



Pázmány Péter Katolikus Egyetem

Információs Technológiai Kar

Info-bionika MSc.

MTA-TTK-MFA

Mikrotechnológiai osztály



TDK DOLGOZAT

**Szilícium alapú fluidikus csatornával ellátott
mélyagyi elektródok karakterizációja**

Bérces Zsófia

(Info-bionika MSc. II. évfolyam)

Konzulensek:

dr. Pongrácz Anita

Műszaki Fizika és Anyagtudományi Intézet Mikrotechnológiai Osztály, tudományos munkatárs

dr. Ulbert István

Kognitív Idegtudományi és Pszichológia Intézet, Összehasonlító Pszichofiziológiai Csoport,
csoportvezető, tudományos főmunkatárs

Tartalomjegyzék

Összefoglaló.....	3
1. Motiváció.....	4
2. Irodalmi áttekintés	7
2.1. Párhuzamos kémiai ingerlés és elektromos mérés beültethető mikroeszközökben.....	7
2.2. A szilíciumtechnológia szerepe agyi elektródok fejlesztésében	14
2.3. Eltemetett Si mikrofluidikai csatorna technológiája és integrációja.....	14
3. Előzmények	16
4. Módszerek	20
4.1. Hidrodinamikai karakterizáció	20
4.1.1. Elméleti háttér	20
4.1.2. Kísérleti elrendezés	22
4.1.3. Hibaszámítás.....	23
4.2. Elektromos karakterizáció.....	25
4.2.1. Elméleti háttér	25
4.2.2. Kísérleti elrendezések.....	26
5. Eredmények	29
5.1 Folyadékáramlás vizsgálata	29
5.1.1 Számítási eredmények	29
5.1.2 Mérési eredmények	31
5.1.3 Számítási és mérési eredmények összehasonlítása.....	33
5.1.4 Beázási teszt	35
5.2 Elektromos viselkedés vizsgálata.....	37
5.2.1 Egyedi és párhuzamos csatornákon végzett mérések	37
5.2.2 Elektrokémiai impedancia spektroszkópia eredményei	40
6. Az eszköz tesztelése in vivo környezetben	42

7.	A felhasználás lehetőségei és jövőbeli tervek	44
8.	Összefoglalás	48
9.	Irodalomjegyzék	49
10.	Köszönetnyilvánítás	53
11.	Ábrák jegyzéke	54
12.	Rövidítések jegyzéke	56

Összefoglaló

Az idegrendszer működésének megértését célzó kutatások elsődleges eszköze az agy elektromos jeleinek elvezetése, illetve az agyszövet elektromos, vagy kémiai ingerlésére adott reakciók vizsgálata. Ilyen vizsgálatokra hatékonyan elsősorban invazív technikák alkalmazhatóak. Az idegszövetbe ültethető ingerlő és jelelvezető eszközök fejlesztése napjainkban is intenzíven folyik. Egy ilyen eszköz tervezésének szempontjai magukba foglalják nemcsak a mérnöki szempontokat, hanem eleget kell tenniük a biokompatibilitás követelményeinek is, illetve fontos, hogy beültetéskor a szövetet minél kevésbé károsítsák. A szilícium alapú technológiák számos olyan előnnyel rendelkeznek, melynek köszönhetően hatékonyan alkalmazhatóak az élő szövetben történő mérésre, ingerlésre szánt eszközök kifejlesztésére.

Az agyszövet fiziológiai működésének megismerésére nem csupán az elektromos ingerlés, és elvezetés lehet alkalmas. Érdekes perspektívát tár fel a kémiai ingerlés is, melynek során a szövetbe az idegi működés szempontjából releváns molekulákat juttatunk. A szövetbe való kémiai anyag adagolás terápiás szempontból is fontos lehet, hiszen a központi idegrendszerbe történő célzott gyógyszeradagolás a vér-agy gát miatt nem triviális probléma, és a klinikumban, kiemelten az agytumor terápiában, nagy igény mutatkozik ennek megoldására.

A szilícium alapú technológia alkalmas olyan csatornával ellátott mikrométeres mérettartományba eső tűk kialakítására is, melyek segítségével viszonylag kis szövetkárosító hatással, nagy térbeli pontossággal juttathatóak kémiai anyagok az élő szövetbe.

Nagy előnyt jelent, ha egyetlen eszközbe integrálhatóak a kémiai adagolásra, és az elektromos mérésre, illetve ingerlésre alkalmas egységek, így egy rendkívül széleskörűen alkalmazható eszköz állhat a kutatók, és később talán a klinikusok rendelkezésére.

A dolgozat témája a Magyar Tudományos Akadémia Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Kutató Intézetében kifejlesztett szilícium alapú, fluidikus csatornával is ellátott multielektrodok karakterizációja. Áttekinti a korábban készült, ehhez hasonló eszközök szakirodalmát, majd kitér az eszköz tervezését, és kivitelezését illető kérdésekre, ezt követően pedig az elkészült tűk elektromos, illetve fluidikus karakterizációját részletezi majd. A kísérleti eredmények ismertetése után a felhasználás lehetőségeit mutatja be.

1. Motiváció

Az idegrendszer működésének megismerését célzó kutatások elsődleges eszköze az agyi aktivitás elvezetése, vizsgálata, majd elektromos vagy kémiai úton történő befolyásolása. Az idegrendszer jeleinek elvezetése történhet *non-invazívan*, vagy *invazívan*. A *non-invazív* módszerek előnye, hogy nem igényelnek műtéti beavatkozást, a klinikumban rutinszerűen végezhető mérések (EEG), ám hátrányuk, hogy a mért jelek térbeli felbontása igen csekély, így egyes kóros elváltozások diagnosztizálására, statisztikai eredményeket felhasználva alkalmasak, ám az egyes agyi régiók működésének feltérképezésére nagyobb térbeli felbontóképességű eljárásokra van szükség. Az *invazív* mérési eljárások esetében a mérő és/vagy ingerlő elektród műtéti úton az idegszövetbe, a sejt közötti térbe (*extracelluláris* elvezetés) vagy a sejtmembránon áthatolva a sejt belsejébe (*intracelluláris* mérés) kerül. Előbbi mind idegsejt-populációs aktivitások (**MUA**, **LFP**) mérése, mind egyes sejtek aktivitásának (**SUA**) detektálására alkalmas.

Az *invazív* mérések történhetnek az agykéregben, vagy mélyagyi struktúrákban. Az agykérgi mérések során *szensoros*, *motoros* vagy összetettebb esetben *kognitív* információk nyerhetők. A mélyagyi struktúrák működésének megismerése, és befolyásolása megoldást jelenthet számos súlyos betegség esetében (pl. Parkinson kór), ha gyógyszeres kezelés valamilyen okból nem végezhető, vagy nem hatékony.

Az agy elektromos jeleinek befolyásolása számos új perspektívát tár fel nemcsak az idegrendszer működésének megismerésében, de súlyos patológiás esetek terápiájában is. A mélyagyi elektromos ingerlést sikerrel alkalmazták már humán pácienseken **Parkinson** kór, epilepszia, *dystonia*, *esszenciális tremor*, és **Tourette**-szindróma esetében is [1], és ezek a beavatkozások ma is a klinikai gyakorlat részét képezik. Az elektród beültetése általában nem váltja ki teljesen a gyógyszeres terápiát, hanem kiegészíti, hatékonyabbá teszi azt. Bár a pontosan meghatározott agyi régiók elektromos stimulálása a páciens gyógyulását nem jelenti, csupán viszonylagos tünetmentesítést. Mégis nagy életszínvonalbeli növekedést jelenthet ez a nem kockázatmentes beavatkozás.

Idegrendszerünk elektromos jeleinek generálása feszültségfüggő, vagy ligand-függő fehérjék (ún. *volatge-gated*, vagy *ligand-gated* receptorok) működésén alapul, így az elektromos beavatkozáson kívül a funkcióba való másik beavatkozási lehetőség a kémiai úton történő manipuláció. A működést fiziológiásan befolyásoló molekulák termelődésük, előfordulásuk, funkcionálásuk helyének és mennyiségének ismeretében sok agyi funkció megérthető molekuláris szinten is. Ezen ismeretek birtokában sok idegrendszeri rendellenesség oka feltárható, és célzott anyagadagolással kezelhető. A **Parkinson** kór kialakulását például a *dopaminerg* rendszer hibás működésének tulajdonítják, és feltehetőleg a drogaddikció kialakulásáért is ez a pálya felelős [2,3]. A fiziológiás működés a megfelelő helyre (a *dopaminerg* rendszer hibája esetén a *Substantia Nigra*-ba, vagy azzal kapcsolatban álló strukturába) történő anyagadagolás segítségével javítható, helyreállítható. Napjaink gyógyszergyárai is ezt az alapelvet használják fel, és olyan molekulákat terveznek, melyek a ligandfüggő receptorokba illeszkedve helyettesítik a receptort aktiváló fehérjét, beindítva ezzel a receptor aktiválódását követő természetes jelátviteli útvonalakat.

Nagyon fontos azonban figyelembe venni, hogy egyféle receptor a szervezetben általában számos helyen előfordul, így a nem célzott kémiai anyag, gyógyszer adagolás nemcsak a kívánt hatás elérésével, de számtalan mellékhatással is járhat, melyek, különösen az idegrendszer finomhangolt működésének befolyásolása esetében beláthatatlan következményekkel járhatnak. Emiatt nagyon fontos volna olyan molekulák tervezése, melyek csak a szükséges helyen hatnak, ez azonban rendkívül bonyolult, talán megoldhatatlan feladat. A másik megoldás tehát az anyagok célzott és lokális adagolás. Ehhez az agyszövetbe hatoló eszközre van szükség, melyet a kívánt helyre szűrve rajta keresztül a kémiai anyag az agy pontosan meghatározott helyére juttatható.

További motivációt jelent az, hogy a központi idegrendszer immunológiai védőrendszere, a vér-agy gát, a nagyobb gyógyszermolekulák agyba jutását szinte lehetetlenné teszi. Az agyi gyógyszeres terápiákban, különösen az agytumor terápiában használatos hatóanyagok általában meghaladják azt a méretet, mely a vér-agy gáton átjuttatható. Bár születnek már megoldások a gát ideiglenes megbontására, például fókuszált ultrahang segítségével [4], fenn áll az a hátrány, hogy az agyba jutott gyógyszer nem célzottan hat, továbbá a szervezet idegrendszeren kívüli részén a vérkeringésből kilépve számos mellékhatást okozhatnak. Bár az agykéregbe, vagy mélyagyi régiókba szúrt tű műtéti beavatkozással jár, segítségével a fenti problémák

kiküszöbölhetőek, így az alkalmazás körülményeit felmérve megfontolandó lehet ennek alkalmazása a vénásan adott gyógyszerekkel szemben.

A hatékonyság felmérésében nagy előnyt jelent, ha az adagoló eszköz egyben arra is alkalmas, hogy a bejuttatást követően az agy válaszát vizsgálhassuk vele. Egy elektródokkal, és folyadékadagoló egységgel is felszerelt eszköz így alkalmas lehet az anyag hatásának validálására. A gyógyszerkutatásban szintén hasznos felhasználási lehetősége mutatkozik az ilyen kialakításnak, hiszen ennek segítségével az állatkísérletek során a gyógyszerjelölt molekula hatása nem csak viselkedésszinten figyelhető meg, hanem segítségével megközelíthető (bár természetesen pontosan nem feltérképezhető) a biokémiai hatásmechanizmus, és a biokémiai és elektromos működés összekapcsolódásának szintje is. A gyógyszergyárak kiadásaiiban gyakran nagy tételt jelent az olyan anyagokba történő befektetés, melyek a fejlesztés igen késői fázisában buknak meg, mert a nem a kívánt hatást érik el, esetleg hatástalanok, vagy súlyos mellékhatásokat produkálnak. A molekula hatásának a biokémiai-elektrofiziológiai szintek kapcsolódásánál történő megfigyelésének lehetősége talán kiküszöbölhetne sok felesleges idő és anyagi befektetést is.

Ahogy az korábban is említésre került, előfordulhatnak olyan alkalmazások, terápiák is, melyek során a leghatékonyabb az együttes elektromos és kémiai ingerlés alkalmazása. Ebben az esetben nagy előnyt jelent, ha a két funkció egyetlen eszköz beültetésével érhető el. Így a páciensnek egy műtéten kell átesnie, mely során a szervezetébe ültethetnék mind a beépített – lehetőleg kívülről programozható-gyógyszeradagolót, és elektródot, mely alkalmas lehet mind mérésre, mind elektromos stimulációra.

Látható tehát, hogy számos olyan alkalmazás képzelhető el, mely során hatékonyan hasznosítható olyan eszköz, mely alkalmas az agyszövetbe való, (akár krónikus) beültetésre, és funkcióját tekintve használható elektromos *stimulációra* és/vagy mérésre, illetve folyadék célzott szövetbe juttatására.

Természetesen az ilyen eszköz elé számos követelményt is kell támasztanunk, mint mechanikai, mind elektromos, mind fluidikus tulajdonságait illetőleg, és rendkívül fontosak a jó *biokompatibilitási* és *biostabilitási* tulajdonságok, valamint az is, hogy a szövetet minél kevésbé roncsolja. A további fejezetekben arról esik majd szó, hogy a fenti szempontokat figyelembe véve miért jó választás a szilícium alapú *mikrotechnológia* ilyen eszköz előállítására.

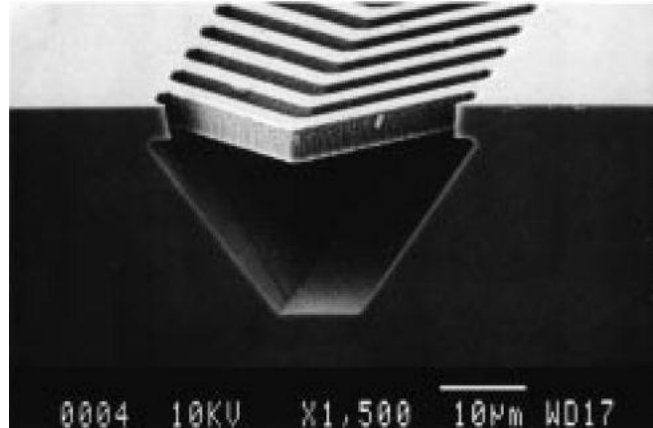
2. Irodalmi áttekintés

2.1. Párhuzamos kémiai ingerlés és elektromos mérés beültethető mikroeszközökben

A szakirodalomban már 1994-ben megjelent a gyógyszeradagolással párhuzamosan történő agyi ingerület mérés gondolata. **Ludvig N.** és munkatársai New Yorkban olyan mérési elrendezést állítottak össze, melyben élő állatok agyába dialízisre alkalmas eszközzel különféle molekulákat juttattak, és mikro elektróddal mérték az agy válaszreakcióit [5]. Bár az elektromos ingerlés, és mérés már évtizedekkel korábban is kutatási terület volt, új megközelítést jelentett a kutatók számára a kémiai ingerlés. Az idegsejtek elektromos jelekkel történő kommunikációját irányító, befolyásoló biokémiai folyamatok megfigyelésével, és a biokémiai közegbe való beavatkozással újabb ismeretek nyerhetők az idegszövet működéséről, és ez számos új lehetőséget tárhat fel például a gyógyszertervezés és tesztelés területén. A New-yorki kutatócsoport mérési elrendezése hatékonynak bizonyult a célzott gyógyszeradagolásra, és a szimultán elektromos mérésre is, de a dialízis technológia hátrányaként nem volt pontosan meghatározható, mennyi hatóanyag jutott a sejtek közti állományba, illetve a dialízis membránon a bejuttatni kívánt anyagnak csak töredéke jutott át. Ennek megoldására sorra születtek az ötletek, melyekben további előnyt jelentett, hogy az elektród, és az folyadékadagolásra szánt egység egyetlen eszközben lett elhelyezve, egyszerűsítve ezzel a mérések előkészítését. Ez a fejezet ezeket a megoldásokat tekinti át. Ezekben a tükben olyan csatorna található, mely alkalmas arra, hogy célzottan juttasson meghatározott mennyiségű anyagot a szövetbe. A felhasznált alapanyagot tekintve a leggyakoribb a szilícium, és a különféle biokompatibilis polimerek. A következő néhány oldalon a szakirodalomban fellelt eszközökről igyekszem egy minél reprezentatívabb mintát nyújtani, és a különféle megoldásokat összehasonlítani egymással. Az eredményeket az 1. táblázat foglalja össze.

1997-ben **Kensall D.Wise** és munkatársai publikálták elsőként azt az eljárásot, mely segítségével a Si tömbbe integrált gyógyszeradagoló csatornával ellátott tűt készítettek [6]. Az eszköz hiánypótlóként hívatott helytállni a korábban e célra használt *mikroiontoforézis* és mikropipetták helyett. Az egykristályos szilíciumba, egy speciális, „bordázott” maszk (1. ábra) mintázata alapján, *anizotrópan* mart csatornát termikusan növesztettszilícium-dioxiddal és alacsony nyomású gőzfázisú leválasztással

előállított (**LPCVD**) dielektrikummal fedték le, így olyan felületet hoztak létre a csatorna felett, mely alkalmas volt az elektromos vezetékek és kontaktusok elhelyezésére is. A csatornák szélessége 10-32 μm között változott, mélysége 15 μm volt, és egy tűbe akár négy csatornát is elhelyeztek.



