POLYPUBLIE

Méthode de mesure des conductivités bidomaines anisotropes du tissu cardiaque

Pierre M. Le Guyader

Document en libre accès dans PolyPublie
Open Access document in PolyPublie

Date	1998
Type	Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis Thèse de doctorat/Ph.D. thesis
URL de PolyPublie PolyPublie URL	https://publications.polymtl.ca/6790/
Conditions d'utilisation Terms of use	© Tous droits réservés / All rights reserved
Référence Citation	Le Guyader, P. M. (1998). Méthode de mesure des conductivités bidomaines anisotropes du tissu cardiaque [Thèse de doctorat, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie. https://publications.polymtl.ca/6790/

Détails de la thèse
Thesis details

Directeurs de recherche Advisors	Pierre Savard
Programme Program	Non spécifié

Ce fichier a été téléchargé à partir de PolyPublie, le dépôt institutionnel de Polytechnique Montréal
This file has been downloaded from PolyPublie, the institutional repository of Polytechnique Montréal
https://publications.polymtl.ca

INFORMATION TO USERS

This manuscript has been reproduced from the microfilm master. UMI films the text directly from the original or copy submitted. Thus, some thesis and dissertation copies are in typewriter face, while others may be from any type of computer printer.

The quality of this reproduction is dependent upon the quality of the copy submitted. Broken or indistinct print, colored or poor quality illustrations and photographs, print bleedthrough, substandard margins, and improper alignment can adversely affect reproduction.

In the unlikely event that the author did not send UMI a complete manuscript and there are missing pages, these will be noted. Also, if unauthorized copyright material had to be removed, a note will indicate the deletion.

Oversize materials (e.g., maps, drawings, charts) are reproduced by sectioning the original, beginning at the upper left-hand corner and continuing from left to right in equal sections with small overlaps. Each original is also photographed in one exposure and is included in reduced form at the back of the book.

Photographs included in the original manuscript have been reproduced xerographically in this copy. Higher quality 6" x 9" black and white photographic prints are available for any photographs or illustrations appearing in this copy for an additional charge. Contact UMI directly to order.

UMI®

Bell & Howell Information and Learning
300 North Zeeb Road, Ann Arbor, MI 48106-1346 USA
800-521-0600

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

MÉTHODE DE MESURE DES CONDUCTIVITÉS BIDOMAINES ANISOTROPES DU TISSU CARDIAQUE

PIERRE LE GUYADER
INSTITUT DE GÉNIE BIOMÉDICAL
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLÔME DE PHILOSOPHIAE DOCTOR (Ph.D.)
(GÉNIE BIOMÉDICAL)
DÉCEMBRE 1998

© Pierre Le Guyader, 1998

National Library of Canada
Acquisitions and Bibliographic Services
395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale du Canada
Acquisitions et services bibliographiques
395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre reference

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-38723-2

Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée :

MÉTHODE DE MESURE DES CONDUCTIVITÉS BIDOMAINES ANISOTROPES DU TISSU CARDIAQUE

présentée par : LE GUYADER Pierre

en vue de l'obtention du diplôme de : Philosophiae Doctor

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

M. GULRAJANI Ramesh, Ph.D., président

M. SAVARD Pierre, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. LEON L. Joshua, Ph.D., membre

M. BARR Roger C., Ph.D., membre externe

DÉDICACE

À mes parents,

qui sont pour moi un modèle d'honnêteté et de courage.

REMERCIEMENTS

Je veux exprimer ma gratitude et mes sincères remerciements au professeur Pierre Savard pour sa direction scientifique, son support pédagogique, son encouragement, pour sa patience, sa disponibilité, pour m'avoir communiqué l'esprit de la recherche.

Je désire également exprimer toute ma gratitude à MM. Francisco Trelles et Luc Pouliot pour leur appui technique, leurs conseils judicieux et leur appréciable contribution à la réussite de ce projet.

Je remercie tout spécialement M. Michel Vermeulen pour ses précieuses suggestions, conseils et son aide concernant les expériences chez l'animal.

Je remercie tous mes confrères et consœurs de l'Hôpital du Sacré Cœur de Montréal et plus particulièrement MM. Bruno Dubé, Pierre Rocque Gaétan Temblay et pour avoir maintenu les systèmes informatiques fonctionnels ainsi que M. Gilberto Sierra.

Je voudrais mentionner l'aide précieuse du personnel technique qui travaille trop souvent dans l'ombre mais sans la collaboration duquel les travaux de recherche seraient beaucoup plus pénibles; je nommerai en particulier Mme Caroline Bouchard et MM. Pierre Fortier, Martin Laflamme et Louis Chiocchio.

Merci également aux professeurs Roger C. Barr, Ramesh Gulrajani et L. Joshua Leon pour avoir spontanément accepté d'agir comme membre du jury.

RÉSUMÉ

Les propriétés électriques passives du myocarde jouent un rôle majeur dans la propagation de l'impulsion cardiaque. L'anisotropie de ces propriétés est responsable de la plus grande vitesse de propagation de l'impulsion suivant la direction des fibres, tandis que leur altération peut provoquer un bloc de conduction fonctionnel et de graves arythmies. La mesure des conductivités électriques cardiaques est habituellement exécutée en injectant un courant connu dans le myocarde et en enregistrant le potentiel produit par la diffusion de ce courant dans le tissu. Plusieurs techniques de mesure utilisant des électrodes intracellulaires pour l'injection du courant ou pour la mesure de potentiel sont rapportées dans la littérature. Nous avons développé une nouvelle méthode qui utilise seulement des électrodes extracellulaires. Notre approche est inspirée de la technique à quatre électrodes qui est constituée de quatre électrodes équidistantes et alignées appliquées sur le myocarde : le courant est injecté par les deux électrodes distales alors que la différence de potentiel est mesurée entre les électrodes centrales. Nous avons modifié la technique à quatre électrodes en réduisant considérablement l'espacement entre les électrodes et en variant la fréquence du courant de 10 à 10000 Hz de façon qu'à basse fréquence, le courant se propage dans domaine interstitiel et qu'à haute fréquence, il se propage dans les deux milieux. Les modifications du module et de la phase du potentiel sont reproduites avec un modèle bidomaine de myocarde approprié pour calculer les différentes conductivités. La combinaison d'une petite distance interélectrode et d'un modèle bidomaine est par conséquent, essentielle pour évaluer les

propriétés intracellulaires, ce qui était impossible auparavant avec une grande distance interélectrode et un modèle monodomaine.

Un modèle de tissu doit être utilisé pour analyser les mesures de courant et de tension et estimer les conductivités du myocarde. Nous décrirons deux modèles de myocarde développés pour estimer ces propriétés. Premièrement, le tissu cardiaque est représenté par le modèle bidomaine standard qui comprend une capacité membranaire; deuxièmement, ce modèle est modifié en ajoutant une capacité intracellulaire représentant une jonction intercalaire. Les solutions numériques sont calculées avec un algorithme de transformée de Fourier rapide sans contrainte sur le ratio d'anisotropie des domaines intracellulaires et interstitiels. Les paramètres bidomaines sont estimés avec un algorithme de type "Shor's r" modifié, en choisissant les paramètres qui génèrent la différence minimale entre les potentiels simulés et les potentiels mesurés suivant l'axe longitudinal et l'axe transverse dans toute la gamme de fréquences.

Un système de mesure complet composé d'un capteur, d'un circuit électronique et d'un ordinateur est développé et testé sur des préparations de tissu canin. Le capteur est composé de deux rangées orthogonales de quatre électrodes afin d'échantillonner les axes longitudinal et transverse. Le capteur est constitué de 8 fils de platine-iridium (Pt-80%, Ir-20%) avec un diamètre de 50 μm insérés dans un treillis de nylon et encastrés dans la résine d'époxyde. Les électrodes de chacune des rangées sont pratiquement équidistantes avec une distance interélectrode $d \approx 340\mu m$ et sont plaquées avec du noir de platine pour

diminuer l'impédance des électrodes et les effets des capacités parasites. Le circuit électronique est composé d'une source de courant alternative isolée optiquement pour minimiser les fuites de courant à la masse et d'un amplificateur d'instrumentation. L'ordinateur est composé d'une carte d'acquisition avec un générateur de fonction programmable et d'une carte d'oscilloscope pour contrôler le courant et mesurer les potentiels. Les signaux de courant et de tension sont filtrés numériquement et traités pour mesurer l'amplitude et la phase du rapport tension sur courant. Une procédure de calibration avec trois solutions salines de conductivités connues est utilisée pour corriger les mesures sur le myocarde.

Des tissus canins, soit d'oreillette ou de ventricule, sont excisés puis perfusés dans un bain de tissu avec une solution de Tyrode ou un mélange de Tyrode et de sang. Les mesures obtenues sur les préparations perfusées avec la solution de Tyrode ne sont pas stables et montrent une augmentation du module, ce qui reflète une diminution apparente de la conductivité qui pourrait être due à l'œdème. En contrepartie, les mesures obtenues avec perfusion de sang et de Tyrode sont stables. Le module du ratio diminue aux fréquences supérieures, reflétant une augmentation apparente de la conductivité lorsque plus de courant circule dans le domaine intracellulaire en court-circuitant la capacité membranaire. La qualité de la reproduction des données expérimentales par le modèle bidomaine standard est très bonne de 10 Hz à 1000 Hz et l'ajout de la capacité de jonction dans le second modèle améliore considérablement la qualité de la reproduction au-delà de 2000 Hz. Un bolus d'Heptanol-I, une drogue qui découple les cellules, fait

tripler la résistivité de jonction transverse. En général, la reproductibilité des conductivités estimées est relativement bonne, avec des déviations standard variant entre 2 et 20% de leur moyenne respective. Dans toutes les préparations, les conductivités bidomaines longitudinales (intracellulaire et interstitielle) sont plus grandes que les conductivités transverses, tel qu'attendu. Aussi, les conductivités interstitielles bidomaines sont supérieures à celles du milieu intracellulaire. La gamme des valeurs obtenues pour les préparations d'oreillettes chevauchent en général celles des préparations de ventricule pour la plupart des paramètres, suggérant que la variabilité interindividuelle est plus importante que la variabilité due au type de tissu. Les paramètres estimés sont dans la plage des valeurs physiologiques.

Une limitation actuelle de cette méthode est le temps de calcul nécessaire pour évaluer les huit paramètres (5 à 12 heures sur une station de travail SGI/R4000, 100 MHz) ce qui élimine toute possibilité de traitement en temps réel. Un nouveau protocole de mesure assisté par ordinateur utilisant plusieurs fréquences simultanément ou un balayage rapide en fréquence pourrait diminuer le temps d'acquisition pour saisir un changement rapide des propriétés électriques passives.

En conclusion, les expériences montrent que cette technique est capable de discriminer le domaine interstitiel du domaine intracellulaire et qu'elle peut être utile pour mesurer éventuellement les modifications des conductivités produites par la médication, l'hypoxie et l'ischémie. Aussi la petite surface de mesure peut déterminer les

propriétés électriques du tissu dans une région spécifique responsable des anomalies de la conduction, comme la réentrée ou un bloc fonctionnel de façon à mieux comprendre les mécanismes des arythmies.

ABSTRACT

The passive electrical properties of the myocardium play a major role in the propagation of the cardiac impulse. The anisotropy of these properties accounts for the faster velocity of the impulse along the fiber direction, whereas their alteration can lead to functional block and severe arrhythmias. The measurement of cardiac electrical conductivities is usually performed by injecting a known current in the myocardium and by measuring the potentials produced by the diffusion of the current in the tissue. Different measurement techniques have been proposed which use intracellular electrodes for either current injection or potential measurements. We have developed a new method which uses only extracellular electrodes. Our approach is derived from the four-electrode technique which consists of four equidistant and aligned electrodes applied over the myocardium: current is injected between the two outer electrodes while the potential difference is measured between the two inner electrodes. We modified the four-electrode technique by reducing significantly the interelectrode spacing and by changing the frequency of the current from 10 to 10000 Hz so that it flows in the interstitial domain at lower frequencies and in both interstitial and intracellular domains at higher frequencies. The alteration of modulus and phase of the measured potential are then fitted with appropriate bidomain myocardial models to compute the different conductivities. The combination of small interelectrode spacing and bidomain modeling is thus essential to assess the intracellular properties, which was not possible previously with larger spacing and monodomain modeling.

A tissue model must be used to analyze the current and voltage measurements and to estimate the myocardial conductivities. We describe two myocardial models developed to estimate these properties. Firstly, the cardiac tissue is represented by a standard bidomain model which includes a membrane capacitance; secondly, this model is modified by adding an intracellular capacitance representing the gap junctions. Numerical solutions are computed with a Fast Fourier Transform algorithm without constraining the anisotropy ratios of the interstitial and intracellular domains. Bidomain parameters are estimated by fitting, with a modified Shor's r-algorithm, the simulated potentials to the potentials measured along the longitudinal and transverse axes for different frequencies (10-10000 Hz).

A complete measurement system, consisting of a probe, an electronic circuit and a computer, was developed and tested in canine tissue preparations. The probe consists of two orthogonal rows of four electrodes in order to sample both the longitudinal and transverse axes of the myocardial fibers. The probe comprises 8 platinum-iridium (Pt-80%, Ir-20%) wires with a diameter of 50 μm inserted through a nylon mesh and cast into epoxy resin. The electrodes of each row are nearly equidistant with an interelectrode distance $d \approx 0.340$ mm and are plated with platinum-black to reduce the impedance of the electrodes and the effects of stray capacitances. The electronic circuit is composed of a floating alternating current source optically isolated to minimize current leakage to ground and an instrumentation amplifier. The computer comprises a data acquisition

board with a programmable function generator and an oscilloscope board to measure the potentials and to control the current source. The current and voltage signals are digitally filtered and processed to measure both the amplitude and the phase of the voltage-to-current ratio. A calibration procedure using three saline solutions of known conductivities is used to correct the myocardial measurements.

Canine atrial and ventricular tissues were excised and perfused in a tissue bath with either a Tyrode solution or mixture of blood and Tyrode. The voltage-to-current ratios measured in preparations perfused with Tyrode were not stable and showed an increase of the modulus, reflecting an apparent decrease of conductivity that could be due to edema. In contrast, the measurements obtained with the blood-Tyrode perfusion were stable. The modulus of the ratio decreased at higher frequencies, reflecting the apparent increase of conductivity as more current was shunted through the membrane capacitance into the intracellular domain. The goodness-of-fit of the standard bidomain model was very good from 10 to 1000 Hz, and the inclusion of the gap junction capacitances in the second model improved significantly the goodness-of-fit above 1000-2000 Hz. A bolus of Heptanol-I, a drug which uncouples the cells, produced a three fold increase of the transverse bidomain junction resistivity. In general, the reproducibility of the estimated conductivity values was quite good, with standard deviations that ranged between 2 to 20% of their respective means. In all preparations, the longitudinal bidomain conductivities (intracellular and interstitial) were higher than the transverse ones, as expected. Also, the interstitial bidomain conductivities were higher than the intracellular

ones. The ranges of values obtained for the atrial preparations generally overlapped those for ventricular preparations for most parameters, suggesting that inter individual variability was more important than tissue type variability. The estimated parameters were in the physiological range.

A present limitation of this method is the long computer time necessary to evaluate the eight parameters (5 to 12 hours on a SGI/R4000, 100 MHz work station) which precludes on-line analysis. A new computerized measurement protocol using multiple simultaneous frequencies or a rapid frequency sweep could also reduce the acquisition time so as to capture rapid changes of the passive electrical properties.

In conclusion, the experiments show that this technique is able to discriminate the interstitial domain from the intracellular one. This technique can be useful to measure the modifications for conductivities produced by medication, hypoxia and ischemia. Also, the small sensing area can determine the electrical properties of tissue in specific regions responsible for conduction abnormalities such as reentry or functional block so as to investigate the mechanisms of cardiac arrhythmias.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE iv

REMERCIEMENTS v

RÉSUMÉ vii

ABSTRACT xii

TABLE DES MATIÈRES xvi

LISTE DES TABLEAUX xix

LISTE DES FIGURES xx

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS xxii

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION 1

CHAPITRE 2 : LES MÉTHODES DE MESURE D'IMPÉDANCE 6

2.1 NOTIONS RELATIVES AUX TISSUS BIOLOGIQUES 6

2.1.1 LE MODÈLE DE CÂBLE 6

2.1.2 MILIEUX MONODOMAINE, BIDOMAINE, ISOTROPE ET ANISOTROPE 7

2.2 ÉVALUATION DES PARAMÈTRES PASSIFS DU TISSU 8

2.2.1 LES MÉTHODES BASÉES SUR LE MODÈLE DE CÂBLE 9

2.2.2 LES MÉTHODES AVEC ÉLECTRODES EXTRACELLULAIRES 11

2.2.3 LA MÉTHODE AVEC CARTE ÉPICARDIQUE 15

CHAPITRE 3 : MODÈLES BIDOMAINES CAPACITIFS POUR LA MESURE DES CONDUCTIVITÉS MYOCARDIQUES 17

3.1 SITUATION DE L'ARTICLE DANS LA THÈSE 17

3.2 ABSTRACT 19

3.3 GLOSSARY OF TERMS 20

3.4 INTRODUCTION 23

3.5 THE STANDARD BIDOMAIN MODEL 24

3.6 THE DIRECT CURRENT APPROACH 26

3.7 THE ALTERNATING CURRENT APPROACH 30

3.8 THREE DIMENSIONAL FOURIER TRANSFORM SOLUTION 32

3.9 THE BIDOMAIN MODEL INCLUDING INTRACELLULAR CAPACITANCE 35

3.10 THREE DIMENSIONAL NUMERICAL BIDOMAIN MODEL 37

3.11 PARAMETER ESTIMATION 41

3.12 RESULTS 42

3.12.1 FITTING IN-VITRO EXPERIMENTAL DATA WITH THE ALTERNATING CURRENT MODEL 42

3.12.2 SENSITIVITY OF THE ALTERNATING MODEL TO BIDOMAIN PARAMETERS 43

3.12.3 FITTING IN VITRO EXPERIMENTAL DATA WITH THE INTRACELLULAR CAPACITANCE MODEL 51

3.13 DISCUSSION 52

3.14 ACKNOWLEDGMENT 54

CHAPITRE 4 : MESURE DES CONDUCTIVITÉS DU MYOCARDE AVEC LA TECHNIQUE À HUIT ÉLECTRODES DANS LE DOMAINE FRÉQUENTIEL 55

4.1 SITUATION DE L'ARTICLE DANS LA THÈSE 55

4.2 ABSTRACT 57

4.3 INTRODUCTION 58

4.4 MEASUREMENT THEORY 59

4.4.1 ALTERNATING CURRENT BIDOMAIN MODEL 60

4.4.2 BIDOMAIN MODEL WITH COMPLEX INTRACELLULAR MEDIUM 66

4.5 MATERIALS AND METHODS 67

4.5.1 PROBE 67

4.5.2 THE MEASUREMENT SYSTEM 70

4.5.3 SIGNAL PROCESSING 71

4.5.4 CALIBRATION 73

4.5.5 PARAMETER EVALUATION 74

4.5.6 EXPERIMENTAL SETUP 75

4.6 RESULTS 78

4.7 DISCUSSION 87

4.8 ACKNOWLEDGEMENTS 90

CHAPITRE 5 : DISCUSSION 91

5.1 LA MÉTHODE DE MESURE 91

5.2 LIMITES ET DÉVELOPPEMENTS FUTURS 95

5.2.1 LE MODÈLE NUMÉRIQUE 95

5.2.2 L'INSTRUMENTATION 96

5.2.3 L'EXPÉRIMENTATION 97

RÉFÉRENCES 100

LISTE DES TABLEAUX

Table 3.1 Measured vaiues of bidomain conductivities 32

Table 3.2 Bidomain parameters estimated from in-vitro experimental data with two bidomain models 45

Table 4.1 Bidomain electrical parameters of canine atrial and ventricular tissue 86

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 Modèle de câble 7

Figure 3.1 Comparison between the direct current bidomain model and the alternating current model. 29

Figure 3.2 Space constants along the longitudinal and transverse directions computed with the conductivities of Le Guyader *et al.* [38]. 31

Figure 3.3 Diagram of the intracellular capacitance model. 38

Figure 3.4 Schematic representation of the three dimensional tissue slab for the bidomain model. 39

Figure 3.5 Voltage-to-current ratio vs. frequency of in-vitro experimental data obtained in canine right atrial trabecula. 44

Figure 3.6 The influence of bidomain conductivities on the modulus of the voltage-to-current ratio. A) Variation of g_{iL}, B) variation of g_{iT}, C) variation of g_{eL}, D) variation of g_{eT}. 47

Figure 3.7 The influence of bidomain parameters on the modulus of the voltage-to-current ratio. A) Variation of R_m, B) variation of C_m, C) variation of β_m. 48

Figure 3.8 The influence of bidomain conductivities on the phase of the voltage-to-current ratio. A) Variation of g_{iL}, B) variation of g_{iT}, C) variation of g_{eL}, D) variation of g_{eT}. 49

Figure 3.9 The influence of bidomain parameters on the phase of the voltage-to-current ratio. A) Variation of R_m, B) variation of C_m, C) variation of β_m. 50

Figure 4.1 Measurements with alternating current and small interelectrode spacing. 61

Figure 4.2 Schematic representation of the measuring system consisting of: 1) computer and data acquisition system, 2) electronic circuit, 3) probe with an interelectrode distance $d \approx 0.340$ mm. 68

Figure 4.3 Experimental setup. 78

Figure 4.4 Voltage-to-current ratios vs. frequency for a crista terminalis preparation perfused with Tyrode solution. 79

Figure 4.5 Voltage-to-current ratios vs. frequency for a crista terminalis preparation perfused with a mixture of Tyrode and blood. 81

Figure 4.6 Voltage-to-current ratios vs. frequency for a ventricular trabecula preparation perfused with a mixture of Tyrode and blood. 82

Figure 4.7 Response of right atrium pectinate muscle preparation perfused with a mixture of Tyrode and blood to a dose of Heptanol-I. 83

Figure 4.8 Bidomain parameters vs. time for the data presented in Figure 4.7. 85

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Indices

c	Identifie une quantité du cytoplasme
i, e	Identifie une quantité intracellulaire et interstitielle respectivement
L	Identifie la direction longitudinale (alignée aux fibres)
T	Identifie la direction transverse (orthogonale aux fibres)
x, y, z	Identifie la direction suivant les axes $\vec{x}$, $\vec{y}$, $\vec{z}$ respectivement

Symboles Principaux

Accent " $\hat{}$ "	Transformée de Fourier tridimensionelle
AC, DC	Courant alternatif et continu, respectivement
A_i, A_e	Surface respective de la section intracellulaire et interstitielle
c_{gap}	Capacité de jonction bidomaine par unité de longueur (F/cm)
c_m	Capacité membranaire par unité de longueur (F/cm)
C_{gap}	Capacité de jonction par unité de longueur (F/cm)
C_j	Capacité de jonction spécifique (F/cm^2)
C_m	Capacité membranaire spécifique (F/cm^2)
d	Distance interelectrode
D_x, D_y, D_z	Longueur des arêtes du sous bloc suivant les axes $\vec{x}$, $\vec{y}$, $\vec{z}$ respectivement
$\mathcal{E}$	Fonction de coût (V/A)
$\mathcal{F}_{k_r}^{-1}$	Transformée de Fourier spatiale inverse

$\mathcal{F}_r$	Transformée de Fourier spatiale
g	Conductivité bidomaine (S/cm)
$\tilde{g}$	Tenseur de conductivités bidomaines
g_c	Conductivité bidomaine du cytoplasme (S/cm)
g_{gap}	Conductivité bidomaine de jonction (S/cm)
$\mathcal{H}$	Tranformée d'Hilbert
i_i	Courant intracellulaire (A)
i_m	Courant membranaire par unité de longueur (A/cm)
i_o	Courant extracellulaire (A)
I_0	Amplitude de la source de courant (A)
I_m	Courant membranaire par unité de volume (A/cm^3)
I_s	Source de courant externe (A)
$\vec{J}_i$, $\vec{J}_e$	Densité de courant intracellulaire et interstitielle, respectivement (A/cm^2)
k_r	Fréquence spatiale (k_x, k_y, k_z)
k_x, k_y, k_z	Fréquence spatiale suivant les axes $\vec{x}$, $\vec{y}$, $\vec{z}$ respectivement (rad/m)
K	Ratio d'anisotropie
ℓ	Longueur moyenne d'une cellule (cm)
n_x, n_y, n_z	Nombre de nœuds du sous bloc suivant les axes $\vec{x}$, $\vec{y}$, $\vec{z}$ respectivement
N	Ratio de la densité de jonction transverse sur longitudinal
r	Coordonnées (x, y, z)
r_0	Coordonnées (x_0, y_0, z_0)

r_i	Résistance intracellulaire par unité de longueur (Ω/cm)
r_m	Résistance membranaire fois l'unité de longueur (Ω·cm)
r_o	Résistance extracellulaire par unité de longueur (Ω/cm)
R_c	Résistivité intracellulaire du cytoplasme (Ω·cm)
R_{gap}	Résistivité de jonction (Ω·cm)
R_j	Résistivité spécifique de jonction (Ω·cm^2)
R_m	Résistance spécifique membranaire (Ω·cm^2)
S_i, S_e	$S_i = -\left(g_{ix}k_x^2 + g_{iy}k_y^2 + g_{iz}k_z^2\right)$ et $S_e = -\left(g_{ex}k_x^2 + g_{ey}k_y^2 + g_{ez}k_z^2\right)$ respectivement
$\dot{V}_{max}$	Dérivée maximale de la montée du potentiel d'action (V/s)
V_0	Amplitude de la source de tension (V)
V_m	Potentiel transmembranaire (V)
$\vec{x}$, $\vec{y}$, $\vec{z}$	Axes x, y et z respectivement
$Y_m(\omega)$	Admittance membranaire spécifique (Ω^{-1}·cm^{-2})
$Z(\omega)$	Ratio voltage-sur-courant (V/A)
Z_{gap}	Impédance de jonction (Ω·cm)
Z_{iL}, Z_{iT}	Impédance intracellulaire longitudinale et transverse respectivement (Ω·cm)
$Z_L(\omega)$	Ratio voltage-sur-courant expérimental suivant l'axe longitudinal (V/A)
$Z_L^S(\omega)$	Ratio voltage-sur-courant simulé suivant l'axe longitudinal (V/A)
Z_m	Impédance spécifique membranaire (Ω·cm^2)
$Z_T(\omega)$	Ratio voltage-sur-courant expérimental suivant l'axe transverse (V/A)

$Z_T^S(\omega)$ Ratio voltage-sur-courant simulé suivant l'axe transverse (V/A)

Symboles Grecs

β_m Ratio surface sur volume (cm^{-1})

Δx Unité de longueur discrète (cm)

$\Delta V(\omega)$ Différence de potentiel entre les électrodes centrales (V)

λ_D Constante d'espace en courant continu suivant la direction D (cm)

$\lambda_L(\omega)$ Constante d'espace fréquence-dépendant suivant l'axe longitudinal (cm)

$\lambda_T(\omega)$ Constante d'espace fréquence-dépendant suivant l'axe transverse (cm)

Λ Constante d'espace générale ($\Omega^{1/2} \cdot cm^{3/2}$)

ξ_i, ξ_e Fraction de la section intracellulaire and interstitielle

σ Conductivité standard (S/cm)

τ_m Constante de temps de la membrane (s)

τ_{foot} Constante de temps du pied du potentiel d'action (s)

Φ_i, Φ_e Potentiels respectifs du milieu intracellulaire et interstitiel (V)

θ Angle (degré)

ω Fréquence angulaire (rad/sec)

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION

Les maladies du cœur ont une très grande prévalence en Amérique du Nord et en Europe. Malgré l'avènement de nouveaux médicaments de plus en plus efficaces, de pacemakers plus sophistiqués et des nouveaux traitements comme l'angioplastie et l'ablation radio fréquence, les maladies du cœur demeurent une des principales causes de décès. Les personnes traitées pour une maladie cardiaque autrefois mortelle récidivent plus souvent, d'où l'importance de la recherche pour mieux comprendre l'électrophysiologie de notre pompe vitale.

