

Nelinearna analiza srčanog ritma spontano hipertenzivnih laboratorijskih subjekata tokom gestacije

Nina Evetović
Fakultet tehničkih nauka
Univerzitet u Novom Sadu
Novi Sad, Srbija
evetoviceva99@gmail.com

Ivana Milaković
Fakultet tehničkih nauka
Univerzitet u Novom Sadu
Novi Sad, Srbija
milakovicana48@gmail.com

Sažetak— U ovom radu analizirani su kardiovaskularni signali laboratorijskih pacova tokom perioda gestacije. Ispitani su signali spontano hipertenzivnih subjekata. Ispitivani su vremenski nizovi sistolnog krvnog pritiska i pulsog intervala (srčani ritam). Kao kontrola, analizirani su signali normotenzivnih životinja Wistar-Kyoto soja. Korišćene su sledeće nelinearne metode: detrendovana analiza fluktuacija (DFA) i Poencaré plotovi. Rezultati su analizirani i procenjena je sklonost ka potencijalnom razvoju hipertenzije kod obe grupe pacova. Rezultati su ohrabrujući, jer nema statistički značajnog pogoršanja kardiovaskularnih parametara, čak ni kod grupe koja je spontano sklona hipertenziji.

Ključne riječi –nelinearna obrada signala 1, analiza detrendovanih fluktuacija 2; Poencaré plot 3; varijabilitet srčanog ritma 4;

Signali su snimani nad dve grupe ženki laboratorijskih pacova tokom perioda gestacije, nad grupom pacova sa spontanom hipertenzijom, obeležene sa SHR i Wistar ženki (*femininum*) laboratorijskih pacova koji predstavljaju kontrolnu grupu, obeležene sa WF. Iz snimljenog talasnog oblika krvnog pritiska BP (*blood pressure*) izvučeni su vremenski nizovi SBP (*systolic blood pressure*, sistolni krvni pritisak), DBP (*diastolic blood pressure*, dijastolni pritisak) i PI (*pulse interval*, pulsni interval), takođe se označava i IBI (*inter-beat interval*). Signal promenljivosti srčanog ritma, HRV (*heart rate variability*) dobija se inverzijom pulsog intervala uz usklađivanje jedinica. Vremenski nizovi su analizirani Poencaré plot i DFA metodama koje nam omogućavaju uvid u kardiovaskularni status ženki pacova u okviru eksperimenta. Metode su detaljnije opisane u sledećem odeljku.

I. UVOD

Obrada signala kardiovaskularnog sistema je izuzetno važna oblast koja se i dalje razvija. Jedan od načina za obradu i analizu signala kradiovaskularnog sistema je analiza varijabiliteta srčanog ritma. Varijabilitet srčanog ritma, odnosno HRV (eng. *Heart rate variability*) je u poslednjih nekoliko decenija postao sve bitnija metoda zbog toga što je povezan sa velikim brojem patofizioloških stanja [1,2]. HRV se pokazao kao izuzetno značajan zbog toga što nosi bitne informacije o kontroli i radu srčanog ritma i krvnog pritiska većinski pod kontrolom autonomnog nervnog sistema, te omogućava relativno jednostavno praćenje rada istog. Samim tim, veliki značaj se daje analizi HRV-a.

Svrha ovog rada jeste primena metoda za analizu srčanog ritma kako bi se procenila sklonost ka razvoju kardiovaskularnih problema tokom trudnoće.

II. MATERIJALI I METODE

A. Eksperiment

Signali su snimani u Laboratoriji za kardiovaskularnu farmakologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, u okviru eksperimenta koji je osmislila i kojim je rukovodila prof. dr Nina Japundžić-Žigon.

Pacovi su smešteni odvojeno u kontrolisanim laboratorijskim uslovima sa temperaturom oko $22 \pm 2^\circ\text{C}$; relativnom vlažnosti vazduha između 60 i 70%; kontrolisanim osvetljenjem: ciklus svetlo-mrak 12:12h, sa hranom i vodom *ad libitum*.

Snimanje je izvršeno na svesnim i slobodnim pacovima tokom gestacije, u pet trenutaka: prvom, petom, desetom i dvadesetom danu gestacije i nakon okota, ovde označeno sa DI (*diestrus*). Izvršeno je snimanje na šest ženskih pacova obe vrste, ukupno 12, čija je inicijalna težina bila od 300 do 350g.

