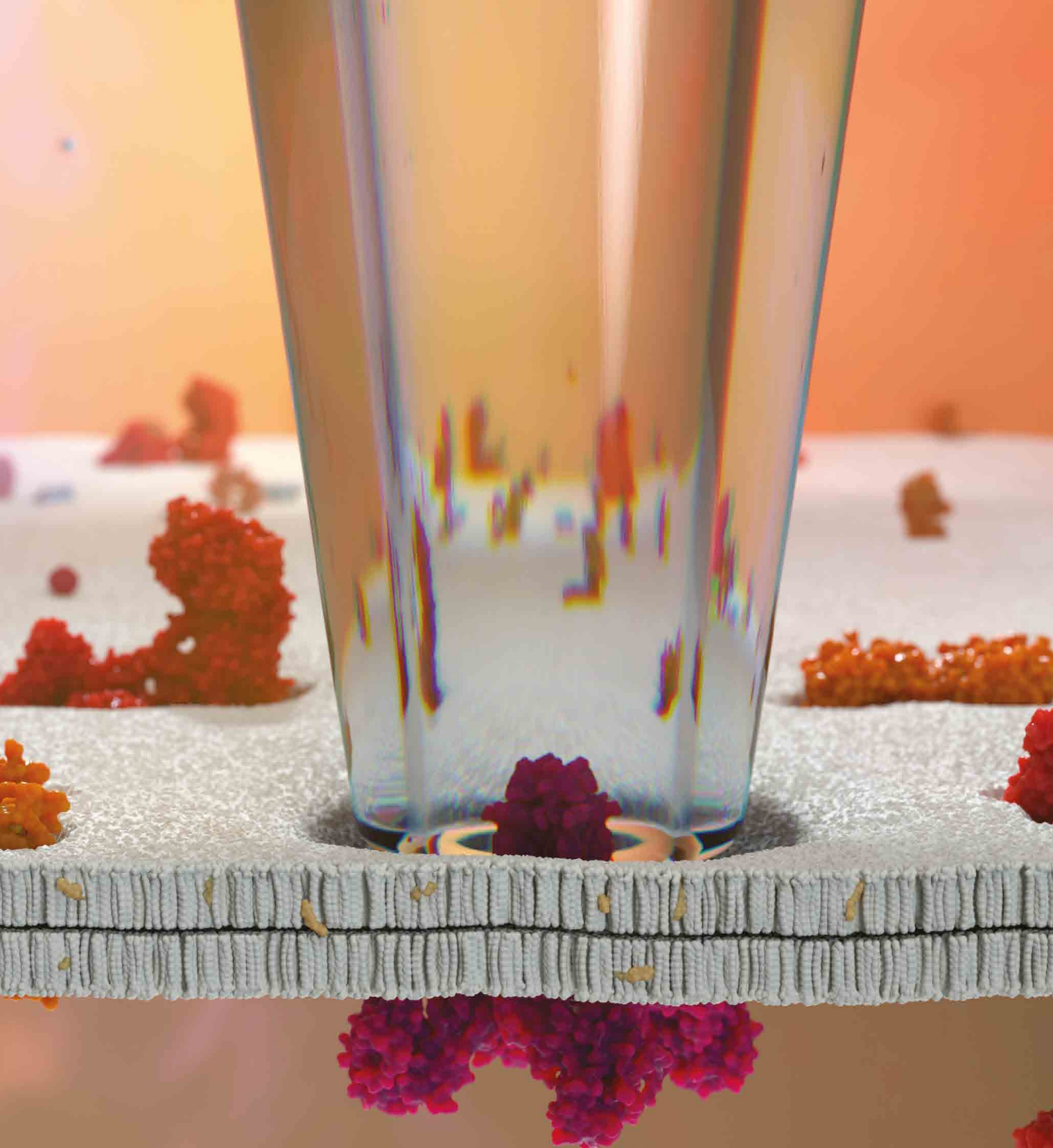
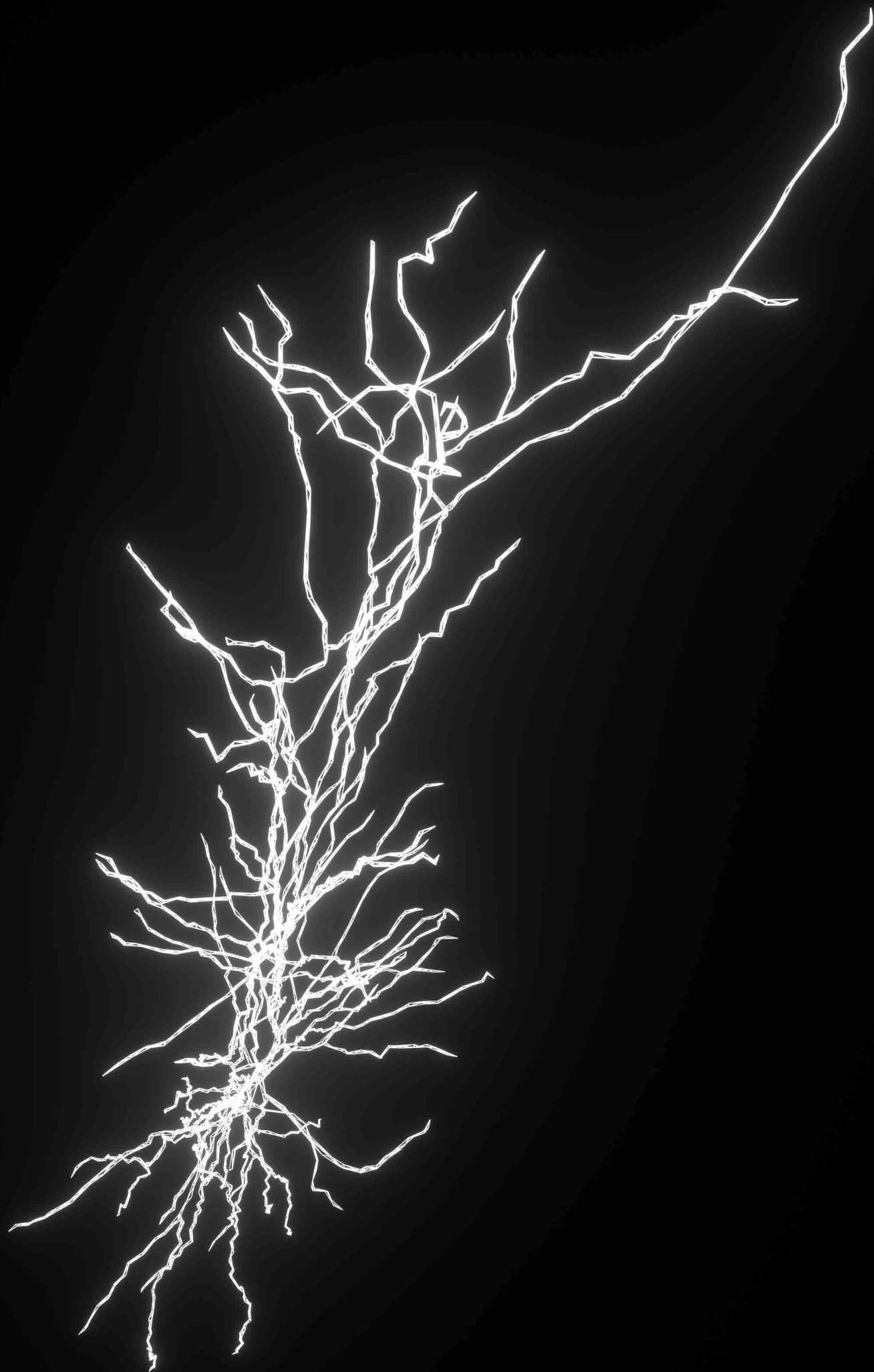




Neuronen onder spanning
Het effect van zwakke elektrische
velden op het gedrag van enkele
neuronen en kleine netwerken

Publiekssamenvatting





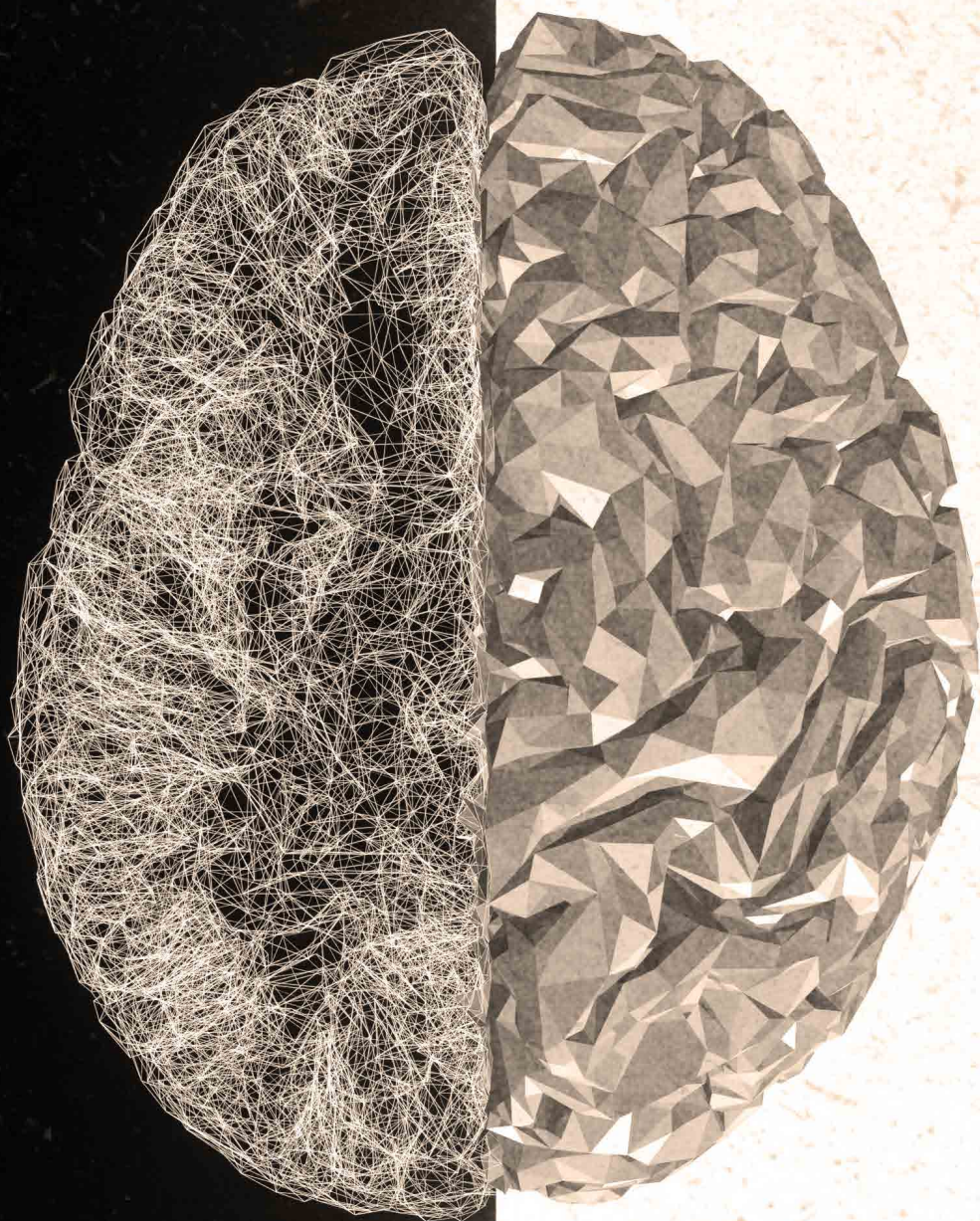
Voorwoord

Van alle proefschriften die mijn boekenkast over de jaren hebben opgevuld, heb ik er eerlijk gezegd maar een paar echt gelezen. Dat zijn de thesissen met een relatie met mijn eigen werk. Ik heb hier een paar dingen van geleerd. Één, ik heb een grotere boekenkast nodig. Twee: veel onderzoekers steken hun hart en ziel in een boekje dat nauwelijks gelezen wordt.

Het idee dat mijn eigen proefschrift hetzelfde lot wachtte en zou eindigen onder een wiebelende tafelpoot, voelde wat ongemakkelijk. Ik werkte toentertijd in Amsterdam, en ik had tijdens de lange treinreizen erg veel tijd om mijn zonden te overdenken. Zodoende kwam ik op het idee om een tweede boekje te schrijven. Een boekje waar mijn ideeën en onderzoeksresultaten in begrijpelijke taal zouden worden uitgelegd, zodat ook mensen die geen wereldberoemde experts zijn in precies dit vakgebied het zouden snappen.

Dus dit boekje is voor jou, beste lezer. Ik ben erg blij dat je op dit punt al een halve pagina hebt gelezen; dat is al verder dan ik verwacht dat de meeste mensen in mijn wetenschappelijke proefschrift zullen komen. Ik hoop ook dat je mijn tekeningen leuk vindt - ik heb altijd een zwak gehad voor stripboeken - en dat je snapt waarom ik de onderzoeken gedaan heb.

Ten slotte wees Ionica Smeets in een van haar papers erop dat wetenschapscommunicatie vaak een monoloog is. Wetenschappers presenteren hun bevindingen, maar de daadwerkelijke betekenis gaat aan veel mensen voorbij. Ik vrees dat ik het met haar eens ben. Dus als je nog vragen hebt naar aanleiding van de verhalen in dit boekje, neem contact met me op. Onder het genot van een kop thee vertel ik je graag alles wat je wilt weten.



Historisch Perspectief

*“Er is iets bezig in mijn ziel, wat ik niet begrijp.”
Mary Shelley*

Samenvatting

Ik geloof heilig dat, om te zien waar we heen gaan, je ook moet weten waar we vandaan komen. Dus ik heb dit hoofdstuk geschreven om samen te vatten welke reis de elektrofysiologie door de eeuwen heen gemaakt heeft. Ik hoop dat het je helpt om het grotere geheel van ook mijn onderzoeken te snappen. Het “Waarom?” achter alles.

Dit hoofdstuk reikt overigens veel verder dan de onderwerpen van mijn eigen onderzoeken. Net zoals zo velen van mijn collega onderzoekers, heb ik meer onderzoeken gedaan dan dat mijn uiteindelijke thesis hebben gehaald; sommige onderzoeken moesten worden stopgezet omdat ze te veel tijd kostten, en weer andere projecten leverden onvoldoende resultaten op.

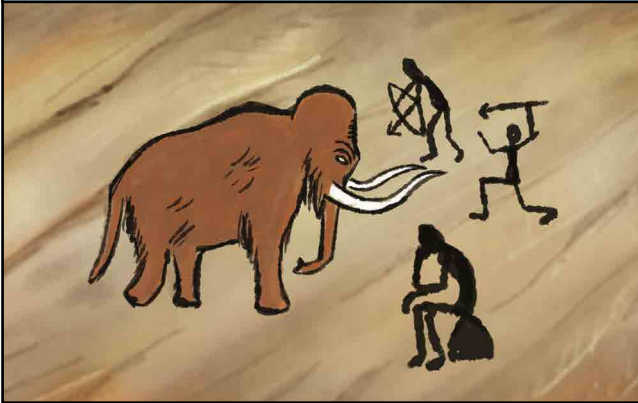
Dit is in de wereld van de wetenschap niet zeldzaam, helaas.

Enfin, omdat ik gedurende vrijwel mijn hele PhD-tijd aan dit hoofdstuk heb gewerkt, heb ik onderwerpen opgenomen die toentertijd relevant leken maar uiteindelijk geen raakvlak hadden met het werk dat ik in mijn proefschrift presenteer.

Uiteindelijk heb ik besloten om, in plaats van dat ik dit hoofdstuk zou inkorten en opschonen, het te laten zoals het was. Want, heel misschien, is een hoofdstuk dat ook gaat over vele bochten, filosofie, irrelevante informatie en kosmische hoeveelheden geluk en pech uiteindelijk een aardig goede representatie van de zoektocht naar de waarheid die wij wetenschappelijk onderzoek zijn gaan noemen.

Veel leesplezier!

Al eeuwenlang denken mensen over denken.



De oude Egyptenaren geloofden dat het hart onze gedachten bestuurde, omdat het zo duidelijk reageert op onze gevoelens.



Hun visie komt terug in de mummies die ze maakten. Belangrijke organen werden bewaard in versierde potten...



het hart werd zelfs in het lichaam achtergelaten...



en het brein werd verpulverd en bij het afval gezet.



In de eeuwen die volgden, kwamen er meer interessante theorieën over het brein bovendrijven.

Het brein is een ventilatiesysteem om het bloed te koelen.

Het brein maakt sperma.

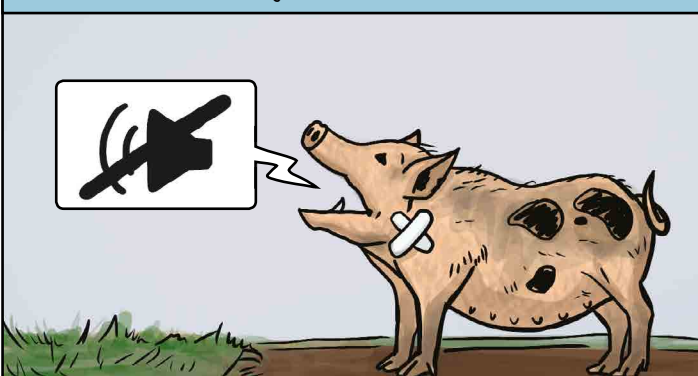


Diezelfde Alcmaeon realiseerde zich uiteindelijk dat er een verband is tussen het bewustzijn en het brein. Dit idee werd uiteindelijk uitgewerkt door onder andere de Romeinse arts Galenus, die het effect van hersenletsel bestudeerde.

