

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ВЕСТИБУЛЯРНОГО ЛАБИРИНТА КРЫСЫ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ИЗМЕНЕНИЕ ХАРАКТЕРИСТИК СТИМУЛИРУЮЩИХ ИМПУЛЬСОВ ТОКА

В.П.Демкин*, В.В.Удут***, П.П.Щетинин*, М.В.Светлик*, С.В.Мельничук*,
А.П.Щетинина*, М.О. Плешков*, Д.Н.Старков*, О.В.Демкин*, Н. Kingma*.*.*.*

*ФГАОУ ВО Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, РФ; **НИИФиРМ им. Е.Д.Гольдберга, ФГБУ Томский НИМЦ РАН, Томск; ***Department of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery, Division of Balance Disorders, Faculty of Health Medicine and Life Sciences, Maastricht University Medical Center, School for Mental Health and Neuroscience, Maastricht, Netherlands

Предложен подход к решению задачи оптимизации режима электрической стимуляции вестибулярного нерва и улучшения передаточной функции вестибулярного имплантата. Построена физическая модель вестибулярного органа с учетом его анатомической структуры, задаваемой из модельных представлений и 3D-визуализации МР- и КТ-снимков, с математическим описанием физических процессов протекания переменного тока через ткани вестибулярного лабиринта. На примере органа равновесия крысы исследована его анатомическая структура, разработана физическая модель и электрическая схема замещения. Проведены измерения и расчеты изменений амплитудно-фазовых характеристик стимулирующих импульсов тока в зависимости от частоты переменного тока и расположения "нулевого" электрода.

Ключевые слова: вестибулярный имплантат, вестибулярный аппарат, анатомическая структура, физическая модель, стимулирующий импульс тока

Физические процессы протекания электрического тока через ткани вестибулярного лабиринта являются предметом многих исследований [9, 11]. Их актуальность обусловлена необходимостью совершенствования качества разработки вестибулярного имплантата (ВИ) для больных, страдающих двухсторонней вестибулярной дисфункцией [7, 12]. Одним из ограничений для широкого внедрения существующих образцов ВИ в медицинскую практику является зависимость передаточной функции имплантата от взаимного расположения электродов в тканях вестибулярного органа, что может значительно влиять на амплитудно-фазовые характеристики импульсов тока, поступающих в афферентный нерв [10]. Особое внимание следует уделять

положению "нулевого" электрода, относительно которого определяются амплитудные и фазовые характеристики стимулирующего импульса тока, поступающего непосредственно на нерв, так как его расположение позволяет оптимизировать режим электрической стимуляции [10].

Ввиду строгости этического регулирования исследований с участием человека и неэквивалентности трупных образцов живым тканям, эффективным подходом к решению задачи оптимизации режима электрической стимуляции нерва является использование лабораторных животных-млекопитающих, поскольку принципиальное анатомическое строение и физиология их вестибулярных аппаратов схожа с человеческими. В основе такого подхода лежит построение физической модели вестибулярного органа с учетом его анатомической структуры, задаваемой из модельных

Адрес для корреспонденции: wospp@yandex.ru. Щетинин П.П.

представлений и 3D-визуализации МР- и КТ-снимков высокого разрешения с математическим описанием физических процессов протекания импульсов тока и трансформации его амплитудно-фазовых характеристик [1, 4, 6].

Целью данной работы являлось исследование анатомической структуры и электрофизиологических свойств вестибулярного органа крысы для построения его физической модели и математического описания процессов прохождения переменного тока через ткани вестибулярного лабиринта при стимуляции вестибулярного нерва.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на базе вивария ТГУ на аутбредных крысах-самцах Вистар ($n=10$) массой тела 300-350 г без явных признаков неврологической патологии и физических дефектов. Животные были получены из питомника лабораторных животных Томского НИМЦ. Животных содержали в соответствии с правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях, и принципами надлежащей лабораторной практики. Крысы содержались на стандартном рационе со свободным доступом к воде и пище.

Для изучения анатомической структуры вестибулярного органа крыс декапитуировали под эфирным наркозом, мягкие ткани периаурикулярной области головы препарировали и удаляли, череп трепанировали и механически выделяли кости барабанного пузырька и периаурикулярной капсулы с сохранением в нативном виде выходящего из нее через внутреннее слуховое отверстие преддверно-улиткового нерва. Полученный образец подвергался компьютерному микрофотографированию (КТ) на цифровом рентгеновском 3D-микрофотографе (Bruker microCT Skyscan 1172) с максимальным пространственным разрешением 4.26 мкм.

