

孙权,邱雪婷,李传昶,等. 采样参数设置对小鼠心电图波形的影响[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(2): 236–241.

Sun Q, Qiu XT, Li CC, et al. Effects of sampling parameters on electrocardiogram waveforms in mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(2): 236–241.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.02.017

采样参数设置对小鼠心电图波形的影响

孙权¹, 邱雪婷², 李传昶², 周正适^{3*}

(1. 中南大学湘雅医院心血管内科, 长沙 410000; 2. 中南大学湘雅医院老年病科, 长沙 410000; 3. 中南大学湘雅医学院实验动物学部, 长沙 410000)

【摘要】 目的 探讨采样参数设置对小鼠心电图波形的影响。方法 选用 C57 小鼠, 戊巴比妥钠麻醉, 四肢皮下插针式电极, 连接 RM6240BD 型多道生理信号采集处理系统, 选择不同的采样参数设置, 对心电图进行采样、记录和分析。结果 采样速率、低通滤波、时间常数和陷波滤波等采样参数设置均对心电图波形有影响, 部分参数会导致心电图不同形式的变形和失真。结论 小鼠的心电图实验中应选择合适的采样参数设置, 通过操作技术的改进来提高心电图的稳定性, 尽量避免或减少滤波的使用, 以获得准确的心电图实验结果。

【关键词】 小鼠; 采样参数; 心电图; 方法; 滤波; 稳定性

【中图分类号】 Q95-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1005-4847(2019) 02-0236-06

Effects of sampling parameters on electrocardiogram waveforms in mice

SUN Quan¹, QIU Xueting², LI Chuanchang², ZHOU Zhengshi^{3*}

(1. Department of Cardiovascular Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410000, China.
2. Department of Geriatric Medicine, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410000.
3. Department of Laboratory Animal, Xiangya School of Medicine, Central South University, Changsha 410000)
Corresponding author: ZHOU Zhengshi. E-mail: zhouzhengshi@csu.edu.cn

【Abstract】 **Objective** To evaluate the effects of sampling parameters on electrocardiogram (ECG) waveforms in mice. **Methods** C57 mice were anesthetized with sodium pentobarbital and needle electrodes were placed subcutaneously in their limbs. ECG signals were sampled, recorded and analyzed with different sampling parameters using a RM6240BD multi-channel physiological recording system. **Results** The sampling rate, low-pass filter, time constant, and notch filter had different effects on ECG waveforms. Some parameters led to various deformation and distortion of the ECG signals. **Conclusions** Appropriate sampling parameters should be applied in ECG experiments in mice to obtain accurate results. An improved surgical technique is preferred to acquire stable ECG signals instead of filtering or digital smoothing.

【Keywords】 mouse; sampling parameter; electrocardiogram; method; filter; stability

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

小动物心电图是动物实验中最常用的实验技术之一,根据文献检索,仅国内期刊上涉及小鼠或大鼠心电图的科研论文已数千篇,但迄今为止,小动物心电图尚无公认的正常值^[1],小动物心电图的采样参数设置尤其是滤波参数设置仍无统一标准,由此产生的现象就是各式各样波形的心电图结果^[1-20],这可能会阻碍相关科研成果的比较、交流和发表。为此,我们系统地对小鼠心电图的采样参数

【基金项目】国家自然科学基金面上项目(81873509,81570461)。
Founded by National Natural Science Foundation of China(81873509,81570461)。
【作者简介】孙权(1988—)女,博士研究生。Email:sq4843447@outlook.com
【通信作者】周正适(1976—)男,硕士,助理研究员。Email:zhouzhengshi@csu.edu.cn

设置进行了研究,将不同参数设置下采集的心电图波形与准原始波形进行比较,以确定合适的参数设置供科研人员参考。另外,小动物心电图与人体心电图相比,既有相同的基本原理和方法,又有着完全不同的操作技术和技巧,尤其是小动物心电图的稳定性是一个让许多科研人员产生困扰的问题。为此,我们也对小鼠心电图的稳定性进行了研究,并提供一些技巧供科研人员参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

