Újfajta neurofiziológiai multielektródok fejlesztése és karakterizációja

Ph.D. tézisek

Márton Gergely

Semmelweis Egyetem Szentágothai János Idegtudományi Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Ulbert István, D.Sc., kutatóintézet-igazgató

Bírálók: Dr. Czurkó András, Ph.D., kutatás és fejlesztés vezető Dr. Négyessy László, Ph.D., tudományos főmunkatárs

A szigorlati bizottság elnöke:

Dr. Halász Béla, az MTA tagja, professor emeritus A szigorlati bizottság tagjai:

Dr. Acsády László, Ph.D., kutatócsoport-vezető

Dr. Somogyvári Zoltán, Ph.D., szenior kutató

Budapest 2015

1. BEVEZETÉS

Az extracelluláris tér véges vezetőképessége miatt az idegi aktivitást kísérő ionáramok potenciálteret hoznak létre, mely elektródok segítségével mérhető in vivo. Nagy sűrűségű multielektródokat alkalmazva a mérések által szolgáltatott jelek információtartalma nagymértékben növelhető. A mikro-elektromechanikai rendszerek (MEMS) technológiáját alkalmazva ilyen szenzorokat precíz, reprodukálható módon, sorozatgyártással hozhatunk létre. Manapság MEMS mikroelektródok széles választékban állnak rendelkezésünkre, de számos jelenleg is folyó kutatási projekt irányul ezek létrehozására, fejlesztésére és a felhasználásukban rejlő lehetőségek megismerésére.

Az érzékelő-felületek impedanciája egy kritikus tényező lehet, például a jel-zaj arányt befolyásolhatja, az elektródok effektív felületének csökkenése pedig növekvő impedanciát eredményez. Mivel a mikroelektródok geometriai mérete limitált, célszerű nagy fajlagos felületű anyagokból kialakítani az elektródokat. Ilyenek például a szén nanocsövek, a vezető polimerek és a szivacsos struktúrájú fém bevonatok. Ezen anyagok szöveti implantációnak és elektrofiziológiai méréseknek történő ellenálló-képessége nem teljesen tisztázott.

A MEMS ipar által tipikusan megmunkált anyagok, mint a Si, SiO₂, SiN_x, nemesfémek, stb. biokompatibilisek, azonban inert és nem-toxikus anyagok is képesek az immunrendszer gyulladásos válaszreakcióját kiváltani. A szilícium mechanikai merevsége – a szövet rugalmasságával ellentétben – nem előnyös ebből a szempontból. A flexibilis anyagokból készített implantátumok jobban beilleszkednek a szöveti környezetbe, képesek követni az agy pulzálását, mikromozgásait, kisebb mértékű zavart okozva. Ezen okokból kifolyólag a szilícium alapú mikroelektródok dominanciája az utóbbi években csökkent, és a polimer (pl. poliimid, SU-8, parilén C) alapú eszközök egyre inkább kezdenek előtérbe kerülni.

Ez a dolgozat négy különböző, agyi mikroelektródokkal kapcsolatos fejlesztést ír le, és tartalmazza azok patkány agykéregben végzett, akut in vivo mérésekkel történő funkcionális jellemzését.

2. CÉLKITŰZÉSEK

- A szilícium alapú, standard MEMS technológiával kialakítható neurális szenzorok szárhosszúsága a jellemzően milliméteres mérettartományból tovább, több centiméteresre növelhető mélyagyi struktúrák elérésének céljából. 15-70 mm hosszú, 200-400 µm vastag és széles szenzorokat hoztunk létre, melyekkel az agyhártyákat (a dura matert beleértve) keresztülszúrva precíziós implantáció valósítható meg. A kísérleteink során arra kerestük a választ, hogy az ilyen mérettartományba eső érzékelők milyen funkcionalitással bírnak az akut in vivo extracelluláris neurofiziológiai mérések terén, pl. alkalmasak-e sejtaktivitások mérésére.
- A neurofiziológiai mérések jel-zaj arányának növelése érdekében alacsony impedanciájú elektródok hozhatóak létre nagy fajlagos felületű bevonatokkal. A platinizált platina (Pt/Pt), viszonylag egyszerű leválasztási eljárásának köszönhetően kiválóan megfelelne erre a célra, azonban mechanikai stabilitását gyengének tartják. Célul tűztük ki kis impedanciájú Pt/Pt mikroelektródok in vivo implantációval és extracelluláris mérésekkel való kompatibilitásának meghatározását.
- Polimer alapú multielektródok gyakran kerülnek felhasználásra elektrokortikográfiás (ECoG) mérésekhez. Ez esetben az elektródokat az agyfelszínre helyezik. Továbbá intracerebrális implantátumokat is készítenek polimerekből, extracelluláris mérésekhez. Célunk egy olyan konstrukció kialakítása volt, mely e két megközelítés határán helyezkedik el: egy szenzorsor,

melynek tüskeszerű elektródjai enyhén a szövetbe hatolnak és az agyfelszín alól képesek jeleket regisztrálni.

