

国产脑深部电刺激系统动物试验研究

马羽 刘焕光 杨岸超 陈宁 李路明 郝红伟 张建国

【摘要】 目的 验证清华大学航天航空学院自主研发的国产化脑深部电刺激(DBS)系统的各项性能,为临床应用提供实验依据。方法 选取6只雄性恒河猴,年龄8~12岁,体质量10~15 kg,制成偏侧恒河猴帕金森病模型,对其实施国产DBS植入相关手术,对该系统的整体性能进行了验证。结果 从2008年1月至2009年12月进行了近24个月的动物实验验证的结果显示:整套系统组织相容性良好。术中电极入脑组织顺畅,路径无偏移,电极无回缩现象。电极与延长导线连接时,对位良好,无变形,目视标志点清晰。延伸导线和脉冲发生器连接时,延伸导线插入脉冲发生器操作方便,手术操作性良好。通过对恒河猴术后近3~18个月的长期监测与观察,系统运转正常,刺激电极电阻恒定,恒河猴对刺激反应情况稳定,效果明显,系统稳定性和功能性良好。结论 清华大学研发的国产DBS系统的生物安全性、组织相容性、系统稳定性以及刺激作用有效性均已符合国家相关规定,能够满足临床推广应用的要求。

【关键词】 脑深部电刺激术; 国产化; 动物试验验证

Experimental study on the first domestic Chinese implantable DBS device MA Yu*, LIU Huan-guang, YANG An-chao, CHEN Ning, LI Lu-ming, HAO Hong-wei, ZHANG Jian-guo. * Beijing Neurosurgical Institute, Capital Medical University, Beijing 100050, China
Corresponding author: ZHANG Jian-guo

【Abstract】 Objective To evaluate the properties of domestic deep brain stimulation (DBS) system developed by Aerospace school of Tsinghua University, which could provide experimental basis for its clinical application. **Methods** Six male rhesus monkeys, aged 8 to 12 years old, weighing 10 to 15 kg were chosen to be made unilateral rhesus monkey model of Parkinson's disease, and then DBS-related surgeries were performed for more than 20 times, therefore the overall system properties were testified. **Results** According to the results generated from the animal verification experimental, which lasted for nearly 24 months (from January 2008 to December 2009), the histocompatibility of entire system is very well. The lead could get into brain tissue smoothly without deviation during the operation, and the lead was not retracted. Leads connected well with extension in good alignment, with no distortion and clear visual landmarks. It is easy to operate when extension was connected to pulse generator. The DBS-implanted rhesus monkeys were evaluated for about 3-18 months after surgery, which showed that the system worked well, resistance of stimulating electrode was stable, and rhesus monkeys respond very well to stimulation constantly. The beneficial effect is obvious, the stability and functionality were very well too. **Conclusion** The domestic deep brain stimulation system developed by Tsinghua University possess good biological safety, biocompatibility, system stability and the surgical stimulus effectiveness are in line with national regulations, to meet the requirements of clinical applications.

【Key words】 Deep brain stimulation; Domestic; Animal experimental verification

1987年,法国学者Benabid开创了脑深部电刺激术(DBS),并成功治疗了帕金森病(PD)患者的震颤症状。随后美国Medtronic公司研制出Activa系

统,于1995年获得欧洲CE认证,1997年获得美国FDA认证。经过20年的临床应用研究,DBS的安全性和有效性已得到公认^[1-4],可用于PD、肌张力障碍、疼痛、强迫症、癫痫、肥胖等疾病的治疗^[5-8],保守估计,我国适合DBS治疗的患者超过2000万人。但是,目前我国实际DBS治疗例数仅3000余例^[9],主要原因是目前所应用的DBS系统完全依赖进口,价格昂贵,多数患者无力承受。本研究自2008年1月至2009年12月对由清华大学航天航空学院自主研制的国产DBS系统进行了近24个月的恒河猴动物试验研究,以为临床应用提供参考。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-2346.2013.04.034

基金项目:国家十一五科技支撑计划(2006BAI03A18);北京市科技新星计划(2008B43);国家自然科学基金(81070901, 81141013);北京市优秀人才(2011D003034000019)

作者单位:100050首都医科大学北京市神经外科研究所(马羽);首都医科大学附属北京天坛医院神经外科(刘焕光、杨岸超、陈宁、张建国);清华大学航天航空学院(李路明、郝红伟)

通信作者:张建国

材料与方 法

1. 实验动物:选取健康雄性恒河猴 6 只,年龄 8 ~ 12 岁,体质量 10 ~ 15 kg。

2. 模型制作:采用颈内动脉分离法制备偏侧恒河猴 PD 模型,术中沿颈动脉向上逐步分离暴露颈动脉分叉部,暂时完全夹闭颈总动脉近心端及颈外动脉,穿刺针穿刺颈内动脉,缓慢注入 1 - 甲基 - 4 - 苯基 - 1,2,3,6 - 四氢吡啶(MPTP)生理盐水溶液(0.2 mg/ml),每次注射剂量约为 10 mg(0.8 ~ 1.0 mg/kg)。术后 3 周对模型进行行为学评分及给予肌注阿朴吗啡进行旋转测试,验证模型成功。如未成功则重复制模过程。

