.26198      | 0.18159      | 0.27643      | 0.26189      |
| Sign.nivå                 | 0.011        |              | 0.392        |              |

I Figur 9 visas en boxplot över tidsåtgången vid de mät- ningar då förberedelsekriterierna inverkan på mätresultaten undersöktes. De flesta mätningar tog omkring 1 minut, men ett antal var mer tidskrävande. Detta berodde på svårigheter att ställa in fokus, hålla proben stabilt samt närvaron av luftbubblor.

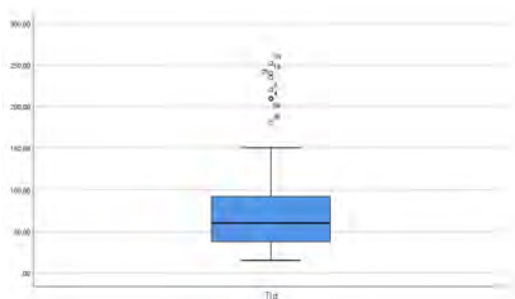
Vid den sista eftermiddagsmätningen för testperson 1 kunde inget mätvärde erhållas då bildens ljusstyrka varierade kraftigt och mjukvaran gav ett felmeddelande (se Figur 10). Därför har testperson 1 endast 35 mätvärden, medan testperson 2 har 36 mätvärden.



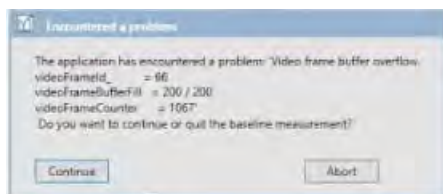
Figur 7. Den blå grafen visar PBR-värden då samtliga förberedelsekriterier är uppfyllda för testperson 1, medan den röda grafen visar motsvarande värden då testpersonen enbart uppfyller kriterierna om pulshöjande fysisk aktivitet och alkohol.



Figur 8. Den blå grafen visar PBR-värden då samtliga förberedelsekriterier är uppfyllda för testperson 2, medan den röda grafen visar motsvarande värden då testpersonen enbart uppfyller kriterierna om pulshöjande fysisk aktivitet och alkohol.



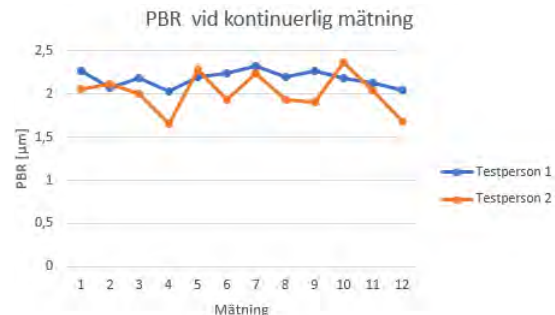
Figur 9. Boxplot över tidsåtgången för respektive mätning då förberedelsekriteriernas betydelse för mätresultatet undersöktes. På y-axeln visas tidsåtgången i antal sekunder.



Figur 10. Felmeddelande som visades vid den sista mätningen för testperson 1 då kriterierna inte var uppfyllda. Mätningen kunde då inte slutföras, vilket resulterade i att testperson 1 fick ett mätvärde mindre än testperson 2.

### C. Kontinuerlig mätning

För att ytterligare undersöka GlycoChecks tillförlitlighet undersöktes mätresultaten då proben hölls i samma position under 12 mätningar i följd, se Figur 11.



Figur 11. Graf över PBR-värdet för respektive testperson när värdet mättes kontinuerligt, utan att ändra probens position i munnen.

## V. DISKUSSION

Av de två testpersonernas resultat förkastades nollhypotesen för testperson 1, medan den inte kunde förkastas för testperson 2. Utifrån studiens resultat kan vi därför inte uttala oss om huruvida GlycoChecks mätresultat påverkas av om förberedelsekriterierna är uppfylllda eller ej. För att göra detta krävs en mer utförlig studie med fler deltagare och mätvärden. Intressant var PBR-värdets signifikanta ökning för testperson 1 då kriterierna inte uppfylldes, samt att PBR-värdet ökade även för testperson 2, om än inte signifikant. Med kort framförhållning inför undersökningen kan det vara svårt för en patient att uppfylla alla de kriterier som rekommenderas av tillverkaren. Innan det kan bli aktuellt att använda GlycoCheck kliniskt för diagnostisering och gradering av preeklampsi är det av stor vikt att veta *hur* avsteg från förberedelsekriterierna eventuellt påverkar mätresultaten. I en större framtida studie skulle detta vara viktigt och intressant att undersöka.

