

---

# Entwicklung von 3-dimensionalen Multielektroden-Arrays zur simultanen Stimulation und Messung von neuronaler Aktivität in der Retina

**Dipl. Ing. Stefan Lück**

lueck@iwe1.rwth-aachen.de

**Das Ziel dieses Projekts ist die Entwicklung implantierbarer Multi-Elektroden-Arrays (MEAs) zur Simulation von retinalen Neuronen bei gleichzeitiger Messung der neuronalen Aktivität in der Retina sowie der Fluktuation des lokalen pH-Wertes. Diese Elektroden sollen neue Studien zum Verlauf der Degeneration retinaler Zellen aufgrund von Retinitis Pigmentosa ermöglichen.**

## Signal Verarbeitung innerhalb der Retina

Die Retina der meisten höheren Lebewesen ist 200 µm dick. Sie besteht aus mehreren Schichten, die jeweils mehrere verschiedene Zelltypen enthalten. Die äußere Retina, die sich auf der dem einfallenden Licht abgewandten Seite befindet, wird von Fotorezeptorzellen gebildet, den Stäbchen und Zapfen. Die Fotorezeptoren übertragen ihre Informationen über Synapsen zu den Bipolar-Zellen. Die Somata dieser Zellen zusammen mit den Somata der Horizontalzellen und den Amakrinen Zellen bilden die innere nukleäre Schicht. Die bipolaren Zellen übertragen ihre Informationen weiter an die Ganglienzellen. Die Ganglienzellen machen mit ihren Somata und Axonen den größten Teil der inneren Schicht der Retina aus (die Ganglienzellschicht und die Nervenfaserschicht). Die innere Schicht ist dem einfallenden Licht zugewendet.

Die elektrische Stimulation der Ganglienzellen mit Hilfe von Stimulationselektroden kann auf zwei Arten erfolgen:

1. Durch direkte Stimulation eines Somas oder Axons.
2. Durch die elektrische Stimulation präsynaptischer Zellen, Die dann ihrerseits synaptisch die Ganglienzellen stimulieren.

## Elektrische Stimulation von Neuronen

Funktionale elektrische Stimulation wird in einer Reihe von Systemen zur Wiederherstellung verlorener Fähigkeiten eingesetzt. Ein Beispiel ist das Cochlearimplantat. Durch geeignete Stimulation der Nervenzellen der Cochlea können taube Patienten ihre Fähigkeit zu hören wiedererlangen [5]. Mit Hilfe der „Deep-Brain“-Stimulation kann der Tremor von Parkinsonpatienten unterdrückt werden [2]. Weltweit arbeiten verschiedene Forschungsgruppen an Retinaimplantaten. Durch geeignete Stimulation der Nervenzellen der Retina konnten visuelle Wahrnehmungen erzeugt werden.

## Penetrierende Multielektroden-Arrays zur Stimulation und Messung

Zur experimentellen Untersuchung von Gruppen neuronaler Zellen, wie retinalen Ganglienzellen, haben sich gleichzeitige extrazelluläre Messungen von neuronaler Aktivität an mehreren verschiedenen Stellen im Gewebe mit Hilfe von penetrierenden Elektroden-Arrays als geeignete Technik erwiesen [3], [6], [8], [17]. Sie ermöglichen die Messung von elektrischer Aktivität von verschiedenen Neuronen innerhalb einer Gruppe mit einer hohen zeitlichen Auflösung.

Außerdem werden penetrierende Elektroden zur Stimulation von neuronalem Gewebe verwendet. Die Verwendung dieses Elektrodentyps, zum Beispiel in der Cochlea, hat einige Vorteile. Im Vergleich zur Verwendung von planaren Elektroden [9]. Solche Elektroden werden auch im auditorischen Hirnstamm eingesetzt [21], [19]. Soweit wir wissen wurden penetrierende Multielektroden bisher noch nicht zur Stimulation und Untersuchung der neuronalen Aktivität in der Retina eingesetzt.

