·基础研究·

# 基于无线刺激与遥测系统的心房颤动动物模型*

陈雯雯[1] 陈颖敏[1] 徐瑾[1] 罗章源[2] 张文赞[2] 严国锋[3]

[摘要] 目的 探索一种可控、可靠、安全的心房颤动(简称房颤)动物模型的建立方法。方法 自主设计并制作一种基于 Microchip 公司的 PIC18(Peripheral Interface Controller,外围接口控制器)系列单片机和 TI 公司的 RF(Radio Frequency,射频)无线收发芯片 CC1101 CC1101(Chipcon 公司)的植入式遥测刺激器,植入比格犬背部,记录电极留置腹侧皮下,刺激电极缝合于左心耳上,在犬清醒自由的条件下,通过计算机专用心电软件连续监测体表 II 导联心电信号,并发放间歇(刺激 1 s,暂停 2 s)高频(频率 30 Hz)阈上(强度 2 mA,脉宽 5 ms)刺激,若间歇期内出现房颤,则人为干预中止刺激,若转为窦性心律,则继续刺激。结果 植入式遥测刺激器在体外可稳定工作(包括采集模拟心电信号和发放刺激)30 天,植入犬体内刺激 3 天后可诱导出房颤,持续时间最长达 8 h。结论 应用植入式遥测刺激器是建立房颤动物模型的可行性方法之一。

[关键词] 心血管病学;植入式;程控;遥测;心房颤动;模型
DOI:CNKI:42-1421/R.20120605.0924.017
网络出版时间:2012-06-05 09:24
网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/42.1421.R.20120605.0924.017.html
中图分类号 R541.7+5 文献标识码 A 文章编号 1007-2659(2012)03-0241-05

**An animal model of atrial fibrillation by means of stimulation and telemetry system based on wireless.** CHEN Wen-wen[1], CHEN Ying-min[1], XU Jin[1], LUO Zhang-yuan[2], ZHANG Wen-zan[2], YAN Guo-feng[3]. 1 Cardiovascular Department, Renji Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200001, China; 2 Genix Biotek Science Technology CO., LTD; 3 Dapartment of Laboratory Animal Science Shanghai Jiaotong University School of Medicine
Corresponding author: CHEN Ying-min, E-mail: chenyingmin@medmail.com.cn

[Abstract] **Objective** To explore a controllable, reliable and safe method to establish an animal model of atrial fibrillation. **Method** We designed an implantable telemetry and stimulator based on Microchip's microcontroller of PIC 18 series and TI's CC1101 RF wireless transceiver chip independently, which we implanted into the back of the Beagle. The recording electrodes were left under the ventral skin while the stimulating electrodes were sutured on the surface of the left atrial appendage. We monitored the surface Ⅱ lead electrocardiograph continuously through computer software and emitted intermittent (to stimulate 1 s and pause 2 s), high frequency (30 Hz), and up the threshold (intensity of 2 mA and pulse width of 5 ms) stimulations. If atrial fibrillation was observed, we suspended the stimulations, otherwise we continued the stimulations. **Results** In vitro, the implantable telemetry and stimulator could run stably for 30 days, including recording analogous electrocardiograph and emiting stimulations. Atrial fibrillation was successfully induced in the survival Beagle after 3 days stimulating. The longest duration of atrial fibrillation was 8 hours. **Conclusion** Implantable telemetry and stimulator can be feasible in the establishment of animal model of atrial fibrillation. [*Chinese Journal of Cardiac Pacing and Electrophysiology*, 2012, 26(3): 241-245]

[Key words] Cardiology; Implantable; Programmed; Telemetry; Atrial fibrillation; Model

目前心房颤动(简称房颤)动物模型主要是先在动物身上建立房颤发生的基础,如模拟临床上的心肌病、心瓣膜病、心肌缺血、心力衰竭(简称心衰)、高血压等病理过程,或给予一段时间的快速基础起搏,再用程控期前刺激或猝发刺激诱导房颤,方法比较复杂,动物可能还需要二次手术。Wijffels 等基于"房颤致房颤"思想的山羊模型比较经典[1,2],但放置在山羊体内的电极需通过导线连接于体外的脉冲发生仪,动物活动受到限制。笔者设想将刺激系统与心电信号监测系统制作成无线遥控与遥测模

