УДК 612.172.2/.4.084

Н.А. Чиж

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

СПОСОБЫ РЕГИСТРАЦИИ ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАММ У КРЫС ДЛЯ АНАЛИЗА ВАРИАБЕЛЬНОСТИ СЕРДЕЧНОГО РИТМА

Для точной интерпретации результатов анализа вариабельности сердечного ритма у крыс важна правильная регистрация электрокардиограмм (ЭКГ). Нами были разработаны способы регистрации ЭКГ у крыс, находящихся в состоянии, приближенном к свободному поведению. Способ I заключался в подкожной имплантации электродов от дистальных отделов конечностей к межлопаточной области, в которой расположена «фишка» – устройство для подключения электродов к электрокардиографическому кабелю. При проведении экспериментов на большом количестве животных предлагается использовать способ II. Данный способ заключался в том, что для снижения болевого синдрома животным на коже дистальных отделов конечностей предварительно устанавливали «электроды-кольца». Для свободного перемещения крыс при записи ЭКГ было изготовлено устройство, позволяющее передавать сигнал от электродов к кабелю кардиографа.

Ключевые слова: *вариабельность сердечного ритма, крыса, электрокардиограмма.*

Оценка функционального состояния животных является неотъемлемой частью экспериментальных исследований. В настоящее время с этой целью используют анализ вариабельности сердечного ритма (ВСР), который представляет собой уникальный неинвазивный метод точной количественной оценки вегетативной функции в экспериментальных условиях [1, 2].

Для корректной интерпретации результатов важно соблюдать правила регистрации электрокардиограмм (ЭКГ) у крыс, в частности, это создание условий, при которых животное находится в стационарном состоянии. Определенные трудности возникают при фиксации животных и наложении электродов (зажимов, манжет), поскольку эти манипуляции вызывают у них дополнительный стресс и дискомфорт [3, 4]. В связи с этим полученные показатели ЭКГ для анализа ВСР не всегда достоверны.

В настоящее время иммобилизация животного путем введения наркоза для данного метода не приемлема. Использование специальных клеток-пеналов или туннелей, в которых животные обездвижены и жестко фиксированы в определенном положении, также приводит к иммобилизационному стрессу [5], за исключением тех случаев, когда такие воздействия предусмотрены задачами эксперимента.

Во избежание технических наводок и эмоционального стресса под кожу мелким млекопитающим имплантируют электроды небольшого размера [6] и записывают ЭКГ в условиях свободного поведения по беспроводной связи. Однако далеко не все экспериментальные лаборатории могут применять такое дорогостоящее оборудование.

Целью данного исследования явилась разработка способов регистрации ЭКГ у крыс в состоянии, приближенном к свободному поведению.

Материал и методы. Работа выполнена на 55 крысах-самцах линии Вистар массой 200–350 г в соответствии с принципами биоэтики, изложенными в Хельсинской декларации и «Законі України про захист тварин від жорстокого поводження» от 15.12.09 № 1759. Методики утверждены комиссией по биоэтике в Институте проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины.

Электрокардиографические исследования проводили на аппаратно-программном комплексе «Поли-Спектр 8/В» («НейроСофт», Россия) с использованием программного обеспечения «Поли-Спектр-Ритм» в трех

© Н.А. Чиж, 2015

стандартных I, II, III и трех дополнительных avL, avR и avF отведениях.

Результаты

Способ I. Для обеспечения максимально возможного комфорта животного «фишку» (устройство для подключения электродов к электрокардиографическому кабелю) фиксировали в межлопаточной области, а электроды проводили подкожно.

«Фишка» состоит из 4-контактного разъема для питания (P4 power connector – 4-pin Molex 39-29-9042 ATX 12V), который помещен в корпусную пластиковую деталь размером 15x15x10 мм, имеющую отверстия по боковым поверхностям для фиксации к коже. К контактам припаивали четыре многожильных изолированных посеребренных провода МС 1613 с залуженными концами длиной 5–7 мм, которые выполняют функцию электродов. Провода располагали таким образом, чтобы со стороны замка к разъему можно было припаять два коротких провода длиной ≈ 60 мм для подведения к передним конечностям, а с противоположной стороны – два длинных провода длиной ≈ 130 мм для фиксации к задним конечностям (рис. 1, *а*). С целью лучшей изоляции и фиксации «фишку» заливали парафином. Для более мелких животных можно использовать корпусную деталь меньшего размера и разъем Micro Fit MF 3–4MA.

