



Diseño modular de instrumentación virtual para la manipulación y el análisis de señales electrofisiológicas

Lemus-Aguilar I.,* Bargas J.,*
Tecuapetla F.,* Galárraga E.,*
Carrillo-Reid L.*

* Departamento de Biofísica,
Instituto de Fisiología Celular,
Universidad Nacional Autónoma de
México, México D.F., México.

Correspondencia:
Carrillo-Reid L.
Instituto de Fisiología Celular, UNAM.
Departamento de Biofísica.
PO Box 70-253, México D.F., 04510.
Tel: 56 22 56 15.
Fax: 56 22 57 47.
E-mail: carrillo@ifc.unam.mx

Artículo recibido: 11/agosto/2006
Artículo aceptado: 27/noviembre/2006

RESUMEN

El interés de la electrofisiología por estudiar las propiedades eléctricas de las neuronas radica en descubrir cómo se realiza la transferencia y el almacenamiento de la información en el cerebro, mientras que el interés de la ingeniería busca utilizar a la neurona como un patrón a imitar en la arquitectura de las computadoras y de las redes neuronales. Existen diferentes técnicas para dilucidar las propiedades eléctricas de las neuronas así como la forma en la cual se comunican unas con otras. Las más comunes son las técnicas de: el registro intracelular, el registro de campo, el registro en fijación de corriente y el registro en fijación de voltaje en célula entera. La tendencia comercial es la de desarrollar sistemas compuestos por hardware y software, con los cuales sólo es posible utilizar una de estas técnicas. Esta tendencia incrementa el costo de la investigación. El proyecto presentado en este trabajo, llamado DENDRON, es una herramienta flexible que se puede utilizar con todas las técnicas mencionadas. Cuenta con dos generadores de funciones y cuatro canales de entrada, además de que permite realizar el análisis en línea de distintos protocolos usados en la electrofisiología. Los datos adquiridos y los resultados de los análisis pueden ser almacenados directamente en el disco duro. El diseño modular del software, hace que éste pueda adaptarse a los requerimientos específicos del usuario sin la necesidad de hacer modificaciones drásticas ni de adquirir equipo nuevo.

Palabras clave:

Registros electrofisiológicos, instrumentación virtual, análisis en línea, diseño modular.

ABSTRACT

The electrophysiology interest in the electrical properties of neurons is based on discover the way in which the brain stores and transfers the information, while the engineering interest tries to use the neuron as a pattern for the creation of neural networks and computer design. There are different techniques for studying the neuronal intrinsic properties as well as the form in which neurons establish connections between them. The more common are: the intracellular recording, the field recording, and the voltage-clamp and current-clamp whole cell recording techniques. There is a commercial tendency for develop hardware and software systems, which only use one of these techniques, increasing the cost of basic research. The present project: ca-

lled DENDRON is a flexible tool that can be used with all the above techniques. It has two function generators and four input channels, even it allows the user to realize the on-line analysis of different protocols used commonly in electrophysiology. The acquired data and the analysis results are stored in the hard disk. The modular design of the software makes it easy adaptable for specific user requirements without drastic modifications nor new hardware.

Key Words:

Electrophysiological recordings, Virtual instrumentation, On-line analysis, Modular design.

INTRODUCCIÓN

El estudio de las células, y sus relaciones dinámicas con el medio ambiente es el objetivo fundamental de la biología experimental. Las células sensoriales son los receptores de las señales procedentes del exterior y del interior del cuerpo de los sistemas vivos pluricelulares. Las vías de conducción y los centros de decodificación que procesan estas señales constan también de células especializadas conocidas como células nerviosas o neuronas¹.

Para conocer las propiedades eléctricas y fisiológicas de las neuronas se han desarrollado diversos métodos electrofisiológicos tales como: el registro intracelular, el registro de campo, el registro unitario extracelular, así como el registro en fijación de corriente y en fijación de voltaje de la célula entera² o de regiones subcelulares tales como las terminales sinápticas o las dendritas. La importancia de entender la maquinaria fina de las neuronas, esto es, las corrientes que dictan su comportamiento y la forma en la cual se conectan unas con otras, radica en que ahora existe la posibilidad, gracias al desarrollo de supercomputadoras, de realizar modelos biológicos más realistas del cerebro, lo cual nos permitirá comprender la función cerebral en condiciones normales y patológicas³.

El método de registro en célula entera sirve para medir la actividad eléctrica intrínseca de las neuronas, es decir, los potenciales de acción o las diferentes corrientes transmembranales que se generan en las células durante la actividad eléctrica o excitabilidad. Para ello se utiliza una micropipeta de vidrio que contiene una solución salina similar al líquido intracelular y un filamento de plata cubierto con una capa de cloruro de plata que conecta dicha solución con los instrumentos electrónicos. La micropipeta conecta a la neurona físicamente con el sistema de registro. Un preamplificador se encarga de acondicionar la señal biológica para que

pueda ser registrada de manera conveniente. Éste está conectado a un amplificador.

