

MARIA LUÍSA CANTADORI

**ANÁLISE DE SINAIS DO HIPOCAMPO DE PACIENTE COM EPILEPSIA DO
LOBO TEMPORAL**

Trabalho de Formatura apresentado à Escola
Politécnica da Universidade de São Paulo para
obtenção do diploma em Engenharia Elétrica
com Ênfase em Sistemas Eletrônicos.

SÃO PAULO

2013

MARIA LUÍSA CANTADORI

**ANÁLISE DE SINAIS DO HIPOCAMPO DE PACIENTE COM EPILEPSIA DO
LOBO TEMPORAL**

Trabalho de Formatura apresentado à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo para obtenção do diploma em Engenharia Elétrica com Ênfase em Sistemas Eletrônicos.

Orientadora:

Prof^ª. Dr^ª. Cinthia Itiki

Co-orientador:

Dr. Min-Chi Hsiao (*University of Southern California*)

SÃO PAULO

2013

À minha mãe Marilda e minhas tias Marilei e Meire

AGRADECIMENTOS

Agradeço em especial:

À minha mãe Marilda e às minhas tias Marilei e Meire, que são como segundas mães para mim. Obrigada por me apoiarem incondicionalmente em todos os momentos e pelo incentivo para ir sempre mais longe. Junto a vocês, agradeço aos meus avós Maria Luiza e Tranquilo, e à minha bisavó Francisca, por terem me proporcionado uma excelente educação acima de tudo e serem exemplos de vida para mim. Amo muito todos vocês.

Aos meus amigos maravilhosos da Federal: Bruno, Marília, Natalia, Mariana, Gabriel, Aline e Lais. Obrigada por vivenciarem comigo a transição entre escola e faculdade, por estarem sempre tão próximos, compartilhando suas visões e me fazendo crescer dia a dia.

Ao Bernardo, uma das pessoas mais incríveis que conheço, com quem vivi alguns dos melhores momentos da minha vida e que sempre me incentivou a ir atrás dos meus sonhos.

À Maria Cecília, à Fabrícia e ao Yuri, por terem se feito tão presentes por maior que fosse a distância. Obrigada por todas as horas de Skype, por me fazerem sentir acolhida onde quer que eu estivesse, por serem mais que amigos, e sim irmãos.

A todos aqueles que fizeram de Torino um lugar tão especial: Renan, Roberto, Mika, Henrique, Lucas, Bia, Luciana, Marcela, Raiane, Amanda, Alejandro e Leandro. Muito obrigada por todos os momentos maravilhosos que vocês viveram comigo e por terem feito do meu intercâmbio uma experiência tão incrível. Um obrigada especial à minha roommate e amiga, Gabrielle, que esteve incondicionalmente do meu lado, e também é como uma irmã.

Aos meus amigos de Los Angeles: Eleana, Vanessa, Cheng, Rafael, Davi e Ahsan. Obrigada por terem me feito sentir em casa e por fazerem de LA uma época inesquecível.

À Prof.^a Cinthia Itiki, por ter me dado a oportunidade incrível de fazer um intercâmbio na USC e ter sido uma excelente orientadora, extremamente atenciosa e compreensiva.

Ao Prof. Norberto Grzywacz, por ter garantido a minha ida à USC, e aos Profs. Min-Chi Hsiao e Luca Mesin, pela orientação no projeto entre a USC e o Politecnico di Torino.

Todos contribuíram para a minha formação não apenas como engenheira, mas como pessoa. Serei eternamente grata a vocês e às experiências e aprendizados que me proporcionaram.

Assim como o universo que tanto nos fascina, o cérebro humano também é um escultor relativístico; um habilidoso artesão que delicadamente funde espaço e tempo neuronais num continuum orgânico capaz de criar tudo que somos capazes de ver e sentir como realidade, incluindo nosso próprio senso de ser e existir.

(Miguel Nicolelis)

RESUMO

De acordo com o NIH (*National Institute of Neurological Disorders and Stroke*), epilepsias são um espectro de distúrbios cerebrais que variam de severas, com risco de vida e incapacitantes, a aquelas que são muito mais benignas. Na epilepsia, o padrão normal de atividade neuronal sofre o efeito de perturbações, causando estranhas sensações, emoções e comportamentos ou, às vezes, convulsões, espasmos musculares, e perda de consciência. As epilepsias têm inúmeras causas possíveis, e há diversos tipos de convulsões. Qualquer acontecimento que cause o distúrbio do padrão normal de atividade neuronal – de doenças, a danos cerebrais e desenvolvimento cerebral anormal – pode conduzir ao aparecimento de crises epiléticas.

Embora a maioria dos casos de epilepsia possa ser tratada apenas com o uso de medicamentos, estima-se que cerca de 30% das pessoas com epilepsia não respondem adequadamente às drogas antiepiléticas. A maioria desses casos deve ser tratada por meio de uma lobotomia temporal, em que há a remoção de uma parcela do lobo temporal, incluindo o hipocampo. (HSIAO et al., 2012)

O objetivo principal deste trabalho de graduação foi o de investigar o efeito da estimulação de uma fatia hipocampal retirada cirurgicamente de um paciente com epilepsia do tipo refratária do lobo temporal medial. A fatia foi submetida a uma simulação de uma crise epilética, seguida de uma estimulação elétrica externa com o intuito de inibir a crise. Os efeitos dessa estimulação, gerada por meio de um trem de pulsos e aplicada numa zona aferente do hipocampo na região do subículo, foram o objeto de estudo deste trabalho. Os registros dos potenciais elétricos foram feitos por meio de uma matriz de micro-eletrodos, MEA (*Micro-Electrode Array*). Os trabalhos foram realizados numa parceria com o Departamento de Engenharia Biomédica da USC (*University of Southern California*).

Palavras-chave: Epilepsia, Lobo temporal, Hipocampo, Neurociências, Matriz de microeletrodos – Potenciais cerebrais, Estimulação elétrica, Análise de potenciais elétricos, Matlab

ABSTRACT

According to the NIH (National Institute of Neurological Disorders and Stroke), the epilepsies are a spectrum of brain disorders ranging from severe, life-threatening and disabling, to ones that are much more benign. In epilepsy, the normal pattern of neuronal activity becomes disturbed, causing strange sensations, emotions, and behavior or sometimes convulsions, muscle spasms, and loss of consciousness. Epilepsies have many possible causes and there are several types of seizures. Anything that disturbs the normal pattern of neuron activity - from illness to brain damage to abnormal brain development - can lead to seizures.

While most cases of epilepsy can be treated using only appropriate medication, it is estimated that about 30% of people with epilepsy do not respond adequately to antiepileptic drugs. Most of these cases should be treated by a temporal lobectomy, in which there is the removal of a portion of the temporal lobe, including the hippocampus. (HSIAO et al., 2012)

The main goal of this undergraduate project was to investigate the effect of stimulation of a hippocampal slice surgically removed from a patient with medial temporal lobe refractory epilepsy. The slice was subjected to a simulated seizure, followed by external electrical stimulation in order to inhibit the seizures. The effects of this stimulation, generated by means of a train of pulses applied to an afferent zone of the subiculum region of the hippocampus region, were the subject of this work. The records of the electrical potentials were made by an Micro-Electrode Array, MEA. The work was possible thanks to a partnership with the Department of Biomedical Engineering at the University of Southern California.

Keywords: Epilepsy, Temporal lobe, Hippocampus, Neuroscience, Microelectrode array – Brain potentials, Electrical stimulus, Electrical potentials analysis, Matlab

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Metodologia utilizada neste projeto.....	29
Figura 2 – Localização do lobo temporal no encéfalo.....	33
Figura 3 – Hipocampo e localização no encéfalo.....	34
Figura 4 – A. Áreas do hipocampo e respectivas conexões. B. Projeções ao longo do eixo transversal da formação hipocampal	35
Figura 5 – A. Neurônio piramidal, com dendritos projetados para cima (dendritos apicais) e para as laterais (dendritos basais). B. Neurônio granular.....	36
Figura 6 – Esquema de um neurônio, com dendritos, axônio e corpo celular indicados. As setas vermelhas indicam o sentido de propagação dos potenciais.....	37
Figura 7 – Eletroencefalograma de paciente durante uma crise epiléptica. O traçado mostra que a atividade rítmica durou muito mais que o período de gravação dos potenciais. Esse padrão anormal reflete a sincronicidade de disparos entre um grande número de neurônios. .	38
Figura 8 – Microfotografia de tecido hipocampal humano. A. Espessura de 500 μm . B. Espessura de 50 μm	41
Figura 9 – MEA usado nas gravações, visto ao microscópio.....	42
Figura 10 – Mapa padrão de eletrodos.	43
Figura 11 - Mapas de eletrodos utilizados neste projeto. A. Nomeação de eletrodos dada pelo MC_Rack. B. Numeração correspondente no Neuroshare. C. Numeração utilizada neste projeto.....	43
Figura 12 – Eletrodos de estimulação eferente e aferente para uma fatia hipocampal epiléptica humana.	44
Figura 13 – Numeração de eletrodos e correspondentes estruturas hipocampais.	45
Figura 14 – Dados extraídos em um dos canais do sistema MEA (canal 11 na numeração corrigida).	47
Figura 15 – Mapa utilizado para a extração com Neuroshare.	48
Figura 16 – Correspondência entre a numeração usada pelo Neuroshare (figura à direita) e a verdadeira numeração.....	48

Figura 17 – Numeração equivalente de eletrodos, utilizada pelo Neuroshare.....	49
Figura 18 – Detecção de <i>spikes</i> no canal 11, ao longo de todo o período de registro de dados, e correspondentes valores de pico.	50
Figura 19 – Inspeção visual das zonas principais.	51
Figura 20 – Determinação e nomeação dos períodos de interesse.....	52
Figura 21 – Relação de eletrodos com maior atividade, com base no número de <i>spikes</i> detectados.....	53
Figura 22 – Canais com componentes de baixas amplitudes.....	54
Figura 23 – Divisão dos canais em grupos de <i>spikes</i> semelhantes.	55
Figura 24 – <i>Templates</i> dos canais 11, 25 e 32, definidos em Pré.	56
Figura 25 – Canais 25 e 11 filtrados por <i>template</i> do canal 11 em Pré.	58
Figura 26 - Canais 25 e 11 filtrados por <i>template</i> do canal 11 em Pós1.....	58
Figura 27 - Canais 25 e 11 filtrados por <i>template</i> do canal 11 em Pós2.....	58
Figura 28 – Canal 10 filtrado por <i>template</i> do canal 11 em Pré.	59
Figura 29 – Canal 10 filtrado por <i>template</i> do canal 11 em Pós1.....	59
Figura 30 – Canal 10 filtrado por <i>template</i> do canal 11 em Pós2.....	60
Figura 31 – Intervalo entre <i>spikes</i> e frequência de disparo para o canal 25 em Pré.	61
Figura 32 – Intervalo entre <i>spikes</i> e frequência de disparo para o canal 25 em Pós 1.....	61
Figura 33 - Intervalo entre <i>spikes</i> e frequência de disparo para o canal 25 em Pós 2.	62
Figura 34 - Intervalo entre <i>spikes</i> e frequência de disparo para o canal 11 em Pré.....	63
Figura 35 - Intervalo entre <i>spikes</i> e frequência de disparo para o canal 11 em Pós 1.	63
Figura 36 - Intervalo entre <i>spikes</i> e frequência de disparo para o canal 11 em Pós 2.	64
Figura 37 - Direções preferenciais de propagação do Grupo 1 (eletrodos 13, 19, 20, 25, 26, 27, 32, 33, 37, 38 e 39) nos períodos Pré, Pós 1 e Pós 2.....	72
Figura 38 - Direções preferenciais de propagação do Grupo 1 (eletrodos 13, 19, 20, 25, 26, 27, 32, 33, 37, 38 e 39) nos períodos Pós 3, Pós 4 e Pós 5.	73

