



Système électro-optique pour l'optogénétique cardiaque et l'enregistrement d'ECG

Mémoire

Léonard L. Gagnon

Maîtrise en génie électrique - avec mémoire
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

Système électro-optique pour l'optogénétique cardiaque et l'enregistrement d'ECG

Mémoire

Léonard L. Gagnon

Sous la direction de:

Benoit Gosselin, directeur de recherche

Résumé

Depuis quelques temps, l'optogénétique est utilisée en recherche pour remplacer la stimulation électrique de neurones par la photo-stimulation. Des scientifiques cherchent désormais à étendre l'optogénétique à la recherche sur le coeur. Plusieurs ont prouvés la possibilité de contrôler les battements cardiaques à l'aide de lumière en laboratoire sur des rongeurs. Les expérimentations effectuées sur le coeur jusqu'à maintenant reposent sur des systèmes filaires et encombrants qui permettent la mesure de l'électrocardiogramme (ECG) à l'aide d'électrode et la photo-stimulation à l'aide d'une fibre optique. Ces systèmes augmentent le stress chez les animaux de laboratoire ce qui peut induire des erreurs dans les mesures. Ce mémoire décrit la conception d'un système répondant à cette problématique. Le système développé permet la photo-stimulation cardiaque et l'enregistrement d'ECG sans-fil à l'aide d'un implant et d'un circuit basse consommation, le tout alimenté par batterie. Étant donné la présence d'artefact de mouvement dans les ECG mesurés lors de tests préliminaires, le système comporte aussi un algorithme de filtrage des artefacts en temps réel. Finalement, le fonctionnement du prototype est démontré par différents tests in-vivo.

Abstract

In the past few years, optogenetics was used in research to replace electrical stimulation of neurons by photo-stimulation. Scientists now search a way to extend optogenetics to cardiac research. Many were able to control the heartbeat of rodents using light. These experiments were conducted using wired and cumbersome equipments with electrocardiogram (ECG) recording using electrodes and photo-stimulation using optical fibers. These systems increase tests subjects stress which can induce measurements errors. This master's thesis describes the design of a device answering this problem. The developed system enables cardiac photo-stimulation and ECG recording wirelessly with an implant and a low power electronic circuit. The device also includes a real-time algorithm to reduce motion artifacts shown in preliminary testing. Finally, the operation of the prototype is demonstrated during in-vivo experiments.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Table des matières	v
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	viii
Remerciements	x
Avant-propos	xi
Introduction	1
1 Revue de littérature	5
1.1 Optogénétique	5
1.2 Électrocardiographie	7
1.3 Bibliographie	16
2 A Wireless System for Combined Heart Optogenetics and Electrocardiography Recording	19
2.1 Résumé	19
2.2 Abstract	19
2.3 Introduction	20
2.4 System Overview	21
2.5 System Design	22
2.6 Measured Performance	25
2.7 <i>In-Vivo</i> Trials	26
2.8 Conclusion	27
2.9 Bibliographie	28
2.10 Copyright notice	29
3 Réduction des artefacts	30
3.1 Sélection de la technique de filtrage	30
3.2 Implémentation des algorithmes	30
3.3 Critères de performance	32
3.4 Simulations	32

3.5	Acquisition de signaux biologiques	34
3.6	Essais avec les différents algorithmes	37
3.7	Discussion	40
3.8	Bibliographie	40
4	Electro-Optic System for Cardiac Optogenetics and ECG Recording with Real-Time Motion Artifacts Removal	41
4.1	Résumé	41
4.2	Abstract	41
4.3	Introduction	42
4.4	System Overview	43
4.5	System Design	44
4.6	Software	46
4.7	Evaluation Platform	51
4.8	Experiments	52
4.9	Conclusion	56
4.10	Bibliographie	56
	Conclusion	58

Liste des tableaux

1.1	Comparaison entre le filtrage adaptatif et l'ICA.	9
1.2	Comparaison des algorithmes de détection QRS.	14
2.1	System characteristics and measured performance.	26
3.1	Rapports signal à artefact des différents algorithmes en simulation.	34
3.2	Rapports signal à artefact moyen et écart types des différents algorithmes.	37
4.1	System characteristics and measured performance.	52
4.2	Average SAR and corresponding STD for the algorithms on five different acquisitions.	54

Liste des figures

0.1	Système filaire typique sur la gauche et système sans-fil sur la droite [2].	2
0.2	ECG d'une souris avec présence d'un artefact.	3
1.1	Schéma d'un filtre adaptatif [11].	7
1.2	Schéma du système de Kim et al [13].	10
1.3	Schéma du circuit de mesure de Kim et al [12].	11
1.4	Signal ECG avec ses caractéristiques importantes [26].	11
1.5	Comparaison entre l'ECG d'un humain et d'une souris [27].	12
1.6	Signal ECG (haut) et sortie (bas) de l'algorithme de [28].	13
1.7	Schéma en bloc du circuit d'acquisition de Yazicioglu et al. [31].	14
1.8	(a) Photo de l'implant et (b) position de l'implant dans le corps d'une souris [34].	15
1.9	Système G2 HR E-Mitter de Starr Life Sciences Corp. [35].	15
2.1	A prototype of the proposed system installed on the back of a transgenic mouse.	21
2.2	Block diagram of the proposed system.	22
2.3	Main components of the proposed optogenetic/ECG recording system : (a) Main circuit board including all electronic parts and flexible band with implant, (b) implant with gold-plated electrodes and (c) side-view of the implant.	24
2.4	(a) Einthoven's triangle representing the six limb leads and (b) Einthoven's triangle on a mouse.	25
2.5	<i>In-vivo</i> results : (a) experimental setup with the user interface and the base station, (b) anesthetized mouse with proof of concept (POC) prototype mounted on its back and (c) recorded ECG signal with artifacts.	27
3.1	Schéma du filtre adaptatif.	31
3.2	Signal ECG propre utilisé pour les simulations.	33
3.3	Signal ECG corrompu et signal corrélé aux artefacts simulés utilisés pour les simulations.	33
3.4	Résultats de la simulation avec (a) LMS, (b) LMS-AS, (c) NLMS et (d) NLMS-AS.	35
3.5	Plateforme utilisée pour les tests : (a) extérieur et (b) intérieur.	36
3.6	Signal ECG et signal d'impédance (ETI) enregistrés avec la plateforme de test.	37
3.7	Résultats des tests avec (a) LMS, (b) LMS-AS, (c) NLMS et (d) NLMS-AS. . .	38
3.8	Comparaison des algorithmes avec la moyenne et l'écart type des SAR sur 5 tests différents.	39
3.9	Comparaison d'un complexe QRS normal et du même complexe détruit par l'algorithme LMS avec un pas trop élevé ($\mu = 0.2$).	39

4.1	Concept : Enclosed system on the back of a transgenic mouse with flexible implant inserted under the skin. The wired electrodes are attached near the limbs of the animal.	43
4.2	Complete system architecture : from left to right, the test subject, the acquisition and stimulation circuits with the embedded microcontroller unit (MCU) and wireless transceiver, the base station and finally the PC.	44
4.3	Interface and internals of the ADS1294R IC from Texas Instrument.	45
4.4	CAD representation of the new miniature PCB : (a) top of the PCB with most of the components and (b) bottom of the PCB.	46
4.5	CAD representation of the new implantable probe : (a) top of the probe with the solder points for the electrodes and (b) bottom of the probe with the LED.	47
4.6	Flow chart of the signal processing task.	48
4.7	Bloc diagram of the proposed artifact removal method.	49
4.8	Picture of the system used for experimentation.	51
4.9	Interior of the system, showing the electronics.	51
4.10	Alligator clip and cable with snap system.	52
4.11	Mouse ECG acquired with the new system.	53
4.12	Real-time results with (a) NLMS ($\beta = 0.1$) and (b) NLMS-AS ($\beta = 0.01$ and $p = 1$).	54
4.13	Comparison of distortion caused by filtering. (a) Raw ECG for NLMS, (b) filtered ECG with a lot of distortion for NLMS ($\beta = 0.1$), (c) Raw ECG for NLMS-AS and (d) filtered ECG without distortion for NLMS-AS ($\beta = 0.01$).	55

Remerciements

Je voudrais tout d'abord remercier mon directeur de recherche Benoit Gosselin pour son soutien et sa confiance lors de mes différents projets académiques, dont notamment mon projet de maîtrise.

Un merci particulier à Gabriel Gagnon-Turcotte pour son soutien et ses conseils pendant la réalisation de mon projet.

Un grand merci aussi à Mohamed Chahine et toute son équipe au CERVO pour leur aide en consultation, mais aussi lors des manipulations en laboratoire pour la validation du système.

Bien sûr, merci à ma famille, mes ami.es et mes collègues pour leur appui.

Avant-propos

Ce mémoire est constitué d'une revue de littérature, de deux articles et d'un chapitre faisant le pont entre les articles. Bien entendu, le tout débute par une introduction du sujet et de la problématique et se termine par une conclusion revenant sur la solution proposée et ouvrant vers le futur. La revue de littérature expose l'état de l'art des différentes facettes de la problématique. Le premier article présente la première preuve de concept de la solution, le chapitre suivant présente le travail effectué pour améliorer les performances du système et le second article détaille le prototype qui permet de répondre à toutes les problématiques.

Le premier article intitulé "A Wireless System for Combined Heart Optogenetics and Electrocardiography Recording" a été publié lors de la conférence *International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS)* de l'*Institute of Electrical and Electronics Engineers (IEEE)* en 2017. L'article décrit la première preuve de concept du système comportant à la fois la circuiterie pour la mesure d'ECG, ainsi que pour la photo-stimulation. Des tests in-vivo sont aussi présentés. L'article se conclut par une présentation des différentes problématiques du prototype. L'étudiant a rédigé cet article comme premier auteur sous la supervision de son directeur de recherche Benoit Gosselin. La réalisation de cet article a aussi été possible grâce aux co-auteurs : Gabriel Gagnon-Turcotte, Aude Popek, Aurélien Chatelier et Mohamed Chahine. Gabriel Gagnon-Turcotte a fourni son expertise en ingénierie électrique lors de la réalisation de l'article. Aude Popek a réalisé les manipulations en laboratoire. Aurélien Chatelier et Mohamed Chahine ont permis la réalisation de l'article grâce à leur expertise en optogénétique et en cardiologie.

Le second article intitulé "Electro-Optic System for Cardiac Optogenetics and ECG Recording with Real-Time Motion Artifacts Removal" sera éventuellement publié dans un journal scientifique. Celui-ci présente la nouvelle version du système et les corrections et améliorations apportées en vue de régler les défauts du premier. Des résultats de test in-vivo concluant sont aussi inclus. L'étudiant a rédigé cet article comme premier auteur sous la supervision de son directeur de recherche Benoit Gosselin. La réalisation de cet article a aussi été possible grâce aux co-auteurs : Gabriel Gagnon-Turcotte, Aurélien Chatelier et Mohamed Chahine. Les co-auteurs ont eu des rôles très similaires à la réalisation de l'article précédent.

Introduction

L'optogénétique est une nouvelle technique, utilisée principalement pour la recherche sur le cerveau, qui permet de stimuler et d'inhiber l'activité de cellules génétiquement modifiées à l'aide de lumière [1]. Cette nouvelle façon d'étudier le fonctionnement du système nerveux est pour le moment très utilisé en laboratoire sur de petits animaux, notamment des rongeurs. Les chercheurs ont plusieurs moyens techniques pour parvenir à utiliser l'optogénétique in-vivo, c'est-à-dire avec des animaux en vie. Les premiers instruments, étant volumineux, demandent d'être reliés directement à l'animal à l'aide de câbles et de fibres optiques. Ces derniers permettent d'une part la photo-stimulation par le biais d'une ou plusieurs fibres optiques, ainsi que la mesure de la réponse des cellules par électrophysiologie ou encore par microscopie. Plus récemment, de nouveaux systèmes sans-fil et miniaturisés ont vu le jour pour une utilisation dans le cerveau. Ces systèmes rendent la recherche beaucoup plus simple, car ils permettent d'étudier des animaux en liberté de mouvement avec un minimum de stress. La Figure 0.1 montre bien la différence en complexité entre un système filaire typique et un système sans-fil. On y voit sur la gauche un système filaire comportant les différentes composantes reliées par des câbles et une fibre optique. Il y a essentiellement un ordinateur qui contrôle le circuit optique et le circuit d'enregistrement. Il est aussi nécessaire que la fibre optique et le câble de mesure soit fixé sur la souris via un joint rotatif. Le système sans-fil quant à lui réalisé par Gabriel Gagnon-Turcotte [2] ne nécessite que deux parties. Le "headstage" est directement attaché à la souris et comporte tout le nécessaire pour la photo-stimulation et l'acquisition. Il peut ensuite transmettre sans-fil les données vers un ordinateur avec une station de réception USB.

Dans les dernières années, plusieurs chercheurs se sont penchés sur l'application de l'optogénétique à l'étude du cœur, notamment [3], [4] et [5]. Comme c'était le cas pour l'étude du cerveau, aucun système sans-fil n'existe encore pour une application spécialisée sur le cœur d'animaux de laboratoire. Les chercheurs doivent utiliser des systèmes avec fils encombrants et les animaux doivent être anesthésiés durant les essais. Un autre élément que les chercheurs ont besoin est la possibilité d'enregistrer les signaux du cœur à l'aide d'un électrocardiographe (ECG) pour bien voir l'effet de la photo-stimulation. Au moment de l'écriture de ce document, aucun système sans-fil alliant optogénétique et ECG n'existe. Un tel système aurait plusieurs applications scientifiques, comme l'étude des arythmies et éventuellement une utilisation en

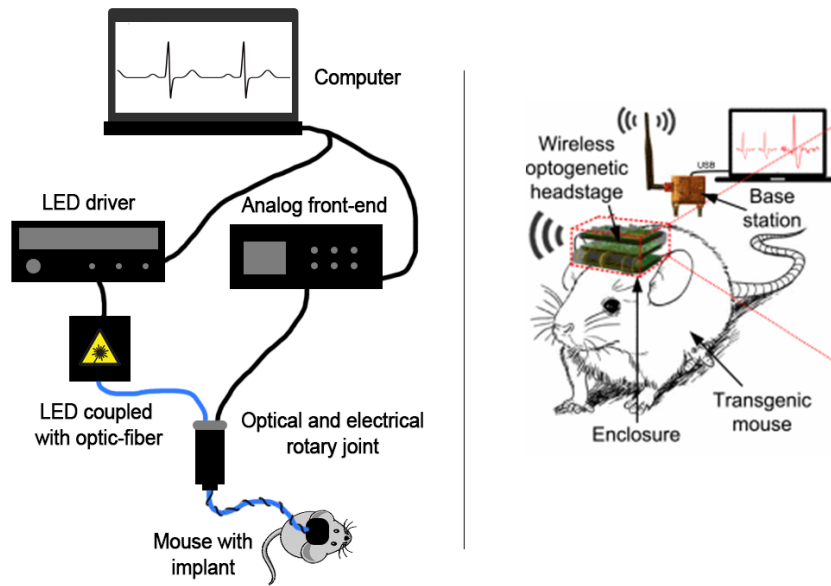


FIGURE 0.1 – Système filaire typique sur la gauche et système sans-fil sur la droite [2].

boucle fermée, c'est-à-dire que la stimulation serait appliquée automatiquement en fonction de la qualité des battements. La conception de ce système lève plusieurs défis : petite taille, basse consommation et fonctionnement temps réel.

Bien qu'un système sans-fil apporte beaucoup d'avantages aux chercheurs qui les utilisent pour la recherche sur des animaux libre de mouvement, il reste qu'ils apportent aussi certains désavantages ; on peut notamment penser à l'autonomie de la batterie, mais aussi à la qualité des signaux qui peut être affectée par des artefacts de mouvements dans l'acquisition des signaux électrophysiologiques comme l'ECG. La Figure 0.2 montre un exemple d'un tel artefact observé sur une souris. Dans ce cas précis, c'est le mouvement du thorax de l'animal lors de sa respiration qui était la cause.

Ce mémoire se veut une description des différentes étapes qui ont permis le développement d'une telle solution. D'abord, une revue de littérature présentera l'état de l'art en ce qui concerne les systèmes optogénétique et sur l'électrocardiographie pour une utilisation en laboratoire sur des modèles vivants et libre de mouvement. S'en suivra un article présentant la première version du système, ainsi que quelques essais qui ont été effectués sur des souris. Ensuite, un chapitre détaille la conception d'un algorithme permettant de réduire les artefacts de mouvement. Finalement, un second article présente la version finale du système, ainsi que les tests in-vivo associés.

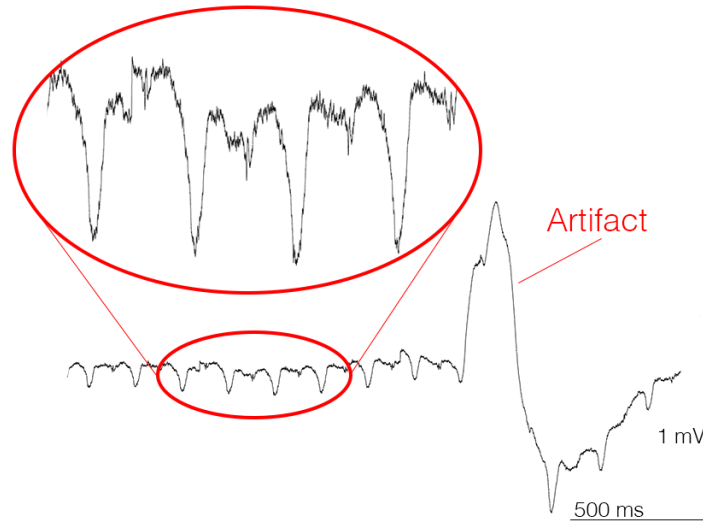


FIGURE 0.2 – ECG d’une souris avec présence d’un artefact.

Contributions de ce projet

Ce projet de recherche, par son côté innovateur, a pu être présenté à la communauté à quelques reprises. Tout d’abord, la version préliminaire du système a été présentée lors de la Journée Innovation ReSMIQ (JIR) 2016 à l’école Polytechnique de Montréal. La JIR est en fait un forum se déroulant en deux volets, le premier est une série de conférences d’experts dans le domaine des microsystèmes présentant leurs travaux de recherches. Le deuxième volet est un concours où des étudiants du premier cycle et des cycles supérieurs présentent leur projet sous forme d’un « pitch » de 3 minutes, ainsi qu’en format affiche. Le présent projet a remporté la seconde place dans la catégorie premier cycle, ainsi que le prix spécial IEEE Montréal. Une autre contribution de ce projet est l’article [6] qui a été publié lors de la conférence *IEEE International Symposium on Circuits & Systems* qui a eu lieu en mai 2017. Lors de cette conférence, le professeur Benoit Gosselin a pu présenter le projet dans la session *Wireless & Implantable/Injectable Technology Circuits & Systems*. Cet article est d’ailleurs disponible au chapitre 2. Finalement, l’article présenté au chapitre 4 sera quant à lui soumis pour publication dans une revue scientifique sur les systèmes biomédicaux.

Bibliographie

- [1] E. S. Boyden, F. Zhang, E. Bamberg, G. Nagel, and K. Deisseroth, “Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity,” *Nature Neuroscience*, vol. 8, no. 9, pp. 1263–1268, Sep. 2005.
- [2] G. Gagnon-Turcotte, Y. LeChasseur, C. Bories, Y. Messaddeq, Y. D. Koninck, and B. Gosselin, “A Wireless Headstage for Combined Optogenetics and Multichannel Electrophysio-

- logical Recording,” *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–14, Feb. 2017.
- [3] O. J. Abilez, “Cardiac optogenetics,” in *2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, Aug. 2012, pp. 1386–1389.
- [4] U. Nussinovitch and L. Gepstein, “Optogenetics for in vivo cardiac pacing and resynchronization therapies,” *Nature Biotechnology*, vol. 33, no. 7, pp. 750–754, Jul. 2015.
- [5] T. Zaglia, N. Pianca, G. Borile, F. Da Broi, C. Richter, M. Campione, S. E. Lehnart, S. Luther, D. Corrado, L. Miquerol, and M. Mongillo, “Optogenetic determination of the myocardial requirements for extrasystoles by cell type-specific targeting of ChannelRhodopsin-2,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 112, no. 32, pp. E4495–4504, Aug. 2015.
- [6] L. L. Gagnon, G. Gagnon-Turcotte, A. Popek, A. Chatelier, M. Chahine, and B. Gosselin, “A wireless system for combined heart optogenetics and electrocardiography recording,” in *2017 IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS)*, May 2017, pp. 1–4.

Chapitre 1

Revue de littérature

Ce chapitre se veut une présentation de l'état de l'art de quelques éléments importants d'un système optogénétique/ECG qui sont les éléments principaux du projet de recherche.

1.1 Optogénétique

1.1.1 Origines

Boris Zemelman et Gero Miesenböck en 2002 [1] sont les premiers à avoir rapporté des essais de photo-stimulation sur des neurones génétiquement modifiés. Plusieurs autres ont suivi, notamment Zhuo-Hua Pan qui a tenté de régler des problèmes de vue en redonnant aux cellules de la rétine d'une souris la sensibilité à la lumière [2] ou encore Georg Nagel et Alexander Gottschalk qui ont présenté les premiers des expérimentations optogénétiques sur des animaux en vie en utilisant la protéine channelrhodopsin-2 [3].

