



**CENTRO DE INVESTIGACIONES
EN OPTICA, A.C.**

**“DISEÑO, FABRICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UN
ARREGLO DE MICROELECTRODOS FLEXIBLES PARA SU
POSIBLE APLICACIÓN EN ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA
SELECTIVA Y EL REGISTRO DE SEÑALES LOCALIZADAS EN
LA CÓRNEA HUMANA”**



Tesis sometida como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en
Optomecatrónica

Presentada por:

Ing. Víctor Manuel Carpio Verdín

Director de Tesis:

Dra. Natiely Hernández Sebastián

LEÓN GUANAJUATO, MÉXICO
NOVIEMBRE 2024

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Hilaria y Víctor, y mis hermanas Hilda, Yesi y Laura por todo su apoyo y cariño mostrado en cada momento, siempre están en mi corazón; a mi novia Celia por su apoyo y comprensión a través de los años, te amo bonita.

A mi asesora la Dra. Natiely Hernández Sebastián por la confianza, atención, orientación, por compartir conocimiento y por contribuir en mi formación académica y personal. También agradezco al equipo de trabajo encabezado por la Dra. Natiely, especialmente a David y Alan.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias, Tecnologías (CONAHCYT), por la beca otorgada para la realización de mis estudios de Maestría.

Al Laboratorio Nacional CONAHCYT en Microtecnología y BioMEMS (LaNMiB). El acceso a su infraestructura y tecnología de vanguardia fueron fundamentales para el desarrollo del este proyecto.

Al Laboratorio Nacional de Óptica de la Visión (LANOV), en particular al proyecto N° ApoyosLNC-2023-121 denominado “Desarrollo de dispositivos oftálmicos de última generación en el Laboratorio Nacional de Óptica de la Visión”.

Al CNMN-IPN y al Laboratorio Nacional de Micro y Nanotecnología, por el apoyo experimental brindado durante el desarrollo de este proyecto.

RESUMEN

La estimulación eléctrica (EE) transcorneal (EET) es un enfoque prometedor para mejorar la percepción visual en pacientes con enfermedades degenerativas de la retina, incluyendo: degeneración macular relacionada con la edad (DMRE) y retinosis pigmentosa (RP). Diversos estudios han demostrado que la EET promueve la supervivencia celular y preserva la estructura y función de la retina, lo que respalda su uso en terapias oftalmológicas.

Hasta ahora, la EET se administra colocando un electrodo monoelemento en la superficie de la córnea. Este tipo de electrodos estimulan de manera uniforme al ojo; por lo cual, la EE selectiva y la distribución espacial están restringidas. La capacidad de seleccionar la zona objetivo y elegir de manera independiente el tipo de señal de estimulación, podría ser útil para tratar la pérdida de visión central, periférica y total.

Bajo esta premisa, en este proyecto de investigación se propone el diseño, fabricación y caracterización de un arreglo de microelectrodos para su aplicación en EE selectiva de la córnea. El arreglo propuesto está formado por 18 microelectrodos independientes distribuidos en la región central y paracentral de la córnea. El prototipo se fabricó utilizando únicamente tres materiales y combinando dos tipos de tecnología: micromaquinado de superficie y electrónica flexible.

El funcionamiento y fiabilidad del prototipo fabricado fueron validados mediante pruebas eléctricas, electroquímicas y térmicas; y su biocompatibilidad se demostró a partir de pruebas in-vivo. El prototipo resultante es mecánicamente flexible, biocompatible, tecnológicamente factible y con gran potencial para su uso en EE selectiva; además, debido a las características obtenidas, como selectividad y transmisión del espectro visible, se podría utilizar para el registro de señales eléctricas localizadas tipo electrorretinograma.

ABSTRACT

The transcorneal electrical stimulation (TES) is a promising approach to improve visual perception in patients with degenerative retinal diseases, such as age-related macular degeneration (AMD) and retinitis pigmentosa (RP). Several studies have demonstrated that the TES promotes cell survival and preserved the retinal structure and function, supporting its use in ophthalmological therapies.

Currently, the TES is delivered by placing a mono-element electrode on the surface of the cornea. This type of electrodes uniformly stimulates the eye; therefore, selective stimulation and spatial resolution are restricted. The ability to select the target zone and independently choosing the type of stimulation signal may be useful when treating loss of central vision, peripheral vision, or total vision, for example.

In this context, this research project proposes the design, fabrication and characterization of an array of microelectrodes for its application in selective electrical stimulation (ES) of the cornea. The proposed array consists of 18 independent electrodes distributed in the central and paracentral regions of the cornea. The prototype was fabricated using only three materials and combining two types of technology: surface micromachining and flexible electronics.

The functioning and reliability of the fabricated prototype was validated by electrical, electrochemical and thermal tests; and its biocompatibility was demonstrated by performing in-vivo tests. The resulting prototype is mechanically flexible, biocompatible, technologically feasible, with a high potential to be used for selective ES of the cornea. In addition, due to its design characteristics, such as selectivity and visible light transmission, it could be used to record localized electrical signals, such as electroretinogram.

LISTA DE ACRÓNIMOS

EE	Estimulación eléctrica
EET	Estimulación eléctrica transcorneal
DMRE	degeneración macular relacionada con la edad
RD	retinopatía diabética
anti-VEGF	Anti-factor de crecimiento endotelial vascular
RGC	Células ganglionares de la retina
SNC	Sistema nervioso central
EPR	Epitelio pigmentario de la retina
CGR	Capa de las células ganglionares
OMS	Organización Mundial de la Salud
IGF-1	Factor de crecimiento similar a la insulina 1
IL-1 β	Interleucina-1
TNF- α	Factor de necrosis tumoral
GS	Glutamina sintetasa
FGF-2	Fibroblastos 2
BDNF	Factor neurotrófico derivado del cerebro
CNTF	Factor neurotrófico ciliar
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular
DTL	Dawson, Trick y Litzkow
ERG	Electrorretinograma
CI	Circuito integrado
MEMS	Sistemas microelectromecánicos
BioMEMS	Sistemas microelectromecánicos para aplicaciones biomédicas
BOS	Background Oriented Schlieren
CCD	Dispositivo de carga acoplada
IPN	Instituto Politécnico Nacional
LNunT	Laboratorio Nacional de Micro y Nanotecnologías
LaNMiB	Laboratorio Nacional CONAHCYT en Microtecnología y BioMEMS
PI	Poliimida
NMP	N-metil-2-pirolidona
PAA	Ácido poliamico
FTIR	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier
O ₂	Oxígeno
Ti	Titanio

Al	Aluminio
AFM	Microscopia de fuerza atómica
HF	Ácido fluorhídrico
HNO ₃	Ácido nítrico
Si	Silicio
DI	Agua desionizada
RIE	Grabado iónico reactivo
PBS	Solución salina tamponada con fosfato
Ag	Plata
AgCl	Cloruro de plata
CE	Contraelectrodo
VO _x	Óxido de vanadio
TEC	Thermoelectric cooling or heating
NETD	Mínima diferencia de temperatura medible

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	I
RESUMEN	II
ABSTRACT	III
LISTA DE ACRÓNIMOS	IV
CONTENIDO	VI
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. ANTECEDENTES	2
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.3. JUSTIFICACIÓN	3
1.4. HIPÓTESIS.....	4
1.5. OBJETIVOS.....	4
1.5.1. Objetivo General	4
1.5.2. Objetivos Particulares	4
CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. ANATOMÍA Y FISIOLÓGÍA DEL OJO HUMANO	6
2.1.1. La córnea	7
2.2.2. La retina.....	10
2.2.3. Enfermedades degenerativas de la retina.....	13
2.3. ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA EN OFTALMOLOGÍA	16
2.3.1. Estimulación eléctrica transcorneal (EET)	18
2.4. TECNOLOGÍA DE MICROELECTRÓNICA.....	19
2.4.1. MEMS y BioMEMS	19
2.5. NORMATIVA APLICADA A DISPOSITIVOS MÉDICOS.....	20
2.5.1. ISO 10993 Biological evaluation of medical devices	21
2.6. BACKGROUND ORIENTED SCHLIEREN (BOS)	22
CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA	24
3.1. DISEÑO DEL ARREGLO DE MICROELECTRODOS.....	24
3.2. FABRICACIÓN DE MASCARILLAS.....	25
3.3. CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES.....	26
3.3.1. Poliimida.....	26
3.3.2. Fotorresina AZ 1512	30
3.3.3. Titanio.....	32
3.3.4. Aluminio	34
3.4. PROCESO DE FABRICACIÓN	36
3.4.1. Procedimiento	36
CAPÍTULO 4. CARACTERIZACIÓN	43
4.1. CARACTERIZACIÓN ELÉCTRICA	43
4.2. IMPEDANCIA ELECTROQUÍMICA	46

4.3. REGISTRO DE SEÑALES ELÉCTRICAS.....	47
4.3.1. Transmitancia de la PI	49
4.4. CARACTERIZACIÓN TÉRMICA	50
4.4.1. Simulación	50
4.4.2. Cámara Térmica	52
4.4.3. Background Oriented Schlieren (BOS).....	53
4.5. BIOCOMPATIBILIDAD	57
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO	59
5.1. CONCLUSIONES	59
5.2. TRABAJO A FUTURO	61
APÉNDICE A. RESULTADOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS	62
REFERENCIAS.....	64

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La estimulación eléctrica (EE) no invasiva de los ojos se ha estudiado como una herramienta terapéutica prometedora para recuperar la percepción visual en pacientes que padecen enfermedades degenerativas de la retina, como el glaucoma, la retinitis pigmentosa (RP), la degeneración macular relacionada con la edad (DMRE) y retinopatía diabética (RD) [1-4]. En estas enfermedades, aunque la etiología es diferente, el deterioro progresivo y la pérdida de la función de las neuronas retinianas es la principal causa de ceguera o pérdida total de la visión [2-4].

Actualmente, no existe cura para las enfermedades degenerativas de la retina, las terapias actuales están enfocadas en mejorar los síntomas y retrasar la muerte celular. Por ejemplo, se han utilizado suplementos nutricionales para prevenir la progresión de la RP, y el uso de inyecciones anti-factor de crecimiento endotelial vascular (anti-VEGF) para retrasar la neovascularización o eliminar vasos anormales en la DMRE [4-5]. Sin embargo, estos tratamientos se encuentran limitados para detener la progresión de la enfermedad o restaurar la visión [5]. En este sentido, la estrategia de tratamiento más reciente que muestra resultados alentadores es la EE transcorneal (EET) [5].

La EET es un método no invasivo para activar eléctricamente la retina [1-5], este método ha surgido como un tratamiento potencial para facilitar la restauración visual y mejorar la supervivencia de las células retinianas. Sus efectos neuroprotectores se atribuyen a múltiples mecanismos, incluyendo neurotróficos, antiinflamatorios, antiapoptóticos y vasodilatadores [6-10]. El tratamiento consiste en suministrar una corriente eléctrica de baja intensidad (en el rango de 10 a 30 mA) sobre la superficie de la córnea utilizando una lente de contacto conductora (electrodo ERG) o hilo conductor (electrodo DTL) que estimula a la retina de manera localizada [11-12]. Debido a que, en este tipo de electrodos el elemento activo es una superficie metálica continua, la EE selectiva y variable de la córnea están limitadas. Lo cual, podría ser útil para tratar la pérdida de visión central, periférica o total y ofrecer opciones de tratamiento personalizadas.

Bajo esta premisa, en el presente proyecto de investigación se propone el diseño, fabricación y caracterización de un nuevo arreglo de microelectrodos para su aplicación en EE selectiva y variable de la córnea humana. El diseño propuesto, considera las restricciones anatómicas y estructurales de la córnea humana, los estándares generales de la norma ISO 10993 (evaluación biológica de dispositivos médicos) y la combinación de dos tecnologías de fabricación: micromaquinado de superficie y electrónica flexible. El prototipo resultante es robusto, mecánicamente flexible, biocompatible y con gran potencial para ser utilizado en EE selectiva de la córnea humana. Además, debido a sus características de diseño y los resultados obtenidos, podría ser utilizado para el registro de señales eléctricas localizadas tipo electrorretinograma.

1.1. ANTECEDENTES

Los primeros vestigios de la aplicación de EE para tratar enfermedades oculares data de 1873, cuando el oftalmólogo suizo Henri Dor informó los efectos beneficios de la EE en el ojo mediante el tratamiento de diversas patologías, como: el glaucoma, ambliopía, amaurosis, retinocoroiditis y atrofia óptica blanca [13]. Después, en 1929 Otfrid Foerster documentó la respuesta neuronal a la EE en la corteza visual de un paciente [14]. Y en 1974, William Dobbelle demostró que la EE del sistema visual permite generar percepciones visuales mediante estimulación supraumbrales [15]. A pesar de que estos experimentos demostraron la posibilidad de inducir eléctricamente la percepción visual de destellos de luz, conocidos como fosfenos; no fue hasta el año 2002, que la EE en oftalmología despertó un renovado interés, debido a que Morimoto y colaboradores informaron el potencial terapéutico de la EE. En este estudio los autores (Morimoto, et al.,) aplicaron EE en el extremo cortado del nervio óptico de una rata, mejorando la supervivencia de las células ganglionares de la retina (RGC) axotomizadas [16].

Dos años después, en el 2004, el primer estudio clínico realizado por Chow y colaboradores confirmaron el efecto neuroprotector de la EE en pacientes con retinitis pigmentosa (RP) [17]. En este estudio, los autores informaron una mejora de la visión residual en pacientes que tenían una prótesis subretinal inactiva que generaba solo corriente subumbral, incluso se mostró mejoría en el área de la retina alejada al implante. A partir de entonces, se han realizado estudios emergentes para explorar el mecanismo de acción de la EE en la retina y su potencial terapéutico en enfermedades oculares.

Actualmente, la EE de la retina puede lograrse mediante dos enfoques: invasivo y no invasivo. La EE invasiva es la tecnología con mayor avance y se realiza a través de un conjunto de electrodos implantados que estimulan directamente las células ganglionares de la retina (RGC) supervivientes y las células bipolares. Hasta ahora, Argus II y Alpha-IMS son las prótesis de retina disponibles comercialmente [10, 18-20]. Por otro lado, la EE transcorneal (EET) es el método más utilizado para estimular la retina de manera no invasiva. La EET se aplica colocando un electrodo activo sobre la superficie de la córnea y la señal suministrada estimula la retina de manera localizada. Hoy en día, el sistema Okustim® es la única alternativa comercial para realizar EET [11, 21].

El sistema Okustim® y la mayoría de los dispositivos que se encuentran en desarrollo utilizan un electrodo monoelemento para aplicar la señal de estimulación sobre la superficie de la córnea, por lo cual, la resolución espacial y la EE selectiva están restringidas [22-24]. En este contexto, en el año 2015 Hernández y colaboradores reportaron el desarrollo de un arreglo de microelectrodos flexibles para la EE selectiva de la córnea humana [25]. El prototipo, compuesto por un arreglo de 16 microelectrodos independientes, fue fabricado utilizando la tecnología PolyMEMS INAOE® y técnicas avanzadas de microelectrónica; culminando en un proceso básico de fabricación de microelectrodos flexibles. Aunque el arreglo de microelectrodos fabricado se

probó con éxito a nivel laboratorio, los autores reportaron la necesidad de una propuesta de diseño más robusta y la redistribución espacial de los microelectrodos.

Por lo tanto, en el presente proyecto de investigación se abordarán estos desafíos, además de otros retos, que incluyen: el desarrollo de un proceso de fabricación reproducible y tecnológicamente factible en el Laboratorio Nacional CONAHCYT en Microtecnología y BioMEMS (LaNMiB) –primer proceso realizado en estas instalaciones– y la caracterización in-vivo del arreglo de microelectrodos para evaluar la biocompatibilidad del prototipo.

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La EET es una nueva opción de tratamiento terapéutico emergente para mejorar la percepción visual en pacientes con enfermedades degenerativas de la retina. Sin embargo, los sistemas actuales de EET utilizan un electrodo monoelemento, que estimula un área específica de la retina según la ubicación del electrodo. Esta configuración de electrodo, restringe la capacidad de realizar EE selectiva y variable, lo que afecta negativamente la resolución espacial y la posibilidad de seleccionar diferentes regiones de la retina. Esta limitación es particularmente relevante en el tratamiento de la pérdida de la visión central, periférica o total, donde la capacidad de ajustar la EE seleccionar una zona objetivo focalizada y elegir de manera independiente el tipo de señal eléctrica de estimulación podrían mejorar significativamente los resultados terapéuticos.

1.3. JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades degenerativas de la retina, son la principal causa de baja visión incurable y ceguera en todo el mundo [26]. Se estima, que más de 500 millones de personas a nivel mundial padecen algún tipo de enfermedad degenerativa de la retina. Entre las más comunes se encuentran la DMRE, que afecta a alrededor de 196 millones de personas; la retinopatía diabética, con una prevalencia de 148 millones; el glaucoma, con 76 millones de casos y la retinosis pigmentaria (RP), que afecta a más de 2 millones de personas [25-29]. Cabe mencionar, que estas cifras van en aumento debido al envejecimiento de la población.

Actualmente, las enfermedades degenerativas de la retina no tienen cura. Las terapias disponibles están dirigidas en mejorar los síntomas y ralentizar la enfermedad. Por lo cual, existe una gran necesidad de desarrollar nuevas opciones de tratamiento que permitan detener la progresión de la enfermedad y mejorar la percepción visual. En este sentido, la estrategia de tratamiento más reciente es la EE transcorneal (EET). Este nuevo método, consiste en activar eléctricamente la retina con una señal de estimulación que se administra sobre la córnea utilizando un electrodo activo [1-4].

Hasta ahora, los sistemas propuestos para aplicar EET utilizan electrodos de superficie metálica continua [18-20]. Sin embargo, este tipo de electrodos restringen la distribución espacial y la EE selectiva, ya que se caracterizan por estimular una zona específica de la retina que depende

de la ubicación del electrodo. A diferencia de esto, un arreglo de microelectrodos permitiría seleccionar la zona objetivo de manera focalizada y elegir de manera independiente el tipo de señal eléctrica de estimulación. Como resultado, un electrodo de este tipo podría ser beneficioso para tratar la pérdida de visión central, periférica o total, y ofrecer opciones de tratamiento personalizadas [11, 22-24].

El desarrollo de electrodos basados en la tecnología de microelectrónica y electrónica flexible ofrece una solución prometedora para superar las limitaciones de los sistemas actuales de EET. La integración de estos dos tipos de tecnología es un enfoque innovador que permite la fabricación precisa de arreglos de microelectrodos sobre un mismo substrato ergonómico flexible; con características, como: miniaturización, adaptabilidad anatómica, precisión, minimización de la invasividad, biocompatibilidad y la posibilidad de integración con otros sistemas. Un electrodo de este tipo, no solo permitiría realizar EE precisa y controlada de la retina, sino también profundizar en los estudios de EE selectiva de la córnea humana y ampliar su aplicabilidad al registro de señales eléctricas localizadas.

1.4. HIPÓTESIS

El desarrollo de un arreglo de microelectrodos flexibles utilizando la tecnología de micromaquinado de superficie y electrónica flexible permitirá obtener un prototipo biocompatible, robusto, con alta adaptabilidad a la superficie de la córnea y con propiedades eléctricas, térmicas y mecánicas óptimas para realizar EE selectiva de la córnea humana, así como el registro de señales localizadas.

1.5. OBJETIVOS

1.5.1. Objetivo General

El objetivo general del presente proyecto de investigación es **diseñar, fabricar y caracterizar un arreglo de microelectrodos flexibles utilizando la tecnología de micromaquinado de superficie y electrónica flexible. El diseño y la fabricación de los microelectrodos se desarrollará considerando su aplicación en estimulación eléctrica selectiva y el registro de señales localizadas en la córnea humana.**

1.5.2. Objetivos Particulares

1. Diseñar un arreglo de microelectrodos flexibles (Layout) considerando los requisitos anatómicos y estructurales de la córnea humana.
2. Fabricar los diferentes niveles de mascarillas definidos en el diseño del Layout.
3. Caracterizar y optimizar los materiales propuestos para la fabricación del arreglo de microelectrodos flexibles.

4. Fabricar el arreglo de microelectrodos flexibles utilizando la tecnología de micromaquinado de superficie y electrónica flexible.
5. Caracterizar a nivel laboratorio el prototipo fabricado para evaluar su comportamiento eléctrico, electroquímico y térmico.
6. Realizar pruebas iniciales in-vivo para evaluar la biocompatibilidad del prototipo fabricado.

CAPÍTULO 2. MARCO TEÓRICO

2.1. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DEL OJO HUMANO

Los sentidos son capacidades perceptivas que permiten a los seres vivos interactuar con su entorno. Estos incluyen: la vista, el oído, el olfato, el gusto y el tacto. A través de estos sentidos, los seres humanos y otros seres vivos pueden recibir información del exterior y procesarla para tomar decisiones, experimentar emociones y adaptarse a su entorno de manera efectiva [32].

El sentido de la vista, también conocido como visión, es uno de los sentidos primordiales que permite a los seres vivos percibir el mundo que les rodea, a través de la interpretación de la luz. Este proceso se lleva a cabo gracias a la acción coordinada de estructuras especializadas que componen el sistema visual, incluyendo: en el ojo, el nervio óptico y el cerebro [33].

El proceso visual en el ojo humano comienza con la entrada de la luz a través de la córnea, que es el primer medio refractivo del ojo. Luego, pasa a través del cristalino, donde se enfoca para formar una imagen nítida en la retina, que cubre la parte posterior del ojo. En la retina, las células sensoriales llamadas fotorreceptores (conos y bastones) convierten la luz en señales eléctricas que son transmitidas al cerebro a través del nervio óptico. El cerebro procesa estas señales eléctricas para construir una representación visual del mundo que nos rodea, lo que nos permite percibir formas, colores y detalles. La Figura 1, muestra las principales partes del ojo humano y su función en el proceso de visión.

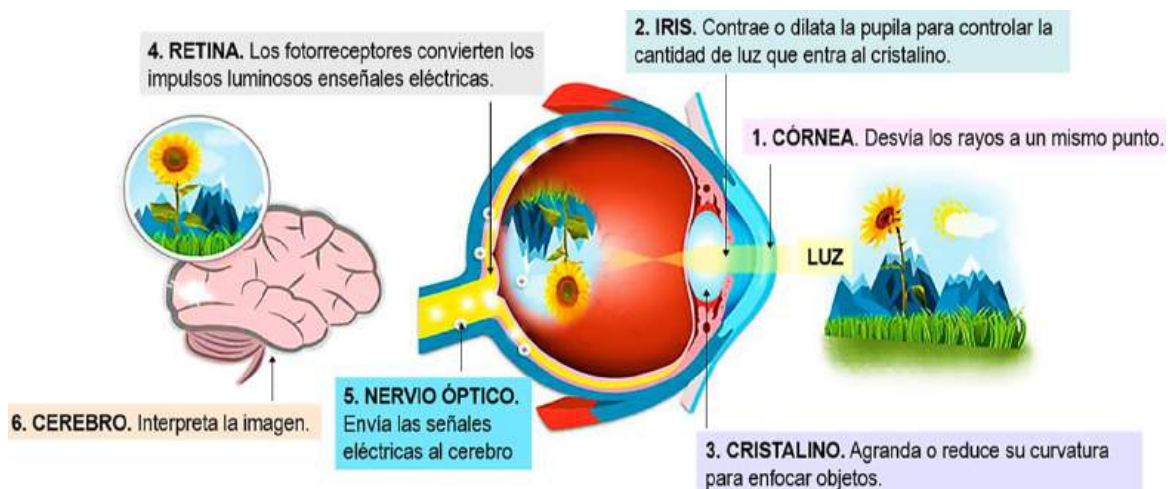


Figura 1. Principales partes del ojo humano y su función en el proceso de visión.

A continuación, se presenta una descripción detallada de la córnea y la retina. Estas dos partes del ojo humano se eligieron por estar directamente relacionados con la aplicación del presente proyecto.

2.1.1. La córnea

La córnea es un tejido conectivo que es crucial, no solo como barrera principal, para el ojo sino también como una poderosa estructura refractiva. Como barrera, la córnea proporciona integridad estructural al glóbulo ocular y protege sus componentes internos de agentes infecciosos y lesiones físicas o agresiones químicas. Por otro lado, como estructura refractiva, tiene dos propiedades clave: poder refractivo (para la refracción de la luz) y transparencia (para la transmisión de la luz) [34-35].

La forma de la córnea es prolata, lo que crea un sistema óptico esférico [36]. La córnea tiene un índice de refracción de 1.376 y un poder dióptrico de 43 dioptrías, aproximadamente $\frac{2}{3}$ del poder ocular total [37]. Tiene un espesor de 500 a 700 μm , siendo más delgada en el centro y más gruesa en la periferia [33]. La córnea humana mide aproximadamente 11 mm verticalmente y 12 mm horizontalmente, cubriendo la sexta parte anterior de la superficie ocular y está organizada en 5 capas, ver Figura 2: epitelio corneal, membrana de Bowman, estroma corneal, capa de DUA, membrana de Descemet y endotelio corneal. Esta estructura multicapa, le proporciona resistencia y transparencia, permitiendo que la luz atraviese la córnea sin distorsión significativa [38].

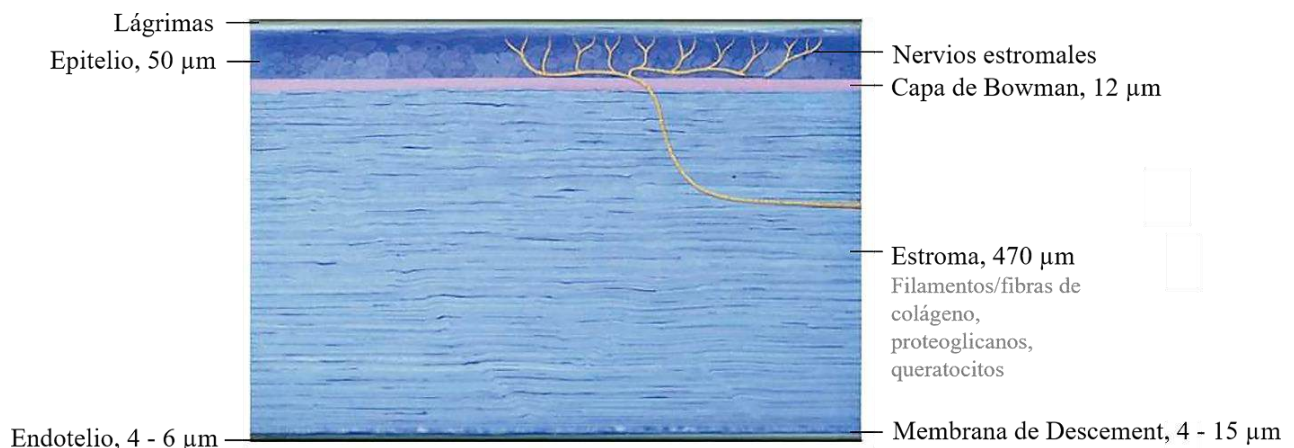


Figura 2. Sección histológica de la córnea humana con sus capas. [38].

Debido a que la transparencia es de suma importancia, la córnea sana es avascular, lo que significa que no tiene vasos sanguíneos en su interior. En su lugar, la córnea obtiene oxígeno y nutrientes del líquido acuoso que la rodea y de las lágrimas. Esta característica única contribuye a la capacidad del ojo para enfocar la luz de manera efectiva en la retina, lo que permite una visión clara [39].

2.2.1.1. Inervación corneal

La córnea es el tejido más densamente inervado del cuerpo humano y se encuentra irrigada por nervios sensoriales y autónomos. El nervio trigémino, el principal nervio sensorial de la cabeza, tiene tres ramas sensoriales diferentes: oftálmica (V1), maxilar (v2) y mandibular (V3)

[40-41]. La mayoría de los nervios que irrigan la córnea son nervios sensoriales y la mayoría de ellos tiene su origen en la rama oftálmica del ganglio trigémino, ver Figura 3.

La rama oftálmica atraviesa la fisura orbitaria superior y luego se ramifica en los nervios nasociliar, frontal y lagrimal. El nervio nasociliar es responsable de proveer inervación sensorial a la parte anterior de la nariz, la córnea, la conjuntiva y la piel de la frente. Sus principales ramas sensoriales son: (1) dos nervios ciliares largos que llegan al glóbulo ocular y perforan la esclerótica, constituyendo la principal salida sensorial del ojo; (2) el nervio infratroclear que inerva la cara medial de los párpados, la nariz y el saco lagrimal; (3) los nervios nasales externos y (4) una rama comunicante con el ganglio ciliar. El ganglio ciliar es un ganglio parasimpático ubicado dentro de la órbita que envía de 5 a 10 nervios ciliares cortos (fibras posganglionares) a través de la rama comunicante del nervio nasociliar a el ojo [39, 40-42].

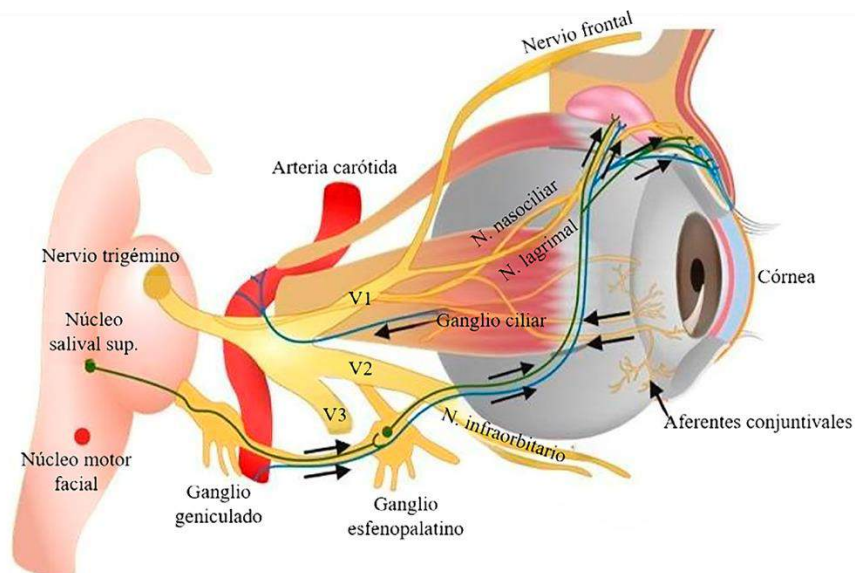


Figura 3. Esquema representativo de la inervación del ojo. Imagen modificada de [4].