Deset dana pre početka eksperimenta pacovi su podvrgnuti operaciji u kojoj su radiotelemetrijske sonde (TA11PA-C40, DSI, Transoma Medical) implantirane u abdominalnu aortu pod kombinovanom anestezijom ketamina i ksilazina, zajedno sa

gentamicinom što je zatim praćeno injekcijama metamizola za ublažavanje bolova. Minimalni broj pacova koji pod datim uslovima omogućavaju signale za pouzdanu statističku analizu sa verovatnoćom greške tipa I ravnom 0.05 određen je putem softverskog paketa 'Power Sample Size Calculation'.

S obrzirom na to da se radi sa signalima koji su snimani na živim laboratorijskim životinjama, snimanje je bilo neophodno izvesti na način koji je za životinju najprihvatljiviji. Snimanje je urađeno prema Direktivi 2010/63/EU i nacionalnom pravilniku o dobrobiti životinja 2009/6/RS kao i Pravilima 2010/RS o zaštiti životinja koje se koristi za naučne svrhe, a koja insistiraju i na minimizaciji broja laboratorijskih pacova potrebnih za eksperiment. Protokol snimanja je odobrio Etički odbor Univerziteta u Beogradu (licenca n°323-07-10519/2013-05/2). Signal arterijskog krvnog pritiska (BP) je digitalizovan na 1000 Hz korišćenjem 12-bitnog A/D pretvarača i prosleđen na računar opremljen Dataquest A.R.T. 4.0. softver za analizu kardiovaskularnih signala.

Iz talasnih oblika BP, SBP i PI vremenske serije su izvedene kao lokalni maksimumi i kao intervali između uzastopnih maksimalnih pozitivnih promena BP, respektivno.

Kao što je već rećeno, snimanje je vršeno u pet dana, nad šest pacova iz obe grupe, što znaci da je na kraju snimanja u okviru baze podataka bilo 60 signala koji su dalje obrađivani.

Pre same obrade signala i primene vremensko-frekvencijske analize bilo je potrebno izvršiti predobradu signala. Međutim, treba napomenuti da za DFA analizu nije neophodno prvo izvršiti detrendizaciju signala, jer se to čini u okviru same primene metode.

Artefakti u signalu detektovani su poluautomatski, prvo primenom softvera [3] dizajniranom za signale ljudi, a koji je na FTN prilagođen radu sa signalima laboratorijskih životinja. Preostali artefakti otklonjeni su rućno.

Nakon čega je zadatak bio da se izvrši *Poincaré* plot i metoda detrendovane fluktuacije kako bismo na taj način uvideli promene u datim signalima pod uticajem autonomnog nervnog sistema.

B. *Poincaré* plot metoda

Poincaré plot je nelinearna metoda koja se koristi za analizu signala. Najveća prednost ove metode je to što nije potrebno da signali budu filtrirani i stacionarni, kao i uspeh u prikazivanju nelinearnih karakteristika vremenskih serija. Ova metoda zasnovana je na formiranju rekurentnih mapa u kojima se svaki rezultat

merjenja prikazuje kao funkcija prethodnog rezultata. Grafićki rezultat ove metode su taćke oko kojih se moće uoćiti elipsa prilagođena koncentriranom skupu sa novi koordinatnim sistemom.

Standadni parametri koji se koriste prilikom kvantifikacije geometrije standardnih *Poincaré* plot dijagrama su SD_1 i SD_2 . Oni predstavljaju standardnu devijaciju po x_1 i x_2 , osama novog koordinatnog sistema, koji je u odnosu na polazni zakrenut za $\pi/4$. SD_1 i SD_2 računski definišemo kao:

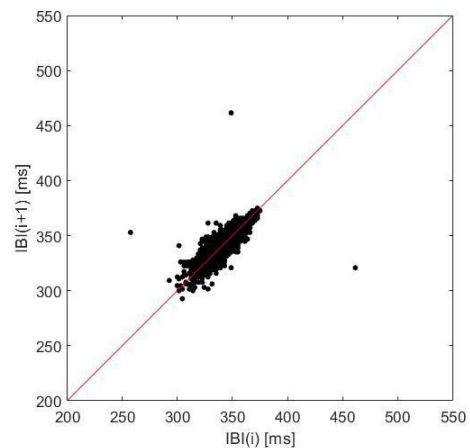
$$SD_1 = \frac{\sqrt{2}}{2} SD(x_n - x_{n+1})$$