Figura 39 – Direções preferenciais de propagação do Grupo 2 (eletrodos 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 16, 17 e 18) nos períodos Pré, Pós 1 e Pós 2.	74
Figura 40 - Direções preferenciais de propagação do Grupo 2 (eletrodos 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 16, 17 e 18) nos períodos Pós 3, Pós 4 e Pós 5.....	75
Figura 41 – Indicação de atrasos entre Grupos 1 e 2.....	77

LISTA DE TABELAS E GRÁFICOS

Tabela 1 – Intervalo entre <i>spikes</i> consecutivos por canal, para os períodos Pré, Pós 1 e Pós 2.	65
Tabela 2 - Intervalo entre <i>spikes</i> consecutivos por canal, para os períodos Pós 3, Pós 4 e Pós 5.	66
Tabela 3 – Frequência de disparos por canal, para os períodos Pré, Pós 1 e Pós 2.....	67
Tabela 4 – Frequência de disparos por canal, para os períodos Pós 3, Pós 4 e Pós 5.	68
Gráfico 1 – Intervalo médio entre <i>spikes</i> do Grupo 2, em função do tempo de gravação (média e desvio padrão).....	69
Gráfico 2 - Intervalo médio entre <i>spikes</i> do Grupo 1, em função do tempo de gravação (média e desvio padrão).....	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

aCSF	<i>Artificial Cerebrospinal Fluid</i>
CA	<i>Cornus ammonis</i>
DG	<i>Dentate gyrus</i>
EC	<i>Entorhinal cortex</i>
IRB	<i>Institute Review Board</i>
ISI	<i>Inter-spike Interval</i>
MEA	<i>Micro-Electrode Array</i>
MOTS	<i>Mobile Oxygen-Temperature Sustaining</i>
NIH	<i>National Institute of Neurological Disorders and Stroke</i>
Para	Para-subículo
Pre	Pré-subículo
PSD	<i>Power Spectral Density</i>
SUB	Subículo
USC	<i>University of Southern California</i>
USP	Universidade de São Paulo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	27
2	METODOLOGIA.....	29
2.1	Estudo das bases biológicas.....	29
2.2	Descrição do procedimento	29
2.3	Extração dos dados	30
2.4	Extração preliminar de parâmetros.....	30
2.5	Redimensionamento dos dados.....	31
2.6	Escolha dos canais principais	31
2.7	Detecção de <i>spikes</i>	31
2.8	Extração refinada de parâmetros.....	31
2.9	Determinação das direções de propagação	32
3	DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO	33
3.1	Estudo das bases biológicas.....	33
3.1.1	Anatomia do hipocampo.....	33
3.1.2	Fisiologia do hipocampo	36
3.1.3	Epilepsia	37
3.2	Descrição do procedimento	39
3.2.1	Coleta dos tecidos.....	39
3.2.2	Obtenção do tecido hipocampal	40
3.2.3	Preparação do tecido hipocampal.....	40
3.2.4	Gravação dos dados e estimulação externa	41
3.3	Extração dos dados	45
3.3.1	Conversão de formatos.....	46
3.3.2	Reordenação de canais.....	47

3.4	Extração preliminar de parâmetros.....	49
3.4.1	Número de <i>spikes</i>	49
3.4.2	Amplitude dos <i>spikes</i>	50
3.5	Redimensionamento dos dados	50
3.5.1	Definição das zonas relevantes	51
3.5.2	Divisão dos dados	51
3.6	Escolha dos canais principais	53
3.7	Detecção de <i>spikes</i>	54
3.7.1	Criação de <i>templates</i>	55
3.7.2	Aplicação de filtro casado.....	56
3.8	Extração refinada de parâmetros	60
3.8.1	Comportamento dos canais representantes	60
3.8.2	Comportamento geral dos canais	65
3.9	Determinação das direções de propagação.....	71
3.9.1	Cálculo dos atrasos entre canais.....	71
3.9.2	Extração de dados estatísticos.....	71
3.9.3	Definição das direções preferenciais.....	71
3.9.4	Correspondência entre Grupos 1 e 2	76
4	ANÁLISE DE RESULTADOS	79
5	CONCLUSÕES	81
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	83

1 INTRODUÇÃO

De acordo com Guyton e Hall (2011), a epilepsia é caracterizada por atividade excessiva e descontrolada do sistema nervoso central, seja parcial ou total. A pessoa predisposta à epilepsia tem crises quando o nível basal da excitabilidade de seu sistema nervoso ultrapassa determinado limiar crítico. Enquanto o nível da excitabilidade for mantido abaixo desse limiar, não ocorrerão crises.

Em termos leigos, a epilepsia pode ser entendida como uma síndrome clínica caracterizada por convulsões recorrentes e espontâneas, que afetam diversas funções mentais e físicas do paciente que dela sofre. Os mecanismos atuais de início e de fim da convulsão ainda não são claros. Embora a maioria dos casos de epilepsia possa ser tratada apenas com o uso de medicamentos, estima-se que cerca de 30% das pessoas com epilepsia não respondem adequadamente às drogas antiepilépticas. Esta condição também é conhecida como epilepsia fármaco-resistente, e pode causar a morte acidental em razão de convulsões generalizadas, ou causar degeneração neural devido a crises parciais contínuas. (HSIAO et al., 2012)

A maioria dos casos de epilepsia fármaco-resistente é composta por casos de epilepsia do lobo temporal medial. Grande parte desses casos deve ser tratado por meio de intervenção cirúrgica, em que é realizada uma lobotomia temporal, isto é, a remoção de uma parcela do lobo temporal, incluindo o hipocampo (HSIAO et al., 2012). Em geral, o tecido de cérebro removido tende a ser descartado, embora ofereça uma enorme oportunidade para estudo de suas características eletrofisiológicas.

Uma das formas de estudo possíveis conta com a utilização de matrizes de microeletrodos (*Micro-Electrode Array*, MEA, em inglês) planares, capazes de captar a atividade eletrofisiológica de diferentes regiões do tecido cerebral simultaneamente. Esta é uma das técnicas empregadas nos dias de hoje para estudos eletrofisiológicos. (HSIAO et al., 2012).

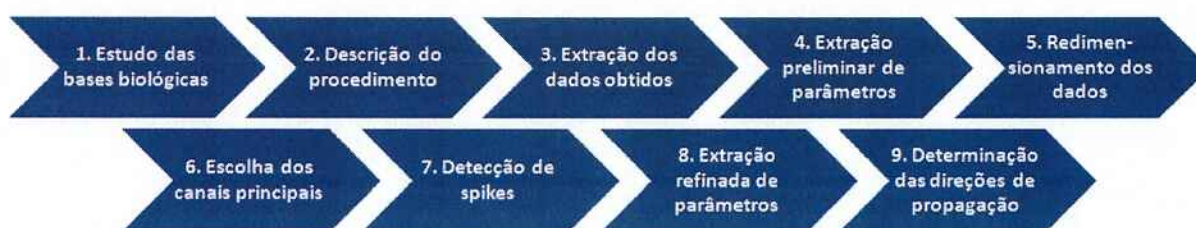
O presente estudo foi possível graças a um modelo *in vitro* de ataque epiléptico aplicado a tecidos cerebrais, removidos cirurgicamente, de pacientes com epilepsia. O modelo foi desenvolvido pelo Departamento de Engenharia Biomédica da USC (*University of Southern California*) e contou com a tecnologia MEA para gravação dos potenciais bioelétricos.

Sabendo-se que o hipocampo tem capacidade de gerar potenciais elétricos de longa duração (da ordem de minutos, de acordo com Kandel et al., 1996), imagina-se que a

2 METODOLOGIA

Neste capítulo, apresenta-se a metodologia utilizada para o desenvolvimento do presente trabalho. Considerando os objetivos propostos anteriormente, desenvolveu-se um método que permitisse realizar este trabalho de forma lógica e estruturada. A Figura 1 mostra o fluxo da metodologia utilizada.

Figura 1 – Metodologia utilizada neste projeto.



2.1 Estudo das bases biológicas

O presente projeto teve início com um estudo detalhado das bases biológicas relacionadas ao problema estudado. Conforme mencionado anteriormente, a epilepsia que não responde a tratamento com medicação adequada acontece sobretudo no lobo temporal medial, na região do hipocampo.

Dessa forma, o hipocampo foi estudado em detalhes, com base em suas características fisiológicas e anatômicas, para pautar o entendimento dos resultados obtidos ao longo do desenvolvimento deste projeto.

Igualmente importante foi o estudo da epilepsia, sobretudo a de tipo farmacoresistente, para que fosse possível analisar os padrões de potenciais gerados nos experimentos com as fatias hipocampais e conseguir entender, em termos fisiológicos, o efeito da estimulação elétrica externa ao induzir a geração de um ataque epiléptico.

2.2 Descrição do procedimento

O experimento analisado neste projeto foi realizado, por pesquisadores da USC, em uma série de etapas, que incluem:

2.5 Redimensionamento dos dados

Em função dos diferentes padrões de disparo observados antes e após a estimulação, os dados foram divididos em sete trechos (épocas). Essa divisão também resultou na redução do tempo necessário para carregar os dados na memória do computador e para processar os sinais.

2.6 Escolha dos canais principais

Como forma de refinar o método utilizado na seção 3.3, foram determinados quais os canais do MEA que continham informações mais relevantes para o estudo do problema. Esse procedimento foi realizado analisando os parâmetros inicialmente obtidos, sobretudo em termos de número de *spikes*. Selecionados os canais iniciais, pôde-se fazer uma análise visual para eliminar também os canais de amplitude pequena em relação ao ruído.

2.7 Detecção de *spikes*

Nesta etapa, foram criados três *templates* diversos de *spikes*, com base nas atividades dos canais principais, e foi aplicado o método de filtro casado, conforme descrito por Rangayyan (2002), para determinação dos *spikes* em todos os canais selecionados na seção anterior a essa, em todos os períodos de análise.

2.8 Extração refinada de parâmetros

Com base nos novos *spikes* determinados para os canais, foram calculados os intervalos e frequência de disparos de *spikes* para cada um dos eletrodos, em cada um dos períodos de análise.

3 DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

Neste capítulo, serão descritas as etapas seguidas para o desenvolvimento do presente projeto.

3.1 Estudo das bases biológicas

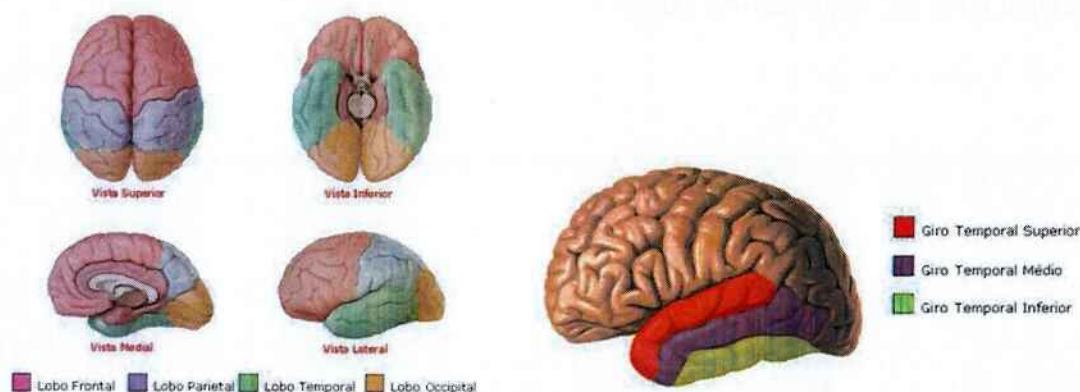
Conforme mencionado no capítulo anterior, o projeto se iniciou com o estudo dos aspectos biológicos envolvidos no problema. Como o hipocampo é a estrutura cerebral em estudo, tentou-se entender a sua morfologia, bem como a de suas estruturas integrantes (aspectos anatômicos) e o seu funcionamento (aspectos fisiológicos).