Nollhypotesen från statistiska analysen mellan fall och kontroll kunde inte förkastas då resultatet inte var signifikant. För att potentiellt kunna erhålla ett signifikant resultat krävs fler deltagare, vilket också är utgångspunkten i den kommande studien. Noterbart är dock att resultatet pekar i samma riktning som tidigare forskning av Gandley et al. respektive Weissgerber et al., där den preeklampiska patienten har ett högre genomsnittsvärde på PBR än den icke-preeklampiska patienten.

Ovanstående två analyser genomfördes med oberoende student's t-test, med felkällorna att mätdata inte uppfyller antaganden om oberoende data och slumpmässigt urval. Detta gör att resultatet inte kan generaliseras till en större population.

De kontinuerliga mätningarna visade på svårigheter att åstadkomma repeterbara mätvärden även då mätningarna utfördes på samma område under ett kort tidsintervall. För testperson 1 var mätvärdena relativt jämna, medan testperson 2:s mätvärden fluktuerade runt gränsvärdet 2.00 m. Det går inte med säkerhet att avgöra om respektive testpersons förmåga att hålla proben stabil har haft inverkan på mätresultatens variation, eller om det är ett resultat av mjukvaran.

Tidsmässigt fanns en viss variation mellan mätningarna. Problemfria mätningar tog sällan längre än 1-1,5 minuter, medan svårare mätningar i vissa fall kunde ta upp emot fyra minuter. Detta berodde på svårigheter att hålla proben stabil, luftbubblor i bilden och problem med att ställa in fokus trots en stabil position. När mätningarna drog ut på tiden blev det mer kännbart att ha en proben munnen. Detta skapade ibland frustration som ytterligare ökade på mättiden. Författarnas metod för att snabbt identifiera fokus genom att ändra probens position kan utgöra en felkälla, då det kan ha gjorts att mätningarna utfördes på fel kapillärer. I försök att hitta fokus kan proben tidvis ha riktats uppåt och därmed mätt på tungans blodkärl istället för under tungan, tvärtmot leverantörens anvisningar.

Vid vissa mätningar kunde bilder tas trots att realtidsbilden var påtagligt oskarp eftersom fokusmätaren befann sig inom det accepterade området (se fokusmätaren i Figur 5). Detta var tankeväckande då realtidsbilden såg ut att vara långt ifrån fokuserad. Att det också i vissa positioner var särskilt svårt att ställa in fokus väcker frågor om systemets mjukvara och teknik gällande vad som styr huruvida fokus kan ställas in eller inte. Mjukvaran framstod också i vissa situationer som inte helt färdigtestad. Denna brist framträdde särskilt vid den kontinuerliga mätningen där den sista mätningen inte kunde fullföljas på grund av starkt varierande ljusstyrka. Felmeddelandet som användaren gavs var även svårtolkat då det använde ett språk mer riktat åt mjukvarans utvecklare snarare än dess användare.

Den mest framträdande svårigheten med användandet av GlycoCheck var patientens roll i mätningarna. Om patienten inte kan hålla proben och huvudet stabilt i en statisk position är det svårt och tidskrävande att ställa in fokus, vilket både patient och vårdpersonal förlorar på. För att förenkla mätningen och stabilisera patienten skulle ett stöd att vila huvudet på, liknande ställningen vid optikerundersökning, kunna användas. Detta skulle hjälpa patienten att inte röra på sig under mätningen och därmed öka tillförlitligheten hos mätningen. Analogt skulle proben kunna fästas i en ställning, som både kan verka dynamiskt under identifieringen av en bra mätposition och fixeras när fokus har funnits. Användandet av en ställning skulle även kunna minimera variationen i var proben placeras i munnen.

#### A. Etik

I *Hälso- och sjukvårdslagen (2017:30)* [28] kan läsas att målet för hälso- och sjukvården är att hela befolkningen ska kunna erbjudas en god hälsa och vård på lika villkor. Vissa sjukdomar drabbar specifika delar av befolkningen och för att kunna tillhandahålla god hälsa och likvärdig vård till alla krävs forskning på alla sorters sjukdomar [29].