$$SD_2 = \sqrt{2SD(x_n)^2 - \frac{1}{2}SD(x_n - x_{n+1})^2} \quad (1)$$

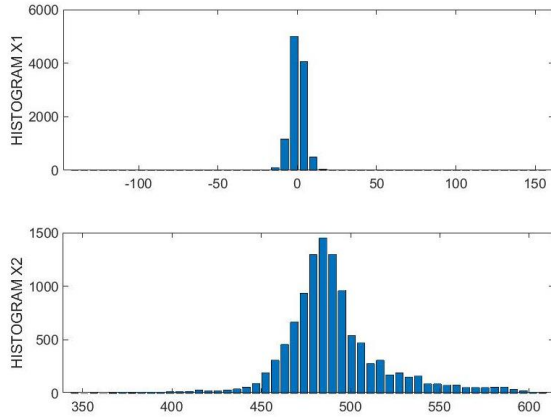
Pored SD_1 i SD_2 definiše se i njihov odnos SD_1/SD_2 , kraće SD_1D_2 , što predstavlja slučajnost u vremenskim serijama varijabilnosti srćane frekvencije. Kada su u pitanju signali pulsnih intervala, SD_1 predstavlja trenutnu varijabilnost od jednog do drugog otkucaja, dok SD_2 predstavlja kontinuiranu dugoroćnu varijabilnost srćanog ritma.

Dijagrami grafićki prikazuju odnos između trenutne i prethodne vrednosti interbit intervala. *Poincaré* plot dijagrami su nacrtani za sve signale i svi su pravilnog oblika, kao što je prikazano na Sl. 1.

Na osnovu oblika *Poincaré* plot dijagrama moguće je analizirati dalje analizirati njegove karakteristike. Prethodno treba preći u novi, već pomenuti, koordinatni sistem. Histogram novih promenljivih x_1 i x_2 je prikazan na Sl. 2. Logićno je dalje zaključiti da x_1 histogram opisuje kratkotrajne karakteristike, dok x_2 histogram opisuje dugotrajne karakteristike signala.



Sl.1 Poincare plot pacova SHR6 u 20 danu gestacije



Sl.2 Histogram x_1 i x_2 ose za SHR6 pacova u 20 danu gestacije. Ordinate su u neimenovanim brojevima, jer se radi o zakrenutom koordinatnom sistemu

C. Metoda detrendovane fluktuacije

DFA je metoda koja omogućava prevazilaženje problema stacionarnosti i relativno je neosetljiva na šum. Preuzeta je iz teorije haosa i služi za utvrđivanje dugoročne korelacije u signalu nakon eliminacije trenda. Varijacije od spoljašnjih nadražaja (kao što je disanje) izazivaju lokalni efekat, dok varijacije koje nastaju kao posledica promena same dinamike sistema uzrokuju dugoročne korelacije [7].

Posmatramo vremensku seriju m_1, \dots, m_n ; prvo se procenjuje i oduzima srednja vrednost m , nakon čega dobijamo kumulativnu sumu y_k .

$$y_k = \sum_{j=1}^k (m_j - \underline{m}) \quad k=1, \dots, N \quad (2)$$

Zatim kumulativnu sumu delimo na jednake nepreklapajuće segmente dužine s i za svaki segment procenjujemo trend y_{trend} . Prosečna fluktuacija se računa oko procenjene vrednosti trenda kao suma kvadratne razlike procenjenije vrednosti trenda i originalnih vrednosti.

$$F(s) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (y(i) - y_{trend}(i))^2} \quad (3)$$

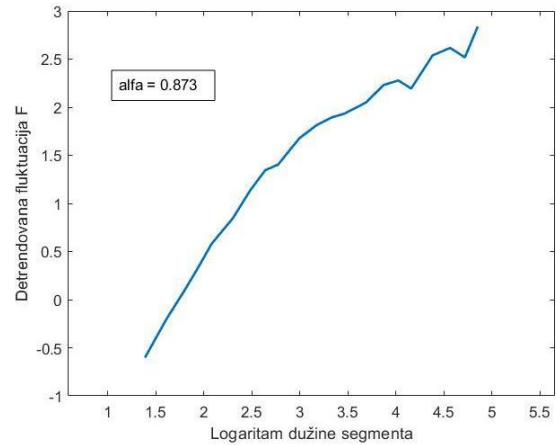
Prikazujemo vezu između segmenta s i fluktuacije signala oko trenda $F(s)$ u logaritamskim razmerama, što se može videti na Sl.3 i važi:

$$F(s) \sim s^\alpha \quad (4)$$

Parametar α predstavlja eksponent koji odgovara koeficijentu odgovarajuće prave. Parametri α_1 i α_2 predstavljaju kratkoročni i dugoročni eksponent skaliranja, redom. Oni mere stepen vremenske korelacije u kratkoročnom i dugoročnom opsegu respektivno [8,9].

