电极植入猕猴脑皮层手术的护理实践及探讨

徐西彬, 朱青, 张恩

(北京师范大学认知神经科学与学习国家重点实验室, 北京 100875)

[摘要] 利用电极植入技术探讨群体神经元的电活动对于脑与认知科学、类脑研究和脑机接口技术研究是至关重要的。本文介绍了电极植入猕猴大脑皮层手术前、中、后的护理要点及其重要意义。其中, 术前护理包括术前准备、术前用药和头颅固定、备皮等, 术中护理包括生理指标监护和脑皮层植入手术护理, 术后护理包括观察监测、清创和营养护理。做好电极植入猕猴脑皮层手术的护理, 不仅能够提高手术成功率, 使用尽量少的实验动物来获取实验所需数据, 而且能够减轻手术给动物带来的疼痛和伤害, 对脑与认知科学研究和保障动物福利均具有重要意义。

[关键词] 电极植入; 脑皮层手术; 护理; 实验动物福利; 猕猴

[中图分类号] Q95-33; R-332 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2022)02-0166-05

Nursing Practice and Discussion of Electrode Implantation into Cerebral Cortex of Rhesus Monkey

XU Xibin, ZHU Qing, ZHANG En

(State Key Laboratory of Cognitive Neuroscience and Learning, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Correspondence to: ZHANG En, E-mail: ZhangEn@bnu.edu.cn

[ABSTRACT] The use of electrode implantation technology to explore the electrical activity of population neurons is crucial for brain and cognitive science, brain-like research and brain-computer interface technology research. This article introduces the nursing points and significance of electrode implantation in rhesus monkey cerebral cortex before, during and after operation. Preoperative care includes preoperative preparation, preoperative medication, cranial fixation, skin preparation, etc. Intraoperative care includes physiological index monitoring and cerebral cortex implantation surgery care, while postoperative care includes observation and monitoring, debridement and nutritional care. Doing a good job in the operation of electrode implantation into the cerebral cortex of rhesus monkeys can not only improve the success rate of the operation, use as few experimental animals as possible to obtain the data required for the experiment, but also reduce the pain and injury caused by the operation to the animals, which is of great significance for brain and cognitive science research and animal welfare protection.

[Key words] Electrode implantation; Cortical surgery; Nursing; Laboratory animal welfare; Rhesus monkeys

猕猴是最常见的非人灵长类实验动物。猕猴在生理机能、形态结构和生化代谢等许多方面都与人类高度相似。因此, 应用猕猴进行科学实验研究, 对理解人类自身至关重要。尤其是猕猴有发达的大脑皮层和复杂的认知能力, 是脑与认知科学研究领域中理想的实验模型动物^[1]。通常情况下, 经过一定训练的猕猴能够很好地完成实验所要求的认知任务。将电极植入

猕猴脑中可以对其大脑与认知功能进行研究, 尤其是在长期记录或刺激神经元活动的研究中该方法已被广泛应用, 具有重要的研究意义。

近年来, 本实验室采用先进的神经信号采集和处理技术, 多次将微电极阵列植入猕猴大脑皮层, 实现了对同一群神经元稳定且长期的跟踪, 揭示了猕猴在经过长期知觉训练后, 神经元和神经网络水平的可塑

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目: 视觉信息的多重表征及其经验依赖性(31771203)

[作者简介] 徐西彬(1978—), 男, 硕士, 实验师, 研究方向: 神经生物学。E-mail: xuxibin2004@bnu.edu.cn

[通信作者] 张恩(1979—), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 视知觉与知觉学习的神经机制。E-mail: ZhangEn@bnu.edu.cn

性变化过程及其与感知和行为的关系^[2-3]。然而,动物的机体功能状态会在电极植入手术后发生明显的改变,需要良好的护理工作以提高动物成活率,并促进动物机体快速恢复健康。本文根据本实验室在2019—2021年对猕猴脑皮层手术前后护理的实践探索经验,拟介绍与猕猴电极植入手术相关的实验动物护理和福利内容,供同行参考与借鉴。