* 上海市科委资助项目(项目编号:09140901800)
作者单位:1 上海交通大学医学院附属仁济医院心内科(上海 200001)
2 杰升生物科技(上海)有限公司
3 上海交通大学医学院实验动物科学部
作者介绍:陈雯雯(1986-),男(汉族),福建漳州人,硕士研究生,专业方向为心律失常的临床与基础。
通讯作者:陈颖敏,E-mail:chenyingmin@medmail.com.cn

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

式，一次手术植入动物体内，计算机专用软件控制刺激信号，采集心电信号，模拟并优化 Wijffels 等的房颤动物模型。

## 1　材料与方法

### 1.1　无线刺激与遥测系统的设计与工作模式

整个遥控与遥测主要包括：体内植入式遥测刺激器、体外无线信号接收与控制系统、计算机分析存储显示系统三部分，适用于动物和科学研究的基础领域，其工作示意图如图1，其内外控制与通讯设计如图2。

**1.1.1　体内植入式遥测刺激器**　体积 50 $cm^3$ 以内，重量 30 g，在完全开启心电采集和刺激的模式下系统平均工作电流为

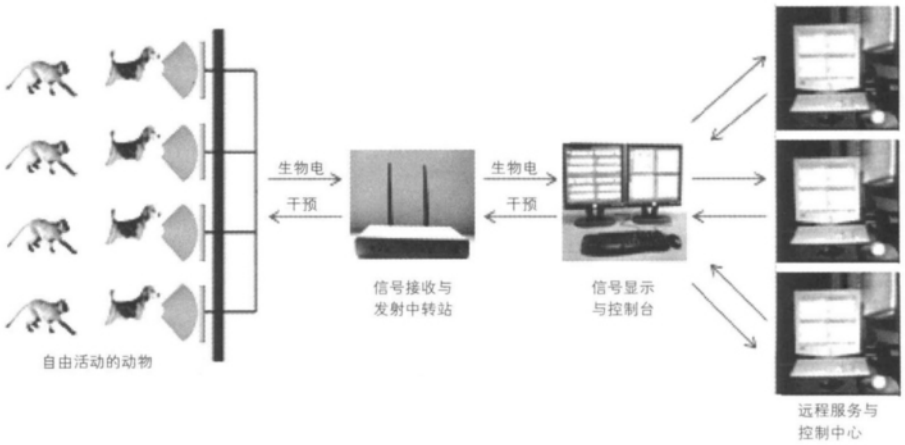


图1　无线遥测刺激系统工作示意图

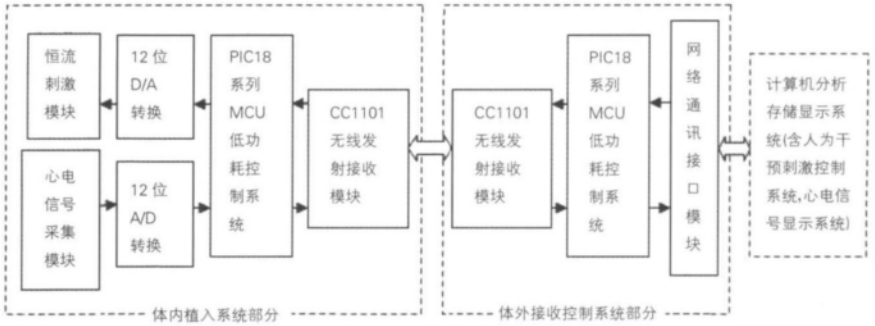


图2　植入式无线刺激遥测器控制与通讯设计

700 μA，2 000 mAh 电池供电情况下连续工作时间 > 90 天。体内植入式遥测刺激器电路设计及实物图见图3。

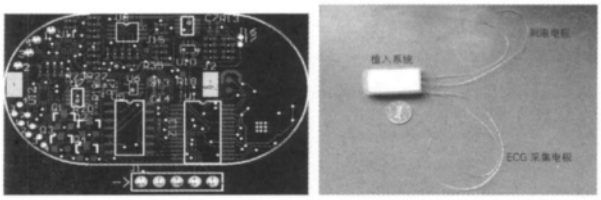

图3　体内系统电路设计及实物图

整个植入系统的核心是 Microchip 公司的 PIC18 系列单片机，TI 公司的 RF 无线收发芯片 CC1101[3]。Microchip nanoWatt XLP（Extreme Low Power，超低功耗）技术实现业内领先的超低功耗，具有小型化、低功耗、高性能的特点，在 3 V、32 kHz 下典型工作电流值 25 μA，待机电流典型值为 0.2 μA；CC1101 是一种低成本单片 UHF（Ultra High Frequency，特高频）收发器，具有基于 0.18 μm 的 CMOS（Complementary Metal Oxide Semiconducto，互补金属氧化物半导体）晶体的 Chipcon 公司的 SmartRF04 技术，可设定为 