

## Przykłady zastosowania dedykowanych układów scalonych oraz matryc mikroelektrod wytworzonych w technologii MEMS do rejestracji elektrycznej aktywności tkanki mózgowej

**Streszczenie.** W artykule omówiono przykładowe systemy pomiarowe do wielopunktowej rejestracji potencjałów czynnościowych i polowych. Opisano: specyfikę potencjałów czynnościowych i polowych, metody pomiarów *In Vivo* i *In Vitro*, oraz główne rodzaje matryc mikroelektrod wytwarzanych w technologii MEMS wykorzystywanych w pomiarach elektrycznej aktywności tkanki nerwowej. Przedstawiono również ośmiokanałowy dedykowany układ scalony do kondycjonowania potencjałów czynnościowych i polowych, ze szczególnym uwzględnieniem stawianych mu wymagań. W dalszej kolejności przedstawiono dwa moduły pomiarowe oparte na wspomnianym układzie scalonym, jeden do pomiarów z użyciem elektrod płaskich, drugi ostrzowych. Na końcu komunikatu przedstawiono przykładową rejestrację przeprowadzoną metodą *In Vitro*, która przedstawia epizod rytmu theta w skrawku hipokampa.

**Abstract.** In this paper exemplary measurements systems for action potentials and local field potentials is discussed. It briefly describes: specificity of action potentials and local field potentials, *In Vivo* and *In Vitro* method and the main types of microelectrode arrays fabricated in MEMS technology and used in electrical activity of nerve tissue measurements. Next eight-channel dedicated integrated circuit for actions potentials and local field potentials signal conditioning is presented with particular emphasis on the relevant requirements. Then two measurements modules are described based on the mentioned integrated circuit, one for measurements with planar electrodes and another for measurements with penetrating electrodes. Eventually, exemplary *In Vitro* registration from hippocampus by using penetrating electrodes is shown with a single theta rhythm episode. (Examples of the use of dedicated integrated circuits and microelectrode arrays fabricated in MEMS technology for brain tissue electrical activity recording).

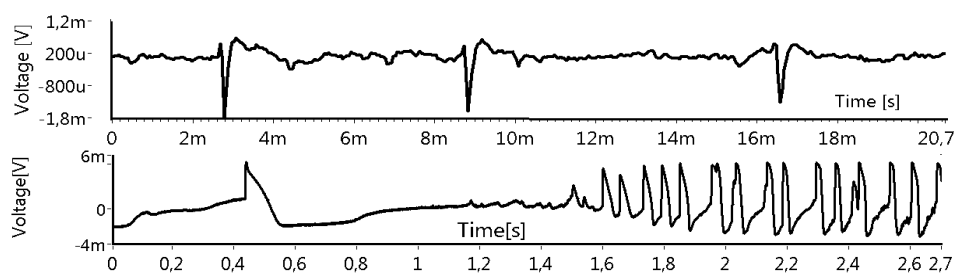
**Słowa kluczowe:** potencjały czynnościowe, potencjały polowe, scalone układy wielokanałowe, *In Vitro*, *In Vivo*.

