

Monitor cardíaco para pequeños roedores

Natalia M. Sierra, Franco E. Sánchez, Conrado J. Rodríguez, Oscar R. Vanella, Rodrigo G. Bruni

LIADE – Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

liade@efn.uncor.edu

Resumen. El objetivo de este trabajo es diseñar e implementar un monitor electrocardiográfico capaz de capturar las señales cardíacas de pequeños roedores y permitir su visualización conectándose a una computadora portátil por un costo significativamente menor al de los equipos veterinarios disponibles actualmente, haciendo uso de las herramientas y elementos existentes.

1. Introducción

El electrocardiograma representa la actividad eléctrica de las células del corazón. El impulso eléctrico es generado en un pequeño grupo de células conocido como nodo sinusal o nódulo de Keith-Flach. Cuando el impulso cardíaco atraviesa el corazón los potenciales eléctricos se propagan a los tejidos que le rodean y una pequeña parte de ellos se propaga difusamente hasta llegar a la superficie del cuerpo. Allí, se detectan los impulsos mediante la colocación de electrodos ubicados sobre la piel en determinadas partes del cuerpo para registrar los potenciales eléctricos generados.

El electrocardiograma normal está formado por una onda P, un complejo QRS, un segmento ST y una onda T. Es frecuente que el complejo QRS tenga tres ondas separadas la onda Q, la onda R y la onda S. La onda P se produce durante la despolarización de las aurículas, la onda QRS corresponde a la despolarización de los ventrículos o sístole ventricular mientras que el segmento ST y la onda T se deben a la repolarización ventricular. Las manifestaciones de la repolarización auricular no se ven en los trazos normales porque se ocultan en el complejo QRS.

El estudio de la onda electrocardiográfica permite detectar patologías tales como: hipertrofia auricular o ventricular, isquemia de miocardio, infarto de miocardio y pericarditis, entre otros padecimientos generalizados que afectan el corazón. Asimismo, se emplea para revelar el efecto de fármacos cardíacos, en particular de la digitalina y otros antiarrítmicos; trastornos electrolíticos, en especial del potasio. Además, se utiliza para valorar la función de marcapasos cardíacos, como así también, posee importancia diagnóstica para evaluar el retardo de la conducción de impulsos eléctricos auriculares y ventriculares y determinar al origen y comportamiento de las arritmias.

En los roedores, la importancia de la adquisición y registro de esta señal radica en la muy difundida utilización de éstos mamíferos para la investigación médica. Las ventajas de estos animales, particularmente las ratas, frente a otros animales de laboratorio son:

- Poseen gran parte de procesos bioquímicos similares al humano dada su condición de mamífero [1];
- Tiempo generacional muy corto, son muy prolíficos y se adaptan fácilmente a la vida en los animalarios, lo que permite controlar las variables ambientales en las experimentaciones [1];

- Poseen un breve período de gestación (19-21 días), y su destete es rápido;
- No requieren demasiados cuidados.

Al igual que los restantes animales de laboratorio, los pequeños roedores son empleados en las ciencias biomédicas para “comprender los mecanismos celulares que son la base de la vida que conocemos, favorecer el desarrollo de mejores métodos de prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades que afectan al ser humano y a los animales, realización de pruebas de potencia, alcance y seguridad de sustancias biológicas utilizadas en medicina, y para la determinación de la toxicidad de un gran número de compuestos que se preparan por síntesis química, y cuyo uso puede representar un riesgo para la salud...”[2].

Actualmente, el mercado de productos veterinarios ofrece una amplia gama de electrocardiógrafos para uso en animales pero éstos no tienen como uso específico su empleo en pequeños roedores, sino también en una amplia variedad de animales de diferentes tamaños y abarcan hasta caballos.

Sin embargo, no todos ellos son capaces de registrar las señales cardíacas de pequeños roedores debido a la reducida magnitud y el rango de frecuencia de éstas. Las principales características de los equipos electrocardiográficos empleados en roedores son:

- Alimentación con baterías
- Ancho de banda: 0,05-100/150 Hz
- Resolución del convertidor A/D: 10-12 bits
- Frecuencia de muestreo: 600 muestras por segundo
- Frecuencias cardíacas adquiridas: 30- 800 latidos por minuto (lpm)
- Rango de sensibilidad de: 100 μ V – 5 mV
- Contar con un medio de visualización propio o conexión a PC para cumplir el mismo propósito.

