



TERMÉSZETTUDOMÁNYI KUTATÓKÖZPONT
KOGNITÍV IDEGTUDOMÁNYI ÉS PSZICHOLÓGIAI INTÉZET
ÖSSZEHASONLÍTÓ PSZICHOFIZIOLÓGIAI KUTATÓCSOPORT
1117 BUDAPEST, MAGYAR TUDÓSOK KRT. 2.

LEVÉLCÍM: 1519 BUDAPEST, PF. 286.
TELEFON: +36 1 382 6806
E-MAIL: fiath.richard@ttk.hu
www.ttk.hu

Opponensi vélemény

Zátonyi Anita

“Idegszövetbe implantálható, polimer alapú mikroelektród-hálózatok kialakítása és vizsgálata”

című doktori értekezéséről

A doktorjelölt három érdekfeszítő téma köré építi fel doktori értekezését, melyek fókuszában polimer alapú mikroelektródok tervezése, legyártása és tesztelése áll. A kifejlesztett, agyi elektromos tevékenység mérésére alkalmas eszközökkel és az ezekhez kapcsolódó módszerekkel a doktorjelölt célja megoldási lehetőségeket adni több, idegtudományhoz kapcsolódó kutatási terület aktuális problémájára.

Az egyik ilyen terület a hosszú távra az agyszövetbe ültetett agyi implantátumok esetén megfigyelhető idegen testre adott szöveti reakció csökkentése. Ennek az erőteljes szöveti válaszreakciónak az eredményeként az implantált eszköz működőképessége az idő előrehaladtával erőteljesen leromlik, többek között az eszköz körül kialakuló gliális eredetű hegszövet eredményeként. Korábbi kutatások kimutatták, hogy puhább és rugalmasabb anyagok alkalmazásával a szöveti reakció mértéke jelentősen csökkenthető. Azonban az ilyen típusú anyagok használatának hátránya, hogy jelentősen meg is nehezítik az implantátumok agyszövetbe történő beszúrását, valamint megfelelő pozicionálását. A doktorjelölt ennek a problémának egy lehetséges megoldására egy olyan alakemlékező polimer anyagból készült sokcsatornás planáris mikroelektródot fejlesztett, amely hőmérsékletváltozás hatására megváltoztatja szilárdságát. Ez a fejlesztett eszköz esetén azt jelenti, hogy hőmérsékletemelkedés hatására (jelen esetben szobahőmérsékletről testhőmérsékletre) az elektród teste az agyszövetbe történő beszúrás után néhány perc alatt egy merevebb állapotból (mely lehetővé teszi az implantálást), egy rugalmasabb, puhább állapotba kerül, mely azonban már közelebb áll az agyszövet állagához. A doktorjelölt az implantátumhoz kidolgozott egy újfajta tokozási eljárást is, mellyel az elektród kivezetései hatékonyan és hibamentesen

összekapcsolhatók az elektródot az elektrofiziológiai mérőrendszerrel összekötő csatlakozó érintkezőivel. A kifejlesztett mikroelektród működőképességét és tartósságát az elektrokémiai stabilitás vizsgálatával igazolta, konkrétan az elektródok impedanciájának széles spektrumon és hosszabb időtávon keresztül történő mérésével. Az eszközt altatott patkányok hippokampuszába is beültette akut kísérletek során, ahonnan helyi mezőpotenciálokat és extracelluláris akciós potenciál tüzelést is sikerült rögzítenie. Bár nem tárgya az értekezésnek, csupán a jövőbeli tervek között szerepel, de mindenképpen érdekes lesz majd látni az eszköz hosszú távú beültetésének hatásait az agyszövetre, valamint a krónikusan implantált elektród elektrofiziológiai teljesítményének időbeli változását is.

Egy másik nagy kérdésköre az elektrofiziológiai területének, hogy hogyan lehetne tovább javítani a mért idegi jelek minőségén, vagyis, hogy hogyan növelhetnénk a hasznos jelek amplitúdóját, illetve csökkenthetnénk a zaj mértékét. A hallgató MEMS mikrotechnológiával készített hajlékony μ ECoG (mikro elektrokortikográfiás) elektród platina mérőpontjait vonta be egy nanostruktúrált platina réteggel, mellyel, a felületnövekedés miatt, jelentősen lecsökkenthető az elektródok impedanciája. Ez az impedancia-csökkenés a termikus zaj csökkenését, ezáltal pedig a jel-zaj viszony javulását vonja maga után, melyet a doktorjelölt igazolt is in vivo kísérletekben, az eszközöket rövid és hosszú távra beültetve patkányokba. A korábban bemutatott, hőre lágyuló eszköz arany kontaktusait is bevonta porózus platinával, majd a kétféle eszközt felhasználva tesztelte a bevonatok mechanikai stabilitását hosszabb időtávon keresztül, azok elektromos és morfológiai tulajdonságainak vizsgálatával.