ISM（Industrial Scientific and Medical，工业、科学、医学）433、868、915 MHz 频率波段，传输速率可达 500 kbps，灵敏度高、电流消耗低，功率输出可编程控制；心电采集部分有两级放大及滤波电路组成，采用 TI 公司最新基于三运放的超低功耗 INA 321（Instrument Amplifier，仪表放大器），具有高输入阻抗、高共模抑制比的特点，前级放大倍数 5 倍，由于 72 Hz 以上的干扰信号较强，而 0.05 Hz 以下的干扰信号相对较弱，所以在滤波电路中，采取先采用 72 Hz 低通滤波，然后接 0.05 Hz 高通滤波，后级放大采用了 TI 公司的低功耗零交越轨至轨高精度 OPA 2369（Operational Amplifier，运算放大器），该芯片具有 1 μA 静态电流及低至 1.8 V 的单电源工作电压，750 μV 的出色失调电压与 100 dB 的最小 CMRR（Common Mode Rejection Ratio，共模抑制比），120 nV/rtHz 低噪声、1 μA 下的 12 kHz 增益带宽、最大 50 pA 的低输入偏置电流、最大 1.75 μV/℃ 的低电压失调漂移、94 dB 的 PSRR（Power Supply Rejection Ratio，电源抑制比）以及 3.6 μVp-p（0.1 至 10 Hz）的低 1/f 噪声等优异特性。刺激部分由 MCU（Micro Control Unit，微控制器）产生电压脉冲发生单元、双向模拟开关、运算放大器与电阻构成压控恒流电路。双相电压脉冲发生单元产生双相电压脉冲模拟信号，双向模拟开关可以将恒流脉冲实现双相波输

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

出，刺激输出的脉冲波为可分为连续波形、间隔波形、连续双相波、间隔双相方波，刺激强度可根据实验需求输出 0～5 mA、电流调节精度为 0.1 mA，频率范围 0～100 Hz，占空比 0%～100% 可调节，刺激间隔周期可任意设计，调节精度为 100 μs，通过压控恒流电路使输出波形具有较为陡峭的上升沿，电极负载的生物组织的阻抗在一定范围变化时保持波形稳定[4]。

1.1.2 USB 体外无线接收系统 系统包含了 CC1101 无线接收发射模块，PIC 微控制系统，USB 信号传输模块，信号指示处理存储模块，电源模块；可实现体内外信号的无线接收，无线收发距离达到 30 M 以上[5]。体外接收系统电路设计及实物图见图 4。

