

## 植入式闭环芯片系统对清醒兔心率的调控作用

高 晴<sup>1</sup>, 杨 玲<sup>2</sup>, 高兴亚<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学机能实验室, 江苏 南京 210029; <sup>2</sup>解放军第一〇一医院医学工程科, 江苏 无锡 214044)

**[摘要]** **目的:**通过电刺激迷走神经观察植入式闭环芯片系统对清醒兔心率的调控作用。**方法:**将 12 只心率正常的新西兰兔随机分 2 组:对照组、迷走神经电刺激(vagus nerve stimulation, VNS)组。VNS 组兔体内植入自主研发的闭环芯片 1 周,随机电刺激右侧迷走神经 1 h, 恢复 1 h; 对照组体内植入无刺激的芯片。MD2000WL 软件记录实时心电图(electrocardiogram, ECG), 芯片根据 ECG 计算心率。**结果:**植入式闭环芯片可在清醒兔体内工作。芯片可以成功记录完整心电图。VNS 组调控期间心率明显低于调控前的基础心率[(265.2 ± 15.2)次/min vs. (289.5 ± 15.7) 次/min,  $P < 0.05$ ]。VNS 组调控期间心率和对照组相比较, VNS 组的心率明显降低[(-24.3 ± 3.6) 次/min vs. (-4.6 ± 5.1)次/min,  $P < 0.05$ ]。**结论:**植入式闭环芯片系统可以长期调控清醒兔的心率。

**[关键词]** 植入式芯片; 闭环调控; 迷走神经刺激; 心率; 负反馈系统

**[中图分类号]** R331.3

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2015)10-1465-04

**doi:**10.7655/NYDXBNS20151031

## Effect of a closed-loop implanted chip system on heart rate regulation in conscious rabbits

Gao Qing<sup>1</sup>, Yang Ling<sup>2</sup>, Gao Xingya<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Functional Laboratory, NJMU, Nanjing 210029; <sup>2</sup>Department of Medical Engineering of the People's Liberation Army Di Yi Ling Yi hospital, Nanjing 214044, China)

**[Abstract]** **Objective:** To assess the effects of a closed-loop implanted chip system on heart rate regulation in conscious rabbits. **Methods:** Twelve rabbits with normal heart rate(HR) were randomly divided into the control and the vagus nerve stimulation (VNS) groups. In the VNS group, all the animals were implanted the self-developed closed-loop chip for a week. The right vagus nerve of rabbit was randomly stimulated by the chip according to real-time feedback of HR at different times. Each rabbit underwent 1 hour of regulation and 1 hour of recovery. The control group was implanted the chip without any stimulation. MD2000WL software recorded the real-time electrocardiogram(ECG). HR was calculated by the chip according to the ECG. **Results:** The implanted closed-loop chip system worked well in conscious rabbits *in vivo*. The chip recorded complete ECG. There was a significant decrease of HR during the regulation [(265.2 ± 15.2) bpm vs. (289.5 ± 15.7) bpm,  $P < 0.05$ ] compared with the baseline HR in the VNS group. The HR was also significantly decreased during regulation in the VNS group[(-24.3 ± 3.6) bpm vs. (-4.6 ± 5.1) bpm,  $P < 0.05$ ] compared with the control group. **Conclusion:** The implanted closed-loop chip system can successfully regulate the heart rate of conscious rabbits in long term.

**[Key words]** implanted chip; closed-loop regulation; vagus nerve stimulation; heart rate; negative feedback system

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(10): 1465-1468, 1486]

心律失常是最常见的心血管系统疾病之一。传统的药物治疗由于种类多、耐受性差、不良反应大且需要终身服药,治疗效果不理想。而房室结消融术、心脏起搏器等手术治疗由于有限的成功率和高复发性,也不作为治疗心律失常的首选方法<sup>[1]</sup>。近年

