

文章编号:1671-6833(2014)05-0001-05

一种慢性植入式微丝电极性能的改进

师 黎, 陈建威, 王松伟

(郑州大学 电气工程学院, 河南 郑州 450001)

摘 要: 电极是电生理实验中昂贵的易耗品, 价格低廉的自制微丝电极得到了广泛应用, 但其植入性能还不尽如人意。为制备成本低且具有较好性能的微丝电极, 首先分析了影响长期记录性能的关键因素, 然后从电极制备和尖端表面修饰两个方面对现有制备工艺进行了改进, 建立了修饰电极的阻抗模型, 并对其属性、信号采集能力和生物相容性进行系统地评价。结果表明, 改进后电极尖端表面光滑, 阻抗平均降低了 56.1%; 修饰电极的阻抗模型有效; 记录信噪比更高, 记录寿命达到 45 d; 生物相容性良好, 可以满足一般电生理实验要求。

关键词: 微丝电极; 电极尖端; 记录寿命; 生物相容性

中图分类号: TM241.2; TP212.3 文献标志码: A doi:10.3969/j.issn.1671-6833.2014.05.001

0 引言

大脑是生物体内最复杂的系统^[1]。研究大脑复杂的信息处理机制, 往往需要获得足够数目的神经元电活动信息。植入式微电极阵列可以同时获得多个神经元的电活动信息, 是大脑相关神经机制研究的重要手段^[2]。微丝电极阵列是电生理实验中的易耗品。目前高性能的电极阵列主要依赖进口, 价格昂贵; 而微丝电极阵列是植入式微电极阵列中低端类型的一种, 具有成本低、品种多样、适用范围广等优点^[3]。

前期制备的电极, 采用手工排列得到微丝阵列, 最后使用手术剪刀进行前端切割。这是一种在国内电生理实验室广泛采用的微丝电极制备方案^[4-5]。电极植入活体后, 随着时间增加, 其记录性能会逐渐变差直至失效^[6]。因此, 需要对影响电极记录的因素进行分析, 涉及电极周围的组织、电极材料和电极—组织界面三个方面。当电极植入到脑组织中, 会引起急性反应^[7]和慢性反应。慢性反应会降低电极长期记录性能^[8]。

2001 年 P. J Rousche 等^[9]认为电极的尺寸和横截面都会对组织反应产生影响。Jonas Thelin 等^[10]于 2011 年的研究表明电极的尺寸将会强烈影响神经系统的组织反应, 指出较小的尺寸引起

较小的组织反应。2013 年 Suozhuwo 等^[11]提出一种简易的电极制备方案, 并使用剪刀切割电极尖端。因此, 需改进电极的制备工艺, 采用微切割工艺提高电极尖端表面的光滑度。对于电极—组织界面的研究已久, 1968 年 David 就提出了电极—组织界面的等效模型, 指出电极—组织界面影响电极的记录性能^[12]。2010 年 SCOTT FRANCIS LEMPKA 指出记录电极的长期性能依赖于电极—组织界面的组分, 并建立了更完善的电极—组织界面模型^[13]。2012 年 Abhishek 等通过非生物的和生物的指标分析了电极失效的原因, 指出电极—组织界面是影响电极长期记录性能的重要因素^[14]。以上研究均忽略了对电极尖端进行表面修饰。

利用微加工模具进行电极制备工艺的改进; 采用微切割工艺进行电极尖端切割; 采用导电聚合物对切割后的电极尖端进行表面修饰。建立尖端修饰后电极—导电聚合物—电解液的阻抗模型, 并对电极的属性、信号采集能力和生物相容性进行系统地评价。

1 实验设计

1.1 电极制备

微丝电极原制备工艺: ①对实验台和所用器械消毒; ②剪丝; ③取电路板, 固定、涂胶; ④排丝,

收稿日期: 2014-06-04; 修订日期: 2014-08-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (U1304602)

通信作者: 王松伟 (1979-) 男, 郑州大学讲师, 博士, 主要从事生物视觉机制与生物信号检测研究, E-mail: xiaosh-eng581@126.com.