2. Especificaciones

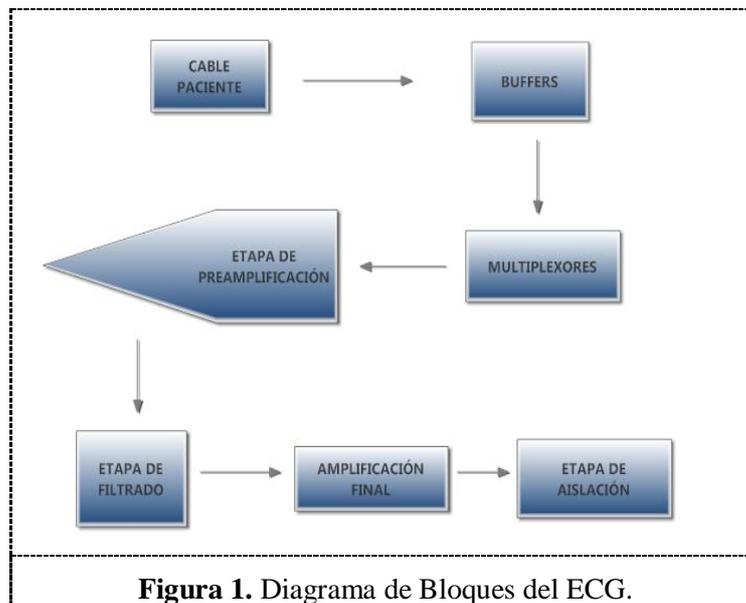
Para la adquisición y visualización de la señal cardíaca de roedores se propone la implementación de un monitor electrocardiógrafo con las siguientes características:

- Alimentación con baterías.
- Bajo ruido.
- Alta relación señal ruido.
- Frecuencia cardíaca adquirida: 30-500 lpm.
- Ganancia mínima de: 6000.
- Ancho de banda de: 0,05 Hz a 140 Hz.
- CMRR >140 db.
- Adquisición de señales en el orden de los μ V: 100 a 500 μ V.
- Conexión a la PC con software necesario para su visualización.

Para la visualización propiamente se sugiere una interfaz amigable para el usuario, que permita la clara lectura y determinación de los componentes de la onda cardíaca del animal.

3. Desarrollo

A continuación la figura 1 muestra el diagrama de bloques propuesto para la realización del diseño.



3.1. Bloque analógico

Tiene a su cargo la adquisición y acondicionamiento de la señal, mediante un circuito amplificador diferencial capaz de filtrar, amplificar y acondicionar la señal para adaptarla a la etapa digital

El bloque de procesamiento analógico está comprendido por los siguientes elementos:

- Cable paciente.
- Buffers.
- Red de Wilson.
- Multiplexores.
- Etapa de preamplificación.
- Etapa de filtrado (Filtro “Notch” + Filtro Pasabanda).
- Etapa de amplificación.

3.1.1. Cable paciente:

La función de este componente es conducir la señal desde los electrodos al electrocardiógrafo. Estos cables deben ser, por lo general, blindados para poder atenuar todo tipo de campo electromagnético que pudiera afectar la señal a estudiar. Además, los cables que provienen de los electrodos deben agruparse en un único cable llamado troncal para luego conectarse al equipo de ECG. En nuestro proyecto se construyó con 4 cables blindados de 1 mm de diámetro, a los que se adaptaron terminales del tipo “broche” en un extremo, y en el otro, un conector circular con pines para la conexión con la placa de adquisición.