1 实验动物与研究方法

2019—2021年,本实验室对6只猕猴在电极植入手术前后开展护理工作。所有猕猴均为雄性,体质量5~8 kg,年龄4~8岁,均购自北京中科灵瑞生物技术股份有限公司[SCXK(京)2018-0001]。实验动物在进入本实验室[SYXK(京)2015-0044、SYXK(京)2021-0003]的动物饲养房之前均进行了严格的检疫工作,B型疱疹病毒、各种肝炎病毒和结核杆菌等检测均为阴性(由苏州西山生物技术有限公司完成检测)。实验动物的使用和处理所涉及的各个环节均依据国家科学技术委员会颁发的《实验动物管理条例》执行,遵从《实验动物福利伦理审查指南》^[4]及实验动物相关福利要求^[5],并且通过北京师范大学动物伦理委员会批准[项目批准号为IACUC(BNU)-NKLCNL2019-6]。

本课题组的相关研究通常需要猕猴在长达1~2个月的实验过程中,头部处于固定状态时能够观察并判断屏幕上的视觉图形,从而产生特定的学习效应,以此检测局部视觉特征差异并揭示其学习的神经机制^[6]。因此在正式实验前,需要通过外科手术,在猕猴的颅骨表面安装一个基座来固定头部。为了探讨这种学习行为背后的神经机制,还需要通过手术打开与研究相关脑皮层区所对应的颅骨区域,并将电极阵列埋藏于脑皮层的表面。这种电极移植手术可使研究者能够对该皮层区神经元的动作电位和局部场电位信号进行长期追踪,从而考察这些信号与认知及行为的关系。

2 电极植入脑皮层手术前护理

2.1 术前准备

手术前应完成猕猴的常规体检和生化指标检查,全面了解其各项机能,确保实验动物和工作人员的安全。由于猕猴对麻醉药品较敏感,在使用麻醉药品后可产生呕吐等不良反应,严重时呕吐物可进入呼吸道

导致吸入性肺炎。因此,全身麻醉前应至少禁食12 h,禁水2 h。

2.2 术前用药

猕猴在手术前12 h肌内注射类固醇地塞米松(0.5 mg/kg),以增强其抗病毒、抗炎性反应、抗过敏反应的能力。手术前30 min再次给予地塞米松肌内注射(0.5 mg/kg),肌内注射阿托品(0.05 mg/kg)和静脉注射安定(0.2 mg/kg),使动物镇静、肌肉松弛,并且抑制呼吸道的黏液分泌,减少唾液分泌,防止呕吐。20 min后再使用盐酸氯胺酮(80 mg/kg体质量,肌内注射)对猕猴进行基础麻醉。气管插管后转移到手术室,接医用呼吸麻醉机,用异氟烷(isoflurane, 1.0%~2.5%)进行深度麻醉。恒温热水毯置于猕猴周围以保持体温。

2.3 头颅固定及备皮

待猕猴进入稳定麻醉阶段后,借助动物立体定位仪来固定猕猴头颅。猕猴采取俯卧式,耳棒插入外耳孔,牙托固定下牙槽,同时为了使气道保持通畅,猕猴头颅应稍微背伸。另外为减少手术感染,应用推毛剪剃光猕猴头颅上的毛发,并用肥皂水刷洗,擦干后,用2%碘伏和75%乙醇溶液各擦洗消毒两次。为了更好地保证手术区的无菌状态,需要对手术部位为中心、周围8~10 cm的区域做备皮消毒处理。

3 电极植入脑皮层术中护理

3.1 生理指标的监护

猕猴被转移到手术室后,首先进行气管插管并建立静脉输液通道,连接麻醉呼吸机(购自北京航天长峰股份有限公司,型号ACM608)。整个手术过程中,通过气管插管输入含有1.0%~2.5%异氟烷的医用氧气以维持麻醉状态,并用生理监护仪(购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司,型号PM-9000)密切观测猕猴的各项生理指标,包括心率、心电图、血压、血氧浓度、二氧化碳分压和肛温。若术中出现个别指标波动较大的情况,则适时做出相应的调整。诱导麻醉时,异氟烷体积分数可升高为2.0%~2.5%,以便猕猴快速进入麻醉状态,减少痛苦;诱导麻醉时间一般为10~30 min,此后维持麻醉的异氟烷体积分数为1.0%~1.5%。

