

- [J]. Expert Review of Vaccines, 2013, 12(4): 395 - 413
- 3 Belshe R, Lee M - S, Walker RE, *et al.* Safety, immunogenicity and efficacy of intranasal, live attenuated influenza vaccine [J]. Expert Review of Vaccines, 2004, 3(6): 643 - 654
- 4 Murakami S, Horimoto T, Ito M, *et al.* Enhanced growth of influenza vaccine seed viruses in vero cells mediated by broadening the optimal pH range for virus membrane fusion [J]. Journal of Virology, 2012, 86(3): 1405 - 1410
- 5 Tree JA, Richardson C, Fooks AR, *et al.* Comparison of large - scale mammalian cell culture systems with egg culture for the production of influenza virus A vaccine strains [J]. Vaccine, 2001, 19(25 - 26): 3444 - 3450
- 6 Hu AY, Tseng YF, Weng TC, *et al.* Production of inactivated influenza H5N1 vaccines from MDCK cells in serum - free medium [J]. PLoS One, 2011, 6(1): e14578
- 7 Kistner O, Barrett PN, Mundt W, *et al.* Development of a mammalian cell (Vero) derived candidate influenza virus vaccine [J]. Vaccine, 1998, 16(9 - 10): 960 - 968
- 8 Organization WH. Cell culture as a substrate for the production of influenza vaccines: memorandum from a WHO meeting [J]. Bulletin of the World Health Organization (WHO), 1995, 73(4): 431 - 435
- 9 Job ER, Bottazzi B, Gilbertson B, *et al.* Serum amyloid P is a sialylated glycoprotein inhibitor of influenza A viruses [J]. PLoS one, 2013, 8(3): e59623
- 10 耿兴良, 戴宗祥, 段盼盼, 等. Vero 细胞培养流感病毒的低血清培养基的筛选 [J]. 中国生物制品学杂志, 2014, 27(5): 687 - 690
- 11 刘铮, 孙明波, 高菁霞, 等. 低血清培养 Vero 细胞和流感病毒条件的优化 [J]. 中国生物制品学杂志, 2009, 22(6): 593 - 595
- 12 Butler M. Serum - free media: standardizing cell culture system [J]. Pharmaceutical Bioprocessing, 2013, 1(4): 315 - 318
- 13 田石华, 孙明波, 张新文, 等. 无血清微载体培养 Vero 细胞和 H1N1 流感病毒条件的优化 [J]. 中国生物制品学杂志, 2010, 23(6): 639 - 642
- 14 唐静, 马磊, 周芳烨, 等. 流感病毒快速诊断试剂中 HA 抗原热稳定性的研究 [J]. 安徽农业科学, 2012, 40(16): 8935 - 8936
- 15 Tlaxca JL, Ellis S, Remmele RL. Live attenuated and inactivated viral vaccine formulation and nasal delivery: potential and challenges [J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2014; 1 - 23
- 16 Zheng D, Yi YL, Chen Z. Development of live - attenuated influenza vaccines against outbreaks of H5N1 influenza [J]. Viruses, 2012, 4(12): 3589 - 3605 (收稿日期: 2015 - 01 - 19)
(修回日期: 2015 - 02 - 03)

柔性可延展能量收集装置的心脏表面缝合实验研究

张 巍 王龙飞 戎天华 陆炳卫 郑 军 冯 雪 马维国

摘 要 近年来,以纳米技术制造柔性可延能量收集装置(ultra - flexible energy harvester, UFEH)为能源的供应方法提供了新的思路。利用动物实验验证此类材料在生物体内的大范围应用需通过动物实验进行相容性验证。**方法** 通过小型猪动物实验,研究 UFEH 在生物体内的工作状态,通过家兔对比实验,验证长期佩戴时生物体内相容性。**结果** 于小型猪实验中,器件贴合良好,工作状态符合设计要求,贴合前后实验动物心功能相同,最高输出电压可达 3V。在家兔对照实验中,实验组家兔存活时间与对照组一致,各项生理指标正常,未出现意外死亡、瘫痪、心功能下降等。**结论** 压电设备于生物体内运行正常,对生物体组织伤害小,输出电压可达到商用级别;但仍需通过结合不同医用材料并对设备进行升级完善,可逐步完成生物体内长期植入目的。柔性可延展压电设备为体内收集机械能提供了新的思路与新的方法,符合我国自主创新的研究方向,为今后逐步实现能源清洁化,医用设备能源自给提供了可靠思路。