Vrednost α predstavlja autokorelacione karakteristike signala, na sledeći način: $\alpha < 0,5$ - anitkorelisan

signal, $\alpha = 0,5$ - nekorelisan signal, $\alpha > 0,5$ - korelisan signal, $\alpha = 1$ - prisutan je "roze" šum i za $\alpha > 1,5$ - prisutan je Braunov šum.

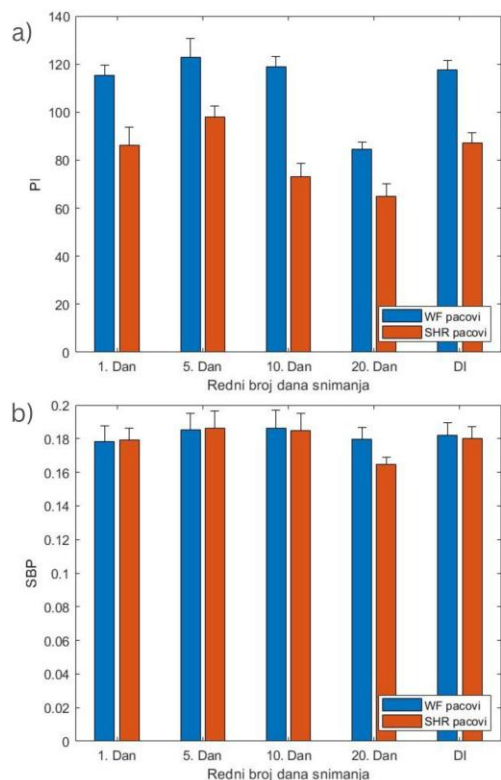


Sl. 3 Prikaz fluktuacije signala pacova WF1 u 5 danu gestacije za $s=5$. Duzina segmenta je iskazana brojem odmeraka, dok je ordinate neimenovani broj.

III. REZULTATI

Prilikom dalje analize signala, od 60 signala formirano je deset različitih grupa; po pet dana snimanja za WF i SHR grupu. Statističku značajnost rezultata smo procenili Kruskal-Wallisovim testom, pri čemu smo primenili 3 različite korekcije i uporedili rezultate za svaku.

Najpre je urađena standardna statistička analiza koja prikazuje promene PI i SBP signala tokom gestacije, što je prikazano na Sl. 4.



Sl. 4 Prikaz srednje vrednosti i standardne greške PI i SBP signala

Na Sl. 4 možemo da vidimo da postoji razlika u radu kardiovaskularnog sistema između spontanohipertenzivne i kontrolne grupe pacova, što je i očekivano jer su SHR pacovi odgajani da budu hipertenzivni. Međutim, ni jedna ni druga grupa ne menjaju statistički značajno status svojih parametara tokom gestacije i nakon okota.

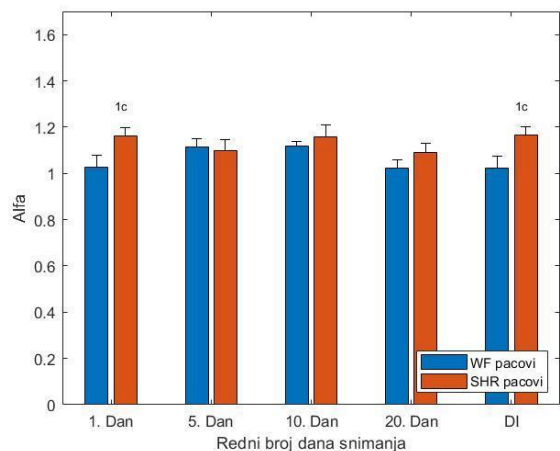
Primenom prethodno prikazanih metoda dobijeni su parametri α , α_1 i α_2 DFA metodom i SD_1 , SD_2 , SD_1D_2 parametri Poencaré plot metodom. Nakon toga su izračunate vrednosti srednje vrednosti, standardne devijacije i standardne greške za tih deset grupa. Na graficima je, uz srednju vrednost, prikazana standardna greška. Na Sl. 5-7 prikazani su dobijeni rezultati DFA metode, a na Sl. 7-10 prikazani su rezultati Poencaré plot metode. Svi dobijeni parametri su neimenovani brojevi i kao takvi prikazani na ordinatama.