1. ábra

Bordázott maszk alapján mart csatorna

Forrás: [6]

Az elkészült eszközöket agyszövetben tesztelték is, *kainsav*, illetve **GABA** adagolása után figyelték az idegsejtek random kisülési rátáját, és annak megváltozását az adagolt anyagok hatására. Mechanikai stabilitása a csatorna befedésnek gyengébb, mivel vékonyrétegekből áll és az *in-vivo* tesztek eredmények sem fedték teljesen a várt eredményeket, eszközükre, és annak gyártási eljárására 1997-ben szabadalmat adtak be [7]. 1999-ben **Liwei Lin** és **Albert P. Pisano** publikáltak egy szintén szilícium alapú eszközt, mely felületi és tömbi megmunkálás kombinációjával készült, és mechanikailag elég stabilnak mutatkozott izomszövetbe való beültetés során.[8] További előnye a beépített mikropumpa, ám hátránya, hogy csak a szükséges használat mellett is rendkívül törekenynek bizonyult. **Jeffrey D. Zahn** és munkatársai 2000-ben *poliszilíciumból* állítottak elő téglalap keresztmetszetű csatornával rendelkező mikrotűket, ám ezek elektromos elvezetésre alkalmas egységet nem tartalmaztak. [9] Úgynevezett mikroöntvényezés technikát alkalmaztak, mely az eszközök árát jelentősen csökkentette. Továbbá egy megoldást adnak a szilícium technológia egyik legnagyobb hátrányára, az eszközök törekenységére, melyet vékony fém-film bevonattal mérsékelni tudtak. **D. Papageorgiou** és munkatársai fejlesztéseket javasolnak a szilícium alapú csatornával ellátott mikroelektrodokhoz, melyek megoldanak néhány az eszköz használatával kapcsolatos problémát. Említést tesznek mikropumpáról, olyan „palettáról”, mely a csatorna kifolyó végére helyezve, adott nyomásra enged szabad utat a folyadéknak, elkerülve ezzel a nem kívánt folyadék-kibocsátást és a diffúziót,

valamint integrált áramlásérőről, mely segítségével mérhető és kontrollálható az adagolt anyag mennyisége [10,11]. **Douglas Sparks** és **Timothy Hubbard** cikkükben szintén szilícium alapú, téglalap keresztmetszetű csatornával rendelkező eszközről írnak, melyet olyan méretekben is előállítottak, ami segítségével fájdalommentesen adagolható gyógyszer bőr alá [12]. Ezek olyan kisméretű tárgyak, mely bár a bőrszövet felső rétegeit átszúrják, lehetővé téve azt, hogy a gyógyszerek könnyebben a véráramba jussanak, de nem érnek el a szövetek azon rétegeihez, ahol a fájdalomra érzékeny idegvégződések vannak. **Seung-Joon Paik** 2004-ben publikált munkájában olyan tűket mutat be, melyekbe az eltemetett csatorna technológiával (**BCT**, ld. 2.3. fejezet) készült csatornák találhatók, és melyeket **PDMS** chipbe integráltak. Eszközeik készítése során a különféle méretű tűket mechanikai stabilitás szempontjából vizsgálták, és a legstabilabbnak a 100 μm szélességű, és szinték ekkora vastagságú, 2 mm hosszú tűket találták. [13] Ezeket *in-vitro*, agar gélben, és az adagolt folyadék penetrációját *in-vivo*, csirke izomszövetében tesztelték. Azonban elektromos kontaktusokat a tűk nem tartalmaznak. **Scott T. Retter** én munkatársai szintén 2004-ben, **K.B. Neeves** és csoportja 2007-ben állítottak elő Si tömbi és felületi megmunkálással trapéz, illetve téglalap keresztmetszetű csatornával rendelkező mikortűket, melyeket az előbbi csoport diffúzió, utóbbi nyomás alatti folyadékbejuttatásban tesztelt [14,15,16]. Szintén 2007-ben **M Dijkstra**, **M. J. de Boer** és munkatársaik olyan tűket készítettek, melyekben közvetlenül a felszín közelében található a félkör keresztmetszetű anyagadagolásra alkalmas egység [16]. Bár eszközük felszíne elvileg alkalmas lehet további litográfiás lépésekkel elektród kontaktusok integrációjára is, ilyen elektródokat ők sem állítottak elő. 2008-ban egy szingapúri kutatócsoport, **Ajay Agarwal** vezetésével olyan eszközöket tervezett, és készített, melyek előállítása szintén a hagyományos Si megmunkálási lépéseken át vezetett, és az elkészült csatornák keresztmetszete kör alakú lett, néhány 100nm-pár μm -ig változó átmérővel [18]. Az eszközöket folyadéktároló egységgel is ellátták, és *patch-clamp* kísérletekhez használták őket. 2009-ben egy japán kutatócsoport mutatta be az ún. „intelligens” elektródokat, melyek nagy térbeli felbontásra képesek, mivel elektromos kontaktusok az eszköz mindkét felén elhelyezkednek, és a fluidikus csatornán kívül a mért elektromos jelek feldolgozásának első lépéseihez szükséges elemek is integrálva vannak (erősítő, **A/D** konverter) [19]. A tűben található csatorna szelet-illesztési technikával készült, ami rendkívüli nagy pontosságot igényel, és emiatt számottevő hibaforrás lehet. Az eszközt *Macaca fuscata* (japán makákó) motoros kérében sikerrel tesztelték.

A szilícium megmunkálás mellett a másik gyakran használt technika a biokompatibilis polimerek megmunkálása. Ezek a szilíciummal szemben nem törékenyek, így kisebb a szövetbe ültetéskor a műtéti kockázat, ám a belőlük készült eszközök kialakítása általában tartalmaz illesztési lépést, mely rendkívül nagy pontosságot követel, és kis hiba is használhatatlanná teheti az eszközt. A technológia további problémái, hogy az előállítható eszközök nem lehetnek tetszőleges méretűek, mivel a polimer réteg előállításának van egy felső korlátja, valamint hajlékonyságuk következtében a pontos célzás lehetősége, mely számos alkalmazás esetén kulcsfontosságú, kétségesé válik.

S. Metz és munkatársai svájci kutatólaboratóriuma 2004-ben publikált *polyimid*ből előállított mikrocsonnával ellátott tűnek nagy előnye, hogy nem törékenyek, és ezekben az eszközökbe szintén monolitikusan integrálhatóak a csatorna mellett az elektród vezetékei és kontaktusai akár a tű mindkét oldalára, lehetővé téve ezzel a több ponton történő gyógyszeradagolást és mérést. U alakú csatorna tervezésével megoldást kínálnak a diffúzió problémájára, így nagyon pontos mennyiségek adagolására nyílik lehetőség. [20]

Egy spanyol szakemberek által 2008-ban publikált cikkben **SU-8** felhasználásával készült, platina-vezetékezéssel, és kontaktusokkal ellátott tűkről szerezhettünk tudomást. Ezen eszközök előnye, hogy a szilíciumhoz képest olcsóak, és nem törékenyek. Az elkészült eszközöket élő szövetek elektromos impedanciájának mérésekre használták, és *in-vivo* kísérletekben belátták, hogy használhatóak *ischemiás* állapotok kimutatására. [21] 2011-ben **O. Frey**, és svájci csoportja egy hasonló eszközt mutattak be, mely szintén **SU-8** felhasználásával készült. [22] Ez 150 μm x 150 μm -es, 6mm hosszú, integrált csatornával rendelkezik. Azonban nem az agyi jelek elektromos mérésére szánták, hanem *bioszenzorként*, az agyban előforduló bizonyos molekulák (ez esetben *L-glutamát*) koncentráció detektálására, és sikerrel tesztelték patkány kisagyi, és *prefrontális* kérgi vizsgálataiban.

Anyag választás	Technológia	Geometria (hossz, csatorna keresztmetszet, méretek)	p-Q (?Bar - ?ul/sec)	In-vivo tesztelés, milyen?	Előnyök	Hátrányok	Referencia
Si	fotolitográfia, anizotróp marás (bordázott maszk) egykristályos Si-ba, majd a csatorna fedése termál-oxid és LPCVD dielektrikummal +elektrod	keresztmetszet: trapéz hossz: 4 mm, 2,15 cm szélesség: 10-32 µm, 40 µm mélység: 15 µm egy eszközben 1-4 darab csatorna	11 torr -100pl/s 1466,52Pa – 100pl/s (a 2,15 cm-es, 40µm széles eszközzel) *1 torr=133,32Pa	tengerimalac közepagy: kainsav (glu receptor agonista) (a kísérletekben antagonist hatást mutatott) GABA adagolás	több csatorna, azonos időben folyadék adagolás és elektromos jelgerisztálás	10 -100 µm csatorna szélességen kívül eső eszközök így nem készíthetők	Chen,1997. [6]
Si	felületi és tömbi megmunkálás	A tű: 80 µm széles, 50µm vastag, 1-6 mm hosszú A csatorna: keresztmetszet: trapéz (szerű) hossz: 1,3,6 mm szélesség: 30 µm, 50 µm magasság: 9µm	na.	izomszövetbe szúrták a mechanika stabilitás tesztelésére	integrált mikropumpa, nagyon vékony (ez hátrány is)	rendkívül törekeny -> szállíthatóság biztosítása a kis méretek rovására	Lin, 1999. [8]
Poli-szilícium	két szeletes „mikro-öntvényezés”	keresztmetszet: téglalap hossz: 7 mm szélesség: 192 µm magasság: 10µm	183 kPa – 0,7µl/sec (azért ezt a nyomást tekintették, mert ezt egy ember saját kezűleg egy fecskendővel elő tudja állítani)	na.	olcsó, mivel az öntőforma többször használható, fém bevonat a mechanikai stabilitás növelésére	a beültetés szöveti hatásait még nem vizsgálták, de feltehető, hogy ödémát, immunreakciót vált ki, bár nem tervezték hosszú beültetésre, így nem jelentenek nagy gondot a hosszútávú immunreakciók	Zahn, 2000. [9]
Poli -imid	Poly-imid mikromegmunkálás,	Keresztmetszet: téglalap Hossz: többféle, centiméteres Magasság: többféle: 5-20 µm Szélesség: többféle: 50-200 µm	20 bar=20kPa – 20 µl/sec maximum, (Pulzáló nyomás: 0,7-0,9 Pa, 50-100 ms – 10-200 pl folyadék kiadás)	na.	Nem törekeny. Az elő- és a hátoldalon is kialakítható egyszerre csatorna és elektród kontaktus	Hátrány: fel kell tölteni a csatornát előre Problémát okoz a pontos mennyiségű adagolásban a diffúzió – túl bonyolult lenne szelepet készíteni rá	Metz, 2004. [20]
Poli-imid	Poly-imid mikromegmunkálás, „lamination techniques”	U alakú csatorna, úgy kialakítva, mint a fenti, csak itt 2 „össze van kötve” kialakítva az U alakot, a csatorna nyílás pedig 1 darab van középen, az U alak alján.	na.	na.	A diffúziós problémát oldja meg -> nagyon pontos mennyiség adagolható. Többféle gyógyszer	néhány ms átkapcsolási idő, ez után kezd csak kiáramlani a folyadék - ezzel számolni kell.	Metz, 2004. [20]

					adagolása közt lehet „kapcsolgatni”	ez rövidíthető ha nincs a csatornában buborék – ez nehéz.	
Si	plazmamarás, fusion bonding, litográfia	Keresztmetszet: téglalap Magasság: kb 10 μm Szélesség: kb 30 μm (kép alapján) Többféle hossz	na.	na.	Létrehozhatóak tű-hálózatok, s a tűhegy szöge változtatható. Vastagabb falakkal robosztusabb eszköz hozható létre. Lehetővé tesz nagyobb dózisú gyógyszeradagolást fájdalommentesen	A tűhegy szögének korlátot szab a tű vastagsága. (szerintem ez az összes többi eszközre is igaz)	Sparks, 2004. [12]
Si	felületi megmunkálás és DRIE	Keresztmetszet: lépcsős falú „trapéz” Szélesség A trapéz alján: 40 μm Max magasság: 3 μm A „felső” szélesség: 25 μm A kimeneti nyílás 15 x 30 μm Hossz: ~2 mm (tű hossza)	nem nyomás alatt vizsgálták, hanem a diffúziót (agar gélben in vitro)	felőtt hím patkányok premotoros cortexébe TR-transzferin (vérplazma fehérje) diffúziójának vizsgálata	Rugalmasság a csatornakialakítás geometriájában és a felhasznált anyagokban (távtartó rétegek) -> felületmódosítás.	törékenység, nagy pontosságot igénylő lépések	Retterer, 2004. [14]
Si	standard mikromegmunkálási technikák	Keresztmetszet: téglalap Magasság: 10 μm Szélesség: 50 μm hossz: 2-5 mm közt	35 to 310 kPa, 0.5–4.5 $\mu\text{l/min}$	patkány szürkeállományába albumin adagolása, 35, 70 és 150 kPa nyomás alatt. (tesztelés agarózgélben is, mint agyszövet-modellben)	A csatornaméretet változtathatóak magasság 1-20 μm közt, szélesség 10-100 μm közt. Csökkentett visszaáramlás	Elektromos kontaktus hiánya.	Neeves, 2006. [15]
Si	tömbi megmunkálás, „surface channel” technology	Keresztmetszet: körselet (nagyobb, mint félkör), átmérője kb 15 μm	na	na	A csatorna létrehozása után felületi megmunkálással készíthető elektród A csatornák vákuumzárhatóak is (Pyrex® üvegbondolással)	A csatorna nincs mélyre temetve, így a felület kevésbé ellenálló mechanikailag, ami nem előnyös a további felületi megmunkálás szempontjából	Dijkstra, 2007. [17]
Si	Si megmunkálás, eltemetett csatorna	Keresztmetszet: kör Különböző átmérekkel, különféle mélyre temetve. Az árok méretei: (ezen múlik a csatorna átmérője) Átmérő: 0,2-5 μm	na.	na.	patch clamp mérések végzésére alkalmas	Az elektród a csatornában adagolt folyadékkal érintkezik, patch clamp mérésre alkalmas, de szimultán gyógyszeradagolásra,	Agarwal, 2007. [18]

		Mélység: 0.5–7 µm 2,3-3,3 µm árokból kn 1 µm átmérőjű csatorna Hossz: pár 10- pár 100 µm				és agyi jel mérésre nem.	
Si+PDMS	anizotróp és izotróp marások, és árokfeltöltés	Keresztmetszet: közel kör alakú 20 µm átmérő 2 mm hosszú	na.	folyadék penetráció tesztelése izomszövetben, illetve altatott nyúl fülében	mechanikailag megfelelően stabil, PDMS fluidikus chipre csatlakoztatható	Nincs elektródkontaktus rajta.	Paik, 2008. [13]
Si	Si felületi megmunkálás és DRIE	Keresztmetszet: téglalap, többféle méretben: 2/3/4 µm x 25 µm	68,94* 10 ³ Pa: 44 nl/min lineáris karakterisztika felvéve.	tesztelés konstans nyomáson agar gélben, majd patkány neocortexbe sejtmargereket juttatva	jó mechanikai stabilitás, fluidikusan jól karakterizálva	bár elvileg van rá lehetőség, nincs elektromos kontaktus integrálva, használva	Retterer, 2008. [16]
Si	Si felületi és litográfiás megmunkálás, szeletbondolás	Keresztmetszet: körülbelül 10 µm sugarú kör alakú.	lineáris karakterisztika felvéve, 29,33 Pa: 0,1 µl/min, 110,65 Pa: 0,4 µl/min	Az eszköz elektród részét sikeresen tesztelték in-vivo, japán makákó agyában, de elektromos+fluidikus tesztelést nem említ a cikk.	Az elektromos jelek feldolgozásának első lépéseire szükséges eszközök (pl A/D konverter) integrálva. Az eszköz mindkét oldalán lehetnek el. kontaktusok.	Szelet illesztési technikával állítják elő a fluidikus csatornát. Az illesztés jelentős hibaforrás.	Kobayashi, 2009. [19]
SU-8	háromrétegű SU-8, polimermegmunkálás	Keresztmetszet: téglalap 6,5 mm hosszú, 80 µm x 100 µm keresztmetszet,	nem különböző nyomásokon tesztelve, hanem állandó áramlási sebességre beállítva.	L-glutamát mikrobioszenzornak szánt eszköz, melyet erre a célra sikeresen teszteltek patkány prefrontális kérgi, és kisagyi mérésekben.	Mikrobioszenzor. Nem tökéletes. Egy eszközön több csatorna is található.	Agyi elektromos jel mérésre nem alkalmas.	Frey, 2011. [22]

1. táblázat
Párhuzamos kémiai ingerlés és elektromos mérés beültethető mikroeszközökben
Irodalomkutatói eredmények összefoglalása

2.2. A szilíciumtechnológia szerepe agyi elektródok fejlesztésében

A '60-as években megjelenő integrált áramkörök hamar feltűntek az orvosbiológiai alkalmazásokban is, mivel a technológia hatékonyan alkalmazható jelfeldolgozásra, illetve érzékelők készítésére. Ugyanebben az évtizedben megindult az első vékonyréteg technológiával készült, egy sejt aktivitását regisztrálni képes elektród fejlesztése, majd a technológia fejlődésével újabb és újabb megoldások születtek az idegrendszer jeleinek detektálására. [23] A hatékony, jó tér- és időbeli felbontással rendelkező mérésekhez műtéti beavatkozásra, invazív eljárásokra van szükség, ám természetesen egy módszer annál előnyösebb, minél kisebb mértékű az élő rendszerbe való beavatkozás, és a szövetkárosító hatás. Az elektromos és kémiai ingerlés a szövetbe célzottan történő elektromos áram juttatással, illetve molekula-adagolással érhető el, erre pedig megfelelő elektromos, illetve folyadékáramlási (fluidikus) karakterisztikával rendelkező, a környező szöveteket minél kevésbé károsító eszközökre van szükség. Az idegszövetbe ültetendő mérő, illetve stimuláló berendezésnek továbbá *biokompatibilis*nek is kell lennie, hogy az élő szövetbe ültetve ne okozzon mérgezést, illetve, hogy a biológiai közeg se tegye tönkre az eszközt. A felsorolt szempontok alapján az orvosbiológiai eszközfejlesztésben széles körben alkalmazott alapanyag a szilícium, mivel biokompatibilitásán túl nagy előnye, hogy belőle nagy pontossággal igen kicsi, mechanikailag mégis stabil tűk állíthatóak elő, továbbá elektromos, és fluidikus egységek az eszköz felszínén, és belsejében nagy rugalmassággal a különféle kutatói igényeknek megfelelően kialakíthatóak, és az eszközök jól reprodukálhatóak. A piacon nagy előnyt jelent, hogy a szilícium, a megmunkálás pontosságához képest olcsó alapanyag.

