

Bírálói vélemény

Zátonyi Anita:

„Idegszövetbe implantálható, polimer alapú mikroelektród-hálózatok kialakítása és vizsgálata”
című PhD dolgozatához

A disszertáció témájának újszerűsége, aktualitása, tudományos és társadalmi jelentősége

Jelölt dolgozatában a mikroelektródos agykutatás mai trendjébe illeszkedő, korszerű eredményeket mutat be. Az agykéreg szerkezetének és működésének összefüggései a technológia előrehaladásával egyre nagyobb információsűrűséggel tárhatók fel mind az idő-, mind a térbeli felbontást tekintve. Ezzel arányosan a területhez kapcsolódó diagnosztikai és terápiás alkalmazások társadalmi jelentősége is rohamosan nő. Az agykéregnek, mint jelforrásnak vizsgálatában élen járnak a speciális geometriájú, tűszerű vagy felületre ültethető agyi mikroelektródok, amelyeknek rendeltetése a megbízható, hosszú távú adatgyűjtés. Ehhez számos funkcionális és stabilitási kritériumnak kell megfelelniük. Jelen munkát meghatározza a mindenkor általános érvényű fejlesztési igény a biokompatibilitás, a jel/zaj viszony, valamint az idő- és térbeli felbontás javítására, illetve a multimodális mérés technikák fejlesztésére. Ezeket az igényeket hivatott kielégíteni a Jelölt által fejlesztett, lágyuló polimer hordozón kialakított, kis immunválaszt kiváltó elektród; a pórusos platínával növelt felületű arany-, ill. platinaelektród; valamint a párhuzamos – optikai és elektrokémiai – mérésekre alkalmas átlátszó, rugalmas elektródok.

A disszertáció felépítése és formai észrevételek

A dolgozat kiállítása kellemes, felhasználóbarát. Nyelve angol; stílusa igényes, gördülékeny. Nyelvtani hiba alig, elírás kevés akad benne. Terjedelme 131 oldal, amely arányosan oszlik el a bevezető rész, a tézispontokhoz kapcsolódó kutatásokat tárgyaló három fő fejezet, valamint az irodalmi hivatkozás-gyűjtemény és a melléklet között. A szerkesztés jól követi a kutatás logikai folyamatát, és az igényesen, arányos információgazdagsággal szerkesztett 6 táblázat és 30 ábra (fénykép, összeállítási rajz, diagram, koncepcióábra stb.) nagyban segíti az összetett téma megértését. A fő fejezetek alfejezetei rendre a következő felosztást követik: „bevezetés – módszertan – eredmények és kiértékelésük – összefoglaló és jövőbeli tervek – tézispont és a hozzá tartozó publikációk”. A 288 hivatkozott nemzetközi szakirodalom túlnyomó része folyóirat cikk, de a témát lefedő könyvek, konferenciakötetek és online források is megtalálhatóak benne.

Az összképet kissé rontják az automatikus hivatkozásformázás által elkövetett hibák, valamint a dolgozat elején szereplő magyar nyelvű egy oldalas összefoglaló gyengébb kivitelezése. Két esetben az elektródok elektrokémiai stabilitásának összehasonlítását nehezíti, hogy az eredményeket bemutató ábrák más-más részletességgel vagy eltérő koncepció szerint épülnek fel. Megjegyzendő továbbá, hogy a téma több irányban is sokrétű, jellegéből adódóan Jelölt egy-egy elektródot a különböző fejezetekben más-más szempont alapján mutat be (például a tokozás szempontjából vagy a növelt elektródfelületet hangsúlyozva), aminek átlátásához éberség kell – ugyanakkor nem biztos, hogy lett volna jobb szerkesztési megoldás.

A fentiek és az 'Egyéb észrevételek' pontban felsoroltak azonban nem csökkentik a dolgozat erényeit.

A szakterület eredményeinek felhasználása, kísérleti tevékenység, adatfeldolgozás, diszkusszió