关键词 柔性可延展设备 生物发电 生物体相容性

中图分类号 R654.2

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.07.009

Ultra - Flexible Energy Harvester: in vivo Testing on Epicardium Zhang Wei, Wang Longfei, Rong Tianhua, *et al.* Beijing Institute of Heart, Lung and Blood Vessel Diseases, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China

Abstract Objective Ultra - flexible energy harvester (UFEH) is a kind of new energy resources based on piezoelectric theory. The biocompatibility of these materials should be proved through experiment. **Methods** We validate the biocompatibility of piezoelectric

基金项目:国家自然科学基金资助项目(11320101001)

作者单位:100029 北京市心肺血管疾病研究所、首都医科大学附属北京安贞医院(张巍、王龙飞、戎天华、陆炳卫、郑军、马维国);100083 清华大学工程力学系(冯雪)

通讯作者:马维国,硕士生导师,电子信箱:wgma@yahoo.com

materials through experimental swine to establish an animal model; and we would also compare the different status of experimental rabbits before and after the device implantation to reveal long-term impact. **Results** The results showed that UFEH could appropriately fit the swine's heart and the peak-to-peak voltage can reach as high as 3V. The control experiment revealed that there were no significant differences between device implantation group and the cases under normal thoracotomy. **Conclusion** UFEH implantation was safe and efficacy with less damage to animal tissues and the output voltage could also meet the needs of clinical requirements. Piezoelectric materials were proved to be a new source of energy harvest and deserve further attention toward medical usage.

Key words Flexible energy harvester; Biomechanical energy arvesting; Biocompatibility

随着集成电路技术和生物医学的不断创新与进步,植入式医疗电子器械研究及其产业在过去30年里取得了令人瞩目的成就。从植入式心脏起搏器、植入式心房除颤器,到用于帕金森病、癫痫、老年痴呆等神经系统疾病治疗的植入式脑起搏器及电极等,为治疗心脑血管系统疾病及人类健康做出重要贡献。目前植入式医疗电子器械已成为医疗器械的一个重要分支,预计2015年相关市场规模将达到300亿美元。

压电材料为一类机械能与电能互相转换的功能性材料。包括无机类压电晶体与压电陶瓷,有机类压电聚合物等。其中,锆钛酸铅(pb-based-lead zirconate titanate, PZT)为压电陶瓷的一种,清华大学航空航天学院利用蚀刻技术,将PZT材料结合于有机压电聚合物中,创新柔性可延展能量收集装置(ultra-flexible energy harvester, UFEH)。新型压电设备由于其突出的延展性、可塑性,使结合人体的适用范围更加广泛,从结构原理学上可作为入设备,移植入人体内;收集人体机械运动产生的动能期望达到以下目标:①产生稳定电能级电信号,并通过电池储存供电;②分析收集的电信号,利用信号波形对人体健康状态

进行监测。为达到以上目的,利用动物实验首先验证设备生物相容性。从医学角度,观察并探索压电薄片是否适于生物体植入,包括接受植入后动物生理状况改变以及植入后,压电设备的变化情况。本研究将从有关生物实验的手术过程、实验动物术后变化以及设备状态与所产生的电信号波形分析等方面加以阐述。并对实验过程中出现的问题进行具体分析,以期进一步完善。

设备与方法

- 1. 设备:柔性可延展压电设备 UFEH 由清华大学航空航天学院研发并负责制备,器件基于 PZT 材料压电性质,收集生物体动能信号^[1]。其中,顶部电极由 Au/Cr(200nm/10nm)组成,PZT 条段大小为 50μm × 2mm。底部 Pt/Ti 电极大小 140μm × 2mm。电子元件蚀刻于聚二甲甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane, PDMS)有机基层层中^[2]。
- 2. 手术方法:随机选取健康成年实验用小型猪 1 只,性别不限。小型猪取仰卧位,气管插管,呼吸机支持;静脉给药麻醉,麻妥后,经正中开胸,如表 1 所述,于心脏不同部位缝合 UFEH 器件,观察输出结果。确定输出高点后,继续采用不同缝合方法,对芯片进行缝合,观察不同缝合方法对输出信号影响。再次明确输出信号高点后,注射适量正性肌力药物,加快心脏搏动,观察信号变化。