Posteriormente, fez-se um estudo sobre a doença analisada nesse trabalho, a epilepsia, e sua relação com o hipocampo.

3.1.1 Anatomia do hipocampo

A localização do lobo temporal no encéfalo e sua correspondente parcela medial (giro temporal médio) podem ser vistas na Figura 2.

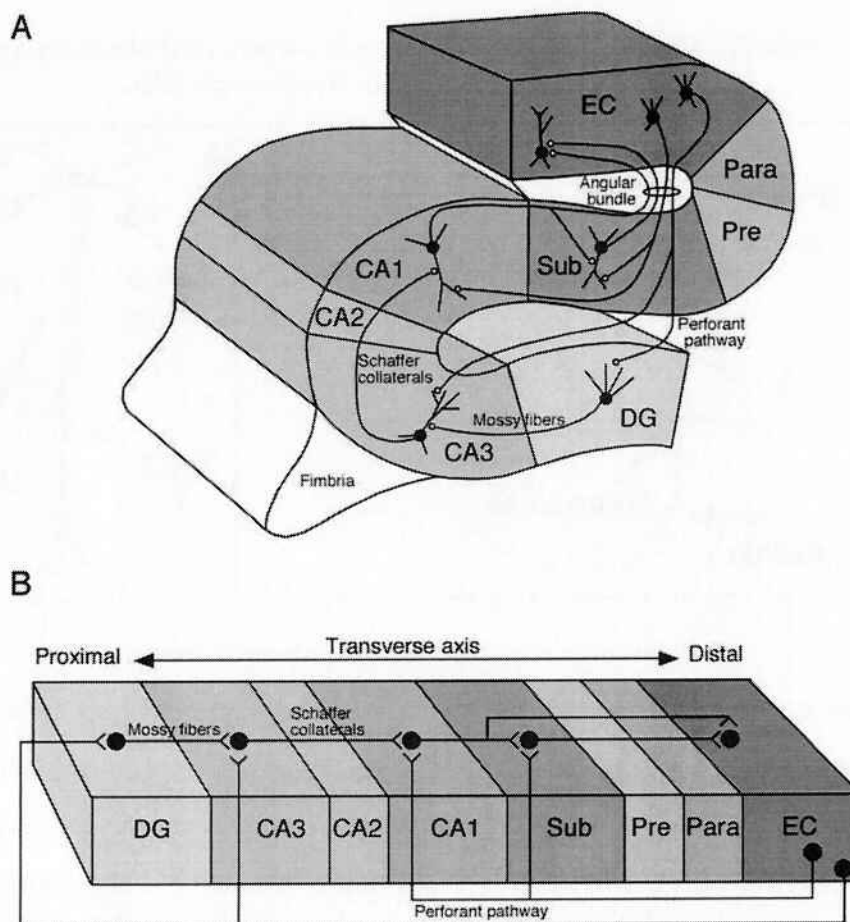
Figura 2 – Localização do lobo temporal no encéfalo



Fonte: www.auladeanatomia.com

O hipocampo é a porção mais medial do lobo temporal, onde ele se dobra para baixo do cérebro e, então, para cima em direção à superfície inferior do ventrículo lateral. O

Figura 4 – A. Áreas do hipocampo e respectivas conexões. B. Projeções ao longo do eixo transversal da formação hipocampal



Fonte: Andersen et al. (2007)

Por conveniência, ao usarmos o termo “hipocampo”, a partir de agora, estaremos nos referindo à formação hipocampal como um todo.

Dentre as principais áreas do hipocampo que serão analisadas neste projeto, estão o giro denteado (DG) e o subículo (SUB). Para tanto, é importante observar como estão arranjados os neurônios dessas duas áreas: *células granulares* no giro denteado e *células piramidais* no SUB.

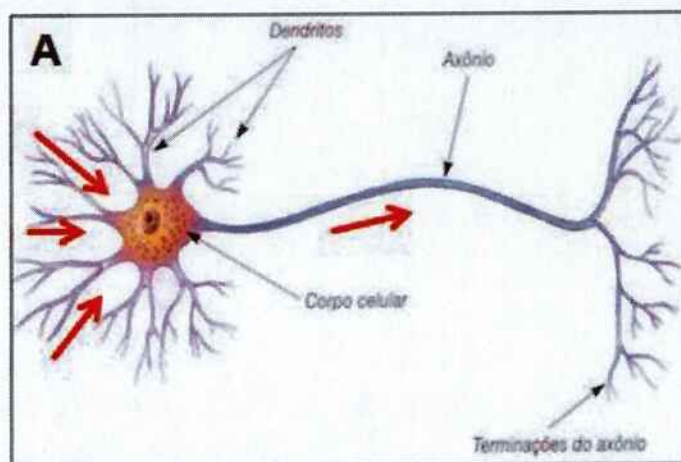
O hipocampo é formado por apenas três camadas de neurônios, em vez das usuais seis camadas das demais regiões do encéfalo (GUYTON e HALL, 2011). Os *neurônios granulares*, também chamados de *estrelados*, são multipolares e apresentam corpo celular pequeno e dendritos curtos. Os *neurônios piramidais* apresentam corpo celular em formato piramidal, com o ápice e um dendrito apical dirigido à superfície do encéfalo, dendritos basais emergindo das laterais, e axônio emergindo da base; graças a esse tipo de neurônio, com axônios bastante compridos, é possível projetar os neurônios para camadas distantes daquelas

produzir reações comportamentais apropriadas, mas, talvez, para objetivos diferentes. Como ocorre em outras estruturas límbicas, a estimulação de áreas diversas do hipocampo pode causar padrões comportamentais distintos, tais como os de raiva ou de passividade.

Dentre as principais funções do hipocampo, estão a formação, organização e armazenamento de memórias. O hipocampo envia memórias para as partes apropriadas do cérebro para armazenamento de longo prazo, e as remove quando necessário. Como faz parte do sistema límbico, tem papel importante na conexão entre emoções e sentidos (olfativos e auditivos, por exemplo) às memórias. Também é responsável por funções relacionadas à orientação espacial. (GUYTON E HALL, 2011)

Para todos os neurônios do hipocampo, o fluxo de informação tem sempre o mesmo sentido, de acordo com um padrão especificado. A Figura 6 ilustra o sentido de propagação dos potenciais: a informação se propaga passivamente dos dendritos para o corpo celular e, em seguida, propaga-se ao longo do axônio até atingir as terminações sinápticas.

Figura 6 – Esquema de um neurônio, com dendritos, axônio e corpo celular indicados. As setas vermelhas indicam o sentido de propagação dos potenciais.



Fonte: www.sogab.com.br

3.1.3 Epilepsia

De acordo com Purves et al (2008), a epilepsia é uma disordem cerebral caracterizada por convulsões periódicas e imprevisíveis mediadas pelos disparos rítmicos de grandes grupos de neurônios. Um retrato dessa situação pode ser observado na Figura 7. Essa atividade

Essas alucinações não podem ser suprimidas, mesmo quando a pessoa tem consciência de que essas experiências são apenas alucinações.

3.2 Descrição do procedimento

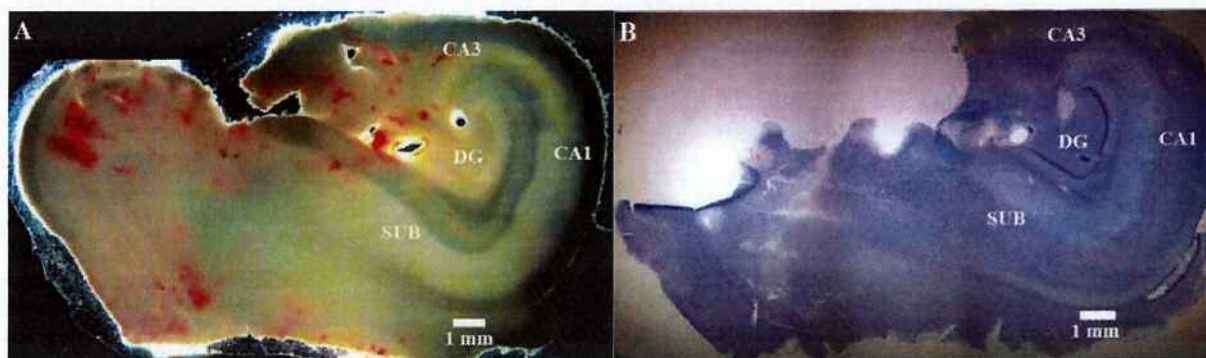
O procedimento que levou aos dados analisados neste estudo foi desenvolvido em diversas etapas. Inicialmente, foi preciso coletar uma amostra de tecido hipocampal, cedida por um hospital parceiro da USC após a realização de um procedimento para retirada de um tecido epiléptico de um paciente que não respondia ao tratamento para epilepsia com medicamentos.

Em seguida, o tecido foi levado para o Departamento de Engenharia Biomédica da USC, onde foi mantido em condições que simulavam o ambiente encefálico e foi preparado para a gravação de seus potenciais elétricos, a qual foi iniciada a seguir. Induziu-se, assim, uma crise epiléptica no tecido, seguida de uma estimulação elétrica externa na tentativa de inibi-los. Depois que a estimulação foi cessada, ainda prosseguiu-se a gravação por alguns minutos, para que fosse possível observar seus efeitos.

3.2.1 Coleta dos tecidos

Conforme mencionado anteriormente, os procedimentos cirúrgicos, como é o caso da lobotomia, são necessários em casos de epilepsia que não respondem a tratamentos com medicamentos. No Departamento de Engenharia Biomédica da University of Southern California, foi desenvolvido um modelo *in vitro* capaz de simular ataques epilépticos no tecido cerebral removido nesse tipo de cirurgia. Usando uma matriz de multieletrodos planares, a atividade epiléptica pode ser registrada ao colocar o tecido numa solução adequada de *fluido cerebrospinal artificial* (aCSF, do inglês *artificial cerebrospinal fluid*). A atividade pode ser registrada em diferentes partes do hipocampo, incluindo o giro denteado, a área CA1 e o SUB.

Figura 8 – Microfotografia de tecido hipocampal humano. A. Espessura de 500 μm . B. Espessura de 50 μm .



Fonte: HSIAO et al. (2012)

3.2.4 Gravação dos dados e estimulação externa

No laboratório do Departamento de Engenharia Biomédica da University of Southern California, os dados eletrofisiológicos puderam ser coletados a partir de uma técnica de gravação extracelular usando um sistema MEA60 (*Multi Channel Systems*, Alemanha), que é um MEA de 60 canais. As características desse sistema permitem um registro de dados em uma área ampla e de várias regiões simultaneamente.

O sistema MEA é composto de pré-amplificadores (com ganho de 1200x), um dispositivo de aquisição de dados (*MC_Card*), e um gerador de estímulos de 8 canais (*STG1008*), todos operados usando *softwares* fornecidos pelo *Multi Channel Systems* (*MC_Rack V3.9.1* e *MC_Stimulus V2.0.6*). O MEA planar de 60 canais geralmente utilizado é o *MEA 500/30iR-Ti* (500 μm de espaçamento entre eletrodos e 30 μm de diâmetro de eletrodo), com matriz do tipo 6x10.

A fatia recebe uma injeção de aCSF usando duas bombas peristálticas (*Fisher Scientific*, taxa de circulação: 6mL/min), e a temperatura é mantida entre 35 e 37 $^{\circ}\text{C}$. Para esse projeto, os dados foram amostrados a uma frequência de 10 kHz por canal e foram registrados usando *MC_Rack*. O sistema MEA60 foi montado sobre um microscópio invertido (*Leica DM-IRB*, Alemanha), e capturada por um sistema de captura digital de imagens (*Diagnostic Instruments, Spot RT Digital Camera*, EUA) com *software SPOT (V4.6.4.3)* e *Adobe Photoshop (Adobe V7.0)*, EUA).