3. 植入国产 DBS 刺激器:造模 4 周后,根据“Georgye Raxinos 恒河猴脑立体定位图谱”及猴头部 MRI 成像结果,确定植入靶点苍白球内侧核(GPi)的三维坐标,于术中采用单神经元细胞外记录方法记录 GPi 神经元放电情况,最终确认电极植入位置后,固定电极,连接延迟线和脉冲发生器(图 1)。术后在不影响进食的情况下,尽量将猴模型未手术侧肢体固定,防止抓挠伤口。

4. 术后刺激器程控观察:术后 10 d 对 PINS 系统进行程控测试,包括电极阻抗测试以及功能测试,功能测试时均采用连续刺激模式,加压时采用步进方式,步进幅度 0.1 V,编程间隔 2 s。

5. 组织学检查:动物在制模植入成功完成所规定的实验内容后处死,取猴脑行组织学检查。常规灌注固定、断头取脑,制备石蜡切片,行 HE 染色。

结 果

1. 偏侧猴 PD 模型的行为学观察:模型于术后 3 周左右出现注药对侧肢体活动显著减少,肌张力增高。4 周时进行运动评分。同时肌注突触后膜多巴胺 D₂R 受体激动剂 APO,剂量 0.2 mg/kg,模型于 10 min 左右开始出现向左侧的异常旋转运动,受刺激时加重(表 1)。整个实验过程 6 只恒河猴中除 1 只于造模后第 2 天因心脏猝死外,余 5 只术后分

别于 3 - 18 个月后处死。在对恒河猴 PD 模型的植入术后的长期观察过程中,2 只猴背部伤口由于患侧肢体灵活性的改善,不断抓挠背部伤口致感染化脓破溃,给予手术清创,并加大术中及术后 3 d 内肌注抗生素剂量,并进行密切观察及时处理。

2. 有效性评价:在刺激试验中,程控调节以脉冲发生器外壳为正极,4 个电极触点分别为负极时,加大电刺激后均可观察到恒河猴出现肢体抖动、面部抽搐等反应,证实脉冲刺激能够有效地施加到 GPi 周边的内囊区域。选定治疗刺激模式和施加电刺激后,可观察到恒河猴患侧肢体的僵硬程度有所好转,柔软性增加,运动评分均有所改善(表 1),提示植入式神经刺激系统能够有效地对脑内核团实施电刺激。长期刺激治疗后可观察到患侧肢体的抓握能力有所改善。经过术后 3 - 18 个月的长期监测,系统运转正常,刺激电极电阻恒定,恒河猴对刺激反应情况稳定,提示该系统的稳定性较好。

3. 安全性评价:每只模型在完成所规定实验内容后处死并进行病理学检测。结果显示,动物脑内无感染、无颅内血肿等并发症发生,术后伤口恢复良好,再经过饲养则毛发迅速生长,外观与正常恒河猴无异,说明该系统生物安全性良好。处死恒河猴后取出脉冲发生器时,可见发生器周围已形成一层韧性囊袋,表面干燥,无附着物(图 2a)。刺激电极植入脑内部分周围形成透明袖套状膜(图 2b),脑组织无感染排异样改变,病理切片示仅少量炎性细胞浸润(图 2c),说明该系统组织相容性较好。

4. 整体性能评价:在恒河猴术中,用示波器记录植入式神经刺激系统对脑组织的刺激脉冲波形,波形平稳,参数准确稳定,满足临床应用的要求。术后随访的遥测程控实验证实,体外程控仪工作正常,调节刺激参数准确,未出现程控失败或刺激参数异常变化情况。如图 3 所示,在恒河猴与编程器之间有部分金属物遮挡的情况下,编程器底面和恒河猴皮肤之间的通信距离达到 8.5 cm,满足临床应用的要求。长期随访无刺激功能失常、电极断裂、电极移位、部件腐蚀故障发生,证实植入式神经刺激系统的装置安全性和可靠性良好。

表 1 恒河猴 PD 模型植入国产 DBS 系统情况

动物编号	性别	年龄(岁)	体质量(kg)	造模手术次数	APO 旋转测试(圈/分)	运动评分		DBS 术后存活时间(月)
						刺激	刺激后	
M1	雌	12	10.8	3	15 ~ 17	7	3	12
M2	雄	8	12.5	2	6 ~ 8	4	1	18
M3	雄	10	11.8	2	9 ~ 12	5	2	10
M4	雄	8	14.0	3	12 ~ 14	7	4	7
M5	雌	9	10.0	1	10 ~ 15	5	2	3
M6	雄	11	15.1	1	-	-	-	0