3.1.2. Buffers:

Los electrodos entregan señales de muy baja potencia. Si el circuito de entrada a la placa de adquisición no es de alta impedancia, la corriente suministrada por los electrodos puede ser demasiado alta y su tensión de salida, del orden de los μV , será aún mas pequeña. Entonces para evitar este efecto de carga sobre los electrodos, y adaptar impedancias, utilizamos amplificadores operacionales en configuración de “buffer” o seguidor [3]. Para esta configuración se eligió el componente OPA4277PA de Texas Instruments siendo éste un amplificador de alta precisión, por el bajo ruido que aporta al circuito, $0.22 \mu\text{Vpp}$ a 10Hz. Además, es de baja deriva (low drift) y posee alto CMRR.

3.1.3. Red de Wilson:

Las señales provenientes de los electrodos que componen el triángulo de Einthoven se conectan a un arreglo de resistores de igual valor denominado Red de Wilson, para este circuito se usaron resistencias de 10 k Ω al 1%. En este circuito se crea el terminal central de Wilson, de potencial cero, necesario para obtener el registro de las derivaciones monopolares.

3.1.4. Señal de calibración:

Para realizar el ajuste de ganancia respecto a la amplitud se utilizó una señal de calibración, la misma posee una amplitud de entrada de 500 μ V, la cual es generada por NE555. Este componente entrega pulsos cuadrados de 5V de amplitud, trabajando a una frecuencia de 7 Hz, estos parámetros se calcularon ajustando los valores de las resistencias que complementan el circuito del oscilador. Dicha señal se recibe desde la etapa no aislada de la plaqueta a través de un optoacoplador.

Para lograr la amplitud de 500 μ V en la entrada del buffer, se dispuso un divisor de tensión a la salida del optoacoplador.

3.1.5. Multiplexores:

Esta etapa se encarga de seleccionar dos puntos específicos de la red de Wilson de acuerdo a la derivación electrocardiográfica que el operador seleccione. Para esta aplicación en particular, elegimos dos multiplexores analógicos CD4051B de Texas Instruments, ya que este modelo posee 8 entradas analógicas y una única salida analógica.

La citada selección se efectúa mediante señales digitales provenientes del microprocesador previamente programadas y aisladas mediante optocopladores.

3.1.6. Etapa de preamplificación:

La etapa de preamplificación es un componente crítico y fundamental del sistema de adquisición. Debido a esto, es necesario seleccionar componentes que realicen esta tarea con alta precisión, es decir que el nivel de amplificación sea estable y continuo en el tiempo, que sea de bajo ruido y que la salida tenga baja deriva respecto a factores externos como por ejemplo la temperatura o humedad, y alto CMRR.

El amplificador utilizado es del tipo “amplificador de instrumentación monolítico”, que se define como un amplificador diferencial con ganancia ajustable por una única resistencia, elevada impedancia de entrada, y una elevada CMRR. Es un dispositivos de precisión, específicamente concebido para la amplificación de señales de tensión diferencial débiles, siendo por tanto, idóneos para pre-amplificar la señal cardíaca.

Los criterios de selección del componente son:

- Alta impedancia de entrada (10^{10} Ω).
- Alto CMMR (mayor a 80 dB).
- Ganancia estable.
- Baja deriva.
- Baja impedancia de salida.
- Precisión.
- Exactitud.
- Sencillez de utilización.
- Bajo ruido.
- Disponibilidad en el mercado.

Con base a estos requisitos se seleccionó el amplificador de instrumentación monolítico INA128P de Texas Instruments.

3.1.7. Etapa de filtrado:

Esta etapa es sumamente crítica en el diseño del equipo, debido a la pequeña magnitud de las señales fisiológicas a medir. La misma, se dividió en tres bloques: un filtro “notch”, un filtro pasa-bajo y un

filtro pasa-alto. Considerando lo antes expuesto, se optó por usar componentes de alta precisión, el OPA2277 para el filtro “notch” y el integrado UAF42A de Burr Brown para los filtros pasa-bajo y pasa-alto.

Filtro Pasa Bajo: Para este tipo filtro se eligió una frecuencia de corte de 140Hz, basándonos en las características de los electrocardiogramas para roedores disponibles actualmente en el mercado, además de esta manera se elimina la 3er armónica de la señal de 50Hz correspondiente al ruido de línea. Para el desarrollo de los filtros se eligió una configuración Butterworth de orden 4.