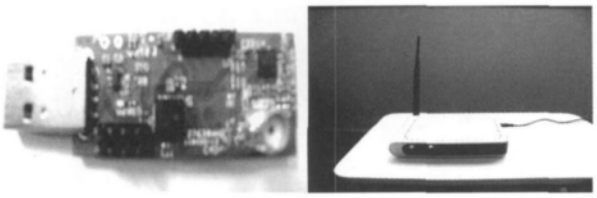

图 4 体外接收系统电路设计及实物图

1.1.3 计算机显示分析存储系统 数据采集分析系统可通过计算机实时观察监测每个实验动物的心电信号，并能直接测量所需参数，判断心律类别，如窦性心律或房颤的发生，见图 5；同时通过专用计算程序软件控制电刺激信号的发放及电刺激信号的周期、幅度、频率等，见图 6；所需数据完整保存及输出[6]。

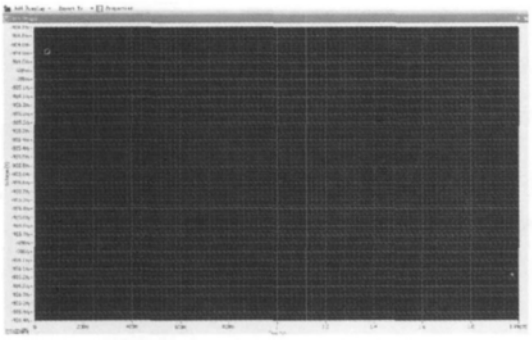

图 5 心电采集软件界面图

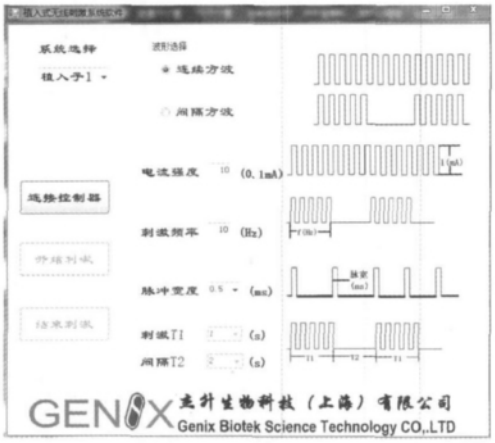


图 6 刺激程序控制调节软件

1.2 动物实验方法

比格犬，氯胺酮诱导麻醉，气管插管，机械通气，异氟烷维持麻醉。左侧背部皮肤切开，制作皮下囊袋，置入体内植入式遥测刺激器。一对刺激电极通过皮下隧道引至胸骨左侧第 3，4 肋间。一对记录电极一端通过皮下隧道引至左肋腹部皮下，另一端引至胸骨右侧第 1 肋间皮下，引导记录体表Ⅱ导联心电图。缝合左背部切口。左侧第 3，4 肋间切开进入胸腔，乳突撑开器撑开，剪开心包，暴露左心耳，将一对刺激电极缝合于左心耳上，电极间距离约 10 mm，缝合心包，关胸缝合。术后开启系统工作，持续监测记录体表心电信号，每天青霉素钠 80 万 IU 肌肉注射抗感染，恢复 1 周。一周后开始程控刺激，给予间隔刺激模式，固定时间参数：刺激时间 1 s，间隔时间 2 s，刺激频率 30 Hz，电流幅值 2 mA，占空比 15%。间隔时间内观察心电信号，若出现房颤，则人为干预停止刺激，若恢复为窦性节律，则人为启动刺激程序。

## 2 结果

### 2.1 植入式遥测刺激器体外测试情况

植入式遥测刺激器连续采集 1Hz 模拟心电信号 30 天，接收机所采集到模拟心电的波形无形变，QRS 波、P 波、T 波明显，无失真，信号传输稳定输出，如图 7 所示；刺激电极连续发放高频刺激 30 天，分别设置不同刺激频率、波形、幅度、占空比、间隔时间，均获得有效刺激如图 8 所示。

图 7 系统采集模拟心电信号示意图(500 ms/div)