 Egyidejűleg terveztünk ECoG és extracelluláris lamináris mérést megvalósítani egy újfajta, flexibilis elektródrendszerrel, mely egy beültethető szárat és agyfelszínre helyezhető, lapszerű multielektródot tartalmaz. A koncepció tekinthető az ún. "rajzszög" elektród flexibilis verziójának, mellyel mezőpotenciálokat, soksejt és egysejt aktivitásokat regisztráltak altatás alatt lévő, valamint éber emberekben.

3.1. Az extrém hosszú, szilícium alapú multielektródokkal kapcsolatos módszerek

3.1.1. Mikrotechnológia

A szilícium alapú multielektródok az MTA Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézetének Mikrotechnológia Osztályán kerültek kialakításra 4 hüvelykes egykristály szilíciumszeletekből, a MEMS iparban alkalmazott folyamatok segítségével, úgymint SiO₂ termikus növesztése, SiN_x alacsony nyomású kémiai gőzfázisú leválasztása (LPCVD), 15/270 nm vastag TiO_x/Pt fémréteg megmintázása Al és fotoreziszt áldozati réteget alkalmazó lift-off eljárással. A szigetelő (SiO₂ és SiN_x) rétegeket a fotolitográfiai ábrakialakítást követően szelektív nedves kémiai marással mintáztuk meg. Az eszközök alakját mély reaktív ionmarással (DRIE) formáztuk meg. A szárak 200-380 μm-es vastagsággal, 206-400 μm-es szélességgel, 15-70 mm hosszúsággal lettek kialakítva. Tetródokat és lineáris multielektródokat egyaránt készítettünk.

3.1.2. Akut in vivo mérések

A szenzorokat Wistar patkányokon teszteltük. Az állatokkal való bánásmód és a kísérletek megfeleltek az MTA Kognitív Idegtudományi és Pszichológiai Intézetének szabályzatával és az 1998. évi XXVIII. számú állatvédelmi törvény állatkísérletekre vonatkozó (243/1998) szakaszának előírásaival, mely törvény megfelel az Európai Tanács 86/609/EGK irányelveinek. Az állatokat először intraperitoneális injekcióval altattuk 37,5 mg/ml ketamin és 5 mg/ml xilazin oldattal, 0,3 ml oldat / 100 g testtömeg befecskendezésével. Az alvó állapotot ugyanezen oldat 0,3 ml / óra mértékű adagolásával tartottuk fenn. A patkányok fejét sztereotaxiás célzóba fogtuk. A fejtetőn lévő szőr leborotválása után a fejbőrt elmetszettük, hogy a koponyához hozzáférjünk. A lágy szöveteket, beleértve a koponyát borító csonthártyát szikével eltávolítottuk. A csontot 1%-os hiperol oldattal tisztítottuk meg. Az eddig leírt in vivo mérésekre

vonatkozó procedúrát a többi kísérletsorozatban is alkalmaztuk, beleértve a platinázott platina elektródok minősítését és a polimer alapú multielektródok karakterizációját.

Részleges kraniotómiát végeztünk, a bregmához viszonyítva anteroposzterior (AP) irányban -1 mm és -5 mm közötti, mediolaterális (ML) irányban 1 mm és 4 mm közötti kiterjedésű ablakot nyitva. Az érzékelőket a dura mater eltávolítása vagy bemetszése nélkül, lassan szúrtuk be az állatok nagyagyába.

3.1.3. Agyi jelek regisztrálása és feldolgozása

A jeleket egy kétfokozatú erősítő- és adatfelvételi rendszerrel, 1000-szeres erősítéssel, 20 kHz mintavételi frekvenciával és 16 bites felbontással regisztráltuk. A Neuroscan Edit 4.5 szoftvert használtuk a jelek nem valós idejű megjelenítésére, szűrésére és elemzésére. Az ingyenesen elérhető Klusters szoftvert használtuk a sejtaktivitások klaszterezésére.

3.2. A platinizált platina elektródok in vivo ellenállóképességének vizsgálatának módszerei

3.2.1. Az alkalmazott mikroelektródok

A kísérletekhez szilícium alapú multielektródokat használtunk. A 7 mm hosszú, 280 μ m széles, 80 μ m vastag elektródszár középvonalában 24 db, 30 μ m × 30 μ m geometriai felületű porlasztott platina elektród helyezkedett el.