Figura 10 – Mapa padrão de eletrodos.

	21	31	41	51	61	71	
12	22	32	42	52	62	72	82
13	23	33	43	53	63	73	83
14	24	34	44	54	64	74	84
15	25	35	45	55	65	75	85
16	26	36	46	56	66	76	86
17	27	37	47	57	67	77	87
	28	38	48	58	68	78	

No caso deste projeto, a matriz utilizada era 6x10, então o mapa de eletrodos era diferente. O mapa equivalente usado neste projeto pode ser visto na Figura 11A. A numeração correspondente utilizada pelo *software* Neuroshare (descrito em detalhes nas próximas seções) pode ser observada na Figura 11B. Para facilitar a compreensão do texto, optou-se por utilizar, para o presente projeto, a numeração da Figura 11C.

Figura 11 - Mapas de eletrodos utilizados neste projeto. A. Nomeação de eletrodos dada pelo MC_Rack. B. Numeração correspondente no Neuroshare. C. Numeração utilizada neste projeto.

A	78	68	58	48	38	28	B	54	56	59	2	5	7	C	1	2	3	4	5	6
	66	55	56	46	45	36		53	57	58	3	4	8		7	8	9	10	11	12
	87	67	57	47	37	17		51	55	60	1	6	10		13	14	15	16	17	18
	86	76	77	27	26	16		49	50	52	9	11	12		19	20	21	22	23	24
	85	75	65	35	25	15		46	47	48	13	14	15		25	26	27	28	29	30
	84	74	64	34	24	14		45	44	43	18	17	16		31	32	33	34	35	36
	83	73	72	22	23	13		42	41	39	22	20	19		37	38	39	40	41	42
	82	62	52	42	32	12		40	36	31	30	25	21		43	44	45	46	47	48
	63	54	53	43	44	33		38	34	33	28	27	23		49	50	51	52	53	54
	71	61	51	41	31	21		37	35	32	29	26	24		55	56	57	58	59	60

No experimento que deu origem aos dados deste projeto, houve a tentativa de observar a resposta de uma fatia encefálica a um estímulo externo. Uma vez que as concentrações de magnésio e potássio foram variadas adequadamente no ambiente em que a fatia estava imersa, a atividade epiléptica foi induzida. Depois de 2 minutos, um estímulo externo caracterizado

Figura 13 – Numeração de eletrodos e correspondentes estruturas hipocampais.

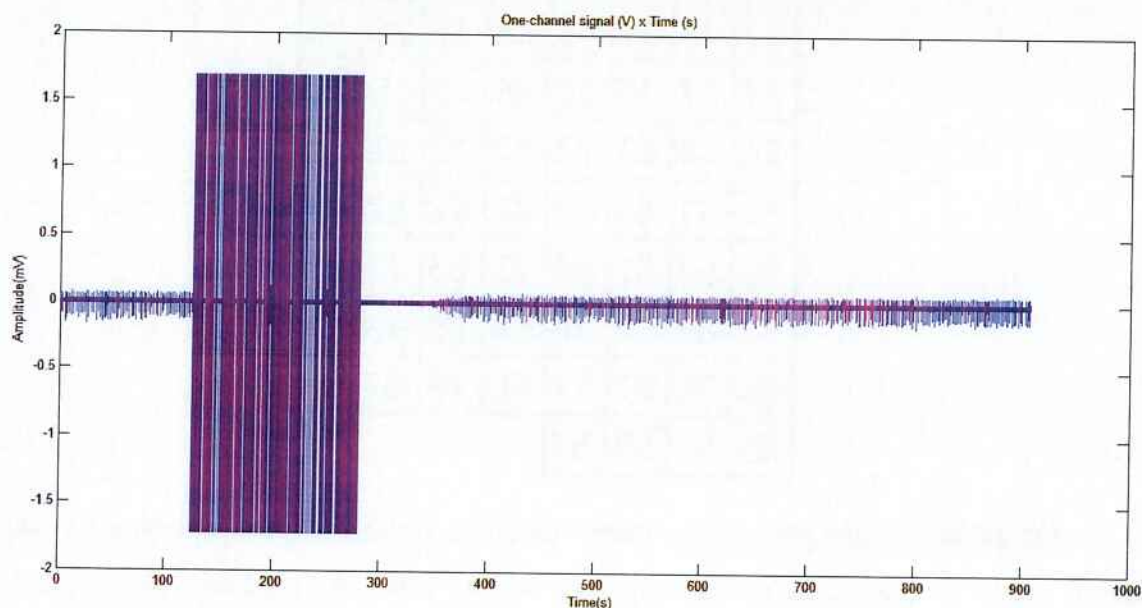


3.3 Extração dos dados

Uma vez que se terminou a gravação de dados, o *software* MC_Rack forneceu um arquivo de saída no seu próprio formato, com extensão .mcd. Para conseguir extrair os dados nesse arquivo, é necessário usar um *software* específico, chamado MC_DataTool, e extrair os dados canal por canal, o que torna a extração de dados extremamente lenta. Os dados não são facilmente administráveis e requerem muita manipulação para que possam ser convertidos num arquivo do tipo Matlab (extremamente necessário para as próximas etapas do projeto).

O procedimento de extração de dados na região do subículo do hipocampo humano em questão deu origem a 9.069.000 de amostras em cada um dos 63 canais onde o registro de dados foi feito (60 canais da matriz MEA e 3 canais em excesso).

Figura 14 – Dados extraídos em um dos canais do sistema MEA (canal 11 na numeração corrigida).



Pode ser observado que, ao menos neste canal, o estímulo externo foi capaz de inibir os *spikes* por um pequeno período de tempo, após o término do estímulo. No entanto, aparentemente o estímulo não foi o suficiente para inibir completamente a atividade do canal, já que ela ressurgiu, após cerca de 80s, depois do término da estimulação.

Para entender melhor esse comportamento, foi necessário aprofundar o estudo (discutido nas seções 3.5 em diante).

3.3.2 Reordenação de canais

O mapa de eletrodos usado pela Neuroshare para numerar os canais no sistema MEA não estava claro, então foi feita uma pesquisa adequada para descobrir a numeração correta dos canais no mapa. Usando o MC_Rack e as suas possíveis configurações de mapa, foi possível descobrir que a Neuroshare computa os canais em uma matriz 8x8 no sistema MEA.

Foi descoberto que o mapa correspondente é aquele que se vê na figura Figura 15.

Figura 17 – Numeração equivalente de eletrodos, utilizada pelo Neuroshare.

54	56	59	2	5	7
53	57	58	3	4	8
51	55	60	1	6	10
49	50	52	9	11	12
46	47	48	13	14	15
45	44	43	18	17	16
42	41	39	22	20	19
40	36	31	30	25	21
38	34	33	28	27	23
37	35	32	29	26	24

3.4 Extração preliminar de parâmetros

Alguns parâmetros foram extraídos para que fosse possível analisar o comportamento dos *spikes* antes e depois da estimulação externa.

Primeiramente, todos os *spikes* foram determinados, em todos os canais, usando um código de Matlab que comparava os potenciais elétricos a um limiar. Esses dados foram então utilizados para calcular as amplitudes dos *spikes*.

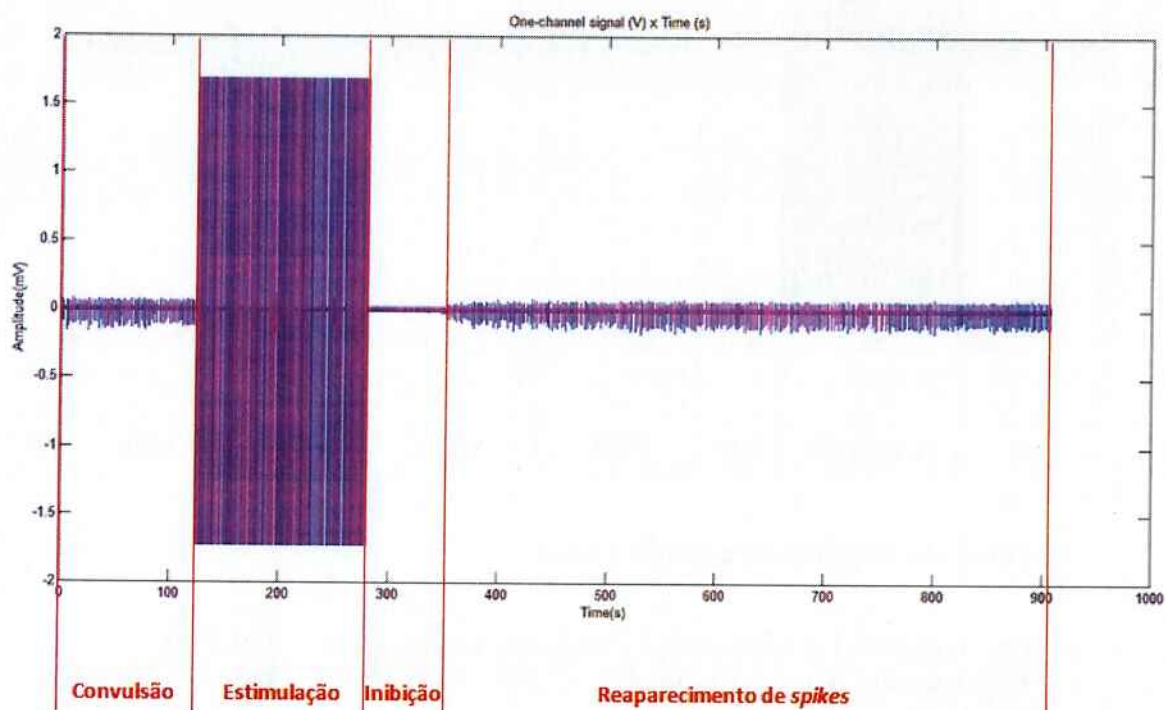
3.4.1 Número de *spikes*

A determinação dos *spikes* foi feita utilizando-se um limiar de 500 μV . O resultado das detecções para o canal 11 (numeração corrigida) pode ser observado na Figura 18.

3.5.1 Definição das zonas relevantes

Uma inspeção visual dos potenciais no canal 11 nos permitiu definir zonas especiais de interesse, conforme Figura 19.

Figura 19 – Inspeção visual das zonas principais.



Os períodos são divididos como segue:

- **Convulsão:** ataque epiléptico é induzido no tecido hipocampal;
- **Estimulação:** estimulação elétrica externa é aplicada;
- **Inibição:** inibição (ao menos visual) dos *spikes*;
- **Reaparecimento dos *spikes*:** período em que *spikes* reaparecem.

Essas zonas foram utilizadas para definir formas de agrupar os períodos ao longo do período total de estimulação, para tornar a análise mais rápida.