Le myocarde normal se contracte de façon rythmique, synchrone et uniforme. La contraction du tissu musculaire est provoquée par la propagation du potentiel d'action initiée par le nœud sinusal, d'abord dans les oreillettes puis dans les ventricules [1]. Les mécanismes des troubles du rythme cardiaque sont de deux types : soit un problème d'automaticité (tachycardie de type sinusal, parasystole ventriculaire ...), soit un trouble de la conduction (bloc unidirectionnel avec réentrée, tachycardie ventriculaire, fibrillation). Dans ma thèse, je veux apporter un nouvel outil de recherche sur les troubles du rythme provoqués par un trouble de la conduction causé par une anomalie des propriétés électriques passives du myocarde.

La propagation d'une impulsion cardiaque implique un circuit local comprenant quatre éléments fonctionnels : a) les canaux membranaires qui s'ouvrent pour faire entrer

le courant d'excitation dans la cellule, b) la conductivité intracellulaire, c) la capacité membranaire, et d) la conductivité interstitielle. Tous ces éléments déterminent la vitesse de propagation d'un potentiel d'action dans la fibre musculaire et aussi le bloc de cette propagation [2]. La vitesse de propagation d'un potentiel d'action peut être modifiée de deux façons : en changeant soit les propriétés actives de la membrane soit les propriétés électriques passives du tissu [3].

Les propriétés actives de la membrane (forme du potentiel d'action, durée de la période réfractaire, potentiel de repos, perméabilité de la membrane aux différents ions, etc.) sont liées à la dynamique non linéaire du potentiel d'action. Par ailleurs, les propriétés électriques passives, sous seuil, (les conductivités des milieux intracellulaires et interstitiels le long des fibres et perpendiculaire aux fibres, la capacité et la résistance membranaire, etc.) dépendent de la microstructure et de la composition ionique du myocarde.

Un exemple de l'influence des propriétés passives est la vitesse de propagation qui est près de trois fois supérieure suivant la direction des fibres que celle transverse aux fibres [4,5,6,7]. Clerc [7] estime ainsi que dans le milieu interstitiel, la résistivité transverse est 2.7 fois supérieure à la résistivité longitudinale et que dans le milieu intracellulaire, la résistivité transverse est 9.4 fois plus grande que la résistivité longitudinale. Il attribue la différence de vitesse de conduction à cette anisotropie des résistivités intracellulaire et interstitielle. L'influence de la conductivité des jonctions sur

la vitesse de propagation et la forme du potentiel d'action ($\dot{V}_{max}$ et τ_{foot}) est montrée par des simulations numériques [8] ainsi que par des expériences utilisant l'Heptanol-I, connu comme étant un découpleur intracellulaire. Ainsi, une couche de myocarde canin sous-perfusée soumise à un traitement d'Heptanol-I par Balke et coll. [9] montre un ralentissement de la vitesse de conduction transverse et longitudinale attribuable à une augmentation simultanée de la résistivité des jonctions car l'Heptanol-I ne modifie ni l'amplitude du potentiel d'action, ni le taux maximum de dépolarisation [9]. Delmar et coll. [10], ont aussi obtenu un bloc de conduction transverse complet en sous-perfusant une fine tranche d'épicarde de mouton avec une solution de Tyrode contenant de l'Heptanol.

La cartographie d'activation cardiaque permet d'illustrer la propagation des fronts d'activation endo- et épicardiques ainsi que les blocs de conduction à l'aide de cartes de lignes isochrones. Elle permet d'identifier la position des obstacles, mais ne donne qu'une information limitée sur les caractéristiques électriques du tissu. Le but de ce travail est d'élaborer une technique de mesure des conductivités intracellulaire et interstitielle du tissu cardiaque suivant les axes longitudinal et transverse aux fibres. L'instrument de mesure devra être apposé simplement à la surface du tissu et ne nécessiter aucune chambre expérimentale particulière.

Au chapitre 2, une revue des différentes techniques de mesure des propriétés électriques passives du tissu cardiaque (et quelques applications sur le muscle

squelettique) nous permettra de déterminer que l'approche la plus appropriée est la technique à quatre électrodes extracellulaires et équidistantes. La technique de base consiste à apposer quatre électrodes équidistantes sur le tissu cardiaque et d'injecter un courant connu par les deux électrodes excentriques, tandis que la différence de potentiel modulée par les caractéristiques électriques du tissu est mesurée par les deux électrodes centrales. Plonsey et Barr [11] ont théoriquement montré la possibilité de mesurer les conductivités intracellulaire et interstitielle en utilisant une combinaison de mesures suivant l'axe longitudinal et transverse aux fibres avec deux distances interélectrodes particulières. Cependant, leur solution analytique n'est valide que si le ratio des conductivités intracellulaires et interstitielles est le même suivant les trois axes du tissu, ce qui n'est physiologiquement pas réaliste [5,6,7].

Au chapitre 3, nous présentons les aspects théoriques de notre méthode qui est basée sur l'utilisation d'un courant sinusoïdal sur une plage de fréquence de 12 Hz à 10 kHz avec une faible distance interélectrode (340 μm). Le changement de fréquence du courant pouvant alors se substituer à une variation de la distance interélectrode. La distribution de potentiel dans un modèle de tissu tridimensionnel, bidomaine et anisotrope, sans contrainte du ratio d'anisotropie, est calculée numériquement par la méthode de la transformée de Fourier spatiale. Ce modèle est adapté à l'utilisation du courant alternatif et inclus une capacité intracellulaire. L'évaluation des conductivités du tissu cardiaque se fait en ajustant les propriétés passives du modèle qui minimisent la différence entre les mesures expérimentales et celles simulées par le modèle sur toute la

plage de fréquence et suivant les deux axes de mesure. Le capteur comporte huit électrodes disposées selon deux quadruplets d'électrodes équidistantes alignés selon deux axes orthogonaux.

Au chapitre 4, des mesures expérimentales sont obtenues sur des tissus cardiaques *in vitro*. Nous décrivons les éléments nécessaires pour un système de mesure tel que : les microélectrodes métalliques et leur traitement pour diminuer leur impédance, les spécifications techniques du circuit électronique, la mise au point du montage *in vitro* et l'analyse des mesures par les différents modèles.

CHAPITRE 2 : LES MÉTHODES DE MESURE D'IMPÉDANCE

2.1 NOTIONS RELATIVES AUX TISSUS BIOLOGIQUES

2.1.1 LE MODÈLE DE CÂBLE

Le modèle de câble est une représentation électrique simple, en une dimension, des fibres qui ont une géométrie cylindrique tel que les fibres musculaires ou nerveuses. Le modèle de câble permet d'étudier la propagation de l'excitation dans ces fibres et peut être utilisé pour le muscle cardiaque en choisissant de petits muscles papillaires [12] de géométrie cylindrique. Les équations qui régissent ce modèle peuvent être adaptées pour représenter les conditions des phénomènes passifs.

Le modèle de câble est développé à partir de la théorie des circuits électriques. En supposant une symétrie axiale, ceci permet une représentation unidimensionnelle [13]. La Figure 2.1 illustre les composantes électriques discrètes d'un câble composé par un réseau d'unités de longueur Δx (cm). Les milieux intracellulaire et interstitiel y sont représentés par les résistances ($r_i \Delta x, r_o \Delta x$) et sont séparés par une membrane qui permet le passage du courant transmembranaire $i_m \Delta x$ d'un milieu à l'autre. La double couche lipidique de la membrane est représentée par une capacité membranaire ($c_m \Delta x$) et la conduction ionique membranaire par une résistance membranaire ($r_m / \Delta x$) en parallèle; i_o et i_i sont respectivement les courants interstitiels et intracellulaires. En faisant tendre

Δx vers 0, nous pouvons passer d'un réseau de résistances aux équations analytiques.

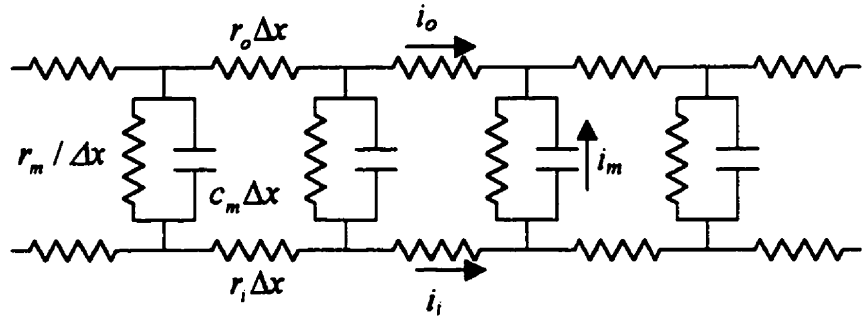


Figure 2.1 Modèle de câble

Une série d'équations régissent la propagation du potentiel d'action dans un câble [11,14] et sont vérifiés expérimentalement. Dans le cadre des études des propriétés passives du tissu cardiaque, le modèle de câble est surtout utilisé avec des préparations qui comportent des mesures intracellulaires et extracellulaires [7,12,15]. Le modèle de câble à été extrapolé en deux dimensions avec le modèle de disque qui considère cependant une symétrie radiale par rapport au site d'injection du courant intracellulaire [14,16]. Les nouveaux modèles de câbles numériques tiennent compte de la discrétisation des cellules et des jonctions intercalaires afin reproduire le comportement de la propagation de l'onde [8].

2.1.2 MILIEUX MONODOMAINE, BIDOMAINE, ISOTROPE ET ANISOTROPE

Les techniques standard de mesure de conductivités de matériaux utilisent une approche macroscopique différente de celle du modèle de câble qui ne permet pas de

distinguer le milieu intracellulaire du milieu interstitiel. On attribue le qualificatif de monodomaine à une structure formée d'un domaine uniforme et continu. Le monodomaine est utilisé pour décrire des matériaux inertes tels que des conducteurs métalliques et des solutions électrolytiques homogènes. Par contre, la structure du myocarde est qualifiée de bidomaine car elle est composée d'un domaine intracellulaire et d'un domaine interstitiel de conductivités différentes, séparés en tout point par une membrane. Un milieu est qualifié d'isotrope quand il possède les mêmes propriétés dans toutes les directions. Le muscle cardiaque a une structure anisotrope car il possède des conductivités électriques différentes suivant les axes orthogonaux. L'axe de plus grande conductivité est orienté suivant la direction des fibres et les axes de plus faible conductivité suivant les directions transverses aux fibres [7].

2.2 ÉVALUATION DES PARAMÈTRES PASSIFS DU TISSU

Il n'est pas aussi simple de mesurer la conductivité du tissu cardiaque que celle d'un fil de cuivre. La première difficulté est causée par la complexité de la structure conductrice du tissu biologique dont la modélisation demande des artifices mathématiques. La deuxième difficulté est provoquée par une impédance d'électrode créée par l'interface entre le tissu et les électrodes de mesure [17,18,19,20], ce qui exige des artifices électroniques dans les cas où les électrodes sont très petites. La conduction électrique du tissu est ionique alors que celle du métal est électronique, ce qui forme une région de diffusion des ions [21] à l'interface métal-électrolyte.

Il existe différentes façons de mesurer les paramètres de conductivité d'un tissu, mais le principe général est d'injecter un courant d'intensité et de forme connue (courant alternatif ou continu, onde carrée etc.) et de comparer la réponse du tissu à un circuit électrique équivalent qui modélise la diffusion du courant dans le tissu. Les techniques de mesure se sont raffinées au gré des nouvelles technologies disponibles (électrodes, micro-électronique, systèmes d'acquisitions, traitement numérique) et avec la nature des paramètres à mesurer. Les techniques pour mesurer les propriétés électriques microscopiques utilisent surtout des micropipettes pour accéder au milieu intracellulaire et interstitiel afin d'y injecter du courant ou de mesurer le potentiel [15,16,22].

2.2.1 Les méthodes basées sur le modèle de câble

Le modèle de câble est considéré comme étant bidomaine, isotrope et uniforme [23]. L'approche par courant alternatif est fréquemment utilisée pour l'analyse de l'impédance avec ce modèle. La technique est expérimentalement difficile bien que l'analyse en fréquence soit relativement simple. L'utilisation du courant sinusoïdal produit une réponse du tissu en régime permanent, ce qui n'est pas le cas avec une réponse à un échelon. Le sinus étant une harmonique pure, il permet de mesurer la phase entre le courant injecté et la tension produite par la diffusion du courant dans le tissu et de vérifier que ce dernier n'induit pas de distorsion dans le signal.

Une méthode pour étudier les propriétés en courant alternatif d'une fibre musculaire consiste à utiliser deux électrodes intracellulaires, l'une qui injecte le courant et une autre qui mesure la réponse en tension produite par le tissu. L'impédance globale de la membrane est généralement représentée par un modèle électrique comprenant une combinaison de résistance en parallèle avec un condensateur [14,22,24]. Pour Freygang et coll. [25], l'injection d'un courant alternatif par chacune des extrémités d'une fibre de Purkinje entourée par une huile de silicone permet de mesurer la conductivité intracellulaire de la fibre en utilisant un modèle électrique intracellulaire issu du modèle de câble.

Weidmann [12] utilise deux grandes électrodes extracellulaires à chacune des deux extrémités d'un mince faisceau de la cavité interne ventriculaire isolée dans un bain de silicone. La fibre est irriguée aux deux extrémités par une solution de Tyrode. Un échelon de courant sous-liminaire est appliqué dans le milieu extracellulaire aux extrémités du faisceau par un circuit isolé de la masse. Les mesures de potentiel sont faites avec deux micropipettes Ling-Gérard intracellulaires ou extracellulaires. L'auteur montre qu'une distance entre les électrodes d'injection de courant de quelques constantes d'espace permet au courant de se séparer entre les milieux intracellulaire et interstitiel, car à mi-chemin de chacune des électrodes de stimulation, les potentiels intracellulaire et interstitiel sont égaux. Il utilise aussi un protocole provoquant des potentiels d'action monophasiques pour déterminer le rapport entre les conductivités intracellulaires et interstitielles. Ce protocole utilise le modèle de câble et permet d'estimer les

conductivités intracellulaire et interstitielle, la constante d'espace, la résistance et capacité membranaire spécifique et la constante d'espace. Chapman et coll. [15] reprennent le protocole de Weidmann [12] sur des trabécules de cœur de grenouille pour déterminer la conductivité intracellulaire. La conductivité du cytoplasme est déterminée par mesure intracellulaire, ce qui permet d'évaluer la résistivité des jonctions par simple soustraction de la résistivité cytoplasmique à la résistivité intracellulaire. En augmentant la fréquence d'excitation sous-liminaire injectée par les extrémités de la fibre, ils mettent en évidence la diminution de la constante d'espace et sont capables d'évaluer la valeur de la capacité de jonction.

En 1976, Clerc [7] utilise le montage de Weidmann [12] et effectue des mesures de conductivité sur une préparation de trabécule de veau orienté suivant la direction longitudinale et transverse aux électrodes de courant. Ceci lui permet d'utiliser le modèle de câble selon une seule direction à la fois et d'obtenir les conductivités intracellulaires et interstitielles suivant chacune des directions.

2.2.2 Les méthodes avec électrodes extracellulaires

Plusieurs techniques ont été développées pour mesurer l'impédance avec des électrodes extracellulaires afin d'éviter les problèmes techniques relatifs aux électrodes intracellulaires. Les techniques couramment utilisées pour faire des mesures d'impédance sur du tissu biologique utilisent principalement deux ou quatre électrodes. Dans tous ces

cas, le tissu est modélisé comme étant une structure homogène et macroscopique.

La méthode à deux électrodes la plus commune pour mesurer l'impédance complexe du tissu est celle du pont d'impédance en courant alternatif (10 Hz à 1 Mhz) qui utilise la même paire d'électrodes pour injecter le courant et mesurer le potentiel. L'avantage majeur de cette technique est sa haute résolution et sa grande précision, mais l'impédance des électrodes peut poser des problèmes si elle n'est pas négligeable. La mesure est la somme de la tension produite par l'échantillon et celle produite par le passage du courant dans les électrodes [20]. Cette technique est utilisée par Schwan et Kay [26] qui sont souvent cités pour leurs mesures sur différents types de tissu [27]. L'impédance du tissu cardiaque est mesurée en piquant un fin cathéter dans le muscle muni de deux larges électrodes distantes d'environ 34 mm centre à centre. La résistivité du tissu est évaluée à 956 Ω·cm à une fréquence de 1 kHz avec un modèle uniforme monodomaine et isotrope [26]. Dans les conditions où la miniaturisation des électrodes et la basse fréquence sont requises, la tension générée par le passage du courant dans les électrodes génère une tension de polarisation de l'ordre de grandeur du signal mesuré, et rend caduque la méthode à deux électrodes.

À mi-chemin entre la technique par pont d'impédance et la technique à quatre électrodes, nous avons la technique à quatre électrodes avec pont d'impédance [20]. L'échantillon est déposé dans une cellule cylindrique entre deux grandes électrodes de polarisation contrôlées par un pont d'impédance, la tension est mesurée par deux

électrodes extracellulaires introduites à travers la paroi de la chambre [20,28]. L'analyse de l'impédance du modèle est faite en courant alternatif en ajustant ses paramètres aux mesures expérimentales dans un plan de phase [29,30].

La technique à quatre électrodes diminue considérablement l'influence de la tension de polarisation sur les mesures car le courant injecté par les deux électrodes excentriques ne passe pas par les deux électrodes de mesure centrales. La méthode de mesure de Rush et coll. [31] est basée sur la technique à quatre électrodes alignées équidistantes. La distance interélectrode est de seulement 5 mm et l'utilisation d'un courant continu est désormais possible. Leurs mesures sont faites à la surface ou dans le tissu avec un quadruplet aligné suivant la direction des fibres puis transverse à la direction des fibres. La solution analytique du modèle permet de déterminer la résistivité du tissu suivant chacun des axes longitudinal et transverse aux fibres, mais ne tient pas compte du caractère bidomaine du tissu.

Plonsey et Barr [11] ont étudié l'application de la technique à quatre électrodes pour un milieu bidomaine et anisotrope. Une mesure avec électrodes rapprochées de l'ordre de la constante d'espace permet d'évaluer les conductivités interstitielles longitudinales et transverses du tissu tandis que les électrodes éloignées de plusieurs constantes d'espaces permettent au courant d'entrer dans les cellules pour évaluer une combinaison des conductivités intracellulaires et interstitielles. La mesure croisée permet d'estimer les paramètres suivant les deux axes. Leur conclusion montre que la mesure

des résistivités suivant chacun des axes n'est pas directe mais est interprétée à partir du comportement d'un modèle qui dans leur cas possède un ratio d'anisotropie constant.

Bien que notre sujet de recherche concerne le tissu cardiaque, des travaux intéressants sur le muscle squelettique permettent de confirmer l'effet du bidomaine sur les mesures extracellulaires. Gielen et coll. [32] appliquent la méthode de Rush et coll. [31] sur le muscle squelettique. Une distance interélectrode réduite à 0.5 mm et l'utilisation d'un courant alternatif dans une gamme de 10 Hz à 20000 Hz met en évidence le comportement structurel du muscle squelettique. La résistivité et la phase varient avec la fréquence, alors qu'elles sont presque invariantes avec une distance interélectrode de 3 mm. Gielen et coll. [33] reproduisent le comportement de la conductivité du tissu squelettique en fréquence à l'aide d'un modèle anisotrope monodomaine dans un champ unidimensionnel longitudinal puis transverse. Cependant, l'expression de la conductivité suivant chacun des axes est dépendante de la fréquence en tenant compte de la structure intracellulaire et interstitielle des fibres squelettiques séparées par une membrane complexe. Roth et coll. [34,35] remanient le modèle de Gielen et coll. [33] et éliminent la variable qui tient compte de la position des électrodes dans les équations analytiques pour y introduire la notion de fréquence spatiale et temporelle. Cette approche explique l'expression complexe du muscle squelettique par une mesure avec la technique à quatre électrodes. Ils reproduisent grossièrement les mesures de Gielen et coll. [32] en introduisant un ensemble de paramètres dans leurs modèles. Les travaux sur le muscle squelettique de ces auteurs n'ont jamais, à notre

connaissance, débouché sur une évaluation des paramètres électriques passif du tissu avec les derniers modèles développés.

Les récents travaux sur le tissu cardiaque [30,36,37] n'ont pas encore exploité la structure bidomaine anisotrope. Steendijk et coll. [36] mesurent la conductivité longitudinale et transverse à la direction des fibres avec la technique à quatre électrodes alignées sur un cœur de chien *in vivo*. Une distance interélectrode de 1 mm et une gamme de fréquence élevée (5 kHz à 60 kHz) leur permet de considérer le tissu comme un milieu monodomaine anisotrope. Leur modèle tient compte de la présence d'une couche superficielle de conductivité anormale entre les électrodes et le tissu à mesurer.

2.2.3 La méthode avec carte épicardique

Une approche originale consiste à évaluer les conductivités du tissu par une mesure des électrogrammes épicardiques. Les mesures sont effectuées *in vivo* sur le chien et Roberts et coll. [6] utilisent les vitesses de conduction et l'amplitude du potentiel extracellulaire pour évaluer la résistivité du tissu en supposant que le front d'activation forme une ellipse. Ils montrent que la valeur des résistivités permet de reproduire les relations de la vitesse de conduction et de l'amplitude du voltage extracellulaire en fonction de l'angle de propagation avec l'axe des fibres. Ils utilisent les équations de diffusion du courant dans un milieu monodomaine anisotrope similaire à Rush et coll. [31], sauf que la source de courant est une impulsion juxtaposée à un potentiel

extracellulaire et que l'électrode de retour est considérée à l'infini. Ils calculent des résistivités intracellulaires et interstitielles à partir de l'amplitude du front d'onde extracellulaire et des résistivités monodomaines suivant les directions respectives en considérant qu'elles sont équivalentes aux résistivités bidomaines en parallèle. Roberts et Scher [5] évaluent la résistivité monodomaine et dissocient le milieu intracellulaire de l'interstitiel tel que dans l'article précédent [6], sauf que l'amplitude du front d'onde utilisé pour le calcul des conductivités intracellulaires et interstitielles est calculé par un modèle bidomaine qui reproduit le champ de potentiel extracellulaire reproduisant les mesures expérimentales.

CHAPITRE 3 : MODÈLES BIDOMAINES CAPACITIFS POUR LA MESURE DES CONDUCTIVITÉS MYOCARDIQUES

3.1 SITUATION DE L'ARTICLE DANS LA THÈSE

Le but de ce chapitre est de développer les modèles théoriques nécessaires pour analyser les mesures expérimentales. Après une revue de la littérature, nous sommes venus à la conclusion que la technique la mieux adaptée pour les mesures extracellulaires est celle des quatre électrodes développée par Rush et coll. [31]. Cependant leur modèle ne permet pas de faire la distinction entre le milieu intracellulaire et le milieu interstitiel, ce que Plonsey et Barr [11] ont théoriquement résolu. La solution de ces auteurs nécessite deux distances interélectrodes différentes ce qui implique que la région étudiée change, mais surtout, elle impose un ratio d'anisotropie constant, ce qui n'est pas réaliste.

Nous avons développé une technique de mesure à quatre électrodes avec un modèle de tissu bidomaine sans contrainte sur l'anisotropie solutionnée par transformée de Fourier numérique tridimensionnelle avec des électrodes fixes. Les conductivités sont évaluées par une procédure de régression itérative. Nous augmenterons la complexité du modèle en introduisant une conductivité intracellulaire complexe afin de mieux reproduire les observations expérimentales pour des fréquences supérieures à 1000 Hz.

CAPACITIVE BIDOMAIN MODELS FOR THE MEASUREMENT OF MYOCARDIAL CONDUCTIVITIES

Pierre Le Guyader, Francisco Trelles, Pierre Savard

Institut de Génie biomédical, École Polytechnique de Montréal, Research Center of Hôpital Sacré-Cœur de Montréal and Université de Montréal.
Post Office Box 6079, Station A, Montréal (Québec) Canada H3C 3A7.

Submitted to "*Annals of Biomedical Engineering*" november 1998

Correspondence:
Pierre Savard Ph.D.
Hôpital Sacré-Cœur de Montréal
5400 Gouin Ouest
Montréal (Québec) Canada
H4J-1C5
Telephone : (514) 338-2172
Fax : (514) 338-2694
Email : savardp@IGB.UMontreal.CA

3.2 ABSTRACT

The passive electrical properties of cardiac tissue, such as the intracellular and interstitial conductivities along the longitudinal and transverse axes, cannot be directly obtained from extracellular measurements because of the bidomain nature of the myocardium. In this paper, we describe two myocardial models developed to estimate these properties by analyzing potentials recorded with a pair of electrodes applied over the myocardium while injecting alternating current between another pair of electrodes. Firstly, the cardiac tissue is represented by a standard bidomain model which includes a membrane capacitance; secondly, this model is modified by adding an intracellular capacitance representing the gap junctions. Numerical solutions are computed with a Fast Fourier Transform algorithm without constraining the anisotropy ratios of the interstitial and intracellular domains. Bidomain parameters are estimated by fitting, with a modified Shor's r-algorithm, the simulated potentials to the potentials measured along the longitudinal and transverse axes for different frequencies (10-10000 Hz). An important finding is that the interelectrode distance must be similar to the myocardial space constant so as to obtain frequency dependent measurements. Both models can accurately represent measured data up to 2000 Hz, but the second model must be used above 2000 Hz to account for the apparent increase of intracellular conductivity at higher frequencies.

Keywords: bidomain model, electrical conductivity, four-electrode technique, myocardium, anisotropy.