Оперативное вмешательство проводили под ингаляционным наркозом. Подготовка операционного поля включала удаление шерстяного покрова и обработку кожи этиловым спиртом (70 °) в межлопаточной и поясничной областях, а также в дистальных отделах наружных поверхностей передних и задних конечностей. Стерильной инъекционной иглой для шприцев 16x90 с введенным в нее мандреном туннелировали подкожный слой от поясничной до межлопаточной области. Мандрен извлекали и в отверстие со стороны вершины иглы вводили конец одного из длинных проводов, используя при этом в качестве катетера иглу. При появлении конца провода в канюле извлекали иглу и подтягивали «фишку» за провод. Ввиду ограниченной длины иглы (90 мм) поясничная область была промежуточной зоной для подкожного подведения электродов к задним конечностям (рис. 1, *б*). Затем такой же иглой формировали подкожный туннель от наружной поверхности одной из задних конечностей до поясничной области. При необходимости провод укорачивали до такой длины, чтобы при расправлении кожи электрод был полностью погружен под кожу. К другой нижней конечности электрод подводили аналогичным способом.

После подведения электродов к задним конечностям «фишку» фиксировали к коже межлопаточной области двумя узловыми швами атравматической проленовой нитью 1.0 с иглой TP-1 65 мм 1/2 (Ethicon, США) со стороны, противоположной замку разъема. Для профилактики некроза кожи в этой зоне необходимо обеспечить свободную фиксацию «фишки» и исключить пережатие кожных покровов.

Подкожную имплантацию электродов к дистальным отделам передних конечностей осуществляли аналогичным способом (рис. 1, *в*). На последнем этапе «фишку» фиксировали двумя узловыми швами к коже шеи со стороны замка разъема (рис. 1, *г*). Длительность операции по имплантации «фишки» составляла 30–40 мин.

Для удобства подключения проводов к стандартному шлейфу электрокардиографа был изготовлен кабель 1, к одному концу которого крепилась монтажная планка с хо-

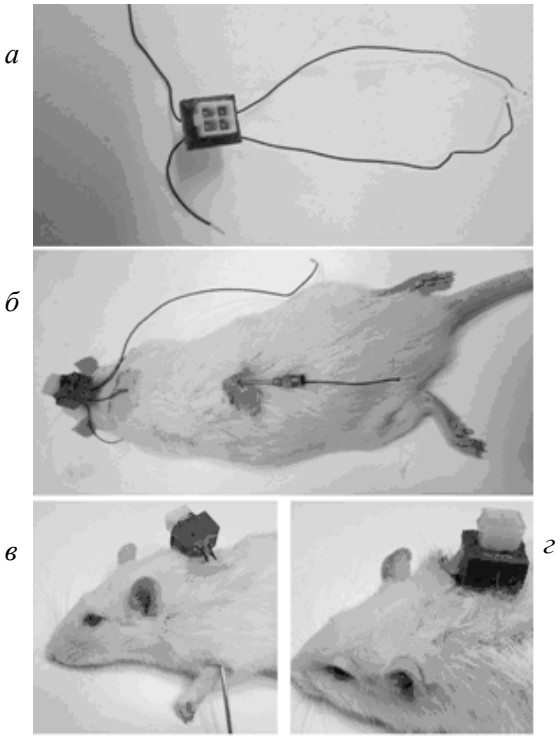

Рис. 1. Имплантация «фишки» в межлопаточную область крысе: *а* – «фишка» (вид сверху); *б* – подкожное подведение провода к задней конечности; *в* – подкожное подведение провода к передней конечности; *г* – имплантированная «фишка»

рошо фиксированными четырьмя маркированными гнездами типа банан (4 мм R1-22-B), к другому – разъем в виде гнезда IDE (ATA) Molex (рис. 2, *а*).