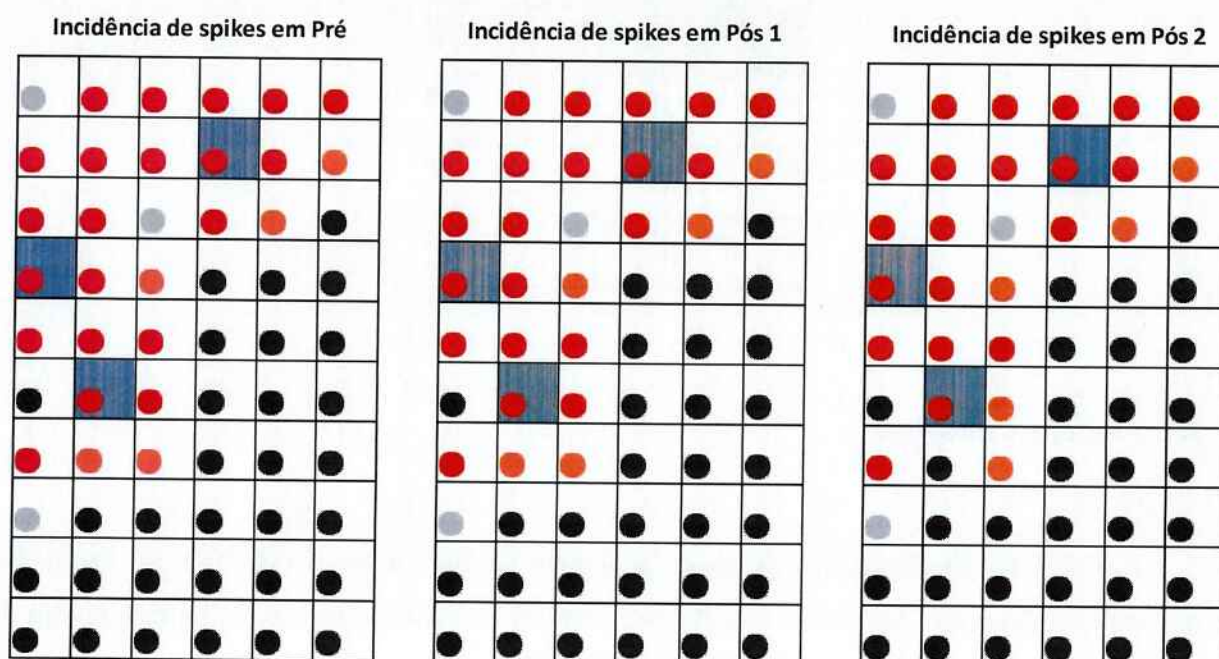
3.5.2 Divisão dos dados

Dessa forma, as regiões escolhidas foram aquelas da Figura 20.

3.6 Escolha dos canais principais

Por meio do número de *spikes* determinado, por canal, na extração preliminar de parâmetros, escolheram-se os canais com maior atividade. O resultado pode ser observado na Figura 21. Os eletrodos com coloração em suas células são aqueles de maior atividade e que, portanto, foram considerados como possíveis candidatos a serem estudados em maiores detalhes neste projeto.

Figura 21 – Relação de eletrodos com maior atividade, com base no número de *spikes* detectados.



Dessa forma, os eletrodos escolhidos inicialmente foram:

- Eletrodos 1 a 17;
- Eletrodos 19, 20 e 21;
- Eletrodos 32 e 33;
- Eletrodos 37, 38 e 39;
- Eletrodo 43.

A seguir, uma análise visual foi feita, para verificar quais eletrodos poderiam ser descartados nesta etapa do projeto. Aqueles eletrodos que apresentavam amplitude muito pequena em relação ao ruído foram descartados.

22 dos 60 canais apresentaram *spikes* de grande amplitude. Foram eles: 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 26, 27, 32, 33, 37, 38 e 39. A Figura 22 ilustra o posicionamento desses canais.

Figura 23 – Divisão dos canais em grupos de *spikes* semelhantes.

1	2	3	4	5	6
7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18
19	20	21	22	23	24
25	26	27	28	29	30
31	32	33	34	35	36
37	38	39	40	41	42
43	44	45	46	47	48
49	50	51	52	53	54
55	56	57	58	59	60

n	Grupo 1 (primários)
n	Grupo 1 (secundários)
n	Grupo 2

3.7.1 Criação de *templates*

Desta forma, foram escolhidos os canais mais representativos de cada um dos grupos, e foram determinados *templates* dos *spikes* de cada um deles. Os canais escolhidos foram aqueles de número 25 (representante dos canais primários do Grupo 1), 32 (representante dos canais secundários do Grupo 1) e 11 (representante dos canais do Grupo 2). Os *templates* foram todos obtidos no período Pré, e os instantes de início e fim de cada um deles são, em números de amostras, os seguintes:

- **Canal 25:** amostras 515.000 a 517.600;
- **Canal 32:** amostras 568.000 a 571.500;
- **Canal 11:** amostras 400.500 a 403.000.

Os *templates* obtidos para esses canais podem ser observados na Figura 24.

transformada de Fourier de $x(t)$. Passemos $x(t)$ por um filtro linear invariante no tempo, cuja resposta ao impulso é $h(t)$. A função de transferência do filtro é $H(f)=FT[h(t)]$. O sinal de saída é dado por $y(t)=x(t)*h(t)$, ou $Y(f)=X(f)H(f)$.

Pode ser demonstrado que a energia de saída é maximizada quando:

$$H(f) = KX^*(f)e^{-j2\pi ft_0},$$

onde K é um fator de escala e t_0 é um instante de tempo ou atraso. Isso corresponde a uma resposta ao impulso do tipo

$$h(t) = Kx(t_0 - t).$$

Assim, a função de transferência do filtro casado é proporcional ao complexo conjugado da transformada de Fourier do evento do sinal a ser detectado. No domínio do tempo, a resposta ao impulso é simplesmente uma versão revertida ou refletida do sinal de referência, que é escalado e atrasado. Um atraso adequado deverá ser adicionado para tornar o filtro causal, como determinado pela duração do sinal de referência. (Rangayyan, 2002)

Como a resposta ao impulso é uma versão revertida de $x(t)$, a operação de convolução realizada pelo filtro casado é equivalente à correlação: o sinal de saída é então igual à correlação cruzada entre a entrada e o sinal de referência. Quando uma porção do sinal de entrada que é diferente de $x(t)$ coincide com o sinal de referência (o *template*), o sinal de saída aproxima a função de auto-correlação do sinal de referência no correspondente atraso no tempo. O resultado correspondente no domínio da frequência é

$$Y(f) = X(f)H(f) = X(f)X^*(f) = S_{xx}(f),$$

que é a PSD (*power spectral density*, densidade espectral de potência) do sinal de referência (ignorando o atraso no tempo e os fatores de escala). O sinal de saída é, então, máximo nos instantes de tempo de ocorrência de uma aproximação do sinal de referência, isto é, do *template*. (Rangayyan, 2002)

Desta forma, após a definição do *template* do canal 11 como aquele mais interessante para a análise, foi aplicado um filtro casado em cada um dos 22 canais analisados neste estudo, nos períodos Pré e Pós 1 a Pós 5.

É possível observar uma comparação entre a aplicação do *template* do canal 11 no próprio canal e em outro participante dos canais primários do Grupo 1 (no caso, o canal 25), nos períodos Pré, Pós 1 e Pós 2, nas Figura 25 a Figura 27.

É possível fazer a mesma comparação entre a aplicação do *template* do canal 11 em outro participante do Grupo 2 (no caso, o canal 10), nos períodos Pré, Pós 1 e Pós 2, conforme Figura 28 a Figura 30.

Figura 28 – Canal 10 filtrado por *template* do canal 11 em Pré.

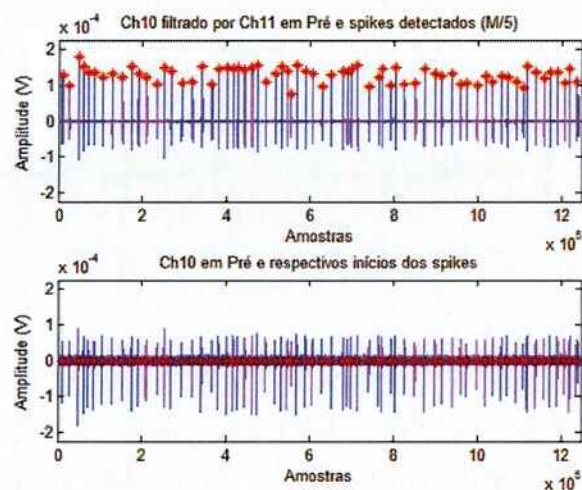
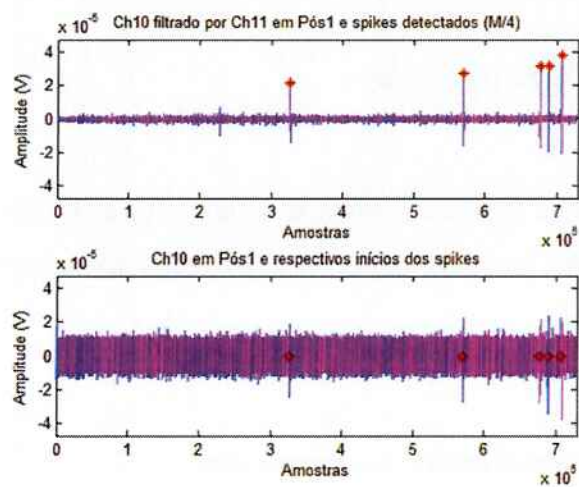


Figura 29 – Canal 10 filtrado por *template* do canal 11 em Pós1.



O canal 25, representante prioritário do Grupo 1, tem seu comportamento, nos períodos Pré, Pós 1 e Pós 2, representados nas Figura 31, Figura 32 e Figura 33, respectivamente.

Figura 31 – Intervalo entre *spikes* e frequência de disparo para o canal 25 em Pré.

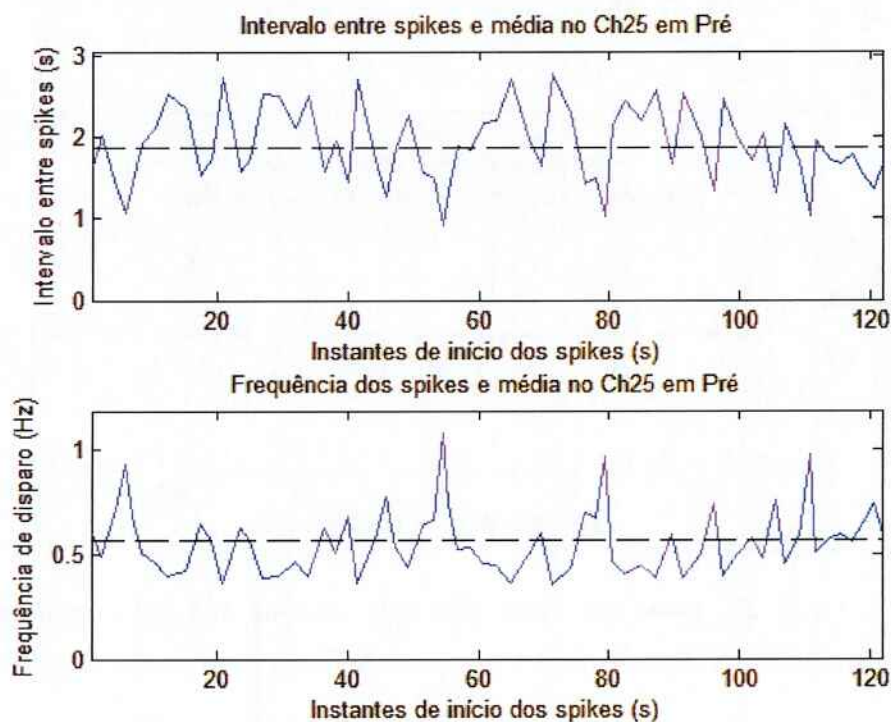


Figura 32 – Intervalo entre *spikes* e frequência de disparo para o canal 25 em Pós 1.

