

Estimulador Neuronal

Leonardo G Brunnet

April 30, 2018

1 Introdução

Sistemas neuronais são estudados desde as escalas nanométricas de canais iônicos e de processos metabólicos até escalas macroscópicas de bilhões de neurônios envolvidos nas funções mentais superiores como as emoções, a linguagem e o raciocínio. A ampliação nos últimos anos do conhecimento da bioquímica molecular, em particular aplicada a neurônios, lançou as bases para o recente e dinâmico ramo da neurociência molecular, com ela podemos compreender os mecanismos de sinalização molecular no sistema nervoso, ou os efeitos genéticos no desenvolvimento neuronal. Paralelamente, áreas variadas como Física, Matemática Aplicada, Engenharia e Computação desenvolveram ferramentas poderosas de filtro, análise e processamento de informação que, aplicadas a redes de neurônios, deram origem a neurociência computacional.

A interação entre a escala nanométrica da bioquímica com as escalas meso e macroscópicas de redes de neurônios é bastante complexa e questões básicas sobre estruturação das redes durante o desenvolvimento permanecem em aberto. Como se forma a rede primária de sinapses quando estímulos externos estão presentes? Existe alguma função de extremo minimizando os recursos e maximizando a informação? Essas perguntas todas convergem para um ponto: apesar de sabermos os efeitos macroscópicos de uma série de drogas que tem ação microscópica, não sabemos de que forma se transporta a informação e como se organiza a rede de neurônios intermediando essas escalas.

Estudos de potenciais evocados por estímulo elétrico em redes corticais mostram que a estrutura temporal de resposta dessas redes reflete os intervalos temporais usados durante o treinamento. Este resultado sugere uma capacidade inerente de processamento temporal dessas redes em escalas de algumas dezenas ou centenas de milissegundos [1,2]. A partir desse estudo é natural perguntar o que ocorre com redes de neurônios se forem estimuladas de forma controlada durante sua formação, ou seja, ao longo da consolidação das sinapses. Simulações computacionais usando modelos de neurônios realistas em redes com sinapses químicas plásticas confirmam relação direta entre estímulo, plasticidade, processamento local e capacidade de aprendizado [3-5]. Por outro lado, devido a limitações nos estimuladores existentes, os experimentos explorando essa capacidade de refletir os intervalos temporais mencionados anteriormente são realizados com estímulos produzidos em apenas dois pontos da rede de neurônios [1]. Como a rede neural em um sistema biológico intacto está sujeita a interconexões e estímulos mais complexos [2], estimulador multicanais com ajuste seria necessário um fino de parâmetros para que as respostas sejam evocadas de forma fisiológica.

Redes com conexões entre neurônios de uma mesma camada são chamadas recorrentes, quando simuladas com neurônios e sinapses biologicamente realistas [19], elas apresentam a propriedade de memória associativa. Esse tema tem sido estudado no âmbito de modelos de neurônios binários desde os trabalhos de Hopfield (ver [14] para uma descrição detalhada). A memória associativa em modelos binários como o de Hopfield é estática - a informação é armazenada em estados atratores da dinâmica do sistema. Já os modelos biologicamente motivados descrevem a evolução temporal do potencial de membrana do neurônio, e.g.[15]. Os primeiros modelos computacionais nessa linha contemplavam apenas redes com acoplamentos elétricos (gap junctions) [16-17]. Recentemente foram propostos algoritmos de modificação sináptica [18] que contemplam o balanço de correntes sinápticas excitatórias e inibitórias permitindo que a rede recorrente atinja um estado descrito como assíncrono irregular, que seria o estado fundamental para impressão de memória associativa [16].