穿孔,焊接;⑤反面,重复③和④;⑥焊接后端接口;⑦采用手术剪刀将电极裁剪。

改进后电极的制备工艺:①将实验台和所用器械消毒;②微组装;③微焊接;④反面,重复②;⑤微切割。电极材料为镍镉合金丝。如图 1 所示为 16 个记录通道电极阵列。

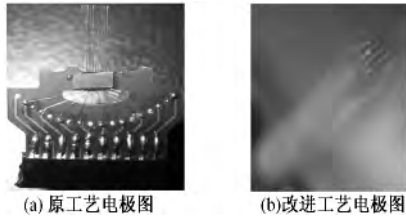


图 1 电极图

Fig. 1 The electrode pattern

电极尖端的阻抗和形态直接影响电极的性能。由于电极丝的直径为 $39 \mu\text{m}$, 因此, 需在扫描电子显微镜 (Scanning Electron Microscopes, SEM) 下对电极尖端进行观测。图 2 为电极尖端在 SEM 下的照片。

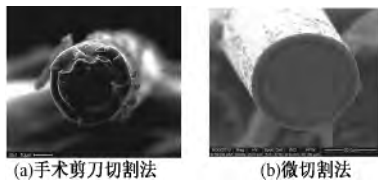


图 2 电极尖端照片

Fig. 2 The electrode tip photos

从图 2 可以看出, 剪刀剪切的时候会出现粘连现象。而微切割截面平滑整齐且电极尖端周围绝缘层形态完好。微切割能够更好地提高电极的电化学性能; 更好地提高电极的生物相容性。

1.2 电极尖端修饰与阻抗模型的建立

导电聚合物 (Conductive Polymer, CP) 聚吡咯具有导电性能和生物相容性良好等优点, 采用 NeuroNexus 的 niPOD 对电极尖端进行修饰, 使其尖端附着聚吡咯, 进而改进电极的性能。当金属置于电解液中后, 金属和电解液的界面就会发生化学反应, 并在该界面形成双电层的电荷分布。镀膜修饰后, 电极尖端被聚吡咯包裹, 呈现疏松多孔结构。建立修饰电极—导电聚合物—电解液阻抗模型^[15]如图 3 所示。

该电路元件有: 溶液电阻 R_s ; 镀层电容 C_c ; 孔电阻 R_{Pore} ; 双电层界面电容 Z_{CPE} ; 电荷转移电阻 R_t 和有限扩散阻抗 Z_T (包括 C_T 和 R_T)。

由图 3 可得电极—导电聚合物—电解液的阻抗用公式表示为

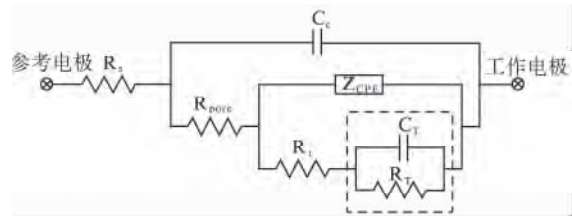


图 3 电极—导电聚合物—电解液界面的等效电路模型

Fig. 3 The equivalent circuit model of electrode-CP-electrolyte interface

$$Z = R_s + Z_{\text{elect}} = R_s + \frac{1}{j\omega C_c + \frac{1}{R_{\text{Pore}} + \frac{1}{\frac{1}{Z_{\text{CPE}}} + \frac{1}{R_t + Z_T}}}}, \quad (1)$$

$$\text{溶液电阻} \quad R_s = \frac{\rho}{4r}, \quad (2)$$

式中: ρ 是溶液的电阻率 (生理盐水的电阻率为 $72 \Omega \cdot \text{cm}$); r 是半径。

$$\text{镀层电容} \quad C = \frac{\varepsilon_0 \varepsilon_r}{d}, \quad (3)$$

式中: ε_0 是真空中电介质的介电常数 (也叫做电容率 $8.854 19 \times 10^{-12} \text{ F/m}$); ε_r 是两个极板间介质的相对介电常数; d 是它们之间的距离。

界面电容: 界面电容由双电层电容和扩散电容串联组成^[15]。用公式表示如下

$$\frac{1}{C_1} = \frac{1}{C_H} + \frac{1}{C_G} = \frac{d_{\text{OHP}}}{\varepsilon_0 \varepsilon_r} + \frac{L_D}{\varepsilon_0 \varepsilon_r \cosh(\frac{zV_0}{2V_t})}, \quad (4)$$

式中: d_{OHP} 是双电层的厚度; ε_0 是真空的介电常数; ε_r 是双电层的介电常数; z 是溶液中离子携带的电荷; V_0 外加电极的电位; V_t 是热电压。 L_D 由下面的公式给出

$$L_D = \sqrt{\frac{\varepsilon_0 \varepsilon_r}{2n_0 z^2 q}}, \quad (5)$$

$$V_t = \frac{kT}{q}, \quad (6)$$

式中: n_0 是溶液中离子的体积浓度; q 是基本电荷; k 是 Boltzmann 常数。

电荷转移电阻: 电荷转移电阻 R_t 可以计算为

$$R_t = \frac{V_t}{J_0 z}, \quad (7)$$

这些电流的大小被称为平衡交换电流密度 J_0 (单位为 A/cm^2) 和热电压 $V_t = kT/q = 0.025 9 \text{ V}$ 。

循环伏安法被用来测定 J_0 。假设电荷转移来自 H_2O 的电解和 O_2 的还原根据 $2\text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+$

