

# **Polimer alapú mikrostruktúrák vizsgálata in vitro és in vivo alkalmazásokban**



**Szabó Ágnes**

*PhD értekezés tézisei*

Témavezető: Dr. Fekete Zoltán

Pázmány Péter Katolikus Egyetem  
Információs Technológiai és Bionikai Kar  
Roska Tamás Műszaki és Természettudományi Doktori Iskola

Budapest, 2022

# 1. Bevezetés

Az idegi interfészek az alapkutatásban és a klinikai gyakorlatban is használt eszközök, melyek segítik az agyi mechanizmusok megértését és kóros elváltozások azonosítását, mely klinikai diagnózisok indikátora lehet. Ezek az interfészek lehetnek érzékelők, például elektrofiziológiai jelelvezetők, vagy beavatkozók, például a klinikumban is használt agyi pacemaker. Mindkét esetben az egyik kulcskérdés, hogy miként tudjuk enyhíteni a környező szövetek gyulladással járó választ, amely rontja az implantátumok hosszú távú működését. A neurális implantátumok fejlesztése során fontos szempont, hogy minimálisan legyen invazív az eljárás. A kutatások többsége egy sokoldalú, puha és rugalmas anyag használatát javasolja, ami nemcsak az agyszövet immunválaszt csökkenti hanem több képzőanyag kombinációját is lehetővé teszi. Ezen megoldások többnyire polimer alapú eszközök gyártását jelentik. A MEMS technológiával előállítható polimer eszközök használata népszerű a biokompatibilitásuk, a nagy litográfiaival történő egyszerű gyártás, valamint a műanyagokban elérhető olcsó és gyors prototípuskészítési eljárások miatt. [1].

Egy idegen testtel való kölcsönhatás, mint például egy elektróda behelyezése, reaktív gliózisnak nevezett komplex választ vált ki. A sejtosztódással és sejt-vándorlással járó összetett folyamat glióhéj képződését okozza, amely elválasztja a sérült szövetet az éptől. Ennek a glióhéjnak a kialakulásában fontos szerepet játszanak az asztrocita sejtek

[2]. Hisztológiai vizsgálatok alapján a gyulladásoos szöveti válasz hatékonyan csökkenthető ha az eszköz anyagának elasztikus tulajdonságai közelítik a szövetre jellemző értéket [3]. Számos különböző anyagkombinációt publikáltak, illetve a beültethető anyagokhoz leggyakrabban használt polimerekről is több áttekintő cikk készült [4, 5, 6]. Ez az értekezés a leggyakrabban használt anyagok közül egy SU-8 [7] és egy Parylene HT [8] alapú alkalmazást mutat be.

A szubsztrát topográfiájának megtervezése javíthatja a sejt-felszín kölcsönhatást és segíti a sejt működés szabályozását [9, 10]. A szubsztrátum ezen topográfiai módosítása a mikrokörnyezetnek a sejtadhézióban, az irányításban és a szerkezeti vázként betöltött döntő szerepén alapul [11]. Ezen jelenségek alapján az első téziscsoport az asztrociták és a topográfia ilag strukturált SU-8 alapú felületek kölcsönhatását vizsgálja. Ez a munka alap kutatás a neurális interfészek, például az elektrofiziológiai mérőeszközök fejlesztésében.

Az idegi aktivitás rögzítésére és az agyi kapcsolatok leképezésére számos technika áll rendelkezésre [12]. Az elektrokortikogramm (ECoG) egy olyan elektrofiziológiai mérési módszer, ahol az elektródák az agykéreg tetején helyezkednek el, a koponya alatt [13]. Habár az ECoG műtéti beavatkozást igényel, a jelminőség, élettartam és megbízhatóság alapján előnyösebb a leggyakrabban használt elektroencefalográfiával (EEG) szemben. Egy másik leképezési módszer a fluoreszcens mikroszkópia, amely lehetővé tesz a sértetlen agyszövet vizsgálatát [14]. A képpalkotás előtt fluoreszcens festékkel jelölik meg

a sejteket, vagy genetikai módosítással kifejeződő jelölést használnak, hogy azok láthatóvá váljanak a mikroszkóp számára. Egy ilyen fluoreszcens mikroszkóp technika a két-foton mikroszkópia. Ez egy pásztázó mikroszkóp, ahol két fotonnal létrejövő infravörös-közeli fény gerjeszti a fluoreszcens jelölőket. A két foton esetében kisebb energiára és kisebb gerjesztési térfogatra van szükség más fluoreszcens mikroszkópokhoz képest, ebből adódóan nagyobb az elérhető térbeli felbontás [15]. A kétfoton mikroszkóppal közvetett módon detektálja a sejt szintű változásokat, így az elektrofiziológiával való kombinálása lehetővé teszi ezen változások fiziológiai mérésekkel való összekapcsolását. Egy ilyen multimodális kísérlet tervezése során fontos figyelembe venni a mérési technika azon paramétereit, amelyek hatással lehetnek a másik modalitásra. Az ECoG eszköz részéről két fő elvárás: (1) átlátszónak kell lennie, hogy optikai ablakot biztosítson a képalkotáshoz, és (2) olyan vezetőréteget kell tartalmaznia, amely minimalizálja a lézermegvilágítás által létrejövő fotoelektromos műtermékeket, amennyiben az eszköz a lézer fényútjában helyezkedik el. Ezeket a tulajdonságokat vizsgáltam a második téziscsoportban egy Parylene HT/ITO/Parylene HT alapú microECoG esetében, két-foton mikroszkópiával mért  $Ca^{2+}$  aktivitással.