麻醉所需异氟烷体积分数可根据动物的年龄、体质量、强健程度和所要进行的手术来确定。例如检测到麻醉程度不足(心率约在100以上),而此时异氟烷

体积分数在1%时,可适当增加其体积分数1.2%~1.5%,以减弱猕猴感觉上可能存在的不适或痛苦。

另外,麻醉手术会使动物产热减少,体温丢失,严重时可能导致动物术后无法恢复而死亡。因此在手术过程中,可使用恒温水循环装备(购自北京恒江仪器有限公司,型号YP-472)将加热垫置于猕猴周围以保持适当的体温,一般设定温度为40℃。循环水泵将加热的水均匀分布到加热毯上,这样可以减少手术风险,并使猕猴在手术后更快地复苏。麻醉手术过程中,动物的潮气量为50~60 mL;在皮肤缝合后,停止输送麻醉气体,潮气量变为40 mL。可以通过减少输送氧气的速度(氧流量从0.5减至0.3)来达到增加CO₂浓度、刺激呼吸的目的。

3.2 脑皮层植入手术

手术中使用Utah Array植入式微电极阵列(购自北京科圣科技有限公司,Blackrock Microsystem型号6252)进行长期的电生理记录。电极阵列由阵列和基座组成,其中阵列部分的电极间距为400 μm,每个阵列通常有96或128根电极;基座部分用于将电极记录到的信号引出并连接至记录仪器,下有8个螺丝孔用于固定在颅骨上,基座与电极阵列间由柔性连接线相连。植入时,在猕猴大脑视皮层计划植入电极处切开一个尺寸约1.5 cm×1.5 cm的骨窗,并剪开硬脑膜,用配套的气动植入装置(购自北京科圣科技有限公司,Blackrock Microsystem)把电极植入皮层后,将硬脑膜缝合,盖回取下的骨片并使用钛网固定。电极基座使用钛合金骨钉固定在植入处旁边的颅骨上。缝合肌肉和皮肤,并使基座顶部暴露在外。由于猕猴手指较细,指甲通常较长,为了避免猕猴抓挠缝合线造成感染,一般需要用薇乔抗菌缝合线(美国强生Ethicon公司产品,型号4-0)采用皮下间断缝合的方法进行皮肤缝合,缝合后使用金霉素软膏涂抹切口。

在猕猴苏醒前,将其从立体定位仪上取下。并在它可以开始自主呼吸后,将气管插管去除,同时移去血氧饱和度监控器、心电图仪探头等监控设备。

4 电极植入脑皮层术后护理

4.1 苏醒环境

手术后应悉心护理和监护猕猴。猕猴苏醒期,取侧卧位,切口一侧朝上,放在宽敞的笼子里。低体重的猕猴放在加热毯上,保持干爽、温暖,并给予足够的垫料,避免碰撞,防止猕猴在麻醉未清醒期受伤。

准备高强度的照明设备,以便随时观察体温、呼吸、动物精神状态和术部情况等,看护30 min~2 h。四肢不便行动的动物定时翻身,交替左右侧卧,等动物完全清醒后再放回猴笼。在猕猴放回猴笼后的24 h内,每隔2~3 h持续观察其状态。术后2~4 h如果猕猴能站立起来,精神活泼,意识清醒,说明电极植入后颅内正常。如果术后4~6 h长时间不能清醒或者猕猴精神意识状态恶化,提示可能颅内因手术有继发出血,考虑再次手术清理出血块并处理出血点。