Za procenu statističke značajnosti je korišćen Kruskal-Walisov test sa *Bonferroni* korekcijom za višestruke signale. *Bonferroni* korekcija se najčešće koristi za analizu statističke značajnosti rezultata obrade kardiovaskularnih signala i rigoroznija je u odnosu na ostale, nije pokazala statističku značajnost ni u jednom slučaju, što nam govori da ne postoji značajna razlika između signala kontrolne grupe pacova i pacova sa spontanom hipertenzijom tokom

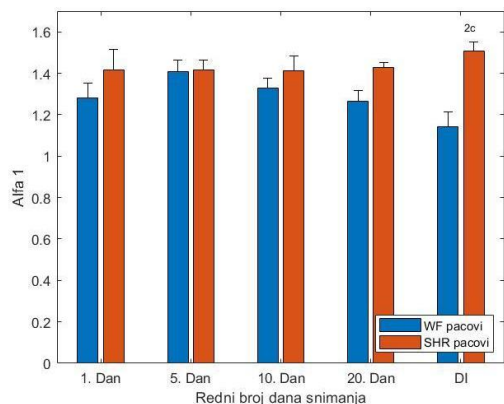
eksperimenta. Osim *Bonferroni* testa, izvršeni su i Fisherov LSD test (*least significant difference*) i Takijev HSD test (*honestly significant difference*), koji postavljaju manje rigorozne uslove i u određenim slučajevima ukazuju da bi moglo da se govori o promenama tokom i nakon trudnoće. Međutim, i u slučaju metoda koje su manje rigorozne, vrednost dobijene značajnosti je bliska pragu postavljenom na 0.05, što znači, da je prag postavljen na neku nižu vrednost, na primer 0.45, rezultati ne bi bili značajni kao što *Bonferroni* metoda i tvrdi. Stoga navedene promene mogu da se okarakterišu kao promene usled prirodnih dešavanja u telu, kao što je početak laktacije i hormonske promene, a ne kao patološke promene kardiovaskularnog sistema.

Na slikama je označen broj statističkih metoda koje su pokazale da određeni podaci imaju statističku značajnost. Oznake na svim slikama se tumače na sledeći način: Xa znači da je ukupno X metoda dalo na WF pacovima (plavi stubići) statistički značajnu razliku tokom gestacije u odnosu na prvi dan. Xb označava to isto, ali za SHR pacove (narandžasti stubići). Knačno, Xc označava razliku SHR pacova u odnosu na WF kontrolu u određenom trenutku gestacije.

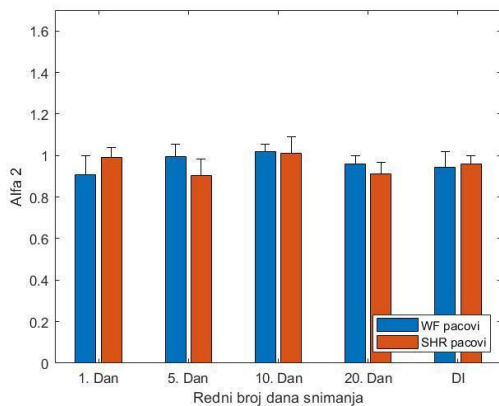
Kod metode detrendovane fluktuacije statističku značajnost pokazala je samo jedna korektivna metoda za određivanje značajnosti.