A doktori értekezés harmadik részében egy olyan hajlékony és átlátszó, az intrakraniális elektromos tevékenység mérésére alkalmas μ ECoG fejlesztése kerül bemutatásra, mellyel multimodális mérések végezhetők, vagyis az elektrofiziológiai mérések mellett szimultán optikai mérések (pl. belső optikai jel képalkotás és két-foton mikroszkópia) elvégzésére is lehetőség van. Ezen hasznos multimodális megközelítéssel egyszerre kiaknázzhatjuk az elektrofiziológiai mérések kitűnő időbeli felbontását és az optikai módszerek nagyszerű térbeli felbontását. Az átlátszó, speciális vezető réteggel rendelkező polimer eszköz kétféle változatban került kifejlesztésre: poliimidből a belső optikai jel képalkotáshoz, illetve parilénből a két-foton képalkotáshoz. Az eszközök elektrokémiai jellemzése és mechanikus stabilitásvizsgálata mellett azok optikai tulajdonságainak vizsgálata, illetve in vivo kísérletekben történő tesztelése is megtalálható a disszertációban.

Az angol nyelvű dolgozat 131 oldal terjedelmű, 30 ábrát, 6 táblázatot és 288 műből álló irodalomjegyzéket tartalmaz. A dolgozatot logikusan felépítettnek és szemléletesnek találtam, az angol nyelvű szöveg könnyen érthető, viszonylag kevés elírást, nyelvtani hibát tartalmaz, továbbá néhány idegtudományi fogalmat leszámítva a szakmai megfogalmazás is megfelelő. Az értekezés egy 23 oldal hosszúságú bevezető fejezettel indul, ahol a doktorjelölt ismerteti a fejlesztésekhez kapcsolódó alapvető biológiai és mérnöki elméleti hátteret. Ezt követően a három témát egy-egy külön fejezet keretein belül tárgyalja, a fent bemutatott sorrendben. A bevezető fejezet, illetve az egyes témákhoz tartozó ismertető fejezetek tartalma jól bizonyítja, hogy a doktorjelölt alaposan áttanulmányozta az egyes témákhoz kapcsolódó szakirodalmat, és ezek alapján megfelelően megfogalmazta kutatási célkitűzéseit, illetve meghatározta a fejlesztendő eszközök paramétereit. A fejlesztések módszertanának, illetve eredményeinek leírása részletes, és gazdagon illusztrált jól szerkesztett ábrákkal, táblázatokkal. A fejlesztésekhez, illetve a fejlesztendő eszközök teszteléséhez, validációjához korszerű eszközöket és módszereket alkalmazott. Az értekezés erősségei közé tartozik az eszközök alapos és széleskörű validációja, mely nem csupán in vitro körülmények közötti tesztekkel jelent, hanem az eszközök valódi felhasználásának helyén, vagyis állatmodelleken történő kísérletekre is kiterjed. Véleményem szerint érdemes lett volna az eredményeket bővebben is kiértékelni, akár egy külön diszkusszió fejezetben, ahol részletesebben is bemutatásra kerül a fejlesztett eszközök jelentősége, felhasználási és továbbfejlesztési lehetőségei, vagy az eredmények alaposabb összevetése korábbi fejlesztésekkel. Minden fejezetet a kapcsolódó tézispontok bemutatása és saját publikációk felsorolása zár. A doktorjelölt dolgozatában egyaránt megtalálhatók a témákhoz kapcsolódó tudományos irodalom legfrissebb eredményei, ahogy a témával összefüggő legfontosabb publikációk is, melyekre a dolgozat épül. Az értekezéshez kapcsolódó kérdéseimet a bíráló végén sorolom fel.

Mindent összevetve Zátonyi Anita doktori értekezését kiváló és értékes munkának tartom. A színvonalas doktori kutatómunkája során korszerű módszereket alkalmazva több új, vagy jelentősen továbbfejlesztett kutatási eszközt is elkészített, melyek nagy valószínűséggel jól hasznosíthatók lesznek az idegrendszer vizsgálatához kapcsolódó kutatásokban. Ezek a fejlesztések jelentősen hozzájárulhatnak a különféle agyi implantátumok tökéletesítéséhez, melyeket a jövőben akár emberekben is használni lehet majd. A doktorjelölt doktori értekezéséhez kapcsolódó publikációs teljesítménye kiváló: négy elsőszervi tanulmányt publikált, melyek a Scimago Journal Rank szerinti

Q1-es kategóriába tartozó, jó impakt faktorral rendelkező, rangos tudományos folyóiratokban jelentek meg (pl. Scientific Reports, Journal of Neural Engineering). A jelölt megfelelően bemutatta, hogy képes önálló kutatásra, magas szintű mérnöki tudással rendelkezik, továbbá a publikációs követelményeket is kiemelkedő szinten teljesítette. A fentiek alapján a doktori értekezést elfogadásra javaslom, sikeres védelem esetén pedig a PhD fokozat megítélését javaslom.



