

Válaszok Szabó Tamás opponensi bírálatára

Zátonyi Anita:

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

Először is szeretnék köszönetet mondani, hogy ilyen figyelmet szentelt dolgozatomnak. Köszönöm alapos véleményét, részletekbe menő, koncepcionális kérdéseket, igyekeztem érdemben válaszolni minden feltett kérdésére.

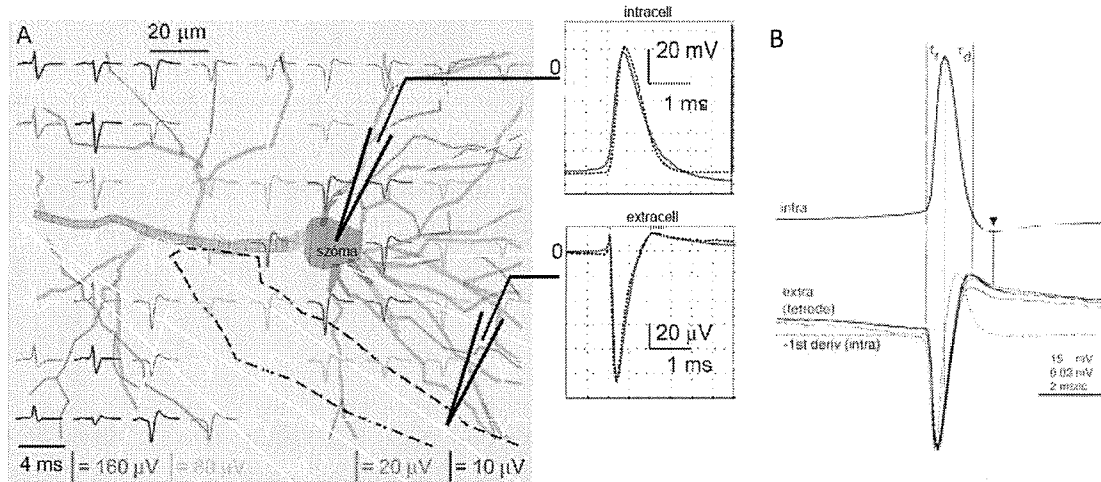
K 1.1:

Jelölt a bevezetőben részletesen ismerteti az ingerültnek a dendritektől az axonok végéig történő haladását. Ennek alapja a sejtmembrán külső és belső oldala között 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 mérés technikai értelméről. Azonban a két határfelület, tehát az idegsejt/sejtközi állomány, illetve az elektród/sejtközi állomány kölcsönhatására kevés szót fordít, csupán megemlíti az elektromos tér agyszövetbéli „hatását” (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- illetve diffúziós rétegének, valamint az akciós potenciál és a helyi mezőpotenciál méréséhez szükséges ideg-elektród távolságnak az ábrázolása, összehasonlítása.)

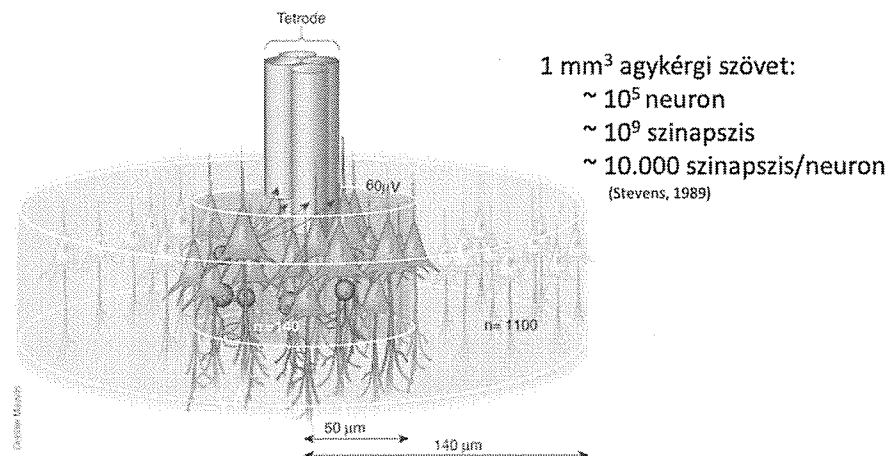
V 1.1:

Extracelluláris elvezetés (disszertációban szereplő összes elektród) esetén az elektród környezetében lévő sejtek membránpotenciál változása végül létrehoz egy mezőpotenciált, amely így sok ezer (esetenként sok tízezer) sejtnél a szummált szinaptikus aktivitásából származik, vagy esetenként lehetőség van 1 vagy több sejttől származó akciós potenciál mérésére és azonosítására. Extracelluláris AP detektálás nehézségei az 1. ábra mutatja be. Kicsi a jel ($20\ \mu\text{V}$ extracelluláris vs. $20\ \text{mV}$ intracelluláris), mivel az extracelluláris tér egy sóoldat, vagyis jó vezető, az áramok gyorsan szétfolynak. Modellen jól látható, hogy kb. $100\ \mu\text{m}$ -re a sejttől egy ezereddel kisebb az akciós potenciál amplitúdója. Az akciós potenciál időbeli lefutás, jelalakja (polaritása) is változni fog attól függően, hogy hova tesszem az extracelluláris elektródot az idegsejthez képest. A 2. ábra agyi elektromos jelek celluláris forrásait mutatja be, egy tetród esetében. A tetród egy speciális mikroelektród elrendezés, amikor négy elektród, négy elvezető pont közvetlenül egymás mellett található és attól függően, hogy milyen messze van a sejt egy adott elektródtól, az akciós potenciálja más jelalakot vesz fel. Tehát ugyanattól a sejttől származó akciós potenciál más amplitúdóval jelentkezik a négy különböző elektródon, mivel eltérő távolságban és térhelyzetben vannak az idegsejthez képest. Ez a technika lehetővé teszi, hogy ha egy eszköz több idegsejttől származó akciós potenciált vezet el, akkor megkülönböztethetőek lesznek, szelektálhatóvá válnak. Itt fontos kiemelni, mivel 1mm^3 agykérgi szövetben 10^5 idegsejt

található és 10^9 szinapszis létesül (tehát kb. 10.000 szinapszis/neuron), így már 50 μm sugarú körben a tetród körül is 140 db idegsejt található 140 μm sugarú körben a tetród körül pedig 1100 db, így nagyon nehéz kideríteni, hogy pontosan honnan származik a bioelektromos jel, amit mérünk.