3.2.2. Elektrokémiai impedancia spektroszkópia

Elektrokémiai impedancia spektroszkópiai (EIS) méréseket végeztünk Ringer oldatban, Ag/AgCl referencia és a mikroelektródokhoz képest nagyméretű Pt ellenelektródot alkalmazva. A mérőfeszültség 25 mV négyzetes középértékű (RMS) szinuszhullám volt. Gamry Reference 600 berendezést használtunk potenciosztátként, Gamry Framework 6.02 és Echem Analyst 6.02 szoftvereket a kísérletek vezérléséhez, adatregisztrációhoz és analízishez. A kísérleteket Faraday kalitkában végeztük.

3.2.3. Ciklikus voltammetria

Ciklikus voltammetria (CV) segítségével mértük az elektródok effektív felületét. A görbéket PAR 283 potenciosztáttal, három részre osztott elektrokémiai cella alkalmazásával vettük fel. 0,5 M H₂SO₄ oldatot használtunk elektrolitként, melyet 99,9995% tisztaságú argon gázzal oxigénmentesítettünk. Egy hidrogén elektródot

alkalmaztunk referenciaelektródként és egy platinalemezt ellenelektródként. A mikroelektródok effektív felületét meghatároztuk a CV görbékből és ezt elosztva a geometriai felülettel kaptuk meg a durvasági tényezőt.

3.2.4. Platina elektrolitikus leválasztása

Nagy durvasági tényezőjű Pt/Pt rétegeket választottunk le PAR 283 potenciosztát segítségével, 1 g PtCl₄ × 2HCl × $6H_2O + 2 \text{ cm}^3$ konc. HCl + 200 cm³ H₂O oldatból. Potenciosztatikus leválasztást alkalmaztunk, mely a galvanosztatikussal szemben jobban kontrollálható és homogénebb réteget eredményez. A leválasztási feszültséget 100 mV-ra állítottuk (standard hidrogénelektródhoz képest), melyet 10 percen keresztül kapcsoltunk a munkaelektródra. Előkísérletek során egyéb paramétereket is kipróbáltunk. A 24-csatornás multielektródok csak minden 2. elektródjára (2. 4. stb.) választottunk le platinát, a páratlan sorszámú csatornákat meghagytuk kontrolloknak. A továbbiakban az eredeti, páratlan sorszámú elektródokra *porlasztott Pt*, míg a páros sorszámúakra *Pt/Pt* elektródokként hivatkozunk.

3.2.5. In vivo tesztelési eljárások

Az elektródok ellenálló-képességét altatott patkányok nagyagyába ültetve teszteltük. Az eszközöket egyenként 12-szer implantáltuk és használtuk extracelluláris agyi jelek mérésére. Minden 3. implantációt megelőzően egy tisztítási eljárásnak vetettük alá őket: 0,5 M H₂SO₄ oldatban, 3 másodpercig, 5 alkalommal \pm 1.5 V DC feszültséget kapcsoltunk rájuk, egy jóval nagyobb felületű ellenelektródot alkalmazva.

220-390 g súlyú Wistar patkányokat (összesen tizenkettőt) a szilícium alapú eszközök tesztelésénél leírt módon készítettünk elő műtétre. Részleges kraniotómiát végeztünk, a bregmához viszonyítva AP irányban -1 mm és -4 mm közötti, ML irányban 1 mm és 4 mm közötti kiterjedésű ablakot nyitva. A dura matert sértetlenül hagytuk. A felhasznált kisállatok számának csökkentése érdekében egy-egy patkányba háromszor implantáltunk multielektródot. Az eszközöket a bregmához viszonyítva -3,6 mm/2 mm; -3,6 mm/3,6 mm; -3 mm/2,8 mm AP/ML sztereotaxiás koordinátákba szúrtuk, hegyüket az agyfelszínhez képest 4-5 mm mélyre, miáltal az érzékelő régió a hippocampusba és a thalamusba került. A nagyobb erek elkerülése érdekében maximum 0,15 mm-rel esetenként eltértünk a tervezett koordinátáktól. A jeleket egy órán keresztül vettük fel, szintén a 15-70 mm hosszú szilícium alapú eszközök tesztelésénél leírt

jelregisztráló rendszer segítségével. 12 implantációt követően termikus zajt mértünk in vitro, Ringer oldatban, ugyanezzel a rendszerrel.

Az elektródok 1 kHz-es frekvenciához tartozó impedanciáját megmértük a felvételek előtt és után, egy EASI-1 BAK berendezéssel, 500 nA-nél kisebb mérőárammal. Referenicalaktród gyanánt mind a neurofiziológiai mérések, mind az impedanciamérések esetében egy, a nyakba szúrt platina drót szolgált.

