

Netzwerke der Erkenntnis

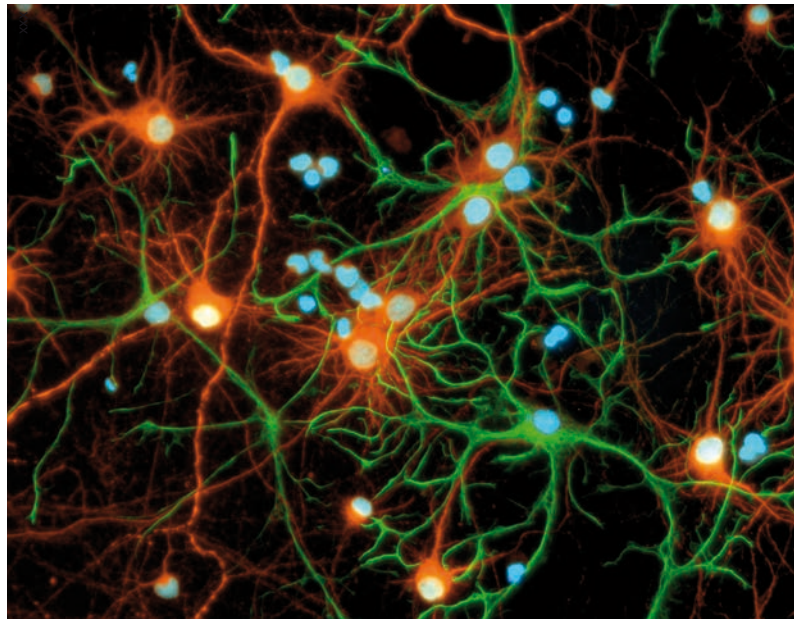
Die Bioelektronik zeigt einen Weg auf, das Gehirn von neuronalen Netzwerken aus zu verstehen.

Andreas Offenhäusser und Sabrina Weidlich

Das menschliche Gehirn ist ein Organ größter Komplexität. Trotz weitreichender Fortschritte in den Neurowissenschaften bleibt das detaillierte Verständnis der Aktivität und Interaktion dieses komplexen Systems bislang ein unerreichtes Ziel. Ein vielversprechender Versuch, die Signalprozessierung besser zu verstehen, ist die Bioelektronik, die von kleineren neuronalen Netzwerken ausgeht.

Die Funktionsweise des Gehirns zu verstehen, ist eine der größten Herausforderungen für Wissenschaft und Technik. Unser Gehirn besteht aus einem Netzwerk von etwa 100 Milliarden Nervenzellen (Neuronen), die von einer noch größeren Anzahl an Gliazellen umgeben sind – nichtneuronalen Zellen mit Isolations- und Pufferfunktion. Die Neuronen bilden untereinander Kontakte, wobei jedes Neuron bis zu 10 000 solcher Synapsen ausbilden kann. Diese Kontaktstellen sind extrem veränderbar und bilden die Basis unserer motorischen, kognitiven und emotionalen Fähigkeiten.

Die Biowissenschaften und die Medizin haben in den letzten hundert Jahren wesentlich dazu beigetragen, die biologischen Vorgänge des menschlichen Körpers zu entschlüsseln. Die stürmische Entwicklung der Neurowissenschaften in den letzten Jahrzehnten ermöglichte es, die neuronalen Informationsprozesse besser zu verstehen, vor allem die molekularen Reaktionen und Reaktionsketten in Nervenzellen, welche die Eigenschaften von Netzwerk und Nervensystem beeinflussen. Jedoch bleibt das Gehirn als Ganzes – sowohl im gesunden als auch pathologisch veränderten Zustand – weiterhin ein Rätsel und damit auch das Verständnis der Pathophysiologie vieler neurologischer und neuropsychiatrischer Erkrankungen. Für viele dieser Erkrankungen kennen wir weder Heilmittel noch wirksame Behandlungen. Mittlerweile lassen sich den verschiedenen Hirnarealen spezielle Funktionen zuordnen oder Fehlfunktionen erkennen und lokalisieren. Doch die verwendeten klinischen Methoden, darunter Elektroenzephalographie (EEG), Computertomographie oder funktionelle Magnetresonanztomographie, erlauben es in der Regel nicht, die neuronale Kommunikation mit Einzellaufklärung zu erfassen, sondern können lediglich die Aktivität großer Zellverbände detektieren. Selbst eine Auflösung im Sub-Millimeter-Bereich erfasst immer noch die Aktivität



In der bioelektronischen Grundlagenforschung bilden neuronale Netzwerke die Basis, um die Kommunikation zwischen den Neuronen zu untersuchen. Das ab-

gebildete Netzwerk besteht aus kortikalen Neuronen (orange) und Gliazellen (grün). Die Zellkerne sind in blau dargestellt.

einiger zehntausend Neuronen. Daher sind Methoden notwendig, die mit ausreichend räumlicher und zeitlicher Auflösung Signale des Gehirns erfassen, um eine Analyse der neuronalen Kommunikation sowohl auf der Ebene von einzelnen Zellen als auch auf der von Netzwerken zu ermöglichen [1]. Ferner ist für therapeutische Zwecke eine bidirektionale Kommunikation wünschenswert, d. h. über die reine Untersuchung der neuronalen Signale hinaus auch die Möglichkeit, die Netzwerkaktivität gezielt zu beeinflussen.