Также осуществлялась 3D-реконструкция лабиринтной геометрии на основе МР-снимков крыс в магнитном поле с напряженностью 11.7 Тл и пространственным разрешением до 30 мкм (режим T2), размещенных в открытом доступе на ресурсе "Neuroimaging Informatics Tools and Resources Clearinghouse" (NITRC, <https://www.nitrc.org>). Посредством КТ-сканирования и реконструкции МР-снимков височной кости крыс удалось предельно точно визуализировать трехмерную структуру костного лабиринта и его локализацию по отношению к другим видимым анатомическим координатам. Все это впоследствии дало возможность прецизионно локализовать места прокола височной кости для введения тестовых электродов.

При проведении электрофизиологического эксперимента смоченные изотоническим раствором образцы закреплялись неподвижно в чашке Петри, находящейся на предметном столике стереоскопического микроскопа "МБС-10" (Лыткаринский завод оптического стекла). Под визуальным контролем и с помощью микроманипулятора (Институт лабораторного приборостроения, Пущино) в структуре барабанного пузырька и периаурикулярной капсулы вводили электроды. Стимулирующий электрод вводили в задний полукружный канал вестибулярного аппарата, регистрирующий электрод фиксировали на срезе нерва. "Нулевой" электрод располагали на тканях вокруг барабанного пузырька, в наружном и внутреннем слуховых проходах. Токковые импульсы синусоидальной формы на стимулирующий электрод подавали с помощью генератора сигналов специальной формы SFG-2110 ("Good will instrument Co., Ltd."). Поступающие на вестибулярный нерв импульсы детектировали с помощью электронного осциллографа АСК-2034 ("Актаком"). Постоянное сопротивление перилимфы измеряли с помощью мультиметра 8845А ("Fluke"). Его входы при этом подключались к электродам, установленным в полость преддверия и в полость заднего канала вестибулярного лабиринта.

Для моделирования процессов прохождения переменного электрического тока через ткани вестибулярного органа была разработана физическая модель и эквивалентная электрическая схема замещения функций вестибулярного органа.

Статистическую обработку результатов проводили в специализированном программном пакете R ("Foundation for Statistical Computing"). В процессе статистической обработки данные проверялись на нормальность распределения признака методом Шапиро—Уилка, для удовлетворяющих — нормальному распределению признаков рассчитывали доверительный интервал (CI) и стандартное отклонение (SD), для неудовлетворяющих — определяли медиану (Me) и квартили (Q1, Q3).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения анатомической структуры и топографии вестибулярного лабиринта крысы получена серия КТ-снимков височной кости в сверхвысоком разрешении. На основании этих данных удалось установить точные геометрические размеры костного лабиринта вестибулярного аппарата крысы (табл. 1) и его расположение внутри выделенной кости (рис. 1).

Полученные метрические данные позволили рассчитать наиболее подходящую точку прокола для введения подающего электрода, исключаящую

Таблица 1. Основные размеры элементов вестибулярного аппарата крыс по данным КТ в высоком разрешении (мм; $M \pm SD$)

Полукружные каналы	Длина	Серединный диаметр	Диаметр преддверья	
			в самой широкой части	в самой узкой части
Передний	4.42±0.91	0.176±0.022	1.507±0.051	0.923±0.047
Задний	4.29±0.22	0.186±0.022		
Боковой канал	4.49±0.13	0.183±0.031		

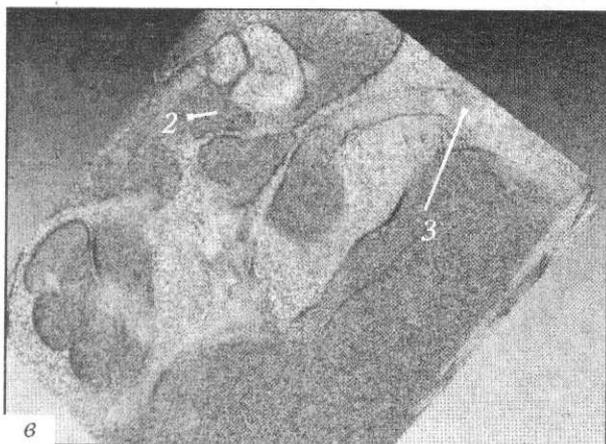
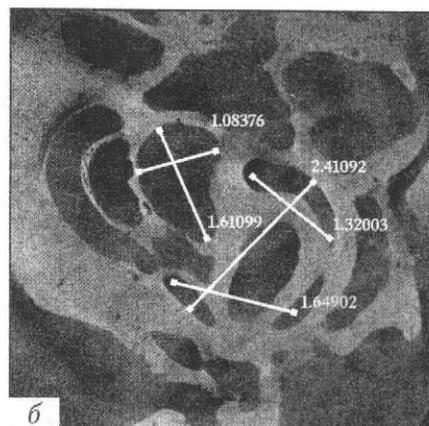


