

模型动物失神经支配及神经肌肉电刺激的可编程植入式神经肌肉电刺激器★

宋光, 王磊, 任超世, 沙洪

A programmable and implantable neuromuscular electrical stimulator for denervated or neuromuscular electrical stimulation in animal models

Song Guang, Wang Lei, Ren Chao-shi, Sha Hong

Bioinformation
Measurement and
Processing
Laboratory, Institute
of Biomedical
Engineering, Chinese
Academy of Medical
Science and Peking
Union Medical
College, Tianjin
300192, China

Song Guang★,
Studying for master's
degree,
Bioinformation
Measurement and
Processing
Laboratory, Institute
of Biomedical
Engineering, Chinese
Academy of Medical
Science and Peking
Union Medical
College, Tianjin
300192, China
song_job@163.com

Correspondence to:
Sha Hong, Master,
Investigator, Master's
supervisor,
Bioinformation
Measurement and
Processing
Laboratory, Institute
of Biomedical
Engineering, Chinese
Academy of Medical
Science and Peking
Union Medical
College, Tianjin
300192, China
sha_hong_2000@
hotmail.com

Received: 2011-03-06
Accepted: 2011-04-03

Abstract

BACKGROUND: Implantable neuromuscular electrical stimulator is a useful tool for the study how functional electrical stimulation works on denervated muscle. However, its volume is a little big and the function is single.

OBJECTIVE: To design an implantable micro-stimulator featuring adjustable parameters which can reach the requirement of animal pattern experiment through test and analysis.

METHODS: Based on infrared communication technology, taking MSP430 as controller and setting stimulation parameters by controller *in vitro*, it generates charge balanced bipolar pulses, and stimulates nerve or muscle *via* electrodes.

RESULTS AND CONCLUSION: The stimulator is programmable *in vivo* and all parameters, such as voltage amplitude, frequency, pulse width and rest time of the stimulation, can be set and changed flexibly. It enriches selectivity of stimulating protocol by setting parameters, so that the unpredictable stimulation to the tissue around the target neuromuscular is minimized, the design of current consumption is optimized and the safety of experimental animals is ensured.

Song G, Wang L, Ren CS, Sha H. A programmable and implantable neuromuscular electrical stimulator for denervated or neuromuscular electrical stimulation in animal models. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2011;15(22):4098-4102. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

摘要

背景: 植入式神经肌肉电刺激器可用于研究功能性电刺激对动物失神经肌肉的作用机制, 但体积偏大, 功能单一。

目的: 设计一种微型、参数可调的植入式神经肌肉电刺激器。

方法: 基于红外通信技术, 以 MSP430 为控制核心, 采用低功耗设计, 经体外控制器设置参数, 产生电荷平衡的双相脉冲序列, 可对神经或肌肉进行电刺激。

结果与结论: 实验设计的刺激器可在体编程, 能够灵活设置刺激电压幅值、频率、脉宽和间隔时间等参数。多参数的设置丰富了刺激协议选择性, 可最小化对目标神经肌肉临近组织的不可预测刺激, 优化了功耗设计, 可确保实验动物的安全性。

关键词: 植入式电刺激器; 红外通信; 参数可调; 双相脉冲; 组织工程

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2011.22.026

宋光, 王磊, 任超世, 沙洪. 模型动物失神经支配及神经肌肉电刺激的可编程植入式神经肌肉电刺激器[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(22):4098-4102. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

0 引言

神经电刺激可用于缓解失神经肌肉逐渐衰竭无力症状的治疗^[1], 但由于缺乏公认的疗效标准, 失神经肌肉的电刺激在临床治疗方面还没有得到广泛的应用。植入电刺激器的动物实验可研究各种刺激协议对失神经肌肉生长及代谢的影响, 寻找有效的刺激方式, 进一步研究相应协议下细胞组织的基本生物学机制, 为进一步的临床研究奠定基础。

功能性电刺激用于防治神经损伤患者骨骼肌的萎缩, 是学者们研究的热点。Hood等^[2]研究发现, 慢性低频率电刺激可提高大鼠胫骨前肌的耐力, 而肌肉耐力很大程度上取决于肌细胞内线粒体的数量、肌肉的血液供应以及肌细