**Keywords:** Action Potentials, Local Field Potentials, integrated circuits, *In Vitro*, *In Vivo*.

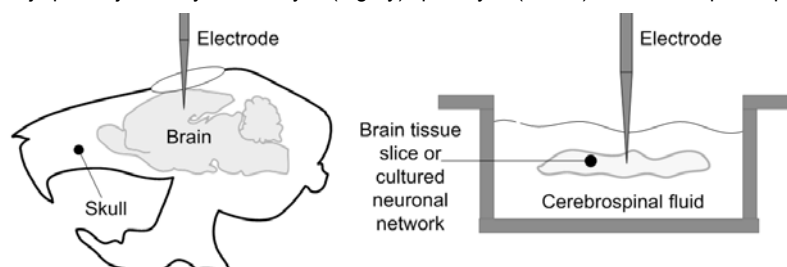
### Wprowadzenie

Wyróżnia się dwa główne rodzaje elektrycznej aktywności tkanki mózgowej, tj. **potencjały czynnościowe** (ang. *Action Potentials*, AP), których źródłem są pojedyncze neurony oraz **potencjały polowe** (ang. *Local Field Potentials*, LFP), będące wynikiem synchronicznej aktywności tysięcy neuronów (rys. 1) [1]. Potencjały czynnościowe mogą być rejestrowane bezpośrednio z ciała neuronu (metoda wewnątrz komórkowa) oraz z przestrzeni między neuronami (metoda zewnątrz komórkowa) z kolei potencjały polowe ze względu na swoją specyfikę mogą być rejestrowane tylko z przestrzeni między komórkową. Istnieją dwie główne techniki rejestracji elektrycznej aktywności tkanki mózgowej, technika ***In Vivo*** i ***In Vitro***. Technika *In Vivo* polega na rejestracji sygnałów z wnętrza mózgu żywego zwierzęcia, natomiast technika *In Vitro*

polega na rejestracji sygnałów ze skrawka tkanki nerwowej wypreparowanej z mózgu i utrzymywanej przy życiu dzięki odpowiednim zabiegom (rys. 2). Zaletami metody *In Vivo* są możliwości pomiaru tkanki w jej naturalnych warunkach oraz stosunkowo długi czas pomiaru (do kilku godzin), z kolei jej wadami są utrudnione pozycjonowanie elektrod w pożądanym miejscu mózgu oraz ograniczona możliwość aplikowania substancji chemicznych (bariera krew-mózg). Zaletami metody *In Vitro* jest możliwość umieszczania elektrod pomiarowych w miejscach, w których jest to pożądane oraz nieograniczona możliwość zadawania substancji chemicznych. Wadami są: ograniczony czas rejestracji (kilkanaście minut) oraz trudności w interpretacji pomiarów wynikające z oddzielania tkanki od reszty mózgu.



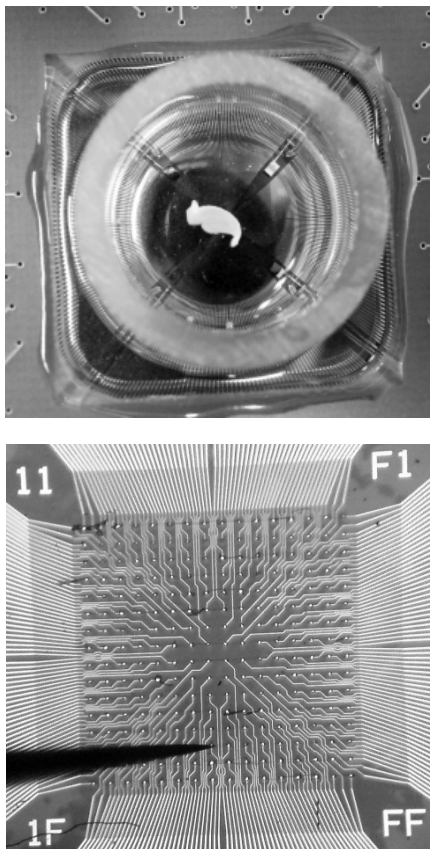
Rys. 1. Przykładowa rejestracja potencjałów czynnościowych (u góry) i polowych (u dołu) z obszaru hipokampa mózgu szczura [1]



Rys. 2. Schematy ideowe rejestracji elektrycznej aktywności mózgu za pomocą elektrody pomiarowej metodami *In Vivo* (po lewej) i *In Vitro* (po prawej)