表 1 缝合位置与对应输出电压

缝合位置	AHA 分区	峰值电位(V)	缝合要点
右心室表面	2、8 区对应平面	1.7	平行于心脏长轴
左心室表面	12、16 区对应平面	2.1	垂直于心脏长轴
左、右心室	13 区	3.0	跨空间沟,垂直于冠脉左前降支
右心房、右心室	N/A	0.8	右心耳与右心室外侧
左心房、左心室	N/A	1.2	肺动脉干下至左心室外侧
心尖、膈肌	N/A	N/A	左心室心尖与下膈肌角
升主动脉	N/A	0.8	外膜套筒样固定

另取健康成年家兔 10 只,性别不限。手术采用腹腔注射麻醉,无呼吸机支持。经正中剑突下小切口入胸,5 只实验组家兔打开心包,于心脏表面缝合 UFEH 器件(图 1),测量器件工作正常后,妥善止血关胸;5 只对照组家兔单纯开胸,打开心包后不缝合器件,逐层关胸。

3. 术后处理:逐层止血关胸后,对输出信号进行测量。

小型猪经开胸缝合实验创伤较大,麻醉时间长,考虑其长期饲养困难,且无实验要求,于测量完毕后行妥善处死。
所有家兔术后应用抗生素,常规饲养,于出现以下情况时,行再次手术或病理解剖:①动物不明原因死亡;②明确的主动脉破裂症状。包括动物不进食、疼痛、截瘫、昏迷、大量血便等;③其他原因导致动物健康状态下降,无法继续饲养。

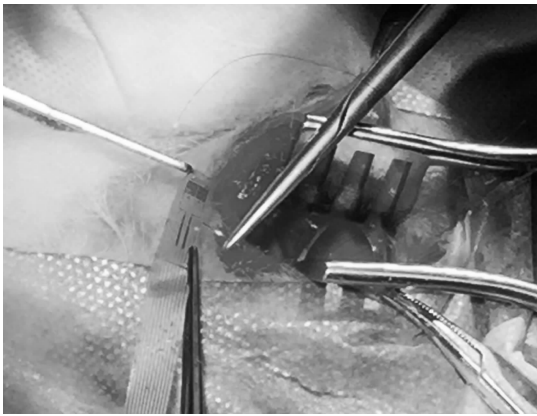


图 1 芯片近面观

4. 统计学方法:采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析。计量资料表示为均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$), 组间比较采用 *t* 检验; 计数资料组间比较采用卡方检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 小型猪缝合实验:术中 UFEH 设备信号采集由生物体外 AD/DA card (Art-control USB2815) 仪器进行^[3]。于生理、麻醉指标稳定时,通过改变不同位置,探索心脏不同区域对压电设备的影响。由于心肌运动为多层次复合运动,包含了牵张力、收缩力、曲力与扭力等多方向力学向量;因此实验采用不同缝合方式,观察在复合运动条件下,压电设备不同形态所吸收的机械能大小^[4]。平行于右心室纵轴缝合时,记录峰值电位 1.7V,而垂直于心脏长轴方向单纯左心室峰值电位 2.1V。选择左心室心尖偏头侧位置固定芯片一端,跨房室沟于右心室平坦部固定芯片另一端,测量所得电压为 3.0V;选择跨房、室位置进行缝合实验,经右心房、右心室缝合于心脏右侧,峰值电压 0.8V;而经肺动脉下左房缝合一端,斜跨冠脉左前降支与左回旋支夹角缝合固定另一端后,得到输出电压为 1.2V。心脏表面操作完成后,尝试一端连接心尖,一端连接部分膈肌;取一新压电设备芯片,两端基质不做修剪以保留足够长度连接心脏表面与膈肌;一端缝合于左心室心尖偏右侧,此固定方法使芯片打折扭曲严重,变形幅度差异较大,无法准确测量输出电压。向上探查,游离心包至心包反折,暴露升主动脉大部,将压电设备呈角度弯曲固定于升主动脉外膜,收集主动脉搏动,峰值电压为 0.8V。