3.3. A polimer alapú, tüskeszerűen kiálló mikroelektródokkal rendelkező szenzor fejlesztésének és in vivo karakterizációjának módszerei

3.3.1. Mikrotechnológia

Az eszköz mikromegmunkálással készített komponensét egy oxidréteggel ellátott Si szeleten hoztuk létre. Egy alsó poliimid rétegből, egy középső fém (TiO_x + Pt) rétegből és egy felső SU-8 rétegből áll. Azért választottuk ezt a rétegkompozíciót, hogy kihasználhassuk a különböző polimerek kedvező tulajdoságait: A poliimid megfelelően tapad a szelethez, ugyanakkor könnyen lehúzható róla, a SU-8 pedig egyszerűen mintázható fotolitográfiával, ezért alkalmasabb felső réteg gyanánt. Kettő darab, 1 μ m felbontású fotolitográfiai maszkkal definiáltuk az eszközök rajzolatát.

24 db elektródot alakítottunk az eszközön lineárisan, egy 1,15 mm hosszú sorban. 22 μm alapoldal-hosszúságú, 20 μm magasságú, egyenlő szárú háromszög alakú szenzorfelületeket hoztunk létre, melyeket mikroszkópikus "tüskék" hegyén helyeztünk el.

Az elektródok impedanciáját in vitro, fiziológiás sóoldatban, EIS-sel mértük, ugyanazzal a berendezéssel, melyet az elektrolitikusan leválasztott platinarétegek méréséhez használtunk.

3.3.2. In vivo tesztelés

Az eszközök in vivo tesztelésének céljából a patkányokat a szilícium alapú eszközök tesztelésénél leírt módon készítettük elő műtétre. Részleges kraniotómiát végeztünk, a bregmához viszonyítva AP irányban -1 mm és -4 mm közötti, ML irányban 1 mm és 5 mm közötti kiterjedésű ablakot nyitva. A multielektródokat mikromanipulátorra rögzítettük. Az eszköz lapját a kisállat transzverzális síkjába állítottuk, hosszanti tengelye merőleges volt a neocortex felszínére. A dura matert a

célterületről eltávolítottuk, majd az elektródokat tartalmazó tüskéket a szövetbe juttattuk és elektrofiziológiai felvételt készítettünk a szilícium alapú eszközök tesztelésénél leírt jelregisztráló rendszer segítségével. Ezt a procedúrát a koponyán nyitott ablakban számos helyen megismételtük.

3.4. Multimodális, polimer alapú mikroektród-rendszer fejlesztésének és in vivo karakterizá-ciójának módszerei

3.4.1. Mikrotechnológia

A megfogalmazott célok között a negyedik pontban vázoltnak megfelelő eszköz létrehozásához ugyanazt a gyors és költséghatékony technológaiai folyamatot alkalmaztuk, melyet sikerrel használtunk a tüskeszerűen kiálló mikroelektródokkal rendelkező mikroelektródsor kialakításához. A folyamat segítségével poliimid (alsó szigetelő) – TiO_x/Pt (vezető) – SU-8 (felső szigetelő) rétegstruktúrát hoztunk létre. Az eszközt két komponensből állítottuk össze: egy, az ECoG elektródokat tartalmazó komponensből (8 csatornával) és egy lamináris extracelluláris multielektródból (16 csatornával). Utóbbit az ECoG komponens síkjára merőlegesen rögzítettük és a két elemet egy csepp epoxy gyantával rögzítettük a hátoldalukon, ügyelve az érzékelőfelületekre.

Az elektródimpedanciákat EIS-sel mértük. Impedanciacsökkentés csupán az extacelluláris multielektródon volt szükséges. Ezekre az előzőekben ismertetett nagy durvasági tényezőjű platinaréteget választottunk le.

3.4.2. In vivo felvételek

A multielektródok funkcionalitását patkányok agyában teszteltük. Összesen öt, 270-400 g tömegű Wistar patkányt altattunk el és készítettünk elő sztereotaxiás műtétre a szilícium alapú eszközök tesztelésénél leírt módon. Részleges kraniotómiát végeztünk, a bregmához viszonyítva AP irányban -1 mm és -6 mm közötti, ML irányban 2 mm és 7 mm közötti kiterjedésű ablakot nyitva. A szenzorokat egy csipeszhez rögzítettük, amit a sztereotaxiás célzó mozgatható konzoljába fogtunk be. A jeleket egy 32-csatornás Intan RDH-2000 erősítő- és jeldigitalizáló rendszerrel rögzítettük, 20 kHz mintavételi frekvenciával. A rendszer USB 2.0 kapcsolaton keresztül továbbította az adatokat számítógépre. A felvételek után a szenzorokat eltávolítottuk az agyszövetből és megtisztítottuk őket. 10 mg/ml Terg-A-Zyme oldatban áztattuk őket, 10-15 percig. Az áztatás időtartama alatt 3-4 alkalommal kivettük az oldatból és desztillált vízzel öblítettük őket.

