

## 원격측정장치를 이용한 설치류의 생체신호 측정 및 분석

### Measurement and Analysis of Rodent Biological Signals using Telemetry System

김창환\*

Changhwan Kim

허경행\*

Gyeonghaeng Hur

#### Abstract

Telemetry techniques of rats have been used for assessing safety pharmacology of drugs and chemicals. Biological signals including blood pressure and heart rate measured under anesthesia were significantly different from those obtained under normal conditions. The stress of restraint in awake animals can also affect the accuracy of physiological evaluation. This paper details the surgery required to allow key cardiovascular parameters to be determined. The telemetric measurement of cardiovascular parameters such as blood pressure, heart rate, electrocardiograph(ECG) established. We carried out the continuous monitoring of cardiovascular parameters using the telemetry system in F344 rats. During the measurement, no significant changes were observed in the heart rate and blood pressure. ECG signals and body temperature were also constant during the measurement of biological signals. With the results of this study, we conclude that this telemetry system can be applied usefully for the assesment of biological parameters in the rats.

Keywords : Telemetry System(원격측정장치), Biological Signal(생체신호), Electrocardiograph(심전도), Blood Pressure(혈압), Safety Pharmacology(안전성 약리)

#### 1. 서론

심혈관계는 신체의 모든 부분에 혈액을 운반하여 조직에 영양분과 산소를 공급하고 노폐물과 이산화탄소를 제거하는 기관계로서 중추신경계 및 호흡기계와 함께 생명 유지에 필수적인 기관계이다. 이러한 심혈관

계의 기능을 평가하는 데에는 혈압과 심전도의 평가가 매우 중요하다. 특히, 부정맥치료제, 항히스타민제, 항불안제, 항생제 등 많은 약물들이 *in vitro* 및 *in vivo* 실험에서 심혈관계의 이상유발로 시장에서 퇴출이 되어왔다<sup>1~4)</sup>. 따라서, 심혈관계의 이상 발생을 예측할 수 있는 동물실험으로써 안전성 약리의 평가가 매우 중요한 시험요소가 되고 있다<sup>5)</sup>. 약물의 심혈관계 이상유발 작용을 임상시험 이전에 예측할 필요성이 대두되어 ICH(International Conference of Harmonization)에서는 이에 대한 가이드라인을 발표하였으며<sup>6,7)</sup> 이에 미국,

† 2011년 8월 1일 접수~2011년 11월 4일 게재승인

\* 국방과학연구소(ADD)

책임저자 : 김창환(vetkim@add.re.kr)

유럽 및 일본의 관련규정을 이 가이드라인에 맞추어 개정하였다. 이 가이드라인에서는 임상과 더 가까운 조건과 동물의 복지를 고려하여 실험동물을 마취하거나 구속하지 않은 자연스러운 상태에서 실험할 것을 권고하고 있다.

혈압에 대한 연구에서도 마취동물에서 마취제에 의한 영향을 배제할 수 없으며 무마취 구속상태인 경우, 스트레스로 인한 혈압과 심박수 영향이 클 뿐만 아니라 마취상태 또는 구속상태의 실험조건에서는 제한된 시간에 실험을 수행하여야 하는 단점이 있다<sup>8)</sup>.

최근에는 생체적용 공학기술이 발달하여 심혈관계의 생체측정치를 무선신호로 발신하는 원격측정장치(telemetry system)가 개발되었다. 이러한 장치가 랫드에서 최초로 사용되었다고 보고된 이후, 측정 가능한 parameter가 확대되고 있고 대상동물종도 늘어나는 추세이다<sup>9,10)</sup>. 원격측정장치는 혈압과 심전도를 무선으로 송신하는 장치를 동물에 수술을 통하여 삽입한 후, 완치시키고 나서 사용하는 방법(implanted telemetry)과 동물에 심전도 기록장치가 달린 재킷을 입혀 측정하는 방법(external telemetry)이 이용되고 있다<sup>11~13)</sup>. Implanted telemetry는 동물중에 관계없이 이용이 가능하나 external telemetry는 개나 원숭이 같은 대동물에 주로 이용이 된다. 이러한 시험방법은 생체신호 측정시 마취제의 영향을 제거할 수 있을 뿐만 아니라 오랜 시간동안 측정이 가능하다. 또한, 한 시험이 끝난 후, 일정기간을 두고 다음 시험에 동물을 재사용할 수 있어 희생되는 동물의 수를 줄일 수 있을 뿐만 아니라 동물을 구속하거나 스트레스를 가하지 않고도 시험이 가능하므로 동물의 복지적인 측면에서도 유용한 시험 방법이다<sup>14)</sup>.