1. ábra (a) Extracelluláris akciós potenciálok modellezése. (b) Intracelluláris akciós potenciál jelalakja extracellulárisan mérve és a kettő egymáshoz viszonyított amplitúdója. (Buzsáki et al., 2000)



2. ábra Agyi elektromos jelek celluláris forrásai (G.Buzsáki, Large-scale recording of neuronal ensembles, Nature neuroscience, Vol. 7, No. 5. (May 2004), pp. 446-451)

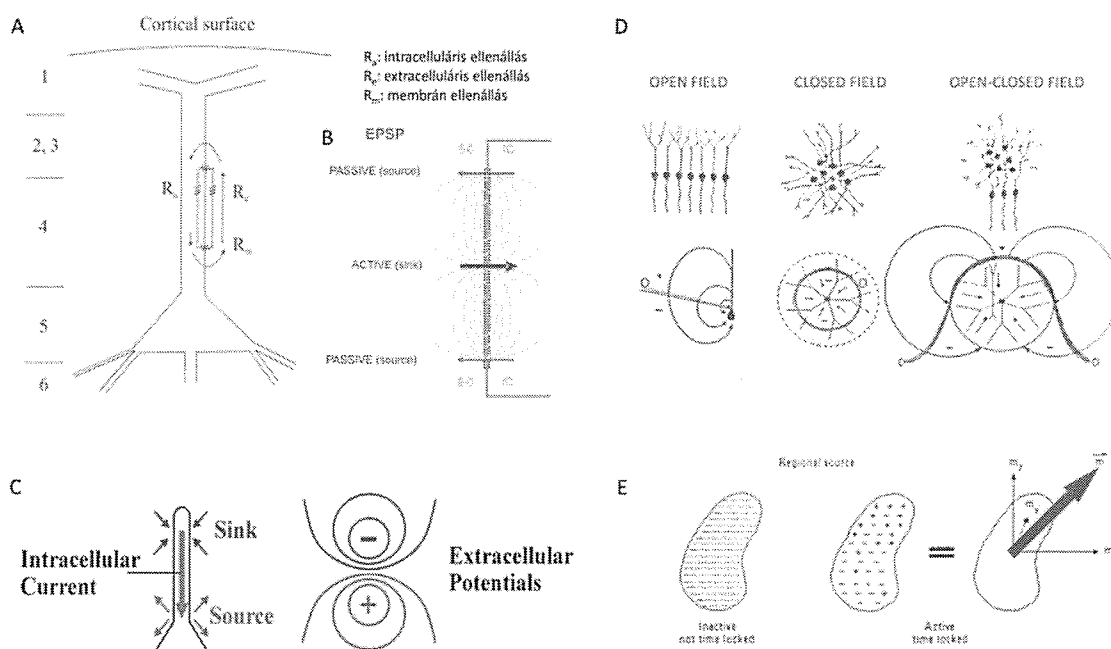
Idegsejt membrán hálózati modellje (3.A ábra), mezőpotenciálok mérése:

A modell kialakításához az alábbi egyszerűsítésekkel élnek:

- egyetlen idegsejtet vizsgálnak
- nincsen kapacitív tagja a sejtmembrán hálózati modelljének, csak rezisztív.

Az egyszerűsítések azért alkalmazhatóak, mert az egyes membránpotenciálokra extracelluláris elvezetésekből nem tudunk következtetni, mert nem a sejt belsejében vagyunk.

A 3. ábrán egy piramis sejt hálózati modellje látható. Az apikális dendritfáról (1,2,3 kortikális réteg) terjednek a serkentő posztszinaptikus potenciálok (EPSP: excitatory postsynaptic potential) a szóma (sejttest) felé. A membránon lévő aktivitás (töltéseloszlás) hatására nyitnak a feszültségfüggő Na^+ csatornák, a Na^+ ionok aktívan befelé áramlanak a sejtmembránon (nyelő - SINK). Mivel a zárt az áramkör, ami a membránt modellezi, kell lennie egy kifelé folyó áramnak, ún. passzív forrásnak (SOURCE). Aktív nyelő (befelé áram) és passzív forrás (kifelé áram) egy **dipólussal** modellezhető, amely **potenciálmezőt** generál maga körül. Ezt a mezőpotenciált (egy referencia ponthoz viszonyítva) mérjük az extracelluláris elektródok segítségével (3.B, C ábra). Az egyszerűsítések ellenére az EPSP-k terjedés a dendrit és a szóma tengelye mentén valósul meg, ami megfelel az agykéregre valóságban jellemző terjedésnek. A dipólus maga tud vándorolni a dendrit mentén, de az idegsejt eredő polaritása nem fog megváltozni EPSP terjedése során. Kihasználva egyetlen idegsejt dipólussal való modellezését, több idegsejt esetében, a dipólusok térben egymáshoz képest különböző vagy azonos irányban helyezkednek el (pl. párhuzamos (nyílt mező), ellentétes (zárt mező)), ettől függően alakítanak ki különböző, de jellegzetes potenciálmezőket (3.D ábra). Sok millió dipólus vektor összegeként kapott eredővektor adott agyterületre jellemző lesz (3.E ábra). Az ekvivalens dipólus modell segítségével bonyolult töltéseloszlású agyi területek aktivitása modellezhető egyszerűen.

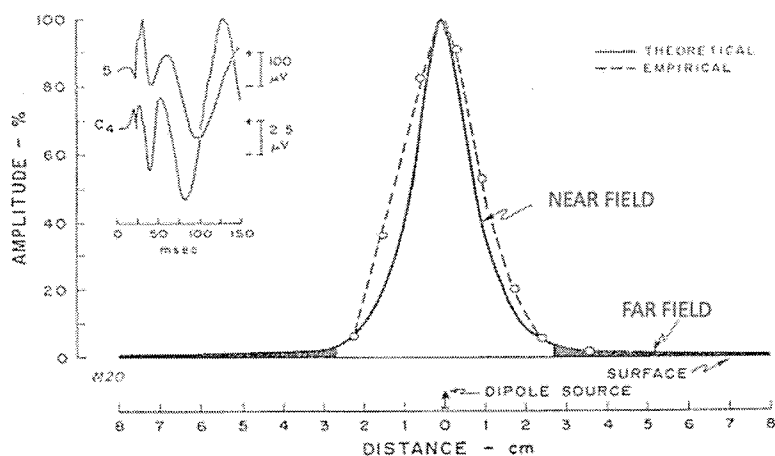


3. ábra (a) Idegsejt membrán hálózati modellje. (b) Szinaptikus membránáramok (EC: extracelluláris médium. IC: intracelluláris tér. EPSP: excitatory postsynaptic potential – serkentő posztszinaptikus potenciál.) (c) Membránok által keltett mezőpotenciálok. (d) Sejtek különböző együtteseit által keltett mezők. (e) Sejtegyüttesek ekvivalens dipólus modellje.