KOMPAKT

- Nervenzellen – die Bausteine des Gehirns – kommunizieren sowohl über chemische als auch elektrische Signale. Diese Kommunikation lässt sich elektrisch detektieren.
- Mikroelektrodenarrays (MEAs) ermöglichen durch eine Vielzahl von Interaktionspunkten die Untersuchung der Kommunikation neuronaler Netzwerke.
- Für eine optimale Signaldetektion und Netzwerkanalyse sind die räumliche und zeitliche Auflösung sowie die Kopplungseffizienz die wichtigsten Parameter bei der Anwendung von MEAs.

Prof. Dr. Andreas Offenhäusser und Dr. Sabrina Weidlich, Institut für Bioelektronik (ICS-8), Forschungszentrum Jülich, 52425 Jülich

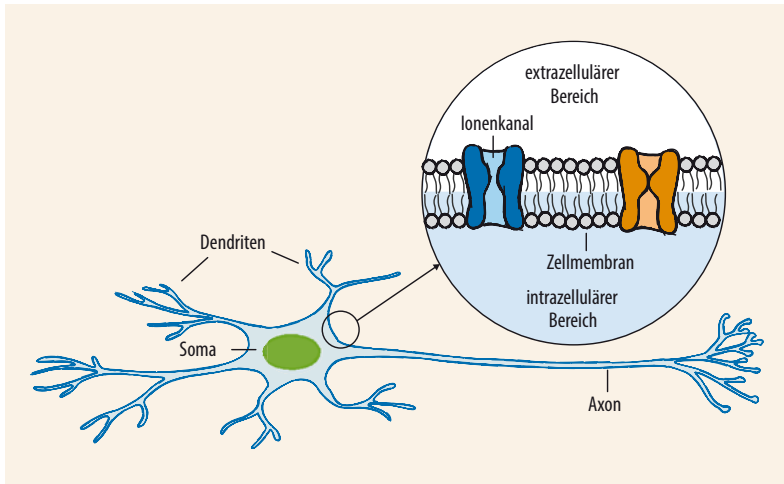


Abb. 1 Nervenzellen bestehen aus einem Zellkörper (Soma), Dendriten zum Empfang von Informationen und einem Axon, das die Informationen weiterleitet. Der Durchmesser des Somas beträgt zwischen 10 und 50 Mikrometer, der Querschnitt des Axons liegt bei zwei bis

fünf Mikrometer. Seine Länge kann mehr als zwei Meter betragen. Neuronen sind von einer Zellmembran umgeben, die aus einer Lipiddoppelschicht besteht (Inset). Ionenkanäle ermöglichen den Ionenaustausch zwischen dem intra- und extrazellulären Bereich.

Eine Herangehensweise, um die grundlegenden Mechanismen zu erforschen, ist die Vereinfachung des untersuchten Systems: In einem kleineren zellulären *in vitro*-Netzwerk reduziert sich die Komplexität im Vergleich zum vollständigen *in vivo*-Organ. Damit lässt sich eine gute räumliche Auflösung im Bereich von wenigen Mikrometern, also nahe der Größenordnung der Nervenzelle, sowie eine zeitliche Auflösung auf der Sub-Millisekunden-Skala erreichen. Über die zelluläre Aktivität und Analyse neuronaler Schaltkreise hinaus ermöglichen *in vitro*-Studien zudem Wirkstofftests. Das macht diesen Ansatz zu einer wichtigen Methode in den Neurowissenschaften.

Zusammenfassend hat die Neuroelektronik das Ziel, das Nervensystem zu untersuchen und zu verstehen – angefangen von der Synapse über die Einzelzelle zum Zellverband, zum Gehirnnareal und schließlich bis zum Gehirn.

+) www.physiologyweb.com/calculators/ghk_equation_calculator.html

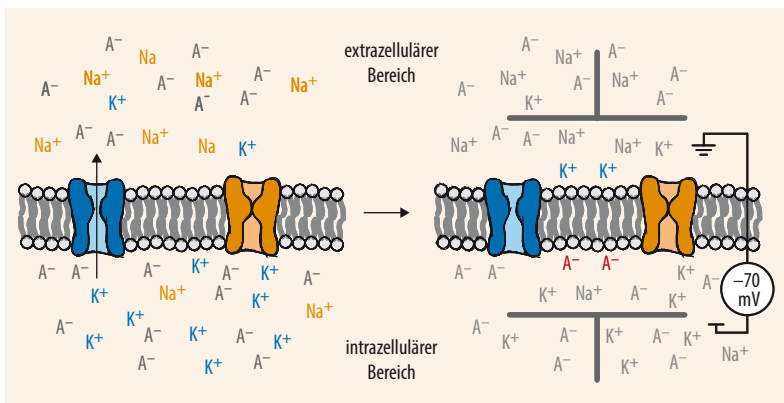


Abb. 2 Über Kalium-Ionenkanäle wandern K^+ -Ionen entlang ihres Konzentrationsgradienten in den extrazellulären Bereich, bis die treibende Kraft des Konzentrationsgradienten der entgegen-

gesetzten elektrostatischen Abstoßung entspricht. Die Zellmembran übernimmt dabei die Funktion eines Dielektrikums in einem Kondensator.