Historiskt är kvinnor underrepresenterade i forskningsstudier [30], där speciellt gravida fortfarande exkluderas [29]. Exkludering av dessa grupper skapar kunskapsglapp som kan leda till ojämlik vård [29], exempelvis i form av mindre utvecklade diagnostiseringsmetoder och behandlingar. Därför är det både medicinskt och etiskt viktigt att undersöka de möjligheter som finns för att förbättra denna vård.

En anledning till att gravida är underrepresenterade inom forskning är risken att skada fostret [29]. I vår studie sker mätningen icke-invasivt, ljuset som används är icke-joniserande och patienten utsätts inte för ytterligare blodprov eller blodtrycksmätningar än de som ingår i vanlig handläggning och övervakning under graviditeten. Vi anser därför studien vara etisk att utföra både utifrån rätten till likvärdig vård och utifrån skaderisken för gravid och foster.

#### B. Hållbar utveckling

I en hälsoekonomisk utvärdering jämförs hälsoeffekter med dess kostnader för att fördela resurser inom hälso- och sjukvården. Analysen syftar inte till ekonomisk åtdragning, utan att de resurser som finns ska användas på ett sätt så att befolkningen får tillgång till mesta möjliga hälsa [31], det vill säga utveckling mot en mer hållbar användning av resurser.

En globalt växande och åldrande befolkning leder till större påfrestningar på vården [32], där kostnaderna för sjukvården ökar [31]. Genom att optimera valet av tid för förlossning kan komplikationerna med preeklampsi reduceras [33] [34], vilket leder till stora kostnadsbesparingar [2]. En mer kostnadseffektiv vård för preeklampsi kan, förutom att förbättra den obstetriska vården, omfördela resurser till andra delar av verksamheten vilket bidrar till sjukvårdens hållbarhet och allas möjlighet till god hälsa.

### VI. SLUTSATS

Resultatet från fall- och kontrollstudien pekar i samma riktning som tidigare forskning, det vill säga att glykokalyx degraderas vid preeklampsi. Detta resultat är dock inte signifikant, utan fler deltagare krävs för en fullständig analys. Studieresultaten från de kontinuerliga mätningarna visar på svårigheter att åstadkomma repeterbara mätvärden även då mätningarna utförs på samma område under ett kort tidsintervall. Inga slutsatser kan dras om huruvida förberedelsekriterierna uppfylls eller ej påverkar mätvärdena. Dock indikerar våra resultat att PBR-värdet stiger när kriterierna inte är uppfyllda, något som vore intressant att undersöka vidare. Vi vill också lyfta fram patientens del i hur mätningarna utförs och poängtera vikten av att använda ett hjälpmedel för att stabilisera patientens huvud och proben under mätningen.

### VII. EFTERORD

Vi vill tacka vår kliniska vägledare Dr Helena Strevens och vår tekniska handledare Prof. Tomas Jansson för deras stöd i vår önskan att utforma vårt egna projekt, samt för kontinuerlig feedback och diskussion under projektets gång. Vi vill även tacka Dr Sara Progiante och Dr Dag Wide Svensson för gott samarbete på kliniken.

Arbetet har delats lika mellan författarna under hela projektet.