Jelölt a hivatkozások és a bevezetők alapján alaposan tájékozott a tudományterület mérföldköveit és jelen trendjeit illetően. Főként az elmúlt 10-15 év jelentősebb mérés technikáit és eredményeit, előzményeit dolgozza fel, ezekre munkája során határozottan támaszkodik, ugyanakkor kritikai szemlélettel is kezeli azokat. A reálisan kitűzött célokat mindig szem előtt tartja, miközben a kutatási irányok előnyeit és hátrányait felismerve keres és talál szintézist az egyes választási pontokban. A bemutatott munka gyakorlati szempontból is igen értékes. Magabiztosan alkalmazza az elektródok előállításához szükséges magas színvonalú, megbízható mikromegmunkálási eszköztárat, és sikeresen kísérletezik új utakkal. A késztermékek jellemzésére szakszerű elektrokémiai módszereket (voltammetria, impedancia spektroszkópia), igény szerint mikroszkópos és képfeldolgozási technikákat, mechanikai módszereket alkalmaz, a mérési körülményeket pedig gondosan választja meg. A mérések során kellő mennyiségű és minőségű adatot nyer, ezeket statisztikai módszerekkel feldolgozza. Az eredményeket az irodalommal összevetve helyes következtetésekre jut. Ezen kvalitások egyenletesen jellemzik a dolgozatot.

Új tudományos eredmények

Jelölt az eredményeit három tézispontban foglalja össze.

Az első pontban szerepel a tiolén/akrilát, testhőmérsékleten, beültetés után meglágyuló polimer alapanyagú mikroelektród tű mikromegmunkálási technikájának kidolgozása, továbbfejlesztése. Jelölt sikeresen szigetelte a lágyuló polimer duzzadásakor - tehát nedves, használat közbeni állapotban - zárlatot okozó pontokat. Az elektródfelületek ily módon megnövelt stabilitását elektrokémiai módszerekkel meghatározta, valamint ezzel az elektróddal jó jel/zaj arányú, sikeres *in vivo*, egyedi akciós potenciál méréseket végzett patkány hippocampusában.

A második tézisponthoz tartozó kutatási eredmény a lágyuló polimer alapú, intrakortikális nyolccsatornás aranyelektród és a hajlékony poliimid alapú, kortikális 4 x 4 csatornás platinaelektród felületének jelentős megnövelése pórusos platina elektroleválasztásával. Az így előállított illetve módosított elektródok stabilnak bizonyultak *in vitro* és *in vivo* körülmények között is, impedanciájuk nagyságrenddel csökkent, és az *in vivo* mérések során kiváló jel/zaj viszonyt értek el.

A harmadik tézispontot multimodális érzékelést lehetővé tevő elektrokortikográfiai elektródok előállítása képezi. A multimodalitás ebben az esetben különböző orientációjú vizuális mintázat-inger hatására a látókéregben ébredő fiziológiai változások párhuzamos (optikai és bioelektromos) detektálását jelenti, amely módszer alkalmas a kérgi domének összehangoltságának feltérképezésére. Jelölt új elektródkompozícióként átlátszó poliimid és 'Parylene HT' hordozókat szintén átlátszó indium-ón-oxid vezetőréteggel látott el, amelyek így kalcium ion fluoreszcens detektálására, illetve deoxihemoglobin fényelnyelésének detektálására alkalmasak. Utóbbi elektróddal végzett sikeres *in vivo* méréseit is bemutatja.

A tézispontok alapját képező minőségi, elsőszerzős publikációk releváns szakmai folyóiratokban jelentek meg, teljesítik a doktori iskola követelményeit.

A tézispontokban megfogalmazott eredményeket elfogadom új tudományos eredményeknek.

Kérdéseimet - amelyekre Jelölttől a nyilvános vitán választ várok - lásd a Melléklet a) pontjában, egyéb észrevételeimet pedig a b) pontjában.

Összefoglaló értékelés

Jelölt széleskörű ismeretről tesz bizonyosságot az anyagtudomány, a mikromegmunkálási technológiák, az elektrokémiai analízis és -jelfeldolgozás, valamint a biológia területét egyesítő munkája során. Megfelelő számú és minőségű, nemzetközi referált tudományos folyóiratban közzétett szakkikkel igazolja e kutatás létjogosultságát és sikerességét, összefoglaló dolgozatában közérthetően és szakszerűen mutatja be elért új eredményeit.

A doktori (PhD) értekezést sikeres nyilvános védés esetén elfogadásra javaslom.

Budapest, 2020. június 15.



.....

Dr. Szabó Tamás

Tud. munkatárs
Természettudományi Kutatóközpont,
Anyag- és Környezatkémiai Intézet

MELLÉKLET

a) KÉRDÉSEIM A NYILVÁNOS VÉDÉSRE

(A kérdések számozása a fő fejezetek számozását követi.)

1.1 Jelölt a bevezetőben részletesen ismerteti az ingerületnek a dendritektől az axonok végéig történő haladását. Ennek alapja a sejtmembrán külső és belső oldala közt fennálló Na^+/K^+ ionegyensúly felbomlása, ami a sejt körüli elektromágneses tér átalakulását okozza. Később hasonló részletességgel beszél a mérőelektród közvetlen fiziko-kémiai környezetének paramétereiről és azok méréstechnikai értelméről.