Los amplificadores que se utilizan comúnmente en el registro electrofisiológico son comerciales. Hay amplificadores para realizar: fijación de voltaje, fijación de corriente⁴ o ambas. Cabe resaltar que los

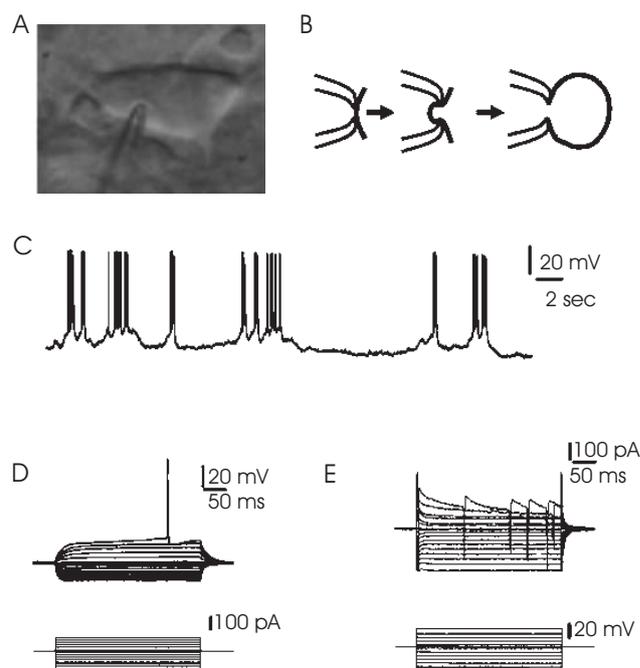


Figura 1. Registro en célula entera. **A.** Fotografía de una neurona mientras está siendo registrada. **B.** Representación esquemática del método de registro: la punta de una pipeta de vidrio es puesta en contacto con la membrana celular, se aplica presión negativa con lo cual se obtiene un sello de alta resistencia entre la neurona y la micropipeta, finalmente al aplicar más succión se establece un contacto físico entre el sistema de registro y el interior de la neurona. **C.** Registro en fijación de corriente de una neurona de proyección del neocórtico de la rata. **D.** Protocolo de estimulación utilizando la técnica de registro en célula entera en fijación de corriente. **E.** Protocolo de estimulación utilizando la técnica de registro en célula entera en fijación de voltaje.

amplificadores de fijación de corriente o de fijación de voltaje sólo manejan comandos de voltaje, es decir, las entradas que pueden recibir y las salidas que pueden generar son únicamente señales de voltaje, las cuales pueden ser interpretadas como corrientes por medio de factores especificados por el fabricante. Por lo tanto siempre que se hable de inyección de corriente en el presente trabajo, es necesario pensar en que se genera un comando de voltaje (por medio de un dispositivo externo conectado al amplificador) que el amplificador convierte a corriente; así mismo cuando se hable de registro de corriente, habrá que tener en cuenta que el amplificador convierte dicha corriente en una señal de voltaje a través de un factor de salida.

Cuando las neuronas a registrar se mantienen en el tejido nervioso para preservar sus circuitos (e.g., preparación de rebanadas de cerebro), es necesario el uso de la microscopia con iluminación infrarroja e interferencia de fase para poder observarlas a través del tejido. Así, son visualizadas en un monitor por medio de una cámara de video acoplada al microscopio (Figura 1A). Con ayuda de un manipulador mecánico de precisión, la punta de la micropipeta es acercada a la neurona hasta estar en contacto con su membrana. Aplicando presión negativa, el vidrio se adhiere a la membrana celular hasta generar un sello de alta resistencia entre la membrana y la micropipeta. Una vez que se ha realizado el sello entre el electrodo y la neurona, se aplica más presión negativa para romper una pequeña parte de la membrana con lo cual se obtiene comunicación directa con el líquido intracelular, esto es, el registro en célula entera. Es entonces cuando la neurona es estimulada por medio de pulsos de corriente o comandos de voltaje para medir su actividad electrofisiológica⁵ (Figura 1B).

Utilizando el método de fijación de corriente puede registrarse la actividad espontánea de una neurona (Figura 1C) o pueden aplicarse pulsos de corriente con una amplitud y una duración conocidas para medir los cambios del potencial transmembranal causado por las corrientes inyectadas (Figura 1D). Este tipo de experimento permite conocer el comportamiento fisiológico de las neuronas.

En un experimento de fijación de voltaje se controla el potencial de membrana de la neurona y se mide la corriente necesaria para mantener dicho potencial. También pueden aplicarse comandos de voltaje con una amplitud y una duración determinadas, con lo que se logran registrar las corrientes que se activan y pasan a través de la membrana celular a los diferentes voltajes de membrana (Figura

1E), denominadas corrientes dependientes de voltaje. Idealmente, la fijación de voltaje elimina la corriente capacitiva generada por las propiedades dieléctricas de la membrana celular, y permite obtener directamente las corrientes transmembranales que pasan por los canales iónicos situados en la membrana de la neurona. La corriente que fluye es únicamente proporcional a la conductancia de la membrana, esto es, al número de canales activos en ese momento, por lo que se tiene un control sobre la llave que determina la apertura y el cierre de los canales iónicos⁶. Esto permite dilucidar qué corrientes iónicas, subumbrales y supraumbrales controlan el disparo y la actividad neuronal en condiciones fisiológicas (Figuras 1C, D).