Dr. Fiáth Richárd

Budapest, 2020. május 14.

tudományos munkatárs
Természettudományi Kutatóközpont
Kognitív Idegtudományi és Pszichológiai Intézet

Kérdések és megjegyzések a doktorjelölthöz a doktori értekezéssel kapcsolatban:

1. Van-e esetleg elképzelése a doktorjelöltnek arról, hogy vajon milyen módszerekkel lehetne tovább csökkenteni az elasztikus modulusát az alakemlékező polimer eszközöknek, hogy például testhőmérsékleten még puhább, rugalmasabb legyen az anyag? Hogyan lehetne ezt úgy megoldani, hogy néhány fokkal a testhőmérséklet alatt viszont még szilárd, beszúráásra alkalmas legyen?
2. Az értekezésben leírtak alapján kb. 10 perc áll rendelkezésre a beszúrára mielőtt a hőre lágyuló mikroelektród elveszíti a szilárdságát. Korábbi kutatások eredményei alapján azonban a planáris szilícium alapú elektródok nagyon lassú beszúrása ($\sim 1 \mu\text{m}/\text{mp}$ vagy lassabb) jobb minőségű agyi elektromos jeleket eredményez, kevésbé károsítja az agyszövetet, vagyis kevesebb idegsejt pusztul el az elektród körül. Egy mélyebben elhelyezkedő agyi terület megcélzása ezzel a beszúrási sebességgel azonban már kimerítené ezt a 10 perces időkeretet. Mi gondol, hogyan, milyen módszerekkel lehetne növelni a beszúrára használható időt? Például az agyszövet lokális hűtése az elektród körül alkalmas lehetne erre?
3. Az alakemlékező implantátum által szimultán rögzített egysejtek maximális száma négy volt egy agyi pozícióban. Ez a szám véleményem szerint kissé alacsonynak tűnik egy 8 elektróddal rendelkező eszközhöz képest. Bár ezt az alacsony értéket okozhatja a vizsgált agyi struktúra speciális felépítése (pl. a vizsgálható idegsejtek egy vékony rétegben helyezkednek el és emiatt csak 1-2 elektróddal detektálhatók), de egyéb tényezők is közrejátszhatnak, például az agyszövet sérülése vastagabb szárral rendelkező implantátumok esetén vagy egy nagyobb mértékű vérzés. Véleménye szerint milyen egyéb okok játszhattak közre abban, hogy ilyen alacsony volt az egyszerre vizsgálható neuronok száma? Miért a hippocampusra esett a választás az in vivo kísérletek során az eszköz validálásához? Volt-e esetleg olyan, hogy egyetlen csatornáról több idegsejt aktivitását is sikerült elkülönítenie?
4. A doktorjelölt a következőket írja az értekezés 62. oldalán a platina bevonat elkészítésénél: „Recording sites have been electroplated by maintaining current density of $10 \text{ mA}/\text{cm}^2$.” Röviddel utána azonban a következő írja: „Current density needed to be kept below $10 \text{ mA}/\text{cm}^2$, otherwise desorption of the deposited layer

from the surface into the electrolyte occurred [31], [41].” Kérném, hogy tisztázza az ellentmondást.

5. A kapott durvasági tényező (~23, 75. oldal) hasonló, mint az irodalomban leírt értékek (20 - 500), azonban a tartomány alsó végén található. A mért neurális jel minőségének javítása céljából lenne esetleg értelme javítani ezen az értéken? Ha igen, hogyan lehetne ezt megoldani? Meg tudja esetleg becsülni, hogy mekkora lenne a jel-zaj viszony javulása, ha a durvasági tényező inkább a tartomány felső végében lenne?
6. Számít valamit a porózus platina használata esetén (pl. bevonat kialakításának nehézsége, mechanikai stabilitás, elektromos tulajdonságok), hogy milyen anyagú kontaktusra (arany, platina) kerül a bevonat?
7. Tudott-e esetleg egysejt-aktivitást (akciós potenciálokat) detektálni a kifejlesztett μ ECoG cszközzel az agy felszínéről? Az elektród kontaktusainak mérete (20 μ m) elméletileg alkalmassá teszi erre, amennyiben a kemény agyhártya eltávolításra került.
8. Körülbelül mekkora lehet a különbség a transzmittanciában a polimer réteg és a vezető réteg (indium-ón-oxid) között a multimodális vizsgálatokhoz fejlesztett μ ECoG eszközök esetén? Vagyis arra vagyok kíváncsi, hogy mennyire romlik le a képalkotás minősége (pl. két-foton kalcium képalkotás esetén), ha közvetlenül az elektródok alatt elhelyezkedő idegsejteket vizsgálunk (a 150 μ m, illetve 300 μ m átmérőjű mikroelektródok alatt például több sejt is elfér)? A képalkotás alatt mekkora műtermékek láthatók az elektrofiziológiai jeleken ebben az esetben?