图 1 恒河猴模型 DBS 植入术后 X 线显示系统连接状态 图 2 国产 DBS 刺激器组织相容性检测 a. 脉冲发生器周围形成囊袋, 表面干燥, 无附着物; b. 植入脑内的电极取出时表面有袖套样囊性附着物; c. PD 模型植入术后 10 个月后脑组织病理切片示: 植入电极周围仅少量炎性细胞浸润, 可见嗜酸性细胞 (HE × 40) 图 3 恒河猴模型 DBS 植入术后遥测程控实验

讨 论

清华大学从 2004 年开始研制国产 DBS 系统, 将载人航天技术、高可靠性保障技术应用在该系统的研发上^[10]。2006 年在王忠诚院士的带领下, 在国家“十一五”科技支撑计划支持下正式立项, 开始全面进行 DBS 系统的动物实验验证。

对于 PD 的研究, 最有价值的模型动物应是和人类神经系统有着相似体形和复杂程度的物种。灵长类 PD 动物模型能够反映 PD 症状的基本特征, 是目前最接近人类 PD 的动物模型, 为基础和临床的研究提供了良好的实验基础。考虑到 PD 是一个老年性进展性疾病, 为更加接近人的生理状态, 本次试验均选用年龄偏大的老年恒河猴。

手术定位是 DBS 手术成功与否的关键, 也是本次动物实验成功的前提。由于恒河猴脑大小的个体差异, 术前制定手术计划时, 进行了 MRI 扫描, 根据恒河猴脑主要定位标识, 参照“Georye Raxinos 恒河猴脑立体定位图谱”进行脑核团定位, 并于术中进行电生理学定位, 最大限度避免定位可能出现的失误。在手术操作过程中, 为避免开孔前后两次立体定向定位有时可出现不一致情况, 操作中至少应有一人对图谱参数、定位读数以及操作过程进行监督核查, 确保无误。并对猴立体定位系统进行了改进, 加制耳杆中心定位装置, 提高定位精度。定位前应检查头部固定情况, 确保在一定的操作强度下不会产生晃动、位移等失稳情况, 从而减少定位误差。

清华大学航天航空学院研发的国产 DBS 系统动物试验验证结果显示, 该系统的生物安全性、组织相容

性、系统稳定性以及刺激作用有效性均已符合国家规定的体内植入仪器相关标准和临床应用的要求。2009 年 1 月, 该攻关课题通过科技部、卫生部组织的验收, 专家组认为: “研究工作基础扎实、产品设计及质量控制等技术成熟, 且具有较好的产业化和市场前景”。2009 年 6 月, 北京天坛医院伦理委员会通过决议, 批准该系统进行临床实验。国产 DBS 系统的研制成功将为国内广大患者提供经济的、高质量的医疗产品, 打破国外产品的垄断, 降低医疗费用, 让更多患者受益。

参 考 文 献

- [1] Pizzolato G, Mandat T. Deep brain stimulation for movement disorders. *Front Integr Neurosci*, 2012, 6:2.
- [2] Sankar T, Tierney TS, Hamani C. Novel applications of deep brain stimulation. *Surg Neurol Int*, 2012, 3(Suppl 1):S26-33.
- [3] 张建国, 马羽, 胡文瀚. 帕金森病及运动障碍性疾病的脑深部电刺激治疗研究现状. *中国现代神经疾病杂志*, 2007, 7: 22-24.
- [4] 张凯, 张建国, 葛明, 等. 丘脑底核电刺激治疗苍白球毁损术后的帕金森病 (12 例报告). *中国神经精神疾病杂志*, 2006, 31:507-510.
- [5] 吴胜田, 张建国. 脑深部电刺激治疗原发性帕金森病. *中华神经外科杂志*, 2002, 18:59-62.
- [6] 张宇清, 李勇杰, 李建宇, 等. 脑深部电刺激治疗运动障碍病 276 例病例分析. *中华神经外科杂志*, 2009, 25:604-607.
- [7] 毕永峰, 张建国. 脑深部电刺激的作用机制研究进展. *中华神经外科杂志*, 2010, 26:758-761.
- [8] 孙伯民, 李殿友, 占世坤, 等. 脑深部电刺激治疗难治性神经性厌食症. *中华神经外科杂志*, 2012, 28:378-381.
- [9] Hu WH, Zhang K, Meng FG. Deep brain stimulation in China: present and future. *Neuromodulation*, 2012, 15:251-259.
- [10] 李路明, 郝红伟. 植入式神经刺激器的现状与发展趋势. *中国医疗器械杂志*, 2009, 2:107-111.

(收稿: 2012-06-25 修回: 2012-12-12)

(本文编辑: 刘岩红)