3.3 GLOSSARY OF TERMS

Subscripts

c	Identifies cytoplasmic quantities
i, e	Identifies intracellular and interstitial quantities, respectively
L	Identifies the longitudinal direction (along the fibers)
T	Identifies the transverse direction (across the fibers)
x, y, z	Identifies directions along the $\vec{x}$, $\vec{y}$, $\vec{z}$ axis respectively

Principal Symbols

AC, DC	Alternating and direct currents, respectively
A_i, A_e	Intracellular and interstitial cross sectional areas, respectively
c_{gap}	Bidomain junction capacitance per unit length (μF/cm)
C_{gap}	Junction capacitance per unit length (F/cm)
C_j	Specific junction capacitance (F/cm^2)
C_m	Specific membrane capacitance (F/cm^2)
d	Interelectrode distance
D_x, D_y, D_z	Sub-block length along the $\vec{x}$, $\vec{y}$, $\vec{z}$ axis respectively
$\mathcal{E}$	Cost function (V/A)
$\mathcal{F}_{k_r}^{-1}$	Spatial inverse Fourier transform
$\mathcal{F}_r$	Spatial Fourier transform
g	Bidomain conductivity (S/cm)

$\tilde{g}$	Bidomain conductivity tensor
g_c	Bidomain cytoplasmic conductivity (Siemens/cm)
g_{gap}	Bidomain gap junction conductivity (Siemens/cm)
Hat "$\hat{}$"	Three dimensional spatial Fourier transform
I_0	Amplitude of current source (A)
I_m	Membrane current per volume unit (A/cm^3)
I_s	External current source (A)
$\vec{J}_i$, $\vec{J}_e$	Intracellular and interstitial current densities, respectively (A/cm^2)
k_r	Spatial frequency (k_x, k_y, k_z)
k_x, k_y, k_z	Spatial frequency along $\vec{x}$, $\vec{y}$, $\vec{z}$ axis respectively (rad/m)
K	Anisotropy ratio
ℓ	Average length of one cell (cm)
n_x, n_y, n_z	Number of nodes in sub-block along the $\vec{x}$, $\vec{y}$, $\vec{z}$ axis, respectively
N	Transverse to longitudinal ratio of junction density
r	Coordinate (x, y, z)
r_0	Coordinate (x_0, y_0, z_0)
R_c	Intracellular cytoplasmic resistivity (Ω·cm)
R_{gap}	Gap junction resistivity (Ω·cm)
R_j	Specific gap junction resistivity (Ω·cm^2)
R_m	Specific membrane resistance (Ω·cm^2)
S_i, S_e	$S_i = -\left(g_{ix}k_x^2 + g_{iy}k_y^2 + g_{iz}k_z^2\right)$ and $S_e = -\left(g_{ex}k_x^2 + g_{ey}k_y^2 + g_{ez}k_z^2\right)$ respectively

V_m Transmembrane potential (V)

$\vec{x}$, $\vec{y}$, $\vec{z}$ x, y or z axis respectively

$Y_m(\omega)$ Specific membrane admittance ($\Omega^{-1}\cdot cm^{-2}$)

$Z(\omega)$ Voltage-to-current ratios (V/A)

Z_{gap} Junction impedance ($\Omega\cdot cm$)

Z_{iL}, Z_{iT} Intracellular longitudinal and transverse impedance respectively ($\Omega\cdot cm$)

$Z_L(\omega)$ Experimental voltage-to-current ratios along the longitudinal direction (V/A)

$Z_L^S(\omega)$ Simulated voltage-to-current ratios along the longitudinal direction (V/A)

Z_m Specific membrane impedance ($\Omega\cdot cm^2$)

$Z_T(\omega)$ Experimental voltage-to-current ratios along the transverse direction (V/A)

$Z_T^S(\omega)$ Simulated voltage-to-current ratios along the transverse direction (V/A)

Greek Symbols

β_m Surface to volume ratio (cm^{-1})

λ_D DC space constant along the direction D (cm)

$\lambda_L(\omega)$ Frequency dependent space constant along the longitudinal direction (cm)

$\lambda_T(\omega)$ Frequency dependent space constant along the transverse direction (cm)

Λ General space constant ($\Omega^{1/2}\cdot cm^{3/2}$)

ξ_i, ξ_e Intracellular and interstitial fractions of cross-sectional area

σ Standard conductivity (S/cm)

τ_m Membrane time constant (s)

Φ_i , Φ_e Intracellular and interstitial potentials, respectively (V)

ω Angular frequency (rad/sec)

3.4 INTRODUCTION

The measurement of cardiac electrical conductivities is usually performed by injecting a known current in the myocardium and by measuring the potentials produced by this current in the tissue. Different measurement techniques have been proposed which use intracellular electrodes for either current injection or potential measurements [7,12,15,16]. We have developed a new method which uses only extracellular electrodes [38,39]. Our approach is derived from the four-electrode technique which consists of four equidistant and aligned electrodes applied over the myocardium: current is injected between the two outer electrodes while the potential difference is measured between the two inner electrodes [20]. This technique does not require a tissue chamber [7,12,15] and is not plagued by electrode polarization like the two-electrode technique [20].

A tissue model must be used to analyze the current and voltage measurements and to estimate the myocardial conductivities. When the cardiac tissue is represented by an homogeneous, anisotropic and monodomain medium, the bulk conductivities along the longitudinal and transverse axes can be computed using a simple analytical formula [31]. To estimate the interstitial and intracellular conductivities, a bidomain model must be used. Plonsey and Barr [11] have developed an analytical solution for an anisotropic

bidomain model with an equal anisotropy ratio and they have proposed increasing the interelectrode distance to redirect the current flow from outside the cells, to inside the cells. In our approach, the current flow is redirected by increasing the frequency of the injected current while maintaining a constant interelectrode distance. In this paper, we develop a numerical method based on the Fast Fourier Transform (FFT) which is used to simulate the inner electrode potentials in two different anisotropic bidomain models with membrane capacitance and unconstrained anisotropy ratio. The parameters of the models are then fitted to measured potentials by a search algorithm.

3.5 THE STANDARD BIDOMAIN MODEL

Cardiac cells are joined at their ends by intercalated disks and each cell is connected to its neighbors by gap junctions passing through these disks. Current in the intracellular space of one cell can flow through the gap junctions into the intracellular space of the next cell. The intracellular space constitutes a syncytium and behaves on a macroscopic scale as a three dimensional conductor with a higher electrical conductivity along the fiber axis [7]. The interstitial space surrounding the cells also forms an anisotropic three dimensional conductive medium [7]. To represent the electrical behavior of the myocardium, the bidomain model considers that the intracellular and interstitial domains occupy the same space. Every point in the tissue thus belongs both to the intracellular and the interstitial domains which are separated from each other by the cell membrane.

Let $\tilde{g}_i$ and $\tilde{g}_e$ be the bidomain conductivity tensors of the intracellular and interstitial spaces in cartesian coordinates:

$$\tilde{g}_i = \begin{pmatrix} g_{iL} & 0 & 0 \\ 0 & g_{iT} & 0 \\ 0 & 0 & g_{iT} \end{pmatrix} \quad \text{and} \quad \tilde{g}_e = \begin{pmatrix} g_{eL} & 0 & 0 \\ 0 & g_{eT} & 0 \\ 0 & 0 & g_{eT} \end{pmatrix} \tag{3.1}$$

The tensors comprise the longitudinal conductivities along the fiber direction ($g_{ix}=g_{iL}$, $g_{ex}=g_{eL}$) and the transverse conductivities orthogonal to the fiber direction ($g_{iy}=g_{iT}$, $g_{ey}=g_{eT}$, $g_{iz}=g_{iT}$, $g_{ez}=g_{eT}$). Bidomain conductivities g (S/cm) are related to standard conductivities σ (S/cm) by the fraction of cross-sectional area occupied by the intracellular and interstitial spaces. Along the longitudinal direction, we thus have:

$$g_{iL}=\xi_i\sigma_{iL} \qquad \text{and} \qquad g_{eL}=\xi_e\sigma_{eL} \tag{3.2}$$

$$\xi_i = \frac{A_i}{A_i + A_e} \qquad \text{and} \qquad \xi_e = \frac{A_e}{A_i + A_e} \tag{3.3}$$

where A_i and A_e represent the cross sectional areas of the intracellular and interstitial spaces, respectively. Similar equations can be written for the transverse direction. Ohm's law relates the intracellular current density $\vec{J}_i$ and the interstitial current density $\vec{J}_e$ (A/m^2) to the intracellular Φ_i and interstitial Φ_e potential distributions by the following equations:

$$\vec{J}_i = -\tilde{g}_i \nabla \Phi_i \tag{3.4}$$

$$\vec{J}_e = -\tilde{g}_e \nabla \Phi_e \tag{3.5}$$

The membrane current per volume unit I_m (A/m^3) leaving the intracellular domain is given by:

$$\nabla \cdot \bar{J}_i = -I_m \tag{3.6}$$

The same membrane current enters into the interstitial domain where a possible source current I_s (A/m^3) can be injected at the electrode sites:

$$\nabla \cdot \bar{J}_e = I_m + I_s \tag{3.7}$$

The membrane consists of a specific membrane capacitance C_m, (F/cm^2) in parallel with a specific resistance R_m, (Ω·cm^2). The transmembrane currents is thus:

$$I_m = \beta_m \left(C_m \frac{\partial V_m}{\partial t} + \frac{V_m}{R_m} \right) \tag{3.8}$$

where β_m is the surface to volume ratio of the cells (cm^{-1}) and V_m is the transmembrane potential:

$$V_m = \Phi_i - \Phi_e \tag{3.9}$$

Combining equations (3.4) to (3.8) gives the two constitutive equations of the bidomain model:

$$\nabla \cdot (\tilde{g}_i \nabla \Phi_i) = I_m \tag{3.10}$$

$$\nabla \cdot (\tilde{g}_e \nabla \Phi_e) = -I_m - I_s \tag{3.11}$$

3.6 THE DIRECT CURRENT APPROACH

Plonsey and Barr [11] published a theoretical investigation of the possible application of the bidomain model for the computation of intracellular and interstitial conductivities from extracellular measurements. Their study was based on the four-electrode technique where the outer pair of electrodes drives a subthreshold direct current

(DC). The current flowing from the electrode into the myocardial tissue is modeled as a point source and is represented by a Dirac function at the position $r_0 \equiv (x_0, y_0, z_0)$:

$$I_s(r_0) = I_0\,\delta(r_0) \tag{3.12}$$

where I_0 is the strength of the injected current. Assuming that this current is independent of time, the time dependent term in equation (3.8) vanishes and the equation becomes:

$$I_m = \beta_m \frac{V_m}{R_m} \tag{3.13}$$

The four electrodes are located on the surface of a semi-infinite medium, at $z = 0$. Combining equations (3.10) to (3.13) gives:

$$g_{ix}\frac{\partial^2 \Phi_i}{\partial x^2} + g_{iy}\frac{\partial^2 \Phi_i}{\partial y^2} + g_{iz}\frac{\partial^2 \Phi_i}{\partial z^2} = \beta_m \frac{\Phi_i - \Phi_e}{R_m} \tag{3.14}$$

$$g_{ex}\frac{\partial \Phi_e}{\partial x^2} + g_{ey}\frac{\partial \Phi_e}{\partial y^2} + g_{ez}\frac{\partial \Phi_e}{\partial z^2} = -\beta_m \frac{\Phi_i - \Phi_e}{R_m} - I_0\delta(r_0) \tag{3.15}$$

With the assumption that the anisotropy ratios are equal to a constant K:

$$\frac{g_{ix}}{g_{ex}} = \frac{g_{iy}}{g_{ey}} = \frac{g_{iz}}{g_{ez}} = K \tag{3.16}$$

the equations (3.14-3.15) have an analytical solution for the interstitial potential Φ_e and the intracellular potential Φ_i [11]:

$$\Phi_e(R) = \frac{I_0}{4\pi R\sqrt{g_{ix}g_{iy}g_{iz}}}\left(\frac{K}{K+1}\right)\left(Ke^{-R/\lambda} + 1\right) \tag{3.17}$$

$$\Phi_i(R) = -\frac{I_0}{4\pi R\sqrt{g_{ix}g_{iy}g_{iz}}}\left(\frac{K}{K+1}\right)\left[e^{-R/\lambda} - 1\right] \tag{3.18}$$

$$R = \sqrt{\frac{|x - x_0|^2}{g_{ix}} + \frac{|y - y_0|^2}{g_{iy}} + \frac{|z - z_0|^2}{g_{iz}}} \tag{3.19}$$

where Λ is the global space constant in transformed coordinates ($\Omega^{1/2} \cdot cm^{3/2}$).

$$\Lambda = \sqrt{\frac{R_m}{\beta_m (1 + K)}} \tag{3.20}$$

The space constant λ_D (cm) in the bidomain model along direction D (L or T) is:

$$\lambda_D = \Lambda \sqrt{g_{iD}} \tag{3.21}$$

Plonsey and Barr [11] have shown that an interelectrode distance smaller than two third of the space constant along the direction D (λ_D) produces an almost null intracellular potential in the region between the two inner sensing electrodes. This means that the current is restricted to the interstitial domain whose sole conductivity is reflected in the potential measurements (Figure 3.1B). If the interelectrode distance is larger than 3.3 times the space constant (Figure 3.1C), the intracellular and interstitial potentials in the region between the two sensing electrodes are almost equal ($\Phi_i \approx \Phi_e$), reflecting a redistribution of the current between the intracellular and the interstitial domains. The potential measured between the two inner electrodes decreases as the interelectrode distance is increased beyond the space constant, reflecting an increase in the apparent conductivity of the tissue as current can now flow in both the interstitial and intracellular domains. The measurement system, which uses only external electrodes, can thus sample separately the interstitial domain (small distance) and both domains in parallel (large distance). Plonsey and Barr [11] give an analytical expression for the intracellular and

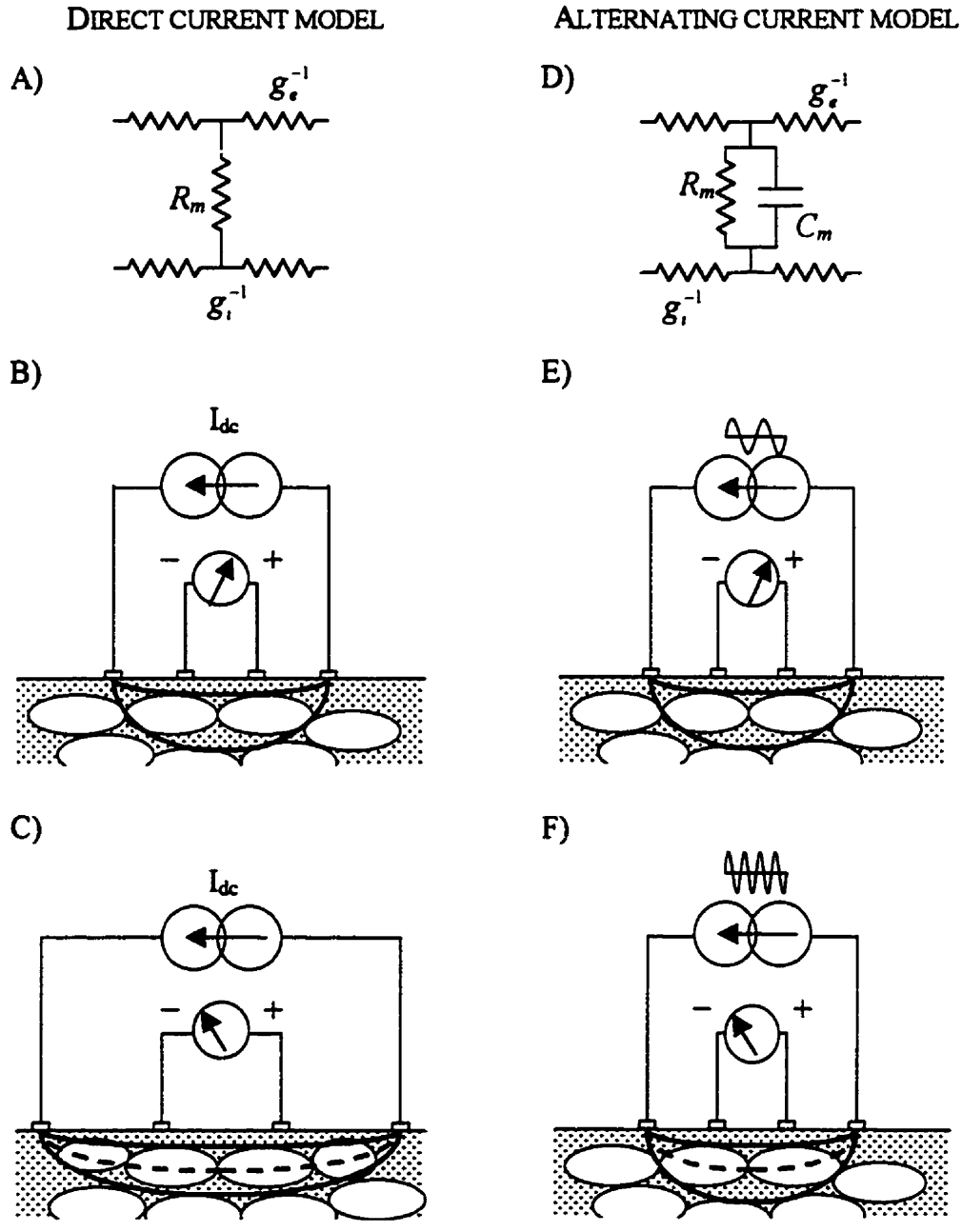


Figure 3.1 Comparison between the direct current bidomain model (left) and the alternating current model (right). A) Electrical diagram of the DC model. B) Interstitial DC current pathways with a small interelectrode distance. C) Interstitial and intracellular DC current pathways with a large interelectrode distance. D) Electrical diagram of the AC model. E) Interstitial AC current pathways with a small interelectrode distance at low frequencies. F) Interstitial and intracellular AC current pathways with a small interelectrode distance at higher frequencies.

interstitial bidomain conductivities along the longitudinal and transverse directions using a combination of measurements performed at small and large interelectrode distances along the longitudinal and transverse directions.

3.7 THE ALTERNATING CURRENT APPROACH

Instead of increasing the interelectrode distance further than the space constant (which implies the sampling of a different, larger region), we have previously proposed [38,39] maintaining the small interelectrode distance (Figure 3.1E), but decreasing the space constant by injecting alternating current (AC) at higher frequencies (Figure 3.1F), instead of DC.

The specific membrane capacitance C_m combined in parallel with R_m (Figure 3.1D) constitutes a specific membrane impedance Z_m ($\Omega \cdot cm^2$) which is frequency dependent. Submitted to a sinusoidal current with an angular frequency ω (rad/sec), the Z_m modulus decreases as ω increases due to the shunting effect of membrane capacitance at higher frequencies. The equation describing the AC space constant is similar to that of the DC space constant [14], except that the AC membrane component Z_m replaces the DC component R_m. The bidomain space constants along the longitudinal and transverse directions are [40]:

$$\lambda_L(\omega) = \sqrt{\frac{Z_m(g_{iL}g_{eL})}{\beta_m(g_{iL}+g_{eL})}} \qquad (3.22)$$

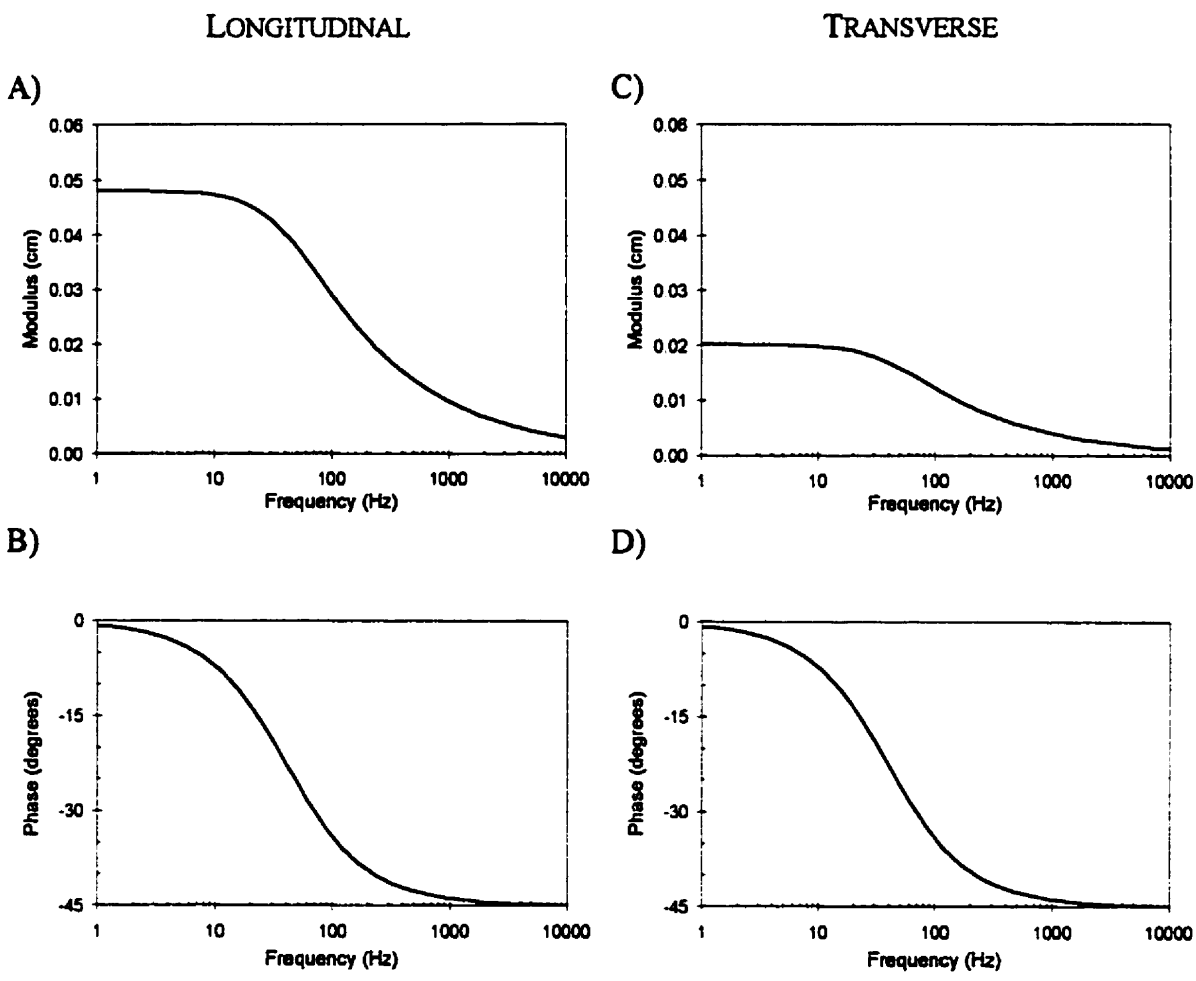


Figure 3.2 Space constants along the longitudinal (left) and transverse directions (right) computed with the conductivities of Le Guyader *et al.* [38].

$$\lambda_T(\omega) = \sqrt{\frac{Z_m(g_{iT} g_{eT})}{\beta_m(g_{iT} + g_{eT})}} \tag{3.23}$$

As an example, Figure 3.2 shows graphs of the complex values of the longitudinal and transverse space constants as function of the frequency (the computations were performed using the bidomain conductivities listed in Table 3.1 and a specific capacitance of $C_m = 1\mu F/\ cm^2$). The modulus of the space constant diminishes as the

Table 3.1 MEASURED VALUES OF BIDOMAIN CONDUCTIVITIES [38]

g_{iL}, mS/cm	1.97
g_{iT}, mS/cm	2.34
g_{eL}, mS/cm	2.93
g_{eT}, mS/cm	1.95
β_m, cm^{-1}	2068
R_m, $\Omega \cdot cm^2$	4047
C_m, $\mu F/cm^2$	1.00

frequency increases, in accordance with the measurements of Chapman and Fry [15] in the frog ventricle, and the phase lags from 0 to 45°. For conductivity measurements, a small interelectrode distance is used and the current flows mainly in the interstitial domain at low frequencies, whereas it flows in both domains at higher frequencies as the space constant decreases. Experiments have been performed using a sensor with two rows of four electrodes at right angle and a sinusoidal current source with frequencies in the range of 12 Hz to 10KHz. More information is obtained by using multiple frequencies instead of two different interelectrode distances, as each frequency corresponds to a different space constant.

3.8 THREE DIMENSIONAL FOURIER TRANSFORM SOLUTION

The main limitation of the analytical solution for the four-electrode technique [11] is the hypothesis of a constant anisotropy ratio, which is not true for the myocardium [5,6,7,11]. A three dimensional numerical model is thus required to compute the potential

distribution. We consider a sinusoidal external current source $I_s(r_0) = I_0 \sin(\omega t)\delta(r_0)$ which allows us to use the Laplace transform technique from the electrical circuit theory. Some of the bidomain equations from the previous section can be reformulated to take into account the frequency of the current source. The current density equations (3.4) and (3.5) become:

$$\vec{J}_i(\omega,r) = -\tilde{g}_i \nabla \Phi_i(\omega,r) \tag{3.24}$$

$$\vec{J}_e(\omega,r) = -\tilde{g}_e \nabla \Phi_e(\omega,r) \tag{3.25}$$

where r is a variable representing the coordinates (x, y, z). The transfer function of the specific membrane admittance ($\Omega^{-1}\cdot cm^{-2}$) in the frequency domain is:

$$Y_m(\omega) = \frac{1}{R_m} + j\omega C_m \tag{3.26}$$

The general bidomain equations with a sinusoidal current source and unconstrained anisotropy are:

$$\nabla \cdot (\tilde{g}_i \nabla \Phi_i(\omega,r)) = \beta_m Y_m(\omega)(\Phi_i(\omega,r) - \Phi_e(\omega,r)) \tag{3.27}$$

$$\nabla \cdot (\tilde{g}_e \nabla \Phi_e(\omega,r)) = -\beta_m Y_m(\omega)(\Phi_i(\omega,r) - \Phi_e(\omega,r)) - I_0 \sin(\omega)\delta(r_0) \tag{3.28}$$

We now have a parametric system of equations with two unknowns ($\Phi_i(\omega,r)$, $\Phi_e(\omega,r)$) and six parameters (g_{iL}, g_{iT}, g_{eL}, g_{eT}, β_m, R_m) ; C_m can be fixed at 1μF/cm^2. To solve this system, we use the Fourier transform in the space domain. The three dimensional spatial Fourier transform $\tilde{\Phi}(\omega)$ of a potential $\Phi(\omega)$ is defined by:

$$\hat{\Phi}\left(\omega,k_x,k_y,k_z\right)=\mathcal{F}_r\left\{\Phi(\omega,r)\right\}=\int_{-\infty}^{+\infty}\left(\int_{-\infty}^{+\infty}\left(\int_{-\infty}^{+\infty}\Phi(\omega,x,y,z)\,e^{jk_x x}dx\right)e^{jk_y y}dy\right)e^{jk_z z}dz \qquad (3.29)$$

where k_x, k_y, k_z (rad/m) represent the spatial frequencies along the $\vec{x}$, $\vec{y}$ and $\vec{z}$ axes. The inverse Fourier transform is:

$$\Phi(\omega,x,y,z)=\mathcal{F}_{k_r}^{-1}\left\{\hat{\Phi}(\omega,k_r)\right\}=\frac{1}{(2\pi)^3}\int_{-\infty}^{+\infty}\left(\int_{-\infty}^{+\infty}\left(\int_{-\infty}^{+\infty}\hat{\Phi}(\omega,k_x,k_y,k_z)\,e^{-jk_x x}dk_x\right)e^{-jk_y y}dk_y\right)e^{-jk_z z}dk_z \qquad (3.30)$$

The hat notation "$\hat{}$" over a variable denotes the spatial Fourier transform of this variable, $\hat{I}_s(\omega,k_r)=\mathcal{F}_r\left\{I_s(\omega,r)\right\}$. We can demonstrate that the Fourier transform of the second derivative of the potential along $\vec{x}$ is:

$$\mathcal{F}_x\left\{\frac{\partial^2\Phi(\omega,x,y,z)}{\partial^2 x}\right\}=-k_x^2\hat{\Phi}(\omega,k_x,y,z) \qquad (3.31)$$

In this way, the derivatives of a function can be transformed into simpler algebraic equations. Equation (3.27) and (3.28) are thus transformed into:

$$S_i\hat{\Phi}_i(\omega,k_r)=\beta_m Y_m(\omega)\left(\hat{\Phi}_i(\omega,k_r)-\hat{\Phi}_e(\omega,k_r)\right) \qquad (3.32)$$

$$S_e\hat{\Phi}_e(\omega,k_r)=-\beta_m Y_m(\omega)\left(\hat{\Phi}_i(\omega,k_r)-\hat{\Phi}_e(\omega,k_r)\right)-\hat{I}_s(\omega,k_r) \qquad (3.33)$$

where

$$S_i=-\left(g_{ix}k_x^2+g_{iy}k_y^2+g_{iz}k_z^2\right)\ \text{ and }\ S_e=-\left(g_{ex}k_x^2+g_{ey}k_y^2+g_{ez}k_z^2\right) \qquad (3.34)$$

β_m and Y_m are position independent and not affected by the spatial Fourier transform. Combining equations (3.32) and (3.33) permits to isolate the Fourier transform of the potentials:

$$\hat{\Phi}_i(\omega,k_r)=\frac{-\hat{I}_s(\omega,k_r)\beta_m Y_m(\omega)}{S_e(\beta_m Y_m(\omega)-S_i)+S_i\beta_m Y_m(\omega)} \tag{3.35}$$

$$\hat{\Phi}_e(\omega,k_r)=\frac{\hat{I}_s(\omega,k_r)(S_i-\beta_m Y_m(\omega))}{S_e(\beta_m Y_m(\omega)-S_i)+S_i\beta_m Y_m(\omega)} \tag{3.36}$$

The potentials in the space domain are then available by taking the inverse Fourier transform of equations (3.35) and (3.36):

$$\Phi_i(\omega,r)=\mathcal{F}_{k_r}^{-1}\left\{\frac{-\hat{I}_s(\omega,k_r)\beta_m Y_m(\omega)}{S_e(\beta_m Y_m(\omega)-S_i)+S_i\beta_m Y_m(\omega)}\right\} \tag{3.37}$$

$$\Phi_e(\omega,r)=\mathcal{F}_{k_r}^{-1}\left\{\frac{\hat{I}_s(\omega,k_r)(S_i-\beta_m Y_m(\omega))}{S_e(\beta_m Y_m(\omega)-S_i)+S_i\beta_m Y_m(\omega)}\right\} \tag{3.38}$$

The Fourier transform of expressions (3.35) and (3.36) as well as their inverse Fourier transforms can be evaluated numerically and will be described later.