Los nervios ciliares cortos y largos ingresan al glóbulo ocular alrededor del nervio óptico y viajan hacia el segmento anterior del ojo, experimentando ramificaciones repetitivas. Al llegar al área limbal, algunas fibras inervan el cuerpo ciliar y el iris, mientras que la mayoría de las fibras forman una red densa en forma de anillo que rodea el limbo alrededor de la córnea, dando lugar al plexo limbal [43]. Desde el plexo limbal, los troncos nerviosos, que en su mayoría no encuentran con una vaina de mielina para mantener la transparencia, ingresan al estroma corneal radialmente y luego viajan anteriormente, terminando como terminaciones nerviosas libres que sirven como “nociceptores” mecánicos, químicos y térmicos que transmiten información sensorial de tacto, temperatura y dolor en la superficie ocular al cerebro [44]. El nervio frontal, la segunda rama del nervio oftálmico, es exclusivamente sensitivo y se ramifica en el nervio supraorbitario para inervar el párpado superior y el seno frontal, y el nervio supratroclear que proporciona inervación en la frente y el párpado superior. Finalmente, la tercera rama del nervio oftálmico, el nervio

lagrimal, inerva la glándula lagrimal y algunas zonas de la conjuntiva y la piel del párpado superior.

La arquitectura y distribución de los nervios corneales está organizada anatómicamente en 4 niveles: nervios del estroma corneal, plexo nervioso subepitelial, plexo nervioso subbasal y terminales nerviosas intraepiteliales, ver la Figura 4.

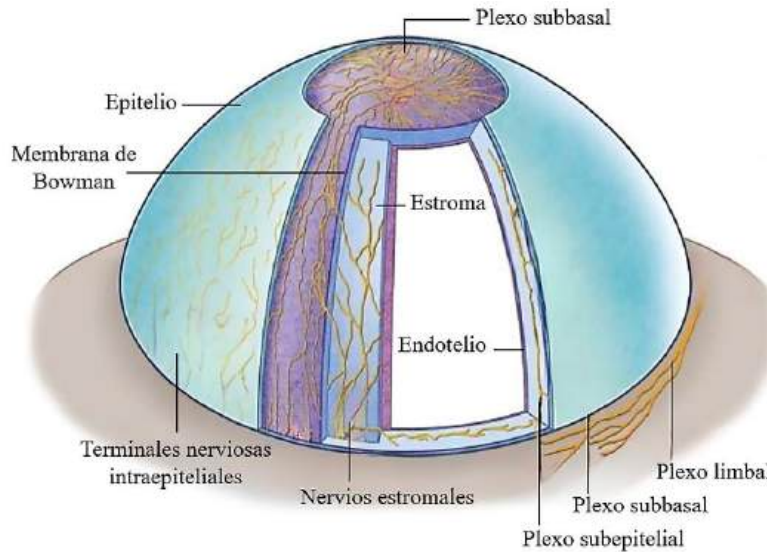


Figura 4. Inervación corneal [38].

Nervios del estroma corneal. Los nervios del estroma corneal son ramificaciones de los nervios ciliares largos, que provienen del nervio oftálmico. Los nervios estromales, ingresan a la córnea radialmente a través del limbo corneoescleral, en el tercio medio del estroma, y se ramifican inmediatamente después de entrar en la córnea. Al entrar en el estroma a una profundidad de 293 μm , los axones mielinizados (alrededor del 20%) pierden su vaina de mielina y corren dentro del estroma como fascículos encerrados por una lámina basal y células de Schwann. Las ramas distales de esta arborización se anastomosan ampliamente, formando el plexo del nervio estromal anterior, una red densa y compleja de haces nerviosos y axones individuales que son responsables de detectar estímulos como el tacto, la presión y el dolor en la superficie de la córnea, lo que es fundamental para el reflejo del parpadeo y para mantener la integridad y la salud corneal [40-44].

Plexo nervioso subepitelial. El plexo nervioso subepitelial es una red de nervios que se encuentra justo debajo de la capa epitelial externa de la córnea, conocida como epitelio corneal. Estos nervios son principalmente fibras nerviosas sensoriales de tipo nociceptiva y táctiles, lo que significa que son responsables de transmitir señales sensoriales como el dolor, la temperatura y la presión. Anatómicamente, en el plexo subepitelial hay dos tipos de haces de nervios. Uno forma una red anastomótica compleja de axones individuales y fascículos delgados que no penetran la membrana de Bowman; mientras que el segundo tipo consiste en alrededor de 400 a 500 haces

curvilíneos de tamaño medio que penetran la membrana de Bowman, principalmente en la córnea periférica e intermedia. Estos haces de nervios se dividen, cada uno de ellos, en 2 a 20 fascículos nerviosos más delgados que continúan en el epitelio corneal como plexo nervioso subbasal [40-44].

Plexo nervioso subbasal. El plexo nervioso subbasal es una red de nervios situada entre las células epiteliales basales y la lámina basal. Es parte del sistema nervioso periférico y está compuesto por 5,000 a 7,000 folículos nerviosos, distribuidos en un área de aproximadamente 90 mm² y tiene un número total de axones que se estima entre 20,000 y 44,000. Esta red densa de fibras nerviosas se extiende por toda la córnea, proporcionando sensibilidad táctil y nociceptiva [40-44].

Terminales nerviosas intraepiteliales. Las terminaciones nerviosas intraepiteliales proceden de los nervios subbasales que viajan horizontalmente a través del epitelio basal, y son fibras únicas que giran 90° verticalmente como una profusión de axones terminales que ascienden entre las células epiteliales, a menudo con una modesta cantidad de ramificación adicional, hasta las capas más superficiales del epitelio corneal. La densidad de inervación del epitelio corneal es probablemente la más alta de cualquier epitelio de superficie. Se estima que cada fibra nerviosa subbasal da al menos 10-20 terminales nerviosas intraepiteliales. Lo que sugiere que la córnea humana contiene aproximadamente 3,500-7,000 terminales nerviosas/mm² [40-44].

La riqueza de la inervación corneal es vital para el mantenimiento de la integridad de la córnea y su capacidad para detectar y responder a daños o irritantes externos, lo que desencadena reflejos protectores como el parpadeo, la producción de lágrimas e incluso su re-inervación.

2.2.2. La retina

La retina es una capa delgada (~0.25 mm de espesor) de tejido neural que recubre la parte posterior del ojo. Durante su desarrollo embriológico, la retina y el nervio óptico aparecen como esbozos del encéfalo, por lo que, la retina se considera parte integrante del sistema nervioso central (SNC). Dentro del proceso visual, la retina es la encargada de recibir la energía luminosa y convertirla en señales eléctricas, que luego, se envían al cerebro a través del nervio óptico para ser interpretadas [45].

La retina está formada por diez capas diferenciadas, que en realidad corresponden a 4 capas celulares: epitelio pigmentario retiniano, fotorreceptores, neuronas de conexión intermedia y las neuronas que dan origen al nervio óptico, conocidas como las células ganglionares. Las otras capas corresponden a las conexiones sinápticas entre estas células nerviosas (plexiforme interna y externa) y a dos membranas limitantes (membrana limitante interna y externa). De estas capas, las primeras nueve pertenecen a la retina nerviosa interna (o retina neurosensorial) y la décima capa constituye al epitelio pigmentario de la retina (EPR) [45-46], ver Figura 5.

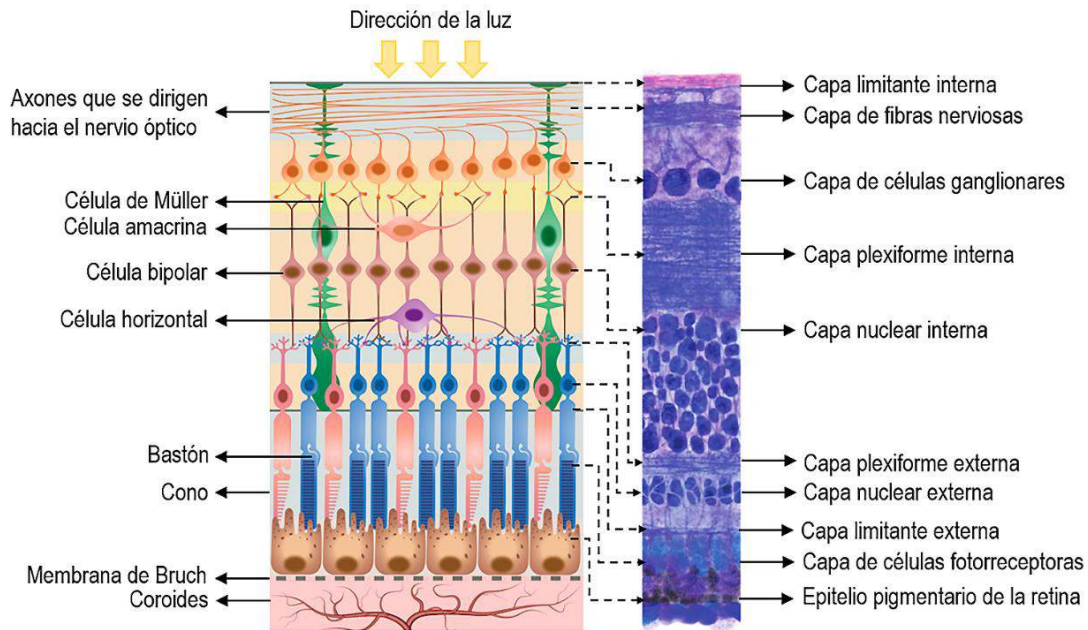


Figura 5. Esquema de las diferentes capas y células de la retina. Imagen modificada de [45].

Epitelio pigmentario de la retina (EPR). Está formado por una sola capa de células epiteliales pigmentadas que se interponen estratégicamente entre la retina neural y los capilares coroides. El EPR realiza una variedad de funciones de transporte vectorial (agua, iones, metabolitos, nutrientes y productos de desecho) que regulan la composición del medio extracelular y respaldan las funciones de los fotorreceptores y otras células de la retina neural [47-48].

Fotorreceptores. La retina contiene dos tipos de fotorreceptores: los conos y los bastones. Estas células sensibles a la luz tienen una estructura constituida por tres segmentos funcionales: la terminal o cuerpo sináptico, con el que establecen sinapsis con las células bipolares; el segmento interno que contiene el núcleo y los orgánulos; y el segmento externo. La morfología de este último difiere entre conos y bastones, y es lo que les da el nombre a estas células, ver Figura 6a. En ambos casos, los segmentos externos están formados por estructuras membranosas, que contienen grandes cantidades de fotorpigmento (proteínas sensibles a la luz). Cuando la luz incide sobre estos fotorpigmentos, desencadenan una serie de procesos bioquímicos que culminan en la generación de impulsos nerviosos (señales eléctricas).

Los bastones se encuentran en la parte exterior de la fóvea, son los responsables de la visión escotópica (visión nocturna) y contribuyen a la visión periférica. Por su parte, los conos se concentran en la parte central de la fóvea (zona de la retina con mayor agudeza visual) y son responsables de la visión fópica (visión de día) y de la visión de color. La Figura 6b, muestra la posición de los conos y bastones en la retina.

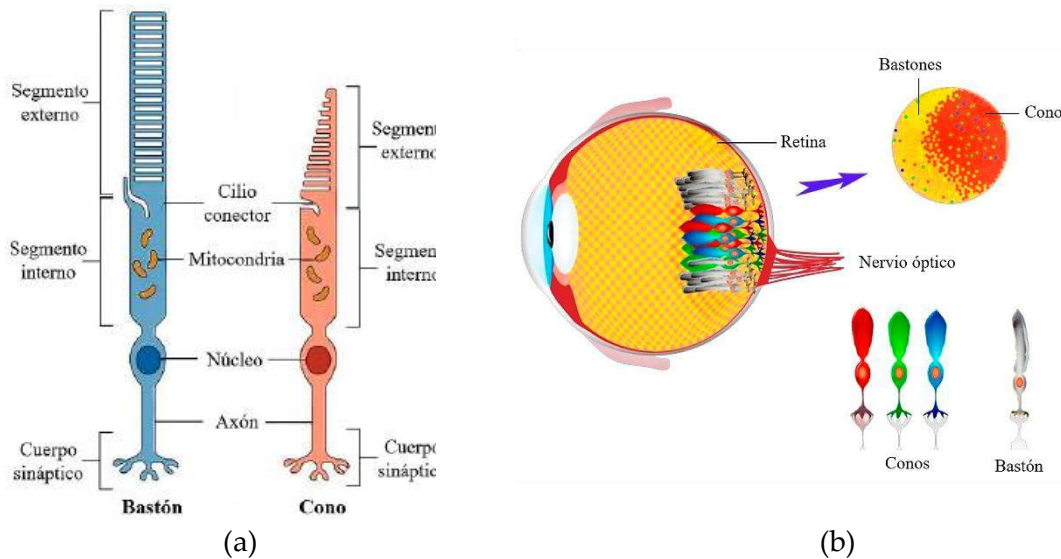


Figura 6. (a) Estructura general de conos y bastones y (b) posición de los conos y bastones en la retina. Imagen modificada de [50].

Los bastones son mucho más abundantes (120 millones) que los conos (6 millones). Sin embargo, mientras que todos los bastones contienen el mismo fotopigmento (rodopsina), motivo por el cual los bastones no distinguen diferencias en el color, en los conos existen 3 tipos de pigmento visual, cada uno de ellos sensible a una longitud de onda en particular, lo que les concede una sensibilidad selectiva a los colores: azul (cono S), verde (cono M) y rojo (cono L). La combinación de las señales generadas por los tres tipos de conos permite al cerebro percibir una amplia gama de colores [46, 49].

Capa limitante externa. Es una membrana muy delgada que contiene los segmentos internos de los fotorreceptores y las células Müller, las cuales brindan soporte estructural y metabólico a las células retinianas. La capa limitante externa actúa como una barrera que regula el intercambio de sustancias entre los fotorreceptores y las capas más internas de la retina.

Capa nuclear externa. Esta capa está compuesta principalmente por los cuerpos celulares de los fotorreceptores. Estos cuerpos celulares contienen los núcleos de los conos y bastones que son cruciales para la detección de la luz y la conversión de señales luminosas en impulsos nerviosos.

Capa plexiforme externa. Es la zona de sinapsis entre los fotorreceptores, las células bipolares y horizontales. En esta capa los impulsos nerviosos generados por la foto transducción en los fotorreceptores se transmite y modula antes de pasar a capas más internas de la retina.

Capa nuclear interna. Esta capa de la retina contiene los cuerpos celulares de las células bipolares, horizontales y amacrinas. Las células bipolares reciben los impulsos nerviosos de los fotorreceptores y las transmiten a las células ganglionares. Mientras, que las células horizontales y amacrinas modulan estas señales, ayudando en la integración y el ajuste de la información visual.

Capa plexiforme interna. Es un área compuesta por un denso entretejido de prolongaciones de células amacrinas, axones de neuronas bipolares y dendritas de células ganglionares. En esta capa se lleva a cabo la sinapsis entre las células bipolares y ganglionares; así como entre las células amacrinas y ganglionares.

Capa de las células ganglionares (CGR). En esta capa se encuentran las células ganglionares de la retina, último tipo de células en el procesamiento visual de la retina. Cada célula ganglionar tiene un axón que se agrupa para formar el nervio óptico, que transporta la información visual al cerebro. Las CGR reciben la información visual de las células bipolares y amacrinas; integrando así la información visual proveniente de las diferentes áreas de la retina. La información que transmiten incluye detalles sobre la luz, el color, el contraste y el movimiento, permitiendo al cerebro interpretar y formar una imagen visual coherente.

Capa de fibras nerviosas. Esta capa de la retina está formada por los axones de las CGR, que confluyen en el nervio óptico.

Capa limitante interna. Estructura de tejido conjuntivo que separa la retina del cuerpo vítreo. Su función principal es proporcionar soporte estructural y estabilidad a las CGR y otras células de la retina; lo cual, ayuda a mantener la organización de las capas de la retina, facilitando la transmisión de impulsos nerviosos desde las CGR hacia el nervio óptico.

2.2.3. Enfermedades degenerativas de la retina

Las enfermedades degenerativas de la retina son un grupo de trastornos heterogéneos que se producen por la degeneración de los fotorreceptores y/o del epitelio pigmentario de la retina (EPR), lo que resulta en la pérdida progresiva de la agudeza visual, que conduce a la ceguera. Las enfermedades degenerativas de la retina con mayor prevalencia son: el glaucoma, la DMRE, la retinopatía diabética (RD) y la retinitis pigmentosa (RP) [51-52].

En la actualidad, las enfermedades degenerativas de la retina son la causa principal de los casos de baja visión incurable y ceguera en todo el mundo. Se estima que al menos 500 millones de personas padecen algún tipo de enfermedad degenerativa de la retina y se espera que estas cifras aumenten para el año 2024 [53]. A la fecha, no existe tratamiento que detenga la evolución o logre revertir el proceso patológico de estas enfermedades, por lo cual, la mayoría de las terapias están enfocadas en mejorar los síntomas y retrasar la progresión de la enfermedad [4]. La descripción de las principales enfermedades degenerativas de la retina se presenta a continuación:

2.2.3.1. Glaucoma

El glaucoma es una neuropatía óptica que se presenta como un daño estructural característico, asociado con la degeneración progresiva de las células ganglionares de la retina (CGR) y axones de la retina, que se hace evidente a nivel de la capa de fibras nerviosas del disco óptico. Esta lesión de los axones del nervio óptico, se debe principalmente al incremento de la

presión intraocular, alcanzado en ocasiones 60 a 70 mmHg, mientras que la presión normal media es de 12 a 20 mmHg [54-55].

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), el glaucoma es la segunda causa de ceguera irreversible en personas mayores de 40 años. Se estima, que a nivel mundial hay al menos 11 millones de personas afectadas, y en México se proyecta que existen cerca de un millón y medio de personas con glaucoma (lo que equivale al 4% de la población en general), y hasta 50 mil casos de ceguera a causa de su detección tardía [55].

El glaucoma puede ser congénito o adquirido y se puede sub-clasificar en tres tipos: glaucoma de ángulo abierto, glaucoma de ángulo cerrado y glaucoma secundario.

- A. Glaucoma de ángulo abierto.** En el glaucoma de ángulo abierto, el fluido drena de manera lenta desde la cámara anterior, haciendo que la presión se eleve gradualmente, casi siempre en ambos ojos. De esta manera, se produce la lesión del nervio óptico, causando una lenta pero progresiva pérdida de la visión. La pérdida de visión comienza en los extremos del campo visual y, si no se trata, acaba extendiéndose por todo el resto del campo visual y finalmente produce ceguera. Esta clasificación constituye la forma más frecuente de glaucoma.
- B. Glaucoma de ángulo cerrado.** En este tipo de glaucoma lo que se produce son ataques súbitos de aumento de presión, generalmente en un ojo. En las personas que sufren esta enfermedad, el espacio entre la córnea y el iris (por donde sale el fluido fuera del ojo) es más estrecho de lo normal. Cualquier factor que provoque la dilatación de la pupila, como una escasa iluminación, las gotas oftálmicas indicadas para dilatar la pupila antes de un examen ocular o ciertas medicaciones orales o inyectadas, puede hacer que el iris bloquee el drenaje de fluido. Cuando esto sucede, la presión intraocular aumenta de imprevisto.
- C. Glaucoma secundario.** Cuando el ojo ha sido dañado por una infección, una inflamación, un tumor, una gran catarata o cualquier trastorno ocular que cree una interferencia en el drenaje de fluido desde la cámara anterior, expone al ojo a sufrir un glaucoma de tipo secundario. Las enfermedades inflamatorias, como la uveítis, se encuentran entre los trastornos más comunes. Otras causas frecuentes incluyen la obstrucción de la vena oftálmica, las lesiones oculares, la cirugía ocular, las hemorragias dentro del ojo y algunos medicamentos.

Debido a que no todos los tipos de glaucoma se desarrollan siguiendo un patrón en común y que la causa de aparición no es la misma en todos ellos, los pacientes con estas patologías son difíciles de diagnosticar. Al principio, el glaucoma no tiene síntomas. No causa dolor y la visión se mantiene normal. Sin embargo, si el glaucoma no es atendido, las personas empiezan a notar que ya no ven como antes. Sin tratamiento, las personas con glaucoma pierden lentamente su visión lateral (periférica). Con el tiempo, la visión central también puede disminuir hasta que se pierde por completo [55].

En la actualidad, el glaucoma sigue siendo una enfermedad para la que no existe cura. El estadio final de la neuropatía desembocará en la pérdida de visión. Los tratamientos existentes

tratan de retrasar la pérdida de visión o intentar que la pérdida de campo visual no sea total [54-55].

2.2.3.2. Degeneración macular relacionada con la edad (DMRE)

La DMRE es la causa más frecuente de pérdida severa de visión en ambos ojos en personas mayores de 60 años. El aumento de la esperanza de vida en nuestra población se manifestará en un aumento exponencial de esta patología, ya que el riesgo de DMRE aumenta con la edad [56].

Existen dos formas principales de DMRE: seca y húmeda. La DMRE seca, también conocida como atrófica, es la forma más común y representa alrededor del 80% al 90% de los casos. Se caracteriza por la acumulación de depósitos extracelulares llamados drusas en la mácula, el engrosamiento de la membrana de Bruch y la degeneración de los fotorreceptores. La DMRE húmeda, o neovascular, es menos común pero más severa. En esta forma, el crecimiento anormal de vasos sanguíneos debajo de la retina, puede causar cicatrices y pérdida de líquido o sangre, lo que puede llevar a una rápida pérdida de la visión central [56-57].

Los factores de riesgo para desarrollar DMRE, son: edad avanzada, antecedentes familiares de la enfermedad, tabaquismo, obesidad y la exposición prolongada a la luz solar sin protección. Los síntomas iniciales pueden ser sutiles e incluyen: visión borrosa o distorsionada, dificultad para ver detalles finos y la percepción de líneas rectas como onduladas. A medida que la enfermedad progresa, pueden aparecer manchas oscuras en el centro del campo visual y una mayor dificultad para adaptarse a condiciones de poca luz [57].

El tratamiento de la DMRE varía según la forma de la enfermedad y su gravedad. Para la forma seca, no hay cura, pero se pueden recomendar suplementos vitamínicos y cambios en el estilo de vida para ralentizar su progresión. En el caso de la DMRE en forma húmeda, los tratamientos pueden incluir inyecciones intravítreas anti-VEGF que ayudan a reducir el crecimiento de vasos sanguíneos anormales y la acumulación de líquido.

2.2.3.3. Retinitis pigmentosa (RP)

La retinitis pigmentosa (RP) hace referencia a un grupo de desórdenes hereditarios de la retina que afectan a los fotorreceptores y al epitelio pigmentario de la retina (EPR). Afecta principalmente a hombres de entre 30 a 40 años de edad y tiene una prevalencia de uno por cada 4,000 personas [58-59]. Esta condición está determinada genéticamente, con raras excepciones y se pueden clasificar como: no sindrómicas o simples (no afectan a otros órganos o tejidos); sindrómicas (que afectan a otros sistemas, como el oído); o sistémicas (que afectan a múltiples tejidos) [58].

La mayoría de las formas de RP conduce a la muerte de los bastones, lo que conlleva a un deterioro de la visión nocturna o nictalopía (afección visual que impide la correcta visión en espacios poco iluminados) y causa pérdida de la visión periférica, produciendo una visión de túnel. A medida que la enfermedad progresa, los pacientes con RP pueden experimentar

dificultad para distinguir colores, fotopsia (percepción de destellos de luz), degeneración progresiva de los conos y finalmente pérdida de la agudeza visual [46, 59].

Hoy en día, no existe tratamiento que detenga la evolución de la RP o logre revertir el proceso patogénico. Actualmente, el manejo clínico de la RP se limita a retrasar la progresión de la enfermedad mediante el suplemento con multivitamínicos y el tratamiento de complicaciones o patologías asociadas (edema macular, células en vítreo o catarata). Por lo cual, el enfoque experimental para el tratamiento de la RP se encuentra en investigación activa e incluye terapia genética, trasplante de células madres y el uso de prótesis electrónicas en la retina [60-61].

2.3. ESTIMULACIÓN ELÉCTRICA EN OFTALMOLOGÍA

La estimulación eléctrica (EE) es un tratamiento terapéutico no farmacológico que aplica una corriente eléctrica de baja intensidad a un tejido específico para activar, regenerar y preservar sus funciones cuando ha sido alterado por un trauma, defectos congénitos, enfermedades o envejecimiento [11]. Por ejemplo, la EE se ha aplicado clínicamente para el manejo del dolor, la cicatrización de heridas, lesiones en la médula espinal y el tratamiento de diversas neuropatías culares [12, 62-63].

Durante los últimos 10 años, ha habido un aumento significativo en la investigación para desarrollar tratamientos basados en EE que permitan mejorar la percepción visual. La base de esta estrategia terapéutica es estimular las neuronas a lo largo de la vía visual con corriente eléctrica. Actualmente, existen ocho rutas por las cuales se ha administrado EE a los pacientes con el propósito de mejorar su visión, ver Figura 7. Entre estos, la EE transpalpebral y la EE transcorneal son enfoques mínimamente invasivos, ya que solo tocan la piel palpebral y la superficie de la córnea, respectivamente [20, 63].

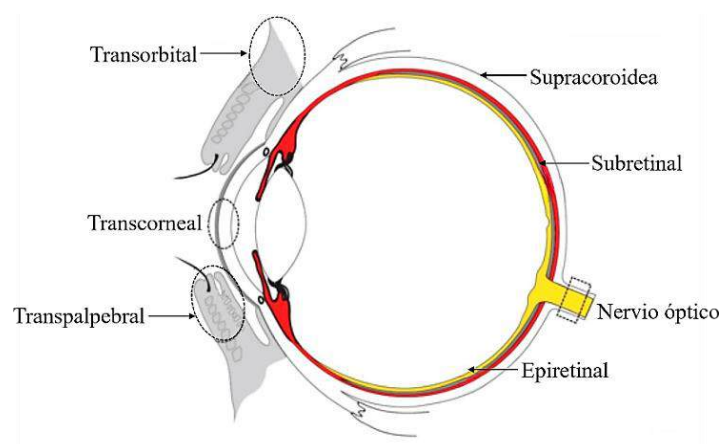


Figura 7. Diferentes vías de estimulación eléctrica del ojo humano [20].

Hasta ahora, la EE se ha aplicado para tratar pacientes clínicos con RP, DMRE y neuropatía óptica. En estos estudios, se ha demostrado que los parámetros de corriente, como: la frecuencia

del pulso, la intensidad de corriente y la duración del tratamiento, son factores que influyen en los efectos terapéuticos. Además, se sugiere que el método para administrar corriente al glóbulo ocular es fundamental para el resultado del tratamiento, ya que afecta la distribución de la corriente en el ojo [64].

Los mecanismos sugeridos que subyace a los efectos de la EET se resumen en la Figura 8. Al igual que en otros tejidos, se cree que la EET aumenta la expresión de factores neurotróficos. En diversos estudios, se ha demostrado que la EET aumenta la supervivencia de las células ganglionares de la retina (RGC) y los fotorreceptores, probablemente debido al aumento de los niveles del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), producido por las células de Müller. Además, se ha comprobado que la EET reduce la inflamación al inhibir la activación microglial, previene la muerte celular apoptótica, reduce el gen proapoptótico Bax, inhibe la secreción de interleucina-1 (IL-1 β , responsable de la muerte de las neuronas) y reduce el factor de necrosis tumoral (TNF- α) [9, 12, 20, 64-65].

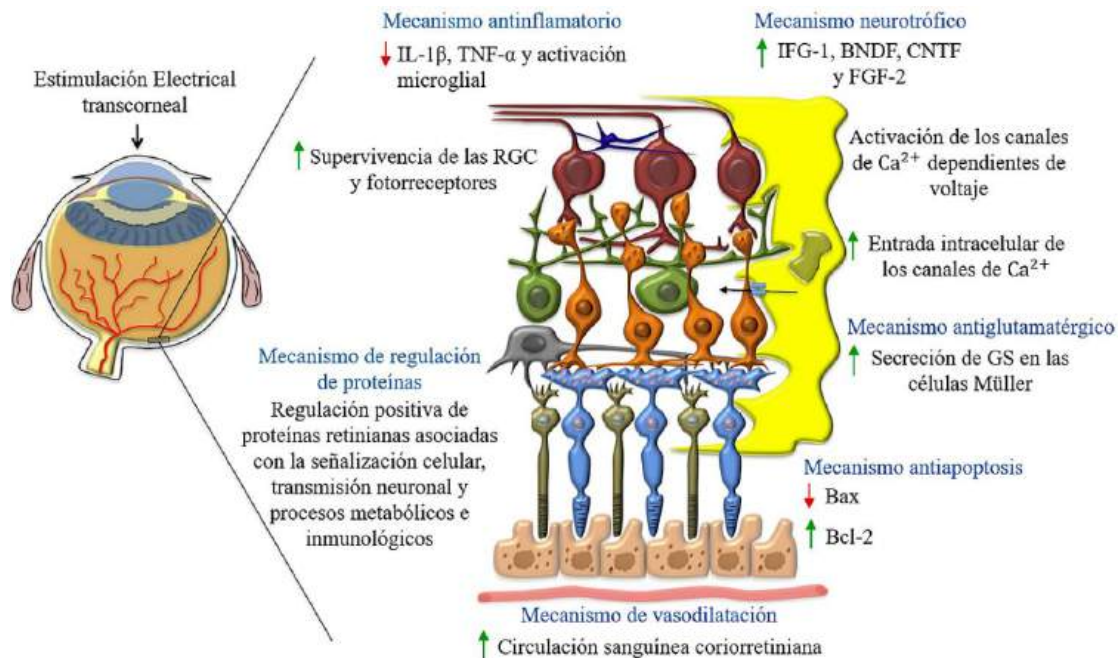


Figura 8. Mecanismos neuroprotectores de la estimulación eléctrica transcorneal (EET) sobre la estructura y función de la retina. Imagen adaptada de la referencia [20].