来,植入式医疗设备的飞速发展,为治疗此病提供了一个可行的新方法。迷走神经刺激器是植入式医疗设备的热点。电刺激迷走神经已经在临床上用于治疗难治性癫痫症和抑郁症<sup>[2-3]</sup>。另有研究表明,迷走神经电刺激可治疗心衰<sup>[4-5]</sup>、房颤<sup>[6]</sup>,对心肌缺血-再灌注损伤有保护作用<sup>[7]</sup>,可以降低心源性死亡风险<sup>[8]</sup>。本实验室自行设计了一种通过电刺激迷走神经来调控心率的植入式闭环芯片系统,它通过实时反馈

**[基金项目]** 国家自然科学基金(30670767)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: gaoxy@njmu.edu.cn

的心电信号来调控心率,为临床治疗心律失常提供新的思路。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

新西兰兔 12 只,雌雄不拘,清洁级,江苏省实验动物中心提供[合格证号:SCXK(京)2015-0001]。将兔随机分为迷走神经电刺激(vagus nerve stimulation, VNS)组和对照组,每组 6 只。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 植入式闭环芯片系统的设计、工作模式和工作原理

##### 1.2.2 植入式闭环芯片系统的设计

植入式闭环芯片系统由本实验室自行研发,其硬件结构包括下位机(植入子)、上位机和 PC 用户软件 3 部分(图 1)。

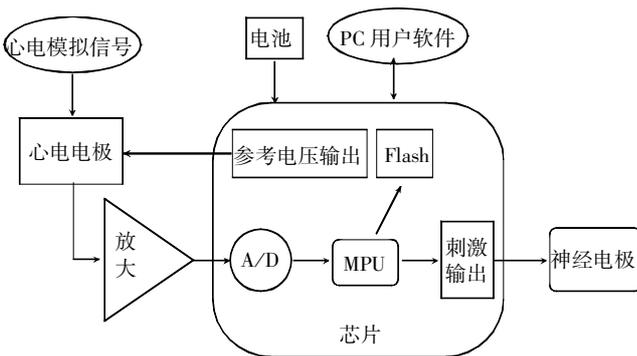


图 1 植入式闭环芯片系统硬件结构原理图

Figure 1 Hardware structure of the implanted chip system

下位机: 芯片系统的核心主要是 msp430 超低功耗微处理器(MPU),负责心电信号的采集及整个实验周期的数据存储。另外芯片上集成了放大器、A/D 转换器、Flash 闪存、刺激器、无线通讯等模块,另有 3 V 锂电池供电(图 2A)。

上位机:主要由微控制器、USB 通讯、无线通讯模块组成。微控制器是上位机的核心,负责协调下位机与监控 PC 机的数据通讯。上位机由 USB 供电。见图 2B。

PC 用户软件: 基于 Windows 系统的 MD2000WL 生理信号采集系统。该系统主要有数据波形显示、数据分析和无线控制功能。

##### 1.2.3 植入式闭环芯片系统的工作模式

下位机在心前区采集到心电模拟信号,经过转换、放大和处理,通过无线通讯(2.4 G)上传至上位机,上位机将此模拟信号经 USB 接口上传至监控电脑上,通过 MD2000WL 软件呈现。系统根据采集的

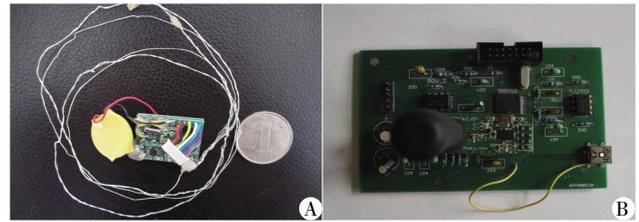


图 2 下位机(A)与上位机(B)实物图

Figure 2 Photos of the slave machine (A) and master machine(B)

实时心电模拟信号,芯片可自动计算出心动周期,然后发出相应的闭环脉冲,电刺激迷走神经从而而调控心率。

##### 1.2.4 植入式闭环芯片系统的工作原理

芯片系统调控的依据是“心率调定点偏移”原理。刺激频率为 0~25 Hz,设定输入心率和输出心率之间的关系。心率调控范围内,刺激频率会随着心率增加而增加,心率越快,刺激频率越强。刺激频率加强,偏离调定点的心率就会重新恢复正常。当心率超过 300 次/min,刺激强度保持不变,当心率低于 105 次/min,刺激自动停止。整个系统以闭环式负反馈的形式工作,刺激频率和心率之间的关系并不固定,它随着实时更新的心电信号不断变化(图 3)。