Ik heb de 5 zintuigen bestudeerd en ontdekt dat deze in het brein verwerkt worden. Dit is alleen logisch als de hersenen de baas zijn over onze emoties.



Galenus probeerde zijn theorie te bewijzen door te laten zien dat een varken met beschadigde zenuwen niet meer kan schreeuwen.



Dit belangrijke bewijs werd ondergesneeuwd door het debat met zijn filosofische tegenstanders. Eeuwenlang waren rivaliserende wetenschappers vooral bezig met elkaar te belasteren.

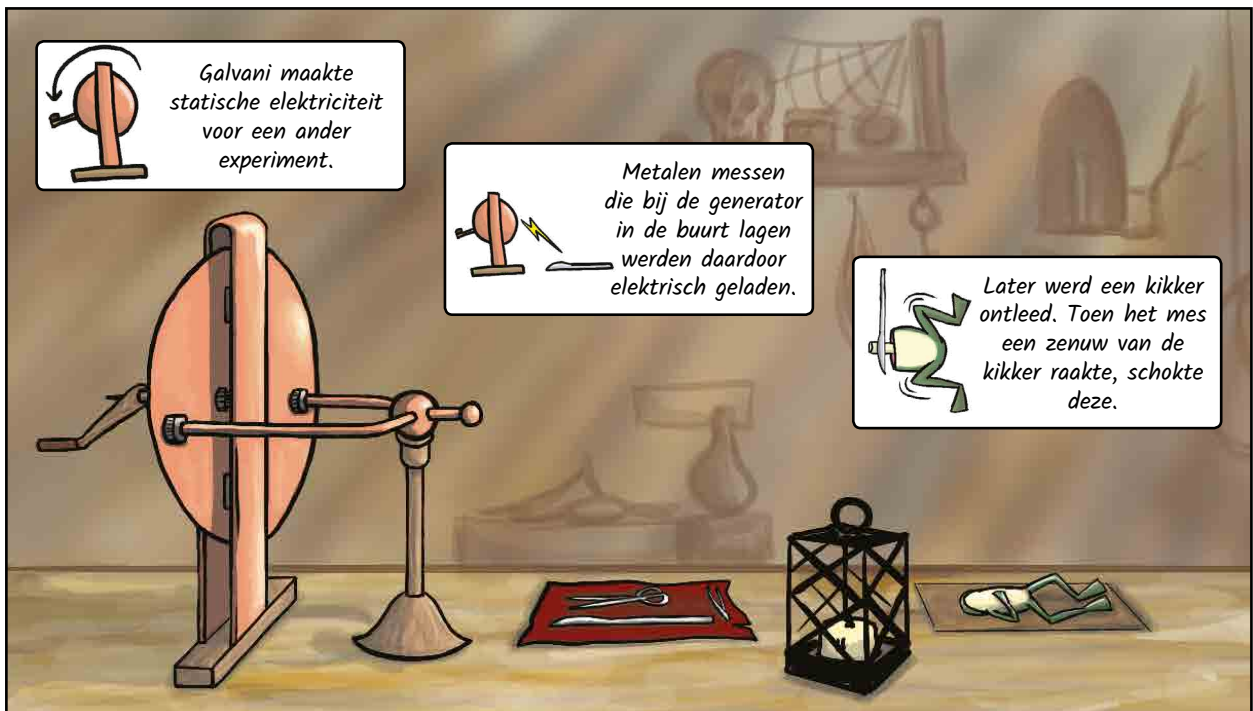


Het kostte daardoor zo'n 1400 jaar voordat Galenus' theorie werd bewezen. In 1662 ondernam de Nederlandse wetenschapper Jan Swammerdam enkele ethisch minder verantwoorde experimenten op kikkers.



Swammerdam's experimenten lieten zien dat een kloppend hart alleen niet genoeg is om bewegingen te kunnen maken. Het zenuwstelsel speelt ook een rol bij het verwerken van informatie en het in beweging zetten van spieren.

Een volgende doorbraak in de neurowetenschap werd in 1781 in Italië gedaan door Luigi Galvani. Zijn ontdekking werd gedaan in wat een ontzettend rommelig laboratorium moet zijn geweest, en gebeurde als volgt:



Galvani was gefascineerd door zijn ontdekking. Het zou zijn levenswerk worden. Hij zou nog vele experimenten in de bio-elektriciteit doen.



Galvani maakte zelfs een metalen draad aan zijn huis vast tijdens een onweer. Het andere eind zat aan een stel kikkerpootjes. Toen de bliksem dichtbij insloeg, bewogen de pootjes. Galvani beschreef de beweging als "niet zo weinig".



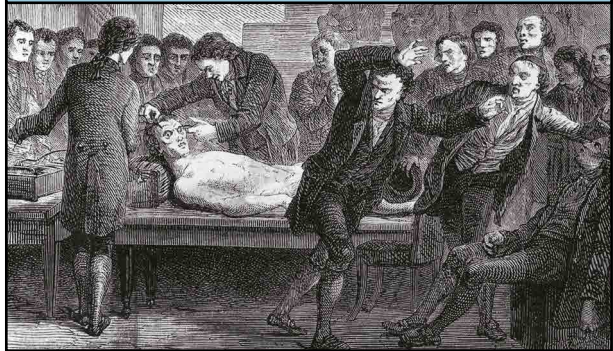
Luigi Galvani's wetenschap werd eerst niet geloofd.

Ik word aangevallen door twee types: de wetenschappers en de niets-weters. Beiden lachen me uit en noemen me "een dansleraar voor kikkers".



Maar ik weet zeker dat ik een van de grootste natuurkrachten heb ontdekt.

Hij had gelijk, want zijn techniek werd langzaam aan populair. Demonstraties werden gegeven in kroegen, bij lezingen en ... bij doodstraffen.

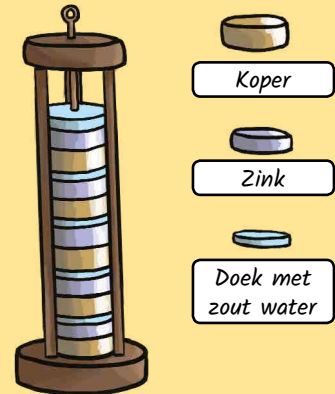


Frankenstein verscheen rond dezelfde tijd. Mary Shelley schreef de eerste science-fiction roman ter wereld namelijk op basis van Galvani's werk.

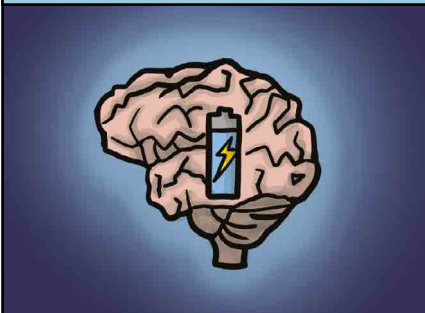


Natuurkundige Alessandro Volta raakte ook geïnteresseerd in Galvani's ontdekking.

Hij dook in de eigenschappen van metalen. Uiteindelijk vond hij daardoor de batterij uit.



Uiteindelijk landde het idee dat zenuwen elektriciteit kunnen opslaan. Die elektriciteit kan ook weer vrij komen. Net als bij batterijen.



In de jaren 1830 tot 1850 raakten wetenschappers geïnteresseerd in de signalen die zenuwen zelf maken. Dus in hoe cellen met elkaar praten.

Elektrische signalen reizen zo snel dat we het niet kunnen meten. De meeste mensen zijn het met me eens. Er zit immers een ziel in het brein.



Johannes Mueller

Nou, ik heb het toch even nagemeten. De signalen gaan maar 97 km per uur.



Hermann von Helmholtz

Misschien heb je al ooit van Helmholtz gehoord. Hij deed namelijk heel veel ontdekkingen. De wet van behoud van energie bijvoorbeeld. En hij bestudeerde geluidsgolven, het menselijk lichaam, natuurkunde en wiskunde.



Ik heb ook de leeftijd van de aarde geschat. Die is minstens 20 miljoen jaar oud.*

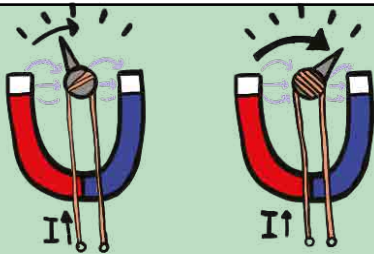
*Hij zat er slechts 4.52 miljard jaar naast. Dit is verrassend nauwkeurig voor die tijd.

Ook Helmholtz zijn studenten werden beroemd. Hij begeleidde maar liefst vier latere Nobelprijswinnaars. De vijfde grote naam, Hertz, stierf jong en liep daardoor de Nobelprijs mis.



Maar even terug naar de jaren 1840. De zoektocht naar signalen in zenuwen ging verder. Maar zonder moderne instrumenten.

Elektrische stromen werden gemeten met een kompas. Een kompasnaald werd op zijn plek gehouden met een magneet. Een draad werd om die naald gewikkeld. En als er een stroom door de draad liep, bewoog de naald.



De naald bewoog meer wanneer de draad vaker om de naald werd gewikkeld. Dus men kon dan kleinere stromen meten.

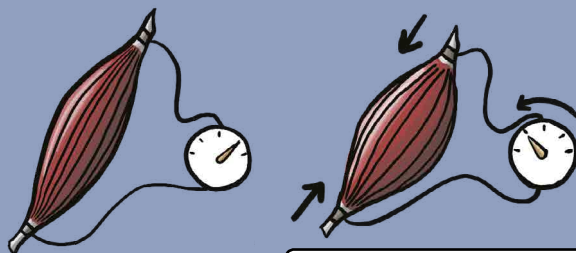


De Duitse Emil du Bois-Reymond zocht ook naar de signalen. Hij maakte eigenhandig meer dan 24.000 wikkelingen ...



... met een draad van meer dan 5,1 kilometer lang!

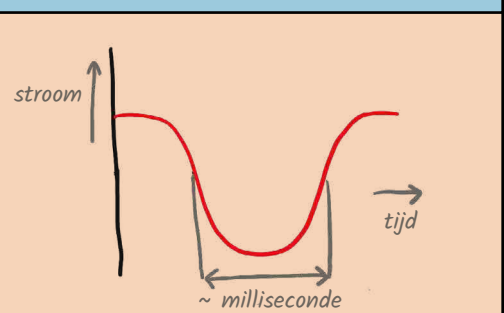
Du Bois-Reymond en de Italiaan Carlo Matteucci lieten zien dat:



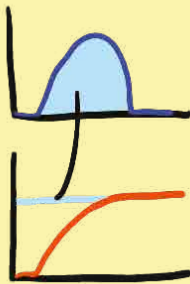
1. Zenuwweefsel maakt altijd elektrische stromen. Ook als het in rust is.

2. Deze stromen worden negatiever als het weefsel actief wordt. Dus wanneer bijvoorbeeld een spier beweegt.

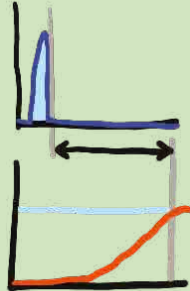
Deze informatie werd samengevoegd met de snelheid van de signalen. En zo werd duidelijk dat een signaal door een zenuw er ongeveer zo uit zag:



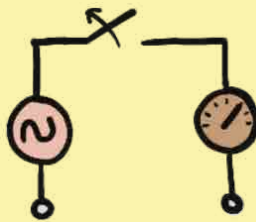
De Duitser Julius Bernstein was een student van Du Bois-Reymond. In de jaren 1860 wist hij het signaal zelfs af te leiden. Dat deed hij als volgt:



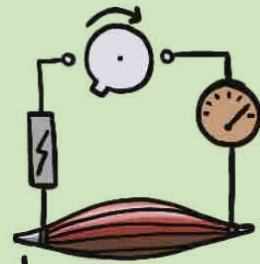
1. Je kunt een signaal schatten met een "integrerende galvanometer". Dit apparaat laat de totale som zien van alle stromen die door een draad zijn gegaan.



2. De galvanometer is traag. Het duurt een paar seconden voordat het apparaat het resultaat laat zien.

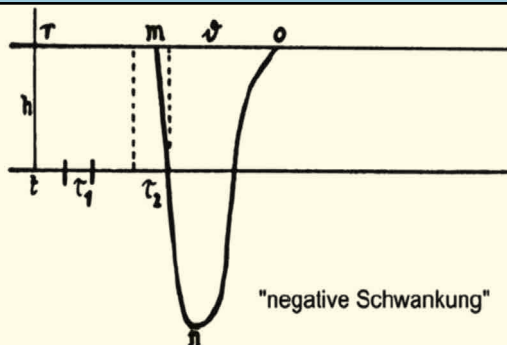


3. Je kunt de galvanometer loskoppelen en later uitlezen. Je kunt dan schatten hoe veel stroom er liep tot op een bepaald tijdstip.

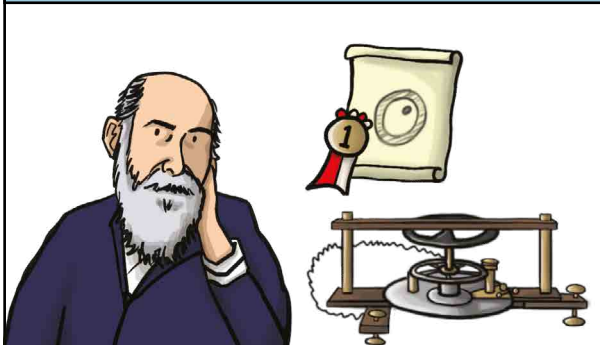


4. Bernstein bedacht een apparaat dat steeds na een heel korte tijd de meter los koppelde. Hij mat ook steeds op andere tijdstippen. Zo puzzelde hij uit hoe het signaal eruit zag.

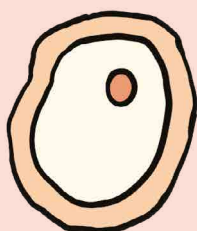
Het signaal dat Bernstein terug rekende liet inderdaad de negatieve stroompiek zien. Later werd deze stroompiek een actiepotentiaal (AP) genoemd.



De berekening van het actiepotentiaal is Bernsteins één na bekendste ontdekking. Nog beroemder werd hij met zijn theorie over membranen.



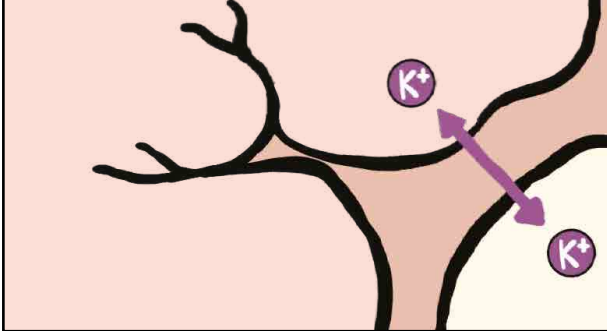
Eind 19e eeuw was het bekend dat we bestaan uit cellen. Dit zijn kleine levende dingen die omringd zijn met een laagje. Dit laagje noemen we een membraan. Hersencellen, zenuwcellen en spiercellen noemen we neuronen.



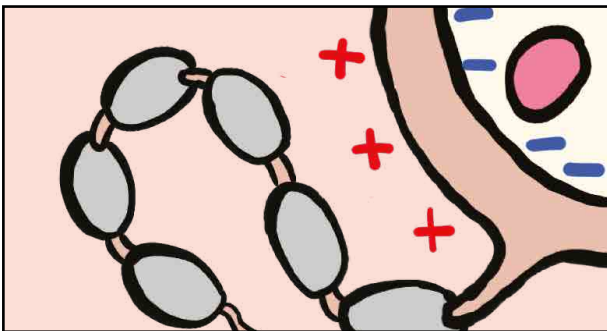
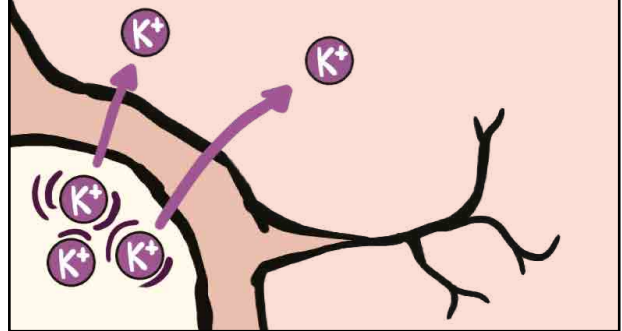
Bernstein bestudeerde het werk van Walther Nernst. Nernst had namelijk beschreven hoe energie in batterijen is opgeslagen. En die zelfde theorie hielp om te verklaren waarom neuronen elektrisch geladen zijn.