SPF 级雄性 C57 小鼠 33 只,体重 17 ~ 32 g,来源于湖南斯莱克景达实验动物有限公司【SCXK(湘)2013-0004】,实验在中南大学湘雅医学院实验动物学部进行【SYXK(湘)2015-0017】。

1.1.2 试剂与仪器

麻醉剂使用戊巴比妥钠(国药集团化学试剂有限公司,中国),配制成 0.5% 的生理盐水溶液。心电图测量使用多道生理信号采集处理系统(成都仪器厂 RM6240BD 型,中国),该仪器可与标配的心电换能器连接,对心电信号进行采集,采集参数设置主要包括采样速率、扫描速度、灵敏度、低通滤波、时间常数和陷波滤波等,其中扫描速度和灵敏度主要调节心电图横向和纵向的标尺,对心电图波形没有实质性的影响,另外四个参数包括采样速率、低通滤波、时间常数和陷波滤波可以由研究者设置^[21]。实验室的配电箱接地,RM6240BD 仪器的前后地线桩均采用多股铜芯软线与 TD28 等电位联接端子箱相连接。

1.2 方法

1.2.1 心电图测量

戊巴比妥钠(30 ~ 60 mg/kg 体重)腹腔注射麻醉,刺激下肢无明显收缩反应以确定麻醉充分,小鼠呈仰卧位,用胶布固定四肢于手术板上,不锈钢针头(直径 0.6 mm、长度 25 mm、取自 5 mL 一次性注射器)插入四肢皮下,针头末端与心电换能器的鳄鱼夹相连接,测量 II 导联心电图(右上肢负极、右下肢地线、左下肢正极)。

1.2.2 采样参数设置

(1) 采样速率

关闭低通滤波(设置为 OFF)和陷波滤波,时间常数设置为最大值 5 s 以获取准原始波形的心电

图,在这三个参数保持不变的情况下,采样速率依次从 400 kHz 调节到 1 Hz,每只实验动物可采集 21 组实验数据。

(2) 低通滤波

采样速率设置为 1 kHz,关闭陷波滤波,时间常数设置为最大值 5 s,在这三个参数保持不变的情况下,低通滤波依次从 OFF 调节到 0.3 Hz,每只实验动物可采集 10 组实验数据。

(3) 时间常数

采样速率设置为 1 kHz,关闭低通滤波(设置为 OFF)和陷波滤波,在这三个参数保持不变的情况下,时间常数依次从 5 s 调节到 0.001 s,每只实验动物可采集 6 组实验数据。

(4) 陷波滤波

采样速率设置为 1 kHz,关闭低通滤波(设置为 OFF),时间常数设置为最大值 5 s,在这三个参数保持不变的情况下,关闭或开启陷波滤波,每只实验动物可采集 2 组实验数据。

1.2.3 接地和插针

采样速率设置为 1 kHz,关闭低通滤波(设置为 OFF)和陷波滤波,时间常数设置为最大值 5 s,以获取准原始波形的心电图。RM6240BD 仪器选择接地或不接地,每只实验动物可采集 2 组实验数据。另外,部分实验动物一开始采集到的是不稳定的心电图,经过重新皮下插针或调整插针位置才采集到稳定的心电图,这种稳定性受插针影响的心电图,每只实验动物也可采集到 2 组实验数据。

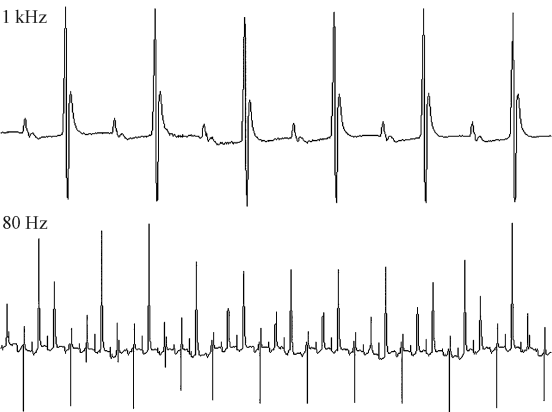
2 结果

2.1 采样速率对心电图波形的影响

从 400 k ~ 400 Hz 所采集到的心电图波形基本没有区别,均能记录到完整的心电图波形;从 200 ~ 1 Hz 所采集到的心电图波形均不完整,由于篇幅所限,本文仅展示同一只实验动物在采样速率为 1 kHz 和 80 Hz 时的心电图波形。(见图 1)