固定跨左、右心室为电压输出最大点后,利用相同缝合位置,不同缝合方法,观察在不同固定方法下,

芯片的稳定程度。采用 3 种不同的缝合方式结合压电器件与心脏表面,于相同位置,对角各一针 6-0 prolene 线缝合器件与心脏表面;4 角每角一针 6-0 prolene 线缝合;连续缝合一针闭锁器件一边与心脏连接,对侧位置缝合一针,结果如表 2。

表 2 不同方法缝合器件的效果

缝合方法	输出电压(V)	器件稳定性
两点缝合	3.1	差
四角缝合	3.0	较好
闭合一边+单点缝合	1.7	好

2. 家兔对照实验:实验组术前平均体重 $2.64 \pm 0.13\text{kg}$,对照组平均体重 $2.58 \pm 0.19\text{kg}$ ($P = 0.583$);实验组血压 $98.20 \pm 8.64\text{mmHg}$,对照组血压 $99.00 \pm 12.94\text{mmHg}$ ($P = 0.911$);实验组心率 286.00 ± 38.47 次/分,对照组心率 300.00 ± 30.82 次/分 ($P = 0.543$)。

术后饲养 2 周行常规检查,无家兔死亡、无不良事件发生。测量实验组平均体重 $2.56 \pm 0.18\text{kg}$,对照组平均体重 $2.56 \pm 0.54\text{kg}$ ($P = 0.999$)。实验组心率 286.00 ± 20.74 次/分,对照组心率 300.00 ± 18.71 次/分 ($P = 0.295$)。

术后 4 周,1 只对照组家兔发现颈部肿物,行再次开胸实验,探查肿物与开胸实验关系,但家兔于麻醉过程中死亡,颈部肿物摘除后送病理检验。其他家兔均正常存活,具体情况见表 3。

讨 论

压电效应 (piezoelectric effect),是一种将电信号进行收集和利用的过程^[5]。其主要通过压电材料将动能转换为电能,由在具有某些结构的电介质晶体中,通过纯粹的机械作用而发生极化,并导致介质两端表面内出现符号相反的束缚电荷,其电荷密度与外力成比例。这种由于机械力的作用而激起晶体表电荷的过程为压电效应。PZT 材料为压电陶瓷的一种,由于其压电性能和温度稳定性以及居里温度等都大大优于其他压电陶瓷,且可通过改变组分或改变外界条件使其电物理性能在很大范围内进行调解,使其在医疗卫生、工程探伤、传感器制造等领域中具有广泛的应用前景,并被广泛认为是功率最高,敏感度最高的压电反应材料^[4]。实验所采用压电 UFEH 为清华大学设计制造,利用转印技术,将铁电纳米条带与柔性 PDMS 基质的集成,借助纳米 PZT 条带的结构失稳实现了柔性可延展特性,可较好地适应生物组织柔性 & 心脏能量收集。

表 3 家兔情况

编号	体重(术前/ 术后 2 周)(kg)	心率(术前/ 术后 2 周)(次/分)	血压(术前收缩压) (mmHg)	压电芯片输出 电位(mV)	状态 (术后 4 周)	状态 (术后 8 周)
实验组						
1	2.5/2.6	240/300	100	60	存活	存活
2	2.7/2.6	320/310	112	50	存活	存活
3	2.8/2.8	330/290	89	60	存活	存活
4	2.5/2.3	260/260	95	未测得	存活	存活
5	2.7/2.5	280/270	95	未测得	存活	存活
对照组						
1	2.6/2.6	350/320	95	N/A	存活	存活
2	2.3/2.5	280/300	85	N/A	存活	存活
3	2.8/2.6	270/310	100	N/A	死亡	N/A
4	2.7/2.6	300/270	120	N/A	存活	存活
5	2.5/2.5	300/300	95	N/A	存活	存活