胞对ATP的消耗方式。电刺激后肌细胞线粒体内的枸橼酸合成酶、琥珀酸脱氢酶的活性较对侧明显提高。电刺激能全面促进线粒体的功能, 改善肌肉细胞的供能状态^[3-4]。徐建广等^[5]的实验研究表明, 电刺激对反映肌肉细胞活力和肌肉收缩功能的Na⁺-K⁺-ATP酶及Ca²⁺-ATP酶活性有较好的保护作用。

与此同时, 用于动物实验的电刺激器也在不断研究发展中。Salmons^[6]于1967年首次成功设计了一个适用于兔和猫的全植入电刺激器(电池供电), 当时, 分立元器件是惟一的选择, 因而电路体积偏大, 功能单一。如今随着微电子技术发展和功能强大的微控制器的出现, 设计一种体积更小, 功耗更低和功能更强大的电刺激器已成为现实。而在失神经肌肉的刺激实验过程中, 还需要设置不同的刺激协议, 以达

到最好的疗效。实验描述一种基于红外通信的可编程全植入式电刺激器, 具有微型、参数可调、安全可靠的优点, 适用于非临床的基础研究, 如植入到大鼠等实验室小动物体内, 以观察电刺激在促进失神经骨骼肌生长等组织工程中的作用。

1 材料和方法

设计: 神经电生理实验。

时间及地点: 于2009-11在中国医学科学院生物医学工程研究所, 生物信息检测与处理实验室完成。

材料: 微处理器芯片MSP430两片购自美国TI公司。

主要试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
生理盐水、异丙醇	天津医药
医用硅胶	Donaldson
数字示波器	Tektronix
电极	Stoelting

实验方法:

电刺激器系统基本结构和设计思路: 实验用于动物实验的植入式电刺激系统框图如图1, 由植入皮下的体内刺激脉冲发生器和体外控制器构成。

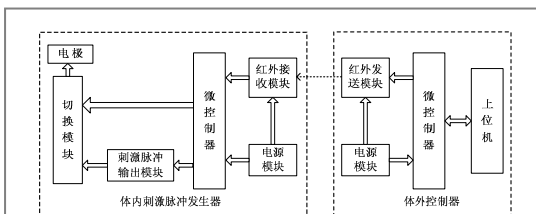


Figure 1 Block diagram of animal experiments stimulator system

图1 动物实验刺激器系统框图

刺激脉冲发生器包括: 微控制器模块、电源模块、红外接收模块、刺激脉冲输出模块、切换模块和电极等。体外控制器是由上位机软件、微控制器和红外发射电路等构成。用户可以通过上位机界面方便地设置刺激协议和参数, 上位机通过串口通信将这些数据发送到体外控制电路, 经调制编码后, 通过红外发射电路向体内刺激器传送相应刺激协议和参数。体内刺激器的红外通信模块接收到相关刺激控制参数后, 由微控制器配合外围模块产生相应的刺激波形, 然后通过电极对神经或肌肉进行设定的电刺激。

体内刺激脉冲发生器采用16位超低功耗FLASH型单片机MSP430F1121A^[7], 其20个引脚的小封装适合于植入式设计。片上的时钟模块负责为内部各模块灵活配置不同频率的时钟。基于低功耗设计的思想, 选择外接32 768 Hz石英晶振, 配合片内的数字控制振荡器和定时器, 获得精确的1 MHz的时钟源。同时, 软件设计过程中可灵活应用各种工作模式降低整个电路的功耗。

刺激脉冲由PWM电荷泵电路实现, 电压幅值的调节电路由PMOS开关、二极管、电阻和电容构成, 可在3 V电压供电下, 得到峰峰值为4~12 V的刺激电压, 满足植入式设计的需要。电池的寿命主要取决于平均消耗电流^[6], 本刺激器在低功耗情况下的电流消耗为微安级, 因而选用两块银锌电池SR626SW作为电源, 提供3 V的电压。其放电曲线比较平坦, 仅在寿命的末期, 电压才会显著下降。基于高速切换、植入式设计的需要, 切换模块采用双2选1的集成模拟开关ADG1436, 导通电阻仅为1.5 Ω, 功耗仅仅60 nW, CSP封装(4 mm×4 mm), 输入电流达到400 mA, 切换速率快、无抖动、耗电省、体积小、工作可靠且容易控制。