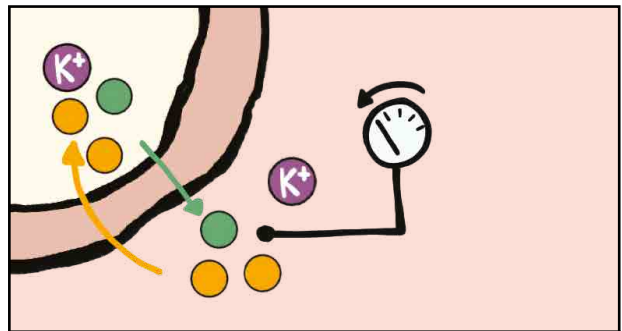
De membraan-theorie gaat als volgt:
1. Kalium (K^+) is een type geladen deeltje. Een geladen deeltje noemen we een ion. Kalium kan door het membraan heen. Andere ionen kunnen dit niet.



2. Er is veel meer kalium in de cel dan daarbuiten. Deeltjes "willen" gelijk verdeeld zijn over de ruimte. Dus K^+ -deeltjes verlaten de cel. De neutrale cel wordt negatief geladen na het verliezen van positieve kaliumionen.

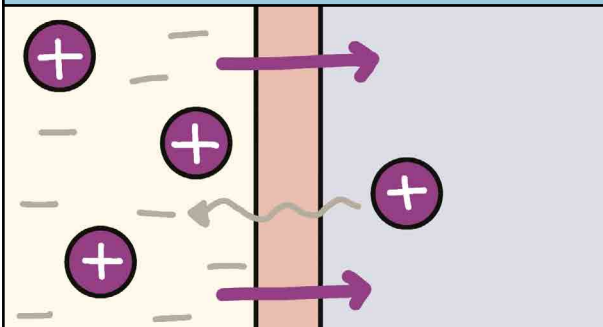


3. Doordat de cel negatief geladen wordt, gaan er steeds minder kaliumionen naar buiten. Als de cel een lading van -80 mV heeft, ontstaat er een balans. Een cel in rust is dus negatief geladen.

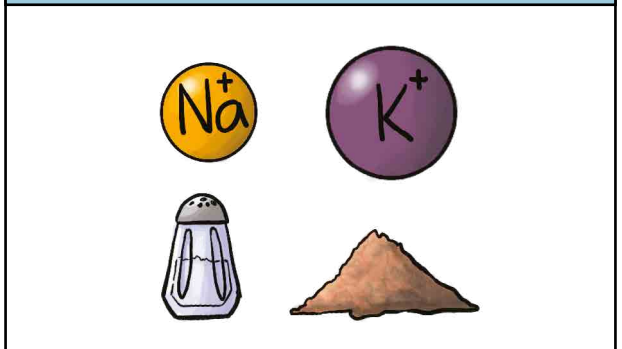


4. Gedurende een AP kunnen er ineens ook andere deeltjes naar binnen en buiten. De negatieve lading van de cel wordt opgeheven. De stroom van een zenuwsignaal komt door het verplaatsen van geladen deeltjes.

Bernstein zijn theorie was een stap in de goede richting. De verschillen in hoeveelheden geladen deeltjes binnen en buiten de cel verklaarden veel. Er was duidelijk waar de lading in de cel vandaan kwam. En hoe de signalen in zenuwen ontstonden.



Maar de membraan-theorie was niet compleet. Al in 1902 liet Ernest Overton zien dat cellen ook natrium (Na^+) nodig hebben. Zonder natrium kan een cel geen signaal sturen.

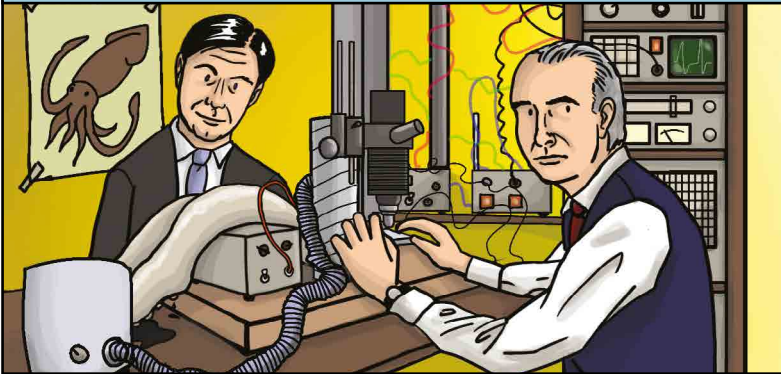


Overton deed nog een andere grote ontdekking. Hij testte de reacties van cellen op honderden chemische stoffen. Hij liet zo zien dat membranen van cellen uit vet bestaan.

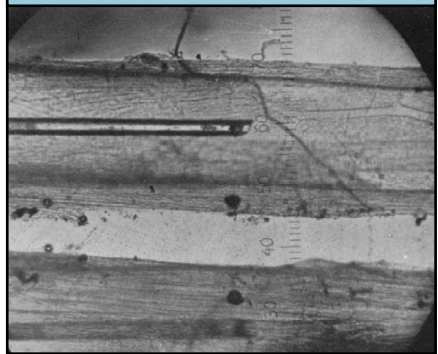


Maar geladen deeltjes kunnen helemaal niet door vet heen reizen! Dus één doel van de neurowetenschap werd om de membraan-theorie te verfijnen. En een ander doel om uit te zoeken waarom natrium en kalium wel door een membraan heen kunnen.

De membraan-theorie werd verfijnd en bewezen door twee Engelsen. Alan Hodgkin en Andrew Huxley begonnen in 1939 aan hun onderzoek.



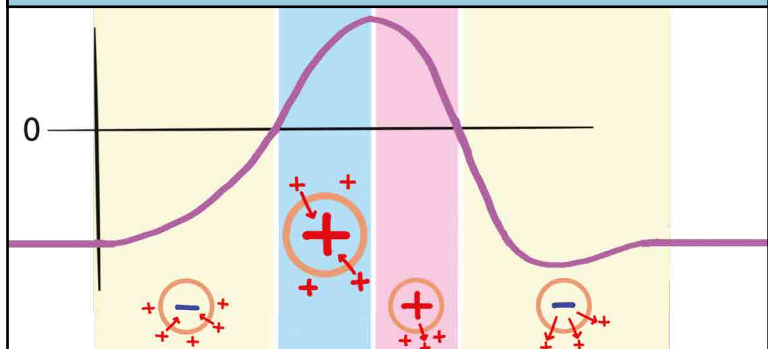
Een inktvis heeft gigantische neuronen van wel 0.5 millimeter dik. Ze kregen het voor elkaar om daar een sensor in te plaatsen.



Hierdoor konden ze een AP meten vanuit het binnenste van een cel. Deze metingen waren veel betrouwbaarder dan de metingen van andere wetenschappers.



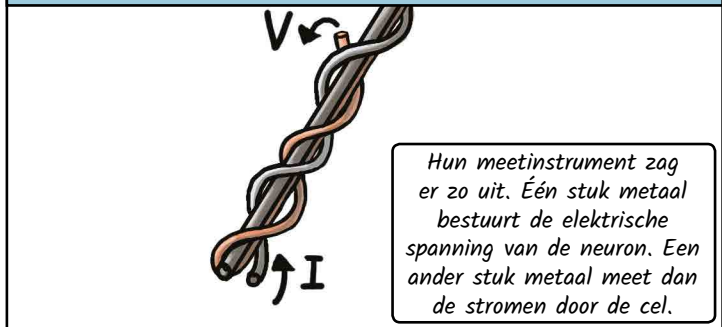
Hodgkin en Huxley ontdekten dat de cel heel kort positief geladen wordt tijdens een AP (blauw vakje). Dat is vreemd, want een positief geladen cel zou juist positieve ionen moeten afstoten. Er was geen verklaring hiervoor.



Ze wilden meer onderzoek doen, maar toen brak de tweede wereldoorlog uit. Beide mannen moesten in de oorlogsindustrie gaan werken. Het zou 7 jaar duren voordat ze verder konden.



Om de AP te kunnen onderzoeken, moesten ze ook nog hun eigen uitvinding doen. Met een "voltklem" kun je een cel op een bepaalde elektrische spanning brengen. Je kunt dan de stromen door de cel meten. Dit helpt om meer te leren over de signalen in cellen.



Het experiment duurde tot 1949. En het duurde nog eens 3 jaar om een model te maken van hun metingen.



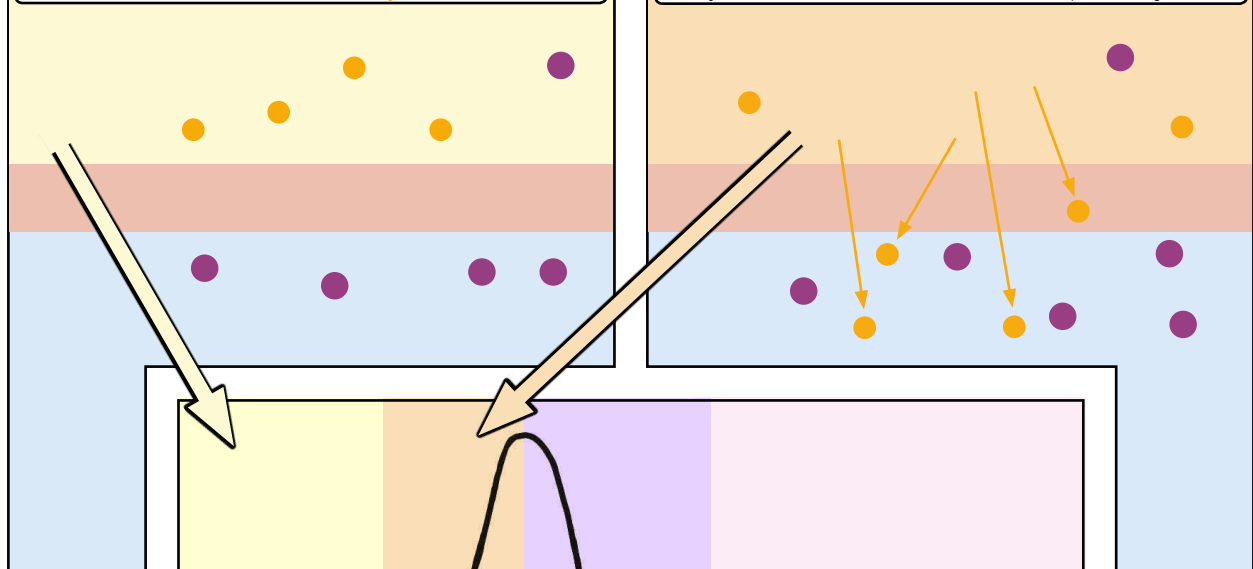
In 1952, na meer dan 10 jaar zwoegen, publiceerden ze eindelijk hun metingen en model. In 1963 werd hun harde werk beloond met de Nobelprijs voor Fysiologie of Geneeskunde.



Volgens het Hodgkin-Huxley model vinden de volgende gebeurtenissen plaats tijdens een actiepotentiaal:

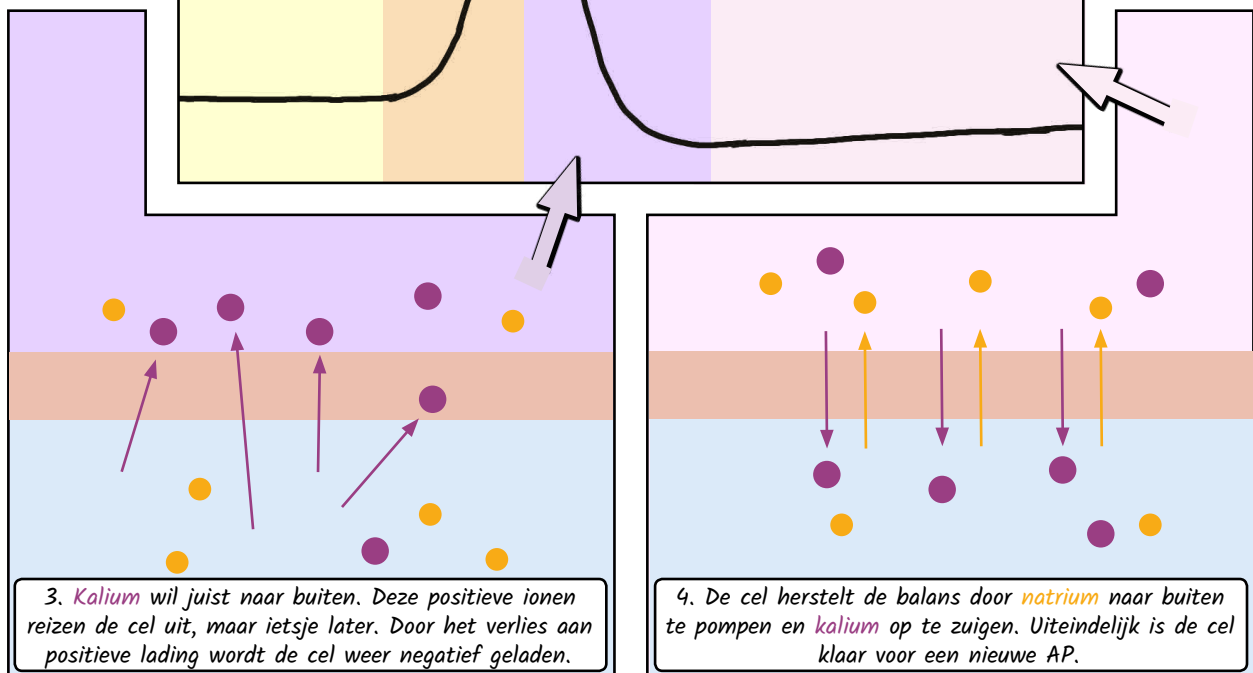
1. Na^+ en K^+ kunnen niet door een celmembraan. Een cel bevat meer **kalium** (paars) dan buiten de cel. Buiten de cel is veel meer **natrium** (oranje) dan binnenin.

2. **Natrium** wil naar binnen. Wanneer de AP begint, kan het natrium door het membraan. Er gaan veel positieve deeltjes de cel in. Hierdoor wordt de cel positief geladen.



3. **Kalium** wil juist naar buiten. Deze positieve ionen reizen de cel uit, maar ietsje later. Door het verlies aan positieve lading wordt de cel weer negatief geladen.

4. De cel herstelt de balans door **natrium** naar buiten te pompen en **kalium** op te zuigen. Uiteindelijk is de cel klaar voor een nieuwe AP.



Het volledige Hodgkin-Huxley model is overigens erg ingewikkeld. Natrium en kalium kunnen deels tegelijkertijd de cel in- en uitreizen. En een deel van de stromen zijn afhankelijk van elkaar. Het kostte de wetenschap dan ook enkele jaren om Hodgkin en Huxley bij te benen.

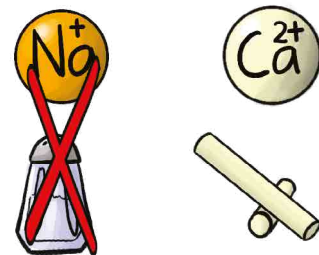
$$I = C \frac{dV}{dt} + g_K n^4 (V - V_K) + g_{Na} m^3 h (V - V_{Na}) + g_l (V - V_l)$$

$$\frac{dn}{dt} = a_n(V)(1-n) - b_n(V)n$$

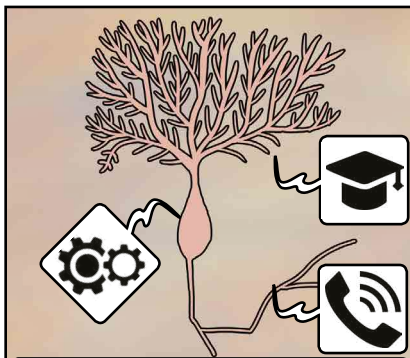
$$\frac{dm}{dt} = a_m(V)(1-m) - b_m(V)m$$

$$\frac{dh}{dt} = a_h(V)(1-h) - b_h(V)h$$

In 1953 ontdekten Fatt en Katz per toeval dat een krab een AP kan maken zonder natrium.



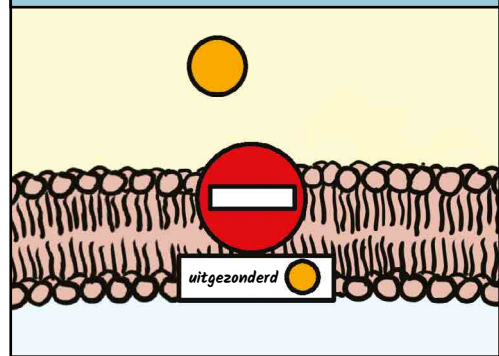
Later bleek dat deze actiepotentialen via calciumionen (Ca^{2+}) gemaakt worden.



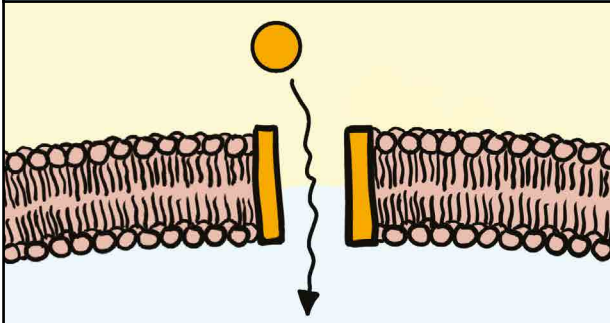
De hoeveelheid calcium regelt o.a. leerprocessen, communicatie met andere cellen en de energiehuishouding.