1.1.2 Recherche sur le cœur

Bien qu'au début l'optogénétique visait spécifiquement une utilisation dans le cerveau, plusieurs chercheurs veulent désormais l'appliquer à la recherche en cardiologie. D'ailleurs, quelques publications ont paru dans les dernières années à cet effet.

Abilez [4] présente l'un des premiers essais in-vitro de l'optogénétique sur des cellules cardiaques. L'auteur utilise des cardiomyocytes dérivés de cellules souches humaines pluripotentes induites (hiPSC-CM) avec la protéine channelrhodopsin-2 (ChR2) pour permettre la stimulation avec de la lumière bleue (480 nm) et la protéine halorhodopsin (NpHR) pour permettre l'inhibition des cellules avec de la lumière jaune (580 nm). Les résultats montrent qu'il est possible de stimuler/inhiber les cellules du cœur pour permettre une synchronisation contrôlée des contractions de celui-ci.

Nussinovitch et Gepstein [5] présentent des résultats de stimulation in-vivo avec des rats de

laboratoire anesthésiés présentant la ChR2. Pour délivrer la lumière sur le site de stimulation, ils utilisent une DEL bleue couplée à une fibre optique. Pour permettre de bien visualiser les effets de la photo-stimulation, ils implantent des électrodes ECG dans l’animal. L’installation qu’ils utilisent est donc entièrement filaire. Les auteurs ont réussi à contrôler le battement du cœur du rongeur et démontrent ainsi qu’il serait possible d’utiliser l’optogénétique pour des thérapies de resynchronisation cardiaque, soit un remplacement aux stimulateurs cardiaques actuels.

Zaglia et al. [6], quant à eux, utilisent l’optogénétique au niveau du cœur pour étudier les arythmies. Toujours avec la ChR2, mais cette fois-ci sur des souris, ils présentent des résultats de photo-stimulation sur différentes zones du cœur où la lumière est délivrée par plusieurs fibres optiques. Les effets de la photo-stimulation sont enregistrés à l’aide d’un ECG filaire sur des souris anesthésiées. Les auteurs discutent aussi des avantages qu’aurait eu une installation sans-fil lors de leurs expérimentations.

1.1.3 Systèmes existants

Comme mentionné plus haut, il n’existe pour le moment aucun système optogénétique pour une application sur le cœur. Pour cette raison, cette section ne présentera que quelques-uns des systèmes développés pour le cerveau qui pourraient être adaptés pour le cœur. Il s’agit d’une présentation non exhaustive de systèmes commerciaux ou non alliant fonctionnement sans-fil, enregistrement électrophysiologique et photo-stimulation.

Gagnon-Turcotte et al. proposent différents systèmes à base de composantes commerciales présentant différentes caractéristiques qui s’installent sur la tête de souris de laboratoire. Le premier [7] permet l’acquisition de signaux neuronaux sur deux canaux différents et la photo-stimulation sur deux canaux également. Les données sont envoyées directement à un ordinateur via une station de base sans-fil. Le système pèse 4.9 g et consomme 113 mW en moyenne. La deuxième version [8] présente 32 canaux d’acquisition et 32 canaux de photo-stimulation. De plus, un algorithme de compression de données permet de transmettre sans-fil et simultanément les données des 32 canaux à un ordinateur. Cette version a un poids de 2.8 g et consomme 175 mW en moyenne. Gagnon-Turcotte et al. ont aussi participé à la conception d’un système optogénétique commercialisé par Doric Lenses [9]. a Kendall Research Systems [10] offre deux systèmes différents permettant la photo-stimulation et l’enregistrement de signaux dans le cerveau de souris et de rats : FireFly E-Phys et FireFly E-Phys+. Les deux permettent la stimulation sur un à quatre canaux. Le premier a un poids de 3.3 g avec 32 canaux d’acquisition et le second 4.5 g avec 64 canaux d’acquisition. L’autonomie sans-fil peut atteindre quatre heures pour le système FireFly E-Phys+. Un accéléromètre à trois axes est intégré sur chacun des systèmes pour enregistrer le niveau d’activité de l’animal.

1.2 Électrocardiographie

1.2.1 Traitement de signal : réduction des artefacts de mouvements

Les signaux ECG mesurés seront analysés afin de mieux comprendre l'effet de la stimulation de différentes zones du cœur sur son fonctionnement. Pour que l'analyse soit valable, les signaux mesurés se doivent d'être traités pour retirer au maximum le bruit et les artefacts sans les déformer. Étant donné que le système sera utilisé sur des animaux conscients, il devra être possible de retirer les artefacts causés par les mouvements qui ont un contenu fréquentiel similaire à celui de l'ECG. Les deux techniques les plus utilisées sont présentées ici et comparées pour une utilisation en temps réel sur un système miniature, sans-fil et basse consommation.

Filtrage adaptatif

Le filtrage adaptatif est une technique très utilisée depuis plusieurs années pour retirer les artefacts de mouvements, mais aussi le bruit en général dans les signaux ECG [11]. Cette technique utilise un filtre numérique et un signal qui est corrélé au bruit ou aux artefacts qui doivent être retirés du signal mesuré. La figure 1.1 montre un schéma simplifié d'un tel filtre. Le signal nettoyé se trouvera à être l'erreur (ϵ) calculée et utilisée pour adapter le signal. Pour que ce filtre fonctionne bien, il est nécessaire d'avoir un générateur ou capteur qui donnera un signal corrélé (n_2) avec le bruit (n_1) que l'on veut retirer, mais il est aussi important que le signal désiré (s_1) ne soit en aucun cas corrélé avec le signal de bruit. Ces deux critères sont remplis dans le cas d'un signal ECG et des artefacts de mouvements.

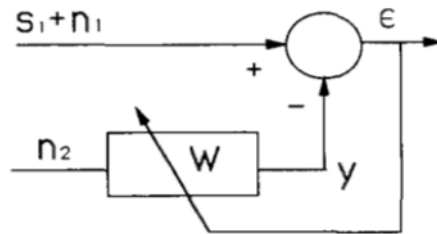


FIGURE 1.1 – Schéma d'un filtre adaptatif [11].

En ce qui concerne le signal de référence dans le cas d'artefacts de mouvements, celui-ci peut être mesuré de différentes façons. Les deux plus courantes sont par mesure de l'impédance des électrodes [12] qui demande un système de mesure d'impédance avec injection de courant [13] ou encore par mesure de l'activité du sujet à l'aide d'un accéléromètre [14] ou d'électrodes supplémentaires [15]. Pour l'implémentation, différents types de filtre existe, le plus utilisé est le Least Mean Squares (LMS) qui est simple et fonctionnel en temps réel. Le LMS ne demande qu'un seul paramètre à ajuster, soit le pas. Ce paramètre permet d'ajuster le taux de convergence. Un pas plus près de 1 permet une convergence rapide, mais aussi un plus

grand risque d'instabilité, tandis qu'un pas près de 0 permet une meilleure stabilité, mais une convergence plus lente. Un autre type de filtre qui demande plus de ressource pour le calcul, mais qui est plus performant est le Recursive Least Squares (RLS). Il est possible de mettre en cascade plusieurs filtres adaptatifs pour réduire différents types de bruits [11].

Safarian et al. ont publié un article [16] présentant leur implémentation d'un filtre adaptatif LMS à réponse impulsionnelle finie (FIR) pour le filtrage de signaux numériques sur FPGA en temps réel. Ils ont réussi par leur nouvelle implémentation à doubler la fréquence d'horloge maximale d'une implémentation précédente tout en réduisant par 4.7 la puissance nécessaire.

Mugdha et al. [17] utilisent un filtre adaptatif RLS pour retirer le bruit de signaux ECG. Ils comparent en simulation leurs résultats avec un filtre LMS. Leurs simulations ont pris en compte différents types de bruit, notamment du bruit blanc, l'interférence des lignes électriques et les artefacts de mouvements. Pour tous les types de bruit, l'algorithme RLS a permis d'obtenir de meilleurs résultats. Pour les artefacts de mouvements en particulier, le ratio signal-bruit (SNR) s'est amélioré en moyenne de 19 dB pour le LMS et de 32 dB pour le RLS.

Sultana et al. [18] présentent une comparaison entre différents algorithmes de filtrage adaptatif pour le débruitage de signaux ECG en simulation. Ils y discutent de la supériorité du RLS par rapport au LMS. Le RLS offre un SNR de 23.4 dB contre 20.8 dB pour le LMS. Ils présentent aussi deux autres algorithmes, le NLMS et le APA-LMS des variantes du LMS, qui ont des SNR de 22.2 et 23.3 dB respectivement. Ils terminent en suggérant l'utilisation d'un algorithme de Fast-RLS (F-RLS) ou de décomposition QR RLS (QRD-RLS) pour minimiser l'utilisation de mémoire et de ressources de calcul.

Kim et al. [12] démontrent le fonctionnement d'une version modifiée du LMS pour le filtrage d'artefacts sur des ECG. Il utilise un filtre LMS avec un pas adaptatif. Ceci leur permet d'avoir de meilleurs résultats qu'avec un LMS traditionnel, mais en conservant une bonne stabilité. Le pas est ajusté en fonction du niveau de variation d'amplitude sur l'ECG et sur le signal corrélé. De cette façon, le pas est plus bas quand il y a peu ou pas d'artefact et il augmente quand il y a plus d'artefacts.

Analyse par composantes indépendantes (ICA)

L'ICA est une technique de plus en plus utilisée pour retirer les artefacts dans des signaux biologiques comme l'ECG. Cette méthode repose sur le Blind Source Separation (BSS) et demande que le signal d'intérêt et le bruit que l'on veut retirer soient statistiquement indépendants, ce qui est le cas pour l'ECG et les artefacts de mouvement [19]. Le principe de l'ICA est souvent présenté avec le problème de la soirée cocktail où on peut y trouver N personnes qui discutent et P microphones qui enregistrent la superposition des voix à différents endroits dans la pièce. Si chaque discours est considéré comme indépendant, l'ICA permet de séparer chacune des voix. Cette méthode ne permet cependant pas d'attribuer une voix (signal) à une

personne (source) en particulier, ni même d’obtenir une intensité (amplitude) qui correspond au signal d’origine. De plus, P doit être plus grand ou égal à N . Ce type de situation peut être modélisé par l’équation matricielle (1.1) de [20].

$$Y = AX \tag{1.1}$$

Chaque rangé de Y contient les échantillons mesurés d’un capteur, les signaux sources sont dans les rangés de X et A est la matrice de mixage. L’efficacité de cette méthode pour le traitement d’ECG a été validé en utilisant trois dérivations de l’ECG [19]. Un algorithme rapide d’ICA (Fast-ICA) a été implémenté par Patil et al. sur DSP [21] avec une fréquence d’horloge de 225 MHz pour traiter de l’audio en temps réel avec un temps de latence de plus de 1.8 s. Une implémentation ASIC moins énergivore a été réalisé par Tian et al. avec une fréquence d’horloge de 50 MHz [22].

Comparaison

Ces deux techniques de réduction d’artefacts offrent chacune des avantages et des inconvénients. Le filtrage adaptatif demande un ou plusieurs autres capteurs pour estimer les artefacts, cependant il est beaucoup moins complexe à implémenter dans un microcontrôleur ou un FPGA que l’ICA. Il demande aussi moins de ressources pour les calculs. L’ICA a été prouvé très efficace sans demander de capteurs externes, cependant son implémentation sur système embarqué est moins évidente et demande plus de puissance de calcul. Le calcul avec ICA se fait par bloc de données, ce qui peut causer beaucoup de latence dans un système temps réel. Le tableau 1.1 fait un résumé de ces éléments.

TABLE 1.1 – Comparaison entre le filtrage adaptatif et l’ICA.

Critères	Filtrage adaptatif	ICA
Complexité d’implémentation	Moyenne	Élevé
Autres capteurs	Oui, au moins un	Non
Temps réel	Oui	Latence élevée
Puissance de calcul	Moyenne	Élevé
Réduction des artefacts	Bon	Très bon

1.2.2 Capteur de référence pour le filtrage adaptatif

Cette section se concentrera sur les deux capteurs les plus utilisés pour retirer des artefacts de mouvements de signaux ECG à l’aide d’un filtre adaptatif : l’accéléromètre et la mesure de l’impédance des électrodes (electrode-tissue impedance ou ETI).

Mesure de l'activité avec accéléromètre

Yang et al. [14] utilisent un seul axe d'un accéléromètre commercial pour réduire les artefacts de mouvements dans un enregistrement à une dérivation d'un signal ECG. L'axe utilisé est celui qui est vertical et parallèle au corps du sujet. Cette méthode permet de distinguer si le sujet marche ou cours et en l'utilisant comme référence de bruit sur un filtre adaptatif permet de réduire les artefacts de mouvement. Un filtre FIR avec algorithme LMS sur ordinateur est utilisé pour retirer le bruit. Les auteurs concluent que l'utilisation d'un seul axe de l'accéléromètre leur permet de suffisamment réduire les artefacts de mouvement.

Mesure de l'impédance des électrodes

Kim et al. [13] présentent leur implémentation d'un circuit de mesure d'ETI sur puce CMOS 0.5 μm . Ce circuit a été ensuite intégré avec un circuit d'acquisition ECG pour permettre la mesure de signaux ECG et l'estimation des artefacts de mouvement sur la même puce [23]. Kim et al. [12] présentent ensuite un système qui utilise cette puce pour retirer les artefacts de mouvement d'un signal ECG à l'aide de filtres adaptatifs LMS modifiés en cascade sur microcontrôleur (MSP430). La figure 1.2 montre le schéma du système.

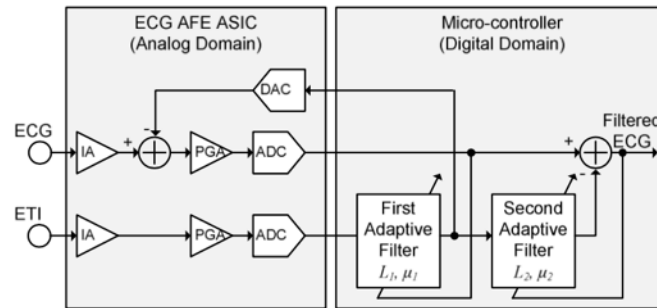


FIGURE 1.2 – Schéma du système de Kim et al [13].

Pour permettre la mesure, un courant de faible amplitude et haute fréquence est injecté dans les électrodes. Pour récupérer le signal ECG, la mesure différentielle doit passer par un démodulateur suivi par un amplificateur d'instrumentation et finalement être démodulée à nouveau. De cette façon, le signal ECG peut être séparé du signal d'impédance avec un filtre passe-bas avant la numérisation. Pour obtenir les signaux d'impédance, le signal différentiel des électrodes passe par un amplificateur d'instrumentation, puis est démodulé avec une fréquence en phase (f_i) pour obtenir la partie résistive et avec une fréquence en quadrature (f_q) pour obtenir la partie capacitive. La figure 1.3 montre un schéma du circuit d'injection de courant et de séparation des signaux.

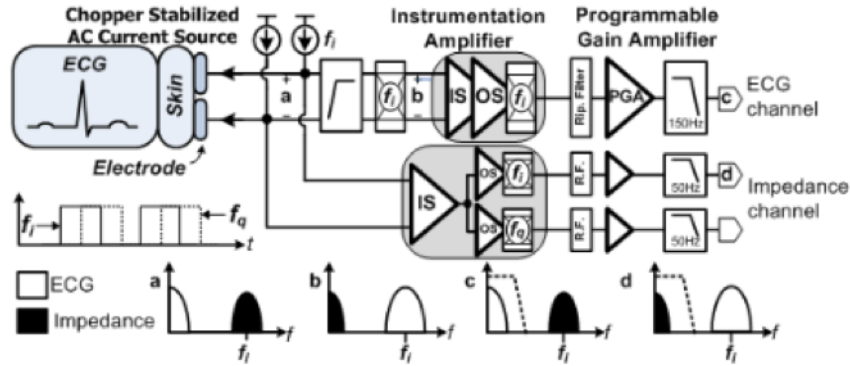


FIGURE 1.3 – Schéma du circuit de mesure de Kim et al [12].

1.2.3 Extraction de caractéristiques

Éventuellement, le système réalisé dans le cadre du projet pourrait demander de réaliser une boucle de rétroaction permettant de stimuler automatiquement le cœur à l'aide de lumière. Dans cette éventualité, il sera nécessaire de détecter des anomalies dans le fonctionnement du cœur que l'on nomme arythmie [24] et [25]. On doit pouvoir extraire des caractéristiques du signal ECG enregistré et filtré pour détecter des arythmies. L'une des caractéristiques les plus importantes est le rythme cardiaque (en BPM) qui est défini par le nombre de battements (sommets R de l'ECG) par minute. La figure 1.4 montre différentes caractéristiques d'un signal ECG.

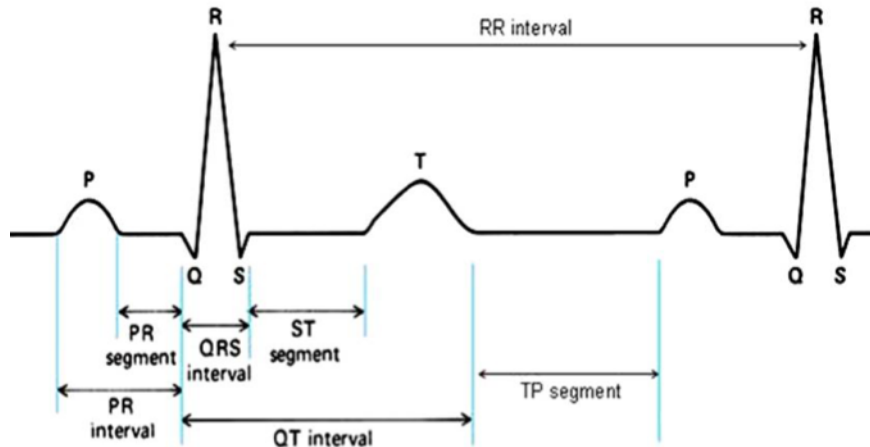


FIGURE 1.4 – Signal ECG avec ses caractéristiques importantes [26].

L'intervalle RR est le temps entre deux sommets R consécutifs [24]. La moyenne pendant un certain temps de celui-ci peut donner le rythme cardiaque, mais sa valeur instantanée donne aussi de l'information sur la santé du cœur. Pour obtenir cette valeur, il est nécessaire de bien détecter la courbe définie par les points Q, R et S de la figure 1.4, soit le complexe QRS.

Différentes méthodes ont déjà été développées à cet effet. Il est à noter que les méthodes décrites plus bas s'appliquent à un signal ECG humain, celui de la souris présente plusieurs différences, notamment la présence d'une repolarisation rapide (J) remplaçant le segment ST, ainsi que l'inversion de l'onde T [27]. La figure 1.5 présente d'ailleurs ces différences. Les algorithmes devront donc être adaptés pour cette application.

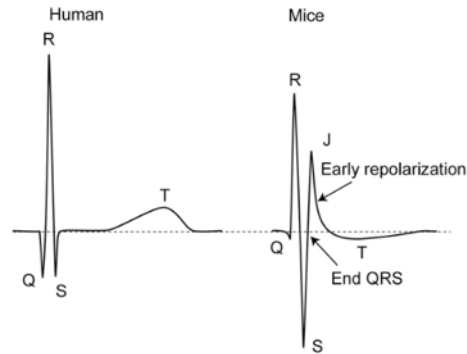


FIGURE 1.5 – Comparaison entre l'ECG d'un humain et d'une souris [27].

Détection QRS par dérivation

Pan et Tompkins [28] ont décrit en 1985 un algorithme permettant la détection de complexe QRS dans un signal ECG en temps réel. Cet algorithme se déroule en plusieurs étapes. D'abord, le signal ECG est filtré passe-bande entre 5 et 15 Hz pour maximiser l'énergie du complexe QRS. Par la suite, le signal est dérivé pour faire ressortir les pentes fortes du signal, surtout présentes sur le sommet R. Le signal est ensuite élevé au carré, échantillon par échantillon, pour n'avoir que des valeurs positives et amplifier les hautes fréquences. Finalement, le signal est intégré à l'aide d'une fenêtre mobile avec une largeur correspondant aux nombres maximums d'échantillons dans un complexe QRS. Cette dernière étape permet d'obtenir le signal présenté dans le bas de la figure 1.6. Il est possible d'obtenir à partir de ce signal la position du complexe QRS à l'aide la première pente qui commence au point Q et se termine au point S. La position exacte du sommet R peut ensuite être trouvée sur le signal ECG par seuillage entre les ondes Q et S.