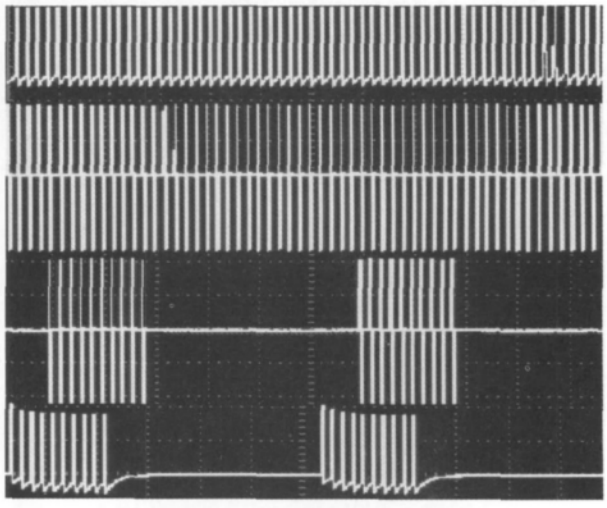

图 8 系统发放并采集刺激信号示意图

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

### 2.2　植入式遥测刺激器植入生物体实验情况

植入式遥测刺激器植入犬体内连续工作 24 天，与生物体兼容性良好，在 30 m 范围内实现体内与体外双向通信。体内的心电信号和刺激信号传输至计算机实时显示，笔者在计算机上观察、操作，人为控制刺激发放，调整刺激参数，包括刺激模式、频率、幅度、占空比。刺激前采集到体表心电信号如图 9，为规则的窦性心律，P 波、QRS 波、T 波均清晰可见，各波形态、幅度、比例协调。4 Hz 连续刺激（幅度 1 mA，占空比 1%）时采集到的心电信号如图 10 所示。30 Hz 间歇高频刺激（幅度 2 mA，占空比 15%）时采集到的心电信号如图 11，心率明显加快，1 s 刺激期间内可见 4 ~ 5 个 QRS 波，且 RR 间期不等，2 s 间歇期间可见正常的窦性心律，为防止心率过快，动物不能耐受，每天给予普罗帕酮 25 mg，倍他乐克 6.25 mg 控制心室率。持续刺激 3 天即出现房颤，如图 12，P 波消失，出现 f 波，QRS 波快而不规则，停止刺激，房颤持续一段时间后自行终止，再给予刺激，房颤复又出现，持续时间最长可达 8 h。整个过程中犬均保持清醒、自由活动状态，系统停止工作后犬仍能够继续存活。