+4e⁻ 的值为 4 ,

$$Z_{\text{CPE}} = \frac{1}{j\omega C_1} \tag{9}$$

有限扩散元件 Z_T 可以用扩散时间常数 τ_T ($\tau_T = R_T C_T$) 扩散的虚拟电容 C_T 和扩散电阻 R_T 来描述^[15] ,

$$Z_T = \left(\frac{\tau_T / C_T}{\sqrt{j\omega\tau_T}} \right) \coth \left(\sqrt{j\omega\tau_T} \right) \tag{10}$$

对未修饰电极和修饰电极进行多次体外电化学阻抗谱测量 ,并计算理论上的阻抗谱. 得到图 4 中等效模型的电化学阻抗谱与测量的阻抗谱如图 4 所示. 图 4(a) 灰色区域表示测量的阻抗谱的范围 ,黑线是理论计算的阻抗谱;(b) 灰色区域表示测量的相位谱的范围 ,黑线是理论计算的相位谱 ,由图 4 可知 ,电极—导电聚合物—电解液的等效电路模型对于评价电极的电化学性能是有意义的.

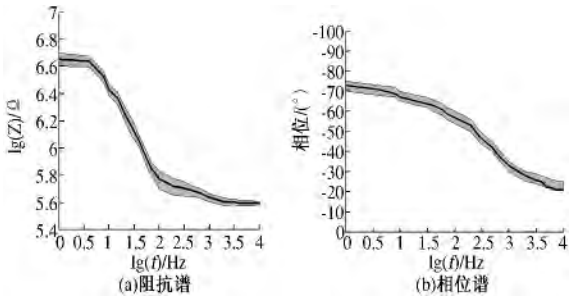


图 4 电化学阻抗谱

Fig. 4 Electroche mistry impedance spectrum

未修饰电极和修饰电极的材料、制备工艺和切割方法相同. 随机选取修饰电极和未修饰电极各 5 个 ,阻抗测试实验在标准生理盐水中进行 ,未修饰电极和修饰电极在 1 kHz 下阻抗值如表 1 所示.

修饰后阻抗降低率平均为 56. 1% . 未修饰电极和修饰电极的电化学阻抗谱如图 5 所示.

表 1 未修饰电极和修饰电极在 1 kHz 下的阻抗

Tab.1 The impedance value of unmodified electrode and modified electrode at 1 kHz																MΩ
电极通道	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
未修饰	0.85	0.85	0.86	0.87	0.88	0.89	0.95	0.99	0.86	0.87	0.88	0.89	0.90	0.93	0.96	0.98
修饰	0.37	0.38	0.38	0.39	0.39	0.40	0.42	0.45	0.37	0.38	0.39	0.40	0.40	0.41	0.42	0.44

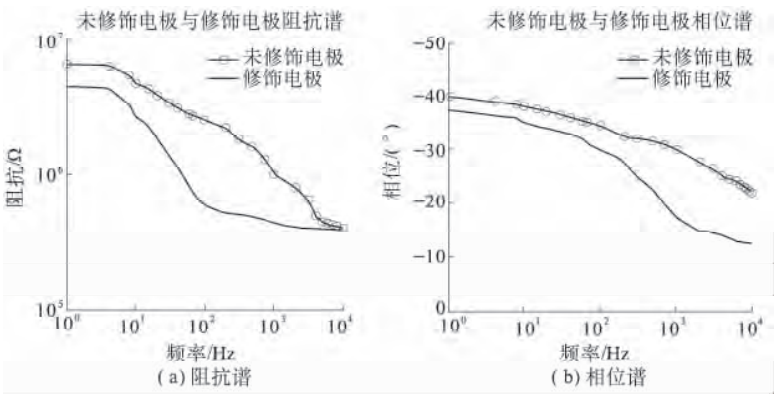


图 5 未修饰电极和修饰电极的电化学阻抗谱

Fig.5 Electrochemical impedance spectrum of unmodified electrode and modified electrode

从图 5 可以看出 ,随着频率的增加 ,电极的阻抗逐渐减小 ,电极呈现高通特性. 在整个频域 ($10^0 \sim 10^4$ Hz) 修饰电极的阻抗都比未修饰电极的阻抗低 ,相位延迟小 ,有利于电极有效地工作.