A lamináris (extracelluláris) multielektród által szolgáltatott jeleket árramforrássűrűség (current source density - CSD) analízisnek is alávetettük. A CSD értékeket a MATLAB 2014b programcsomaggal, a CSDplotter nevű eszközkönyvtárral határoztuk meg.

4.1. Az extrém hosszú, szilícium alapú multielektródokkal végzett in vivo mérések eredményei

Az érzékelők az implantációt törés és elhajlás nélkül tolerálták. Az 5 vizsgált eszköz mindegyike képes volt egy-és soksejt aktivitásokat érzékelni az agykéregben és a thalamusban.

Egy 30 mm hosszú, 400 μ m széles, 200 μ m vastag tetróddal például összesen 35 sejt aktivitását vettük fel. Egy adott pozícióban jellemzően két-három klaszterbe különültek a sejtaktivitások. Az akciós potenciálok átlagos amplitúdója 128.9 ± 54.3 μ V volt, átlagos számukra egy klaszteren belül 1452 ± 1829 adódott. A klaszterek autokorrelogramjain látható 1-2 ms-os refraktív periódusok jelezték a szétválogatás helyességét. A legtöbb esetben egy adott sejtből származó akciós potenciál a négy csatorna közül többön is megjelent egyidejűleg. A neuronok többsége piramissejt (n = 13) és thalamokortikális sejt (n = 21) volt, széles jelalakkal (fél-amplitúdó hossz: 319 ± 69.4 μ s, tartomány: 208.5 – 452 μ s), kivéve egy neuront vékony jelalakkal (164.5 μ s), mely valószínűleg a thalamus retikuláris magjából (nRt) származott. Az nRt neuron 6-10 akciós potenciált tartalmazó sorozatokban (burst-ökben) tüzelt, míg a kortikális sejtek főkent egy, két vagy három akciós potenciálos jelformákat generáltak.

4.2. A platinizált platina elektródok in vivo ellenállóképességének vizsgálatának eredményei

4.2.1. Impedancia és durvasági tényező

A CV által szolgáltatott adatok szerint az elektrokémiai cella és a beállított leválasztási paraméterek átlagosan 950-es durvasági tényezőjű fémstruktúra létrehozását eredményezték. Az elektródok impedanciája (fiziológiás oldatban) nagyságrendekkel csökkent a 0,1 Hz – 1 kHz frekvenciatartományban. 1 kHz-en a porlasztott Pt

elektródok impedanciája átlagosan 552 ± 151 k Ω volt, a Pt/Pt elektródoké 38.7 ± 2.25 k Ω .

4.2.2. Ellenálló-képesség

Az 1 kHz-en, in vivo mért impedanciaértékeket átlagolva $616 \pm 129 \text{ k}\Omega$ adódott a porlasztott Pt, $112 \pm 36 \text{ k}\Omega$ a Pt/Pt elektródok esetében. Ezek különböznek az in vitro, EIS-sel mért értékektől, ami nem meglepő, mivel az impedancia nemcsak az elektródoktól, hanem az őket körülvelvő oldattól is függ. A 12 implantáció eredményeképp az effektív felület / geometriai felület aránya 950-ről 330-ra esett vissza a Pt/Pt elektródok, 1,0-ről 0,85-ra a porlasztott platina esetében.

4.3. A polimer alapú, tüskeszerűen kiálló mikroelektródokkal rendelkező szenzor fejlesztésének és in vivo karakterizációjának eredményei

4.3.1. Az elkészített eszköz

A mikromegunkálási folyamat nagy kihozatallal ment végbe. A tipikus hibák - mint például a vezető réteg tökéletlensége vagy a poliemer rétegek szakadása lehúzás során - kisebb, mint 10% gyakorisággal fordultak elő. Tudomásom szerint ez az első mikromegmunkált agyi multielektród, mely poliimid - TiO_x/Pt - SU-8 rétegszerkezettel rendelkezik. Az új rétegkompozíció előnye, hogy a kontúrmarás során nem szükséges külön maszkoló réteg (pl. alumínium) alkalmazása, mivel mind a felső SU-8 réteg (melyet közvetlenül fotolitográfiával mintázhatunk meg), mind pedig a platina réteg megfelelően maszkolta a kontúrmarást.

