

Разработка системы для регистрации ЭКГ грызунов с применением технологии сухих электродов без фиксации и введения в медикаментозный сон

Д. С. Шевченко¹, Д. А. Егоров²
Санкт-Петербургский государственный
электротехнический университет
«ЛЭТИ» им. В.И. Ульянова (Ленина)

¹ dsshevchenko@etu.ru, ² staer39@gmail.com,

Д. Ю. Ивкин

ФГБОУ ВО СПХФА Минздрава России
dmitry.ivkin@pharminnotech.com

Аннотация. Главная проблема при проведении ЭКГ лабораторных крыс – это стрессовая реакция грызуна на саму попытку исследования. Поэтому обычно для уменьшения количества помех запись ЭКГ проводят под наркозом, что, в свою очередь, снижает достоверность экспериментальных данных. В данной статье мы предлагаем систему, которая позволит регистрировать ЭКГ грызунов без погружения в медикаментозный сон и при этом подвергая их минимальному стрессу.

Ключевые слова: электрокардиограмма; сухие электроды; интерфейсная микросхема; ветеринария; неинвазивные исследования

I. ВВЕДЕНИЕ

Одним из самых распространенных диагностических методов состояния сердечно-сосудистой системы является метод электрокардиографии. Причем электрокардиография нашла распространение не только в классической клинической медицине, но и в ветеринарии, а также в экспериментальной фармакологии – доклинических исследованиях с использованием подопытных животных. Ввиду принципиальной схожести между характеристиками ЭКГ крысы и человека, во многих случаях становится целесообразным использование зарегистрированных данных крыс в качестве данных для моделирования сердечно-сосудистых заболеваний человека и фармакологических испытаний оригинальных или воспроизведенных препаратов. ЭКГ является неотъемлемой частью исследования фармакологической безопасности.

Существует некоторый ряд методик регистрации ЭКГ грызунов, но наиболее часто используется инвазивный метод. Суть метода заключается в погружении испытуемого в наркоз или введении обезболивающего и размещении электродов под кожей животного или непосредственно в мышечной ткани. Однако к недостаткам данного метода можно отнести высокую вероятность различных осложнений (заражения, травмы и

т. д.) и высокое стрессовое воздействие на подопытное животное. Кроме того, анестетики оказывают прямое влияние на результаты исследования.

Также инвазивный метод может повлечь за собой летальный исход животного, а это, в свою очередь, ресурсозатратно и может накладывать ограничения на исследования и наблюдения конкретных особей во времени.

Использование датчиков типа «крокодил» вместо игл также стрессует животное и требует фиксации, что само по себе приводит к изменению характера ЭКГ (например, увеличение ЧСС в ответ на продукцию гормонов надпочечников).

Исходя из фактов, описанных ранее, целесообразно разработать систему, позволяющую вести запись ЭКГ крыс без использования анестетиков. Для достижения простоты и практичности процесса регистрации электрической активности сердца можно использовать технологию сухих электродов.

II. ЭКГ КРЫСЫ И ЧЕЛОВЕКА

ЭКГ человека и крысы очень схожи, но имеются и различия. Наглядно продемонстрируем различия между сигналом ЭКГ человека и крысы. Различия комплексов ЭКГ человека и крысы представлены в таблице 1.

Наиболее часто встречаемы различия сигналов ЭКГ:

- Зубец S во втором отведении встречается в 10,2 %, а в третьем – в 37,5 % случаев. Интервал ST у белых крыс отсутствует, и если на электрокардиограмме отмечается зубец S, то он сразу же переходит в зубец T, образуя соединение ST, поэтому удобнее анализировать зубец T и интервал QT, а не сегмент ST.
- У крыс длительность этого QT-сегмента в среднем составляет 0,05–0,07 с, а у человека длительность не превышает 0,44 с.

- Интервал PR, также называемый интервалом PQ, поскольку зубец Q не всегда присутствует, отражает распространение деполяризации от предсердий к желудочкам сердца.