2.3. Eltemetett Si mikrofluidikai csatorna technológiája és integrációja

A *μ-fluidikában* használt csatornákat korábban *wafer-to-wafer bonding* technikával állították elő, melynek nagy hátránya volt a könnyen előforduló illesztési hiba. Ezt a problémát hívatott kiküszöbölni a felületi megmunkálás (*surface micromachining*), mely során a szilícium szelet felületén valamilyen távtartó anyag segítségével állítják elő a kívánt struktúrát, majd a befedés után a távtartó réteget kimossák vagy marják, így alakítva ki a csatornákat. Ebben az esetben azonban a létrehozható struktúrák méreteinek határt szab a távtartó anyagból készíthető maximális rétegvastagság, ami általában néhány mikron. A csatorna szigetelése is vékonyréteg szerkezetekkel történik,

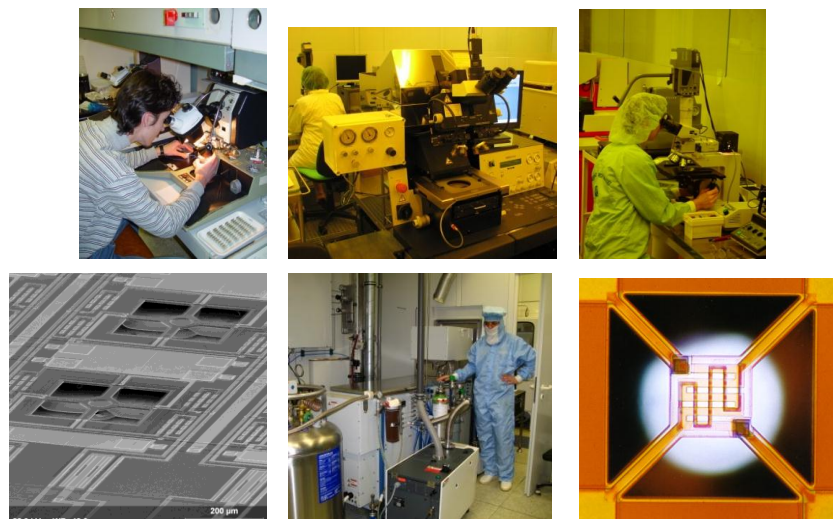
mely törékeny, mechnaikailag instabil struktúrát jelent. A **BCT** (*buried channel technology*, eltemetett csatorna technológia) e probléma megoldására jött létre. [24] Előnye a nagy tervezésbeli szabadság, és a szelet-illesztési lépés hiánya, valamint az, hogy a lefedett csatornák fölé a szilíciumszeletre elektromos egységek, áramkörök is integrálhatóak.

3. Előzmények

Az **MTA-TTK-MFA**-ban készült csatornával ellátott agyi elektródok a fentihez hasonló, módosított eljárással készülnek, melyre magyar szabadalmat is nyújtottak be. [25]

A technológia tíz alapvető lépésből áll. Először a Si szubsztrátot maszkoló anyaggal vonják be, majd litográfiával és marással mintázzák meg, ezzel jelölik ki, hol helyezkedik majd el a csatorna alapjául szolgáló árok. Az árok mélysége határozza meg, milyen mélyre lesz eltemetve a csatorna. Az árkot a szubsztrátba marják, majd oldalfalainak védelem mellett az árok alján a kívánt csatorna-strukturát a szilíciumba marják. E marási lépés paraméterei, a marási idő, a maró anyag, valamint a Si szubsztrát kristályszerkezete határozza meg a leendő csatorna alakját és dimenzióit. A csatorna marása után az árok falát védő bevonatokat eltávolítják, és az árkot kitöltik, mellyel a csatornát befedik például poli-szilíciummal (ld. 3. fejezet, 4. ábra).

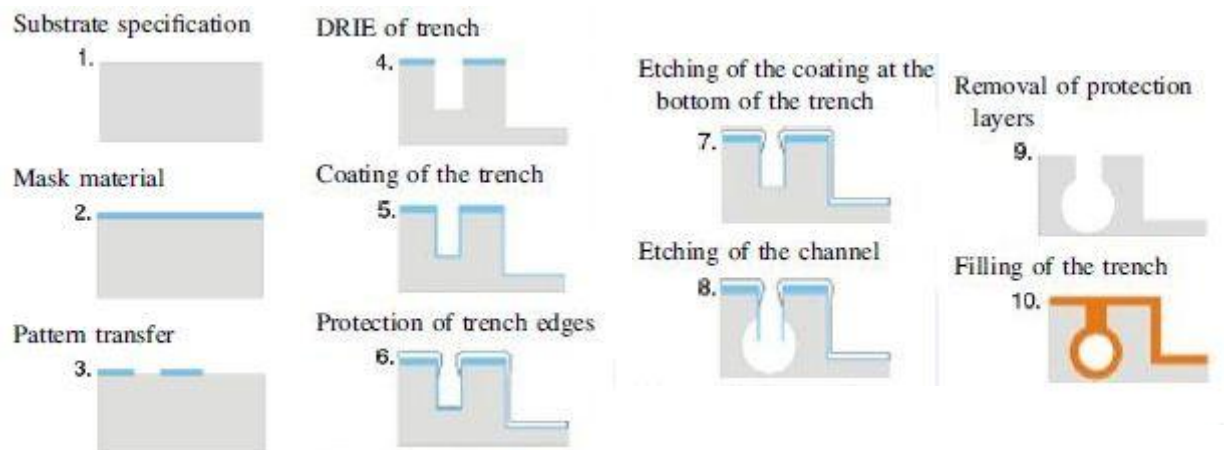
A munkám során vizsgált Si alapú multielektródot az **MTA-TTK-MFA** Mikrotechnológiai osztályának kutatói fejlesztették ki, az **MTA-TTK-KPI** Összehasonlító Pszichofizikai csoportjának, valamint a **PPKE** Információs Technológiai Karának munkatársaiból álló kutatócsoport kezdeményezésére. [26] A nagy pontosságot és tisztaságot igénytől eljárások számára Magyarországon egyedül itt áll rendelkezésre a megfelelő technológiai háttér. Az intézet széleskörű technológiai felszereltséggel rendelkezik, melyek közül egyedülálló a 300 m²-es, komplett Si **CMOS** technológiai sorral, és maszklaborral rendelkező tisztatér (2. ábra). [27]



2. ábra
Életképek a **MEMS** laborból
Forrás: [28]

Az általán vizsgált eszközök több féle méretben készültek, 200, illetve 400 μm vastag szilíciumszeletre, 1,5 cm, 3 cm, 5 cm illetve 7 cm hosszúságban. Szélességük 400 vagy 206 μm , és bennük egy vagy két csatorna található.

Az eltemetett csatorna kialakításának lépései vázlatosan a 3. ábrán láthatóak. A kiindulási szubsztrátra először oxidréteget növesztenek termikus oxidáció során (3/2.), majd litográfiával kialakítják a kimarni kívánt csatorna helyét (3/3). Ezt követően **DRIE** alkalmazásával árkot marnak a szilícium tömbbe, majd ismét szilícium dioxid növesztés, és Al leválasztási lépések következnek, melyek védőréteggént funkcionálnak majd. (3/4-6.) Ezután az árok aljáról anizotrop marással eltávolítják a védő réteget, lehetővé téve ezzel az árok aljából a csatorna kiszélesítését (3/7), majd izotrop marással kialakítják a csatornát (3/8). A csatorna marása után eltávolítják a SiO_2 és Al védőrétegeket (3/9.) és az árkot poly-szilícium leválasztással zárják be (3/10.). [29]



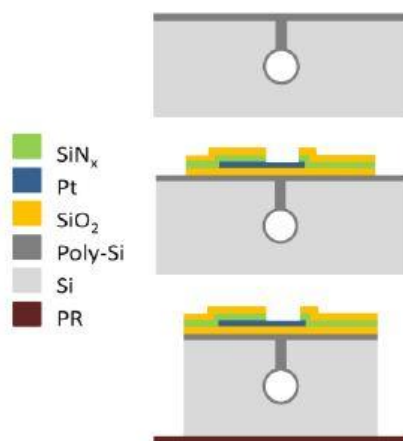
3. ábra (1-10.)

Az eltemetett csatorna
kialakításának lépései

Forrás:[29]

A szilícium tömbbe mart és betemetett csatorna kialakítása után felületi megmunkálással különböző szigetelőrétegek kerültek a szeletre, majd kialakításra került a platinavezetékezés, és a kontaktusok. A csatorna kialakítás utáni sematikus keresztmetszeti kép látható a 4. ábrán.

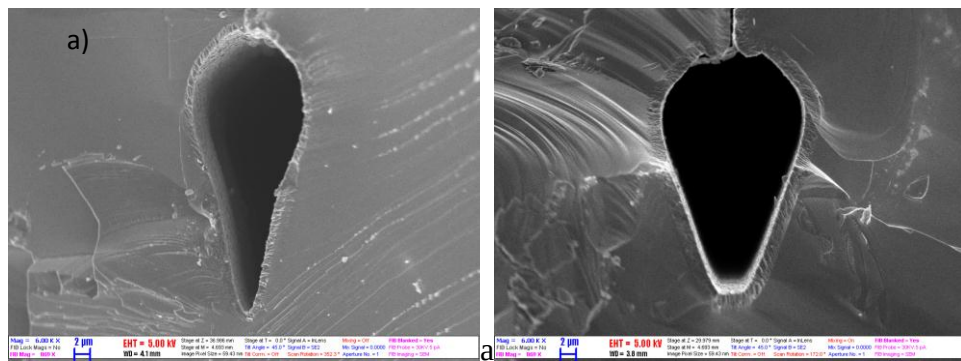
Először a szilíciumszelet elő és hátoldalára is 500 nm vastag szilícium-dioxidréteg képződik termikus oxidáció során. Majd alacsony nyomású kémiai gőzfázisú leválasztással 300nm szilícium-nitrid kerül az előoldali felületre. Az előoldal lakkvédelme után **SiO₂-SiN_x** marást hajtanak végre a hátoldalon, így, a lakk lemosása után kialakul a szilíciumszeleten az alsó szigetelőréteg struktúra. Ezt követi a fémzés kialakítása. Az előoldalon alumínium gőzölést és fotólakk felvitelét követően fotolitográfiával megfelelő maszkkal kialakítják a vezetőrétet. Majd a platina felületre vitele, a vezetőrétet megfelelő helyen való kialakítása lift-ott technikával történik. Az elkészült fémzésre kerül a felső szigetelő réteg, ezt követi a kontaktusablakok nyitása fotolitográfia, majd oxidmarás segítségével. A kontaktusablakok elkészítése után tisztítás, majd a szeleten elhelyezkedő tűk egymástól való elválasztása következik. Ennek során először az előoldalra Al-t gőzölnek, majd a felületet fotólakkal látják el. A megfelelő maszkkal fotolitográfiával kijelölik azokat a helyeket, ahol el kell választani egymástól a tűket. Ahol a maszk szabadon hagyja a lakkot, az **UV** fény hatására az eltávolíthatóvá, s így az alatt elhelyezkedő rétegek szabaddá válnak. Ezeken a helyeken Al marás után mély reaktív ionmarással (**DRIE**, *Deep Reactive-Ion Etching*) távolítjuk el a szilíciumot. (Eközben a hátoldalt lakkal védik.) A marás, és a lakk leoldása, valamint a felvitt alumíniumréteg marása után a tűk kitörhetők a szeletből. [26, 30]



4. ábra

A szilícium felületi megmunkálása az eltemetett csatorna kialakítása után
A felületre került szigetelőrétegek után a platinavezetékeztést, és kontaktusokat kell kialakítani. Majd a 3D megmunkálás mély reaktív ion marással (DRIE) történik.

A különféle szériákban gyártott tűk különböző csatorna-keresztmetszettel, formával és mérettel rendelkeztek, és az eltemetési mélységük is különböző volt. Munkám során 4 féle széria 4 féle hosszúságú darabjával foglalkoztam. A négy féle csatorna keresztmetszetű tű csatornáiról pásztázó elektronmikroszkóppal készült képeket mutat az 5. ábra a, b.



5. ábra

Két különféle csatorna keresztmetszeti képe 6000szeres nagyításban (SEM képek)

a) BE széria, b) BE4 széria

4. Módszerek

Az elkészült, tokozott elektródokon impedancia és fluidikus méréseket végeztem különféle kísérleti elrendezésekben. Ebben a fejezetben ezek részleteiről esik majd szó.

Az eszközök fluidikus, illetve elektromos egységeinek funkciója egymástól független, így azok függetlenül tesztelhetők. A két rendszer együttes működésének vizsgálatára *in-vivo* mérésekben kerül majd sor.

4.1. Hidrodinamikai karakterizáció

4.1.1. Elméleti háttér

Az áramlás egy fontos jellemzője az áramlási sebesség nyomástól való függése, melyet hidrodinamikai ellenállásnak nevezünk. Általános a következő képlettel számítható: $Q = R_{hyd} \cdot \Delta p$, ahol Q a térfogat-áramlási sebesség, Δp a csatorna eleje és vége közt fennálló állandó nyomáskülönbség, és a kettő közti összefüggést a csatorna paraméterei jellemzik, ezt nevezzük hidrodinamikai ellenállásnak. Ennek leírásához a **Navier-Stokes** egyenlet megoldására van szükség. Ehhez azonban analitikusan nehezen, vagy egyáltalán nem megoldható nemlineáris differenciálegyenlet megoldásra van szükség. Ezért ehelyett közelítő megoldást alkalmazunk, és olyan modellekre oldjuk meg az egyenletet, melyeknek kiszámítása az eredeti probléma megoldásánál jelentősen egyszerűbbek, segítségükkel az összetettebb esetek mégis igen jól közelíthetők. [31]

Esetünk az ún. „*Poiseuille flow*” esete, mely a csatorna két vége közt fennálló nyomáskülönbség hatására állandósult állapotú áramló folyadék dinamikáját írja le. Ezt azt feltételezi továbbá, hogy a csatornában az összenyomhatatlan folyadék áramlása lamináris. Az eredetileg kör keresztmetszetű csatornára felírt egyszerűsített, analitikusan számolható egyenlet (1) általánosítható tetszőleges keresztmetszetű csatornára, ezzel pontosabban közelítve a valós körülményeket. [31]

A fluidikus ellenállás megállapításához különböző nyomásokon kell mérni, hogy adott idő alatt mennyi folyadék jut át a csatornán. Ebből számítható a folyadék térfogat-áramlási sebessége ($\mu\text{l}/\text{min}$) adott nyomáson. A különböző nyomásokon mért sebességértékek nyomás függvényében való ábrázolásával lineáris karakterisztikát

várunk, melynek meredeksége a csatorna fluidikus ellenállását adja meg, és függ a csatorna hosszától, keresztmetszetétől, valamint a folyadék viszkozitásától.

A fluidikus ellenállás elméleti értéke a csatorna paramétereinek, és az átfolyó folyadék viszkozitásának ismeretében, lamináris áramlás esetében a következő összefüggéssel írható le [31]:

$$Q = \frac{1}{\gamma} \cdot \frac{\Delta p}{2 \cdot \mu \cdot L} \cdot \frac{A^3}{K^2}, \quad (1)$$

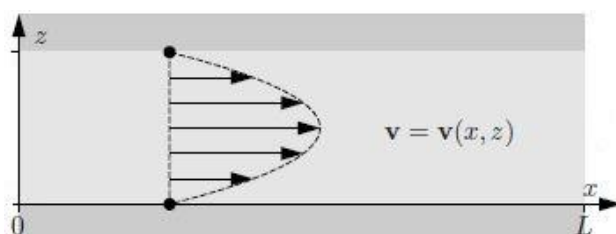
ahol Δp a nyomás, μ a folyadék viszkozitása, L a csatorna hossza, A csatorna keresztmetszetének területe, K pedig a csatorna keresztmetszetének kerülete. γ értéke a következő összefüggésből adódik:

$$\frac{1}{\gamma} \equiv \sum_{n=1}^{\infty} \frac{8}{(k_n \mathcal{R})^2} \frac{A_n}{A} \approx 1.$$

Ennek egyhez közelítő értéke csupán kör keresztmetszet esetén érvényes közelítés, de számításaink (egyelőre) ezzel a közelítő értékkel dolgoznak majd.

Ahhoz, hogy ennek minél pontosabb értéke meghatározható legyen, a vizsgált csatornák keresztmetszetének lehető legpontosabb közelítésére van szükség, mely véges elem módszerrel megoldható, és további munkánk részét képezi majd.

Ahhoz, hogy a fenti összefüggést (1) használhassuk, meg kell bizonyosodni arról, hogy a vizsgált áramlás lamináris. Az áramlás lamináris, ha a részecskék mozgása az áramlás irányával azonos, és arra merőleges összetevője nincs. A folyadék a csőben rétegesen áramlik és az áramlás sebessége az áramlás határától (a cső fala) mért távolsággal arányosan változik. Az áramlás profilja parabola, ahogy azt a 6. ábra is mutatja.



6. ábra

Lamináris áramlás

Az áramlási profil parabola, a részecskék mozgási irányának nincs az áramlás irányára merőleges összetevője, és az áramlás sebessége a cső falától mért távolsággal változik.

Forrás: [31]

Egy áramlás lamináris, vagy turbulens voltának mérésére használt dimenzió nélküli mérőszám a **Reynolds szám** (*Re*), mely függ az áramlás sebességétől (*v*), a dimenzióitól ($l = \frac{A}{K}$), valamint a folyadék sűrűségétől (ρ), és dinamikai viszkozitásától (η) és az alábbi képlettel számolható: [31]

$$Re = \frac{v \cdot l \cdot \rho}{\eta} \quad (2)$$

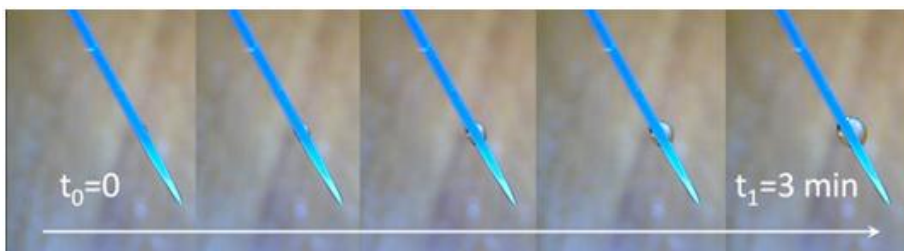
Amennyiben ez az érték a 2320-as határ alatti, lamináris, ellenkező esetben turbulens áramlásról beszélünk.