## 2. Új tudományos eredmények

### Első téziscsoport

Mikromintázatos SU-8 felületek - 2 illetve 5  $\mu\text{m}$  átmérőjű oszlopok 3/5/10  $\mu\text{m}$  oszlopok közti távolságokkal, 2 illetve 5  $\mu\text{m}$  széles mikrosávok, 3/5/10  $\mu\text{m}$  köztes távolsággal és mikromeander 2 illetve 5  $\mu\text{m}$  szélességgel és 5  $\mu\text{m}$  közzel - és primer egér asztrogliák kölcsönhatását vizsgáltam egy egyedi automatikus detektáló programmal, amely a tenyésztést követő 24 illetve 48 órában fixált mintákról készült kétfoton mikroszkóp felvételeket elemzi.

Kapcsolódó publikációk: [J1], [C1]

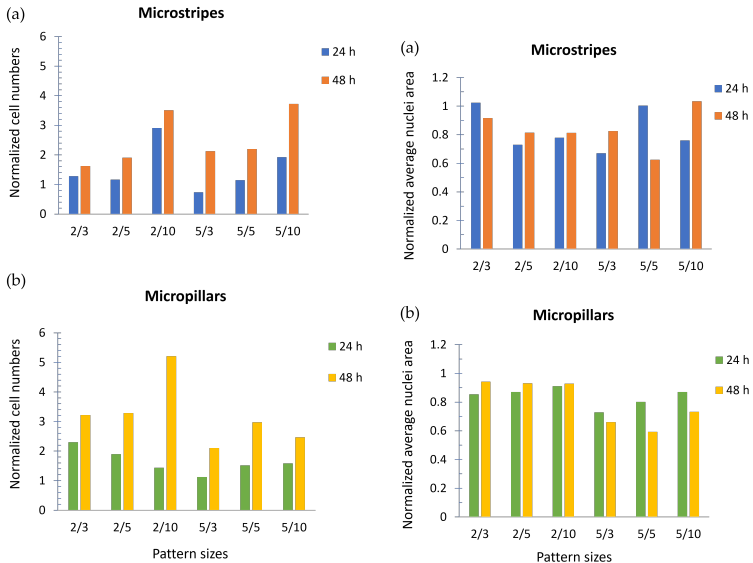
**1.1. Tézis** *Meghatároztam a sejt és a sejtmagszámot és a sejtmagok területét a különböző mintázatokon, eltérő fixációs idővel. A kontrollhoz viszonyított sejtszámok alapján kimutattam, hogy 48 óra elteltével több sejt észlelhető bármely mintázatos SU-8 felületen, mint a sík  $\text{SiO}_2$  felületen. Az átlag sejtmagméret a mikrosávok és mikrooszlopok jelenlétében kisebb, mint a kontroll  $\text{SiO}_2$  felületen. Megvizsgáltam a sejtszámokat az átlagos sejtmagmérettel együtt, és megállapítottam, hogy a sejtek nagyobb mértékben tapadtak a mintázott felülethez, mint a sima kontrollfelülethez, azonban a mintázatok kisebb sejtmagméretet eredményeztek.*

SU-8, egy biokompatibilis epoxi alapú negatív fotoreziszt lett

megmintázva a szilícium felületen. Az 5,7  $\mu\text{m}$  magas, különböző mikrostruktúrák hagyományos fotolitográfiával készültek. A mikrooszlopok 2 illetve 5  $\mu\text{m}$  átmérőjű oszlopos szerkezetek, amelyeknek az oszlopok közötti távolsága 3/5/10  $\mu\text{m}$ . A mikrosávok 2 illetve 5  $\mu\text{m}$  széles csíkok, amelyek távolsága 3/5/10  $\mu\text{m}$ . A mikromeander párhuzamos ívelt sávokból áll, amelyek szélessége 2 illetve 5  $\mu\text{m}$ , és az árok szélessége 5  $\mu\text{m}$ . Ez a háromféle minta 7,1 x 7,1 mm-es chipre lett rendezve, amelyek sima, mintázatlan  $\text{SiO}_2$  területeket is tartalmaznak, mint kontrollfelület. A primer egér asztrogliá sejtet az ELTE Élettani és Neurobiológiai Tanszékén Dr. Liliom Hanna és Dr. Schlett Katalin ültette a mintázott chipre. 24 illetve 48 órát követően a sejtek fixálva lettek és a sejtmagok egy DNS-hez kötődő, DAPI elnevezésű fluoreszcens festékkel lettek jelölve. A statisztikai adatgyűjtéshez egy Matlab alapú programot fejlesztettem.

Annak vizsgálatára, hogy az asztrociták hogyan tudnak a felülethez kapcsolódni, mért sejtszámot normalizáltam az adott paraméter-méretű mintázathoz tartozó sima  $\text{SiO}_2$  kontrollfelületre. Az 1(1). ábra oszlopai a kontroll ( $\text{SiO}_2$ ) felület és a mintázott (SU-8) felület sejtszámainak arányát mutatják. Ezzel a módszerrel kiküszöböltem a minták közötti eltérő sejtsűrűségből adódó eltéréseket. Mivel a sejtmagok területe a sejtek adott felületen való kiterülését tükrözi, és a sejtmagdetektálás pontosabb és könnyen automatizálható, ezért az átlagos sejtmagterületet vizsgáltam a kontrollfelülethez viszonyítva. A kapott méretek a 1(2) ábrán láthatóak. A mikromeanderen lévő sejtek a mik-

rosávokon lévő trendekkel megegyező eredményeket mutatott.