Рис. 1. КТ-снимок (а, б) и 3D-реконструкция (в) перилимфической капсулы крысы. а, б — реконструкция плоским сечением на уровне бокового канала вестибулярного органа: отмечен диаметр канала (а), основные размеры, диаметры преддверья, диаметр окружности и размеры кривизны бокового канала (б), в мм. в — 3D-визуализация заднего канала вестибулярного органа крысы; отмечены места установки стимулирующего (3) и “нулевого” (2) электрода, место регистрирующего электрода удалено.

повреждение мембранного лабиринта и последующее смешение перилимфы и эндолимфы. На полученной анатомической 3D-модели внутреннего уха определено расположение электродов относительно основных анатомических структур внутреннего уха: подающий — в полости заднего вестибулярного канала, регистрирующий — на преддверно-улитковом нерве.

Затем была разработана физическая модель, в основе которой лежит положение о том, что биологические ткани вестибулярного органа являются проводящими средами, обладающими определенным импедансом по отношению к переменному току $Z=R+iX$. Его активная составляющая R связана в первую очередь с проводимостью вну-

тренних жидких сред, являющихся электролитами. Реактивная компонента $X=1/\omega C$ определяется емкостными свойствами стимулируемой ткани, в частности емкостью биологических мембран [5,8]. Физическая модель вестибулярного органа строилась на его анатомической структуре и включала следующие элементы: жидкости с ионной проводимостью и заданным удельным сопротивлением; клеточные структуры с удельным сопротивлением; клеточные ткани, обладающие мембранной емкостью и удельным сопротивлением внутриклеточной жидкости.

В данном случае электрическая модель распространения тока в вестибулярном лабиринте с учетом его анатомической структуры, химического

состава биологических жидкостей и тканей, электрических характеристик ВИ выглядит следующим образом [2]. Импульсы тока от погруженного в перилимфатическое пространство электрода могут распространяться разнонаправленно в тканях вестибулярного лабиринта.

Во-первых, электрический импульс способен перемещаться по собственно перилимфе, являющейся хорошим электролитом, благодаря значительному содержанию органических и неорганических ионов. Во-вторых, электрический сигнал способен частично преодолевать мембрану лабиринта, образованную эпителиальными и мезенхимными клетками, распространяясь по эндолимфе к куполе, преодолевая последнюю и возбуждая нервные окончания через апикальную часть нейрорепителлия. Таким образом, токовый импульс, поступивший от генератора тока ВИ через ткани на электрод, будет испытывать влияние импеданса, и амплитудно-фазовые характеристики на входе его в вестибулярный нерв будут изменены.

Наличие этих изменений можно моделировать, используя эквивалентные электрические схемы [3]. В данном случае с учетом геометрии вестибулярного органа крысы использована эквивалентная электрическая схема (рис. 2).

Электрическую схему распространения тока в вестибулярном лабиринте можно представить в следующем виде: импульс тока (I), генерируемый на выходе ВИ, через электрод подается на стимулирующий электрод (1) и затем распространяется через ткани на регистрирующий электрод (2) через элементы эквивалентной схемы замещения вестибулярного лабиринта (R, C). Амплитудно-фазовые характеристики стимулирующего импульса тока, прошедшего через ткани к вестибулярному нерву, регистрируются на сопротивлении $R_n=15$ кОм относительно "нулевого" электрода. Величины омических сопротивлений и значений емкостей рассчитывались из известных в литературе данных (табл. 2), с учетом размеров тканей в анатомической структуре вестибулярного органа крысы.

Измерения амплитудно-фазовых характеристик стимулирующего импульса тока проводились при следующих условиях: амплитуда напряжения

на подающем электроде $U_1=1$ В, частота переменного тока 0.4-1 кГц, положения "нулевого" электрода (1) — в слуховом проходе височной кости вблизи овального окна преддверия, (2) — на внешней поверхности височной кости вблизи слухового прохода, (3) — на теле сегмента височной мышцы.