3.9 THE BIDOMAIN MODEL INCLUDING INTRACELLULAR CAPACITANCE

Physiologically, the interstitial conductivities in both directions are purely conductive. However, the intracellular medium is composed of cytoplasm with various inclusions and intercalated disks that separate the cells [41]. Studies performed with alternating current indicates that longitudinal capacitance in addition to resistance exists in the intracellular space [15,42]. Chapman and Fry [15] evaluate the longitudinal junction capacitance at 4.82 μF/cm with a longitudinal resistance of 71 Ω·cm, which gives a time constant of 0.32ms. The same authors report a membrane time constant, $\tau_m = 3.7$ ms. The longitudinal time constant is about one tenth of the membrane time

constant and this implies that junction capacitance can modify the internal conductivities at over ten times the frequency it takes for the membrane capacitance to modify the membrane impedance. Reported values of specific junction capacitance vary over a wide range from 22 $\mu F/cm^2$ [43] to 370 $\mu F/cm^2$ (4.82 $\mu F/cm$ with an average cell length of 131μm) [15]. This suggests the replacement of the intracellular conductivity in the bidomain model by a new frequency dependent conductivity.

To describe the new model, it is easier to use the concept of impedance instead of conductivity. The new intracellular longitudinal impedance Z_{iL} (Ω·cm) is separated into two parts, an intracellular cytoplasmic resistivity R_c (Ω·cm) in series with a junction impedance Z_{gap} (Ω·cm). Z_{gap} consists composed of the gap junction resistivity R_{gap} (Ω·cm) in parallel with the junction capacitance per unit length C_{gap} (F/cm).

$$Z_{iL} = R_c + Z_{gap} \qquad \text{with} \quad Z_{gap} = \frac{R_{gap}}{1 + j\omega C_{gap} R_{gap}} \tag{3.39}$$

R_{gap} is related to the specific gap junction resistivity R_j (Ω·cm^2) by the relation:

$$R_{gap} = R_j / \ell \tag{3.40}$$

where ℓ is the cell length. C_{gap} can be expressed in term of specific junction capacitance C_j (F/cm^2) by:

$$C_{gap} = C_j \ell \tag{3.41}$$

Clerc [7] postulated that the current flows in the transverse direction via tortuous pathways, passing through a higher spatial density of junctions than in the longitudinal

direction. We define N as the transverse to longitudinal ratio of junction density. The intracellular transverse resistivity is composed of the cytoplasmic resistivity in series with N times the frequency dependent junction impedance:

$$Z_{iT} = R_c + N Z_{gap} \tag{3.42}$$

Taking into account the intracellular volume fraction ξ_i, we have two new frequency dependent and complex bidomain conductivities: $g_{iL}(\omega) = \xi_i / Z_{iL}$ and $g_{iT}(\omega) = \xi_i / Z_{iT}$. The bidomain conductivity of the gap junction is $g_{gap} = \xi_i / R_{gap}$, the bidomain equivalent of the junction capacitance per unit length is $c_{gap} = \xi_i C_{gap}$. Figure 3.3 shows the complex intracellular conductivities along the longitudinal direction (Figure 3.3A) and the transverse direction (Figure 3.3B). The complex intracellular bidomain conductivities constitute a macroscopic representation to account for the effects of junction capacitance and resistance. We can incorporate these complex conductivities into our calculations.

3.10 THREE DIMENSIONAL NUMERICAL BIDOMAIN MODEL

It is not possible to analytically evaluate the expression (3.38), but it is numerically solvable. The numerical model represents the tissue by a thick slab with an insulator at the interface z=0 which is in contact with the sensor. At z=0, the normal components of the intracellular and interstitial membrane current densities are zero:

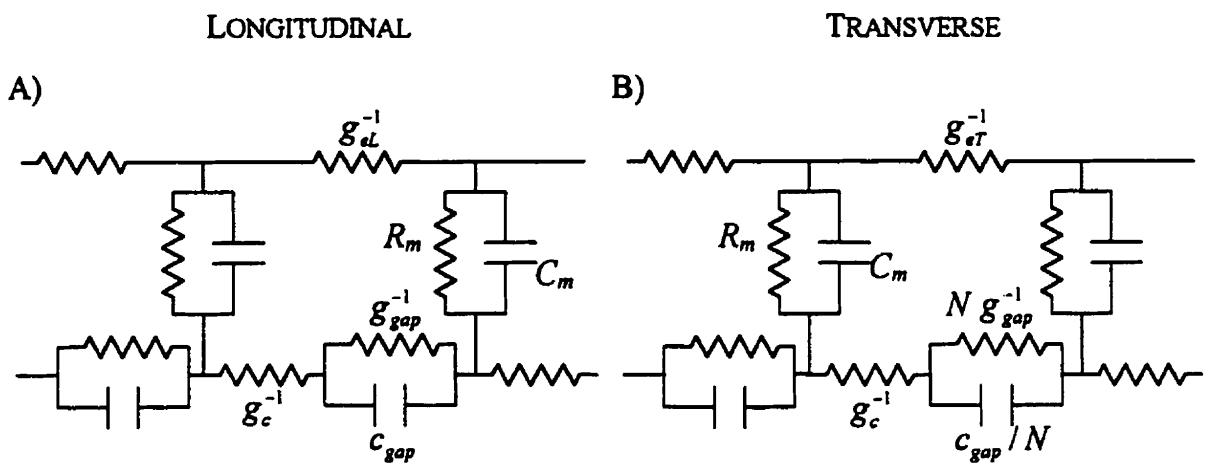


Figure 3.3 Diagram of the intracellular capacitance model. A) Along the fiber direction. B) Transverse to fiber direction. g_c: bidomain cytoplasmic conductivity, g_{gap}: bidomain gap junction conductivity, c_{gap}: bidomain junction capacitance per unit length, N: transverse to longitudinal ratio of junction density.

$$\vec{J}_i \cdot \vec{n} = 0 \qquad \text{and} \qquad \vec{J}_e \cdot \vec{n} = 0 \tag{3.43}$$

The simulated slab of tissue (Figure 3.4) has finite dimensions for computational purposes, but it is large enough to avoid perturbation of the potential at the measurement sites by the additional boundaries (5 mm × 5 mm × 2.5 mm). The model takes into account the exact position of the electrodes. The current source and sink are positioned respectively at $\frac{1}{2}d$ and $-\frac{1}{2}d$ along the $\vec{x}$ axis, where d is the interelectrode distance ($d = 340$ μm). The current generates potential distributions that are symmetrical with respect to the x=0 plane and that can be represented by odd functions $\Phi_{i,e}(\omega;x,y,z) = -\Phi_{i,e}(\omega;-x,y,z)$, which implies that $\Phi_i = \Phi_e = 0$ at the plane of symmetry. The

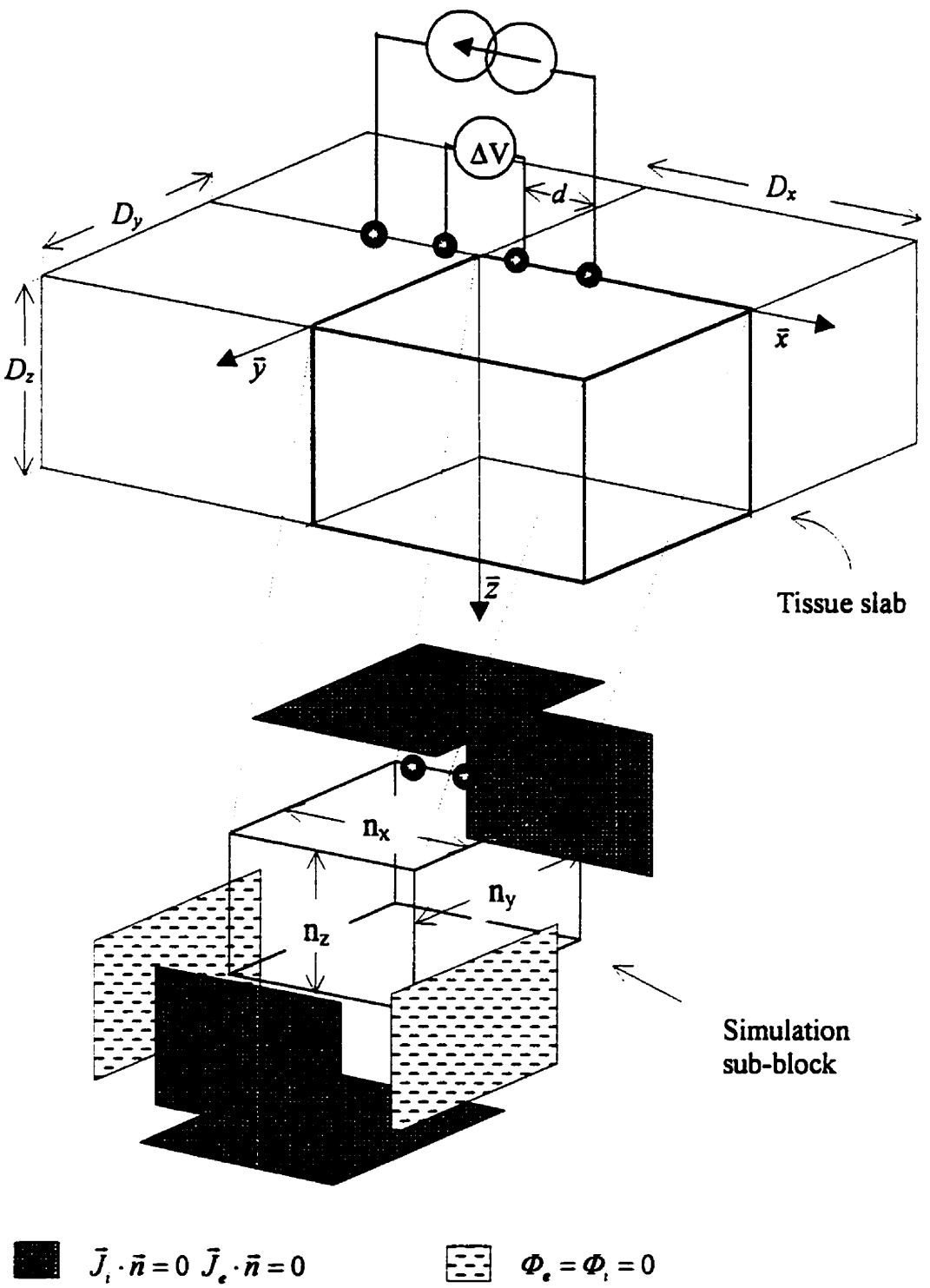


Figure 3.4 Schematic representation of the three dimensional tissue slab for the bidomain model. The boundary conditions (last line) were selected so as to use the Fourier transform.

other plane of symmetry is y=0 where the current flows parallel to the plane, creating an even distribution $\Phi_{i,e}(\omega,x,y,z) = \Phi_{i,e}(\omega,x,-y,z)$. Taking advantage of symmetry to reduce processing time, simulations are made on a sub-block ($D_x \times D_y \times D_z$) of one-fourth the size of the tissue slab.

To compute the discrete Fourier transform in the sub-block [44], the sub-block is discretized by a three dimensional mesh of ($n_x \times n_y \times n_z$) nodes, with n_x=128, n_y=32, n_z=16. The Fourier transform of functions with zero values at the boundaries is a *SINE* transform along the $\bar{x}$ axis and the transform of functions with null derivatives at the boundaries is a *COSINE* transform along the ($\bar{y}$ and $\bar{z}$ axis). The solution to equation (3.38) is computed in three steps: 1) the Fourier transform of the current source $I_s(\omega, r_0)$; 2) the Fourier transform of the interstitial potential (3.36); and 3) the inverse Fourier transform of the interstitial potential (3.38).

The electrode array is hand-made [38,39] and the grid size was selected so that the positions of the source and sink electrodes correspond exactly with the nodes. Since the positions of the two inner electrodes do not match exactly with the grid, the potential of these electrodes is estimated by cubic interpolation using the six nearest nodes. The interpolation error is estimated to be less than 0.1% for n_x=128. The choice of a smaller number of nodes shortens the processing time which is long because solutions must be obtained for different frequencies along the longitudinal and the transverse directions and repeated for hundreds of iterations during the curve fitting process.

To validate our numerical solution, we compared it to the analytical solution with constant anisotropy ratio using the model parameters ($g_{iL}/2$, $g_{eL}/2$, g_{iT}, g_{eT}, β_m, K and R_m) from Plonsey and Barr [11]. A maximum relative error of 2.5% in the longitudinal direction and 1% in the transverse direction was observed in the potential difference at the two measurement electrodes. We thus consider that the influence of sources of errors such as supplemental boundary conditions, discretization error and interpolation is negligible.

3.11 PARAMETER ESTIMATION

The parameters of the bidomain model whose solution best fitted the experimental measurements were obtained using the SolvOpt package [45]. SolvOpt is a solver based on a modified Shor's r-algorithm for local optimization problems with minimization of nonlinear multivariate functions. The experimental measurements constitute a set of complex voltage-to-current ratios obtained at different frequencies along the longitudinal and transverse axes: $Z_L(\omega)$ and $Z_T(\omega)$. The objective is to minimize the difference between these ratios and the simulated voltage-to-current ratios $Z_L^S(\omega)$ and $Z_T^S(\omega)$. The cost function to minimize is:

$$\mathcal{E} = \sqrt{\sum_{i=first}^{last} \left[\left| Z_L^S(\omega_i) - Z_L(\omega_i) \right|^2 + \left| Z_T^S(\omega_i) - Z_T(\omega_i) \right|^2 \right]} \tag{3.44}$$

$$\omega_i / (2\pi) = \{12, 24, 50, 120, 180, 240, 500, 1200, 2400, 5000, 8000, 10000\} \text{(Hz)}$$

For the alternating current model shown in Figure 3.1D, six parameters are fitted simultaneously (g_{iL}, g_{iT}, g_{eL}, g_{eT}, β_m, R_m) over the full frequency range (10 to 10000 Hz) with C_m fixed at 1μF/cm^2. For the intracellular capacitance model (Figure 3.3), the gap junctions increase the number of bidomain parameters to eight (g_c, g_{eL}, g_{eT}, β_m, R_m, N, c_{gap}, g_{gap}). The solver cannot handle too many parameters with confidence and we reduced the number of parameters to be simultaneously fitted from eight to six by using a two-pass approach. At low frequencies, current flows mostly in the interstitial domain and the potential between the inner electrodes mostly reflects the interstitial conductivities. Thus the first pass consists of fitting the parameters of the first model (g_{iL}, g_{iT}, g_{eL}, g_{eT}, β_m, R_m) up to 2400Hz, in the second pass, the interstitial conductivities (g_{eL}, g_{eT}) obtained from the first pass are held constant and the remaining parameters (g_c, β_m, R_m ,N, c_{gap} , g_{gap}) are fitted over the full range of frequencies (10 to 10000 Hz).

3.12 RESULTS

3.12.1 FITTING *IN-VITRO* EXPERIMENTAL DATA WITH THE ALTERNATING CURRENT MODEL

Experimental data were obtained in a perfused right atrial tissue preparation [39]. Sinusoidal current with a peak to peak amplitude of 1μA and a frequency ranging from 12 to 10000 Hz was injected into the tissue. The probe consists of two orthogonal rows of four electrodes in order to sample the longitudinal and transverse directions at the same site.

Figure 3.5 shows typical experimental measurements of the voltage-to-current ratio obtained in perfused atrial tissue along with the alternating current model after fitting (dotted lines). The corresponding values of the bidomain parameters are listed in Table 3.2. We notice that the modulus of the voltage-to-current ratio decreases as the frequency increases, thus reflecting the shunting of the current into the intracellular domain at higher frequencies. Along the transverse axis, the modulus continues to decrease at higher frequencies whereas it returns to higher values along the longitudinal axis. The simulated curves fit the experimental data in the 12 to 1000 Hz frequency range very well. Above 1000 Hz, the simulated transverse modulus as well as the longitudinal and transverse phases reach a plateau instead of decreasing to lower values. So as to modify the alternating current model to improve the fit above 1000 Hz, we systematically investigated the effects of each of the parameters of the alternating current model on the simulated curves.

3.12.2 Sensitivity of the alternating model to bidomain parameters

Each of the parameters of the basic bidomain model (g_{iL}, g_{iT}, g_{eL}, g_{eT}, β_m, R_m) influences the voltage-to-current ratio in a particular way and to investigate their specific effects, we changed each one of them separately, like a partial derivative. Using the bidomain parameters from Table 3.2 as reference values, we modified these values starting at one third the reference value up to three times its value using the following steps: $^1/_3$, $^1/_2$, $^2/_3$, 1, $^3/_2$, 2, 3. Arrows indicate the effects of increasing a parameter on the

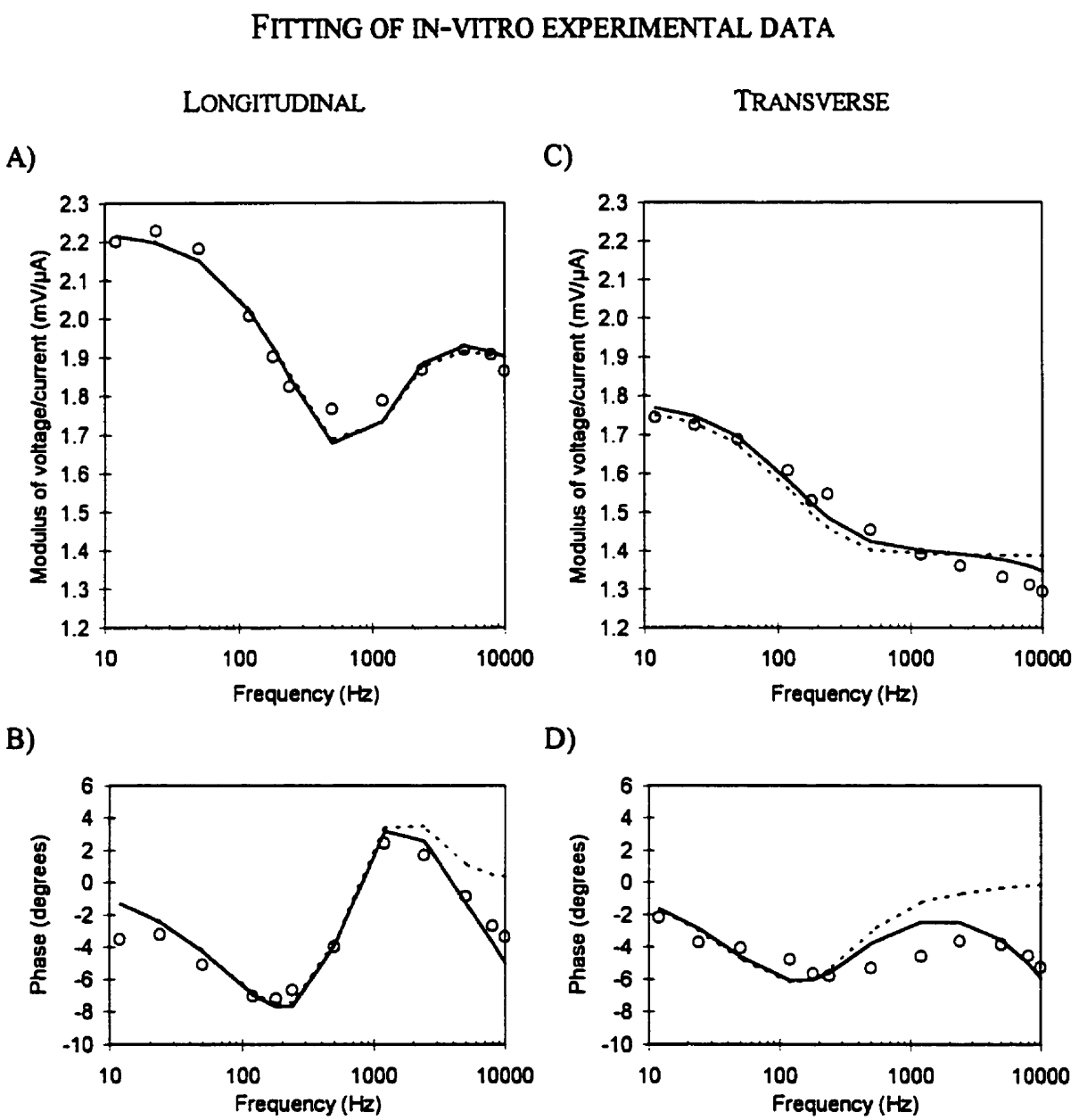


Figure 3.5 Voltage-to-current ratio vs. frequency of in-vitro experimental data obtained in canine right atrial trabecula (circles). Top, modulus (mV/μA); bottom, phase (degrees); left, longitudinal direction; right, transverse direction. (– –) fitted curves obtained with the alternating current model. (—) fitted curves obtained with the intracellular capacitance model.

Table 3.2 BIDOMAIN PARAMETERS ESTIMATED FROM IN-VITRO EXPERIMENTAL DATA WITH TWO BIDOMAIN MODELS

BIDOMAIN PARAMETERS	ALTERNATING CURRENT MODEL*	INTRACELLULAR CAPACITANCE MODEL*
g_{eL}, mS/cm	3.21	3.16
g_{eT}, mS/cm	2.08	2.08
R_m, $\Omega \cdot cm^2$	20000	
β_m, cm^{-1}	1467	
g_{iL}, mS/cm	1.39	
g_{iT}, mS/cm	0.39	
g_{ic}, mS/cm		2.81
c_{gap}, nF/cm		43.4
c_{gap_T}, nF/cm		5.1
g_{gap}, mS/cm		3.35
g_{gap_T}, mS/cm		0.393
N		8.52
β_m, cm^{-1}		1442
R_m, $\Omega \cdot cm^2$	†20000	†20000
$g_{iL} = \frac{g_{ic} \cdot g_{gap}}{g_{ic} + g_{gap}}$, mS/cm		1.53
$g_{iT} = \frac{g_{ic} \cdot g_{gap_T}}{g_{ic} + g_{gap_T}}$, mS/cm		0.345
Cost function, mV/μA	0.377	0.233

* Default value of C_m is $1 \mu F/cm^2$
† Maximum value allowed

curves shown in the Figure 3.6 and 3.7 for the modulus, and Figure 3.8 and 3.9 for the phase of the voltage-to-current ratio.

Changes in the voltage-to-current ratio modulus (Figure 3.6-3.7) appear in three coarse regions along the frequency axis: from 10 Hz to above 200 Hz, from 200 Hz to 2000 Hz and over 2000 Hz. Changes in the conductivities (g_{iL}, g_{iT}, g_{eL}, g_{eT}) and R_m alter the modulus of $Z(\omega)$ whereas changes in C_m and β_m translate the curves. Variations of the intracellular conductivities (g_{iL} or g_{iT}) influence $Z(\omega)$ along both axes (Figure 3.6A,B) in the middle and high frequency ranges. An interesting point is the very small variation of $Z(\omega)$ in the low frequency range, which is not surprising because the membrane capacitance does not conduct well and limits the current flow in the intracellular domain minimizing the impact of changes in the conductivities. The influence of R_m (Figure 3.7A) occurs only at very low frequencies where the membrane capacitance acts as an open circuit, and it is completely absent in the middle and high frequency range. In the fitting procedure, the value of R_m is always limited to 20000 ($\Omega \cdot cm^2$) because the search algorithm has a tendency to generate very large R_m values because of the small sensitivity of $Z(\omega)$ to R_m variations. The membrane capacitance value was initially set at 1 $\mu F/cm^2$ but increasing C_m (Figure 3.7B) produces a translation of the curves toward the lower frequencies. Similarly, the membrane conductance per cm^3 ($\beta_m \cdot Y_m$) is composed of a real component (β_m / R_m) and a complex one ($j\beta_m \omega C_m$) implying that increasing β_m gives the same results as decreasing R_m and increasing C_m simultaneously. Thus, the curves of β_m (Figure 3.7C) behave like a combination of R_m and C_m curves. Since these three parameters (β_m, R_m, C_m) are dependent, it is convenient to fix one at a known value in agreement with the literature, thus we set C_m at 1$\mu F/cm^2$.

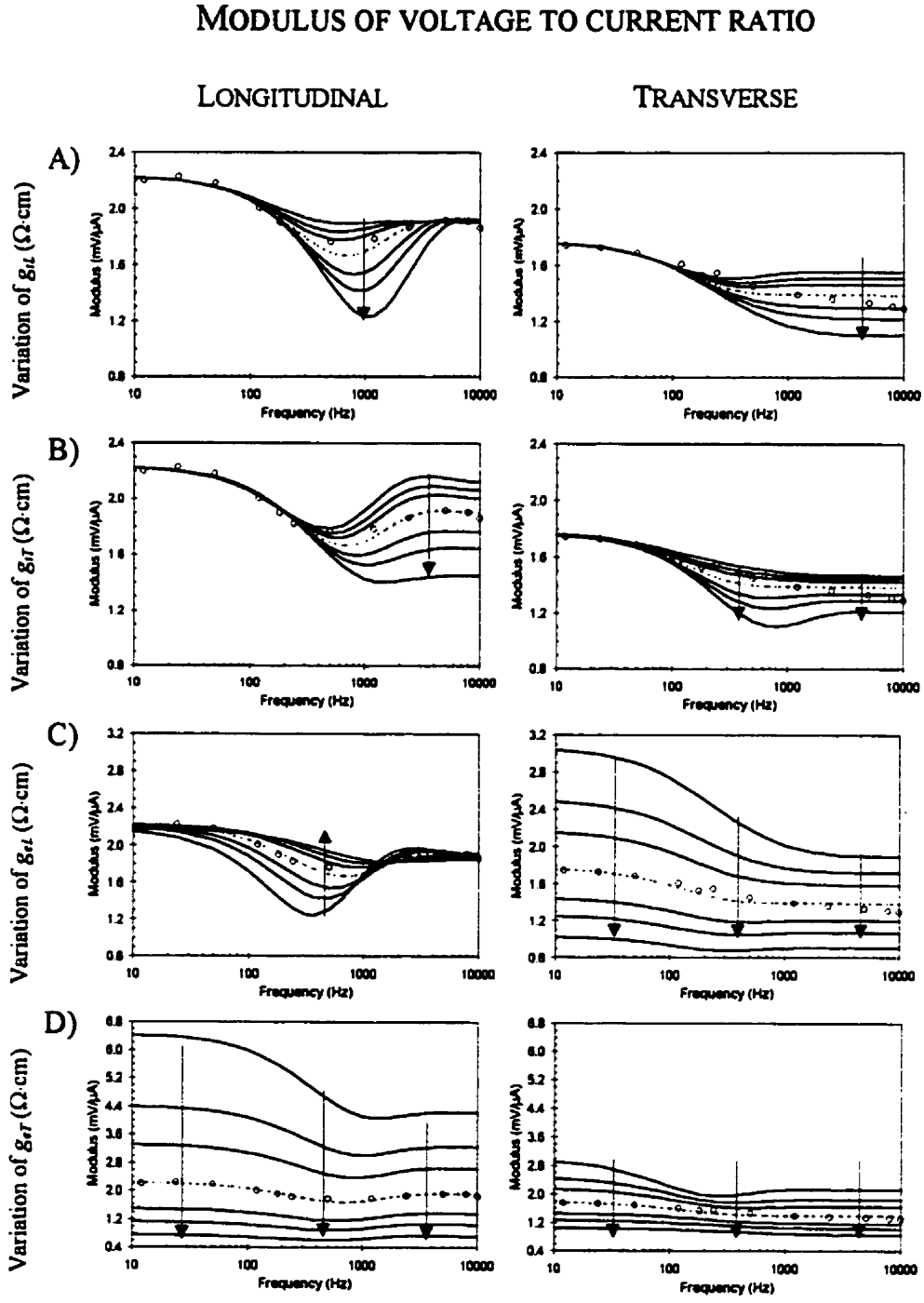


Figure 3.6 The influence of bidomain conductivities on the modulus of the voltage-to-current ratio. A) Variation of g_{iL}, B) variation of g_{iT}, C) variation of g_{eL}, D) variation of g_{eT} . The circles indicate the experimental values, the dotted curves correspond to reference values and the arrows indicate the effects of increasing the specific parameter by multiplying its reference value by $^1/_3$, $^1/_2$, $^2/_3$, 1, $^3/_2$, 2, 3.