Az EIS görbék alapján, melyek 1 kHz-en átlagosan 797 k Ω magnitúdójú impedanciát mutatnak, megállapítható, hogy a SU-8 és poliimid rétegek megfelelően szigetelik a vezetékeket (különben abnormálisan alacsony impedanciát kellett volna mérnünk). 7 napos beázási tesztet követően sem volt nyoma a szigetelés meghibásodásának.

4.3.2. In vivo felvételek

A multielektród a műtétek során nem okozott az agyfelszínen látható vérzést. A tüske alakú elektródok láthatóan behatoltak a szövetbe és a kéreg 1,15 mm hosszú szakaszán detektálták a helyi mezőpotenciál változásait. A csatornákon megfigyelhető a

körülbelül 1,6 Hz frekvenciájú lassú oszcilláció, amit az alkalmazott anesztézia okozott. A mikroeszköz összességében az előzetes elképzeléseinknek megfelelően működött, azonban hátrányai is voltak. Ezek közül az egyik a dura mater eltávolításának szükségessége. Enélkül a hajlékony tüskék nem voltak képesek a szövetbe hatolni. A dura mater eltávolítása ugyan nem jelent nagyon komoly gondot az akut műtéteknél, azonban ha a krónikus alkalmazását is szem előtt tartjuk, probléma forrása lehet, mivel növelheti az agyszövet kiszáradásának és fertőzésének veszélyét. További megkötés, hogy az alkalmazott technológia egydimenziós geomteriájú elektródsort tett lehetővé, aminek kétdimenzióssá (mátrixszá) alakítása további fejlesztést igényelne.

4.4. Multimodális, polimer alapú mikroektród-rendszer fejlesztésének és in vivo karakterizá-ciójának eredményei

4.4.1. Az elkészült eszköz

A mikrotechnológiai és összeszerelési procedúra segítségével létrejött az eszközök egyedi, háromdimenziós geometriája, a terveknek megfelelő formában. Az extracelluláris elektródokat tartalmazó szár csatlakoztatása az ECoG komponenshez megfelelő volt, a kapcsolat az in vivo és in vitro tesztek alatt minden alkalommal ép maradt. Az összeköttetések mechanikai robusztussága is kielégítő volt, hibák csak extrém húzóerő hatására fordultak elő. Összességében elmondható, hogy ezek a hajlékony eszközök nem igényeltek olyan nagyfokú óvatosságot a használatuk során, mint a rideg, szilícium alapú multielektródok.

Az eredeti, porlasztott platina extracelluláris elektródok (melyek geometriai felülete 707 μ m² körül volt) átlagos impedanciamagnitúdójára 1 kHz-en 559.5±148.4 k Ω adódott. Az ezekre leválasztott nagy durvasági tényezőjű platina ezt az értéket 27.6±8 k Ω -ra csökkentette. Az elvárásoknak megfelelően az ECoG elektródok sokkal nagyobb (31400 μ m²) geometriai méretük révén jóval kisebb impedanciával bírtak: 18.6±0.5 k Ω -mal.

4.4.2. In vivo felvételek

A tüskés multielektródhoz hasonlóan ez az érzékelő is alkalmas volt az aktív és inaktív fázisokat tartalmazó lassú hullámú oszcilláció felvételére. Az agyfelszínen a helyi mezőpotenciálnak pozitív csúcsa van az aktív fázisok alatt, a mélyebb rétegekben

a potenciál polaritása ehhez képest fordított. Az alsó extracelluláris elektródok által mért jelek nagyobb teljesítménye a magasabb frekvenciatartományokban arra utal, hogy az implantátum hegye a hippocampusban volt, a tervezettnek megfelelően.

A kéregben az aktív fázisok alatt nagy intenzitású többsejt aktivitás volt megfigyelhető. A hippocampusban mért sejtaktivitás nem igazodott az oszcillációhoz, ami nem meglepő, mivel a lassú hullámokat neocortikális és thalamikus oszcillátorok generálják.

A CSD elemzés az irodalommal konzisztens eredményt szolgáltatott. Az oszcilláció aktív fázisában áramforrás alakult ki a kéreg külső és belső rétegeiben, míg a középső rétegekben áramnyelő. Az inaktív fázisba érve a CSD nyelő-forrás-nyelő mintázatúvá alakul át.