电极导线采用直径为0.25 mm的特氟龙封装的纯银导线(Stoelting), 相比于常用的不锈钢丝导线, 纯银导线有更好生物兼容性和传导性能。植入导线的长度比实际需要的长30%, 以避免运动中的电极牵拉。实验过程中, 根据刺激的对象来选择电极的形状, 常用铐型银电极刺激目标神经。片型银电极刺激目标肌肉群, 并且在电极外围覆盖着硅胶片, 不仅有利于附着在肌肉上, 而且能够有效地防止漏电对周围组织的损伤^[8]。

软件设计和刺激协议: 系统软件包括体外软件和体内软件。体外(上位机)软件主要实现刺激参数设置和红外通信功能。实验上位机软件RS232 Control System V1.0的设计基于Visual C++ 6.0^[9], 用户界面如图2所示。

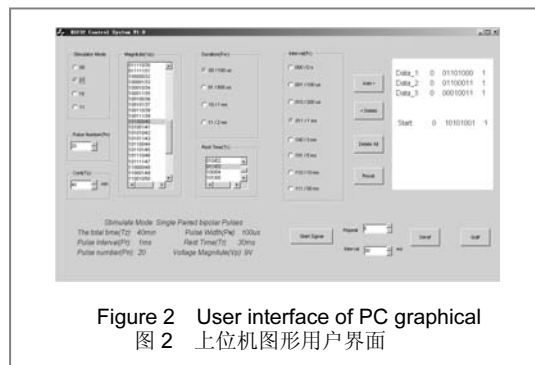


Figure 2 User interface of PC graphical
图2 上位机图形用户界面

中国医学科学院、北京协和医学院生物医学工程研究所, 生物信息检测与处理实验室, 天津市 300192

宋光★, 男, 1986年生, 山西省天镇县人, 汉族, 中国医学科学院、北京协和医学院在读硕士, 主要从事生理信号检测与硬件电路设计及信号处理等方面的研究。
song_job@163.com

通讯作者: 沙洪, 硕士, 研究员, 硕士研究生导师, 中国医学科学院、北京协和医学院生物医学工程研究所, 天津市 300192
sha_hong_2000@hotmail.com

中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 1673-8225 (2011)22-04098-05

收稿日期: 2011-03-06
修回日期: 2011-04-09
(20110306011/WJ·W)

图3所示为实验各种刺激参数的定义^[10]。

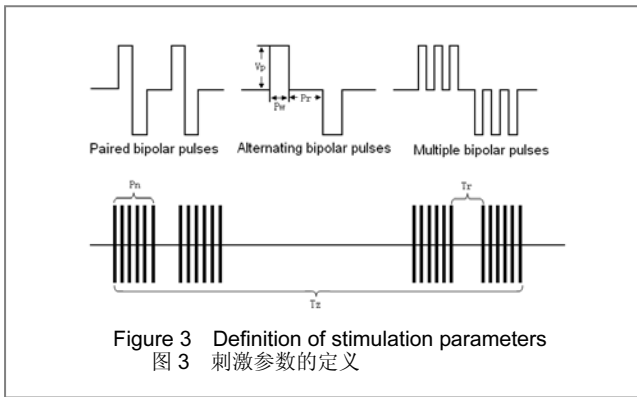
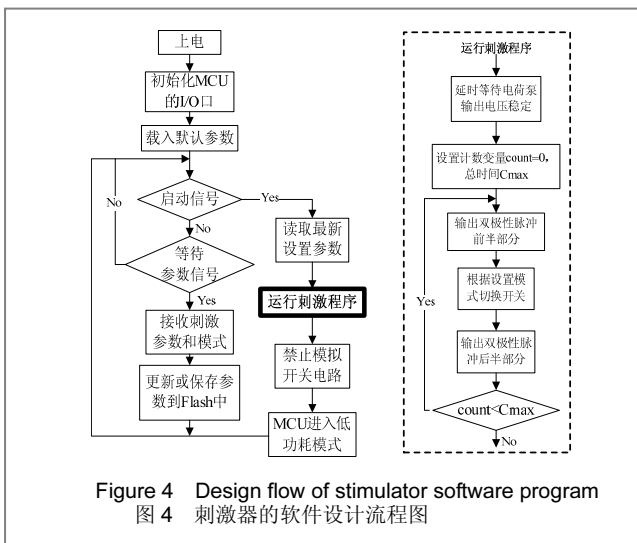