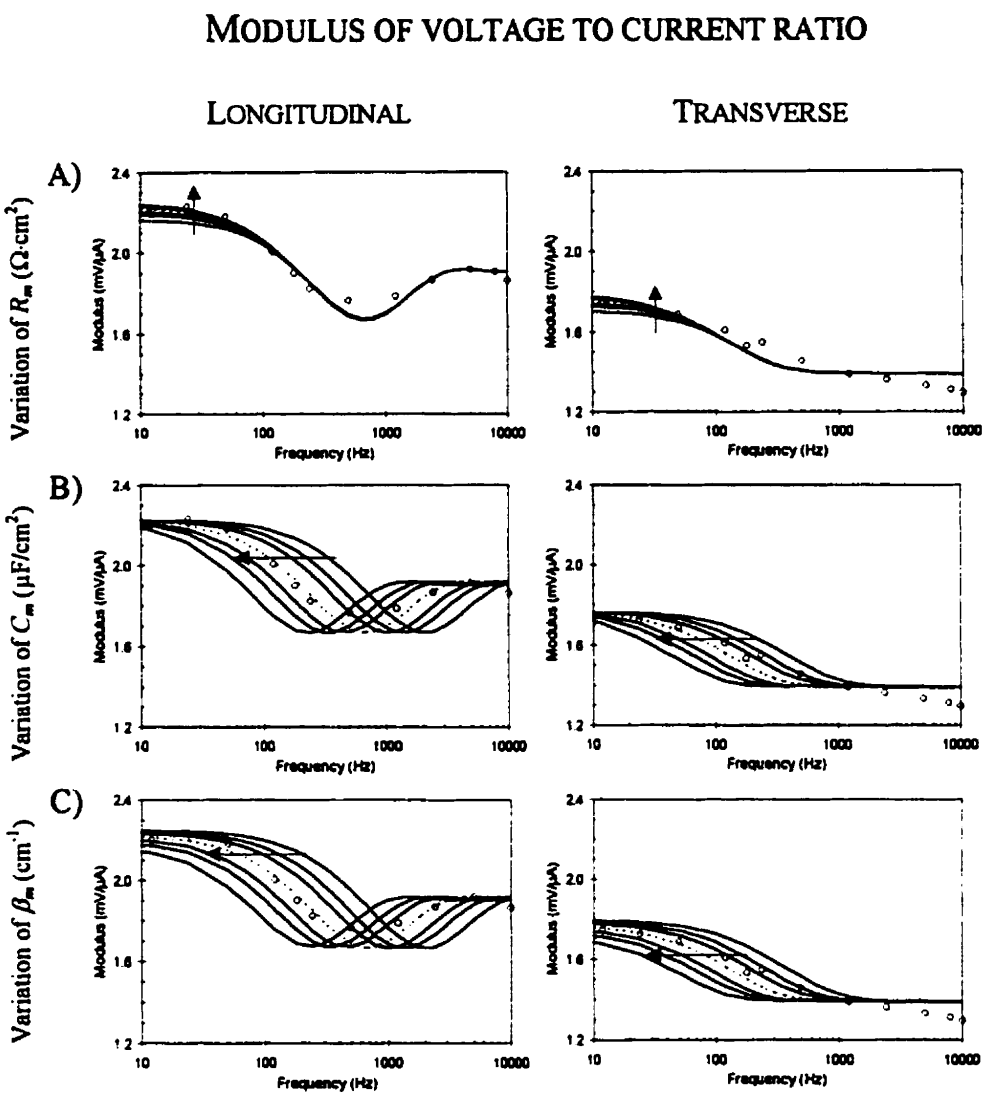


Figure 3.7 The influence of bidomain parameters on the modulus of the voltage-to-current ratio. A) Variation of R_m, B) variation of C_m, C) variation of β_m. The circles indicate the experimental values, the dotted curves correspond to reference values and the arrows indicate the effects of increasing the specific parameter by multiplying its reference value by $^1/_3$, $^1/_2$, $^2/_3$, 1, $^3/_2$, 2, 3.

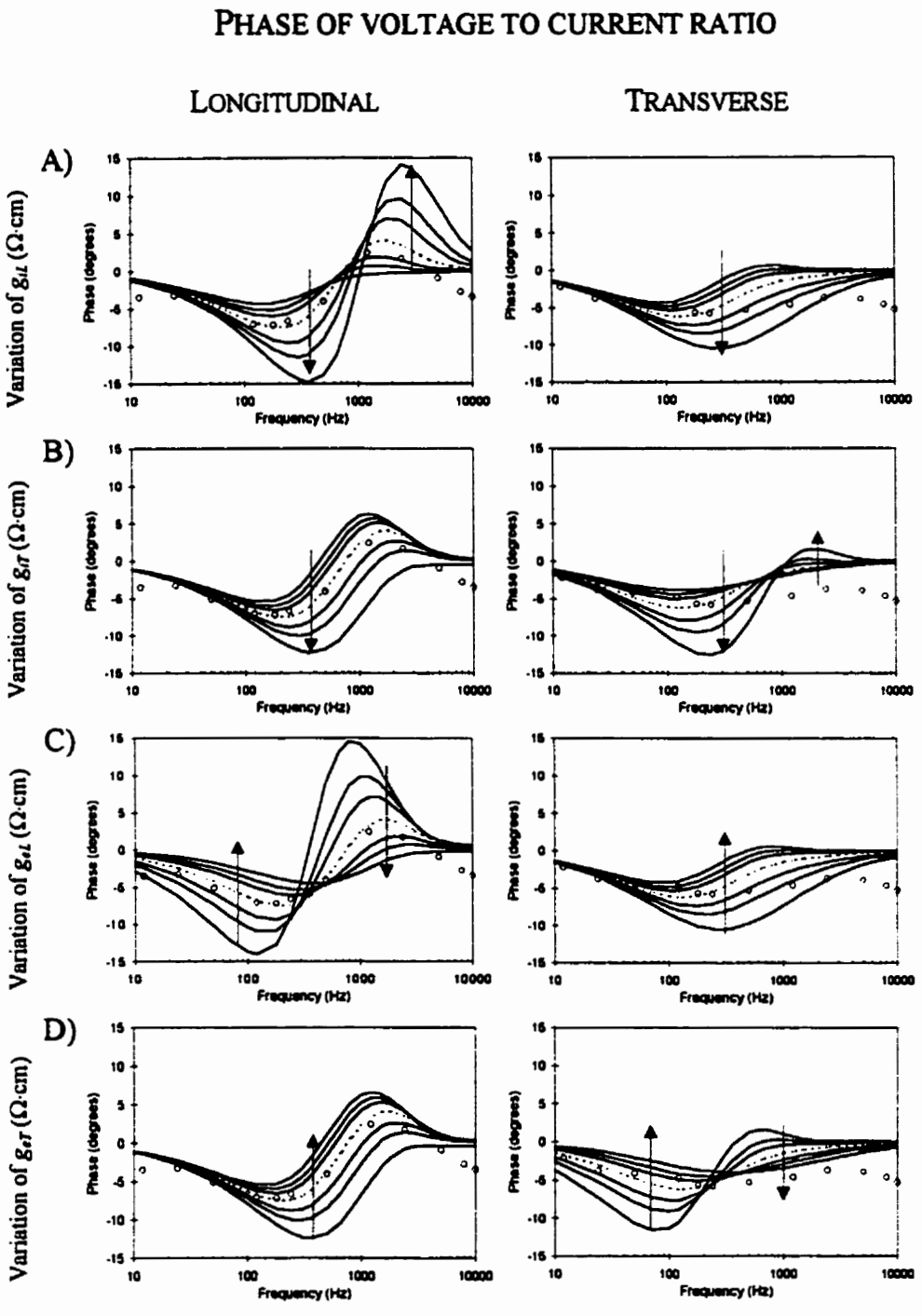


Figure 3.8 The influence of bidomain conductivities on the phase of the voltage-to-current ratio. A) Variation of g_{iL}, B) variation of g_{iT}, C) variation of g_{eL}, D) variation of g_{eT}. The circles indicate the experimental values, the dotted curves correspond to reference values and the arrows indicate the effects of increasing the specific parameter by multiplying its reference value by $^1/_3$, $^1/_2$, $^2/_3$, 1, $^3/_2$, 2, 3.

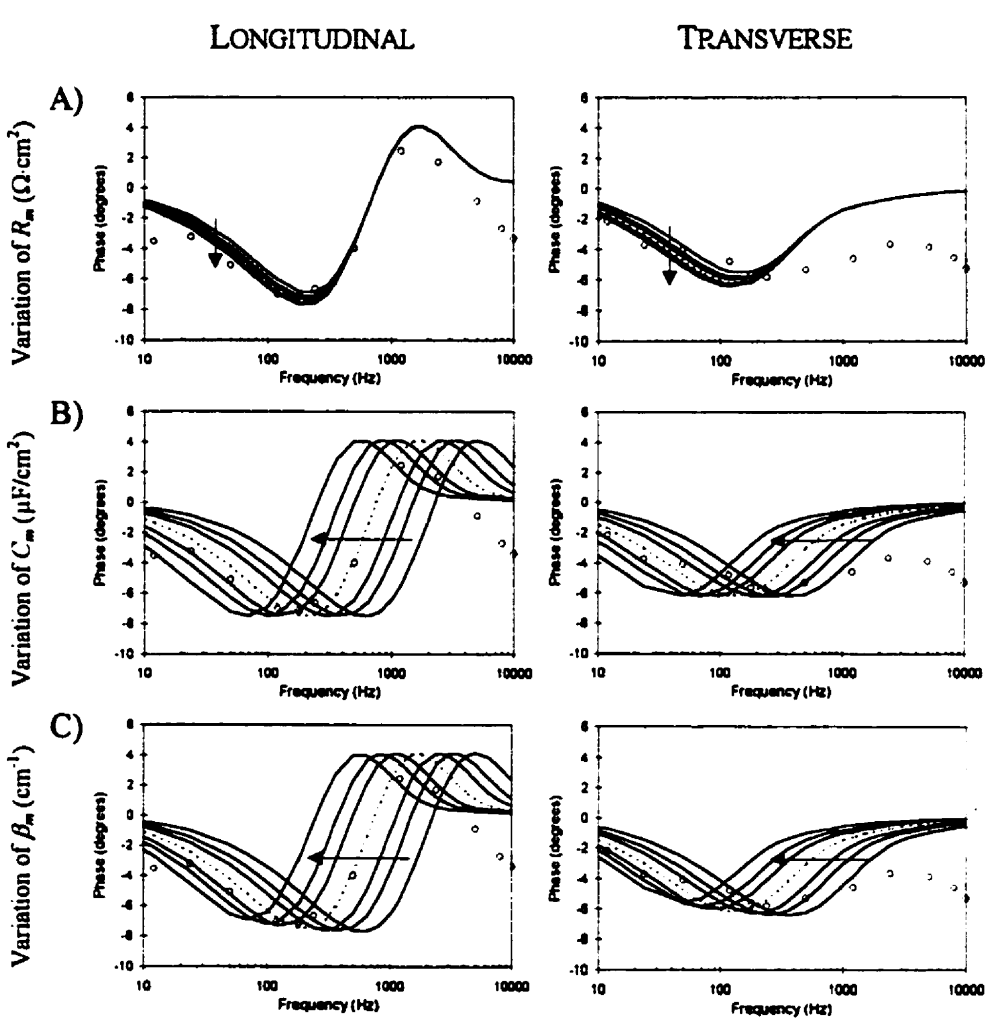


Figure 3.9 The influence of bidomain parameters on the phase of the voltage-to-current ratio. A) Variation of R_m, B) variation of C_m, C) variation of β_m. The circles indicate the experimental values, the dotted curves correspond to reference values and the arrows indicate the effects of increasing the specific parameter by multiplying its reference value by $^1/_3$, $^1/_2$, $^2/_3$, 1, $^3/_2$, 2, 3.

The interstitial conductivities g_{eL} and g_{eT} (Figure 3.6 C,D) have an influence over the entire frequency range. This influence is more important at lower frequencies when current flows mainly in the interstitial domain than at higher frequencies when current

flows in both domains in parallel. The longitudinal conductivity g_{eL} seems to be an exception to this rule at high frequencies (Figure 3.6C) because the shunt involves mostly g_{iL} which has a conductivity value greater than three times the g_{iT} value.

The model also predicts the phase variations (Figure 3.8-3.9) of $Z(\omega)$. The potential difference is leading or lagging the current with a model that includes only capacitances and conductances. The fact that the phase can lag in a model without inductive components results from the effects of three-dimensional current flow in an anisotropic bidomain. Globally the modifications of the phase curves due to changes in intracellular and interstitial conductivities have opposite effects with similar curve shapes. The opposite effets of g_{iL} and g_{eL} changes along the longitudinal direction (Figure 3.8A,C) do not involve the same frequency range, this observation is also valid for g_{iT} and g_{eT} for the transverse direction (Figure 3.8B,D). As for the modulus, R_m has a limited influence on the phase (Figure 3.9A) and mostly at low frequencies. Variations of C_m and β_m translate the phase curves for both directions.

3.12.3 FITTING *IN VITRO* EXPERIMENTAL DATA WITH THE INTRACELLULAR CAPACITANCE MODEL

Figure 3.6 and 3.7 show that for every bidomain parameter, the modulus of $Z(\omega)$ along the transverse direction reaches a plateau. To decrease the $Z(\omega)$ modulus above the plateau frequency, the intracellular conductivity must continue to increase as the

frequency increases. For this purpose, we introduced a junction capacitance into the intracellular domain as discussed previously (intracellular capacitance model). The parameters obtained after fitting the intracellular capacitance model to the experimental data (Figure 3.5) are presented in the second column of Table 3.2.

We notice that all curves are more in accordance with the experimental data especially at higher frequencies, than with the alternating current model. The overall cost function was thus reduced from 0.377 to 0.233 (mV/μA). The modulus in the transverse direction continues to decrease at high frequencies (like the experimental data) instead of reaching a plateau whereas the phase for both longitudinal transverse measurements ends with a negative slope like the experimental data, instead of the "V" shape for the alternating current model. The specific membrane capacitance was set at the default value of $1\mu F/cm^2$, and R_m was limited to 20000 ($\Omega \cdot cm^2$) because over this limit, the potential is relatively insensitive to R_m.

3.13 DISCUSSION

The present method enhances significantly the field of application of the four-electrode technique by allowing the measurement of bidomain conductivities in cardiac tissue. We introduce a new way to evaluate the bidomain parameters using a numerical three-dimensional bidomain model with unconstrained anisotropy. The new frequency approach takes into account the exact position of the electrodes and allows the evaluation

of the intracellular and interstitial conductivities without moving the electrodes by shunting the membrane capacitance so as to modify the space constant. The set of bidomain parameters are evaluated using data from the entire frequency range, which means it can reproduce the cardiac tissue behavior not only at a particular frequency but over the full frequency range.

We determined that an interelectrode distance as small as 340μm with a current source varying from 12 Hz to 10000 Hz predicts the variations of the modulus and phase of the bidomain model observed by Le Guyader *et al.* [38,39]. Frequency dependence of measurements has also been found in skeletal muscle by Gielen *et al.* [32] who analyzed the measurements with a monodomain model with frequency dependence of the effective electrical conductivities [33,35].

Because it was not possible to use analytical equations to estimate the conductivities with an unconstrained anisotropy ratio, we developed a numerical method to evaluate the bidomain conductivities which minimizes the difference between experimental and simulated data. Investigations using simulated extracellular potentials produced by an alternating current model as surrogate experimental data have shown that the Shor's r-algorithm is able to retrieve the exact set of initial six bidomain parameters. For our application, this technique has a maximum number of about six parameters that can be fitted simultaneously. This does not constitute a problem because we can use a two-pass fitting. Other investigations of the Shor's r-algorithm with simulated data were

successfully repeated with the intracellular capacitance model which gave a precision of a few percents (except for R_m).

By determining the appropriate frequency range, interelectrode distance and computational procedures for the measurement of passive electrical properties with the four-electrode technique, this work opens new possibilities for measuring the intracellular and interstitial conductivities with extracellular measurements alone. The effects of ischemia, pacing rate and antiarrhythmic drugs could thus be eventually investigated with this new approach.

3.14 ACKNOWLEDGMENT

Supported in part by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and the Heart and Stroke Foundation of Canada.

CHAPITRE 4 : MESURE DES CONDUCTIVITÉS DU MYOCARDE AVEC LA TECHNIQUE À HUIT ÉLECTRODES DANS LE DOMAINE FRÉQUENTIEL

4.1 SITUATION DE L'ARTICLE DANS LA THÈSE

Après avoir fait l'étude théorique de la technique à quatre électrodes et déterminé les spécifications techniques quant à la distance interélectrode et à la plage de fréquence à utiliser, l'étape suivante consiste à réaliser le système de mesure et faire les mesures sur du tissu vivant. Ce système de mesure est composé de trois parties: une sonde avec huit microélectrodes, et un circuit électronique avec source de courant et amplificateur, et un système informatique qui contrôle les fréquences d'excitation et l'acquisition des données.

Une distance interélectrode de 340µm implique l'utilisation de microélectrodes métalliques d'un diamètre si petit (50 µm) que des problèmes d'impédance d'électrodes et de capacité parasite ont dû être résolu. Pour réduire l'impédance des électrodes, avons développé un système de plaquage des électrodes. Le circuit électronique déjà développé [46] a dû être considérablement raffiné pour obtenir une amplitude constante et un déphasage nul lors de la calibration dans le salin. Des mesures obtenues sur des tissus auriculaires et ventriculaires canins furent répétables, bien reproduites par le modèle avec capacité intracellulaire et en accord avec les valeurs de conductivités présentées dans la littérature.

MEASUREMENT OF MYOCARDIAL CONDUCTIVITIES WITH AN EIGHT ELECTRODE TECHNIQUE IN THE FREQUENCY DOMAIN

Pierre Le Guyader, Pierre Savard, and Francisco Trelles

Institut de Génie biomédical, École Polytechnique de Montréal, Research center of Hôpital Sacré-Cœur de Montréal and Université de Montréal.
PO Box 6079, Station A, Montréal (Québec) Canada H3C 3A7.

Submitted to *"Circulation Research"* november 1998

Short title: Le Guyader *et al.* Measurement of myocardial conductivities.

Correspondence:
Pierre Savard Ph.D.
Hôpital Sacré-Cœur de Montréal
5400 Gouin Ouest
Montréal (Québec) Canada
H4J-1C5
Telephone: (514) 338-2172
Fax: (514) 338-2694
Email: savardp@IGB.UMontreal.CA

4.2 ABSTRACT

The passive electrical properties of the myocardium have a fundamental influence on the propagation of cardiac activation and to measure these properties, a new method was developed and tested in canine tissue preparations. Alternating current ranging between 12 to 10000 Hz was injected between the two outer electrodes of a row of four equidistant electrodes aligned with the fiber direction and the potential difference between the two central electrodes was recorded. Measurements were repeated with a perpendicular row of four other electrodes to account for the anisotropy. Because the electrode spacing (0.340mm) was similar to the tissue space constant, current flowed only in the interstitial domain at low frequencies and was shunted through the membrane capacitance into the intracellular domain at higher frequencies, thus modulating the measured potentials. A numerical anisotropic bidomain model including intracellular capacitance was fitted to these measurements with the Shor's r-algorithm so as to compute the intracellular and interstitial conductivities. Measurements obtained in isolated atrial and ventricular preparations perfused with a blood-Tyrode solution were reproducible and could be adequately fitted with the model. All the computed bidomain conductivities were in the physiological range with longitudinal and interstitial values higher than the transverse and intracellular conductivities respectively. A bolus of uncoupling agent (Heptanol-I) increased the transverse bidomain junction resistivity. In conclusion, these results show that both intracellular and interstitial conductivities can be measured reproducibly with extracellular electrodes.

Keywords: bidomain model, electrical conductivity, four-electrode technique, myocardium, heptanol.

4.3 INTRODUCTION

The passive electrical properties of the myocardium play a major role in the propagation of the cardiac impulse. The anisotropy of these properties accounts for the faster velocity of the impulse along the fiber direction, whereas their alteration can lead to functional block and severe arrhythmias. The measurement of the interstitial and intracellular conductivities along and across the fiber direction, is hampered by intracellular electrodes [7,12] or hypothetical action potential waveforms [5,6]. The investigation of the factors that affect these conductivities (e.g. ischemia, antiarrhythmic drugs etc.), as well as the development of more accurate computerized myocardial models to study stimulation and propagation, could benefit from the development of a new measurement technique.

The four-electrode technique is frequently used to measure the electrical conductivity of different types of materials [31]. It consists of four aligned electrodes. Current is applied to the two outermost electrodes while the innermost electrodes are used to measure a voltage. This approach has the advantage of minimizing the effects of electrode impedance. The four-electrode technique was used by Rush *et al.* [31] who measured the bulk conductivity of the myocardium along the longitudinal and transverse

axes using direct current and modeling the myocardium as a monodomain anisotropic medium, and also by Steendijk *et al.* [36] who evaluated the myocardial conductivities at frequencies ranging from 5 kHz to 60 kHz using a multilayered anisotropic monodomain model.

In the present study, we present a new measurement technique that uses only extracellular electrodes. The four-electrode technique was modified so as to measure both intracellular and interstitial conductivities by using alternating current and mainly, by significantly reducing the interelectrode spacing which must be similar to the myocardial space constant. An appropriate model of the myocardium was developed to interpret the measured voltage over the entire frequency range. The parameters of a three-dimensional anisotropic bidomain model are determined by a search procedure so as to best reproduce the measured potentials.

4.4 MEASUREMENT THEORY

Plonsey and Barr [11] have published a theoretical investigation of the application of the bidomain model for the computation of intracellular and interstitial conductivities from extracellular measurements based on the four-electrode technique with direct current (DC). They have shown that when the interelectrode spacing is smaller than two third of the myocardial space constant, the current is restricted to the interstitial domain whose sole conductivity is reflected on the potential measurements. When the

interelectrode spacing is larger than about three times the space constant, the potential measurements reflect a redistribution of the current between the intracellular and the interstitial domains: the measured potential decreases as the interelectrode spacing is increased, thus reflecting an increase in the apparent tissue conductivity as current can now flow in both the interstitial and intracellular domains.

4.4.1 ALTERNATING CURRENT BIDOMAIN MODEL

Instead of increasing the interelectrode distance (which implies the sampling of a different, larger region), we have previously proposed [38,39] maintaining a small interelectrode distance but injecting alternating current (AC). Measurements at low frequencies samples mostly the interstitial domain (Figure 4.1C) and increasing the frequency samples both domains in parallel as the space constant is decreased because of the shunting effect of the membrane capacitance (Figure 4.1D). To obtain conductivity values from the potential measurements, a bidomain model must be fitted to these measurements. Here, we modify the direct-current bidomain model [11] by including the frequency dependent effects.

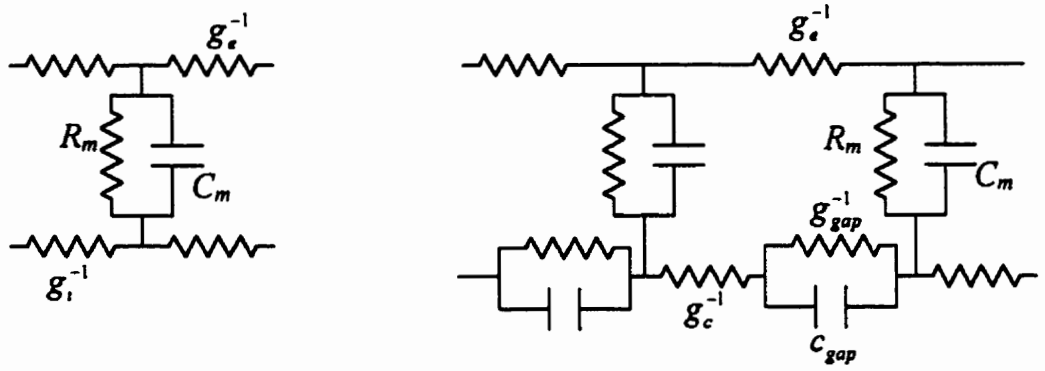
The bidomain model (Figure 4.1A) considers that every point in the tissue belongs both to the intracellular and the interstitial domains, which are separated by the cell membrane. Bidomain conductivities g (S/cm) are related to standard conductivities σ (S/cm) by the fraction of cross-sectional area occupied by intracellular and interstitial

STANDARD BIDOMAIN MODEL

COMPLEX INTRACELLULAR BIDOMAIN MODEL

A)

B)



LOW FREQUENCY

HIGH FREQUENCY

C)

D)

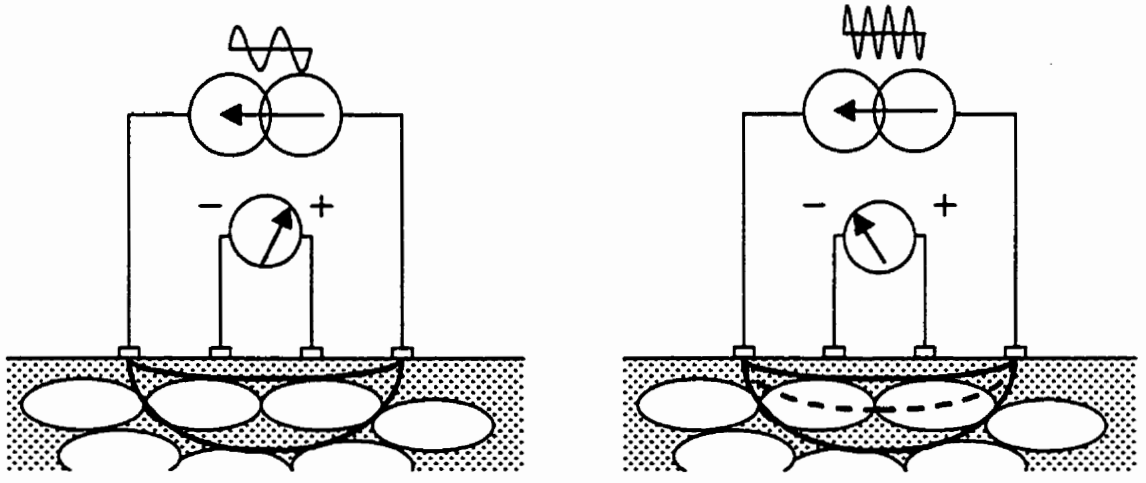


Figure 4.1 Measurements with alternating current and small interelectrode spacing. A) Low frequencies sample the interstitial domain, B) high frequencies sample both interstitial and intracellular domains, C) standard bidomain model, D) bidomain model with intracellular capacitance.

spaces [47]. Along the longitudinal axis, we thus have:

$$g_{iL}=\xi_i\sigma_{iL} \quad \text{and} \quad g_{eL}=\xi_e\sigma_{eL} \tag{4.1}$$

$$\xi_i = \frac{A_i}{A_i + A_e} \quad \text{and} \quad \xi_e = \frac{A_e}{A_i + A_e} \tag{4.2}$$

where A_i and A_e (cm^2) represent the cross sectional areas of the intracellular and interstitial spaces, respectively. Similar equations can be written for the transverse direction.