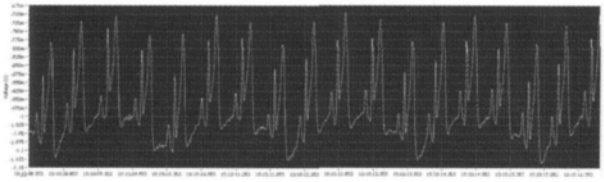

图 9　刺激前犬体表心电信号（500 ms/div）

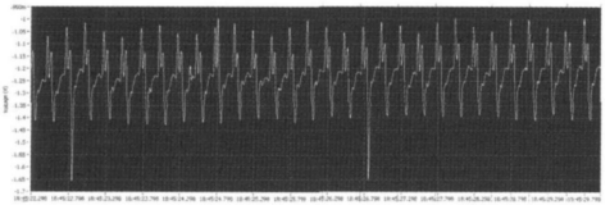

图 10　4 Hz 连续刺激时犬体表心电信号（1 s/div）

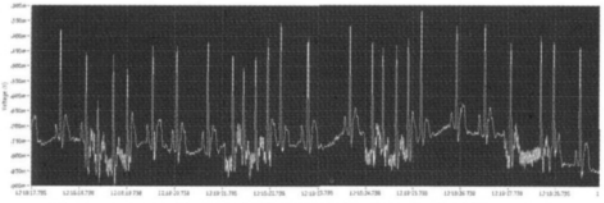

图 11　30 Hz 间歇高频刺激时犬体表心电信号（1 s/div）

## 3　讨论

电起搏（或电刺激）诱导房颤是目前房颤动物模型的主要方法之一，有经心内膜刺激和经心外膜刺激两种途径。Wijffel 等的山羊模型采用心外膜脉冲式刺激的方法，电极上连接自动感应装置，能通过电位图基线变动情况识别房颤与窦性心律，若房颤发生，则停止刺激，若房颤发生后又转为窦性心律，则刺激继续。最初，房颤的持续时间短并能自行终止，但仍处于房颤易感期，此时再次接受刺激，如此反复就能诱导出较为持续的房颤。笔者参照并改进 Wijffel 等的山羊模型，将动物从连接体内电极与体外仪器的导线束缚中解放出来，使之能够在信号传输距离允许的范围内自由活动，符合生理状态。笔者的无线刺激与遥测系统主要解决了两个问题：一是无线信号的双向传输，体内生物电信号可以传输至体外显示，同时体外控制信息可以传输至体内实施，二是集刺激与测量功能为一体，一个植入系统既能发放刺激信号，又能描记生物电信号，弥补了目前市场上用于动物实验的植入式电子产品只具备检测功能的不足，拓展了植入系统的应用前景。笔者在兔、犬等动物身上进行了应用该植入系统建立房颤动物模型的实验探索。前期在兔身上，笔者给予了连续刺激和间隔刺激两种程控刺激模式，前者给予持续的高频刺激，后者采用刺激 1 s 间歇 2 s 的形式，结果连续刺激容易发生室性心动过速，威胁动物生命，且不容易诱发房颤；间歇刺激时心房有一个 2 s 的恢复期，正好也是心房的易损期，下一个 1 s 的刺激落入易损期内，容易诱发出房颤。后期在犬身上，笔者摸索了包括手术方式、电极放置在内的方法，主要解决了如何保证刺激有效、持续发放并带动心脏搏动的问题：①犬的左心耳是刺激的理想部位，具有容易暴露、视野清晰、操作简便、出血少、对刺激敏感等优点，而犬的固有心房壁薄、位置较深，笔者曾尝试将刺激电极缝合在左房壁上，但都无法形成有效刺激。②要保证刺激持续有效发放，关键要将电极与胸腔内其它组织（尤其是肺组织）隔离，否则一旦电极与胸腔内其它组织接触，电流就会分散，发放至心耳的有效刺激成分就大为减弱，无法带动心脏搏动，因此在缝合电极后关胸之前，笔者缝合了心包，将电极与胸腔内其它组织隔离开。③高频刺激时容易形成快心室率，长期的快心室率可能导致严重的室性心律失常或心衰，动物不能耐受，因此刺激过程中要注意控制心室率，才能确保动物在高频刺

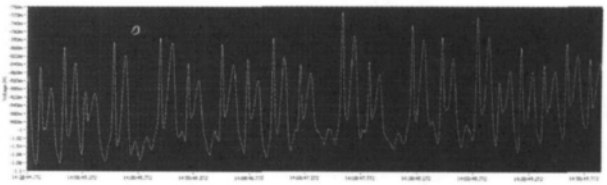

图 12　房颤犬体表心电信号（500 ms/div）

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

激条件下持续存活。最终在犬身上，笔者成功诱导出了较为持续的房颤，植入系统的工作思想得到了很好的验证；提示应用植入系统间歇刺激模式进行房颤的诱发是可行的。

笔者的实验研究只是一个起点，目前还存在以下几个局限性：①植入系统的工作时间问题。Wijffel 等用较大型的动物山羊造模，心房容积大，容纳的子波数量多，房颤比较容易产生。笔者用犬进行实验，动物来源方便，但心房容积相对小，要建立比较持续的房颤，可能需要更长的刺激时间，这对植入系统的连续工作时间提出了要求，可以通过降低植入系统的功耗，延长电池使用寿命等手段来实现。②植入系统的自动反馈问题。目前笔者通过计算机操作人工干预控制、调整植入系统的工作，存在不能及时反馈、工作量大等不足，例如房颤产生时刺激不能由系统职能程控自行中止，无法识别并终止威胁动物生命的室性心动过速等，可以通过计算机软件设计添加来实现。③心房电位的描记问题。目前笔者监测的是动物的体表心电信号，而心房电位能更加及时、直观地反映心房的电活动情况。鉴于植入系统植入动物体内工作的初步成效，笔者将进一步开展无线刺激与遥测系统以及房颤动物模型方面的研究。