压电信号采集强弱与不同缝合部位有着密切的联系,基于对心脏构造的深入了解,笔者发现在缝合过程中,左心室心尖区域变形幅度最大,相应输出电压最高。同时,笔者采用美国 AHA 对于心脏影像学检查时所采用的左心室分区方法^[6,7],以更加明确地标示缝合位置。此位置相当于左心室腔,AHA 分区第 13 区,输出电压超过 3V;此位置为体循环起始部位,血流量大,压力高,变形幅度大。于左心室收缩末期,电压达到最大幅度,两者具有密切相关性。而进一步观察,柔性可延展压电器件的压电输出信号随心脏功能而改变,从而在一定程度上反映了动态血流动力学变化。在完全麻醉状态下,随着麻醉加深,心率减慢,麻醉进行 20min 时电压输出 3V,此时实验动物血压 95/50mmHg,心率 75 次/分;麻醉深入,40min 时输出电压为 2.7V,同比下降 10%;加深麻醉,于维持 2h 后,输出电压为 1.3V,下降 56%。于此过程中,静脉麻醉强度逐渐增强,丙泊酚和瑞芬太尼给药量增加。

压电设备输出信号同样受到术中缝合方法的影响,不同的缝合方式直接决定了器件的变形空间与变形程度,而变形则是决定设备输出电压的最主要因素^[8]。手术过程中,采用 3 种不同的缝合方式结合压电器件与心脏表面(表 2),于相同位置,对角各一针 6-0 prolene 线缝合器件与心脏表面;4 角每角一针 6-0 prolene 线缝合;连续缝合一针闭锁器件一边与心脏连接,其他位置不缝合。实验结果显示,4 角缝合方式稳定性最佳,且可提供最为稳定的输出信号。四角固定使得器件稳定,避免无效且易致器件老化的扭曲、打褶等动作;而四边未加缝合,保证了设备吸收心脏运动而产生的正常变形,维持此状态以利于长期于

体内进行压电反应。

基于家兔易于饲养,易于管理,且可重复性强的特点,笔者采用家兔进行长期对照实验。于家兔芯片植入前,笔者对现有芯片的改进做出了几种尝试,首先,采用生物胶等措施,拟直接黏附于腹主动脉表面,不进行缝合固定;但此方法使周围组织与器件黏性增大,极不利于操作,无法对芯片行正常固定,分析显示,此类促术中凝血胶类物质为有机 α -氰基丙烯酸乙酯复合物,遇液体会变硬、结痂,从而达到止血效果,因此不适用于贴合压电材料。其次,笔者利用已商品化的术中贴膜,可吸收材料等结合压电设备,使其在体内抗粘连性更强,生物体相容性更好。

柔性可延展压电设备与常用 Dacron 补片对比^[9]:单位面积内抗弯刚度可被定义为公式 $Eh^3/12$,其中 E 代表材料弹性系数,h 则表示测量厚度。介于实际测量状态下,Kapton 有机基质占到了设备的绝大部分,测量刚度中 E_{Kapton} 可代表整体器件,与 Dacron 补片对比可简化为公式: $E_{Kapton} K_{Kapton}/E_{Dacron} K_{Dacron}$,举例取 Mersilene 公司 Dacron 补片一款,其 $K_{Dacron} = 300\mu m$, $E_{Dacron} = 1.12GPa$,而对应柔性可延展压电设备 $K_{Kapton} = 75\mu m$, $E_{Kapton} = 2.83GPa$, $E_{Kapton} K_{Kapton}/E_{Dacron} K_{Dacron} = 3.95\%$,即对比抗弯刚度,压电设备低于 Dacron 补片,压电设备柔性明显高于 Dacron 补片^[10]。此结论说明,将柔性可延展压电设备缝合于心脏表面,将不会带来多余负担,对比常用 Dacron 补片,其损伤性更小。于家兔对比实验中,笔者对长期负载压电设备后的组织相容性进行了对比研究,结果发现,芯片对周围组织融合性好,不会对家兔带来生存风险。

家兔血压测量较为困难,因此于术后再次检查时

未进行相应的血压测定。术后 4 周检查发现,对照组 3 号家兔出现非实验相关性疾病,并于再次手术麻醉过程中死亡。其他家兔均正常存活(5 只 vs 4 只, $P=0.999$)。结果显示,植入芯片对家兔生存无明显影响,体重无明显减轻,心率亦无明显差异。