а *б* *в*

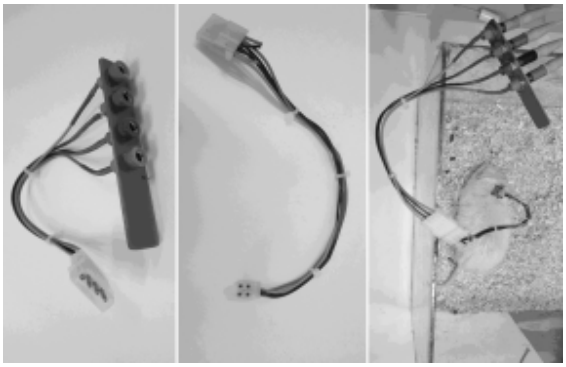

Рис. 2. Регистрация ЭКГ у крысы с помощью способа I:
а – кабель 1; *б* – кабель 2; *в* – крыса в аквариуме

Для подключения кабеля 1 к «фишке» использовали кабель 2, на одном конце которого находилась ответная часть – штекер IDE (ATA) Molex, а на противоположном – разъем для «фишки» 4-pin Molex 39-01-2040 ATX 12V (рис. 2, *б*). Следует обращать внимание на правильное расположение проводов по всем кабелям в соответствии с электрокардиографическими правилами.

К «фишке» подсоединяли кабель 2, крысу помещали в аквариум, а затем кабель 2 подсоединяли к кабелю 1, предварительно подключенному к шлейфу электрокардиографа. После записи ЭКГ кабели отсоединяли в обратной последовательности (рис. 2, *в*).

С помощью данного способа можно записывать ЭКГ от 5 мин до нескольких часов. В данном эксперименте срок наблюдения за животными составлял 60 суток, при этом амплитуда зубцов по всем отведениям не снижалась, поэтому была произведена правильная автоматическая расстановка RR-интервалов. Электрокардиограммы у крыс регистрировали каждые 7 суток в течение 5 мин.

Способ II. Для регистрации ЭКГ у большого количества экспериментальных животных предлагается использовать более простой способ. С целью снижения болевого синдрома у крыс в дистальных отделах наружных поверхностей передних и задних конечностей путем сквозного прокалывания складки кожи (по типу пирсинга) устанавливали «электроды-кольца» из медицинской стали диаметром 8 мм и толщиной 0,7 мм.

Для свободного перемещения животного использовали специально смонтированное устройство с использованием ваги [7], которая представляет собой Н-образный эластический каркас, изготовленный из пластиковых кабельных стяжек 80х2,5 мм. Это обеспечивает высокую эластичность и подвижность устройства. К концам поперечных стяжек прикрепляли четыре провода, на одном их конце припаивали разъем в виде штекера IDE (ATA) Molex, на другом – четыре упругих металлических стержня с зажимами «крокодил» AG-110A-C (рис. 3, *а*).

а *б*

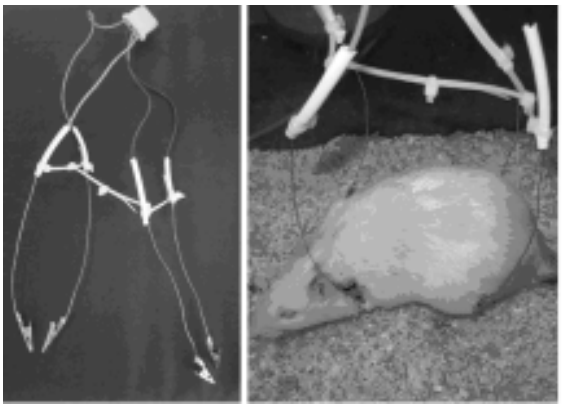

Рис. 3. Регистрация ЭКГ у крысы с помощью способа II:
а – устройство для записи ЭКГ с помощью ваги; *б* – крыса в аквариуме

Для регистрации ЭКГ зажимы фиксировали к «кольцам-электродам» и крысу помещали в аквариум (рис. 3, *б*). Разъем в виде штекера IDE (ATA) Molex подсоединяли к ответной части кабеля 1, предварительно подключенного к шлейфу электрокардиографа. Пример записи ЭКГ представлен на рис. 4.

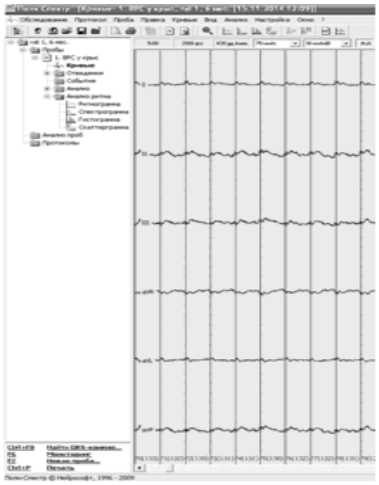

Рис. 4. Пример регистрации ЭКГ крысы для анализа ВСР

Данная методика позволяет проводить запись ЭКГ без объемных оперативных вмешательств и значительных материальных затрат. «Кольца-электроды» на конечностях животного снижают болевые ощущения, а вага не стесняет движения и дает возможность регистрировать ЭКГ без фиксации. Срок наблюдения составил 60 суток.