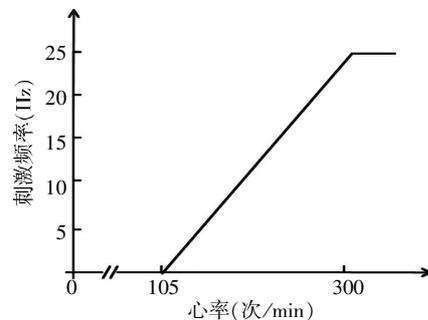


图 3 心率与刺激输出频率关系图

Figure 3 Relationship between HR and stimulate frequency of the chip system

##### 1.2.5 手术操作

术前 75%酒精浸泡芯片,然后用高温灭菌的生理盐水冲洗芯片。VNS 组兔耳缘静脉注射戊巴比妥钠 1.0 g/kg 麻醉。将兔仰卧位固定,颈部、心前区和腹部备皮并碘伏消毒。切开颈部正中,分离右侧颈动脉鞘,游离迷走神经。切开腹部皮肤,将下位机植入腹部皮下。同时,做皮下隧道,分别将下位机的刺激电极、心电电极和地线送到右颈部、前胸和胸颈之间。刺激电极放置前,先将银质刺激电极的双螺旋头部放于颈部肌肉上,运行 MD2000WL 软件的“2 Hz 测试”按钮,肌肉有跳动,则说明刺激有效,可以进行实验。而后将刺激电极螺旋缠绕于右侧迷

走神经上,心电电极 1 个放于心间 1 个放于心底。地线放于 2 对电极之间以抗干扰。缝合切口并肌肉注射青霉素预防感染。待兔恢复清醒,稳定 1 h,可进行心率调控实验。对照组植入无刺激的芯片,手术全过程和 VNS 组相同。

### 1.2.6 心率的测定

启动芯片,运行 MD2000WL 软件。芯片的下位机将采集的心电信号发送到上位机,上位机根据 R 波识别并测量心率。MD2000WL 软件有 4 种心电图显示方式:原始心电图、差分心电图、实时心电图和 32 平均心动周期心电图。根据心电图 R 波的突变特性选择 9 点差分方法实现 R 波的识别。同时设置 1 个反拗期以防止在识别 1 个 R 波后紧接着识别较大的信号,降低 R 波识别的错误率。1 个 R 波被识别,即记为 1 次心脏搏动。

芯片运行良好的状况下,开始调控实验。开刺激期间记为调控期,关刺激期间记为恢复期。VNS 组每次开刺激前先记录 1 h 的调控前心率,然后随机多次电刺激兔的右侧迷走神经,1 h 刺激,1 h 恢复,测定调控期间和恢复期间兔的心率。对照组也同时记录假调控和假恢复期间的心率。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS18.0 软件进行统计学分析,实验数据用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间数据比较采用 *t* 检验。 $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 芯片运行情况