Cet algorithme présente plusieurs avantages, notamment sa simplicité d'implémentation, sa faible demande en ressources pour le calcul et sa robustesse au bruit grâce au filtre passe-bande comme le démontrent les auteurs. Ces derniers ont testé leur algorithme sur un microprocesseur Z80 et ont obtenu un taux de prédiction positive de 99.3 % sur la base de données MIT/BIH Arrhythmia. Hamilton et Tompkins [29] publient l'année suivante une version améliorée de cet algorithme. Ils ajoutent notamment des améliorations pour la prédiction, ainsi qu'un mécanisme de recherche en arrière (search back) permettant de détecter des complexes QRS qui auraient pu être considérés comme du bruit au départ. Cette nouvelle version de

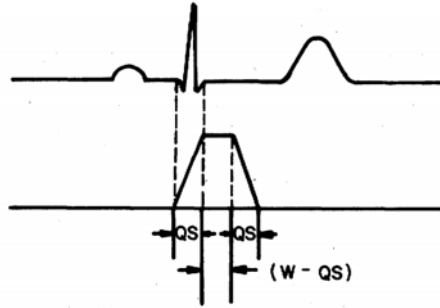


FIGURE 1.6 – Signal ECG (haut) et sortie (bas) de l'algorithme de [28].

l'algorithme a permis aux auteurs d'obtenir un taux de prédiction de 99.77 % sur la base de données MIT/BIH Arrhythmia.

Détection QRS avec transformée en ondelette

Il existe plusieurs algorithmes de détection QRS utilisant la transformée en ondelette, mais dans le cadre de cette revue de littérature, il ne sera question que de quelques implémentations permettant le traitement en temps réel. La transformée en ondelette continue (CWT) repose sur un principe similaire à la transformée de Fourier à court terme (STFT), c'est-à-dire qu'elle utilise une décomposition basée sur une forme d'onde. Cependant, au contraire de la STFT, la CWT ne met pas en œuvre une onde sinusoïdale, mais plutôt une ondelette qui peut prendre plusieurs formes. Certaines d'entre elles ont une forme très similaire au complexe QRS d'un ECG, d'où son intérêt dans le cas présent. Tout comme pour la STFT, l'équation générale de la CWT demande de faire un calcul avec convolution. Dans le domaine numérique, c'est la transformée en ondelette discrète (DWT) qui est utilisée.

Romero et al. [30] présentent un algorithme de détection qui utilise la transformée en ondelette continue (CWT) pouvant fonctionner en temps réel sur un processeur basse puissance. Il leur est nécessaire de traiter 3 secondes d'échantillons à la fois, ce qui augmente la latence de la détection. Pour permettre cette implémentation, les auteurs ont développé leur algorithme à l'aide de MATLAB et ont ensuite généré le code en C directement. En testant leur algorithme en C, ils ont obtenu un taux de prédiction positive de 99.8 % avec la base de données MIT/BIH Arrhythmia.

Détection QRS dans le domaine analogique

Yazicioglu et al. [31] présentent un système permettant l'extraction des complexes QRS dans le domaine analogique implémenté sur ASIC. L'extraction se fait à l'aide de deux filtres passe-bande qui extraient les composantes en quadrature du signal ECG dans une bande de fréquence correspondant au complexe QRS (voir figure 1.7). Par la suite, ces signaux sont enregistrés et

comparer au signal ECG en temps réel pour obtenir la position du sommet R. Comme cette détection se fait en partie dans le domaine analogique, la puissance de calcul demandé est beaucoup moins élevée que pour le calcul de convolution nécessaire pour la transformée en ondelette. Cependant, cette méthode demande l'ajout d'électronique pour l'extraction, ainsi que l'ajout de convertisseur analogique numérique pour enregistrer les signaux. Les auteurs ont testé leur algorithme à l'aide de MATLAB et de la base de données MIT/BIH Arrhythmia et ont obtenu un taux de prédiction positive de 99.8 %.

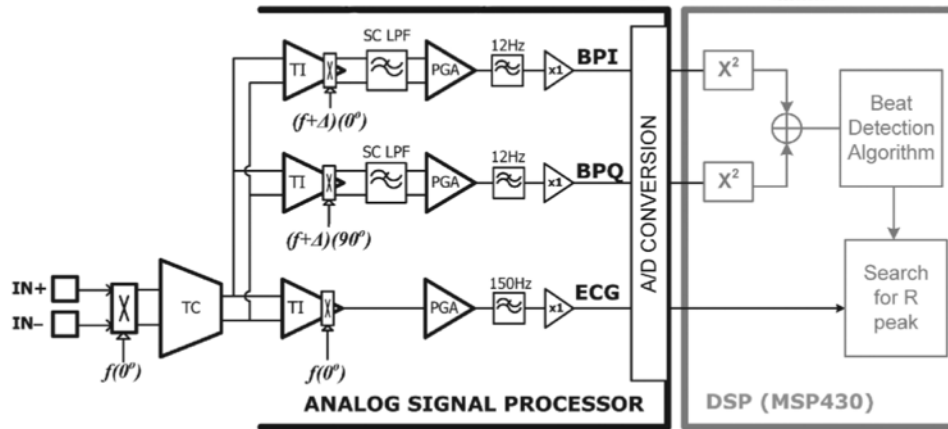


FIGURE 1.7 – Schéma en bloc du circuit d'acquisition de Yazicioglu et al. [31].

Comparaison

Le tableau 1.2 compare différents éléments des algorithmes présentés plus haut.

TABLE 1.2 – Comparaison des algorithmes de détection QRS.

Critères	Dérivation	Ondelette	Domaine analogique
Complexité d'implémentation	Faible	Élevé	Moyenne
Électronique externe	Non	Non	Oui
Temps réel	Oui	Latence > 3 sec.	Oui
Tolérance au bruit	Moyenne	Bonne	Moyenne
Puissance de calcul	Faible	Élevé	Moyenne
Taux de prédiction positive	99.77 %	99.8 %	99.8 %

1.2.4 Systèmes existants

Cette section se veut une présentation de quelques systèmes permettant l'enregistrement de signaux ECG sur des souris en liberté de mouvement. Bien qu'il existe plusieurs systèmes filaires et d'autres systèmes avec plateforme d'électrodes [32], il ne sera ici question que de deux systèmes commerciaux sans-fil.

DSI [33] offre différents implants pour l'enregistrement de signaux ECG complet à une ou deux dérivations simultanées. Tous leurs systèmes pour ECG fonctionnent sans-fil et avec batterie. La durée de vie de la batterie varie entre un et quatre mois en fonction du modèle d'implant. McCauley et Wehrens [34] décrivent la procédure pour l'implantation d'une des versions du système dans le corps d'une souris. La figure 1.8 présente une photo d'un des implants, ainsi que son positionnement dans le corps d'une souris, tel que suggéré par McCauley et Wehrens.

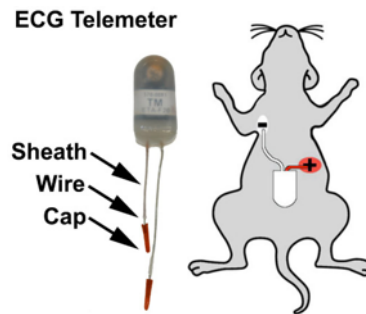


FIGURE 1.8 – (a) Photo de l'implant et (b) position de l'implant dans le corps d'une souris [34].

Starr Life Sciences Corp. [35] offre le G2 HR E-Mitter, un système entièrement implantable de mesure du rythme cardiaque et de la température du corps d'une souris. Il fonctionne sans-fil et sans batterie, car il doit être alimenté sans-fil par une station de base à proximité. Ce dernier est de taille suffisamment petite pour être implanté dans une souris de laboratoire. Cependant, ce système ne permet pas l'enregistrement de signaux ECG complet, mais seulement l'enregistrement du rythme cardiaque via deux sondes qui doivent être fixées sous la peau de l'animal. La figure 1.9 montre le système.



FIGURE 1.9 – Système G2 HR E-Mitter de Starr Life Sciences Corp. [35].

1.3 Bibliographie

- [1] B. V. Zemelman, G. A. Lee, M. Ng, and G. Miesenböck, “Selective Photostimulation of Genetically ChARGed Neurons,” *Neuron*, vol. 33, no. 1, pp. 15–22, Jan. 2002.
- [2] A. Bi, J. Cui, Y.-P. Ma, E. Olshevskaya, M. Pu, A. M. Dizhoor, and Z.-H. Pan, “Ectopic Expression of a Microbial-Type Rhodopsin Restores Visual Responses in Mice with Photoreceptor Degeneration,” *Neuron*, vol. 50, no. 1, pp. 23–33, Apr. 2006.
- [3] G. Nagel, M. Brauner, J. F. Liewald, N. Adeishvili, E. Bamberg, and A. Gottschalk, “Light Activation of Channelrhodopsin-2 in Excitable Cells of *Caenorhabditis elegans* Triggers Rapid Behavioral Responses,” *Current Biology*, vol. 15, no. 24, pp. 2279–2284, Dec. 2005.
- [4] O. J. Abilez, “Cardiac optogenetics,” in *2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, Aug. 2012, pp. 1386–1389.
- [5] U. Nussinovitch and L. Gepstein, “Optogenetics for in vivo cardiac pacing and resynchronization therapies,” *Nature Biotechnology*, vol. 33, no. 7, pp. 750–754, Jul. 2015.
- [6] T. Zaglia, N. Pianca, G. Borile, F. Da Broi, C. Richter, M. Campione, S. E. Lehnart, S. Luther, D. Corrado, L. Miquerol, and M. Mongillo, “Optogenetic determination of the myocardial requirements for extrasystoles by cell type-specific targeting of ChannelRhodopsin-2,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 112, no. 32, pp. E4495–4504, Aug. 2015.
- [7] G. Gagnon-Turcotte, A. A. Kisomi, R. Ameli, C.-O. D. Camaro, Y. LeChasseur, J.-L. Néron, P. B. Bareil, P. Fortier, C. Bories, Y. de Koninck, and B. Gosselin, “A Wireless Optogenetic Headstage with Multichannel Electrophysiological Recording Capability,” *Sensors (Basel, Switzerland)*, vol. 15, no. 9, pp. 22 776–22 797, Sep. 2015.
- [8] G. Gagnon-Turcotte, Y. LeChasseur, C. Bories, Y. Messaddeq, Y. D. Koninck, and B. Gosselin, “A Wireless Headstage for Combined Optogenetics and Multichannel Electrophysiological Recording,” *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–14, Feb. 2017.
- [9] “Doric Lenses.” [Online]. Available : <http://doriclenses.com/life-sciences/>
- [10] “Kendall Research Systems.” [Online]. Available : <http://www.kendallresearchsys.com/>
- [11] N. V. Thakor and Y. S. Zhu, “Applications of adaptive filtering to ECG analysis : noise cancellation and arrhythmia detection,” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 38, no. 8, pp. 785–794, Aug. 1991.
- [12] H. Kim, S. Kim, N. V. Helleputte, T. Berset, D. Geng, I. Romero, J. Penders, C. V. Hoof, and R. F. Yazicioglu, “Motion artifact removal using cascade adaptive filtering for ambulatory ECG monitoring system,” in *IEEE BioCAS*, Nov. 2012, pp. 160–163.

- [13] S. Kim, R. F. Yazicioglu, T. Torfs, B. Dilpreet, P. Julien, and C. V. Hoof, "A 2.4 uA continuous-time electrode-skin impedance measurement circuit for motion artifact monitoring in ECG acquisition systems," in *2010 Symposium on VLSI Circuits*, Jun. 2010, pp. 219–220.
- [14] Y.-S. O. Yang, W.-C. Lee, T.-C. Ke, C.-P. Wei, and C.-C. Lee, "Adaptive reduction of motion artefact in wireless physiological monitoring microsystems," in *2008 3rd International Conference on Sensing Technology*, Nov. 2008, pp. 523–526.
- [15] T. Alkhidir, A. Sluzek, and M. K. Yapici, "Simple method for adaptive filtering of motion artifacts in E-textile wearable ECG sensors," in *2015 37th Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC)*, Aug. 2015, pp. 3807–3810.
- [16] C. Safarian, T. Ogunfunmi, W. J. Kozacky, and B. K. Mohanty, "FPGA implementation of LMS-based FIR adaptive filter for real time digital signal processing applications," in *2015 IEEE International Conference on Digital Signal Processing (DSP)*, Jul. 2015, pp. 1251–1255.
- [17] A. C. Mugdha, F. S. Rawnaque, and M. U. Ahmed, "A study of recursive least squares (RLS) adaptive filter algorithm in noise removal from ECG signals," in *2015 International Conference on Informatics, Electronics Vision (ICIEV)*, Jun. 2015, pp. 1–6.
- [18] N. Sultana, Y. Kamatham, and B. Kinnara, "Performance analysis of adaptive filtering algorithms for denoising of ECG signals," in *2015 International Conference on Advances in Computing, Communications and Informatics (ICACCI)*, Aug. 2015, pp. 297–302.
- [19] T. He, G. Clifford, and L. Tarassenko, "Application of independent component analysis in removing artefacts from the electrocardiogram," *Neural Computing & Applications*, vol. 15, no. 2, pp. 105–116, Apr. 2006.
- [20] J. M.A. Tanskanen and J. J. Viik, "Independent Component Analysis in ECG Signal Processing," in *Advances in Electrocardiograms - Methods and Analysis*, 2012th ed., R. Millis, Ed. InTech.
- [21] D. Patil, N. Das, and A. Routray, "Implementation of Fast-ICA : A Performance Based Comparison Between Floating Point and Fixed Point DSP Platform," *Measurement Science Review*, vol. 11, no. 4, pp. 118–124, 2011.
- [22] S. Tian, J. Han, J. Yang, L. Zhou, and X. Zeng, "Motion artifact removal based on ICA for ambulatory ECG monitoring," in *2015 IEEE 11th International Conference on ASIC (ASICON)*, Nov. 2015, pp. 1–4.
- [23] N. V. Helleputte, S. Kim, H. Kim, J. P. Kim, C. V. Hoof, and R. F. Yazicioglu, "A 160 Biopotential Acquisition IC With Fully Integrated IA and Motion Artifact Suppression,"

- IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, vol. 6, no. 6, pp. 552–561, Dec. 2012.
- [24] D. E. Becker, “Fundamentals of Electrocardiography Interpretation,” *Anesthesia Progress*, vol. 53, no. 2, pp. 53–64, 2006.
- [25] P. Kligfield, L. S. Gettes, J. J. Bailey, R. Childers, B. J. Deal, E. W. Hancock, G. v. Herpen, J. A. Kors, P. Macfarlane, D. M. Mirvis, O. Pahlm, P. Rautaharju, and G. S. Wagner, “Recommendations for the Standardization and Interpretation of the Electrocardiogram,” *Circulation*, vol. 115, no. 10, pp. 1306–1324, Mar. 2007.
- [26] H. Karnan, N. Sivakumaran, and R. Manivel, “An Efficient Cardiac Arrhythmia Onset Detection Technique Using a Novel Feature Rank Score Algorithm,” *Journal of Medical Systems*, vol. 43, no. 6, p. 167, May 2019.
- [27] B. J. Boukens, M. R. Rivaud, S. Rentschler, and R. Coronel, “Misinterpretation of the mouse ECG : ‘musing the waves of *Mus musculus*’,” *The Journal of Physiology*, vol. 592, no. 21, pp. 4613–4626, Nov. 2014.
- [28] J. Pan and W. J. Tompkins, “A Real-Time QRS Detection Algorithm,” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. BME-32, no. 3, pp. 230–236, Mar. 1985.
- [29] P. S. Hamilton and W. J. Tompkins, “Quantitative Investigation of QRS Detection Rules Using the MIT/BIH Arrhythmia Database,” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. BME-33, no. 12, pp. 1157–1165, Dec. 1986.
- [30] I. Romero, B. Grundlehner, J. Penders, J. Huisken, and Y. H. Yassin, “Low-power robust beat detection in ambulatory cardiac monitoring,” in *2009 IEEE Biomedical Circuits and Systems Conference*, Nov. 2009, pp. 249–252.
- [31] R. F. Yazicioglu, S. Kim, T. Torfs, H. Kim, and C. V. Hoof, “A 30 W Analog Signal Processor ASIC for Portable Biopotential Signal Monitoring,” *IEEE Journal of Solid-State Circuits*, vol. 46, no. 1, pp. 209–223, Jan. 2011.
- [32] “Heart Monitoring ECGenie | Mouse Specifics, Inc.” [Online]. Available : <https://mousespecifics.com/heart-monitoring/ecgenie/>
- [33] “DSI.” [Online]. Available : <http://www.datasci.com/>
- [34] M. D. McCauley and X. H. Wehrens, “Ambulatory ECG Recording in Mice,” *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, no. 39, May 2010.
- [35] “E-Mitter Mouse Telemetry | Battery-Free & Implantable.” [Online]. Available : <http://www.starrlifesciences.com/products/e-mitter-mouse-telemetry-transponders>

Chapitre 2

A Wireless System for Combined Heart Optogenetics and Electrocardiography Recording

2.1 Résumé

Cet article présente un nouveau system sans-fil combinant optogénétique cardiaque et enregistrement d'électrocardiogramme (ECG). La conception de ce prototype vise à adapter l'optogénétique, actuellement utilisé principalement au niveau du cerveau, à la recherche sur les maladies du coeur. Un tel système a plusieurs applications que ce soit pour la recherche en laboratoire ou encore le développement d'un stimulateur cardiaque optogénétique avec mesure d'ECG. Le prototype proposé est conçu pour la recherche expérimentale sur de petits animaux se déplaçant librement, il permet la photo-stimulation de cellules génétiquement modifiées avec différentes longueurs d'onde et différentes intensités. Le système peut mesurer l'ECG à l'aide de quatre électrodes positionnées selon le triangle d'Einthoven. Il est controlé sans-fil par un ordinateur où les données peuvent être affichées en temp réel. L'appareil pèse 1.12 g sans la batterie et permet une autonomie de 3 heures d'enregistrement et de stimulation en continu avec une batterie de 100 mAh.

2.2 Abstract

This paper presents a new wireless device for performing combined heart optogenetics and electrocardiography (ECG) recording. While optogenetics is extensively used in brain research, the designed prototype aims at expanding this groundbreaking experimental approach to research and applications on heart diseases. Such a system has a multitude of applications ranging from laboratory research to the development of non-invasive optogenetic pacemaker with ECG feedback for heart resynchronization. The proposed prototype is designed for exper-

imental research with small freely moving animals enabling photo-stimulation of genetically modified cells using three different wavelengths with four intensities. The system can record the heart ECG through four electrodes positioned as specified by the Einthoven's triangle. It is controlled wirelessly through a host computer where the recorded data can be displayed in real-time. The device weights 1.12 g without battery and has an autonomy of 3 hours of continuous stimulation and recording using a 100-mAh battery.

2.3 Introduction

Optogenetics is a groundbreaking new experimental approach that allows using light to control cells for further exploring and understanding the inner working of the human brain. This approach combines optics and genetics, to allow the stimulation or inhibition of cells activity with light. Cells genome can be modified to produce proteins that act as light-gated ion channel [1], [2]. These channels can be activated using light at a given wavelength. For example, the channelrhodopsin-2 (ChR2) protein is activated by blue light (470 nm) [3]. The activation of the modified channels enables to depolarize the cell at will. Several researchers are currently studying the brain using existing optogenetic systems, such as wired platform [4], but also new miniature devices with wireless capabilities [5].

The power of optogenetics have recently been extended to research in cardiology [3], [6]. A system specifically designed for cardiac optogenetics has a multiple of applications, such as replacing the conventional artificial pacemaker. Indeed, cardiac light stimulation is a promising replacement for electrical stimulation [7], since this new approach presents several advantages over electrical stimulation. First, photo-stimulation offers a better isolation between stimulation and recording circuitry, leaving the recorded signal and the recording electronics not affected by stimulation. The use of light also prevents damage to the recording circuit and avoids any recovery period in the amplifiers after stimulation pulses. Then, current pacemakers demand intrusive installation on the patient through a surgery which involves risk of complications or rejection from the body, and affects the patients' quality of life. A device pacing cells using light would not need to be implanted directly into the heart since it can reach cardiac cells through tissues from outside the body. Even if light stimulation pulses illuminate a wide section of the heart, only the genetically modified cells would respond to the stimulation. Thus, optogenetic pacemakers represent a tremendous evolution compared to conventional electrical implantable devices at several levels, such as safety and convenience.

In this paper, we present the first system designed for wireless heart optogenetics and electrocardiography (ECG) recording. The developed prototype allows to study small and freely moving animals with the smallest impact on their stress level to avoid any misleading stress-related events in the ECG signals. The system is controlled by means of a computer where the ECG signals can be displayed in real-time. Section 2.4 provides an overview of the propo-

sed device and Section 2.5 a description of the design. Then, the measured performances and *in-vivo* results with mice are presented in sections 2.6 and 2.7. Finally, conclusions are drawn in the last section.

2.4 System Overview

Figure 2.1 shows the concept of the prototype installed on the back of a mouse. The main component of the system is a thin printed circuit board (PCB), containing the analog front-end circuitry for ECG recordings, the photo-stimulation circuit, the low-power microcontroller (MCU) and the wireless transceiver. This section is mounted on the back of the animal. To connect the main circuit board to the heart, a flexible connector in the shape of a band is used. This flexible band has an adjustable length to facilitate its installation during surgical procedures right before performing *in-vivo* trials. At the end of this band, there is the implantable section of the system, where a LED and four electrodes are installed. Depending on the stimulation wavelength, this part can be placed between the skin and the sternum or directly on the skin of the subject (see Section 2.5.4). In both cases, it must be aligned with the heart for proper optogenetic stimulation and ECG recording. The connection between the flexible and rigid sections of the system is made through a zero inertial force (ZIF) connector.