(1) Sejtszámok

(2) Sejtmag területek

1. ábra. Sejtszámok (1) és átlag sejtmag területek (2) a kontrollfelülethez viszonyítva. Az x-tengely mentén az oszlopok az alábbi módon vannak címkézve: az első szám a mikrosáv vagy mikrooszlop szélességét jelöli, a második szám a mintázatok közti hely méretét ( $\mu\text{m}$ -ben).

**1.2. tézis** *Megvizsgálva a sejtmagok orientációját azt találtam, hogy a mikrosávos mintázaton a magok több mint 50%-a a mintázathoz viszonyítva kevesebb, mint  $15^\circ$ -os szögbe rendeződtek a térköz méretétől függetlenül  $2 \mu\text{m}$  széles mikrosávokon, 24 és 48 órát követő fixálás esetében is. Az  $5 \mu\text{m}$  széles mikrosávok esetében az 5 és  $10 \mu\text{m}$  térköz-*

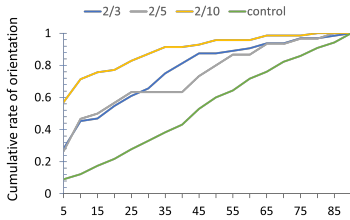
*zök orientálták a sejtmagokat 24 óra elteltével, míg 48 órát követően mindhárom térköz esetében irányítottá váltak a sejtmagok. A sejtheadzés utáni orientációra legnagyobb mértékben a 10  $\mu\text{m}$  távolságban lévő 2  $\mu\text{m}$  mikrosávok voltak hatással. A mikrooszlopos mintázatú felületeknek a kontrollfelülethez képest nincs jelentős hatása az asztrocita sejtmagok orientációjára.*

A sejtek orientációja az egyik legfontosabb paraméter a mesterséges tenyésztőfelületek kutatása során. Számos tanulmány létezik a citoskeleton irányításáról [16, 17, 18], azonban a sejtmagok irányított-sága egy ritkán kutatott kérdés. Ugyan kevesebb információt nyújt a sejtről, de a sejtmag automatikus detekciója egy sokkal egyértelműbb és megoldhatóbb feladat az egységesebb alakjuk miatt, mint a citoskeleton detekciója.

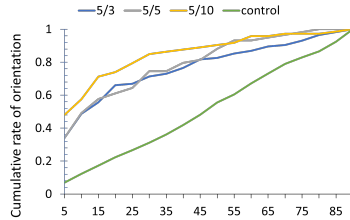
Egy korábbi publikáció alapján [19] az orientációt a mag főtengelye és a mintázat iránya közti szöggként határoztam meg. A mikrosávok vonalai egyértelműen meghatározzák a minta irányát, az x-tengelyt. A mikrooszlopok esetében a vízszintes, x-tengelyt határoztam meg referencia egyenesként az orientációhoz. Egy korábbi tanulmány alapján [20], azokat a sejteket nyilvánítottuk rendezetteknek, amelyek orientációja  $15^\circ$ -nál kisebb volt. A 2(1)-(2) ábra az orientáció kumulatív arányát mutatja a mikrosávok jelenlétében. Látható, hogy a sejtmagok több mint 50%-a rendeződött a mintázathoz  $15^\circ$ -nál kisebb szögben. A mikrooszlopok jelenlétében 2(3)-(4) ábra), az orientációs szögek el-



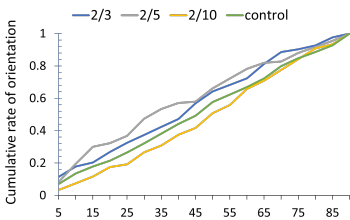
oszlása egyenletes, tehát nincs olyan előnyös topográfia, amely megváltoztatná az sejtmagok növekedésének irányát.



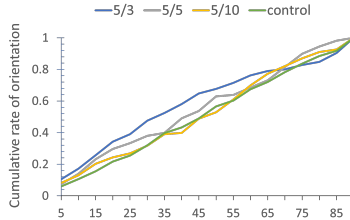
(1) 2 μm széles mikrosávok



(2) 5 μm széles mikrosávok



(3) 2 μm átmérőjű mikrooszlopok



(4) 5 μm átmérőjű mikrooszlopok

2. ábra. Az orientáció kumulatív aránya 24 órát követően. A mikrosávok (1)-(2) a sejtek több mint 50%-át kényszerítették a mintázathoz 15°-nál kisebb szögben, míg a mikrooszlopok esetében (3)-(4) egyenletes az orientációs szögek eloszlása, tehát nincs olyan előnyös topográfia, amely megváltoztatná az sejtmagok növekedésének irányát.