본 연구는 생체신호의 무선전달이 가능한 원격측정 장치를 랫드에 장착시켜 시스템 및 기술에 대한 정확성과 일관성을 확인하고, 무마취 비구속 상태의 랫드에서 생체신호에 대한 기초자료를 확보하고자 수행하였다.

## 2. 시험재료 및 방법

### 가. 실험동물 및 사육조건

실험동물은 F344 랫드를 (주)오리엔트바이오로부터 구입하여 국방과학연구소 생물평가 실험실에서 14일간 순화시켰다. 사육실의 조건은 온도 23±3℃, 상대습

도 55±10%, 12시간 명암 cycle(06:00 점등~18:00 소등), 환기횟수 10~20회/hr, 조도 150~300 Lux를 유지하였으며, 사육상자는 폴리카보네이트 케이지를 이용하였다. 사료는 설치류용 고형사료를 급이하였으며 음수는 자외선 필터된 물을 자유섭취시켰다. 본 시험은 국방과학연구소 동물실험윤리위원회의 심의 및 승인을 거쳐 실시하였다(심의번호 : ADD-IACUC-2011-01).

### 나. 마취 및 이식 수술

#### 1) 흡입마취 장비설정 및 마취유지(Fig. 1)

흡입마취는 실험동물을 isoflurane을 넣은 마취유도 챔버에 일정시간 넣어 유도하였다. 마취의 유지를 위하여 기화기에 isoflurane을 채운 후, 일정한 유속과 농도(2% isoflurane and 1/2 liter per minute of oxygen)로 공급하였다. 마취제를 포함한 기체 및 호기공기는 정화장치를 통하여 정화하였다.



Fig. 1. Device setup for rodent anesthesia(A. Oxygen, B. Anesthesia induction chamber, C. Vaporizer, D. Device for anesthetic gas removal, E. Animal for surgery)

#### 2) 원격측정용 센서(Fig. 2)

본 연구에서는 설치류의 생체신호 측정용 센서(TL11M2-C50-PXT, Data Sciences International, St. Paul, MN, USA)를 이식하였다. 본 센서를 이식했을 때, 실험동물의 심전도, 혈압, 체온 및 활동성을 측정할 수 있다. 이식할 센서는 3시간 전에 전원을 켜 놓고 이식 1시간 전에 멸균 생리식염수에 넣어 안정화시켰다.

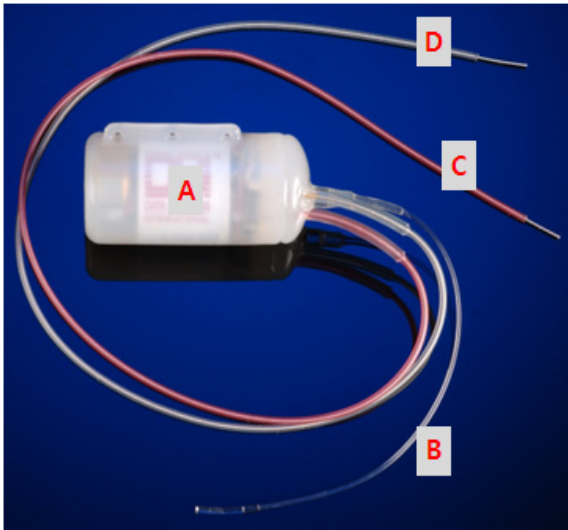


Fig. 2. TL11M2-C50-PXT transmitter(A. Body, B. Catheter for blood pressure, C. Positive lead for ECG, D. Negative lead for ECG)