## Produktion und Aufbau penetrierender Multielektroden-Arrays

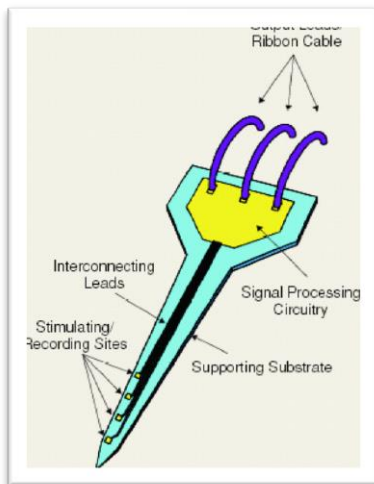


Fig.1: Aufbau einer penetrierenden Siliziumelektrode mit mehreren Stimulationselektroden [26].

Die ersten Versuche, mit Hilfe der Siliziumtechnologie dichte Arrays von Dünnschichtelektroden zur Messung neuronaler Signale, so genannte Neuroprobes, herzustellen, wurden 1966 an der Stanford University durchgeführt [24], [25], [26], [13]. Diese Technologie ermöglichte die simultane Messung neuronaler Signale an verschiedenen Stellen einer Probe. Fig.1 zeigt den Aufbau einer solchen Neuroprobe.

Die aktiven Oberflächen der Elektroden hatten eine Größe zwischen  $100\ \mu\text{m}^2$  und  $400\ \mu\text{m}^2$ , die Abstände zwischen den Elektroden betragen  $50\ \mu\text{m}$  bis  $200\ \mu\text{m}$  [15]. Die zur Herstellung dieser Elektroden verwendeten Materialien waren Polysilizium, Tantal, Gold, Platin, Titanitrit, Platin-Iridium oder Iridiumoxid [15], [22]. Diese Technologie ermöglicht außerdem die Herstellung von Neuroprobes mit mehreren Schäften [26]. Die Verwendung von SOI-Substraten (silicon on insulator) kann den Herstellungsprozess von solchen Neuroprobes vereinfachen [18], [4], [11]. In diesem Fall dient die vergrabene Oxidschicht als Ätzstopp für das anisotrope Ätzen.

Die ersten Experimente zur Integration von CMOS-Schaltkreisen auf den Schäften wurden 1986 von der Gruppe von Kensall D. Wise vorgestellt [1], [14]. Aber nur die Integration komplexer CMOS-Schaltungen ermöglichte die Produktion von Elektrodenarrays mit einer großen Anzahl von Elektroden [14], [26].

Neuroprobes wie die in Fig.1 gezeigten werden nicht nur als Elektrodenträger verwendet, sondern auch mit zusätzlichen Features ausgestattet. Wise zum Beispiel hat eine Neuroprobe vorgestellt, in die Kanäle zur Applikation von Medikamenten integriert worden waren [26], [20]. Darüber hinaus wurden Neuroprobes entwickelt, die die Detektion chemischer Größen wie pH [10], Cholin oder L-Glutamat [7] erlauben.

Arrays von penetrierenden Elektroden zur Stimulation eines Bereiches in einer bestimmten Tiefe wurden beispielsweise an der University of Utah [12] und an der University of Chicago [23] hergestellt. Deren Aufbau hat den Nachteil, dass es nur eine Elektrode an der Spitze jedes Schaftes gibt und dass jeder Schaft eine separate elektrische Anbindung braucht.

Die Messung und Stimulation in drei Dimensionen ist möglich mit einem Elektroden-Array, das von der Gruppe um K. D. Wise [27] entwickelt wurde. In diesem Ansatz werden Neuroprobes mit mehreren Schäften mit Hilfe von mikromechanischen Steckverbindern zu einem dreidimensionalen Array mit 256 Elektroden auf einer Siliziumplattform zusammengesetzt (Fig.2 und Fig.3). Die Plattform enthält alle Schaltkreise zur Ansteuerung der Elektroden. In einem europäischen Projekt wird ein ähnlicher Ansatz verfolgt [16].