Dus ook calcium werd een interessant stofje om te bestuderen. Uiteindelijk bleek dat de hoeveelheid calcium in een cel toeneemt na een AP. In zoogdieren zijn de actiepotentialen overigens natrium-gestuurd. In hersencellen dient de hoeveelheid calcium in de cel als een "geheugensteun". Het laat zien dat de cel actief is geweest.

Maar de vraag hoe het kan dat sommige geladen deeltjes door het membraan kunnen was nog niet beantwoord.



Tussen 1965 en 1975 werd duidelijk dat ionen door speciale gaten in het membraan reizen. Die gaten kunnen open en dicht. We noemen die gaten kanalen. Er zijn verschillende ionkanalen voor verschillende types ionen.



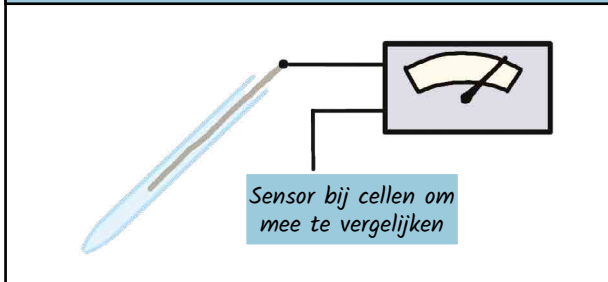
De Duitsers Erwin Neher en Bert Sakmann verfijnden bestaande meettechnieken. In 1976 slaagden ze er in om een stroompje door één kanaal te meten.



Het klinkt simpel, bestaande technieken gebruiken. Maar het kostte ze 10 jaar om dit te doen.

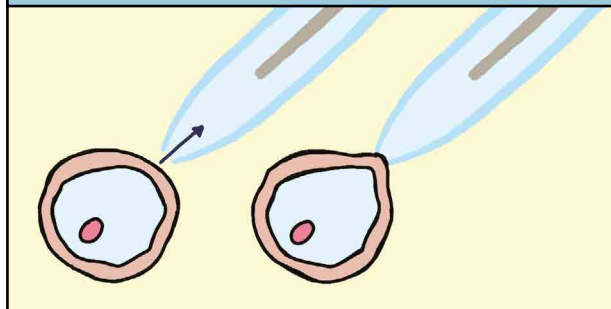
Bert en Ernie Erwin gebruikten de volgende methode bij hun zogenaamde patch clamp experiment:

Een glazen buisje met een hele scherpe, open punt heet een pipet. Je vult een pipet met zout water en een stuk metaal. Het zoute water en het metaal geleiden stroom. Die stroom kan door een apparaat worden uitgelezen.

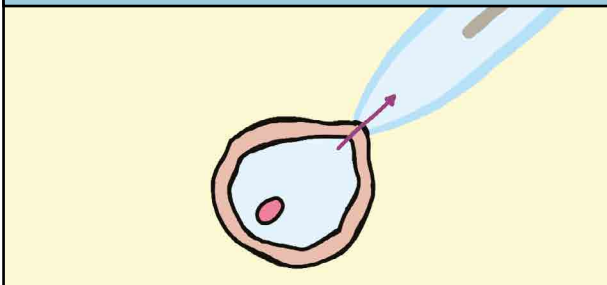


Sensor bij cellen om mee te vergelijken

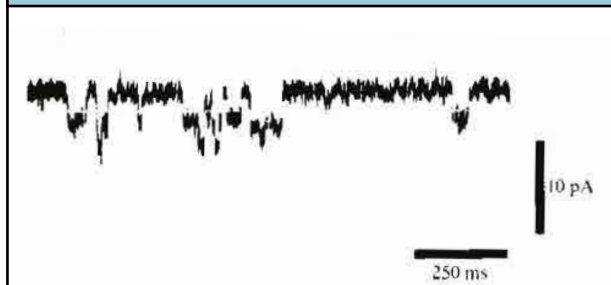
Je nadert een cel tot je deze bijna raakt. Dan zuig je voorzichtig een klein stukje van het membraan naar binnen. De cel zit nu stevig vast aan de pipet.



Glas en vet geleiden geen stroom. Dus als je een elektrische stroom meet, moet dit wel door een gaatje in de cel zijn gegaan. Zo kun je de stroom door een kanaal meten.



In de metingen die Neher en Sakmann deden, zie je dat de stroom tussen twee verschillende niveaus springt. Dit is het kanaal dat open en dicht gaat. Het bewijs dat ionkanalen bestaan.

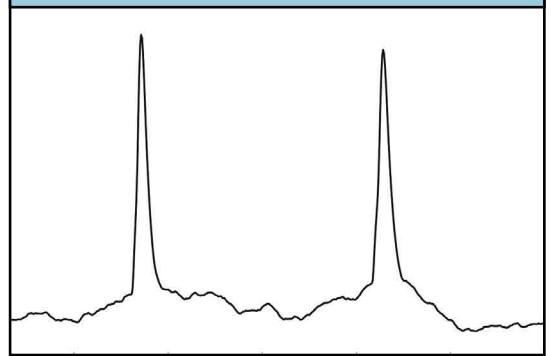


Neher and Sakmann bleven sleutelen aan de patch clamp. Ze vonden nieuwe manieren uit om te meten. Een populaire methode is the hele-cel techniek. Dit wordt ook in deze thesis gebruikt.

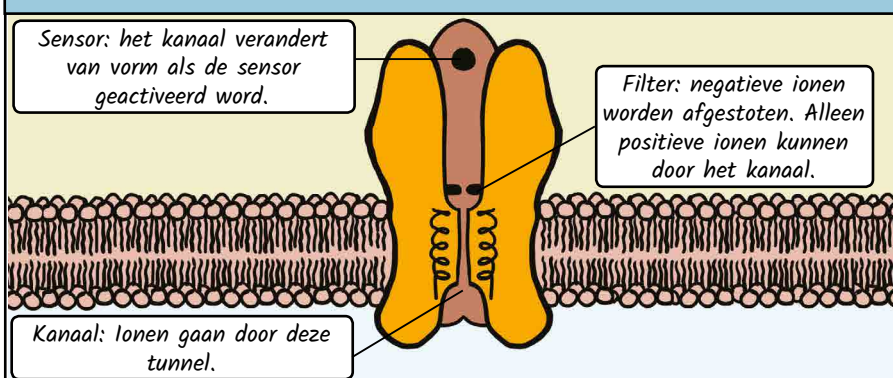


Wanneer je een cel pakt, kun je een beetje extra kracht gebruiken. Er ontstaat dan een gaatje in de cel precies waar de pipet zit. Je kunt dan de stromen in de hele cel meten. Dus ook actiepotentialen.

Met de patch clamp techniek kun je elke cel die je kunt pakken meten. Je bent niet meer afhankelijk van absurd grote inktvisneuronen.



Neher en Sakmann ontwikkelden ook een theorie over de werking van ionkanalen. Een natriumkanal is hier te zien.



Sensor: het kanaal verandert van vorm als de sensor geactiveerd wordt.

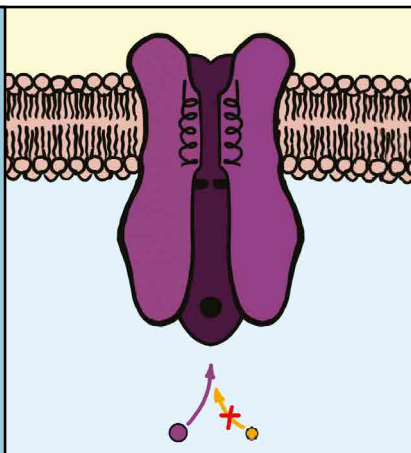
Filter: negatieve ionen worden afgestoten. Alleen positieve ionen kunnen door het kanaal.

Kanaal: Ionen gaan door deze tunnel.

Neher en Sakmann kregen de Nobelprijs voor Fysiologie of Geneeskunde in 1991 voor hun ontdekkingen.

Neher en Sakmann lieten echter een nieuw raadsel achter. Natriumkanalen filteren op grootte. Alleen hele kleine, positieve ionen kunnen erdoor.

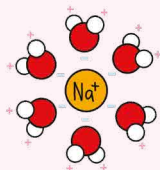
Maar hoe kan het dat een kaliumkanaal wel kaliumionen doorlaat, maar niet de iets kleinere natriumdeeltjes?



De puzzel werd in 1998 opgelost door Roderick MacKinnon en zijn team. Dit leverde hem in 2003 de Nobelprijs voor de Chemie op.

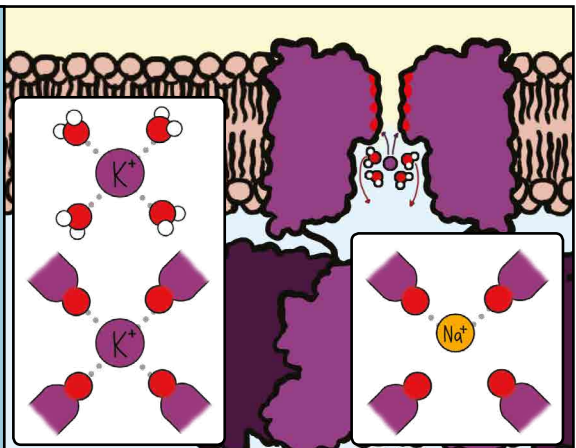


Ionen trekken door hun lading watermoleculen aan. Die zijn polair. Ionen zijn dus omringd door een schil van water.

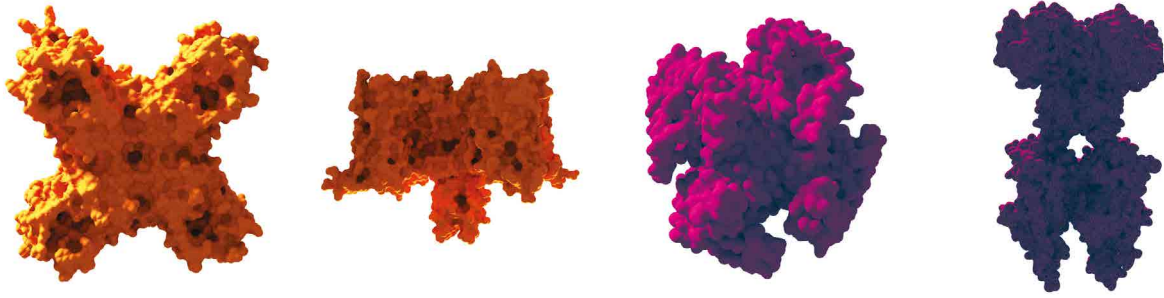


Polaire moleculen zijn een soort magneetjes. Ze hebben een positieve en een negatieve kant, maar hun totale lading is 0.

Om door een kaliumkanaal te gaan, moet een ion zijn schil afstoten. Het ion moet dan een verbinding aangaan met de moleculen in het filter. De filtermoleculen zijn zo geplaatst dat ze werken voor een waterschil van een bepaalde grootte. Natrium heeft een te kleine schil om door het kanaal te gaan.



Het team van MacKinnon gebruikte veel modellen en methoden. Röntgenkristallografie is misschien wel de interessantste. Je gebruikt de weerkaatsingen van Röntgenstralen om de vorm van een molecuul te bepalen. Vandaag de dag zijn onder andere de 3D-structuren van natrium- en kaliumkanalen uitgerekend met deze techniek.



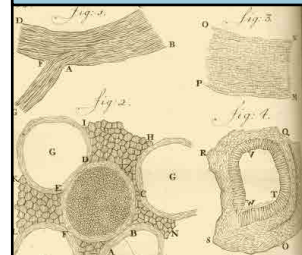
Inmiddels zou het redelijk duidelijk moeten zijn hoe een neuron "praat" via stroompjes en geladen deeltjes. Maar dit is slechts een deel van het verhaal. De vorm van een cel speelt namelijk ook een belangrijke rol in hoe een neuron werkt.

De Nederlandse Antoni van Leeuwenhoek onderzocht rond 1674 zenuwcellen met zijn eigengemaakte microscopen. Als een van de eersten legde hij fijne details vast.



Van Leeuwenhoek zijn beste microscoop vergrootte maar liefst 267 keer.

Van Leeuwenhoek wist de grove structuren van zenuwen te beschrijven.



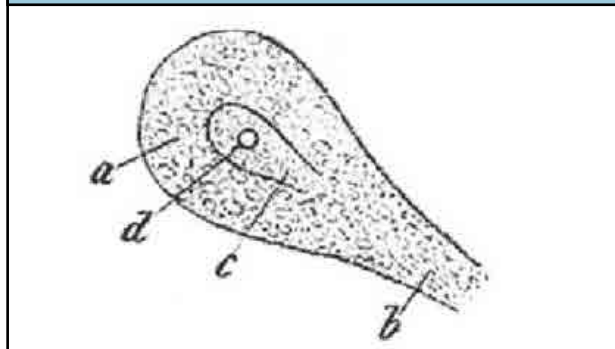
Antoni gebruikte saffraan om de cellen te kleuren. Zo zag hij ze beter.

Maar hersencellen zitten heel dicht op elkaar gepakt. Zelfs met moderne belichtingstechnieken en microscopen zien neuronen eruit als wazige grijze klodders.

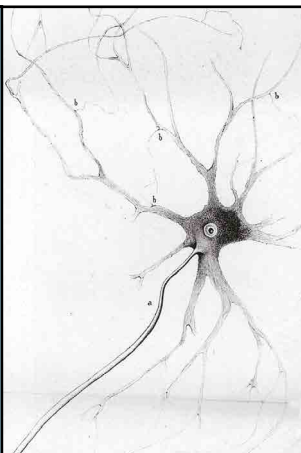


Dus 150 jaar later was er nog niet veel bekend over de fijne structuur van het brein.

Maar de microscooptechniek werd langzaam beter. De eerste grove tekening van een zenuwcel werd in 1836 gemaakt door de Duitse Gabriel Valentin.



In 1865 zag Otto Deiters dat een neuron vertakkingen heeft. De Duitser beschreef dat er pootjes zijn met heel veel vertakkingen. Deze noemen we dendrieten. Ook is er een pootje dat zich niet vertakt. Dit is de axon.



Veel structuren in het brein werden daarna in kaart gebracht door de Spanjaard Santiago Ramón y Cajal. Het kostte hem wel wat moeite om een keurige wetenschapper te worden.



De rond 1850 geboren Cajal droomde er namelijk van om kunstenaar te worden.



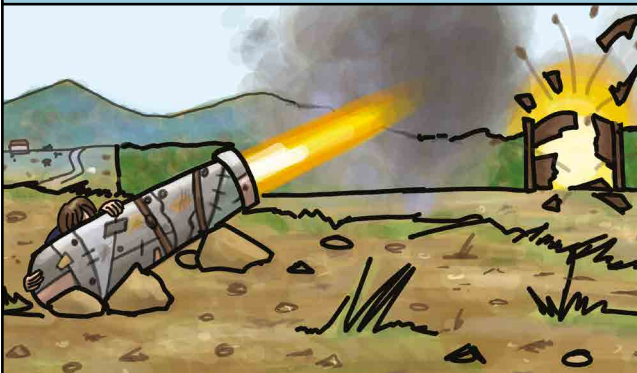
Maar zijn vader was arts en wilde per se dat zijn zoon dat ook werd.

Er was alleen één klein probleempje: de kleine Cajal had een groot probleem met autoriteit.



Hij werd van meerdere scholen gestuurd vanwege zijn rebelse gedrag.

Op een saai middag bouwde Cajal een kanon. Hij schoot het tuinhok van zijn buurman kapot.



Voor deze actie eindigde hij in de gevangenis.



Hij was elf.

Jarenlang bleef Cajal opstandig. Hij droomde nog altijd van een leven als kunstenaar. Maar toen hij 16 was, nam zijn vader hem mee naar een kerkhof. Daar zochten ze naar stoffelijke resten om te bestuderen. Het tekenen van botten fascineerde de rebel.



Met nieuwe motivatie studeerde Cajal dan tóch af als arts. Hij werd begeleid door zijn vader.



Tegen de tijd dat hij afstudeerde was Santiago de minder rebelse Cajal. Zijn kleine broertje Pedro Cajal rende weg van huis toen hij 17 was. Hij reisde als verstekeling op een schip naar Zuid-Amerika, werd gekielhaald, vond een baan als soldaat in de Uruguayaanse oorlog, werkte jarenlang voor de rebellen en werd uiteindelijk gepakt voor het stelen van een geweer en paard van de legergeneraal. Het Spaanse consulaat kon net voorkomen dat hij de doodstraf zou krijgen. Pedro keerde na 7 jaar terug naar Spanje, na minstens 3 bijna-dood ervaringen. Hij werd later een erg succesvol arts en zelfs professor.



Santiago Cajal ging als medisch officier bij het leger. Hij werd naar Cuba gestuurd. Daar kreeg hij zowel tuberculose als malaria. Hij nam ontslag om beter te worden.