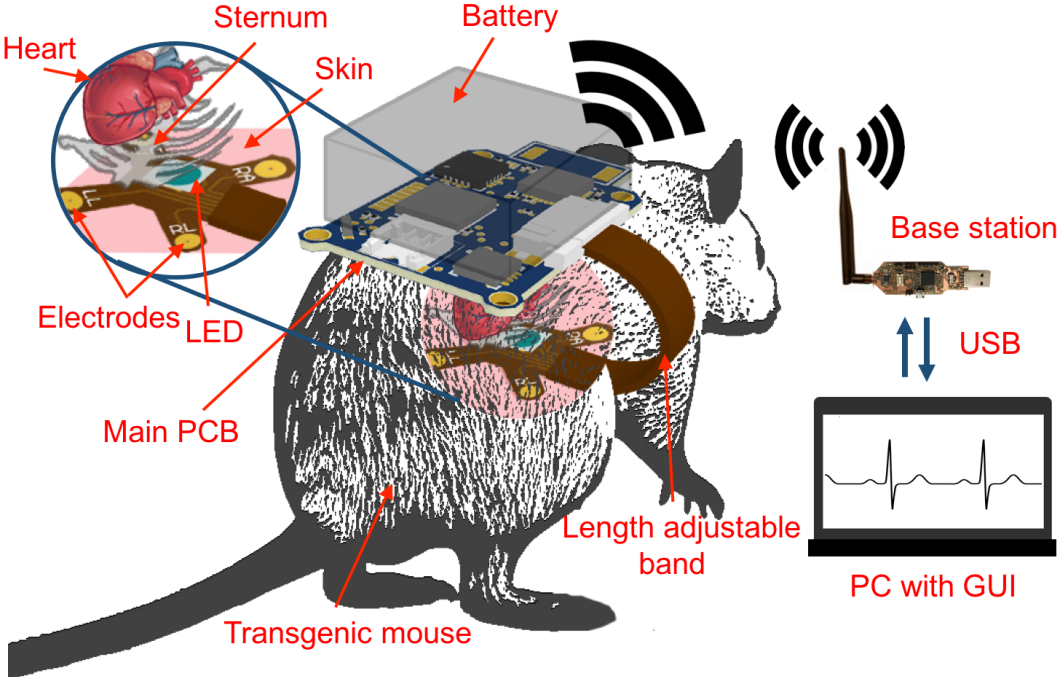


FIGURE 2.1 – A prototype of the proposed system installed on the back of a transgenic mouse.

The system communicates wirelessly with a computer through a USB base station equipped with a wireless transceiver. A user can control/configure the system and retrieve the ECG data

through a graphical user interface (GUI). The computer program offers stimulation pattern creation and real-time ECG data visualization. These components were derived in part from existing hardware and software designed for a brain-computer interface combining optogenetics and electrophysiology [5], [8] developed by our group at *Biomedical Microsystems Laboratory, Laval University* (BioML-UL).

2.5 System Design

The device consists of multiple submodules all implemented using discrete commercial off-the-shelf (COTS) electronic components. A block diagram of the whole device is shown in Figure 2.2.

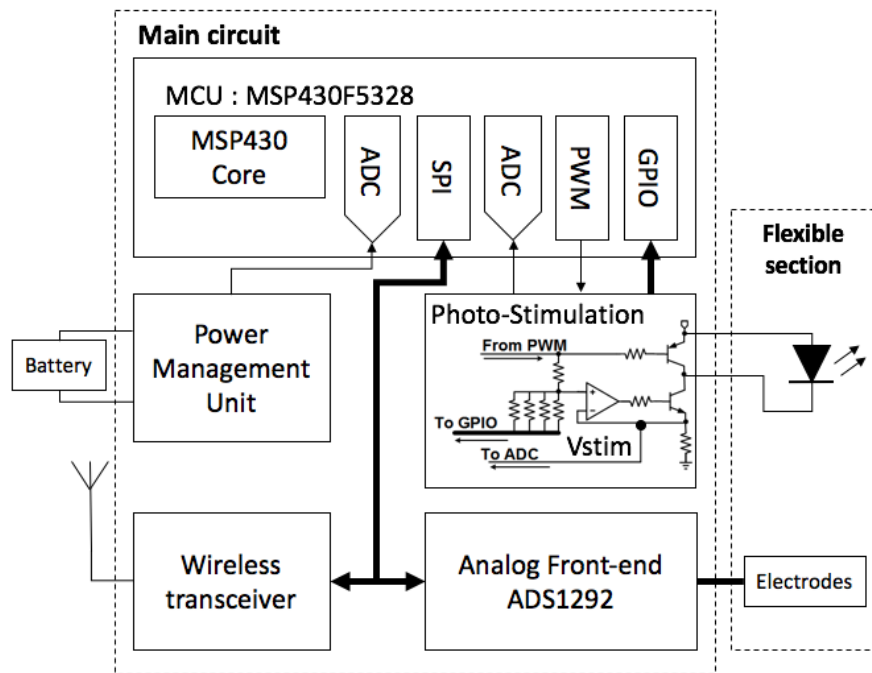


FIGURE 2.2 – Block diagram of the proposed system.

2.5.1 Photo-Stimulation Circuit

A similar circuit to the one previously used by our group for brain optogenetics [8] is used for this application. This version is specifically designed to accommodate a higher-power LED to transmit enough light to trigger photo-sensitive heart cells through the sternum. The circuit offers programmable photo-stimulation intensity through four different LED currents. The stimulation patterns can be controlled through the MCU with a pulse-width modulated signal (PWM), which allows to create fully customizable patterns. The frequency and the duty-cycle of the PWM can change to provide different stimulation patterns. The signal is applied to the

LED driver shown in Figure 2.2 to activate the photo-stimulating LED with a current ranging from 79 to 198 mA for a maximal optical power of 208.5 mW. This circuit precisely controls the amount of current using a close-loop op-amp. The current is sensed through the V_{stim} node (Figure 2.2) with an analog-to-digital converter (ADC) implemented inside the MCU to monitor the timings between optical stimulations and heart responses in the ECG signal. Figure 2.3a shows the LED driver location on the main board.

2.5.2 Analog Front-End

For the ECG recording module, the circuit is based on the integrated circuit ADS1292 Analog front-end (AFE) from *Texas Instrument* (TI) specifically developed for ECG recording. This IC contains two ADC channels both with a 24 bit resolution and an input-referred noise of $8 \mu V_{pp}$. It communicates with the MCU through a Serial Peripheral Interface (SPI) bus. This module allows a four electrodes ECG recording (see sections 2.5.4 and 2.5.5) with a driven right leg (DRL) circuit which reduces the 50/60 Hz noise picked up by the body for better common-mode rejection. The location of the AFE on the board is shown on Figure 2.3a. More details are given on ECG data acquisition and extraction in Section 2.5.5.

2.5.3 Wireless Transceiver and Control

To control every submodules, a MSP430F5328 MCU from *Texas Instrument* is used. This MCU offers several useful peripherals such as SPI and ADCs with minimal power requirements. The MCU firmware is based on FunkOS real-time operating system (RTOS) from *Funkenstein Software*. This RTOS can handle multiple tasks including an idle mode to extend battery life. The MCU communicates wirelessly with the base station through an nRF24L01+ IC from *Nordic Semiconductor*. This transceiver is connected with the MCU through a SPI bus. It transmits and receives data within an ISM 2.4-GHz band and provide the required data rate vs power consumption ratio [8] for reliable configuration packets reception and ECG data packets transmission.

2.5.4 Flexible Band and Implantable Part

Figure 2.3 represents the flexible band and implantable section of the system. Both are implemented within a single flexible polyimide board. At one end, there is the flat connector, the length of which can be adjusted simply by using scissors. Once adjusted, this end of the band is inserted in the ZIF connector of the main PCB. At the other end is the implantable section. Four gold-plated electrodes and one LED are implemented and mounted to it.

The electrodes were disposed using the Einthoven’s triangle (see Figure 2.4) for a standard ECG signal acquisition. The right arm (RA), left arm (LA) and left leg (LL) electrodes are used to directly measure limb Lead I and II with the right leg (RL) electrode used as the reference. See Section 2.5.5 for limb leads details.

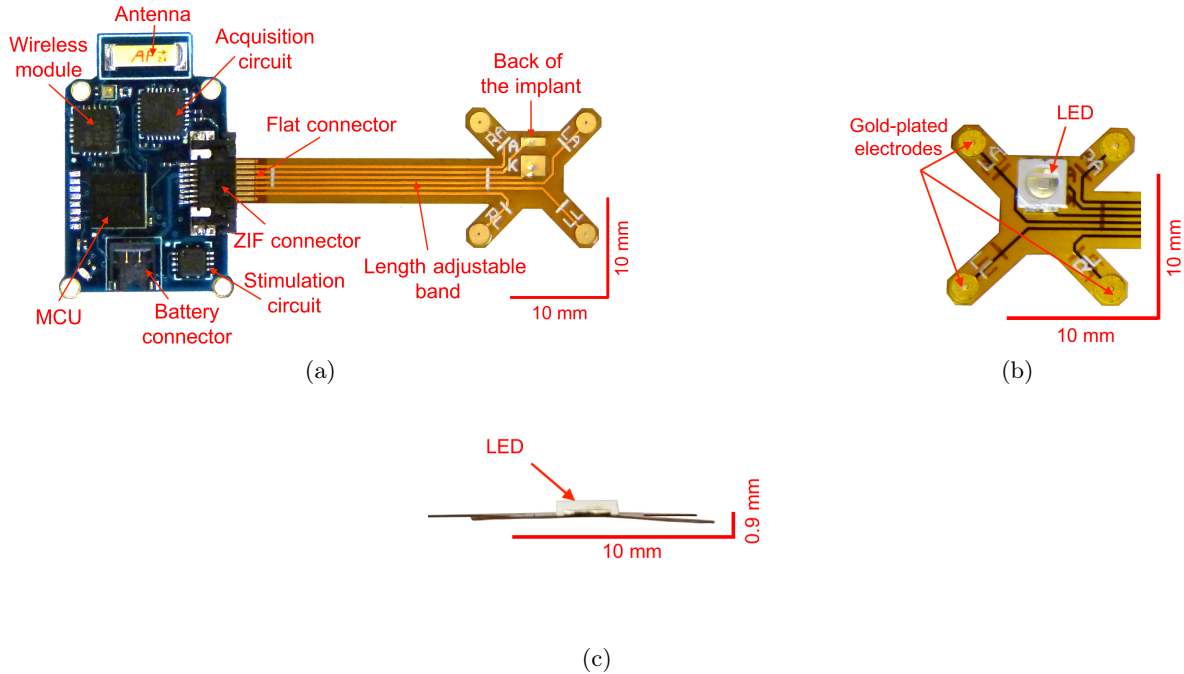


FIGURE 2.3 – Main components of the proposed optogenetic/ECG recording system : (a) Main circuit board including all electronic parts and flexible band with implant, (b) implant with gold-plated electrodes and (c) side-view of the implant.

The selected photo-stimulation LED is the 3535L from *Luxeon*. This package is available in different visible center wavelengths, especially blue (470 nm), orange-red (615 nm) and red (625 nm). These wavelengths can be used to activate cells expressing ChR2 at 470 nm [3] or red-shifted channelrhodopsin (ReaChR) at 615 or 625 nm LEDs [9]. One major advantage of the latter wavelengths is the superior tissues and bones penetration, which is extremely convenient to reach the minimum cell activation power density through the tissues and the sternum [9].

2.5.5 ECG Limb Leads Extraction

One important feature of the proposed system, is its ability to record ECG signals and to perform optogenetic stimulation simultaneously. The selected COTS analog front-end ensures high signal quality and the electrodes located on the implantable part allow to study the heart in its entirety by enabling the visualization of the six limb leads of the Einthoven’s triangle represented in Figure 2.4a. The corresponding positions on the mouse are presented in Figure 2.4b [10]. The six limb leads are : Lead I, Lead II, Lead III and the augmented limb leads aVR, aVL and aVF.

The values of Lead III and the augmented limb leads can be calculated with the measured values of Lead I and Lead II. These two leads are directly measured by the circuit presented

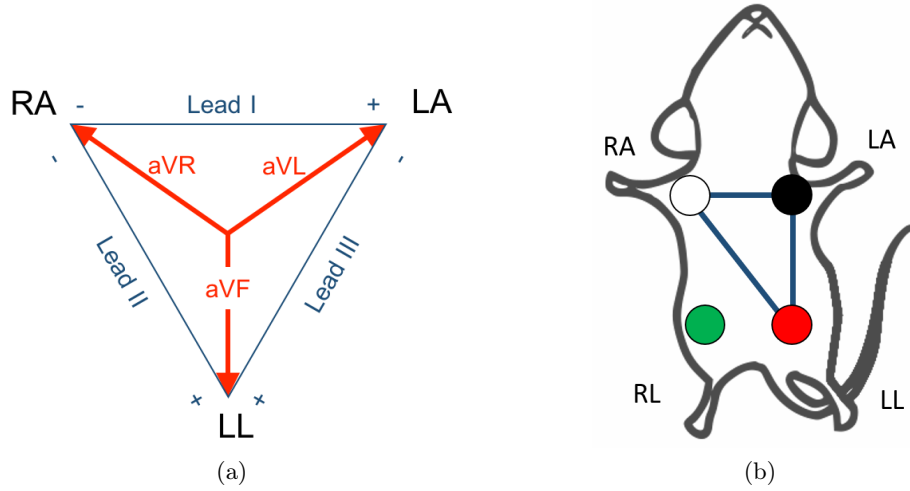


FIGURE 2.4 – (a) Einthoven's triangle representing the six limb leads and (b) Einthoven's triangle on a mouse.

in Section 2.5.2. Using Figure 2.4a, it is possible to establish these equations :

$$I = LA - RA, \quad II = LL - RA, \quad III = LL - LA \quad (2.1)$$

Using (2.1), the equivalent of Lead III can be found with Lead I and Lead II values as follow :

$$III = (II + RA) - (I + RA) = II - I \quad (2.2)$$

Similarly, it is possible to derive the values of the three augmented limb leads as shown bellow :

$$aVR = RA - \frac{1}{2}(LA + LL) = -\frac{I}{2} - \frac{II}{2} \quad (2.3)$$

$$aVL = LA - \frac{1}{2}(RA + LL) = I - \frac{II}{2} \quad (2.4)$$

$$aVF = LL - \frac{1}{2}(RA + LA) = II - \frac{I}{2} \quad (2.5)$$

These equations are implemented in the host software to extract the six leads. These leads give access to a fine picture of the heart dynamics and general condition.

2.6 Measured Performance

A prototype of the proposed system was implemented within COTS and fully characterized. Table 2.1 summarizes the characteristics and the measured performances of the proposed system. The prototype presents different characteristics important for its compatibility with small animals. It is light with a total weight (w/ battery) of about 3.3 g, it has a small footprint with dimensions of 24 x 16 x 8 mm for the main circuit and the flexible band is adjustable from 40 to 25 mm. The autonomy of the device (20 hours in idle mode) and its fast wireless transmission rate (2 Mbps) are also key features for long and untethered *in-vivo* experiments.

TABLE 2.1 – System characteristics and measured performance.

Parameter	Value
# of recording/stimulation channels	2/1 channels
Recording resolution	24 bits
# of measured limb leads	2 leads (Lead I and II)
Total # of limb leads	6 leads
Maximum sampling frequency per channel	8000 Hz
Maximum wireless transmission rate	2 Mbps
Stimulation LED currents	4 currents from 79 to 198 mA
Stimulation LED wavelengths	470, 615 and 625 nm
Maximum direct LED irradiance	2.2 mW/mm ²
Main PCB dimensions with battery (L x W x H)	24 x 16 x 8 mm
Flexible band length	25 to 40 mm
Main PCB weight	1.12 g
Total weight (w/ 100-mAh battery)	3.3 g
Power consumption (idle)	18.5 mW
Power consumption (w/ daq. and stim.)	111.0 mW
Autonomy (w/ 100-mAh battery, idle / w/ daq. and stim.)	20.0 / 3.3 hours

2.7 *In-Vivo* Trials

2.7.1 Experimental Setup and Mouse Preparation

A proof of concept (POC) prototype was used to validate the proposed system. Figure 2.5a and 2.5b show the experimental setup used to perform *in-vivo* trials to validate the system characteristics (size, weight, type of electrodes and material, etc.) and ECG recording capabilities. The experimental procedures described below were approved by the Laval University’s Animal Care Committee. Mice were anaesthetized with 4% isoflurane and pain reflex checked before making a small ventral incision under the right forepaw. The implantable part of the device was then introduced and positioned between the sternum and the skin to be lined up with the heart. Each animal was euthanized after having recorded the ECG.

2.7.2 *In-Vivo* Results

Figure 2.5c presents the ECG signal recorded in a mouse implanted with the POC system. The QRS complexes [11], which represent the depolarization of the ventricular cells, can be clearly identified even if large artifacts caused by the movement of the animal during respiration are present. These artifacts will need to be removed in future work using mechanical and active filtering methods [12]. Then, the irradiance of the LED was measured through the sternum of the mouse using the S130C light power sensor from *Thorlabs*. The irradiance was about 0.23 mW/mm² for the 615 and 625 nm LED, and 0.06 mW/mm² at 470 nm. Overall, these *in-vivo* trials allowed to validate the proposed concept in a practical application.

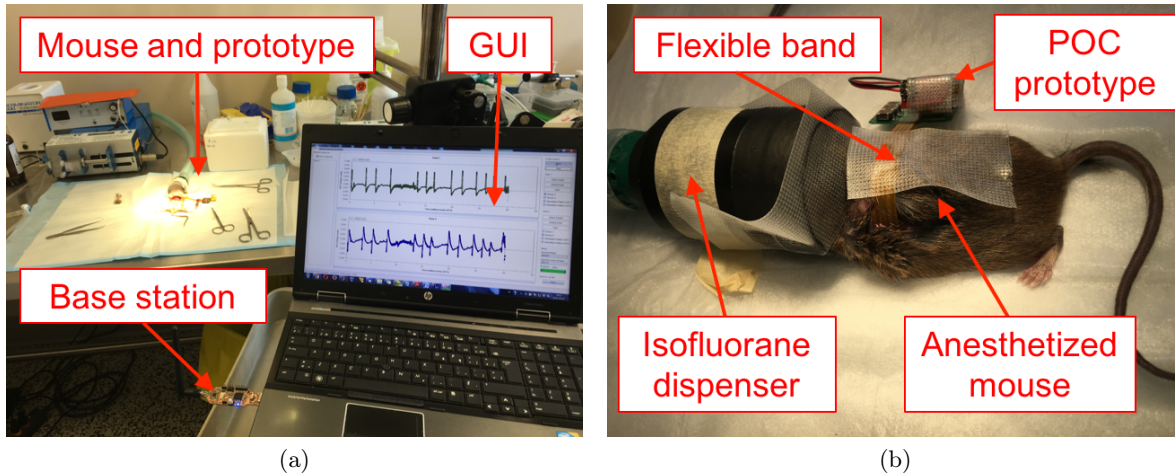


FIGURE 2.5 – *In-vivo* results : (a) experimental setup with the user interface and the base station, (b) anesthetized mouse with proof of concept (POC) prototype mounted on its back and (c) recorded ECG signal with artifacts.

2.8 Conclusion

We presented the design, implementation and experimental validation of the first wireless system for heart optogenetics and ECG recording with laboratory animals. The proposed device has several desirable features to enable groundbreaking research on cardiac diseases and their treatments. The implemented prototype allows photo-stimulation of genetically modified heart cells and recording of their responses through four ECG electrodes. The system is controlled wirelessly by a host computer connected with the prototype through a low-power wireless connection. ECG data can be acquired and displayed in real-time for fast analysis. A POC prototype has been successfully used to perform ECG recordings *in-vivo* with mice. In next steps, our prototype will allow both ECG data acquisition and photo-stimulation with transgenic mice. Such device can be used as a health monitoring device during various types

of *in-vivo* experiments such as brain stimulation and recording, or for developing new devices and treatments, such as optogenetic pacemakers.