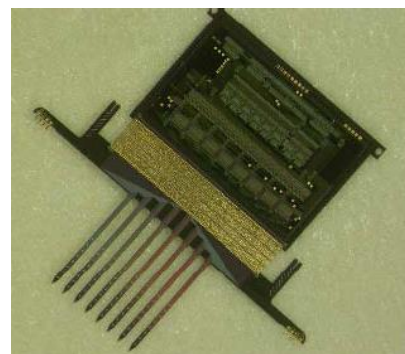


Fig.2: Dreidimensionales Mikroelektroden-Array [27] Einzelelement mit acht Schäften und 64 Elektroden

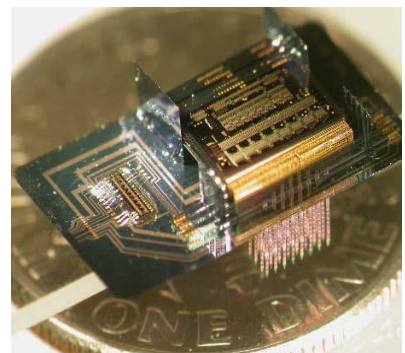


Fig.3: Dreidimensionales Mikroelektroden-Array [27] bestehend aus vier Einzelelementen.

In diesem Projekt soll das dreidimensionale Array genau wie in der Arbeit von Wise [27] aufgebaut werden. Während penetrierende Elektroden üblicherweise Schäfte mit einer Länge von mehreren Millimetern aufweisen, werden in diesem Projekt Schäfte mit einer Länge von etwa  $200\ \mu\text{m}$  hergestellt. Diese Neuroprobes werden optimiert zur Untersuchung von Degenerationsprozessen in der Retina. Das Array wird zusätzliche Sensoren zur Messung von pH-Werten enthalten.

## Danksagung

Diese Arbeit wird gefördert durch die Deutsche Forschungsgesellschaft (DFG) innerhalb des Forschungsprojekts "BiMEAs".

## Projektpartner

- Research Center Jülich, Institute of Structural Biology and Biophysics, Prof. Dr. rer. nat., Frank Müller

<http://www2.fz-juelich.de/isb/isb-1/>

- Research Center Jülich, Institute of Bio- and Nanosystems, Prof. Dr. rer. nat., Andreas Offenhäuser

<http://www2.fz-juelich.de/ibn/>

- Fraunhofer IMS Duisburg, Prof. Dr., Anton Grabmaier

<http://www.ims.fraunhofer.de/>

- RWTH Aachen University, Dep. of Ophthalmologie / IZKF Aachen, Prof. Dr. med. Peter Walter