4.2 动物护理

术后的猕猴需要单笼喂养。在术后的一周内,每天给猕猴注射两次头孢曲松钠(1.0 g/次)来预防切口的感染,使用盐酸曲马多(2 mL:100 mg)来为猕猴镇痛,肌肉注射一次30 mg,连续注射3 d。因为猕猴自身不能合成维生素C,为了促进手术切口的愈合,可以肌肉注射维生素C注射液(2 mL:0.5 g),每日0.1~0.3 g,每天1~2次。另外为了减小感染风险,还需要在术后1周左右持续每天对电极连接器周围的组织进行清创:首先将清创的手术器械、纱布等用高压蒸汽灭菌锅消毒灭菌,并提前半小时打开手术室紫外灯进行环境消毒;然后更换一次性无菌手套,用碘伏擦拭消毒清理猕猴头部,用灭菌的手术刮勺仔细清理创口增生的息肉;最后用生理盐水和纱布保持创口清洁,达到实验的标准。

由于电极植入手术是异氟烷全身麻醉,麻醉时间长达68 h,术后易出现感染、体温降低、休克、呕吐和窒息等危险情况,一旦发现猕猴有胃内返流流出口腔,应立即清理清除。此外需要保持饲养环境温度在18~22℃,必要时使用电暖器进行取暖。此外,2~3 d定期更换清洁干燥的垫料。

全麻和手术导致的损伤通常会让猕猴食欲降低。在手术后的4~6 h内,由于吞咽肌功能还未能完全恢复,容易因为误吸导致死亡,因此不宜喂食喂水。这种情况下,需要细心观察猕猴的精神状态,选用少量柔软易消化的食物如香蕉、红薯等进行饲喂,一般根据动物年龄和恢复状况于手术完成12 h后饲喂正常饲料。

4.3 实验操作

脑皮层植入手术30 d后,猕猴身体基本恢复,即可以进行清醒猴实验。在整个清醒猴实验过程中,猕猴需要坐在特制的猴椅里。猴椅上装有让猕猴进行行为报告的拉杆装置,而视觉刺激是通过放在猴椅正前

方的显示器向猕猴呈现。此外,实验系统还配套有眼动跟踪系统和饮水奖励装置。实验过程中,猕猴可以通过拉杆和眼动对它所看到的视觉刺激进行报告,正确的报告将会使实验猕猴得到一定量的水或果汁作为奖励。

5 护理要点总结及讨论

6只猕猴的电极植入脑皮层手术均较成功,单次手术时间一般长约6~8 h。手术操作顺利,未出现感染和其他并发症。术后6~8 h猕猴即可进食,状态和机能恢复正常。因此,在手术前,需要充分准备好与动物手术和护理相关的仪器和耗材,且考虑到每一步细节和可能发生的意外。在手术过程中,需要关注手术对动物可能产生的伤害和痛苦,并尽可能地通过各种方式来降低或消除这些伤害和痛苦。

5.1 术前准备和麻醉选择

动物在麻醉前12 h进行禁食,有助于防止反胃和胃内容物流入气管对猕猴造成伤害。良好的麻醉前准备可以减少并发症,减轻动物疼痛,缩短麻醉诱导时间,有利于实验的顺利进行。采用氯胺酮作为诱导麻醉,肌肉注射10 mg/kg体质量,必要时可以追加1~2次。脑皮层植入手术时间较长,选择异氟烷气体吸入麻醉可使动物较快进入麻醉,且容易控制麻醉深度,安全性好,动物麻醉意外的发生率和死亡率低,手术成功率高,但需要购置呼吸麻醉机。

充分的麻醉准备不仅有利于获得良好的麻醉效果,更能充分体现3R原则,体现人道主义精神,从而更好地保证动物福利,确保动物实验结果的可靠性、可重复性和可信性^[7]。

5.2 脑皮层手术中情况处理

脑皮层手术根据麻醉过程中全身麻醉深度来进行相关操作。麻醉深度主要通过呼吸频率、心率、瞳孔、肌肉紧张度和二氧化碳含量等变化来判断。气管插管后接医用呼吸麻醉机,用异氟烷进行麻醉,10~20 min后观察麻醉深度。进入浅外科期时心率降低,对非疼痛刺激无肢体动作反应,以胸式呼吸为主,眼睑和角膜反射存在,此时可以固定猕猴头颅并备皮。麻醉深度进入深外科期后,心率和二氧化碳参数均有所下降,呼吸方式渐以腹式呼吸为主,瞳孔缩小,疼痛刺激不会引起有害的自主神经反射,开颅和脑皮层植入手术等操作应在这一时期进行。脑皮层手术应避免麻醉药物过量进入过深期,若出现此种状况应立即