2.2 低通滤波对心电图波形的影响

关闭低通滤波(设置为 OFF)时所采集的心电图为准原始波形的心电图;随着低通滤波的逐渐降低,心电图波形有逐渐变形和失真的趋势,主要表现为 ST 段抬高、S 波缺失、T 波与 R 波融合,波形整体向基线上方压缩。由于篇幅所限,本文仅展示两只 C57 小鼠在低通滤波为 OFF、500、100、30 和 10 Hz 时的心电图波形,其中一只 C57 小鼠在低通滤波



注:1 kHz: 完整的 PQRST 波形;80 Hz: 缺乏完整的 PQRST 波形。

图 1 采样速率对心电图波形的影响

Note. (1 kHz) Intact PQRST waveforms. (80 Hz) Absence of intact PQRST waveforms.

Figure 1 Effect of sampling rate on ECG waveform

为 100 Hz 时开始表现出 ST 段抬高(图 2A),另外一只 C57 小鼠在低通滤波为 30 Hz 时开始表现出 ST 段抬高(图 2B),这也是最为常见的两种情况。

2.3 时间常数对心电图波形的影响

时间常数设置为 5 s 时所采集的心电图为准原始波形的心电图;随着时间常数的逐渐降低,心电图波形有逐渐变形和失真的趋势,主要出现为基线倾斜、P 波倒置、P 波和 R 波幅减小,S 波波幅增大,波形整体向基线下方压缩等。由于篇幅所限,本文仅展示同一只实验动物在时间常数为 5、0.02、0.01 和 0.001 s 的心电图波形(图 3)。