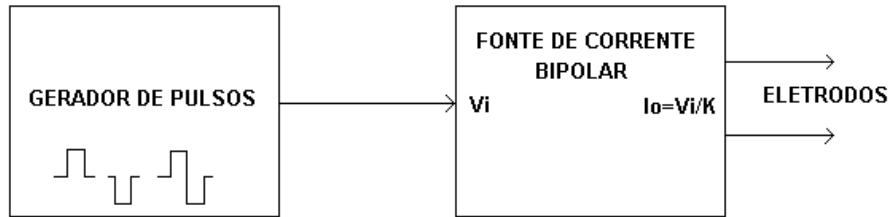


Figure 1: Esquema para funcionamento de um canal típico de operação do estimulador neuronal. O gerador de pulsos produz um sinal duplo capaz de estimular a fonte de corrente de forma a produzir um pulso bipolar.

2 Objetivo

Investigar o efeito do estímulo elétrico na topologia das sinapses de rede neural de neuroblastoma[6] em processo de crescimento. Observar a evolução da estrutura temporal da resposta de grupos de neurônios em cultura de neuroblastomas Para isso desenvolveremos um estimulador adequado e realizaremos registros intracelulares através da técnica de "patch clamp" [6,7].

3 Estimulador Neuronal

Aparelho eletrônico capaz de aplicar estímulos elétricos em tecidos vivos na forma de pulsos de corrente, através de eletrodos apropriados. Os pulsos de corrente poderão ser unipolares ou bipolares, ou seja, podemos aplicar corrente somente positiva, somente negativa bipolar. Ou, em outras palavras, entendendo-se pulsos de corrente como uma injeção de carga elétrica, podemos injetar no tecido carga positiva, carga negativa, ou no caso de pulsos bipolares, injeção de carga negativa, depois positiva, (ou vice-versa) resultando ao final carga de corrente nula sobre o tecido. O aparelho é basicamente constituído de uma fonte de corrente bipolar, excitada por um gerador de pulsos programável, como mostra a figura abaixo. Em nosso projeto será usado o microprocessador Arduíno[21] para este fim. A fonte de corrente bipolar é basicamente um circuito que converte um sinal de entrada de tensão em um sinal de saída de corrente, em forma idêntica ao sinal de entrada, utilizando um fator de conversão de corrente K , selecionado pelo usuário. É um circuito rápido capaz de gerar pulsos de corrente com tempos de duração entre 1 s (microsegundo= 10^{-6} s) e 1 ms (milissegundo= 10^{-3} s), possuindo bordas de subida e descida com tempos na ordem de 100 ns (nanossegundos). O valor da corrente situa-se no intervalo de 1 A (microampère= 10^{-6} A) e 100 mA (miliampér= 10^{-3} A), com compliância (excursão de tensão de até 10 volts. A fonte de corrente é um circuito eletrônico analógico de precisão. O gerador de pulsos é basicamente um circuito microprocessado, digital. Ou seja, os pulsos são gerados por software. O usuário escolhe os parâmetros tais como, largura de pulso (duração), frequência de pulso, (número de pulsos por segundo), etc. O usuário também pode optar por gerar trens de pulsos, repetidos ou não, onde poderá selecionar o número de pulsos aplicados por vez, assim como o intervalo entre trens de pulsos. A programação, assim como a operação do sistema é feita no computador que roda o software de geração dos pulsos.

O sistema mostrado na figura 1 configura um canal de operação. Na verdade, o gerador de pulsos poderá possuir até cinco (5) saídas de pulso controladas individualmente pelo operador, e utilizando cinco (5) fontes de corrente idênticas, configurar um sistema de cinco canais independentes, através dos quais será possível estimular simultaneamente até cinco áreas do tecido sob análise. O sistema como descrito acima destina-se a estudos em amostras de tecido in vitro. Não é adequado para uso em seres vivos, devido a problemas com isolamento galvânico, o que poderá ser providenciado no futuro.

A parte relacionada a fonte de corrente já encontra-se feita, desenvolvida no setor de eletrônica do IF-UFRGS. O presente projeto visa desenvolver o gerador de pulsos sobre um microprocessador de hardware aberto, Arduíno ou semelhante.

4 Cronograma

- Familiarização com a literatura relacionada a hardware aberto (3 meses);
- Familiarização com programação de contadores (3 meses);
- Elaboração de programa de gerador de funções baseado em contadores (3 meses);
- Testes e correções (período final).