### 3) 이식수술(Fig. 3)

실험동물을 케이지에서 꺼내어 수술부위에 대한 제모 및 소독을 실시하였다. 실험동물을 양와위로 눕힌 후, 외과용 메스 및 가위를 이용하여 복부의 중앙부위를 약 5cm 절개하였다. 멸균식염수를 적신 거즈로 복강 장기를 젖힌 후, 멸균된 면봉을 이용하여 하행 대동맥과 주변조직을 조심스럽게 분리하였다. 이후, 3-0 봉합사를 대동맥과 대정맥 사이에 넣고 포셉으로 대동맥을 들어 올려 혈류를 차단하였다. 90도로 구부린 21 게이지 주사바늘을 이용하여 하부 대동맥에서 위쪽으로 혈압카테터를 삽입하였다. 카테터 및 삽입부위는 수술용 접착제(vetbond, 3M)를 2~3방울 떨어뜨려 고정하고 cellulose fiber patch를 덮어 수술부위 섬유조직의 생성을 촉진하였다. 혈관카테터의 삽입 후에는 프로그램을 이용하여 혈압신호가 정상적으로 획득되는지를 확인하였다. (+) 및 (-) lead 선은 trocar를 이용하여 복강 밖으로 내보냈으며 센서의 몸체는 복벽에 봉합하여 고정하였다. 복강의 절개부위를 봉합한 후, ECG의 Lead II신호를 획득할 수 있도록 lead선을 근육에 고정하였다.(+) lead : 좌측 흉곽 하부, (-) lead : 우측 흉곽 입구) Lead선의 고정 후에는 프로그램을 통하여 정상적인 ECG파형의 획득을 확인하였다. 정상적인 심전도 파형이 확인되면 피부의 절개부위들을 봉합하고 포비돈 소독을 실시하였다. 수술이 종료된 후

에는 흡입마취를 멈추고 실험동물이 회복되는 것을 확인하였다.

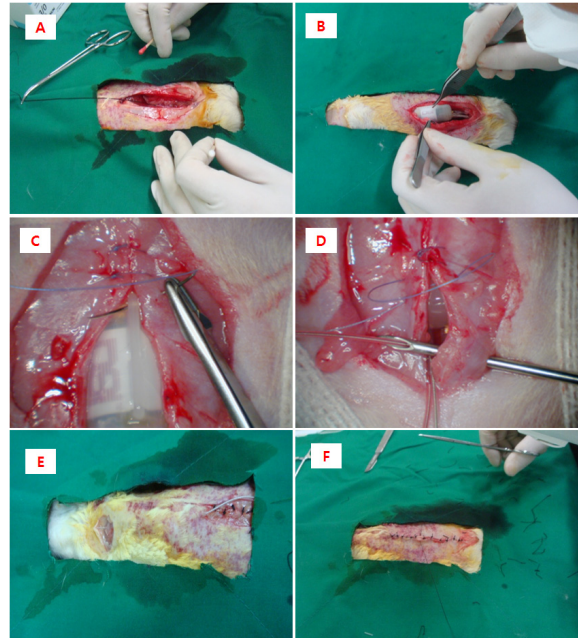


Fig. 3. Surgery for transmitter implant(A. Abdominal incision and aorta isolation, B. Transmitter implant, C. Suture and fixation, D. ECG lead externalization, E. ECG lead fixation, F. Suture of the incision area)

### 다. 생체신호의 획득(Fig. 4)

본 연구에서는 무마취 무구속 랫드에서 심장순환계에 대한 평가를 위하여 심혈관계의 측정이 가능한 원격측정치를 사용하였다. 연구에 사용된 원격측정장치는 발신기(TL11M2-C50-PXT), 사육상자의 아래에 부착된 수신기(RPC-1 type), 혈압측정을 위하여 외부공기압을 보장하는 장치(APR : Ambient Pressure Reference), 획득된 생체신호를 증폭하는 Matrix 및 컴퓨터에 내장된 데이터수집 프로그램(dataquest system)으로 구성되었다. 발신기는 수술을 통해 랫드의 체내에 삽입되어 혈압, 심전도, 체온, 신호강도(signal strength) 및 활동성을 무선으로 내보내며 수신부에서는 이를 받아 컴퓨터에서 연속적으로 기록하였다. 또한, 내장된 프로그램을 통하여 수축기혈압, 이완기혈압, 평균혈압, 심전도의 각 파의 크기 및 간격 등을 분석하여 출력하였다.

