

# Sistema de Tiempo-Real de Código Abierto para Control Robótico usando Cultivos de Neuroblastoma

Ferrández Vicente, J.M., Lorente Sánchez, V.  
 Dpto. Electrónica, Tecnología de Computadores y Proyectos  
 Universidad Politécnica de Cartagena  
 E-mail: jm.ferrandez@upct.es, victor.lorente@upct.es

**Resumen.** Este artículo introduce un sistema de tiempo real de código abierto que controla remotamente un robot empleando cultivos de Neuroblastoma Humano y algunos principios básicos de Braitenberg. Los setups de arrays de microelectrodos han sido diseñados para cultivar directamente células neuronales sobre sustratos de silicio o cristal, proporcionando la capacidad de estimular y registrar simultáneamente la actividad del cultivo. El principal objetivo de esta investigación es modular las respuestas fisiológicas naturales de las células neuronales aplicando estimulación tetánica en el cultivo. Si el sistema es capaz de modificar las respuestas selectivas de algunas células con un patrón de estímulos externo proporcionado por un robot sobre diferentes escalas de tiempo, la estructura cultivada de neuroblastoma puede ser entrenada para procesar patrones espacio-temporales pre-programados, controlando de esta forma el comportamiento robótico.

## 1 Introducción

El uso de sistemas nerviosos biológicos como elementos de cómputo computacional es un fascinante problema que permite la hibridación entre la Neurociencia y la Computación. Este enfoque sinérgico puede proporcionar una comprensión más profunda de los procesos de percepción y puede ser utilizado para el diseño de nuevos dispositivos basados en paradigmas computacionales naturales. Un procesador biológico con millones de neuronas y un gran número de interconexiones, poseería mucho más rendimiento computacional a pesar de sus bajos índices de transición, debido a la gran cantidad de elementos de computación en red y la extraordinaria capacidad de adaptación y reconfiguración a entornos desconocidos.

Nuestros experimentos de aprendizaje se realizaron en cultivos neuronales que contienen 120,000 neuroblastoma humanos SY-5Y, bajo el supuesto de que este tipo de células neuronales es capaz de responder a estímulos externos y modular sus disparos neuronales modificando los parámetros de la estimulación. Tales redes de cultivo de neuroblastomas mostraron que tienen configuraciones dinámicas, y que son capaces de desarrollarse y adaptarse funcional y morfológicamente en respuesta a la estimulación externa a través de una amplia gama de patrones de configuración.

Este artículo introduce un sistema de tiempo real de código abierto que permite controlar remotamente un robot empleando cultivos de Neuroblastoma Humano. El principal objetivo de este trabajo será controlar un robot utilizando este neuroprocesador biológico y un simple esquema de aprendizaje de Braitenberg [1].

## 2 Métodos

### 2.1 Cultivos de Neuroblastoma

Una línea de células SY5Y de neuroblastoma humano, que expresa receptores clónicos específicos de dopamina humanos, y también receptores de NMDA, será la plataforma para estudiar el aprendizaje en las células cultivadas.

Las células de cultivos de neuroblastoma muestran respuestas electrofisiológicas similares a las neuronas estándar, como la generación de potenciales de acción sensibles a la tetrodotoxina (TTX) y a la acetilcolina. Poseen procesos de síntesis de neurotransmisores y son capaces de un crecimiento neurítico in un medio de cultivo.

Los cultivos de neuroblastoma humanos fueron producidos usando la línea comercial SH/SY5Y. Las células del cultivo de SH/SY5Y fueron cultivadas en DMEN(Gibco) completado con 10% de suero de bovina a 37°C en 5% CO<sub>2</sub> y humedad atmosférica. En cada MEA fueron colocadas 100.000 células/ml en un volumen de 2 ml y mantenidas en las condiciones mencionadas hasta la experimentación en diferentes *días in vitro* (div).

### 2.2 Setup Experimental

El setup neuro-fisiológico proporciona una completa solución para la estimulación, calefacción, registro y adquisición de datos de los 64 canales.

Los componentes básicos del sistema propuesto se muestran en la Figura 1. Estos componentes son:

- Un array de microelectrodos (MEA) es un disposición de 60 electrodos que permite la estimulación y registro simultáneos de

varios electrodos. Las células del cultivo se colocan directamente sobre el MEA y pueden cultivarse durante varios meses. Casi todas las células activas o tejidos que son excitables o espontáneamente activas pueden utilizarse.