2.4 陷波滤波对心电图波形的影响

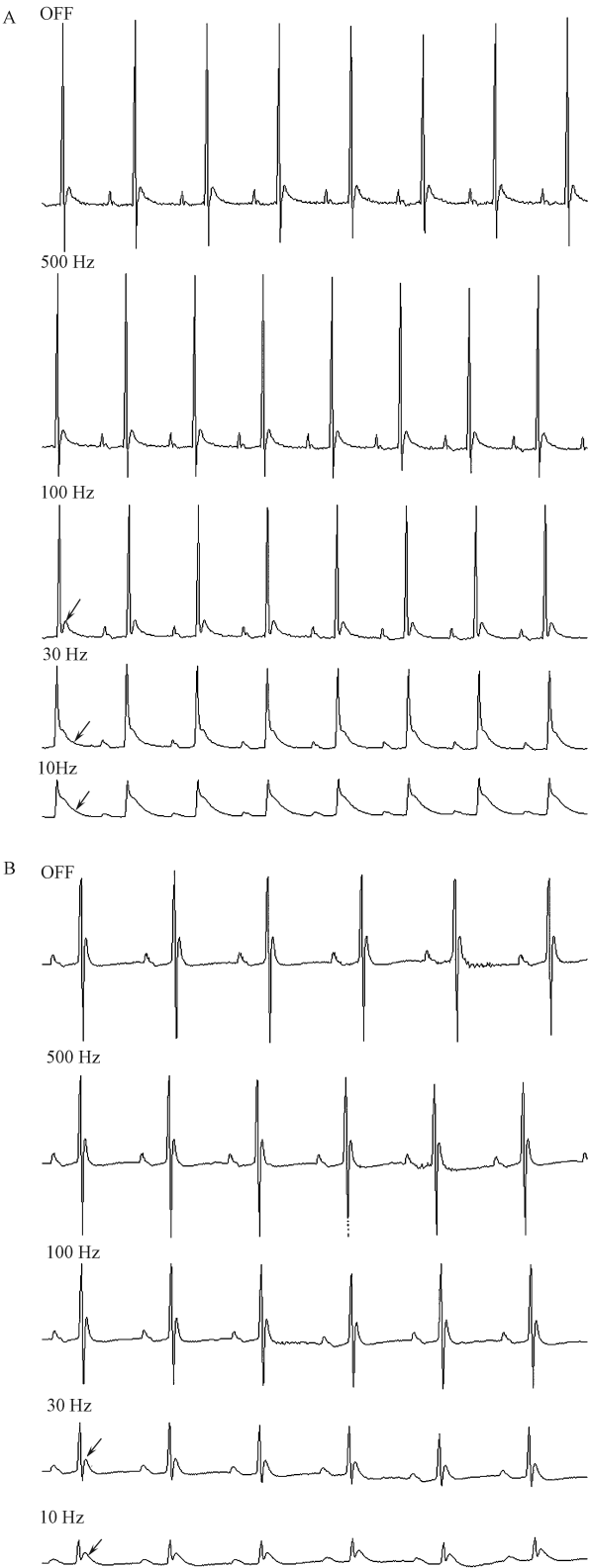
开启陷波滤波会导致心电图扭曲变形(图 4)。

2.5 接地和插针对心电图稳定性的影响:

不接地和插针接触不良均会影响心电图的稳定性,前者主要表现为有规律抖动的基线,后者主要表现为杂乱无序的基线。(图 5)

3 讨论

小动物心电图是实验动物研究中最常用的实验方法之一,但迄今为止,小动物心电图尚无公认的正常值^[1],小动物心电图的采样参数设置尤其是滤波参数的设置仍无统一标准,同样是正常小动物的心电图,在不同的科研论文中可能呈现出截然不同的波形^[1-20]。实际上,在小动物心电图方法学研究^[19]中,为了取得最真实而准确的实验结果,科研人员会直接采集原始信号,通过操作技术和技巧的



注:箭头示 ST 段抬高。

图 2 低通滤波对心电图波形的影响

Note. The arrow refers to ST-segment elevation.