ТАБЛИЦА I СРАВНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭКГ ЧЕЛОВЕКА И КРЫСЫ

Измеряемый показатель	Объект исследования	
	Человек	Крыса
ЧСС, уд/мин	60-90	300-500
P, mV	<0.2	0.1-0.35
P, sec	0.07-0.11	0.01-0.02
PQ, sec	0.12-0.21	0.04-0.05
RS, sec	0.06-0.11	0.01-0.025
R, mV	0.6-2.6	0.3-0.8
T, mV	0.1-0.4	0.3-0.7
QT, sec	<0.44	0.05-0.07

Также очевидно, что крысы имеют более высокую частоту СС, а это влияет на параметры регистрации сигнала ЭКГ. Если для регистрации ЭКГ человека используется частота дискретизации от 250 до 500 Гц (максимальная частота ЭКГ до 125 Гц), то для корректной оцифровки ЭКГ грызунов частота дискретизации должна быть не менее 1000 Гц (1 кГц). Данное условие накладывает некоторое ограничение на разрабатываемую систему и требует подбор соответствующего способа регистрации.

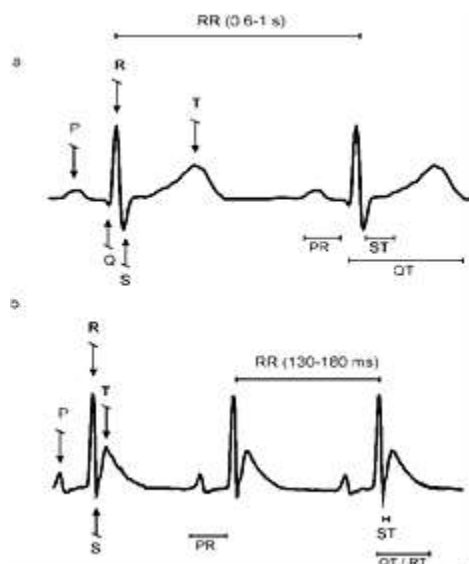


Рис. 1. Запись ЭКГ человека (а) и крысы (б), II-е отведение

III. АПАРАТНАЯ РЕАЛИЗАЦИЯ УСТРОЙСТВА

Опираясь на различия кардиосигналов крысы и человека, стоит рассмотреть два возможных концепта прибора для регистрации электрической активности сердца у крыс:

Реализация прибора на основе аналоговой интерфейсной микросхемы (AFE). Использование AFE позволяет реализовывать более тонкую настройку канала

регистрации и получить более комплементарный (согласованный) прибор. Также использование AFE позволит перенести часть обработки сигнала из цифровой области в аналоговую, что позволит частично «разгрузить» микроконтроллер. В таком случае прибор будет иметь структурную схему, изображенную на рис. 2.

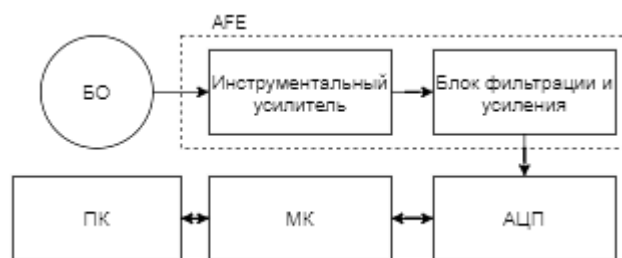


Рис. 2. Структурная схема прибора на основе AFE

При такой структурной схеме прибор работает как классический компьютерный электрокардиограф, но с интегрированным каналом регистрации ЭКГ. При этом большая часть обработки перенесена в аналоговую область и не требует высокопроизводительной цифровой части.

В качестве примера AFE может быть использована AD8232. AD8232 – аналоговая интерфейсная микросхема, предназначенная для извлечения, усиления и фильтрации небольших биопотенциальных сигналов. Особенностью данной микросхемы является наличие транскондуктивного инструментального усилителя (ИУ), который обеспечивает высокое подавление синфазного сигнала и встроенный блок фильтрации и усиления (БФУ) позволяет регулировать частотный диапазон фильтров, при этом не занимает дополнительного места на плате.