A μ - fluidikában az áramlás általában lamináris, esetünkben is ezt mutatják majd a számítások.

4.1.2. Kísérleti elrendezés

A kísérlethez a mérni kívánt tüt az erre a célra összeállított mérőrendszerbe erősítjük. Ebben a rendszerben a tü végén található csatornakimenethez egy tefloncsövet erősítünk, melynek másik vége egy folyadékkal (desztillált víz, majd fiziológiás sóoldat) töltött edénybe érkezik. Az edényhez nitrogénnel működő nyomásszabályozó van csatlakoztatva, ezáltal elérhető, hogy a tefloncsövön át a folyadék a csatorna bemenetéhez meghatározott nyomással érkezzon. A nyomás adott értékre való állítása után az idő mérése mellett a csatornán átfolyó folyadékcseppeket pipettával **Eppendorf** csőbe gyűjtjük, majd 0,25-0,5 μ l pontossággal meghatározzuk az adott nyomáson adott idő alatt begyűjtött folyadék mennyiségét. A 7. ábrán egy mérés folyamata látható.

Mivel modellünk *steady-state* áramlást feltételez, a folyadék begyűjtése előtt kis várakozási időre van szükség, mely alatt az áramlás sebessége várhatóan az adott nyomáson állandó értékre beáll. Mérési hiba adódik továbbá a pipettával való begyűjtés manuális voltából eredő veszteségből, valamint abból, hogy a mérési rendszer nyitott, így számolni kell a párolgás során fellépő veszteséggel is. A kísérleti elrendezés közelítéseit az eredményeik hibáinak értékelésekor figyelembe kell venni (ld. 4.1.3. Hibaszámítás fejezet).



7. ábra

Ez eszköz a hidrodinamikai ellenállás mérése közben a mérés kezdetén, és 3 perc elteltével

Forrás: [42]

A kísérletek során meghatározott értékeket elméleti értékekkel is összevetettük. Ehhez szükséges ismerni az egyes típusú csatornák keresztmetszetét. A csatorna keresztmetszeti paramétereinek meghatározásához **SEM** képeket használtunk, és az ImageJ nevű szoftvert [32]. A képletből számított Q értékeket a nyomás függvényében ábrázolva a kapott lineáris görbe meredekségének közel azonosnak kell lenni az adott típusú, és hosszúságú tűn kimért görbe meredekségével.

4.1.3. Hibaszámítás

A hibaszámítás során megállapításra került mind az x -tengely- a nyomás érték - hibája, mind az y - tengely- az időegység alatt átfolyt folyadékmennyiség - hibája. Előbbi oka az, hogy bár a rendszer a mérés során elvileg izobár, vagyis a nyomás konstans, a hosszabb mérések alatt, melyek akár 20-30 percig is tartottak, némi nyomáscsökkenés volt megfigyelhető. A hibaértékek minél pontosabb feltérképezése érdekében minden egyes mérés kezdetén és végén feljegyzésre került az éppen aktuális nyomásérték, és a számításokat a két mérték átlaga alapján végeztem. A nyomásban megfigyelhető abszolút hiba – melyeket az ábrák is mutatnak- általában nem volt számottevő. Az átfolyási ráta hibája úgy adódik, hogy a mérés során a tű végén megjelenő folyadékcseppek **Eppendorf**-csőbe való begyűjtése után a folyadékmennyiség az összes folyadékmennyiségtől függően $0,25\mu\text{l}$ vagy $0,5\mu\text{l}$ -enként került kimérésre, ezzel megállapítva az összegyűjtött mennyiséget. Azokban az esetekben, amikor csupán kevés ($1-2\mu\text{l}$ /20-30 perc) folyadék gyűlt össze (például alacsony nyomáson 7 cm-s eszköz esetében), a $0,25\mu\text{l}$ -es beállítást használtuk, míg nagyobb mennyiség esetén a $0,5\mu\text{l}$ -es pipetta-hegy volt a praktikus. Ennek köszönhető az y -tengelyen megfigyelhető hibák viszonylag nagy különbsége. Az y -tengely szintén az abszolút hibákat tartalmazza. Bár a mérés során az összegyűjtött folyadékot zárt

edényben tároltuk, mégis lehet az eredményre befolyása a párolgás hatásának, melyet ebben a mérésben, és a hibaszámításban nem vettünk figyelembe.

A 8. ábrán a Zs005 jelzésű eszközhöz tartozó számítások láthatóak, a mérések során az összes tűhöz tartozó eredmény számítása hasonlóképpen történt. A „P [Bar]” oszlop a mérés elején és végén mért értékek átlaga, ennek hibáját ($\frac{|P_{eleje} - P_{vége}|}{2}$) mutatja a második oszlop. A „P relatív hiba százalékban” azt mutatja, hogy a második oszlopban álló érték hány százaléka az átlagos nyomásértéknek (első oszlop), és ennek segítségével számítható ki az abszolút hiba („P abszolút hiba” oszlop) Pascalban.

A „V [μl]” oszlop a mérés során az adott nyomáson adott idő alatt („t sec” oszlop) összegyűjtött, pipettával kimért folyadékmennyiséget jelenti, és ennek hibája a kimérés felbontásától (0,25 μl vagy 0,5 μl) függ. A folyadékmennyiség relatív hibaértékére az átfolyási ráta hibájának kiszámításához lesz szükség. A szekundumban mért idő hibája az utolsó csepp gyűjtés pár másodperces időtartamából fakad, melyből szintén számoltunk relatív hibát, hiszen erre is szükség lesz átfolyási ráta hibájának kiszámításához.

Az átfolyási ráta a mért folyadékmennyiség és a méréshez szükséges idő hányadosából született, és a mértékegységeknek megfelelően μl/min váltottuk át. A hibaszámítás szabályai szerint a hányados relatív hibája az osztó és az osztandó relatív hibáinak összege, és ennek segítségével határoztuk meg az átfolyási ráta abszolút hibáját, melyet az utolsó oszlop mutat

Zs005													
3 cm													
206μm													
P [Bar]	P hiba	P rel. Hiba %	P [Pascal]	P abszolút hiba	V [ul]	V hiba	V rel.hiba	t [sec]	t hiba	t rel.hiba	v [μl/min]	v rel.hiba	v abszolút hiba
0,575	0,025	4,348	57500	2500	2	0,5	25	795	5	0,6289	0,15094	25,6289	0,039
0,8	0	0	80000	0	2	0,5	25	400	5	1,25	0,3	26,25	0,079
0,975	0,025	2,564	97500	2500	3	0,5	16,667	502	7	1,394	0,3586	18,0611	0,065
1,2	0	0	120000	0	2,5	0,5	20	325	5	1,538	0,4615	21,5385	0,099
1,41	0,01	0,709	141000	1000	3,5	0,5	14,286	355	4	1,127	0,5916	15,4125	0,091
1,65	0	0	165000	0	4,5	0,5	11,111	379	4	1,055	0,7124	12,1665	0,087
1,775	0,025	1,408	177500	2500	4	0,5	12,5	307	5	1,629	0,7818	14,129	0,11

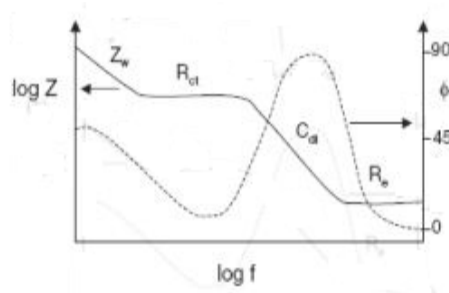
8. ábra

A Zs005 jelzésű eszközhöz tartozó mérési eredmények, és számítások táblázata.

4.2. Elektromos karakterizáció

4.2.1. Elméleti háttér

Elektród tervezése esetében fontos az eszköz és a vele érintkező elektrolit oldat határfelületének karakterizációja. Az elektrokémiai rendszer viselkedését elektrokémiai impedancia spektroszkópia (**EIS**) segítségével jellemezhetjük. Ennek során a frekvencia függvényében mérjük a rendszer impedanciáját, melynek abszolút értékét valamint fázisát külön görbén ábrázolva a **Bode diagramot** (9. ábra) kapjuk.[33] A frekvenciafüggés azért fontos, mert a későbbiekben az elektródákkal mérni kívánt jelek, mint az agykérgi mezőpotenciál, illetve az akciós potenciálok frekvenciája igen széles skálán mozog. (δ oszcilláció: 1-4 Hz hullámok (mély alvás) – γ ritmus: > 40 Hz, akciós potenciál: 500Hz-10 kHz).



9. ábra

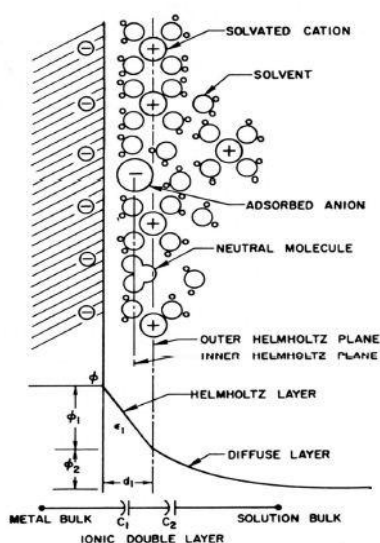
A Randles-féle modellre jellemző Bode diagram

Forrás:[33]

Az **EIS** adatokra ekvivalens áramköri modellek illeszthetők. A leggyakrabban használt helyettesítő hálózat a Randles-féle modell, melynek elemei az alábbiak: R_e : az elektrolit-ellenállás. C_{dl} elektromos kettősréteg-kapacitás, R_{ct} töltéstranszfer-ellenállás, Z_w : Wartburg-impedancia. [32,34,35]

Az impedancia frekvenciafüggő alakulásában a legjelentősebb szerepet az elektród és az elektrolit közti interfész (kettősréteg) játssza. Ez kapacitív tulajdonsággal bír, mivel a két vezető réteg (a fémelektród és az elektrolit) közt kialakuló ionréteg szigetelőként funkcionál. Ezt **Helmholtz** kettősrétegnek nevezzük, és vastagsága 2-4 **Ångström** nagyságrendbe esik. Tehát a kettősréteg és ez által a kapacitív tulajdonság kialakulásáért felelős elemek még a rendkívül kicsi elektródméretekhez képest is nagyon jól lokalizáltak térben. Emiatt az elektród mikroszkopikus felülete is jelentős

szerepet játszik a kapacitív kettősréteg tulajdonságainak alakításában, és így az elektród impedanciájának mértékében is.[35, 36, 37, 38]



10. ábra

Az elektród felületén kialakuló kettősréteg

Forrás: [35]

A fém-elektrolit határfelület impedanciája jó közelítéssel egyezik a Helmholtz kapacitás impedanciájával.

A **Helmholtz** kapacitás: $C_1 = \frac{\epsilon_1 \cdot A}{d_1}$.

Impedanciája: $Z_{C1} = \frac{1}{j\omega C_1} = \frac{d_1}{j\omega \epsilon_1 A}$, ahol A az elektróda kontaktfelülete, és ϵ_1 a dielektromos állandó a **Helmholtz** rétegben. Tehát a felület minél nagyobb, az impedancia annál kisebb. Ezért a cél az elektród-kontaktfelület növelése, lehetőleg az elektróda méreteinek növelése nélkül, hogy a feleslegesen nagy szövetkárosító hatások elkerülhetőek legyenek.

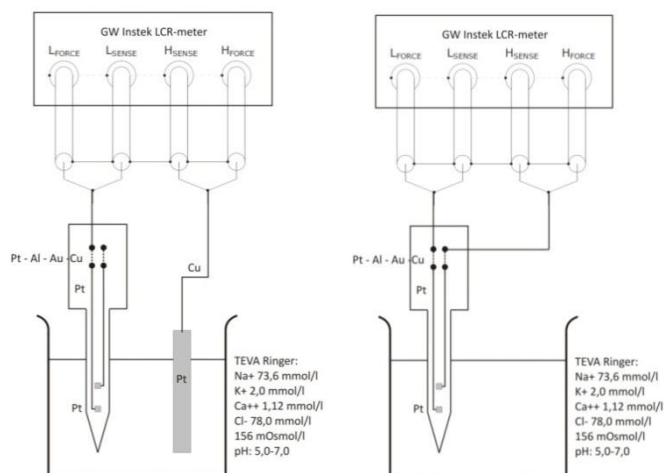
4.2.2. Kísérleti elrendezések

Egysatornás impedancia mérés

Az elektróddal történő munka első lépéseként meg kell állapítani, hogy a kontaktusok megfelelőek-e jelek elvezetésre, nincs-e rajtuk valamilyen hiba például beázás vagy a vezetékek közt rövidzárlat. A tű egyes csatornáinak impedanciáját platinaszál munkaelektroddal szemben **Ringer Teva** oldatban mértük **GW Instek Icr-819** típusú **LCR** mérővel 20mV mérőfeszültségen, 1kHz frekvencián (mérési elrendezés: 11.a. ábra). Modellként a mérőműszer lehetőségei közül a soros R-C kört alkalmazzuk, mely a legjobban közelíti az elektród karakterizálására használt **Randles**-féle modellt. Az egyes csatornákon ellenállást [kΩ] és kapacitást [nF] mértem, majd ebből eredő impedanciát [kΩ] számoltam a következő képlettel:

$$Z = \sqrt{\left(\frac{1}{j2\pi fC}\right)^2 + R^2}$$

Ismert, hogy az eredményeknek körülbelül milyen értékek körül kell mozogni, valamint az, hogy az egy tűn levő kontaktusokon mért impedancia értékeknek egy nagyságrendben kell lenniük. Az ettől eltérő eredmények olyan hibákra utalnak, melyek a gyártás során keletkeztek, és a tű felhasználása előtt érdemes őket feltérképezni, hogy elkerülhessük később az érvénytelen adatok mérését.



11. ábra
a. egycsatornás, b. kétszatornás impedancia-
mérési elrendezések

Jellegzetes hiba lehet egyetlen kontaktus sérülése, mely feltűnően nagy vagy kicsi mért impedancia értékekben jelentkezik. Ugyancsak előfordulhat a vezetékek rövidzárata. Ez tipikusan az egymás után következő páros illetve páratlan kontaktusok esetén jelentkezhet, hiszen azok vezetékai futnak egymás mellett, vagyis egyik oldalon csak a páros, másikon pedig csak a páratlan kontaktusokhoz tartozók. Ebben az esetben a mérés során azt láthatjuk, hogy a rövidre zárt vezetékekhez tartozó kontaktusokon mért értékek nagysága körülbelül annyid része a normális tartományba tartozó értéknek, ahány vezeték rövidre van zárva. Azt, hogy rövidzár történt, vagy valamilyen más, a kontaktusra jellemző hiba van-e a tűn, kétszatornás méréssel tudjuk ellenőrizni.

Impedancia mérés két csatornán

Két csatornás méréseket az egy-csatornás méréssel kimért értékek validálása, illetve rövidzárlat megállapítása céljából végeztem, az előzőhöz hasonló paraméterekkel. Az elrendezést a 11. b. ábra mutatja.

Ha két kontaktus közt mért impedancia a kontaktusokon külön-külön mért impedanciáknak az összege, abból jó huzalozásra következtethetünk, míg ha a két kontaktuson mért érték nullához közelítő, az rövidzárra enged következtetni.

EIS

Ahhoz, hogy megállapítsuk, vajon helytálló-e a feltételezés, miszerint az elektrokémiai cellánkat a **Randles**-féle hálózat modellezi helyesen, valamint hogy karakterizáljuk az elektród elektromos jellemzőit, elektrokémiai impedancia *spektrogramokat* készítettünk. Az agyi elektródot platinaszál munkaelektróddal és kalomel ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$) referenciaelektróddal szemben mértük a **BME Elektronikai Technológia Tanszékén Voltalab PGZ 301** típusú impedancia mérő berendezéssel 100mHz és 50kHz közti frekvenciákon 40mV-os mérőfeszültségen. Az adatok feldolgozását végző programmal **Bode** diagramot készítettünk, majd az eredményeket összehasonlítottunk a szakirodalomban olvasottakkal.

5. Eredmények

5.1 Folyadékáramlás vizsgálata

5.1.1 Számítási eredmények

A **Reynolds** szám a fluidikában gyakran használt dimenzió nélküli mérőszám, mely segítségével megállapítható egy áramlás lamináris vagy turbulens volta. Lévének eszközünk a mikrotartományba eső, az várjuk, hogy a csatornában történő folyadékáramlás lamináris lesz, ahogyan ez a 4.1.1. fejezetben is szerepelt. Elvárásunk igazolására az összes mérési eredményhez tartozó **Reynolds** számot kiszámítottuk. A számítás során az 12. ábra utolsó oszlopát, a csatorna keresztmetszet felületének becsült értékét, valamint a tú egy jellemző dimenzióját ($l = \frac{A}{K}$, esetünkben 10^{-5} nagyságrendbe eső szám) használtuk fel, és a következő képlet szerint számítottuk:

$$Re = \frac{\text{áramlási sebesség} \left(v \left[\frac{m}{sec} \right] \right) \cdot 10^{-5} [m]}{\text{kinematikai viszkozitás} \left[\frac{m^2}{s} \right]}$$

ahol az áramlási sebességet a térfogatáramot a csatorna keresztmetszetének felületével elosztva kapjuk. A kinematikai viszkozitás pedig a 4.1.1. fejezet (2) egyenletében szereplő $\frac{\rho}{\eta}$ hányadossal egyenlő. A számítás részletei:

I. A tömegáram átváltása $\frac{m^3}{s}$ mértékegységűre:

$$v \frac{\mu l}{min} = \frac{v \frac{\mu l}{min} \mu l}{60 \frac{sec}{min}} = \frac{v \cdot 10^{-9} m^3}{60 \frac{sec}{min}}$$

II. Áramlási sebesség számítása a tömegáramból:

$$\frac{\text{térfogatáram}}{\text{a csatorna keresztmetszete}} = \frac{v \left[\frac{m^3}{sec} \right]}{3,1 \cdot 10^{-11} m^2} \frac{m}{sec}$$

III. A kapott érték megszorozása a csatorna egy jellemző méretével (10^{-5} nagyságrendbe eső szám méter mértékegységgel):

$$\frac{v \left[\frac{m^3}{sec} \right] \cdot 10^{-5} m^2}{3,1 \cdot 10^{-11} sec}$$

IV. Az így kapott érték elosztása a víz kineatikai viszkozitásával, melynek értéke

$$\approx 7,8 \cdot 10^{-7} \frac{m^2}{sec}:$$

$$Re = \frac{v \left[\frac{m^3}{sec} \right] \cdot 10^6}{3,1 \cdot 7,8 \cdot 10^{-7}}$$

A fenti (8.ábra) táblázathoz tartozó kiszámított **Reynolds** számokat a 12.ábra tartalmazza.