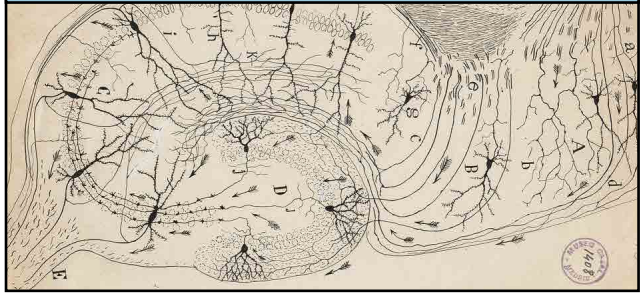


Cajal ging werken als wetenschapper. Hij werd professor in Barcelona in 1887. Daar leerde hij over het werk van de Italiaanse Camillo Golgi.

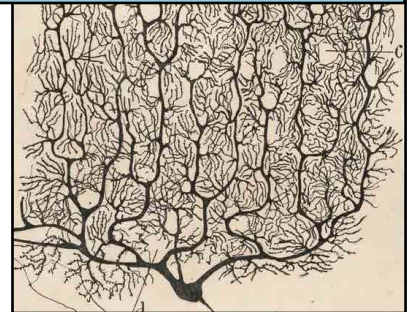
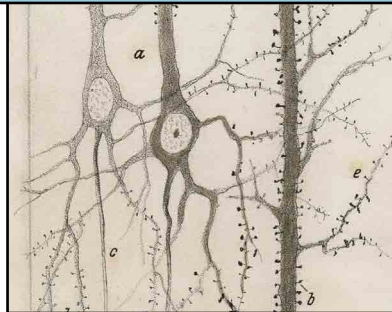
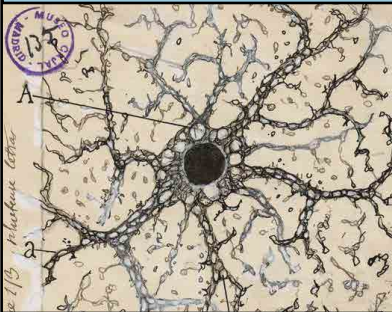


Golgi had een manier ontdekt om neuronen te kleuren. Zo worden ze duidelijk zichtbaar (zie achtergrond).

Eindelijk was er een manier om de fijne details van het brein te onderzoeken! Cajal verbeterde Golgi's methode. Zijn getrainde kunstenaarsoog en zijn intuïtie hielpen hem vervolgens om te tekenen en beschrijven wat hij zag.



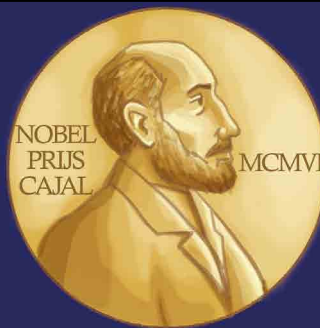
Cajal deed veel baanbrekende ontdekkingen. Hij beschreef dat neuronen informatie krijgen van andere cellen via hun dendriten. Neuronen sturen informatie uit via hun axon. Verder ontdekte hij dat neuronen helemaal niet glad zijn maar kleine stekeltjes hebben. Ook beschreef hij nieuwe soorten cellen en structuren.



Zijn beroemdste werk is zijn "neuron-doctrine". Hij bewees dat cellen onafhankelijk van elkaar werken. Dit ging tegen de theorie in dat alle zenuwcellen samen als één geheel werken.



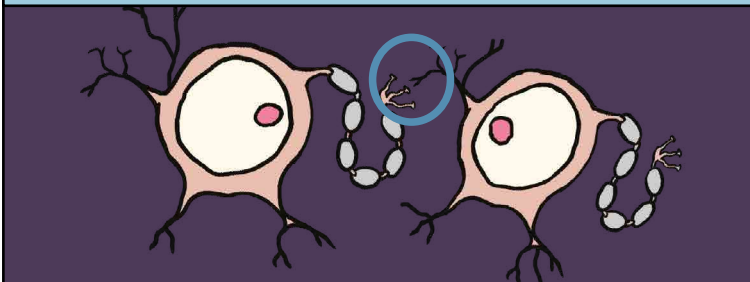
Santiago Ramón y Cajal en Camillo Golgi deelden de Nobelprijs in Fysiologie of Geneeskunde in 1906.



Vandaag de dag wordt Santiago Ramón y Cajal geëerd als de vader van de moderne neurowetenschap. Zijn kunst hangt in universiteiten én musea. Dus uiteindelijk is de eigenwijze Cajal toch nog een wereldberoemde kunstenaar geworden.

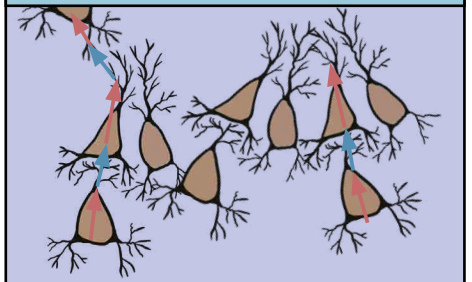


De Engelse Charles Sherrington raakte geïnspireerd door Cajal. Ook hij bestudeerde de communicatie tussen cellen. Het punt waar cellen elkaar lijken te raken, trok zijn aandacht. Hij noemde het de "synaps".



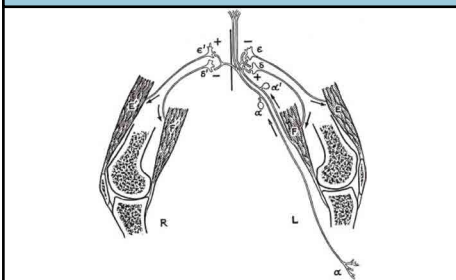
Synaps betekent raakpunt in het oud-Grieks. De bekende classicus Arthur Verrall stelde deze naam voor aan Sherrington.

Sherrington bedacht dat een elektrische AP in een ander signaal wordt omgezet. Dit gebeurt als het tussen cellen overspringt.



Deze theorie verklaarde waarom cellen onafhankelijk van elkaar kunnen werken.

Sherrington bestudeerde ook reflexen. Hij liet zien dat neuronen elkaar kunnen activeren maar ook afremmen.



Hij kreeg de Nobelprijs in Fysiologie of Geneeskunde in 1932.

The theorie van Sherrington voedde een oude, slepende discussie tussen wetenschappers. Communiceren neuronen alleen via elektrische stromen, of zijn er ook chemische stoffjes bij betrokken?

En toen was daar Otto Loewi. Hij zoon op een manier om te bewijzen dat spieren via chemische stoffjes praten. Maar hij wist niet precies hoe. In 1921 droomde hij van de manier om de puzzel op te lossen. Een blij Loewi krabbelde zijn droom op een kladpapiertje.

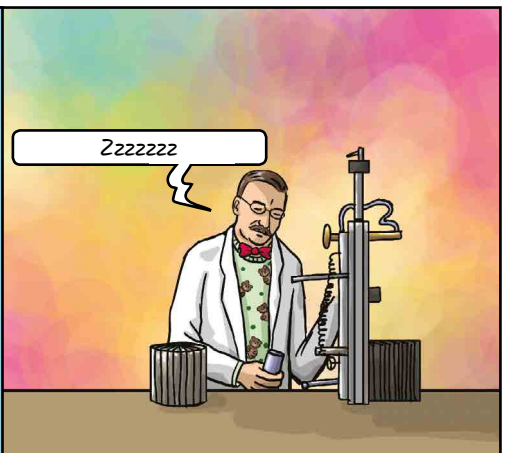
Zzzzzzz

Maar de volgende dag kon Loewi zijn eigen handschrift niet meer lezen. De hele dag pijnigde hij zijn brein in de hoop dat hij zich zijn droom wist te herinneren.



Mocht je het je afvragen: Ja, Otto Loewi was eigenlijk een arts.

Maar de droom kwam de volgende nacht terug. Dit keer stond Loewi op, greep zijn labjas en ging aan het werk. Zijn experiment zou bewijzen dat spieren inderdaad via chemische stoffen met elkaar kunnen praten. En ook Loewi zou een Nobelprijs winnen voor zijn onderzoek.

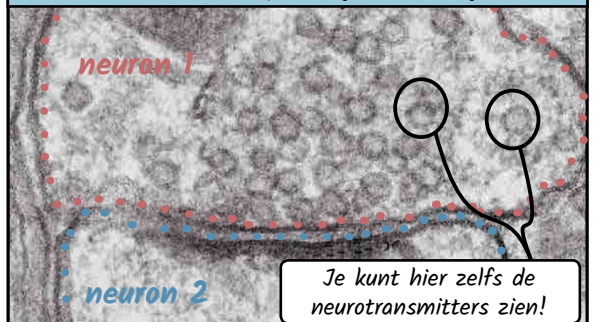


John Eccles bewees uiteindelijk in de jaren 50 dat ook het signaal in de synaps via chemische stoffjes (neurotransmitters) gaat. En dus niet via elektriciteit. Eigenlijk probeerde Eccles precies het tegenovergestelde de bewijzen. Hij kreeg de Nobelprijs in 1963.

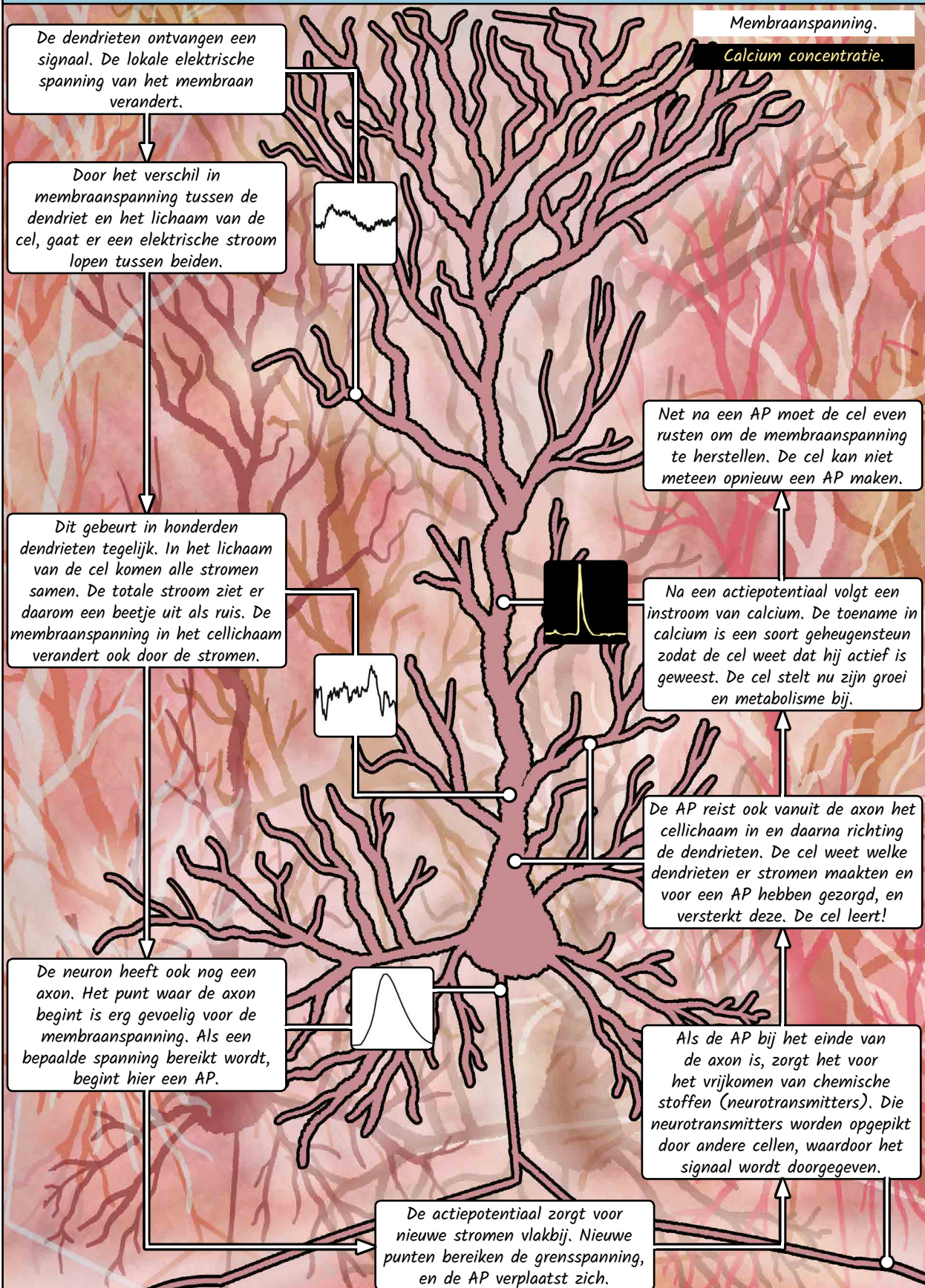


Eccles liet ook zien dat neuronen heel veel signaaltjes nodig hebben om actief te worden. Neuronen krijgen voortdurend kleine activerende en afremmende signalen.

De vorm en de werking van de neuron kwamen vanaf de jaren 50 weer bij elkaar. De elektronenmicroscopie liet en laat zien hoe neuronen in elkaar zitten. Tot in de fijnste details. En tot op de dag van vandaag.



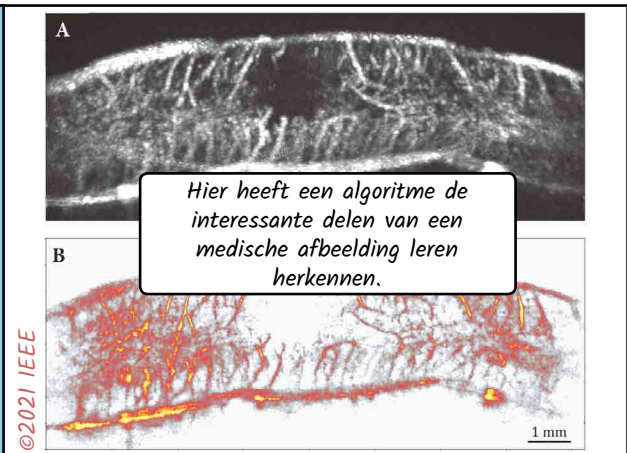
Als je de ideeën van Hodgkin en Huxley, Cajal, Sherrington en vele anderen combineert, dan weet je dat de volgende gebeurtenissen plaatsvinden voor, tijdens en na een actiepotentiaal:



Dit is een versimpelde beschrijving van een actiepotentiaal, en alleen relevante informatie voor deze thesis zijn genoemd. Verder zijn er vele uitzonderingen te vinden in de natuur. Ten slotte zijn de membraanspanningen e.d. niet op dezelfde tijdschaal weergegeven.

Je weet nu welke belangrijke kennis er in de loop van de geschiedenis over de werking van neuronen naar boven is gekomen. Maar hoe zit het met de toekomst?

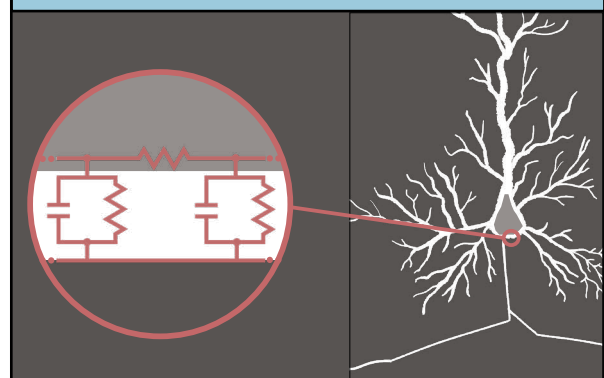
Want er vinden momenteel super interessante ontwikkelingen plaats! In de eerste plaats is er natuurlijk kunstmatige intelligentie, wat de leerprocessen in het brein nabootst.



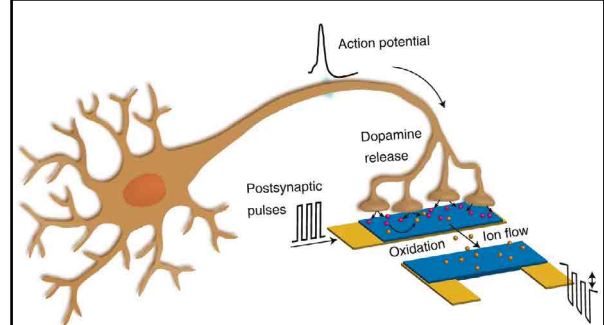
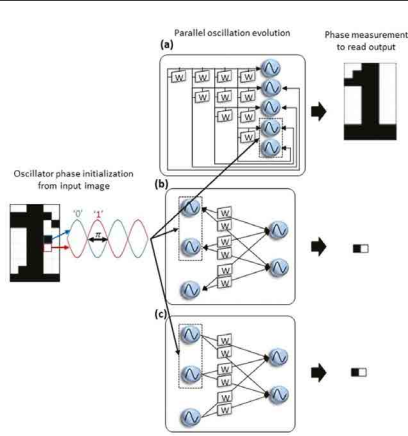
Brein-op-een-chip onderzoek is momenteel bezig met het kweken van kleine breintjes op sensoren. Je kunt zo hele netwerken van neuronen tegelijk bestuderen.



Modelstudies vinden steeds nieuwe details uit over het signaalgedrag van neuronen.