Sl. 5 Prikaz srednje vrednosti i standardne greške parametra α



Sl. 6 Prikaz srednje vrednosti i standardne greške parametra α_1



Sl. 7 Prikaz srednje vrednosti i standardne greške parametra α_2

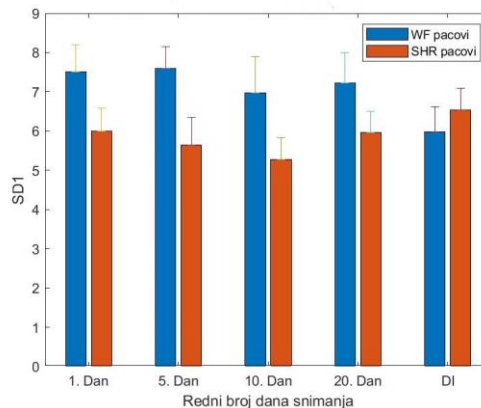
Pre svega, ako prilikom DFA analize posmatramo grafički prikaz fluktuacije F ili vrednost parametra α , kao što je prikazano na Sl. 3, možemo da uočimo da su sve vrednosti iznad 0.5 što znači da su signali korelisani.

Statistička značajnost je procenjena za α , α_1 , α_2 na osnovu tri korektivne metode. Jedna od njih, LSD, ne postavlja dodatne uslove i na osnovu nje se uočava statistička značajnost. Ostale dve, Bonfferoni i HSD, ne uočavaju statističku značajnost između dobijenih rezultata.

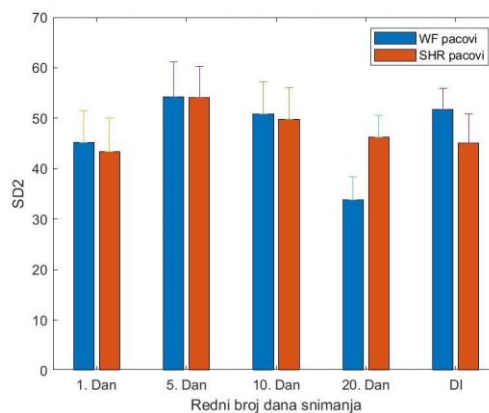
Poencaré plot dijagrami koji su dobijeni (kao što je primer prikazan na Sl. 1), prilikom analize su se pokazali kao tipično pravilni - ovalnog oblika, sa manje ili više izraženim vrednostima koje su van normalnog opsega. Posledično, histogrami su takođe pravilni, kao na primeru prikazanom na Sl. 2.

U narednom koraku analize signala posmatrane su srednja vrednost i standardna greška parametara SD_1 ,

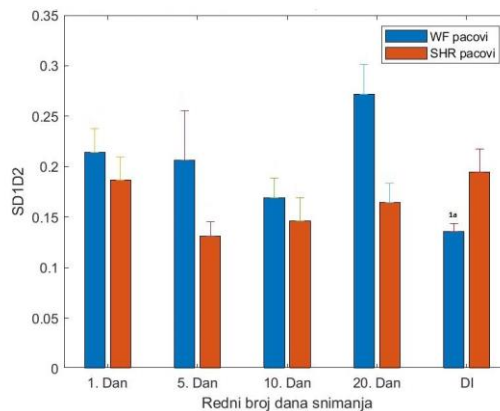
SD_2 , SD_1D_2 . Što je prikazano na Sl. 8-10. Na slikama je označen broj statističkih metoda koje su pokazale da određeni podaci imaju statističku značajnost. Kod *Poencaré* plot metode statističku značajnost pokazale jedna do dve metode za određivanje značajnosti.



Sl. 8 Prikaz srednje vrednosti i standardne greške parametra SD_1



Sl. 9 Prikaz srednje vrednosti i standardne greške parametra SD_2



Sl.10 Prikaz srednje vrednosti i standardne greške parametra SD_1D_2

IV. ZAKLJUČAK

Metode detrendovane fluktuacije i Poencaré plot dijagrama su se pokazale kao jednostavne za rad prilikom analize rada srčanog ritma. Najveća prednost ovih metoda je to što mogu da se primene na širokom opsegu signala, zbog toga što ne postavljaju dodatne uslove, kao što je stacionarnost signala koji se analiziraju koje kradiovaskularni signali ne ispunjavaju uvek. Dobijeni rezultati ne pokazuju statistički značajna odstupanja tokom trajanja gestacije, što ukazuje da je trudnoća normalno stanje koje ne utiče na izmenu statusa: ni hipertenzivni ni kontrolni subjekti nemaju abnormalnih reakcija tokom trudnoće.

U okviru dalje analize biće određeni dodatni kvantifikacioni parametri. Nastavak DFA metode obuhvata određivanje *local scaling* karakteristika. A ekstenzija *Poencaré* plot metode predstavlja određivanje *Heart-rate variability extension* (HVE) parametra, kao i nalaženja pulsog intervala za koji je HVE maksimalan (HVEPI).