实验期间,芯片在兔体内运行良好,下位机和上位机通讯无障碍,R 波识别率高于 95%,能够记录清晰、稳定的心电图(图 4)。



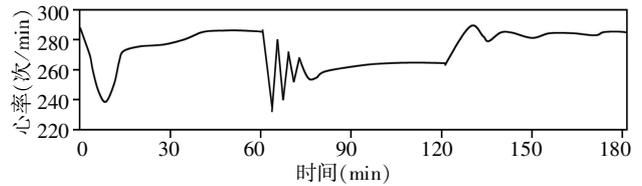
A:原始心电图;B:差分心电图。

图 4 植入式闭环芯片记录清醒兔的心电图

Figure 4 ECG recording in conscious rabbits of the implanted chip system

### 2.2 心率的调控

芯片植入和调控初期,心率会有波动,经过一小段时间适应,兔的心率稳定在较低水平,调控结束后,心率恢复到基础水平,心率被成功调控(图 5)。



0 min 芯片植入,60 min 芯片开始调控,120 min 芯片调控结束。

图 5 VNS 组芯片植入初期的心率波动

Figure 5 HR fluctuation after chip implantation in VNS group

表 1 2 组随机多次调控前和调控期间心率的比较

Table 1 Comparison of the two groups before and during the regulation of HR at random times (次/min,  $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	调控前心率	调控期间心率	恢复期间心率
对照组( $n=6$ )	289.4 ± 15.8	284.8 ± 13.3	288.8 ± 10.6
VNS 组( $n=6$ )	289.5 ± 15.7	265.2 ± 15.2**	289.3 ± 13.4

与对照组相比,\* $P < 0.05$ ;与调控前相比,\*\* $P < 0.05$ 。

VNS 组调控期间心率明显低于调控前的基础心率( $P < 0.05$ ),且 VNS 组调控期间心率明显低于对照组调控期间心率( $P < 0.05$ )。对照组和 VNS 组调控前基础心率和调控后恢复期间心率无显著差异( $P > 0.05$ ,表 1)。

### 2.3 术后情况

芯片植入 1 周,期间无明显不良反应,无手术切口感染,兔状态良好。

## 3 讨论

本研究展示了植入式闭环芯片调控清醒兔心率的慢性研究。大量研究表明,电刺激迷走神经可以改变人和动物的心率<sup>[9-10]</sup>。然而,关于刺激迷走神经降低心率的实验都是在麻醉状态下进行的急性实验<sup>[10-11]</sup>,对于调控清醒状态下受试动物的慢性实验未见报道。由于心律不齐是临床上常见的疾病,而芯片研究的最终目的是要长期植入人体治疗疾病,所以芯片调控心率的长期动物实验更具有重要的研究意义。本实验室曾经研制的闭环式血压调控芯片是本研究的基础<sup>[12]</sup>,在此基础上,根据调定点原理和电刺激迷走神经能有效降低心率原理,以闭环调控为模式,制作了用于心率调控的植入式闭环芯片系统,对清醒状态下正常兔的心率进行长期调控。

在本实验中,植入式闭环芯片系统成功降低了实验兔的心率,在调控结束后,兔的心率能够恢复到调控前的水平。闭环芯片系统的调控原理是基于“人工调定点”的负反馈调节。当心率超过调定点时,芯片刺激迷走神经的程序就会启动。采集的心

率越高,芯片对迷走神经发出的刺激频率就越高,从而使心率下降;当心率下降时,刺激频率又会相应降低,使心率逐渐回升,直到恢复到兔自身的调控系统适应芯片系统。这样的负反馈闭环调控,使心率维持在一个相对较窄的范围内。实验初期,出现心率大幅震荡,可能与兔自身调节系统与外来植入芯片系统相抗衡有关,经过一小段时间适应,兔的迷走神经可逐步与芯片调节的步调一致,使心率在人工调定点附近上下波动。实验调控前后心率没有明显差异性,说明没有出现调控的“适应性”。如果调控过程中很容易产生适应现象,在芯片关闭刺激时,心率和刺激时一样保持低水平状态,那么在环境改变时,迷走神经自身就可能失去生理性调节作用。植入式闭环芯片系统,在慢性实验中,可根据采集的实时心电图,自动对心率做出调控,调控结束后自动恢复心率,这样的模式,能够有效地对环境的变化,使心率更加稳定。另外,在调控结束后,也没有出现“反跳”现象,对于长期服药的患者来说,避免了突然停药导致病情加重的可能,芯片治疗相对于药物治疗安全性较高。