Dipólusok együtteseit által keltett potenciálmezőből mit tudunk mérni?

A mért, volumen vezetett jel amplitúdójának távolságfüggését (cm-ben) mutatja be a 4. ábra, ahol „0” távolság jelöli a dipól forrását. 1 cm távolságra a dipól forrásától, a kezdeti amplitúdónak kevesebb,

mint 10%-a mérhető csak, 7-8 cm-re a generáló dipólustól (pl. EEG elektród tipikus elhelyezkedése) ott már nagyon kis %-a mérhető a dipólus eredeti amplitúdójából. Azt a területet, ahol a dipólus eredeti amplitúdóját magas %-ban tudjuk mérni azt közeli mezőnek („near field”) hívjuk, és mindent ami ezen kívül van azt pedig távoli mezőnek („far field”), tehát ez EEG és ECoG mérések is far field mérések, míg a beültetett intrakortikális elektródhálózatokkal végzett mérések tipikusan near field mérések. A kis bal oldali ábrán ugyanaz a jel látható EEG és ECoG segítségével mérve. Jelalak gyakorlatilag megegyezik, azonban az amplitúdójukban jelentősen eltérnek, 40-ed részére csökkent a jel az EEG-n az ECoG-hoz képest.



4. ábra Volumen vezetett jel amplitúdó változása az agyban a távolság függvényében. Dipólus által keltett potenciáeloszlás sík feület mentén (teoretikus (-) és empirikus (- -) számítások alapján). Távolsággal a jelamplitúdó jelentősen lecsökken.

Extracelluláris elvezetéssel szemben az intracelluláris (sharp, patch-clamp) elvezetéssel egyetlen sejt sejtben belüli teréből mérünk nyugalmi membránpotenciált, membránpotenciál megváltozását a bejövő szinapszisok hatására.

K 2.1:

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

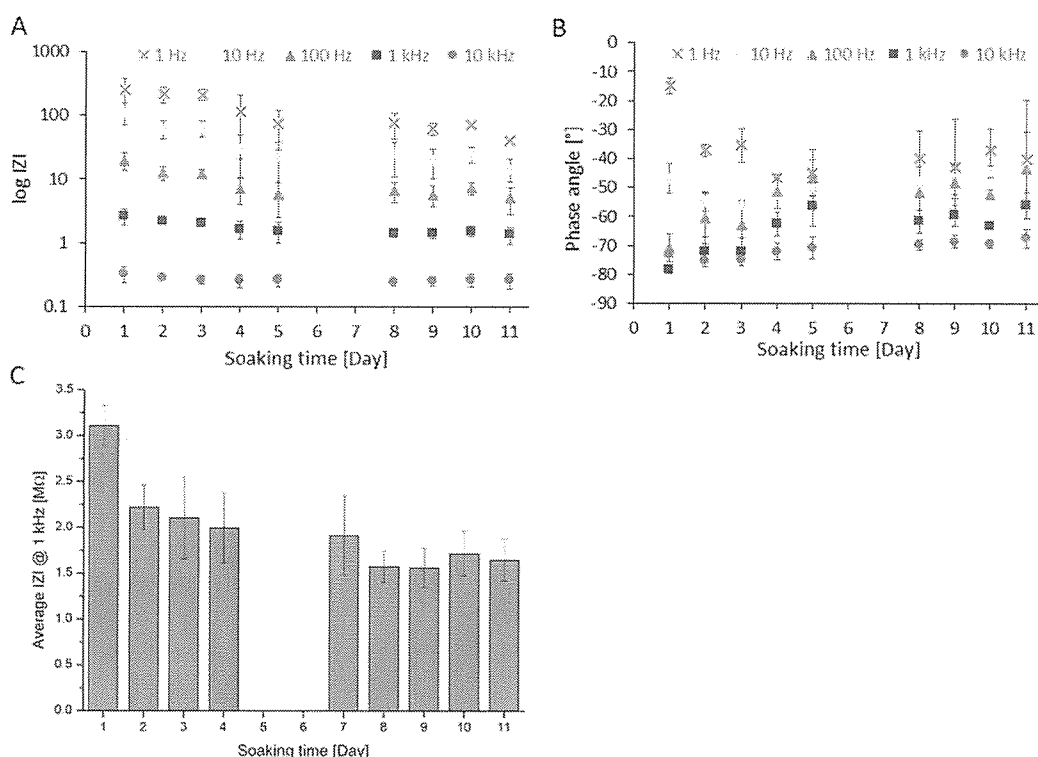
V 2.1:

A mérések eredményeit bemutató ábrák az alábbi fejezetekben, illetve oldalakon szerepelnek:

- 11 napos elektrokémiai stabilitásvizsgálat, két különálló eszközön (8 – 8 elektródot vizsgálva), 2.3.2 Electrochemical performance, 54. oldal (Figure 11):
 - (A)-(B): bemutatásra kerülnek az impedancia, illetve fázis értékek 5 különböző frekvencián (10 kHz – zöld kör, 1 kHz – piros négyzet, 100 Hz – szürke háromszög, 10 Hz – sárga rombusz, 1 Hz – kék kereszt). Első és tizenegyedik napon mért impedancia értékek átlaga és szórása:

Z=MΩ n=16	1 Hz		10 Hz		100 Hz		1 kHz		10 kHz	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.	Mean	S.D.
Day 1	248.07	135.98	112.07	43.15	19.45	6.10	2.61	0.71	0.32	0.09
Day 11	40.05	4.68	14.74	5.68	5.04	2.29	1.36	0.40	0.26	0.07

- (C): 11 napon keresztül végzett elektrokémiai stabilitásvizsgálat alatt mért impedancia értékek 1 kHz-n (n=16). 5 – 8 nap között stabilizálódott az impedancia értéke, így később ezt az időintervallumot vettem figyelembe (ennyi ideig áztattam be az elektródokat PBS oldatba), mielőtt a leválasztást megkezdtem volna.
- Leválasztást megelőzően is 11 napig áztak az elektródok PBS oldatban, így az elektrokémiai mérések igazolták az eszközök stabilitását vizsgálat. 3.3.1 Electrochemical characterization, 72. oldal (*Long term stability assessment of platinum black without mimicked in vivo conditions*, Figure 18). A disszertációan részletesen bemutatásra kerül a regisztrált Bode diagram.



5. ábra TiO₂/akrilát alapú eszköz elektrokémiai stabilitásvizsgálata 11 napon keresztül, 37 °C-os PBS oldatban.