Filtro Pasa Alto: Este filtro se emplea para eliminar las tensiones continuas de la señal antes de la etapa de amplificación y así evitar la saturación de los componentes sucesivos a dicha etapa. La frecuencia de corte del mismo es a los 0,05 Hz. Igualmente que en el filtro anterior se usó la configuración Butterworth de orden 4.

Filtro “Notch”: Idealmente, elimina completamente un pequeño rango de frecuencias dejando inalterado el resto de la banda, de esta forma sólo atenúa un ancho de banda indeseado de adquirir. Para este se utilizó el integrado OPA2277 es un amplificador operacional de alta precisión en versión dual.

El filtro utilizado fue un filtro doble T con Q ajustable mediante potenciómetro. Se emplearon tres filtros idénticos en serie, logrando obtener una señal limpia en la salida de la última etapa. La ganancia de cada filtro “notch” es de 2.

3.1.8. Amplificación Final:

Para lograr la ganancia final se utilizó un Amplificador de Instrumentación INA128P. Se ajustó la ganancia del mismo en 2. Se logró así, una ganancia total de 8000.

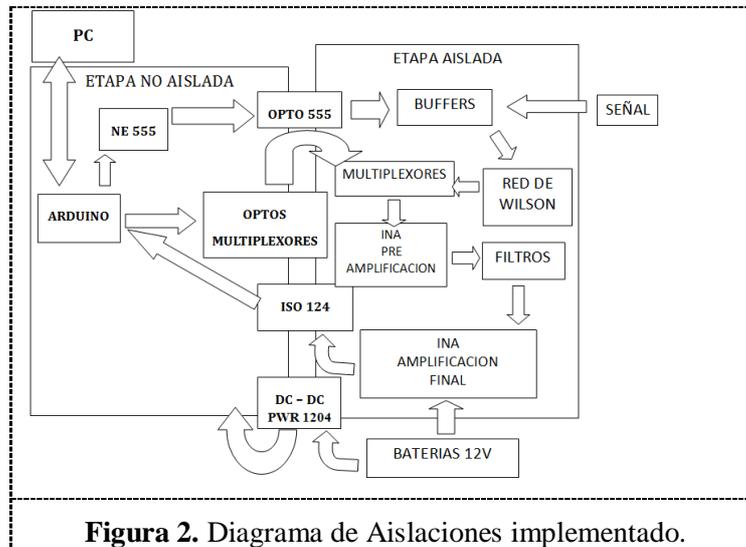
3.1.9. Etapa de Aislación:

Para aislar el equipo de fuentes externas de energía que puedan dar origen al paso de corriente directamente por el cuerpo del operador o del roedor, se aisló el ECG de la PC mediante optocopladores, un integrado DC-DC aislado y un amplificador de aislación.

En el caso de los optocopladores se usaron los componentes 4N35 de Motorola, los cuales son capaces de soportar tensiones eléctricas de hasta 3500 V. Su función en nuestro diseño fue la de aislar las señales de control del multiplexado provenientes de la PC. Por consiguiente, la placa de adquisición queda aislada de la PC, y la señal de calibración generada por el NE555.

Para el amplificador de aislación se eligió al ISO124 de Burr Brown debido a su relativamente bajo costo (alrededor de U\$S 12), sin embargo, este componente no es ideal para esta aplicación porque se trata de un amplificador de aislación de uso industrial. Si bien el mercado presenta mejores opciones en cuanto a desempeño, las mismas excedían el presupuesto disponible para el desarrollo del proyecto. Este componente soporta tensiones de hasta 1500 V y aísla el puerto de adquisición analógico del microprocesador, de la placa de adquisición de señal.

El DC-DC aislado se emplea para proveer alimentación a la etapa no aislada del ISO124; de esta forma, se suministra energía a todo el circuito con una sola fuente de alimentación, sin resignar la aislación equipo ECG-PC. El componente usado es el PWR1204 de Burr Brown el cual, a partir de una entrada de 5 Vdc, entrega una salida de +/- 12 Vdc con su respectiva tierra aislada. El mismo soporta una descarga de 500 Vp de tensión alterna. En la Figura 2 se puede observar el Diagrama de aislaciones del equipo.