En muchos laboratorios que no cuentan con los recursos necesarios para comprar un sistema de adquisición de datos comercial, los registros obtenidos son desplegados en un osciloscopio de dos canales donde se muestran el potencial de membrana y las corrientes iónicas, respectivamente. De esta forma pueden ser visualizadas las respuestas de las células ante los diferentes estímulos. Estos registros generalmente son digitalizados y grabados en cintas de video para su análisis posterior⁵.

Los instrumentos tradicionales como osciloscopios o generadores de funciones están diseñados únicamente para realizar tareas específicas, debido a ello los usuarios deben adaptarse a los parámetros establecidos y no tienen la oportunidad de extender o modificar las capacidades del sistema. Las perillas y los botones del instrumento, los circuitos que lo forman, y las funciones disponibles son específicas para las características intrínsecas del aparato, además de que deben ser desarrollados componentes costosos y tecnología especial para construirlos, lo cual hace de ellos instrumentos caros y de difícil adaptación.

En contraste, los instrumentos virtuales, basados en las computadoras, pueden tomar ventaja de los beneficios de las crecientes tecnologías incorporadas al software y al hardware tales como la capacidad de almacenamiento de datos o la velocidad de procesamiento, incluyendo los nuevos sistemas operativos con todas las opciones de comunicación e intercambio de datos. Aunado a ello, una aplicación ejecutada en una computadora portátil puede ser desplazada con gran facilidad⁷. Los instrumentos virtuales representan un gran avance desde la instrumentación basada en hardware hacia la instrumentación basada en software, debido a que esta última permite explotar todas las características de productividad, despliegue de datos y

conectividad de las computadoras, además de que los sistemas desarrollados satisfacen exactamente las necesidades definidas por el usuario a diferencia de los instrumentos tradicionales que tienen funciones establecidas por el vendedor.

El nuevo sistema, presentado en este trabajo, busca obtener un mejor uso de los recursos, así como tener un mejor control sobre las señales de estimulación y las respuestas adquiridas. Por otro lado, al sustituir el equipo usado comúnmente en la electrofisiología se creará un sistema más flexible y económico que permitirá una adaptación más sencilla para satisfacer nuevos requerimientos, como un mayor número de canales de entrada o la generación de señales definidas por el usuario. Con el nuevo sistema se elimina el uso del osciloscopio, el generador de funciones, el digitalizador y la grabadora de video, sustituyendo todos estos elementos por una computadora, un programa ejecutable desarrollado con LabVIEW^{MR}: llamado DENDRON, y una tarjeta comercial de adquisición de datos.

Generalmente, el análisis de los datos adquiridos se realiza días después del experimento, cuando ya no es posible modificar ninguna condición. Una de las ventajas de DENDRON es la realización de distintos tipos de análisis en línea, lo cual permite conocer en el instante en que se lleva a cabo el experimento si el protocolo utilizado es el óptimo.

Existen varios sistemas comerciales que se utilizan para el registro electrofisiológico como: pClamp^{MR} y Brain wave^{MR}, entre otros. Su costo oscila entre los ocho y los veinte mil dólares, ya que es necesario comprar software y hardware, además de que están diseñados para utilizarse preferencialmente con una determinada técnica de registro. Para el sistema implementado en el presente trabajo es necesario tener únicamente una computadora y adquirir la tarjeta de adquisición de datos, la cual tiene un costo de mil quinientos dólares. El ambiente de programación en LabVIEW^{MR} permite la creación de un programa ejecutable que puede ser instalado en varios equipos sin la necesidad de comprar software para cada uno de ellos (DENDRON se pone a la disposición del lector siempre que no se utilice con motivos comerciales).

MATERIAL Y MÉTODOS

En el sistema implementado se utilizan cuatro entradas analógicas configuradas en forma diferencial para adquirir los registros, dos salidas analógicas para generar funciones, una entrada de trigger analógico para sincronizar la salida y la entrada de

datos, así como un contador para mandar la señal de sincronización⁸. Para el diseño de DENDRON se empleó la versión 6.1 de LabVIEW^{MR}.

La tarjeta utilizada es la PCI-MIO-16E-4 de *National Instruments*, la cual tiene las siguientes características:

- Tasa de muestreo máxima de 500 kS/s para registros de un solo canal o de 250 kS/s para adquisición múltiple.
- Dieciséis entradas analógicas simples u 8 diferenciales de 12 bits.
- Dos salidas analógicas de 12 bits.
- Ocho líneas de entrada o salida digital.
- Trigger analógico.
- Trigger digital.
- Dos contadores de 24 bits.
- Rango de entrada y salida de ± 10 V.

El programa desarrollado puede ser utilizado en computadoras que cuenten al menos con las siguientes características:

- Procesador con una velocidad mayor a 500 MHz.
- 250 MB o más de memoria RAM.
- Resolución del monitor de 1024 X 768 Color Verdadero (32 bits) o mayor.
- Windows 98, 2000, Millenium, XP.
- 2 GB o más de espacio disponible en el disco duro.