Figure 2 Effect of low-pass filter on ECG waveform

改进来提高心电图的稳定性,而不会对心电图进行

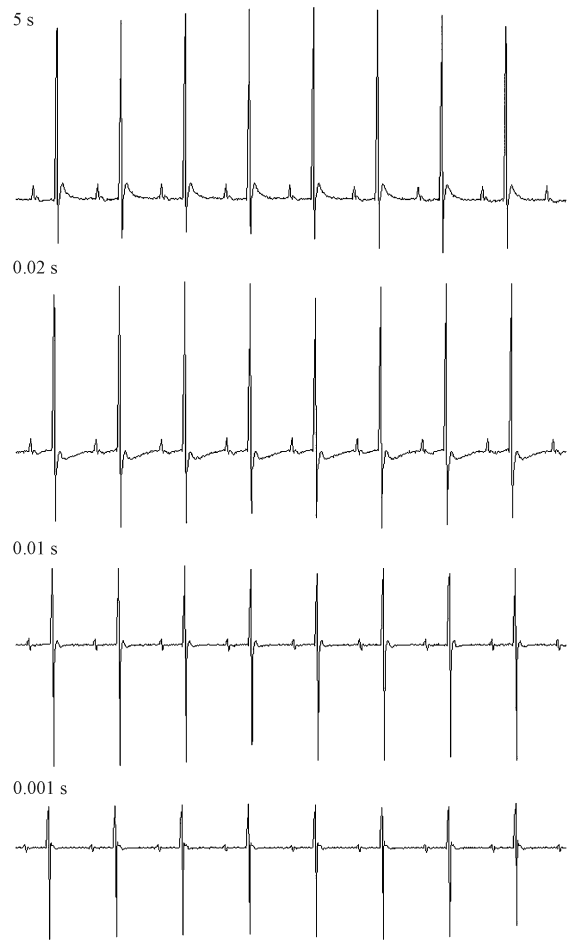


图 3 时间常数对心电图波形的影响

Figure 3 Effect of time constant on ECG waveform

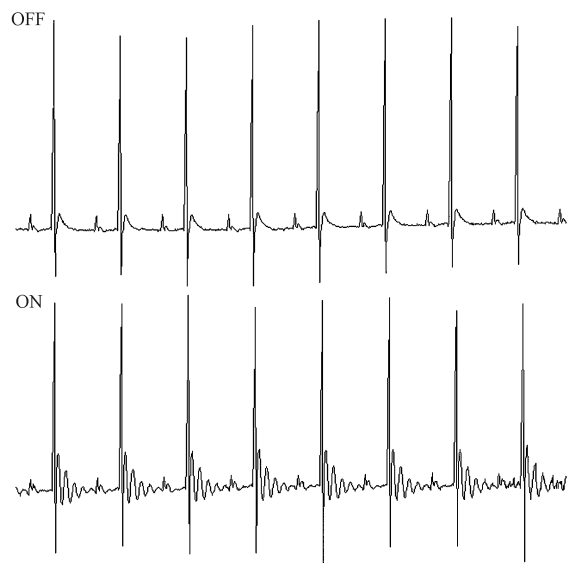


图 4 陷波滤波对心电图波形的影响

Figure 4 Effect of notch filter on ECG waveform

任何的滤波或平滑化。当然,要求所有科研人员都熟练掌握相关技巧、不对心电图信号进行滤波是不

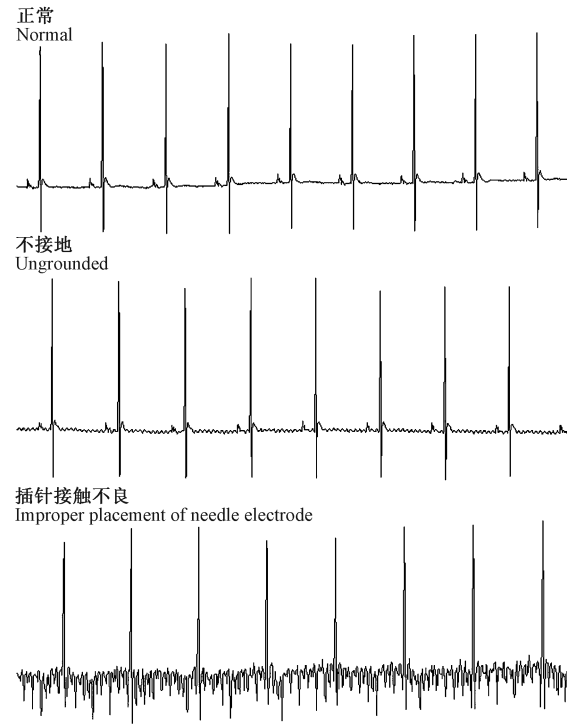


图 5 接地和插针对心电图稳定性的影响

Figure 5 Effects of electrical grounding and needle electrode placement on ECG stability

现实的,因此,如何设置采样参数尤其是滤波参数,在改善心电图信号稳定性的同时最大限度的保留原始波形,是本研究主要考虑的问题,这不仅有助于提高相关实验结果的真实性和准确性,而且有助于相关科研成果的比较、交流和对外发表。

本研究所使用仪器为 RM6240BD 型多道生理信号采集处理系统,与心电图波形相关的四个采样参数分别为采样速率、低通滤波、时间常数和陷波滤波,由于时间常数相当于高通滤波^[21],因此后三个参数都属于滤波参数,我们将时间常数设置为最大(5 s),同时关闭低通滤波(OFF)和陷波滤波,此时所采集到的为准原始波形的心电图,我们将其他参数设置下所采集到的心电图都与准原始波形相比较,从而判断心电图是否存在变形和失真。