Let $\tilde{g}_i$ and $\tilde{g}_e$ be the bidomain conductivity tensors in the intracellular and interstitial spaces in cartesian coordinates:

$$\tilde{g}_i = \begin{pmatrix} g_{iL} & 0 & 0 \\ 0 & g_{iT} & 0 \\ 0 & 0 & g_{iT} \end{pmatrix} \quad \text{and} \quad \tilde{g}_e = \begin{pmatrix} g_{eL} & 0 & 0 \\ 0 & g_{eT} & 0 \\ 0 & 0 & g_{eT} \end{pmatrix} \tag{4.3}$$

The tensors comprise the longitudinal conductivities along the fiber direction (g_{iL}, g_{eL}) and the transverse conductivities orthogonal to the fiber direction (g_{iT}, g_{eT}). Ohm's law relates the intracellular current density $\vec{J}_i$ and the extracellular current density $\vec{J}_e$ (A/m^2) to the intracellular Φ_i (V) and extracellular Φ_e (V) potential distributions by the following equations:

$$\vec{J}_i(\omega,r) = -\tilde{g}_i \nabla \Phi_i(\omega,r) \tag{4.4}$$

$$\vec{J}_e(\omega,r) = -\tilde{g}_e \nabla \Phi_e(\omega,r) \tag{4.5}$$

where r is a variable representing the coordinate (x,y,z) and ω is the angular frequency

(rad/sec). The membrane current per volume unit I_m (A/m^3) leaving the intracellular domain is given by:

$$\nabla \cdot \vec{J}_i(\omega,r) = -I_m(\omega,r) \tag{4.6}$$

The same membrane current enters into the interstitial domain where an external alternating current $I_s(\omega) = I_0 \sin(\omega)$ (A) is also injected at electrode sites r_0:

$$\nabla \cdot \vec{J}_e(\omega,r) = I_m(\omega,r) + I_s(\omega)\delta(r_0) \tag{4.7}$$

The membrane consists of a specific membrane capacitance C_m, (F/cm^2) in parallel with a specific resistance R_m, (Ω·cm^2). Its transfer function in the frequency domain corresponds to the specific membrane admittance Y_m (Ω^{-1}·cm^{-2}):

$$Y_m(\omega) = \frac{1}{R_m} + j\omega C_m \tag{4.8}$$

$$I_m(\omega,r) = \beta_m V_m(\omega,r) Y_m(\omega) \tag{4.9}$$

where β_m is the surface to volume ratio of the cells (cm^{-1}) and V_m is the transmembrane potential:

$$V_m(\omega,r) = \Phi_i(\omega,r) - \Phi_e(\omega,r) \tag{4.10}$$

Combining equations (4.3) to (4.7) gives the two constitutive equations of the bidomain model:

$$\nabla \cdot (\tilde{g}_i \nabla \Phi_i(\omega,r)) = I_m(\omega,r) \tag{4.11}$$

$$\nabla \cdot (\tilde{g}_e \nabla \Phi_e(\omega,r)) = -I_m(\omega,r) - I_s(\omega)\delta(r_0) \tag{4.12}$$

The general bidomain equations with a sinusoidal current source at position r_0 and unconstrained anisotropy are:

$$\nabla(\tilde{g}_i \nabla \Phi_i(\omega,r)) = \beta_m Y_m(\omega)(\Phi_i(\omega,r) - \Phi_e(\omega,r)) \tag{4.13}$$

$$\nabla(\tilde{g}_e \nabla \Phi_e(\omega,r)) = -\beta_m Y_m(\omega)(\Phi_i(\omega,r) - \Phi_e(\omega,r)) - I_s(\omega)\delta(r_0) \tag{4.14}$$

We now have a parametric system of equations with two unknowns ($\Phi_i(\omega r)$, $\Phi_e(\omega r)$) and six parameters (g_{iL}, g_{iT}, g_{eL}, g_{eT}, β_m, R_m) considering that C_m can be fixed at 1μF/cm^2. To solve this system, we use the Fourier transform in the space domain. The three dimensional spatial Fourier transform $\hat{\Phi}(\omega,k_r)$ of a potential $\Phi(\omega r)$ is defined by:

$$\hat{\Phi}(\omega,k_x,k_y,k_z) = \mathcal{F}_r\{\Phi(\omega,r)\} = \int_{-\infty}^{+\infty}\left(\int_{-\infty}^{+\infty}\left(\int_{-\infty}^{+\infty}\Phi(\omega,x,y,z)e^{jk_x x}dx\right)e^{jk_y y}dy\right)e^{jk_z z}dz \tag{4.15}$$

where k_x, k_y, k_z (rad/m) represent the spatial frequencies along $\vec{x}$, $\vec{y}$ and $\vec{z}$ axes. The inverse Fourier transform is:

$$\Phi(\omega,x,y,z) = \mathcal{F}_{k_r}^{-1}\{\hat{\Phi}(\omega,k_r)\} = \frac{1}{(2\pi)^3}\int_{-\infty}^{+\infty}\left(\int_{-\infty}^{+\infty}\left(\int_{-\infty}^{+\infty}\hat{\Phi}(\omega,k_x,k_y,k_z)e^{-jk_x x}dk_x\right)e^{-jk_y y}dk_y\right)e^{-jk_z z}dk_z \tag{4.16}$$

The hat notation "$\hat{}$" over a variable denotes the spatial Fourier transform of this variable. We can demonstrate that the Fourier transform of the second derivative of the potential along the $\vec{x}$ axis is:

$$\mathcal{F}_{k_x}\left\{\frac{\partial^2\Phi(\omega,x,y,z)}{\partial^2 x}\right\} = -k_x^2\hat{\Phi}(\omega,k_x,y,z) \tag{4.17}$$

In that way, the derivatives of a function can be transformed into simpler algebraic equations. Equation (4.13) and (4.14) are thus transformed into:

$$S_i \hat{\Phi}_i(\omega, k_r) = \beta_m Y_m(\omega)\left(\hat{\Phi}_i(\omega, k_r) - \hat{\Phi}_e(\omega, k_r)\right) \tag{4.18}$$

$$S_e \hat{\Phi}_e(\omega, k_r) = -\beta_m Y_m(\omega)\left(\hat{\Phi}_i(\omega, k_r) - \hat{\Phi}_e(\omega, k_r)\right) - \hat{I}_s(\omega, k_r) \tag{4.19}$$

where

$$S_i = -\left(g_{ix}k_x^2 + g_{iy}k_y^2 + g_{iz}k_z^2\right) \text{ and } S_e = -\left(g_{ex}k_x^2 + g_{ey}k_y^2 + g_{ez}k_z^2\right) \tag{4.20}$$

Combining equations (4.18) and (4.19) permits to isolate the Fourier transform of the interstitial domain:

$$\hat{\Phi}_i(\omega, k_r) = \frac{-\hat{I}_s(\omega, k_r)\beta_m Y_m(\omega)}{S_e(\beta_m Y_m(\omega) - S_i) + S_i \beta_m Y_m(\omega)} \tag{4.21}$$

$$\hat{\Phi}_e(\omega, k_r) = \frac{\hat{I}_s(\omega, k_r)(S_i - \beta_m Y_m(\omega))}{S_e(\beta_m Y_m(\omega) - S_i) + S_i \beta_m Y_m(\omega)} \tag{4.22}$$

The interstitial potential in the space domain is available by taking the inverse Fourier transform of the equation (4.22):

$$\Phi_e(\omega, r) = \mathcal{F}_{k_r}^{-1}\left\{\frac{\hat{I}_s(\omega, k_r)\cdot(S_i - \beta_m Y_m(\omega))}{S_e(\beta_m Y_m(\omega) - S_i) + S_i \beta_m Y_m(\omega)}\right\} \tag{4.23}$$

$\hat{I}_s(\omega, k_r)$, $\hat{\Phi}_e(\omega, k_r)$, $\Phi_e(\omega, r)$ can be evaluated numerically, thus computing the interstitial potential with an unconstrained anisotropy ratio.

4.4.2 BIDOMAIN MODEL WITH COMPLEX INTRACELLULAR MEDIUM

Capacitive effects can be incorporated into the intracellular domain (Figure 4.1B) by replacing the intracellular conductivity by a cytoplasmic resistivity R_c (Ω·cm) in series with a junction impedance Z_{gap} (Ω·cm). Z_{gap} is composed of a gap junction resistivity R_{gap} (Ω·cm) in parallel with a junction capacitance per unit length C_{gap} (F/cm). Following the longitudinal direction:

$$Z_{iL} = R_c + Z_{gap} \quad \text{with} \quad \frac{1}{Z_{gap}} = \frac{1}{R_{gap}} + j\omega C_{gap} \tag{4.24}$$

The gap junction resistivity R_{gap} and junction capacitance C_{gap} (F/cm) can be respectively converted into specific gap junction resistivity R_j (Ω·cm^2) and specific junction capacitance C_j (F/cm^2) with a cell length ℓ (cm) by

$$R_{gap} = R_j / \ell \quad \text{and} \quad C_{gap} = C_j \ \ell \tag{4.25}$$

Considering the higher junction density following the transverse direction, we define N as the transverse to longitudinal ratio of junction density. The new intracellular transverse resistivity is composed of the cytoplasmic resistivity in series with N times the frequency dependent junction impedance:

$$Z_{iT} = R_c + N Z_{gap} \tag{4.26}$$

Taking into account the intracellular volume fraction ξ_i, we have new

frequency-dependent and complex bidomain conductivities: $g_{iL}(\omega)=\xi_i/Z_{iL}$ and $g_{iT}(\omega)=\xi_i/Z_{iT}$. Similarly we have the bidomain gap junction conductivity $g_{gap}=\xi_i/R_{gap}$, the bidomain junction capacitance per unit length $c_{gap}=\xi_i C_{gap}$ and the bidomain cytoplasmic conductivity $g_c=\xi_i/R_c$. The complex intracellular bidomain conductivities constitute an average representation of the behavior of microscopic junction.

4.5 MATERIALS AND METHODS

The measuring system is composed of three parts: a probe, an analog electronic circuit and a computer (Figure 4.2).

4.5.1 PROBE

The probe consists of two orthogonal rows of four electrodes in order to sample both the longitudinal and transverse axes of the myocardial fibers. The probe comprises 8 platinum-iridium (Pt-80%, Ir-20%) wires with a diameter of 50 μm inserted through a nylon mesh and cast into epoxy resin. The probe has a diameter of 6.7 mm. The electrodes of each row are nearly equidistant with an interelectrode distance $d \approx 0.340$ mm. The exact positions of the electrodes are measured with an optical microscope. The distance between the current source and sink electrodes ($\approx 3d$) is 0.986 mm in one direction

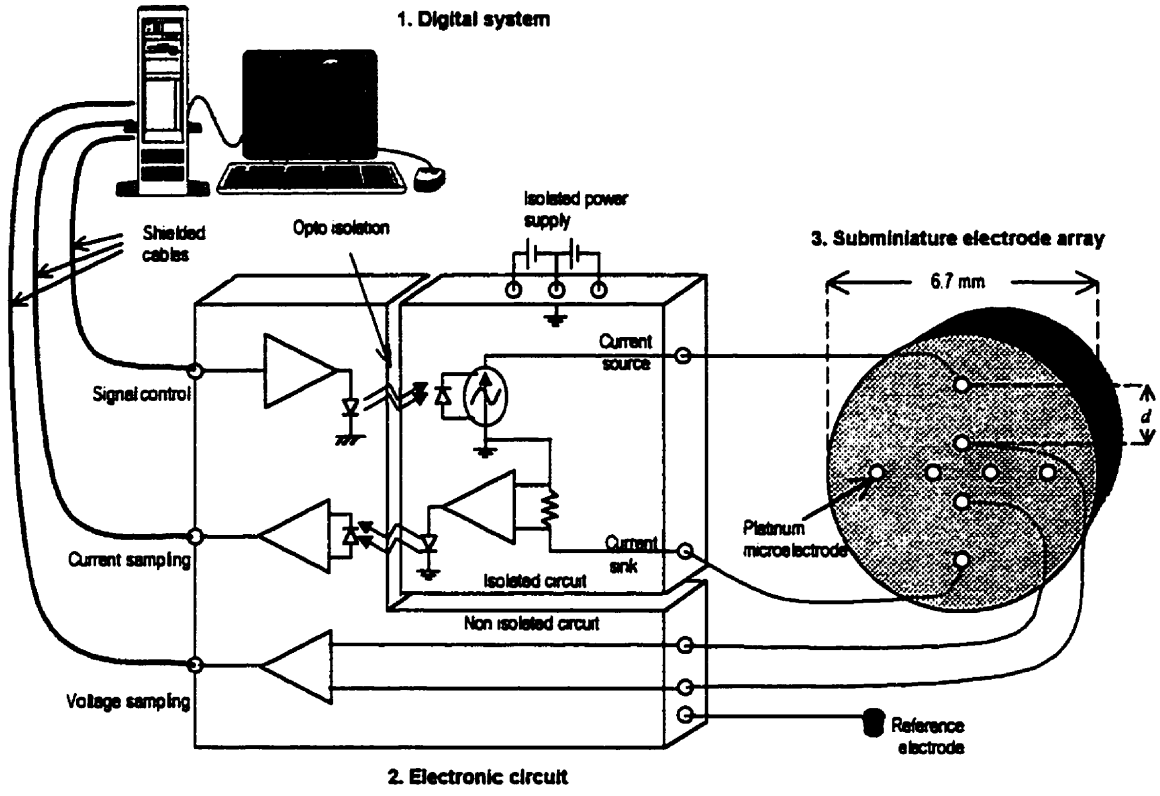


Figure 4.2 Schematic representation of the measuring system consisting of: 1) computer and data acquisition system, 2) electronic circuit, 3) probe with an interelectrode distance $d \approx 0.340$ mm.

(usually used along the fiber) and 1.0325 mm along the other direction. The electrodes are modeled as a Dirac function for current injection and as a point for potential measurements. The interelectrode spacing is six to seven times larger than the electrode diameter and we consider that the finite dimension of the electrodes do not disturb the potential measurements [32]. The distance between the current source and sink electrodes is very important because this parameter governs the distribution of the current between the intracellular and interstitial domains. If the electrodes are too distant, the current flows in both domains [11,36] and if the electrodes are too close, the current flows mostly

in the interstitial domain [11]. In a previous study [48], we used an interelectrode distance of only 0.158 mm which barely permitted noticing the effects of the capacitive properties of myocardium and was too small to compute the intracellular and interstitial conductivities, even though it was smaller than the transverse space constant (0.196 mm) used by Plonsey *et al.* [11]. Even if the distance between the current electrodes of our probe is longer than the transverse space constant, the frequency response is adequate to measure the intracellular conductivities.

Low electrode impedance is important to reduce the effects of stray capacitances between leads and ground which are responsible for parasitic potentials and phase shifts [18,20]. The electrode impedance is reduced by plating the electrodes with a platinum-black solution [49,50]. A specific study was carried out to find the best current density and time to process eight electrodes simultaneously and get the lowest impedance as well as the best plating adherence possible. Imbalance of electrode impedance appears in the measurements as a frequency dependent calibration curve obtained with conductive saline solutions [18,20]. This justifies a calibration procedure with saline solutions before and after the myocardial measurements. The electrodes are plated before each experiment with a current density of 500mA/cm^2 in a modified platinum-black Kohlrausch solution (0.5 mol/L HCl instead of the original 0.025 mol/L) [49,50] placed in an ultrasonic bath [51] to increase adherence. The electric circuit for plating the platinum electrodes is made with eight identical current sources.

4.5.2 THE MEASUREMENT SYSTEM

The custom-made system is capable of measuring both the magnitude and the phase of the voltage with respect to the applied current. It is composed of an analog electronic circuit connected to the probe and controlled by a personal computer (Figure 4.2). The electronic circuit is composed of a floating alternating current (AC) source and an instrumentation amplifier that are both adapted to the characteristics of the microelectrodes. All the current injected by the source electrode into the tissue must return by the sink electrode and any other return pathway can significantly disturb the measurements [20,50]. So as to minimize the current leakage to the ground, we designed an AC current source powered by a battery pack and optically isolated from the computer and the ground. This current source is basically a voltage-to-current converter controlled by a function generator in the computer (PC-CARD). The stimulation current is sinusoidal and the source operates within a range of 12 Hz to 20 kHz with a high output impedance so as to maintain the current amplitude in spite of a high electrode impedance that varies with frequency, current density and bulk tissue resistivity [19,49].

The two inner electrodes are connected to an amplifier circuit consisting of a precision instrumentation amplifier (Analog Devices AD524) buffered by an high input impedance and very low bias current amplifier (Analog Devices AD648) mounted in a follower configuration. The inputs are shunted to the ground with 66MΩ resistances which give a bias current pathway to avoid polarizing the microelectrodes. The output of

the AD524 amplifier is filtered so as to remove any DC offset without modifying the phase. A silver silver-chloride electrode driven by a reference circuit is used as reference in the bath. The current source and the amplifier outputs are designed so as to have no phase difference in the operating frequency range. The electronic circuit generates two analog outputs for the data acquisition card: the first is provided by a current sampler which measures the current via optical coupling, the second measures the potential difference between the two inner electrodes.

The personal computer is equipped with a function generator (PCIP-SST Keithley Metrabyte) and a high speed two channel digital oscilloscope (PCIP Scope Keithley Metrabyte). One oscilloscope channel digitizes the current signal I_s and the other channel digitizes the inner electrode potential difference $\Delta V(\omega)$. The measurement software is programmed so as to capture a minimum of 16 cycles in a 1024 sample frame. The gains of the channels are adjusted by the operator at each frequency so as to optimize the resolution. Because the connection wires between the electrodes and the electronic circuit are sensitive to electric and magnetic noise, the electronic circuit, the probe and the biological preparation are placed inside a stainless steel Faraday cage.

4.5.3 SIGNAL PROCESSING

To eliminate the electrical noise and to ensure an accurate phase measurement, $\Delta V(\omega)$ and $I_s(\omega)$ are digitally processed using a narrow fourth order band-pass

Butterworth filter tuned to the signal frequency. Zero-phase distortion filtering is obtained by processing the signals in both the forward and reverse directions [52]. The voltage and current modulus of the filtered signals (excluding the border cycles corrupted by filtering) can be measured by peak-to-peak detection or RMS (root mean square) computation.

The phase-shift between $\Delta V(\omega)$ and $I_s(\omega)$ is computed with a phase detector algorithm. A signal u(t) and its Hilbert transform $\mathcal{H}$(u(t)) are orthogonal [53], this property is applied to the *sine* function to obtain the identity $\mathcal{H}(\sin(\omega t)) = -\cos(\omega t)$ [53]. For the current source $I_s(\omega) = I_0 \sin(\omega t)$ and the inner electrode potential $\Delta V(\omega) = V_0 \sin(\omega t - \theta)$, we have:

$$I_s(\omega)V(\omega) = I_0 \sin(\omega t) V_0 \sin(\omega t - \theta) = \frac{1}{2}[\cos(\theta) - \cos(2\omega t - \theta)] \tag{4.27}$$

$$\mathcal{H}[I_s(\omega)]V(\omega) = -I_0 \cos(\omega t) V_0 \sin(\omega t - \theta) = -\frac{1}{2}[\sin(-\theta) - \cos(2\omega t - \theta)] \tag{4.28}$$

The two equations have a constant component which is function of the phase lag θ and a time varying component $(2\omega t)$. By taking the arctangent of the ratio of the constant components, we obtain the phase:

$$\arctan\left[\frac{DC[\mathcal{H}[I_s(\omega)]\, V(\omega)]}{DC[I_s(\omega)\, V(\omega)]}\right] = \arctan\left(\frac{\sin(\theta)}{\cos(\theta)}\right) = \theta \tag{4.29}$$

The measurements are presented as a complex voltage-to-current ratio $Z(\omega)$ (V/A):

$$Z(\omega) = \Delta V(\omega) / I_0 \tag{4.30}$$

4.5.4 CALIBRATION

The voltage-to-current ratios are finally corrected using calibration measurements obtained with three saline solutions of known conductivities that are in the same range as those of the myocardium (5, 2.5, 1.5 mS/cm). Calibration measurements should be frequency independent and no phase shift should be detected. To compensate for any anomalies due to the measuring equipment or the platinum electrode impedance, $Z(\omega)$ is multiplied by a calibration factor computed for each frequency and specific to the modulus. The longitudinal and transverse measurements are processed separately.

The calibration factor is the ratio of the theoretical voltage-to-current ratio of the saline solution, to the voltage-to-current ratio of the calibration measurements. The theoretical values at the exact electrode positions in a saline solution are computed with an analytical equation for a semi infinite isotropic medium. At each frequency, three calibration factors are computed (one for each saline solution) and a second order polynomial calibration function is fitted through the three calibration factors. This calibration function gives the calibration factor specific to the voltage-to-current ratio of the myocardial measurement. If the phase is nearly zero without any frequency trend, the calibration is made on the magnitude only.

4.5.5 PARAMETER EVALUATION

To compute the conductivity parameters, the choice of the model is important because it must reproduce as closely as possible the electrical behavior of the myocardium [23]. Since there is no analytical formulation to evaluate the bidomain conductivities with unconstrained anisotropy ratio, we use the numerical approach developed by Le Guyader *et al.* [38]. The interstitial potential measurements are simulated by a three-dimensional numerical bidomain model using equation (4.23), the tissue is modeled as a slab having a length of 5 mm, a width of 5 mm and a depth of 2.5 mm.

The size of the slab is large enough so that the boundary conditions do not affect the potential under the two inner electrodes. Taking advantage of the symmetry due to the boundary conditions to reduce processing time, simulations are made over a sub-block of one fourth the original size. For the application of the discrete Fourier transform, the sub-block is subdivided into $(n_x \times n_y \times n_z)$ nodes with n_x=128, n_y=32, n_z=16. The source and sink electrodes are positioned over a node but the exact position of the inner electrodes does not correspond with a node. Thus, the potential at these two sites is estimated by cubic interpolation using six neighbors. To retrieve the bidomain parameters that best fit the $Z(\omega)$ measurements, we use the curve fitting package SolvOpt [45] based on a modified Shor's-r algorithm. SolvOpt is a solver for local optimization problems with

minimization of nonlinear multivariate functions. The function to be minimized is the square root of the sum of the squares of the complex differences between the simulated and measured voltage-to-current ratios for both the longitudinal and transverse directions at every frequency.

For the first bidomain model with a purely resistive intracellular medium, six parameters are fitted simultaneously (g_{iL}, g_{iT}, g_{eL}, g_{eT}, β_m, R_m) while C_m was fixed at 1μF/cm^2 (single pass method). For the second bidomain model that incorporates the gap junction capacitances, the number of known parameters is increased from six to eight (g_c, g_{eL}, g_{eT}, β_m, R_m, N, c_{gap_T}, g_{gap_T}) and the algorithm cannot handle too many parameters simultaneously with confidence. We reduced the number of parameters using a two-pass method. Considering the fact that at low frequencies current flows mostly in the interstitial domain and the measured potential is mostly affected by the interstitial conductivities, the first pass consists of fitting the six parameters of the first model up to 2400Hz, and for the second pass, the values of g_{eL} and g_{eT} are kept the same while the remaining other parameters (g_c, β_m, R_m, N, c_{gap_T}, g_{gap_T}) are fitted up to 10 kHz.

4.5.6 EXPERIMENTAL SETUP

Mongrel dogs weighting between 25 and 42 kg were anesthetized with intravenous sodium pentobarbital (30 mg/kg). Formation of blood clots was prevented by intravenous administration of heparin. The heart was excised through a left lateral

thoracotomy and deposited in a dissection pot filled with a cold Tyrode solution (4°C). Depending on the type of tissue, the right atrium or the right ventricle was excised. For the right atrial preparation, a 1 mm diameter cannula was introduced into the right coronary artery system to provide perfusion with a physiological solution, the atrium was laid in the recording bath with the endocardium facing upward and the sinus node produced spontaneous excitation. The right ventricle was cannulated by the right coronary artery, laid in the recording bath with endocardium facing upward and pacing contributed to keep the tissue alive. The excision lesions were cauterized to avoid excessive drainage of the physiological solution.

Two perfusion solutions were used. The first was a Tyrode solution which produced edema. We assumed that edema was caused by the lack of proteins and blood cells usually present. To stabilize the preparations, we used a mixture of Tyrode and blood (33% to 43% depending on the amount of blood available from the dog). A total of 25 preparations were investigated with the first solution and 24 preparations with the second. The millimolar composition of the Tyrode solution was: NaCl, 128.0; KCl, 4.69; $MgSO_4+7H_2O$, 1.18; NaH_2PO_4, 0.41; $NaHCO_3$, 20.1; $CaCl_2+H_2O$, 2.23 and dextrose 11.1. The solution was warmed to 37±1°C in a reservoir, then pumped to a warm oxygen chamber with a mixture of 95% O_2 and 5% CO_2 (pH=7.35±0.1). The tissue was perfused by the Tyrode solution with a constant flow and by the blood-Tyrode solution at constant pressure (100 cm height column). The perfusion flow was about 5 to 9 ml per minute. The bath temperature was maintained at 37±1°C by warm water circulation in the bath

wall and superfused by the solution seeping from the tissue.

After tissue stabilization, the site of measurement was determined and surrounded by gauze linked to a suction system to soak up any liquid seeping from the tissue. The probe was fixed to the end of a spring cartridge holder mounted on a micromanipulator (Figure 4.3). The array was brought down delicately over the site of measurement with a little pressure, giving a good contact, even with tissue contraction. An electrode row was aligned along the fiber direction which was visually determined with magnifying glasses or microscope when necessary. Then, a series of impedance measurements were performed along the longitudinal axis at different frequencies followed by measurements along the transverse axis. The frequency was changed from high to low values so as to start with lower electrode impedance and to allow more time for the electrodes to stabilize. The current intensity was subthreshold and set at 1 μA. After each set of measurements performed with the blood-Tyrode solution, the pressure was released while keeping the electrode in contact with the tissue, and the suction system was shutdown. The viability of the preparation was repeatedly assessed by measuring the presence of activation on the electrograms. After the experiments, calibration measurements were repeated in saline solutions.

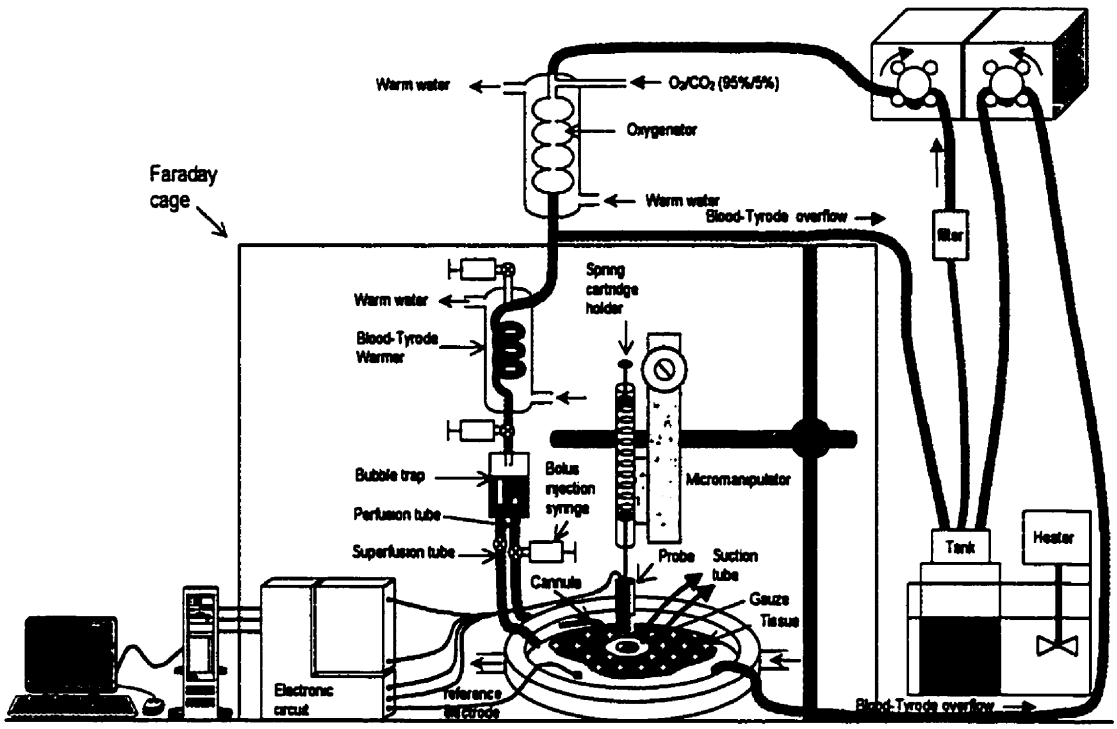


Figure 4.3 Experimental setup.