停止手术,并使用肾上腺素等急救药品进行抢救。

猕猴的头皮松弛容易移动,可在开颅前用记号笔标记切口线。头部毛发在手术前剃尽,猕猴的头皮较薄,缺乏皮下组织支持^[8]。皮肤切开后止血以无菌纱布压迫止血为主,头皮出血尽量少用止血电凝,以免皱缩而影响切口愈合。颅骨出血时涂抹骨蜡止血,开颅后操作应尽量仔细、轻柔,减少损伤和出血,视皮层小静脉出血后用双极电凝止血。硬脑膜应尽量缝合,然后再缝合头皮,防止脑脊液渗漏。

5.3 术后感染防护

术后的感染可能与多种因素有关。实验动物手术后恢复情况除了与术中操作、清创、动物抵抗力有关外,也与术后的护理有关,有时护理不良甚至可以导致术后感染。术前护理是基础,术后护理是保障,做好护理能够有效降低动物手术死亡率,提高手术动物生活质量和手术成功率,避免不必要的重复手术和实验,可以将实验动物的使用量降到最低^[9],同时减轻对动物造成的疼痛和伤害,尽最大限度使用较少量动物获取实验所需数据,保障动物福利,保证后续科研实验结果的准确性,促进认知神经科学研究的良性发展^[10]。

综上,在进行猕猴脑皮层手术的前、中、后期加强实验动物护理和福利很重要。其中,手术前应进行细致和耐心的准备和检查;手术过程中进行严密的手术操作和手术监护,尽量将皮层植入手术中发生风险的可能性降到最低,保证植入手术的成功率;手术后进行密切监测和精心护理,缓解动物疼痛并加强动物营养,保证动物健康生存及福利。实践证明这些护理工作有助于保障猕猴术前的正常训练、手术的顺利进行,以及术后的机能恢复,是整个实验研究中不可或缺的部分。

【作者贡献】

徐西彬:负责电极植入猕猴脑皮层手术,完成相关论文资料的收集、整理分析以及文章撰写。

朱青:负责术后护理猕猴,参与文献资料的分析和整理,对论文进行修改校正。

张恩:获取科研经费,对研究数据进行分析,对本文内容进行审阅和技术性指导。

【利益声明】所有作者均声明本文不存在利益冲突。

【参考文献】

- [1] 王宏. 实验猕猴在生物医学研究中的福利管理[J]. 生命科学, 2020, 32(7):711-716. DOI:10.13376/j.cbcls/2020089.
- [2] LI Z, YAN A, GUO K, et al. Fear-related signals in the primary

- visual cortex[J]. *Curr Biol*, 2019, 29(23): 4078-4083. e2. DOI: 10.1016/j.cub.2019.09.063.
- [3] CHEN R J, WANG F, LIANG H L, et al. Synergistic processing of visual contours across cortical layers in V1 and V2[J]. *Neuron*, 2017, 96(6):1388-1402. e4. DOI:10.1016/j.neuron. 2017. 11.004.
- [4] 孙德明, 李蔚鸥, 王天奇, 等. 实验动物福利伦理审查的标准化与我国新国标解读[J]. *中国比较医学杂志*, 2018, 28(10):133-137. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2018.10.023.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 实验动物 福利伦理审查指南: GB/T 35892—2018 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- [6] YAN Y, ZHAOPING L, LI W. Bottom-up saliency and top-down learning in the primary visual cortex of monkeys[J]. *PNAS*, 2018, 115(41):10499-10504. DOI:10.1073/pnas.1803854115.
- [7] 陶钧, 赵厚德, 郝智慧, 等. 实验动物麻醉前的准备工作[J]. *实验动物科学与管理*, 2005, 22(3):58-59. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6179.2005.03.019.
- [8] 柯以铨, 李钢, 徐如祥, 等. 猕猴开颅手术的方法与体会[J]. *中国比较医学杂志*, 2003, 13(5):315-317. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2003.05.017.
- [9] 慎慧, 吴爱丽, 孙嘉康, 等. 实验动物体外循环术后护理与福利[J]. *实验动物科学*, 2007, 24(增刊):17-20.
- [10] 马小根, 王晓静, 高原. 基于动物3R原则的生理学实验教学改革[J]. *河南农业*, 2018(12):33-34. DOI:10.15904/j.cnki.hnny. 2018. 12.016.
- (收稿日期:2021-04-07 修回日期:2021-09-23)
(本文编辑:张俊彦, 任益凡)

