

УДК 004.9:615.076.9

Д. В. Королев, С. М. Минасян, М. М. Галагудза

ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ УСТАНОВКА ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ ПОВЕРХНОСТНОЙ ЭЛЕКТРОГРАММЫ ИЗОЛИРОВАННОГО СЕРДЦА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Ключевые слова: поверхностная электрограмма, изолированное сердце, медицинская лабораторная установка.
Key words: surface electrogram, isolated heart, medical laboratory equipment.

Регистрация поверхностной электрограммы изолированного сердца лабораторных животных дополняет картину исследований по методу Лангендорфа. Авторами разработана исследовательская установка для регистрации такой электрограммы, предложен кардиосенсор, разработаны электронная схема и программный продукт. Предложенная установка успешно используется в научных организациях.

Введение

Электрограмма изолированного сердца позволяет достоверно судить о частоте сердечных сокращений, возникновении и характере нарушений ритма, а также о наличии или отсутствии электрической активности сердца. Это дает возможность проводить исследования антиаритмической эффективности различных субстанций и тестирование наличия проаритмической активности лекарственных средств, контролировать наступление полной остановки сердца при выполнении различных вариантов кардиоплегии, а также в сочетании с регистрацией механической функции левого желудочка верифицировать возникновение электромеханической диссоциации, используя все достоинства методики перфузии изолированного сердца.

В настоящее время известно несколько установок, позволяющих получать электрограмму изолированного сердца лабораторных организмов.

Известен способ регистрации механической работы изолированного сердца лягушки [1], при котором используют реографическую установку «Респектр». Один электрод помещают на изучаемую область сердца, а второй — в раствор Рингера, окружающий сердце. Установка, подключенная к персональному компьютеру, регистрирует импеданс и сигнал ЭКГ. Однако недостатком такого из-

мерения является применение в качестве рабочего электрода металлической пластины, которая в ряде случаев может осуществлять переменный по поверхности контакт с исследуемым объектом. Помимо этого, прибор, используемый для регистрации, предназначен для измерения биопотенциалов человека, существенно отличающихся по амплитуде от биопотенциалов изолированных органов мелких животных. Оба недостатка могут привести к значительному искажению исследуемых сигналов.

Известен принцип микроэлектродной регистрации работы изолированного сердца у рыб [2], при котором по общей схеме электрод—усилитель—АЦП—компьютер используются также два электрода: индифферентный помещают в раствор Рингера, а активный игольчатый микроэлектрод погружают в ткань миокарда рыбы. Недостатком такого принципа регистрации является то, что игольчатые электроды могут травмировать ткань и вследствие этого искажать картину опыта.

Компания AD Instruments выпускает пружинные электроды-зажимы для регистрации биопотенциалов изолированного сердца на установке перфузии изолированного сердца по Лангендорфу [3]. Такие электроды также имеют ряд отличий от предлагаемых — они выполнены в виде зажимов, которые могут травмировать ткани и приводить к искаженной картине опыта.

Конструкция установки и сенсора

Установка выполнена в виде приставки к установке перфузии изолированного сердца по Лангендорфу [4, 5] (рис. 1). Сигнал электрической активности изолированного сердца снимается с объекта измерения при помощи двух электродов: минусового (референтного) и плюсового (кардиосенсора). Референтный электрод выполнен в виде зажима, прикрепляемого к металлической аортальной канюле.