本研究结果表明,采样速率主要影响心电图波形的完整性。当采样速率较低(200 ~ 1 Hz)时,将采集不到完整的 PQRST 波形,较高(400 k ~ 400 Hz)的采样速率均能采集到完整的 PQRST 波形,而且波形基本没有区别。因此在这个参数设置上,建议设置较高的采样速率。

本研究结果还表明,低通滤波、时间常数和陷波滤波的设置均对心电图波形有较为明显的影响。

首先是低通滤波的设置,较低的低通滤波会导致心电图的变形和失真,尤其值得一提的是,ST 段抬高是判断心肌缺血动物模型是否成功的心电图标志^[18],这也意味着,低通滤波设置偏低,可能让正常实验动物表现出一种“貌似心肌缺血”的心电图(图 2),这将大大影响实验人员对心肌缺血动物模型造模是否成功的判断,影响相关科研成果的评估和发表。其次是时间常数的设置,较低的时间常数也会导致心电图波形的变形和失真(图 3)。最后是陷波滤波的设置,这种滤波在临床心电图设备上广泛使用,针对的是交流电源可能引入的工频交流干扰^[22-23],本研究结果表明,陷波滤波并不适用于小鼠的心电图实验,开启将会导致心电图的扭曲和变形,这可能与小鼠的心率(本研究中麻醉时测得心率为 400 ~ 600 次/min)比人体更高有关。简言之,在滤波参数的设置上,建议设置较高的低通滤波和时间常数,不建议使用陷波滤波。

必须指出的是,本研究所使用的是 RM6240BD 型仪器,而测量心电图的仪器是多种多样的,因此建议正式实验前,先测量出心电图的原始波形或准原始波形,然后以尽量少使用滤波和最大限度保留原始波形为原则,摸索出适合自己所使用仪器的采样参数设置。

心电图的稳定性与心电图滤波参数设置密切相关,如果心电图的稳定性得不到保证,将不得不使用滤波,在使心电图波形看起来更平滑的同时也滤掉更多的原始信号,降低实验结果的真实性和准确性,而不恰当地使用滤波,还可能导致心电图的变形和失真。本研究结果表明,不接地和插针接触不良均会影响到心电图的稳定性,但两者的表现有着明显的区别(图 5),前者比后者表现得更加规律。实际上,如何提高心电图的稳定性一直是小动物心电图方法学中最主要的问题,对于临床前药物安全性评价^[19-20]或房颤动物模型^[16-17]等动物实验来说,心电图的稳定性显得尤其重要,因为任何滤波都有可能干扰科研人员对原始波形细微变化的观察。在此,笔者根据自己的科研实践,得出以下经验供科研人员参考:①实验仪器一定要接地;②除了针头电极外,实验动物身体不可以与任何导电物体接触,手术板表面应该是干燥的,如果实验过程中实验动物有小便,应及时擦干;③避免使用太细太短的针头做电极;④针头电极插入皮下时,应用手指将皮肤掀起呈三角形,针头从三角形中间插

入,应该有明显的“落空感”;⑤小腿和小臂的皮肤紧致难以掀起,插针的部位应尽量选择大腿和上臂;⑥插针不宜过浅,通常将针头电极一直插到大腿的股部或上臂的腋部,深度约在 5 ~ 10 mm;⑦插针接触良好时,实验动物任何轻微的挣扎甚至是呼吸都会影响心电图的稳定性,例如心电图基线会随着实验动物的呼吸或者呼吸机(心肌缺血动物模型常用)的振动发生震颤,这种现象可以用来判断插针是否接触良好;⑧手术板或实验桌任何轻微的晃动都有可能导致心电图基线明显抖动,这也是一个很容易被忽视的细节。

综上所述,在小鼠的心电图实验中,应选择合适的采样参数设置,通过操作技术的改进来提高心电图的稳定性,尽量避免或减少滤波的使用,最大限度地保留原始波形,以获得真实和准确的实验结果。建议设置较高的采样速率、低通滤波和时间常数,不使用陷波滤波。