**1.3. Tézis** *A megnyúlás mértékét sávokkal, oszlopokkal és meander-mintával vizsgáltam, és megállapítottam, hogy a lineáris elemeket tar-*

*talmazó felületek, mint a mikrosávok, és a mikromeander 2 és 5  $\mu\text{m}$  mintázatszélességgel és 5  $\mu\text{m}$  távolsággal megnyújtják az asztrocita sejtmagokat. Az eredmények megerősítették, hogy a sejtmag morfológiája megfelelő indikátor a mikromintázat-felületek sejttenyészet evolúciójára gyakorolt hatásának vizsgálatára.*

A sejtmag különösen érzékeny a mikrokörnyezetében bekövetkező változásokra. Az 1. táblázat két nap utáni sejtmag megnyúlások arányát mutatja. Azon magokat tekintetem megnyúlnak, amelyek legalább 0,5 excentricitási értékkel rendelkeztek. Az excentricitást a sejtmag köré írt elipszis főtengely hosszából (Major AL) és a mellék-tengely hosszából (Minor AL) származtattam, [21] alapján. Az ábrázolt arányok az sejtmagok excentricitási értékeinek kumulatív sűrűségéből adódnak. Az 1. táblázatban szereplő számok a 0,5-nél nagyobb excentricitási értékkel rendelkező magok arányát mutatják. Összehasonlítottam a megnyúlás arányát a 2  $\mu\text{m}$  széles mikrosávok, 2  $\mu\text{m}$  átmérőjű s és 2  $\mu\text{m}$  széles mikromeanderes adatok között 5  $\mu\text{m}$  távolsággal (2/5), valamint a különböző mintatípusokat 5  $\mu\text{m}$  mintaszélességgel (mikrooszlopok esetén pedig átmérővel) és 5  $\mu\text{m}$  távolsággal (5/5). Ez a két paraméterkombináció mindhárom mintatípussal kialakításra került.

		Microstructures					
Pattern size/ spacing		Microstripes		Micropillars		Micromeander	
		<i>pattern</i>	<i>control</i>	<i>pattern</i>	<i>control</i>	<i>pattern</i>	<i>control</i>
	2/5	0.94	0.80	0.86	0.82	0.92	0.84
	5/5	0.93	0.87	0.88	0.72	0.94	

1. táblázat. A megnyúlt sejtmagok aránya különböző mikrostruktúrák jelenlétében. Azon sejtmagokat határoztam meg megnyúlnak, amelyek 0,5-nél nagyobb excentricitási értékkel rendelkeznek.

## Második téziscsoport

A bemutatott átlátszó microECoG eszköz biokompatibilis Parylene HT hordozóból és indium-ón-oxid (ITO) vezetőrétegből készült. Az eszköz optikai tulajdonságait és az egyidejű kétfoton mikroszkóp felvételek során létrejött fotoelektromos műtermékeket vizsgáltam.

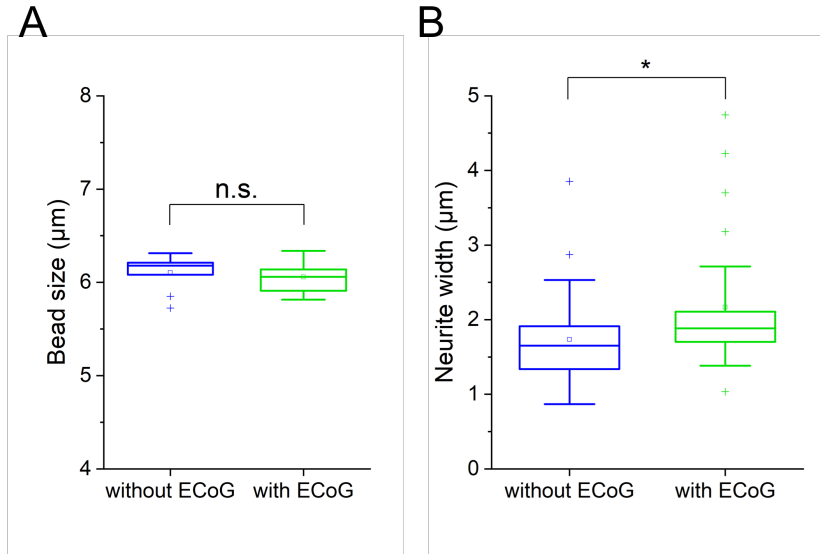
Kapcsolódó publikáció: [J2]

**2.1. Tézis** *Minősítettem az eszköz mikroszkóp felvételein megjelenő optikai torzítását. A mért 6  $\mu\text{m}$  névleges méretű fluoreszcens mikrogyöngyök az eszköz jelenlétében nem torzultak (kontroll: 6.11  $\mu\text{m}$  (SD=0.18  $\mu\text{m}$ ), fedett: 6.06  $\mu\text{m}$  (SD=0.16  $\mu\text{m}$ ),  $p>0,05$ ,  $n=10$ ). Hippokampális szeletekben a  $\text{Ca}^{2+}$  jelek kétfotonos leképezését végeztük. A CA1 alrégió sejtjei jól láthatóak voltak a stratum radiatum finom dendrites struktúráival együtt, amikor a szeleteket az ECoG fólia borí-*

*totta. Az eszköz alatti sejtnyúlványok átlagos mérete  $2.17 \mu\text{m}$  ( $SD=0.89 \mu\text{m}$ ) ( $n=26$ ), míg az eszköz nélkül az idegsejtek átlagos mérete  $1.73 \mu\text{m}$  ( $SD=0.61 \mu\text{m}$ ) ( $n=29$ ) volt.*