2.9 Bibliographie

- [1] E. S. Boyden, F. Zhang, E. Bamberg, G. Nagel, and K. Deisseroth, “Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity,” *Nature Neuroscience*, vol. 8, no. 9, pp. 1263–1268, Sep. 2005.
- [2] F. Wang, E. Bélanger, M.-E. Paquet, D. C. Côté, and Y. De Koninck, “Probing pain pathways with light,” *Neuroscience*, vol. 338, pp. 248–271, Dec. 2016.
- [3] O. J. Abilez, “Cardiac optogenetics,” in *2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, Aug. 2012, pp. 1386–1389.
- [4] “Plexon Inc.” [Online]. Available : <http://www.plexon.com>
- [5] G. Gagnon-Turcotte, Y. LeChasseur, C. Bories, Y. Messaddeq, Y. D. Koninck, and B. Gosselin, “A Wireless Headstage for Combined Optogenetics and Multichannel Electrophysiological Recording,” *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–14, Feb. 2017.
- [6] T. Zaglia, N. Pianca, G. Borile, F. Da Broi, C. Richter, M. Campione, S. E. Lehnart, S. Luther, D. Corrado, L. Miquerol, and M. Mongillo, “Optogenetic determination of the myocardial requirements for extrasystoles by cell type-specific targeting of ChannelRhodopsin-2,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 112, no. 32, pp. E4495–4504, Aug. 2015.
- [7] U. Nussinovitch and L. Gepstein, “Optogenetics for in vivo cardiac pacing and resynchronization therapies,” *Nature Biotechnology*, vol. 33, no. 7, pp. 750–754, Jul. 2015.
- [8] G. Gagnon-Turcotte, A. A. Kisomi, R. Ameli, C.-O. D. Camaro, Y. LeChasseur, J.-L. Néron, P. B. Bareil, P. Fortier, C. Bories, Y. de Koninck, and B. Gosselin, “A Wireless Optogenetic Headstage with Multichannel Electrophysiological Recording Capability,” *Sensors*, vol. 15, no. 9, pp. 22 776–22 797, Sep. 2015.
- [9] J. Y. Lin, P. M. Knutsen, A. Muller, D. Kleinfeld, and R. Y. Tsien, “ReaChR : A red-shifted variant of channelrhodopsin enables deep transcranial optogenetic excitation,” *Nature neuroscience*, vol. 16, no. 10, pp. 1499–1508, Oct. 2013.
- [10] B. J. Boukens, M. R. Rivaud, S. Rentschler, and R. Coronel, “Misinterpretation of the mouse ECG : ‘musing the waves of Mus musculus’,” *The Journal of Physiology*, vol. 592, no. 21, pp. 4613–4626, Nov. 2014.
- [11] D. E. Becker, “Fundamentals of Electrocardiography Interpretation,” *Anesthesia Progress*, vol. 53, no. 2, pp. 53–64, 2006.

- [12] H. Kim, S. Kim, N. V. Helleputte, T. Berset, D. Geng, I. Romero, J. Penders, C. V. Hoof, and R. F. Yazicioglu, "Motion artifact removal using cascade adaptive filtering for ambulatory ECG monitoring system," in *IEEE BioCAS*, Nov. 2012, pp. 160–163.

2.10 Copyright notice

© 2017 IEEE. Reprinted, with permission, from L. L. Gagnon, G. Gagnon-Turcotte, A. Popek, A. Chatelier, M. Chahine and B. Gosselin, "A wireless system for combined heart optogenetics and electrocardiography recording," 2017 IEEE ISCAS, Baltimore, MD, May 2017.

Chapitre 3

Réduction des artefacts

Afin de réduire l'effet des artefacts sur la qualité des signaux ECG, deux méthodes sont envisagées. La première est une méthode mécanique, le type d'électrodes et la façon de les utiliser est revu dans le chapitre 4. La seconde méthode repose sur le traitement de signal et il s'agit du sujet du présent chapitre. Dans ce chapitre, toutes les manipulations effectués sur les signaux sont effectuées à l'aide du logiciel MATLAB.

3.1 Sélection de la technique de filtrage

Différentes techniques ont été identifiées dans la revue de littérature du chapitre 1. Étant donnée les requis du projet, soit un fonctionnement en temps réel sur une plateforme basse consommation, les algorithmes de réduction d'artefacts reposant sur des filtres adaptatifs sont les plus adéquats. Cette technique nécessite un signal de référence aux artefacts. Il existe plusieurs façon d'obtenir un tel signal, mais le présent ouvrage explorera davantage la mesure d'impédance directe [1] et [2]. La variation d'impédance entre les électrodes et le corps est la cause directe des artefacts, cette variation étant causée par des mouvements. Il s'agit donc d'une bonne manière d'estimer ces artefacts. De plus, cette mesure s'avèrera simple grâce à un circuit intégré de Texas Instrument (voir la section 3.5). Quatre algorithmes d'estimation des coefficients du filtre seront évalués : LMS, NLMS, LMS avec pas adaptatif (*adaptive step-size* ou LMS-AS) [2] et une nouvelle proposition basé sur les trois autres, soit le NLMS avec pas adaptatif (NLMS-AS).

3.2 Implémentation des algorithmes

La figure 3.1 est un schéma en bloc du filtre implémenté dans MATLAB. Il se base sur la théorie présenté au chapitre 1 et sur le livre de Behrouz Farhang-Boroujeny [3]. Les deux entrées sont le signal ECG corrompu (ECG + artefacts) et le signal corrélé aux artefacts, soit l'impédance électrode-peau ou encore *electrode-tissue impedance* (ETI). En sortie, il y a

simplement le signal ECG filtré.

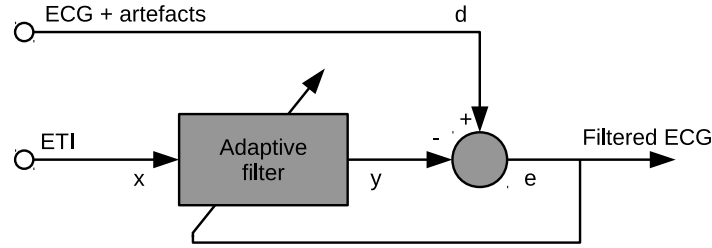


FIGURE 3.1 – Schéma du filtre adaptatif.

À partir de cette figure, on obtient les équations (3.1) et (3.2) :

$$e[k] = d[k] - y[k] \quad (3.1)$$

$$y[k] = \mathbf{x}_k^T \mathbf{w}_k \quad (3.2)$$

avec k l'indice de l'échantillon en cours, \mathbf{x}_k un vecteur contenant les N derniers échantillons du signal d'impédance et \mathbf{w}_k le vecteur des N coefficients. Ce vecteur est calculé à l'aide des équations suivantes, selon l'algorithme utilisé. Pour LMS, l'équation (3.3) définit le calcul des coefficients. Le paramètre μ (pas ou *step-size*) régit la rapidité et la stabilité de l'algorithme.

$$\mathbf{w}_{k+1} = \mathbf{w}_k + 2\mu e[k] \mathbf{x}_k \quad (3.3)$$

Pour NLMS, l'équation (3.4) montre le calcul des coefficients avec β qui a un effet similaire au μ du LMS. Cependant, le paramètre β est normalisé, alors la stabilité de l'algorithme dépend moins du choix de ce dernier.

$$\mathbf{w}_{k+1} = \mathbf{w}_k + \frac{\beta}{\mathbf{x}_k^T \mathbf{x}_k} e[k] \mathbf{x}_k \quad (3.4)$$

Pour le LMS-AS [2] ou encore le NLMS-AS proposé ici, il faut simplement changer le μ de l'équation (3.3) ou β de (3.4) par $\mu'[k]$ selon les équations (3.5) et (3.6) où p est une constante et σ est l'écart type du signal en indice pendant la dernière moitié de cycle du rythme cardiaque (H) défini par l'équation (3.7). Dans cette dernière équation, HR est le rythme cardiaque en BPM, f_s la fréquence d'échantillonnage en Hz et H le nombre d'échantillons à utiliser pour le calcul d'écart type.

$$c[k] = \frac{\sigma_x[k] \cdot \sigma_d[k]}{p} \quad (3.5)$$

$$\mu'[k] = \begin{cases} \mu, & 0 \leq c[k] < \mu \\ c[k], & \mu \leq c[k] < 0.9 \\ 0.9, & 0.9 \leq c[k] \end{cases} \quad (3.6)$$

$$H = \frac{HR \cdot f_s}{120} \quad (3.7)$$

Pour les quatre algorithmes, il sera nécessaire de régler leur paramètre respectif (μ , β et p) et le nombre de coefficients (N) pendant les expérimentations.

3.3 Critères de performance

Afin de valider et comparer les algorithmes entre eux, il est nécessaire d'établir des critères de performances. Le premier consiste simplement à valider visuellement que les complexes QRS tel que vu au chapitre 1 sont intacts. Le second est le rapport signal à artefact (signal to artifact ratio ou SAR) [4]. Le SAR est défini par l'équation (3.8), avec σ_{ECG}^2 la variance de l'ECG pendant trois battements sans artefact et $\sigma_{ECG_MA}^2$ la variance de l'ECG pendant six battements avec des artefacts de mouvement. Les échantillons pour le calcul des deux variances doivent provenir de la même expérimentation. Pour pouvoir comparer les différents algorithmes, les mêmes indices d'échantillons seront utilisés, c'est-à-dire pendant les mêmes artefacts. Bien entendu, un SAR plus élevé indique une meilleure performance de l'algorithme tant que ce dernier n'affecte pas la qualité des complexes QRS.

$$SAR_{dB} = 20 \cdot \log_{10} \left(\frac{\sigma_{ECG}^2}{\sigma_{ECG_MA}^2 - \sigma_{ECG}^2} \right) \quad (3.8)$$

3.4 Simulations

Il est important de valider l'efficacité de ces algorithmes en faisant quelques simulations. Les sections suivantes présentent la génération de signaux de synthèse et les résultats de simulation sur ceux-ci.

3.4.1 Génération d'artefacts dans un signal ECG normal

Le signal ECG présenté à la figure 3.2 a été enregistré sur un humain à l'aide du système présenté au chapitre 2 et d'électrodes autocollantes. Le signal est propre et normal, c'est-à-dire sans artefacts.

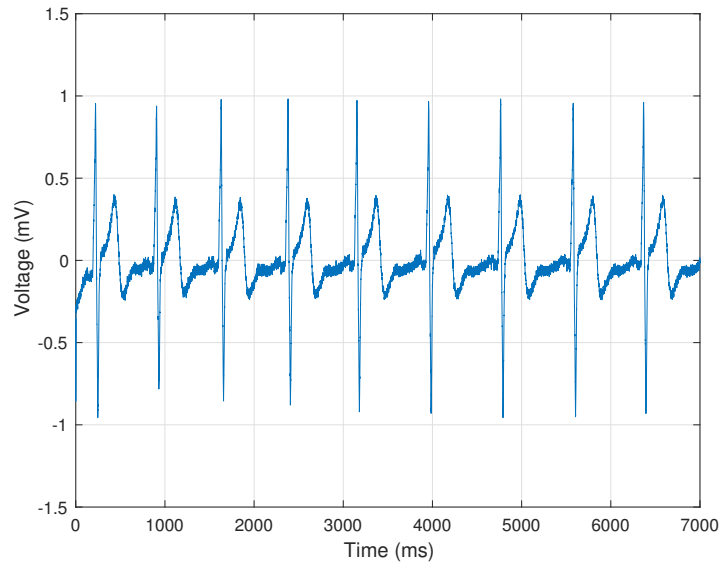


FIGURE 3.2 – Signal ECG propre utilisé pour les simulations.

Les artefacts sont générés de façon aléatoire tout en conservant leurs fréquences et amplitudes dans un intervalle acceptable. La figure 3.3 présente le signal ECG additionné avec les artefacts synthétiques. Par la suite, pour obtenir un signal corrélé à l'impédance, le signal d'artefacts est passé dans un filtre, puis décalé dans le temps. Ce signal nouvellement obtenu est présenté à la figure 3.3.

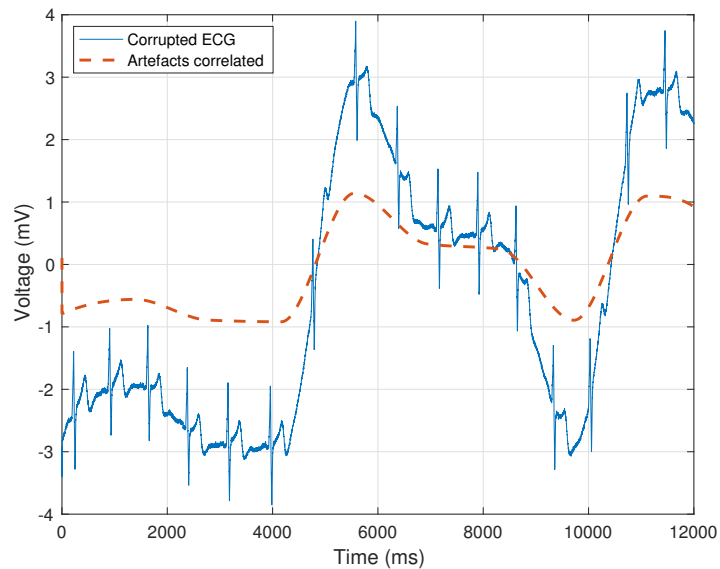


FIGURE 3.3 – Signal ECG corrompu et signal corrélé aux artefacts simulés utilisés pour les simulations.

3.4.2 Résultats de simulation

La figure 3.4 présente les résultats de simulation pour les quatre algorithmes avec les signaux générés à la section précédente. Le nombre de coefficients (N) utilisés est de deux ($N = 2$), car $N > 2$ n'avait pas d'effet important. La constante H est de 333 échantillons, car le rythme cardiaque est d'environ 80 BPM avec une fréquence d'échantillonnage de 500 Hz. Les paramètres ont été choisis manuellement pour permettre le filtrage en utilisant les critères de la section 3.3. Le tableau 3.1 présente les SAR des simulations effectuées. On peut aussi y voir l'amélioration du SAR, soit le SAR relatif au SAR sans filtrage. On remarque que les algorithmes NLMS et NLMS-AS sont les plus performants et le LMS et LMS-AS les moins performants. La différence entre les résultats du LMS et NLMS s'explique par le temps de convergence qui est plus long du côté du LMS comme on peut le voir sur la figure 3.4. Les SAR du LMS-AS et NLMS-AS sont très près des SAR du LMS et NLMS respectivement. Il restera à voir ce qu'il en est avec des artefacts réels.

TABLE 3.1 – Rapports signal à artefact des différents algorithmes en simulation.

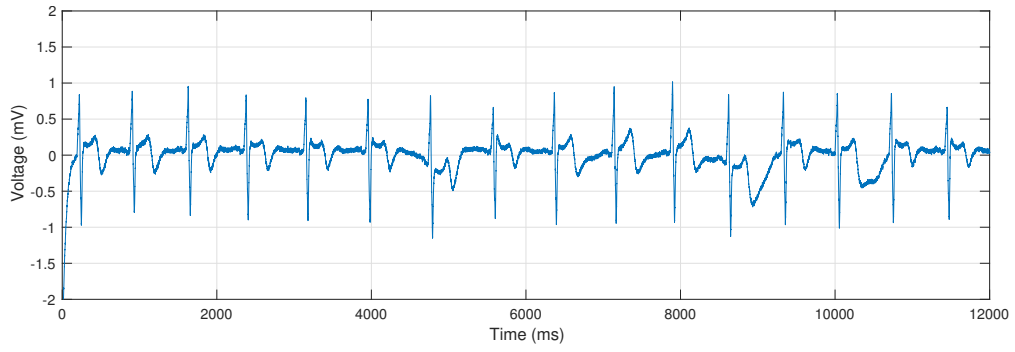
Algorithme	Paramètres	SAR (dB)	Amélioration (dB)
Aucun	N/A	-38.57	N/A
LMS	$\mu = 0.001$	9.93	48.50
LMS-AS	$\mu = 0.0007$ et $p = 4$	8.95	47.52
NLMS	$\beta = 0.002$	12.78	51.35
NLMS-AS	$\beta = 0.0015$ et $p = 2$	12.16	50.73

3.5 Acquisition de signaux biologiques

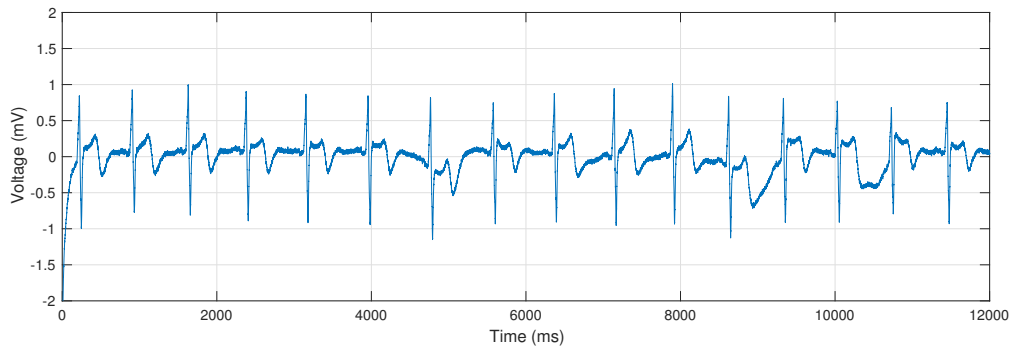
Avant de pouvoir valider quel algorithme répond le mieux aux besoins, il sera nécessaire de les tester avec de vrais signaux ECG corrompus. Pour ce faire, l'acquisition de l'ECG et la mesure d'impédance des électrodes doivent être simultanées. Étant donné que le système présenté au chapitre 2 ne permet pas d'obtenir de mesure d'impédance, ce dernier a été modifié en conséquence. La prochaine section présente la plateforme de test développée.

3.5.1 Plateforme de test

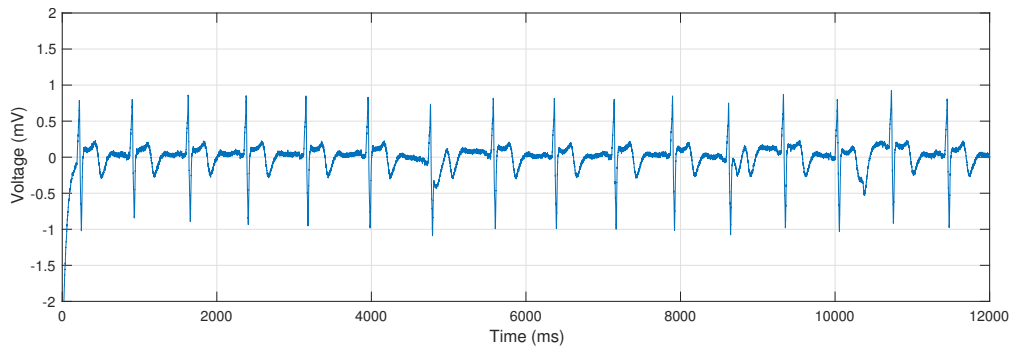
Dans le but de faciliter le travail, une nouvelle version du système plus facile à manipuler a été développée et fabriquée. La figure 3.5 montre l'extérieur et l'intérieur de la plateforme. On peut y voir notamment la présence des câbles qui permettent la connexion d'électrodes de surface Ag/AgCl autocollantes et jetables. Ces électrodes permettront de faire des tests sur des sujets humains sans danger. L'intérieur du système est composé notamment de la carte électronique et d'une batterie. Il s'agit en fait du même circuit qui sera présenté en détail au chapitre 4. Le circuit est très similaire à celui du chapitre 2, mais avec comme différence importante le



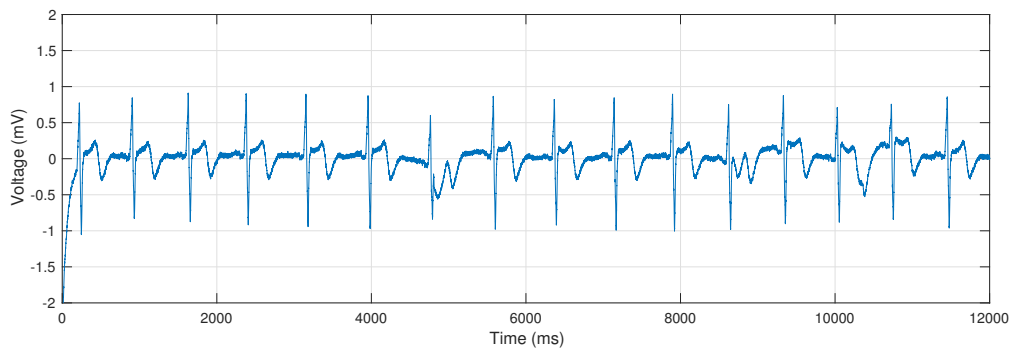
(a)



(b)



(c)



(d)

FIGURE 3.4 – Résultats de la simulation avec (a) LMS, (b) LMS-AS, (c) NLMS et (d) NLMS-AS.

modèle du circuit intégré utilisé pour la mesure des signaux biologiques. L'ADS1292 a été remplacé par un ADS1294R toujours de Texas Instrument. Les deux puces ont sensiblement les mêmes fonctions et performances, mais la nouvelle permet d'enregistrer jusqu'à quatre canaux simultanément, mais surtout elle permet l'enregistrement de l'impédance entre deux électrodes. Cette fonction est normalement utilisé pour la mesure de la respiration qui se caractérise par le changement de volume de la cage thoracique, ce qui entraîne une variation de l'impédance mesurée. Cette mesure peut donc être directement utilisé dans l'algorithme de filtrage comme signal corrélé aux artefacts.