参 考 文 献(References)

- [1] 徐淑云,卞如濂,陈修.药理学实验方法学(第三版)[M].北京:人民卫生出版社,2006:1007-1017.
Xu SY, Bian RL, Chen X. Methodology of pharmacological experiments (3rd edition) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2006:1007-1017.
- [2] 王勇,高大中,殷跃辉,等.大鼠心肌梗死模型建立方法选择及心电图表现[J].中国实验动物学报,2011,19(6):525-529.
Wang Y, Gao DZ, Yin YH, et al. Method selection for the establishment of myocardial infarction model and the electrocardiographic presentation in the rats [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2011,19(6):525-529.
- [3] 陆文娟,周婧,马宏跃,等.抗心律失常药物对蟾酥致小鼠心律失常的影响[J].药学报,2011,46(10):1187-1192.
Lu WJ, Zhou J, Ma HY, et al. Effect of anti-arrhythmia drugs on mouse arrhythmia induced by Bufonis Venenum [J]. Acta Pharm Sin, 2011, 46(10): 1187-1192.
- [4] 王静,杨晓霞,相有章,等.异丙肾上腺素诱导大鼠急性心肌梗死损伤心电图观察指标的研究[J].中国地方病学杂志,2011,30(1):31-35.
Wang J, Yang XX, Xiang YZ, et al. Observational study of relevant electrocardiogram indexes of rat acute ischemic myocardial injury induced by different doses of isoprenaline [J]. Chin J Endemiol, 2011,30(1):31-35.
- [5] 邓宇璐,符永恒,谭宁,等.大鼠活体心肌缺血再灌注损伤模型的建立与综合评估[J].中国病理生理杂志,2011,27(2):412-416.
Deng YJ, Fu YH, Tan N, et al. Establishment and evaluation of rat heart ischemia-reperfusion injury model in vivo [J]. Chin J Pathophysiol, 2011,27(2):412-416.