- Los datos Raw de los electrodos del MEA son amplificados por unos pequeños filtros amplificadores de ancho de banda y ganancia personalizados y que emplean tecnología SMD (Surface Mounted Devices). Estos amplificadores reducen además los picos de la línea eléctrica y mantienen el nivel de ruido bajo.
- Las señales analógicas son entonces adquiridas y digitalizadas por la tarjeta MC-Card preinstalada en el ordenador de adquisición de datos. Desde este ordenador se procesa la información del cultivo y se generan patrones para estimular el cultivo.
- El robot manda información sobre el entorno al ordenador empleando un enlace Bluetooth. Los sensores que incorpora consisten en sensores infrarrojos para la detección de obstáculos.

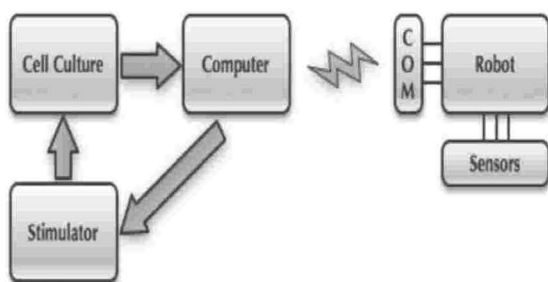


Figura 1: Setup Experimental

### 2.3 Sistemas de Adquisición de Datos del Cultivo

El registro desde un gran número de electrodos se ha convertido en algo muy común en neurociencia durante los últimos 30 años. Para la adquisición de datos electrofisiológicos y análisis existen varias herramientas, pero dos de ellas son las más frecuentemente utilizadas: MC\_RACK [2] and MEABENCH [3].

La principal desventaja de MC\_RACK es que, al ser un software propietario, no es extensible al usuario. Además, no es adecuado para aplicaciones de tiempo real que incluyen comunicaciones bidireccionales entre ordenadores y el cultivo biológico. Para nuestra investigación en un procesador biológico para robótica empleando cultivos de neuroblastoma, estos requisitos son esenciales.

MEABENCH es un conjunto de programas gratuito y de código abierto, desarrollado principalmente para Linux y cuya finalidad es la adquisición de datos (DAQ) de microelectrodos y el análisis online. MEABENCH se comunica directamente con el hardware DAQ, así como proporciona visualización en tiempo real. Además, gracias a su habilidad para comunicarse en tiempo real con el hardware de estimulación, puede emplearse en experimentos de estimulación de bucle cerrado.

### 2.4 Control Robótico

Para controlar la dirección del robot se propone calcular el vector resultante de la actividad neuronal registrada en el cultivo de neuroblastoma humano. Este vector será enviado al robot para guiar su movimiento. Los sensores incorporados en el robot detectarán obstáculos, y la información se pasará a un ordenador que será capaz de inducir una estimulación tetánica selectiva a la red neuronal biológica para cambiar el vector de dirección resultante. En la Figura 2, los electrodos seleccionados para la tetanización se muestran en orden selectivo para inducir un cambio persistente en el comportamiento de la red neuronal.

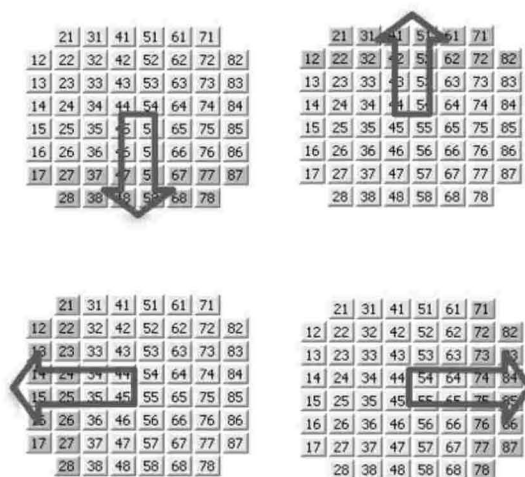


Figura 2: Tetanización de electrodos selectiva

Cuando el robot detecta un obstáculo en la parte izquierda de su camino, se enviará una señal de estimulación al sistema para que tetanice la parte derecha del tejido. Tetanizando los electrodos de la parte derecha del array, se incrementará la tasa de disparo de las células neuronales que se encuentran en esa parte del cultivo, y el vector de dirección apuntará a esa región. Esperamos aplicar algunos principios de Braitenberg básicos al sistema para estudiar el comportamiento de la red neuronal biológica inducido por un esquema de aprendizaje basado en la tetanización.