Zs005					
3 cm					
206 um					
Reynolds	P [Bar]	P [Pascal]	V [ul]	t [sec]	v [μl/min]
1,040392	0,575	57500	2	795	0,15094
2,067825	0,8	80000	2	400	0,3
2,471533	0,975	97500	3	502	0,35857
3,181279	1,2	120000	2,5	325	0,46154
4,077406	1,41	141000	3,5	355	0,59155
4,910394	1,65	165000	4,5	379	0,7124
5,388475	1,775	177500	4	307	0,78176

12. ábra

A Zs005 jelzésű tű mérési eredményeihez számított Reynolds számok

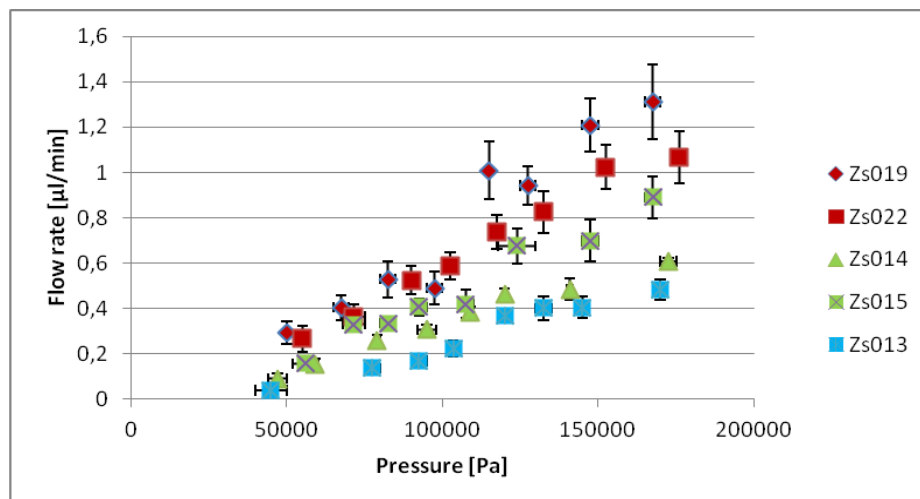
Várakozásunknak megfelelően a Reynolds számok nagyságrendekkel a lamináris-turbulens áramlást elválasztó határ alá esett, amiből megállapítható, hogy mikrocatornáinkban a folyadék áramlása lamináris.

5.1.2 Mérési eredmények

Desztillált víz

Egy csak fluidikus (BL5) és egy fluidikus és elektromos (BE) csatornákkal is ellátott tű szérián mértem. A rendelkezésre álló 2 szérián először desztillált víz csatornán való átfolytatásával mértem, és hasonlítottam össze a különféle hosszúságú csatornával rendelkező tűket. A hosszabbak mérése során felvett lineáris görbe meredekségét kisebbnek, míg a rövidebb tűkhöz tartozók esetében nagyobbak várjuk.

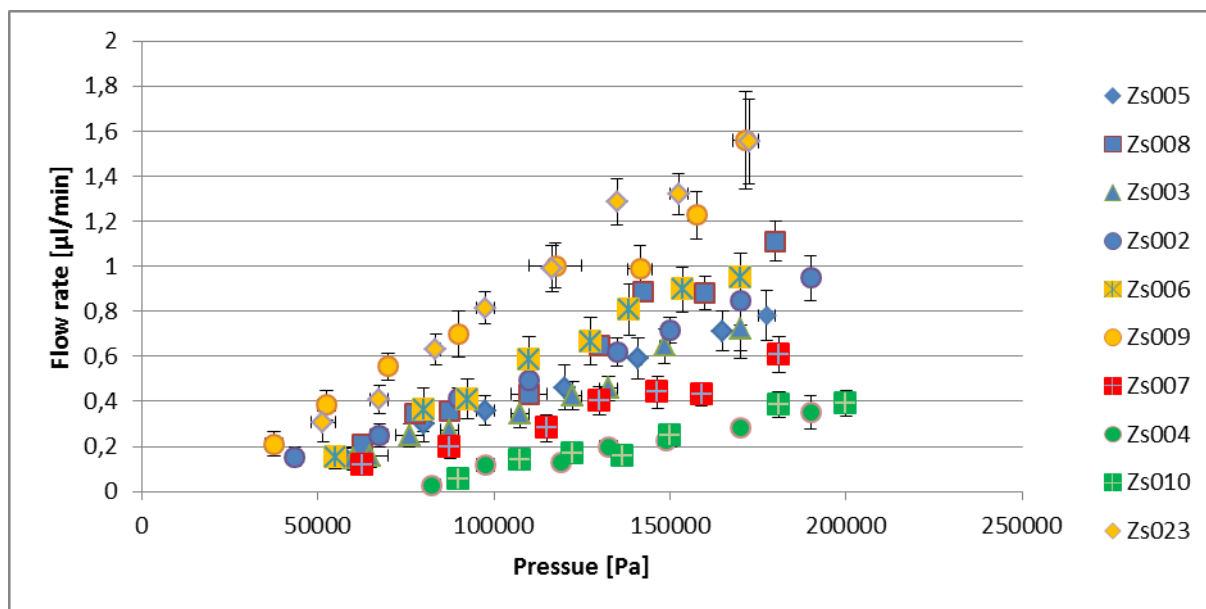
A BL5 sorozatból olyan tűk álltak rendelkezésre, melyek egyelőre csak a tűtestből, illetve az eltemetett csatornából álltak. A tű gyártása során az eltemetett csatorna kialakításához használt *fotolitográfiai* maszkon 1 mikronos csíkszélességű mintázat definiálta a csatorna vonalát. Az 1 μm az akkori maszk készítő berendezés felbontásának alsó korlátja volt, a maszk vizsgálata során a csíkszélesség vastagsága változó értékeket mutatott, illetve az illesztések sem voltak pontosak. Ennek következményeképpen a poly-Si-os benövesztés sem volt mindig elégséges a kiszélesedett csatornanyakak esetén. Valószínűleg ennek a következménye, hogy ebből a sorozatból több eszköz is szivárgott a tűtest mentén. Ennek ellenére született elegendő sikeres mérés is a sorozat karakterizálásához, eredményét és a hibákat a 13. ábra mutatja. A vörös színűek 3 cm, a zöldek 5 cm, a kékkel jelzett pedig 7 cm hosszúságúak



13. ábra

A BL5 szériás tűk fluidikus karakterisztikája. A vörös színűek 3 cm, a zöldek 5 cm, a kékkel jelzett pedig 7 cm hosszúságú tűkhöz tartoznak. (A sorozatból 1,5 cm hosszúságú eszköz nem állt rendelkezésre)

A 14. ábra a BE szériás, elektromos és fluidikus csatlakozóval is ellátott elektródok mérési eredményit, és a mérés hibáit mutatja. Ebből a sorozatból állt a legtöbb darab a rendelkezésemre, így ezt a szeletet sikerült a legjobban karakterizálni. A BE szériában az elektromos vezetékek Si-tól való elszigeteléséhez egy szigetelő vékonyréteg struktúrát is le kell választani. Ez a vékonyréteg struktúra nemcsak elektromosan, de fluidikus szempontból is jó szigetelőnek bizonyult, a tűk nem mutattak szivárgást a csatornaszigetelések mentén. Az elvárásoknak megfelelően láthatóak a különbségek a tűk hosszának megfelelően. A sárga színnel jelzett darabok 1,5 cm hosszúak, a sötétkékek 3, a piros 5, míg a világoskék színnel jelzettek 7 cm hosszúságúak.



14. ábra

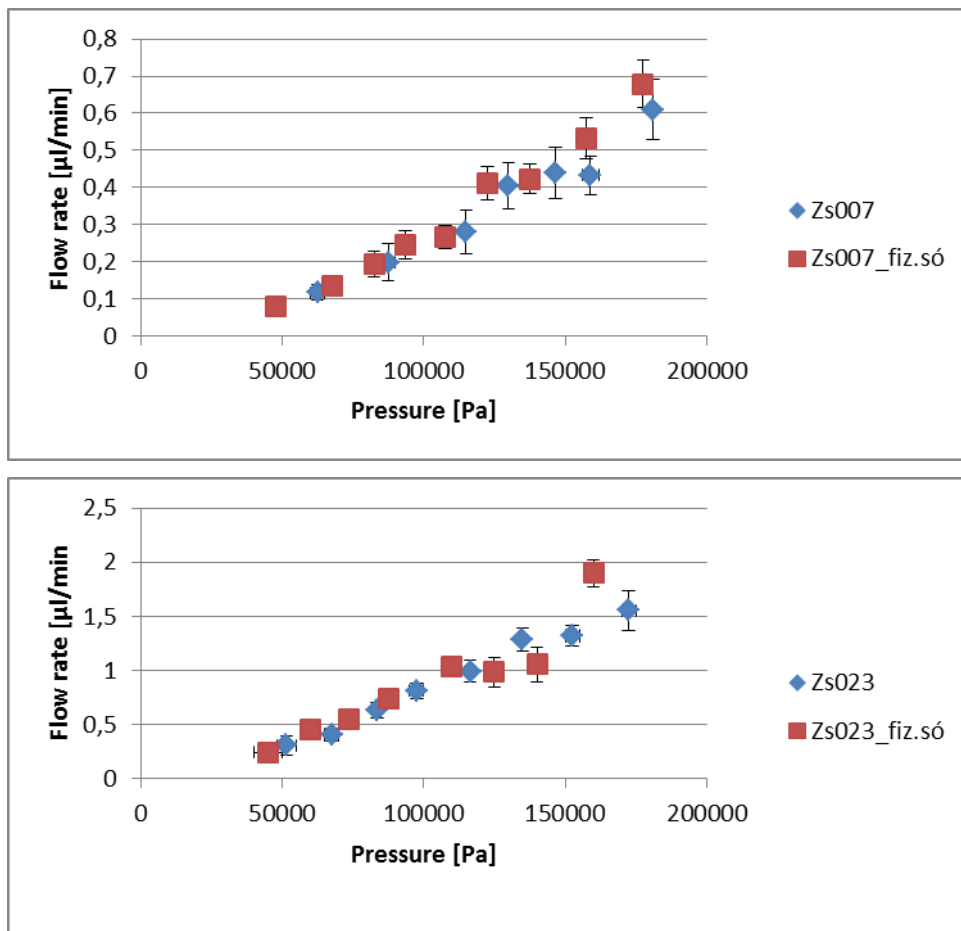
A BE szériás tűk fluidikus karakterisztikája. A sárga színnel jelzett darabok 1,5 cm hosszúak, a sötétkékek 3, a piros 5, míg a zöld színnel jelzettek 7 cm hosszúságúak.

Fiziológiás sóoldat

A méréseket **Ringer Teva**[®] oldattal, a desztillált vizet felhasznált mérésekkel azonos körülmények közt, azonos eszközökkel végeztük. Ez fiziológiás sóoldat a kutatásban és a klinikumban is gyakran előforduló anyag, melyben a szervezetbe kerülő hatóanyagokat feloldják.

Várakozásunknak megfelelően a mérési eredmények kivétel nélkül azt mutatták, hogy az átfolyási ráta fiziológiás sóoldat esetében nem különbözik a desztillált vízzel

mért eredményektől. A következő (15.) ábra két BE szériás tű mérési eredményeit mutatja. A kékkel jelzett pontok a desztillált víz felhasználásával, míg a pirossal jelzett pontok a fiziológiás sóoldat átfolyása során nyert eredményeket mutatják.



15. ábra

A desztillált víz (kék) és a fiziológiás sóoldat (piros) használatával nyert mérési eredmények, és hibaértékek.

A két anyag használata során mért értékek közt nincs szignifikáns különbség.

5.1.3 Számítási és mérési eredmények összehasonlítása

Ahhoz, hogy a mérési eredmények az elvi adatokkal összevethetőek legyenek, meg kell határozni a csatornák keresztmetszetének felületét, illetve kerületét, ezt a keresztmetszeti **SEM** képek alapján kíséreltem meg. Fontos megjegyezni, hogy a különböző szériákból származó egy-egy tű keresztmetszetét vizsgálták meg, egy-egy helyen, ami nem tekinthető reprezentatív mérésnek, hiszen a szárazmarások egy

szeleten belül is mutatnak nem elhanyagolható szórást. Azonban a nagyságrendi értékbecsléshez feltételezéseink szerint jól használható.

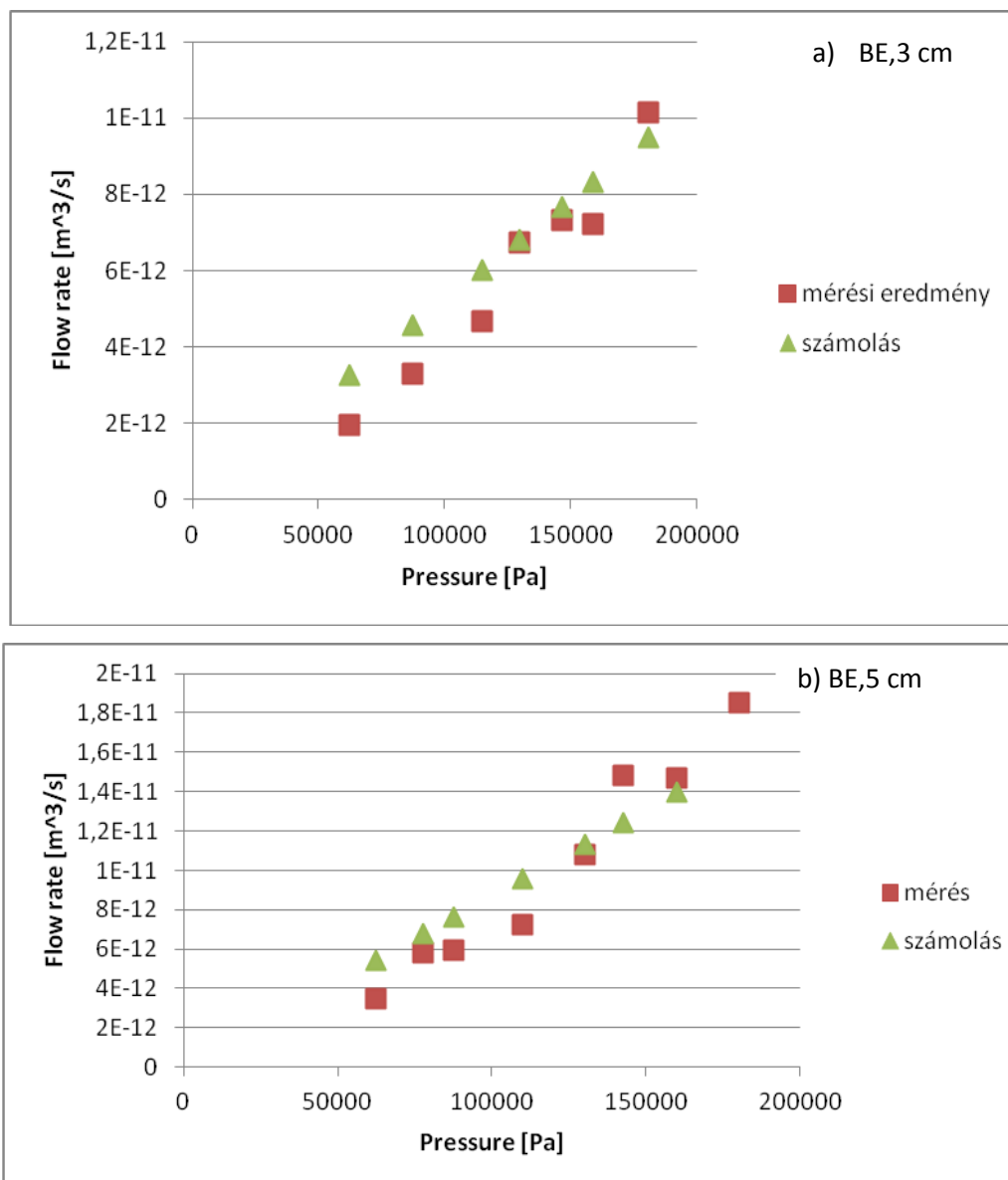
A csatorna paraméterek meghatározásához az **ImageJ** nevű szoftvert használtam.[32] Az adatok meghatározását két megközelítésben végeztem. Az egyik megközelítésben manuálisan határoztam meg a csatorna körvonalát a képen, a másik esetben pedig a programra hagytam ezt. A csatornák paramétereit az 2. táblázat mutatja, színtelen háttérrel a manuális, sárgával pedig a szoftveres számítás eredménye.

széria	Terület [nm ²]	Kerület [nm]
BL5_1	380674397,7	81782,38
BL5_1	314563827,4	119501,81
BE_4	314245954,1	85101,15
BE_4	247923468,4	91679,45

2. táblázat

A SEM képek alapján meghatározott csatornaparaméterek.
Sárga háttérrel a szoftverrel, fehérrel a kézzel megrajzolt
körvonal alapján történt számítások eredményei

Ezután a már megismert képletbe (4.1.1. fejezet, (1) képlet) a mérési pontoknak megfelelő nyomásértékeket, és a desztillált víz 30°C-n ismert viszkozitás értékét helyettesítettem, és az eredményeket a mérési eredményekkel összevettem. Az eredmények alapján a mérési és az elvi értékek közel egyeznek. A 16. ábrán a BE sorozat egy 3 cm és egy 5 cm hosszú darabjának mérési, és a kézzel rajzolt körvonal segítségével számított eredményei láthatóak.

