



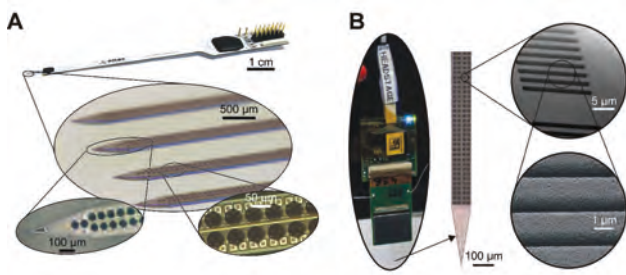
BIONIKAI KUTATÁSOK A NEMZETI AGYKUTATÁSI PROGRAM KERETÉBEN

Elektródfejlesztési irányok

2. RÉSZ A bionika szűkebb értelemben vett fókuszát képezik mindazon törekvések, melyek bizonyos elvesztett testi funkciók, érzékszervi vagy mozgásszervi fogyatékoságok mérnöki kompenzációjára, az eredetihez hasonló működés helyreállítására irányulnak, valamint az ezt célzó technológiák fejlesztése közben megismert összefüggések általános érvényű alkalmazhatóságával foglalkoznak.

Az agyi elektromos tevékenység tudományos vizsgálatának kezdete nagyjából a XX. század első felére tehető. Néhány évtizeddel később a kutatók már rutinszerűen alkalmazták az agyi elektromos jelek mérésére alkalmas érzékelőket, melyekkel akár az egyes idegsejtektől eredő elektromos impulzusokat (szaknyelven akciós potenciálokat) is meg tudták figyelni. Kezdetben ezek a mérőeszközök (elektródok) egy hajszálvékony – körülbelül a milliméter tizedrészének megfelelő átmérőjű – szigetelt fémszálból álltak, melynek a legvégéről eltávolították a szigetelő réteget, majd a fémszál lecsupaszított végét közvetlenül a vizsgálandó agyszövetbe helyezték. Így a mérőelektród, ami tulajdonképpen a feszültség időbeli változását érzékelt az agyszövetben, képes volt a környezetében található néhány közel elhelyezkedő és számos távolabbi idegsejt elektromos impulzusait detektálni.

Mivel egyetlen fémszállal az összetett idegi áramkörökből felépülő agy csupán egyetlen pontján lehetett vizsgálni az elektromos aktivitást, az idegtudósok különböző módszereket alkalmazva több fémszálat egymás mellé rögzítettek annak érdekében, hogy egyszerre több agyi terület kisülési mintázatait is mérni tudják. Ezeknek az úgynevezett elektród-tömböknek a használatával jelentősen növelni tudták az egy időben vizsgálható idegsejtek számát. Az elektrofiziológiai kutatásokban a következő nagy változást a mikro-elektromechanikai rendszerek (micro-electromechanical systems, MEMS) technológia elterjedése hozta az 1990-es években. Ennek a módszernek köszönhetően már lényegesen nagyobb pontossággal tudták meghatározni az agyszövetbe implantált mérőeszközök alakját, valamint a rajta található mérőpontok méretét, nagyságát



1. ábra. A Nemzeti Agykutató Program keretében kifejlesztett, több száz mérőponttal rendelkező, az agyi elektromos tevékenység mérésére alkalmas multielektrodok. (A) Az elektronikus mélység szabályozást megvalósító szilícium-alapú eszköz. Az irídium-oxid mérőpontok (sötét körök a középső és alsó képeken, csak a mérőpontok egy része látható) a multielektrod végét alkotó négy, 8 mm hosszú szilícium tű teljes hosszán található, melyek közül egy időben 32 használható a mérésekhez. (B) Az 1356, titán-nitrid mérőponttal (sötét négyzetek a középső képen, csak a mérőpontok egy része látható) rendelkező szilícium multielektrod és a hozzá tartozó vezérlő elektronika (bal oldali kép). Jobb oldalon pásztázó elektronmikroszkópos felvételek láthatók a mérőpontok felületéről.