ZAHVALNICA

Zahvaljujemo se prof. dr Nini Japundžić-Žigon koja nam je omogućila izradu praktičnog dela ovog rada tokom prakse u Laboratoriji za kradiovaskularnu farmakologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu čiji je ona rukovodilac i bez koje ovaj rad ne bi bio moguć. Takođe se zahvaljujemo timu iz Laboratorije, Miri, Bojani, Mariji, Marku i Vladislavu na podršci i pomoći. Zahvaljujemo se i našoj mentorki prof. Dragani Bajić koja nas je povezala sa Laboratorijom i usmerila istraživanja na nelinearnu obradu.

Veliko hvala!

LITERATURA

- [1] H. Jelinek, A. Khandoker i D. Cornforth "ECG Time Series Variability Analysis: Engineering and Medicine" ISBN 9781482243475, Taylor & Francis 2016, CRC Press 2019; https://books.google.rs/books/about/ECG_Time_Series_Variability_Analysis.html?id=zIU9rgEACAAJ&redir_esc=y
- [2] L. Hejmel i I. Gál, "Heart rate variability analysis" Acta Physiologica Hungarica, 88(3-4), 219-230. 2001. <https://doi.org/10.1556/aphysiol.88.2001.3-4.4>
- [3] N. Wessel i drugi, Nonlinear analysis of complex phenomena in cardiological data. Herzschrmmachertherapie und Elektrophysiologie, 11(3), 159-173., 2000. <https://doi.org/10.1007/s003990070035>
- [4] L. Mourrot, M. Bouhaddi, S. Perrey, J.D. Rouillon i J. Regnard, "Quantitative Poincaré plot analysis of heart rate variability: effect of endurance training" Eur J Appl Physiol 91, 79-87, 2004. <https://doi.org/10.1007/s00421-003-0917-0>

[5] C.H. Hsu i drugi, "Poincaré plot indexes of heart rate variability detect dynamic autonomic modulation during general anesthesia induction." Acta Anaesthesiol Taiwan, 50(1):12-8. 2012. doi: 10.1016/j.aat.2012.03.002.

[6] L. Mourrot i drugi, "Decrease in heart rate variability with overtraining: assessment by the Poincaré plot analysis." Clinical physiology and functional imaging, 24(1), 10-18. 2004. <https://doi.org/10.1046/j.1475-0961.2003.00523.x>

[7] M. Mateo-March, M. Moya-Ramón, A. Javaloyes, C. Sánchez-Muñoz i V. J. Clemente-Suárez, "Validity of detrended fluctuation analysis of heart rate variability to determine intensity thresholds in elite cyclists" European Journal of Sport Science, 2022. <https://doi.org/10.1080/17461391.2022.2047228>

[8] A. Mizobuchi, K. Osawa, M. Tanaka, A. Yumoto, H. Saito i S. Fuke, "Detrended fluctuation analysis can detect the impairment of heart rate regulation in patients with heart failure with preserved ejection fraction", Journal of Cardiology, Vol. 77, pp. 72-78 2021, <https://doi.org/10.1016/j.jjcc.2020.07.027>

[9] J. Kantelhardt, E. Koscielny-Bunde, H. Régo, S. Havlin i A. Bunde, "Detecting Long-range Correlations with Detrended Fluctuation Analysis" Physica A: Statistical Mechanics and its Applications, 2001 [https://doi.org/10.1016/S0378-4371\(01\)00144-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4371(01)00144-3)

ABSTRACT

In this paper, the cardiovascular signals of laboratory rats during the gestation period were analyzed. The signals of spontaneously hypertensive subjects were examined. Time series of systolic blood pressure and pulse interval (heart rate) were examined. As a control, signals from normotensive animals of the Wistar-Kyoto strain were analyzed. The following nonlinear methods were used: detrended fluctuation analysis (DFA) and Poincaré plots. The results were analyzed and the tendency towards the potential development of hypertension in both groups of rats was assessed. The results are encouraging, because there is no statistically significant worsening of cardiovascular parameters even in the group that is spontaneously prone to hypertension.

NONLINEAR ANALYSIS OF HEART RATE SIGNAL FOR HYPERTENSIVE LABORATORY SUBJECTS DURING GESTATION

Nina Evetović, Ivana Milaković