5 Bibliografia

- [1] H. A. Johbson, A. Goel and D. V. Buonomano, *Nature Neurosc.*, Vol. 13(8), pages 917-919, (2010).
- [2] R. B. Ivry, J.E. Schlerf, *Trends in Cognitive Sciences*. 2008; 12:273– 280.
- [3] B.E.P Mizusaki, E.J Agnes, L.G Brunnet, and R Erichsen Jr., *AIP Conf. Proc.* 1510, 213 (2012);
- [4] E. J. Agnes, B. E. P. Mizusaki, R. Erichsen Jr. and L. G. Brunnet, *AIP Conf. Proc.* 1510, 255 (2012);
- [5] L. G. Brunnet, E. J. Agnes, B. E. P. Mizusaki and R. Erichsen Jr., *AIP Conf. Proc.* 1510, 251 (2012);
- [6] I Cobos, ME Calcagnotto, AJ Vilaythong, MT Thwin, JL Noebels, SC Baraban, JL Rubenstein. *Nat Neurosci.* 8(8):1059-68 (2005);
- [7] ME Calcagnotto, MF Paredes, T Tihan, NM Barbaro, SC Baraban. *J Neurosci.* 25(42): 9649-57 (2005);
- [7a] Calcagnotto ME, Baraban SC. Prolonged NMDA-mediated responses, altered ifenprodil sensitivity, and epileptiform-like events in the malformed hippocampus of methylazoxymethanol exposed rats. *J Neurophysiol.* 2005 Jul;94(1):153-62
- [8] Tafti, M., Ghyselinck, N.B., 2007. *Arch Neurol* 64, 1706-1711.
- [9] Matthay, K.K., Reynolds, C.P., 2000. *Br J Cancer* 83, 1121-1123.
- [10] Agholme, L., Lindstrom, T., Kagedal, K., Marcusson, J., Hallbeck, M., 2010. *J Alzheimers Dis* 20, 1069-1082
- [11] Lopes, F.M., Schroder, R., da Frota, M.L., Jr., Zanutto-Filho, A., Muller, C.B., Pires, A.S., Meurer, R.T., Colpo, G.D., Gelain, D.P., Kapczinski, F., Moreira, J.C., Fernandes Mda, C., Klamt, F., 2009. *Brain Res* 1337, 85-94.
- [12] Xie, H.R., Hu, L.S., Li, G.Y., 2010. *Chin Med J (Engl)* 123, 1086-1092.
- [13] Frota Junior, M.L., Pires, A.S., Zeidan-Chulia, F., Bristot, I.J., Lopes, F.M., de Bittencourt Pasquali, M.A., Zanutto-Filho, A., Behr, G.A., Klamt, F., Gelain, D.P., Moreira, J.C., 2011. *Mol Cell Biochem*
- [14] Hertz J., Krogh. A and Palmer R. *Introduction to the Theory of Neural Computation*, Westview Press, 1991.
- [15] Izhikevich, E. M. *IEEE transactions on neural networks* 14(6), 1569– 72, January (2003).
- [16] Vogels, T. P., Sprekeler, H., Zenke F., Clopath. C. and Gerstner W. (2011). *Science* 334 1569-1573.
- [17] M.S. Mainieri, R. Erichsen Jr. and L.G. Brunnet *Physica A*, 354 (2005) 663.
- [18] R Erichsen Jr, M.S. Mainieri e L.G. Brunnet, *Physical Review E*, 74 (2006) 061906.
- [19] E.J. Agnes, R. Erichsen Jr and L.G. Brunnet, *Physica A*, 391 (2012) 843.
- [20] F.T. Sommer, T. Wennekers, *Neural Netw.* 14 (2001) 825–834.
- [21] S. Monk, *Programming Arduino Getting Started with Sketches*, Ed. MC Graw-Hill (2011), 176p.
- [22] R. Brette, W. Gerstner, *J Neurophysiology* 94 (2005) 3637-3642.
- [23] L. G. Brunnet, E. J. Agnes, B. E. P. Mizusaki, R. Erichsen Jr, *AIP Conference Proceedings* 1510 (2012) 251254.