A polimer szubsztrát és az indium-ón-oxid optikai torzításának meghatározása érdekében kétfoton felvételeket készítettünk fluoreszcens mikrogöngyökre elhelyezett mikroelektródokkal és anélkül. A  $6 \mu\text{m}$ -es göngyöket (P7220, ThermoFisher) két üveg fedőlemez közé zártunk a térbeli felbontás összehasonlítására. A pont válasz függvényt (Point Spread Function- PSF) a mikrogöngyprofil Gaussillesztésének félértékszélességeként számítottuk ki, korrigáltuk a mikrogöngy méretére, és a kontroll göngyök átlagos PSF-méretére normalizáltuk (3 a) ábra). A képek elemzése a Matlab alapú MES programmal (Femtonics Kft.) történt. Páros mintájú t-tesztet alkalmaztam a látszólagos göngyméretek összehasonlítására a fluoreszcens mikrogöngyök csoportjai között ( $n=10$ ) Parylene HT/ITO eszközzel vagy anélkül.

Hasonló vizsgálatot végeztünk ex vivo hippokampuszseleteken. A hippokampusz CA1 régiójának kétfotonos felvételeit mikroelektródokkal és anélkül is rögzítettük. Megmértem és elemeztem a látómezőben lévő összes sejtnyúlvány átmérőjét (3 b) ábra). A fluoreszcens képeket egyedi Matlab szkripttel elemeztem.

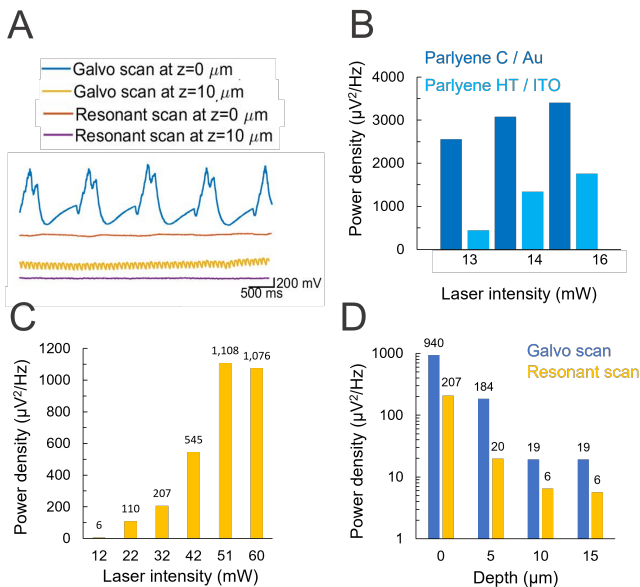


3. ábra. a) Boxplotok a 6,0  $\mu\text{m}$  névleges átmérőjű mikrogöngyök méretéről. Átlagos méret Parylene HT nélkül: 6.11  $\mu\text{m}$  (SD=0.18  $\mu\text{m}$ ), Parylene HT esetén: 6.06  $\mu\text{m}$  (SD=0.16  $\mu\text{m}$ ), Mann-Whitney U-test:  $p > 0.05$ ,  $U = 39$ ,  $n = 10$ . b) Boxplotok a mért in vitro neuritszélességről a sejtszómától 30 és 70  $\mu\text{m}$  közötti távolságban. A box alsó és felső széle a 25. és 75. percentilist jelöli. A whiskerek a legszélsőségesebb adatpontokra terjednek ki, amelyek nem tekinthetők kiugrónak, és a kiugró értékeket egyenként ábrázolja a '+' szimbólum (Origin beépített boxplot függvény). A neuritok átlagos mérete a fólia nélkül 1.73  $\mu\text{m}$  (SD=0.61  $\mu\text{m}$ ) ( $n = 29$ ), míg a fóliával alatt 2.17  $\mu\text{m}$  (SD=0.89  $\mu\text{m}$ ) ( $n = 26$ ) volt. (Mann-Whitney U-test,  $p < 0.05$ ,  $U = 234$ )

**2.2. Tézis** *Megvizsgáltam az elvezető pontok két-foton lézermegvilágításra való érzékenységét. Rezonáns üzemmódban a használt lézerteljesítmény 7,7 mW és 132,4 mW között, a felvételi mélység (Z-szint) pedig 0  $\mu\text{m}$  és -30  $\mu\text{m}$  között volt. A különböző lézerteljesítményből eredő fotoelektromos műtermékeken végzett elemzéseim alapján az eszköz síkjában ( $Z = 0$ ) rezonáns üzemmódban 12 mW alatti teljesítményértékek biztonságosan használhatók jelentős fotoelektromos műtermékek nélkül. A lézeres expozíció 10  $\mu\text{m}$ -rel a készülék síkja alatt nem okoz észlelhető zajt a jelben, míg az eszköz síkjához közeli kis teljesítményű expozíció hozzájárul a parazita csúcsokhoz a teljesítménysűrűség-spektrumban, ahol az alapprofrendencia megfelel a képfelvételek frekvenciájának. A zaj teljesítménysűrűsége jelentősen lecsökkent rezonáns módban a 33 mW lézerteljesítményű,  $Z = -5 \mu\text{m}$ -re fókuszált lézerefény használatakor és galvanikus módban a 13 mW lézerteljesítményű,  $Z = -10 \mu\text{m}$ -re fókuszált fény esetében.*