Otros efectos de la EET, incluyen: el aumento de secreción de glutamina sintetasa (GS) de las células de Müller, lo que mejora la neuro excitotoxicidad mediada por glutamato; aumenta el flujo sanguíneo coriorretiniano a través de la vasodilatación, aumenta la expresión del factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FGF-2), e incide en la supervivencia neuronal al aumentar la entrada intracelular de los canales de Ca²⁺ dependientes de voltaje. Estudios más recientes han comprobado que después de aplicar EET, los niveles de ARNm y proteína del factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), factor neurotrófico ciliar (CNTF) y factor de crecimiento endotelial

vascular (VEGF) aumenta significativamente en las células Müller, lo cual permite preservar las funciones de las neuronas y mantener la homeostasis del medio [8-9, 20, 64-65].

2.3.1. Estimulación eléctrica transcorneal (EET)

En la práctica clínica la EET se administra colocando un electrodo activo sobre la superficie de la córnea y un electrodo de referencia sobre la piel alrededor del ojo. Luego, los pulsos de corriente eléctrica generados por un generador de funciones se administran a través del electrodo activo. Los parámetros de estimulación, como la duración del pulso, la intensidad de corriente, la frecuencia de estimulación, la duración de la estimulación y los tiempos de repetición, deben ajustarse y variarse según el protocolo específico del tratamiento [12].

Actualmente, la EET se aplica utilizando dos tipos de electrodos: el electrodo Dawson, Trick y Litzkow (DTL), que se compone de un hilo delgado de nylon recubierto de metal, y el electrodo para electroretinograma (ERG), que consiste en una lente de contacto con un anillo de oro ubicado en la periferia, ver Figura 9. Ambos tipos de electrodos, se colocan sobre la superficie de la córnea y permiten suministrar una corriente eléctrica al ojo de manera uniforme a lo largo del sitio del electrodo; es decir, el electrodo DTL administra la corriente eléctrica en la parte inferior de la córnea y el electrodo ERG en la periferia. En consecuencia, el área objetivo de la retina estimulada difiere para cada electrodo: el electrodo DTL activa la corteza de asociación visual (que procesa las señales de entrada del campo visual superior) y el electrodo ERG produce la activación de la corteza visual primaria anterior (correspondiente al campo visual periférico) [23-24].



Figura 9. Tipos de electrodos utilizados en la práctica clínica para el tratamiento de EET (a) Electrodo ERG y (b) electrodo DTL [66-67].

Debido a que este tipo de electrodos consiste de un solo elemento de estimulación eléctrica y que el área de la retina estimulada depende del sitio de suministro, la resolución espacial y la estimulación eléctrica selectiva están restringidas. Lo cual, puede limitar el tratamiento de

pacientes con pérdida de visión central, periferia o total, causada por lesiones retinianas localizadas [11]

2.4. TECNOLOGÍA DE MICROELECTRÓNICA

La microelectrónica es un subcampo de la electrónica. Como sugiere su nombre, la microelectrónica se relaciona con el estudio y la fabricación de componentes electrónicos en la escala micro y nanométrica. El componente básico de la microelectrónica es el transistor, inventado por John Bardeen, Walter Houser y William Shockley a finales de 1947. Sin embargo, no fue hasta 1958 cuando Jack S. Kilby de Texas Instruments patentó el principio de integración y desarrolló con éxito el primer circuito integrado (CI). Se puede decir, entonces, que nació la microelectrónica [68].

A partir de este momento, la industria de la microelectrónica ha crecido exponencialmente, pasando de integrar de 1 a 10 transistores por chip con dimensiones de 1 mm a 2 mm; hasta el desarrollo de dispositivos electrónicos complejos; compuestos por circuitos integrados (CIs) que contienen miles de millones de transistores por chip. [68-69].

El desarrollo y el avance continuo de los procesos de fabricación de CIs, ha hecho que la industria de los semiconductores sea una de las más importantes, debido a su relevancia estratégica y tecnológica, generalmente en todas las ramas productivas y económicas. Por ejemplo, el uso de CIs ha permitido reducir el tamaño de los sistemas electrónicos, al mismo tiempo que incrementan su velocidad de procesamiento y disminuyen sus costos (debido a la fabricación por lotes y el uso de silicio). Además, la tecnología de CIs permite integrar otras tecnologías de procesamiento en un mismo chip, lo cual resuelve diferentes necesidades de la industria, permitiendo el acelerado desarrollo que se vive en áreas como: telecomunicaciones, automatización, inteligencia artificial, nanotecnología, bioingeniería, entre otras [70].

Hoy en día, la industria de los semiconductores está comenzando a adoptar la tecnología de 3 nm, lo cual representa uno de los avances más significativos en la miniaturización de transistores. Sin embargo, en esta escala de integración el tamaño del transistor se ha acercado al límite tecnológico y físico, lo que requiere el desarrollo de nuevas técnicas, materiales y estructuras para superarlos [71].

2.4.1. MEMS y BioMEMS

Los avances significativos en la miniaturización de la microelectrónica han llevado al nacimiento de una nueva clase de dispositivos, conocidos como sistemas microelectromecánicos (MEMS). Los MEMS son dispositivos de precisión a escala micrométrica, que combinan componentes mecánicos y eléctricos para realizar tareas que normalmente se llevan a cabo por sistemas macroscópicos [72-75]. Con un tamaño que varía desde submicrometros a milímetros (100 nm a 500 mm), los dispositivos MEMS tienen un enorme potencial, que reside en las ventajas

que ofrece su tamaño reducido, como: la facilidad de integración, peso ligero, bajo consumo de potencia, alta precisión y sensibilidad, y costos de fabricación reducidos debido a la producción en masa.

Debido a estas ventajas, hoy en día los MEMS se aplican a una amplia variedad de campos, incluidos: aeroespacial, automotriz, militar, telecomunicaciones, microfluídica, química y biomedicina, por mencionar algunos [74-80]. Los dispositivos MEMS aplicados al área médica, se conocen como BioMEMS. De manera general, los BioMEMS se pueden definir como dispositivos o sistemas basados en la tecnología de MEMS que se utilizan para el procesamiento, la entrega, la manipulación, el análisis o la activación de entidades biológicas o químicas.

Las principales técnicas empleadas en la fabricación de dispositivos MEMS y BioMEMS son el micromaquinado de volumen, el micromaquinado de superficie y la fotolitografía. El micromaquinado de volumen, es un proceso sustractivo que remueve o ataca selectivamente el material del sustrato para obtener las estructuras deseadas. El proceso de grabado puede ser isotrópico o anisotrópico, es decir la remoción de material es independiente o dependiente de la orientación cristalina del sustrato, ver Figura 10a [75].

Por otro lado, el micromaquinado de superficie es un proceso aditivo en el que se depositan y graban capas delgadas sucesivas de material estructural y de sacrificio. Las estructuras obtenidas mediante este proceso no influyen en las características del sustrato, ya que todos los materiales se depositan en la superficie, ver Figura 10b [75].

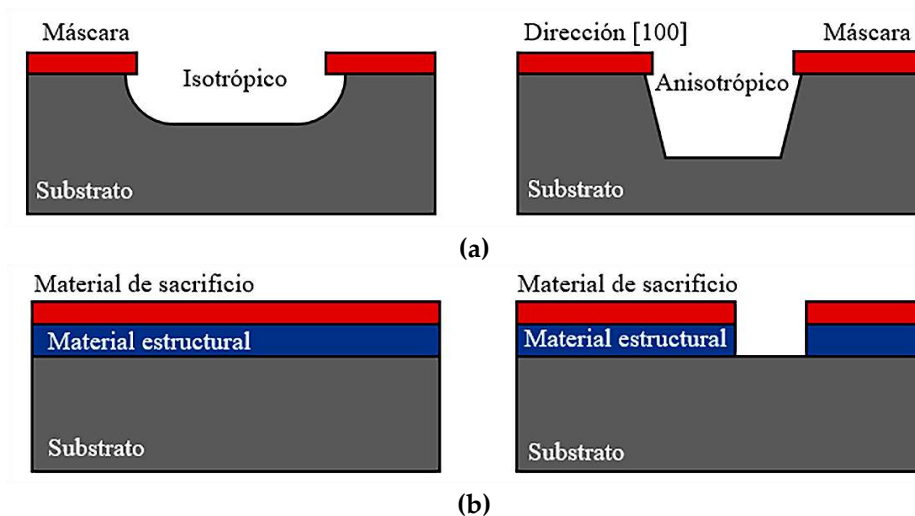


Figura 10. Comparación del proceso de (a) grabado isotrópico y anisotrópico en la técnica de micromaquinado de volumen y (b) micromaquinado de superficie.

2.5. NORMATIVA APLICADA A DISPOSITIVOS MÉDICOS

Los estándares y normativas para el desarrollo de productos son requisitos esenciales para asegurar la calidad y uso seguro de los mismos. Dependiendo de su aplicación, cada producto debe cumplir con normas específicas, tal es el caso de prototipos o dispositivos para uso médico

que necesitan cumplir con la norma ISO 10993 misma que a continuación se describe brevemente por ser sustento de la caracterización y fabricación del prototipo.

2.5.1. ISO 10993 Biological evaluation of medical devices

La norma ISO 10993 es una serie de estándares internacionales que abordan la evaluación biológica de los dispositivos médicos para asegurar su seguridad y biocompatibilidad. La serie ISO 10993 es crucial para el diseño, desarrollo y aprobación de dispositivos médicos que entran en contacto con el cuerpo humano, garantizando que no causen efectos adversos o reacciones perjudiciales. La clasificación de los dispositivos de uso médico de acuerdo a su naturaleza y la duración de contacto con el tejido biológico, se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Clasificación de los dispositivos de uso médico de acuerdo a la norma ISO 10993.

Clasificación de dispositivos	Subclasificación	Descripción
Por naturaleza del contacto corporal	Contacto superficial	En piel. Ejemplos: electrodos, prótesis externas.
		En membranas mucosas. Ejemplos: lentes de contacto, catéteres urinarios.
		En superficies vulneradas (heridas y úlceras). Ejemplos: Parches oclusivos.
	De comunicación externa	Vía sanguínea indirecta. Ejemplos: Sets de administración de soluciones.
		En tejido, hueso o dentina. Ejemplos: laparoscopia, cementos dentales.
		En sangre circulante. Ejemplos: catéteres intravasculares y tubos de diálisis.
	Implantables	En tejido o hueso. Ejemplos: placas y clavos ortopédicos.
En sangre. Ejemplos: válvulas cardíacas y electrodos de marcapasos.		
Por tiempo de contacto	Exposición limitada	Contacto único, múltiple o repetitivo acumulado menor a 24 horas.
	Exposición prolongada	Contacto único, múltiple o repetitivo acumulado mayor a 24 horas y menor que 30 días.
	Contacto permanente	Contacto único, múltiple o repetitivo acumulado mayor a 30 días.

De acuerdo a la clasificación de los dispositivos de uso médico, la norma ISO 10993 especifica el conjunto de datos biológicos necesarios para cada categoría. De manera general, el primer paso en la evaluación biológica de un dispositivo para uso médico es la caracterización del material, donde el grado de caracterización química depende de los datos toxicológicos y la

seguridad preclínica o clínica existente. El siguiente paso, son las pruebas de evaluación biológica tales como: citotoxicidad, irritación, biodegradación, entre otras.

El arreglo de electrodo flexibles para su uso en EE selectiva de la córnea humana, entra en la categoría de contacto superficial en membrana mucosa de exposición limitada, para este tipo de dispositivo de uso médico las pruebas requeridas son: citotoxicidad (ISO 10993-5), sensibilización e irritación (ISO 10993-10).

2.6. BACKGROUND ORIENTED SCHLIERN (BOS)

La técnica de schlieren de fondo (Background Oriented Schlieren, BOS), es una técnica óptica, que no requiere contacto mecánico con la muestra a analizar, y se utiliza para medir campos de desplazamiento que son proporcionales al gradiente del índice de refracción (causados, por ejemplo, por cambios de temperatura), dentro de un área de observación. Estos gradientes generan efectos visuales que los humanos observan, como brumas de calor, espejismos o el efecto fata morgana [80].

Debido a que BOS se basa en el análisis de desplazamientos del fondo que está detrás de un objeto, se pueden utilizar fondos diseñados con cierto tipo de estructuras espaciales, tales como rejillas o puntos aleatorios o se puede usar directamente la textura natural de una superficie. El fondo se ilumina con luz incoherente para obtener imágenes desplazadas producto de tener como objeto un fluido con gradientes de densidad espacial [80]. En la Figura 11, se muestra un arreglo experimental típico de BOS. De izquierda a derecha podemos apreciar la fuente de iluminación seguida de la pantalla de fondo (rejilla o puntos); a continuación, el objeto de estudio, una lente formadora de imagen, y finalmente, el sensor CCD conectado a una computadora.

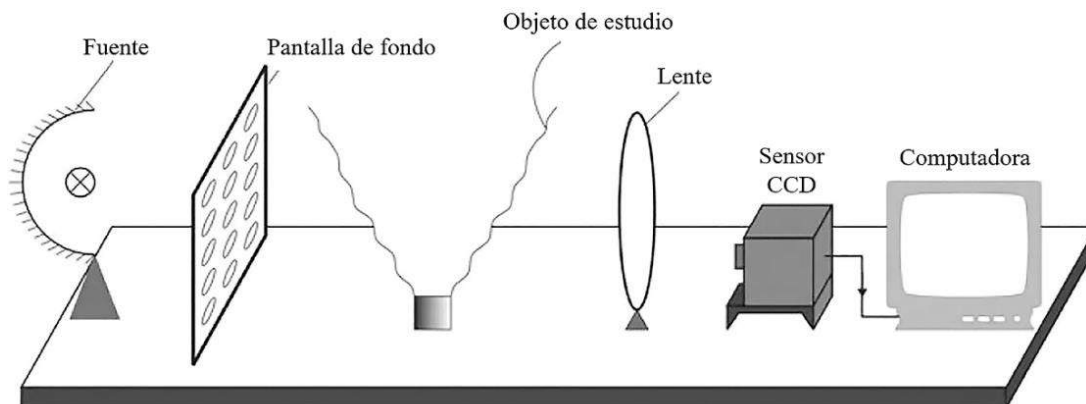


Figura 11. Diagrama esquemático de la configuración para BOS [82].

Para el análisis de los desplazamientos de las estructuras espaciales en las imágenes capturadas se considera la Figura 12; en ella, es evidente el cambio de posición de las estructuras del fondo al existir perturbaciones en el camino óptico de la luz, que, en el caso de un fluido, es ocasionado por cambios de temperatura o en su densidad obteniendo un cambio en el índice de refracción; además se considera la siguiente expresión [80]:

$$\chi = \frac{fZ_B}{Z_C + Z_B - F} \int_{\Delta z} \frac{1}{n_0} \frac{\partial n}{\partial r} dz \quad (1)$$

Dónde: n y n_0 son el índice de refracción en función del plano de sección transversal con coordenadas (x, y) después y antes de colocar el objeto bajo prueba, respectivamente, χ es el desplazamiento de la imagen de un punto del fondo, en dos dimensiones, después de colocar el objeto, f es la distancia focal de la lente de la cámara, Z_C es la distancia de la lente al objeto y Z_B es la distancia del objeto a la imagen de fondo.

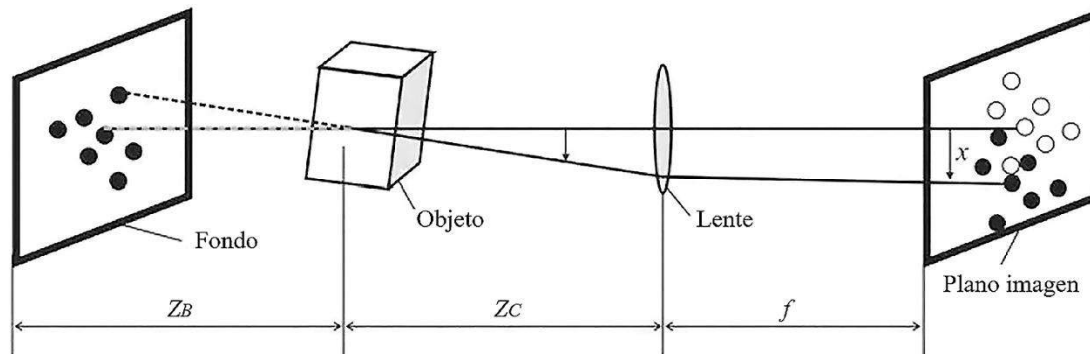


Figura 12. Diagrama esquemático de la explicación de la formación de imagen en la técnica BOS [81].

Si el fondo corresponde a puntos aleatorios, el desplazamiento de los puntos se puede calcular mediante el cálculo de la correlación (comparación espacial) entre la imagen del fondo sin objeto y la imagen del fondo, con objeto. Si el fondo se compone de una rejilla de líneas verticales, entonces es posible calcular los desplazamientos de las líneas usando técnicas de extracción de fase, como es el algoritmo de Takeda o de Fourier. De esta forma, una vez que X se conoce, entonces se puede calcular n , mediante una integración numérica.

Si se requiere conocer la temperatura del objeto, esta puede ser calculada mediante la siguiente ecuación [80]:

$$T = \frac{T_0(n_0 - 1)}{(n - 1)} \quad (2)$$

Donde, T_0 corresponde a la temperatura del medio ambiente, la cual, al igual que n_0 , es una variable conocida. Esta relación resulta de combinar la ecuación de estado de los gases ideales y la ecuación de Gladstone-Dale. Al implementar el arreglo de BOS es importante enfocar simultáneamente al objeto y al fondo, otorgando mayor importancia al fondo, ya que esa señal es la que permite calcular los desplazamientos de las estructuras espaciales del fondo. La técnica BOS se elige para medir los cambios de temperatura del arreglo de microelectrodos cuando circula una corriente en el pad-microelectrodo debido a su alta sensibilidad.

CAPÍTULO 3. METODOLOGÍA

3.1. DISEÑO DEL ARREGLO DE MICROELECTRODOS

El diseño del Layout del arreglo de microelectrodos propuesto, es una mejora del diseño que reportamos en [11]. Este nuevo diseño está enfocado en garantizar la reproducibilidad del proceso de fabricación, obtener un dispositivo más robusto y proponer una nueva distribución de electrodos con la finalidad de cubrir una mayor área sobre la córnea e incrementar el número de microelectrodos.

El diseño propuesto del arreglo de microelectrodos, se desarrolló en el software Tanner L-Edit, el diseño consiste de dos niveles de mascarillas, el primer nivel define las estructuras metálicas compuestas por 18 microelectrodos independientes, dos electrodos de referencia, 20 pads y 20 líneas conductoras, ver Figura 13a. Los 18 microelectrodos, están distribuidos en un área de $6.2 \text{ mm} \times 6.2 \text{ mm}$ (área de estimulación), lo que corresponde al área central y paracentral de la córnea, ver Figura 13b. Cada microelectrodo tiene un tamaño de $250 \mu\text{m} \times 250 \mu\text{m}$ y un sitio de estimulación de $230 \mu\text{m} \times 230 \mu\text{m}$, ver Figura 13c; los electrodos de referencia, dispuestos en la periferia del área central de la córnea, tienen una longitud de arco de 5.5 mm y un ancho de $170 \mu\text{m}$. En cuanto a los pads, se diseñaron de acuerdo al cable comercial Molex modelo 5051102091.

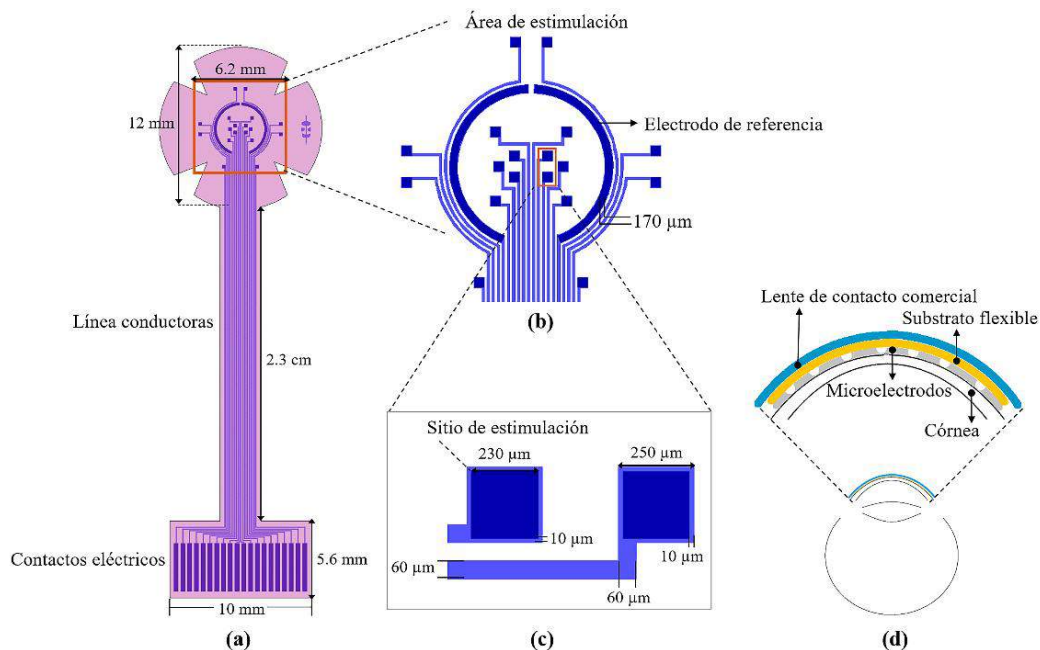


Figura 13. (a) Diseño propuesto del arreglo de microelectrodos flexibles, compuesto por: 20 pads (parte inferior), 20 líneas conductoras (parte de en medio), 18 microelectrodos independientes y dos electrodos de referencia (parte superior), (b) vista detallada del área de estimulación, (c) parámetros geométricos clave de los microelectrodos, y (d) diagrama del montaje del electrodo colocado sobre la córnea.

Los microelectrodos y los pads están conectados eléctricamente por líneas conductoras. Estas líneas metálicas tienen aproximadamente 31 mm de largo y 60 μm de ancho. Las estructuras metálicas fueron diseñadas considerando una bicapa metálica compuesta de Aluminio/Titanio (Al/Ti) con espesores de 150 nm y 50 nm, respectivamente. El uso de estos dos materiales cumple tres propósitos: aumentar la conductividad eléctrica de las estructuras, garantizar la biocompatibilidad del dispositivo y reducir el costo de fabricación.

La forma del dispositivo y las vías de contacto eléctrico están definidas por el segundo nivel de mascarilla, ver Figura 13a patrón color rosa. Como se observa, el diseño cubre todas las estructuras metálicas y deja expuesta únicamente la superficie de los microelectrodos y de los pads (áreas de estimulación e ingreso/registro de las señales eléctricas). En cuanto a la forma del dispositivo, el diseño incluye cuatro pétalos en el área de estimulación, esta estructura facilita la integración del área de estimulación con una lente de contacto y la curvatura de la córnea, ver Figura 13d. El dispositivo final tiene una longitud de 19.9 mm y de ancho en la parte superior 12 mm y en la parte inferior 10 mm. Es importante mencionar que el arreglo de microelectrodos fue diseñado para cubrir el área central y paracentral de la córnea, pero puede adaptarse fácilmente para cubrir el área periférica.

3.2. FABRICACIÓN DE MASCARILLAS

El proceso de fabricación de los dos niveles de mascarillas diseñados se realizó en el Laboratorio Nacional de Micro y Nano Tecnología (LnunT) ubicado en el Instituto Politécnico Nacional (IPN). Las mascarillas se fabricaron utilizando mascarillas comerciales Nanofilm de 5 in x 5 in en el equipo Heiderberg Mask Write – DWL66FS. En la Figura 14, se muestran las mascarillas fabricadas.

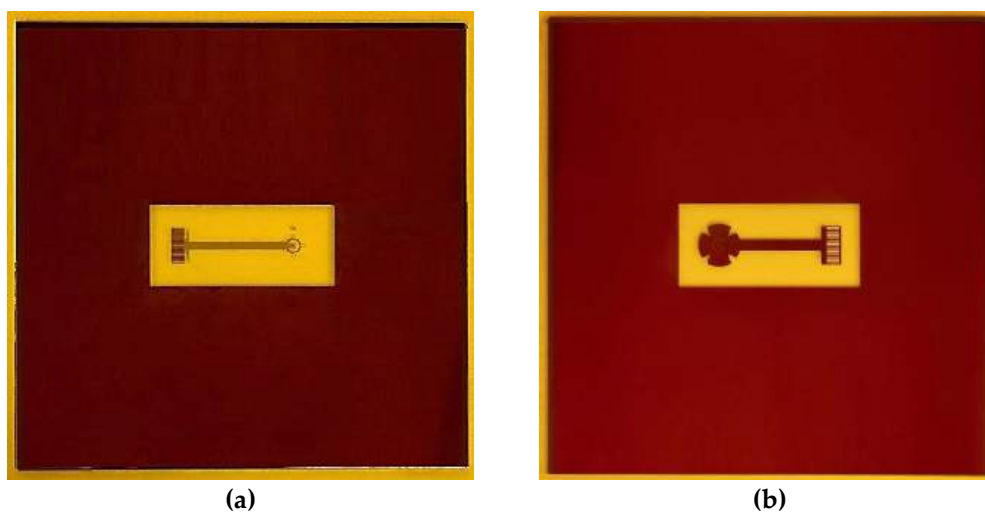


Figura 14. Fabricación de las mascarillas utilizadas en el proceso de fabricación del arreglo de microelectrodos, (a) primer nivel de mascarilla y (b) segundo nivel de mascarilla.

3.3. CARACTERIZACIÓN DE MATERIALES

Antes de fabricar el arreglo de microelectrodos, se llevó a cabo la caracterización de cada uno de los materiales utilizados en el proceso fabricación. Esta etapa, permite ajustar y optimizar parámetros críticos como: la adherencia, la compatibilidad de materiales, el control de dimensiones, la resistencia a la corrosión, entre otros. Con la finalidad de minimizar defectos, obtener un proceso de fabricación reproducible y mejorar la fiabilidad del prototipo. En este estudio, los parámetros optimizados, incluyen: curva de tratamiento térmico, tasa de grabado y rugosidad para la poliimida; tiempo de exposición, temperatura y revelado para la fotorresina AZ 1512; así como la tasa de depósito y grabado para los materiales metálicos: aluminio y titanio. El proceso de caracterización y la fabricación del prototipo se realizaron en el Laboratorio Nacional CONAHCYT en Microtecnología y BioMEMS (LaNMiB) ubicado en el CIO.

3.3.1 Poliimida

La poliimida (PI) es un material polimérico ampliamente conocido por sus excelentes propiedades térmicas, mecánicas y químicas. La PI es un material particularmente atractivo en el área de BioMEMS debido a su alta estabilidad térmica, baja constante dieléctrica, alta resistividad, biocompatibilidad y flexibilidad. Por lo cual, este material es utilizado como sustrato flexible, aislante eléctrico y recubrimiento. En el proceso de fabricación propuesto utilizamos la PI-2610 y 2611 como material de sustrato flexible y la PI-2610 como material de recubrimiento.

Ambos tipos de PI se depositan mediante la técnica de *spin coating* a una velocidad de depósito que depende del espesor requerido. Una vez depositada la PI se realiza un proceso de pre-curado térmico y curado termico final para solidificar la película depositada. El pre-curado térmico se realiza de acuerdo a la hoja de datos del material, donde el fabricante recomienda colocar la muestra sobre una parrilla térmica a 90°C por 90 segundos y pasarla inmediatamente a una segunda parrilla a 150°C por un tiempo de 90 segundos. Después, las muestras pasan a un proceso de curado térmico final, el cual, se caracterizó para obtener los parámetros de película deseada, es decir, integridad física, flexibilidad mecánica y biocompatibilidad.

Esta última característica es de gran importancia, ya que el precursor de la PI (ácido poliamico, PAA) se encuentra disuelto en un solvente dipolar basado en N-metil-2-pirolidona (NMP), elemento con características toxicas. Por lo cual, para su uso en aplicaciones médicas, se requiere que durante el proceso de tratamiento térmico se evapore la mayor cantidad del solvente. Para comprobar que el tratamiento térmico propuesto cumpla con este requisito, la composición química de las películas de PI se evaluó mediante pruebas de absorción química con análisis de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). La Figura 15, muestra una comparación de los espectros FTIR obtenidos para los procesos de curado térmico propuestos a 300 °C, 350°C y 380°C.

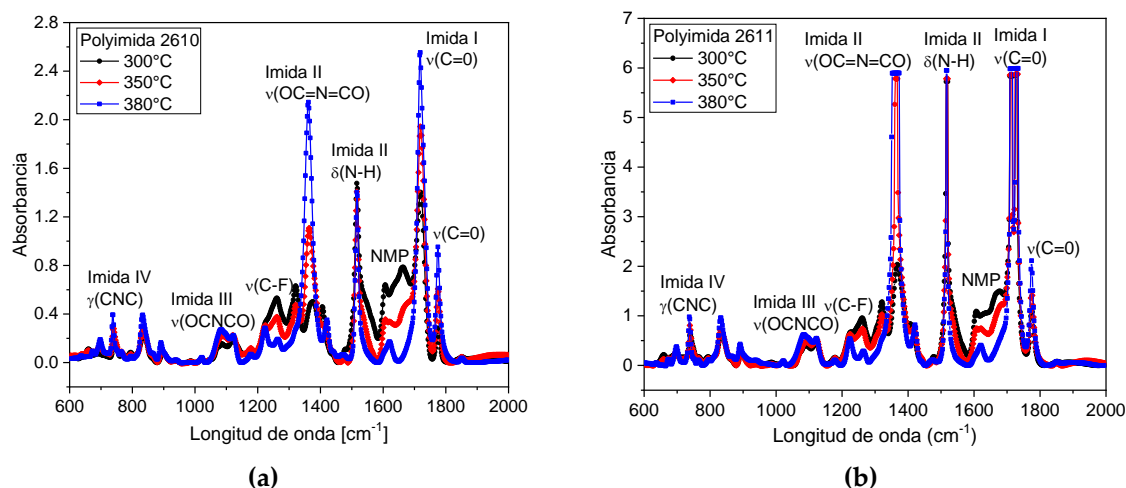


Figura 15. Espectros FTIR obtenidos para curado térmico de la (a) PI-2610 y (b) PI-2611.