图3中, V_p 为刺激电压, 幅值为4~12 V, 分辨率为0.1 V; T_z 为刺激总时间, 范围在10~90 min, 分辨率为10 min; P_n 为脉冲串的脉冲个数, 范围为0~100; P_w 为脉冲宽度, P_r 为脉冲间歇时间, T_r 为休息时间, 详细设置见图2。根据图3的参数定义范围和实验的要求, 在上位机软件设置合适的刺激参数, 按下发送按钮, 即可通过红外通信将设置参数发送到体内刺激器。再次按下启动信号时, 体内刺激器按照接收到的刺激参数工作。上位机与体外控制器之间的通信采用标准RS232串口协议。

体内刺激脉冲发生器的软件设计流程图如图4, 上电后, 初始化微控制器的I/O口并载入默认参数, 进入低功耗睡眠模式等待以降低功耗。当接收启动信号时, 刺激器以默认参数产生刺激脉冲序列; 当接收到刺激模式和参数信号, 则将其存储到Flash中, 等待启动信号, 进入刺激模式, 产生新的刺激脉冲序列。体内刺激器运行刺激程序时, 根据电压幅值, 产生一个特定PWM波形控制电荷泵, 并延时等待电压稳定, 再利用软件编程配置模拟开关电路产生刺激波形。

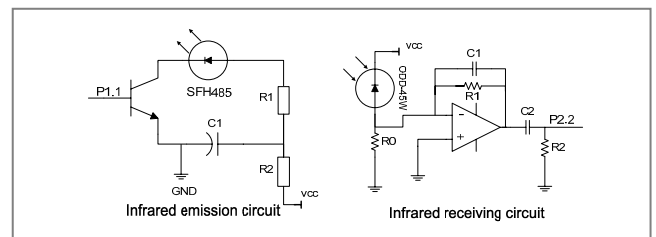
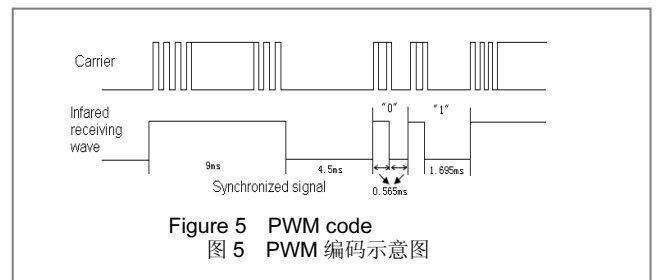


刺激脉冲采用电压平衡且对称的双相脉冲。因为单极性脉冲或电荷不平衡的双相脉冲会导致净离子流, 造

成组织损伤和电极阳极腐蚀。双相脉冲的负脉冲起神经纤维去极化作用, 正脉冲起电荷平衡作用, 避免了在电极之间产生直流分量引起组织损伤。为进一步保护组织, 避免电极受水解作用的腐蚀, 在刺激脉冲间的间隔时间设置高阻抗输出, 以减小因漏电在电极之间产生的电流, 重要的是可使组织的正常生理电压梯度在此间隔时间内得到恢复^[11]。

红外通信: 目前, 植入式器件与体外控制器之间短距离通信的技术主要有无线射频通讯(RF)和红外数据通讯(IrDA)。其中RF以成熟的技术在实验设计中有较为广泛的应用, 但其电路和器件的体积较大, 功耗较大, 且对实验动物有电磁辐射, 对植入设备造成电磁干扰。IrDA在日常生活中应用较多, 如红外遥控器, 采用波长为700~1 100 nm的近红外光, 其吸收系数小, 穿透能力强。与RF相比, IrDA的电路和元器件体积小、质量轻, 且具有高的抗电磁干扰能力, 无需电磁屏蔽和特殊的非金属笼, 适用于植入刺激器的经皮通信^[12]。本系统选择880 nm的近红外光作为通信载体。