Physiologie der Nervenzelle

Nervenzellen sind die Rechenzentren des menschlichen Gehirns (**Abb. 1**) [2]. In Neuronen findet die Kommunikation über Änderungen des Membranpotentials (Aktionspotentiale) statt, die vom Soma entlang des Axons zu den Synapsen verlaufen. Synapsen sind Kontaktstellen zwischen Nervenzellen, an denen Signale auf chemischem Weg über die Ausschüttung von Signalmolekülen (Neurotransmitter) an die nächste Zelle übermittelt werden. In der nachgeschalteten Zelle geben die Dendriten das Signal wieder auf elektrischem Weg an das Soma weiter. Diese intrazelluläre Signalweiterleitung ist für die Neurowissenschaften besonders interessant, da sie aufgrund ihrer elektrischen Natur mit elektronischen Bauteilen detektierbar ist.

Doch wie generieren Neuronen ein elektrisches Signal? Die Zellmembran besteht aus einer Lipiddoppelschicht, die für Wasser und gelöste Ionen praktisch undurchlässig ist und bei der spezielle Proteine – die Ionenkanäle – einen Ionenaustausch ermöglichen. In Neuronen bestehen auf den beiden Seiten der Zellmembran unterschiedliche Konzentrationen verschiedener Ionensorten, beispielsweise von Kalium (K^+), Natrium (Na^+) und Chlorid (Cl^-). So ist die Kalium-Konzentration innerhalb der Zelle deutlich höher als außerhalb, während die extrazelluläre Konzentration von Natrium höher ist als die intrazelluläre. Daraus ergibt sich ein Konzentrationsgradient über die Membran, der als treibende Kraft für die Bewegung der jeweiligen Ionen wirkt und zu einer elektrischen Spannung über die Membran führt, dem Membranpotential. Die Zellmembran ist ohne externen Stimulus vor allem für Kalium-Ionen durchlässig. Dabei stellt sich ein Gleichgewicht ein, bei dem Kalium so lange aus der Zelle heraus diffundiert, bis sich ein Kräftegleichgewicht zwischen Konzentrationsgefälle und elektrostatischer Abstoßung einstellt. Die Membran gleicht dann einem Kondensator (**Abb. 2**). Die Differenz der Potentiale des Zellinneren und des extrazellulären Bereiches ist das Membranpotential (V_m). In Ruhe, also ohne externen Stimulus, beträgt das Membranpotential einer Nervenzelle -70 mV. Dieses Membranpotential lässt sich etwa mittels der Goldman-Hodgkin-Katz-Gleichung berechnen, die neben den intra- und extrazellulären Konzentrationen der wichtigsten beteiligten Ionen auch deren Membran-Permeabilitäten berücksichtigt.⁺⁾

Neben den bereits genannten Kalium-Ionenkanälen enthält die Zellmembran auch Natrium- und Chlorid-Ionenkanäle, deren Leitfähigkeiten sich in Abhängigkeit vom Membranpotential verändern und so die Diffusion dieser Ionen über die Zellmembran ermöglichen. Darüber hinaus gibt es aktive Ionen-Transporter, die Ionen entlang oder sogar entgegen ihres Konzentrationsgradienten über die Membran verschieben. Die Kombination dieser verschiedenen Kanäle und Transporter sorgt für die Fähigkeit der Nervenzelle, ein elektrisches Signal auszubilden. Empfängt die Nervenzelle einen Stimulus, der das Membranpotential von

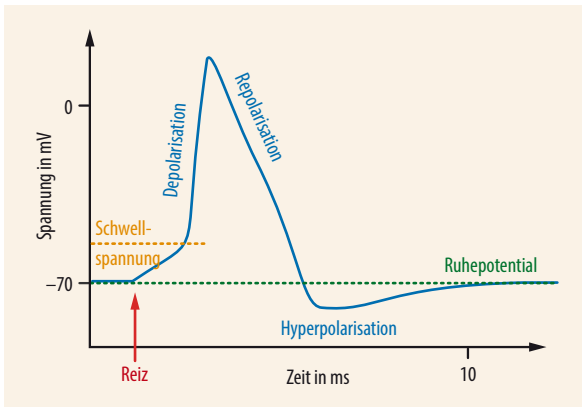


Abb. 3 Empfängt eine Nervenzelle einen Stimulus, der das Membranpotential über den Schwellenwert hebt, bildet sich ein Aktionspotential. Dabei erhöht sich die Membranspannung V_m in der Depolarisationsphase bis in den positiven Bereich. Anschließend stellt sich das Ruhepotential wieder ein. Dieser Prozess dauert etwa fünf bis zehn Millisekunden.

-70 mV über das Schwellenpotential von -55 mV verschiebt, sendet sie ein Aktionspotential (Abb. 3).

Das erhöhte Membranpotential öffnet spannungsgesteuerte Natrium-Ionenkanäle, Na^+ -Ionen strömen in die Zelle und die Membranspannung erhöht sich noch weiter. Diese Phase heißt Depolarisation. Mit leichter Verzögerung öffnen sich spannungsgesteuerte Kalium-Ionenkanäle: K^+ -Ionen strömen aus der Zelle. Gleichzeitig werden die Natrium-Kanäle blockiert, sodass keine weiteren Natrium-Ionen in die Zelle eindringen. In dieser Repolarisationsphase sinkt die Membranspannung bis unter das Ruhepotential. Dies wird Hyperpolarisation genannt. Anschließend stellt sich das Ruhepotential wieder ein.