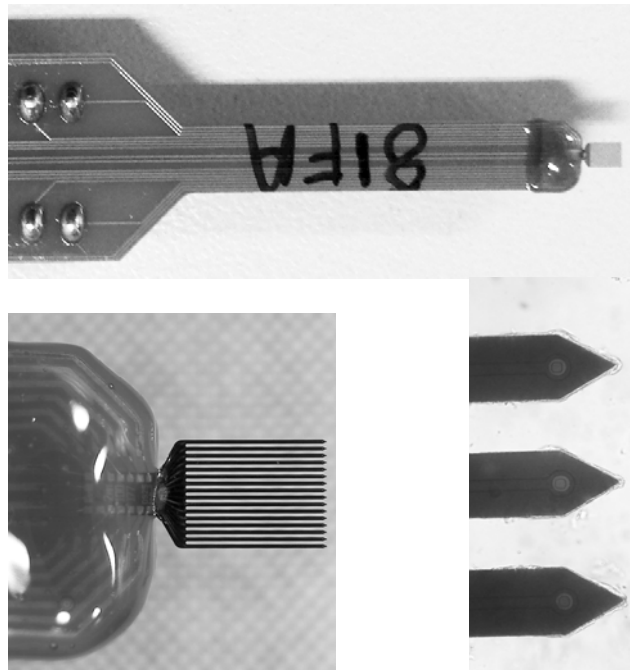
### Matryce mikroelektrod pomiarowych

Podstawowym narzędziem do pomiarów zewnątrzkomórkowych jest mikroelektroda szklana, której rozmiar końca ostrza wynosi kilka mikrometrów. Narzędzie to jednak jest sukcesywnie wypierane przez wykonane w technologii MEMS matryce mikroelektrod (MEA, ang. *Multielectrode Array*) (rys. 3 i 4).



Rys. 3. Zdjęcie płaskiej matrycy 256 mikroelektrod ostrzowych firmy Ayanda Biosystems. U góry widok matrycy zamocowanej na płytce PCB z zamontowanym pojemnikiem na płyn nerwowodzeniowy oraz ze skrawkiem hipokampa. Na dole matryca w powiększeniu. Odstęp między elektrodami wynosi 200  $\mu\text{m}$

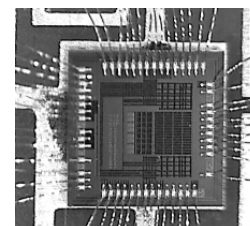
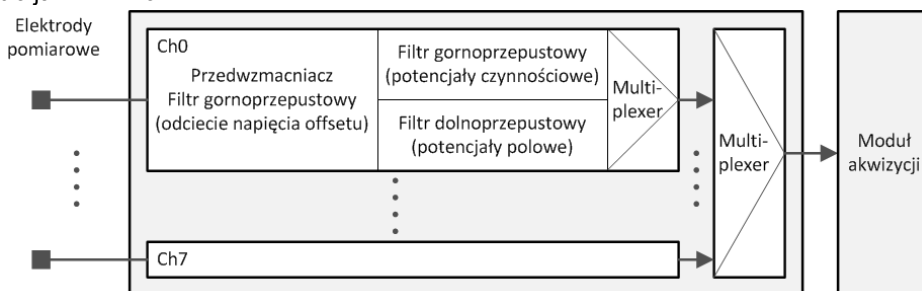
Pozwalają one na jednoczesną rejestrację sygnałów z kilkunastu do kilkuset punktów. Można wyróżnić dwa podstawowe typy **MEA**, **płaskie i penetracyjne** zwane też ostrzowymi. W przypadku MEA płaskich elektrody oraz ścieżki odprowadzające sygnał nanoszone są zwykle na szklane podłoże (rys. 3). Tego rodzaju MEA służą do pomiarów *In Vitro*, z kolei MEA penetracyjne mają postać jednego lub więcej ostrzy z naniesionymi jedną lub więcej elektrodami (rys. 4) i mogą służyć zarówno do pomiarów *In Vitro* jak i *In Vivo*.



Rys. 4. Zdjęcie penetracyjnej matrycy 16 mikroelektrod firmy NeuroNexus zamontowanej na płytce PCB. Odstęp między ostrzami wynosi 200  $\mu\text{m}$