4. KÖVETKEZTETÉSEK

- A helyi mezőpotenciál változásokon túl egysejt aktivitások érzékelhetőek patkányok központi idegrendszerének extracelluláris terében, 15-70 mm hosszú, 200 és 400 µm közötti vastagságú és szélességű, a MEMS technológia eszköztárával kialakított, szilícium alapú multielektródokkal. Ezek az érzékelők alkalmasak arra, hogy áthatoljanak a sértetlen dura materen.
- Kis impedanciájú neurális mikroelektródok alakíthatóak ki nagy durvasági tényezőjű platina leválasztásával, továbbá a leválasztási paraméterek úgy választhatóak meg, hogy a kis impedanciájú elektródok képesek legyenek 12 akut in vivo beültetésnek és extracelluláris mérésnek ellenállni.
- A MEMS technológia eszköztárával mikroelektród-sor hozható létre poliimid TiO_x/Pt – SU-8 rétegszerkezettel, tüskeszerűen kiálló mikroelektródokkal, mely mikroelektródok a dura mater eltávolítását követően patkányok agyfelszíne alá ültethetőek és ott helyi mezőpotenciálokat képesek érzékelni.
- Egyidejű elektrokortikográfiás és lamináris extracelluláris mérés valósítható meg patkányok központi idegrendszerében multimodális, minden szövettel érintkező elemében flexibilis, polimer alapú, poliimid – TiO_x/Pt – SU-8 rétegszerkezettel rendelkező mikroelektród-rendszerrel.

6. SAJÁT PUBLIKÁCIÓK JEGYZÉKE

6.1. Az értekezés témájában megjelent eredeti folyóiratcikkek

- <u>Márton G</u>, Kiss M, Orbán G, Pongrácz A, Ulbert I. (2014) A polymer-based spiky microelectrode array for electrocorticography. Microsyst Technol, In press. IF: 0.952
- <u>Márton G</u>, Bakos I, Fekete Z, Ulbert I, Pongrácz A. (2014) Durability of high surface area platinum deposits on microelectrode arrays for acute neural recordings. J Mat Sci: Mat Med, 25: 931-940.

IF: 2.379

Fekete Z, Hajnal Z, <u>Márton G</u>, Fürjes P, Pongrácz A. (2013) Fracture analysis of silicon microprobes designed for deep-brain stimulation. Microelectron Eng, 103: 160-166.

IF: 1.338

- <u>Márton G</u>, Fekete Z, Fiáth R, Baracskay P, Ulbert I, Juhász G, Battistig G, Pongrácz A. (2013) In vivo measurements with robust silicon-based multielectrode arrays with extreme shaft lengths. IEEE Sens J, 13: 3263-3269. IF: 1.852
- <u>Márton G</u>, Fekete Z, Bakos I, Battistig G, Pongrácz A, Baracskay P, Juhász G, Bársony I. (2012) Deep-brain silicon multielectrodes with surface-modified Pt recording sites. Proceedings of IEEE Sensors 2012 conference, Taipei City, Taiwan. Paper 6411325

6.2. Az értekezés témájához szorosan nem kapcsolódó eredeti folyóiratcikkek

Fekete Z, Pongrácz A, <u>Márton G</u>, Fürjes P. (2013) On the fabrication parameters of buried microchannels integrated in in-plane silicon microprobes. Mat Sci Foum 729: pp. 210-215.

- Pongrácz A, Fekete Z, <u>Márton G</u>, Bérces Z, Ulbert I, Fürjes P. (2013) Deep-brain silicon multielectrodes for simultaneous in vivo neural recording and drug delivery. Sensor Actuat B-Chem, 189: 97-105. IF: 3.840
- Pongrácz A, Fekete Z, <u>Márton G</u>, Fiáth R, Fürjes P, Ulbert I, Battistig G. (2013) Deepbrain silicon multielectrodes for simultaneous neural recording and drug delivery. Pro Eng 47: 281-284.
- Fiáth R, Grand L, Kerekes BP, Pongrácz A, Vázsonyi É, <u>Márton G</u>, Battistig G, Ulbert I. (2011) A novel multisite silicon probe for laminar neural recordings. Pro Comp Sci 7: 310-311.
- Grand L, Pongrácz A, Vázsonyi É, <u>Márton G</u>, Gubán D, Fiáth R, Kerekes BP, Karoms G, Ulbert I, Battistig G. (2011) A novel multisite silicon probe for high quality laminar neural recordings. Sensor Actuat A-Phys, 166: 14-21.
 IF: 1.802

6.3. Egyéb publikációk

- <u>Márton G</u>, Fiáth R, Tóth K, Pál I, Győri E, Orbán G, Kiss M, Pongrácz A, Ulbert I. (2014) Development of MEMS systems for neurosurgical applications. Innováció az idegsebészetben – nemzetközi kongresszus (Budapest, Magyarország)
- <u>Márton G</u>, Orbán G, Kiss M, Pongrácz A, Ulbert I. (2014) A novel polyimide platinum – SU-8 microelectrode array for various electrophysiological applications. Eurosensors Conference (Brescia, Italy)
- <u>Márton G</u>, Baracskay P, Fiáth R, Fekete Z, Ulbert I, Juhász G, Pongrácz A. (2014) Robust silicon-based microelectrode arrays and a microdrive system for in vivo electrophysiology. IBRO Workshop (Debrecen, Hungary)
- <u>Márton G</u>, Bérces Z, Fekete Z, Ulbert I, Pongrácz A. (2013) Convection enhanced drug delivery capabilities of silicon-based multielectrode arrays with fluidic channels.
 6th Int. IEEE EMBS Conference on Neural Engineering (San Diego, USA)

