文章编号:1000-5404(2007)19-1855-04

论著

从神经电信号中分析眼轮匝肌功能状态的动物实验研究

曹 军[1],邵时云[2],李 辉[2],李 乐[3],Tong Kaiyu[3] ([1]第四军医大学口腔医学院正畸科,西安 710032;[2]西安交通大学生物医学工程研究所,西安 710049;[3]香港理工大学医疗科技与资讯学系)

提 要:目的 通过对支配眼轮匝肌的神经上的神经电信号(ENG)的分析,监控眼轮匝肌的功能状态。**方法** 通过植入狗面神经颧支周围的cuff电极,在体记录神经电信号。分析眼轮匝肌处于舒张状态与收缩状态时ENG的差异性,以找出监控眼轮匝肌功能状态的方法。**结果** 研究中我们提取到了能反映眨眼动作发生的ENG,经时、频域分析显示,眼轮匝肌处于舒张状态时,无论这种舒张状态是处于自然睁眼期间,还是处于眨眼动作的间期,其支配神经上的神经信号是一致的;而当眼轮匝肌处于收缩状态时,其神经信号幅值和频率都明显不同于舒张状态。**结论** 可以通过对ENG的分析来监测眼轮匝肌的功能状态。

关键词:cuff电极;面神经;眼轮匝肌;神经电信号
中图法分类号:R-322;R322.91;R338.8 **文献标识码**:A

Orbicularis oculi muscle activities by analyzing dog's electroneurogram

CAO Jun[1], SHAO Shi-yun[2], LI Hui[2], LI Le[3], TONG Kai-yu[3] ([1]Department of Orthodontics, Qindu Stomatology College, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032; [2]Biomedical Engineering Institute, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710049; [3]Department of Health Technology and Informatics, Hong Kong Polytechnic University, Hong Kong, China)

Abstract: Objective To monitor the activities of orbicularis oculi muscle by analyzing the electroneurogram (ENG) of its innervating nerve. Methods The ENG was recorded *in vivo* by a cuff electrode implanted around a dog's zygomatic branch of facial nerve. The differences between the ENG during relaxing period of the orbicularis oculi muscle and during the constricting period were analyzed to explore a way to monitor the muscle activities. Results The ENG signals indicating occurrences of eye blinking events were extracted in the study. Time-frequency analysis showed that there was no ENG difference when the orbicularis oculi muscle was in relaxing periods no mater whether it was in the nature eye-opening period or in the interval of eye blinking. The ENG of orbicularis oculi muscle in constricting period was different from the ENG in relaxing period at amplitude and frequency. Conclusion It is feasible to monitor the orbicularis oculi muscle activities by ENG analysis.

Key words: cuff electrode; facial nerve; orbicularis oculi muscle; electroneurogram

面瘫患者经常会出现闭眼功能丧失的情况,长期的闭眼功能丧失往往会造成角膜干燥、角化,甚至可以引起视力障碍,对患者的生活质量影响很大[1]。闭眼动作的发生机制在于眼轮匝肌的收缩,而支配眼轮匝肌功能活动的神经是面神经的分支,因此在面神经功能丧失的情况下,会造成闭眼功能障碍[2]。本研究拟在狗动物模型上,将cuff植入到支配眼轮匝肌的面神经颧支周围,利用这个电极在体提取神经电信号(electroneurogram, ENG),然后从神经信号上分析眼轮匝肌的功能状态,以便进一步研究面瘫患者的病因机制,寻找相应的治疗途径。

基金项目:国家自然科学基金(60371025)
Supported by the National Natural Science Foundation of China(60371025)
作者简介:曹 军(1968-),女,黑龙江省哈尔滨市人,副主任医师,副教授,主要从事生物信号的提取和神经肌肉功能调整恢复方面的研究。电话:(029)84776135, E-mail: wykun@fmmu.edu.cn
收稿日期:2007-04-19;修回日期:2007-07-02

1 材料与方法

1.1 狗面神经颧支神经信号的提取方法

1.1.1 cuff电极的结构 cuff电极为我们自行研究、制作,其结构见图1,为一个带有纵行开口的硅胶套管,内壁附着有3个电极接触点,相邻两个电极间的距离为5 mm。套管的外壁