1.3 慢性植入手术

选取体重为 200 ~ 300 g 的 LE (Long Evans) 大鼠作为实验对象. 将未修饰电极和修饰电极总共 10 个电极分别植入到 10 只大鼠初级视觉皮层. 大鼠性别相同、状态相近.

2 实验结果

2.1 信号采集与分析

采用信噪比和记录寿命 2 个指标评价电极的信号采集能力. 植入手术结束后 ,待大鼠身体状态恢复 (约 1 周) 以后 ,定期采集信号.

信噪比指出了电极从随机的背景噪声中辨别实际神经元动作电位的可用的动态范围 ,信噪比计算为动作电位的峰峰值除以噪声基底值均方

根^[16]. 未修饰电极和修饰电极信噪比如图 6 所示.

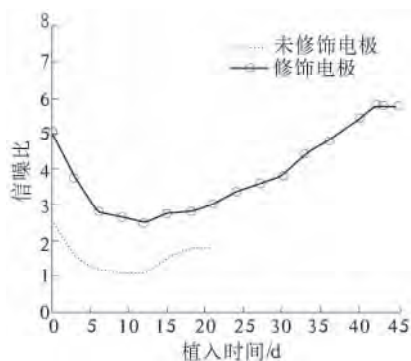


图 6 未修饰电极与修饰电极信噪比随时间变化图

Fig. 6 The SNR of unmodified electrode and modified electrode during duration

从图 6 可以看出,随着植入时间的增加,信噪比的变化趋势是先下降然后再上升,最后基本保持不变,并且,修饰电极信号的信噪比要比未修饰电极信号的信噪比高,说明修饰电极的信号采集能力要优于未修饰电极的信号采集能力.

电极的记录寿命是指电极能够记录到大量动作电位的持续天数^[17]. 未修饰电极的记录寿命较短,平均为 17 d,修饰电极记录寿命较长,最长为 45 d,平均为 40 d,修饰电极的平均记录寿命比未修饰电极的平均记录寿命约提高了 1.4 倍.

2.2 生物相容性分析

神经胶质纤维酸性蛋白 (Glial Fibrillary Acidic Protein, GFAP) 是星形胶质细胞活化的标记物. 当电极植入脑区后,会引起星形胶质细胞的增殖和聚集^[18]. 对修饰电极大鼠和未修饰电极大鼠脑组织分别做 GFAP 标记. 在荧光显微镜下观察,如图 7 所示.

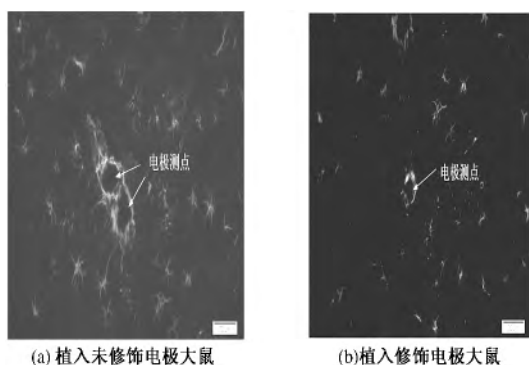


图 7 GFAP 标记的图片

Fig. 7 The image of GFAP labeled

从图 7 可以看出,未修饰电极测点周围星形胶质细胞聚集程度高于修饰电极测点星形胶质细

胞聚集程度. 说明未修饰电极对组织的伤害大于修饰电极对组织的伤害. 表明修饰电极生物相容性优于未修饰电极的生物相容性.

3 讨论

从电极制备和电极尖端表面修饰两个方面对现有制备工艺进行改进,并对其属性、信号采集能力和生物相容性进行系统地评价. 结果表明,电极尖端表面光滑度提高;尖端修饰电极的阻抗平均降低 56.1%,提高了记录信号的信噪比;验证了修饰电极的阻抗模型的有效性,说明修饰电极具有良好的电化学性能;修饰电极记录寿命达到 45 d,比未修饰电极约提高 1.4 倍;修饰电极植入脑区后,组织反应更小,说明它的生物相容性更好,能够满足一般电生理实验的要求. 进一步优化电极设计、提高电极植入水平,进而改进电极的性能,提高电极的记录寿命是下一步的研究方向.