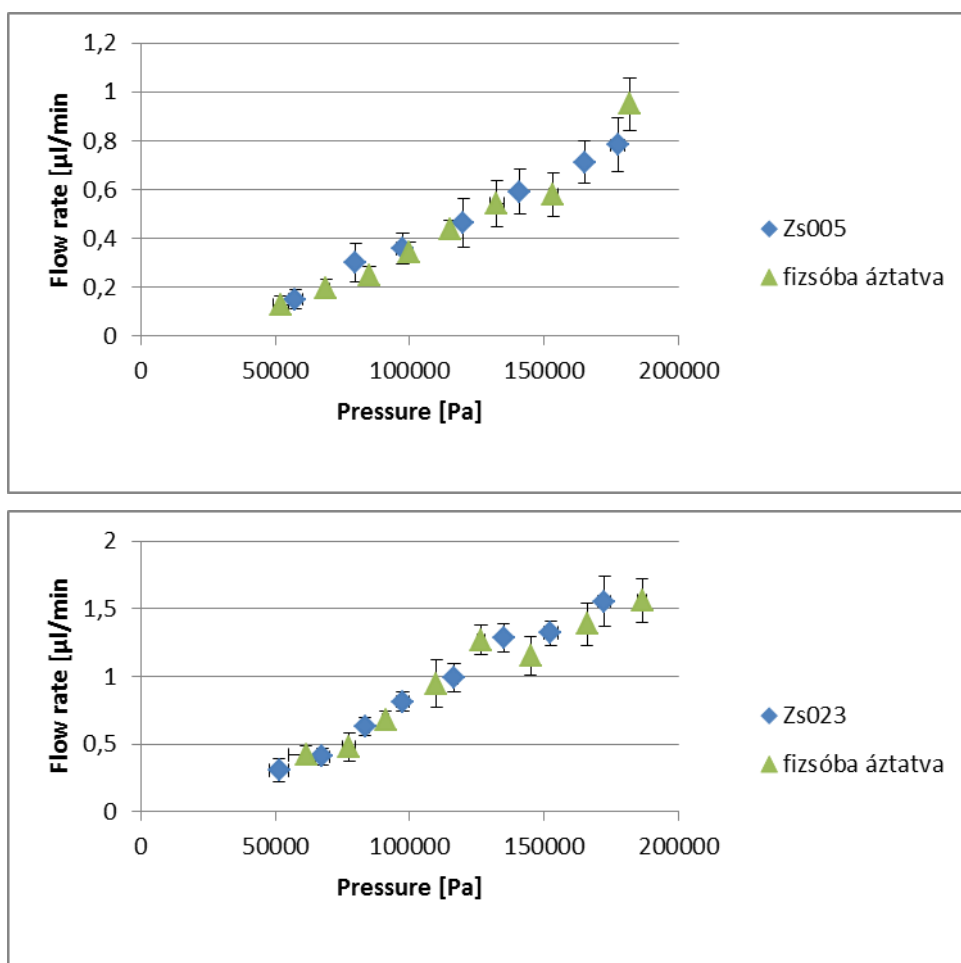


16. ábra
A számítások és a mérési eredmények összevetése BE
szériás eszközökön. a) 3 cm,
b) 5 cm

5.1.4 Beázási teszt

Hosszú távú használat szempontjából fontos a felmérni az eszköz folyadékkal való tartós érintkezésének hatását. Különösen fontos ez, ha a tűt krónikus implantációra használjuk majd, hiszen ekkor az eszköz a sejtközi állománnyal érintkezik majd tartósan. A beázási teszt során azt vizsgáljuk, hogy megváltozik-e a csatorna átfolyási ráta hosszabb folyadékban való áztatás után. E mérésekhez olyan eszközöket használtam, melyek fluidikus karakterisztikája már regisztrálva lett, majd ezeket két napra (egy hétvégére) fiziológiás sóoldatba áztattam. Ezután a korábban használt

módszerrel ismét felvettem a tűk fluidikus karakterisztikáját. A beáztatás előtt és után történt mérések közt nem volt megfigyelhető különbség, ahogy azt a 17. ábra is mutatja.



17. ábra

Fiziológias sóoldatba való áztatás hatása az eszközök fluidikus karakterisztikájára.

Az áztatásnak nem volt megfigyelhető hatása a karakterisztikára.

5.2 Elektromos viselkedés vizsgálata

5.2.1 Egyedi és párhuzamos csatornákon végzett mérések

Az impedancia mérés során a mérőeszköz segítségével az elektród, platina munkaelektroddal szemben mért ellenállása, és kapacitása állapítható meg. Az impedanciát ebből a két mérési eredményből számítjuk a 4.2.2. fejezetben ismertetett képlet alapján.

(A következőkben ismertetett egyedi és párhuzamos csatornákon végzett mérésekre vonatkozó mérési eredmény az általam vizsgálttól eltérő technológiával készült eszközről készült. Mivel ez a mérési technika az egyedi eszközök használhatóságát hivatott meghatározni, és a mérési eredményekből levonható közvetlen következtetések a technológiától függetlenek, így ezen eredményeim ismertetésének célja a mérés és kiértékelés általános menetének bemutatása.)

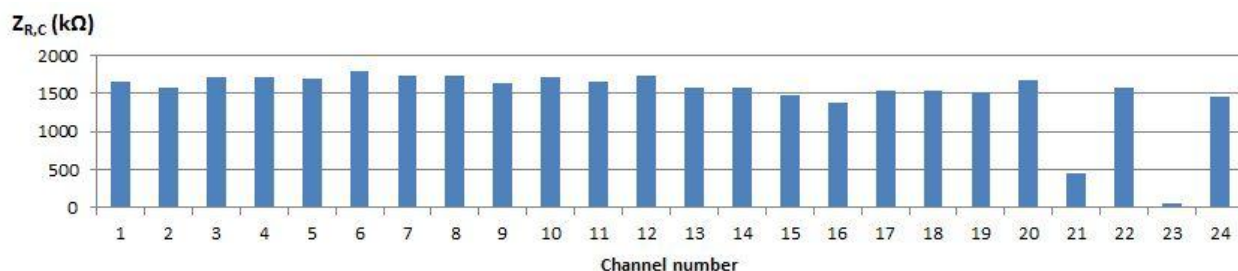
A 18. ábra egy mérés során készült mérési jegyzőkönyv részletét, az elektród 1-12. csatornáin mért eredményeket (R és C oszlopok), valamint ez ezek alapján számított impedancia értékeket mutatja.

Channel number	Serial			Z _{R,C} (kΩ)
	Resistance	Capacity		
	R (kΩ)	C (nF)	Z _C at 1 kHz (kΩ)	
1	545	0,102	1561	1654
2	512,6	0,107	1488	1574
3	543,1	0,098	1625	1713
4	535	0,098	1625	1711
5	541,8	0,099	1608	1697
6	595	0,094	1694	1795
7	562,8	0,097	1642	1735
8	557,5	0,097	1642	1734
9	461,8	0,101	1577	1643
10	506,7	0,097	1642	1718
11	468,1	0,1	1592	1660
12	529,4	0,096	1659	1741

18. ábra

Egycsatornás impedancia-méréshez tartozó értékek

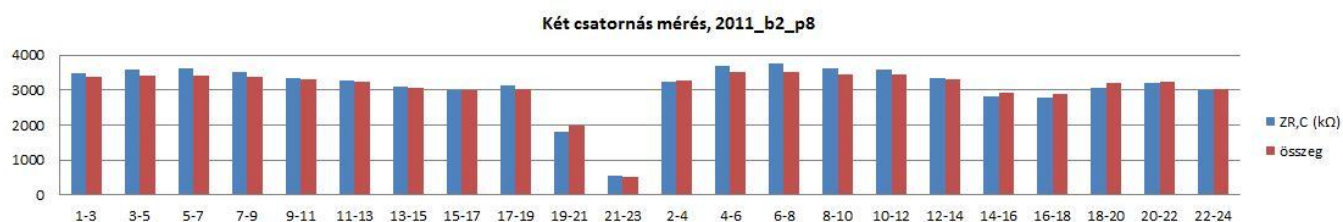
A következő (19.) ábra fenti táblázat eredményeit jeleníti meg, a tű 1-24 kontaktusainak impedanciáját mutatja a 4.2.2. fejezetben vázolt mérési körülmények mellett. Az elektród 1-20 illetve 22. és 23. csatornái a megfelelő impedancia értékek közt mozognak, míg a 21-es és 23-as csatornákon feltehetőleg valamilyen hiba lehet, ami következtében ezek a csatornák nem lesznek alkalmasak bioelektromos jelek elvezetésére.



19. ábra

Az egycsatornás impedancia mérés eredménye egy 24 csatornás kérgi elektródon. A 21-es és a 23-as csatorna esetében hibát figyelhetünk meg. Előfordulhat, hogy a vezetékeik rövidre vannak zárva, hiszen éppen egymás mellett futnak, vagy lehet, hogy a kontaktusfelületen van valamilyen hiba. A probléma eredetére a két csatornás mérés ad majd választ.

A 20. ábra az előzőekben egy csatornás elrendezésben mért kérgi tű két csatornás módszerrel megállapított eredményeit mutatja. Arra voltunk kíváncsiak, hogy a 21. és 23. csatorna vezetékei közt vajon rövidzár alakult-e ki, vagy valami más, a kontaktusra jellemző hiba fordult elő.



20. ábra

A kétszatornás impedancia mérés eredménye az előző kísérletben vizsgált elektródon. A 21-es és a 23-as csatorna vezetékei feltehetőleg nincsenek rövidre zárva, hanem a kontaktusokon történt valamilyen hiba.

A mérések eredményei közül a páratlan számozású csatornák kétsatornás elvezetéssel mért impedancia értékeit mutatja a 21. ábra. Ezek között találhatóak a jelen példában általunk kritikusnak talált értékek is (19-21, illetve 21-23 párok).

Channel number	Serial				
	Resistance	Capacity		Z_{R,C} (kΩ)	összeg
	R (kΩ)	C (nF)	Z _C at 1 kHz (kΩ)		
1-3	1054	0,048	3317	3481	3367
3-5	1188	0,047	3388	3590	3410
5-7	1236	0,0467	3410	3627	3433
7-9	1152	0,048	3317	3512	3378
9-11	1022	0,05	3185	3345	3303
11-13	977,8	0,051	3122	3272	3226
13-15	832	0,0535	2976	3090	3050
15-17	742,5	0,0549	2900	2994	3013
17-19	780,9	0,0527	3022	3121	3044
19-21	556	0,09325	1708	1796	1971
21-23	191,7	0,302	527	561	507

21. ábra

Kétsatornás impedancia-méréshez tartozó értékek

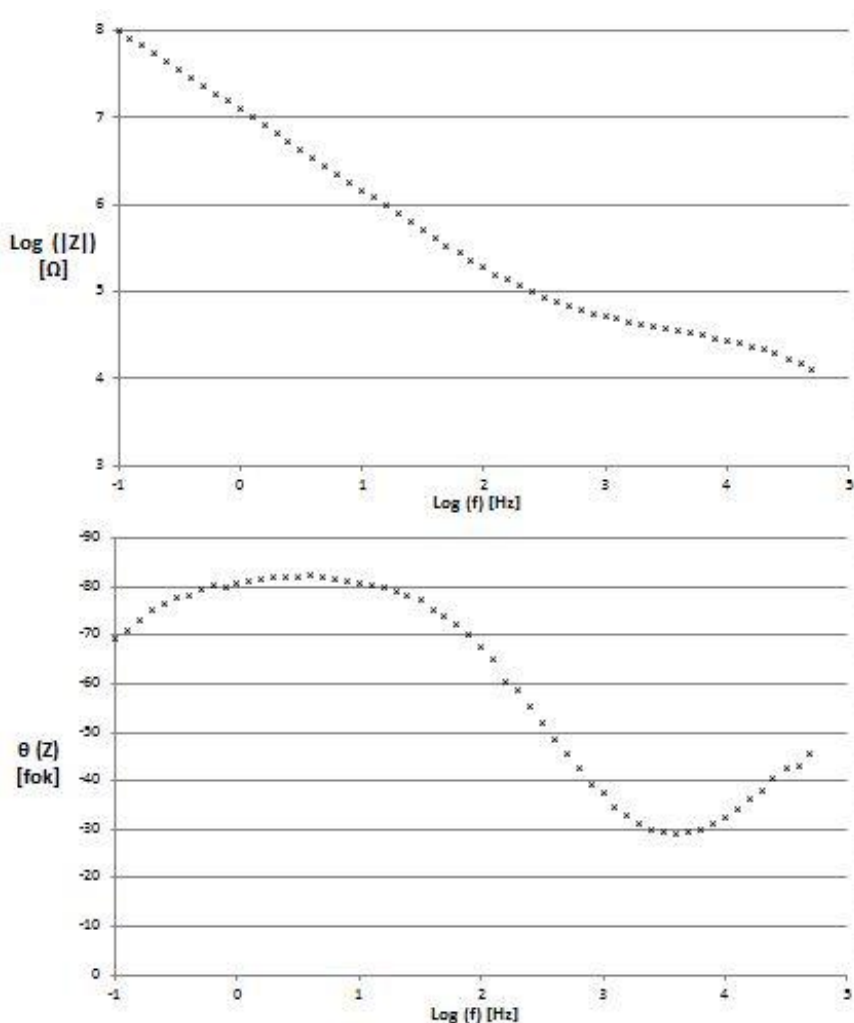
Az eredményből arra következtethetünk, hogy a 21. és 23. kontaktusok vezetékai közt nem rövidzárlat következett be, hiszen a köztük két csatornásan mért impedancia szignifikánsan közelebb áll a két mérési ponton külön mért eredmények összegéhez, mint a zérushoz. A kontaktusokon, vagy a hozzájuk tartozó vezetékvezetésen valószínűleg valamilyen hiba keletkezett. Az is ezt támasztja alá, hogy a 19. és 21. csatornák közt mért impedancia is sokkal kisebb, mint az átlagos eredmény, bár a 19. csatornán az egycsatornás mérés esetében semmilyen rendellenességet nem állapítottunk meg.

5.2.2 Elektrokémiai impedancia spektroszkópia eredményei

Az impedancia spektroszkópiás mérés eredményeit a 22. ábrán ábrázoltuk. A kimért, és ábrázolt karakterisztika jól közelíti a **Randles** féle modelltől elvárt képet, (ld: 8. ábra) így feltehetőleg helyesen választottunk modellt.

A mérés eredményei jól korrelálnak a szakirodalomban olvasott eredményekkel. A 23. ábrán négy hasonló elektród gyártását és karakterisztikáját leíró cikk [37, 39, 40, 41] eredményeit hasonlítottunk össze az **MFA**-ban tervezett és készített mélyagyi túvel mért értékekkel. Az ábrázolás reprezentatívvá tételéhez a cikkek eredményeit az általunk használt 50 µm x 50 µm-es kontaktusmérethez viszonyítottuk a következő módon:

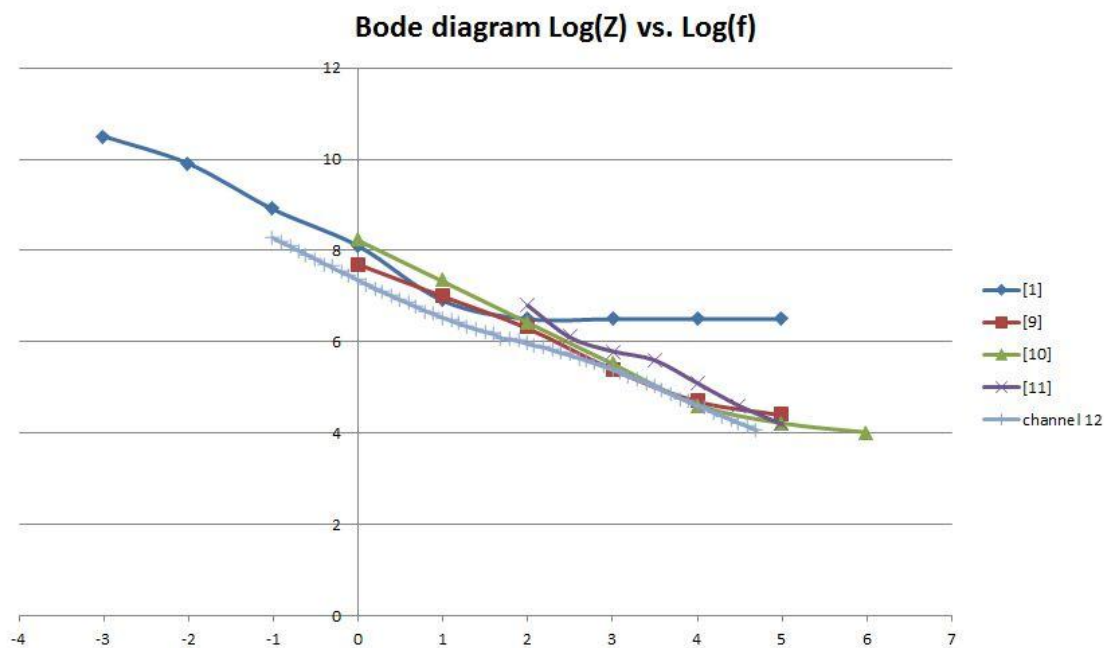
$$|Z| = |Z_{cikk}| \cdot \frac{A_{cikk}}{2500 \mu m^2}$$



22. ábra

EIS mérés eredménye mélyagyi tú egy csatornáján. Kimért eredményeink jól közelítik a Randles-féle modell Bode diagramját.

A cikkekben olvasottakhoz képes alacsonyabb impedancia értékek azzal magyarázhatóak, hogy a gyártás során használt platina felületi érdessége körülbelül 10-szerese egy sima platinafelületnek.