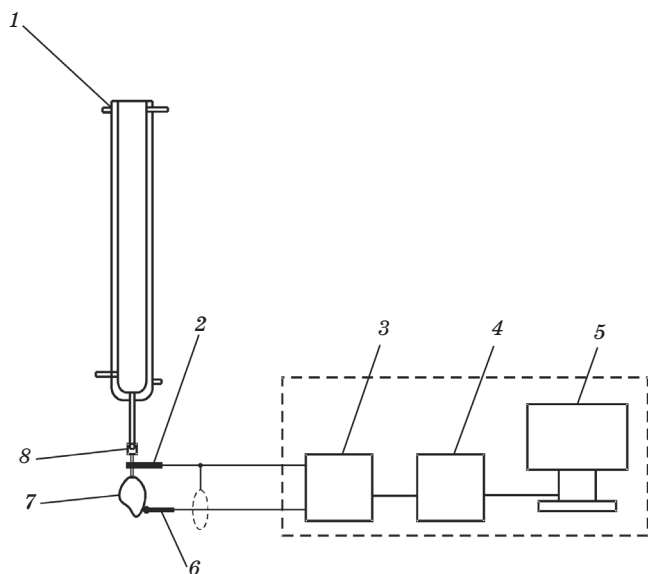


Рис. 1 Установка в сборе:
1 — перфузионная колонка; 2 — зажим минусового (референтного) электрода; 3 — блок усиления и фильтрации сигнала; 4 — аналого-цифровой преобразователь; 5 — персональный либо мобильный компьютер; 6 — плюсовой электрод (кардиосенсор); 7 — объект исследования (изолированное сердце); 8 — канюля аортальная

Кардиосенсор выполнен из медного проводника с шариком на конце (рис. 2). Для регистрации сигнала электрической активности шарик кардиосенсора вводится в контакт с поверхностью сердца в области верхушки изолированного сердца. Делается это, как правило, при помощи штатива с горизонтальной микроподачей.

Блок усиления и фильтрации сигнала

Перед оцифровкой на аналого-цифровом преобразователе сигнал электрической активности с электродов усиливается и фильтруется.

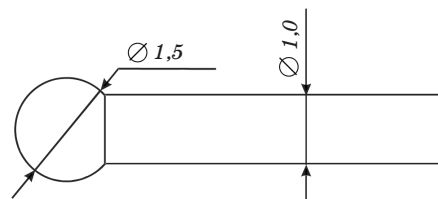


Рис. 2 Конструкция кардиосенсора

Для усиления биопотенциала использована классическая схема на базе инструментального усилителя фирмы Analog Devices, из которой исключен усилитель обратной связи, применяемый, как правило, для подавления синфазного сигнала [6].

Для фильтрации сигнала использована предварительно рассчитанная и опробованная схема [7].

Суммарное усиление схемы нормировано на работу с биопотенциалом изолированного сердца крысы.

Принципиальная схема устройства показана на рис. 3.

Блок обеспечивает следующие параметры:

- усиление инструментального каскада $G_1 = 50$;
- усиление фильтрующего каскада $G_2 = 21$;
- полоса пропускания фильтра $F = 0,25 \div 1508$ Гц;
- суммарное усиление блока $G = 1050$;
- пределы измерения биопотенциала ± 5 мВ.

Формула для пересчета отсчетов 14-разрядного биполярного АЦП (X) в единицы напряжения (потенциала):

$$U [\text{мВ}] = X \times 10 [\text{В}] \times 1000 / (4096 \times 1050) = X \times 0,00232515.$$

Значения коэффициентов для программы PhysExp:

$$A = 0, B = 0,00116257.$$

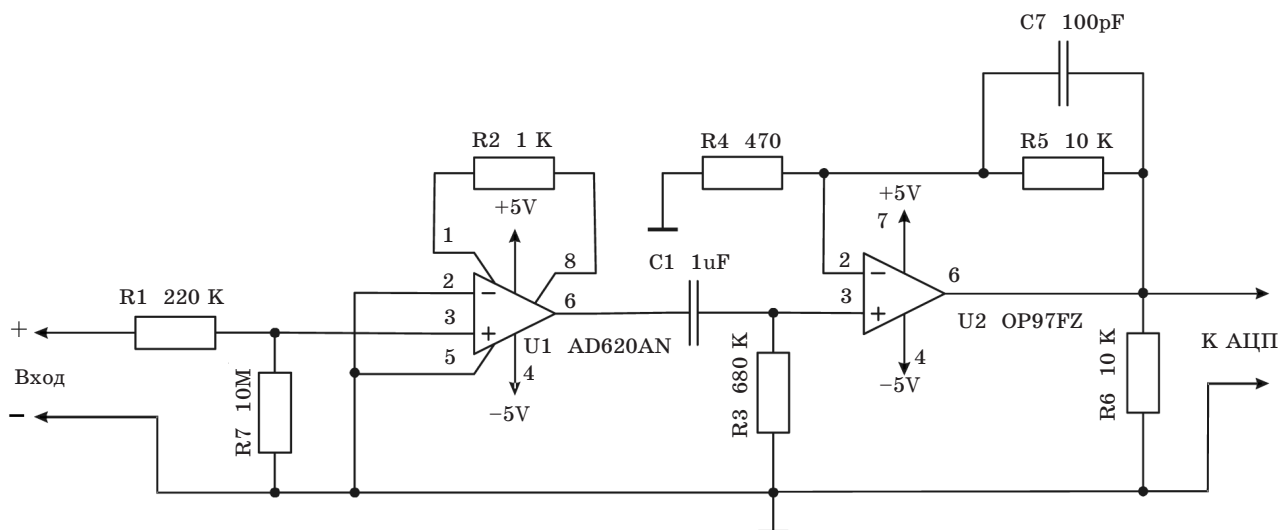


Рис. 3 Принципиальная схема блока усиления и фильтрации сигнала

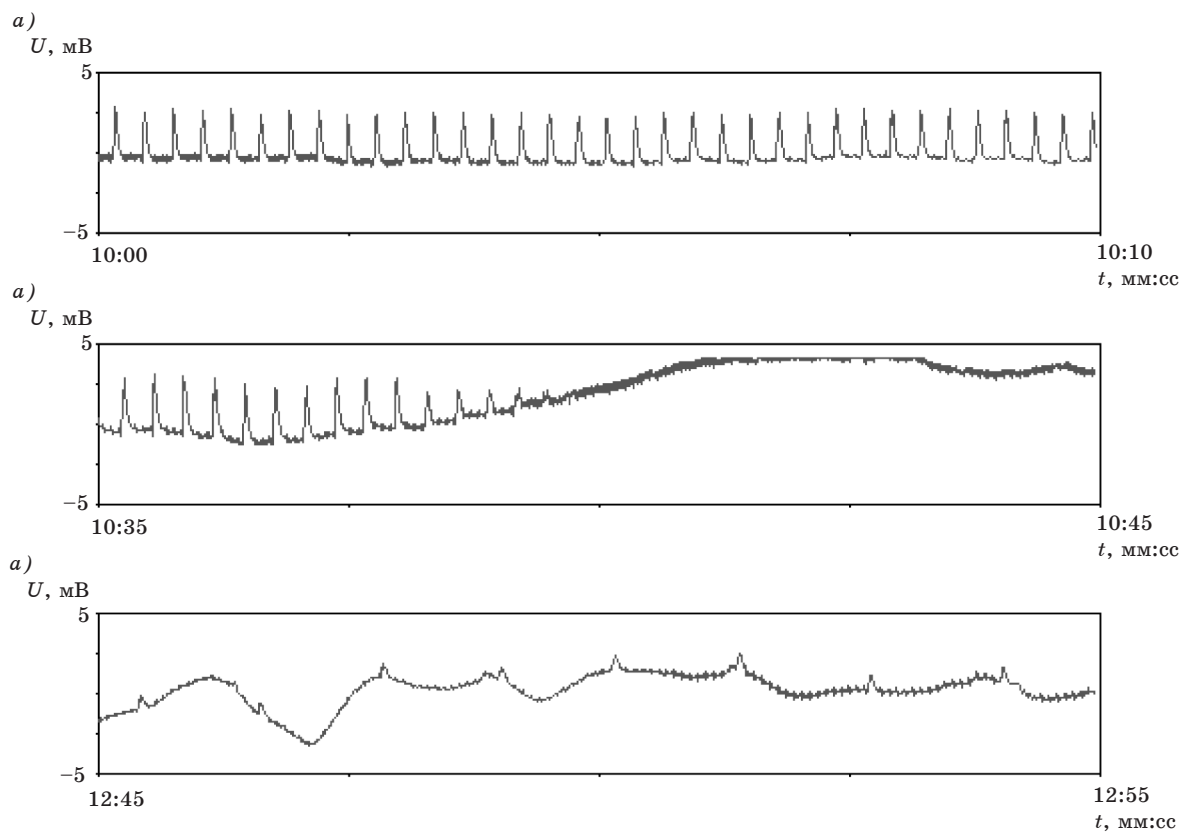


Рис. 4 Электrogramма изолированного сердца: а — в норме; б — остановка сердца вследствие воздействия кардиоплегического раствора с содержанием ионов калия 10 ммоль/л; в — восстановление электрической активности сердца после промывки перфузионным раствором

Оцифровка сигнала

Оцифровка сигнала проводилась при помощи псевдодифференциального одноканального 12-разрядного аналого-цифрового преобразователя MCP3201 фирмы Microchip, управляемого запрограммированным определенным образом [8] микроконтроллером ATmega8535 фирмы Atmel. Оцифрованный сигнал поступал на персональный компьютер по последовательному интерфейсу.

Регистрация биопотенциалов