<http://www.izkf.ukaachen.de/>

## References

- [1] BeMent S L, Wise K D, Anderson D J, Najafi K, Drake K L, 1986, "Solid-State for Multichannel Multiplexed Intracortical Neuronal Recording", *IEEE Trans. Electrodes Biomedical Engr.*, 230-241.
- [2] Benabid A L, Pollak P, Gao D M, Hoffmann D, Limousin P, Gay E, Payen I, Benazzouz A, 1996, "Chronic electrical stimulation of the ventralis intermedius nucleus of the thalamus as a treatment of movement disorders", *Journal of Neurosurgery* 84, 203-214.
- [3] Buzsaki, G. (2004) Large-scale recording of neuronal ensembles. *Nature Neuroscience* 7, 446-451.
- [4] Cheung K C, Djups und K, Dan Y, Lee L P, 2003, "Implantable Multichannel Electrode Array based on SOI Technology," *IEEE J. Microelectromech. Syst.*, 12,2, 179-184.
- [5] Clark G M, Hallworth R J, Zdanian K, 1975, "Cochlear Implant Electrode", *Journal of Laryngology and Otology* 89, 787-792.
- [6] Csicsvari, J., Henze, D. A., Jamieson, B., Harris, K. D., Sirota, A., Bartho, P., Wise, K. D., & Buzsaki, G. (2003). Massively parallel recording of unit and local field potentials with silicon-based electrodes. *Journal of Neurophysiology* 90, 1314-1323
- [7] Frey, O., van der Wal, P., de Rooij, N., Koudelka-Hep, M., 2007, "Development and Characterization of Choline and L-Glutamate Biosensor Integrated on Silicon Microprobes for In-Vivo Monitoring", *Proc. of the 29th Annual International Conference of the IEEE EMBS Lyon*.
- [8] Harris, K. D., Csicsvari, J., Hirase, H., Dragoi, G., & Buzsaki, G. (2003). Organization of cell assemblies in the hippocampus. *Nature* 424, 552-556.
- [9] Hillman, T, Badi, A. N., Normann, R. A., Kertesz, T. & Shelton, C. (2003) Cochlear Nerve Stimulation with a 3-Dimensional Penetrating Electrode Array. *Otology & Neurotology* 24, 764-768.
- [10] Johnson, M. D., Langhals, N. B., Kipke, D. R., 2006, "Neural Interface Dynamics Following Insertion of Hydrous Iridium Oxide Microelectrode Arrays", *Proceedings of the 28th Annual International Conference of the IEEE EMBS, New York*, 3178-3181.
- [11] Kindlundh M, Norlin P, Hofmann U G, 2004, "A Neural Probe Process Enabling Variable Electrode Configurations", *Sensors and Actuators B*, 102.1, 51-58.
- [12] Maynard E, 2001, "Visual Prostheses" *Annu.Rev.Biomed.Eng.* 3, 145-68.
- [13] Najafi K, Wise K D, Mochizuki T, 1985, "A High-Yield IC-Compatible Multichannel Recording Array," *IEEE Trans. Electron Devices*, 32,7, 1206-1211.
- [14] Najafi K, Wise K D, 1986, "An Implantable Multielectrode Array with On-Chip Signal Processing," *IEEE J. Solid-State Circuits*, 1035-1045.
- [15] Najafi K, 1994, "Solid-State Microsensors for Cortical Nerve Recordings", *IEEE Eng. in Medicine and Biology Juni/Juli 1994*, 375-387.
- [16] Neves H et al., 2008, "The Neuro Probes Project: A Concept for Electronic Depth Control", *Proc. 30th Annual International IEEE EMBS Conference, Vancouver 1857*
- [17] Nicoletis, M. A. L. & Ribeiro, S. (2002). Multielectrode recordings: the next steps. *Current Opinion in Neurobiology* 12, 602-606.
- [18] Norlin P, Kindlundh, M, Mouroux A, Yoshida H, Hofmann U G, 2002,"A 32-site neural recording probe fabricated by DRIE of SOI substrates," *J.Micromech. Microeng.*, 12,4, 414-419.
- [19] Normann, R. A., Maynard, E. M., Rousche P. J. & Warren D. J. (1999) A neural interface for a cortical vision prosthesis. *Vision Research* 39, 2577-2587
- [20] Papageorgiou, D., Shore, S., Bledsoe, S., Wise, K. D., 2006, "A Shuttered Probe with In-Line Flowmeters for Chronic In-Vivo Drug Delivery", *IEEE J.Microelectromech. Systems*, 15, 1025-1033.
- [21] Rauschecker, J. P. & Shannon, R. V. (2002) Sending Sound to the Brain *Science* 295, 1025 – 1029
- [22] Rutten W L C, 2002, "Selective Interfaces with the Nervous System", *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, 407-452.
- [23] Troyk P, Bak M, Berg J, Bradley D, Cogan S, Erickson R, Kufta C, McCreery D, Schmidt E and Towle V 2003 A Model for Intracortical Visual Prosthesis *Research Artificial Organs* 27(11), 1005-1015.
- [24] Wise K D, Angell J B, Starr A, 1969, "An integrated circuit approach to extracellular microelectrodes," in *Proc. 8th Int. Conf. Med. and Biological Engr.*, Chicago, 14-15.
- [25] Wise K D, Angell J B, 1975, "A low-capacitance multielectrode probe for neurophysiology," *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, 22,3, 212-219.
- [26] Wise K D, 2005, "Silicon Microsystems for Neuroscience and Neural Prostheses", *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*, September/October 2005, 22-29.
- [27] Yao, Y., Gulari, m. N., Wise, K. D., 2006, "Microassembly Techniques for a Three-Dimensional Neural Stimulating Microelectrode Array", *Proceedings of the 28th Annual International Conference of the IEEE EMBS, New York*, 4643-4646.