附有一个参考电极和用于关闭套管开口的缝合线，套管的内径为3 mm。

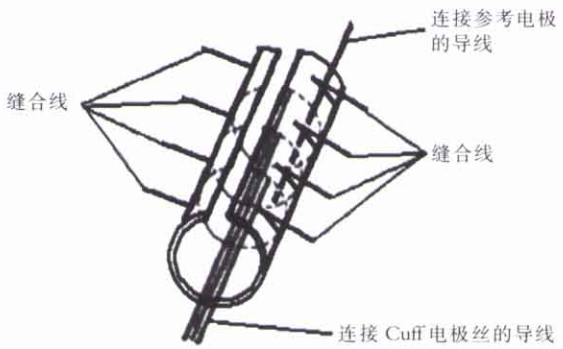


图1 cuff 电极的结构示意图

1.1.2 cuff 电极的植入方法 在全麻、消毒条件下，将上述三极 cuff 电极植入到1只成年杂种雄性狗（体质量约为15 kg）的右侧面神经颧支周围。电极植入过程：在颧弓附近可找到位于腮腺咬肌筋膜表面的面神经颧支，从周围附着组织中将神经游离出约25 mm，注意不要切断神经营养血管。经测量可知，神经的直径为2.0 mm。因此，我们选用3 mm内径的 cuff 电极，其内径大约相当于狗面神经颧支外径的1.4倍，符合电极使用要求。将神经放入套管中，以缝合线结扎的方式关闭套管的开口。经引导针引导，将植入电极的导线穿行于皮下，在前额部位穿出皮下，延伸滞留于体外。

1.2 神经电信号的提取方法

1.2.1 神经电信号的提取设备及电路连接方法 cuff 电极的中间电极接触点与放大器的阳极输入端相连，两端的两个电极接触点短接后与放大器的阴极输入端相连，这种线路接法为准三极电路接法[3]。所用放大器为低噪声放大器（SR560，Standford Research Systems Inc，CA），放大倍数为50 000，带通为1～3 kHz。参考电极与放大器的地端相连。所用放大器的输入方式为差分输入方式。将从放大器输出的 ENG 信号以20 kHz的采样频率，通过8855存储示波器（Hioki E. E Corp.，Japan）进行数字化并储存起来，以便用于信号分析。进行信号分析时，我们对原始的 ENG 信号进行了500 Hz 的高通滤波，这是因为神经信号的频率一般是高于500 Hz 的。

1.2.2 提取神经电信号时实验动物的功能状态 在植入手术14 d后，用上面所述的方法提取下列2种功能状态下狗面神经颧支的神经信号。在信号提取过程中，狗处于非麻醉状态，有饲养员帮助扶抱固定。

自然睁眼状态下狗面神经颧支神经电信号：提取一段处于自然睁眼期的神经电信号，即在提取信号期间动物一直处于自然的睁眼状态，没有眨眼及闭眼动作发生，此时眼轮匝肌应该处于舒张状态。

有眨眼动作发生时狗面神经颧支神经电信号：以在狗的右眼前晃动棉签的方法激发眨眼动作。记录一段有以这种方式诱发的眨眼动作发生时颧支上的神经电信号。

1.3 眼轮匝肌处于不同功能状态时，狗面神经颧支神经电信号差异性分析

提取数次自然睁眼状态下狗面神经颧支神经电信号和有以上述方法诱发眨眼动作发生期间的神经信号，随即从中分别截取10段自然睁眼期间，以及眨眼动作间期和眨眼动作发生时的信号，截取的信号长度均为5 000个连续数据点、0.25 s时间长度，计算不同状态下神经信号的 RMS、MPF 的平均值及标准差。