## REFERENSER

- [1] Hansson S R, Dolberg Anderson U, Centrlow M, Olsson M och Åkerström B (2011). Orsaken till preeklampsi på väg att klargöras. *Läkartidningen* 108 (43): 2151-6. [http://www.lakartidningen.se/OldWebArticlePdf/1/17158/LKTI143s2151\\_2156.pdf](http://www.lakartidningen.se/OldWebArticlePdf/1/17158/LKTI143s2151_2156.pdf) [2019-04-04]
- [2] Arbets- och referensgrupp för perinatologi (2014). Preeklampsi. *Svensk Förening för obstetrik och gynekologi* [https://www.sfog.se/natupplaga/ARG72\\_komplett\\_LRbf4f5598-2309-4013-8dea-3cbb534708ee.pdf](https://www.sfog.se/natupplaga/ARG72_komplett_LRbf4f5598-2309-4013-8dea-3cbb534708ee.pdf) [2019-04-03]
- [3] Phipps E, Prasanna D, Brima W, Jim B (2016). Preeclampsia: Updates in Pathogenesis, Definitions, and Guidelines. *Clinical Journal of American Society of Nephrology* 2016 Jun 6; 11(6): 1102–13. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4891761/> [2019-04-01]
- [4] Uzan J, Carbonnel M, Piconne O, Asmar R, Ayoubi J-M (2011). Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management. *Vascular Health and Risk Management* 2011; 7: 467–74. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3148420/> [2019-04-01]
- [5] 207 (2018) *Abstracts/Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health* 13: 50-150
- [6] 210 (2018) *Abstracts/Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health* 13: 50-150
- [7] 253 (2018) *Abstracts/Pregnancy Hypertension: An International Journal of Women's Cardiovascular Health* 13: 50-150
- [8] Weissgerber TL, Garcia-Valencia O, Milic NM, Codi E, Cubro H, Nath MC, White WM, Nath KA och Garovic VD (2019) Early Onset Preeclampsia Is Associated With Glycocalyx Degradation and Reduced Microvascular Perfusion. *Journal of American Heart Association* 8(4): 1-11. <https://doi.org/10.1161/JAHA.118.010647> [2019-04-11]
- [9] Lee HD, Dane MJ, van den Berg BM, Boels GSM, van Teeffelen JW, de Mutsert R, den Heijer M, Rosendaal FR, van der Vlag J, van Zonneveld AJ, Vink H och Rabelink TJ (2014). Deeper Penetration of Erythrocytes into the Endothelial Glycocalyx Is Associated with Impaired Microvascular Perfusion. *PLoS One* 9(5): e96477. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4015985/> [2019-02-21]
- [10] Murphy LS, Wickersham N, McNeil JB, Shaver CM, May AK, Bastarache JA, och Ware LB (2017). Endothelial glycocalyx degradation is more severe in patients with non-pulmonary sepsis compared to pulmonary sepsis and associates with risk of ARDS and other organ dysfunction. *Annals of Intensive Care* 7:102. doi: 10.1186/s13613-017-0325-y [2019-04-11]
- [11] Redman CWG och Sargent IL (2005). Latest Advances in Understanding Preeclampsia. *Science* 308(5728): 1592-4. doi: 10.1126/science.1111726 [2019-04-11]
- [12] Redman CWG och Staff AC (2015). Preeclampsia, biomarkers, syncytiotrophoblast stress, and placental capacity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 213(4):9-12. [https://www.ajog.org/article/S0002-9378\(15\)00854-6/pdf](https://www.ajog.org/article/S0002-9378(15)00854-6/pdf) [2019-04-10]
- [13] Cackovic M, Buhimschi C, Zhao G, Funai EF, Norwitz ER, Kuczynski E, Lockwood CJ och Buhimschi IA (2008). Fractional excretion of tumor necrosis factor-alpha in women with severe preeclampsia. *Obstetrics and gynecology* 112(1):93-100. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18591313> [2019-04-04]
- [14] Conrad KP, Miles TM och Fairchild Benyo D (1998). Circulating Levels of Immunoreactive Cytokines in Women with Preeclampsia. *American Journal of Reproductive Medicine* 40:102-11. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1600-0897.1998.tb00398.x> [2019-04-11]
- [15] Galvis-Ramírez MF, Quintana-Castillo JC och Bueno-Sanchez JC (2018). Novel Insights Into the Role of Glycans in the Pathophysiology of Glomerular Endotheliosis in Preeclampsia. *Frontiers In Physiology* 9:1470. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6206159/> [2019-04-02]
- [16] Singh A, Satchell SC, Neal CR, McKenzie EA, Tooke JE och Mathieson P.W (2007) Glomerular Endothelial Glycocalyx Constitutes a Barrier to Protein Permeability. *Journal of the American Society of Nephrology* 18 (11): 2885-93. <https://jasn.asnjournals.org/content/18/11/2885.long> [2019-04-04]