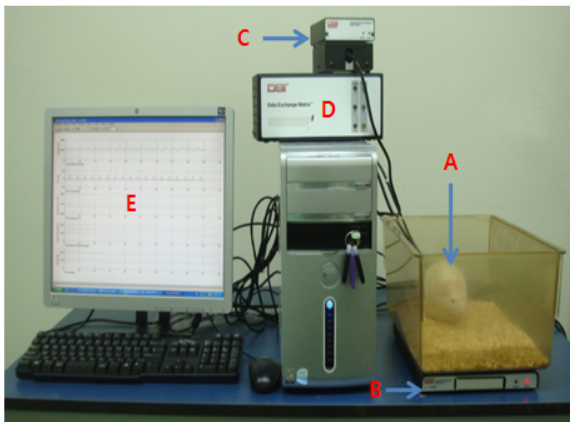
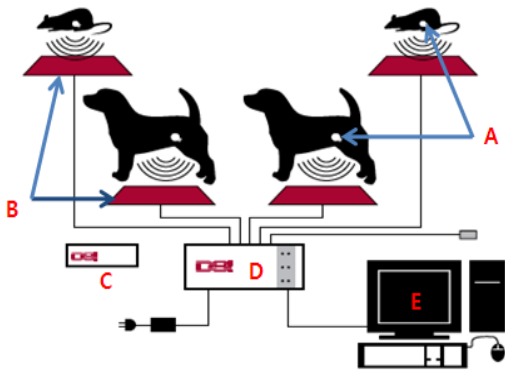


Fig. 4. Telemetry system for cardiovascular parameters (A, Transmitter, B. receiver, C. Ambient pressure reference, D. Matrix, E. Dataquest system)

라. 획득된 생체신호의 분석

Dataquest system을 통해 획득된 생체신호는 Ponemah (Datascience International, St. Paul, MN USA)를 이용하여 분석하였다. 혈압의 측정결과는 수축기혈압, 이완기 혈압, 평균혈압 및 심박수로 분석하였다. 심전도는 PR interval, QRS interval, RR interval, QT interval, QTcV에 대하여 측정된 결과를 분석하였다. 체온 및 활동성에 대해서도 측정결과에 대한 변화추이를 관찰하였다.

3. 시험결과

가. 생체신호의 획득

Dataquest system을 이용한 생체신호의 측정은 Fig. 5와 같이 나타났다. 이식된 센서에 의하여 혈압, 심

전도, 센서신호 강도, 체온 및 활동성이 지속적으로 화면에 모니터링 되었다. 모니터링 된 결과는 프로그램의 선택에 따라 저장을 하고 분석자료로 이용하였다.

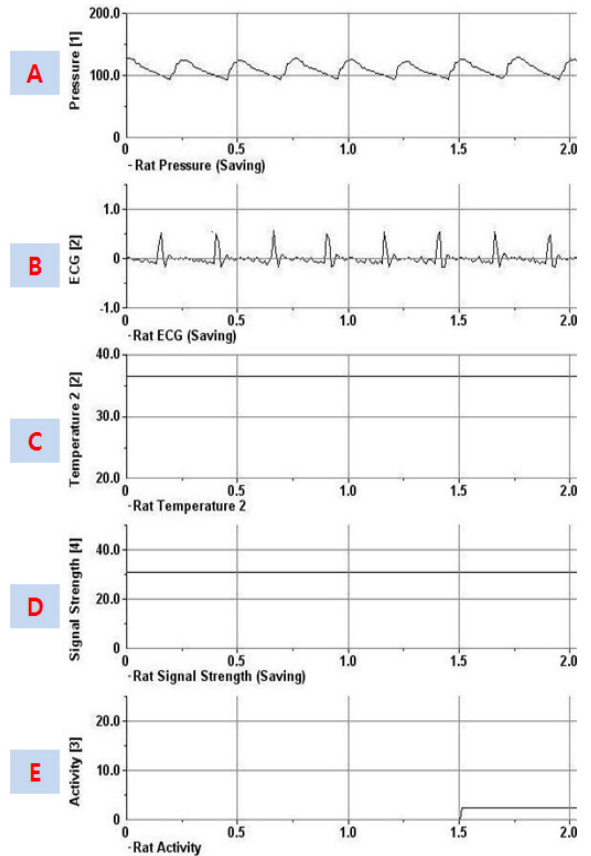


Fig. 5. Acquisition of biological signals using Dataquest system(A. Blood pressure, B. Electrocardiograph, C. Body temperature, D. Signal strength, E. Activity)

나. 혈압신호의 분석

Ponemah를 이용하여 획득된 혈압신호를 분석하였다. 각 혈압신호 파형의 분석시 심박수(HR : Heart Rate), 수축기 혈압(SBP : Systolic Blood Pressure), 이완기 혈압(DBP : Diastolic Blood Pressure) 및 평균혈압(MBP : Mean Blood Pressure) 등의 신호가 분석되었다(Fig. 6).