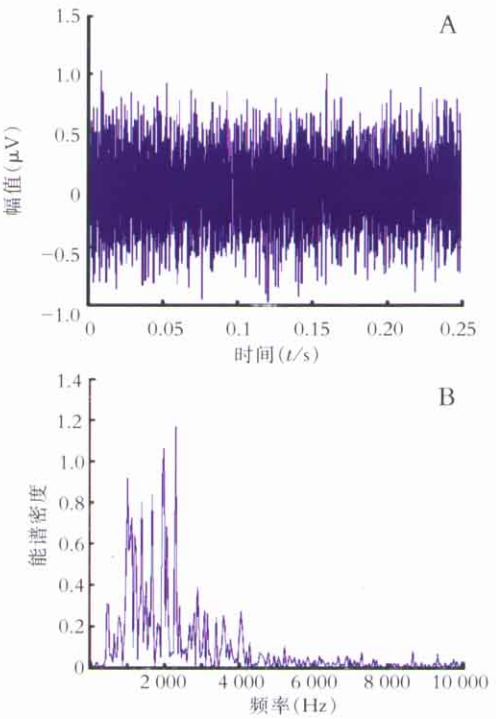
1.4 统计学分析

自然睁眼期间、眨眼动作间期和眨眼动作发生时3种状态下神经信号 RMS、MPF 的比较应用单因素方差分析，不同状态下的两两比较用 Scheffe 检验（方差齐时）和 Dunnett t 检验（方差不齐时）。采用 SPSS 11.0 统计软件。

2 结果

2.1 自然睁眼状态下，狗面神经颧支神经电信号及其频谱特征

图2A显示的是经滤波处理后的睁眼期间的神经电信号。我们认为这就是我们想要提的神经电信号，图2B显示的是其相应的功率谱图。



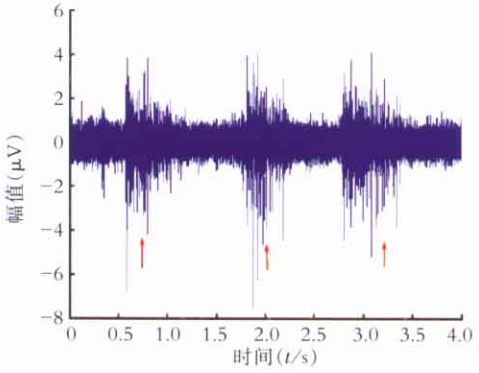
A：神经电信号图；B：功率谱图

图2 自然睁眼状态下狗面神经颧支神经电信号

2.2 有眨眼动作发生时，狗面神经颧支神经电信号及其频谱特征

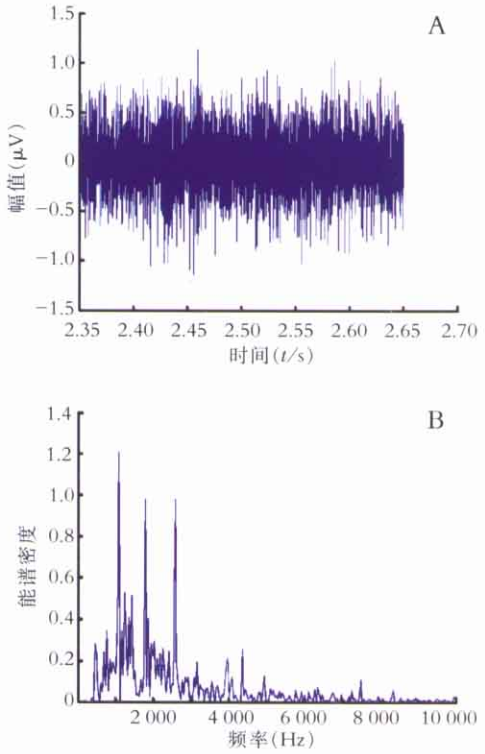
图3为有眨眼动作发生时狗面神经颧支的神经电信号，从中可以看出眨眼动作发生时的信号，如箭头所示。根据试验者在示波器上的肉眼观察，ENG 上的闭眼动作信号的发生与狗身上闭眼动作的发生是同步的。

对图 3 中所示信号进行滤波处理后,截取处于眨眼动作间期的神经电信号,图 4A 显示的就是这段信号,图 4B 显示的是其相应的功率谱。我们可以看出,图 4 中的 ENG 信号与自然睁眼时的神经信号是一致的。