Die in den Nervenzellen gebildeten Aktionspotentiale breiten sich entlang des Axons weiter aus. In der Synapse wandelt sich das elektrische Signal des Aktionspotentials in ein chemisches Signal um. Die Neurotransmitter werden in den synaptischen Spalt ausgeschüttet. Sie diffundieren durch diesen flüssigkeitsgefüllten Raum zwischen zwei benachbarten Neuronen, binden an spezifische Proteine in der Membran der Nachbarzellen und lösen in diesen Zellen eine elektrische Antwort aus. Typischerweise ist die Weiterleitung eines Aktionspotentials vom Soma zur Synapse gerichtet. Nach Überschreiten des Schwellenpotentials aktiviert auch hier die Änderung des Membranpotentials die spannungsgesteuerten Natrium-Ionenkanäle. Na^+ -Ionen gelangen in die Zelle, das Membranpotential depolarisiert. Bereits zwei Millise-

kunden nach der Öffnung der Natrium-Ionenkanäle schließen sie sich wieder und sind für 10 bis 20 ms inaktiv. Dann wiederholt sich der Vorgang. Wegen der spezifischen Eigenschaften der Natrium-Ionenkanäle lässt sich ein Aktionspotential entlang eines Axons nur in eine Richtung fortführen, da sich die zurückliegende Membran aufgrund der anhaltenden Inaktivierung (noch) nicht wieder erregen lässt. Auf diese Weise pflanzt sich das Aktionspotential schnell über lange Distanzen fort.

An der Schnittstelle von Neuronen und Elektronik

Die Standardmethode, um neuronale Aktivität *in vitro* zu untersuchen, ist die Patch-Clamp-Technik, bei der eine feine Glaspipette an die Zellmembran herangeführt wird (Abb. 4a). Dabei entsteht eine elektrisch dichte Verbindung zwischen dem Glasrand der Messelektrode und der Zellmembran, sodass Leckströme vernachlässigbar sind. Nach Öffnen der Membran lassen sich durch den direkten Kontakt zum intrazellulären Bereich mit dieser Methode Signale hoher Amplitude ohne viel Rauschen aufnehmen. Die Patch-Clamp-Technik ermöglichte viele wichtige Erkenntnisse über die Funktionsweise neuronaler Zellen. Doch eine Betrachtung von Einzelzellen reicht nicht aus, um zu verstehen, wie Neuronen miteinander kommunizieren, wie Lernprozesse auf der Zellebene funktionie-

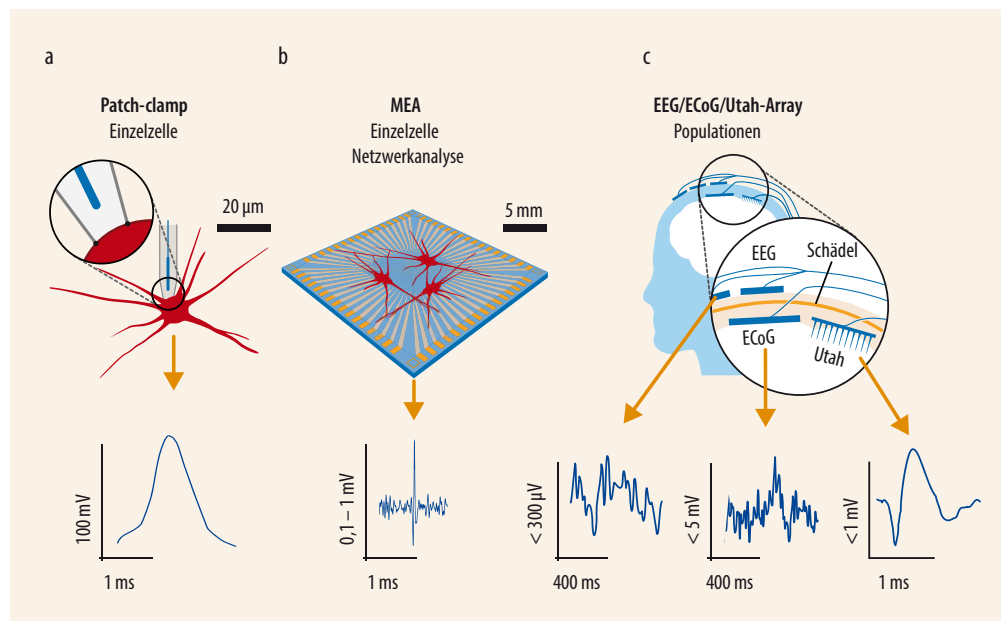


Abb. 4 Die neuronale Kommunikation lässt sich auf sehr unterschiedliche Weisen untersuchen. Die Patch-Clamp-Technik erlaubt es, Einzelzellen *in vitro* mit hoher Signalamplitude nahe des tatsächlichen intrazellulären Signals zu messen (a). Mikroelektrodenarrays (MEAs, b) liefern dagegen zwar deutlich geringere Signalamplituden, können aber mit Einzellaufklärung korrelierte Information über die Netzwerkaktivität liefern. *In vivo* kommen MEAs mit größeren Elektrodenflächen zum Einsatz (c): Diese ECoG-Implantate werden unter der Schädeldecke in direktem Kontakt zur Gehirnoberfläche im-

plantiert und können im Vergleich zum EEG eine bessere räumliche Auflösung in der Größenordnung von einem Zentimeter liefern, während das EEG-Signal einen Bereich mehrerer Zentimeter erfasst. Beide Methoden messen die überlagerten Signale der Zellpopulationen im Messbereich. Ein Spezialfall der *in vivo*-MEAs sind penetrierende Elektroden, wie beim Utah-Array. Durch feine, nadelförmige Elektroden, die ins Gewebe eingebracht werden, lässt sich die Ortsauflösung im Vergleich zum ECoG verbessern und so die gemessenen Signale von deutlich kleineren Zellpopulationen erfassen.

ren, oder wie sich Zellpopulationen im Krankheitsfall verhalten. Dafür sind vielzählige Interaktionspunkte nötig, mit denen sich neuronale Netzwerke analysieren lassen, und das in wiederholten Messungen über längere Zeiträume. Beides sind Aspekte, welche die Patch-Clamp-Technik nicht erfüllt.