参考文献:

- [1] 梁培基,陈爱华. 神经元活动的多电极同步记录及神经信息处理 [M]. 北京:北京工业大学出版社, 2003, 1-3.
- [2] 封洲燕,王静. 微电极阵列大脑电信号检测技术的进展 [J]. 电子学报, 2009, 37(1): 153-157.
- [3] BRENT D W, PATRICK A T. Quantitative analysis of the tissue response to chronically implanted microwire electrodes in rat cortex [J]. Biomaterials, 2010, 31(7): 1558-1567.
- [4] TSAI M L, YEN C T. A simple method for fabricating horizontal and vertical microwire arrays [J]. Journal of Neuroscience Methods, 2003, 131(1): 107-110.
- [5] 曹征,李天翱,隋晓红,等. 多层视网膜上假体柔性薄膜微电极阵列的研究 [J]. 中国医疗器械杂志, 2010, 34(6): 399-402.
- [6] ABHISHEK P, JUSTIN C S. Quantifying long-term microelectrode array functionality using chronic in vivo impedance testing [J]. Journal of Neural Engineering, 2012, 9(2): 1-11.
- [7] KOZAI T D, KIPKE D R. Insertion shuttle with carboxyl terminated self-assembled monolayer coatings for implanting flexible polymer neural probes in the brain [J]. Neurosci. Methods, 2009, 184(2): 199-205.
- [8] BIRAN R, MARTIN D C, TRESCO P A. Neuronal cell loss accompanies the brain tissue response to chronically implanted silicon microelectrode arrays [J]. Exp. Neurol, 2005, 195(1): 115-126.
- [9] ROUSCHE P J, PELLINEN D S, PIVIN D P, et al.

- Flexible polyimide-based intracortical electrode arrays with bioactive capability [J]. IEEE Trans Biomed Eng 2001 ,48 (3) :361 – 371.
- [10] JONAS T , JO H , PSOUNI E , et al. Implant size and fixation mode strongly influence tissue reactions in the CNS [J]. PLoS ONE 2011 ,6 (1) :1 – 9.
- [11] WU Suo-zhu , BIN Su. A simple approach for fabrication of microring electrodes [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry 2013 ,694 (1) :12 – 16.
- [12] DAVID A R. The electrical properties of metal micro-electrodes [J]. Proceedings of The IEEE ,1968 ,56 (6) :1065 – 1067.
- [13] SCOTT F L. The electrode-tissue interface during and stimulation in the central nervous system [D]. Cleveland: Case Western Reserve University Department of Biomedical Engineering 2010.
- [14] ABHISHEK P , XUE QING-shan , VISWANATH S , et al. Comprehensive characterization and failure modes of tungsten microwire arrays in chronic neural implants [J]. Journal of Neural Engineering ,2012 ,9 (5) :1 – 16.
- [15] GYTIS B , EMMA M , ELISA C , et al. Carbon nanotube composite coating of neural microelectrodes preferentially improves the multiunit signal-to-noise ratio [J]. Journal of Neural Engineering ,2011 ,8 (6) :1 – 13.
- [16] HUIGEN E , PEPER A , GRIMBERGEN C A. Investigation into the origin of the noise of surface electrodes [J]. Med. Biol. Eng. Comput. , 2002 ,40 (3) :332 – 338.
- [17] LIU Xin-dong , DOUGLAS B , M. Stability of the interface between neural tissue and chronically implanted intracortical microelectrodes [J]. IEEE Transactions on Rehabilitation Engineering , 1999 ,7 (3) :315 – 325.
- [18] POLIKOV V S , TRESCO P A , REICHERT , W M. Response of brain tissue to chronically implanted neural electrodes [J]. Neurosci. Methods 2005 ,148 (1) :1 – 18.

The Enhancement of a Chronically implanted Microwire Electrode Performance

SHI Li , CHEN Jian-wei , WANG Song-wei

(School of Electrical Engineering , Zhengzhou University , Zhengzhou 450001 , China)

Abstract: Electrodes were expensive consumables of electrophysiological experiments. Cheap and homemade microwire electrodes had been widely applied , but their implantation performance was not good. To fabricate low cost and acceptable performance of microwire electrode , first , the key factors affecting the long-term recording performance was analyzed and the direction of the enhancement of electrode was determined. The existing fabrication process was improved through electrode fabrication and the electrode tip surface modification , and the impedance model modified electrode was established and its properties , signal acquisition ability and biocompatibility was systematically evaluated. The result showed that the improved electrode tip surface was smooth and tidy , and its model was effective and its impedance decreased by 56.1% on average; record signal-to-noise ratio was higher; recording longevity reached 45 days; biocompatibility was better. It met the requirement of the general electrophysiological experiment.

Key words: microwire electrode; electrode tip; recording longevity; biocompatibility