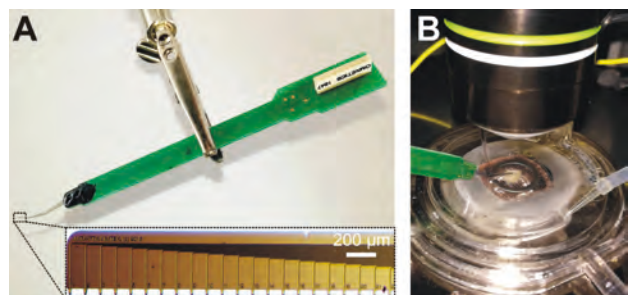
és elrendezését. A korai eszközök még csupán néhány (4-16) mérőponttal rendelkeztek, míg jelenleg általában 32 vagy 64 miniatűr érzékelővel rendelkező multielektrodokat alkalmaznak agykutatói célokra. Ezek a számok azonban még mindig alacsonynak tekinthetők, ha azt nézzük, hogy példának okáért az idegtudományi kutatásokban talán leggyakrabban vizsgált kísérleti állat – a házi egér – agya több mint 70 millió idegsejtet tartalmaz. Kutatócsoportunk hazai és nemzetközi együttműködések keretében, a Nemzeti Agykutató Program támogatásával több olyan modern mérőelektrod kifejlesztését tűzte ki céljává, melyek a közeljövő elektrofiziológiai kutatásainak alapvető vizsgálati eszközeivé válhatnak.

Több európai egyetemmel és kutatóintézetrel együttműködésben olyan innovatív eszközöket készítettünk, melyek sokkal nagyobb számú érzékelőt tartalmaznak, mint jelenleg a kutatásban alkalmazott mérőelektrodok. A kifejlesztett eszközök egyike például négy hajszálvékony, szilícium-alapú tűvel rendelkezik, melyek összesen mintegy kétezer apró, kör alakú mérőponttal vannak beborítva, a 8 mm hosszúságú tű teljes hosszán (1. ábra A; Fiáth et al. 2016). A multielektrodon egy időben maximum 32 darab, a szilícium tű tetszőleges pontján található érzékelőt lehet bekapcsolni, majd rögzíteni velük az agyi elektromos tevékenységet egy erre a célra kifejlesztett számítógépes program segítségével. Bár ezzel a megoldással az egy időben használt

mérőpontok száma nem nőtt a jelenleg a kutatásban használt eszközökön található mérőpontok számához képest, az új koncepció (elektronikus mélység szabályozás) lehetővé teszi, hogy a mérőelektrod teljes, agyszövetbe szúrt részén vizsgálhassuk az agyi elektromos aktivitást, és a szoftver segítségével kiválaszthatjuk a kísérlet szempontjából lényeges agyi területeket. Ennél is nagyobb mérnöki teljesítmény volt egy olyan, a világon egyedülálló, 1356 darab négyzet alakú (0.02 mm oldalhosszúságú), miniatűr mérőponttal rendelkező eszköz elkészítése (1. ábra B), melynek akár egy időben minden egyes mérőpontjával rögzíthetjük az agyi elektromos tevékenységet, ezáltal több száz idegsejt elektromos mintázatait követve nyomon egyszere (Raducanu et al. 2017).

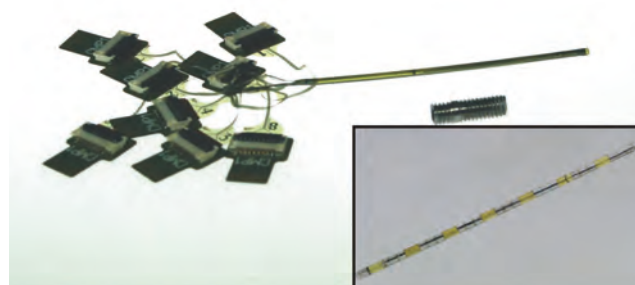
A hagyományos mérőelektrodokon az egyes érzékelők egymástól általában viszonylag távol helyezkednek el (0.1-0.2 mm), így az érzékelők közötti területeken zajló idegi tevékenységről csak viszonylag kevés információt rögzítünk, vagyis jelentős mennyiségű hasznos információ elvesz. Az újonnan fejlesztett eszközökön a mérőpontok gyakorlatilag közvetlenül egymás mellett találhatóak (1. ábra B), ezáltal tulajdonképpen az agy egy behatárolt területén kialakuló elektromos tevékenység egyfajta kétdimenziós lenyomatát rögzítik, hasonlóan ahhoz, ahogy a kamerákban található szenzorok a háromdimenziós kép kétdimenziós lenyomatát készítik el a fény elektromos jellé való átalakításával. A sűrűbben elhelyezkedő mérőpontoknak köszönhetően jelentős mértékben javul a mért jelek térbeli felbontása, lehetővé téve olyan agyi jelenségek kísérleti állatokban történő vizsgálatát melyekre nem