El diagrama de bloques de DENDRON está formado principalmente por seis módulos (Figura 2):

- Configuración de las señales de entrada y salida.
- Generadores de funciones.
- Procesamiento de datos.
- Despliegue de registros.
- Almacenamiento de las señales adquiridas.
- Análisis en línea.

El diseño modular de la instrumentación virtual representa una herramienta flexible y de fácil adaptación para las necesidades específicas de distintos usuarios, sin la necesidad de adquirir software o hardware; también permite realizar una adaptación sencilla hacia sistemas más complejos que involucren otros dispositivos que pueden ser controlados desde la computadora⁷⁻⁹.

En el módulo de configuración de las señales de entrada y salida: se configuran los rangos de entrada y salida de las señales analógicas, se seleccio-

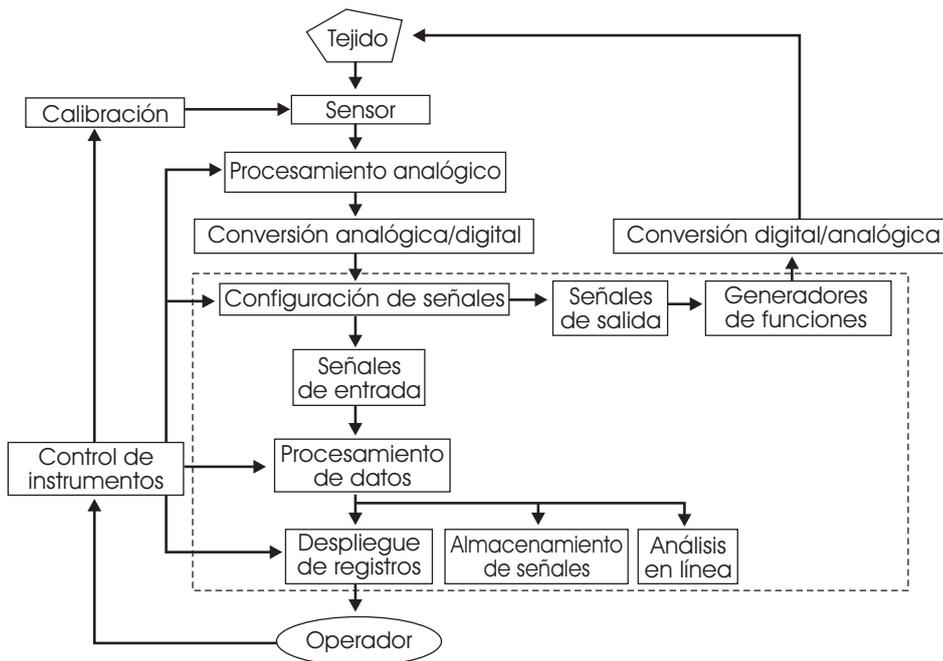


Figura 2. Diagrama general del sistema de registro. Dentro del rectángulo de líneas punteadas se muestran los módulos principales de DENDRON.

na el tipo de acoplamiento y la configuración de entrada para cada canal, se especifica la tasa de muestreo, se seleccionan los canales por los cuales se realizarán los registros, y se escoge el contador de salida que funcionará como señal de sincronización.

En el módulo de generadores de funciones se escogen los parámetros necesarios para especificar las características de las señales de estimulación. En este módulo se programaron las características de dos generadores de funciones. Por medio del primer canal se pueden enviar señales variables como rampas, funciones sinusoidales, pulsos rectangulares, otros protocolos usados en la electrofisiología, así como archivos almacenados con formato de texto. Esta última característica permite estimular a la neurona con cualquier protocolo diseñado por el usuario (e.g., simulando entradas sinápticas o disparos neuronales). A través del segundo canal es posible generar trenes de pulsos variables, en donde se puede especificar el número de pulsos deseados, así como el ciclo de trabajo de la señal.

En el módulo de procesamiento de datos, las señales recibidas son transferidas a una matriz de $N \times M$. Donde N representa el número de puntos leídos y M es el número de canales adquiridos. En este módulo cada vector columna de la matriz es extraído como un arreglo numérico que contiene el registro de un solo canal. Esta transformación

permite manipular de una manera sencilla los registros, además de que acondiciona a las señales para que puedan ser desplegadas en el monitor, analizadas matemáticamente y almacenadas en el disco duro.

Para el despliegue de datos se programaron todas las características principales de un osciloscopio común, de manera que la presentación de las señales puede ser modificada tanto en la escala de tiempo como en la escala de amplitud.

Después de que los datos han sido acondicionados de manera óptima, es necesario almacenarlos en el disco duro para que puedan ser procesados por programas especiales de análisis. Por medio del módulo de almacenamiento de las señales adquiridas, las señales son guardadas, con formato de texto en un directorio específico que puede ser seleccionado por el usuario. Los archivos tienen nombres distintos que siguen una secuencia numérica de manera que el orden de los registros pueda ser distinguido posteriormente.