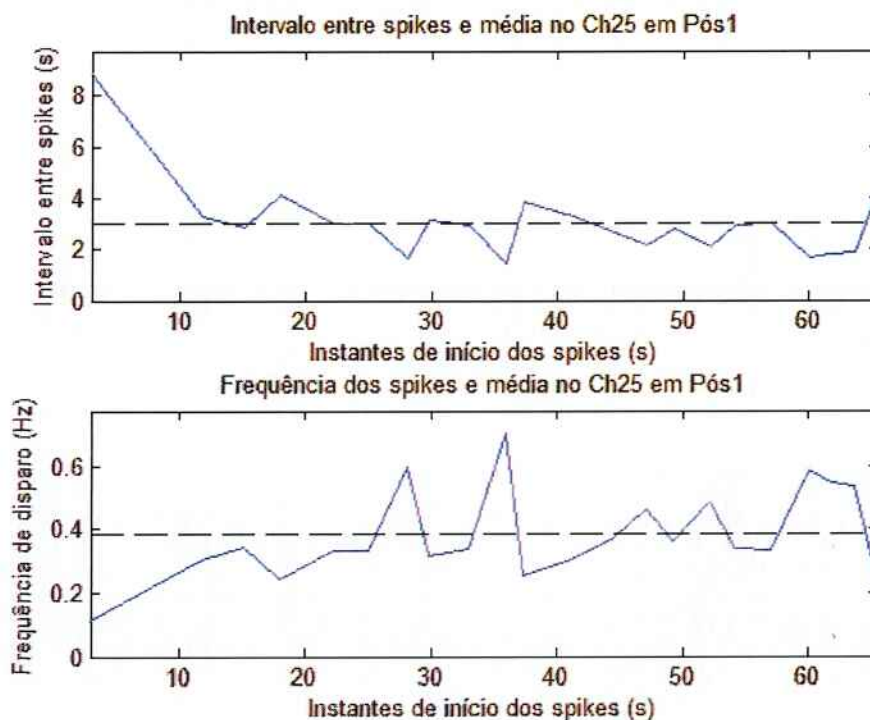


Figura 34 - Intervalo entre *spikes* e frequência de disparo para o canal 11 em Pré.

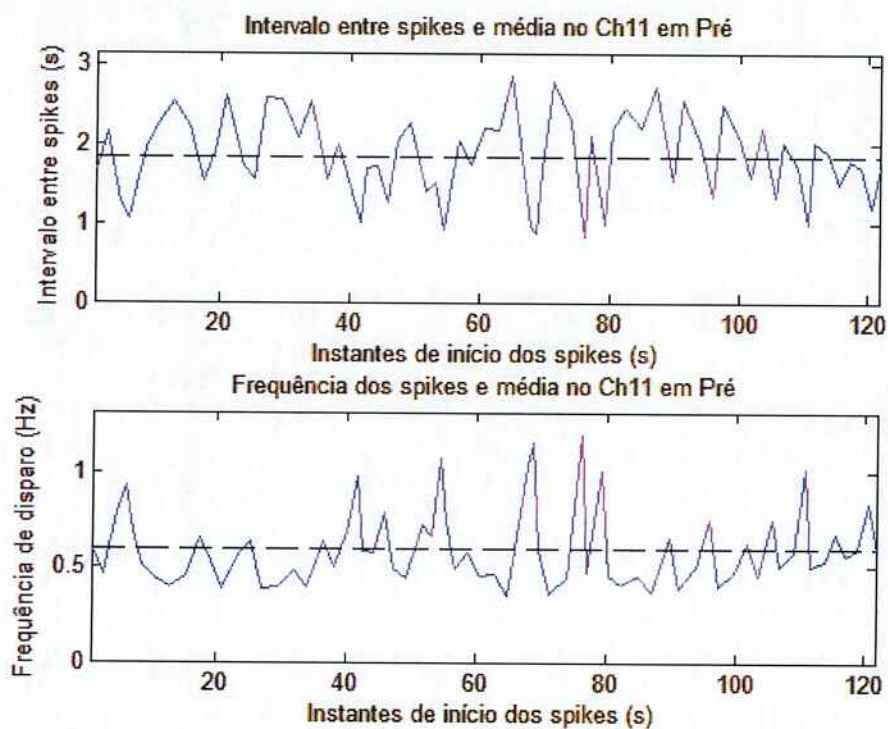
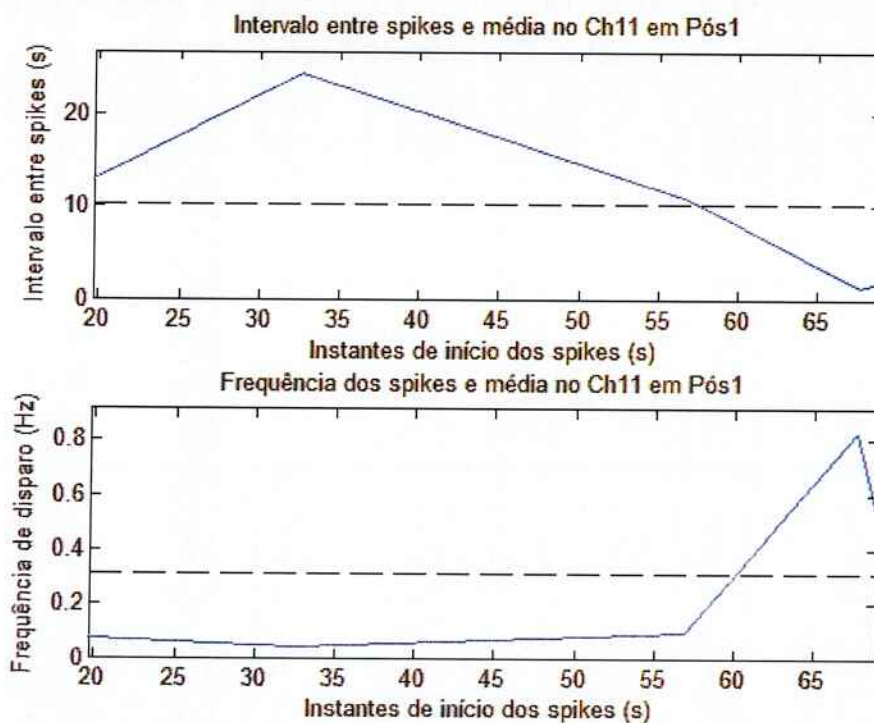


Figura 35 - Intervalo entre *spikes* e frequência de disparo para o canal 11 em Pós 1.



3.8.2 Comportamento geral dos canais

O comportamento global dos canais estudados neste projeto pode ser observado nas Tabela 1 a Tabela 4.

Tabela 1 – Intervalo entre *spikes* consecutivos por canal, para os períodos Pré, Pós 1 e Pós 2.

		Intervalo entre <i>spikes</i> consecutivos (s)					
		Pré		Pós1		Pós2	
Canal		Média	DP	Média	DP	Média	DP
Grupo 2	3	1.8287	0.5157	4.7860	5.8954	1.7454	0.5685
	4	1.8287	0.5171	9.5288	10.7943	1.7490	0.5715
	5	1.8288	0.5219	9.5344	10.8041	1.7460	0.5675
	6	1.8289	0.5230	2.0203	1.3073	1.7712	0.6050
	9	1.8287	0.5128	9.5283	10.7946	1.7453	0.5684
	10	1.8287	0.5167	9.5289	10.7943	1.7454	0.5679
	11	1.8288	0.5191	10.1877	9.4637	1.7455	0.5676
	12	1.8289	0.5226	4.3453	6.0297	1.7710	0.6057
	16	1.8288	0.5173	4.2296	3.2467	1.7455	0.5676
	17	1.8289	0.5193	7.6211	10.2487	1.7456	0.5675
	18	1.8289	0.5218	2.3335	1.2981	1.7710	0.6036
Grupo 1	13	1.8849	0.4671	3.0319	1.5256	2.3758	0.9460
	19	1.8848	0.4683	3.0319	1.5250	2.3757	0.9466
	20	1.8849	0.4618	3.0320	1.5250	2.3756	0.9465
	25	1.8848	0.4677	3.0319	1.5249	2.3757	0.9468
	26	1.8848	0.4675	3.0318	1.5250	2.3757	0.9465
	27	1.8848	0.4678	3.0319	1.5256	2.3757	0.9462
	32	1.8848	0.4670	3.0317	1.5243	2.3757	0.9469
	33	1.8848	0.4672	3.0318	1.5251	2.3757	0.9464
	37	1.8848	0.4659	3.0320	1.5265	2.3757	0.9494
	38	1.8848	0.4665	3.0317	1.5262	2.3757	0.9471
	39	1.8848	0.4668	3.0317	1.5242	2.3757	0.9463

Tabela 3 – Frequência de disparos por canal, para os períodos Pré, Pós 1 e Pós 2.

		Frequência de disparo (Hz)					
		Pré		Pós1		Pós2	
	Canal	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Grupo 2	3	0.6000	0.2030	0.4991	0.3841	0.6468	0.2552
	4	0.6008	0.2049	0.3768	0.3786	0.6462	0.2568
	5	0.6016	0.2068	0.3770	0.3787	0.6463	0.2549
	6	0.6019	0.2074	0.7155	0.4273	0.6423	0.2594
	9	0.6000	0.2039	0.3762	0.3769	0.6471	0.2565
	10	0.6004	0.2043	0.3761	0.3767	0.6467	0.2554
	11	0.6009	0.2052	0.3161	0.3514	0.6462	0.2539
	12	0.6018	0.2073	0.4595	0.2602	0.6423	0.2584
	16	0.6005	0.2044	0.3976	0.3184	0.6463	0.2541
	17	0.6010	0.2053	0.6254	0.5220	0.6462	0.2537
18	0.6016	0.2069	0.5969	0.3596	0.6408	0.2529	
Grupo 1	13	0.5666	0.1553	0.3853	0.1420	0.4830	0.1722
	19	0.5671	0.1572	0.3851	0.1418	0.4831	0.1726
	20	0.5650	0.1498	0.3852	0.1420	0.4831	0.1724
	25	0.5670	0.1571	0.3852	0.1419	0.4832	0.1726
	26	0.5670	0.1570	0.3852	0.1418	0.4831	0.1724
	27	0.5670	0.1569	0.3852	0.1419	0.4831	0.1724
	32	0.5669	0.1567	0.3851	0.1418	0.4832	0.1726
	33	0.5669	0.1568	0.3852	0.1419	0.4831	0.1724
	37	0.5667	0.1561	0.3855	0.1428	0.4836	0.1736
	38	0.5668	0.1564	0.3856	0.1429	0.4832	0.1727
	39	0.5668	0.1566	0.3851	0.1417	0.4831	0.1724

Gráfico 1 – Intervalo médio entre *spikes* do Grupo 2, em função do tempo de gravação (média e desvio padrão).