Сигнал с регистрирующего электрода подавался на второй канал осциллографа, синхронизированный с первым каналом, на который подавалось напряжение U_1 .

Приведена осциллограмма напряжений U_1 и U_2 , снимаемых в точках 1 (подающий электрод) и

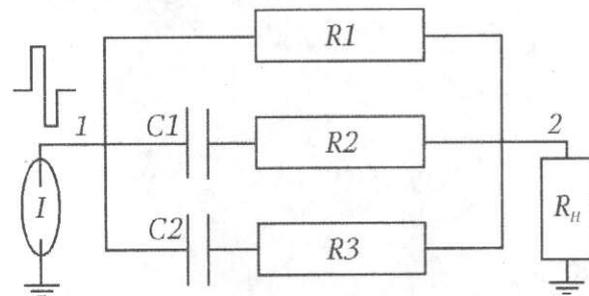


Рис. 2. Эквивалентная электрическая схема замещения вестибулярного лабиринта.

R_1 — омическое сопротивление перилимфы; (C_1, R_2) и (C_2, R_3) — электрические характеристики среды для первого и второго варианта прохождения тока через ткани вестибулярного лабиринта.

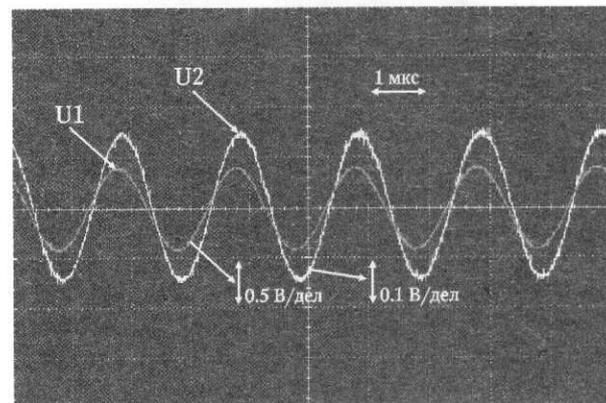


Рис. 3. Осциллограммы напряжений на подающем (U_1) и регистрирующем (U_2) электродах при частоте 500 Гц при положении "нулевого" электрода (1) в слуховом проходе.

Таблица 2. Удельные значения электрических параметров вестибулярного аппарата

Электрические характеристики биологических тканей вестибулярного органа		Значение
Удельная проводимость	Эндолимфа	1.97 С/м
	Перилимфа	1.65 С/м
Емкость мембраны волосковой клетки		30 пФ
Емкость мембраны клетки, образующей мембранный лабиринт		23.8 пФ
Емкость мембраны клетки базальной части нейрорепителлия		24.9 пФ

Таблица 3. Амплитудно-фазовые характеристики измеряемого сигнала ($M \pm SD$)

Сигнал/положение "нулевого" электрода	Слуховой проход (1-я позиция)	Височная кость (2-я позиция)	Височная мышца (3-я позиция)
Амплитуда, В	0.15±0.02	0.07±0.02	0.08±0.02
Сдвиг по фазе, мкс	0.20±0.05	0.10±0.05	0.10±0.05

2 (регистрирующий электрод) (рис. 3). Отчетливо заметно уменьшение амплитуды $U_2/U_1 \approx 0.35$ и запаздывание по времени $\tau = \Delta\phi / (2\pi\nu)$ на 0.2 мкс сигнала U_2 относительно U_1 , где $\Delta\phi$ — смещение по фазе регистрирующего сигнала относительно сигнала на подающем электроде, ν — частота сигнала в точке 1. Измерения показали, что величина смещения фазы практически не зависит от частоты в указанном диапазоне частот.

Амплитуду и сдвиг по фазе регистрируемого сигнала определяли в зависимости от положения "нулевого" электрода (табл. 3).

Расчет амплитудно-фазовых характеристик импульса тока для схемы (рис. 2), представляющей пятиэлементную модель Максвелла, проводился с помощью формулы, полученной в работе [12] для импеданса.

Тогда угол сдвига фаз регистрируемого импульса по отношению к подаваемому импульсу тока можно определить из формулы:

$$\operatorname{tg}\Delta\phi = - \frac{[F(1-A\omega^2) - B\omega(1-D\omega^2)]}{BF\omega(1-A\omega^2)(1-D\omega^2)},$$

где константы A, B, D, F определялись по [2].