Finalmente, con el módulo de análisis en línea es posible realizar curvas corriente-voltaje, así como cursos temporales de los potenciales sinápticos provocados, los datos procesados pueden ser desplegados y guardados en el disco duro, lo cual hace más eficiente la realización y el diseño de los experimentos.

Además de los módulos mencionados con anterioridad el diagrama de bloques de la aplicación

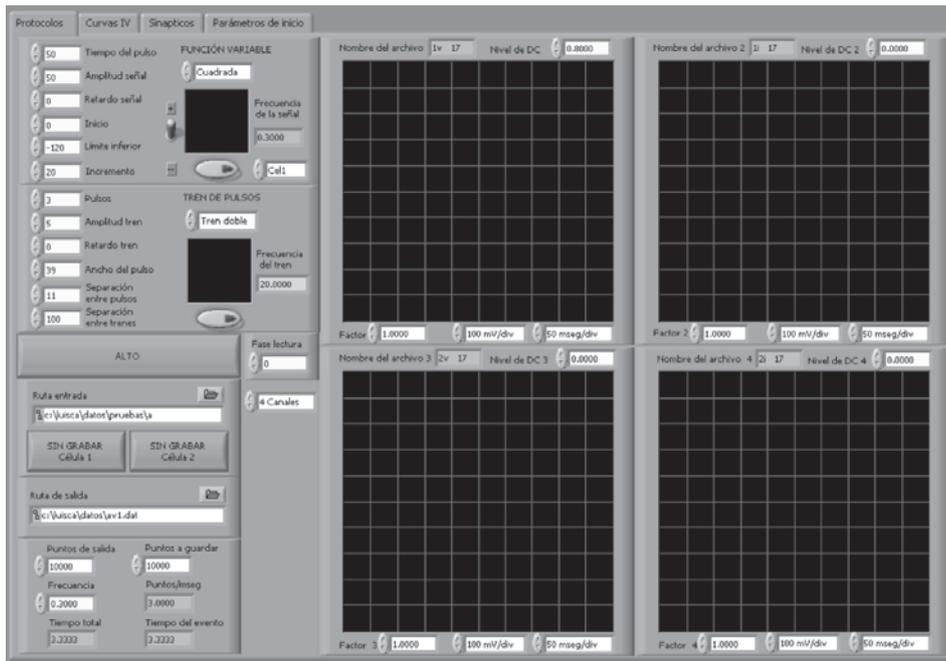


Figura 3. Pantalla principal de la interfaz del usuario.

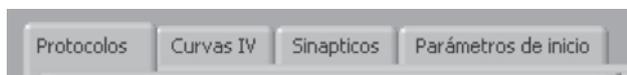


Figura 4. Detalle del diagrama de bloques de la aplicación final donde se muestran las distintas pestañas que permiten seleccionar una pantalla para realizar una función específica.

final contiene algunos elementos necesarios para la correcta ejecución del programa, tales como terminales que indican errores de lectura o escritura de datos e inconsistencias en la especificación de los parámetros.

La pantalla principal de la interfaz de DENDRON (Figura 3) está compuesta por tres bloques: generadores de funciones, osciloscopios virtuales y controles de configuración; a su vez en la parte superior pueden encontrarse distintas pestañas (Figura 4) con las cuales se puede cambiar de pantalla para realizar el análisis en línea así como para establecer la configuración de los parámetros de inicio de la tarjeta de adquisición de datos (Figura 5).

En el bloque del generador de funciones se puede seleccionar el protocolo que será utilizado. En el primer canal de salida las funciones disponibles hasta el momento son: Rectangular, senoidal, rampa, triangular, histéresis, pasos +, pasos -, datos, esta última permite estimular con cualquier archivo de texto guardado en alguna unidad de almacenamiento (e.g., potenciales sinápticos o actividad



Figura 5. Detalle del diagrama de bloques de la aplicación final donde se muestra la pantalla para establecer la configuración de los parámetros de inicio de la tarjeta de adquisición de datos.

neuronal registrada previamente), se puede seleccionar la amplitud de las señales, la duración, el retardo, su inicio y el valor mínimo. En el segundo canal las funciones disponibles son: Tren y tren doble, en estos protocolos se puede modificar el nú-



Figura 6. Detalle de la interfaz del usuario donde se muestra el bloque de los generadores de funciones.



Figura 7. Detalle de la interfaz del usuario donde se muestra la pantalla de uno de los osciloscopios virtuales.

mero de pulsos, la amplitud y retardo del tren, la duración del pulso, el intervalo de tiempo entre pulsos y el intervalo de tiempo entre los trenes. Las funciones generadas pueden ser modificadas o pueden dejar de ser transmitidas sin la necesidad de apagar y reiniciar el programa (Figura 6).

En el bloque de los osciloscopios virtuales se pueden visualizar de manera independiente el voltaje y la corriente de dos células diferentes, es posible cambiar el nivel de DC, la fase de los registros, las escalas de amplitud y tiempo y multiplicar por un escalar la magnitud del canal seleccionado, para que las unidades de las señales registradas estén en una escala real (Figura 7). También es posible visualizar únicamente algún canal en particular, dependiendo del experimento que se realice, es decir, se pueden desplegar los cuatro canales adquiridos para el caso de un par de células, o solamente dos cuando se trata de una sola célula. Incluso es posible el despliegue de un solo canal para la realización de registros de campo.