- Fekete Z, Németh A, <u>Márton G</u>, É. Vázsonyi, Ulbert I, Fürjes P, Pongrácz A. (2013), Mechanical interaction between silicon microprobes and rat brain tissue.
 Proceedings of 17th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences: μTAS 2013. Freiburg, Germany
- <u>Márton G</u>, Bakos I, Fekete Z, Ulbert I, Pongrácz A. (2013) Durability of high surface area platinized platinum microelectrodes. 6th Int. IEEE EMBS Conference on Neural Engineering (San Diego, USA)
- <u>Márton G</u>, Pongrácz A, Fekete Z, Baracskay P, Bakos I, Ulbert I, Juhász G, Battistig G, Bársony I (2012), Deep-brain silicon multielectrodes with surface-modified Pt recording sites. IEEE Sensors (Taipei Taiwan)
- Pongrácz A, Fekete Z, <u>Márton G</u>, Fiáth R, Fürjes P, Ulbert I, Battistig G. (2012) Deepbrain silicon multielectrodes for simultaneous neural recording and drug delivery. Eurosensors XXVI (Kraków, Poland)
- Pongrácz A, Battistig G, Ulbert I, Vázsonyi É, <u>Márton G</u>, Fekete Z, Grand L. (2011) Multifunkciós agyi elektródák kialakítása és alkalmazása. Irányváltások a mikroelektronikában. MTA Műszaki Tudományok Osztálya, Elektronikus Eszközök és Technológiák Bizottsága rendezésében (Budapest, Hungary)
- Fekete Z, Pongrácz A, <u>Márton G</u>, Fürjes P. (2011) Mechanical characterization of hollow silicon microprobes fabricated by Deep Reactive Ion Etching. Eur Biophys J 40: 226.
- <u>Márton G</u>, Pongrácz A, Grand L, Vázsonyi É, Ulbert I, Karmos G, Fekete Z, Battistig G. (2011) Neural signal recordings with a novel multisite silicon probe. 8th European Biophysics Congress (Budapest, Hungary)
- <u>Márton G</u>, Pongrácz A, Grand L, Vázsonyi É, Ulbert I, Fekete Z, Karmos G, Wiebe S, Battistig G. (2011) Formation of a novel Si-based multisite neural probe with improved electrode impedance. International Conference on Electrochemical Sensors (Dobogókő, Hungary)
- Fiáth R, Kerekes BP, Grand L, Pongrácz A, Vázsonyi É, <u>Márton G</u>, Battistig G, Ulbert I (2011) A novel multisite silicon probe for laminar neural recordings. The European Future Technologies Conference and Exhibition (Budapest, Hungary)

- Pongrácz A, <u>Márton G</u>, Grand L, Vázsonyi É, Ulbert I, Karmos G, Wiebe S, Battistig G. (2010) A novel multisite silicon probe for laminar neural recordings with improved electrode impedance. 21st Micromechanics and Micro systems Europe Workshop September 26-29, 2010 Enschede, The Netherlands
- Pongrácz A, <u>Márton G</u>, Grand L, Vázsonyi É, Ulbert I, Karmos G, Wiebe S, Battistig G. (2010) A novel multisite silicon probe for laminar neural recordings with improved electrode impedance. Micromechanics and Microsystems Europe Workshop (Enschede, The Netherlands)
- Grand L, Pongrácz A, Vázsonyi É, <u>Márton G</u>, Gubán D, Battistig G, Karmos G, Ulbert I. (2010) A novel multisite silicon probe fabricated by using an economical wet etching process for high quality laminar recordings. IBRO Workshop (Pécs, Hungary)
- Pongrácz A, Vázsonyi É, Grand L, <u>Márton G</u>, Battistig G, Ulbert I, Karmos G. (2010) Szilícium alapú sokcsatornás agyi elektródák fejlesztése. Anyagtudományi Napok, (Budapest, Hungary)
- <u>Márton G</u>, Grand L, Pongrácz A, Vazsonyi É, Ulbert I, Gubán D, Karmos G, Battistig G (2010), Neural signal recording by carbon nanotube covered multisite silicon probe. p. B91. E-MRS 2010 Conference, Symposium B: Functional biointerfaces. (Strasbourg, France)