《中华人民共和国生物安全法》：防控重大新发突发传染病、动植物疫情

《中华人民共和国生物安全法》由中华人民共和国第十三届全国人民代表大会常务委员会第二十二次会议于2020年10月17日通过，自2021年4月15日起施行。

第三章 防控重大新发突发传染病、动植物疫情

第二十七条 国务院卫生健康、农业农村、林业草原、海关、生态环境主管部门应当建立新发突发传染病、动植物疫情、进出境检疫、生物技术环境安全监测网络，组织监测站点布局、建设，完善监测信息报告系统，开展主动监测和病原检测，并纳入国家生物安全风险监测预警体系。

第二十八条 疾病预防控制机构、动物疫病预防控制机构、植物病虫害预防控制机构（以下统称专业机构）应当对传染病、动植物疫病和列入监测范围的不明原因疾病开展主动监测，收集、分析、报告监测信息，预测新发突发传染病、动植物疫病的发生、流行趋势。国务院有关部门、县级以上地方人民政府及其有关部门应当根据预测和职责权限及时发布预警，并采取相应的防控措施。

第二十九条 任何单位和个人发现传染病、动植物疫病的，应当及时向医疗机构、有关专业机构或者部门报告。医疗机构、专业机构及其工作人员发现传染病、动植物疫病或者不明原因的聚集性疾病的，应当及时报告，并采取保护性措施。依法应当报告的，任何单位和个人不得瞒报、谎报、缓报、漏报，不得授意他人瞒报、谎报、缓报，不得阻碍他人报告。

第三十条 国家建立重大新发突发传染病、动植物疫情联防联控机制。发生重大新发突发传染病、动植物疫情，应当依照有关法律法规和应急预案的规定及时采取控制措施；国务院卫生健康、农业农村、林业草原主管部门应当立即组织疫情会商研判，将会商研判结论向中央国家安全领导机构和国务院报告，并通报国家生物安全工作协调机制其他成员单位和国务院其他有关部门。发生重大新发突发传染病、动植物疫情，地方各级人民政府统一履行本行政区域内疫情防控职责，加强组织领导，开展群防群控、医疗救治，动员和鼓励社会力量依法有序参与疫情防控工作。

第三十一条 国家加强国境、口岸传染病和动植物疫情联防联控能力建设，建立传染病、动植物疫情防控国际合作网络，尽早发现、控制重大新发突发传染病、动植物疫情。

第三十二条 国家保护野生动物，加强动物防疫，防止动物源性传染病传播。

第三十三条 国家加强对抗生素药物等抗微生物药物使用和残留的管理，支持应对微生物耐药的基础研究和科技攻关。县级以上人民政府卫生健康主管部门应当加强对医疗机构合理用药的指导和监督，采取措施防止抗微生物药物的不合理使用。县级以上人民政府农业农村、林业草原主管部门应当加强对农业生产中合理用药的指导和监督，采取措施防止抗微生物药物的不合理使用，降低在农业生产环境中的残留。国务院卫生健康、农业农村、林业草原、生态环境等主管部门和药品监督管理部门应当根据职责分工，评估抗微生物药物残留对人体健康、环境的危害，建立抗微生物药物污染物指标评价体系。

（《实验动物与比较医学》编辑部摘录）