- [6] 陈志坚, 廖玉华, 唐省三, 等. BALB/c 小鼠巨细胞病毒性心肌炎模型的特征[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(3): 466-469.
- Chen ZJ, Liao YH, Tang SS, et al. Characteristics of murine cytomegalo virus myocarditis in BALB/c mice[J]. Chin J Pathophysiol, 2008, 24(3): 466-469.
- [7] 肖召文, 姜昕, 付琨, 等. 虎杖苷对小鼠急性心肌梗死后心肌细胞损伤的保护作用[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2016, 45(2): 176-180.
- Xiao ZW, Jiang X, Fu J, et al. Polydatin protects myocardiocytes from acute myocardial infarction injury in mice[J]. Acta Med Univ Sci Technol Huazhong, 2016, 45(2): 176-180.
- [8] 陈贵良, 刘军须, 陈则永, 等. MIJ 和 HFJ 近交系大鼠心电图表现[J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(1): 55-59.
- Chen GL, Liu JX, Chen ZY, et al. Characterization of typical ECG of inbred MIJ and HFJ rats[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2012, 20(1): 55-59.
- [9] 刘海涛, 李飞, 王跃民, 等. 大鼠急性心肌缺血/再灌注模型改良方法与传统方法的比较[J]. 心脏杂志, 2010, 22(4): 533-536.
- Liu HT, Li F, Wang YM, et al. Comparison between conventional and modified methods of acute myocardial ischemia/reperfusion models[J]. Chin Heart J, 2010, 22(4): 533-536.
- [10] 王松子, 毛亮, 魏巍, 等. 电针对酸敏感离子通道 3 基因敲除小鼠心肌缺血后损伤的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(4): 1406-1408.
- Wang SZ, Mao L, Wei W, et al. Effects of electroacupuncture on acid-sensing ion channel 3 in knock-out mice with myocardial ischemia damages[J]. Chin Tradit Chin Med Pharm, 2016, 31(4): 1406-1408.
- [11] 魏峰, 张静, 韩克, 等. 非人工通气下大鼠急性心肌梗死模型的建立[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2010, 31(6): 699-702.
- Wei F, Zhang J, Han K, et al. Establishing a model of acute myocardial infarction in rats without artificial ventilation[J]. J Xi'an Jiaotong Univ Med Sci, 2010, 31(6): 699-702.
- [12] 张玲, 张彦, 段明军, 等. 清醒状态昆明小鼠随日龄变化的心电图分析[J]. 中国实验动物学报, 2010, 18(2): 113-117.
- Zhang L, Zhang Y, Duan MJ, et al. Variation of electrocardiogram in conscious Kunming mice at different postnatal days[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2010, 18(2): 113-117.
- [13] 王耀晟, 何力鹏, 周仪华, 等. 压力负荷型心脏肥大大鼠心电图[J]. 中华高血压杂志, 2008, 16(10): 933-936.
- Wang YS, He LP, Zhou YH, et al. Characteristics of electrocardiography in pressure overload-induced cardiac hypertrophy rats[J]. Chin J Hypertension, 2008, 16(10): 933-936.
- [14] 相有章, 杨晓霞, 边建朝, 等. 铬对大鼠心电图及心肌细胞的电生理影响[J]. 中国应用生理学杂志, 1996, 12(3): 254-258.
- Xiang YZ, Yang XX, Bian JC, et al. Effects of chromium on electrocardiogram and cardiomyocyte electrophysiology in rats[J]. Chin J Appl Physiol, 1996, 12(3): 254-258.
- [15] 毕文彬, 陶恒沂, 张淑英, 等. 三种药物对实验性矽肺大鼠心电图的影响[J]. 第二军医大学学报, 1996, 17(2): 157-159.
- Bi WS, Tao HY, Zhang SY, et al. Effects of three drugs on ECG of rats with experimental silicosis[J]. Acad J Sec Mil Med Univ, 1996, 17(2): 157-159.
- [16] 张瑞玉, 张艳, 王艳霞, 等. 定心胶囊对房颤大鼠心房电重构的影响[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(5): 981-983.
- Zhang RY, Zhang Y, Wang YX, et al. The effectment of Dingxin capsule for atrial electrical remodeling of AF rats[J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2008, 26(5): 981-983.
- [17] 陈春林, 巩甜甜, 汤依群, 等. SD 大鼠房颤模型的建立[J]. 实验动物科学, 2009, 26(3): 1-4.
- Chen CL, Gong TT, Tang YQ, et al. Establishing a model of atrial fibrillation in SD rats[J]. Lab Anim Sci, 2009, 26(3): 1-4.
- [18] Opitz CF, Mitchell GF, Pfeffer MA, et al. Arrhythmias and death after coronary artery occlusion in the rat. Continuous telemetric ECG monitoring in conscious, untethered rats[J]. Circulation, 1995, 92(2): 253-261.
- [19] Tontodonati M, Fasdelli N, Dorigatti R. An improved method of electrode placement in configuration Lead II for the reliable ECG recording by telemetry in the conscious rat[J]. J Pharmacol Toxicol Methods, 2011, 63(1): 1-6.
- [20] Farraj AK, Hazari MS, Cascio WE. The utility of the small rodent electrocardiogram in toxicology[J]. Toxicol Sci. 2011, 121(1): 11-30.
- [21] RM6240 系列多道生理信号采集处理系统使用说明书[R]. Instruction book of RM6240 multi-channel physiological recording instrument[R].
- [22] 范建飞, 李金花. 陷波功能对心电监护仪检定的影响[J]. 品牌与标准化, 2013(9): 44-45.
- Fan JF, Li JH. Effect of notch function on verification of ECG monitor[J]. Brand Stdn, 2013(9): 44-45.
- [23] 袁丽华, 洪华松, 漆新民. 陷波滤波器的设计及其应用[J]. 自动化与仪器仪表, 2004(4): 20-22.
- Yuan LH, Hong HS, Qi XM. Design of notch filter and its application[J]. Auto Inst App, 2004(4): 20-22.