El bloque con los controles de la configuración permite guardar o leer archivos de una ruta elegida por el usuario, especificar la frecuencia de entrada y salida de los datos, seleccionar el número de muestras que serán leídas y el número de muestras que serán almacenadas en el disco duro así como detener la ejecución del programa (Figura 8).



Figura 8. Detalle de la interfaz del usuario donde se muestra el bloque de los controles de configuración.

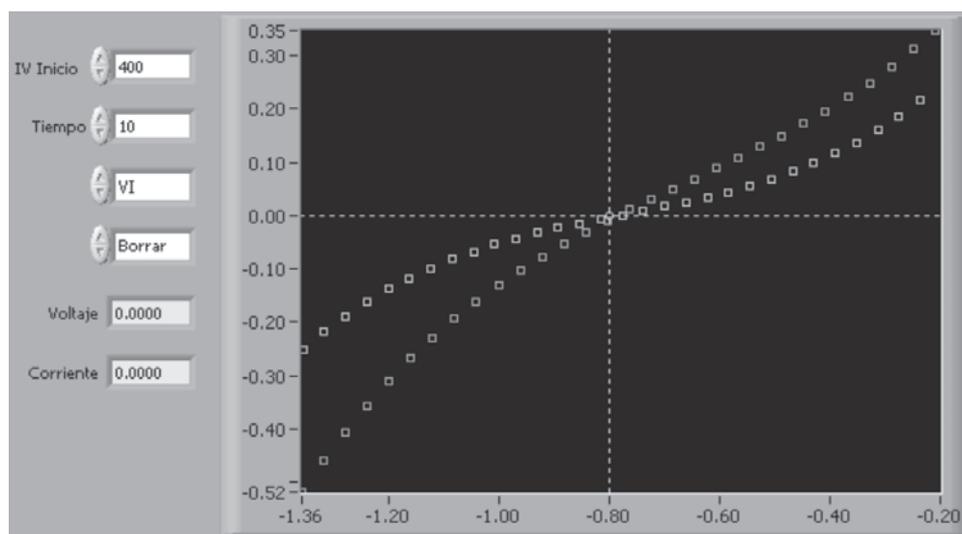


Figura 9. Detalle de la interfaz del usuario donde se muestra la pantalla de análisis en línea de las curvas corriente-voltaje.

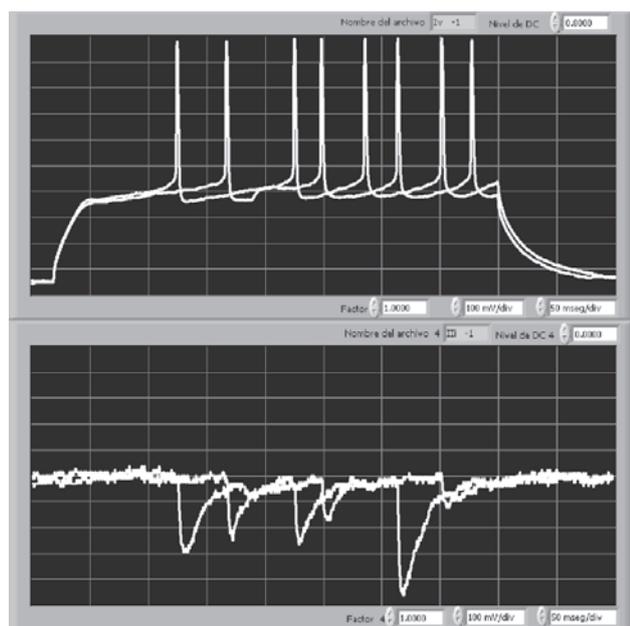


Figura 10. Detalle de la interfaz del usuario donde se muestra un par de neuronas registradas simultáneamente. En la parte superior se muestran los potenciales de acción provocados en la neurona presináptica, utilizando el método de fijación de corriente. En la parte inferior se muestra el registro en fijación de voltaje de las corrientes sinápticas provocadas en la neurona postsináptica.

RESULTADOS

DENDRON constituye un sistema de adquisición y análisis en línea de datos que cuenta con una interfaz de usuario amigable. Una vez que el usuario se ha familiarizado con la interfaz y con los paráme-

tros a utilizar, el tiempo empleado en el experimento y en el análisis de los datos se reduce considerablemente.

DENDRON permite la visualización en línea de las curvas corriente-voltaje. Las curvas corriente-voltaje (I-V) son gráficas que indican la relación entre el voltaje o corriente aplicados como estímulo y las corrientes o voltajes registrados como respuestas de la neurona registrada; dependiendo de la configuración del amplificador. Las curvas I-V proporcionan información sobre el comportamiento global de los canales iónicos presentes en la membrana de la célula². En un experimento de este tipo se parte de una situación control, en la cual la neurona se encuentra bajo ciertas condiciones iniciales y se obtiene la curva I-V para este estado. Luego, se aplica algún fármaco que promueve la apertura o el cierre de canales iónicos y se vuelve a realizar la curva I-V. La comparación de ambas gráficas da información sobre el efecto global del fármaco en la membrana celular. El poder observar y grabar en línea estos cambios, representa un ahorro de tiempo, ya que por un lado no es necesario hacer este análisis posteriormente y por otro es posible conocer durante el experimento si los resultados son los esperados, de tal suerte que se hace más eficiente el diseño de los experimentos.