2. ábra. Agyszövetekben zajló elektromos tevékenység mérésére kifejlesztett tüskés ("spiky") multielektrod. (A) A 32 darab, tüske alakú érzékelővel rendelkező eszközön a mérőpontok fésű-szerűen helyezkednek el (alsó kép lenti része, 22 érzékelő látható a 32-ből), melyek finoman az agyszövetbe képesek hatolni. (B) Az eszköz (balra) a hajlított nyakának köszönhetően elfér a mintatartó lemezek pereme (középen) és a két-foton mikroszkóp objektívja (fent) között, így a két mérési módszer kombinálásával hasznos mérési adatokra tehetünk szert.



volt lehetőségünk (például az akciós potenciálok terjedését; Fiáth et al. 2018). További pozitív hozadéka lehet a kifejlesztett eszközöknek, hogy nagyobb információtartalmú, részletgazdagabb neurális jelek rögzítésével csökkenhet az egyes kísérletsorozatokhoz szükséges kísérleti állatok száma az elektrofiziológiai alap kutatásban.

A Nemzeti Agykutatási Program keretein belül kifejlesztésre került még kétféle, egyenként 256 darab érzékelővel rendelkező elektród, melyeken az érzékelők



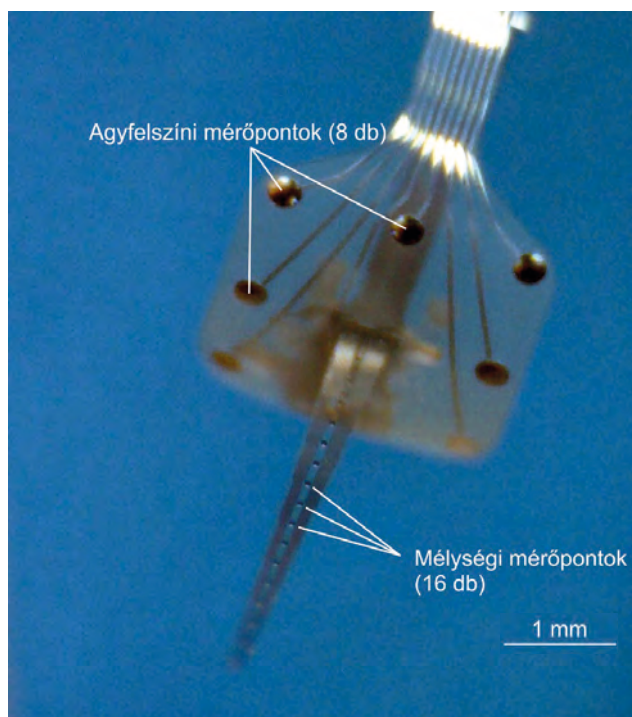
3. ábra. Henger alakú, polimer alapú multielektód 128 mérőponttal. Az eszköz alapos vizsgálatok és tesztelés után alapja lehet egy, az emberi agyba beültethető implantátum prototípusának, mellyel a jelenleginél jelentősen nagyobb térbeli felbontással vizsgálhatnánk agyunk elektromos tevékenységét.

mérete a negyede a fent bemutatott eszközön található érzékelők méretéhez képest (0.005 mm). A tovább növelt térbeli felbontásnak köszönhetően a kutatók az agyi elektromos tevékenység további finom részleteit vizsgálhatják majd a közeljövőben. Fejlesztettünk még továbbá egy speciális, tüskés ("spiky") elektródot, mely kétfoton mikroszkóppal megfigyelt agyselektékben zajló elektromos aktivitás mérésére alkalmas (2. ábra). A 32 darab érzékelővel rendelkező eszköz hatyúnyak-szerű alakja lehetővé teszi, hogy a mintatartó lemezek pereme és a mikroszkóp objektív közötti kis helyen is elférjen. A mérőfej apró tüskéinek végén helyezkednek el a mérőpontok, melyek finoman a szövet felszíne alá képesek hatolni anélkül, hogy túlzottan károsítanák azt. Ezzel a típusú eszközzel lehetőségünk nyílik az idegsejtek alakja és elektromos impulzusai közötti kapcsolat részletes vizsgálatára.