迷走神经是调节心血管生理活动的重要神经之一。大量心血管疾病患者交感神经活动过度增强,使其致病率和致死率增加,而迷走神经活动对心血管有保护作用<sup>[8]</sup>。电刺激迷走神经可激活胆碱能抗炎通路,减低交感神经兴奋性,逆转高交感活动引起的心室肌电生理改变<sup>[13]</sup>。然而迷走神经是混合神经,由有髓鞘的(B类)和无髓鞘的(C类)组成<sup>[14-16]</sup>,不同种类的神经纤维产生的效应也一直备受争议<sup>[17]</sup>。正常人窦房结由右侧迷走神经支配,而房室结主要由左侧迷走神经支配,解剖学上神经支配的不对称性表明,可能刺激右侧迷走神经会产生更多的心血管效应<sup>[18]</sup>。早在1973年,Goldstein等<sup>[19]</sup>发现在心肌缺血10 min时电刺激右侧迷走干,可抑制室颤的发生。另有研究表明,右侧迷走神经支配心率变异性强于左侧<sup>[20]</sup>,所以本实验选择刺激右侧迷走神经。由于心率调控机制的复杂性和本实验保留迷走神经完整性,对于电刺激迷走神经使心率下降是因为迷走神经传出神经的兴奋还是因为传入神经的兴奋导致交感神经抑制所致尚不清楚。本研究只根据采集的心电信号来作为心率的检测指标,对于电刺激时血中肾上腺素、儿茶酚胺水平的变化有待进一步实验检测。

本研究表明植入式闭环芯片系统可以成功调控清醒动物的心率。同时搭建一个慢性实验平台,

使芯片的调控效果在慢性动物试验中更具有重要的研究意义,为临床治疗心律不齐提供了新思路和新方法。

#### [参考文献]

- [1] Scheinman MM, Morady F. Nonpharmacological approaches to atrial fibrillation[J]. *Circulation*, 2001, 103(16):2120-2125
- [2] Milby AH, Halpern CH, Baltuch GH. Vagus nerve stimulation for epilepsy and depression[J]. *Neurotherapeutics*, 2008, 5(1):75-85
- [3] Shahwan A, Bailey C, Maxiner W, et al. Vagus nerve stimulation for refractory epilepsy in children: more to VNS than seizure frequency reduction[J]. *Epilepsia*, 2009, 50(5):1120-1128
- [4] De Ferrari GM, Schwartz PJ. Vagus nerve stimulation: from pre-clinical to clinical application; challenges and future directions[J]. *Heart Fail Rev*, 2011, 16(2):195-203
- [5] Sabbah HN. Electrical vagus nerve stimulation for the treatment of chronic heart failure[J]. *Cleve Clin J Med*, 2011, 78(1):24-29
- [6] Zhang YH, Mowrey KA, Zhuang SW, et al. Optimal ventricular rate slowing during atrial fibrillation by feedback AV nodal-selective vagal stimulation[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2002, 282(3):1102-1110
- [7] 李杉, 熊军, 薛富善, 等. 心肌缺血/再灌注损伤治疗新策略—迷走神经电刺激[J]. *国际麻醉学与复苏杂志*, 2012, 33(5):352-356
- [8] Fallen EL. Vagal afferent stimulation as a cardioprotective strategy? Introducing the concept[J]. *Ann Noninvasive Electrocardiol*, 2005, 10(4):441-446
- [9] Buschman HP, Storm CJ, Duncker DJ, et al. Heart rate control via vagus nerve stimulation[J]. *Neuromodulation*, 2006, 9(3):214-220
- [10] Tosato M, Yoshida K, Toft E, et al. Closed-loop control of the heart rate by electrical stimulation of the vagus nerve[J]. *Med Biol Eng Comput*, 2006, 44(3):161-169
- [11] Zhou XY, Yuan Y, Gao J, et al. An implanted closed-loop chip system for heart control: system design and effects in conscious rats[J]. *J Biomed Res*, 2010, 24(2):1-7
- [12] 高兴亚, 王汉军, 朱国庆, 等. 芯片植入式血压调控系统的设计与制作[J]. *医疗设备信息*, 2004, 19(12):1-3
- [13] Huang J, Qian J, Yao W, et al. Vagus nerve stimulation reverses ventricular electrophysiological changes induced by hypersympathetic nerve activity[J]. *Exp Physiol*, 2015, 100(3):239-248
- [14] Ford TW, McWilliam PN. The effects of electrical stimu-

(下转第1486页)