총 4개 시점에 대하여 각 시점에서 연속되는 5개의 혈압파형을 분석한 결과는 Table 1과 같이 나타났다.

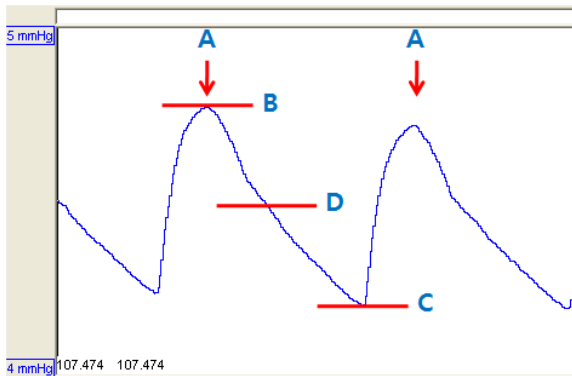


Fig. 6. Blood pressure analysis(A, Heart Rate(HR), B. Systolic Blood Pressure(SBP), C. Diastolic Blood Pressure(DBP), D. Mean Blood Pressure(MBP))

Table 1. Analysis results of blood pressure

Point	Signal	HR	DBP	MBP	SBP
1	1	241	93	109	125
	2	241	93	108	123
	3	240	93	108	124
	4	241	95	111	126
	5	241	95	111	126
2	6	243	94	109	124
	7	243	96	111	126
	8	242	98	113	129
	9	241	94	109	124
	10	241	97	112	128
3	11	241	94	110	125
	12	241	94	110	125
	13	241	98	114	130
	14	241	94	110	125
	15	241	94	110	126
4	16	240	93	109	124
	17	239	94	109	125
	18	238	91	106	121
	19	239	93	108	123
	20	238	94	110	125
Mean		241	94	110	125
SD		1.4	1.7	1.9	2.1

다. 심전도 신호의 분석

심전도 신호는 P, Q, R, S, T wave로 구분되어 나타났다. P파는 심방의 탈분극 및 수축, QRS파는 심실의 탈분극 및 수축, T파는 심실의 재분극을 나타낸다. 심전도에서 유도된 수치로 PR interval, QRS complex, RR interval, QT interval, QTcV interval로 구분되어 분석이 가능하였다(Fig. 7). QTcV는 QT interval이 심박수에 영향을 많이 받는 것으로 고려하여 보정한 수치이다.

총 4개 시점에 대하여 각 시점에서 연속되는 5개의 심전도파형을 분석한 결과를 Table 2와 같이 나타냈다.

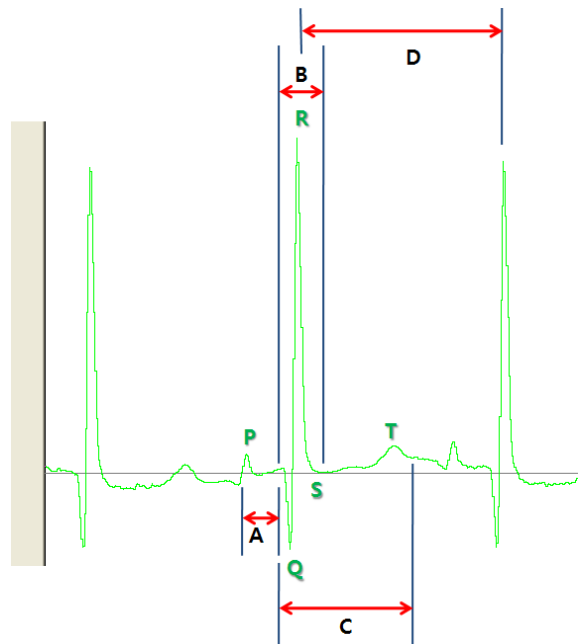


Fig. 7. Analysis of electrocardiogram(A. PR interval, B. QRS complex, C. QT interval, D. RR interval, P : P wave, Q : Q wave, R : R wave, S : S wave, T : T wave)

라. 체온 분석

실험동물의 체온은 수술이 진행되는 동안, 낮은 상태로 유지되었으나 수술이 끝나고 마취가 회복되는 동안 정상화되었다. 수술에서 회복된 이후, 지속적인 관찰시 37.4±0.6도로 일정하게 유지되었다.