Mikroelektrodenarrays (MEAs) stellen eine vielversprechende und intensiv erforschte Alternative dar. Erste erfolgreiche Aktionspotentialmessungen mit MEAs führte C. A. Thomas bereits 1972 durch [3]. Der Begriff Mikroelektrodenarray ist dabei eine allgemeine Klassifizierung, die Bauteile verschiedenster Größe und Elektrodenanzahl umfasst. Während Form, Größe, Material und Design somit völlig unterschiedlich sein können, haben alle MEAs gemein, dass sie aus einer Vielzahl mikrometergroßer Elektroden bestehen und mit multiplen Interaktionspunkten eine parallelisierte und korrelierte Zellsignalmessung ermöglichen (Abb. 5). Dadurch und wegen ihrer nichtinvasiven Funktionsweise erlauben es diese Systeme, neuronale Netzwerke über längere Zeiträume zu untersuchen. Dabei lassen sich MEAs durch das Design flexibel an diverse Fragestellungen anpassen.

Passiv und aktiv zum besseren Kontakt

Eine Alternative zum Einsatz passiver Metallelektroden ist die Verwendung aktiver Bauelemente, z. B. Feld-Effekt-Transistoren (FETs). Ihr großer Vorteil im Vergleich zu passiven MEAs ist die Möglichkeit der bauteilbedingten Signalverstärkung. In beiden Fällen – MEAs oder FETs – werden *in vitro* nach der Fabrikation Zellsuspensionen aus dissoziiertem Nervengewebe auf den Messbereich aufgebracht, wo die Neuronen anwachsen und über die Zeit zu einem aktiven, neuronalen Netzwerk heranreifen (Abb. 4b). Ist eine genaue Positionierung der Zellen erwünscht, kann dies durch das lokale Aufbringen von Proteinmustern geschehen, welche die Nervenzellen dazu bewegen, nur an bestimmten Punkten auf dem Bauteil anzuhafte. Zwei Faktoren beeinflussen, wie effektiv sich die Signale auf

Basis von MEAs oder FETs ableiten lassen: die räumliche Auflösung und die Kopplungseffizienz. Für eine optimale räumliche Auflösung sind Elektroden möglichst kleiner Geometrie und hoher Dichte nötig. Im Idealfall sollten die Elektroden dabei wenige Mikrometer groß und somit kleiner als der Durchmesser der Einzelzelle sein (Abb. 6). Je näher beieinander diese Elektroden angeordnet sind, desto genauer lässt sich das Netzwerk untersuchen. Der perfekte MEA besteht aus möglichst vielen, kleinen Elektroden, die im kleinstmöglichem Abstand auf dem Bauteil angelegt sind. Diese Anforderung führt jedoch zu mehreren technischen Herausforderungen: Einerseits bedingt eine hohe Elektrodendichte die Entwicklung einer Methodik, um mehrere hundert oder gar tausend Interaktionspunkte zu adressieren. Eine Möglichkeit dafür ist die Verwendung von CMOS-Technologie (Complementary Metal-Oxide-Semiconductor), bei der mehrere Elektroden durch integrierte Schaltungen auf einen Readout-Kanal ausgegeben werden können [4]. Andererseits führt die Reduktion der Elektrodenoberfläche aufgrund der verringerten Doppelschichtkapazität zu einer erhöhten Elektrodenimpedanz und somit nach Johnson-Nyquist zu einem erhöhten Wärmerauschen bei spannungsbasierten Messungen. Hier können FETs Vorteile bieten, da sie im Gegensatz zu MEAs aufgrund der strombasierten Messtechnik nicht impedanzlimitiert sind. Um die Impedanz passiver MEA-Elektroden zu verringern, kann die aktive Oberfläche mittels rauer oder poröser Materialien erhöht werden. Dazu dienen etwa Platin-schwarz oder Titanitrid – hochgradig poröse, teilweise elektrochemisch hergestellte Metallschichten. Die Langzeitstabilität poröser Metallschichten stellt jedoch weiterhin eine große Herausforderung dar, die im Rahmen der Grundlagenforschung zumindest im Bereich von einigen Wochen bis Monaten liegen sollte, für medizinische Anwendungen hingegen mehrere Jahre betragen muss. Neben metallischen Materialien kommen hier zunehmend auch leitfähige Polymere zum Einsatz, was ebenfalls zu niedriger Elektrodenimpedanz führt. Auch hier ist die nötige Langzeitstabilität für die klinische Anwendung bislang nicht gegeben.