Como se puede observar, el tratamiento térmico a la temperatura de 380°C, mejora el proceso de polimerización del material, ya que, no solo presenta una baja absorción de la longitud de onda del compuesto solvente (NMP), en comparación con las otras dos temperaturas propuestas (300 y 350°C), sino, que al mismo tiempo mejora el grado de absorción de la longitud de onda asociada a los compuestos de interés: amida I, amida II y amida III. Por lo cual, se eligió esta temperatura para el tratamiento térmico final de las películas de PI. La curva del tratamiento térmico propuesto se muestra en la Figura 16.

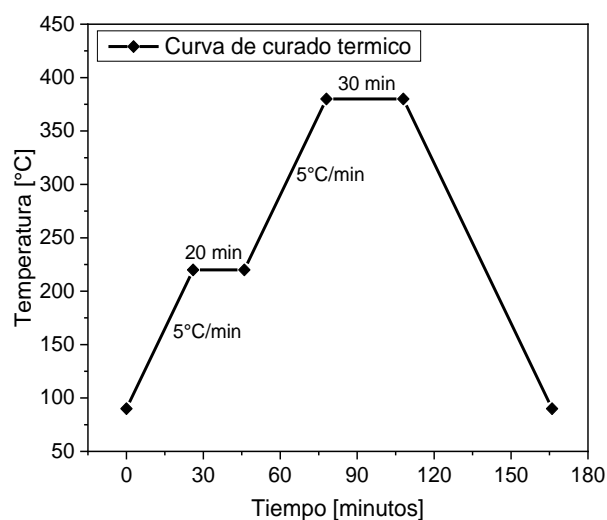


Figura 16. (a) curva de curado térmico para la PI-2610 y 2611.

Durante el proceso de curado térmico final, el incremento de la temperatura (5°C/min) y el tiempo de estabilización de la parrilla (20 min a 220°C y 30 min a 380°C) son parámetros críticos, ya que, durante el proceso de polimerización, la PI es muy sensible a cambios drásticos de temperatura, lo cual podría provocar defectos o incluso el desprendimiento de la película. Es

importante mencionar que la PI no puede someterse a temperaturas mayores de 400°C, por lo cual, un tratamiento térmico mayor al propuesto no es adecuado para el material, ya que en condiciones de temperatura mayores a 380°C el material se vuelve quebradizo. La figura 17, muestra el proceso de depósito de una película de PI y la comparación entre una película sin y con defectos.

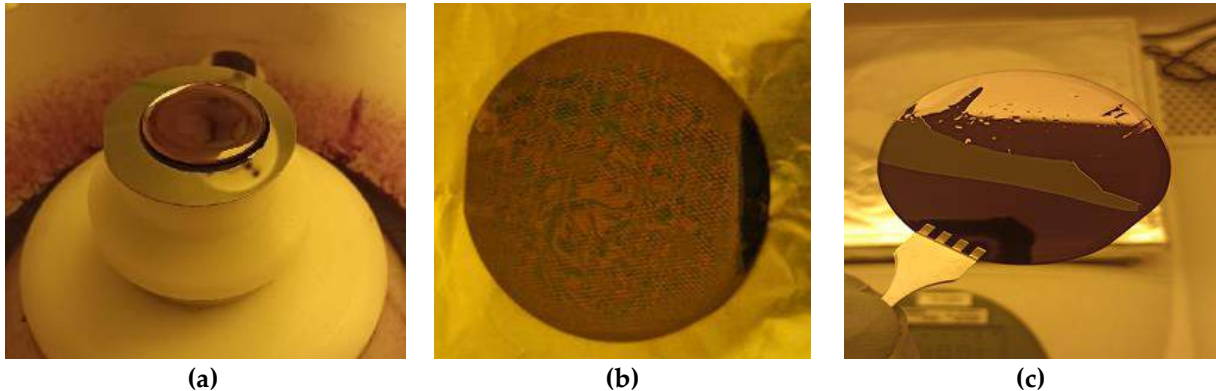


Figura 17. Depósito de la película de poliimida y película de poliimida después del proceso del curado térmico (b) sin defectos y (c) con defectos.

Una vez caracterizado el proceso de curado térmico final, se realizaron depósitos de PI-2610 y PI-2611 a diferentes velocidades (de 1000 rpm a 8000 rpm) y con las mismas condiciones de depósito, es decir, un tiempo de giro de 30 segundos, una aceleración de 100 rps y el curado térmico final a 380°C. Los depósitos se utilizaron para caracterizar el espesor y el tiempo de grabado de la PI en función a la velocidad de depósito. El espesor de las películas se midió mediante perfilometría, ver Figura 18b, por lo cual, fue necesario realizar un proceso de fotolitografía estándar para cubrir ciertas áreas del material y realizar el proceso de grabado selectivo, ver Figura 18a.

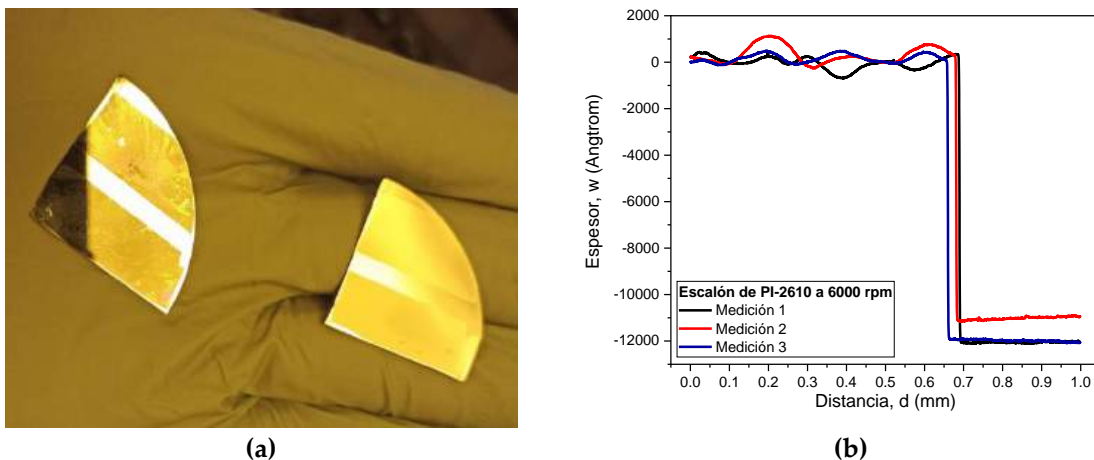


Figura 18. (a) substratos de silicio con escalón de PI y aluminio y (b) escalón medido mediante perfilometría para la PI-2610 depositada a 6000 rpm.

El grabado selectivo de las películas de PI-2610 y 2611 se realizó con la técnica de grabado iónico reactivo utilizando el sistema de grabado físico RIE modelo PE-100 y los siguientes parámetros de procesamiento: gas de oxígeno (O₂), flujo de gas de 50 sccm, potencia de 250 W y una temperatura de 15°. El tiempo de grabado y el espesor de las películas de PI en función de la velocidad de giro de depósito de muestra en la Figura 19.

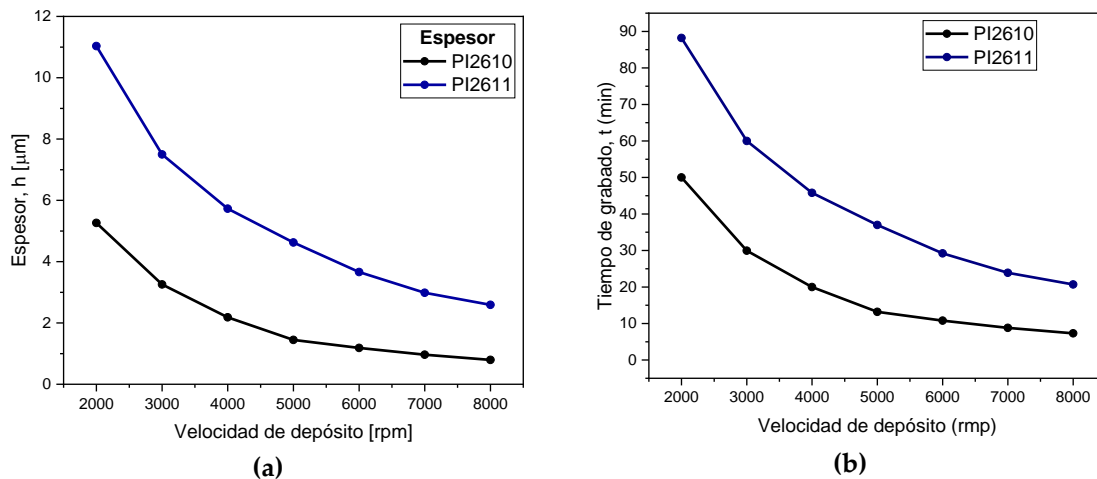


Figura 19. (a) Espesor y (b) tiempo de grabado de la PI 2610 y 2611 en función a la velocidad de giro de depósito.

Como podemos observar, tanto el espesor como tiempo de grabado de la PI, no es lineal en función a la velocidad de depósito, por lo cual no fue posible obtener una tasa de depósito fija. Sin embargo, si graficamos el tiempo de grabado en función del espesor (ver Figura 20) es posible obtener la tasa de grabado, la cual fue de 1.1 $\mu\text{m}/\text{min}$ para la PI-2610 y de 1.2 $\mu\text{m}/\text{min}$ para la PI-2611.

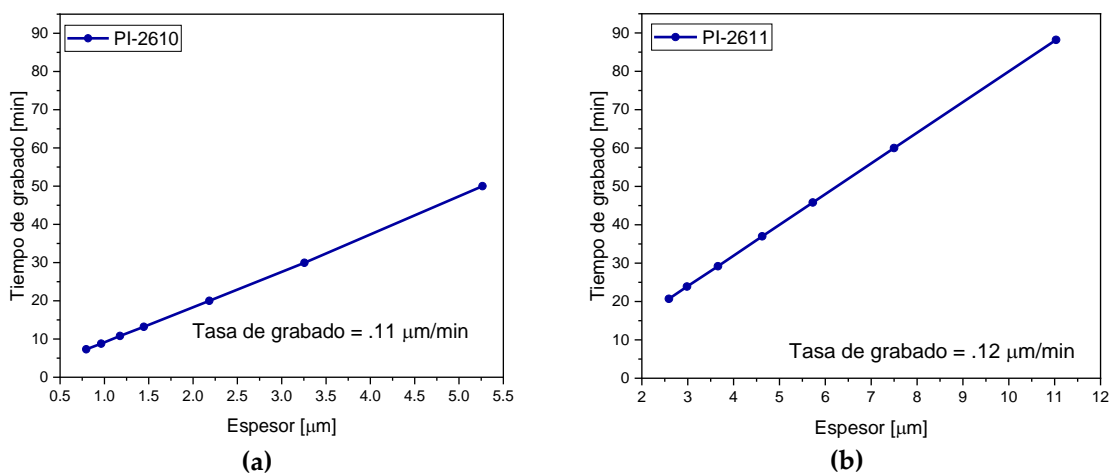


Figura 20. Tiempo de grabado en función al espesor de película para la (a) PI-2610 y (b) PI-2611.

La PI es un polímero con baja adherencia hacia otros materiales, esta característica se atribuye a la hidrofobicidad de las películas sólidas de PI. Por lo cual, fue necesario modificar la superficie de PI para incrementar su área de adherencia y poder depositar cualquier tipo de material sobre la superficie. Para realizar este proceso, se propone desgastar la superficie de la PI con plasma de O₂ utilizando las mismas condiciones del proceso de grabado descritas anteriormente, pero utilizando un tiempo corto de grabado. La rugosidad generada por este proceso, se midió mediante microscopia de fuerza atómica (AFM), los resultados de la altura promedio de pico a valle generados se muestran en la Figura 21.

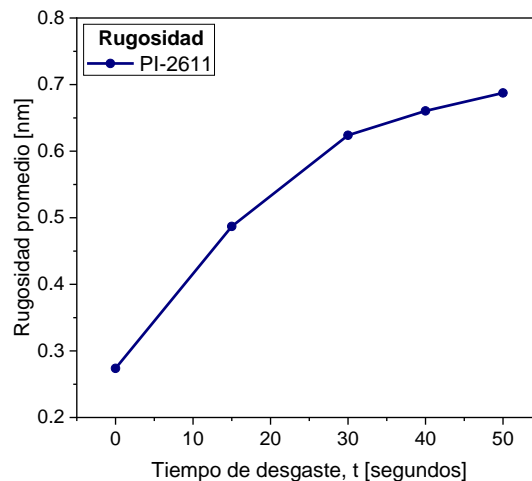


Figura 21. Rugosidad de la PI en función al tiempo de desgaste.

A partir de los resultados anteriores, podemos observar que la rugosidad de la superficie de la PI-2611 incrementa alrededor de 0.2 nm cada 10 segundos. Sin embargo, este comportamiento ocurre únicamente para los tiempos de 10, 20 y 30 segundos, para tiempos de desgaste mayor (40 y 50 segundos) el cambio en la rugosidad no es significativo (aproximadamente 0.02 nm). Este comportamiento se atribuye debido a que los picos y valles creados por los iones reactivos pierden material con el tiempo y se crean nuevos picos. Por lo cual, para el proceso de fabricación propuesto, se utiliza un tiempo de desgaste de 30 segundos. Además, es importante mencionar que el proceso de desgaste se utiliza entre cada capa de PI depositada y antes de depositar un metal.

3.3.2. Fotorresina AZ 1512

La fotorresina AZ1512 es el material fotosensible que se utiliza en las diferentes etapas de fotolitografía durante el proceso de fabricación propuesto. Este tipo de fotorresina se eligió debido a sus características, que incluyen: excelente adherencia, alta resistencia a la mayoría de las soluciones grabantes, rango de espesor de 1 μm a 1.8 μm y por el tipo de fotorresina (positiva).

En el proceso fotolitográfico, la fotorresina AZ 1512 se utiliza como material sensible a la luz para crear patrones sobre un material. El proceso consiste en cuatro pasos principales: depósito, tratamiento térmico, exposición y revelado, ver Figura 22. El depósito de la fotorresina se realiza por la técnica de *spin coating*, donde el espesor final de la película depende de la velocidad de giro del depósito y del tratamiento térmico, en este caso utilizamos 4000 rpm. Una vez finalizado el recubrimiento, se procede a calentar el sustrato para evaporar los solventes de la fotorresina y formar una película delgada sólida. Este proceso depende de la fotorresina utilizada, pero por lo general toma un tiempo de 60 a 120 segundos a una temperatura de entre 90°C a 120°C.

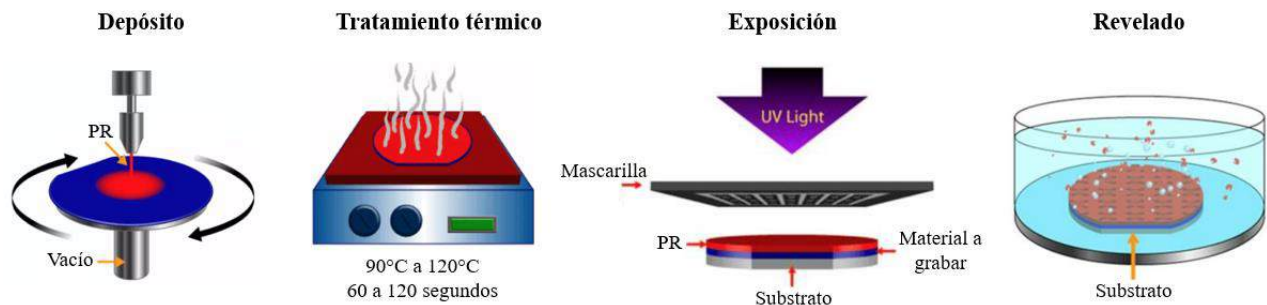


Figura 22. Principales pasos en el proceso de fotolitografía.

Después del tratamiento térmico, la fotorresina cubierta con una mascarilla se expone a luz ultravioleta, la luz modifica la estructura molecular de la fotorresina seguido de un cambio en la solubilidad del material, lo cual permite disolver ciertas áreas de la fotorresina durante el proceso de revelado. Los parámetros caracterizados para la fotorresina AZ 1512, se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Parámetros caracterizados para la fotorresina AZ 1512.

Velocidad de depósito	4000 rpm
Curado térmico	100°C durante 60 segundos
Tiempo de exposición	3.5 segundo
Revelador	MIF 726
Tiempo de revelado	27 segundos
Espesor	1.4 μm

Además de los parámetros descritos en la Tabla 2, se implementó un proceso de pos-curado térmico a 100°C durante 3 minutos para endurecer a un más la película de fotorresina después del proceso de revelado. Este paso se implementó, debido a que la solución grabante del titanio es muy corrosiva. De esta manera aseguramos que la fotorresina mantenga su forma y propiedades durante el proceso de grabado.

3.3.3. Titanio

El titanio (Ti) se propone como material estructural del arreglo de microelectrodos flexibles debido a sus propiedades bien conocidas de biocompatibilidad, resistencia a la corrosión, bajo costo en comparación con otros materiales biocompatibles y un bajo módulo de Young, lo que lo hace ideal para su uso en dispositivos médicos flexibles. No obstante, hay que tomar en cuenta el valor de la resistividad eléctrica de este material ($4.2 \times 10^{-7} \Omega\text{m}$), ya que podría afectar el funcionamiento de los microelectrodos, debido a un valor de una resistencia eléctrica alto y en consecuencia de impedancia.

Como solución a este problema, se propone el uso de una bicapa metálica compuesta de aluminio y titanio (Al/Ti). Al tratarse de un depósito sobrepuesto y no de una aleación, es posible reducir el valor de la resistencia eléctrica de las estructuras, sin sacrificar la biocompatibilidad del prototipo, ya que el Ti queda en contacto directo con el tejido biológico, ver Figura 23.

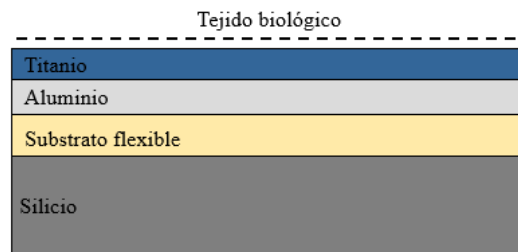


Figura 23. Corte transversal de la bicapa metálica de aluminio/titanio propuesta.

La resistencia eléctrica de las estructuras de aluminio/titanio, se calculan considerando una resistencia eléctrica en paralelo, la cual está dada por la siguiente ecuación:

$$R_T = \left[\frac{R_1 \times R_2}{R_1 + R_2} \right] \quad (3)$$

Donde, R_T es la resistencia en paralelo, R es la resistencia eléctrica y los subíndices 1 y 2 representan al aluminio y titanio respectivamente. En esta ecuación R está dada por:

$$R = \frac{\rho l}{wt} \quad (4)$$

Donde, ρ es la resistividad eléctrica del metal, l la longitud, w el ancho y t el espesor de la estructura. A partir de la ecuación 3 y 4, obtuvimos los valores analíticos de la resistencia eléctrica de cada pad-microelectrodo y pad-referencia utilizando aluminio, titanio y aluminio/titanio como material estructural. Debido a que el diseño está definido en espejo, en la Tabla 3 se muestran los resultados obtenidos para las primeras 10 estructuras.

Tabla 3. Comparación entre el valor de resistencia eléctrica calculada para las estructuras de aluminio, titanio y aluminio/titanio.

Aluminio	Titanio	Aluminio/titanio
98.03 Ω	4.38 k Ω	98.05 Ω
107.73 Ω	4.81 k Ω	107.54 Ω
108.89 Ω	4.87 k Ω	108.67 Ω
114.49 Ω	5.12 k Ω	114.15 Ω
100.38 Ω	4.49 k Ω	100.17 Ω
98.85 Ω	4.42 k Ω	98.66 Ω
100.38 Ω	4.49 k Ω	100.34 Ω
97.60 Ω	4.36 k Ω	97.63 Ω
98.35 Ω	4.39 k Ω	98.36 Ω
100.75 Ω	4.50 k Ω	100.71 Ω

Como se esperaba, el valor de resistencia eléctrica calculado en las estructuras compuestas de Al/Ti es mucho menor (46 veces menos) que la resistencia eléctrica medida en las estructuras de Ti y comparable a los resultados obtenidos en estructuras de aluminio. Lo cual, valida la propuesta de la bicapa metálica como material estructural de los microelectrodos.

En la práctica, las películas de Ti se depositaron por la técnica de pulverización catódica (*sputtering*) en el equipo Aja International ATC Orion utilizando una fuente DC, gas argón a 32 sccm, una presión de 5 mT y una potencia de 60 W. Utilizando estos parámetros, se depositaron películas de Ti a diferentes tiempos de depósito (10 min, 20 min y 30 min) para caracterizar la tasa de depósito del material. Los espesores de las películas depositadas se midieron en el elipsómetro SENTECH Spectra Ray 4 en tres puntos. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 24. Como se observa, se obtuvo una tasa de depósito de 1.6 nm/min.

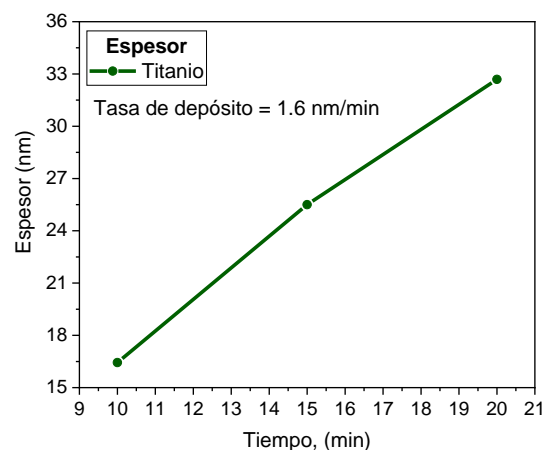


Figura 24. Espesor en función del tiempo del depósito del Ti.

Una vez obtenida la tasa de depósito del Ti, se depositaron películas de Ti de 50 nm de espesor para caracterizar su proceso de grabado selectivo. Esta etapa, implica recubrir ciertas

áreas del Ti mediante un proceso de fotolitografía estándar y sumergir la muestra en una solución (Ti-etch) a base de ácido fluorhídrico (HF), ácido nítrico (HNO_3) y agua desionizada (H_2O) a una relación de volumen [1:1:20]. La tasa de grabado obtenida fue de 2.7 nm/segundo.

Como se puede observar, la tasa de grabado obtenida es muy alta, esto se debe a que la solución grabante utilizada es altamente corrosiva. Lo cual, ocasiono sobre-grabado lateral de las estructuras, contaminación del substrato debido a la saturación de la solución y un proceso de grabado no reproducible, ver Figura 25 (a y b). Como solución a este problema, intentamos disminuir la concentración de los ácidos, sin embargo, no obtuvimos remoción del material. Por lo cual, se propuso: (i) llevar un control preciso del tiempo, (ii) implementar un proceso de pos-curado térmico de la fotorresina (100°C por 3 min), (iii) realizar movimiento suaves y repetitivos durante el proceso de grabado y (iv) renovar la solución grabante para cada proceso. Las estructuras obtenidas implementado estos pasos se muestran en la Figura 25 (c, d y e). Las imágenes fueron tomadas con el microscopio digital Visión EVOCAM.

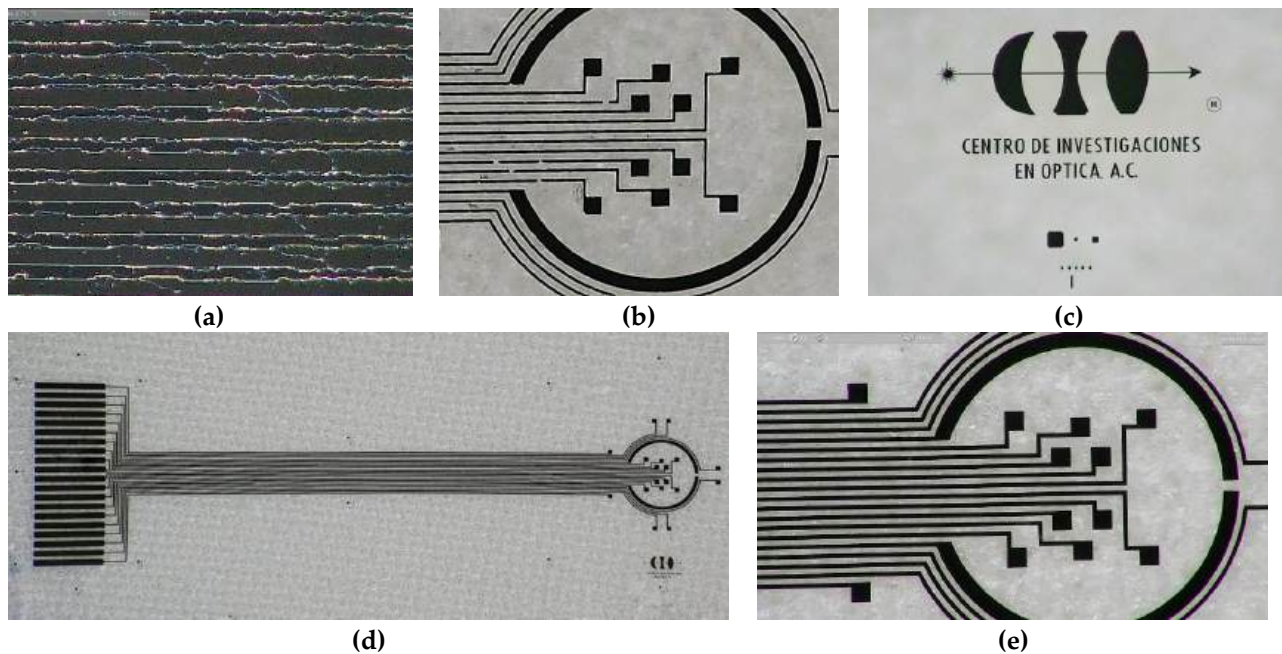


Figura 25. Estructuras de Ti con defectos obtenidas después del proceso de grabado inicial (a) pistas conductoras y (b) acercamiento del área de estimulación. Estructuras de titanio sin defectos, implementando los pasos propuestos (c) logo del CIO (incluido en el diseño), (d) diseño completo del prototipo y (e) acercamiento del área de estimulación.

3.3.4. Aluminio

El aluminio se utiliza como material enmascarante y estructural en el proceso de fabricación propuesto. Su función como material enmascarante es para proteger ciertas áreas de la poliimida durante el proceso de grabado selectivo con plasma de O_2 , y como material estructural, se propone debido a su baja resistividad eléctrica ($2.82 \times 10^{-8} \Omega\text{m}$), un parámetro

relevante para el desarrollo de microelectrodos, y por su bajo módulo de Young (70.5 GPa), el cual incluso es menor que el del Ti.

Las películas de Al se depositaron por la técnica de pulverización catódica, utilizando el equipo Aja International ATC Orion y las siguientes condiciones de depósito: fuente DC, gas argón a 32 sccm, una presión de 5 mT y una potencia de 50 W. Los espesores de las películas de Al se midieron mediante dos técnicas: elipsometría y perfilometría. Los resultados obtenidos para un tiempo de depósito de 10, 15 y 20 minutos se muestran en la Figura 26. Como se observa, ambas técnicas de medición coinciden en el valor del espesor depositado, mostrando una tasa de depósito de 2.7 nm/min.

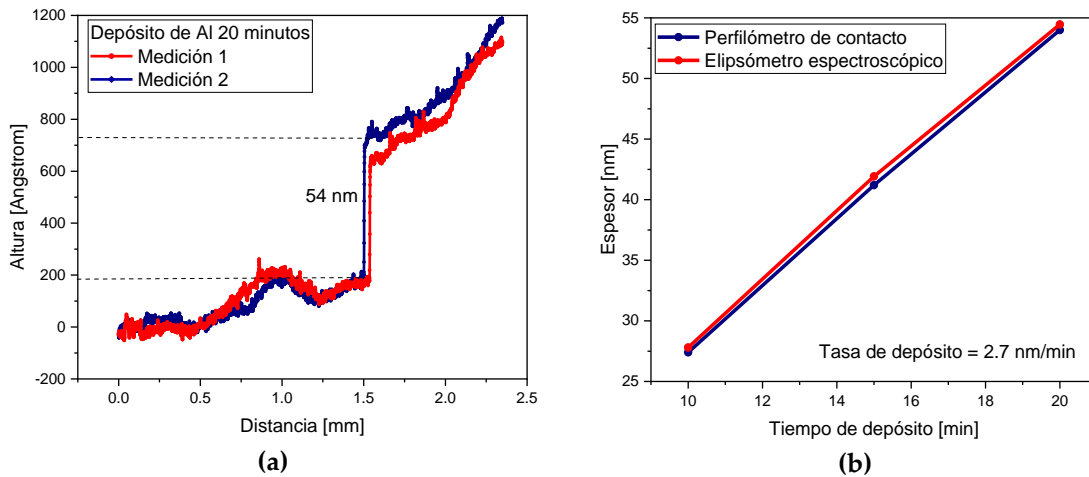


Figura 26. (a) Espesor de las películas de Al medido mediante (a) perfilometría (película depositada durante 20 minutos) y (b) elipsometría (películas depositadas durante 10, 15 y 20 minutos).

El proceso de grabado selectivo del Al se realizó con la solución comercial Al-etch Tipo-A a 38 °C. La tasa de grabado obtenida fue de 2.5 nm/min; esta tasa de grabado permitió obtener un proceso de grabado controlado, integridad estructural y un proceso reproducible. La Figura 27, muestra los resultados obtenidos.

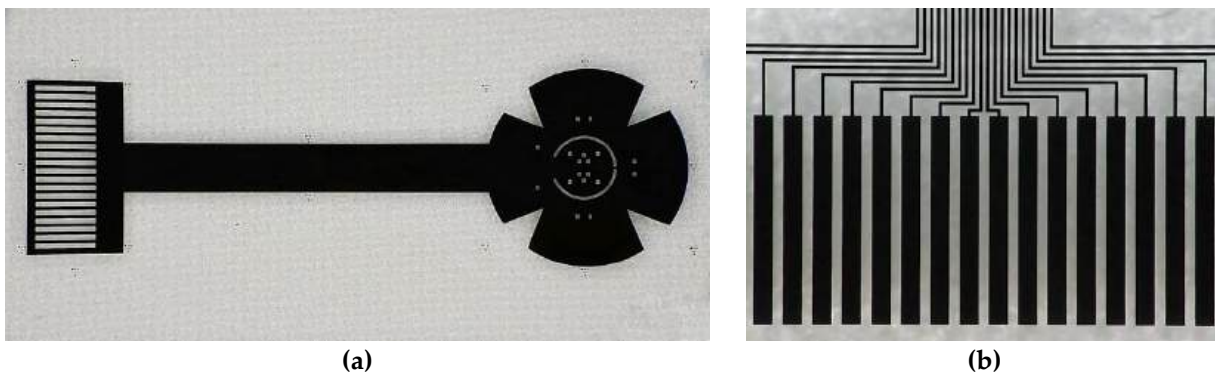


Figura 27. Estructuras de Al después del proceso de grabado, (a) contorno del dispositivo y (b) arreglo de pads.