Azonban a két határfelület, tehát az idegsejt/sejtközi állomány illetve az elektród/sejtközi állomány kölcsönhatására kevés szót fordít, csupán megemlíti az elektromos tér agyszövet-béli 'haladását' (19. o. utolsó két sor).

Arra kérem - akár egy egyszerű, geometriai viszonyokat feltüntető ábra segítségével - világítsa meg jobban, hogy mi zajlik a két határfelület között egy-egy akciós potenciál-ciklus során; hogyan hatnak az idegsejtből/-be áramló Na^+/K^+ ionok az elektród közvetlen környezetére.

(Például szemléletes lenne a Na^+/K^+ ionok diffúziós hatótávolságának, a térerősség távolságfüggésének, az elektród kettős- ill. diffúziós rétegének, valamint az akciós potenciál és a helyi mezőpotenciál méréséhez szükséges ideg-elektród távolságnak az ábrázolása, összehasonlítása.)

2.1 A 2.3.1 alfejezet 10-es ábráján nem tünteti fel a máj javított csatlakozású SMP tütelektrodok kapszulázási stabilitására vonatkozó eredményeket, csak a záratosakét. Elvégezte-e ezeket a méréseket? A csomagolás fejlesztése egyenletesebbé tette-e a mérőhelyek minőségét? (A 10C ábrán látható, hogy a rosszul szigetelő elektrodok elektrokémiai stabilitása erősen szór.)

2.2 A 2.3.3 fejezetben az SMP elektróddal történt *in vivo* mérésénél nincs közölve referenciamérés. Egy 'szokásos' gamma-hullámokat regisztráló elektród teljesítményéhez képest hogyan értékeli az elért eredményt?

3.1 A 67. oldalon megjegyzi, hogy a pórusos platina mechanikai minőségénél fogva kevésbé bevált technika a krónikus *in vivo* vizsgálatokban a mechanikai sérülékenysége miatt. Ez alapján úgy tűnik, mintha a platinázott felület élettartamát elsősorban nem a beültetési (mechanikai) feszültségek határoznák meg, hanem a beültetés utáni hatások. Ez így van-e, és ennek függvényében milyen jövőt jósol saját platinázott kortikális/intrakortikális elektródjainak?

3.2 Az SMP tűk elektrokémiai stabilitási vizsgálatához tartozott egy ciklikus voltammetriával oxidatív hatást kiváltó méréssorozat is, amelynek kiértékeléséhez egy módosított Randles modellt használt a feltételezett pseudokapacitancia miatt. Az ehhez tartozó paraméterek (R_L és CPE_L) azonban elhanyagolható változást mutattak a kezelés során. Emellett egy korábbi, nem oxidatív stabilitási vizsgálatban ugyanezt az elektródot a nem módosított Randles modell alapján paraméterezte (2.3.2. fejezet, 53. o.). Mi alapján választotta ki a modelleket?

4.1 A kétféle multimodális elektrokortikográfia elektródjainak hordozóanyagául eltérő polimereket használt, de főként a látszólag gyengébb optikai áteresztőképességű poliimid esetén nem indokolta a választást. Milyen szempontok alapján választotta az intrinszik optikai jel képalkotáshoz (IOSI) a poliimidet, a kalciumérzékeny kétfoton-képalkotáshoz (2P) pedig

Parylene HT-t? (A kettő közül valamelyik polimer kiemelkedő minőségű-e, és ha igen, a másik alkalmazásra miért nem azt használta?)

4.2 A poliimid hordozójú elektródok elektrokémiai impedancia jellemzése során kiderül (26A-B ábra), hogy a fázisszög frekvenciafüggése szembeötlően eltér az ITO-t illetve a platinát tartalmazó elektródok esetén. Mi okozza ezt a különbséget? Miért nem kell az ITO esetén Faraday-árammal számolni?

4.3 Miből eredhet a hajlítások során az ellenállásértékek fluktuációja (28A, E ábra)? Figyelembe vették-e a ciklikus terhelés során esetlegesen fellépő hőmérsékletnövekedést? Milyen frekvenciával hajlították az elektródokat?

4.4 Az *in vivo* kísérletekhez kapcsolódóan: milyen állapotot takar pontosan az anesztézia? Mi a különbség a macska anesztéziás és éber állapotú látókérgi gamma aktivitása között vizuális stimulus hatására? Hogyan oldották meg, hogy a macska a képernyőt 'nézze'?

b) EGYÉB ÉSZREVÉTELEK: (a fő fejezetként elkülönítve)

Összefoglaló (magyar)

„...neurodegeneratív betegségek és a pszichiátriai rendellenességek kezelésében...”