- [17] GlycoCheck (2017). *Technology*. <http://glycocheck.com/health-score-technology/> [2019-02-21]
- [18] Ince C. (2005). Sidestream dark field imaging: An improved technique to observe sublingual microcirculation. *Critical Care* 9(1):72. <https://doi.org/10.1186/cc3135> [2019-02-21]
- [19] Karolinska Institutet: Svensk MeSH (2019). *Mikrokärl* <https://mesh.kib.ki.se/Mesh/search/?searchterm=mikrok%C3%A4rl> [2019-04-02]
- [20] Goedhart PT, Khalilzada M, Bezemer R, Merza J, Ince C (2007). Sidestream Dark Field (SDF) imaging: A novel stroboscopic LED ring-based imaging modality for clinical assessment of the microcirculation. *Optics Express* 15(23):15101-14. <https://www.osapublishing.org/oe/abstract.cfm?uri=oe-15-23-15101> [2019-04-11]
- [21] Vlahu C A, Lemkes BA, Struijk DG, Koopman MG, Krediet RT och Vink H (2012). Damage of the endothelial glycocalyx in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 23(11): 1900-8. doi: 10.1681/ASN.2011121181 [2019-04-11]
- [22] Martens RJ, Vink H, van Oostenbrugge RJ, Staals J (2013). Sublingual microvascular glycocalyx dimensions in lacunar stroke patients. *Cerebrovasc Dis* 35(5): 451–4. doi: 10.1159/000348854 [2019-04-11]
- [23] Dane MJ, Khairoun M, Lee DH, van den Berg BM, Eskens BJ, Boels MGS, van Teeffelen JWGE, Rops ALWMM, van der Vlag J, van Zonneveld AJ, Reinders MEJ, Vink H och Rabelink TJ (2014). Association of Kidney Function with Changes in the Endothelial Surface Layer. *Clin J Am Soc Nephrol* 9(4): 698-704. doi:10.2215/CJN.08160813 [2019-04-11]
- [24] Mulders TA, Nieuwdorp M, Stroes ES, Vink H, Pinto-Sietsma SJ (2013). Non-invasive assessment of microvascular dysfunction in families with premature coronary artery disease. *Int J Cardiol* 168(5): 5026–8. doi: 10.1016/j.ijcard.2013.07.166 [2019-04-11]
- [25] Donati A, Damiani E, Domizi R, Romano R, Adrario E, Pelaia P, Ince C och Singer M (2013). Alteration of the sublingual microvascular glycocalyx in critically ill patients. *Microvasc Res* 90: 86–9. doi: 10.1016/j.mvr.2013.08.007 [2019-04-11]
- [26] ICH Expert Working Group (1996). ICH Harmonised Tripartite Guideline for Good Clinical Practice E6(R1) *The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH)* [https://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6\\_R1\\_Guideline.pdf](https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Efficacy/E6/E6_R1_Guideline.pdf) [2019-05-17]
- [27] Gidlöf S och Nisell H (2010). ABC om preeklampsi. *Läkartidningen* <http://www.lakartidningen.se/Functions/OldArticleView.aspx?articleId=15751> 107(51-52): 3288-92. [2019-03-15]
- [28] SFS 2017:30. *Hälsö- och sjukvårdslag*. Stockholm: Socialdepartementet [2019-04-09]
- [29] van der Graaf R, van der Zande ISE, den Ruijter HM, Oudijk MA, van Delden JJM, Rengerink KO och Groenwold RHH (2018). Fair inclusion of pregnant women in clinical trials: an integrated scientific and ethical approach. *Trials* 19:78 doi: 10.1186/s13063-017-2402-9 [2019-04-06]
- [30] Liu KA och Dipietro Mager NA (2016). Women's involvement in clinical trials: historical perspective and future implications. *Pharm Pract (Granada)*. 14(1): 708. doi: 10.18549/PharmPract.2016.01.708 [2019-04-06]
- [31] Folkhälsomyndigheten (2019-03-01). *Hälsoekonomiska utvärderingar*. <https://www.folkhalsomyndigheten.se/folkhalsorapportering-statistik/halsoekonomi/halsoekonomiska-utvarderingar/> [2019-04-10]
- [32] Mendelson DN och Schwartz WB (2019). The Effects Of Aging And Population Growth On Health Care Costs. *Health Affairs*. <https://www.healthaffairs.org/doi/pdf/10.1377/hlthaff.12.1.119> [2019-04-08]
- [33] Backes CH, Markham K, Moorehead P, Cordero L, Nankervis CA och Giannone PJ (2011). Maternal Preeclampsia and Neonatal Outcomes. *J Pregnancy*. 2011: 214365. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3087144/> [2019-04-10]
- [34] Minire A, Miron M, Imri V, Lauren M och Aferdita M (2013). Maternal complications of preeclampsia. *Med Arch*. 67(5):339-41. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24601166> [2019-04-10]