3.4. PROCESO DE FABRICACIÓN

El arreglo de microelectrodos flexible se fabricó utilizando la tecnología de micromaquinado de superficie y electrónica flexible. El proceso de fabricación propuesto, considera el uso de solo tres materiales estructurales: aluminio, titanio y poliimida; lo que nos permite obtener un proceso de fabricación simplificado, ergonómico y reproducible. La Figura 28, muestra el corte transversal de los principales pasos del proceso de fabricación propuesto y la siguiente sección describe a detalle los pasos realizados.

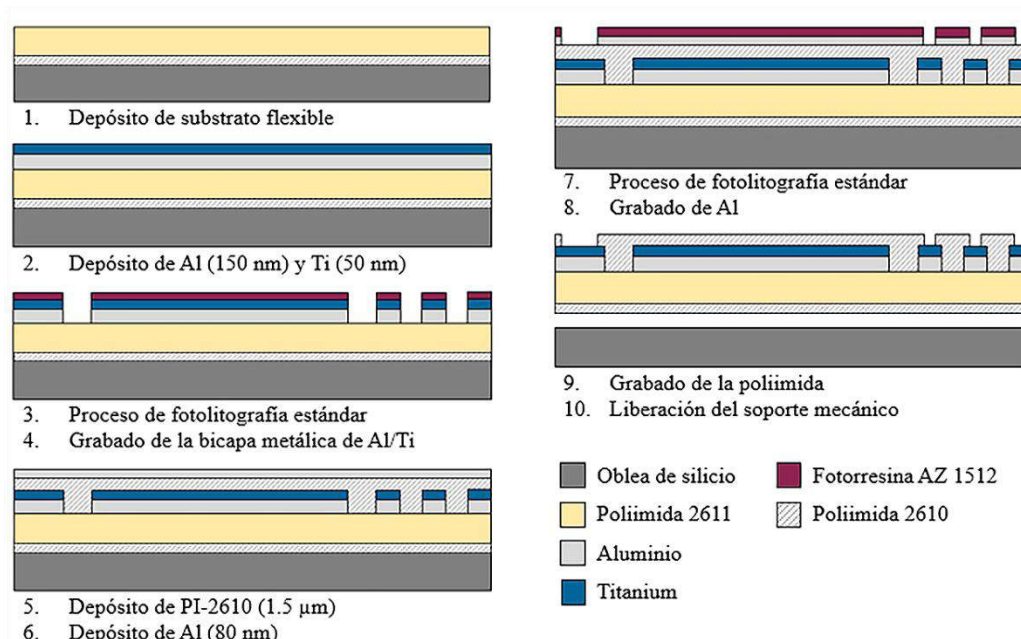


Figura 28. Diagrama esquemático del proceso de fabricación del arreglo de microelectrodos.

3.4.1. Procedimiento

1. El proceso de fabricación inicia con limpieza química estándar de las obleas de silicio (Si). En este proceso, se utilizaron obleas de silicio de 2 pulgadas de diámetro y su función es únicamente brindar soporte mecánico a las diferentes etapas del proceso de fabricación. La etapa de limpieza química estándar consiste en lo siguiente:
 - a) Inmersión de las obleas de Si en acetona por 15 minutos en limpiador ultrasónico.
 - b) Inmersión de las obleas de Si en alcohol isopropílico por 15 minutos en limpiador ultrasónico.
 - c) Enjuague en agua desionizada (DI).
 - d) Inmersión de las obleas de Si en solución buffer de HF.
 - e) Enjuague en agua desionizada (DI) y
 - f) Secado con aire comprimido de alta pureza.

- Después, se realizaron tres depósitos consecutivos de PI para formar un sustrato flexible de aproximadamente 20 μm espesor. El primer depósito fue de PI-2610 y el segundo y tercer depósito de PI-2611. La PI-2610 se eligió como primera capa del sustrato debido a que presenta mejor adherencia a la oblea de silicio en comparación con la PI-2611. Los tres depósitos de PI se realizaron con la técnica de *spin coating* a 2500 rpm durante 30 segundos y entre cada depósito se realizó el proceso de pre-curado térmico y curado térmico final descrito en la sección 3.3.1. La Figura 29, muestra las principales etapas del depósito de PI.

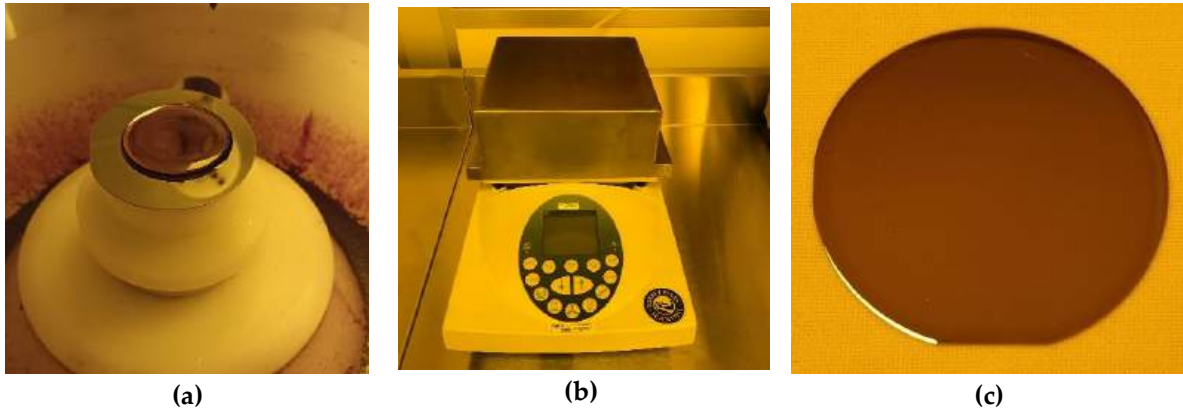


Figura 29. (a) Depósito de la PI por spin coating, (b) tratamiento térmico final y (c) película obtenida.

- Entre cada depósito de PI, incluyendo el último, se realizó un proceso de desgaste de la superficie de la PI para incrementar su rugosidad. Este proceso se realizó en el equipo RIE utilizando gas de O_2 a 50 sccm, una potencia de 250 W y un tiempo de 30 segundos.
- Una vez desgastada la superficie de la película de PI, se depositó la bicapa metálica de aluminio y titanio con un espesor de 150 nm y 50 nm, respectivamente. Ambos metales, se depositaron por la técnica de pulverización catódica a una tasa de depósito de 2.7 nm/min para el aluminio y de 1.6 nm/min para el titanio (las condiciones de depósito se detallan en la sección 3.3). La Figura 30, muestra el proceso de depósito y la película obtenida.

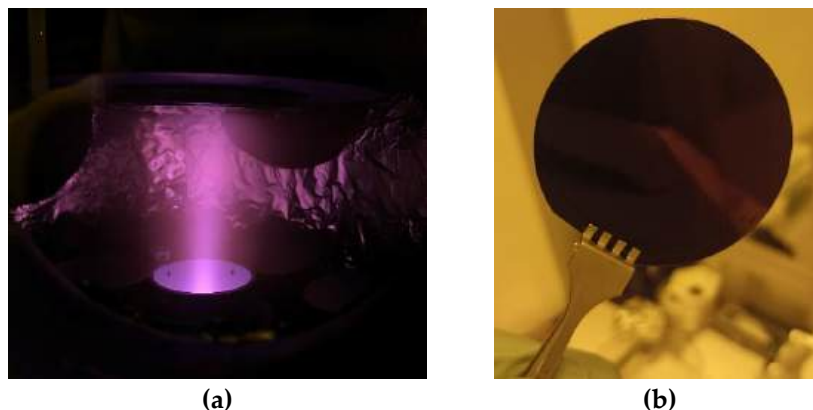


Figura 30. (a) plasma formado durante el proceso de depósito y (b) película de Al/Ti.

5. En seguida, se realizó un proceso de fotolitografía estándar utilizando el primer nivel de mascarilla y la fotorresina AZ 1512 para definir los pads, las pistas conductoras y el arreglo de microelectrodos. Las diferentes etapas de este proceso se muestran en la Figura 31.

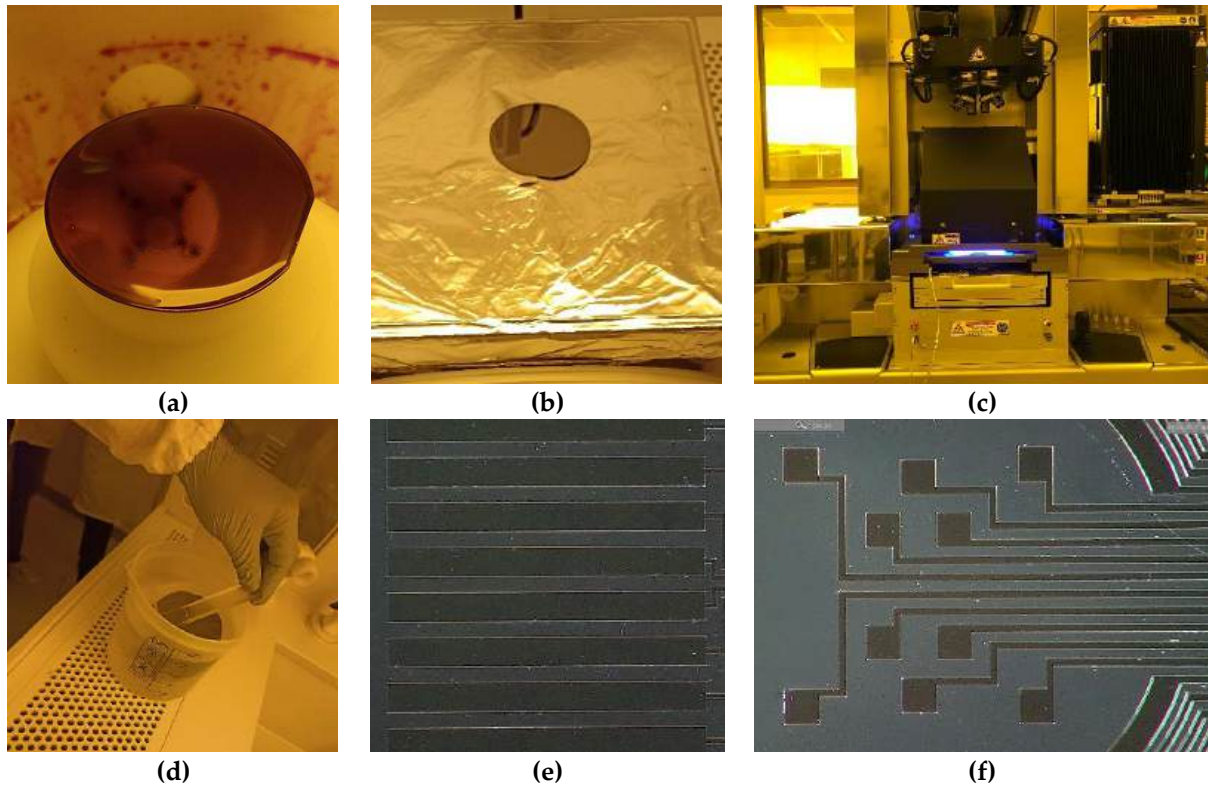
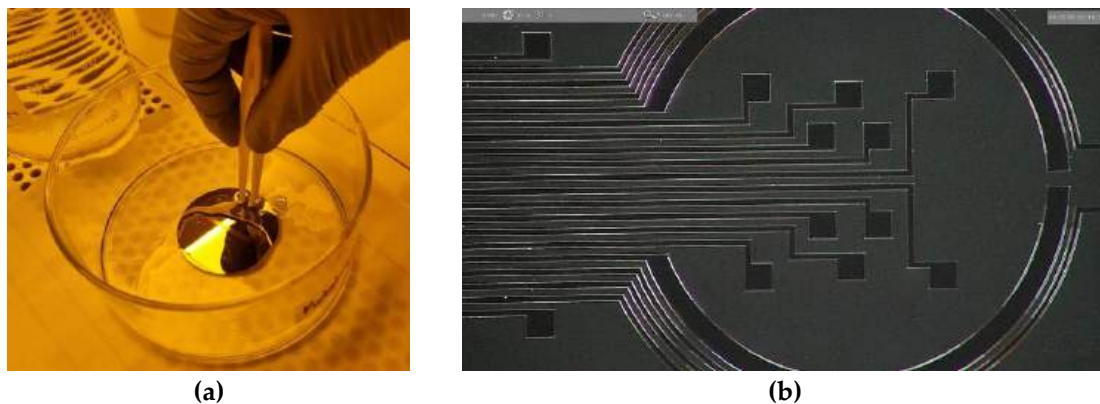


Figura 31. Proceso de fotolitografía del primer nivel de mascarilla, (a) depósito de fotorresina AZ 1512, (b) tratamiento térmico de la fotorresina a 100°C por 60 segundos, (c) exposición a luz ultravioleta por 3.5 segundos, (d) revelado y (e y f) estructuras obtenidas vistas con el microscopio digital EVOCAM.

6. A continuación, las muestras se sometieron a un proceso de pos-curado térmico a 100°C por 3 minutos para endurecer la fotorresina. Luego, las muestras se sumergieron en solución Ti-etch durante 28 segundos para grabar de manera selectiva los pads, las líneas conductoras, los microelectrodos y los electrodos de referencia, ver Figura 32.



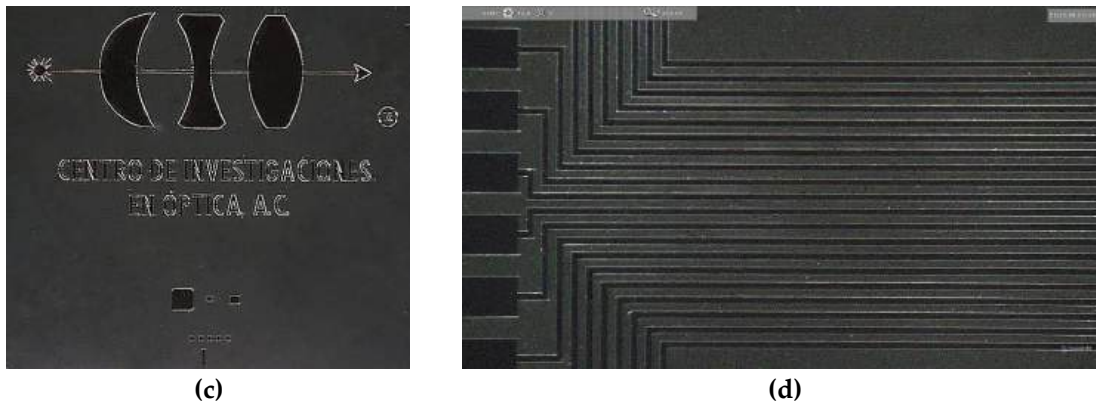


Figura 32. (a) Muestra inmersa en la solución grabante Ti-etch. Estructuras de Al/Ti definidas en el proceso de grabado: (b) arreglo de microelectrodos, (c) logo del CIO y marca de alineación de la mascarilla 1 y (d) pistas conductoras y pads.

7. La capa de fotorresina utilizada como material enmascarante en el proceso de grabado del Al/Ti, se removió sumergiendo la muestra en acetona durante 10 minutos.
8. Después de remover la fotorresina, se depositó una película de PI-2610 a 4000 rpm ($\sim 2 \mu\text{m}$ de espesor) como material de recubrimiento, y se realizó su proceso de tratamiento térmico (ver sección 3.3.1.). Posteriormente, la superficie de la película de PI se trató con plasma de O_2 para incrementar su área de adherencia, ver Figura 33.

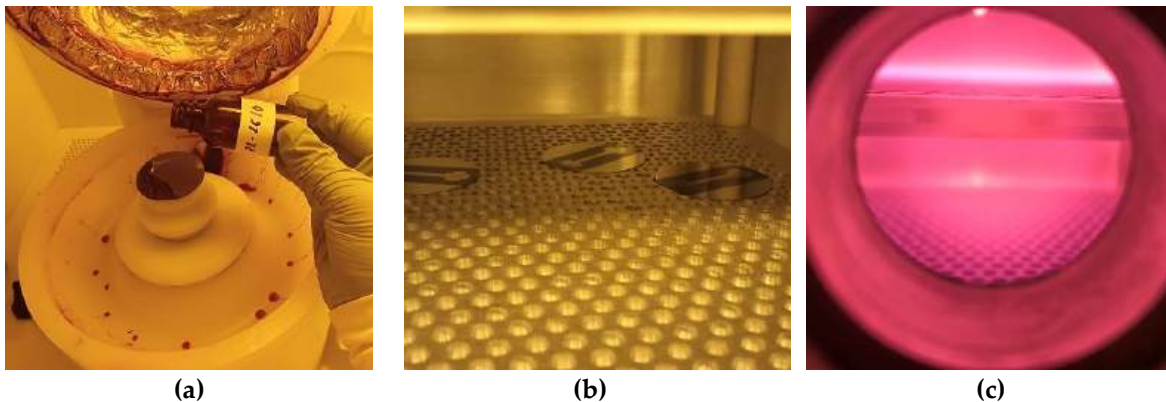


Figura 33. (a) Depósito de PI-2610, (b) muestras en la cámara del RIE y (c) plasma de O_2 .

9. Una vez desgastada la superficie de la PI, se depositó una película de aluminio de 100 nm como material enmascarante. El depósito, se realizó mediante la técnica de pulverización catódica, utilizando las condiciones de depósito descritas en la sección 3.3.4.
10. En seguida, se realizó un proceso de fotolitografía estándar utilizando el segundo nivel de mascarilla. Después del proceso de revelado, la película de aluminio se grabó de manera selectiva sumergiendo la muestra en la solución Al-etch a 38°C durante 60 segundos. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 34.

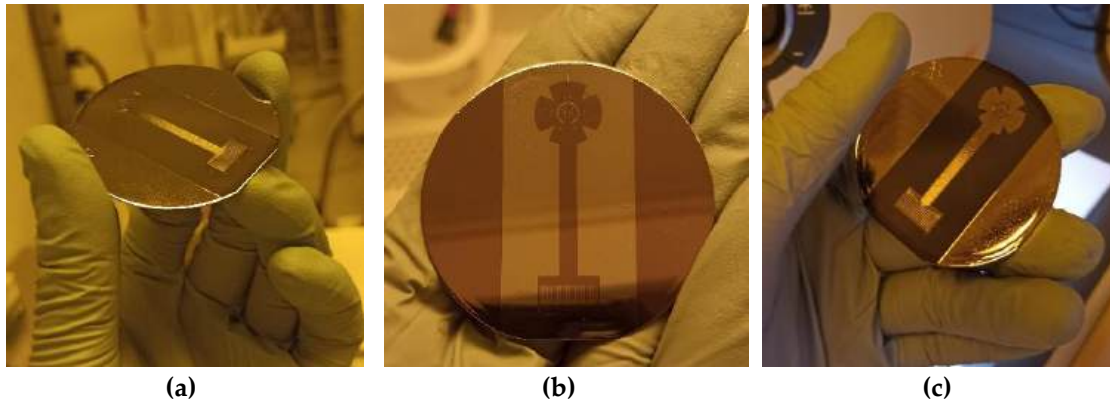


Figura 34. (a) Deposito de aluminio de 100 nm de espesor y (b) estructura definida en fotorresina y (b) estructura definida en aluminio.

11. Con el objetivo de definir la forma del prototipo y abrir las vías de contacto eléctrico en la superficie de los pads y microelectrodos, se grabó de manera selectiva la PI excedente utilizando el equipo de grabado RIE y las condiciones descritas en el paso 3. Las vías de contacto eléctrico se grabaron en un tiempo de 15 minutos, mientras que el contorno del prototipo se grabó en 9 horas. Los resultados obtenidos e muestran en la Figura 35.

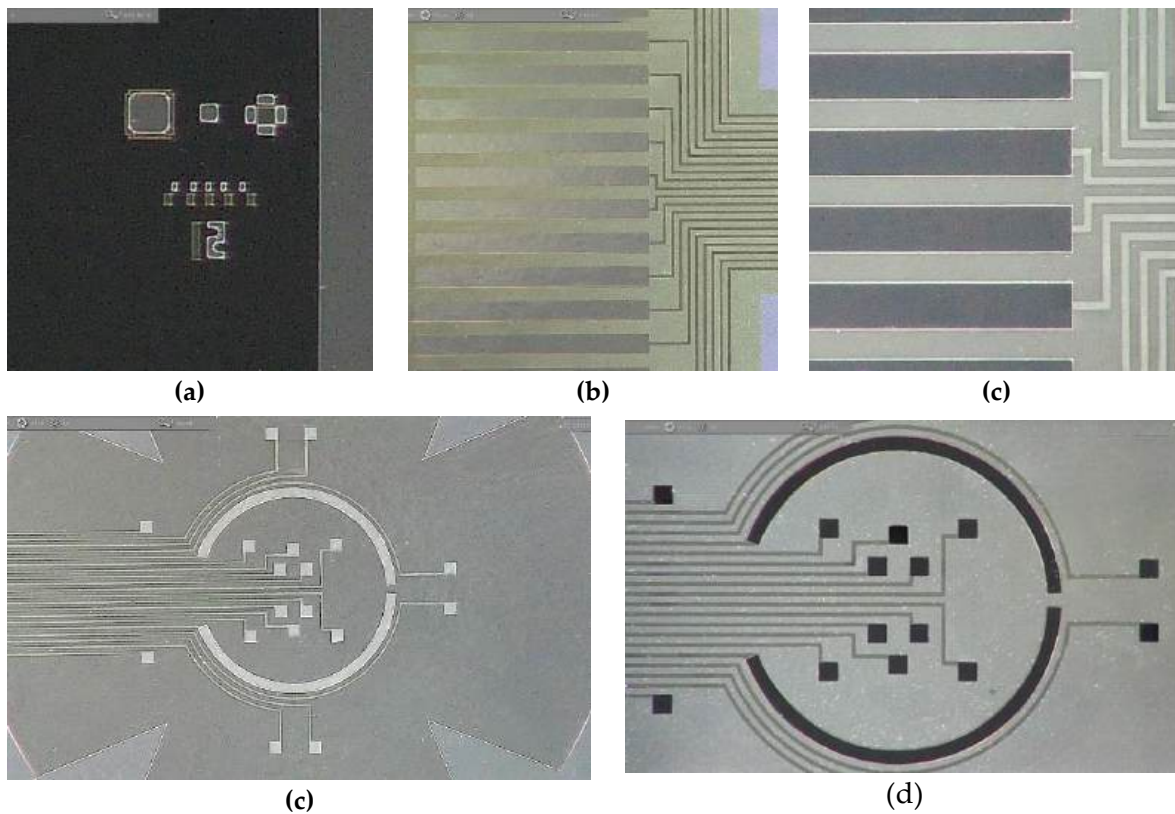


Figura 35. (a) marcas de alineación, (b) pads cubiertos con PI, (c) pads sin PI (después del proceso de grabado), (d) microelectrodos cubiertos con PI y (d) microelectrodos sin PI.

12. A continuación, la película de aluminio utilizada como material enmascarante durante el proceso de grabado de la PI se removió sumergiendo la muestra en solución al-etch por 90 segundos.
13. Finalmente, desprendimos el arreglo de microelectrodos de la oblea de silicio en agua DI, con ayuda de una pinza de plástico, ver Figura 36.

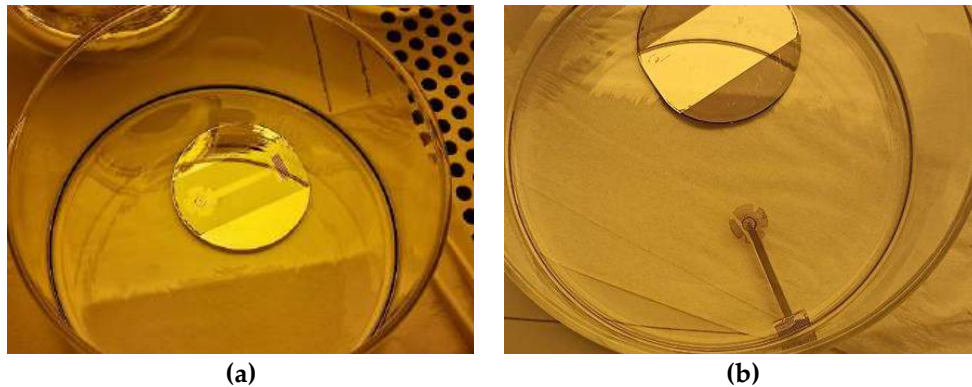


Figura 36. (a) prototipo sobre la oblea de silicio y (b) prototipo liberado.

El prototipo fabricado se muestra en las Figuras 37 y 38. Específicamente, en la Figura 37a, podemos observar un acercamiento del arreglo de microelectrodos; con la finalidad de verificar la integridad de las estructuras después del desprendimiento del soporte mecánico, y en la Figura 37b, se ilustra el electrodo flexible, donde el área de estimulación se encuentra colocada sobre una superficie de vidrio cóncava para simular su colocación a lo largo de la curvatura de la córnea humana.

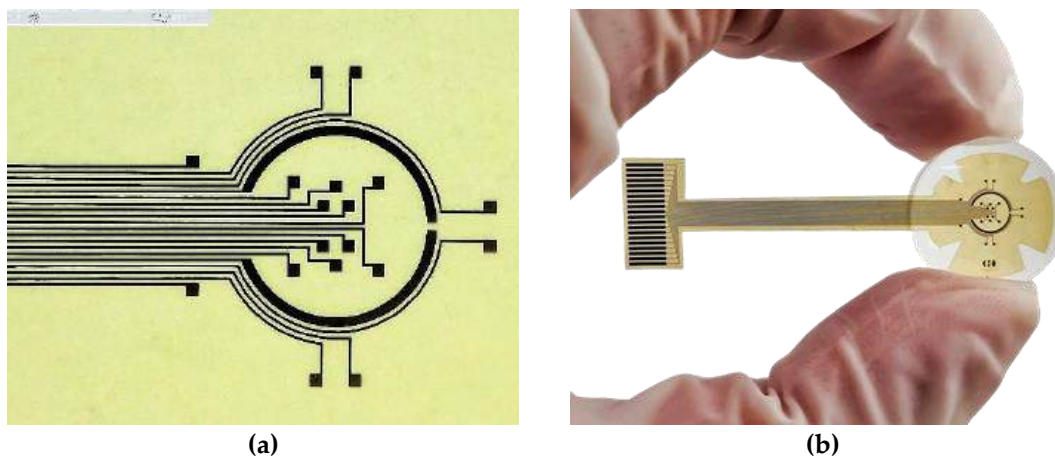


Figura 37. (a) acercamiento del arreglo de microelectrodos definidos sobre un sustrato flexible y (b) arreglo de microelectrodos colocados sobre una superficie cóncava de vidrio.

Por otro lado, en la Figura 38 podemos observar el área de estimulación del prototipo fabricado acoplada a una lente de contacto suave y sobre la superficie de la córnea de un modelo

de ojo BIO marca Volk, con la finalidad de evaluar su capacidad de acoplamiento a la curvatura real de la córnea humana.

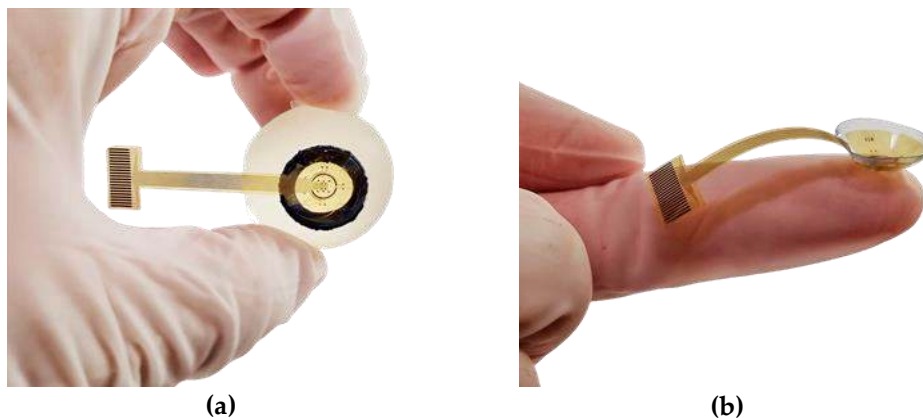


Figura 38. Área de estimulación del electrodo fabricado acoplado a (a) un modelo de ojo BIO y (b) a una lente de contacto suave de hidrogel.

Como se puede observar, obtuvimos un arreglo de microelectrodos mecánicamente flexible, con integridad estructural, robusto y fácil de manipular. Además, el proceso de fabricación y los materiales propuestos, nos permitieron obtener un proceso de fabricación reproducible, de bajo costo, tecnológicamente factible y compatible con procesamientos a bajas temperaturas.

Capítulo 4. CARACTERIZACIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN ELÉCTRICA

La caracterización eléctrica del arreglo de microelectodos se realizó en la estación de pruebas Summit 12000 y el analizador de parámetros Keithley 4200A. Las mediciones se realizaron a temperatura ambiente; considerando una configuración de dos puntas, una de las puntas se colocó sobre el pad y la otra sobre el microelectrodo correspondiente, ver Figura 39. Una vez colocadas, en una de las puntas se aplicó un voltaje de barrido de -5 V a 5 V con un paso de 0.01 V y la otra punta se asignó a tierra. La curva característica I-V obtenidas para las primeras 10 estructuras se muestra en la Figura 40a y los resultados de resistencia eléctrica (R) para cada pad-microelectrodo en la Figura 40b.



Figura 39. Identificación numérica asignada para cada pad-microelectrodo.