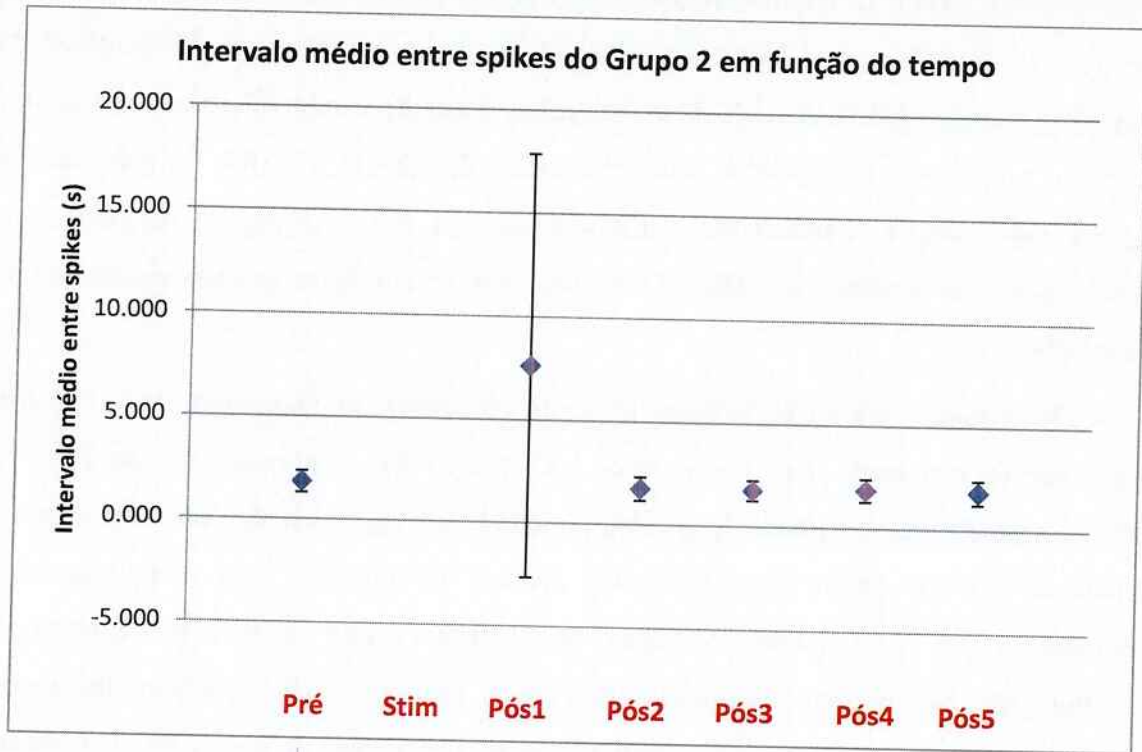
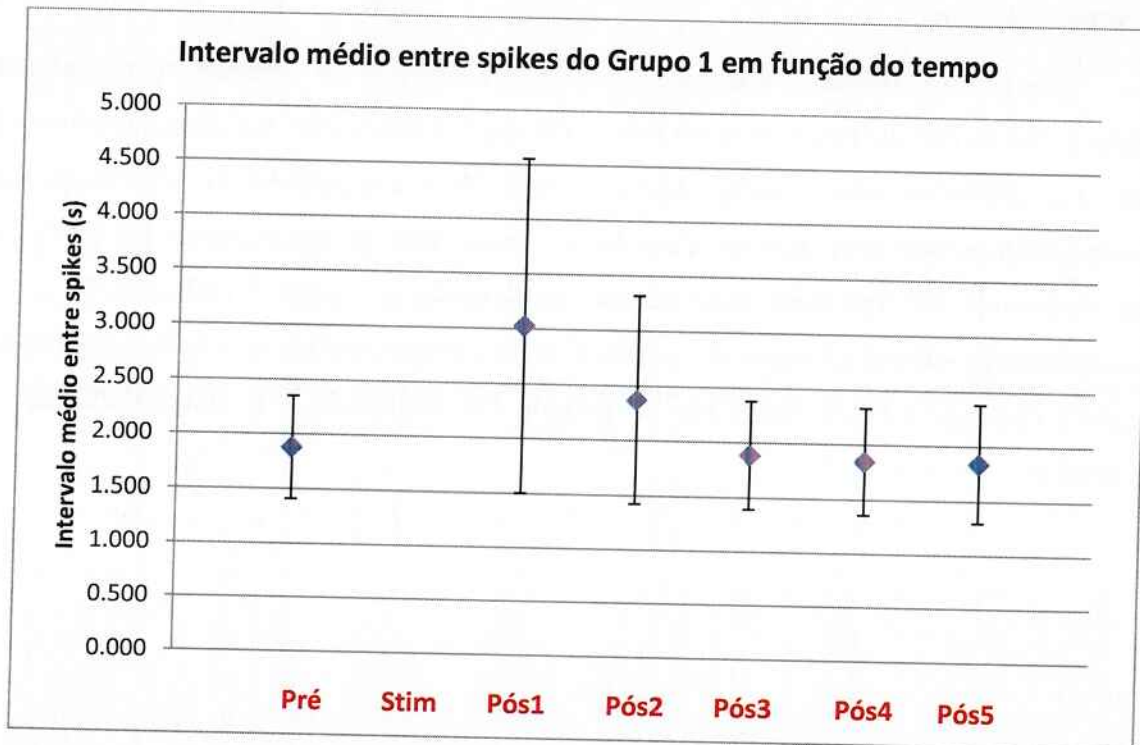


Gráfico 2 - Intervalo médio entre *spikes* do Grupo 1, em função do tempo de gravação (média e desvio padrão).



3.9 Determinação das direções de propagação

Com base nos valores de início dos *spikes* detectados, pôde-se fazer o cálculo dos atrasos entre os canais, de modo a analisar a existência de direções preferenciais de propagação.

3.9.1 Cálculo dos atrasos entre canais

O cálculo dos atrasos entre *spikes* em canais diferentes foi feito por meio da diferença entre os instantes de início de dois *spikes* em canais vizinhos. A diferença foi feita tomando-se como base canais de um mesmo grupo. Para cada canal de um mesmo grupo, foi feito o cálculo dos atrasos entre *spikes* entre este canal e todos os seus vizinhos diretos.

3.9.2 Extração de dados estatísticos

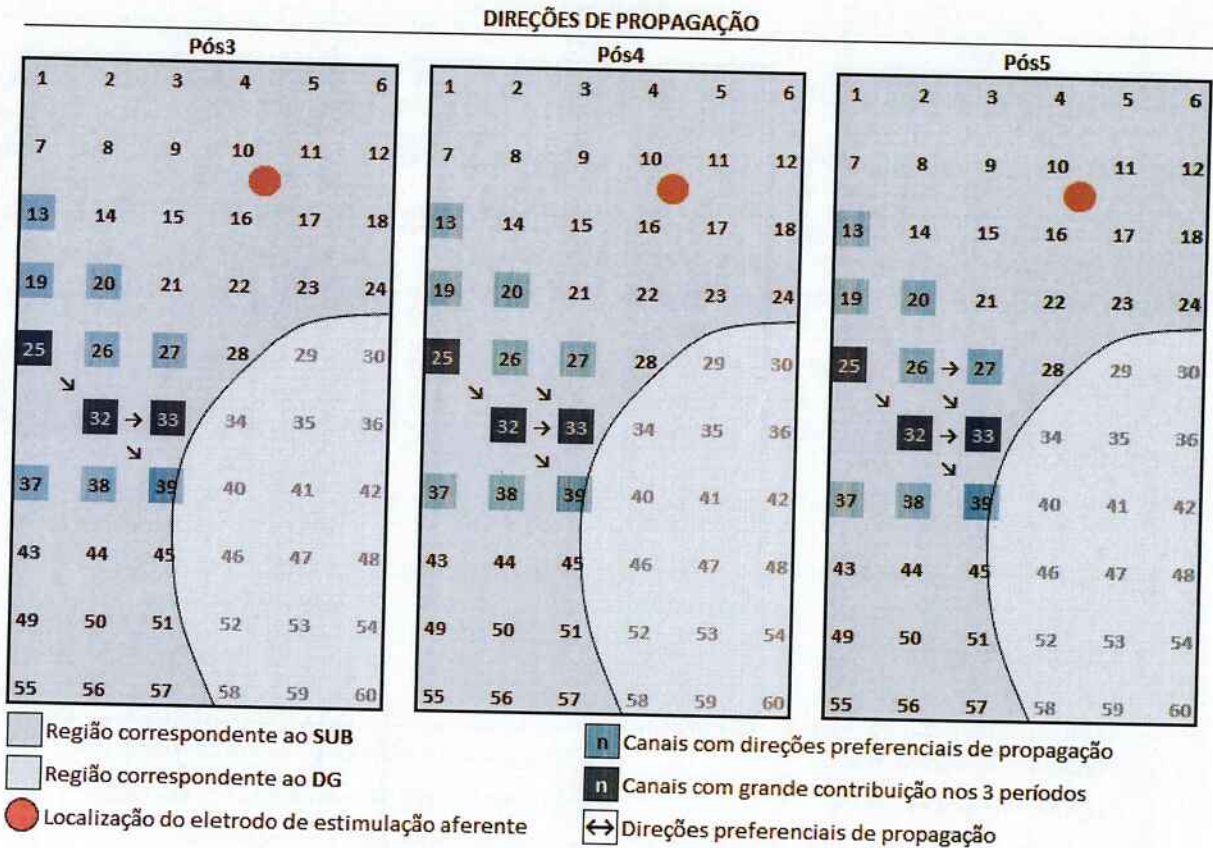
Para avaliar estatisticamente o significado dos resultados obtidos, fez-se o cálculo da média e do desvio padrão para cada par de canais considerado. A seguir, para cada um destes pares, foi calculado também o coeficiente de variação, definido como a relação entre o desvio padrão e a média.

3.9.3 Definição das direções preferenciais

Com base nos valores dos coeficientes de variação do item anterior, pôde-se fazer uma estimativa de quais foram as direções preferenciais de propagação.

Para o Grupo 1, as direções de propagação prioritárias foram consideradas aquelas com coeficiente de variação abaixo de 0,1. Os resultados obtidos para esse valor podem ser encontrados nas Figura 37 e Figura 38.

Figura 38 - Direções preferenciais de propagação do Grupo 1 (eletrodos 13, 19, 20, 25, 26, 27, 32, 33, 37, 38 e 39) nos períodos Pós 3, Pós 4 e Pós 5.



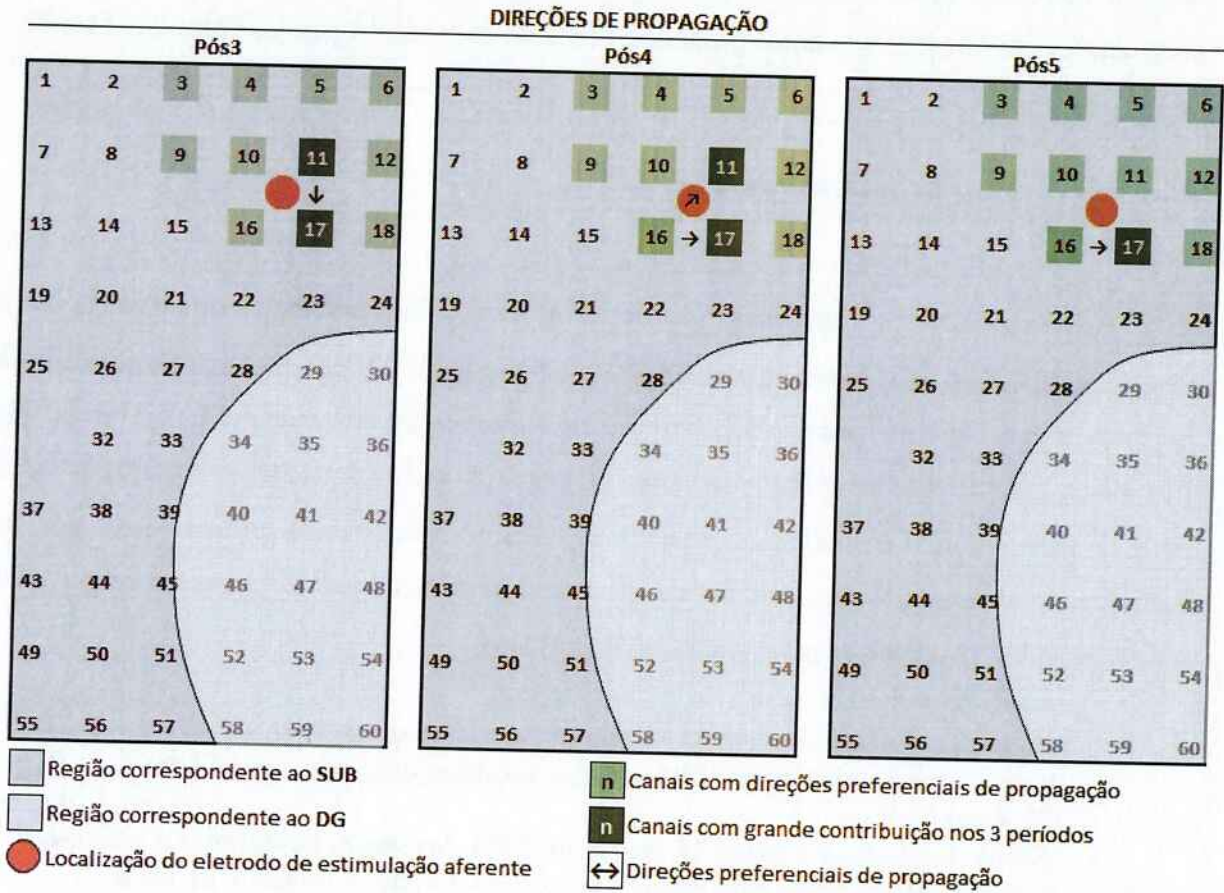
Para o Grupo 1, pode-se observar que no período Pré, os pares de canais que mostraram atrasos consistentes era composto pelos eletrodos 25 e 32, 32 e 33 e 32 e 39.