Bár az állatmodelleken végzett vizsgálatok nagyon sok hasznos eredményt szolgáltattak agyunk működésére vonatkozóan, az emberi agy több szempontból is jelentősen különbözik az agykutatásban állatmodellként alkalmazott patkány és egér agyától. A szigorú szabályozások miatt azonban az emberi agyban zajló elektromos tevékenység közvetlen, sejtszintű

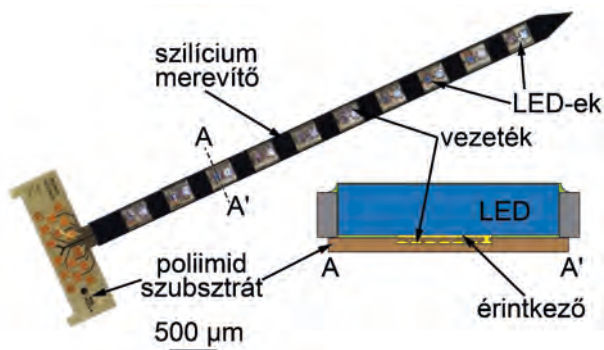
vizsgálatára csak nagyon ritkán nyílik lehetősége a kutatóknak. Esetenként gyógyszeres kezelésre nem reagáló, epilepsziás betegek agyába tudunk betekinteni, ahol a vizsgált agyterületet, mely az epilepsziás roham indításáért felelős, műtétileg eltávolítják. A rohamindító epilepsziás gócpont behatárolására elektródokat helyeznek az agyfelszínre, valamint sok esetben közvetlenül az agyszövetbe is. Ezek a klinikai eszközök azonban általában csupán kisszámú, nagyméretű, egymástól viszonylag távol elhelyezkedő mérőponttal rendelkeznek, így alkalmatlanok az egyes idegsejtek aktivitás-mintázatainak vizsgálatára, vagyis a humán idegi áramkörök működésének mélyebb megértésére.

A kutatásaink egyik célja egy olyan, nagyobb számú és kisebb méretű érzékelővel rendelkező, henger alakú és polimer alapú eszköz fejlesztése volt (3. ábra), mely a későbbiekben alkalmas lehet az emberi agyba való beültetésre és így nagyszámú



4. ábra. Agyfelszíni és mélyeségi mérőpontokat egyaránt tartalmazó multielektrod. Az eszközt vékony, hajlékony, biokompatibilis polimer rétegekből alakítottuk ki, mérőpontjait és azok kivezetéseit platinaréteg alkotja.

idegsejt elektromos tevékenységének közvetlen vizsgálatára (Pothof et al. 2016). Ezek segítségével lehetőség nyílna a különféle állatmodelleken történt felfedezések igazolására emberben is. Ide kapcsolódik még egy, az MTA EK MFA-val kollaborációban készült hazai fejlesztésű műanyag alapú multielektrod, melyet egy



5. ábra. Apró, fénykibocsátó diódákat (LED) tartalmazó eszköz optogenetikai kísérletekhez, mellyel genetikai módosítás hatására fényérzékeny fehérjéket termelő idegsejtek elektromos tevékenységét szabályozhatjuk. Az agyszövetbe szűrhető eszközön található 10 darab LED kék színű fény kibocsátására alkalmas. A kibocsátott fényinger erőssége, hossza, valamint a LED-ek világítási sorrendje a kutató által szabályozható.

korábbi, emberbe is beültethető fém alapú mérőeszköz ötlete alapján fejlesztettünk. Az új implantátum rugalmasabb, mint a korábbi szilícium vagy fém alapú eszközök (Márton et al. 2015). A flexibilisebb felépítésnek köszönhetően ezek az implantátumok jobban illeszkednek az idegszövet lágyságához. Vékony polimer rétegek segítségével egy speciális, rajzszög-szerű eszközt valósítottunk meg, mellyel egyszerre lehetséges az agyfelszínen és az agyszövet mélyebb régióiban mérni az agyi jeleket (4. ábra).