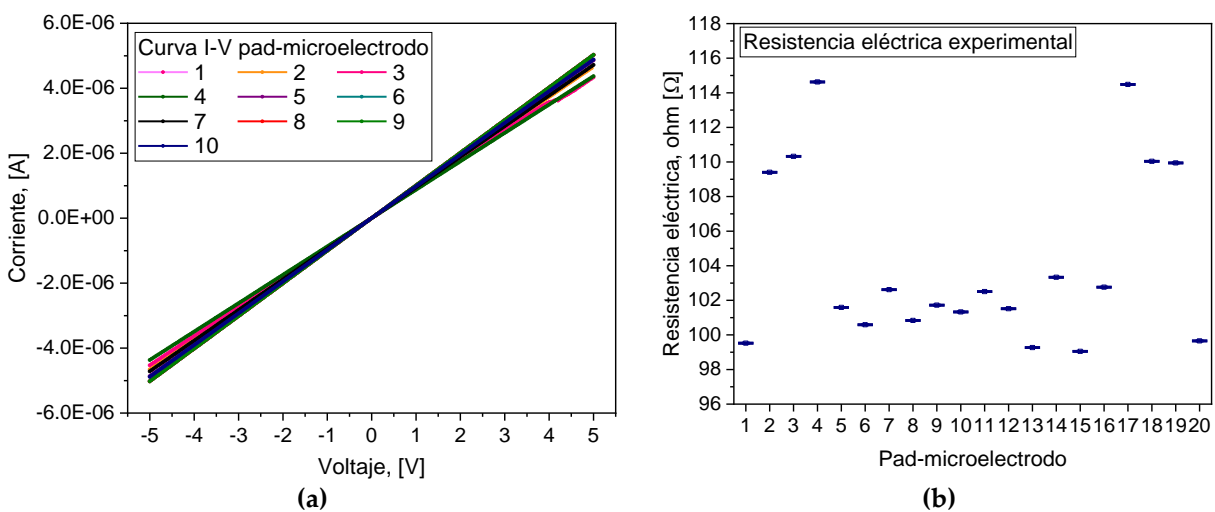


Figura 40. (a) Curvas I-V obtenidas para las primeras 10 estructuras pad-microelectrodo y (b) los valores de resistencia eléctrica para cada pad-microelectrodo.

Como se observa, el compartimiento de las curvas I-V es el esperado para un elemento resistor y la pendiente es similar en las 10 estructuras debido a que los valores de R se encuentran en el mismo orden de magnitud. Para las estructuras de menor longitud se obtuvieron valores de R de 98.27 Ω y para las estructuras de mayor longitud de 114.48 Ω . De acuerdo a los valores obtenidos, podemos concluir que el uso de la bicapa metálica de Al/Ti nos permite obtener valores de R relativamente bajos, lo cual, no solo mejora la conductividad eléctrica de los microelectrodos, sino, además permite reducir los valores de impedancia.

La Figura 41, muestra una comparación entre los valores de R medido en estructuras fabricadas de Al, Ti y Al/Ti. Como se observa, las estructuras de Al/Ti tiene valores de R similares a las estructuras de Al y muestran una R de hasta 66 veces menos en las estructuras de Ti.

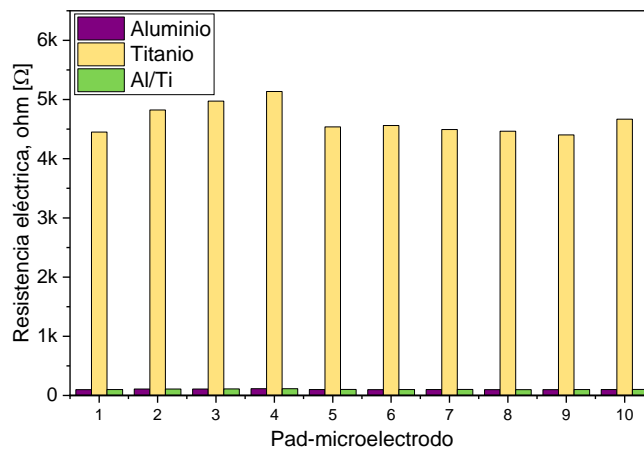


Figura 41. Comparación entre los valores de resistencia eléctrica obtenidos experimentalmente para estructuras fabricadas en Al, Ti y Al/Ti.

A manera de comparación, en la Figura 42 se presentan los valores de R calculados analíticamente y los valores medidos para las estructuras Al/Ti.

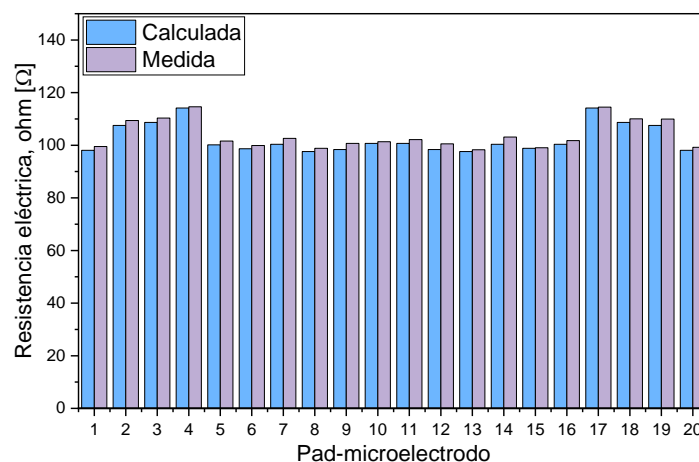


Figura 42. Comparación de los resultados analíticos y experimentales de la resistencia eléctrica de cada pad-microelectrodo.

Como se observa, se obtuvo una variación mínima, la cual fue de $\pm 2 \Omega$. Estos resultados, demuestran la uniformidad y precisión de las técnicas utilizadas en el proceso de fabricación propuesto. Finalmente, utilizando las mismas condiciones (dos puntas, $-5V$ a $5V$, paso de 0.01), se midió la R de cada pad-microelectrodo colocando el área de estimulación del prototipo fabricado sobre una superficie cóncava, ver Figura 43. Esta medición tiene la finalidad de evaluar el comportamiento del arreglo de microelectrodos sobre una superficie similar a la curvatura de la córnea y la integridad estructural del dispositivo después de su manipulación.

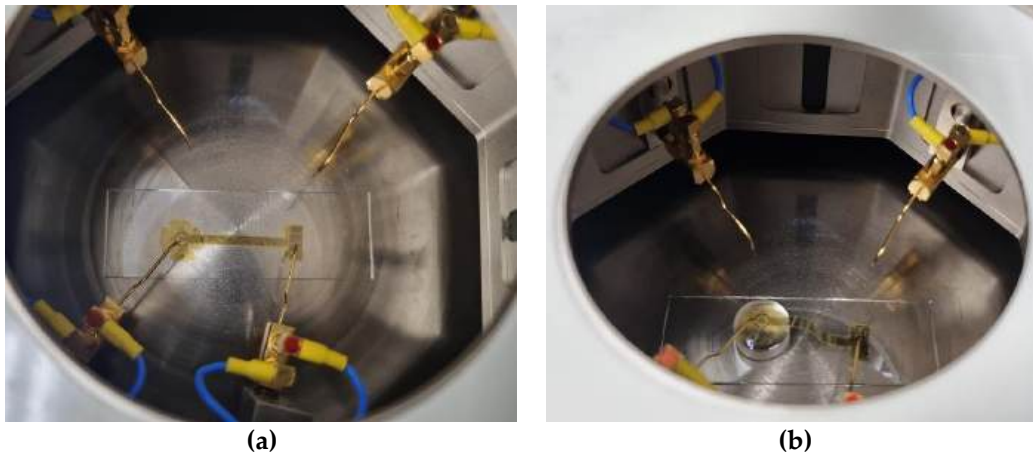


Figura 43. Arreglo de microelectrodos colocado sobre una superficie (a) plana y (b) cóncava.

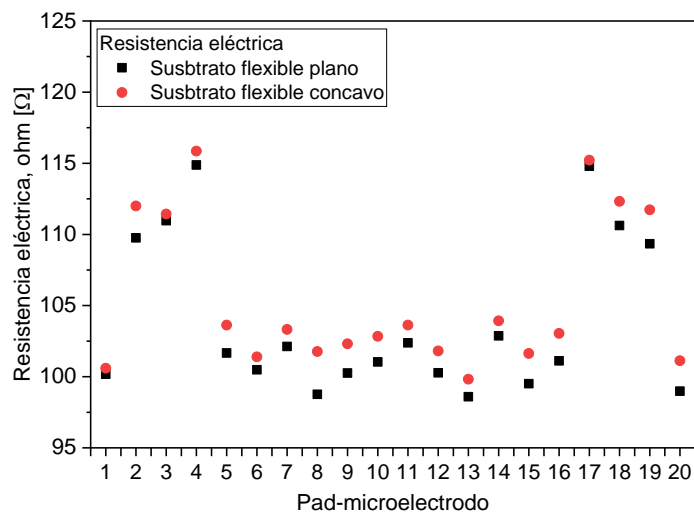


Figura 44. Comparación entre los valores de resistencia eléctrica del prototipo flexible colocado en una superficie lisa (puntos en color negro) y cóncava (puntos en color rojo).

En la Figura 44, podemos observar que existe un incremento promedio de 1.5Ω en la R de las estructuras medidas sobre la superficie cóncava. Este comportamiento, lo podemos atribuir al estrés que sufre la bicapa metálica durante su flexión. Sin embargo, no representa un parámetro de riesgo para el funcionamiento del prototipo, ya que el incremento en el valor de R es mínimo.

4.2. IMPEDANCIA ELECTROQUÍMICA

La impedancia de los microelectrodos se midió mediante espectroscopia de impedancia electroquímica utilizando un sistema de tres electrodos, ver Figura 45. Como se puede observar, el microelectrodo bajo prueba se sumergió en una solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se conectó a una punta de prueba al equipo potenciostato galvanostato modelo VSP300. Además, se utilizó un electrodo de referencia (Ref) de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl) y un contraelectrodo (CE) de platino. Las mediciones se tomaron en un rango de frecuencia de 1 Hz a 100 Hz con un voltaje de perturbación sinusoidal de 15 mV.

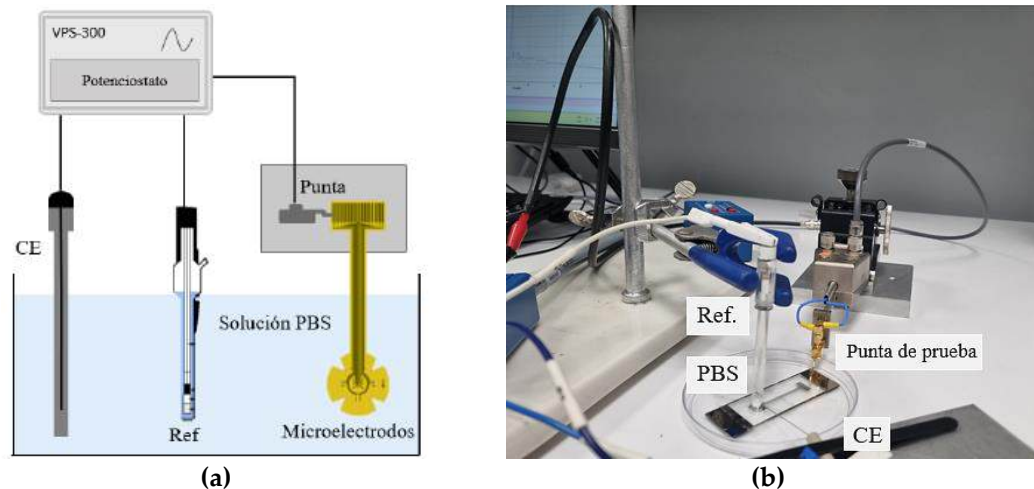


Figura 45. Configuración de tres electrodos para la medición de impedancia, (a) diseño esquemático y (b) arreglo experimental.

La grafica de espectroscopia de impedancia medida de los microelectrodos se muestra en la Figura 46a. Como se observa, la curva obtenida presenta un comportamiento capacitivo, mientras que la magnitud de la impedancia promedio disminuye con el aumento de la frecuencia. A la frecuencia de 1 Hz la magnitud de la impedancia medida fue de 6.36 M Ω , mientras que para la frecuencia de 100 Hz se obtuvo una impedancia de 284 k Ω .

Si bien, la impedancia electroquímica se evaluó para el rango de frecuencia de 1 Hz a 100 Hz, el rendimiento de los microelectrodos se considerará para el rango clínico de interés, el cual es de 11 Hz a 30Hz, ya que para la aplicación de EE, este rango de frecuencia es el utilizado para activar la retina. En la Figura 46b se muestra un acercamiento de la impedancia obtenida en este rango (11 Hz a 30 Hz), donde podemos observar un cambio en la magnitud de la impedancia de 1.75 M Ω para 11 Hz a 791 k Ω para 30 Hz. Los valores obtenidos se encuentran dentro del rango deseado de impedancia para su uso en EE y el registro de señales, y es comparable e incluso menor al valor de impedancia de otros microelectrodos, que informaron valores de impedancia en el orden de M Ω [82-86].

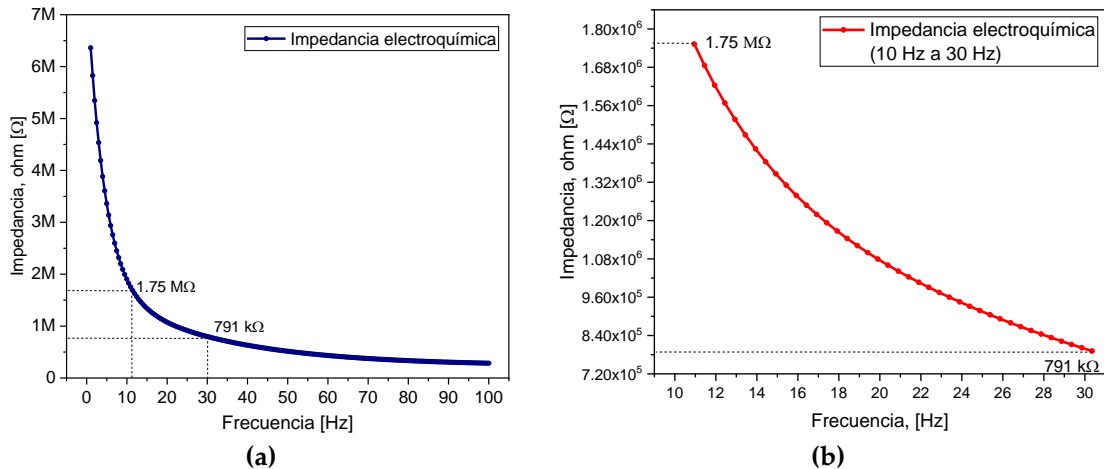


Figura 46. (a) Impedancia de un microelectrodo bajo prueba en el rango de frecuencia de 1 Hz a 100 Hz y (b) impedancia en el rango clínico de interés (11 Hz a 30 Hz).

La variación del valor de impedancia de un microelectrodo a otro en el mismo dispositivo, es crucial para evaluar la uniformidad de EE y detección de señales durante su funcionamiento. Por lo cual, la impedancia se midió para los 18 microelectrodos. Los resultados, indican una pequeña variación, lo cual valida la buena calidad del proceso de fabricación. La Figura 47, muestra los resultados de impedancia obtenidos para cuatro microelectrodos, a fin de mostrar la variación de impedancia presentada.

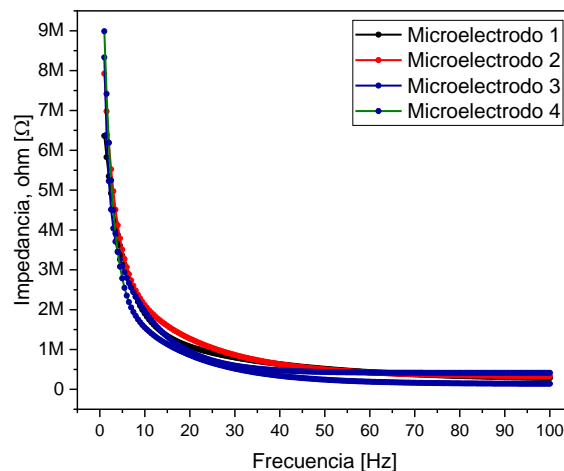


Figura 47. Comparación de la impedancia obtenida para cuatro microelectrodos.

4.3. REGISTRO DE SEÑALES ELÉCTRICAS

La capacidad de los microelectrodos para propagar y registrar señales a través de una solución salina fue evaluada utilizando el esquema de la Figura 48. Como se observa, el arreglo de microelectrodos se sumergió en solución de Hartmann y para suministrar y registrar la señal eléctrica se empleó un generador de funciones Hewlett modelo 33120a y un osciloscopio Tektronix

modelo TDS 2004, respectivamente. En el esquema propuesto, la señal de entrada se suministra a un pad mediante una punta de prueba, mientras el registro se realiza en el microelectrodo correspondiente, ya sea en contacto directo o en proximidad.

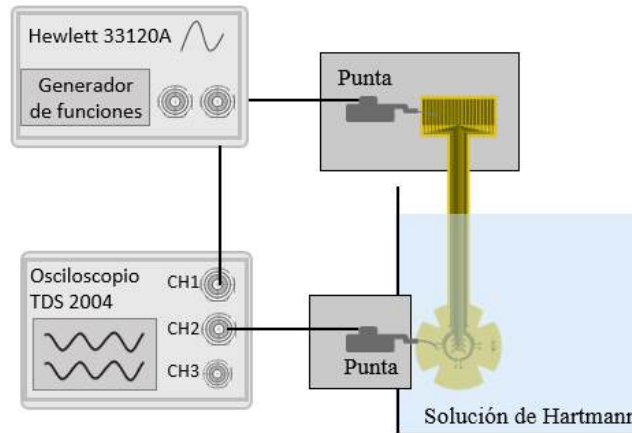


Figura 48. Esquema utilizado para el registro de señales eléctricas.

Las pruebas se realizan suministrando una señal senoidal a una frecuencia de 11 Hz con un voltaje pico a pico de 1V. En la primera prueba se registró la señal suministrada al pad en el microelectrodo correspondiente (en contacto directo). La Figura 49, muestra los resultados obtenidos. Como podemos observar, la señal registra (curva azul) es de la misma magnitud que la señal suministrada (curva amarilla), ya que, presenta la misma frecuencia y amplitud.

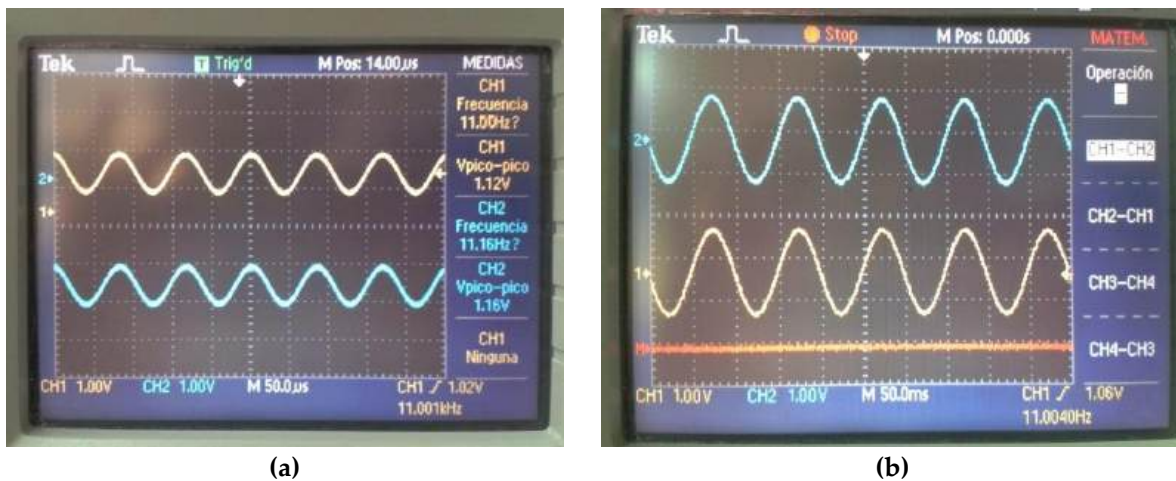


Figura 49. (a) Señal suministrada (curva amarilla) en el pad y registrada (curva azul) en el microelectrodo correspondiente y (b) resta de la señal de entrada y salida (línea roja).

Este resultado se corroboró restando la señal de entrada y de salida en el osciloscopio, la curva resultante es una línea recta horizontal (línea roja, Figura 49b), lo que indica que ambas señales son iguales. Esto significa que la señal eléctrica suministrada no se ve afectada por ningún

defecto físico de la estructura pad-microelectrodo que pueda causar trayectorias no uniformes de la señal de entrada.

La segunda prueba se realizó registrando la señal suministrada en la solución salina circundante al microelectrodo (sin contacto directo). Las señales registradas a aproximadamente 1 mm y 5 mm de separación del microelectrodo se muestran en la Figura 50. Como se observa, en ambos casos la señal registrada mantiene su frecuencia sin evidencia de desfase. Sin embargo, la señal registrada presenta una atenuación cuya magnitud depende de la distancia de lectura; cuanto mayor es la distancia, menor es la amplitud de la señal. Esta disminución en la amplitud se atribuye a la impedancia de contacto electroquímico en la interfaz entre el electrodo y la solución salina.

Si bien, la atenuación de amplitud de la señal registrada es significativa, especialmente a una distancia de 5 mm, esta prueba se realizó con el objetivo de garantizar que el arreglo de microelectrodos transmita una señal a la córnea. En las pruebas de EE o el registro de la respuesta eléctrica de la retina en un estudio de electroretinograma, el electrodo y la córnea están separados por la película lagrimal, cuyo espesor es de aproximadamente 3 μm . Por lo tanto, estas pruebas demuestran que el arreglo de microelectrodos es capaz de transmitir y registrar una señal eléctrica a través de este espesor.

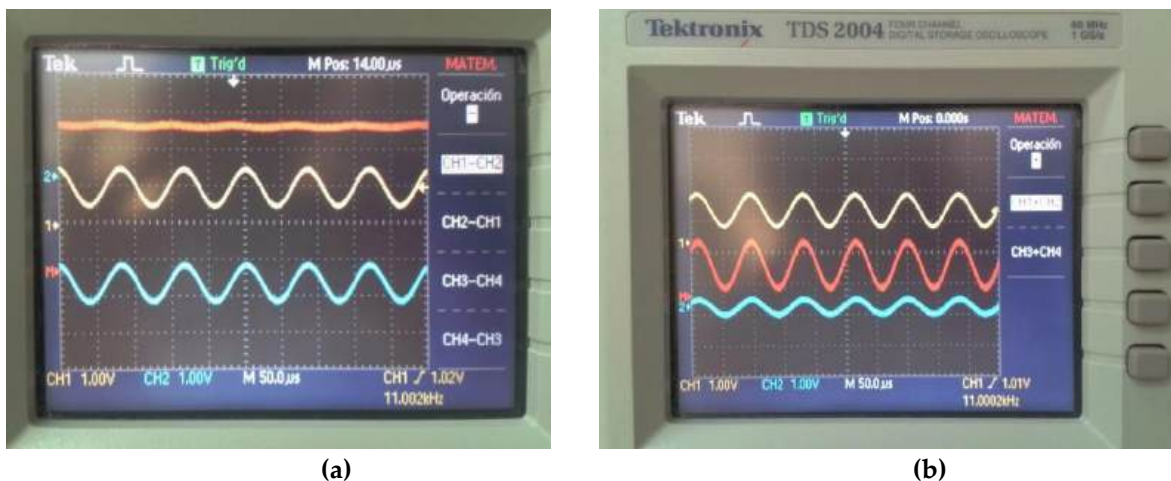


Figura 50. Señal registrada en un medio salino circundante a un microelectrodo ubicado a (a) 1mm y (b) 5 mm de separación.

4.3.1. Transmitancia de la PI

De acuerdo a los resultados anteriores, el prototipo fabricado tiene el potencial de registrar señales eléctricas localizadas, por ejemplo, señales tipo Electroretinograma (ERG). El estudio de ERG permite evaluar la salud de la retina y se realiza aplicando un impulso luminoso a diferentes intensidades al ojo del paciente, en consecuencia, la retina se activa y genera una señal eléctrica que se registra en la superficie de la córnea, generalmente con el uso de un electrodo ERG-JET. Debido a que las películas de PI presentan una coloración amarilla, se evaluó la transmitancia del

material utilizando el elipsómetro espectroscópico Spectra Ray 4 en un rango de longitud de onda de 240 nm a 1050 nm.

La Figura 51, muestra los resultados obtenidos, como se observa una película de PI de aproximadamente 20 μm de espesor presenta una transmitancia del 91.2% para la longitud de onda de interés, es decir, luz visible (400 nm a 700 nm), lo cual, asegura que el arreglo de microelectrodos definidos sobre un sustrato de PI deja pasar la mayor cantidad de luz para activar la retina, incluso podemos observar que el valor de transmitancia es muy similar a una lente de contacto comercial de polímero o acrílico, las cuales presentan valores de transmitancia del 90%.

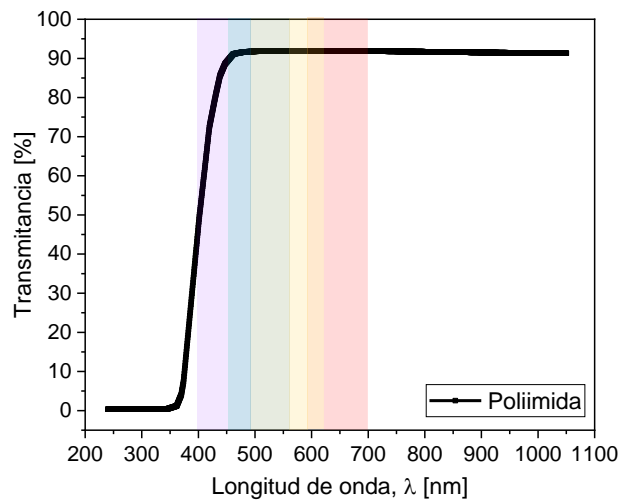


Figura 51. Transmitancia de una película de poliimida de 20 μm de espesor.

4.4. CARACTERIZACIÓN TÉRMICA

La temperatura de los microelectrodos durante su operación es un parámetro relevante, debido a que el tejido corneal se puede dañar a partir de una temperatura de 45°C. En los microelectrodos, el calentamiento de las estructuras se debe a la circulación de corriente, por lo cual, se realiza un análisis térmico de los microelectrodos mediante simulación y experimentalmente utilizando una cámara térmica y la técnica BOS.

4.4.1. Simulación

La distribución de temperatura del arreglo de microelectrodos se modela en software Comsol Multiphysics®. La simulación se realiza construyendo el modelo pad-microelectrodo con las mismas dimensiones del diseño propuesto y utilizando los mismos materiales, es decir, una bicapa metálica de Al/Ti. Una vez construido el modelo, se asigna una malla y el software realiza un análisis de la corriente y la temperatura generada en la estructura pad-microelectrodo. El análisis se realizará aplicando un barrido de voltaje de 1 a 10 V y considerando una temperatura ambiente de 293 °K (19.85 °C) sin voltaje aplicado.

La Figura 52, muestra la temperatura simulada de la estructura pad-microelectrodo para un voltaje aplicado de 10 V. Este resultado de simulación se eligió debido a que visualmente presenta los mayores cambios de temperatura. De este conjunto de imágenes, en las Figuras 52 (a y b), se presenta la vista superior de las estructuras (pad, pistas metálicas y microelectrodo) y en las Figuras 52(c y d) un acercamiento de la distribución de temperatura en la superficie superior e inferior del microelectrodo y la pista conductora.

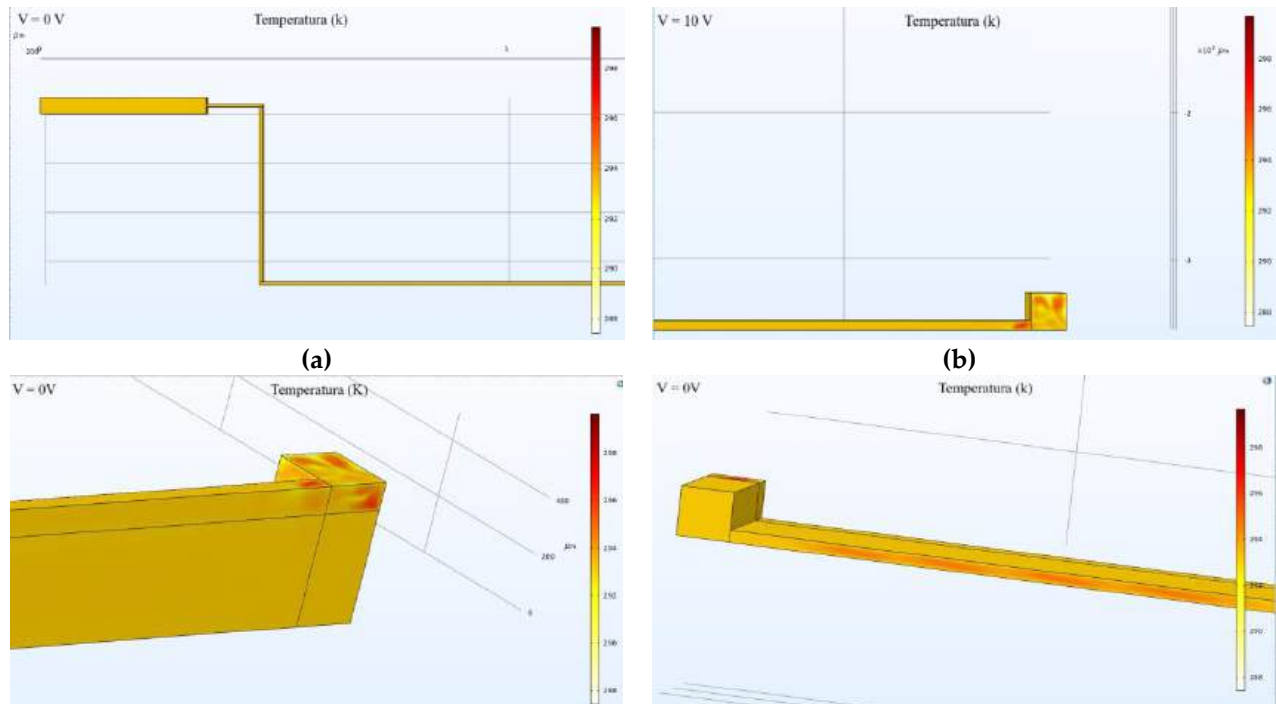


Figura 52. Resultados del proceso de simulación a una temperatura a 10 V (a y b) vista superior de las estructuras (pad, pistas metálicas y microelectrodo), (c) distribución de la temperatura en la superficie superior del microelectrodo y las pistas (titanio), y (d) distribución de la temperatura en la superficie inferior de las pistas (aluminio).