A estimulação foi responsável por criar novos padrões de propagação significativos no período Pós 1, que se mantiveram e aumentaram no período Pós 2.

Percebe-se que, nos períodos Pós 3 em diante, o padrão de propagação volta a ser muito similar àquele do período Pré, num indício de que o comportamento deste grupo tende a retornar às condições iniciais.

Fez-se uma estimativa similar para calcular as direções preferenciais de propagação do Grupo 2. Como os desvios padrão eram relativamente maiores neste caso, usou-se como limiar um coeficiente de variação de 0,4 para determinar quais direções de propagação eram preferenciais. Os resultados podem ser observados nas Figura 39 e Figura 40.

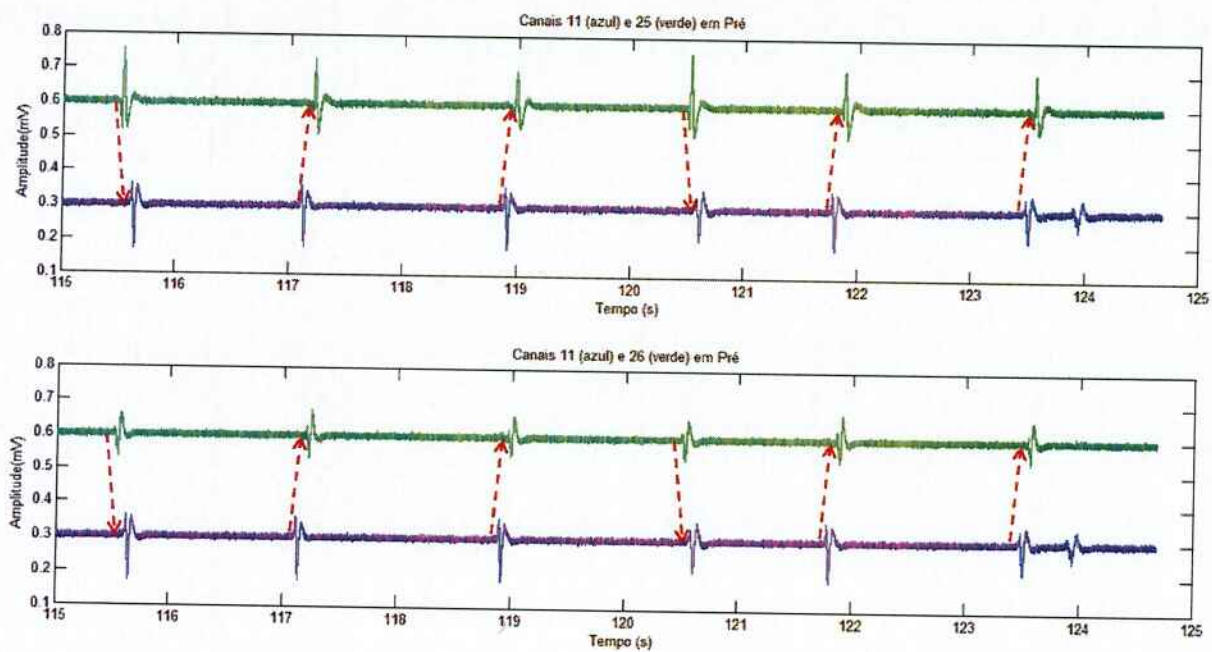
Figura 40 - Direções preferenciais de propagação do Grupo 2 (eletrodos 3, 4, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 16, 17 e 18) nos períodos Pós 3, Pós 4 e Pós 5.



Para o Grupo 2, pode-se observar que, antes da estimulação, a maior atividade ocorreu para os *spikes* gerados no canal 11, com propagação em direção ao canal 17. Analogamente, *spikes* gerados no canal 12 se propagaram em direção ao canal 6.

A atividade destes canais foi diminuída (em termos de número de *spikes*) depois da estimulação, mas os atrasos consistentes se tornaram mais significativos entre outros canais. Eletrodos da segunda linha do sistema MEA (9, 10, 11 e 12) agiram como fontes de *spikes*, os quais se propagaram em direção à terceira linha do sistema MEA (eletrodos 16 e 17). Um padrão menor de propagação foi também observado entre os canais 4 e 10, ambos com *spikes* se propagando em direção ao canal 9.

No período seguinte, a atividade vertical entre as linhas 2 e 3 foi diminuída. Ao mesmo tempo, o eletrodo 3 se comportou como um sorvedouro de *spikes*, os quais foram propagados dos eletrodos 9 e 10.

Figura 41 – Indicação de atrasos entre Grupos 1 e 2.

4 ANÁLISE DE RESULTADOS

É relevante analisar as diferenças entre os intervalos inter-*spike* (*inter-spike interval*, ISI, em inglês) nos períodos estudados. Para o primeiro grupo de eletrodos, é interessante observar que o estímulo externo pode ter causado um efeito de longo prazo no padrão de disparos, uma vez que o ISI foi alterado de $1,9s \pm 0,5s$ (em Pré) para $2,4s \pm 0,9s$ (em Pós 2), 3 minutos depois de a estimulação ter sido interrompida. O efeito parece deixar de existir nos períodos seguintes, quando há uma tendência de retorno às condições pré-estimulação, com valores de ISI tendendo aos iniciais.

Por outro lado, este tipo de efeito não parece acontecer no segundo grupo de eletrodos analisados, uma vez que, estatisticamente, não houve diferença no ISI nos períodos Pré e Pós 2 ($1,8s \pm 0,5s$ e $1,7s \pm 0,6s$, respectivamente). A grande variação do ISI no período Pós 1 pode significar que houve atrasos na recuperação do padrão de disparo entre os eletrodos de períodos Pré e Pós 2. Esse grupo de eletrodos, embora tenha sofrido grande variação no seu padrão de disparos no período Pós 1, parece estar demorando mais para retornar às condições de propagação e disparo do período pré-estimulação.

É também relevante a análise do ISI entre os dois grupos de neurônios. No primeiro período, os dois grupos apresentaram ISI semelhante ($1,9s \pm 0,5s$ e $1,8s \pm 0,5s$, respectivamente), o que parece indicar uma sincronicidade entre os *spikes* nos grupos no período pré-estimulação. Uma vez que a sincronicidade entre os disparos de neurônios no EEG registrado no escalpo representa um padrão de epilepsia (PURVES et al., 2008), espera-se que o mesmo padrão se repita para gravações realizadas em outras áreas do cérebro.

No período Pós 2, é possível perceber ocorre uma mudança do ISI para os grupos 1 e 2 de eletrodos: no grupo 1, o novo ISI gira em torno de $2,4s \pm 0,9s$, enquanto que este número é de $1,7s \pm 0,6s$ para o grupo 2, o que revela que esses grupos de canais não estavam síncronos após a estimulação. Usando o mesmo raciocínio aplicado para a epilepsia detectado no escalpo, pode-se supor que houve um efeito na inibição das crises epiléticas entre os períodos Pré e Pós 2. O cálculo dos atrasos entre os canais 11 e 25, que nos deu um atraso médio praticamente constante no período Pré e não demonstrou qualquer padrão nos períodos pós-estimulação, também parece corroborar essa hipótese.

Os atrasos entre o início de *spikes* nos diferentes eletrodos dentro dos grupos de interesse também foram calculados. Observando-se a colocação da matriz MEA e a sua

5 CONCLUSÕES

Este projeto teve como objetivo principal investigar o efeito da estimulação de uma fatia hipocampal retirada cirurgicamente de um paciente com epilepsia do tipo refratária do lobo temporal medial. A fatia foi submetida a uma simulação de uma crise epiléptica, seguida de uma estimulação elétrica externa com o intuito de inibir a crise. Os efeitos dessa estimulação, gerada por meio de um trem de pulsos e aplicada numa zona aferente do hipocampo na região do subículo, foram o objeto de estudo deste trabalho. Os registros dos potenciais elétricos foram feitos por meio de uma matriz de micro-eletrodos, MEA. Os trabalhos foram realizados numa parceria com o Departamento de Engenharia Biomédica da University of Southern California.

Dentre as principais conclusões obtidas, percebeu-se que o número de *spikes* variou entre os períodos e entre os grupos de eletrodos analisados e, além disso, que os *spikes* foram coincidentes no período Pré, mas não nos períodos Pós 2 a Pós 5, indicando diferença de sincronicidade entre eles. Esse comportamento é característico da epilepsia registrada por um eletroencefalograma no escalpo e, dessa forma, supõe-se que o comportamento se repita em outras regiões cerebrais em que os potenciais elétricos sejam gravados. Partindo desta hipótese, pode-se supor que a estimulação elétrica cumpriu com seu objetivo de inibir a crise epiléptica gerada.

Além disso, as direções preferenciais de propagação entre os eletrodos de interesse foram estudadas, e observou-se que elas foram condizentes com a anatomia do hipocampo, à medida em que estavam em áreas coincidentes com a via perfurante, via principal de transmissão de potenciais elétricos na região hipocampal.

O estudo foi capaz de unir tópicos da Engenharia Elétrica, à medida em que se utilizou de conceitos e métodos de processamento de sinais, e da Engenharia Biomédica, ao aplicar conhecimentos da Engenharia a um problema relevante de Medicina e saúde, condizentes com a graduação realizada pela autora, num programa de Dupla Diplomação entre a Escola Politécnica da USP e o Politecnico di Torino.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSEN, P.; MORRIS, R.; AMARAL, D.; BLISS, T.; O'KEEFE J. **The hippocampus book**. EUA: Oxford University Press, 2007.
- Células piramidais**. Disponível em: www.atlas.centralx.com.br. Acesso em: Junho de 2013.
- Epilepsy**. Disponível em: www.ninds.nih.gov. Acesso em: Novembro de 2013.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. Brasil: Elsevier, 2011.
- HSIAO, M. C.; YU, P. N.; SONG, D.; LIU, C. Y.; HECK, C. N.; MILLETT, D.; BERGER, T. W. **Spatio-temporal inter-ictal activity recorded from human epileptic hippocampal slices**. In: Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2012 Annual International Conference of the IEEE, p. 5166-5169, Aug. 28 2012 – Sept. 1 2012.
- KANDEL, E. R.; SCHWARTZ, J. H.; JESSEL, T. M. **Essentials of neural science and behavior**. New York: McGraw-Hill/Appleton & Lange, 1996.
- Morphonix**. Disponível em: www.morphonix.com. Acesso em: Junho de 2013.
- Neuron granule**. Disponível em: www.motifolio.com. Acesso em: Setembro de 2013.
- PURVES, D.; AUGUSTINE, G. J.; FITZPATRICK, D.; HALL, W. C.; LAMANTIA, A. S.; MCNAMARA, J. O.; WHITE, L. E. **Neuroscience**. Sunderland: Sinauer Associates, 2008.
- RANGAYYAN, R. M. **Biomedical signal analysis: a case-study approach**. Calgary: Wiley-IEEE Press, 2001.
- Sistema nervoso, Origem e divisão do SN**. Disponível em: www.sogab.com.br. Acesso em: Setembro de 2013.
- Telencéfalo**. Disponível em: www.auladeanatomia.com. Acesso em: Junho de 2013.