La Figura 9 muestra la pantalla de DENDRON en donde se realiza el análisis en línea de las curvas corriente-voltaje. En dicha pantalla el usuario puede indicar el intervalo de tiempo que será graficado, así como el número de puntos a promediar, tanto para la célula 1 como para la célula 2.

El estudio de las conexiones entre dos neuronas (sinapsis) es la base para entender el funcionamiento de las redes neuronales biológicas¹⁰. Para ello se puede emplear el registro de pares de neuronas con la técnica de registro en célula entera tanto en fijación de corriente como en fijación de voltaje. En un experimento común en el cual se estudia la conexión entre dos neuronas se hace que la neurona presináptica, por medio de la aplicación de pulsos rectangulares de corriente, genere potenciales de acción a una frecuencia determinada y se registran los potenciales sinápticos provocados en la neurona postsináptica. La Figura 10 muestra un par de neuronas registradas simultáneamente, en donde pueden observarse los potenciales de acción generados en la neurona presináptica (método de fijación de corriente) y las respuestas inducidas, corrientes sinápticas, en la neurona postsináptica (método de fijación de voltaje)¹¹. DENDRON también permite realizar el análisis en línea del curso temporal de los potenciales sinápticos provocados, haciendo más eficiente el diseño del experimento.

La Figura 11 muestra la interfaz gráfica en donde se lleva a cabo el análisis en línea de la variación en la amplitud de los eventos sinápticos provocados. Se puede observar en la primera pantalla la amplitud del primero y segundo eventos. Para ello existen controladores en donde el usuario puede indicar el inicio y duración del intervalo donde existe un potencial sináptico. En la segunda pantalla se observa el promedio del cociente entre un par de eventos sinápticos. El número de potenciales sinápticos a promediar puede ser definido por el usua-

rio. Finalmente en la última pantalla se puede desplegar la resistencia de entrada de la célula, lo cual permite saber si existe un efecto postsináptico (el valor de la resistencia es obtenido por medio de $R = V/I$ donde V representa la amplitud de un pulso de voltaje aplicado a la célula, e I representa la respuesta de corriente generada a través del amplificador).

Gracias a la utilización de la instrumentación virtual se tiene un control preciso sobre los parámetros de las señales generadas. También se pueden seleccionar los canales a desplegar y es posible modificar los protocolos de estimulación y la configuración de las señales de entrada sin la necesidad de detener el programa ni de reiniciarlo. Debido al análisis en línea se puede saber si los protocolos utilizados son los óptimos, de tal suerte que se optimiza tanto el diseño como el tiempo de los experimentos.

Los registros son guardados directamente en un dispositivo de almacenamiento (disco duro, memoria externa, etc.) con lo que se evita tener que reproducir nuevamente todo el experimento por medio de la videograbadora. Al tener los registros almacenados en archivos de texto es posible utilizar distintos programas para la elaboración de gráficas tanto de los datos adquiridos, como de los análisis realizados.

Debido al diseño modular de la instrumentación virtual se tiene un ahorro considerable en equipo, tomando en cuenta sólo un arreglo experimental. Pero el ahorro es mucho mayor si se piensa en que el equipo comercial viene configurado con una llave que permite usarlo en un solo arreglo. Nuestro



Figura 11. Detalle de la interfaz del usuario donde se muestra la pantalla en donde se realiza el análisis en línea de la variación de los eventos sinápticos provocados (corrientes o voltajes). En la primera pantalla, se grafica la amplitud del primero y segundo eventos sinápticos, durante la estimulación con pulsos pareados. En la segunda pantalla se observa el promedio de diez puntos de la relación entre las amplitudes de los potenciales sinápticos provocados (segundo/primer). La tercera pantalla despliega la resistencia de entrada de la célula durante el experimento; lo que permite dilucidar si hay efectos postsinápticos.

programa ejecutable puede usarse en muchos arreglos simultáneamente sin violar derechos de autor, así es que el ahorro se va incrementando mientras más arreglos haya en un laboratorio. El sistema puede ser adaptado o extendido sin la necesidad de invertir en equipo nuevo y sin hacer modificaciones drásticas al software, es decir, se puede modificar el código añadiendo o quitando módulos sin tener que reescribirlo o reorganizarlo completamente¹².

El programa desarrollado ha sido utilizado y se encuentra operando con excelentes resultados en varios laboratorios de electrofisiología de distintas instituciones de educación superior del país¹³⁻¹⁷.