Die zweite Problematik – die Kopplungseffizienz der extrazellulären Signalableitung – lässt sich am besten anhand eines Ersatzschaltbildes verdeutlichen (Abb. 6). Während eines Aktionspotentials fließen Ionen in den Spalt zwischen Zelle und (Gate)-Elektrode. Entscheidend für die Effizienz der Signalerfassung ist dabei der Abdichtwiderstand, den der Kontakt zwischen Zelle und Elektrode dominiert. Bei der Patch-Clamp-Technik liegt der Abdichtwiderstand R_{Seal} von Pipette zu Zellmembran im Gigaohm-Bereich, wodurch das Aktionspotential mit Signalamplituden in der Größenordnung des intrazellulären Signals von 100 mV nahezu ungestört zu messen ist. Im Gegensatz dazu sind auf MEAs lediglich geringe R_{Seal} im Bereich von 100 k Ω bis zu einigen M Ω zu beobachten und somit Amplituden von durchschnittlich nur 0,1 bis

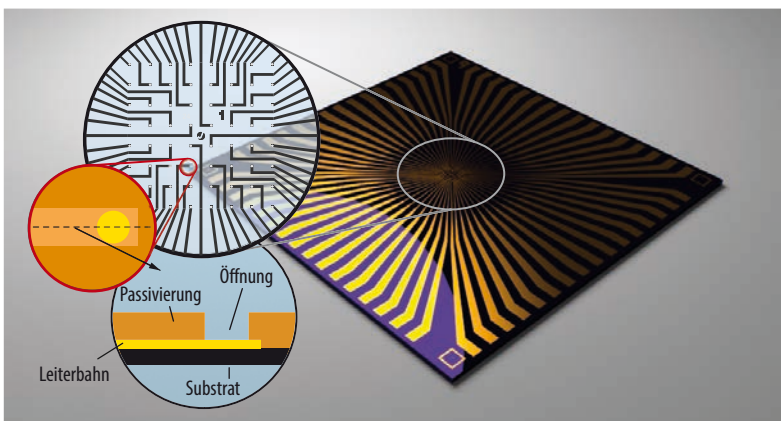


Abb. 5 Bei einem Mikroelektrodenarray mit 64 Kontaktpunkten, wie er am Institut für Bioelektronik am Forschungszentrum Jülich verwendet wird, sind die metal-

lischen Leiterbahnen mit einer Passivierungsschicht verdeckt. Kleine Öffnungen im Zentrum des Chips ermöglichen die Interaktion mit den Nervenzellen.

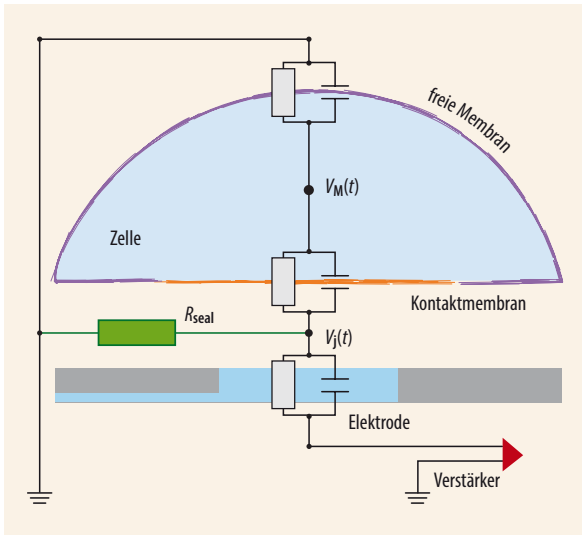


Abb. 6 Im Punktkontakt-Modell des neuroelektronischen Hybrids lassen sich sowohl die Zellmembranen als auch die (Gate)-Elektrode durch eine Parallelschaltung eines Widerstandes und Kondensators darstellen. Der Abdichtwiderstand R_{seal} beschreibt dabei die elektrischen Eigenschaften des Spalts zwischen Zelle und Elektrode [5].

zu 1 Prozent des Aktionspotentials, also 0,1 bis 1 mV messbar. Dadurch lassen sich zwar neuronale Aktionspotentiale messen und somit die Netzwerkkommunikation untersuchen und korrelieren. Ein großer Anteil der neuronalen Kommunikation verläuft jedoch über unterschwellige Signale mit geringer Amplitude, die durch die geringe Kopplungseffizienz von MEAs nicht detektierbar ist. Der geringe Abdichtwiderstand ergibt sich durch den Abstand zwischen Zellmembran und Elektrodenoberfläche, der im Normalfall zwischen 40 und 150 nm liegt. Ein zentraler Ansatzpunkt für die Verbesserung der MEA-Messergebnisse ist es, einen besseren Kontakt zwischen Zelle und Elektrode zu schaffen und so den Abdichtwiderstand zu erhöhen.

Dreidimensionale Interaktion

Dreidimensionale Strukturen sind eine vielversprechende Strategie, um den Abdichtwiderstand zu erhöhen. Dabei gibt es bereits eine Vielzahl verschiedener Designkonzepte. Im Einsatz sind nadelförmige Strukturen mit Durchmesser im Bereich weniger hundert Nanometer und Höhen von mehreren Mikrometern (Abb. 7a), um ähnlich wie bei Patch-Clamp-Elektroden die Zellmembran zu öffnen und so Aktionspotentiale mit hoher Signalqualität im Bereich mehrerer (zehn) Millivolt zu detektieren. Im Gegensatz zur Glaskapillare, mit der sich aktiv ein Zugang zum Zellinneren schaffen lässt, gelingt dies mit Nanonadeln spontan nur mit einer vergleichsweise geringen Wahrscheinlichkeit. Auch wenn mit diesem Ansatz sehr große Signale detektierbar sind, begrenzt dies die Effizienz derzeit ebenso wie die hohe Impedanz der Nanostrukturen. Zudem haben die Zellen das Bestreben, Löcher in der Zellmembran zu schließen.