## 2.5 Sistema de Control Robótico

Hemos desarrollado un sistema que proporciona una plataforma de control robótico completa sobre cultivos de neuroblastoma. El sistema incluye cinco aplicaciones gratuitas y de código abierto, basadas en consola y programadas en C/C++ para ser utilizadas en aplicaciones robóticas con cultivos. Todo el sistema ha sido desarrollado para Sistemas Operativos Linux y hardware de MCS (MultiChannel Systems, Reutlingen, Germany). El empleo de este software junto a MEABENCH está destinado especialmente a experimentos de bucle-cerrado.

El software desarrollado consiste en los siguientes programas:

- *Cult2Robot*: Es el programa principal. Ha sido desarrollado como un módulo de MEABENCH y, como tal, puede acceder a la información procedente del detector de spikes de MEABENCH. Su función principal es calcular un vector de dirección basado en el número de spikes por electrodo en  $t$  segundos, que puede ser ponderado por la altura y anchura de los spikes. Posteriormente, este vector de dirección puede ser enviado via Bluetooth al robot para provocar su movimiento.
- *Stg\_control*: Controla un generador de estímulos de propósito general dirigido por corriente y voltage para la estimulación eléctrica del tipo STG serie 1000 de MCS.
- *Electrode\_select*: Permite configurar el amplificador MEA1060BC siguiendo el protocolo de MEA de MCS.
- *BT\_server*: Servidor Bluetooth no bloqueante que emplea el protocolo RFCOMM para recibir información de obstáculos procedente de un robot.
- *BT\_client*: Envía el vector de dirección al robot via Bluetooth empleando el protocolo RFCOMM.

## 3 Resultados

El sistema ha sido validado empleando un *MCS Signal Generator* en el preamplificador *MEA1060BC* y cultivos de neuroblastoma. *Cult2robot* ha sido testeado con diferentes cultivos mostrando que se puede obtener un vector de dirección de forma satisfactoria. *Electrode\_select* y *Stg\_control* han sido monitorizados empleando el sistema de adquisición de datos MEABENCH. *BT\_client* y *BT\_server* han sido utilizados con un robot humanoide (Robonova,

Hitec Robotics) para enviar y recibir información sobre obstáculos.

## 4 Conclusiones

El aprendizaje en redes de cultivos de neuroblastoma a través de un proceso de estimulación controlado por los sensores de un robot requiere identificar el estímulo correcto para proporcionarlo a las neuronas mantenidas ex vivo. Estas redes de neuroblastoma recubren por completo el array de electrodos y generan una configuración dendrítica rica. Es necesario un sistema abierto de adquisición y estimulación neuronal que permita responder en tiempo real a la información proporcionada por los sensores del robot controlando así su comportamiento.

Actualmente, nos encontramos inversos en el desarrollo de nuevas herramientas que faciliten el estudio del aprendizaje en cultivos de neuroblastoma y su aplicación en el ámbito de la robótica, así como en el estudio de la optimización de los parámetros espacio temporales que pueden producir cambios persistentes en estos cultivos y, por ende, aprendizaje.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado bajo una beca predoctoral Séneca con referencia 12361/FPI/09 y bajo el proyecto con referencia 12361/FPI/09, ambos de la Fundación Séneca, Agencia de Ciencia y Tecnología de la Región de Murcia.

## Referencias

- [1] Braitenberg, V. *Vehicles: Experiments in synthetic psychology*. Cambridge, MA: MIT Press, 1984.
- [2] Wagenaar, D. A., DeMarse, T. B., & Potter, S. M. (2005). MeaBench: A toolset for multi-electrode data acquisition and on-line analysis. 2nd Intl. IEEE EMBS Conference on Neural Engineering, 518-521.
- [3] MultiChannel Systems, <http://www.multichannelsystems.com/>