마. 활동성 분석

활동성은 동물의 움직임에 따른 이식센서의 위치변

화로 감지가 되었다. 수술기간동안에 변화가 없었으나, 회복이 진행된 후에는 실험동물의 움직임에 따라 여러 강도로 지속적인 변화가 센서를 통해 감지되었다.

Table 2. Analysis result of electrocardiogram

Point	Signal	PR	QRS	RR	QT	QTcV
1	1	75	23	248	145	211
	2	70	20	248	149	214
	3	73	18	249	134	200
	4	78	16	263	151	215
	5	71	23	251	151	216
2	6	75	23	249	148	214
	7	81	21	250	146	211
	8	81	22	249	147	213
	9	82	22	250	141	207
	10	83	21	250	141	207
3	11	77	22	251	150	215
	12	77	21	251	150	215
	13	77	22	251	147	212
	14	81	21	252	145	210
	15	77	22	252	154	219
4	16	75	22	252	148	213
	17	78	22	253	149	214
	18	75	21	252	146	211
	19	74	21	252	150	215
	20	74	21	252	154	219
Mean		77	21	251	147	213
SD		3.6	1.7	3.1	4.7	4.4

#### 4. 결론 및 고찰

원격측정장치를 이식한 실험동물 모델은 새로운 약물 및 시험물질에 대한 안전성 약리 및 작용기전의 연구에 빈번하게 이용이 된다. 원격측정장치는 발신기의 형태에 따라 측정가능한 동물의 종과 parameter가 결정된다. 본 연구에서는 소동물에서 혈압과 lead II ECG,

체온 및 활동성의 측정이 가능한 형태(TL11M2-C50-PXT)의 센서를 사용하였다. 원격측정장치는 수술적인 방법으로 동물에 발신기를 삽입해야 하는 과정이 있으나 한번 삽입된 후에는 단기 혹은 장기간의 실험에서 쉽게 사용할 수 있을 뿐만 아니라 연속적인 data의 수집에도 동물에 스트레스 없이 사용될 수 있는 장점이 있다. 생화학 작용제를 이용한 시험시에는 시험의 특성상 시험자가 실험동물에 쉽게 접근할 수 없는 경우가 많이 발생한다. 이러한 면에서 원격측정장치를 이용한 시험법은 화생방 작용제의 시험 및 평가에도 매우 유용하게 이용이 될 수 있다.

랫드에 대한 생체신호의 측정은 약물 및 독성물질의 평가시험에서 빈번하게 이용되고 있다. 본 시험에서 측정된 혈압, 심전도, 체온 등의 결과는 기존의 논문에서 언급된 랫드의 생체수치와 비교하여 매우 유사하게 나타났다. 그러나, 각 논문에서 언급된 수치 간에도 어느 정도의 편차를 보이고 있다<sup>[15~19]</sup>. 이는 동일종의 실험동물에서도 측정된 생체수치는 계통(strain), 연령, 사육환경 및 측정시점 등에 따라 매우 다양하게 나타날 수 있기 때문이다. 따라서, 약물 혹은 독성물질의 영향을 평가하기 위한 생체신호 측정 시험에서 실험자는 시험물질 투여 전후의 결과를 비교분석하여 판단하는 것이 무엇보다도 중요하다고 할 수 있다.

본 연구를 통하여 실험동물의 흡입마취 및 생체센서이식 수술법의 확립이 가능하였다. 또한, 데이터 취득시스템의 설정 및 이를 이용한 생체신호의 측정이 이루어졌다. 측정된 생체신호는 Ponemah 프로그램을 이용하여 분석되었다. 실험동물의 마취 및 수술시에는 혈압 및 ECG 파형의 변화, 체온 및 활동성의 감소가 나타났다. 그러나 마취가 종료된 후에는 정상적인 랫드의 생체수치로 회복이 이루어졌다.