↑:眨眼动作发生时

图 3　有眨眼动作发生时狗面神经颧支神经电信号



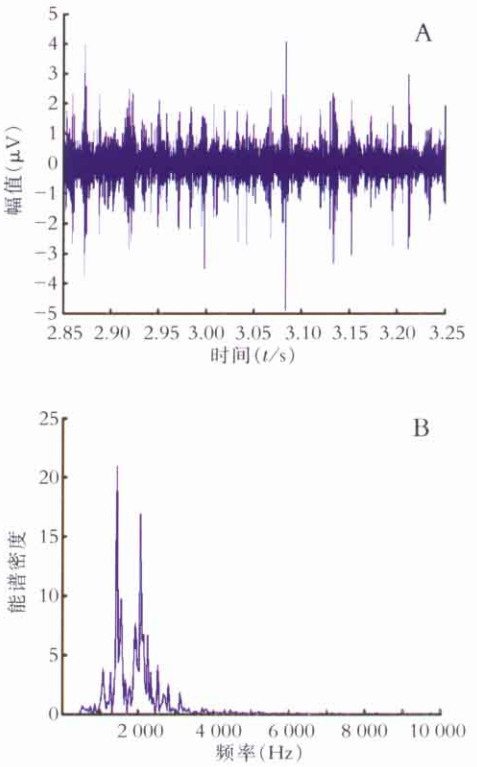
A:神经电信号图; B:功率谱图

图 4　眨眼动作间期的狗面神经颧支神经电信号

从滤波后的图 3 信号中截取眨眼动作发生时的神经电信号,图 5A 显示的就是这段信号,图 5B 显示的是其相应的功率谱。

2.3　眼轮匝肌处于不同功能状态时,狗面神经颧支神经电信号差异性分析

表 1 为从数次提取的神经信号中,分别截取的各 10 段自然睁眼期、眨眼动作间期和眨眼动作发生时的信号的 RMS、MPF 平均值及其差异性比较结果。



A:神经电信号图; B:功率谱图

图 5　眨眼动作发生时的狗面神经颧支神经电信号

表 1　不同功能状态下狗面神经颧支 ENG 信号的 RMS、MPF 值($n=10$, $\bar{x}\pm s$)

状态	RMS($\times10^{-4}\mu V$)	MPF(Hz)
自然睁眼状态	2 758.7 ± 151.4	2 706.5 ± 96.2
眨眼动作间期	2 734.3 ± 191.1	2 691.5 ± 296.4
眨眼动作发生时	5 132.4 ± 857.1^{ab}	2 254.5 ± 269.3^{ab}

a: $P<0.01$,与自然睁眼状态比较;b: $P<0.01$,与眨眼动作间期比较

3　讨论

3.1　关于神经电信号的提取

由于幅值微弱的问题,外周神经上自然发生的电活动难以记录。有人发现,如果把神经放在空气中或放在油中,相当于给神经提供了一个局限性的细胞外空间,所记录的神经信号的幅值就要升高,这是因为神经纤维外电流通道的回流电阻通道增大的缘故[4]。Hoffer 和 Stein 分析了这个现象,据此发明了 cuff 电极,这种电极可以用来记录外周神经上自然发生的神经电信号。在神经周围套上硅胶管,硅胶管的内壁附着电极丝,这样就会在神经周围产生一个局限性的小空间,可以用来长期性地在体记录神经信号。从这以后,出现了一些关于外周神经信号记录的报道(包括内脏神经和四肢神经)[5-7],如从胎羊膈神经上记录的信号,从猫正中神经和 phernic 神经上记录到的神经信

号,以及从人腓神经上记录到的信号等。这些记录到的神经信号可以应用于神经肌肉系统的(病理)生理学研究、神经状态的监控以及作为感觉信号用于神经假体的反馈控制[8-10]。

由本研究中所提取的狗面神经颧支的神经电信号的时、频域情况来看,我们提取到了神经电信号符合神经电信号的特征,且可以从中反映出眨眼动作的发生,如图3所示,这说明我们成功地提取到了ENG信号。而到目前为止,国内还少见有在体提取神经电信号的报道,因此,我们研究中应用的ENG提取方法可以为国内在这方面的研究工作提供一些参考和借鉴。