综上所述,基于压电原理的纳米自发电技术能够将人类生活中普遍存在的由人类自身活动产生的机械能转化为电能,若能提高其转化效率并有效存储,必将成为一条持续、稳定、可靠的能量供应来源,为人们生活中的随身电子设备和医疗用可植入电子设备供能。本研究证明,此类设备材料经过集成、转印等一系列物理力学方法后,可以很好地适应生物体体内环境;对组织损伤小,不影响动物正常活动,为今后加大科研投入,大批量制造并进一步合成、升级器件,拓展动物实验等提供了有力的理论保障。

参考文献

- Meitl MA, Zhu ZT, Kumar V, *et al.* Transfer printing by kinetic control of adhesion to an elastomeric stamp[J]. *Nature Materials*, 2006, 5 (1): 33 - 38
- Chen H, Lu BW, Feng X, *et al.* Experiments and viscoelastic analysis of peel test with patterned strips for applications to transfer printing[J]. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 2013, 61 (8): 1737 - 1752
- Hwang GT, Byun M, Jeong CK, *et al.* Flexible piezoelectric thin - film energy harvesters and nanosensors for biomedical applications[J]. *Advanced Healthcare Materials*, 2015, 4 (5): 646 - 658

- Dagdeviren C, Yang BD, Su Y, *et al.* Conformal piezoelectric energy harvesting and storage from motions of the heart, lung, and diaphragm[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014, 111 (5): 1927 - 1932
- 张巍,刁力为,陈航,等. 纳米压电发电技术在人体植入式电子设备中的应用[J]. *北京生物医学工程*, 2013, 32(5): 541 - 547
- Greenbaum RA, Ho SY, Gibson DG, *et al.* Left ventricular fibre architecture in man[J]. *British Heart Journal*, 1981, 45(3): 248 - 263
- Cerqueira MD, Weissman NJ, Vasken D, *et al.* Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart. A statement for healthcare professionals from the Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2002, 105(4): 539 - 542
- Schulz DD, Czeckzo NG, Malafaia O, *et al.* Evaluation of healing prosthetic materials polyester mesh resorbable film and collagen elastin matrix /polypropylene used in rabbits abdominal wall defects[J]. *Acta Cirurgica Brasileira*, 2009, 24(6): 476 - 483
- Okuda T, Higashide T, Fukuhira Y, *et al.* Suppression of avascular bleb formation by a thin biodegradable film in a rabbit filtration surgery with mitomycin C[J]. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2012, 250(10): 1441 - 1451
- Wu WW, Jiang XY, Liu B, *et al.* Open construction of experimental abdominal aortic aneurysm swine models with Dacron patch for evaluating endovascular aneurysm repair techniques[J]. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao*. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2014, 36(1): 92 - 97

(收稿日期:2015 - 05 - 08)

(修回日期:2015 - 05 - 13)

新型复方制剂斑晓胶囊对内皮祖细胞刺激活化的影响

王 贤 吴宗贵

摘 要 **目的** 观察新型复方制剂斑晓胶囊对小鼠骨髓源性内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)的刺激活化作用。**方法** 以不同浓度的斑晓胶囊制剂处理小鼠骨髓源性 EPCs 细胞后,用 CCK - 8 法检测细胞增殖,采用流式细胞术的方法鉴定内皮祖细胞表面抗原 CD - 34、VEGFR - 2 的表达,采用 Transwell 法检测 EPCs 迁移功能,采用 Western blot 法检测 Bcl - 2/Bax 蛋白水平的变化。**结果** 在所设加样量范围内,斑晓胶囊低剂量组和高剂量组与对照组相比,鼠源性 EPCs 的生长增殖能力增强($P<0.05$),CD - 34 及 VEGFR - 2 双阳性表达逐渐增多($P<0.05$),Bcl - 2 蛋白水平上升,Bax 蛋白水平下降,并呈浓度依赖性。**结论** 斑晓胶囊可促进小鼠骨髓源性 EPCs 的增殖,其机制可能与通过提高 Bcl - 2/Bax 比值,抑制细胞凋亡有关。

关键词 复方制剂斑晓胶囊 小鼠骨髓源性内皮祖细胞 冠心病

中图分类号 R541.4

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.07.010

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81130065)

作者单位:200433 上海,中国人民解放军第二军医大学附属长征医院心血管内科

通讯作者:吴宗贵,教授,博士生导师,电子信箱:wuzonggui12@163.com