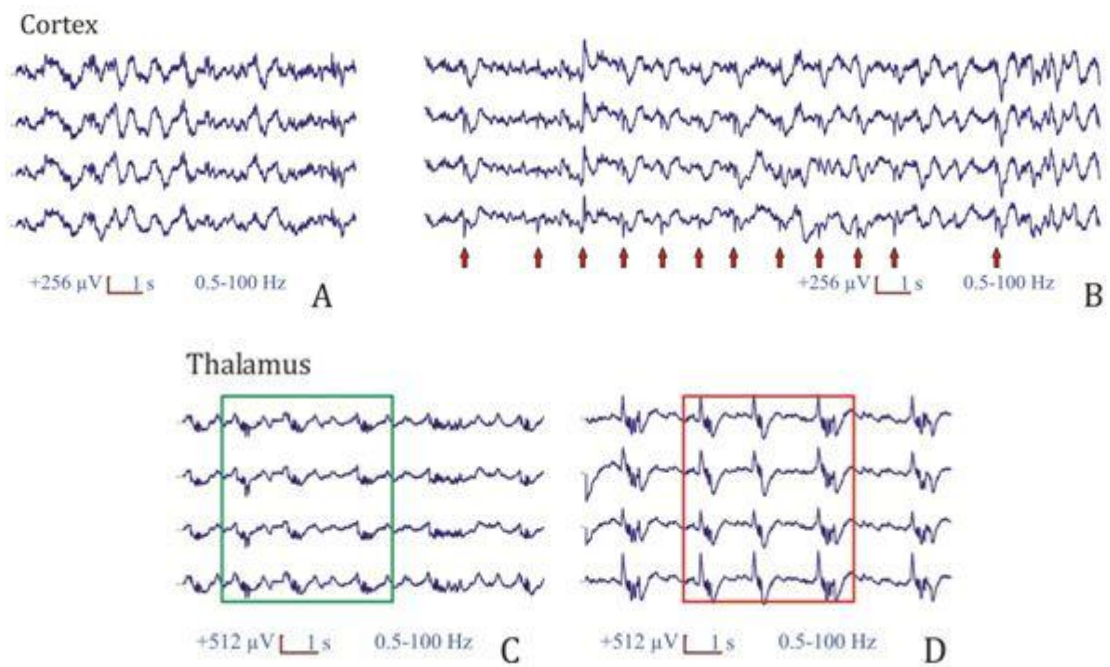
23. ábra

EIS mérés eredményének összehasonlítása négy hasonló elektróddal foglalkozó cikk adataival [34,39,40,41]. Az eredmények jól korrelálnak egymással, az általunk mért alacsonyabb impedancia értékek a platina felületi érdességének különbségével magyarázhatóak.

6. Az eszköz tesztelése in vivo környezetben

A monolitikusan integrált, kémiai *serkentésre*, vagy *gátlásra* alkalmas csatorna, és elektromos mérésre alkalmas elektród egységek együttes funkcióképességének validálására *in-vivo* tesztek szükségesek. Olyan kísérleti paraméterekre van szükség, melyekben adott egy meghatározott kémiai anyag, mely populációs, vagy egysejt-aktivitásra gyakorolt hatása a (rágcsáló) agy bizonyos régiójában ismert. Vagyis ha az adott anyagot megfelelő mennyiségben a megfelelő helyre juttatjuk a tübe integrált csatorna segítségével, ismerjük az elektróddal mérhető agyi aktivitás mintázat várható változását, és így a mért elektromos jelek alapján megmondható, hogy valóban az elvárt mintázat-változás következett-e be. Ebből következtethetünk arra, hogy eszközünk a terveknek megfelelően működik-e. Ilyen kísérleti paraméterek meghatározásához elsősorban részletes, a központi idegrendszer anatómiáját és élettanát illető ismeretek szükségesek. A legkézenfekvőbb megközelítés alapján használhatóak a neurotranszmitterek receptorainak *agonistái*, illetve *antagonistái*, előbbieket a receptort tartalmazó idegsejtek hatásának növelésére, utóbbiak annak gátlására.

A munkám során karakterizált eszközök in-vivo tesztelésére irányuló kísérletek a dolgozat elkészültét megelőző nyár folyamán kezdődtek meg, így egyelőre csupán egy kísérlet eredményét áll módomban ismertetni. A csatornával ellátott tük egyikének működését az **MFA** és a **KPI** munkatársai sikeres in-vivo kísérlettel validálták. A **Kognitív Idegtudományi és Pszichológiai Intézetben** végzett mérés során az eszközzel patkány neocortexébe, és thalamuszába injektáltak **PBS**-ben 10mM koncentrációban oldott Bicuculline metionid-ot. [42] Ez az anyag egy **GABA_A** receptor antagonist, és a szakirodalom szerint a *neocortexbe*, illetve a *thalamuszba* történő juttatása az idegsejtek nagymértékű serkentését, epilepszia-szerű rohamokat vált ki. [43] Az összesen körülbelül 100nl oldat szövetközé juttatása közben az agyi aktivitást négycsatornás elvezetéssel mérték. Az altatott állat agyából a folyadékinjektálás előtt elvezetett normál aktivitás az adagolt receptor-antagonista hatására a várt módon változott meg, és az aktivitásmintázatban megjelent a rohamszerű frekvencianövekedés. [42] A *Neocortexben* és a *Thalamuszban* végzett mérések eredményét a 24. ábra mutatja.



24. ábra

Az **MFA** és **PKI** munkatársai által altatott patkánycortexében (A, B) *thamusa*-ban (C, D) mért aktivitás mintázat változás **GABA_A** receptor antagonistá hatására.

Az A ábrán a *cortex* normál populációs aktivitása, míg a B ábrán a nyilakkal jelölve az anyag hatására megjelenő *spike*-ok láthatóak. A C ábrán a *thalamus* normál aktivitási mintázata mellett az ábra D részén a vörössel keretezett részen az anyag által kiváltott tüskék figyelhetők meg.

Forrás: [42]

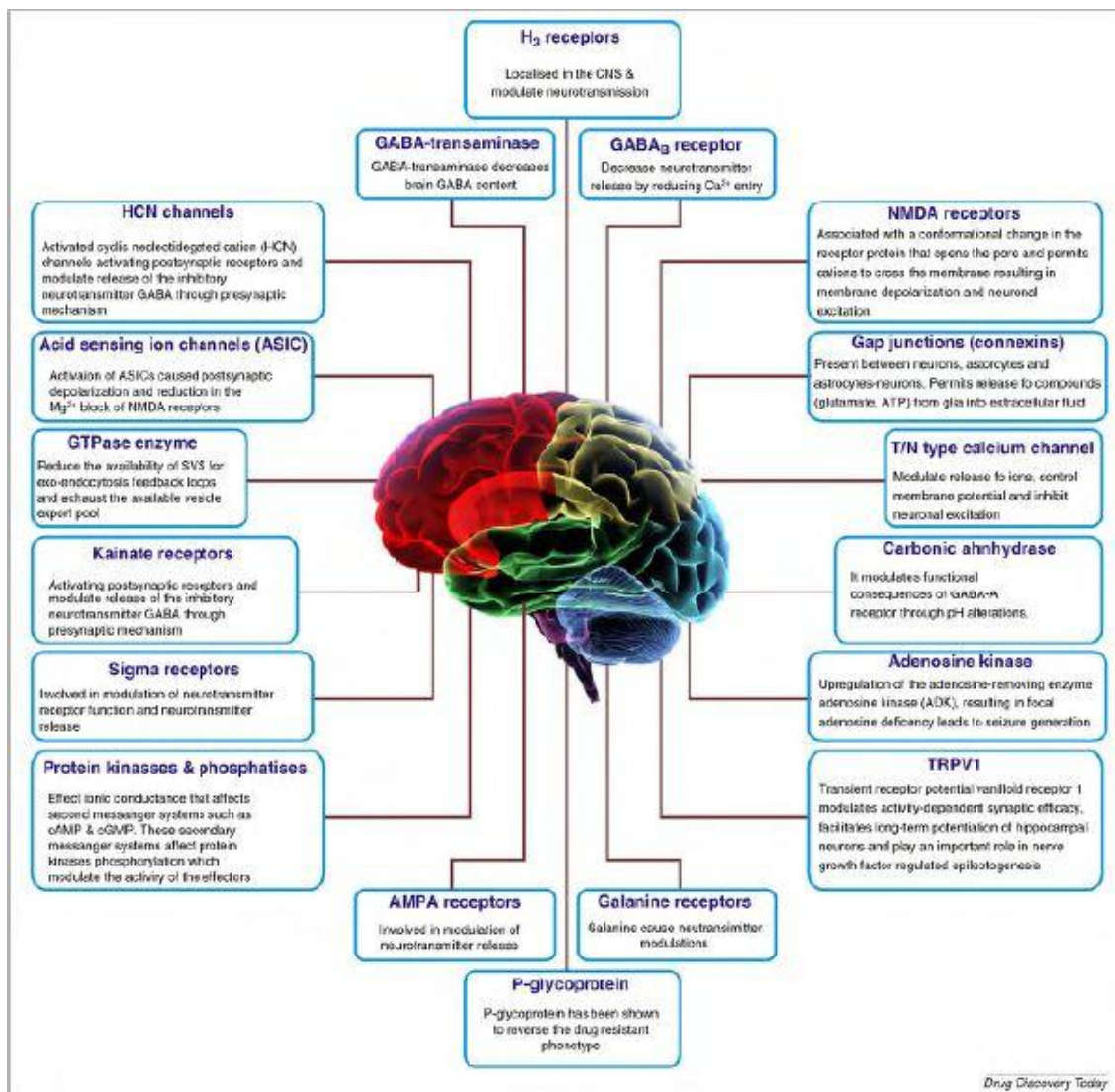
7. A felhasználás lehetőségei és jövőbeli tervek

Egy 1997-ben született cikk beszámol két az előző fejezetben említetthez hasonló – ám sikerességben attól elmaradó- kísérletről. [6] Az egyik esetében kain savat juttatnak tengerimalac középagyú struktúráiba (*superior colliculus*, és *inferior colliculus*), és az altatott állat középagyában a random kisülések számát vizsgálták az anyag beadása előtt, és utána bizonyos időközönként. 15µM-os **Ringer Teva** oldatban oldott 100 ms-ig tartó pulzusban 10psi= $145,04 \cdot 10^{-5}$ Pa nyomáson érkező, összesen 610 pl mennyiségű kain-sav *superior colliculusba* való injektálása után az injekció helyétől, 150 µm távolságban mérték az idegsejtek kisülési rátáját. Az az injekciót követően azonnal 180/perc-ről 50/perc-re csökkent, majd az injektálást követő tizenkettedik perc végéig fokozatosan 550/perc-re nőtt, és huszonegy perccel az anyagadagolás után állt vissza a normál 180/perc értékre. A cikkben publikált adatok azonban a szakirodalomban álló más adatokkal ellentmondásban állnak, melyek szerint a kain-sav az agyi aktivitás serkentő anyagnak volt meghatározva. [44] A másik kísérlet során közismerten gátló neurotranszmittert, **GABA**-t juttattak az altatott állatok központi idegrendszerébe. Ebben az esetben 1µM-os **Ringer** oldatban juttatták az *inferior colliculusba* az anyagot, és hatása az injektálás helyétől 2,5 µm-re 1 percen belül jelentkezett, a 235/perces kisülési rátáról az aktivitás 118/percre, majd 3 percen belül 7/percre esett vissza, mely eredmény megfelel a **GABA** hatásától elvártnak. A normál aktivitás 60 percen belül állt helyre.

Egy másik megközelítésben adott betegségben szenvedő, vagy a betegség fennállását modellező állapotban levő állatok központi idegrendszerébe juttatnak terápiás hatásúnak prediktált anyagokat, és figyelik azok kóros működésre (például rohamra) gyakorolt hatását. Ez a módszer már a hatóanyag kutatás felé mutat, és számtalan publikáció foglalkozik az témában elért eredményekkel. Ezzel kapcsolatban leggyakrabban az elektromos méréssel könnyen kimutatható epilepsziával és annak terápiájával foglalkoznak. Az epilepszia természetének megismerésével számos gyógyszer-célpont jelölhető meg a központi idegrendszerben, melyen keresztül feltehetően befolyásolható a rohamhoz vezető kóros működés. Feltételezve, hogy az epilepsziás rohamok az idegsejtek görcsös szinkron túlműködését jelentik, az idegsejtek kisüléséhez vezető úton befolyásolható azok működése. Indokolt lehet a beavatkozás

azokon a pontokon is, melyek az akciós potenciál utáni mihamarabbi újabb kisülésre serkenthetőséget lehetővé teszik. A lehetséges hatóanyag célpontokat a 25. ábra foglalja össze.

Az idegsejtek akciós potenciál generálása során az *ionotróp* glutamát receptorok aktiválása hatására pozitív ionok áramlanak a sejtbe, ami által depolarizáció jön létre, mely aktiválja a Na^+ csatornákat, és a depolarizációs hullám az axonon végigterjed. A depolarizáció által aktivált T-típusú kalcium csatornák pedig a neurotranszmitter kibocsátást stimulálják, amely által az információ a következő idegsejtnak átadódik. Ezt *hyperpolarizációs* fázis követi, mely során a káliumcsatornák nyílása, és GABA receptorok játszanak szerepet. Az epilepsziás roham tehát megakadályozható akár a pozitív ionok beáramlásának blokkolásával, vagyis a serkentő receptorok *antagonistáival*, akár a gátló receptorok *agonistáival*. [45] Ilyen hatóanyagok közül több már klinikai tesztelési fázisban áll, például serkentő receptor antagonista a *talampanel* vagy a *huperzine* hatóanyagnevű, és gátló agonisa a *ganaxolone*. [46] A neurotranszmitter kibocsátásának mechanizmusában szerepet játszó molekulák, például az ún. **SV2** (*synaptic vesicle protein*), vagy a **H₃** hisztamin receptor szabályozása szintén célravezető lehet, erre a célra fejlesztett hatóanyagok (pl. **SV2**: *seletracetam*, **H₃**: *tiprolisant*) szintén a klinikai fázisban vannak. [45] További beavatkozásra lehetőségként kínálkozó pont a neurotranszmitter kibocsátás utáni „*uptake*”, mely lehetővé teszi a vezikulák újrafelhasználását az idegsejtek számára. Ezt akadályozva, vagy késeltetve szintén gátolható az újabb akciós potenciál létrejötte. [45]



Drug Discovery Today

25. ábra

Az epilepsziás rohamok megakadályozására alkalmas
hatóanyag célpontok

Forrás: [45]

Az alkalmas hatóanyag megfelelő helyre történő juttatásán kívül fontos feladat az epilepszia kezelésében a roham-előrejelzés is, mely az agyi elektromos jelek mérésével és *real-time* feldolgozásával érhető el. Ha a rohamok közeledtével az epilepsziás görcs előre jelezhető, a gyógyszeradagolás időben megkezdhető, és ezzel a roham megakadályozható, vagy enyhíthető.

További felhasználási lehetőséget kínálhatnak mindazon betegségek terápiás eljárásai, melyek esetében a *deep brain* stimulációt, mint az gyógyszeres kezelések kiegészítőjét, sikeresen alkalmazták. E kórképek esetében a különböző *bazális ganglionok* elektromos stimulációja a gyógyszeres terápia hatékony kiegészítőjének

bizonyult.[1] Ezért ezekben az esetekben szintén alkalmazható volna egy olyan rendszer, melyben egyszerre található meg az elektromos serkentésre, és a gyógyszeradagolásra alkalmas egység.

Az elektród kontaktusokra elhelyezett alkalmas enzimekkel az eszköz *mikrobioszenzorként* is funkcionálhat, mely számos-nem csak agyi- élettani folyamat, állapot monitorozására alkalmas lehet. [47] Intenzíven kutatott terület például az inzulinadagolás megoldása a teljes mérő, kiértékelő, adagoló rendszer testbe történő integrálásával, mellyel elkerülhető lenne a cukorbetegség számára a kellemetlen, napi többszöri szúrással járó önmonitorozás.

Mivel a szilícium alapú *mikrotechnológia* az eszközön, a fluidikus csatornán, és a mérőelektródokon kívül áramkörök integrálását is lehetővé teszi, akár alkalmas lehet olyan *closed-loop* eszközök fejlesztésére is, melyek képesek az idegrendszer jeleinek méréséből a megfelelő számításokat elvégezve beállítani az adagolandó gyógyszer mennyiséget, vagy meghatározni az elektromos stimuláció szükségességét.

Az ilyen zárt rendszerek kifejlesztése azonban a technológiai háttérén kívül még számos kutatást igényel. Az epilepszia, és más idegrendszeri betegség terápiája esetében is fontos kérdés az agyban megcélzandó terület meghatározása, ami mély agyanatómiai ismereteket kíván meg. Az epilepszia esetében továbbá alapvető kérdést vet fel a roham-előrejelzés, mely jelenleg még nem megoldott probléma, és a biológiai háttértudáson kívül nagy számítási teljesítményű gépeket is igényel. Ezeken a területeken számos kutatás folyik napjainkban is, és eszközünk talán ezek előrehaladtában is a kutatók segítségére lehet.

A továbbiakban és a karakterizáció pontosítása érdekében a munkát a fluidikus csatorna keresztmetszetének pontosabb megállapításával – **COMSOL** szimulációs programcsomag segítségével, végeelem analízissel- fogom folytatni. A gyártási lépések modellezése a **SILVACO** technológiai szoftverrel szintén tovább pontosítja ismereteinket a már csatornák keresztmetszetéről. Szeretnénk továbbá feltérképezni a hidrodinamikai ellenállásnak a csatornák geometriai paramétereire való érzékenységet, mely által számításaink hibái pontosabban meghatározhatóak lennének. Az elektromos karakterizáció kiegészítéseként beázási tesztek fogunk végezni, mellyel a különböző összeállítású szigetelőrétegek funkcionalitását is felmérhetjük. A tervek közt továbbá *in-vivo* kísérletek szerepelnek a gyógyszeradagolás lokalitásának meghatározására.