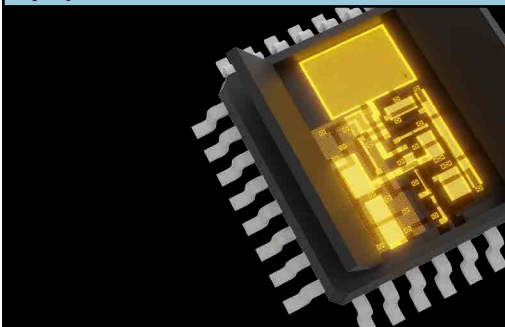


Onze kennis van het brein heeft zelfs het punt bereikt dat we neuromorfische apparaten maken. Kunstmatige neuronen worden gemaakt van computerchips, en deze kunnen problemen oplossen net zoals breinnetwerken dat kunnen.

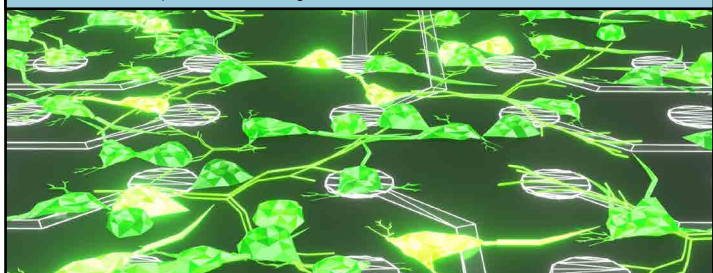


Organische neuromorfische apparaten worden ook bestudeerd. Deze zijn door mensen gemaakt, maar zijn van organisch materiaal en kunnen worden geïmplant.

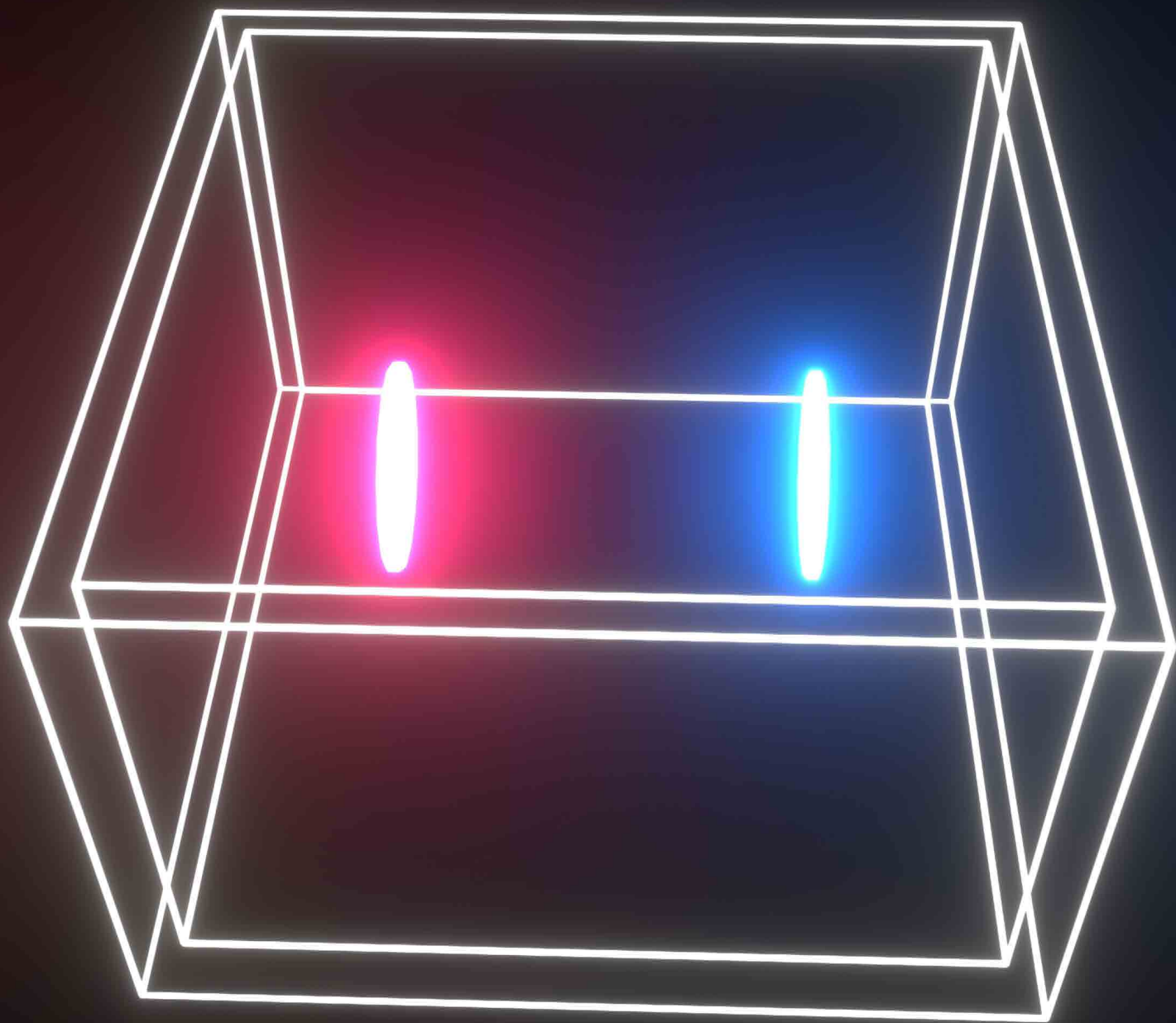
Om al deze fascinerende ontwikkelingen bij te benen, werk ik momenteel aan een PostDoc in analoog chipontwerp. Ik hoop dat ik me op een dag bij een van deze onderzoeken kan aansluiten.



Ik heb gekozen voor analoge chips omdat de geschiedenis me heeft geleerd dat heel veel doorbraken in de neurofysiologie gebaseerd zijn op ontwikkelingen uit de elektrotechniek.

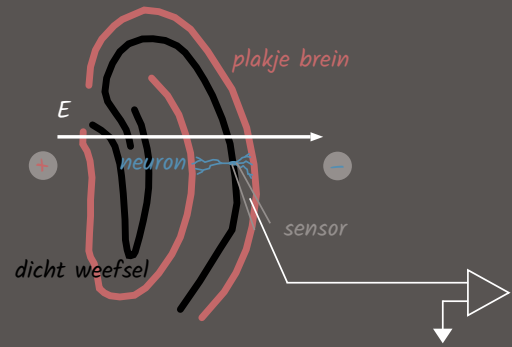


Het brein is immers net een elektrisch circuit. Maar wel een heel, heel ingewikkeld circuit.



Studie 1: Elektrische velden in neuron-gerelateerde experimenten

Moderne onderzoeken in de breinstimulatie richten zich deels op experimenten om de effecten van een elektrisch veld op het brein te voorspellen. Een ander deel wordt gedaan via computermodellen. De data die wordt verzameld via experimenten wordt dan gebruikt om de modellen te maken. De modellen helpen dan weer om bijvoorbeeld neuronale netwerken beter te begrijpen. De experimenten worden vaak gedaan op kleine plakjes brein (1 tot 2 cm breed).



Een stukje brein (de hippocampus voor connaisseurs) in een typische meetsetup. Soms worden enkele cellen gemeten, maar er zijn ook studies die het effect van een elektrisch veld op het hele plakje brein bestuderen.

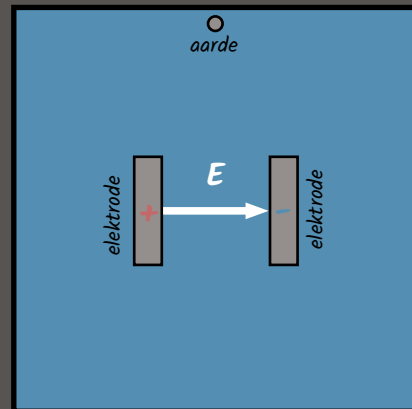


De details van een model moeten zo compleet en correct mogelijk zijn. Er wordt immers een medische techniek ontwikkeld. Daarnaast zijn de modellen die het gedrag van neuronen beschrijven vrij grillig. Een kleine verandering in een parameter kan al voor een groot verschil in de uitkomst van een model zorgen.

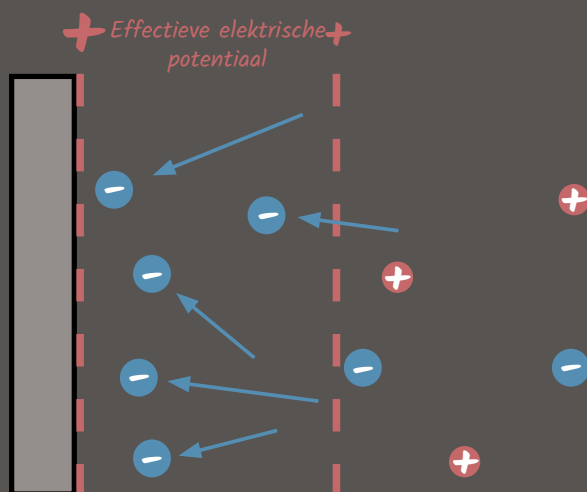
Tijdens een experiment wordt een elektrisch veld meestal gemaakt met behulp van twee elektrisch geladen platen. Dit zijn de elektrodes. Het wordt vaak aangenomen dat deze elektrische velden uniform zijn. Dat wil zeggen dat het veld overal tussen de elektrodes even sterk is.

De elektrische veldsterkte is een belangrijke parameter die je dan ook moet meten. In een uniform veld maakt het niet zo veel uit waar je een meetsensor plaatst; het veld is toch overal hetzelfde. Het plaatsen van twee sensoren ergens tussen de elektrodes is genoeg om het veld te berekenen. Dus dat is momenteel de standaard.

Maar het maken van een uniform veld is in de praktijk extreem moeilijk. Elektrische velden worden heel snel zwakker op een afstandje van een elektrode. En niet-uniforme velden zijn veel lastiger om te meten.



Bovenaanzicht van een typische meetopstelling. Twee elektrodes, een positief geladen en een negatief, bevinden zich in zout water. Er is ook een sensor die als referentie dient (aarde) in het water. Men neemt vaak aan dat elektrische veld dat zich tussen de elektrodes vormt overal even sterk is.



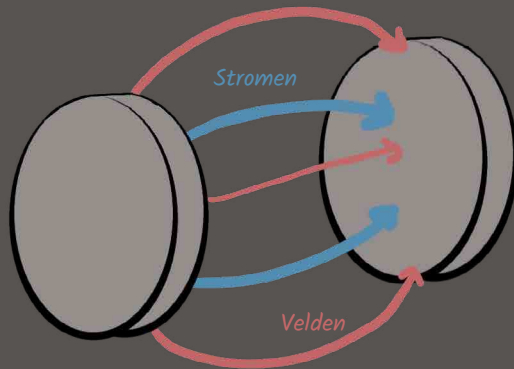
Daarnaast is het maken van een sterk elektrisch veld in zout water een uitdaging. De vloeistof waarin neuronen leven bevat veel geladen deeltjes. Negatieve ladingen worden aangetrokken door de positief geladen elektrode en plakken daaraan vast. Hetzelfde gebeurt aan de negatieve elektrode met positieve ladingen. Dus de elektrische potentiaal van een elektrode wordt deels teniet gedaan: dit heet afschermen. Afscherming zorgt ervoor dat je niet zo'n sterke velden kunt maken.

Dit is een serieuze beperking voor sommige experimenten. Sommige typen breinstimulatie gebruiken velden van slechts 1 millivolt per millimeter, maar andere technieken wel een paar honderd mV/mm.

Het doel voor deze studie was om de uniformiteit en de veldsterkte te onderzoeken voor velden die gemaakt worden in experimenten. Verschillende factoren zoals de temperatuur, de afstand tussen de elektrodes en de vorm van de elektrodes werden onderzocht.

Om de elektrische velden en de veldsterktes uit te kunnen rekenen, maken we gebruik van zogeheten multiphysics software. Deze kan afhankelijke fysische processen doorrekenen.

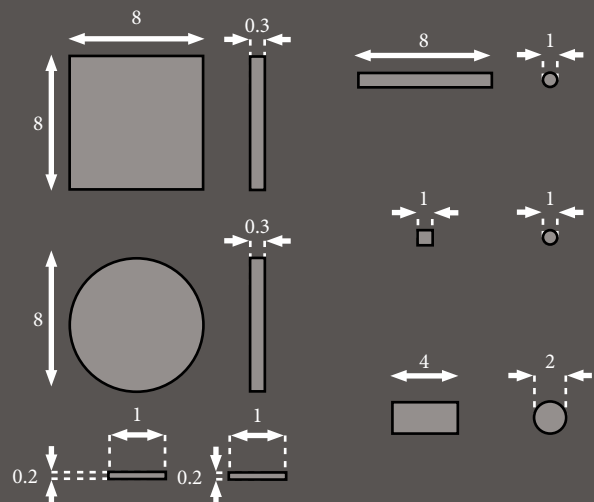
Allereerst modelleerden we de verliezen door afscherming als een verlies aan elektrische stroom. Het Butler-Volmer model berekent de stromen die vanuit de elektrodes de vloeistof bereiken. Deze stromen zijn dan weer afhankelijk van de elektrische spanningen en het materiaal van de elektrodes en van de eigenschappen van de vloeistof.



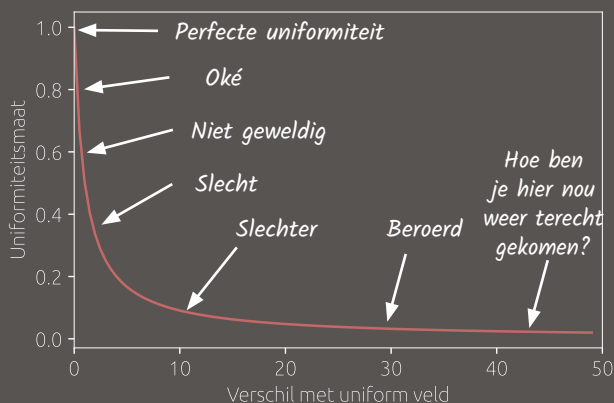
De vormen van de velden worden bepaald door de vorm van de elektrodes en de afstand tussen de elektrodes. De veldsterkte hangt af van de temperatuur van de vloeistof en de elektrische spanning die aan de elektrodes wordt opgelegd. We hebben de velden uiteindelijk doorgerekend voor alle redelijke waarden. Redelijk betekent dat de cellen niet meteen doodgaan (temperaturen tussen de 20 en 37 °C) en dat je het water niet per ongeluk elektrolyseert (spanningen ≤ 1.2 V).

$$J = J_0 [\exp(\alpha_a F \eta / R_g T) - \exp(\alpha_c F \eta / R_g T)]$$

Je kunt de elektrische velden berekenen uit elektrische stromen. Dus als tweede stap gebruikten we de elektrische stromen die we in stap 1 vonden om de velden te bepalen. Hierbij zijn ook wat materiaaleigenschappen van de vloeistof voor nodig, en ook die hebben we bepaald met een model.



Er zijn zes vormen elektroden getest: vierkanten platen, ronde platen, dunne plakjes, lange draden, korte draden en dikke draden. Elk van deze vormen elektroden wordt ook gebruikt bij studies naar neuronen.



Een heel erg versimpeld figuur van het verschil tussen een daadwerkelijk veld en een uniform veld tegen de uitkomst van onze rekenmethode. Een verschil van 10 betekent bijvoorbeeld dat het echte veld over de hele ruimte gezien gemiddeld zo'n 10 keer zwakker is dan een uniform veld (of 10 keer hoger). Maar nogmaals, de daadwerkelijke situatie is veel complexer.

We hebben de uniformiteit van de velden berekend met een nieuwe methode die we hebben ontwikkeld: de uniformiteitsmaat. In het kort bepalen we hoe een veld er in 3D zou hebben uitgezien als het perfect uniform zou zijn. En daarna bepalen we hoe veel het daadwerkelijke veld daarvan afwijkt. We schalen dit om naar een schaal van 0 tot 1. Die schaal loopt niet evenredig op, dus eigenlijk zijn alleen hele hoge waarden van uniformiteit acceptabel.

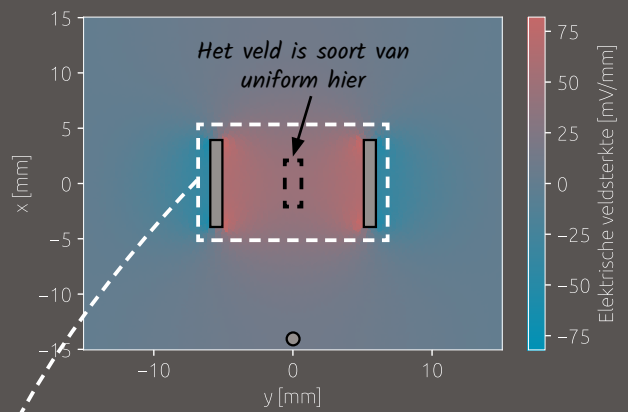
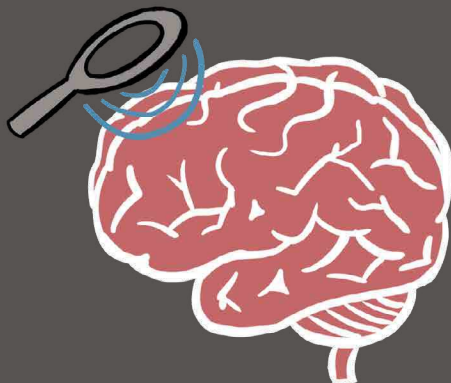
Het is misschien niet zo verrassend, maar we vonden uiteindelijk dat zelfs de meest gunstige setup geen uniforme velden kan maken. De velden zijn veel hoger bij de elektrodes dan op een afstandje. De veldsterkte varieert wel minder op een afstand van een elektrode. Dus als je interesse hebt in cellen in een klein gebiedje dat ver weg ligt van de elektrodes (dit is gebruikelijk bij enkele cel experimenten), dan kom je er mee weg. Het is nog steeds beter om wel rekening te houden met niet-uniformiteiten als je een model maakt.