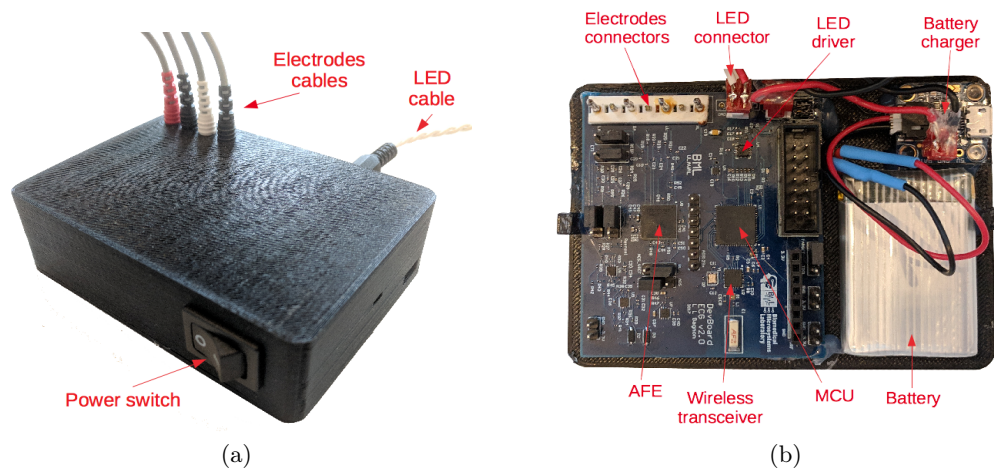


FIGURE 3.5 – Plateforme utilisée pour les tests : (a) extérieur et (b) intérieur.

Pour effectuer cette mesure, la puce permet d'injecter un très faible courant modulé via les électrodes. La puce peut ensuite effectuer une mesure de la tension aux bornes des mêmes électrodes. Après une démodulation fait automatiquement par l'ADS1294R, le signal est accessible au microcontrôleur. Ce signal peut ensuite être utilisé pour le filtrage.

3.5.2 Acquisition

Bien qu'au final le filtrage sera fait en temps réel, on débute ici par une acquisition simple permettant d'extraire les signaux nécessaires à la validation des algorithmes. En utilisant la plateforme présentée dans la section précédente, il a été possible d'enregistrer des signaux ECG sur un sujet humain à l'aide d'électrodes de surface autocollantes. Pendant l'enregistrement, le sujet bougeait ses bras pour induire des artefacts de mouvement dans le signal mesuré. La figure 3.6 présente les deux signaux enregistrés : l'ECG corrompu et le signal d'impédance des électrodes. On peut y voir une corrélation entre les artefacts dans l'ECG et le signal d'impédance.

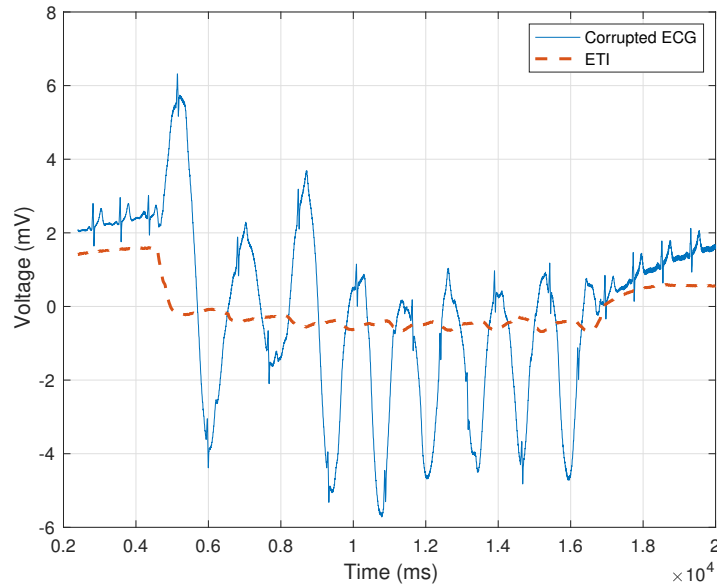


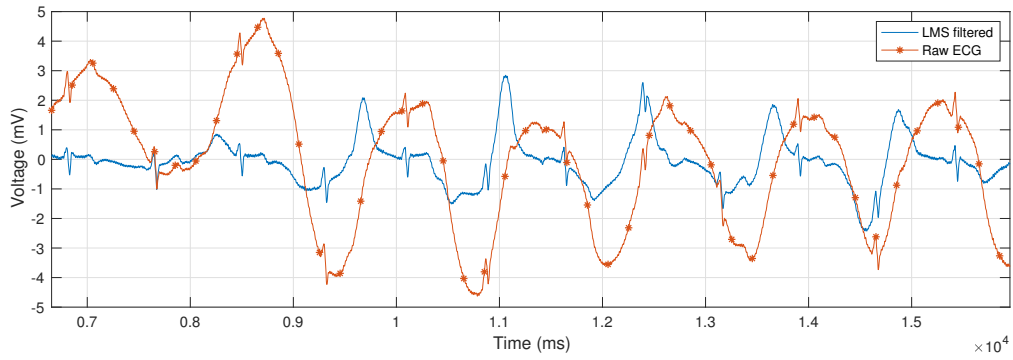
FIGURE 3.6 – Signal ECG et signal d’impédance (ETI) enregistrés avec la plateforme de test.

3.6 Essais avec les différents algorithmes

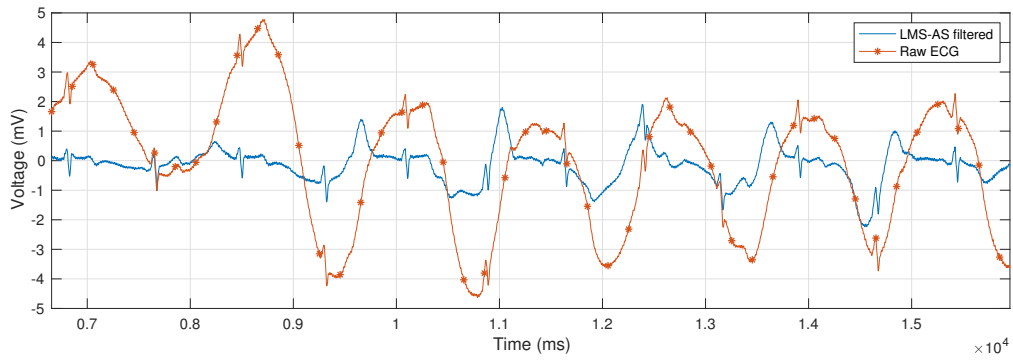
Dans cette section, les résultats de tests sur de vrais signaux sont présentés. Les tests ont été effectués sur cinq enregistrements différents avec des niveaux d’artefacts différents. La figure 3.6 montre l’un de ces enregistrements où l’amplitude des artefacts et le nombre de ces artefacts est le plus élevé. C’est d’ailleurs cet enregistrement qui a été utilisé pour les résultats de la figure 3.7. Sur cette dernière, on y voit bien l’efficacité des différents algorithmes. Le tableau 3.2 et la figure 3.8 présentent une comparaison des algorithmes quant à leur SAR moyen sur les mêmes cinq enregistrements. Les paramètres utilisés sont aussi présentés dans le tableau 3.2. Les paramètres ont été choisis pour s’assurer que les algorithmes LMS et LMS-AS restent stables, mais aussi pour éviter que l’algorithme ne détruise les complexes QRS comme on peut le voir sur la figure 3.9 où le pas de l’algorithme LMS était trop élevé ($\mu = 0.2$). Comme pour les simulations, le nombre de coefficients (N) est toujours de 2. Augmenter N n’avait pas d’effet visible sur la performance des algorithmes.

TABLE 3.2 – Rapports signal à artefact moyen et écart types des différents algorithmes.

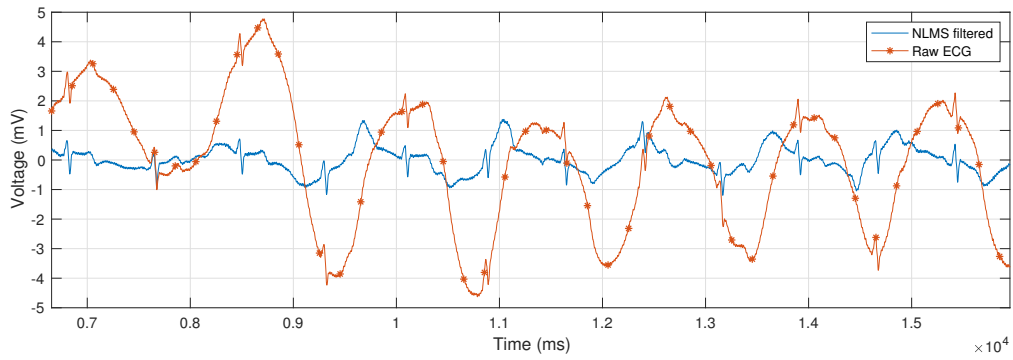
	LMS	LMS-AS	NLMS	NLMS-AS
Paramètres	$\mu = 0.1$	$\mu = 0.1$ et $p = 1$	$\beta = 0.05$	$\beta = 0.05$ et $p = 1$
SAR moyen (dB)	12.6412	14.1254	30.3524	36.6538
Écart type (dB)	8.0860	9.7374	7.8272	12.8924



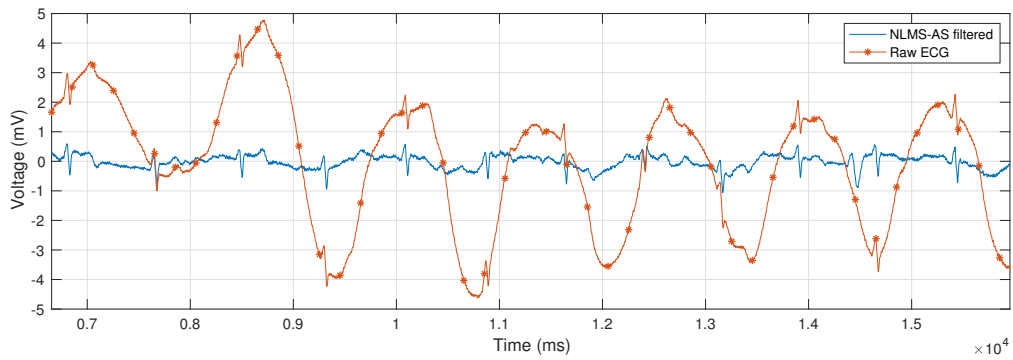
(a)



(b)



(c)



(d)

FIGURE 3.7 – Résultats des tests avec (a) LMS, (b) LMS-AS, (c) NLMS et (d) NLMS-AS.

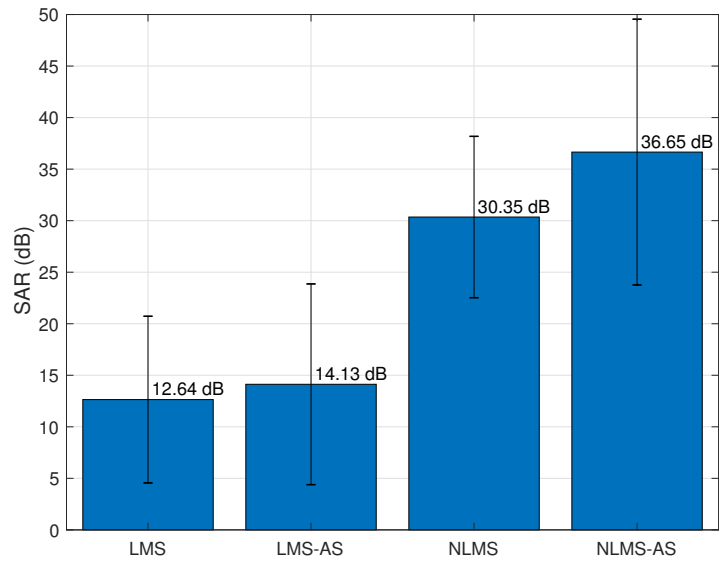


FIGURE 3.8 – Comparaison des algorithmes avec la moyenne et l'écart type des SAR sur 5 tests différents.

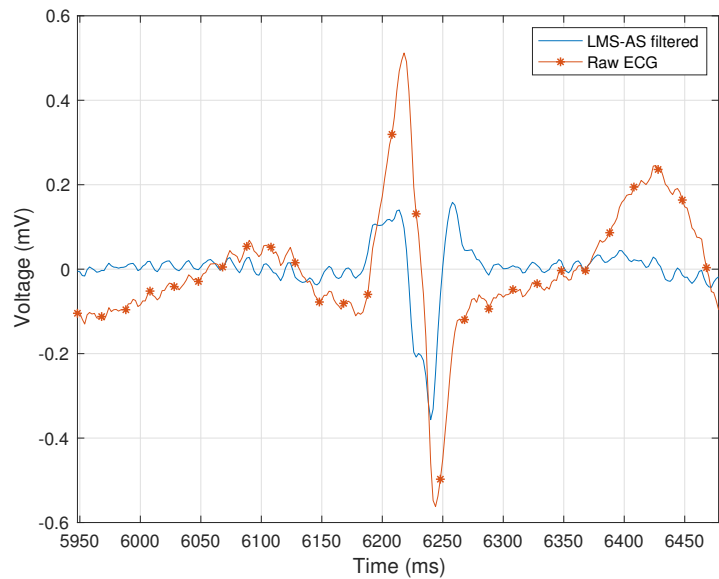


FIGURE 3.9 – Comparaison d'un complexe QRS normal et du même complexe détruit par l'algorithme LMS avec un pas trop élevé ($\mu = 0.2$).

3.7 Discussion

À partir des résultats des sections précédentes, on peut conclure que bien que l'algorithme LMS-AS soit un pas dans la bonne direction pour le retrait d'artefact de mouvement dans les ECG par rapport au LMS, il reste que l'algorithme NLMS présente plusieurs avantages. Celui-ci est beaucoup plus stable, ce qui permet une convergence rapide sans risquer d'avoir une sortie qui diverge complètement. Cependant, le NLMS peut tout de même avoir un effet négatif sur le signal de façon similaire à ce qui a été présenté à la figure 3.9. L'utilisation d'un pas adaptatif avec le NLMS-AS permet d'obtenir le meilleur SAR des quatre algorithmes présentés ici tout en conservant la stabilité du NLMS et en ayant un pas qui affectera moins le signal.

3.8 Bibliographie

- [1] S. Kim, R. F. Yazicioglu, T. Torfs, B. Dilpreet, P. Julien, and C. V. Hoof, "A 2.4 uA continuous-time electrode-skin impedance measurement circuit for motion artifact monitoring in ECG acquisition systems," in *2010 Symposium on VLSI Circuits*, Jun. 2010, pp. 219–220.
- [2] H. Kim, S. Kim, N. V. Helleputte, T. Berset, D. Geng, I. Romero, J. Penders, C. V. Hoof, and R. F. Yazicioglu, "Motion artifact removal using cascade adaptive filtering for ambulatory ECG monitoring system," in *IEEE BioCAS*, Nov. 2012, pp. 160–163.
- [3] B. Farhang-Boroujeny, *Adaptive Filters : Theory and Applications Second Edition.*, 2nd ed. Chichester, West Sussex, United Kingdom : Wiley, Jun. 2013.
- [4] H. Zhang, S. Zhang, Q. Jin, X. Liu, Q. Li, J. Yang, and J. Zhao, "Motion artifact suppression in ambulatory ECG with feed forward combined adaptive filter," in *2016 Computing in Cardiology Conference (CinC)*, Sep. 2016, pp. 1–4, iSSN : 2325-887X.

Chapitre 4

Electro-Optic System for Cardiac Optogenetics and ECG Recording with Real-Time Motion Artifacts Removal

4.1 Résumé

Cet article présente un nouveau système électro-optique pour l'optogénétique cardiaque. L'appareil vise à aider les scientifiques à utiliser l'optogénétique pour la recherche sur différentes maladies cardiaques. Par différentes méthodes, il a été possible d'augmenter l'immunité aux artefacts de mouvements, dont la version précédente souffrait, tout en conservant une basse consommation électrique. En plus de la conception, l'article va plus en profondeur dans l'analyse des caractéristiques et performances du système. Il démontre aussi la viabilité de l'appareil pour l'acquisition de signaux ECG in-vivo sur des souris, mais aussi pour le retrait d'artefacts de mouvement en temps réel.

4.2 Abstract

This paper presents a new electro-optic system for cardiac optogenetics. The device aims at helping scientists use optogenetics for research on different heart conditions. Using mechanical, electrical and software based methods, it was possible to increase motion induced artifacts immunity while keeping a low power device. In addition to design, the paper goes into a more in-depth analysis of the system characteristics and performances. It also demonstrates the viability of the device, both for laboratory in-vivo ECG acquisition using mice and for real-time active motion artifacts removal.

4.3 Introduction

Optogenetics combines optic and genetic for providing researcher a new way to activate or deactivate cells activity using light. This method provides a better and easier way to target single cell, when compared with electrical stimulation. Indeed, optogenetic stimulation can target specific type of cells within a localized area, contrasting with the electrical stimulation that diffuse non localized currents within the tissues. For these reasons, it is already used by many scientists to better understand the different mechanisms of the brain and nervous system. Others are even working on therapies based on optogenetics.

While optogenetics is at the moment mainly used for research on the brain and the nervous system, some researchers are trying to expand its capabilities to other fields such as the study of the cardiovascular system. Abilez [1] present one of the first tryout of in-vitro optogenetics using cardiac cells derived from human stem cells. One of the most popular protein for optogenetics is the Channelrhodopsin-2 (ChR2), which is sensitive to blue light. This protein act as a light-gated ion channel, as opposed to regular voltage gated ion channel. These light-gated ion channels, in this case, give the researchers the ability to stimulate the cells using blue light, allowing them to control the heart contractions. Other researchers, such as Nussinovitch and Gepstein [2] and Zaglia et al. [3] have pushed the experimentation to the next level by conducting in-vivo trials using small rodents. In both cases, the rodents were anesthetized since the light delivery system was based on a externally driven optical fiber and they were monitoring their experiment using a wired electrocardiograph. These researchers were able to use light for cardiac synchronization therapy, laying ground for future new kinds of experiments on the heart and its condition. The logical next step would be to conduct experiments on freely moving animals, to really leverage the possibilities of optogenetics. Thus, as stated by Zaglia et al. [3] there is a need for smaller, less obtrusive and wireless system for heart photo-stimulation and monitoring.

Small wireless system have already been developed to perform optogenetics experiments with freely-moving animal models, for example Gagnon-Turcotte et al. [4], or even commercial solution from Doric Lenses or Kendall Research Systems. These systems are available and proven for both photo-stimulation and bio-acquisition, but they are limited to brain research. At the time of this writing, there is no available solutions for cardiac optogenetics along with simultaneous ECG recording. However, some solution for heart monitoring exist. For example, DSI and Starr Lie Sciences Corp. offer different solutions to monitor the ECG and other vital signs using small implantable devices in animal research.

Confronted to the fact that there is a need for a wireless system combining heart optogenetics and ECG recording, we started the development of such a device and described its design and preliminary tests in [5]. Even though the system was able to record ECG and deliver light from a single cell battery with everything controlled by a host computer, there was a major

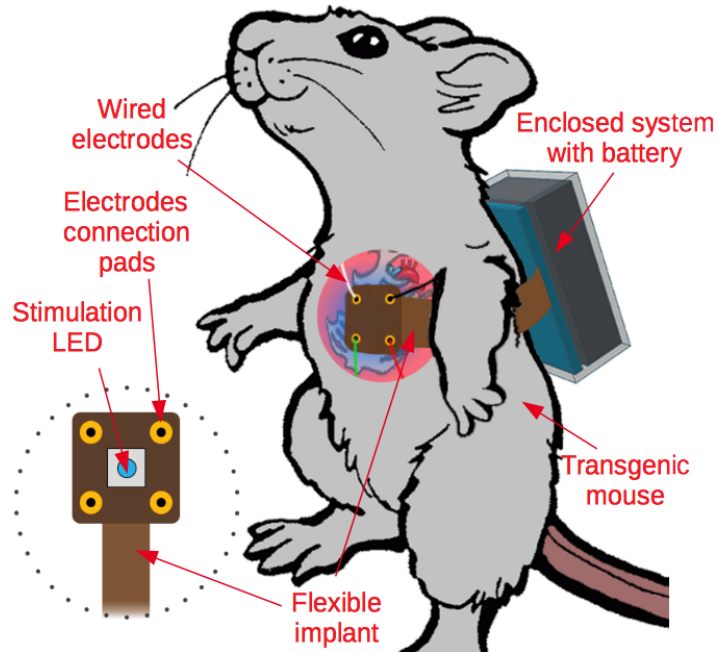


FIGURE 4.1 – Concept : Enclosed system on the back of a transgenic mouse with flexible implant inserted under the skin. The wired electrodes are attached near the limbs of the animal.

issue when it was hooked up to a living animal and it is the motion artifacts. These artifacts were induced by the movement of the animal’s chest and they corrupted the QRS complexes needed for ECG analysis.

In this paper, we present our first fully operational prototype for ECG recording and photo-stimulation with better artifacts immunity. The concept for the final implementation of the system is presented on Figure 4.1. The paper will also present more results and in depth analysis than the previous publication. It first starts by a presentation of the system architecture, followed by a thorough description of its sub-systems and the design choices. We will then present the updated measured performances and the new and more detailed in-vivo results.