Como se observa en las Figuras 52(a, b y c), el incremento de la temperatura de la estructura pad-microelectrodo se concentra en el volumen del microelectrodo y en la superficie inferior de las pistas metálicas. Este comportamiento se puede atribuir al tamaño de los microelectrodos y a la baja resistencia eléctrica de la película de Al (en comparación con la película de Ti), lo que provoca que un mayor flujo de corriente circule a través de la estructura de Al. La temperatura promedio simulada es de aproximadamente 19.99 °C (293.14 K) a 24.66 °C (297.81 K) para un voltaje aplicado de 1 V a 10 V, respectivamente.

La Figura 53, muestra el resultado promedio de la temperatura simulada para un barrido de voltaje de 1V a 10 V y la temperatura obtenida para el volumen del microelectrodo, la superficie superior e inferior de la pista conductora y el pad. Como se observa, la temperatura máxima obtenida se registró en el microelectrodo y fue de 35.45°C (308.6 K) para un voltaje aplicado de 10

V. Este incremento de temperatura se encuentra dentro del rango permisible para evitar daño a un tejido biológico por temperatura.

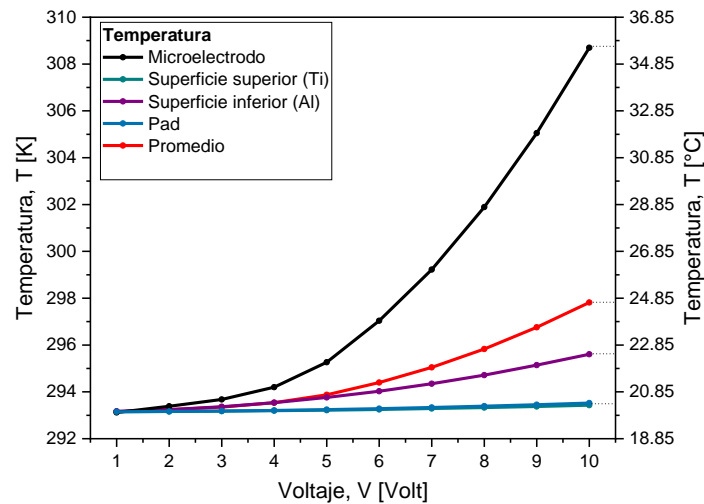


Figura 53. Temperatura promedio simulada para la estructura pad-microelectrodo y la temperatura localizada en el pad, en la pista conductora y el microelectrodo.

Es importante mencionar que el voltaje que se aplica para estimular eléctricamente el ojo humano se encuentra por debajo de 1 V, por lo cual, el arreglo de microelectrodos fabricado es adecuado para su uso en EE de la córnea, ya que el incremento máximo de temperatura registrado para un volt es de 0.17 °C.

4.4.2. Cámara Térmica

La temperatura de los microelectrodos, primeramente, se midió utilizando una cámara térmica marca IRISYS modelo IRI4010 (incluye un sensor de matriz de microbolómetros tipo TEC (thermoelectric cooling or heating) de VOx (óxido de vanadio) de 160 x 120 pixeles, campo de visión de 20° x 15°, rango espectral de 8-14 micras, distancia de trabajo de al menos 30 cm, NETD (noise equivalent temperature difference o mínima diferencia de temperatura medible) de 0.08 °C, precisión de ±0.4 °C a 23 °C, rango de medición de -10 °C a 250 °C, y velocidad de video de 9 fps). Las mediciones se realizaron en un prototipo fabricado sobre un substrato de vidrio; el dispositivo se colocó en una platina y se posicionaron dos puntas de prueba: una sobre el pad y la otra sobre el microelectrodo correspondiente.

La cámara térmica se colocó en la parte superior a una distancia de entre 5 mm a 10 mm de los microelectrodos y posteriormente, se aplicó un barrido de voltaje de 0 a 10 V utilizando una fuente de corriente variable. El arreglo utilizado para medir la temperatura del arreglo de microelectrodos se muestra en la Figura 54.

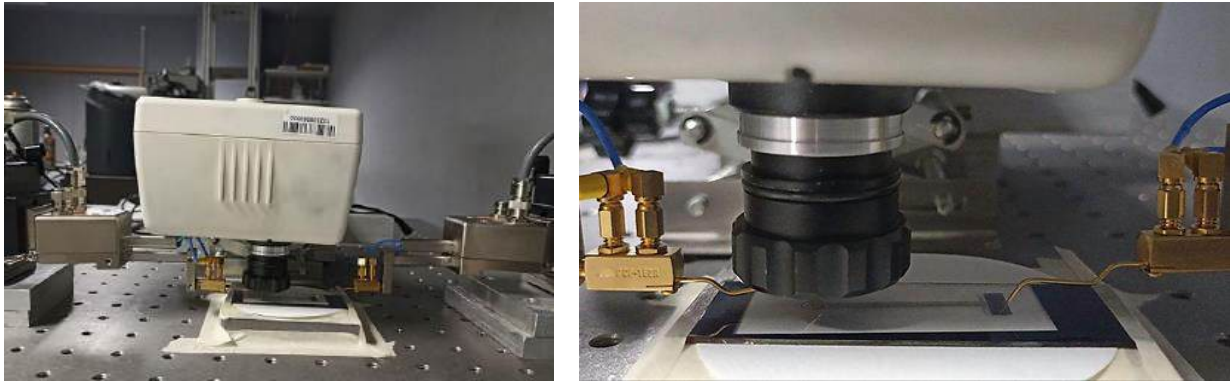


Figura 54. Arreglo utilizado para las mediciones de temperatura con una cámara térmica (a) arreglo completo y (b) acercamiento en la región de los microelectrodos.

Los resultados de temperatura se observaron en la pantalla de la cámara térmica, ver Figura 55. Sin embargo, no fue posible medir los cambios de temperatura en función al voltaje aplicado, debido a la resolución de temperatura de la cámara.

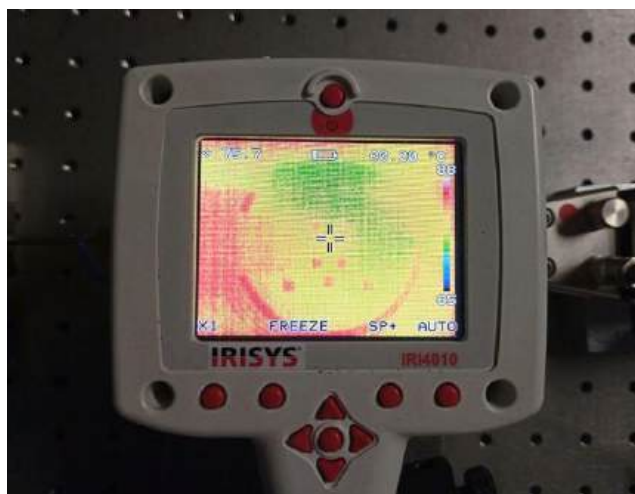


Figura 55. Pantalla de la cámara térmica, donde podemos observar el arreglo de microelectrodos a una temperatura mayor a la temperatura ambiente.

4.4.3. Background Oriented Schlieren (BOS)

El método óptico BOS se utilizó para estimar los valores de temperatura del aire que se encuentra exactamente por arriba de la superficie del electrodo (esta región se conoce como capa limite). Este tipo de mediciones no pueden ser realizadas por una cámara térmica, ya que estas generalmente se calibran para medir la temperatura de la superficie de objetos y no la del aire en la capa limite.

El arreglo óptico utilizado consiste de un LED de luz blanca que ilumina una rejilla de frecuencia espacial de 1000 lpi (25 micras de período espacial). El prototipo del microelectrodo se colocó sobre una platina y se utilizaron dos puntas de prueba (una sobre el pad y otra sobre el

microelectrodo) para suministrar un barrido de voltaje de 0 a 10 V en pasos de 2V. La Figura 56, muestra las diferentes partes del arreglo óptico utilizado: una cámara CCD de 11 Mpix (2672 x 4008 pixeles) de resolución y su lente formadora de imagen (300 mm de distancia focal) y el microelectrodo. Es importante resaltar que la lente se colocó a 1 m de distancia del sensor de la cámara, con el objetivo de obtener una región de observación de solamente 7 mm. El objeto bajo prueba (conformado por la pista de aluminio de longitud de 3 cm y el microelectrodo cuadrado de 200 μm de lado) se colocó en forma longitudinal; es decir, con el eje de la pista a lo largo de la dirección de observación de la cámara, con el propósito de aumentar el efecto térmico sobre el aire dentro de la capa limite (de unos pocos mm).

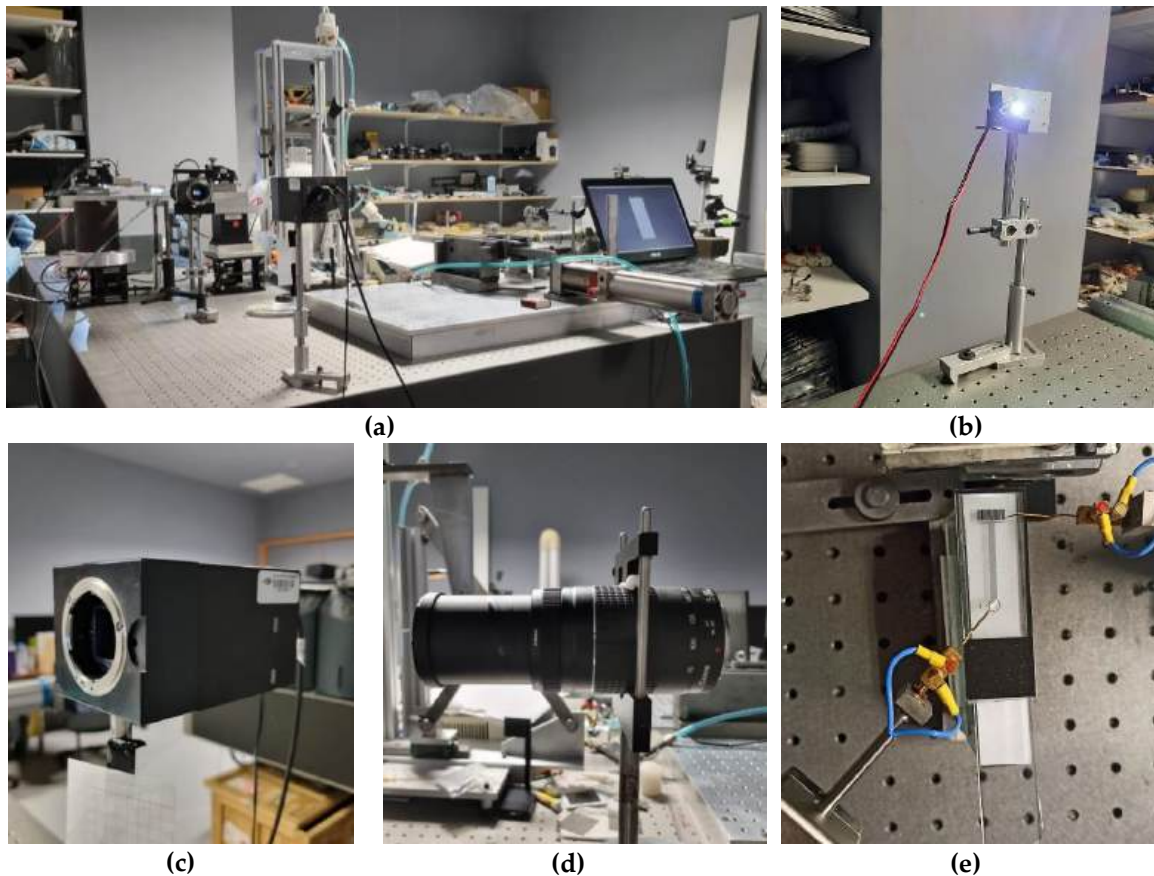


Figura 56. (a) arreglo óptico utilizado para medir la temperatura de los microelectrodos por la técnica BOS, (b) LED, (c) cámara CCD, (d) lente, (e) prototipo sobre la platina y conectado a dos puntas de prueba.

En las Figura 57 y 58, se presentan los resultados obtenidos. Las figuras 57(a - d) se refieren al caso de alimentación de voltaje de 2 V:

La **Figura 57a** es la imagen original tomada durante la medición (los ejes x y y están en pixeles), en esta imagen se aprecian las puntas de prueba y la rejilla; además, se indica, con línea blanca punteada, la región de interés (ancho x altura: 4.7x2.3 mm).

La **Figura 57b** muestra la transformada de Fourier de la imagen original, la cual se usa en el método de Fourier (en línea violeta se indica el filtro pasabandas, para aislar a uno de los lóbulos espectrales).

La **Figura 57c** es el mapa de fase óptica resultante (los colores denotan la fase en radianes). Note que los valores de fase están alrededor de $1/100$ período, donde un período de la rejilla corresponde a 6.2814 radianes: esto implica que el método garantiza una alta resolución en fase.

La **Figura 57(d)** es el mapa de temperatura. El color denota la temperatura en $^{\circ}\text{C}$. La temperatura ambiente del laboratorio fue de 24°C . Se observa un flujo de aire caliente que corresponde básicamente a un flujo de convección natural (en forma natural, se tienen flujos de aire con velocidades de 10 cm/s). El electrodo (de $200\ \mu\text{m}$ de tamaño) está colocado cerca del pixel 1000, a lo largo del eje horizontal. En general, el mapa de temperatura muestra la presencia de un gradiente de temperatura de 0.5°C dentro de la región de observación.

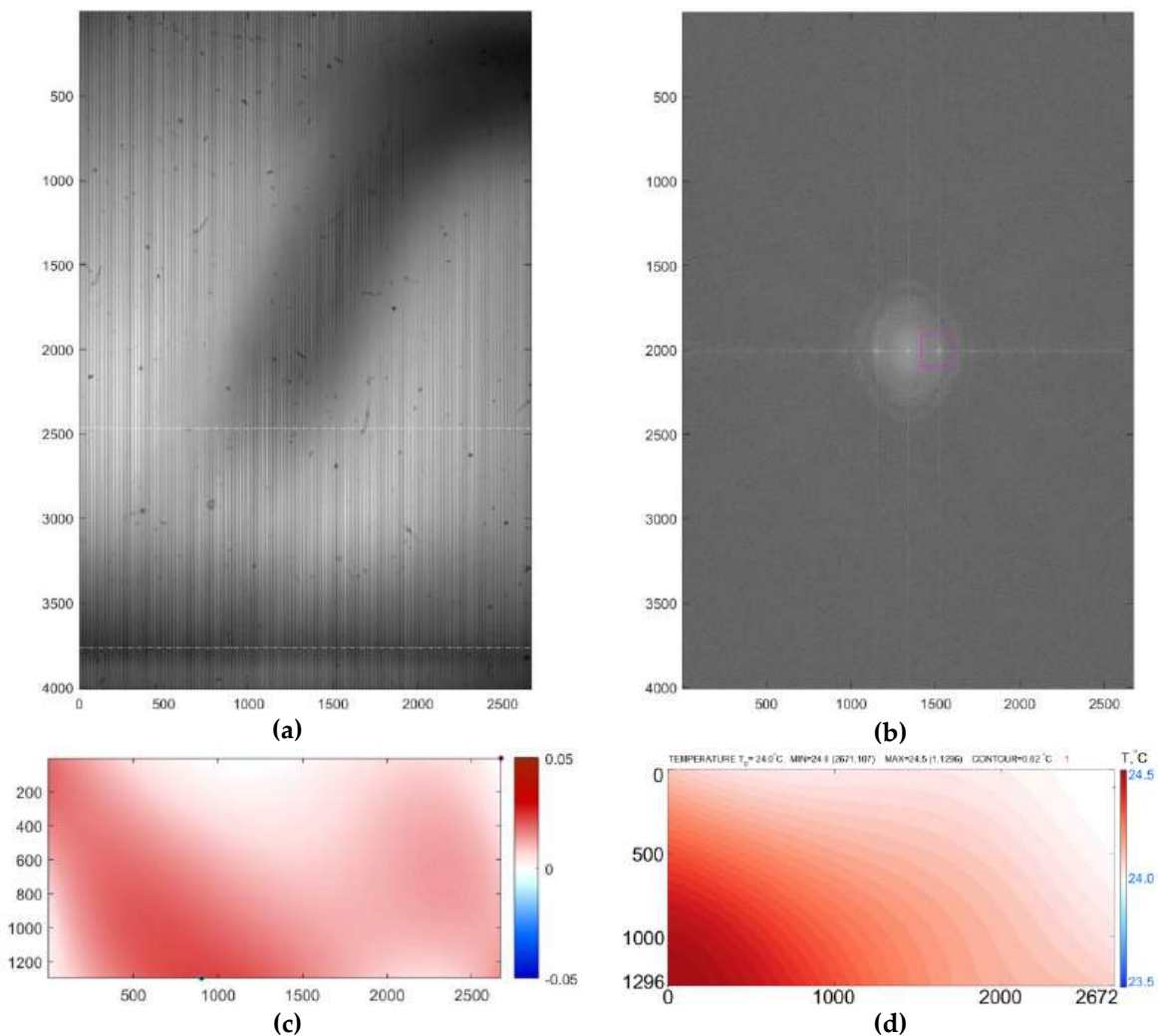
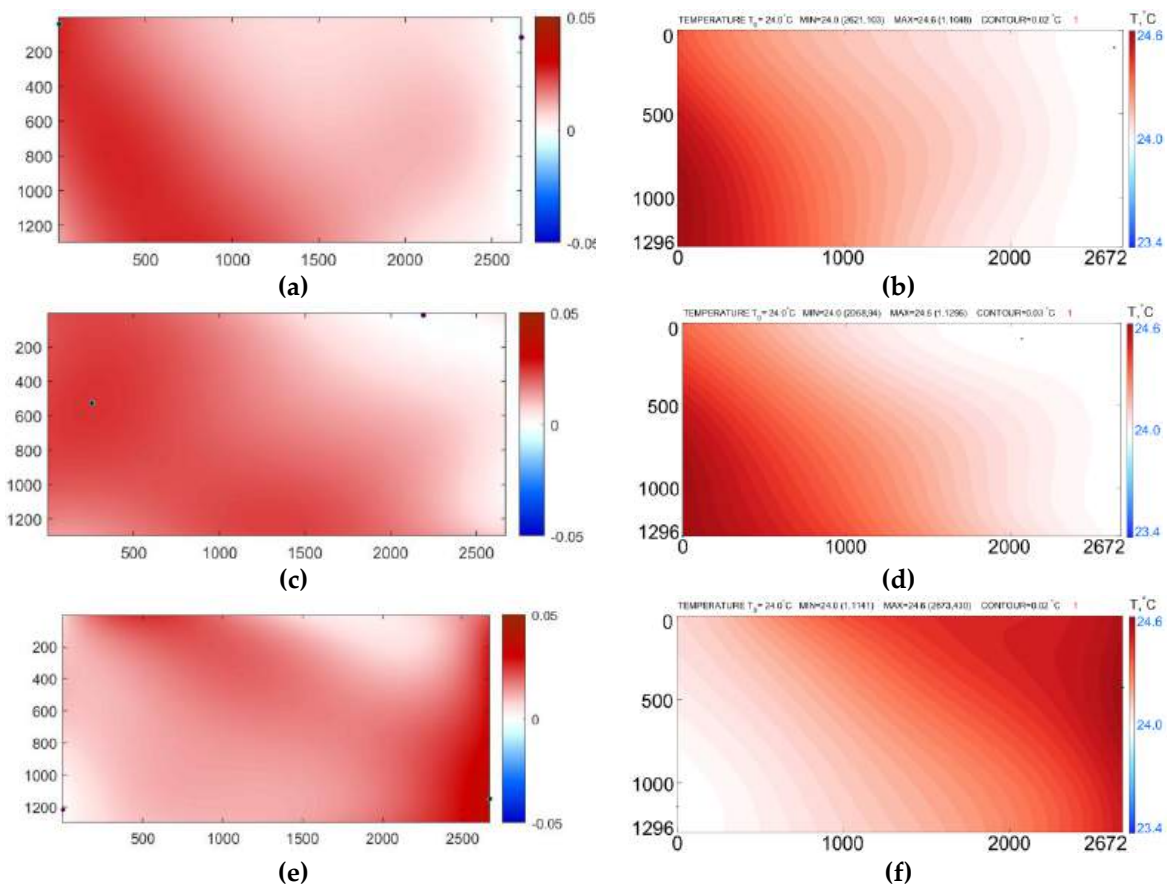


Figura 57. Resultados obtenidos para el voltaje aplicado de 2 V, (a) imagen original, (b) transformada de Fourier, (c) mapa de fase óptica resultante y (d) mapa de temperatura.

En las Figuras 58(a - h) se presentan los resultados de fase y temperatura, para los casos donde se aplicó un voltaje de 4 V, 6 V, 8 V y 10 V, respectivamente. Considerando estos resultados, se desprenden las siguientes observaciones:

1. El flujo de aire presente en el experimento básicamente se refiere al flujo por convección natural. El flujo de aire causado por el calentamiento del electrodo es relativamente pequeño respecto al de convección natural: en cada caso de medición, se observa un flujo cambiante, resultado del carácter aleatorio del flujo convectivo natural.
2. El gradiente de temperatura está alrededor de $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Debido a la gran influencia del flujo convectivo natural en el experimento, no se observa ninguna tendencia de la temperatura con el voltaje aplicado. Para observar dicha tendencia, es necesario realizar una mejora del experimento; por ejemplo, usando una celda transparente para evitar parcialmente el flujo convectivo natural.
3. La variación de temperatura, en la posición del electrodo (pixel 1296,1000) varía en un rango de $0.3\text{ }^{\circ}\text{C}$, en forma aleatoria, reflejando el hecho de que la variación por flujo térmico por el electrodo es mucho menor que el por convección natural.
4. Los resultados numéricos indican que la variación de la temperatura de la superficie respecto al voltaje aplicado es cercana a 0, como lo sugiere el anterior punto.



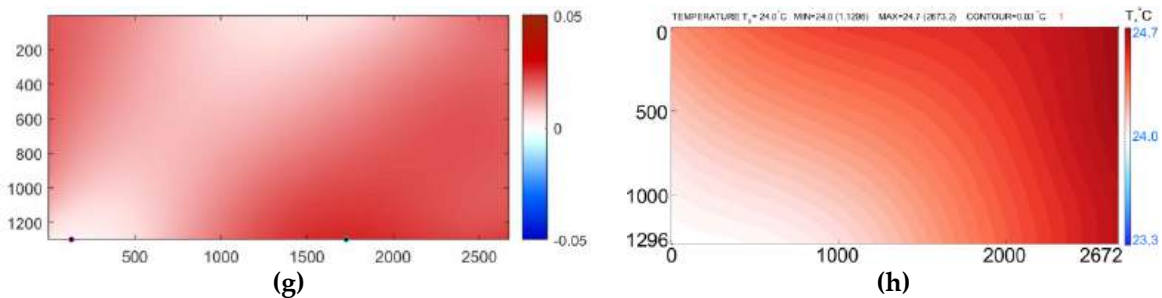


Figura 58. Resultados de fase y temperatura obtenidos para un voltaje aplicado de (a, b) 4 V, (c, d) 6 V, (e, f) 8 V y (g, h) 10 V.

A pesar de no haber medido la temperatura, los resultados nos permitieron confirmar que se pueden medir valores de temperatura del orden de $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Además, la influencia del flujo de aire por convección natural debe ser considerado en el diseño de los experimentos.

4.5. BIOCOMPATIBILIDAD

De acuerdo con la norma ISO 10993, para el prototipo fabricado es necesario realizar pruebas de citotoxicidad, sensibilidad e irritabilidad en contacto con tejido biológico. Por lo cual, para cumplir con dichos requisitos, se implantó el prototipo durante dos semanas en el cráneo de una rata. El procedimiento quirúrgico se realizó en la Universidad Iberoamericana Ciudad de México por personal calificado. Después de la cirugía la rata recibió atención posoperatoria, controles periódicos de salud e inspección de la herida.

El conjunto de microelectrodos permaneció implantado durante dos semanas; durante este período, se monitoreó la temperatura del animal, el consumo de alimento y agua, el peso corporal y la actividad motora. Durante este tiempo, se examinó visualmente el tejido circundante en búsqueda de signos de inflamación e infección y después de la implantación, el prototipo extraído se examinó bajo un microscopio para evaluar posibles daños. El proceso de implante del arreglo de microelectrodos en el cráneo de la rata se muestra en la Figura 59.



(a)



(b)

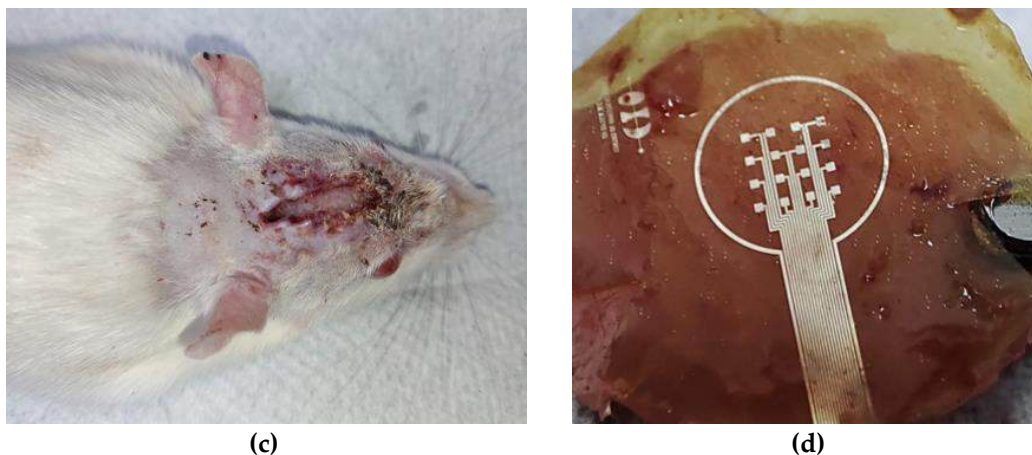


Figura 59. Implantación del arreglo de microelectrodos en el cráneo de la rata: (a) procedimiento quirúrgico, (b) evolución del implante después de una semana, (c) extracción del implante después de dos semanas, y (d) conjunto de microelectrodos extraído.

En esta etapa de desarrollo del prototipo, la evidencia sugiere que el animal no mostró reacciones inmunes o tóxicas, ver Figura 59(b, c), debido a que no se observaron alteraciones en ninguno de los parámetros registrados y no hubo signos de inflamación, infección o cambios en la piel o el cráneo de la rata. La región del conjunto en contacto con el cráneo o cualquier tejido no mostró signos de daño, como se representa en la Figura 59d. En cuanto al comportamiento, el animal no presentó angustia, dolor, comportamiento errático o movimientos anormales.

Todos estos datos indican que el prototipo no es citotóxico y es biocompatible con el tejido biológico. Sin embargo, el siguiente paso para su uso en humanos es realizar pruebas histológicas.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO

5.1. CONCLUSIONES

Los principales resultados de este proyecto de investigación, permiten presentar las siguientes conclusiones:

1. Se presenta el diseño novedoso de un arreglo de microelectrodos distribuidos en la región central y paracentral de la córnea para su uso en estimulación eléctrica selectiva y el registro de señales localizadas.
2. Se desarrolló un proceso de fabricación completo de microelectrodos flexibles mediante la combinación de la tecnología de micromaquinado de superficie y electrónica flexible en el Laboratorio Nacional CONAHCYT en Microtecnología y BioMEMS (LaNMiB).
3. El uso de una bicapa metálica de Aluminio/Titanio como material estructural del arreglo de microelectrodos permite reducir significativamente la resistencia eléctrica de las estructuras pad-microelectrodo en comparación con estructuras de Ti (hasta 46 veces menos). Además, al tratarse de un depósito sobrepuesto y no de una aleación, se conserva la biocompatibilidad del prototipo, ya que el titanio queda en contacto directo con el tejido biológico.
4. La técnica de depósito y proceso de curado térmico de la PI-2610 y PI-2611 cumplen satisfactoriamente con los requisitos mecánicos y de biocompatibilidad del prototipo. El espesor del sustrato, de aproximadamente $20\mu\text{m}$, proporciona una estabilidad mecánica adecuada, lo que facilita la manipulación del dispositivo y su conexión eléctrica; mientras que la presencia mínima del solvente NMP en las películas sólidas de PI garantiza que el material sea seguro para su uso en aplicaciones médicas.
5. El proceso de fabricación propuesto utiliza únicamente tres materiales: aluminio, titanio y poliimida, lo que nos permite obtener un proceso de fabricación simplificado, ergonómico y reproducible. Además, en comparación a otros trabajos que integran microelectrodos de titanio/platino o titanio/oro, es posible reducir el costo de fabricación.
6. La caracterización eléctrica del prototipo fabricado mostró una buena correlación con los cálculos analíticos, presentando una variación promedio de $\pm 2 \Omega$. Este resultado valida la precisión y uniformidad del proceso de fabricación. En cuanto a las estructuras colocada sobre una superficie cóncava, se observó un incremento promedio de 1.5Ω en comparación con las

estructuras evaluadas sobre una superficie plana. Este aumento se atribuye al estrés mecánico que experimenta la película metálica durante su deformación. No obstante, es importante destacar que este cambio en resistencia es mínimo y no compromete el funcionamiento del prototipo.