Nadelförmige 3D-Strukturen finden auch für FETs Anwendung [6], die bei der Miniaturisierung nicht impedanzlimitiert sind. Dadurch lassen sich hier 3D-Strukturen mit Durchmessern von nur wenigen zehn Nanometern entwickeln, die spontan Zugang zum intrazellulären Bereich schaffen. Mit diesen NanoFETs gelang es in der Vergangenheit, Aktionspotentiale von Herzmuskelzellen *in vitro* mit beachtlicher Amplitude von 80 mV aufzunehmen. Im Gegensatz zu regulären MEAs handelt es sich bei FETs bislang jedoch um eine unidirektionale Interaktion, die zelluläre Aktivität zwar detektieren, aber nicht stimulieren kann.

Ein weiterer Ansatz sind pilzförmige 3D-Elektroden (Abb. 7b). Im Gegensatz zu den Nanonadeln wird hierbei nicht darauf gesetzt, intrazelluläre Ableitungen durchzuführen. Die Strategie ist vielmehr, einen möglichst guten Kontakt zu schaffen. Dabei zeigte sich, dass die Zelle die 3D-Elektrode aufgrund der pilzförmigen Struktur eng umschließt. Dies könnte daran liegen, dass die Strukturen den Dornfortsätzen der Dendriten ähneln, also jenen Stellen, die Signale einer präsynaptischen Zelle empfangen. Ein anderer Grund könnte die Induktion der Phagozytose sein, also des Prozesses, mit dem Zellen große Objekte aufnehmen. Aber auch wenn die genaue Ursache des verbesserten Kontaktes noch kontrovers diskutiert wird, ließen sich mit diesen pilzförmigen Strukturen Aktionspotentiale mit signifikant höherer Amplitude und verbessertem Signal-zu-Rausch-Verhältnis detektieren als mit planaren MEAs. Bei Messungen an Rattenneuronen aus dem Hippocampus gelang es beispielsweise, Aktionspotentiale mit einer Amplitude von bis zu 5 mV zu messen, was eine Verbesserung von 500 Prozent im Vergleich zu planaren MEAs darstellt [7].

So genannte Nanocavities (Abb. 7c) sollen dafür sorgen, dass die Zelle eine kleine Öffnung ähnlich wie bei einer Patch-Clamp-Elektrode von selbst abdichtet und dabei einen sehr guten Abdichtwiderstand erzeugt. Um hohes Rauschen zu vermeiden, vergrößert ein Hohlraum die MEA-Fläche unter der Passivierungsschicht. Der Hohlraum ist dabei 100 nm hoch und hat eine laterale Ausdehnung von mehreren 10 Mikrometern. Das beeinflusst sowohl die elektrischen Eigenschaften der Elektrode als auch den Zell-Elektroden-Kontakt positiv. Da die vergrößerte Fläche bei Nanocavity-MEAs lediglich unterhalb der Passivierungsschicht besteht, lässt sich weiterhin mit kleinen Öffnungsgrößen arbeiten, um die räumliche Auflösung auf die Messung von

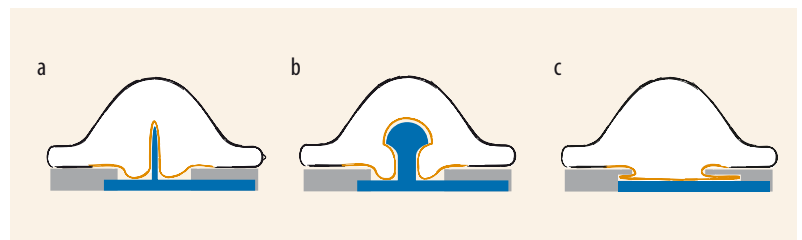


Abb. 7 Verschiedene dreidimensionale Designkonzepte erhöhen den Abdichtwiderstand und verbessern so den Kontakt zwischen Elektrode und Neuron: nadelförmige (a) und pilzförmige Strukturen (b) sowie Nanocavities (c).

Einzelzellen zu beschränken. Trotz der geringen Höhe der Struktur beobachtet man zelluläres Wachstum in den Hohlraum, was einen sehr dichten Kontakt und somit einen großen R_{seal} schafft. Das erlaubt es, zelluläre Signale mit deutlich höherer Amplitude von bis zu 5 mV zu erfassen, wiederum eine Verbesserung von rund 500 Prozent im Vergleich zum planaren MEA.

Während sowohl pilzförmige 3D-Strukturen wie auch Nanocavity-MEAs weiterhin keine zur Patch-Clamp-Methode vergleichbare Signalqualität erreichen, führen diese Ansätze jedoch zu einer deutlichen Verbesserung im Vergleich zum planaren MEA und ermöglichen *in vitro* eine bedeutend detailliertere Untersuchung neuronaler Netzwerke.