4.4 System Overview

4.4.1 Signal processing

Multiple signal processing approaches have been considered by others to reduce artifacts in ECG. From those, we can think of adaptive filtering studied in [6], [7] and [8] to name a few, but also independent component analysis used in [9], [10] and others. Both methods have their advantages and disadvantages. The adaptive filtering solution requires a signal correlated to the artifacts which can be the electrode-tissue interface impedance (ETI) previously described

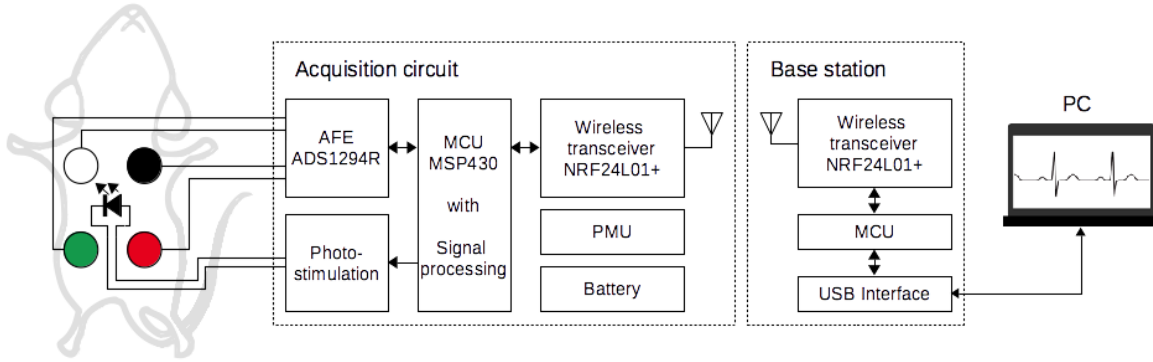


FIGURE 4.2 – Complete system architecture : from left to right, the test subject, the acquisition and stimulation circuits with the embedded microcontroller unit (MCU) and wireless transceiver, the base station and finally the PC.

in [7] or an accelerometer as in [8]. The algorithm is quite simple, as a simple FIR filter is needed so it is applicable for low power and real-time processing. In the case of ICA, there is no need for external measurement, but the calculation demands a faster processor and have higher latency. The latter is a better candidate for post-processing.

4.4.2 Hardware

Figure 4.2 shows the complete architecture of this project. On the left is a model of a mouse with the four electrodes and the LED used for acquisition and stimulation. At the other end, there is a PC with a custom application made to control and monitor the acquisition, stimulation and signal processing. In between, the core of the project. It is actually two different circuits, the base station is used to wirelessly connect the PC to the acquisition circuit. The wireless communication and stimulation circuitry is based on the same components as described in previous work [11]. For the acquisition circuit, it is an enhance version of the circuit presented in [5]. The next sections will present in a more in-depth way these new features and enhancements.

4.5 System Design

As the previous prototype was, the presented device is based on a TI MSP430 microcontroller with an integrated analog front-end for signals acquisition and a simple yet effective LED driver for photo-stimulation. The microcontroller, wireless transceiver, LED driver and base station have not changed in this new iteration, but the analog front-end (AFE) is new. We are using the ADS1294R IC from Texas Instrument.

4.5.1 Analog front-end

As stated in the previous sections, the presented solution to movement artifacts needs a signal correlated to the noise. This signal can come from multiple sources, but the most interesting in our case is the ETI. The principle behind ETI or any other impedance measurement is to use the well known Ohm's Law. Simply put, we need to apply a current into the load and measure the voltage across it. Using the equation $Z = V/I$, we can recover the impedance. Instead of developing a custom circuit for this, the ADS1294R from Texas Instrument, similar to the previously used ADS1292, will be used. This chip packs the same capabilities as the one used in the past, but with more input channels, four instead of two, and it comes with a new feature, a respiration measurement unit. This measurement unit is actually based on the same principle as the ETI measurement presented above. The IC injects a small amplitude oscillating current through the body using the same electrodes as for the ECG acquisition. The signals separation and demodulation is also done by the IC. The data can be accessed by a microcontroller using a SPI interface. The interface and internals of the ADS1294R is shown on Figure 4.3. The complete circuit can be seen on the CAD PCB presented on Figure 4.4.

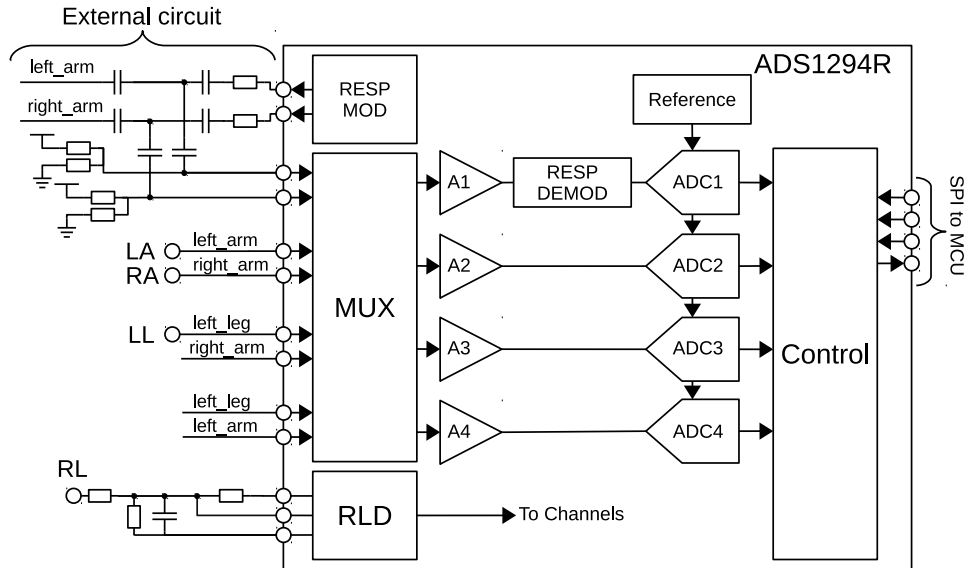


FIGURE 4.3 – Interface and internals of the ADS1294R IC from Texas Instrument.

4.5.2 Electrodes and photo-stimulation probe

In the first version, the electrodes used for ECG acquisition were attached together with the stimulation LED on a flexible PCB to facilitate installation during surgical procedures. This design has at least two flaws. First, the electrode itself is a small circular gold-plated pad on the PCB which doesn't adhere well to the animal tissues. This bad adhesion cause the electrode to easily move. Second, the fact that the electrodes and LED are all constraint together increases

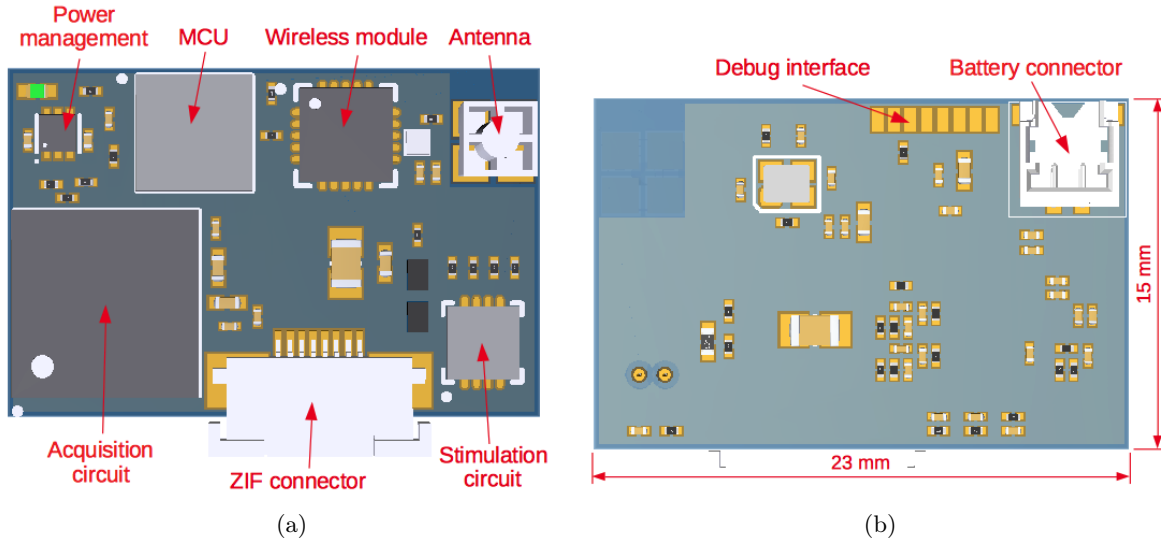


FIGURE 4.4 – CAD representation of the new miniature PCB : (a) top of the PCB with most of the components and (b) bottom of the PCB.

the amplitude of the movement caused by the thoracic motion during respiration.

To fix the first issue, we need to increase the adherence between each electrode and the body of the rodent. To do so, commercial equipment used in freely moving experiments integrate electrodes that are anchored to the animal’s muscles using sutures [12]. For the second issue, we only need to separate the electrodes and the LED so that they are all able to move with the animal body without displacing the others.

Using stainless steel wires, commonly used in bio-instrumentation [12], with one extremity soldered to the flexible PCB and the other end attached to the animal body, we can add some mechanical play between the electrodes and the flexible PCB. This play will greatly reduce the artifacts. The photo-stimulation LED is the same as before, available in multiple wavelengths, but this time it is mounted alone on the opposing side of the flexible PCB. The tip of the probe is protected using a bio-compatible epoxy with the lens of the LED free of any obstruction. The flexible PCB is connected to the main PCB using a zero insertion force (ZIF) connector. Figure 4.5 shows the new version of the implantable probe.

4.6 Software

In the first prototype, the MCU was not doing a lot except receiving commands and reading the AFE and sending this data to the wireless transceiver. Now, it needs to do some real-time signal processing for noise cancellation. Like before, the MCU firmware is based on a RTOS and programmed in C.

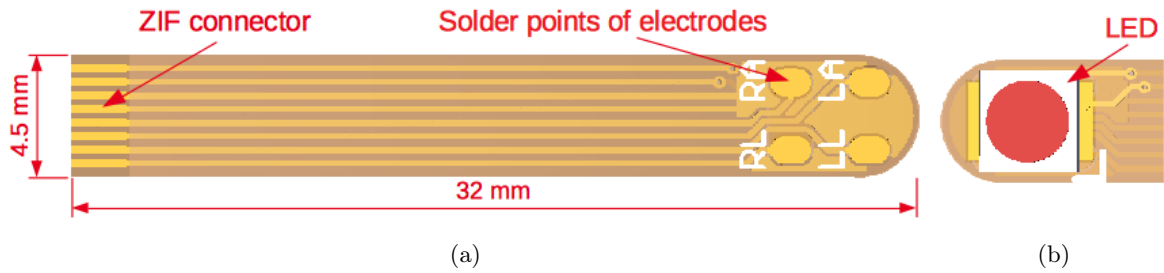


FIGURE 4.5 – CAD representation of the new implantable probe : (a) top of the probe with the solder points for the electrodes and (b) bottom of the probe with the LED.

4.6.1 Firmware architecture

Standby task

This task is used to enable low power mode when there is nothing else to do. During its execution, the low power mode is disabled periodically to enable the IC transceiver and broadcast a ping and wait a couple of milliseconds so the base station can send back a request for an acquisition/stimulation sequence. A periodic ping is used, so that the transceiver IC can be completely disabled in low power mode. This way, the transceiver is not always listening and the battery life is increased.

Reception task

When a new packet is available, an interrupt from the wireless chip enables this task. The task handles unpacking of the message which can be made of multiple packets. When the message is completely unpacked, the transmission task is called.

Transmission task

This task first starts the acquisition with the AFE and a DMA and then the photo-stimulation patterns using PWM. It then waits for data coming from the signal processing task and pack and send it to the wireless chip using another DMA to save CPU time. This task and the signal processing task are running concurrently

Signal processing task

This task is processing samples coming from a queue that is filled with a DMA that directly reads data from the AFE, this way practically no CPU time is lost reading data. When the processing is done, the data is put in another queue where the transmission task can send the data. Between these two queues, some signal processing is done to remove noise and artifacts using the already discussed adaptive filter. The firmware was written in a way that it is easy to test multiple algorithms and also tune their parameters. Figure 4.6 shows all the steps of this

task and section 4.6.2 presents an in-depth explanation of the noise cancellation algorithms used.

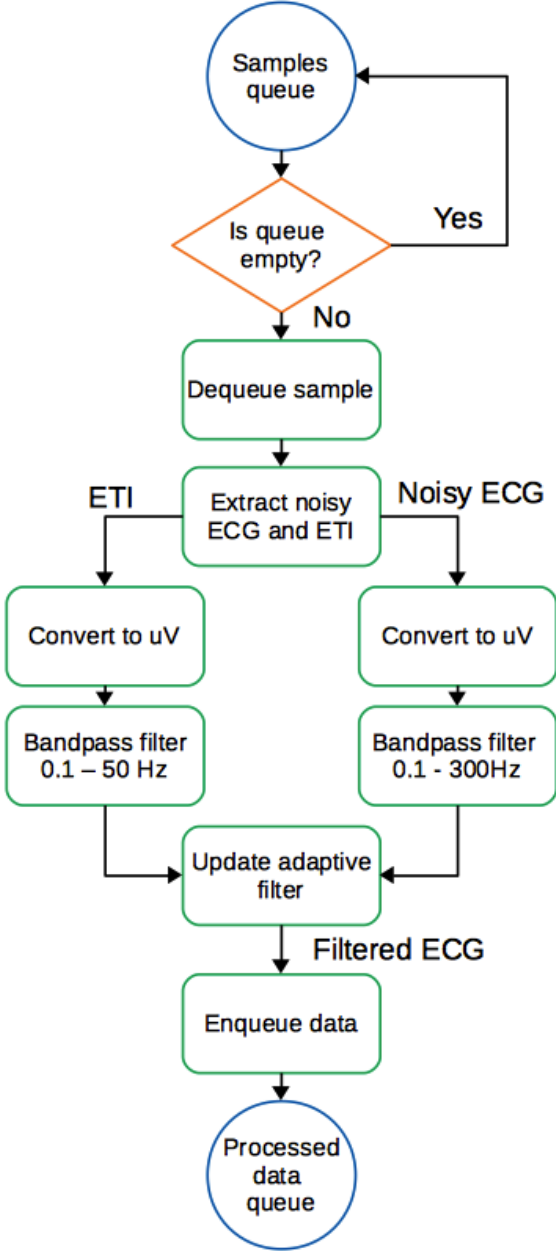


FIGURE 4.6 – Flow chart of the signal processing task.

4.6.2 Noise cancellation

The presented system needs to provide the best possible signal for real-time use. Taking that into account, we will only discuss the solution using active noise cancellation instead of post-processing the signals.

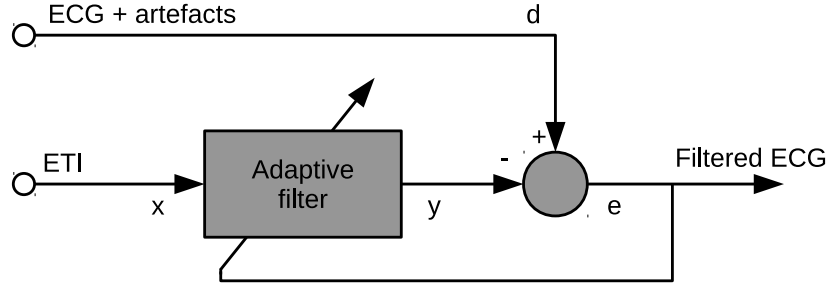


FIGURE 4.7 – Bloc diagram of the proposed artifact removal method.

As described above, there is a correlation between movement artifacts and ETI. This fact and the lack of correlation between the ETI and the ECG makes it possible to use an adaptive filter for active noise cancellation [7]. Figure 4.7 shows the way to use an adaptive filter to remove an undesired signal from another one. We can notice the signal ECG+artifacts (d) which is the signal directly measured on the body. The ETI signal (x) is passed through an adaptive filter (y); the result is subtracted to signal d to obtain the cleaned ECG (e). In short, the filter is used to modified the ETI impedance signal so it fits the artifacts in amplitude and phase. Then, it can be simply removed from the ECG with a subtraction.

An adaptive filter is a finite impulse response (FIR) filter with variable coefficients. It is of FIR type to insure stability while the coefficients values are tuned. The algorithm used for this task takes an error signal and finds the best coefficients to reduce this signal to a minimum. In our case, the minimal error signal is actually the cleaned ECG. Indeed, the ETI signal and ECG are not correlated and this mean only the artifacts are removed from the acquired signal. We present here four different algorithms, all based on a stochastic gradient descent approach. The first two are the well known Least Mean Square (LMS) and Normalized Least Mean Square (NLMS). The third one is the LMS with adaptive step-size (LMS-AS) presented in [7]. The last one is a proposed new solution based on the NLMS and the LMS-AS, the NLMS with adaptive step-size (NLMS-AS). These algorithms are using the error e as defined by equations (4.1) and (4.2).

$$e[k] = d[k] - y[k] \quad (4.1)$$

$$y[k] = \mathbf{x}_k^T \mathbf{w}_k \quad (4.2)$$

Least mean square

The least mean square (LMS) algorithm wants to minimize the error by approximating the gradient of the cost function. This cost function is the mean square error. Equation (4.3) allows

the computation of the coefficients (\mathbf{w}_{k+1}) using past coefficients (\mathbf{w}_k), past inputs (\mathbf{x}_k) and the error ($e[k]$). The algorithm also needs the μ constant which is the step size. This constant governs the stability and speed of the algorithm. The principal advantage of this method is its simplicity.

$$\mathbf{w}_{k+1} = \mathbf{w}_k + 2\mu e[k]\mathbf{x}_k \quad (4.3)$$

Normalized least mean square

The normalized least mean square (NLMS) is actually the same as LMS, but it normalizes the input power to overcome problem with the selection of β for stability [13]. Equation (4.4) presents the modified equation.

$$\mathbf{w}_{k+1} = \mathbf{w}_k + \frac{\beta}{\mathbf{x}_k^T \mathbf{x}_k} e[k] \mathbf{x}_k \quad (4.4)$$

LMS-AS and NLMS-AS

The LMS-AS as stated by [7] uses an adaptive step-size to facilitate the selection of the LMS μ parameter. This parameter is replaced by $\mu'[k]$ using equations (4.5) and (4.6), where p is a constant and σ is the standard deviation of the indexed signal during the last half beat. This way, it is possible to use a lesser μ without compromising on convergence speed when large artifacts are present. Reducing μ is interesting to reduce unwanted distortion of the ECG signal and to increase stability.

$$c[k] = \frac{\sigma_{x[k]} \cdot \sigma_{d[k]}}{p} \quad (4.5)$$

$$\mu'[k] = \begin{cases} \mu, & 0 \leq c[k] < \mu \\ c[k], & \mu \leq c[k] < 0.9 \\ 0.9, & 0.9 \leq c[k] \end{cases} \quad (4.6)$$

The proposed NLMS-AS uses the same equations as the LMS-AS, but $\mu'[k]$ replaces the β of equation (4.4). Combining the LMS-AS and NLMS together should enable a faster convergence algorithm, because of the increased stability and the reduction of unwanted distortion.

4.6.3 Computer interface

The computer interface is a custom PC application made for multiple acquisition systems in the lab. The program is based on the QT/C++ framework and it features the possibility to control the wireless platform and also acquire and display the data in real-time.

4.7 Evaluation Platform

The previously described circuits are implemented on a custom PCB assembly with a form factor easy to manipulate and use on different test subject (human, non-moving animals, ...). This choice was done to facilitate testing procedures and the smaller design shown earlier will be fabricated in the near future. Figure 4.8 shows the 3D printed enclosure containing the PCBA and the battery, both presented in Figure 4.9. Connections for electrodes and LED are also presented on both figures. The electrodes use standard ECG/EMG cables with snaps as shown on Figure 4.10. The snap system give the possibility to easily use an alligator clip or a standard sticky ECG electrode depending on the test subject. In the case of a rodent, the alligator clip is used to grab the stainless steel wire which is inserted under the skin of the animal. Table 4.1 presents the characteristics and measured performance of the evaluation platform. We can see performance similar to the device presented in previous works [5].

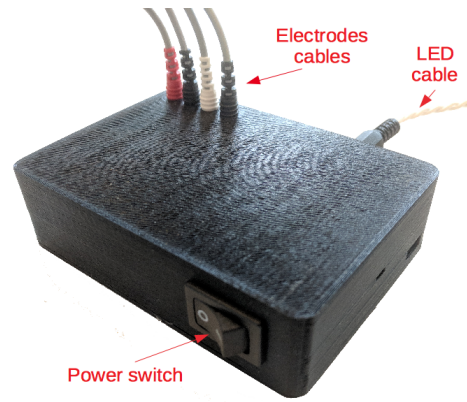


FIGURE 4.8 – Picture of the system used for experimentation.

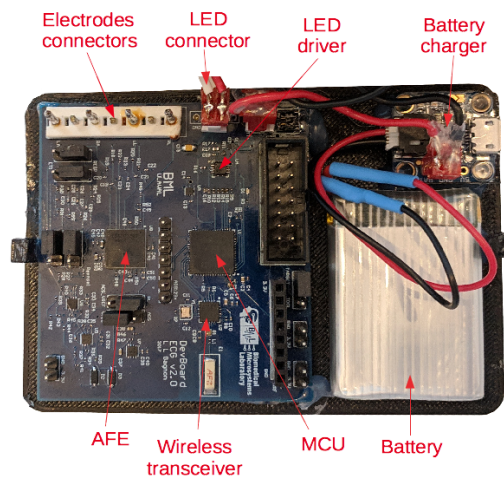


FIGURE 4.9 – Interior of the system, showing the electronics.