A két-foton mikroszkóp által keltett fotoelektromos műtermékeket Ringer oldatban mértük különböző pásztázási módban (rezonáns és galvanikus), a készülék síkjához viszonyított különböző fókuszálkokkal (eltérő távolságokban) és eltérő fényintenzitással (lézerteljesítmény). A fotoelektromos műtermékek jellemző mintázatai a 4 ábra A) paneljén láthatóak. kontrollként Parylene C minta Ti/Au fémezéssel volt szkennelve galvanikus módban, hogy a műtermékek jelintenzitása összehasonlítható legyen ( 4 ábra B) panel). A fotoelektromos

zaj teljesítménysűrűsége az indium-ón-oxid felületek fókuszsíkjában ( $Z=0$ ) jóval a kontroll fémezésnél mért érték alatt van. Ez a tendencia változatlan maradt a különböző lézerteljesítményeknél ( 4 ábra B) panel). A teljesítménysűrűség-spektrum azt is megmutatta, hogy az ITO érzékenyebb a galvanikus módra, mint a rezonáns pásztázási módra, ahol kisebb a fényindukált zaj ( 4 ábra C) panel). A különböző mélységekben végzett vizsgálatok alapján a lézersugár fókuszálása rezonáns módban  $Z = -5 \mu\text{m}$ -re, galvanikus módban  $Z = -10 \mu\text{m}$ -re az elvezető pontoktól csökkentette a zaj teljesítménysűrűségét 33 mW illetve 13 mW lézerintenzitás mellett ( 4 ábra D) panel).



4. ábra. A) Reprezentatív görbék az elektrofiziológiai jelvezetés fotoelektromos zajra való érzékenységéről galvanikus és rezonáns pásztázási módban, a készülék síkjában ( $Z = 0 \mu\text{m}$ ) és  $Z = -10 \mu\text{m}$ -en mérve. B) A Parylene C/Ti/Au elektródák és a Parylene HT/ITO elektródák fotoelektromos műtermékeinek összehasonlítása különböző fényintenzitásoknál a galvanikus pásztázás alapharmonikusán (2,11 Hz). C) A zaj maximális teljesítménysűrűsége különböző fényintenzitások esetében egy felvételi helyen ( $Z = 0 \mu\text{m}$ ) a rezonáns pásztázási mód alapharmonikusán (30,98 Hz). D) A zaj maximális teljesítménysűrűsége a készülék síkjától különböző távolságokban. A lézert az elvezetési pontra ( $Z = 0 \mu\text{m}$ ) és a terület alá fókuszáltuk különböző mélységekben. A lézer intenzitása 13 mW galvanikus módban illetve 33 mW üzemmódban.



### **3. Hasznosulás**

Munkám elősegítette az in vitro sejttenyésztő mikroeszközök technológiájának fejlődését. Munkám eredményei érdemben hozzájárultak a Nemzeti Fejlesztési és Innovációs Hivatal (NKFIH) által az OTKA NN 116550 számú pályázat (Dr. Pongrácz Anita vezetésével) által támogatott kutatási projekt sikeréhez. Az átlátszó mikroimplantátumokon végzett vizsgálatok olyan új multimodális képalkotó megközelítések fejlesztéséhez adtak kiindulópontot, amelyek a közelmúltban lehetővé tették az idegi aktivitás hálózati léptékű monitorozását két-foton képalkotással kombinálva éber állatokban. A disszertáció eredményei az NKFIH K 120143 és 2017\_1.2.1-NKP-2017-00002 támogatási számú NKFIH által finanszírozott kutatási projektjének lényeges részét képezték (vezetője Dr. Fekete Zoltán). A fenti munkára és erőfeszítésekre alapozva hosszú távú együttműködés indult a Qualia Medical Inc. (Dallas, Texas, USA) és kutatócsoportunk között. Az optikai és elektromos karakterizációhoz fejlesztett minősítési módszereimmel az alakmemóriával rendelkező polimer alapú mikroECoG-ok jellemzése továbbiakban is folytatódik.

## Köszönetnyilvánítás

Nagy kiváltságnak tartom, hogy egy támogató és inspiráló környezetben dolgozhatok. Köszönöm témavezetőmnek, *Dr. Fekete Zoltánnak*, hogy egy ilyen környezetet biztosít és a lelkesedésével folyamatosan motivál. A PPKE ITK Implantálható Mikrorendszerek Kutatócsoportjában folytatott munkám során nemcsak az új megoldások megtalálásában illetve publikálásában nyújtott segítséget, hanem tanácsaival segítette a szakmai fejlődésemet. Szeretném megköszönni *Dr. Pongrácz Anitának*, volt témavezetőmet, hogy befogadott ebbe a csodálatos kutatócsoportba. Hálás vagyok korábbi és jelenlegi labortársaimnak, *Dr. Zátanyi Anitának*, *Csernyus Bencének*, *Dr. Horváth Ágostonnak*, *Lantos Zsófiának* és *Ebrahim Ismaiel-nek* a közös munkáért és a baráti légkörért.