С учетом геометрических размеров и удельных электрических параметров вестибулярного лабиринта крысы (табл. 1, 2) были рассчитаны фазовые характеристики стимулирующих импульсов для характерных значений частот ВИ в интервале 0.4-1.0 кГц. Рассчитанное значение временной задержки сигнала на регистрирующем электроде составило 0.09 ± 0.06 мкс, что согласуется с экспериментальными измерениями.

Таким образом, на основе МРТ и КТ исследования анатомической структуры органа равновесия крысы разработана физическая модель распространения электрического тока через ткани вестибулярного органа и эквивалентная ей электрическая схема замещения, отражающая реальные электроимпедансные свойства биологических тканей. Проведены измерения и расчеты изменений амплитудно-фазовых характеристик импульсов тока при прохождении его от стимулирующего электрода к вестибулярному нерву. Амплитудно-фазовые характеристики импульсов тока зависят от положения "нулевого" электрода в вестибуляр-

ном органе. Предложенная физическая модель и результаты проведенных исследований могут служить основой для оптимизации передаточной функции ВИ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект № 17-15-01249).

ЛИТЕРАТУРА

1. Воропаева О.Ф., Шокин Ю.И. Численное моделирование в медицине: некоторые постановки задач и результаты расчетов // Вычислительные технологии. 2012. Т.17, № 4. С. 29-55.
2. Демкин В.П., Щетинин П.П., Мельничук С.В., Кингма Г., ван де Берг Р., Плешков М.О., Старков Д.Н. Распространение электрического тока в тканях вестибулярного лабиринта человека: совершенствование вестибулярного импланта // Известия вузов. Физика. 2017. Т. 60, № 11. С. 152-157.
3. Зуев А.Л., Судаков А.И., Шакиров Н.В. Тожественные электрические модели биологических объектов // Рос. журн. биомех. 2014. Т. 18, № 4. С. 491-497.
4. Котова А.Б., Кифоренко С.И., Белов В.М. Математическое моделирование в биологии и медицине // Кибернетика и вычислительная техника. 2013. № 174. С. 47-55.
5. Николаев Д.В., Смирнов А.В., Бобринская И.Г., Руднев С.Г. Биоимпедансный анализ состава тела. М., 2009.
6. Bradshaw A.P., Curthoys I.S., Todd M.J., Magnussen J.S., Taubman D.S., Aw S.T., Halmagyi G.M. A mathematical model of human semicircular canal geometry: a new basis for interpreting vestibular physiology // J. Assoc. Res. Otolaryngol. 2010. Vol. 11, N 2. P. 145-159.
7. Gong W., Merfeld D.M. Prototype neural semicircular canal prosthesis using patterned electrical stimulation // Ann. Biomed. Eng. 2000. Vol. 28, N 5. P. 572-581.
8. Lionheart W., Polydorides N., Borsic A. The reconstruction problem // Electrical Impedance Tomography: Methods, History and Applications / Ed. D.S.Holder. Manchester, 2004. P. 3-62.
9. Lloret-Villas A., Varusai T.M., Juty N., Laibe C., Le NovÈre N., Hermjakob H., Chelliah V. The impact of mathematical modeling in understanding the mechanisms underlying neurodegeneration: evolving dimensions and future directions // CPT. Pharmacometrics Syst. Pharmacol. 2017. Vol. 6, N 2. P. 73-86.
10. Ramos Miguel A., Ramos Macías A., Viera Artiles J., Perez Zaballo M.T. The Effect of Reference Electrode

- Position in Cochlear Implants // *J. Int. Adv. Otol.* 2015. Vol. 11, N 3. P. 222-228.
11. Santos C.F., Belinha J., Gentil F., Parente M., Jorge R.N. An alternative 3D numerical method to study the biomechanical behavior of the human inner ear semicircular canal // *Acta Bioeng. Biomech.* 2017. Vol. 19, N 1. P. 3-15.
12. van de Berg R., Guinand N., Nguyen T.A., Ranieri M., Cavuscens S., Guyot J.P., Stokroos R., Kingma H., Perez-Fornos A. The vestibular implant: Frequency-dependency of the electrically evoked vestibulo-ocular reflex in humans // *Front. Syst. Neurosci.* 2015. Vol. 8. P. 255. doi: 10.3389/fnsys.2014.00255.

Получено 13.07.17