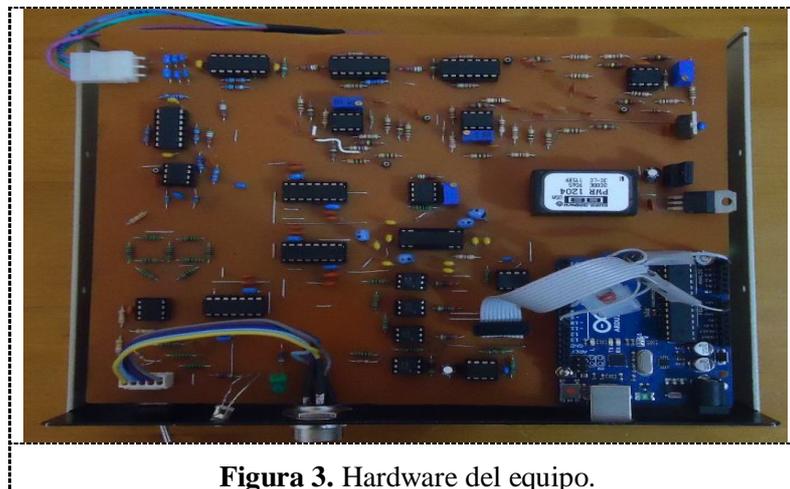


3.2. Bloque digital

Este bloque está integrado por una placa Arduino Uno. Esta es una plataforma de hardware que contiene un microcontrolador Atmel328P, programable con código libre y abierto. Posee entradas y salidas tanto analógicas como digitales.

Además este microcontrolador es el encargado de realizar las acciones que se corresponden con el envío y recepción de datos hacia, y desde, la interfaz de usuario. La comunicación con la interfaz de usuario se realiza mediante el bus serial USB propio de la placa de Arduino Uno.

En la figura 3 puede observarse el hardware correspondiente al prototipo final con la implementación de las etapas anteriormente descritas y que fuera empleado para realizar las pruebas de funcionamiento.



3.3. Interfaz Gráfica de Usuario (GUI)

La interfaz de usuario se desarrolló en LabView y posibilita efectuar la visualización en tiempo real de la señal adquirida. Asimismo, permite seleccionar la derivación cardíaca a elegir entre las 6 disponibles, tres derivaciones bipolares (DI, DII, DIII) y tres aumentadas (aVr, aVI y aVf), como así también, ver la señal de calibración en caso de que el operador lo requiera.

Además, posee las opciones de iniciar, continuar, pausar o detener la adquisición; guardar la imagen de la señal en formato JPEG y exportar datos a una planilla Excel.

4. Resultados

Las pruebas y mediciones en el equipo fueron diversas y se realizaron en diferentes etapas del desarrollo. En principio, se probó la etapa de adquisición con señales simuladas provistas por el simulador de ECG que posee el equipo analizador de desfibriladores marca FLUKE, modelo Impulse 6000D. Los parámetros elegidos para la simulación fueron 360 lpm y las amplitudes evaluadas de 350 y 500 μ V. Los resultados satisfactorios se observan en la Figura 4 y la Figura 5. Luego se procedió a realizar pruebas en seres humanos. La visualización de la señal cardíaca humana se presenta en la Figura 6.

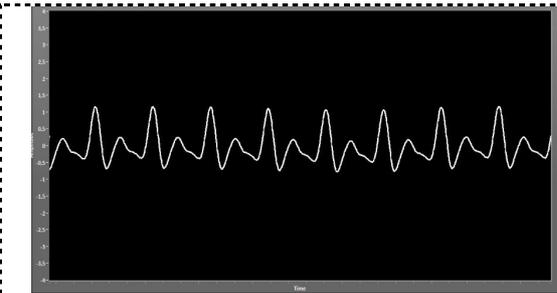


Figura 4. Imagen de la DII de la señal del simulador de 350 y 360 lpm.