植入式器件与体外控制器通信时, 脉冲编码和解调是通过微控制器和发射、接收电路共同实现的^[13]。采用图5所示的脉冲宽度调制编码。发射电路由驱动电路和功率红外发射二极管(SFH485)构成, 接收电路由高灵敏度GaAlAs光电二极管(ODD-45W)和放大电路构成, 见图6。其中, SFH485的峰值波长为880 nm, 功率为200 mW; 在光密度相同的条件下, GaAlAs型比CMOS型光电二极管的灵敏度更高, 其转化效率达到43.1%, 因此选择使用ODD-45W为接收管。为了提高红外通信的传递效率和准确度, 通讯时需要人工实现对准, 即发射管与接收管的角度一致且距离最短; 发射电路多次发送刺激参数, 且同时发送参数的补码, 以实现校准, 减小误码率。



2 结果

2.1 集成与测试结果 刺激器植入部分的体积和质量、安全性和稳定性是必需考虑的因素, 对实验对象和实验设计至关重要。本次设计采用双层结构电路板(12 mm×14 mm×0.5 mm), 所有元器件均选择小尺寸的贴片封装, 电池采用质量为0.34 g, 容量为25 mAh的SR626SW(6.8 mm×2.6 mm)。经过硅胶封装之后, 电路板总质量小于5 g, 体积仅为1.5 cm³。

实验刺激器可处于低功耗待机模式(Low power mode, LPM)或进行不同刺激的工作模式。刺激模式(Stimulation Mode 1, SM1)和(Stimulation Mode 2, SM2)的参数如表1所示。

表1 刺激模式1, 2的参数
Table 1 The parameters of two kinds of stimulating patterns

	V _p (V)	P _w (μs)	P _r (ms)	T _r (ms)	P _n	T _z (min)	R _L (KΩ)
SM1	9	100	1	60	10	10	1.5
SM2	6	1 000	2	60	5	10	1.5

SM1: Stimulation Mode 1; SM2: Stimulation Mode 2

在LPM待机模式和SM1、SM2刺激模式下, 刺激系统的安全性和稳定性等性能测试和分析如下:

① 在3种模式下, 分别对电路各模块的功能和电流消耗监测12 h, 结果显示, 在50 mAh的电量供电下, 整个植入设备可以待机12 000 h。SM1条件下, 电极平均电流为40 μA, 能够工作约720 h。SM2条件下, 电极平均电流为70 μA, 能够工作约500 h, 见表2。植入刺激器的工作寿命与工作模式相关。

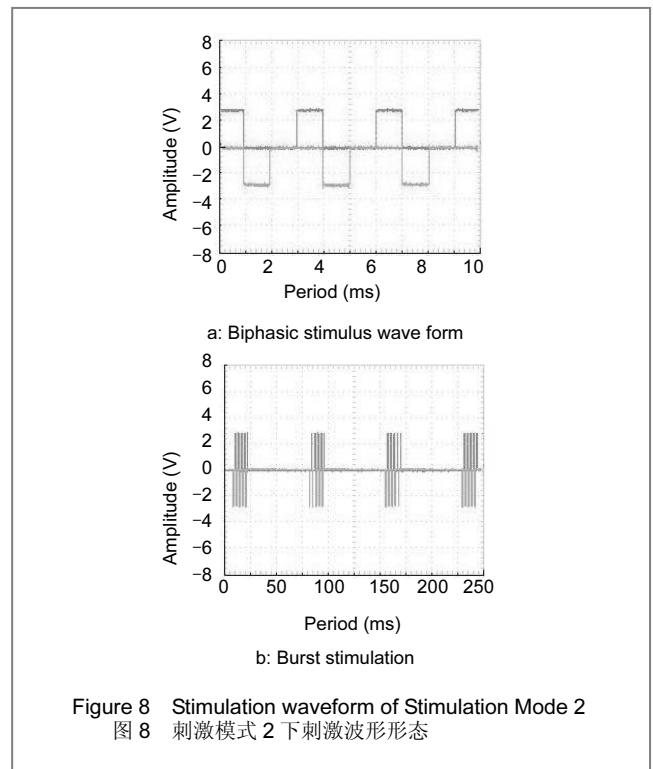
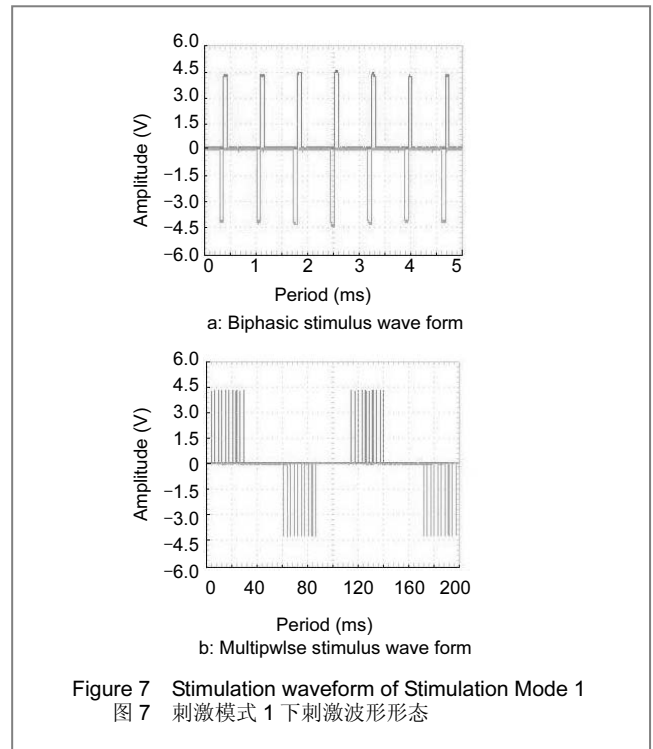
表2 刺激器在低功耗待机模式、刺激模式1, 2下的电流消耗
Table 2 Current consumption of stimulator under low power mode (LPM), stimulation mode 1 (SM1) and stimulation mode 2 (SM2)