„...hőre lágyuló polimerbőr készült...” helyesen: 'polimerből'

„Az elektroencefalográfia...” helyesen: 'elektroencefalográfia'

1 General introduction

[18. o.] „In the inset of Figure 1. (a)...” helyesen: 'The inset'

[23. o.] A (2)-es egyenlet magyarázatából kimaradt a T_{exp} .

[23. o.] „...the phrase of cell referred to the microscopic living organism” helyesen: 'referred'

[30. o.] „The position of measured current peaks...” mondatban a 'qualitative' és a 'quantitative' felcserélődtek.

[31. o.] „Electrical double layer [*] increases...” [*]= 'capacitance'

[33. o.] „These technology provide...” helyesen: 'technologies'

2 Softening implantable polymer-based...

[45. o.] „...Tricyclodecane dimethanol diacrylate...” helyesen: 'tricyclodecane'

[50. o.] A gamma hullámok regisztrációja fontos funkciója az elektródnak, ezért ezen hullámok fiziológiai mibenléte és méréstechnikája még a bevezető fejezetbe kívánczolt volna, és némileg bővebben, mint ahogy először a 2.2.3 alfejezetben megjelenik.

3 Durability of platinum black coatings...

[60. o.] „...then the devices was released from the silicon wafer...” helyesen: 'were'

[62. o.] „...to each and single recording sites.” helyesen: 'every'

[65. o.] „...in parallel with charge transfer resistance (C_{RT}) and..” helyesen 'R_{CT}'

[69. o.] „Logaritmization was found to be the adequate transformation.” helyesen: 'Logarithmization'

A 3.3.1-es Elektrokémiai jellemzés fejezetben összehasonlítja a platinázott poliimid μ ECoG(Pt) [68. o.] és az SMP(Au) elektród [72. o.] stabilitását. A két elektródlípushoz tartozó 16-os és 18-as ábra felépítése némileg eltérő, ez nehezíti az összevetést.

4 Flexible, transparent μ ECoG devices...

[89. o.] (18)-as egyenletben az időt 't' helyett 'T'-vel jelölte, ami zavaró, mert ugyanebben az egyenletben a ' ΔT ' – helyesen – hőmérsékletkülönbséggént szerepel.

[89. o.] „...and is believed [*] proportional to surface roughness” [*]= 'to be'

[93. o.] A 4.2.5 fejezetben az *in vivo* mérések bemutatásakor az IOSI (intrinszik) képalkotásnál azt írja, hogy agykéreg felületét a 609 nm-es hullámhosszú (a deoxihemoglobin elnyelési tartományába eső) narancsszínű fénnel világítja meg, majd néhány sorral később máh zöld megvilágítást említ a vaszkuláris képek elkészítésénél. A bevezető alapján ebben a munkában az intrinszik jel maga az érrendszerrel visszavert fény, amiből a vaszkuláris kép készül. Így nem egyértelmű, hogy mire használt kétféle megvilágítást.

A 4.3.2-es Elektrokémiai jellemzés fejezetben összehasonlítja a poliimid-ITO/Pt-poliimid [97. o.] és a Parylene HT-ITO-Parylene HT elektród [99. o.] stabilitását. Az összehasonlításhoz tartozó 27-es és 28-as ábra felépítése némileg eltérő, ez nehezíti az összevetést.

[102. o.] „For Au samples, failure of the traces was ~~strated~~...” helyesen: 'started'

[103. o.] A 29F ábrán a betétabra (kis ábra) nem azt a tartományt mutatja, amit a hozzá tartozó ábrafelirat jelez.

[104. o.] A vizuális ingert képező rácsos ábra leírásában a két átlós orientáció (45° és 135°) a felsorolásban felcserélődött.

[106. o.] A 6-os táblázat megtörése nem elegáns.

5 Bibliography

A következő hivatkozások formázása nem megfelelő: [18], [28], [42], [197], [273], [277] (köznevek a szerzők helyén); [6], [223], [224], [285] (cím teljes nagybetűs írása); [23], [28], [31], [32], [52], [59], [73], [116], [125], [145], [183], [223], [224], [375] (hiányzik a folyóirat neve).

7 List of acronyms

[130. o.] 'SNR Signal-to-Noise Ration'

Appendix A

[131. o.] Egy ábrán belül a mennyiségeket azonos tizedespontossággal illik megadni.