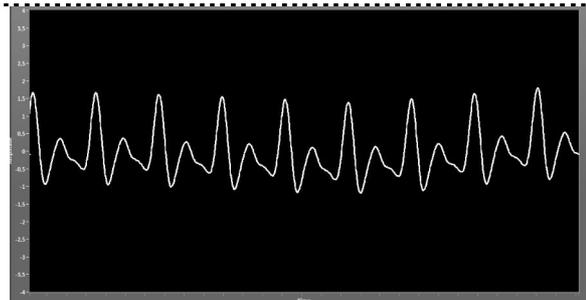


Figura 5. Imagen de la DII de la señal del simulador de 500 y 360 lpm.



Figura 6. Imagen Derivación II señal humana.

Finalizadas las pruebas en humanos, un grupo de investigadores procedió a realizar la captura de la señal cardíaca de roedores pequeños como se muestra en la Figura 7 y 8.



Figura 7. Roedor anestesiado conectado con electrodos desechables externos.



Figura 8. Adquisición de ECG para validación del equipo.

Para realizar la captura de la señal se emplearon electrodos tipo AgClAg autoadhesivos descartables, los cuales fueron adaptados para que pudieran ajustarse a las extremidades del roedor; no siendo necesario el uso de electrodos invasivos, habitualmente necesarios para esta práctica. Se observó también, que se obtuvo una señal de calidad diagnóstica sin necesidad de introducir al animal en una jaula de Faraday. Estos sensores se colocaron en la zona plantar del animal, logrando de esta manera una interfaz totalmente no invasiva para el mismo. La Figura 9 y la Figura 10 muestran la señal cardíaca del cobayo y de la rata respectivamente.



Figura 9. Derivación II bipolar de Cobayo.

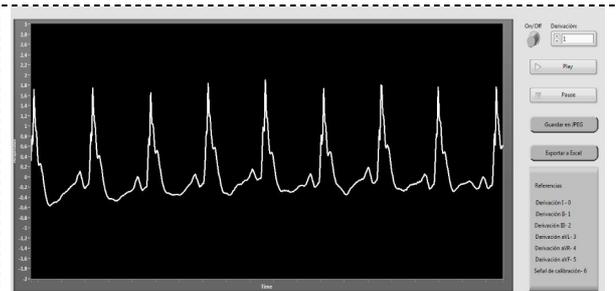


Figura 10. Derivación II bipolar de Rata.

Al comparar las señales captadas con el equipo junto con señales expuestas y empleadas como referencia en diversas publicaciones científicas, como en la Figura 11, en [6], en [7] y en [8] para la señal cardíaca de cobayos; y en la Figura 12, en [9], en [10] y en [11] para la señal cardíaca de ratas; se observa que las formas de onda de las señales, al igual que sus componentes, son similares en ambos casos por lo que se considera idóneo el desempeño del aparato.

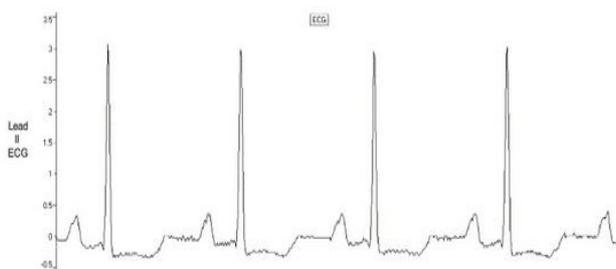


Figura 11. DII Bipolar de un ECG obtenido de un cobayo conciente mediante el uso de telemetría [4].

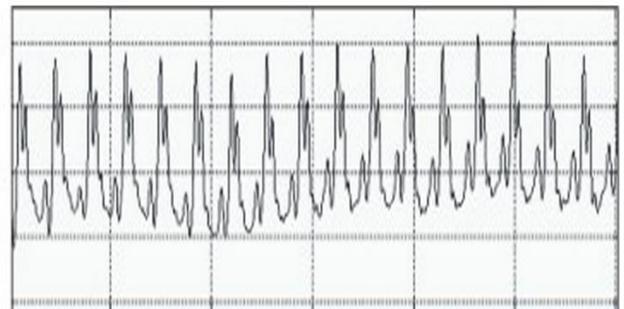


Figura 12. Captura ECG de la DII Bipolar de rata [5].