**BILAGA A**  
**INFORMATION TILL DELTAGARE I STUDIE OM**  
**PREEKLAMPSI**

*Avseende studien: Påverkan på tjockleken hos endotelceller-glykokalyx vid preeklampsi.*

Preeklampsi kännetecknas av högt blodtryck efter graviditetsvecka 20, som kan åtföljas av proteinuri (äggviteämnen i urinen) och multiorganpåverkan. Sjukdomen ses som en systemisk inflammation som skadar de inre väggarna på blodkärlen. På blodkärlens inre väggar finns glykokalyx, ett lager bestående av kolhydrater. Glykokalyx har tidigare visat sig påverkas av tillstånd som innefattar skada på blodkärlen, men mer information krävs för att undersöka dess koppling till preeklampsi. Trots att preeklampsi är föremål för mycket vetenskaplig forskning, saknas fortfarande effektiva metoder för diagnos och gradering av tillståndet.

Studien omfattar ett (1) besök som tar runt 30 minuter.

Deltagandet är frivilligt och kan när som helst avbrytas utan vidare motivering. Ett eventuellt avbrytande kommer inte att påverka fortsatt utredning eller behandling.

*Vad är syftet med studien?*

Syftet är att studera huruvida en ny teknik för icke-invasiv analys av blodkärlens glykokalyx kan användas för att diagnostisera och gradera preeklampsi. Glykokalyx i blodkärlen kan mätas med hjälp av den medicintekniska apparaten GlycoCheck. I den här studien undersöks om det finns en skillnad av tjockleken i detta lager hos gravida med fastställd preeklampsi jämfört med gravida med en frisk graviditet. För att genomföra studien krävs därför både gravida studiedeltagare med fastställd preeklampsi och gravida studiedeltagare med en frisk graviditet.

*Vad innebär det att delta i studien?*

Om du väljer att delta i studien genomförs en mätning under tungan med apparaten GlycoCheck. Vid mätningen placeras GlycoChecks under tungan, som sedan med hjälp av ljus detekterar de röda blodkropparna i blodkärlen. Mjukvaran i GlycoCheck analyserar sedan den insamlade datan från mätningen och beräknar glykokalyx tjocklek. Mätningen är snabb och smärtfri, men visst obehag kan upplevas från att ha ett föremål i munnen. Inga kända risker finns kopplade till mätningen. Själva mätningen förväntas ta maximalt 20 minuter. Resultatet påverkar inte din eller ditt barns omvårdnad och/eller behandling.

*Kommer ditt deltagande att vara konfidentiellt?*

I studien kommer uppgifter om dig att samlas in och registreras. Dels från våra analyser och dels vissa journaluppgifter. All information kommer att behandlas konfidentiellt och ej åtkomligt för obehöriga i enlighet med de lagar som finns för personuppgiftshandling (GDPR). I forskningsdatabasen sparas ingen information som gör att enskilda individer kan identifieras. Däremot kommer

studieledaren förvara en lista där namn och personnummer kopplas samman med rätt mätvärden. På så sätt kan vi i efterhand, om det blir nödvändigt, säkerställa att den information som finns där är komplett och korrekt.

Listan med kodnyckel kommer att förvaras i ett låst skåp på Kvinnokliniken, SUS, Lund, och kommer endast att vara tillgänglig för de forskningsansvariga. Data som kommer att presenteras offentligt blir avidentifierade och skall alltså inte kunna kopplas till någon specifik individ.

Enligt personuppgiftslagen PuL §26 har du rätt att begära ut information om vilka uppgifter som finns om dig och ditt barn i forskningsregistret. Du skickar då in en ansökan till: Personuppgiftsombudet, Region Skåne, 291 89, Kristianstad. Är du blir missnöjd med hur dina personuppgifter hanteras kan du lämna in klagomål till Datainspektionen, som är tillsynsmyndighet. Du kan också kontakta Dataskyddsombudet i Region Skåne (044-3093000).

Under studien omfattas du av sjukvårdens patientförsäkring. Ingen ersättning utgår.

För ytterligare frågor om studien vänligen kontakta:

**Sara Helena Progiante**

Underläkare, Kvinnokliniken Lund

Skånes Universitetssjukhus

Telefon: +46 768 67 69 55

E-mail: sara.progiante@skane.se

**Helena Strevens**

Överläkare, Kvinnokliniken Lund

Skånes Universitetssjukhus

Telefon: +46 46 17 25 44

E-mail: helena.strevens@med.lu.se

Avseende studien: "Påverkan på tjockleken hos endotelcellernas glykokalyx vid preeklampsi".

Jag har tagit del av denna information och förklara mig härmed villig att delta i studien.

.....  
 (Ort, datum)

.....  
 (Underskrift, namnförtydligande)

Undertecknad studieledare har förklarat studien för ovanstående studiedeltagare.

.....  
 (Ort, datum)

.....  
 (Underskrift, namnförtydligande)