K 2.2:

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

V 2.2:

Készültek szilícium alapú eszközökkel is *in vivo* mérések, valódi jelentőségüket hosszú távú (krónikus) vizsgálatokban érték volna el, ez azonban nem készült el, így ezek az eredmények nem képezték a

disszertáció anyagát. A szilícium alapú eszközök dimenziója pontosan megegyezik a tiolén/akrilát alapú eszközök dimenzióival.

Az off-line adatelemzés folyamata:

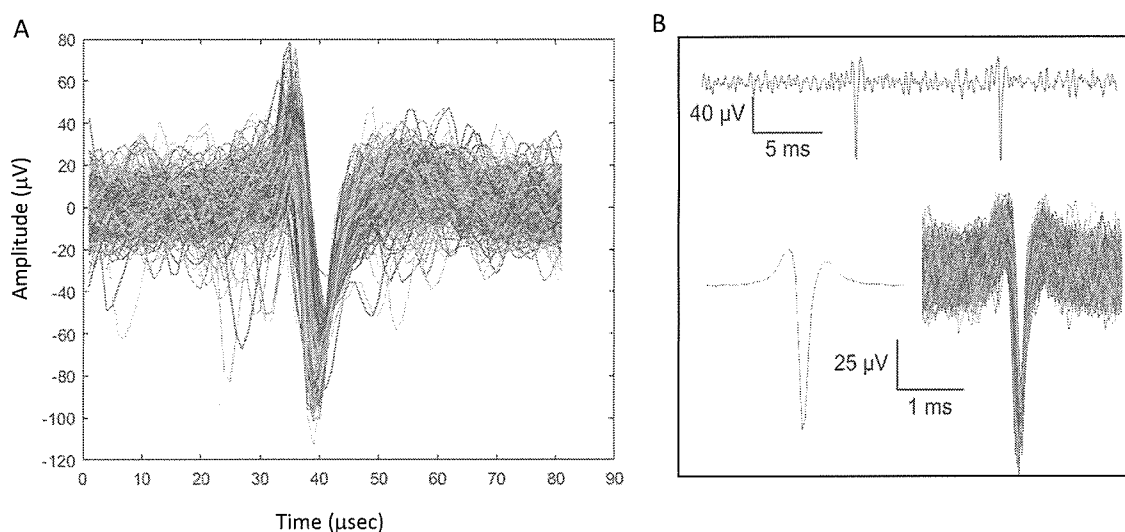
- 1) Frekvencia tartományra szűrés: 500 – 5000 Hz
- 2) Szoftveres (Matlab) főkomponens-analízis (Principle Component Analysis – PCA)
- 3) Klaszterezés manuálisan
- 4) Validálás autokorrelogram segítségével
- 5) SNR (jel/zaj viszony), peak-to-peak amplitúdó számítása

$$SNR = \frac{PP_i}{2\sigma_n}, \text{ ahol}$$

σ_n = n – edik elektródon megjelenő szűrt jel szórása (normális eloszlást feltételezve)

i = egyes klaszterek indexe

PP_i = i – edik klaszteren mért peak – to – peak amplitúdók (abs(max – min)) átlaga



6. ábra Platinázott szilícium (A) és platinázott tiolén/akrilát (B) alapú eszközzel elvezetett egysejt aktivitás (off-line jelfeldolgozást követően)

	Si/(Au/b-Pt)	SMP/(Au/b-Pt)
Jel/zaj viszony (SNR)	5,51	6,24
Peak-to-peak amplitúdó	80,67 μV	84,02 μV

Jel/zaj viszonyt tekintve, illetve PP amplitúdót tekintve hasonló eredményt kaptunk. Ezen kívül a hippocampusban mérhető gamma oszcilláció detektálásával még a hisztológiai vizsgálat előtt igazolni tudtuk, hogy az eszköz funkcionális az alsó elektródok már a hippocampusból vezetnek el agyi aktivitást. Kiemelendő, hogy mind a két esetben csak akut méréseket végeztünk, hosszútávú vizsgálat során lehetne igazolni a polimer elektród használatából eredő előnyöket (pl. kisebb mértékű gyulladásos immunreakció).

K 3.1:

A 67. oldalon megjegyzi, hogy a porózus platina mechanikai minőségénél fogva kevésbé bevált technika a krónikus *in vivo* vizsgálatokban a mechanikai sérülékenysége miatt. Ez alapján úgy tűnik, mintha a platinázott felület élettartama 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?

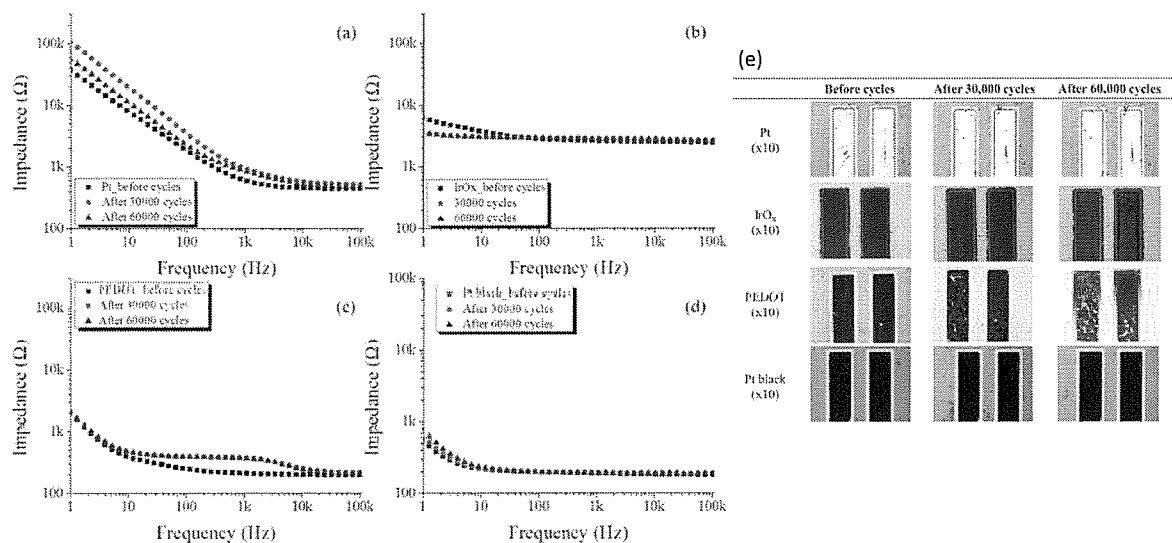
V 3.1:

1) A beültetés hatásának vizsgálata:

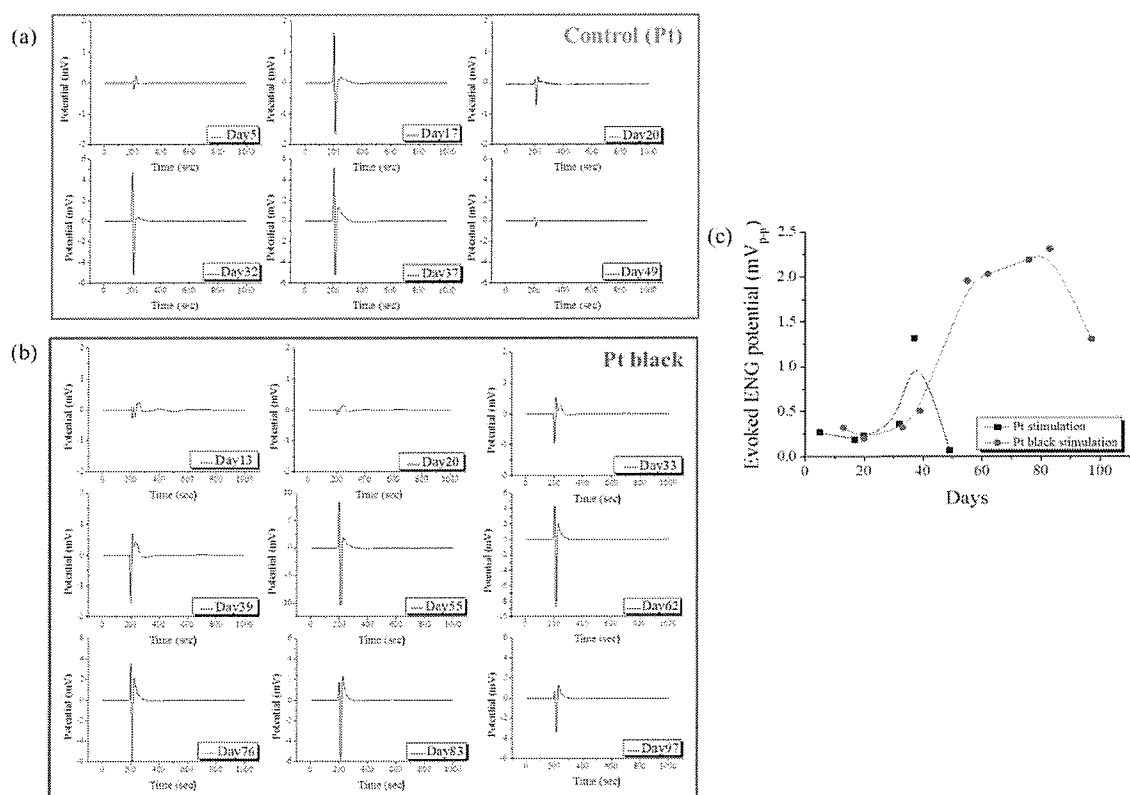
Márton et al. porózus platinát választott le platina kontaktusokra (hasonlóan a disszertációban szereplő ECoG hoz), azonban szilícium alapú eszközöket vizsgált. A porózus platina (Pt/Pt) mechanikai és elektromos stabilitását vizsgálta az implantáció és explantáció hatására, referenciaként porlasztott platina kontaktusokat is vizsgált, amelyek ugyanazon az eszközök helyezkedtek el. Mind a porlasztott platina, mind a potenciosztatikusan leválasztott porlasztott platina kiállta a 12 akut beültetést. 12 implantációt követő ciklikus voltammetriás méréssel igazolták, hogy Pt/Pt esetében az elektroaktív elektródfelület a kiindulással azonos nagyságrendben esett és két nagyságrenddel volt nagyobb a porlasztott platinánál. Ezen kívül igazolták, hogy 12 beültetést követően a jelteljesítmény 2 Hz-en átlagosan 27 %-al, 130 Hz-n átlagosan 18 %-al volt nagyobb Pt/Pt elektródok esetében, összehasonlítva a porlasztott Pt elektródokéval.

2) Krónikus *in vivo* jelenlét hatása:

Lee et al. különböző elektród anyagok (Pt, IrOx, PEDOT, Pt/Pt) esetében vizsgálta alkalmasságukat perifériás idegi ingerlésre és jelelvezetésre alkalmas 'köpeny' (*cuff*) eszközök esetében szubsztrátként poliimidet alkalmaztak, a szigetelő polimer réteg vastagságának 3 – 5 μm volt megadva (hasonlóan a disszertációban tárgyalt ECoG-hoz). *In vivo* vizsgálatok során Sprague Dawley patkányok ülőidegi stimulációját végezték el és hetente, 15 héten keresztül. Pt/Pt bizonyult a legalkalmasabbnak az idegi stimulációra és elvezetésre, mechanikai és elektromos stabilitását igazolták az *in vivo* mérést megelőzően (lásd 7. ábra) és azt követően is (lásd 8. ábra). Referencia mérésenként a porlasztott platina elektródokról származó eredmények szolgálnak. 7.(A) – (D) ábra alapján elmondható, hogy Pt/Pt esetében volt a legstabilabb az impedancia görbe a teljes frekvenciatartományon. A hosszú távú (15 hetes) *in vivo* mérések eredményeként azt a következtetést vonták le, hogy 300 μA kétfázisú impulzust és 100 μs hosszú pulzusokat alkalmazva, Pt/Pt elektródok esetében 15 héten keresztül vezettek el idegi aktivitást, miközben Pt elektródoké esetében 8. héten már nem detektáltak további akciós potenciálokat. Ennek lehetséges okai között említik az elektród anyagának (Pt) degradációját vagy az eszköz körül lévő szövetek sérülését. 8., illetve 15. hetet követően vizsgáltak az axon sűrűséget, a mielin hüvely kialakulását az axon körül. Pt/Pt esetében, Luxol Fast Blue (LFB) festést alkalmazva, minden kísérleti lépésben igazoltan magasabb axonsűrűséget mutattak ki, összehasonlítva a Pt elektródokkal, ami hosszú távú biokompatibilitást igazolja. A 15 héten keresztül elvezetett akciós potenciálok és az immunhisztológiai vizsgálat igazolta a porózus platina hosszú távú idegi alkalmazhatóságát.



7. ábra EIS mérések (a) Pt, (b) IrO_x, (c) PEDOT, and (d) Pt/Pt elektródokra és pásztázó elektronmikroszkópos felvételek (e), 30.000 és 60.000 kétfázisú áram impulzus ciklusok alkalmazását követően.