No es necesario tener una versión instalada de LabVIEW^{MR} para que DENDRON pueda ser utilizado, ya que se trata de un programa ejecutable. DENDRON se pone a la disposición del lector siempre que no se utilice con motivos comerciales.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La utilización de la instrumentación virtual no sólo asegura que las aplicaciones desarrolladas serán útiles en el futuro sino que también proporciona la flexibilidad para adaptar y extender el sistema dependiendo de los nuevos requerimientos del usuario y los cambios o actualizaciones en el equipo de cómputo.

Al adquirir y analizar los datos directamente en la computadora se hace un uso más eficiente de los recursos y del tiempo empleado en el experimento. Con la utilización de los sistemas antiguos es necesario repetir todo el experimento para seleccionar los mejores registros, en cambio al tener las señales almacenadas en el disco duro puede utilizarse cualquier programa para su manipulación.

DENDRON puede ser utilizado con las técnicas de registro intracelular, registro extracelular, fijación de voltaje y fijación de corriente, sin embargo gracias a que dichos sistemas de registro comparten las mismas características que un sistema de instrumentación biomédica¹⁸, los campos de desarrollo y expansión son muy variados y no se necesitan adaptaciones drásticas ni costosas para la implementación de diferentes sistemas.

El diseño modular representa grandes ventajas. En muchas ocasiones es necesario hacer proyectos elaborados que pueden ser resueltos en menor tiempo si la aplicación es dividida en partes, esto facilita la detección de errores ya que es posible probar cada una de las unidades por separado.

El uso del programa desarrollado no está limitado a una sola computadora, al ser un programa

ejecutable no es necesario tener alguna versión de LabVIEW^{MR} para poder utilizarlo.

El objetivo a mediano plazo es el de expandir el sistema a ocho canales de registro y realizar análisis matemáticos diversos durante la ejecución del programa, así como controlar a través de la computadora distintos dispositivos utilizados en el experimento.

DENDRON puede ser utilizado en distintas áreas de las neurociencias, la fisiología y la farmacología, ya que los sistemas de instrumentación biomédica constan de módulos muy similares¹⁹. La utilización de protocolos estándar, así como la posibilidad de generación de nuevos protocolos y el análisis en línea, hacen de DENDRON una herramienta novedosa, versátil y de bajo costo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aidley D. The physiology of excitable cells. 3rd edition. Cambridge, Cambridge University Press, 1989.
2. Johnston D. Foundations of Cellular Neurophysiology. Cambridge, The MIT Press, 1994.
3. Markram H. The blue brain project. *Nat Rev Neurosci* 2006; 7(2): 153-60.
4. Axon Guide, Axon Instruments.
5. Carrillo-Reid L. Diseño y desarrollo de instrumentación virtual para la aplicación en neurociencias. Tesis de licenciatura. Facultad de Ingeniería. UNAM. México. 2004.
6. Lakowski W. Biofísica. Barcelona, Ediciones Omega, 1976.
7. Getting Started with LabVIEW, LabVIEW, National Instruments.
8. User Manual, LabVIEW, National Instruments.
9. Measurements Manual, LabVIEW, National Instruments.
10. Frumento A. Biofísica. Tercera edición, Madrid, Mosby, 1995.
11. Tecuapetla F, Bargas J, Carrillo-Reid L, Galárraga E. Modulación dopaminérgica de la conexión entre neuronas de proyección estriatales: Registro de pares de neuronas. XLVIII Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas. 2005.
12. Velasco ND, Ávila-Pozos R, Godínez FR. Desarrollo de un software de estimulación y adquisición de señales eléctricas celulares, basado en una tarjeta comercial de adquisición de datos. *Rev Mex Ing Biomédica* 2005; 26: 92-105.
13. Peña F, Alavez-Pérez N. Epileptiform activity induced by pharmacologic reduction of M-current in the developing hippocampus *in vitro*. *Epilepsia* 2006; 47(1): 47-54.
14. Ibáñez-Sandoval O, Hernández A, Florán B, Galárraga E, Tapia D, Valdiosera R, Erlij D, Aceves J, Bargas J. Control of the subthalamic innervation of substantia nigra Pars Reticulata by D1 and D2 dopamine receptors. *J Neurophysiol* 2006; 95: 1800-1811.
15. Tecuapetla F, Carrillo-Reid L, Guzmán JN, Galárraga E, Bargas J. Different inhibitory inputs onto neostriatal projection neurons as revealed by field stimulation. *J Neurophysiol* 2005; 93(2): 1119-26.
16. Guzmán JN, Hernández A, Galárraga E, Tapia D, Laville A, Vergara R, Aceves J, Bargas J. Dopaminergic modula-

- tion of axon collaterals interconnecting spiny neurons of the Rat Striatum. *The Journal of Neuroscience* 2003; 23(26): 8931-8940.
17. Vergara R, Rick C, Hernández-López S, Laville JA, Guzmán JN, Galárraga E, Surmeier DJ, Bargas J. Spontaneous voltage oscillations in striatal projection neurons in a rat corticostriatal slice. *J Physiol* 2003; 553(Pt 1): 169-82.
 18. Enderle J. *Introduction to biomedical engineering*, San Diego, Academic Press, 2000.
 19. Webster J. *Medical instrumentation. application and design*. New York, John Wiley & Sons, 1998.