Nagy előnynek tartom a különböző területeken dolgozó kutatókkal való együttműködést. Szeretném megköszönni *Dr. Liliom Hannának*, *Dr. Schlett Katalinnak* az asztrociták és a mikromintás felületek kölcsönhatásának vizsgálata során nyújtott segítségét és munkáját. Köszönet *Madarász Miklósnak* és *Lőrincz Tibornak* az in vitro, in vivo két-foton mikroszkópos kísérletekért. Köszönöm az Energia-tudományi Kutatóközpont Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézetének Mikrorendszerek laboratórium tisztatéri személyzetének támogató munkáját.

Hálás vagyok a Doktori Iskolának, különösen *Prof. Szederkényi*

*Gábornak, Prof. Szolgay Péternek és Prof. Pongor Sándornak*, hogy lehetővé tették a doktori programban való részvételemet. Külön köszönettel tartozom *Dr. Vida Tivadarnének* a doktori tanulmányaim során nyújtott segítségéért és kedves szavaiért.

Különösen nagy hálával tartozom családomnak és barátaimnak a végtelen támogatásukért. Külön köszönet illeti *Szóts Jánost*, aki a négy év alatt nyújtott támogatása és türelme mellett a kéziratom szerkesztésében is segített.

Végezetül szeretném megköszönni a következő pályázatok támogatását. Az Európai Unió az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával megvalósuló EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00002 támogatását; a KAP19-32003-3.3-ITK támogatását; a Nemzeti Agykutató Program (2017\_1.2.1-NKP-2017-00002 pályázat) és a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal támogatását (NKFIH K 120143). Valamint az Innovációs és Technológiai Minisztérium Új Nemzeti Kiválósági Programjának támogatását ( ÚNKP-20-3, ÚNKP-21-3 pályázatok).

# Publikációs jegyzék

## Folyóirat cikkek

[J1] **Szabó, Á.**, Liliom, H., Fekete, Z., Schlett, K., & Pongrácz, A, "SU-8 microstructures alter the attachment and growth of glial cells in vitro," *Materials Today Communications*, 27, 102336, 2021. Available: <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102336>.

[J2] Zátonyi, A.\*, Madarász, M.\*, **Szabó, Á.\***, Lőrincz, T., Hodován, R., Rózsa, B., & Fekete, Z., "Transparent, low-autofluorescence microE-CoG device for simultaneous  $Ca^{2+}$  imaging and cortical electrophysiology in vivo," *Journal of Neural Engineering*, 17(1), 016062, 2020. Available: <https://doi.org/10.1088/1741-2552/ab603f>. \*These authors contributed equally.

## Konferencia publikáció

[C1] Pongrácz A, Barna S, Lukács I, Illés L, Liliom H, Lajer P, Csernyus B, **Szabó Á**, Bérces Z, Fekete Z, Lőw P, Schlett K, "Modification of Glial Attachment by Surface Nanostructuring of SU-8 Thin Films," *Proceedings*. 2(13):1016, 2018. Available: <https://doi.org/10.3390/proceedings2131016>

## Egyéb publikációk

[OP1] Liliom, H., Lajer, P., Bérces, Z., Csernyus, B., **Szabó, Á.**, Pinke, D., Lőw, P., Fekete, Z., Pongrácz, A., & Schlett, K, "Comparing the effects of uncoated nanostructured surfaces on primary neurons and astrocytes," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 107(10), 2350-2359, 2019. Available: <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36743>

[OP2] Csernyus, B., **Szabó, Á.**, Zátanyi, A., Hodován, R., Lázár, C., Fekete, Z., Erőss, L. & Pongrácz, A, "Recent antiepileptic and neuroprotective applications of brain cooling", *Seizure*, 82, 80-90, 2020. Available: <https://doi.org/10.1016/j.seizure.2020.09.018>

[OP3] Csernyus, B., **Szabó, Á.**, Fiáth, R., Zátanyi, A., Lázár, C., Pongrácz, A., & Fekete, Z, "A multimodal, implantable sensor array and measurement system to investigate the suppression of focal epileptic seizure using hypothermia", *Journal of Neural Engineering*, 18(4), 0460c3, 2021. Available: <https://doi.org/10.1088/1741-2552/ac15e6>

[OP4] Fedor, F. Z., Madarász, M., Zátanyi, A., **Szabó, Á.**, Lőrincz, T., Danda, V., Spurgin, L., Manz, C., Rózsa, B., & Fekete, Z, "Soft, Thiolene/Acrylate-Based Electrode Array for Long-Term Recording of Intracranial EEG Signals with Improved Biocompatibility in Mice", *Advanced Materials Technologies*, 7, 2100942, 2021. Available: <https://doi.org/10.1002/admt.202100942>

[OP5] **Szabó, Á.**, Madarász, M., Lantos, Zs., Zátanyi, A., Danda, V.,

Spurgin, L., Manz, C., Rózsa, B., & Fekete, Z, "Transparent thiolene/acrylate based microECoG devices used for concurrent recording of fluorescent Calcium signals and electrophysiology in awake animals", *Advanced Materials Interfaces* in press, 2022.