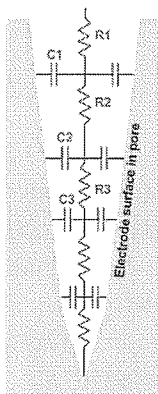
8. ábra Pt és Pt/Pt elektródokkal elvezetett akciós potenciálok, Pt elektródok esetében 8 (a), míg Pt/Pt elektródok esetében 15 (b) héten keresztül. Pt és Pt/Pt elektródokkal kiváltott és elvezetett potenciálok összehasonlítása (c), 300 μ A kétfázisú impulzust és 100 μ s hosszú pulzusokat alkalmazva.

K 3.2:

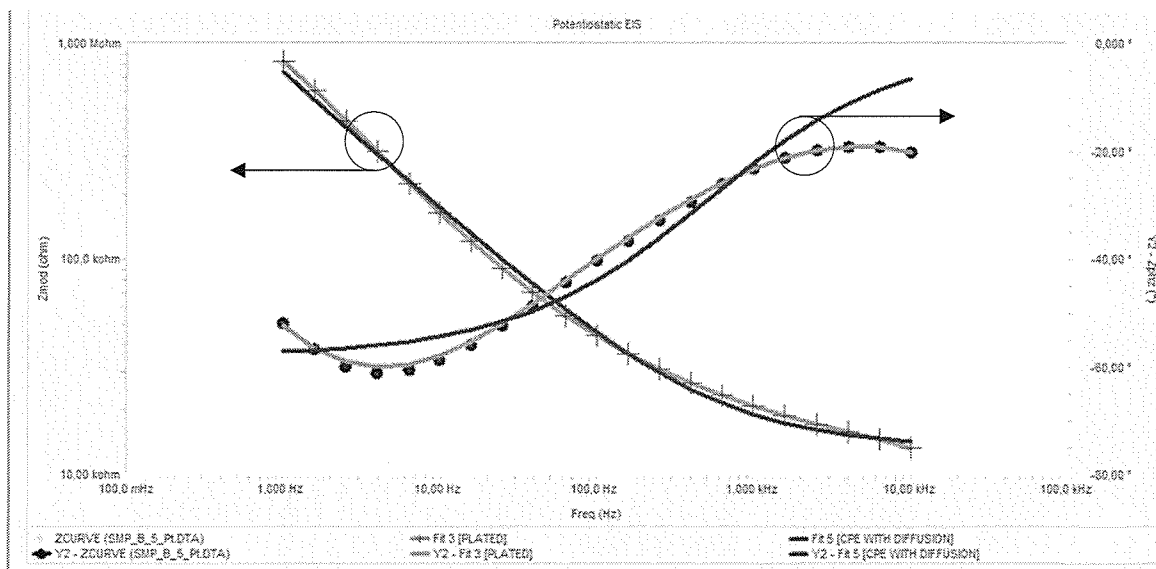
Az SMP tűk elektrokémiai stabilitási vizsgálataihoz tartozott egy ciklikus voltammetriával oxidatív hatást kiváltó mérőszorozat is, amelynek kiértékelésekor módosított Randles modellt használt a feltételezett pszeudokapacitások miatt. Az ehhez tartozó paraméterek (R_L és CPE_L) azonban elhanyagolható 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?

V 3.2:

Módosított modellt alkalmaztam olyan esetekben, ahol porózus platinát választottam le az elektródok felületére, így vettem figyelembe a pórusokban létrejövő RC tagokat (lásd 9. ábra), amely a modellben egyetlen RC taggal modellezhető. Az arany elektródok bár nem atomi simaságú felületek, mégis feleslegesen nagy bizonytalanságot okoz. Ez a modell jobb illeszkedést mutatott a kísérleti adatokra platinázott arany elektródok esetén, mint az egyszerű Randles modell, ezt egy példán szemléltetem az 10. ábrán.



9. ábra Egyetlen pórus keresztmetszeti képe feltüntetve az RC tagokat (Cogan, 2008)



10. ábra Porózus platina elektródról felvett Bode diagram és az illesztett görbék (zöld színnel jelölve a complex helyettesítő kép alapján kapott illesztett görbe, kék színnel jelölve az egyszerűbb helyettesítő áramkör alapján kapott illesztett görbe).

Az alábbi táblázat is az illesztés jóságát szemlélteti, a szoftver által kalkulált hibaértékek alapján (zárójelben a hiba, százalékban kifejezve):

	Arany elektród		Platinázott arany elektród	
	Egyszerűbb helyettesítő képlettel	Módosított helyettesítő képlettel	Egyszerűbb helyettesítő képlettel	Módosított helyettesítő képlettel
$R_s (\Omega)$	$8,6 \cdot 10^4$ (10,5 %)	$8,7 \cdot 10^4$ (90,5 %)	$1,3 \cdot 10^4$ (21,1 %)	$2,5 \cdot 10^4$ (6,9 %)
$R_{CT} (\Omega)$	$625,1 \cdot 10^6$ (2,7 %)	$632,2 \cdot 10^6$ (5,4 %)	$34,4 \cdot 10^4$ (79,4 %)	$20,4 \cdot 10^4$ (3,5 %)
$C_{dl} (F)$	$6,7 \cdot 10^{-11}$ (2,5 %)	$6,7 \cdot 10^{-11}$ (2,1 %)	$1,4 \cdot 10^{-8}$ (60,1 %)	$7,3 \cdot 10^{-8}$ (9,8 %)

K 4.1:

A kétféle multimodális elektrokokortikográfia elektródjainak hordozó anyagául eltérő polimereket használt, de főként a látszólag gyengébb optikai áteresztő képességű poliimid esetén nem indokolta a választást. Milyen szempontok alapján választotta az intrinszik optikai jel képkalkotáshoz (IOSI) a poliimidet, a kalcium érzékeny két-foton képkalkotáshoz (2P) pedig Parylene HT-t? (A kettő közül valamelyik polimer kiemelendő minőségű-e, és ha igen, a másik alkalmazásra miért nem azt használta?)

V 4.1:

Parilén optikai tulajdonságai alapján alkalmas lenne mind a két *in vivo* mérésre, azonban az IOSI mérések elvégzésekor még nem állt rendelkezésünkre ez a fajta polimer hordozó. IOSI mérések alatt az ECoG beültetése egy ún. kraniális ablakon keresztül történik. Beültetés alatt, a poliimid egy részét a koponyacsont alá kerül, így biztosítva az eszköz stabil pozícióját a későbbi folyamatok során (kamra ACSF-el való feltöltése, üveglemezzel leszorítás). A csontlemez alá történő, beültetésből eredő mechanikai hatást a poliimid nagyobb szakítószilárdságának következtében jobban tűrte ($\sigma_m(\text{poliimid}) = 350 \text{ MPa}$, $\sigma_m(\text{Parilén HT}) = 52 \text{ MPa}$).