## 参考文献


1 Wijffels MC，Kirchhof CJ，Dorland R，et al. Atrial fibrillation begets atrial fibrillation：a study in awake chronically instrumented goats [J]. Circulation，1995，92(7)：1 954

2 Ausma J，Wijffels M，Thone F，et al. Structural changes of atrial myocardium due to sustained atrial fibrillation in the goat [J]. Circulation，1997，96(9)：3 157

3 Luo Z，Sonkusale SS. A novel BPSK demodulator for biological implants [J]. IEEE Trans Circuits Syst I，2008，55(6)：1 478

4 Ghovanloo M，Atluri S. An integrated full-wave CMOS rectifier with built-in back telemetry for RFID and implantable biomedical applications [J]. IEEE Trans Circuits Syst I，2008，55(10)：3 328

5 Liang CK，Chen JJ，Chung CL. An implantable bi-directional wireless transmission system for transcutaneous biological signal recording [J]. Physiol Meas，2005，26：83

6 Donaldson N，Zhou L，Perkins TA，et al. Implantable telemeter for long-term electroneurographic recordings in animals and humans [J]. Med Biol Eng Comput，2003，41：654


(2011－12－29 收稿)

(李晓清编辑)

# NIH、NHGRI 拓宽测序规划，重点放在遗传性疾病和用于临床

除继续进行中的研究外，美国人类基因组研究所(National Human Genome Research Institute，NHGRI)今后 4 年的科研经费 416000 000 美元。将以探索罕见遗传性疾病的病因和加速基因组测序结果应用于临床为重点。

1996 年起，NHGRI 主要资助 3 个单位的大规模测序项目。他们完成了 Human Genome Project 的大部分工作。2003 年该项目结束，此后又产生了大量资料包括“1000 Genomes Project”(它研究人体基因变异)、“Cancer Genome Atlas”，此是 NHGRI 与 NCI(美国癌研究所)合作，旨在识别癌病人的基因组改变，这些中心的研究推动了技术的进步，降低了测序的费用，有助于此项检查应用于临床。

2011 年 NHGRI 发表他们的方针和计划，要实现基因组提高人类健康的诺言，在上述多项研究的基础上，加速基因组学应用于临床，实现“基因组医学”。

上述分配的经费主要资助基础研究：基因组如何起作用？如何参与糖尿病、心脏病、癌等常见的复杂疾病的研究？这些中心还将继续提高 DNA 测序及信息处理系统水平，要研发新的技术和软件，分析和了解源源不断产生的大量数据，并继续培训基因组研究者和技术人员。

为加速基因组学应用于临床诊疗，NHGRI 还将为今后 4 年“Clinical Sequencing Exploratory Research Project”提供 40 000000 美元的经费：该多学科的新科研团队将开阔基因组测序信息应用于临床的道路。临床医生、伦理学家、基因组科学家、病人、家属等将一起学习，投入为基因组测序用于临床的重要经验，并研究改善方法，以利将来的应用。

我们预见基因组测序将成为临床医学常规的一部分，这项研究将回答如何将基因组资料纳入临床记录？如何提取病人基因组测序的有关资料？基因组测序资料的取得如何影响临床医生关于治疗的建议？等一系列问题……

NHGRI 为“高通量测序数据分析工具”(开发分析数据的工具)提供 4 年共 20 000 000 美元的经费。由于测序的费用降低，较小的实验室亦能开展此项工作，所以工具成为目前的一个挑战，急需研究出更为适用的软件。(NIH News. Dec 6，2011. 余国膺摘译)

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net