3.2 关于狗眼轮匝肌不同功能状态在面神经颧支神经信号上的反应

到目前为止,在国内外还少见关于从面神经上提取神经电信号的文献报道。而对于面瘫的病因学研究及其功能恢复来说,面神经的电信号是一种重要的信息,因此我们在本研究中,通过面神经的一个分支,做了面神经电信号方面的尝试。狗的眼轮匝肌属于面肌,其支配神经是面神经的一个分支,即面神经颧支,我们的研究结果显示眼轮匝肌不同的功能状态、在其支配神经上是由不同的信号反映的。由研究结果可以看出,自然睁眼状态下狗面神经颧支神经电信号的时、频域分布情况与眨眼动作间期的神经信号是一致的,如图2、4所示,分析计算其RMS、MPF也没有明显的差异性,如表1所示,这说明这两种状态下狗面神经颧支神经电信号是一致的。分析其原因我们认为,这两种状态下都是睁眼状态,无论这个睁眼状态是自然产生的、还是处于眨眼动作的间期,眼轮匝肌的功能状态是一致的,既都处于舒张状态,其支配神经上都应该是一种支配眼轮匝肌、使其处于舒张状态的信号,因此我们在研究中得出这两种状态下一致的神经信号是合乎这一神经作用机制的。而眨眼动作产生的机制是眼轮匝肌处于收缩状态,其支配神经上必然产生不同于使肌肉处于舒张状态的神经信号,这一机制与我们的研究结果是一致的,由图4、5可以看出闭眼动作发生时的神经信号幅值明显增加,其相应的功率谱与睁眼信号的功率谱也不一样,而表1中的定量分析也显示闭眼动作发生时,其神经信号相对于睁眼期间RMS明显增大,MPF有一定幅度的显著下降。上述结果意味着狗颧支神经上的神经电信号可以反映出狗眼轮匝肌的功能性活动,通过对支配眼轮匝肌的神经上的神经信号的分析,我们可以清晰地看出眼轮匝肌使处于收缩、还是处于舒张的功能状态,这一结果可进一步应用于面瘫的病因学研究及其功能恢复研究中。

参考文献:

[1] Rahman I, Sadiq S A. Ophthalmic management of facial nerve palsy: a review[J]. Surv Ophthalmol, 2007, 52(2): 121-144.

[2] VanderWerf F, Reits D, Smit A E, *et al*. Blink recovery in patients with Bell's palsy: a neurophysiological and behavioral longitudinal study[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(1): 203-213.

[3] Sweeney J D, Ksienski D A, Mortimer J T. A nerve cuff technique for selective excitation of peripheral nerve trunk regions[J]. IEEE Trans Biomed Eng, 1990, 37(7): 706-715.

[4] Nikolic Z M, Popovic D B, Stein R B, *et al*. Instrumentation for ENG and EMG recordings in FES systems[J]. IEEE Trans Biomed Eng, 1994, 41(7): 703-706.

[5] Rozman J, Zorko B, Seliskar A, *et al*. Selective recording of neuroelectric activity from the peripheral nerve[J]. Pflugers Arch, 2000, 440(5 Suppl): R157-R159.

[6] Donaldson-Nde D, Zhou L, Perkins T A, *et al*. Implantable telemeter for long-term electroneurographic recordings in animals and humans [J]. Med Biol Eng Comp, 2003, 41(6): 654-664.

[7] Andreasen L N, Struijk J J. Skin contact forces extracted from human nerve signals——a possible feedback signal for FES-aided control of standing[J]. IEEE Trans Biomed Eng, 2003, 50(12): 1320-1325.

[8] Keith M W. Neuroprostheses for the upper extremity[J]. Microsurgery, 2001, 21(6): 256-263.

[9] Haugland M K, Hoffer J A. Artifact-free sensory nerve signals obtained from cuff electrodesduring functional electrical stimulation of nearby muscles[J]. IEEE Trans Rehabil Eng, 1994, 2(1): 37-40.

[10] Haugland M, Lickel A, Haase J, *et al*. Control of FES thumb force using slip information obtained from the cutaneous electroneurogram in quadriplegic man[J]. IEEE Trans Rehabil Eng, 1999, 7(2): 215-227.

(编辑 薛国文)

血压计量单位恢复mmHg表示法

根据国家质量技术监督局和卫生部联合发出的质技监局量函[1998]1号关于血压计量单位使用规定的有关通知的精神,血压计量单位恢复使用毫米汞柱(mmHg),但各次使用时应注明mmHg与千帕[斯卡](kPa)的换算系数(1 mmHg=0.133 kPa)。

本刊编辑部