A poliimiddel végzett előzetes mérések alapján nem alkalmas a két-foton mikroszkópiás mérésekben való részvételre az alábbi okok miatt:

- Poliimid autofluoreszcenciája túlságosan nagy optikai háttér zajt okozott a mérésben, mind a GCaMP6f fluoreszcens fehérje gerjesztéséhez használt hullámhosszon (910 nm), mind az és emissziós hullámhosszán (510 nm). IOSI esetében nem fluoreszcens fény detektálnak, hanem egy CCD kamera segítségével a sejtek saját optikai tulajdonságaiban bekövetkező változásokat, mint például a fényszórás változását, a szövetben lévő kromofórok optikai tulajdonságainak változását követik nyomon (funkcionális domének azonosítása céljából).
- IOSI esetében fényforrásként LED-et (pl. narancssárga, 605 nm) alkalmaznak, míg két-foton mikroszkópia esetében az alkalmazott fényforrás femtoszekundumos, impulzusüzemű pl. Ti/zafír lézer. Utóbbinál a koherens, fókuszált lézerek nagyobb teljesítménnyel bírnak (fokálisan), mint az IOSI-ben alkalmazott LED. Az előkísérletek alapján a poliimid két-foton leképezés közben degradálódott (elégett a fényútban a polimer réteg). Emellett a gerjesztés hullámhosszán (910 nm), $\approx 20 \%$ a poliimid abszorbanciája.

K 4.2:

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

V 4.2:

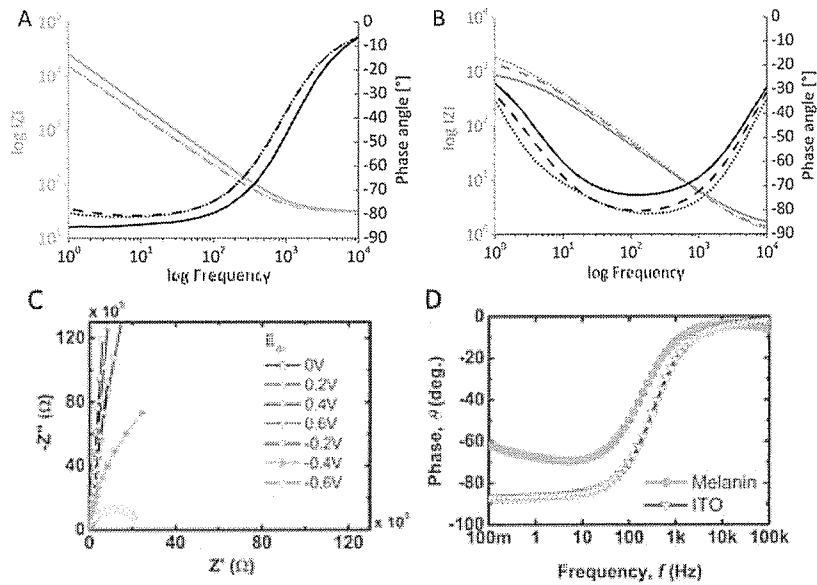
A két anyag esetében más lesz az elektrokémiai válasz (elektród elektrolit határfelületen kialakuló folyamatok) adott frekvenciaspektrumban, váltakozó feszültséget kapcsolva az elektrokémiai cellára. A 11.A (ITO) és 11.B (Pt) ábra fekete vonalai jelzik a két anyag fázismenete közötti különbséget (disszertációban 97. oldalon, Figure 26. ábrafelirattal található meg). A magas frekvenciájú tartomány az elektrolit soros ellenállását reprezentálja, kiegészülve a vezetékek és csatlakozások impedanciájából eredő taggal. Ez a tartomány a két anyag esetében nagyon hasonló. Faradikus reakcióktól mentes esetekben (ITO) az elektródokon EIS-el mérhető komplex impedancia fejezetben leírtaknak megfelelően ideálisan kapacitív viselkedést mutat. Ilyen ideálisan kapacitív viselkedést azonban csak atomi sima felületű elektródok esetében mértek eddig a szakirodalomban, polikristályos szilárd elektródok esetén a mért kettősréteg kapacitás frekvenciafüggő viselkedést mutat. A jelenséget „kapacitás diszperzióknak” nevezik és karakterizálására konstans fázisú elemmel (CPE) helyettesítik a kettősréteg kapacitást. Ebben az esetben a komplex impedancia kapacitív része a következő alakban írható fel:

$$\frac{1}{Z_c(\omega)} = T(i\omega)^\alpha$$

A CPE együttható (T) mértékegysége Farad, ez tehát a valós kapacitív tag, míg a frekvenciafüggést a CPE kitevő (α) szimbolizálja.

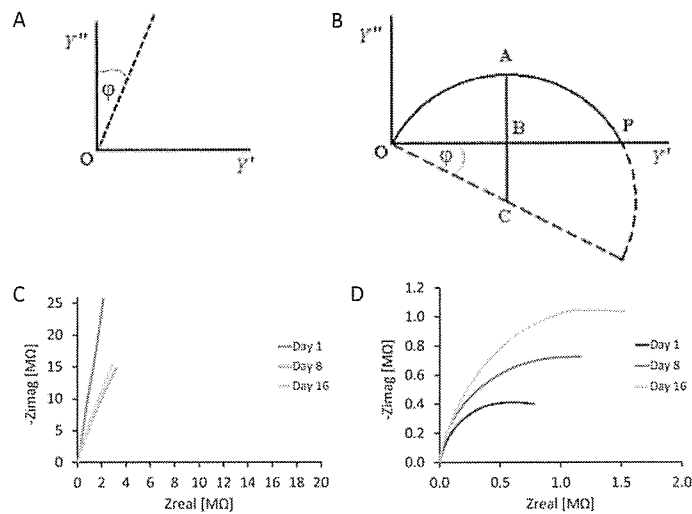
Az elektrokémiai válasz függ az AC vagy DC előfeszítés nagyságától. 25 mV-os amplitúdójú, szinuszos AC hullámot használtam 10 kHz és 1 Hz kiindulási, ill. végfrekvenciákkal. Kwon et al. DC potenciált alkalmazott ITO vékonyréteg karakterizálására, a feszültséget - 0,6 és 0,6 V között változtatta (11.C ábra). ITO esetében alacsony frekvencia tartományon (1 – 100 Hz) faradikus reakciótól mentes az elektrokémiai válasz (a kapacitív kettősréteg töltődése, töltésátlépés nélkül az uralkodó mechanizmus) AC, illetve bizonyos DC előfeszítések esetén (-0,2 V-ig). -0,4 V DC előfeszítés hatására H^+ redukció következtében faradikus viselkedést is mutatott (10.C ábra) az ITO vékonyréteg.