### Scalony układ kondycjonujący

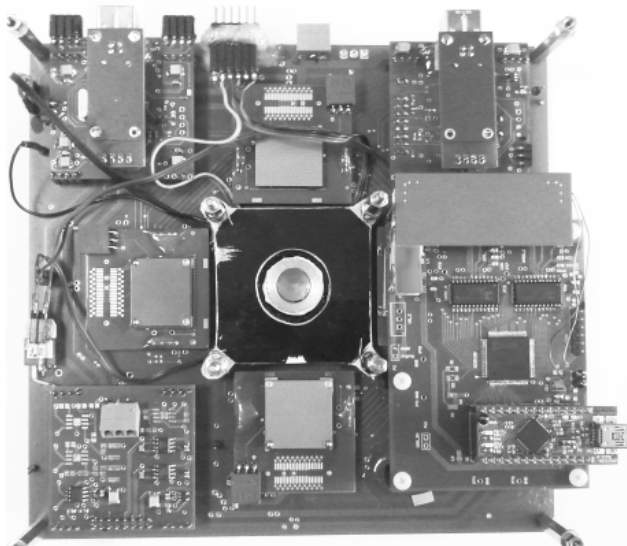
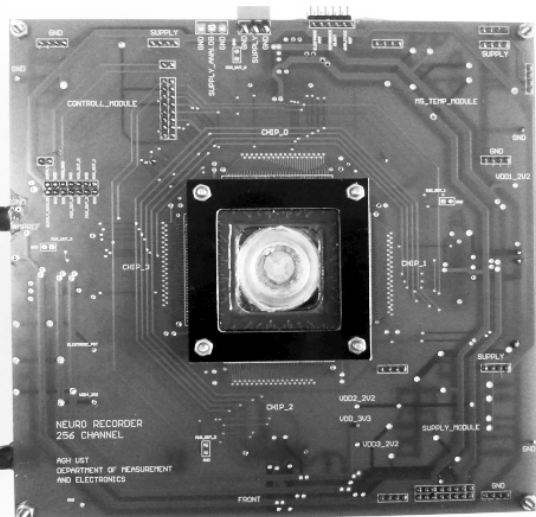
O ile kondycjonowanie (wzmocnienie, filtracja, itp.) sygnałów z pojedynczych mikroelektrod za pomocą układów elektronicznych zbudowanych z elementów dyskretnych nie nastręcza większych problemów, o tyle kondycjonowanie większej liczby sygnałów wymaga w praktyce zastosowania dedykowanych scalonych wielokanałowych układów kondycjonujących. Pojedynczy kanał musi cechować się impedancją wejściową porównywalną z impedancją elektrody pomiarowej (ok. 1  $\text{M}\Omega$ ), filtrem górnoprzepustowym o częstotliwości odcięcia poniżej 1 Hz (odcięcie napięcia offsetu na interfejsie elektroda-tkanka, brak tłumienia sygnałów LFP i AP), wzmocnieniem rzędu kilkuset  $\text{V/V}$  oraz szumami napięciowymi na wejściu na poziomie kilku  $\mu\text{V}$ . Na rysunku 5 pokazano schemat ideowy dedykowanego ośmiokanałowego scalonego układu do kondycjonowania AP i LFP. Układ został zaprojektowany w Katedrze Metrologii i Elektroniki AGH [2]. Pojedynczy kanał kondycjonujący oprócz przedwzmacniacza z filtrem górnoprzepustowym zawiera filtry do separacji AP i LFP oraz multiplexery analogowe do zmniejszenia ilości linii wyjściowych.



Rys. 5. Schemat ideowy dedykowanego ośmiokanałowego scalonego układu do kondycjonowania sygnałów AP i LFP (po lewej). Zdjęcie układu scalonego zamontowanego na płytce PCB (po prawej, rozmiar 5 mm x 5 mm)

## Moduły pomiarowe

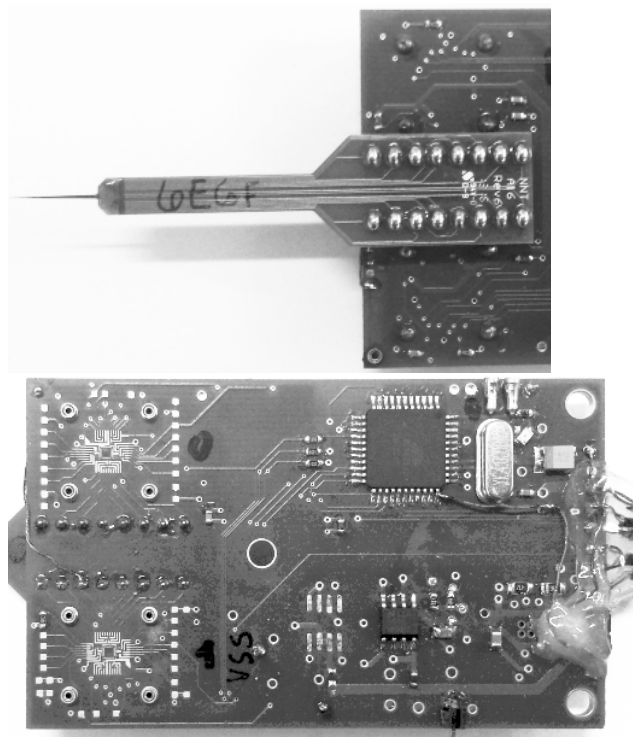
Do łączenia MEA i scalonych układów kondycjonujących służą moduły kondycjonujące. Przykład modułu do pomiaru In Vitro z użyciem płaskich matryc 256 mikroelektrod pokazano na rysunku 6 [1]. Składa się on z płyty głównej z gniazdem do zamocowania płaskiej MEA oraz gniazdami na: moduły z układami kondycjonującymi, moduł zasilający, moduł sterujący scalonym układem kondycjonujący, moduł pomiaru temperatury MEA, moduł akwizycji (konwersja A/C oraz transmisja danych do PC). Moduł pozwala na rejestrację 256 sygnałów z częstotliwością 14 kHz i 12-bitową rozdzielczością.