5. Conclusiones

El electrocardiógrafo construido cumple con las especificaciones planteadas al inicio del proyecto.

Al comparar las imágenes de las señales obtenidas con el prototipo, con las adquiridas por otros equipos veterinarios de uso específico en roedores, no se encontraron diferencias apreciables.

Se logró implementar un prototipo de experimentación a un costo reducido.

El equipo de científicos que realizó las pruebas clínicas reconoció la calidad y la capacidad diagnóstica de las señales obtenidas con el equipo.

Las características del prototipo permitieron obtener señales diagnósticas sin emplear electrodos invasivos ni jaula de Faraday.

Agradecimientos

Al equipo de investigación y desarrollo de la cátedra de Fisiología Animal de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Córdoba, por realizar las pruebas clínicas sobre los roedores y evaluar las señales diagnósticas.

Nota

El presente trabajo fue realizado en el Laboratorio de Ensayos del LIADE (Laboratorio de Investigación Aplicada y Desarrollo) perteneciente al Departamento Electrónica de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la Universidad Nacional de Córdoba y corresponde al Proyecto Integrador de grado de Magalí Sierra y Franco Sánchez, alumnos de la carrera Ingeniería Biomédica de la mencionada Unidad Académica.

Referencias

- [1] Médica veterinaria Dra. Silvia Hernández. “El modelo animal en las investigaciones biomédicas”, 2006. <http://www.um.edu.uy/docs/revistabiomedicina/2-3/modelo.pdf>
- [2] Klein. “El uso de animales en la investigación biomédica”, Febrero/Marzo 2000. [Online]. Disponible en: <http://www.cienciahoy.org.ar/ln/hoy55/usoanimales.htm>
- [3] Daneri, Pablo. 2007. “Electromedicina Equipos de Diagnóstico y Cuidados Intensivos”. Editorial Hispano Americana S.A., Ciudad de Buenos Aires, Argentina.
- [4] Provan, Gayle et al. “Development of a surgical approach for telemetering guinea pigs as a model for screening QT interval effects”, September–October 2005. [Online]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1056871905000468>
- [5] Huaccho Rojas, Juan Jesús et al. “Efectos sobre la temperatura, frecuencia respiratoria, frecuencia cardiaca y electrocardiograma de *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq. (chuchuhuasi)”, 7 de abril de 2012 http://bvs.sld.cu/revistas/pla/Vol_17_2_12/pla04312.htm
- [6] Provan Gayle et al. “Development of a surgical approach for telemetering guinea pigs as a model for screening QT interval effects”. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. Septiembre-Octubre 2005; 52(2): 223–228 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1056871905000468>
- [7] Horder M.M et al. “Effects of pulsed ultrasound on sphenoid bone temperature and the heart rate in guinea-pig fetuses”. *Early Human Development*. 1 de Octubre de 1998; 52(3): 221–233. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378378298000279>
- [8] Mitsuyasu Tabo, Kazuya Kimura y Shigeo Ito. “Monophasic action potential in anaesthetized guinea pigs as a biomarker for prediction of liability for drug-induced delayed ventricular repolarization”. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*. Mayo-Junio 2007; 55(3): 271–278 <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1056871906001249>
- [9] Kassa J. y Fusek J. “The positive influence of a cholinergic–anticholinergic pretreatment and antidotal treatment on rats poisoned with supralethal doses of soman”. *Toxicology*. 26 de Junio de 1998; 128(1): 1-7. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X97001868>
- [10] Pugsley Michael K, Kalra Vikram y Froebel-Wilson Sarah. “Protamine is a low molecular weight polycationic amine that produces actions on cardiac muscle”. *Life Sciences*. 6 de Diciembre de 2002; 72(3): 293–305. [Online]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320502022452>
- [11] Vinay Mishra, Priya Ghumatkar, Maulik V. Patel et al. “Evaluation of Cardioprotective Effect of 3,5,3'-Tri-iodo-L-thyronine in Isoproterenol-Induced Cardiotoxicity”. *International Journal of Endocrinology*. Vol. 2011, Article ID 908367, 8 pages, 2011. doi:10.1155/2011/908367.[Online]. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/ije/2011/908367/>