Flexibel zur Anwendung

Während MEAs primär Anwendung im *in vitro*-Bereich erfahren, um grundsätzliche Fragen der Kommunikation neuronaler Netzwerke oder der Aktivität von (Herz-)Muskelzellen zu beantworten, finden spezielle Elektrodenarrays auch *in vivo* Verwendung. Ein Beispiel dafür ist die Elektrokortikographie (ECoG), bei der deutlich größere Elektroden unter der Schädeldecke auf das Gehirn aufgebracht werden. Im Vergleich zum EEG lässt sich dadurch sowohl die räumliche Auflösung wie auch die Signalamplitude verbessern, da der dämpfende Einfluss der Schädeldecke entfällt.

Ein weiteres Beispiel für Anwendungen *in vivo* ist der Utah-Array. Er besteht aus 100 Siliziumnadeln von je 15 mm Länge, die auf einer Basis ($4 \times 4 \text{ mm}^2$) verbaut sind (Abb. 4c) und wird unter anderem in klinischen Studien bei Ableitungen aus dem Motorcortex von querschnittsgelähmten Patienten eingesetzt [8]. Seine makroskopische Größe ermöglicht es dabei, die Aktivität kleiner Zellpopulationen durch Insertion der Nadeln in das Nervengewebe zu messen, die durch eine computerbasierte Auswertung in Bewegungsimpulse umzusetzen sind. Diverse starre Elektrodenarrays wie der Utah-Array sind für wissenschaftliche und erste klinische Studien erfolgreich verwendet worden. Doch der signifikante Unterschied zwischen sehr weichem Gehirngewebe und der rigiden siliziumbasierten Elektronik ruft Entzündungen hervor. Nach der Implantation führt das rasch zu einer Verkapselung des Bauteils durch Gliazellen und somit zu einer verringerten Effizienz. Der Utah-Array ist seitens der US-amerikanischen Behörde für Lebens- und Arzneimittel (FDA) nur bis maximal 30 Tage für die Implantation ins menschliche Gehirn zugelassen.

Um wirklich erfolgreich den Schritt vom Experiment zur Anwendung machen zu können, ist es notwendig, Elektroden auf flexiblen Substraten herzustellen [9, 10]. Dabei steht man jedoch vor großen Herausforderungen: So sind beim Übergang von klassischer Siliziumtechnologie zu flexiblen Polymersubstraten fabrikationsbedingte Schwierigkeiten zu überwinden, etwa die Prozessanpassung an den Temperaturbereich, in dem das flexible Polymersubstrat beständig ist.

Auch gilt es zu gewährleisten, dass die Zersetzung der Komponenten nicht zu giftigen Abbauprodukten führt.

Die Anforderungen an flexible Elektrodensysteme sind zudem hochgradig anwendungsabhängig. Wenn man diese in den Kortex implantieren möchte, um Signale aus bestimmten Schichten des Kortex gut lokalisiert zu erfassen, gilt es, die nötige mechanische Stabilität zu erreichen, um eine Insertion in das Gewebe zu ermöglichen und trotzdem anschließend ein flexibles Elektrodensystem zu erhalten. Im peripheren Nervensystem finden bereits Manschettenelektroden Anwendung, die den jeweiligen Nerv ummanteln. Hierbei besteht die Schwierigkeit, einen guten Kontakt herzustellen, der nicht aufgrund von Bewegung zur Beschädigung des Nervs führt [11]. Der Weg zum funktionalen, biokompatiblen und langzeitstabilen Gehirn-Computer-Interface dürfte also noch lang sein.

Auf dem Weg dorthin sind bioelektrische Methoden zur Analyse der zellulären Prozesse im Gehirn ein wichtiger Schritt und einer der Schlüssel, um später einmal verstehen zu können, was uns als Menschen ausmacht.

Literatur

- [1] A. P. Alivisatos et al., ACS Nano 7, 1850 (2013)
- [2] E. R. Kandel et al., Principles of Neural Science, McGraw-Hill, New York (2000)
- [3] C. A. Thomas et al., Exp. Cell Res. 74, 61 (1972)
- [4] D. J. Bakkum et al., Nature Communications 4, 2181 (2013)
- [5] M. E. Spira und A. Hai, Nature Nanotechnology 8, 83 (2013)
- [6] B. Tian und C. M. Lieber, Annu. Rev. Anal. Chem. 6, 31 (2013)
- [7] N. Shmoel et al., Sci. Rep. 6, 27110 (2016)
- [8] L. R. Hochberg et al., Nature 485, 7398 (2012)
- [9] A. Weltman et al., Micromachines 7, (2016)
- [10] J. H. Lee et al., Lab Chip 16, 959 (2016)
- [11] X. Navarro et al., J. Peripher. Nerv. Syst. 10, 229 (2005)

DIE AUTOREN

Andreas Offenhäusser (FV Biologische Physik, FV Chemische Physik und Polymerphysik) studierte Physik an der Universität Ulm, wo er 1989 seine Dissertation abschloss. Nach zwei Jahren bei der Robert Bosch GmbH nahm er von 1992 bis 1994 eine Postdoc-Stelle im Frontier Research Program am RIKEN in Japan an. Anschließend arbeitete er als Gruppenleiter am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz. Seit 2001 ist er Professor für Experimentalphysik an der RWTH Aachen und Leiter des Instituts für Bioelektronik (ICS-8) am Forschungszentrum Jülich.



Sabrina Weidlich studierte Chemie an der RWTH Aachen und schloss 2013 mit dem Master ab. Sie promovierte am Institut für Bioelektronik am FZ Jülich, wo sie sich mit der Verbesserung der Zell-Chip-Kopplung mittels dreidimensionaler Elektrodendesigns beschäftigte.