4.6 RESULTS

Typical measurements obtained with the Tyrode solution for the crista terminalis (right atrium) are shown in Figure 4.4. The modulus and phase of the voltage-to-current ratios (measured every 5 minutes) have characteristic shapes. For the longitudinal direction, the modulus decreases from 12 Hz to 500 Hz, then increases at higher frequencies, while the modulus is continuously diminishing along the transverse direction. This decrease reflects the apparent increase of conductivity as more current is shunted into the intracellular domain at higher frequencies. The phase for the longitudinal

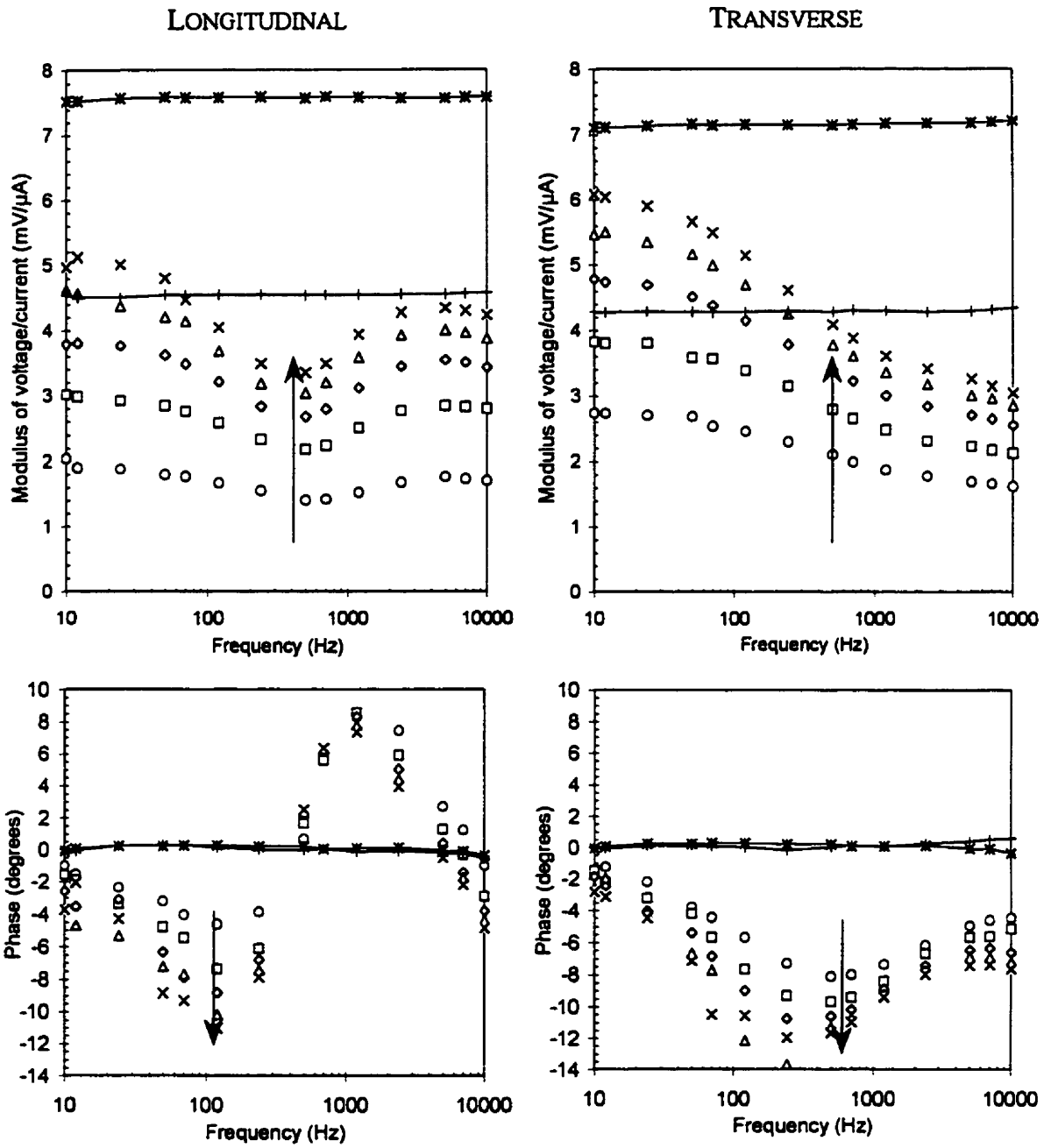


Figure 4.4 Voltage-to-current ratios vs. frequency for a crista terminalis preparation perfused with Tyrode solution. Top, modulus (mV/μA); bottom phase (°); left, longitudinal axis; right, transverse axis. The measurements were made approximately every five minutes: 0 min ○, 5 □, 10 △, 15 ◇, 20 ×. Saline calibration curves at 1 mS/cm —+— and 0.6mS/cm —✳—. The vertical arrows (→) show the temporal evolution of the curves, reflecting the possible effects of edema.

axis is lagging at low frequencies and leading at high frequencies. The calibration curves are flat with a zero phase over the full frequency range. The tissue does not seem to be stabilized since the first measurement has the lowest modulus and subsequent measurements show an increased modulus which reflects an apparent decrease of conductivity that could be caused by edema.

Figure 4.5 shows typical stable results obtained with the blood-Tyrode solution. Five measurements were repeated on a branch of the crista terminalis every five minutes. Compared with Figure 4.4, the curves do not show any significant shift with time. The calibration curves are flat for the modulus and show a $\pm 1°$ phase shift.

Figure 4.6 shows trabeculae measurements (open circle) performed with blood-Tyrode solution and the corresponding curves computed with the two bidomain models. The fit of the standard bidomain model (dotted line) is very good up to 1000-2000 Hz, while the inclusion of the intracellular gap junction capacitances (line) improves significantly the fit at higher frequencies.

The experiment presented in Figure 4.7 shows the influence of a drug that alters cell coupling (Heptanol-I). The atrium was perfused with blood-Tyrode solution and measurements were repeated at five minutes intervals on the pectinate muscle of the right atrium. A dose of 50mL of Tyrode-blood solution containing 1.42mM/L of Heptanol-I was injected into the cannula after the fourth set of measurements. Despite a small drift of

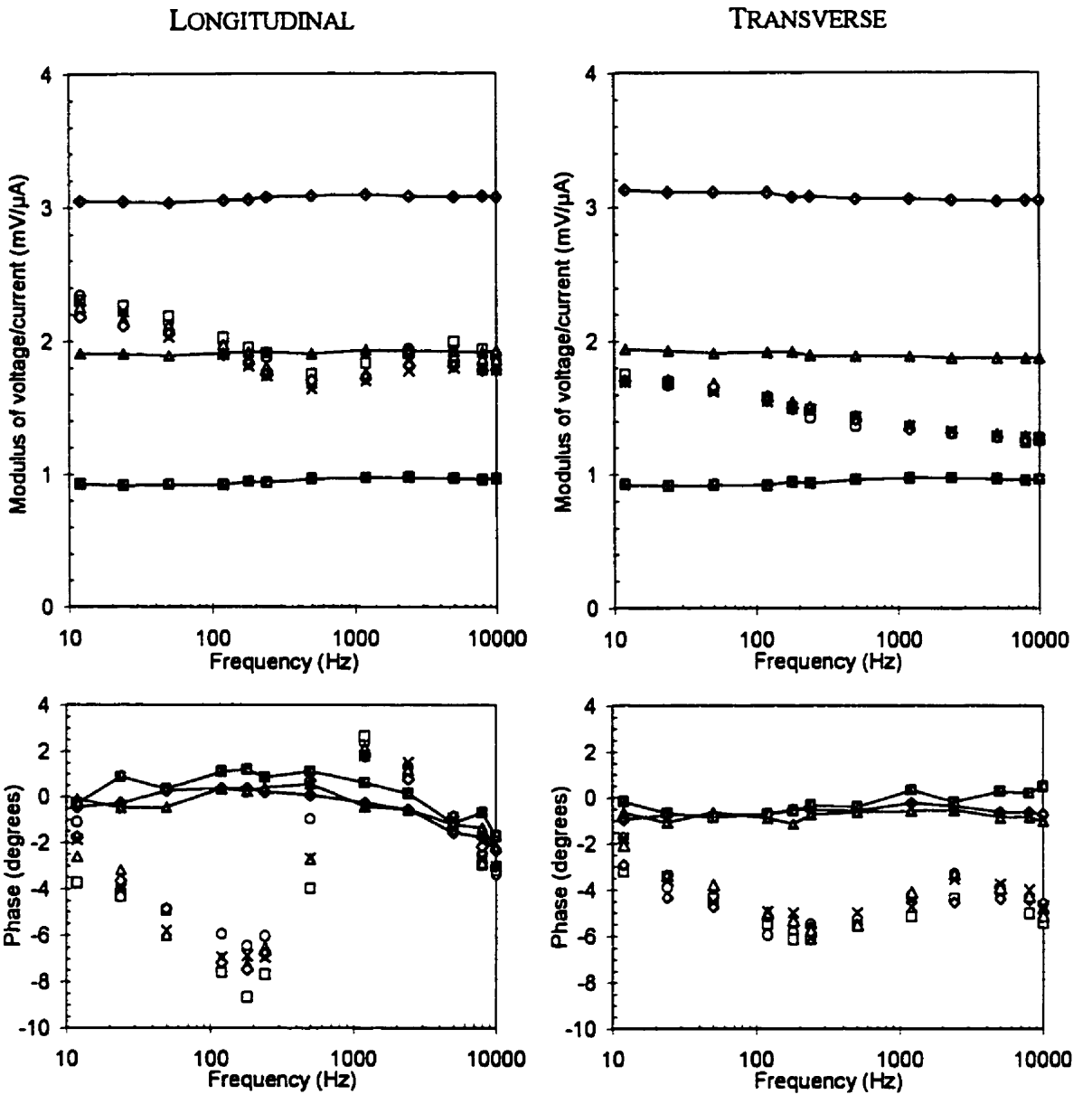


Figure 4.5 Voltage-to-current ratios vs. frequency for a crista terminalis preparation perfused with a mixture of Tyrode and blood. Same format as Figure 4.4 with saline calibration curves 5mS/cm ---■---, 2.5 mS/cm ---▲---, 1.5mS/cm ---◆---.

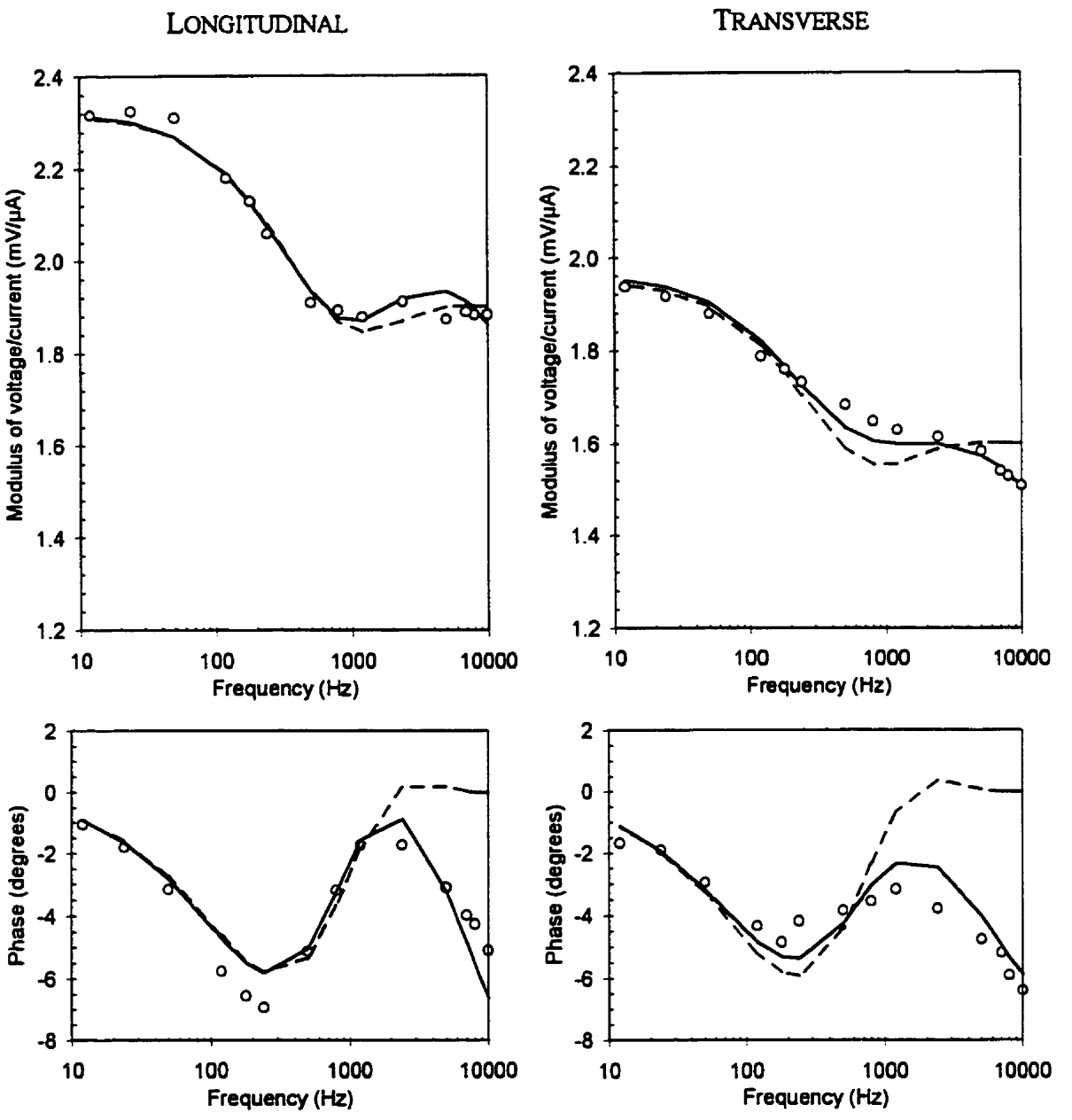


Figure 4.6 Voltage-to-current ratios vs. frequency for a ventricular trabecula preparation perfused with a mixture of Tyrode and blood. Experimental data (open circle), one-pass fit (dotted line), two-pass fit (full line).

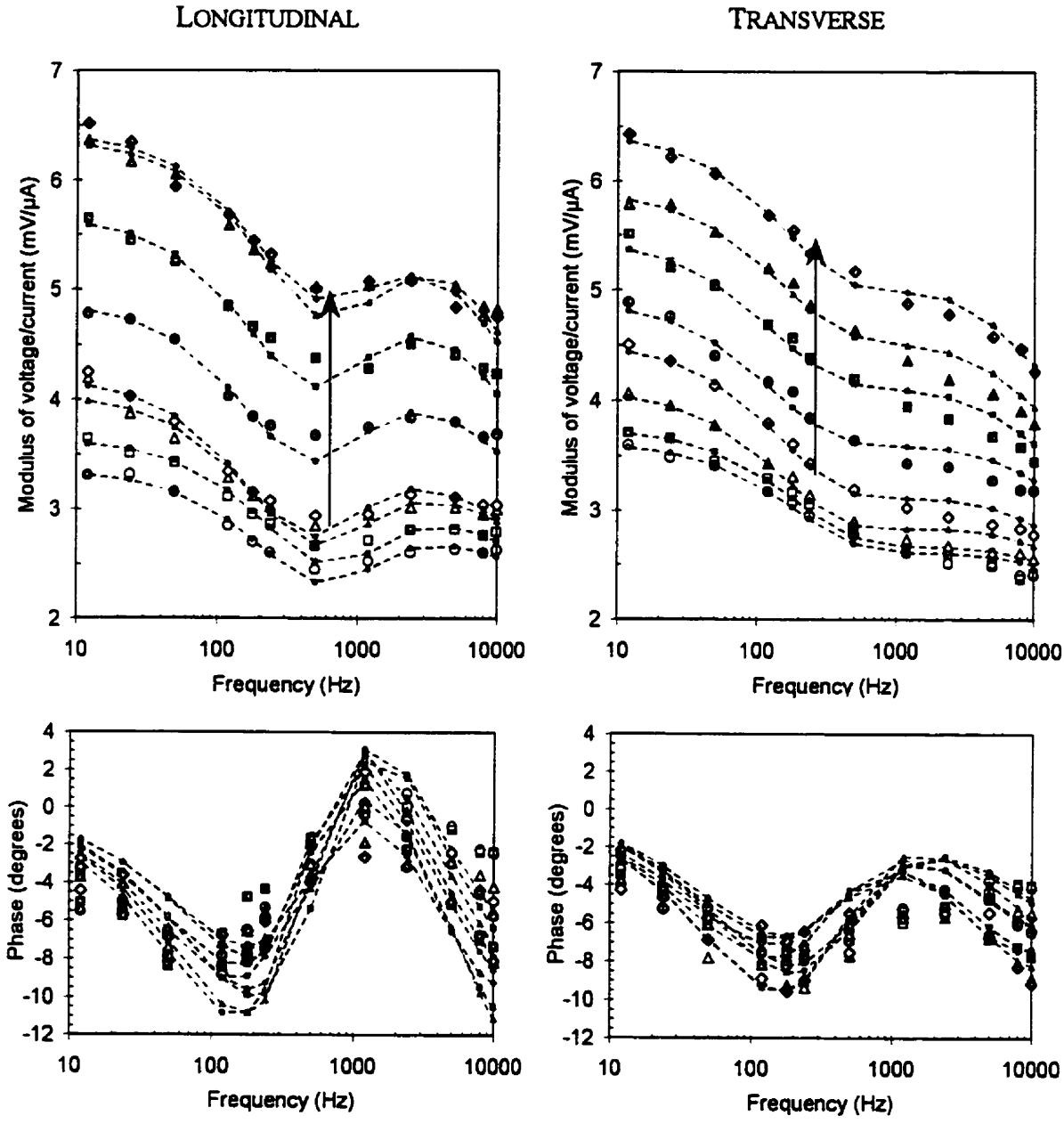


Figure 4.7 Response of right atrium pectinate muscle preparation perfused with a mixture of Tyrode and blood to a dose of Heptanol-I (a cellular uncoupler). Same format as Figure 4.4. Measurements were made approximately every five minutes and a bolus of perfusion solution with Heptanol-I was injected just after 15 min. Measurements at 0 min ○, 5 □, 11 △, 15 ◇, 22 ●, 26 ■, 30 ▲, 35 ◆. The curves were computed with the bidomain model including intracellular capacitances after a two-pass fit with the measured ratios: the smaller icons of the curves correspond with the larger icons of the measurements.

the modulus during the first four measurements, there is a major increase of the modulus after the injection of Heptanol-I. The solid or open icons represent the measured data, and the dotted lines with their smaller icons represent the results computed with the bidomain model incorporating the intracellular junction capacitances. The fit is very good over the entire frequency range.

Figure 4.8 shows the temporal changes of the bidomain parameters obtained by fitting the bidomain model with junction capacitances to the 8 sets of measurements from Figure 4.7. The parameters are quite stable before the injection. The most notable changes induced by Heptanol-I are a three fold increase of the transverse bidomain junction resistivity g_{gapT}^{-1} and a two fold decrease of the bidomain gap junction capacitance c_{gap} which is probably linked to the decrease of N. The other resistivities show a slight increase after injection.

Table 4.1 presents the average bidomain parameters obtained after fitting the bidomain model including junction capacitances, with 26 sets of stable measurements performed in four different preparations (columns A to D). Each column is divided into three sections: section 1 contains the bidomain parameters fitted after the first pass (with the first model up to 2400Hz); section 2 contains the bidomain parameters fitted after the second pass (with g_{eL} and g_{eT} from the first pass). The default value of the membrane capacitance is set to 1μF/cm^2. Section 3 contains interesting ratios computed from the above values or reported by other authors. In section 2, g_{iL} and g_{iT} have the same

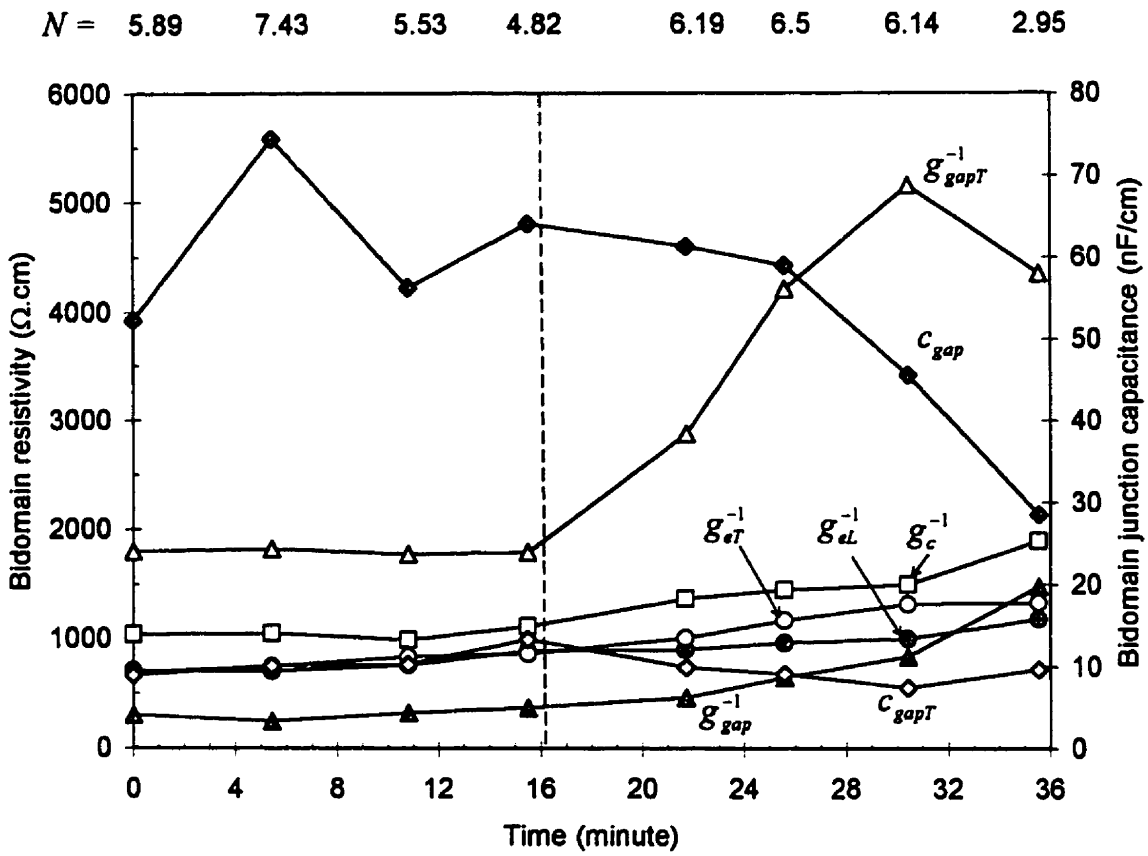


Figure 4.8 Bidomain parameters vs. time for the data presented in Figure 4.7. The Heptanol-I bolus is injected after the 15th minute measurement (vertical dotted line). Bidomain parameters (scaled on left) are fitted with the model including junction capacitances (right ordinate).

meaning as their equivalent from section 1, but are computed as intracellular conductivities with an open circuit for the junction capacitance, using the equations shown in the table. Also, we were not able to determine the bidomain space constant in either direction because of the poor fit of R_m. In almost every case the estimated R_m was greater than 20 kΩ·cm^2 because the interelectrode distance does not permit to reach a plateau at 12 Hz and the fitting procedure is quite insensitive to R_m . The ratio of the longitudinal to transverse bidomain space constant is calculated with g_{iL} and g_{iT} from

Table 4.1 BIDOMAIN ELECTRICAL PARAMETERS OF CANINE ATRIAL AND VENTRICULAR TISSUE

	A† Canine atrium	B† Canine atrium	C† Canine trabeculae	D† Canine trabeculae	Clerc [7] Calf Trabeculae	Roberts *et al.* [6] Canine ventricle	Roberts *et al.* [5] Canine Ventricle	Chapman *et al.*[15] Frog Ventricle
Number	4	9	9	4				
g_{eL}, mS/cm	1.31±0.135	3.35±0.120	1.55±0.052	2.51±0.102	6.25*	2.22	1.17	
g_{eT}, mS/cm	1.28±0.132	2.12±0.058	1.44±0.020	1.95±0.021	2.36*	1.33	0.802	
1‡ R_m, kΩ·cm²	>20	>20	>20	>20				
β_m, cm⁻¹	930±97	1494±132	280±9.38	525±19.01				
g_{iL}, mS/cm	0.636±0.025	1.326±0.060	0.310±0.011	0.613±0.034				
g_{iT}, mS/cm	0.373±0.009	0.355±0.030	0.324±0.009	0.338±0.009				
g_{ic}, mS/cm	0.956±0.046	2.81±0.169	0.901±0.020	1.04±0.094				2.48*
c_{gap}, nF/cm	61.8±9.8	45.2±12.9	36±1.96	47.4±10.2				3374*
c_{gap_T}, nF/cm	10.6±1.9	4.97±0.21	13.7±0.25	12.6±1.21				
g_{gap}, mS/cm	3.29±0.578	3.38±0.397	0.81±0.029	1.78±0.235				2.29*
g_{gap_T}, mS/cm	0.557±0.0067	0.386±0.056	0.31±0.083	0.477±0.024				
2‡ N	5.92±1.10	9.07±2.46	2.62±0.14	3.74±0.58				
β_m, cm⁻¹	930±97	1504±133.7	353±8.1	554±20				
R_m, kΩ·cm²	>20	>20	>20	>20				
$g_{iL} = \frac{g_{ic} \cdot g_{gap}}{g_{ic} + g_{gap}}$, mS/cm	0.738±0.044	1.53±0.096	0.425±0.011	0.653±0.046	1.74*	2.78	3.44	1.19*
$g_{iT} = \frac{g_{ic} \cdot g_{gap_T}}{g_{ic} + g_{gap_T}}$, mS/cm	0.352±0.008	0.338±0.043	0.229±0.004	0.326±0.009	0.193*	0.263	0.596	
g_{iL}/g_{iT}§	2.11	4.53	1.85	2.01	9	10.56	5.76	
g_{eL}/g_{eT}	1.02	1.58	1.08	1.29	2.65	1.67	1.46	
3‡ g_{eL}/g_{iL}§	1.77	2.18	3.64	3.83	3.59	0.80	0.34	
g_{eT}/g_{iT}§	3.64	6.26	6.26	5.95	12.22	5.07	1.34	
λ_L/λ_T	1.31	1.90	1.30	1.36	2.76	2.37	1.60	

* Transformation of original values into bidomain values using $\xi_i/\xi_e = 0.7/0.3$. † Default value of C_m is 1 μF/cm².
‡ Sections number for columns A to D. § g_{iL} and g_{iT} are from section 2.

section 2 and the following relation:

$$\frac{\lambda_L}{\lambda_T} = \sqrt{\frac{(g_{iL} g_{eL})(g_{iT} + g_{eT})}{(g_{iL} + g_{eL})(g_{iT} g_{eT})}} \tag{4.31}$$

In general the reproducibility of the estimated values was quite good, with standard deviations that ranged between 2 to 20% of their respective means. In all four preparations, the longitudinal bidomain conductivities (intracellular and interstitial) were higher than the transverse ones, as expected. Also, the interstitial bidomain conductivities were higher than the intracellular ones. The ranges of values obtained for the two atria preparations generally overlapped those for two ventricular preparations for most parameters, suggesting that inter individual variability was more important than tissue type variability. However, the following exceptions can be noted: g_{gap}, N, β_m, g_{iL}/g_{iT}, g_{iL} which were 2 to 4 times higher in atrial tissue.