이상의 결과로 원격측정장치를 사용하여 F344 랫드에서 생체신호 측정시 혈압, 심박수, lead II ECG 및 체온이 정상적으로 측정되고 일정하게 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 이는 랫드에서 원격측정장치를 이용한 시험이 매우 안정된 시험법이며 다양한 연구에서 생체신호를 측정하는 데 유용하게 사용될 수 있음을 의미한다. 또한, 본 시험을 통하여 무마취 무구속 상태의 랫드에서 생체신호 수치들에 대한 기초 자료를 확보할 수 있었다. 이러한 결과들은 실험동물을 이용한 시험 및 연구를 진행하는데 유용하게 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

## References

- [1] Redfern WS et al., "Relationships between Preclinical Cardiac Electrophysiology, Clinical QT Interval Prolongation and Torsade de Pointes for a Broad Range of Drugs : Evidence for a Provisional Safety Margin in Drug Development", *Cardiovasc Res*, 58, 32~45, 2003.
- [2] Yap YG & Camm AJ, "Arrhythmogenic Mechanism of Non-Sedating Antihistamines", *Clinical and Experimental Allergy*, 29, 174~181, 1999.
- [3] De Ponti F, Poluzzi E & Montanaro N, "QT-Interval Prolongation by Non-Cardiac Drugs : Lesions to be Learned from Recent Experience", *Eur J Clin Pharmacol*, 56, 1~18, 2000.
- [4] Ilari Paakkari, "Cardiotoxicity of New Antihistamines and Cisapride", *Toxicology Letters*, 127, 279~284, 2002.
- [5] Raehl CL, Patel AK & LeRoy M, "Drug-Induced Torsade de Pointes", *Clin Pharmacy*, 4, 675~690, 1985.
- [6] ICH Steering Committee, "Safety Pharmacology Studies for Human Pharmaceutical", ICH Guidance for Industry S7A, 2001.
- [7] ICH Steering Committee, "Safety Pharmacology Studies for Assessing the Potential for Delayed Ventricular Repolarization(QT Interval Prolongation) by Human Pharmaceutical", ICH Draft Consensus Guideline S7B, 2002.
- [8] Geddes LA, Combs W, Denton W, Whistler SJ & Bourland JD, "Indirect Mean Arterial Pressure in the Anesthetized Dog", *AM J Physio*, 238, H664~H666, 1980.
- [9] Brockway B, Mills PA & Azar SA, "A New Method for Continuous Chronic Measurement and Recording Blood Pressure, Heart Rate and Activity in Rat with Radiotelemetry", *Clin Exp Hypertens*, 13, 885~895, 1991.
- [10] Truett AA & West DB, "Validation of a Radiotelemetry System for Continuous Blood Pressure and Heart Rate Monitoring in Dogs", *Laboratory Animal Science*, 45, 299~302, 1995.
- [11] Alexander Derchak P., "The LifeShirt Preclinical System is a Significant Advance Toward Answering the Call of the 3Rs. NC3Rs, 13, 1~9, 2007.
- [12] Ray W. Chui et al., "Assessment of Two External Telemetry Systems(Physiojacket™ and JET™) in Beagle Dogs with Telemetry Implants", *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 60(1), 58~68, 2009.
- [13] Simon Authier et al., "A Cardiovascular Monitoring System in Conscious Cynomolgus Monkeys for Regulatory Safety Pharmacology Part I : Non-Pharmacological Validation", *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 56, 115~121, 2007.
- [14] 국립독성과학원, 2008년 비임상시험 교육자료, 안전성 약리, 2008.
- [15] Adeyemi O et al., "QA Interval as an Indirect Measure of Cardiac Contractility in the Conscious Telemetrised Rat : Model Optimisation and Evaluation", *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 60, 159~166, 2009.
- [16] Delaunois Annie et al., "Repeated Assessment of Cardiovascular and Respiratory Function using Combined Telemetry and Whole-Body Plethysmography in the Rat", *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 60, 117~129, 2009.
- [17] Hazari S. Mehdi et al., "Continuous Electrocardiogram Reveals Differences in the Short-Term Cardiotoxic Response of Wistar-Kyoto and Spontaneously Hypertensive Rats to Doxorubicin", *Toxicological Science*, 110(1), 224~234, 2009.
- [18] Rossi Stefano et al., "Ventricular Activation is Impaired in Aged Rat Hearts", *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 295, H2336~H2347, 2008.
- [19] Sambol T Justin et al., "Mesenteric Lymph Duct Ligation Prevents Trauma/Hemorrhage Shock-Induced Cardiac Contractile Dysfunction", *J Appl Physiol*, 106, 57~65, 2009.