## Hivatkozások

- [1] R. Bashir, „Biomems: state-of-the-art in detection, opportunities and prospects,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 56, pp. 1565–1586, 9 2004.
- [2] V. S. Polikov, P. A. Tresco, and W. M. Reichert, „Response of brain tissue to chronically implanted neural electrodes,” *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 148, pp. 1–18, 10 2005.
- [3] J. K. Nguyen, D. J. Park, J. L. Skousen, A. E. Hess-Dunning, D. J. Tyler, S. J. Rowan, C. Weder, and J. R. Capadona, „Mechanically-compliant intracortical implants reduce the neuroinflammatory response,” *Journal of Neural Engineering*, vol. 11, p. 056014, 8 2014.
- [4] Z. Fekete and A. Pongrácz, „Multifunctional soft implants to monitor and control neural activity in the central and peripheral nervous system: A review,” *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 243, pp. 1214–1223, 5 2017.
- [5] L. J. Tang, M. H. Wang, H. C. Tian, X. Y. Kang, W. Hong, and J. Q. Liu, „Progress in research of flexible mems microelectrodes for neural interface,” *Micromachines 2017, Vol. 8, Page 281*, vol. 8, p. 281, 9 2017.

- [6] R. Green and M. R. Abidian, „Conducting polymers for neural prosthetic and neural interface applications,” *Advanced Materials*, vol. 27, pp. 7620–7637, 12 2015.
- [7] S. N. Obaid, R. T. Yin, J. Tian, Z. Chen, S. W. Chen, K. B. Lee, N. Boyajian, A. N. Miniovich, I. R. Efimov, L. Lu, S. N. Obaid, R. T. Yin, J. Tian, Z. Chen, S. W. Chen, K. B. Lee, N. Boyajian, A. N. Miniovich, I. R. Efimov, and L. Lu, „Multifunctional flexible biointerfaces for simultaneous colocalized optophysiology and electrophysiology,” *Advanced Functional Materials*, vol. 30, p. 1910027, 6 2020.
- [8] W. Yang, Y. Gong, C. Y. Yao, M. Shrestha, Y. Jia, Z. Qiu, Q. H. Fan, A. Weber, and W. Li, „A fully transparent, flexible p-dot:pss-ito-ag-ito based microelectrode array for ecog recording,” *Lab on a Chip*, vol. 21, pp. 1096–1108, 3 2021.
- [9] C. J. Bettinger, R. Langer, and J. T. Borenstein, „Engineering substrate topography at the micro- and nanoscale to control cell function,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 48, pp. 5406–5415, 7 2009.
- [10] J. Luo, M. Walker, Y. Xiao, H. Donnelly, M. J. Dalby, and M. Salmeron-Sanchez, „The influence of nanotopography on cell behaviour through interactions with the extracellular matrix – a review,” *Bioactive Materials*, vol. 15, pp. 145–159, 9 2022.



- [11] D.-H. Kim, P. P. Provenzano, C. L. Smith, and A. Levchenko, „Matrix nanotopography as a regulator of cell function,” *Journal of Cell Biology*, vol. 197, no. 3, pp. 351–360, 2012.
- [12] E. M. C. Hillman, „Optical brain imaging in vivo: techniques and applications from animal to man,” *Journal of biomedical optics*, vol. 12, p. 051402, 9 2007.
- [13] C. Im and J. M. Seo, „A review of electrodes for the electrical brain signal recording,” *Biomedical Engineering Letters 2016 6:3*, vol. 6, pp. 104–112, 9 2017.
- [14] B. A. Wilt, L. D. Burns, E. T. Ho, K. K. Ghosh, E. A. Mukamel, and M. J. Schnitzer, „Advances in light microscopy for neuroscience,” *Annual review of neuroscience*, vol. 32, p. 435, 6 2009.
- [15] F. Helmchen and W. Denk, „Deep tissue two-photon microscopy,” *Nature Methods 2005 2:12*, vol. 2, pp. 932–940, 11 2005.
- [16] T. Vignaud, L. Blanchoin, and M. Théry, „Directed cytoskeleton self-organization,” *Trends in Cell Biology*, vol. 22, pp. 671–682, 12 2012.
- [17] E. K. Yim, E. M. Darling, K. Kulangara, F. Guilak, and K. W. Leong, „Nanotopography-induced changes in focal adhesions, cytoskeletal organization, and mechanical properties of human mesenchymal stem cells,” *Biomaterials*, vol. 31, pp. 1299–1306, 2 2010.

- [18] H. Y. Lou, W. Zhao, X. Li, L. Duan, A. Powers, M. Akamatsu, F. Santoro, A. F. McGuire, Y. Cui, D. G. Drubin, and B. Cui, „Membrane curvature underlies actin reorganization in response to nanoscale surface topography,” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 116, pp. 23143–23151, 11 2019.
- [19] M. J. Dalby, M. O. Riehle, S. J. Yarwood, C. D. Wilkinson, and A. S. Curtis, „Nucleus alignment and cell signaling in fibroblasts: Response to a micro-grooved topography,” *Experimental Cell Research*, vol. 284, pp. 272–280, 4 2003.
- [20] S. Ankam, M. Suryana, L. Y. Chan, A. A. K. Moe, B. K. Teo, J. B. Law, M. P. Sheetz, H. Y. Low, and E. K. Yim, „Substrate topography and size determine the fate of human embryonic stem cells to neuronal or glial lineage,” *Acta Biomaterialia*, vol. 9, pp. 4535–4545, 1 2013.
- [21] K. Wang, A. Bruce, R. Mezan, A. Kadiyala, L. Wang, J. Dawson, Y. Rojanasakul, and Y. Yang, „Nanotopographical modulation of cell function through nuclear deformation,” *ACS Applied Materials and Interfaces*, vol. 8, pp. 5082–5092, 3 2016.