Rys. 6. Moduł pomiarowy do rejestracji In Vitro z użyciem płaskich matryc 256 mikroelektrod. U góry - widok z góry z widoczną matrycą. Na dole - widok z dołu z widocznymi modułami kondycjonującymi, zasilającym, sterującym, pomiaru temperatury oraz akwizycji

Na rysunku 7 pokazano moduł pomiarowy do rejestracji In Vivo z użyciem penetracyjnych matryc 16 mikroelektrod [3]. Moduł składa się z gniazda DIP 16 do podłączenia MEA, dwóch scalonych układów kondycjonujących opisanych w rozdziale 3 niniejszej pracy, mikrokontrolera sterującego scalonym układem kondycjonującym, stabilizatorów zasilających układ scalony i mikrokontroler. Moduł może być wykorzystany zarówno do pomiarów In Vivo jak i In Vitro z użyciem elektrod penetracyjnych. Jest on podłączany do oddzielnego układu akwizycji (konwersja A/C oraz transmisja danych do PC) i pozwala na rejestrację

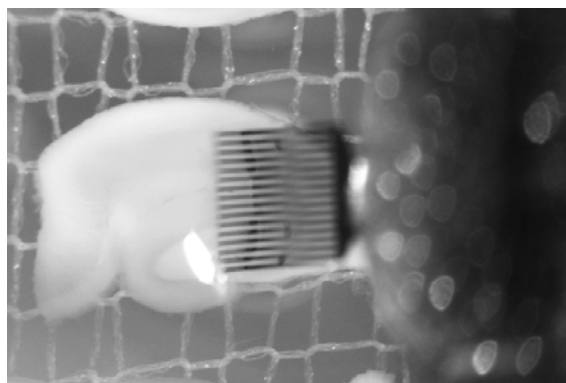
16 sygnałów z częstotliwością 28 kHz i 12-bitową rozdzielczością.