A legújabb technológiai áttöréseknek köszönhetően, genetikai módszereket alkalmazva az idegsejtekkel olyan speciális fehérjéket tudunk gyártani, melyek a sejtmembránba kerülnek, majd megfelelő hullámhosszúságú fényel megvilágítva ezeket a módosított idegsejteket serkenteni, illetve gátolni tudjuk azok elektromos aktivitását. Vagyis fényingerek alkalmazásával precízen szabályozhatjuk, hogy milyen gyakran hozzanak létre elektromos impulzusokat. Szelektíven csak bizonyos típusú sejteket fényérzékennyé téve pedig be-, illetve kikapcsolhatunk különböző neurális hálózatokat, ezáltal vizsgálhatjuk azok lehetséges szerepét az egyes agyi funkciókban.

A kutatók általában egy fényvezető (optikai) szál segítségével juttatják el az ingerléshez szükséges fényt a módosított idegsejtekhez. Ezzel a módszerrel azonban csak korlátozottan lehet szabályozni, hogy mely idegsejtek aktiválódnak, és inkább egy nagyobb idegsejt-populáció aktivitásának módosítására alkalmas. A pontosabb, térben behatároltabb szabályozás érdekében MEMS technológia segítségével olyan eszközöket fejlesztettünk (Ayub et al. 2017), melyek tíz

darab, kisméretű, egymás alatt elhelyezkedő fénykibocsátó diódát (light-emitting diode, LED) tartalmaznak (5. ábra). A LED-tömböket további hardverelemekkel és egy számítógépes szoftverrel kiegészítve pontosan szabályozható az egyes miniatűr LED-ek fényereje, illetve, hogy milyen hosszan és sorrendben világítsanak azok. Az eszköz működőképességét genetikailag módosított egerekben vizsgáltuk egyidejűleg monitorozva az idegsejtek elektromos mintázatainak változásait.

Az elmúlt öt év során kifejlesztett nagy téri felbontású elektródok és LED-tömbök újabb hasznos eszközöket adnak az agykutatók kezébe az agy titkainak felfedezésére. Természetesen attól még mindig messze vagyunk, hogy egyszerre az összes idegsejt elektromos tevékenységét nyomon követhessük, azonban az itt bemutatott új eszközök előreláthatólag alkalmasak lesznek arra, hogy közelebb kerüljünk olyan agyi rendellenességek megértéséhez, mint az epilepszia vagy az Alzheimer-kór.

FIÁTH RICHÁRD – MÁRTON GERGELY-
NÁNÁSI TIBOR – ULBERT ISTVÁN

IRODALOMJEGYZÉK

- Ayub S, Gentet LJ, Fiáth R, Schwaerzle M, Borel M, David F, Barthó P, Ulbert I, Paul O, Ruther P. Hybrid intracerebral probe with integrated bare LED chips for optogenetic studies. *Biomedical Microdevices*, 2017, 19(3): 49.
- Fiáth R, Beregszászi P, Horváth D, Wittner L, Aarts A, Ruther P, Neves HP, Bokor H, Acsády L, Ulbert I. Large-scale recording of thalamocortical circuits: in vivo electrophysiology with the two-dimensional electronic depth control silicon probe. *Journal of Neurophysiology*, 2016, 116(5): 2312-30.
- Fiáth R, Raducanu BC, Musa S, Andrei A, Lopez CM, van Hoof C, Ruther P, Aarts A, Horváth D, Ulbert I. A silicon-based neural probe with densely-packed low-impedance titanium nitride microelectrodes for ultrahigh-resolution in vivo recordings. *Biosensors and Bioelectronics*, 2018, 106: 86-92.
- Márton G, Orbán G, Kiss M, Fiáth R, Pongrácz A, Ulbert I. A multimodal, SU-8 - platinum - polyimide microelectrode array for chronic in vivo neurophysiology. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0145307.
- Pothof F, Bonini L, Lanzilotto M, Livi A, Fogassi L, Orban GA, Paul O, Ruther P. Chronic neural probe for simultaneous recording of single-unit, multi-unit, and local field potential activity from multiple brain sites. *Journal of Neural Engineering*, 2016, 13(4): 046006.
- Raducanu BC, Yazicioglu RF, Lopez CM, Ballini M, Putzeys J, Wang SW, Andrei A, Rochus V, Welkenhuysen M, Helleputte NV, Musa S, Puers R, Kloosterman F, Hoof CV, Fiáth R, Ulbert I, Mitra S. Time multiplexed active neural probe with 1356 parallel recording sites. *Sensors*, 2017, 17(10): e2388.