4.7 DISCUSSION

The main result of this paper is that the passive electrical properties of both intracellular and interstitial domains can be measured reproducibly with a new method that uses only extracellular electrodes. This method was derived from the four-electrode technique by reducing significantly the interelectrode spacing and by changing the frequency of the current so that it flows in the interstitial domain at lower frequencies and in both interstitial and intracellular domains at higher frequencies. The alteration of modulus and phase of this measured potential are then fitted with appropriate bidomain myocardial models to compute the different conductivities. The combination of small interelectrode spacing and bidomain modeling is thus essential to assess the intracellular

properties, which was not possible previously with larger spacing and monodomain modeling [32,36].

From a modeling point of view, even if the interelectrode spacing (0.340 mm) is similar to the space constant of the tissue, the distance between the two current electrode (1 mm) is large enough compared to cellular dimensions so as to represent the myocardium on a macroscopic scale as an homogeneous medium. Two different bidomain models were used to fit the experimental data: a standard bidomain model with membrane capacitance and a similar model incorporating a capacitance in the intracellular domain. The estimated parameters are reported for both models in Table 4.1. The first model can adequately fit the observed data between 12 to 1000 Hz. At frequencies above 1000 Hz, the continuous decrease of the measured voltage-to-current ratio modulus along the transverse direction was not well represented by the first model which produced a plateau. This suggested that the apparent increase of conductivity could be represented by the addition of a capacitive component to the intracellular current. The addition of an intracellular capacitance to the model (Figure 4.1B) improved the goodness-of-fit at frequencies between 1 to 10 kHz without altering the model behavior at lower frequencies. This additional capacitance can represent the effects of the gap junctions but also of the intracellular domain itself [54]. Also, the excellent fit of the standard bidomain model at frequencies lower than 1000-2000 Hz suggests that it is not necessary to incorporate into the model a thin region representing an electrolytic solution between the probe and the tissue.

The bidomain parameters that were obtained from repeated measurements in different preparations are comparable with literature results that are also presented in Table 4.1 [5,6,7,15]. Our interstitial longitudinal bidomain conductivities are similar to the results of the *in vivo* experiments of Roberts *et al.* [5,6], despite the use of blood-Tyrode perfusate which is more conductive than blood. The g_{eT} value is in the range of those reported by Clerc [7] and Roberts *et al.* [6] but is higher than that of Roberts and Scher [5]. In the intracellular domain, g_{iL} is accordance with Clerc [7], and Chapman and Fry [15], but is lower than that of Roberts *et al.* [5,6] which is so large than g_{eL}/g_{iL} is smaller than 1. The ratio g_{eT}/g_{iT} has less variation between our preparations (3.64 - 6.2) than between authors (1.34 - 12.22). The ratio g_{iL}/g_{iT} is lower than that of Clerc [7] because of his low g_{iT}, and of Roberts *et al.* [5,6] because of his high g_{iL}.

To compare the bidomain junction capacitance c_{gap} with the specific junction capacitance C_j reported in the literature, we use the transformation $C_j = c_{gap}/(\ell\,\xi_i)$ with a cell length ℓ of 0.10 mm and ξ_i=0.7. Our transformed bidomain capacitances cover a range from 5.14 to 8.80 μF/cm^2 which is small compared to the specific junction capacitance (370 μF/cm^2) of Chapman and Fry [15]. In experiment C however, the junction time constant ($c_{gap} \times g_{gap}$) is 44μS, which is close to the 64μS value found by Freygang and Trautwein [25] in sheep Purkinje strands. In cat myocardium, Sperelakis and MacDonald [43] reported specific junction capacitances in the range of our values: C_j=3.4 μF/cm^2 with a 6.4 folding factor and C_j=22 μF/cm^2 without folding.

A present limitation of this method is the long computer time necessary to evaluate the eight parameters (5 to 12 hours on a SGI/R4000, 100 MHz work station) which precludes on-line analysis. A new computerized measurement protocol using multiple simultaneous frequencies or a rapid frequency sweep could also reduce the acquisition time so as to capture rapid changes of the passive electrical properties.

The experiments show the sensitivity of this method to the tissue condition. Since this technique is able discriminate the interstitial domain from the intracellular one, it can be useful to measure the conductivity changes induced by medication, hypoxia [37] and ischemia [55]. Its small sensing area can determine the electrical properties of tissue in specific regions responsible for conduction abnormalities such as reentry or functional block.

4.8 ACKNOWLEDGEMENTS

Supported in part by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and the Heart and Stroke Foundation of Canada.

The authors wish to thank M. Michel Vermeulen for his help and suggestions concerning the experimental preparations.

CHAPITRE 5 : DISCUSSION

L'objectif de ce projet de recherche, qui était de développer un système capable de mesurer les conductivités intracellulaires et interstitielles anisotropes du tissu cardiaque avec des électrodes extracellulaires a été atteint. Une discussion de la méthode de mesure est présentée à la section 5.1 et les limites de la méthode et les développements futurs sont présentés à la section 5.2 .

5.1 LA MÉTHODE DE MESURE

La technique à quatre électrodes, qui jusqu'à récemment n'était utilisée que pour évaluer des conductivités monodomaines [36] a été améliorée de façon à mesurer les conductivités bidomaines intracellulaires et interstitielles du tissu cardiaque sans contrainte d'anisotropie.

La seule façon de calculer les potentiels dans un modèle bidomaine sans imposer un ratio d'anisotropie constant est d'utiliser un modèle numérique tridimensionnel. Cette approche numérique permet d'évaluer le potentiel pour des conductivités données, mais ne permet pas de calculer directement les conductivités à partir du potentiel extracellulaire comme le font Rush et coll. [31] pour un modèle monodomaine ou Plonsey et Barr [11] pour un modèle bidomaine avec ratio d'anisotropie constant, ce qui nous a orienté vers une solution itérative. Les conductivités bidomaines du tissu sont

donc déterminées par un algorithme de minimisation d'erreur qui, par évaluation successive des combinaisons de conductivités, déterminera celles qui génèrent la plus petite différence entre les valeurs simulées et les valeurs expérimentales.

Le développement de l'approche fréquentielle nous permet d'évaluer les conductivités intracellulaires et interstitielles pour une position prédéterminée d'électrodes. Outre le fait d'avoir des électrodes fixes, cette approche a l'avantage de produire des mesures suivant les directions longitudinale et transverse aux fibres pour de multiples fréquences. Cet aspect est important pour l'algorithme de minimisation d'erreur, car en augmentant le nombre de mesures et donc le nombre de contraintes, on rend la solution plus robuste et lui donne plus de chance d'être unique. On ne peut jamais être sûr que la solution correspond à un minimum global de la fonction de coût, cependant nos investigations avec des potentiels simulés, substituées aux données expérimentales, ont montré que l'algorithme "Shor's r" est capable de retrouver exactement les six paramètres initiaux qui ont généré les données simulées. Ce nombre de paramètres semble être un maximum. Ceci constitue un problème lorsque nous voulons introduire une capacité intracellulaire. Toutefois, le fait de lier les impédances de jonctions longitudinales et transverses par un facteur de densité de jonction N limite leur degré de liberté et restreint le nombre de paramètres à huit. Un nombre accru de fréquences ne permet pas de beaucoup accroître la dimension des données et la seule alternative est de diminuer le nombre de paramètres. Une série d'essais a montré que deux passes successives permettent de retrouver exactement les huit paramètres initiaux

du modèle avec capacité intracellulaire, à l'exception de R_m à cause de la distance interélectrode.

La distance interélectrode est spécialement choisie afin de distinguer le milieu intracellulaire du milieu interstitiel. Des essais avec une distance interélectrode de 158 μm, légèrement inférieure à la constante d'espace transverse évaluée à 196 μm par Plonsey et Barr [11], ont montré la nécessité d'augmenter la fréquence au-delà de 10000 Hz pour faire entrer le courant dans le domaine intracellulaire [56]. Il est techniquement difficile d'augmenter la fréquence au-delà de 10000 Hz à cause des capacités parasites. La distance interélectrode de 340 μm permet au courant d'entrer davantage dans le milieu intracellulaire.

La distance interélectrode a une grande importance sur le comportement fréquentiel des mesures. Les expériences effectuées par Gielen et coll. [32] sur le muscle squelettique rapportent que les mesures sont dépendantes de la fréquence avec une distance interélectrode de 0.5 mm alors qu'elles sont pratiquement indépendantes jusqu'à 10 kHz avec une distance interélectrode de 3 mm. Steendijk et coll. [36] ont observé le même déphasage entre 5 kHz et 60 kHz pour une distance interélectrode de 1 mm tandis que van Oosterom et coll. [57] mesurent une conductivité dans le muscle cardiaque qui est indépendante de la fréquence avec la même distance interélectrode sur une gamme de fréquence de 10 Hz et 5 kHz. La distance de 1 mm entre les électrodes de courant est assez grande comparativement à la dimension d'une cellule et semble adéquate pour

représenter le tissu par des conductivités homogènes au niveau macroscopique. Le modèle bidomaine standard en courant alternatif permet une bonne représentation du tissu jusqu'à 2400 Hz [38,39]. Une décroissance de l'amplitude transverse au-dessus de 2400 Hz et une forte diminution de la phase est présente sur toutes les mesures et provoque un décrochage du modèle bidomaine en courant alternatif. Le modèle atteint un plateau en amplitude et revient à une phase nulle. L'ajout d'une capacité de jonction dans le domaine intracellulaire représente une extension du modèle bidomaine classique et permet de mieux simuler les mesures au-dessus de 1000-2000 Hz.

Les observations sur le comportement de l'amplitude et de la phase des mesures expérimentales dans la gamme de fréquence de 10 Hz à 10 kHz mettent en évidence des spécificités suivant les directions longitudinales et transverses. Une augmentation de l'amplitude au-dessus de 1000 Hz et une phase positive sont associés à la direction longitudinale des fibres. Ceci est surprenant à première vue mais est effectivement reproduit par le modèle numérique tridimensionnel. Par ailleurs, la méthode de mesure montre une grande sensibilité aux modifications physiologiques du tissu. Ce type de modifications s'est manifesté par une augmentation de $Z_L(\omega)$ et de $Z_T(\omega)$ tout en gardant la même morphologie. Ce comportement manifeste une modification des conductivités intracellulaires et interstitielles qui peut être provoquée soit par l'œdème, soit par une pression exagérée de la sonde qui induit de l'ischémie.

Le système de mesure s'est montré sensible à l'évolution physiologique du tissu

lorsque perfusé uniquement avec la solution de Tyrode. Les paramètres bidomaines obtenus dans les différentes préparations sont comparables à ceux de la littérature. La capacité de jonction est relativement petite comparativement aux valeurs de la littérature mais équivaut à plusieurs fois celle de la capacité membranaire, ce qui est logique si on considère les jonctions comme des structures membranaire. Les valeurs de la capacité de jonction de la littérature couvrent une grande plage, soit entre 22 $\mu F/cm^2$ [43] et 370 $\mu F/cm^2$ [15]. Cependant, la valeur de la capacité cytoplasmique de 4.5$\mu F/cm^2$ [54] correspond à nos valeurs mesurées.

5.2 LIMITES ET DÉVELOPPEMENTS FUTURS

La technique de mesure mise au point dans cet ouvrage n'a pas encore été exploitée jusqu'à ses limites. Elle combine trois domaines de recherche spécifiques (la modélisation, l'instrumentation électronique et l'expérimentation) qui doivent être approfondis pour améliorer la technique.

5.2.1 LE MODÈLE NUMÉRIQUE

Une étude sur la possibilité de perturbation provoquée par une fine couche de fluide entre le tissu et les électrodes serait appropriée. Les modèles utilisés reproduisent très bien les mesures expérimentales à basse fréquence mais les paramètres estimés pourraient être affectés par une mince couche de fluide.

Un des inconvénients de la technique est le temps de calcul qui est actuellement très long. Actuellement, l'ordinateur d'acquisition est un ordinateur personnel et le traitement se fait sur une station de travail de type *Silicon Graphics* (entre 5 et 12 heures pour estimer huit paramètres). Ceci implique un traitement en temps différé. La mise au point de mesures des conductivités en temps réel permettrait d'évaluer au laboratoire la stabilité d'une préparation et de confirmer l'alignement des électrodes avec les fibres en faisant une rotation de la sonde. Une étude concernant d'autres types d'algorithmes de minimisation pour évaluer les conductivités bidomaines est à envisager afin de réduire le nombre d'itérations et même limiter l'évaluation des huit paramètres à une seule passe.

Étant donné que le modèle numérique tient compte de la distribution du courant en fonction de la position de l'électrode de mesure, une nouvelle technique qui ne se limite pas à quatre électrodes mais qui utilise une multitude d'électrodes de mesures distribuées sur deux rayons autour des deux électrodes de courant augmenterait le nombre de données expérimentales, diminuerait l'effet des erreurs de mesure sur l'évaluation des conductivités et augmenterait aussi la robustesse de l'algorithme tout en diminuant le nombre d'itérations. Une étude de l'influence des erreurs de mesure sur les conductivités évaluées par l'algorithme est aussi à considérer.

5.2.2 L'INSTRUMENTATION

Il subsiste des problèmes de polarisation et de stabilisation des électrodes qui décalent la ligne de base et font sortir le signal de la fenêtre de mesure lors de fortes amplifications. La dérive de la ligne de base a été éliminée dans la majorité des cas à l'aide d'un filtre électronique passe bas de 1 Hz. Une carte d'acquisition de 16 bits permettrait d'agrandir la fenêtre de mesure et éliminerait le temps de stabilisation avant de faire les mesures. Une résolution de 16 bits augmenterait aussi la résolution de la phase qui est présentement plus limitée par la résolution numérique que par l'électronique.

Une étude peut aussi être faite pour permettre de sortir ce système de mesure de la cage de Faraday. Ceci peut être fait par simple blindage si l'impédance des électrodes est abaissée ou encore par asservissement du blindage de chaque fil d'électrode puisqu'il est maintenant possible d'avoir des câbles coaxiaux avec des diamètres aussi petits que 0.33 millimètre.

5.2.3 L'EXPÉRIMENTATION

Avant de faire des mesures *in vivo*, une amélioration de la stabilité du tissu peut être réalisée. Des essais sur du muscle papillaire perfusé tel qu'utilisé par Kléber et coll. [55] devrait être réalisés chez le chien ou le porc. Cette préparation offre l'avantage que les fibres sont bien alignées et que la dimension du tissu à irriguer est limitée, procurant ainsi un milieu plus homogène.

Les mesures des conductivités interstitielles et intracellulaires nécessitent une distance interélectrode relativement petite. Selon Steendijk et coll. [36] le courant ne diffuse que de $2.4 \times d$ sous la surface de mesure pour un rapport de conductivité monodomaine $g_L/g_T = 3$, ce qui donne l'avantage de limiter l'effet de la rotation des fibres sur les mesures mais cause un problème pour traverser la couche de tissu fibreux à l'épicarde. La couche plus fine à l'endocarde et un contact naturel avec le sang suggèrent d'effectuer des mesures endocardiques *in vitro*. Le tissu suinte puisque que le retour veineux se fait par l'endocarde, procurant une bonne irrigation du tissu mais gênant le contact entre le tissu et la sonde. Une fine couche de liquide est nécessaire pour la survie du tissu et le système de succion essaye de la maintenir au minimum.

Présentement les mesures longitudinales et transverses sont effectuées l'une après l'autre. Le temps pour effectuer une série de mesure est d'environ une minute à cause de du délai d'armement de la carte d'acquisition. Une durée de mesure réduite pour chacune des directions permettrait de diminuer la période entre les mesures et d'obtenir un plus grande fréquence d'échantillons de mesure.

En conclusion, cette étude établit la gamme de fréquence et la distance interélectrode pour effectuer les mesures des conductivités électriques passives ainsi que la méthode de solution numérique avec deux rangées orthogonales de quatre électrodes sur du tissu cardiaque. La technique de mesure a une grande sensibilité aux conditions du

tissu. Puisque cette technique est capable de discriminer le milieu interstitiel du milieu intracellulaire, cette technique serait d'une grande utilité pour mesurer les modifications des conductivités du tissu produites par la médication, l'anoxie et l'ischémie. Sa région de mesure restreinte permet de déterminer les anomalies électriques des régions avec des circuits de réentrée ou des blocs de conduction.

RÉFÉRENCES

1 GUYTON A. C. (1984). Chapitre5 – Cœur : excitation rythmique et contrôle nerveux. *in Neurophysiologie.* Ed. Masson.

2 WEINGART R. (1991). Determinants of action potential transfer from cell to cell. *In Cardiac electrophysiology, circulation, and transport.* SIDEMAN S., BEYAR R., KLÉBER A.G., Kluwer academic publisher, 83-100.

3 SPACH M. S., MILLER W. T., GESELOWITZ D. B., BARR R. C., KOOTSEY J. M. et JOHNSON E. A. (1981). The discontinuous nature of propagation in normal canine cardiac muscle. *Circ. Res.* 48, 39-54.

4 SANO T., TAKAYAMA N. et SHIMAMOTO T. (1959). Directional difference of conduction velocity in the cardiac ventricular syncytium studied by microelectrodes. *Circ. Res.* 7, 262-267.

5 ROBERTS D. E. et SCHER A. M. (1982). Effect of tissue anisotropy on extracellular potential fields in canine myocardium in situ. *Circ. Res.* 50(3), 342-351.

6 ROBERTS D. E., HERSH L. T. et SCHER A.M. (1979). Influence of cardiac fiber orientation on wavefront voltage, conduction velocity, and tissue resistivity in the dog. *Circ. Res.* 44(5), 701-712.

7 CLERC L. (1976). Directional differences of impulse spread in trabecular muscle from mammalian heart. *J. Physiol.* 255, 335-346.

8 RUDY Y. et QUAN W. (1987). A model study of the effects of the discrete cellular structure on electrical propagation in cardiac tissue. *Circ. Res.* 61, 815-823.

9 BALKE C. W., LESH M. D., SPEAR J. F., KADISH A., LEVINE J. H. et MOORE E. N. (1988). Effects of cellular uncoupling on conduction in anisotropic canine ventricular myocardium. *Circ. Res.* 63, 879-892.

10 DELMAR M., MICHAELS D. C., JOHNSON T. et JALIFE J. (1987). Effects of increasing intercellular resistance on transverse and longitudinal propagation in sheep epicardial muscle. *Circ. Res.* 60, 780-785.

11 PLONSEY R. et BARR R.C. (1982). The four-electrode resistivity technique as applied to cardiac muscle. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 29(7), 541-546.

12 WEIDMANN S. (1970). Electrical constants of trabecular muscle from mammalian heart. *J. Physiol.* 210, 1041-1054.

13 PLONSEY R. et BARR R. C. (1988). *Bioelectricity a quantitative approach.* Ed. Plenum Press.

14 JACK J. J. B., NOBLE D. et TSIEN R. W. (1975). *Electric current flow in excitable cells.* Ed. Oxford University Press, London.

15 CHAPMAN R. A. et FRY C. H. (1978). An analysis of the cable properties of frog ventricular myocardium. *J. Physiol.* 283, 263-282.

16 SCHANNE O. F., LEFLOCH M., FERMINI B. et RUIZ-PETRICH E. (1990). Membrane resistance increases when automaticity develops in explanted rat heart cells. *Am. J. Physiol.* 258, H145-H152.

17 GEDDES L. A. (1972). The electrode-electrolyte interface, *in* Electrodes and the measurement of bioelectric events. Ed. John Wiley & Son chap. 1, 3-155.

18 GIELEN F. L. H. et BERGVELD P. (1982). Comparision of electrode impedances of Pt, PtIr (10%) and Ir-AIROF electrodes used in electrophysiological experiments. *Med. & Biol. Eng. & Comput.* 20, 77-83.

19 DE BOER R. W. et VAN OOSTEROM A. (1978). Electrical properties of platinum electrodes: impedance measurements and time-domain analysis. *Med. & Biol. Eng. & Comput.* 16, 1-10.

20 ACKMANN J. J. et SEITZ M. A. (1984). Methods of complex impedance measurements in biologic tissue. *Crit. Rev. Biomed. Eng.* 11(4), 281-311.

21 WISE K. D., ANGELL J. B. et STARR A. (1970). An integrated-circuit approch to extracellular microelectrodes. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 17(3), 238-247.

22 FALK G. et FATT P. (1964). Linear electrical properties of striated muscle fibers observed with intracellular electrodes. *Proc. Roy. Soc. London.* B160, 69-123.

23 PLONSEY R. et BARR R. C. (1986). A critique of impedance measurements in cardiac tissue. *Ann. Biomed. Eng.* 14, 307-322.

24 TASAKI I. et HAGIWARA S. (1957). Capacity of muscle fiber membrane. *Am. J. Physiol.* 188, 423-429.

25 FREYGANG W. H. et TRAUTWEIN W. (1970). The structural implications of the linear electrical properties of cardiac purkinje strands. *J. Gen. Physiol.* 55(4), 524-47.

26 SCHWAN H. P. et KAY C. F. (1956). Specific resistance of body tissues. *Circ. Res.* 4, 664-670.

27 GEDDES L. A. et BAKER L. E. (1967). The specific resistance of biological material - A compendium of data for the biomedical engineer and physiologist. *Med. & Biol. Eng.* 5, 271-293.

28 SCHWAN H. P. et FERRIS C. D. (1968). Four-electrode null techniques for impedance measurement with high resolution. *Rev. Sci. Inst.* 39(4), 481-485.

29 EPSTEIN B. R. et FOSTER K. R. (1983). Anisotropy in the dielectric properties of skeletal muscle. *Med. & Biol. Eng. & Comput.* 21, 51-55.

30 RIGAUD B., HAMZAOUI L., FRIKHA M. R., CHAUVEAU N. et MORUCCI J. P. (1995). In vitro tissue characterization and modelling using electrical impedance measurements in the 100 Hz -10 MHz frequency range. *Physiol. Meas.* 16(3 Suppl A), A15-28.

31 RUSH S., ABILDSKOV J. A. et MCFEE R. (1963). Resistivity of body tissue at low frequencies. *Circ. Res.* 12, 40-50.

32 GIELEN F. L. H., WALLINGA-DE JONGE W. et BOON K. L. (1984). Electrical conductivity of skeletal muscle tissue: experimental results from different muscles in vivo. *Med. & Biol. Eng. & Comput.* 22, 569-577.

33 GIELEN F. L. H., CRUTS H. E. P., ALBERS B. A., BOON K. L., WALLINGA-DE-JONGE W. et BOOM H. B. K. (1986). Model of electrical conductivity of skeletal muscle based on tissue structure. *Med. & Biol. Eng. & Comput.* 24, 34-40.

34 ROTH B. J., GIELEN F. L. H. et WIKSWO JR J. P. (1988). Spatial and temporal frequency-dependant conductivities in volume-conduction calculations for skeletal muscle. *Math. Biosci.* 88, 159-189.

35 ROTH B. J. (1989). Interpretation of skeletal muscle four-electrode impedance measurements using spatial and temporal frequency-dependant conductivities. *Med. & Biol. Eng. & Comput.* 27, 491-495.

36 STEENDIJK P., MUR G., VAN DER VELDE E. T. et BAAN J. (1993) The four-electrode resistivity technique in anisotropic media: theoretical analysis and application on myocardial tissue in vivo. *IEEE Trans Biomed Eng.* 40(11), 1138-1147.

37 FALLERT M. A., MIROTZNIK M. S., DOWNING S. W., SAVAGE E. B., FOSTER K. R., JOSEPHSON M. E. et BOGEN D. K. (1993). Myocardial electrical impedance mapping of ischemic sheep hearts and healing aneurysms. *Circ. Res.* 87(1), 199-207.

38 LE GUYADER P., SAVARD P. et TRELLES F. (1995). Measurement of myocardial conductivities with an eight-electrode technique in the frequency domain. *Proc. of 17th annual int. conf. of IEEE-EMBS.* 71-72.

39 LE GUYADER P., SAVARD P. et TRELLES F. (1997). Measurement of myocardial conductivities with four-electrode technique in the frequency domain. *Proc. of 19th annual int. conf. of IEEE-EMBS.* 2448-2449.

40 ROTH B. J. (1997). Electrical conductivity values used with the bidomain model of cardiac tissue. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 44(4), 326-328.

41 KATZ A. M. (1992). *Physiology of the heart.* 2nd Ed. New York, Raven Press.

42 SPERELAKIS N. et HOSHIKO T. (1961). Electrical impedance of cardiac muscle. *Circ. Res.* 9, 1280-1283.

43 SPERELAKIS N. et MACDONALD R. L. (1974). Ratio of transverse to longitudinal resistivities of isolated cardiac muscle fiber bundles. *J. Electrocardiol.* 7, 301-314.

44 PRESS W. H., TEUKOLSKY S. A., VETTERLING W. T. et FLANNERY B. P. (1992). *Numerical recipes in C.* 2nd Ed. Cambridge University press.

45 KUNTSEVICH A. et KAPPER F. (june 1997). *SolvOpt the solver for local nonlinear optimization problems, version 1.1 in Matlab.* Institut for mathematics, Karl-Franzens university of Graz.

46 LE GUYADER P. M. (1992). *Cartographie des propriétés électriques passives du tissu cardiaque*. Mémoire de maîtrise (École Polytechnique de Montréal). pp.164.

47 HENRIQUEZ C.S. (1993). Simulating the electrical behavior of cardiac tissue using the bidomain model. *Crit. Rev. Biomed. Eng* . 21(1), 1-77.

48 LE GUYADER P., SAVARD P., GUARDO R., POULIOT L., TRELLES F. et MEUNIER M. (1994). Myocardial impedance measurements with a modified four-electrode technique. *Proc. of 16th Anmual Int. Conf. of IEEE-EMBS*, 880-881.

49 GEDDES L. A. (1972). Electrodes and the measurement of bioelectric events. Ed John Wiley & Son 1, 3-155.

50 SCHWAN H. P. (1963). Determination of biological impedance. *in Physical techniques in biological research.* Ed Nastuk W, Academic Press; 6 ptB, 323-407.

51 MARRESE C. A. (1987). Strongly adherent platinum black coating. *Anal Chem*; 59, 217-218.

52 KRAUSS T. P., SHURE L. et LITTLE J. N. (1994). Signal processing toolbox user's guide for use with Matlab. *The Math Works Inc.*

53 HAYKIN S. (1983). *Communication systems.* 2nd Ed. John Wiley & Sons.

54 MOORE L. E. , SCHMID A. et ISENBERG G. (1984) Linear electrical properties of isolated cardiac cells. *J. Membr. Biol.* 81(1), 29-40.

55 KLÉBER A. G., RIEGGER C. B. et JANSE M. J. (1987). Electrical uncoupling and increase of extracellular resistance after induction of ischemia in isolated arterially perfused rabbit papillary muscle. *Circ. Res.* 61, 271-279.

56 LE GUYADER P., SAVARD P., GUARDO R., POULIOT L., TRELLES F. et MEUNIER M. (1994). Myocardial impedance measurements with a modified four electrode technique. *Proc. of 16th Annual Int. Conf of IEEE-EMBS.* 880-881.

57 VAN OOSTEROM A., DE BOER R. W. et VAN DAM R. T. (1979). Intramural resistivity of cardiac tissue. *Med. & Biol. & Comput.*, 17, 337-343.