Experimenten die cellen in het hele plakje brein stimuleren (netwerk experimenten) moeten wel echt rekening houden met de niet-uniformiteit van het veld. De velden zijn namelijk soms wel tien keer groter bij de elektrodes dan midden tussen de elektrodes in.



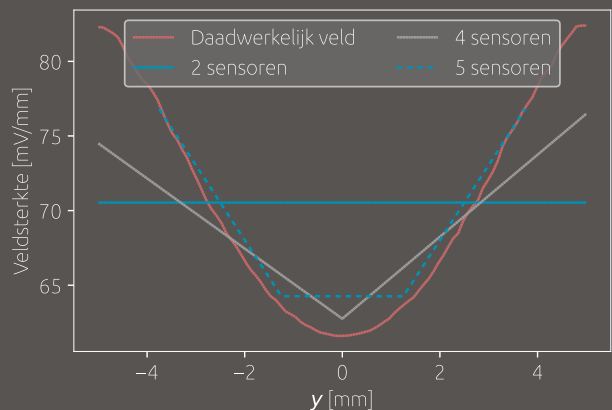
Merk ook op dat de maximale veldsterkte 75 mV/mm in plaats van $1200\text{mV}/10\text{mm} = 120\text{ mV/mm}$. Dit zijn afschermingsverliezen.

De niet-uniformiteit van de velden betekent ook dat het **wel** uitmaakt waar je sensoren om het veld te meten plaatst. Als je sensoren dicht bij de elektrodes zet, dan overschat je de veldsterkte in het midden. Dit gebeurt waarschijnlijk regelmatig tijdens experimenten. Het betekent ook dat twee sensoren niet genoeg zijn om het 3D veld te meten. Je moet meer sensoren gebruiken: hoe meer, hoe beter.



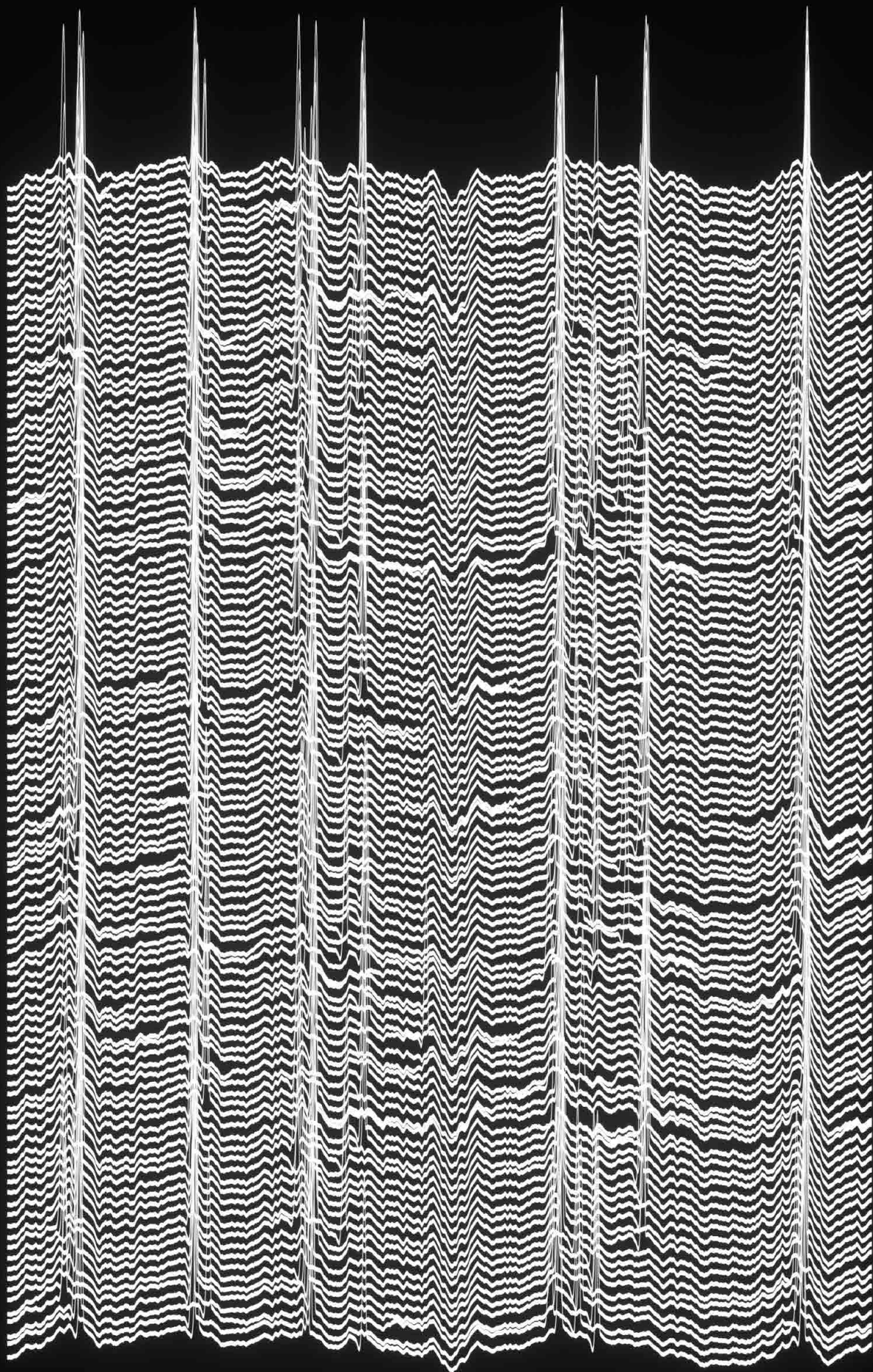
De veldsterkte voor twee vierkante plaatel Elektrodes op 10 mm afstand bij een 1.2 V spanning: +0.6V staat op de ene plaat en -0.6V op de andere.

Daarnaast hebben we berekend dat grofweg 40% van de energie verloren gaat aan afschermingseffecten ... in het beste geval. In het voorbeeld links, wat de meest gunstige setup laat zien, worden velden van maar 75mV/mm gemaakt bij de elektrodes. De veldsterkte zakt zelfs naar 45mV/mm in het midden tussen de elektrodes. Dit is ver onder de veldsterkte die intensieve breinstimulatie gebruikt. Je kunt de elektrodes wel dichter bij elkaar zetten om sterkere velden te maken, maar dan gaat de uniformiteit weer achteruit.



De lokale veldsterkte en vorm die wordt berekend uit verschillende aantallen sensoren. De sensoren zijn gelijk verdeeld over de ruimte. Merk hier op dat de beschrijving van het veld beter wordt voor meer sensoren.

Concluderend worden neuronale modellen vaak gemaakt met wat versimpelde aannames over de elektrische velden. De sterkte en de vorm van het elektrische veld zouden beter moeten worden gemeten tijdens experimenten. De nauwkeurigere velden moeten dan worden meegenomen in modelstudies. Omdat neuronale modellen zo gevoelig zijn, moeten de experimentele details correct zijn. We willen immers allemaal het effect van breinstimulatie, een medische behandeling voor complexe en intense ziektes, zo nauwkeurig mogelijk voorspellen.



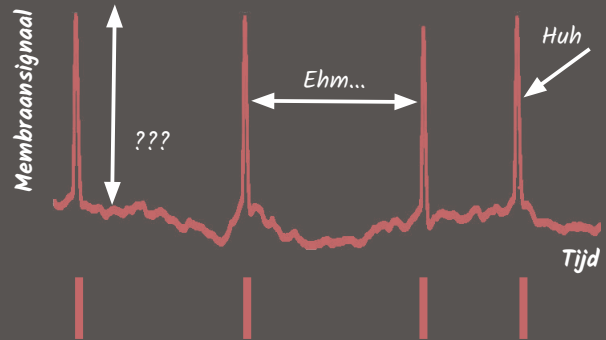
Studie 2: De invloed van elektrische velden op de signalen van neuronen

Neuronen praten met elkaar in de vorm van actiepotentialen. Die worden door hun vorm ook wel pieken genoemd. Momenteel heeft de wetenschap maar een vaag idee van wat neuronen tegen elkaar zeggen. We weten niet waar de informatie precies is verstopt. Misschien zit het in de hoeveelheid pieken, de tijd tussen de pieken, of het precieze tijdstip van een piek. Waarschijnlijk verschilt de code per type cel, en er kan ook nog informatie verstopt zitten in het neuronale netwerk waar een cel in leeft ... Er zijn nog heel erg veel onbeantwoorde vragen.

Te zijn || ! te zijn

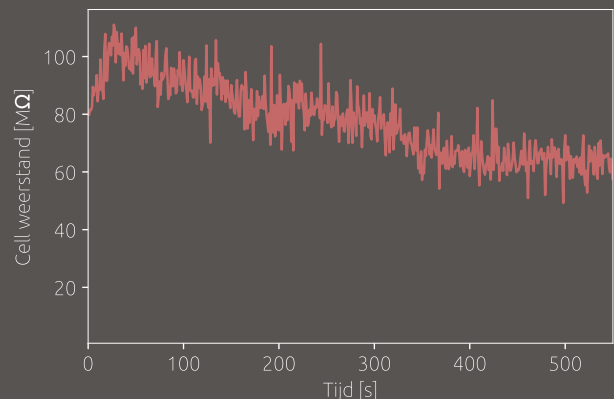


De eerste uitdaging als het op neuronen bestuderen aankomt, is dat cellen levende wezens zijn. Ze passen zich aan gedurende een experiment. Daarnaast verandert de elektrische weerstand van de meetapparatuur omdat het bijvoorbeeld vies wordt. Dus je kunt experimenteren totdat je een neuron vindt wiens gedrag niet al te veel verandert tijdens een meting (dit wordt soms gedaan), of je kunt een manier verzinnen om om dit probleem heen te werken.

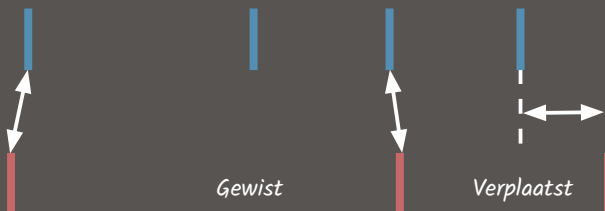


Het precieze moment van een piek wordt vaak met een balk aangegeven.

Maar voordat we in een cirkel van filosofische - en levensvragen terecht komen: we zijn geen neurobiologen, dus we kunnen de neuronale signalen gewoon niet vertalen. Maar we willen toch weten of een elektrisch veld invloed heeft op het signaalgedrag van een neuron. Dus we gaan beschrijven dat er iets verandert aan de patronen van de pieken die een neuron maakt, zonder dat we weten wat dat betekent. Gewoon, voor het geval iemand op een dag de neuronale code kraakt.



De elektrische weerstand van een normale, gezonde cel gemeten met standaard meetapparatuur gedurende bijna 10 minuten. De weerstand verandert in een korte tijd met tientallen procenten. Deze veranderingen zijn van veel invloed op de patronen die een cel maakt.



Maten vergelijken twee piekpatronen vaak door een score toe te kennen aan de verschillen. Dit betekent dat patronen waarbij er alleen maar pieken verplaatsen misschien wel dezelfde score krijgen als patronen waarbij er alleen pieken worden gewist. Wij kiezen voor een ander systeem, want we zien geen manier om patroonveranderingen eerlijk te wegen.

De studie naar patroonveranderingen staat zelf ook nog ter discussie. Er zijn al methodes om veranderingen in het signaalgedrag te beschrijven, maar die maten beschrijven vaak alleen de totale hoeveelheid veranderingen tussen hele metingen. Maar wij willen precies weten wat deze veranderingen zijn: pieken wissen of pieken verplaatsen betekent misschien wel iets heel anders in neuron-taal. Dus we hebben besloten om de veranderingen per piek te bekijken in plaats van alle veranderingen tegelijkertijd.

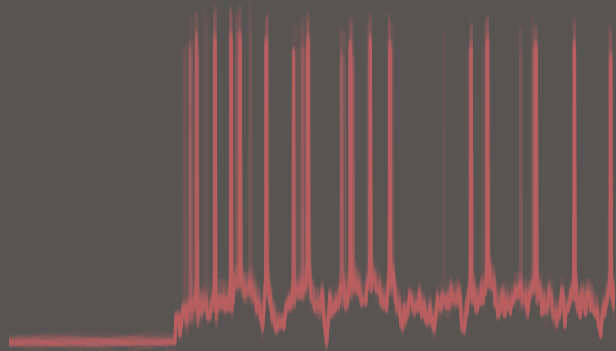
Dus we hadden twee doelen voor dit onderzoek: 1. Uitdokteren hoe we stabiele piekpatronen kunnen maken. 2. Een manier verzinnen om de veranderingen tussen piekpatronen te beschrijven. We hebben daarvoor experimenten en een nieuwe maat ontworpen. En we hebben daarna laten zien welke patroonveranderingen elektrische velden introduceren.



Om data te verzamelen en onze methode te demonstreren, hebben we patch clamp experimenten gedaan. We hebben neuronen van het type CA1 gebruikt. Dit zijn cellen die een rol hebben in het geheugen. Ook weten we dat ze gevoelig zijn voor elektrische velden.

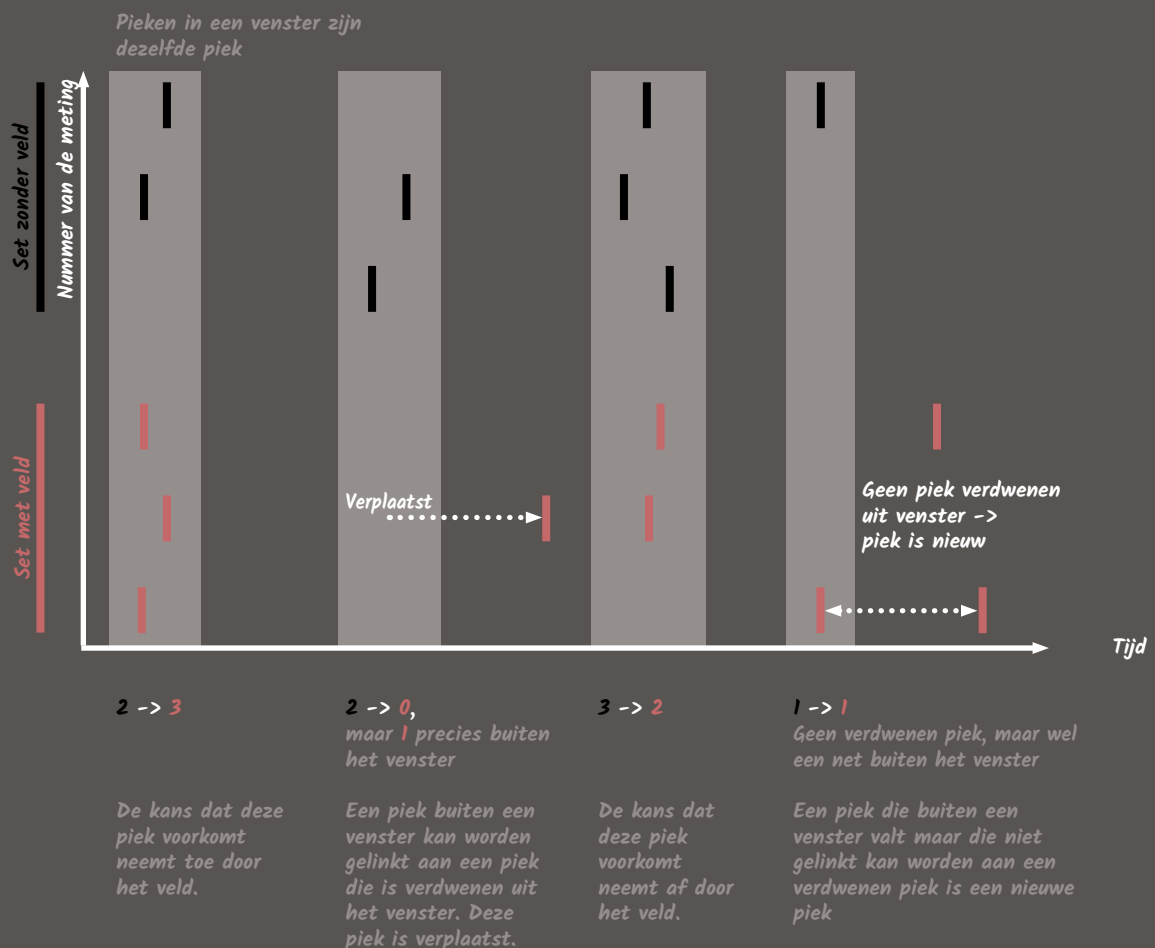
We hebben het eerste probleem, het stabiliseren van de piekpatronen, als volgt aangepakt. We hebben de elektrische weerstand van het systeem regelmatig gemeten. De elektrische stroom die we aan de neuronen voerden hebben we vervolgens steeds aangepast.