Item	LPM	SM1	SM2
MSP430	1.9 μA	20 μA	20 μA
ADG1436	10 nA	50 nA	50 nA
Charge pump	2 μA	10 μA	8 μA
Electrode	0	40 μA	70 μA
Total circuit	3.92 μA	70 μA	100 μA
Battery life	12 000 h	720 h	500 h

②在SM1模式下, 刺激电压为4.5 V, 数字示波器监测电极输出波形如图7所示。图7a输出双相波形的参数与刺激模式的幅值和频率等参数一致。图7b中所示为多脉冲双相波形。

③通过红外通信将刺激器的刺激协议设置为SM2, 刺激电压为3 V, 示波器监测结果如图8所示。图8a为双相刺激波形, 图8b为刺激脉冲串, 其幅频等

参数与SM2一致。



刺激器经性能测试后, 用异丙醇将所有元器件清理干净, 涂上聚合树脂保护层, 再使用具有良好生物相容性的医用硅胶封装电路^[14]。将密封好的刺激器放在40 °C的生理盐水中, 进行24 h的耐热测试, 检测发现硅胶密封完好, 工作稳定。将刺激器设置为低功耗模式, 封好电极, 等待植入到动物体内进行实验。

3 讨论

实验设计了一种参数可调的单通道全植入电刺激器, 适用于大鼠等实验动物的失神经肌肉慢性电刺激实验。设计采用了低功耗微控制器, 并通过红外通信对体内刺激器编程设置刺激协议。在设置刺激模式与参数时, 采用无线近红外光通信, 没有经皮导线。避免引起感染, 可使实验动物处于自由活动状态。工作测试结果表明, 各种刺激模式和参数可以由体外控制器通过红外通信设置, 但是, 植入式器件与体外控制器采用红外通信的技术还不成熟, 相对于射频通信, 其稳定性和传输效率还有待完善。实验刺激器体积小、质量轻, 工作稳定, 安全性高, 可植入到动物体内进行电刺激实验。

本系统适用于实验动物的病理生理和行为学实验等, 有很好的应用前景。目前, 当植入到动物体内工作时, 还不能实时监测刺激目标组织的准确电压和电流。今后的研究工作是实现刺激参数实时监测并向多通道刺激方向发展。

4 参考文献

- [1] Nicolaidis SC, Williams HB. Muscle preservation using an implantable electrical system after nerve injury and repair. *Microsurgery*. 2001;21(6):241-247.
- [2] Hood DA, Parent G. Metabolic and contractile responses of rat fast-twitch muscle to 10-Hz stimulation. *Am J Physiol*. 1991;260(4 Pt 1):C832-840.
- [3] Takahashi M, Hood DA. Chronic stimulation-induced changes in mitochondria and performance in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 1993;74(2):934-941.
- [4] Yu SM, Hung LM, Lin CC. cGMP-elevating agents suppress proliferation of vascular smooth muscle cells by inhibiting the activation of epidermal growth factor signaling pathway. *Circulation*. 1997;95(5):1269-1277.