Электrogramма изолированного сердца, полученная при помощи описанной установки, показана на рис. 4.

Для регистрации электрограммы на компьютере использованы программа PhysExp [9, 10] и ее модификация, предназначенная для обработки кардиосигнала PhysExp Cardio.

Выделение комплекса QRS и расчет R—R-интервала

Выделение комплекса QRS условно можно разделить на подготовку сигнала и его анализ.

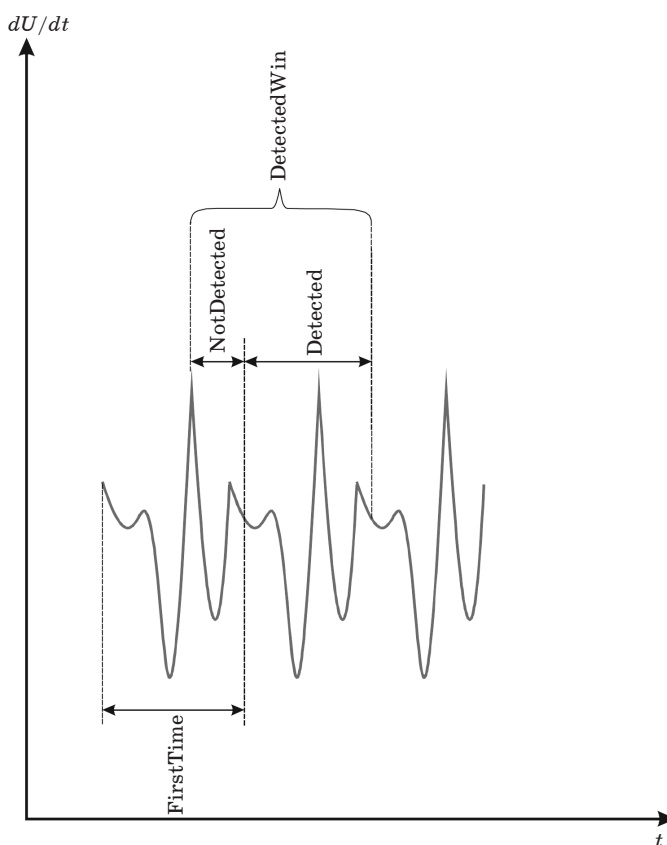


Рис. 5 К пояснению алгоритма выделения комплекса QRS

Анализ кардиосигнала, как правило, проводят по его производной. Однако перед тем как проводить дифференцирование, необходима фильтрация. Опытным путем установлено, что наилучшие результаты дает следующий порядок действий при подготовке сигнала:

- фильтрация по Гауссу;
- численное дифференцирование по пяти точкам;
- фильтрация скользящим средним.