7. La caracterización electroquímica mostró un valor de impedancia de los microelectrodos de 1.9 M Ω a 791 k Ω en el rango de frecuencia de 10 Hz a 30 Hz, respectivamente. Estos resultados se encuentran dentro del rango deseado para su uso en EE (no mayor a 8 M Ω) y, además, son comparables a otros microelectrodos que informaron valores de impedancia en el orden de M Ω .
8. Se demostró que el arreglo de microelectrodos es capaz de transmitir y registrar una señal de eléctrica a través de un medio salino circundante con pérdidas relativamente bajas.
9. Las pruebas realizadas en solución de Hartmann demostraron que el arreglo de microelectrodos fabricado es capaz de transmitir y registrar una señal eléctrica a través de un medio salino sin que se vea afectada la calidad de la señal.
10. Se demostró que un substrato de poliimida de aproximadamente 20 μm de espesor permite el paso del 91.2% de la luz visible, lo cual es comparable a una lente de contacto. Esta alta transmitancia asegura que la cantidad de luz blanca necesaria para activar la retina pueda atravesar el material de manera eficiente. Estos hallazgos respaldan la viabilidad del prototipo para su aplicación en electrorretinografía.
11. La simulación de la distribución de temperatura del arreglo de microelectrodos, realizada en Comsol Multiphysics®, indica que el incremento de temperatura se concentra en la superficie inferior de las líneas conductoras y en el microelectrodo. Este comportamiento se debe a la alta conductividad del aluminio y al tamaño reducido del microelectrodo. En estas zonas de mayor temperatura, se registró una variación de 0.17 °C a 35.45°C para un voltaje aplicado de 1 V a 10 V, respectivamente; valores de temperatura seguros para su aplicación en tejido biológicos. Dado que el voltaje utilizado para estimular la córnea es inferior a 1 V, el prototipo demuestra ser adecuado para aplicaciones de estimulación eléctrica sin riesgo de daño tisular.
12. Se utilizó una cámara térmica y la técnica óptica BOS para comprobar la temperatura del arreglo de microelectrodos en función al voltaje aplicado (1 V a 10 V). Sin embargo, no fue posible medir la temperatura de manera experimental, lo que llevo a las siguientes observaciones:
 - a. La resolución de temperatura de la cámara no fue suficiente.

- b. La técnica BOS mide la temperatura del flujo de aire circundante al microelectrodo (convección), por lo cual, es mucho menor a la temperatura del metal.
 - c. Se estima que la temperatura en la región del microelectrodo es de $0.3\text{ }^{\circ}\text{C}$, sin embargo, al ser menor que la influencia del flujo convectivo natural (aproximadamente 0.5°C), el resultado no se considera confiable.
 - d. Los resultados obtenidos nos permitieron confirmar que se pueden medir valores de temperatura del orden de $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Por lo cual, la influencia del flujo de aire por convección natural debe ser considerado en el diseño de los experimentos.
13. Las pruebas de biocompatibilidad in-vivo indican que el prototipo fabricado no es citotóxico y es compatible con el tejido biológico. Esto sugiere que el prototipo no provoca reacciones adversas y puede integrarse adecuadamente en el entorno biológico, cumpliendo con los requisitos establecidos por la norma ISO 10993.
14. Finalmente, obtuvimos un prototipo de arreglo de microelectrodos mecánicamente flexible, biocompatible, robusto y con alto potencial para ser utilizado en la estimulación eléctrica selectiva de la córnea y el registro de señales localizadas tipo electrorretinograma.

5.2. TRABAJO A FUTURO

Como trabajo a futuro se propone:

1. Desarrollo de un prototipo de estimulación eléctrica selectiva integrado a un sistema de comunicación inalámbrico.
2. Diseño de un arreglo de microelectrodos distribuidos en las tres regiones de la córnea (central, paracentral y periférica).
3. Desarrollo de un sistema de generación de la señal de estimulación eléctrica, similar a la respuesta eléctrica de una retina saludable.
4. Realizar pruebas adicionales de citotoxicidad en tejido biológico.
5. Cumplir con los requisitos de la COFEPRIS para iniciar con pruebas de estimulación eléctrica en animales y tejido biológico humano.

APÉNDICE A. RESULTADOS CIENTÍFICOS Y TECNOLÓGICOS

Los resultados obtenidos durante el desarrollo de este proyecto de tesis de maestría han sido presentados en 2 congresos nacionales, se han publicado en un artículo científico, se han registrado en un esquema de trazado de circuitos integrados en el IMPI, se han presentado en diversas actividades de divulgación y se obtuvo el primer lugar en la 5ta presentación de póster del CIO.

ARTÍCULOS PUBLICADOS

Título de artículo:	Fabrication and Characterization of a Flexible Thin-Film-Based Array of Microelectrodes for Corneal Electrical Stimulation.
Factor de impacto:	3.4.
Publicación:	27 de octubre del 2023.
Revista:	Micromachines
Vol. (No):	14 (11)

PROPIEDAD INTELECTUAL

Tipo de registro:	Esquema de trazado de circuito integrado.
Título:	Matriz de microelectrodos para la estimulación eléctrica y el registro de señales localizadas en la superficie de la córnea.
Expediente:	Mx/t/2023/000009.

PARTICIPACIÓN EN CONGRESOS

Congreso:	XXI encuentro Participación de la Mujer en la Ciencia.
Participación:	Presentación de póster.
Título del trabajo:	Matriz de microelectrodos flexibles a base de poliimida para la estimulación eléctrica selectiva de la córnea humana.
Fecha:	Mayo 2024
Congreso:	XIV Congreso Nacional y IV Internacional de Tecnología Aplicada a Ciencias de la Salud.
Participación:	Presentación de póster.
Título del trabajo:	Matriz de microelectrodos flexibles para la estimulación eléctrica selectiva de la córnea humana.
Fecha:	Junio 2024
Congreso:	Semana Internacional del Cerebro 2024 "Proteínas para el cerebro"

Participación: Asistencia
Fecha: 13 de marzo del 2024

ACTIVIDADES DE DIVULGACIÓN

Actividad: Taller interactivo “Luz y color”
Evento: Semana Internacional del Cerebro 2024 “Proteínas para el cerebro”
Fecha: 13 y 17 de marzo del 2024

Actividad: Entrevista de radio
Lugar: Radio Universidad Guanajuato “El dado”
Tema: Matriz de microelectrodos flexibles a base de poliimida para la estimulación eléctrica selectiva de la córnea humana.
Fecha: 1 de julio del 2024.

REFERENCIAS

- [1] T. Kurimoto, Shinichirou Oono, R. Kashimoto, Y. Tagami, N. Okamoto, Osamu Mimura, "Transcorneal electrical stimulation improves visual function in eyes with branch retinal artery occlusion", *OPTH*, p. 397, mar. 2011, doi: [10.2147/OPTH.S17751](https://doi.org/10.2147/OPTH.S17751).
- [2] G. Kaur y N. K. Singh, "The Role of Inflammation in Retinal Neurodegeneration and Degenerative Diseases", *IJMS*, vol. 23, n.º 1, p. 386, dic. 2021, doi: [10.3390/ijms23010386](https://doi.org/10.3390/ijms23010386).
- [3] A. L. Manthey *et al.*, "Using Electrical Stimulation to Enhance the Efficacy of Cell Transplantation Therapies for Neurodegenerative Retinal Diseases: Concepts, Challenges, and Future Perspectives", *Cell Transplant*, vol. 26, n.º 6, pp. 949-965, jun. 2017, doi: [10.3727/096368917X694877](https://doi.org/10.3727/096368917X694877).
- [4] G. Kaur and N. Singh, "Inflammation and retinal degenerative diseases", *Neural Regen Res*, vol. 18, n.º 3, p. 513, 2023, doi: [10.4103/1673-5374.350192](https://doi.org/10.4103/1673-5374.350192).
- [5] L. Yue, J. D. Weiland, B. Roska, and M. S. Humayun, "Retinal stimulation strategies to restore vision: Fundamentals and systems", *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 53, pp. 21-47, jul. 2016, doi: [10.1016/j.preteyeres.2016.05.002](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2016.05.002).
- [6] M. T. Pardue and R. S. Allen, "Neuroprotective strategies for retinal disease", *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 65, pp. 50-76, jul. 2018, doi: [10.1016/j.preteyeres.2018.02.002](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2018.02.002).
- [7] J. Li *et al.*, "Noninvasive electrical stimulation as a neuroprotective strategy in retinal diseases: a systematic review of preclinical studies", *J Transl Med*, vol. 22, n.º 1, p. 28, ene. 2024, doi: [10.1186/s12967-023-04766-4](https://doi.org/10.1186/s12967-023-04766-4).
- [8] N. A. Sharif, "Optic Nerve and Retinal Ganglion Cell Protection, Rejuvenation, and Regeneration as Glaucoma Treatment Strategies", in *Glaucoma - Recent Advances and New Perspectives*, P. Gunvant Davey, Ed., IntechOpen, 2023. doi: [10.5772/intechopen.108914](https://doi.org/10.5772/intechopen.108914).
- [9] J. Liu, A. K. H. Ma, K. F. So, V. W. H. Lee, and K. Chiu, "Mechanisms of electrical stimulation in eye diseases: A narrative review", *Advances in Ophthalmology Practice and Research*, vol. 2, n.º 2, p. 100060, ago. 2022, doi: [10.1016/j.aopr.2022.100060](https://doi.org/10.1016/j.aopr.2022.100060).
- [10] P. Sun *et al.*, "Comparison of cortical responses to the activation of retina by visual stimulation and transcorneal electrical stimulation", *Brain Stimulation*, vol. 11, n.º 4, pp. 667-675, jul. 2018, doi: [10.1016/j.brs.2018.02.009](https://doi.org/10.1016/j.brs.2018.02.009).
- [11] N. Hernández-Sebastián *et al.*, "Fabrication and Characterization of a Flexible Thin-Film-Based Array of Microelectrodes for Corneal Electrical Stimulation", *Micromachines*, vol. 14, n.º 11, p. 1999, oct. 2023, doi: [10.3390/mi14111999](https://doi.org/10.3390/mi14111999).
- [12] Y. Tao, T. Chen, B. Liu, L. Wang, G. Peng, L. Qin, Z. Yan, and Y. Huang, "The transcorneal electrical stimulation as a novel therapeutic strategy against retinal and optic neuropathy: a

- review of experimental and clinical trials”, *Int J Ophthalmol*, jun. 2016, doi: [10.18240/ijjo.2016.06.21](https://doi.org/10.18240/ijjo.2016.06.21).
- [13] H. Dor, “Beiträge zur Electrotherapie der Augenkrankheiten”, *Graefe’s Archiv für Ophthalmologie*, vol. 19, n.º 3, pp. 316-352, oct. 1873, doi: [10.1007/BF01693908](https://doi.org/10.1007/BF01693908).
- [14] O. Foerster, “Beitrage zur pathophysiologie der sehbahn und der spehsphare “, *J. Psychol. Neurol*, vol. 39, pp. 435-463, 1929.
- [15] W. H. Dobbelle and M. G. Mladejovsky, “Phosphenes produced by electrical stimulation of human occipital cortex, and their application to the development of a prosthesis for the blind”, *The Journal of Physiology*, vol. 243, n.º 2, pp. 553-576, dic. 1974, doi: [10.1113/jphysiol.1974.sp010766](https://doi.org/10.1113/jphysiol.1974.sp010766).
- [16] T. Morimoto, T. Miyoshi, T. Fujikado, Y. Tano, and Y. Fukuda, “Electrical stimulation enhances the survival of axotomized retinal ganglion cells in vivo”:, *Neuroreport*, vol. 13, n.º 2, pp. 227-230, feb. 2002, doi: [10.1097/00001756-200202110-00011](https://doi.org/10.1097/00001756-200202110-00011).
- [17] A. Y. Chow, “The Artificial Silicon Retina Microchip for the Treatment of VisionLoss From Retinitis Pigmentosa”, *Arch Ophthalmol*, vol. 122, n.º 4, p. 460, abr. 2004, doi: [10.1001/archophth.122.4.460](https://doi.org/10.1001/archophth.122.4.460).
- [18] Y. H.-L. Luo and L. Da Cruz, “The Argus® II Retinal Prosthesis System”, *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 50, pp. 89-107, ene. 2016, doi: [10.1016/j.preteyeres.2015.09.003](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2015.09.003).
- [19] E. Zrenner *et al.*, “Visual outcome in 26 blind retinitis pigmentosa patients after implantation of subretinal Alpha-IMS devices”, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 55, n.º 13, pp. 5967-5967, abr. 2014.
- [20] A. Sehic, S. Guo, K.-S. Cho, R. M. Corraya, D. F. Chen, and T. P. Utheim, “Electrical Stimulation as a Means for Improving Vision”, *The American Journal of Pathology*, vol. 186, n.º 11, pp. 2783-2797, nov. 2016, doi: [10.1016/j.ajpath.2016.07.017](https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2016.07.017).
- [21] Retina.net e. V. *et al.*, “Transkorneale Elektrostimulation bei Retinitis pigmentosa: Prüfplan einer multizentrischen, prospektiven, randomisierten, kontrollierten und doppelblinden Studie im Auftrag des Gemeinsamen Bundesausschusses (G-BA-Erprobungsrichtlinie)”, *Ophthalmologe*, vol. 118, n.º 5, pp. 512-516, may 2021, doi: [10.1007/s00347-021-01360-1](https://doi.org/10.1007/s00347-021-01360-1).
- [22] Z. Lu *et al.*, “An in-silico analysis of retinal electric field distribution induced by different electrode design of trans-corneal electrical stimulation”, *J. Neural Eng.*, vol. 19, n.º 5, p. 055004, oct. 2022, doi: [10.1088/1741-2552/ac8e32](https://doi.org/10.1088/1741-2552/ac8e32).
- [23] L. Fu, A. C. Y. Lo, J. S. M. Lai, and K. C. Shih, “The role of electrical stimulation therapy in ophthalmic diseases”, *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, vol. 253, n.º 2, pp. 171-176, feb. 2015, doi: [10.1007/s00417-014-2889-7](https://doi.org/10.1007/s00417-014-2889-7).
- [24] J. Xie *et al.*, “Modeling and percept of transcorneal electrical stimulation in humans”, *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 58, n.º 7, pp. 1932-1939, jul. 2011, doi: [10.1109/TBME.2010.2087378](https://doi.org/10.1109/TBME.2010.2087378).

- [25] N. Sebastián, “Fabricación y caracterización de microelectrodos sobre sustratos flexibles para la estimulación eléctrica de la córnea”, Tesis de maestría, Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica (INAOE), Puebla, 2015.
- [26] World Health Organization (WHO). (2023, August 10). “Blindness and vision impairment”, (1st ed.) [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/blindness-and-visual-impairment>.
- [27] D. B. Rein *et al.*, “Prevalence of Age-Related Macular Degeneration in the US in 2019”, *JAMA Ophthalmol*, vol. 140, n.º 12, p. 1202, dic. 2022, doi: [10.1001/jamaophthalmol.2022.4401](https://doi.org/10.1001/jamaophthalmol.2022.4401).
- [28] Roche (2024, marzo 11). “Nueva opción de tratamiento para dos de las principales causas de pérdida de visión en personas de más de 50 años”, (1er ed.) [Online]. Disponible: <https://www.roche.com.ar/media/2024/nueva-opcion-de-tratamiento-para-dos-de-las-principales-causas-de-p%C3%A9rdida-de-vision-en-personas-de-mas-de-50-anos>.
- [29] M. Gałuszka, D. Pojda-Wilczek, and I. Karska-Basta, “Age-Related Macular or Retinal Degeneration?”, *Medicina*, vol. 59, n.º 5, p. 920, may 2023, doi: [10.3390/medicina59050920](https://doi.org/10.3390/medicina59050920).
- [30] A. Alezzandrini, “*Fundamentos de oftalmología*”, Buenos Aires: El Ateneo, 2003.
- [31] G. Tortora and B. Derrickson, “*Principios de Anatomía y Fisiología*”, México: Médica Panamericana, 2020.
- [32] E. R. Kandel, J. H. Schwartz, and T. M. Jessell, “*Principles of Neural Science*”, 4th edition. McGraw-Hill, 2000.
- [33] J. C. Suárez-Escudero *et al.*, “Actualización desde la anatomía funcional y clínica del sistema visual: énfasis en la vía y la corteza visual”, *Revista Mexicana de Oftalmología*, vol. 96, n.º 2S, pp. 71-81, abr. 2022, doi: [10.24875/RMO.M22000218](https://doi.org/10.24875/RMO.M22000218).
- [34] B. Cassin and S. Salomón, “*Diccionario de terminología ocular*”, Gainesville, Florida: Compañía editorial Triad, 1990.
- [35] L. Frutos-Rincón, J. A. Gómez-Sánchez, A. Íñigo-Portugués, M. C. Acosta, and J. Gallar, “An Experimental Model of Neuro-Immune Interactions in the Eye: Corneal Sensory Nerves and Resident Dendritic Cells”, *IJMS*, vol. 23, n.º 6, p. 2997, mar. 2022, doi: [10.3390/ijms23062997](https://doi.org/10.3390/ijms23062997).
- [36] D. W. DelMonte and T. Kim, “Anatomy and physiology of the cornea”, *Journal of Cataract and Refractive Surgery*, vol. 37, n.º 3, pp. 588-598, mar. 2011, doi: [10.1016/j.jcrs.2010.12.037](https://doi.org/10.1016/j.jcrs.2010.12.037).
- [37] T. Saude, “*Ocular Anatomy and Physiology*”, Oxford, UK: Blackwell Science Ltd., 1993.
- [38] L. Levin, S. Nilsson, J. Ver Hoeve, S. Wu, P. Kaufman, and A. Alm, “*Adler’s physiology of the eye*”, New York: Elsevier, 2011.
- [39] D. G. Dawson, J. L. Ubels and H. F. Edelhauser, “*Adler’s Physiology of the Eye*”, 11th ed. Volume 4. Elsevier, Cornea and sclera; Amsterdam, pp. 71–130, 2011.

- [40] L. J. Müller, C. F. Marfurt, F. Kruse, and T. M. T. Tervo, "Corneal nerves: structure, contents and function", *Experimental Eye Research*, vol. 76, n.º 5, pp. 521-542, may 2003, doi: [10.1016/S0014-4835\(03\)00050-2](https://doi.org/10.1016/S0014-4835(03)00050-2).
- [41] M. A. Al-Aqaba, V. K. Dhillon, I. Mohammed, D. G. Said, and H. S. Dua, "Corneal nerves in health and disease", *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 73, p. 100762, nov. 2019, doi: [10.1016/j.preteyeres.2019.05.003](https://doi.org/10.1016/j.preteyeres.2019.05.003).
- [42] G. Burnstock and A. M. Sillito, Eds., "Nervous control of the eye", in *The autonomic nervous system*, no. v. 13. Amsterdam: Harwood Academic, 2000.
- [43] T. Chan-Ling, "Sensitivity and neural organization of the cat cornea", *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 30, n.º 6, pp. 1075-1082, jun. 1989.
- [44] C. F. Marfurt, J. Cox, S. Deek, and L. Dvorscak, "Anatomy of the human corneal innervation", *Experimental Eye Research*, vol. 90, n.º 4, pp. 478-492, abr. 2010, doi: [10.1016/j.exer.2009.12.010](https://doi.org/10.1016/j.exer.2009.12.010).
- [45] J. Ruiz and L. Arias, "Manual de la retina SERV", 2nd edition. Elsevier, 2019.
- [46] N. Mahabadi and Y. Al Khalili, "Neuroanatomy, Retina", in *StatPearls*, Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2024. Accedido: 28 de septiembre de 2024. [En línea]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545310/>
- [47] G. L. Lehmann, I. Benedicto, N. J. Philp, and E. Rodriguez-Boulan, "Plasma membrane protein polarity and trafficking in RPE cells: Past, present and future", *Experimental Eye Research*, vol. 126, pp. 5-15, sep. 2014, doi: [10.1016/j.exer.2014.04.021](https://doi.org/10.1016/j.exer.2014.04.021).
- [48] C. L. Varón, S. Jaramillo, and A. Tello, "La retina para el médico no oftalmólogo", *MedUNAB*, vol. 13, n.º 1, pp. 31-37, abr. 2010.
- [49] A. Prado, J. Camas and R. del C. Sánchez, "Fototransducción visual", *Rev Mex Oftalmol*, vol. 80, n.º 6, pp. 340-346, 2006.
- [50] Capacidades limitaciones humano del y. (s. f.). Issuu. https://issuu.com/chfor/docs/assign_1_tecgrais1_chrystin_forero/s/18252634
- [51] O. Takeuchi and S. Akira, "Pattern Recognition Receptors and Inflammation", *Cell*, vol. 140, n.º 6, pp. 805-820, mar. 2010, doi: [10.1016/j.cell.2010.01.022](https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.022).
- [52] V. Holan, K. Palacka and B. Hermankova, "Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy for Retinal Degenerative Diseases: Experimental Models and Clinical Trials", *Cells*, vol. 10, n.º 3, p. 588, mar. 2021, doi: [10.3390/cells10030588](https://doi.org/10.3390/cells10030588).
- [53] P. Mitchell, G. Liew, B. Gopinath and T. Wong, "Age-related macular degeneration", *the Lancet*, 392(10153), 1147-1159, 2008.
- [54] G. Garrido, "El glaucoma, neuropatía óptica", *Cuadernos del Tomás*, n.º 3, pp. 187-208, 2011.

- [55] P. José Manuel Díaz, "Prevención y tratamiento actual del glaucoma", *Revista Médica Clínica Las Condes*, vol. 21, n.º 6, pp. 891-900, nov. 2010, doi: [10.1016/S0716-8640\(10\)70661-1](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(10)70661-1).
- [56] H. M. Leibowitz *et al.*, "The Framingham Eye Study monograph: An ophthalmological and epidemiological study of cataract, glaucoma, diabetic retinopathy, macular degeneration, and visual acuity in a general population of 2631 adults, 1973-1975", *Surv Ophthalmol*, vol. 24, n.º Suppl, pp. 335-610, 1980.
- [57] A. Kanda, G. Abecasis and A. Swaroop, "Inflammation in the pathogenesis of age-related macular degeneration", *British Journal of Ophthalmology*, vol. 92, n.º 4, pp. 448-450, abr. 2008, doi: [10.1136/bjo.2007.131581](https://doi.org/10.1136/bjo.2007.131581).
- [58] M. G. Treviño Alanís, C. E. Escamilla Ocañas, F. González Cerna, J. B. García Flores, M. Moreno Treviño and G. Rivera Silva, "Retinosis pigmentaria en un adolescente", *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, vol. 72, n.º 3, pp. 195-198, may 2015, doi: [10.1016/j.bmhix.2015.06.001](https://doi.org/10.1016/j.bmhix.2015.06.001).
- [59] G. A. Dussán, "Manejo de la retinitis pigmentosa: presentación de un caso clínico", *Cienc. Tecnol. Salud Vis. Ocul.*, vol. 10, n.º 2, p. 127, dic. 2012, doi: [10.19052/sv.1440](https://doi.org/10.19052/sv.1440).
- [60] E. L. Berson, "Nutrition and Retinal Degenerations", *International Ophthalmology Clinics*, vol. 40, n.º 4, pp. 93-111, 2000, doi: [10.1097/00004397-200010000-00008](https://doi.org/10.1097/00004397-200010000-00008).
- [61] L. L. Lozano B. y L. A. Cervantes A., "Desarrollo de tratamientos experimentales para pacientes con retinosis pigmentaria", *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, vol. 98, n.º 11, pp. 646-655, nov. 2023, doi: [10.1016/j.oftal.2023.08.002](https://doi.org/10.1016/j.oftal.2023.08.002).
- [62] S. Lee, J. Park, J. Kwon, D. H. Kim and C.-H. Im, "Multi-channel transorbital electrical stimulation for effective stimulation of posterior retina", *Sci Rep*, vol. 11, n.º 1, p. 9745, may 2021, doi: [10.1038/s41598-021-89243-y](https://doi.org/10.1038/s41598-021-89243-y).
- [63] A. M. Hanif *et al.*, "Whole-eye electrical stimulation therapy preserves visual function and structure in P23H-1 rats", *Experimental Eye Research*, vol. 149, pp. 75-83, ago. 2016, doi: [10.1016/j.exer.2016.06.010](https://doi.org/10.1016/j.exer.2016.06.010).
- [64] W.-S. Yu, S.-H. Kwon, S. K. Agadagba, L.-L.-H. Chan, K.-H. Wong and L.-W. Lim, "Neuroprotective Effects and Therapeutic Potential of Transcorneal Electrical Stimulation for Depression", *Cells*, vol. 10, n.º 9, p. 2492, sep. 2021, doi: [10.3390/cells10092492](https://doi.org/10.3390/cells10092492).
- [65] J. Liu *et al.*, "Effectiveness of Microcurrent Stimulation in Preserving Retinal Function of Blind Leading Retinal Degeneration and Optic Neuropathy: A Systematic Review", *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface*, vol. 24, n.º 6, pp. 992-1002, ago. 2021, doi: [10.1111/ner.13414](https://doi.org/10.1111/ner.13414).
- [66] Eickermeyer. (2024). "ERG Jet Electrode, 12mm", [Online]. Available: <https://eickemeyercanada.ca/product/erg-jet-electrode-12mm/>.
- [67] LKC Technologies. (2024). "DTL Plus Electrode", [Online]. Available: <https://store.lkc.com/dtl-plus-electrode/>.

- [68] S. Wolf, *“Microchip manufacturing”*, Sunset Beach, Calif: Lattice Press, 2004.
- [69] S. B. Desai *et al.*, “MoS₂ transistors with 1-nanometer gate lengths”, *Science*, vol. 354, n.º 6308, pp. 99-102, oct. 2016, doi: [10.1126/science.aah4698](https://doi.org/10.1126/science.aah4698).
- [70] M. Tecpoyotl Torres *et al.*, *“Introducción al análisis y diseño de MEMS”*, 1.ª ed. Ediciones Comunicación Científica, 2023. doi: [10.52501/cc.104](https://doi.org/10.52501/cc.104).
- [71] Y. Wang, “Research Progress on Key Technologies of Microelectronics for Industry 4.0”, *AJST*, vol. 2, n.º 3, pp. 4-6, ago. 2022, doi: [10.54097/ajst.v2i3.1434](https://doi.org/10.54097/ajst.v2i3.1434).
- [72] P. Palekar Shanbhag and N. S. Patil, “BioMicroelectromechanical systems: A novel approach for drug targeting in chronic diseases”, *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, vol. 3, n.º 6, p. 265, ene. 2017, doi: [10.1016/j.nhtm.2017.01.001](https://doi.org/10.1016/j.nhtm.2017.01.001).
- [73] S. Bosse, D. Lehmus, W. Lang and M. Busse, Eds., *“Material-integrated intelligent systems: technology and applications”*, Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2018.
- [74] P. Rafiee, G. Khatibi and M. Zehetbauer, “A review of the most important failure, reliability and nonlinearity aspects in the development of microelectromechanical systems (MEMS)”, *MI*, vol. 34, n.º 1, pp. 9-21, ene. 2017, doi: [10.1108/MI-03-2015-0026](https://doi.org/10.1108/MI-03-2015-0026).
- [75] C. Chircov and A. M. Grumezescu, “Microelectromechanical Systems (MEMS) for Biomedical Applications”, *Micromachines*, vol. 13, n.º 2, p. 164, ene. 2022, doi: [10.3390/mi13020164](https://doi.org/10.3390/mi13020164).
- [76] N. I. Kavallaris and T. Suzuki, *“Non-Local Partial Differential Equations for Engineering and Biology: Mathematical Modeling and Analysis”*, vol. 31. en *Mathematics for Industry*, vol. 31. Cham: Springer International Publishing, 2018. doi: [10.1007/978-3-319-67944-0](https://doi.org/10.1007/978-3-319-67944-0).
- [77] A. Herrera-May, J. Soler-Balcazar, H. Vázquez-Leal, J. Martínez-Castillo, M. Viguera-Zuñiga and L. Aguilera-Cortés, “Recent Advances of MEMS Resonators for Lorentz Force Based Magnetic Field Sensors: Design, Applications and Challenges”, *Sensors*, vol. 16, n.º 9, p. 1359, ago. 2016, doi: [10.3390/s16091359](https://doi.org/10.3390/s16091359).
- [78] D. Kane, A. Micolich and P. Roger, Eds., *“Nanomaterials: science and applications”*, Singapore: Pan Stanford Publishing, 2016.
- [79] C. Lee, J. Kim and C. Kim, “Recent Progress on Photoacoustic Imaging Enhanced with Microelectromechanical Systems (MEMS) Technologies”, *Micromachines*, vol. 9, n.º 11, p. 584, nov. 2018, doi: [10.3390/mi9110584](https://doi.org/10.3390/mi9110584).
- [80] M. Raffel, “Background-oriented schlieren (BOS) techniques”, *Exp Fluids*, vol. 56, 60 (2015). <https://doi.org/10.1007/s00348-015-1927-5>.
- [81] P. K. Panigrahi and K. Muralidhar, *“Schlieren and shadowgraph methods in heat and mass transfer”*, in *SpringerBriefs in applied sciences and technology. Thermal engineering and applied science*. New York: Springer, 2012.

- [82] B.-J. Choi, J.-H. Kim, W.-J. Yang, D.-J. Han, J. Park and D.-W. Park, "Parylene-Based Flexible Microelectrode Arrays for the Electrical Recording of Muscles and the Effect of Electrode Size", *Applied Sciences*, vol. 10, n.º 20, p. 7364, oct. 2020, doi: [10.3390/app10207364](https://doi.org/10.3390/app10207364).
- [83] D. Byun, S. J. Cho and S. Kim, "Fabrication of a flexible penetrating microelectrode array for use on curved surfaces of neural tissues", *J. Micromech. Microeng.*, vol. 23, n.º 12, p. 125010, dic. 2013, doi: [10.1088/0960-1317/23/12/125010](https://doi.org/10.1088/0960-1317/23/12/125010).
- [84] R. Wang, X. Huang, G. Liu, W. Wang, F. Dong and Z. Li, "Fabrication and Characterization of a Parylene-Based Three-Dimensional Microelectrode Array for Use in Retinal Prosthesis", *J. Microelectromech. Syst.*, vol. 19, n.º 2, pp. 367-374, abr. 2010, doi: [10.1109/JMEMS.2009.2039773](https://doi.org/10.1109/JMEMS.2009.2039773).
- [85] Hong-Bo Zhou *et al.*, "Integration of Au Nanorods With Flexible Thin-Film Microelectrode Arrays for Improved Neural Interfaces", *J. Microelectromech. Syst.*, vol. 18, n.º 1, pp. 88-96, feb. 2009, doi: [10.1109/JMEMS.2008.2011122](https://doi.org/10.1109/JMEMS.2008.2011122).
- [86] X. Jiang *et al.*, "In vitro and in vivo evaluation of a photosensitive polyimide thin-film microelectrode array suitable for epiretinal stimulation", *J NeuroEngineering Rehabil*, vol. 10, n.º 1, p. 48, dic. 2013, doi: [10.1186/1743-0003-10-48](https://doi.org/10.1186/1743-0003-10-48).