Другая концепция для регистрации ЭКГ основана на применении модели на основе сигма-дельта АЦП. Отличительной особенностью сигма-дельта АЦП, является возможность повышения разрешающей способности (от 12 до 32 бит). Кроме того, повышение разрядности АЦП позволяет использовать меньшее усиление и приводит к уменьшению погрешности усиления, которая связана с небесконечностью коэффициента усиления. Также стоит отметить, что сигма-дельта АЦП работает в режиме избыточной дискретизации, что позволяет получить более высокое соотношение сигнал/шум (SNR) в заданной полосе пропускания. Избыточная дискретизация имеет дополнительный плюс, понижая требования к ФНЧ, применяемому для подавления эффекта наложения спектра. И, как правило, сигма-дельта АЦП практически не имеет внешних элементов, что позволяет сохранить место на плате, а также снизить уровень шумов и влияние помех.

Но сигма-дельта АЦП обладают двумя серьезными недостатками: высокая цена и более сложное проектирование программного обеспечения системы, как на уровне прибора, так и на уровне ПК.



Рис. 3. Структурная схема прибора на основе сигма-дельта АЦП

При такой структуре прибора вся обработка приходится на цифровую часть, но при этом занимает мало места на плате и позволяет проводить свободную настройку канала регистрации. Также потребуется МК с большей вычислительной мощностью.

Для реализации подобной структуры может быть использован сигма-дельта АЦП ADS1220, максимальная частота дискретизации которого достигает 2кГц, что более чем в два раза превышает необходимый частотный диапазон для регистрации ЭКГ крысы. Также он имеет встроенный программируемый усилитель (PGA), что позволяет обойтись без аналоговой части.

IV. ВЫВОДЫ

Учитывая влияние стресса, который испытывают подопытные животные во время исследований, было предложено использовать рестрейнер «норного» типа. Данный универсальный рестрейнер (УР К-1) имеет в себе интегрированные сменные сухие электроды, которые позволяют регистрировать сигнал ЭКГ, снимая его с подушечек лап. При данной конструкции рекомендуется опорный электрод фиксировать на хвосте крысы с помощью специальной клипсы. Также в данном варианте возможно размещение пульсоксиметрического датчика на хвосте.



Рис. 4. Универсальный рестрейнер для крыс

Результатом данного исследования является разработка двух концепций устройств, предназначенных для регистрации ЭКГ у грызунов, в частности крыс, а также специального удерживающего устройства. Эти концепции будут доработаны и реализованы в виде первых прототипов. Дополнительные планы на будущие исследования включают в себя добавление канала ФПГ для неинвазивного измерения давления и доработка методики для использования хвоста крысы в качестве RLD (активной земли). В дальнейшей перспективе возможно создание прототипов устройств, в которых животные будут находиться в свободном перемещении по клетке, в дно которой коаптированы последовательности электродов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Sato S. Multi-dry-electrode plate sensor for non-invasive electrocardiogram and heart rate monitoring for the assessment of drug responses in freely behaving mice // Journal of pharmacological and toxicological methods. 2019. T. 97. C. 29-35.
- [2] Konopelski P., Ufnal M. Electrocardiography in rats: a comparison to human // Physiological Research. 2016. T. 65. №. 5. C. 3-5.
- [3] Salazar B.H. et al. Noninvasive measurement of EKG properties of 3D artificial heart muscle // AIMS Cell and Tissue Engineering. 2017. T. 1. №. 1. C. 12-30.
- [4] Sanotskiy I.V., Methods for determining the toxicity and hazard of chemical substances. Ripol Classic, 2013. S. 6-12.
- [5] Boukens B.J. et al. Misinterpretation of the mouse ECG: 'musing the waves of Mus musculus' // The Journal of physiology. 2014. T. 592. №. 21. C. 4613-4626.