ITO esetében alacsonyabb frekvenciájú tartomány a konstans fázisú elem ideális kapacitáshoz való közelítését szemlélteti a 11.A, 11.D ábra (-90° -> ideális kapacitás, 0° -> ideális ellenállás).



11. ábra Disszertációban bemutatott Bode diagarmok ITO (a), illetve platina (b) elektródokra. Kwon et al. által publikált Nyquist (c), illetve Bode (d) diagramok ITO, illetve ITO-ra leválasztott 40 nm vastag polidopamin melanin film esetében.

Az ITO esetében a faradikus folyamatoktól való mentességet a Nyquist diagramok alapján értelmeztem, ahol a konstans fázisú elem hatása az alábbiak szerint módosítja a Nyquist diagramot: Faradikus folyamatoktól mentes esetben (12.A ábra) a kapacitás fázistolása eltér az ideális kapacitás - 90°-os fázistolásától, a mért Nyquist spektrum ennek megfelelően szöget zár be az imaginárius tengellyel (az ideális kapacitás Nyquist spektruma pontosan ráfekszik az imaginárius tengelyre). Faradikus folyamatokkal járó esetben (12.B ábra) a jellegzetes Nyquist félkör torzul, a mért körszelet felfogható, az ideális félkör φ szöggel történő elforgatásával mérhető spektrumnak. A mért spektrumoka a 12.C (ITO) és 12.D (Pt) ábrán láthatóak.



12. ábra A CPE jelenség hatása a mérhető EIS spektrumokra, töltésátlépéssel nem járó eset (a), Faradikus eset (b). A disszertációban bemutatott Nyquist diagramok ITO (c), illetve platina (d) elektródok esetén (97. Oldal, Figure 26. E – F).

K 4.3:

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

V 4.3:

Az ellenállások fluktuációja eredhet, a szoba hőmérsékletének változásából (nem gondoskodtunk a szoba hőmérsékletének állandó értéken való tartásáról), ennek nagysága azonban elhanyagolható mértékű ahhoz képest, mint amilyen ellenállás változást az anyag szerkezetében bekövetkezett változás okozott volna ($\Delta R > 1\%$). Platina esetében (hőmérsékleti együtthatója: $\alpha = 0,00385 \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$) egy példán szemléltetem, hogy milyen hőmérsékletváltozás mekkora ellenállásváltozást okoz az mérésben:

$$R_2 = R_{kiind}[1 + \alpha(T_2 - T_{kiind})]$$

R_2 : a változás utána ellenállás (1000 hajlítási ciklust követően)

R_{kiind} : kiindulási ellenállás

T_2 : a változás utána hőmérséklet

T_{kiind} : kiindulási hőmérséklet

α : hőmérsékleti együttható

$$378,93 \text{ } \Omega = 379,32 \text{ } \Omega \left[1 + 0,00385 \frac{1}{^\circ\text{C}} (T_2 - 25 \text{ } ^\circ\text{C}) \right]$$

$$T_2 = 24,73 \text{ } ^\circ\text{C}$$

Mindazonáltal a hőmérsékletváltozás okozta ellenállás változás a ciklusonkénti ellenállás fluktuációt nem magyarázza. A hőmérsékletváltozás hatására kialakuló ellenállás változás a gyors, ciklusonkénti (7 sec/ciklus) ellenállás fluktuációra nem ad magyarázatot.

Az ellenállások fluktuációjának másik oka lehet, hogy hajlítás során nem csak hajlító, hanem a befogás következtében nyújtó igénybevételnek is ki voltak téve a mintadarabok. Ennek a nyújtó igénybevételnek a következtében felléphet a ciklusonkénti fluktuáció (pl. platina esetében $\pm 0,035 \text{ } \Omega$, 1000 ciklus után, ami kevesebb mint 0,01 %-os változás). A nyújtó igénybevétel ellenállásra gyakorolt hatása további vizsgálatokat igényelne. A jövőben érdemes lenne olyan eseteket is megvizsgálni, ahol ez a kényszer nem áll fenn.

45 fokonként méréseknél 7 sec/ciklus volt a mérés sebessége. Ha csak 0 és 180 fokban mértünk, akkor 1-2 sec/ciklus volt a mérési frekvencia.

K 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'?

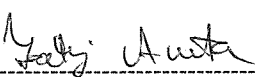
V 4.4:

Anesztézia izofluránnal való altatott állapotot jelent. Izoflurán használata során a vizuális ingerületátviteli útvonalak aktívak maradnak és korábbi kutatási eredmények alapján (Xing et al. 2012) ugyanolyan gamma aktivitást mutatnak, összehasonlítva éber állapotban mért esetekkel. A különbséget egyedül a nagyfrekvenciás gamma aktivitásnál tapasztaltak (80 – 100 Hz), ebben a tartományban alacsonyabb aktivitást tapasztaltak. Teljes gamma tartományban vizsgáltuk a vizuális stimuláció hatására kiváltott elektrofiziológias választ, és azt tapasztaltuk, hogy 78 – 80 Hz között csak időszakosan felfedezhető gamma aktivitást mutatott az EEG, amely kizárólag a vizuális ingerekhez volt köthető. A 80 Hz – es oszcilláció magyarázata lehet a thalamikus bemenetek aktivitása, amely a vizuális kéreg felé továbbítja az információt.

A műtétet megelőzően retinoszkópos vizsgálatot végeztünk, mellyel feltártuk az üvegtest fénytörési hibáit, majd kontaktlencsével korrigáltuk a hibákat, így biztosítva, hogy a vetített mintázat az alany retinájára essen és ki is töltsen azt. 1% atropin – szulfátot és 10% fenilefrin – hidrokloridot alkalmaztunk a pupilla tágítása és nedvesítése céljából. A monitort (amelyen a vizuális stimulusokat futtattuk) 28,5 cm-re helyeztük a kísérleti alany szemétől, ebben a távolságban a látótere nagy részét a monitor töltötte ki.

Az eszköz validációján túl (orientációs térkép felvétele, iEEG mellett), segítettük a vizuális stimuláció által kiváltott széles és keskeny sávú gamma aktivitás mögött lévő neurofiziológiai háttér megértését.

Dátum: 2020.07.08



Zátanyi Anita

PhD hallgató