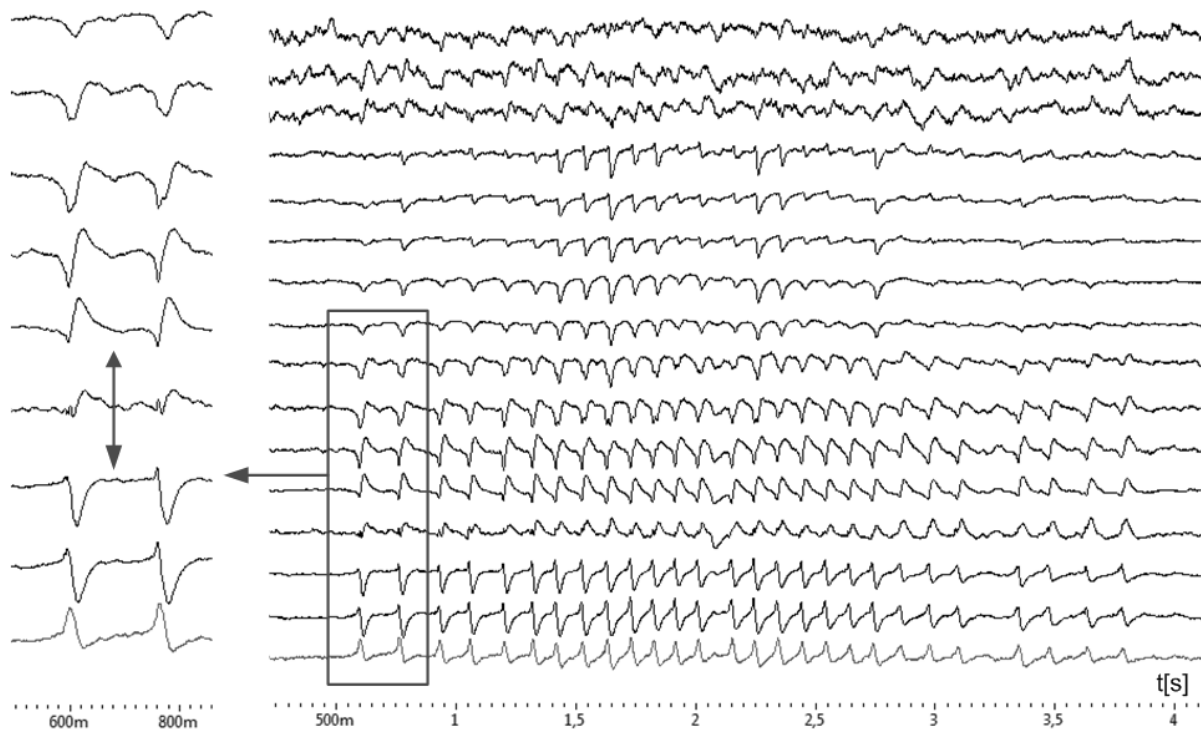
Rys. 7. Moduł pomiarowy do rejestracji In Vivo z użyciem penetracyjnych matryc 16 mikroelektrod. U góry widok fragmentu górnej strony modułu z zamontowaną matrycą mikroelektrod. Na dole widok dolnej części modułu z widocznymi dwoma osmiokanałowymi scalonymi układami scalonymi

## Przykładowa rejestracja

Na rysunku 9 pokazano przykładową rejestrację LFP przeprowadzoną metodą In Vitro za pomocą MEA penetracyjnej ze skrawka hipokampa (rys. 8). Przedstawia ona pojedynczy epizod rytmu theta zarejestrowany jednocześnie w szesnastu miejscach na odcinku o długości ok. 3 mm. Widoczne jest na niej wyraźne odwrócenie fazy pomiędzy sygnałami rejestrowanymi w obszarze komórek piramidowych a sygnałem pochodzącym z elektrod znajdujących się w obszarze komórek ziarnistych.



Rys. 8. Zdjęcie skrawka hipokampa z penetracyjną matrycą 16 mikroelektrod. Szerokość matrycy wynosi ok. 3 mm. Widoczne granice między poszczególnymi regionami hipokampa



Rys. 8. Przykład rejestracji In Vitro pojedynczego epizodu rytmu theta w hipokampie wykonanej za pomocą penetracyjnej matrycy szesnastu mikroelektrod

Dziękuję Panu Tomaszowi Kowalczykowi z Katedry Neurobiologii Uniwersytetu Łódzkiego za umożliwienie wykonania pomiarów neurobiologicznych.

#### LITERATURA

- [1] Żoładz M., A system for 256-channel In Vitro recording of the electrophysiological activity of brain tissue, *Metrol. Meas. Syst.*, Vol. 20, No.3, 369-382, 2013
- [2] Żoładz M., Kmon P., Rauza J., Grybos P., Błasiak T., Multichannel neural recording system based on family ASICs processed in submicron technology, *Microelectronics Journal*,

vol.45, 2014

- [3] Żoładz M., Kmon P., Rauza J., Grybos P., Błasiak T., System do wielokanałowej rejestracji elektrycznej aktywności tkanki nerwowej In Vivo z użyciem matryc mikroelektrod, *Modelowanie i pomiary w medycynie: materiały XIII sympozjum: Krynica Zdrój, 18–22 maja 2014*

**Autor:** dr inż. Mirosław Żoładz, Akademia Górniczo-Hutnicza, Katedra Metrologii i Elektroniki, al. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków, E-mail: [zoladz@agh.edu.pl](mailto:zoladz@agh.edu.pl).