Для анализа кардиосигнала сначала необходимо выделить первый комплекс QRS, от которого будет отталкиваться дальнейший порядок действий. Для этого задается некоторое значение ширины окна FirstTime, в котором находится вершина комплекса QRS, путем поиска максимума сигнала.

Дальнейший алгоритм анализа также оконный. Причем каждое следующее окно начинается сразу за вершиной предыдущего комплекса QRS (рис. 5). Окно выделения комплекса QRS (DetectedWin) состоит из зоны нечувствительности (NotDetected) и зоны поиска (Detected). Анализ сигнала ведется только в зоне Detected путем поиска максимального

значения сигнала, которое соответствует вершине комплекса QRS. Далее алгоритм повторяется.

Пример обработки электрограммы изолированного сердца, приведенной на рис. 4, а показан на рис. 6, б. В данном примере вначале регистрировали исходную электрограмму изолированного сердца крысы, перфузируемого по Лангендорфу, — через 10 мин после начала перфузии. На электрограмме видны регулярные, одинаковые по амплитуде комплексы. При обработке сигнала получено значение интервала RR = 286 мс, частота сердечных сокращений — 210 уд./мин. После завершения периода стабилизации в сердце через коронарные сосуды под давлением 80 мм рт. ст. подали охлажденный до +4 °С кардиоплегический раствор «Кустодиол». На рис. 4, б видно, что после начала поступления раствора в миокард практически мгновенно происходит снижение амплитуды пиков электрограммы и в течение 1,2 с полностью прекращается генерация электрического сигнала. Сердце находилось в остановленном состоянии в течение 10 мин, после чего к нему была возобновлена подача перфузата (буфера Кребса—Хенселейта). На рис. 4, в видно,