8. Összefoglalás

A dolgozat a Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpontjának Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézetében tervezett és előállított, fluidikus csatornával és elektromos kontaktusokkal is ellátott agyi tűt vizsgálta. A szakirodalom megismerése után az eszközök fluidikus és elektromos karakterizációjával foglalkoztam.

A fluidikus mérések eredménye azt mutatja, hogy a csatornában a folyadékáramlás a várakozásnak megfelelően lamináris. A nyomás-áramlás karakterisztika különböző hosszúságú, azonos keresztmetszetű tűkön felvéve a hossz növekedésével növekvő meredekséget mutat, mely eredményre az elvi, számított értékek is illeszkednek. Fiziológias sóoldatban való áztatás után beázás hatása nem volt megfigyelhető.

Az impedancia mérés eredményeiből megállapítható, hogy az eszközök alkalmasak agyi jelek elvezetésére, illetve felhasználás előtt egyszerű, és gyors méréssel megállapítható, hogy melyek azok a kontaktusok, melyeken jeleket elvezetni nem érdemes, ezzel elkerülhető a hibás adatok felvétele. Az elektrokémiai impedancia spektroszkópiás mérések eredménye alapján az eszközök karakterisztikája illeszkedik az ismert Randles-féle modellre, és az irodalomból vizsgált hasonló eszközök karakterisztikájával összehasonlítva a megfigyelhető különbségeket az általam vizsgált elektródok gyártási eljárása indokolja.

A csatornával ellátott elektródokat a Kognitív Idegtudományi és Pszichológiai Intézetben sikeresen alkalmazták *in-vivo* tesztelésben. Patkány *thalamusába*, illetve *neocortexébe* **GABA_A** receptor antagonistá anyag adagolásával a várt agyi populáció hiperaktivitás, rohamszerű mintázat volt megfigyelhető.

A fluidikus csatornával és elektromos kontaktusokkal ellátott elektród alkalmas az agyszövet kémiai és elektromos ingerlésére, illetve az agy elektromos jeleinek mérésére, valamint a technológia lehetővé teszi az eszközre áramkörök integrálását is. Így hasznos eszköz lehet például egyes idegrendszeri elváltozások gyógyszeradagolással, illetve mélyagyi stimulációval kombinált terápiájának megoldásában.

9. Irodalomjegyzék

- [1] **Deep Brain Stimulation**, J.S. Perlmutter, J.W. Mink, *Annual Review of Neuroscience* 29 p. 229-57, 2006.
- [2] **Understanding cell death in Parkinson's disease**, Jenner P, Olanow CW, *Annals of neurology* [1998, 44(3 Suppl 1):S72-84]
- [3] **Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder**, Gaetano Di Chiara, *European Journal of Pharmacology*, Volume 375, Issues 1–3, 30 June 1999, Pages 13–30
- [4] **Noninvasive and localized neuronal delivery using short ultrasonic pulses and microbubbles**, James J. Choi, Kirsten Selert, Fotios Vlachos, Anna Wong, and Elisa E. Konofagou, *PNAS* October 4, 2011 vol. 108 no. 40 16539-16544
- [5] **Simultaneous single-cell recording and microdialysis within the same brain site in freely behaving rats—a novel neurobiological method**, Ludvig, N., Potter, P.E., Fox, S.E., *J. Neuroscience Methods* 55 (1), 31–40., 1994.
- [6] **A Multichannel Neural Probe for Selective Chemical Delivery at the Cellular Level**, Jingkuang Chen, Kensall D. Wise, Jamille F. Hetke, and Sanford C. Bledsoe, Jr., *IEEE Transactions On Biomedical Engineering*, Vol. 44. No. 8, August, 1997.
- [7] **United States Patent** No. 5989445, Wise et al., 1999. Nov. 23.
- [8] **Silicon-Processed Microneedles**, Liwei Lin and Albert P. Pisano, *IEEE Journal Of Micro Electro Mechanical Systems*, Vol. 8, No.1, March 1999.
- [9] **Microfabricated Polysilicon Microneedles for Minimally Invasive Biomedical Devices**, Jeffrey D. Zahn, Neil H. Talbot, Dorian Liepmann, and Albert P. Pisano, *Biomedical Microdevices* 2:4, 295-303, 2000.
- [10] **A shuttered probe with in-line flowmeters for chronic in-vivo drug delivery**, D. Papageorgiou, S. C. Bledsoe, M. Gulari, J. F. Hetke, D. J. Anderson, and K. D. Wise, *Micro Electro Mechanical Systems*, 2001. MEMS 2001. The 14th IEEE International Conference on 21-25 Jan. 2001.
- [11] **A Shuttered Neural Probe With On-Chip Flowmeters for Chronic In Vivo Drug Delivery**, Demetrios P. Papageorgiou, Susan E. Shore, Sanford C. Bledsoe, Jr., and Kensall D. Wise, *IEEE Journal Of Micro Electro Mechanical Systems*, Vol. 15, No.4, August 2006.
- [12] **Micromachined needles and lancets with design adjustable bevel angles**, Douglas Sparks and Timothy Hubbard, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 14, 1230–1233, 2004.

- [13] **In-plane single-crystal-silicon microneedles for minimally invasive microfluid systems**, Seung-Joon Paik, Sangwon Byuna, Jung-Min Lim, Yonghwa Park, Ahra Lee, Seok Chung, Junkeun Chang, Kukjin Chun, Dongil “Dan” Cho, *Sensors and Actuators A* 114, 276–284, 2004.
- [14] **Model Neural Prostheses With Integrated Microfluidics: A Potential Intervention Strategy for Controlling Reactive Cell and Tissue Responses**, Scott T. Retterer, Karen L. Smith, Christopher S. Bjornsson, Keith B. Neeves, Andrew J. H. Spence, James N. Turner, William Shain, and Michael S. Isaacson, *IEEE Transactions On Biomedical Engineering*, Vol. 51. No.11, November, 2004.
- [15] **Fabrication and characterization of microfluidic probes for convection enhanced drug delivery**, K.B. Neeves, C.T. Lo, C.P. Foley, W.M. Saltzman, W.L. Olbricht, *Journal of Controlled Release*, 111, 252–262, 2007.
- [16] **Constant pressure fluid infusion into rat neocortex from implantable microfluidic devices**, S T Retterer, K L Smith, C S Bjornsson, J N Turner, M S Isaacson and W Shain, *Journal of Neural Engineering*, 5 (2008) 385–391
- [17] **A versatile surface channel concept for microfluidic applications**, M Dijkstra, M J de Boer, J W Berenschot, T S J Lammerink, R J Wiegerink and M Elwenspoek, *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 17, 1971–1977, 2007.
- [18] **Self-sealed circular channels for micro-fluidics**, Ajay Agarwal, Nagarajan Ranganathan, Wee-Liat Ong, Kum Cheong Tang, Levent Yobas, *Sensors and Actuators*, A 142, 80–87, 2008.
- [19] **Development of Double-sided Si Neural Probe with Microfluidic Channels Using Wafer Direct Bonding Technique**, R. Kobayashi, S. Kanno, S. Lee, T. Fukushima, K. Sakamoto, Y. Matsuzaka, N. Katayama, H. Mushiake, M. Koyanagi, and T. Tanaka, *Proceedings of the 4th International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering*, Antalya, Turkey, April 29 - May 2, 2009
- [20] **Flexible polyimide probes with microelectrodes and embedded microfluidic channels for simultaneous drug delivery and multi-channel monitoring of bioelectric activity**, S. Metz, A. Bertsch, D. Bertrand, Ph. Renaud, *Biosensors and Bioelectronics* 19 (2004) 1309–1318
- [21] **SU-8 microprobe with microelectrodes for monitoring electrical impedance in living tissues**, M. Tijero, G. Gabriel, J. Caro, A. Altuna, R. Hernández, R. Villa, J. Berganzo, F.J. Blanco, R. Salido, L.J. Fernández, *Biosensors and Bioelectronics*, 24 (2009) 2410–2416
- [22] **Simultaneous neurochemical stimulation and recording using an assembly of biosensor silicon microprobes and SU-8 microinjectors**, O. Frey, T. Holtzman, R.M. McNamara, D.E.H. Theobald, P.D. van der Wal, N.F. de Rooij, J.W. Dalley, M. Koudelka-Hep, *Sensors and Actuators B*, 154 (2011) 96–105
- [23] **Silicon microsystems for neuroscience and neural prostheses**, Wise, K.D., *Engineering in Medicine and Biology Magazine, IEEE*, vol. 24 (5), pp. 22-29, (2005)

- [24] **Micromachining of Buried Micro Channels in Silicon**, Meint J. de Boer, R. Willem Tjerkstra, J. W. (Erwin) Berenschot, Henri V. Jansen, G. J. Burger, J. G. E. (Han) Gardeniers, Miko Elwenspoek, and Albert van den Berg, *IEEE Journal Of Micro Electro Mechanical Systems*, Vol. 9, No.1, March 2000.
- [25] **Benyújtott magyar szabadalom**, P1100170, Fekete Zoltán, Pongrácz Anita, Szendrey Ádám, Fürjes Péter, Battistig Gábor
- [26] **A novel multisite silicon probe for high quality laminar neural recordings**, László Grand, Anita Pongrácz, Éva Vázsonyi, Gergely Márton, Dorottya Gubán, Richárd Fiáth, Bálint Péter Kerekes, György Karmos, István Ulbert, Gábor Battistig, *Sensors and Actuators A* 166 (2011) 14–21
- [27] <http://www.mfa.kfki.hu/hu/micro>
- [28] mems.mfa.kfki.hu
- [29] **Improved process flow for buried channel fabrication in silicon**, Z. Fekete, A. Pongrácz, P. Fürjes, G. Battistig, *Microsystem Technologies*, March 2012, Volume 18, Issue 3, pp 353-358
- [30] **Deep-brain silicon multielectrodes for simultaneous neural recording and drug delivery**, A. Pongrácz, Z. Fekete, G. Marton, R. Fiath, P. Fürjes, I. Ulbert, G. Battistig, *Procedia Engineering*, Volume 47, 2012, Pages 281–284, 26th European Conference on Solid-State Transducers, EUROSENSOR 2012
- [31] **Theoretical Microfluidics**, Henrik Bruus, *Oxford University Press*, 2008. ISBN 978-0-19-923508-7
- [32] <http://rsb.info.nih.gov/ij/>
- [33] **Affinitás bioérzékelők elektrokémiai impedancia spektroszkópiai jelkiolvasási protokolljai**, Ender Ferenc, *BME-VIK, Elektronikai Technológia Tanszék*
- [34] **Impedance Characterization and Modeling of Electrodes for Biomedical Applications**, Wendy Franks, Iwan Schenker, Patrik Schmutz, and Andreas Hierlemann, *Transactions On Biomedical Engineering*, Vol. 52, No. 7, July 2005
- [35] **An Integrated-Circuit Approach to Extracellular Microelectrodes**, Kensall D. Wise, James B. Angell and Arnold Starr, *Transactions On Biomedical Engineering*, Vol. BME-17, No.3, July 1970
- [36] **Érzékelők és beavatkozók**, Hahn E., Harsányi G., Lepsényi I. és Mizsei J. (szerk: Harsányi, G.), BME Villamosmérnöki és Informatikai Kar, 1999. (55048)
- [37] **Agyi- és idegszövetvizsgálatokra használt mikroelektródák**, Ulbert István, Bodócs László, Tóth András, *Finommechanika-mikrotechnológia*, 27.évf., pp.360-366
- [38] **EEG Technology**, Second edition, R. Cooper, J. W. Osselton, J.C. Shaw, *Butterworth & Co. Ltd*, 1974. (ISBN: 0 407 16001 9)

- [39] **Electrodeposited polypyrrole/carbon nanotubes composite films electrodes for neural interfaces**, Yi Lu, Tao Li, Xueqing Zhao, Mei Li, Yuliang Cao, Hanxi Yang, Yanwen Y. Duan, *Biomaterials*, 31 (2010) 5169e5181
- [40] **Microprobe Array with Low Impedance Electrodes and Highly Flexible Polyimide Cables for Acute Neural Recording**, S. Kisban, S. Herwik, K. Seidl, B. Rubehn, A. Jezzini, M. A. Umiltà, L. Fogassi, T. Stieglitz, O. Paul and P. Ruther, *Proceedings of the 29th Annual International Conference of the IEEE EMBS Cité Internationale*, Lyon, France August 23-26, 2007.
- [41] **Electrochemical Properties of Platinum Electrodes in Vitro: Comparison of Six Different Surface Qualities**, Martin Schuettler, *Proceedings of the 29th Annual International Conference of the IEEE EMBS Cité Internationale*, Lyon, France August 23-26, 2007.
- [42] **Deep-brain silicon multielectrodes for simultaneous neural recording and drug delivery**, A. Pongrácz, Z. Fekete, G. Marton, Zs. Berces, P.Fürjes, I. Ulbert, G. Battistig, Submitted: *Sensors and Actuators A*
- [43] **GABA, bicuculline and central inhibition**, Curtis, D.R., Duggan, A.W., Felix, D., Johnston, G.A.R., 1970.. *Nature* 226, 1222– 1224.
- [44] **Functional pharmacology of inferior colliculus neurons**, C. L. Faingold, G. Gehlbach, and D. M. Caspary, *Neurobiology of Hearing: The Central Auditory System*, R. A. Altschuler Ed. New York: Raven, 1991.
- [45] **Insights into the novel three 'D's of epilepsy treatment: drugs, delivery systems and devices**, Pathan SA, Jain GK, Akhter S, Vohora D, Ahmad FJ, Khar RK., *Drug Discov Today*. Sep;15(17-18):717-32. 2010
- [46] **Ionotropic glutamate receptors and CNS disorders** , Bowie, D. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* 7, 129–143, (2008).
- [47] **Nanostructured sensors for in-vivo neurochemical recording**, Silpa, Nagari, (2007). *Masters Theses*. Paper 487. http://uknowledge.uky.edu/gradschool_theses/487

10. Köszönetnyilvánítás

Ezúton is szeretnék köszönetet mondani konzulenseimnek, különösen pedig Pongrácz Anitának, hogy türelmesen, és nagy gonddal segítette munkámat, és a dolgozat alakulását. Köszönöm Márton Gergelynek az elektromos karakterizáció alapjainak elsajátításában, és a mérések kivitelezésében nyújtott segítségét, Fekete Zoltánnak hasznos szakmai tanácsait és a SEM képeket, valamint mindkettőjük segítségét a dolgozat alakításában!

Köszönet illeti a BME Elektronikai Technológia Tanszékének munkatársait, amiért eszközeiket rendelkezésünkre bocsátották, és segítséget nyújtottak a mérések során!

Köszönöm továbbá az MTA-TTK-MFA minden segítőkész dolgozójának, hogy munkám során bármilyen kérdést, kérést illetőleg segítségemre voltak!

11. Ábrák jegyzéke

1. ábra: Bordázott maszk alapján mart csatorna., Forrás: [6].....	8
2. ábra: Életképek a MEMS laborból, Forrás:[26].....	16
3. ábra: Az eltemetett csatorna kialakításának lépései., Forrás:[25].....	17
4. ábra: A szilícium felületi megmunkálása az eltemetett csatorna kialakítása után., Forrás: [26].....	18
5. ábra: Két különféle csatorna keresztmetszeti képe 6000szeres nagyításban....	19
6. ábra: Lamináris áramlás, Forrás:[29].....	21
7. ábra: Fluidikus karakterizáció kísérleti elrendezés. Forrás:[42].....	23
8. ábra: A Zs005 jelzésű eszközhöz tartozó mérési eredmények, és számítások táblázata.....	24
9. ábra: A Randles-féle modellre jellemző Bode diagram., Forrás:[31].....	25
10. ábra: Az elektród felületén kialakuló kettősréteg.,Forrás: [33].....	26
11. ábra: a. egycsatornás, b. kétcsatornás impedancia-mérési elrendezések.....	27
12. ábra: A Zs005 jelzésű tű mérési eredményeihez számított Reynolds számok...	30
13. ábra: A BL5 szériás tűk fluidikus karakterisztikája.....	31
14. ábra: A BE szériás tűk fluidikus karakterisztikája.....	32
15. ábra: A desztillált víz és a fiziológiás sóoldat használatával nyert mérési eredmények, és hibaértékek.....	33
16. ábra: Számítások és mérési eredmények összevetése BE szériás eszközökön...	35
17. ábra: Fiziológiás sóoldatba való áztatás hatása az eszközök fluidikus karakterisztikájára.....	36
18. ábra: Egycsatornás impedancia-méréshez tartozó értékek.....	37
19. ábra: Az egycsatornás impedancia mérés eredménye.....	38
20. ábra: A kétcsatornás impedancia mérés eredménye.....	38
21. ábra: Kétcsatornás impedancia-méréshez tartozó értékek.....	39
22. ábra: EIS mérés eredménye mélyagyi tű egy csatornáján.....	40

23. ábra: EIS mérés eredményének összehasonlítása négy hasonló elektróddal foglalkozó cikk adataival [32,37,38,39].....	41
24. ábra: Az MFA és PKI munkatársai által altatott patkány <i>thamausában</i> mért aktivitás mintázat változás GABA _A receptor antagonista hatására.....	43
25. ábra: Az epilepsziás rohamok megakadályozására alkalmas hatóanyag célpontok., Forrás: [43].....	46

12. Rövidítések jegyzéke

A/D	Analog/Digital
BCT	Buried Channel Technology
CMOS	Complementary Metal-Oxide Semiconductor
DRIE	Deep Reactive-Ion Etching
EEG	Electroencephalography
EIS	Electrochemical Impedance Spectroscopy
GABA	Gamma Aminobutyric Acid
H ₃	Histamine receptor No.3.
LFP	Local Field Potential
LPCVD	Low Pressure Chemical Vapor Deposition
MTA-TTK-KPI	Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpont Kognitív Idegtudományi és Pszichológiai Intézet
MTA-TTK-MFA	Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpont Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézet
MUA	Multi Unit Activity
PDMS	Polydimethylsiloxane
PPKE	Pázmány Péter Katolikus Egyetem
SEM	Scanning Electron Microscope
SUA	Single Unit Activity
SV2	Synaptic Vesicle protein No.2.
UV	Ultraviolet