Таким образом, с помощью представленных способов регистрации ЭКГ можно получать достоверные данные для анализа вариабельности сердечного ритма. При небольшой себестоимости разработанные способы позволяют проводить запись ЭКГ в условно свободном поведении мелких млекопитающих при длительном сроке наблюдений.

Литература

1. Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем / Р.М. Баевский, Г.Г. Иванов, Л.В. Чирейкин и др. // Вестник аритмологии. – 2001. – № 24. – С. 65–87.

2. *Беляков В.И.* Кардиореспираторная функция в условиях электрического и химического (L-глутаматом) раздражения фастигиального ядра мозжечка у крысы / В.И. Беляков, Т.А. Пирожкова, Е.В. Мочайкина // Вестник СамГУ. – Естественно-научная серия. – 2007. – Т. 58, № 8. – С. 30–38.

3. *Курьянова Е.В.* Спектральные характеристики сердечного ритма наркотизированных крыс при рефлекторной стимуляции симпатоадреналовых и парасимпатических влияний / Е.В. Курьянова // Тез. докл. IV Всерос. симпозиума. – Ижевск: УдГУ, 2008. – С. 174–177.

4. *Советов В.М.* Театральные куклы: Технология изготовления / В.М. Советов. – СПб.: ГАТИ, 2007. – 192 с.

5. *Яблучанский Н.И.* Вариабельность сердечного ритма в помощь практическому врачу / Н.И. Яблучанский, А.В. Мартыненко. – Харьков, 2010. – 131 с.

6. Cardiac autonomic dysfunction in rats chronically treated with anabolic steroid / P. Pereira-Junior, M. Maracolo, P. Rodrigues, et al.// Anais da Academia Brasileira de Ciencias. – 2010. – Vol. 82, № 2. – P. 431–437.

7. Autonomic deficit not the cause of death in West Nile virus neurological disease / H. Wang, V. Siddharthan, J. Hall, et al. // Clin. Auton. Res. – 2014. – Vol. 24. – P. 15–23.

М.О. Чиж

СПОСОБИ РЕЄСТРАЦІЇ ЕЛЕКТРОКАРДІОГРАМ У ЩУРІВ ДЛЯ АНАЛІЗУ ВАРІАБЕЛЬНОСТІ СЕРДЦЕВОГО РИТМУ

Для точної інтерпретації результатів аналізу варіабельності сердечного ритму у щурів важлива правильна реєстрація електрокардіограм (ЕКГ). Нами були розроблені способи реєстрації ЕКГ у щурів, що знаходяться в стані, наближеному до вільної поведінки. Спосіб І полягав у підшкірній імплантації електродів від дистальних відділів кінцівок до міжлопаткової ділянки, в якій розташована «фішка» – пристрій для підключення електродів до електрокардіографічного кабелю. При проведенні експериментів на великій кількості тварин пропонується використовувати спосіб ІІ. Даний спосіб полягає в тому, що для зниження больового синдрому тваринам на шкірі дистальних відділів кінцівок заздалегідь встановлювали «електроди-кільця». Для вільного переміщення щурів під час запису ЕКГ був виготовлений пристрій, що дозволяє передавати сигнал від електродів до кабелю кардіографа.

Ключові слова: *варіабельність серцевого ритму, щур, електрокардіограма.*

M.O. Chizh

WAYS OF REGISTERING ELECTROCARDIOGRAMS IN RATS FOR ANALYZING HEART RATE VARIABILITY

To correct interpret the results of analysis of heart rate variability in rats the proper recording of electrocardiograms (ECG) is important. The research aim was elaborated the ways of registering ECG in rats being in the state close to free behavior. The way 1 consisted in subcutaneous implantation of electrodes from distal zones of limbs to interscapular region where in the «clue» is located the device for linking-up the electrodes to electrocardiographic cable. When performing the experiments in a big number of animals it is supposed to use the way 2. This method consisted in the fact that to reduce pain syndrome the animals were pre-set with «electrode rings» in the skin of distal parts of limbs. To provide free movement to rats when recording the ECG there was designed the apparatus enabling the transfer of the signal from electrodes to cardiograph cable.

Key words: *heart rate variability, rat, electrocardiogram.*

Поступила 26.08.15