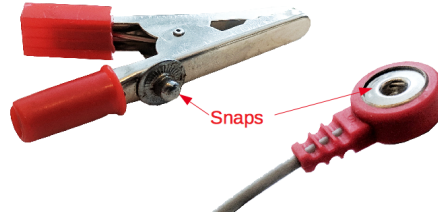


FIGURE 4.10 – Alligator clip and cable with snap system.

TABLE 4.1 – System characteristics and measured performance.

Parameter	Value
# of recording/stimulation channels	4/1 channels
Recording resolution	24 bits
Bandwidth	from 65 to 8398 Hz
Sampling rate per channel	up to 32 kSamples/s
Selectable gains	1, 2, 3, 4, 6, 8 and 12
Input-referred noise	down to $0.4 \mu V_{RMS}$
# of measured limb leads	2 leads (Lead I and II)
Total # of limb leads	6 leads
ETI measurement	Yes
Real-time artifacts removal	Yes
Maximum wireless transmission rate	2 Mbps
Stimulation LED currents	4 currents from 79 to 198 mA
Stimulation LED wavelengths	470, 615 and 625 nm
Maximum direct LED irradiance	2.2 mW/mm^2
Power consumption (idle)	18.5 mW
Power consumption (w/ aq. and stim.)	190 mW
Battery	Single cell 100-mAh
Autonomy (idle / w/ aq. and stim.)	20 / 2 hours

4.8 Experiments

Following system design and implementation, we need to test the prototype. Before testing on freely moving rodents, we first need to validate that the device operates as planned. The next sections will describe experiments done to test in a first part the new electrodes and in a second one the artifacts removal algorithm with real life signals.

4.8.1 In-vivo acquisition

Previous experimentations [5] showed that having the electrodes all mechanically constrained together on a single flexible PCB had serious issues, the main one being the high susceptibility to movement artifacts induced by the rodent respiration. The new electrode design should remove this source of artifacts. The validation was done in-vivo on a mouse. The stainless steel electrodes were inserted under the skin of the animal using a needle [14].

Figure 4.11 shows a couple of QRS complexes measured on the mouse. We can easily see that the signal is not corrupted by any artifacts. The ECG also presents the characteristic of a normal mouse ECG as described in [15].

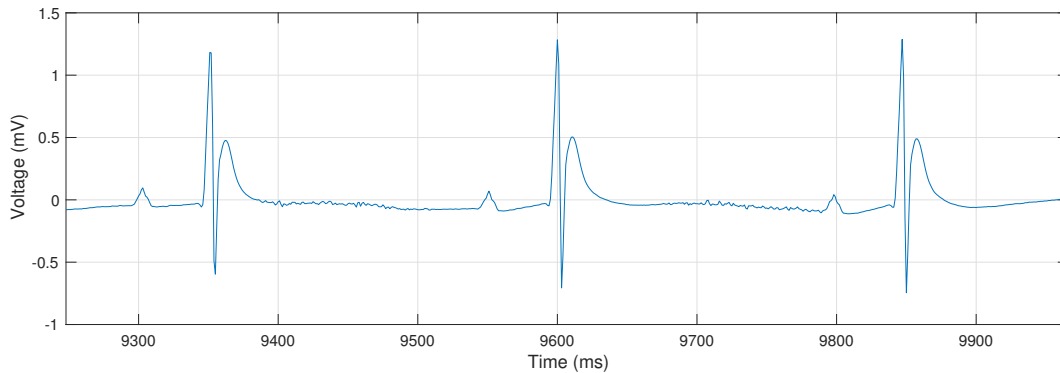


FIGURE 4.11 – Mouse ECG acquired with the new system.

4.8.2 Artifacts removal

Algorithms comparison on real ECG acquisition

To confirm the usability of the system on a moving subject with the artifact removal processing, some tests were completed on a human with self-adhesive ECG electrodes. The goal of this test was to easily control the movement that generates the artifacts and validate the signal processing. Five different acquisitions were made with artifacts level similar to what was seen in [5]. Offline, using MATLAB, the signals were processed with an adaptive filter of 2 coefficients using the four described algorithms. The parameters and signal to artifact ratio (SAR) [16] for each algorithm are presented in Table 4.2. For the LMS-AS and NLMS-AS, a value of $p = 1$ was used. From this data, we can easily see that both NLMS and NLMS-AS present better performance with an average SAR increase of about 15 dB and 22 dB respectively over the LMS and LMS-AS algorithms.

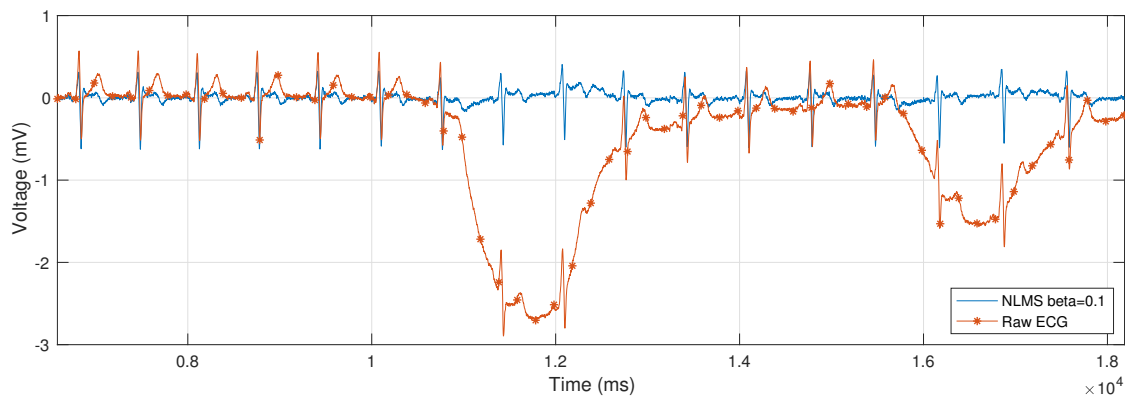
Real-time validation

Now that we have shown the superiority of NLMS and NLMS-AS algorithm on real data offline, it is important we confirm that it can run properly during an experimentation. Using a

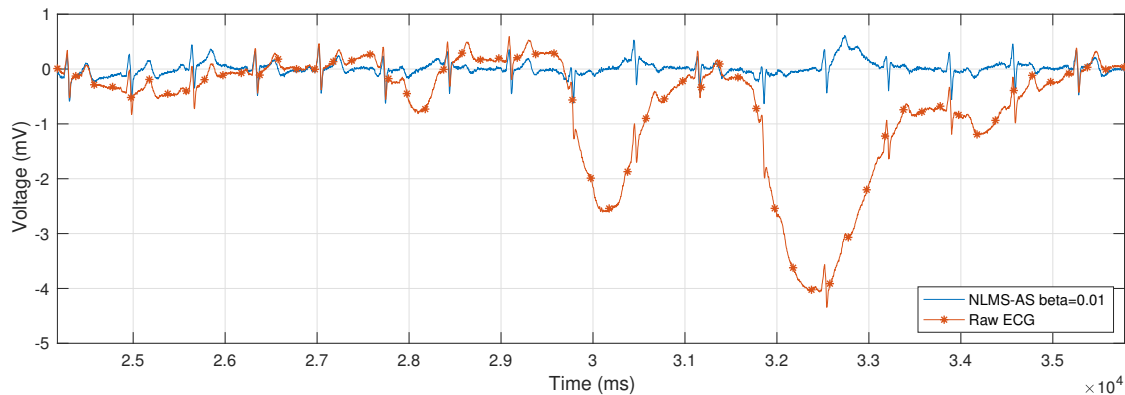
TABLE 4.2 – Average SAR and corresponding STD for the algorithms on five different acquisitions.

	LMS	LMS-AS	NLMS	NLMS-AS
Parameters	$\mu = 0.1$	$\mu = 0.1$	$\beta = 0.05$	$\beta = 0.05$
SAR (dB)	12.6412	14.1254	30.3524	36.6538
STD (dB)	8.0860	9.7374	7.8272	12.8924

similar setup to the previous section, we recorded the ECG on a human with some voluntary induced motion artifacts. Figure 4.12 shows results for the NLMS and NLMS-AS algorithms in real-time with $\beta = 0.1$ for NLMS, $\beta = 0.01$ for NLMS-AS and 2 coefficients for both. From these curves, we can conclude that both algorithms offer similar artifact immunity.



(a)

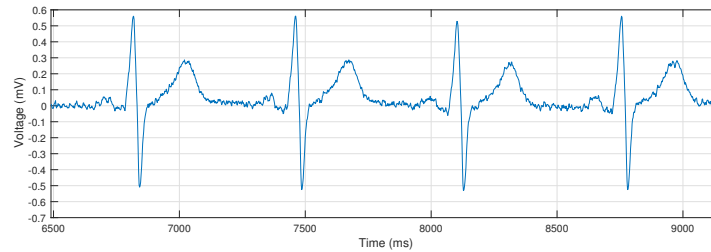


(b)

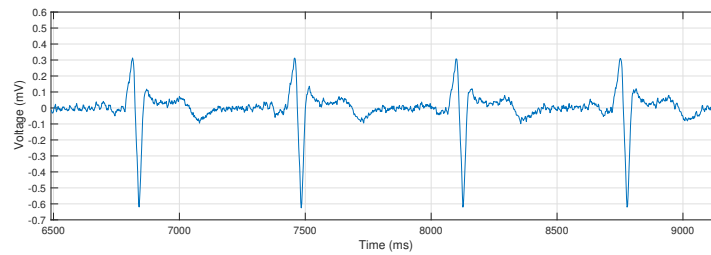
FIGURE 4.12 – Real-time results with (a) NLMS ($\beta = 0.1$) and (b) NLMS-AS ($\beta = 0.01$ and $p = 1$).

One major difference between them, is the effect they have on a signal without artifact. Indeed, we need to use a large β for the NLMS algorithm to have a good effect on motion artifact. This can cause distortion on the signal if no artifact are present as shown on figures 4.13a and

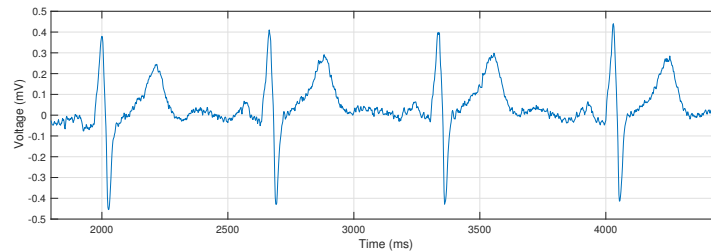
4.13b. The distortion is mainly an amplitude diminution for the R peak and T wave. Using the NLMS-AS algorithm prevents this, because the base β can be much lower when there is no artifact. This is presented on Figure 4.13c and 4.13d.



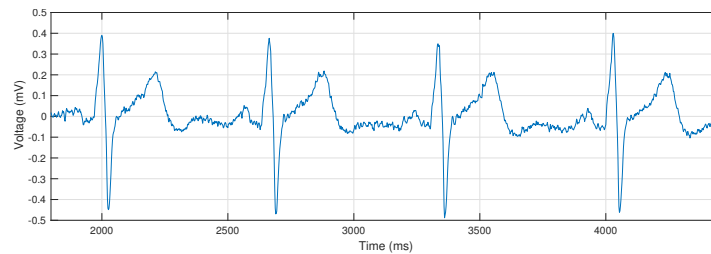
(a)



(b)



(c)



(d)

FIGURE 4.13 – Comparison of distortion caused by filtering. (a) Raw ECG for NLMS, (b) filtered ECG with a lot of distortion for NLMS ($\beta = 0.1$), (c) Raw ECG for NLMS-AS and (d) filtered ECG without distortion for NLMS-AS ($\beta = 0.01$).

4.9 Conclusion

The paper described the design of a new and innovative prototype for combined photo-stimulation and ECG recording. The system is a working version of the previously presented proof of concept with more robust recording capabilities without compromising on energy efficiency. The design description was followed by an analysis of the performances and some in-vivo results. We were able to demonstrate better motion artifact immunity using wired electrodes and a real-time filtering algorithm. Following the good results presented here, the next steps will be to fabricate and test the miniature version. Then, the system will be ready for use in laboratories by researchers to extend the capabilities of optogenetics to heart diseases and their treatments.

4.10 Bibliographie

- [1] O. J. Abilez, "Cardiac optogenetics," in *2012 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society*, Aug. 2012, pp. 1386–1389.
- [2] U. Nussinovitch and L. Gepstein, "Optogenetics for in vivo cardiac pacing and resynchronization therapies," *Nature Biotechnology*, vol. 33, no. 7, pp. 750–754, Jul. 2015.
- [3] T. Zaglia, N. Pianca, G. Borile, F. Da Broi, C. Richter, M. Campione, S. E. Lehnart, S. Luther, D. Corrado, L. Miquerol, and M. Mongillo, "Optogenetic determination of the myocardial requirements for extrasystoles by cell type-specific targeting of ChannelRhodopsin-2," *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 112, no. 32, pp. E4495–4504, Aug. 2015.
- [4] G. Gagnon-Turcotte, Y. LeChasseur, C. Bories, Y. Messaddeq, Y. D. Koninck, and B. Gosselin, "A Wireless Headstage for Combined Optogenetics and Multichannel Electrophysiological Recording," *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, vol. 11, no. 1, pp. 1–14, Feb. 2017.
- [5] L. L. Gagnon, G. Gagnon-Turcotte, A. Popek, A. Chatelier, M. Chahine, and B. Gosselin, "A wireless system for combined heart optogenetics and electrocardiography recording," in *2017 IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS)*, May 2017, pp. 1–4.
- [6] N. V. Thakor and Y. S. Zhu, "Applications of adaptive filtering to ECG analysis : noise cancellation and arrhythmia detection," *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 38, no. 8, pp. 785–794, Aug. 1991.
- [7] H. Kim, S. Kim, N. V. Helleputte, T. Berset, D. Geng, I. Romero, J. Penders, C. V. Hoof, and R. F. Yazicioglu, "Motion artifact removal using cascade adaptive filtering for ambulatory ECG monitoring system," in *IEEE BioCAS*, Nov. 2012, pp. 160–163.

- [8] Y.-S. O. Yang, W.-C. Lee, T.-C. Ke, C.-P. Wei, and C.-C. Lee, "Adaptive reduction of motion artefact in wireless physiological monitoring microsystems," in *2008 3rd International Conference on Sensing Technology*, Nov. 2008, pp. 523–526.
- [9] T. He, G. Clifford, and L. Tarassenko, "Application of independent component analysis in removing artefacts from the electrocardiogram," *Neural Computing & Applications*, vol. 15, no. 2, pp. 105–116, Apr. 2006.
- [10] J. M.A. Tanskanen and J. J. Viik, "Independent Component Analysis in ECG Signal Processing," in *Advances in Electrocardiograms - Methods and Analysis*, 2012th ed., R. Millis, Ed. InTech.
- [11] G. Gagnon-Turcotte, Y. LeChasseur, C. Bories, Y. D. Koninck, and B. Gosselin, "An optimized adaptive spike detector for behavioural experiments," in *2016 IEEE International Symposium on Circuits and Systems (ISCAS)*, May 2016, pp. 1098–1101.
- [12] D. Ho, X. Zhao, S. Gao, C. Hong, D. E. Vatner, and S. F. Vatner, "Heart Rate and Electrocardiography Monitoring in Mice," *Current protocols in mouse biology*, vol. 1, pp. 123–139, Mar. 2011.
- [13] S. Douglas, "A family of normalized LMS algorithms," *IEEE Signal Processing Letters*, vol. 1, no. 3, pp. 49–51, Mar. 1994.
- [14] S. T. Nakanishi and P. J. Whelan, "A decerebrate adult mouse model for examining the sensorimotor control of locomotion," *Journal of Neurophysiology*, vol. 107, no. 1, pp. 500–515, Oct. 2011.
- [15] B. J. Boukens, M. R. Rivaud, S. Rentschler, and R. Coronel, "Misinterpretation of the mouse ECG : 'musing the waves of Mus musculus'," *The Journal of Physiology*, vol. 592, no. 21, pp. 4613–4626, Nov. 2014.
- [16] H. Zhang, S. Zhang, Q. Jin, X. Liu, Q. Li, J. Yang, and J. Zhao, "Motion artifact suppression in ambulatory ECG with feed forward combined adaptive filter," in *2016 Computing in Cardiology Conference (CinC)*, Sep. 2016, pp. 1–4, iSSN : 2325-887X.

Conclusion

Le présent mémoire a exposé les différentes étapes du développement d'un nouveau système permettant l'utilisation de l'optogénétique et de l'électrocardiographie sur des petits animaux de laboratoire se déplaçant librement. Le tout a débuté par une revue de l'état de l'art en ce qui concerne l'optogénétique au sens large et l'optogénétique cardiaque, puis s'en est suivie une revue des systèmes et techniques permettant la mesure d'ECG en laboratoire. Ce chapitre c'est terminé par un aperçu des solutions proposées par d'autres pour limiter les artefacts de mouvement. Le second chapitre a présenté la première preuve de concept conçue et testée sur des souris. Ce chapitre a aussi décrit les problèmes de conception, notamment en ce qui a trait aux artefacts de mouvement. Le chapitre suivant a décrit l'algorithme développé pour retirer les artefacts de mouvement des signaux ECG et a aussi présenté des résultats de simulation et de tests. Finalement, le dernier chapitre a présenté le prototype final et différentes améliorations qui lui permette de remédier aux défauts de la preuve de concept. Ce prototype a aussi été testé en laboratoire pour démontrer son fonctionnement.

Pour la suite, le système miniature sera testé en laboratoire sur des rongeurs en liberté de mouvement. Éventuellement, il sera possible d'améliorer davantage le système en y ajoutant d'autres caractéristiques comme la détection des complexes QRS en temps réel tel que décrite dans la revue de littérature du chapitre 1. Cette caractéristique permettrait d'une part d'aider les chercheurs dans leur analyse, de fermer la boucle pour une photo-stimulation automatique, mais pourrait aussi être utilisée dans l'algorithme NLMS-AS pour ajuster automatiquement le nombre d'échantillons utilisés lors du calcul des écarts types et ainsi être robuste aux changements du rythme cardiaque.

Bien qu'il reste encore du travail pour rendre le système utilisable dans des laboratoires de recherche médicale, ce projet a permis de démontrer le fonctionnement d'un prototype qui pourrait donner l'habileté à des chercheurs en cardiologie d'ajouter l'optogénétique à leurs boîtes à outils. Cette nouvelle application de l'optogénétique permettra dans un premier temps d'aider les chercheurs à mieux comprendre différents phénomènes biologiques se rapportant au coeur, mais pourrait aussi éventuellement servir à développer d'autres techniques et équipements pour le traitement de maladies cardiaques.

Dans le futur, il serait possible d'implémenter l'électronique sur un circuit intégré dédié comme

dans [1], [2] et [3] pour réduire la taille et la consommation du système davantage. De plus, la conception d'un circuit intégré pourrait permettre de facilement adapter le système à une multitude d'autres applications nécessitant la mesure d'ECG comme les vêtements intelligents [4].

Publications

Deux publications ont été effectuées lors des travaux de recherche :

- L. L. Gagnon, G. Gagnon-Turcotte, A. Popek, A. Chatelier, M. Chahine and B. Gosselin, "A wireless system for combined heart optogenetics and electrocardiography recording," 2017 IEEE ISCAS, Baltimore, MD, 2017, pp. 1-4.
- G. Gagnon-Turcotte, L. L. Gagnon, G. Bilodeau and B. Gosselin, "Wireless brain computer interfaces enabling synchronized optogenetics and electrophysiology," 2017 IEEE ISCAS, Baltimore, MD, 2017, pp. 1-4.

Bibliographie

- [1] G. Gagnon-Turcotte, E. Maghsoudloo, Y. Messaddeq, Y. De Koninck, and B. Gosselin, "A wireless photostimulator for optogenetics with live animals," in *2017 15th IEEE International New Circuits and Systems Conference (NEWCAS)*, Jun. 2017, pp. 193–196, iSSN : null.
- [2] G. Gagnon-Turcotte, C. Ethier, Y. De Koninck, and B. Gosselin, "A 13um CMOS SoC for simultaneous multichannel optogenetics and electrophysiological brain recording," in *2018 IEEE International Solid - State Circuits Conference - (ISSCC)*, Feb. 2018, pp. 466–468, iSSN : 2376-8606.
- [3] G. Gagnon-Turcotte, I. Keramidis, C. Ethier, Y. De Koninck, and B. Gosselin, "A Wireless Electro-Optic Headstage With a 0.13- um CMOS Custom Integrated DWT Neural Signal Decoder for Closed-Loop Optogenetics," *IEEE transactions on biomedical circuits and systems*, vol. 13, no. 5, pp. 1036–1051, 2019.
- [4] V. Bélanger-Garnier, S. Gorgutsa, B. Ung, J. Viens, B. Gosselin, S. LaRochelle, and Y. Messaddeq, "Novel wireless-communicating textiles made from multi-material and minimally-invasive fibers," *Conference proceedings : ... Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. IEEE Engineering in Medicine and Biology Society. Annual Conference*, vol. 2014, pp. 6278–6281, 2014.