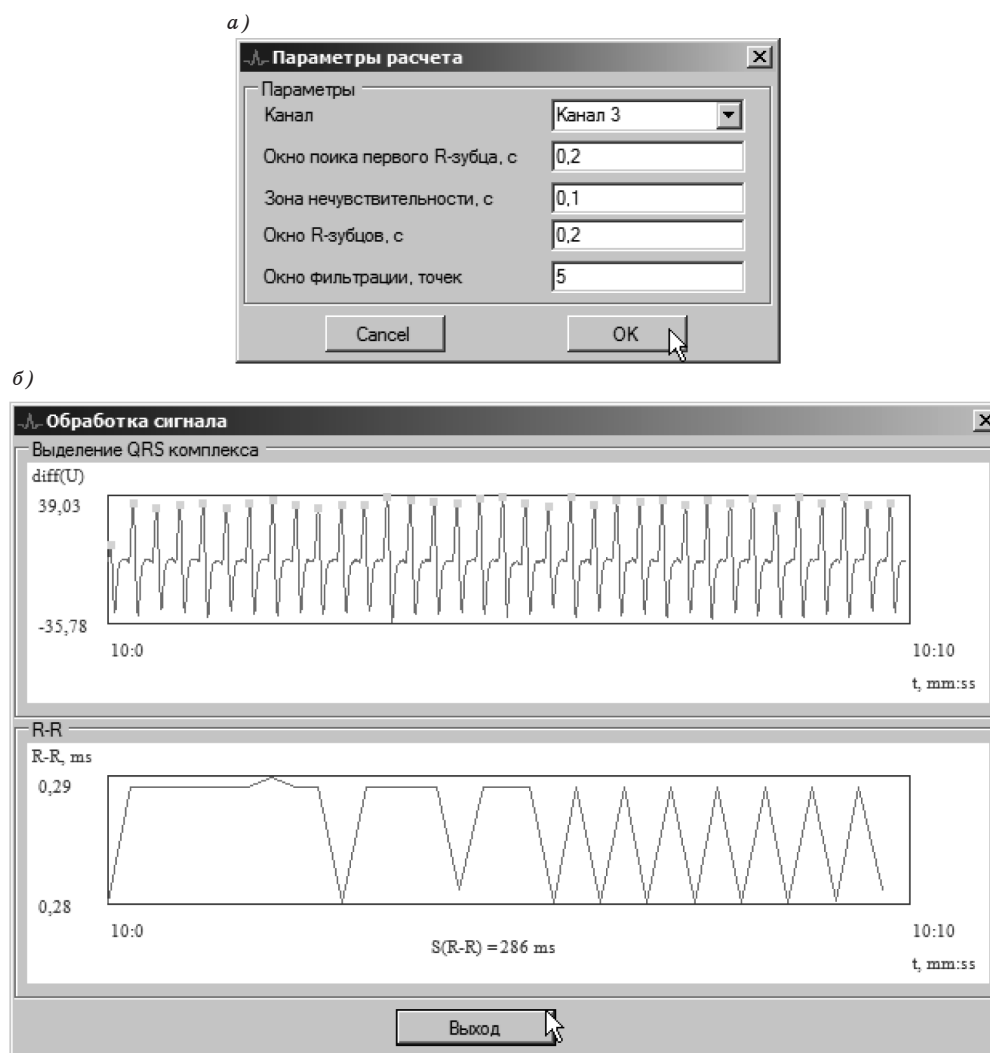


Рис. 6 | Обработка электрограммы, выделение QRS-комплекса и расчет R—R-интервала в программе PhysExp Cardio: а — параметры расчета; б — результаты

что в первые несколько секунд после подачи перфузата появляются низкоамплитудные пики, следующие с частотой 48 уд./мин. Параметры обработки электрограммы указаны на рис. 6, а.

Выводы

Описанная установка и методика воплощены в готовый продукт [11] и успешно используются в ряде исследовательских и образовательных организаций медицинского профиля.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-15-00473).

Литература

1. Пат. на изобретение № 2478871 РФ. Способ регистрации механической работы изолированного сердца лягушки / Д. В. Сосин, В. А. Правдивцев, А. В. Евсеев. Оpubл. 20.04.2013.
2. Сухова Г. С., Абрамочкин Д. В., Кузьмин В. С. К вопросу о практикуме по физиологии животных на ББС им. Перцова, 2009 (http://wsbs-msu.ru/res/DOC134/prak_fiziologov2009.pdf)
3. <http://www.adinstruments.com/products/MLA1214>
4. Пат. на изобретение № 2491963 РФ. Установка для перфузии изолированного сердца по Лангендорфу / Д. В. Королев, М. М. Галагудза, В. Б. Осташев [и др.]. Оpubл. 10.09.2013.
5. Методика перфузии изолированного сердца крысы / С. М. Минасян, М. М. Галагудза, Д. Л. Сонин и др. // Региональное кровообращение и микроциркуляция. 2009. № 4 (32). С. 54–59.
6. Компани-Бош Э., Хартманн Э. Электрокардиограф на базе микроконвертора // Мир электронных компонентов. 2005. № 2. С. 14–20.
7. ICs for Low Power, Low Cost Holter Monitors Support Standard Wireless Bands // Medical Design Technology. Jul-Aug. 2008. Vol. 12, is. 7. P. 3.
8. Королев Д. В. Осташев В. Б. Программа приемопередачи данных для аналого-цифрового преобразователя на микроконтроллере ATmega8535 (inMega): Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 2011614245. Информационный бюллетень официальной регистрации Рос АПО. 2011.
9. Регистрация гемодинамических показателей физиологического эксперимента (PhysExp X4) / Д. В. Королев, М. М. Галагудза, В. Б. Осташев, И. В. Александров // Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 2011612681. Информационный бюллетень официальной регистрации Рос АПО. 2011.
10. Автоматизация получения и обработки данных физиологического эксперимента/Королев Д. В., Александров И. В., Галагудза М. М. и др.//Региональное кровообращение и микроциркуляция. 2008. № 2 (26). С. 79–84.
11. Пат. на полезную модель № 140739. Установка для регистрации поверхностной электрограммы изолированного сердца лабораторных животных / Д. В. Королев, М. М. Галагудза, С. М. Минасян. Оpubл. 20.05.2014.