- [5] Xu GJ, Tu YQ, Gu YD. Effect of electric stimulation on denervated muscle atrophy. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2003;17(5):396-399.
- [6] Salmons S. An implantable muscle stimulator. *Physiol*. 1967;188(2): 13-14.
- [7] Shen JH. Beijing: Qinghua Daxue Chubanshe. 2008. 沈建华. MSP430系列16位超低功耗单片机原理与应用[M].北京:清华大学出版社,2008.
- [8] Dennis RG. Bipolar implantable stimulation for long-term denervated muscle experiments. *Med Biol Eng Comput*. 1998;36(2):225-228.
- [9] Gong JW. Beijing: Dianzi Gongye Chubanshe. 2008. 龚建伟. Visual C++/Turbo C串口通信编程实践(第2版)[M].北京:电子工业出版社,2008.
- [10] Russold M, Jarvis JC. Implantable stimulator featuring multiple programs, adjustable stimulation amplitude and bi-directional communication for implantation in mice. *Med Bio Eng Comput*. 2007;45(7):69-699.
- [11] Scheiner A, Mortimer JT, Roessmann U. Imbalanced biphasic electrical-stimulation-muscle-tissue damage. *Ann Biomed Eng*. 1990;18(4):407-425.
- [12] Bruce C, Larson. An optical telemetry system for wireless transmission of biomedical signal across the skin. Massachusetts Institute of Technology. 1999.
- [13] Sha H, Zheng Z, Wang Y, et al. A microcontroller-based implantable nerve stimulator used for rats. *IEEE Engineering in Medicine and Biology 27th Annual Conference*. 2005;6:6176-6179.
- [14] Millard RE, Shepherd RK. A fully implantable stimulator for use in small laboratory animals. *J Neurosci Methods*. 2007;166(2): 168-177.

来自本文课题的更多信息--

作者贡献: 实验设计者为第一、二作者, 实施者为第一、二作者, 评估者为全部作者, 资料收集者为第一、三作者, 校审者为第三作者, 第一作者成文并对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

本文创新性: 实验设计的植入式可编程的电刺激器采用红外通信设置刺激参数, 相对于普遍采用的射频通信, 其对刺激器的干扰和实验动物的辐射更小, 结构简单, 成本更低。实验刺激器具有低功耗、应用灵活和可靠安全等优点, 适用于动物实验。

首届中华医学会显微外科分会显微骨修复研讨会暨第八届全国骨坏死治疗学习班通知

为积极推动显微骨科和髋关节外科的发展, 由中华医学会显微外科分会显微骨科学组、中国修复重建学会骨缺损及骨坏死学组、《中华医学杂志》、《中华显微外科杂志》和大连大学附属中山医院共同举办国家级继续教育项目: “首届中华医学会显微外科分会显微骨修复研讨会暨第八届全国骨坏死治疗学习班通知” 拟于2011年7月15~17日在美丽的海滨城市大连召开。届时将邀请国内外著名专家进行专题讲座和新技术演示, 与会代表将授予 I 类学分 10

分, 优秀论文于《中华医学杂志》和《中华显微外科杂志》将优先刊发。

1. 征文内容: ①骨显微外科的基础及临床研究; ②髋关节外科的基础及临床研究; ③骨缺损和骨坏死的临床经验及基础研究。

2. 征文要求: 未公开发表的3000字以内全文和500字摘要各1份, 论文要求具有科学性、先进性, 真实性与实用性, 自留底稿, 概不退稿。为便于文献录入汇编, 请邮寄打印稿和3.5英寸软盘, 也可以电子邮件的方式投稿。入选

论文将编入汇编, 截稿日期: 2011年5月30日。

会议时间为2011年7月15~17日(报到时间: 2011年7月15日)。报到地点: 大连博览大酒店(大连市中山区解放街1号)。注册费1000元, 食宿统一安排, 费用自理。

联系电话: 0411-82108116; 62893509

传真: 0411-82108116

E-mail: gksys@126.com

通信地址: 大连市中山区解放街6号(大连大学附属中山医院骨科)

邮编: 116001

联系人: 王本杰、王威