Dit leek te werken: ongeveer 70% van de piekpatronen tussen metingen was hetzelfde. Deze overlap hebben we geschat met statistiek.



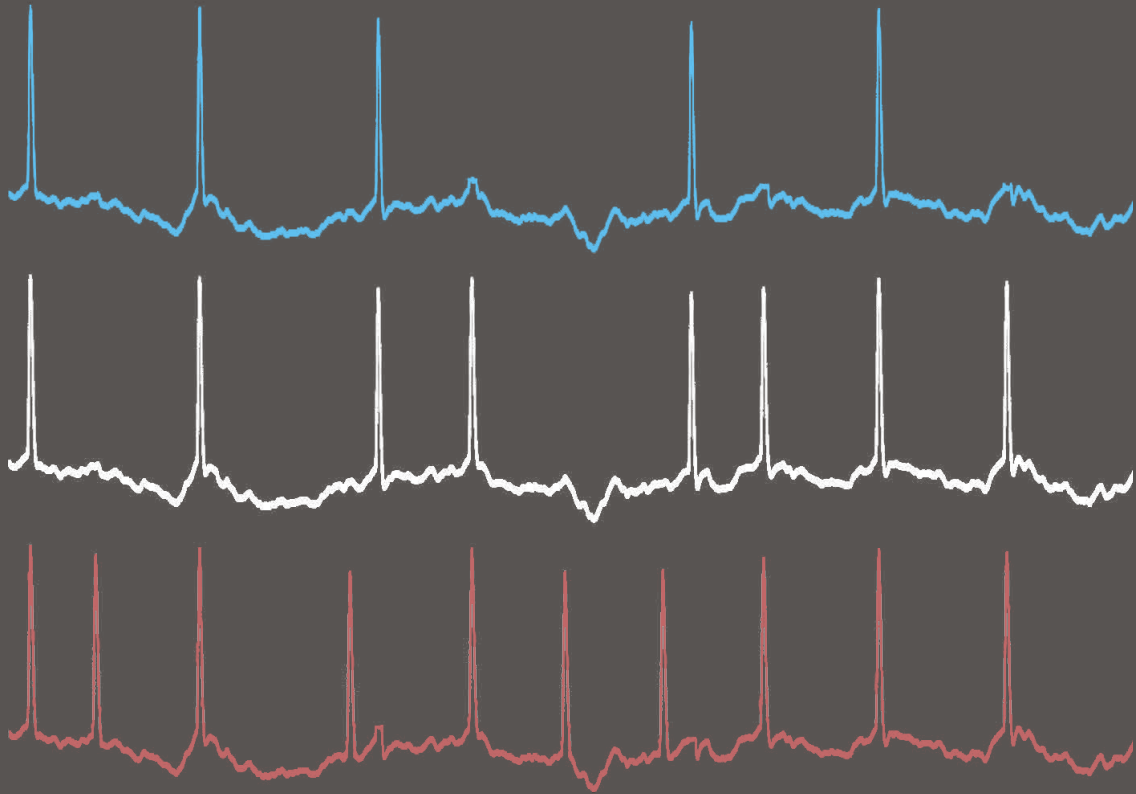
36 metingen in dezelfde cel. Hoe roder een stukje lijn, hoe meer de patronen overlappen. Het plaatje op pagina 26 laat zelfs 108 metingen in dezelfde cel zien. Ook daar zie je dat de patronen erg op elkaar lijken.

Nu we een methode hebben om betrouwbare patronen te maken, kunnen we het effect van elektrische velden in kaart brengen. Om de fijne details van de patroonveranderingen te bestuderen, delen we de patronen in in sets van 3 metingen. De pieken die een neuron maakt zijn namelijk niet erg punctueel. Er zit wat speling in het moment waarop een piek komt. Dus eerst moeten we uitzoeken welke pieken in verschillende metingen eigenlijk dezelfde piek zijn. Ook hier hebben we een bak statistiek voor nodig. Uiteindelijk hebben we vensters gedefinieerd. De pieken uit verschillende metingen die binnen een venster vallen noemen we dezelfde piek.



Nu we weten welke pieken hetzelfde zijn, kunnen we uitzoeken op welke punten het patroon is veranderd. We bekijken de metingen met elektrisch veld en de metingen zonder elektrisch veld. We kunnen zo uitvinden welke patroonveranderingen er door een elektrisch veld komen. We hebben per piek bekeken of de kans dat deze voorkomt groter of kleiner wordt, of de piek verplaatst en ook of er nieuwe pieken ontstonden.

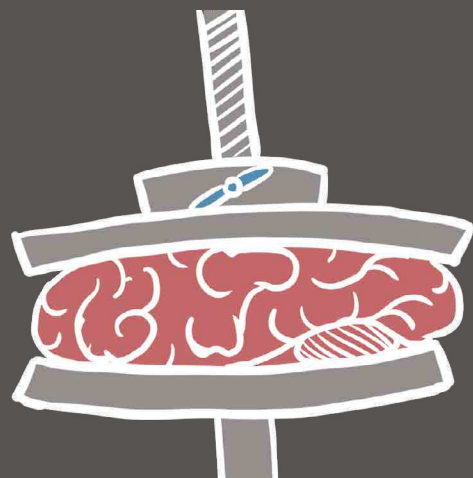
We kwamen er achter dat een negatief elektrisch veld (**blauwe voorbeeldpatroon**) de hoeveelheid pieken vrij fors laat afnemen vergeleken met een meting zonder veld (**wit patroon**). Een negatief veld onderdrukt voornamelijk pieken. Het introduceert weinig nieuwe pieken en het verplaatst ook geen pieken.



Een positief elektrisch veld (**rode patroon**) laat de hoeveelheid pieken met een wat kleinere hoeveelheid toenemen. De kans dat er een piek komt neemt overal in het patroon toe. Dit betekent dat er pieken komen op nieuwe plekken, maar ook dat er een grotere kans is dat bestaande pieken opkomen (op sommige plekken komt een piek niet in elke meting tevoorschijn, zie vorige pagina).

Positieve velden verplaatsen ook pieken. Dit kan verklaard worden door de rusttijd die een neuron nodig heeft na het maken van een piek. Een cel wordt gewoon moe. Dus het maken van een nieuwe piek heeft gevolgen voor de pieken die eigenlijk vlak daarna zouden moeten komen. Dus in de praktijk verplaatst je dan een piek. Ten slotte komen er ook pieken op compleet nieuwe plekken. Dit zorgt ervoor dat het patroon nog verder door de war raakt.

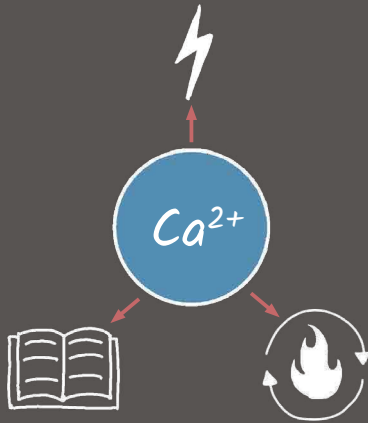
Kortom, een negatief veld verandert een patroon met een grotere hoeveelheid pieken dan een positief veld. Een negatief veld verandert het patroon ook op een meer voorspelbare manier. Het is moeilijk om van tevoren te zeggen waar de extra pieken die door een positief veld gemaakt worden tevoorschijn gaan komen. Deze eerste resultaten suggereren dat breinsuppressie interessant zou kunnen zijn. Breinstimulatie is vaak gebaseerd op het activeren van verschillende gebieden in het brein. Neuronale netwerken beïnvloeden elkaar en balanceren elkaar voortdurend. Dus het onderdrukken van een hersengebied heeft invloed op de activiteit van andere gebieden. En omdat negatieve velden meer voorspelbare effecten lijken te hebben met minder sterke velden, zou het kunnen dat breinsuppressie je uiteindelijk meer controle geeft over de effecten van een behandeling. Maar nogmaals, deze gedachte is gebaseerd op metingen aan een kleine, specifieke groep cellen. Er zou veel meer onderzoek voor nodig zijn om dit idee uit te werken.





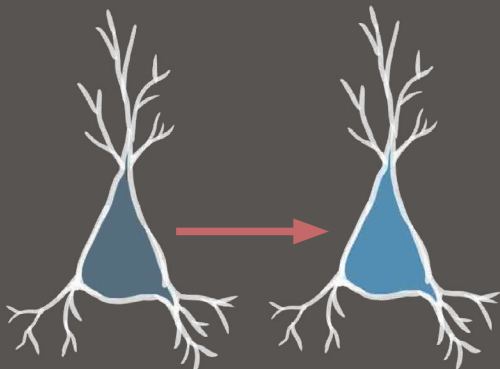
```
float[] data = new float[1000];  
for (int i = 0; i < data.Length; i++)  
{  
    data[i] = (float) Math.Sin(2 * Math.PI * i / 1000);  
}  
// Create a new series  
new float[data.Length]  
{  
    tag; i++;  
}[i] = data[i];
```

Studie 3: Software om calcium-signalen te verwerken



Het derde onderzoek richtte zich op calciumsignalen. Zoals eerder vermeld in het historische overzicht, regelt het calcium in de cel een aantal processen. De belangrijkste daarvan zijn leerprocessen, elektrische activiteit en de stofwisseling. De calciumsignalen tussen deze processen verschillen in vorm en duur. Na een actiepotentiaal verandert de hoeveelheid calcium in de cel voor een paar seconden. Er zijn ook signalen die minutenlang stand houden.

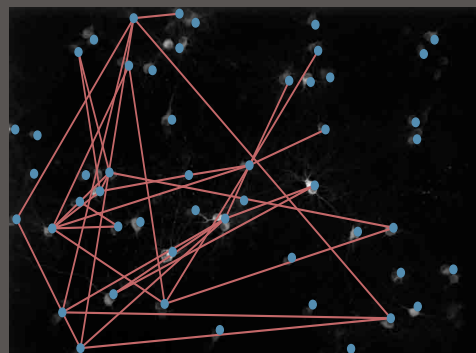
Calcium fluorescentie beeldbewerking is een erg gave techniek die de hoeveelheden calcium in een cel zichtbaar maakt. Je voegt een heel klein beetje van een speciale verf toen aan de neuronen. Daarna lichten de cellen op wanneer er een speciaal licht op schijnt.



De cellen lichten feller op wanneer de hoeveelheid calcium in de cel toeneemt. Omdat de hoeveelheid calcium toeneemt na een actiepotentiaal, kun je de activiteit van een neuron meten via calcium beelden.

Je kunt zelfs grote groepen cellen tegelijk in de gaten houden. Dit helpt om bijvoorbeeld de communicatie tussen cellen in een netwerk in kaart te brengen. Calcium is maar een indirecte maat van de processen in een cel, maar het geeft wel waardevolle inzichten in een neurons gezondheid en signalen.

Het verwerken van calcium beelden is erg intensief. De signalen moeten worden uitgelezen en bewerkt per cel. Er zijn wel wat softwareprogramma's die dat doen, maar die zijn vaak afhankelijk van andere (lees: dure) ondersteunende software. Daarnaast brengen de meeste programma's wel de calciumsignalen in beeld, maar niet de communicatie tussen cellen onderling. En wij zijn juist benieuwd hoe informatie zich verspreidt over een netwerk.

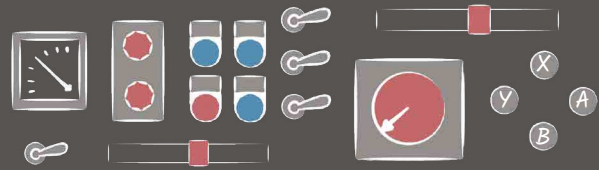


Een voorbeeld van mogelijke communicatiepaden tussen cellen in een netwerk. Dit is gemaakt door onze software.

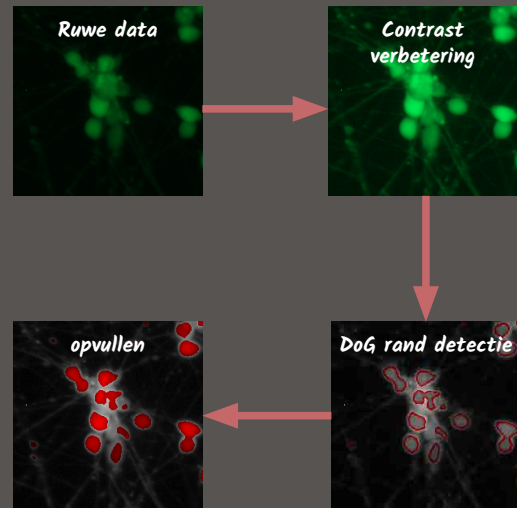
De doelen voor dit onderzoek waren om een programma te schrijven dat calcium fluorescentie beeldbewerking data kan verwerken. De snelheid en het gebruiksgemak waren belangrijk, want in de toekomst willen we neuronen realtime kunnen bestuderen. De prestaties en mogelijkheden van andere software hebben we ook bestudeerd.

Met een team waar ook mijn studievriend en collega Fer bij zat, maakten we een programma genaamd Calima om de beelden te bewerken. Ik moet zeggen dat ik nog steeds erg teleurgesteld ben dat een stukje software om licht-gebaseerde data te bewerken en waarvan Fer de hoofdprogrammeur was, geen LuciFer ging heten (op een of andere manier werd mijn fantastische suggestie door alle andere auteurs weggestemd).

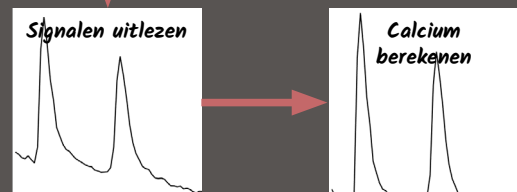
We vonden het geen goed idee om alle dataverwerking te automatiseren. Cellen zijn nogal grillig, en wat werkt voor de ene groep klopt totaal niet voor de andere. We wilden de gebruiker dus de ruimte geven om dingen aan te passen. Daarom kun je bij elke stap dingen finetunen. We hebben wel suggesties gedaan voor elke parameter die kan worden aangepast.



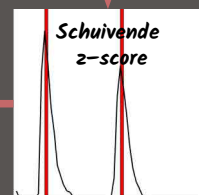
De eerste stap om de data te verwerken was het vinden van de cellen. Het contrast van de data werd eerst verbeterd. Daarna werd een Gaussiaans verschilfilter gebruikt (DoG). Een DoG-filter vervaagt een afbeelding twee keer met net iets andere instellingen. Daarna bekijk je de verschillen tussen beide resultaten. Stukken met een sterk contrast (dus lichte cellen met een donkere achtergrond) reageren anders op verschillende hoeveelheden vervaging. Dus je kunt heel makkelijk randen van cellen opsporen met deze methode. Deze randen werden vervolgens opgevuld tot hele cellen.



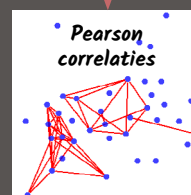
Als tweede werd de data uitgelezen per cel. Het gemiddelde van alle pixels in een cel werd gebruikt om het ruwe signaal te berekenen. Daarna werd een standaard formule gebruikt om de (relatieve) calciumsignalen te berekenen uit de ruwe signalen.



Een piek in de calcium activiteit kan betekenen dat een cel zojuist een actiepotentiaal heeft gemaakt. Dus de pieken van de calciumsignalen werden daarna bekeken. Een schuivende z-score werd gebruikt om de pieken te vinden. Je schat dan hoe veel ruis er in een signaal zit. Als het signaal plotseling (ver) boven die ruis uit komt, moet het wel een piek zijn.

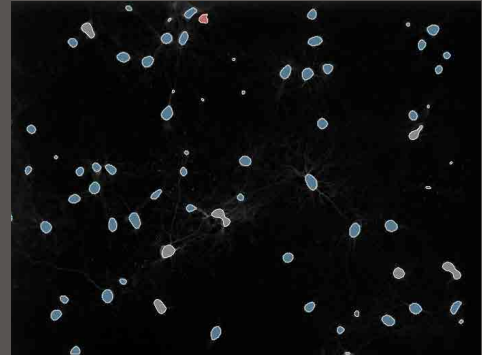
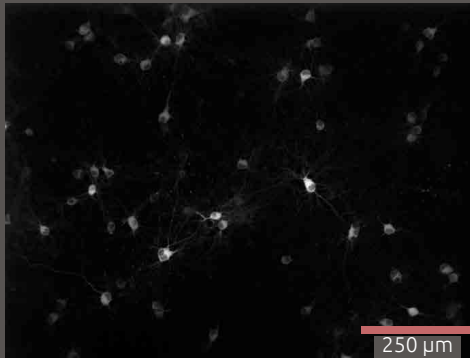


Via de pieken kon de calciumactiviteit tussen cellen met elkaar worden vergeleken. Een Pearson correlatie werd gebruikt om te zien of er een verband was tussen de activiteiten in de cellen. Een sterke Pearson correlatie zegt dat cellen misschien met elkaar communiceren (maar bewijst het niet helemaal) omdat de activiteit met elkaar overeen komt. Er kan dan een kaart getekend worden waarin sterke correlaties tussen cellen worden aangegeven.



De activiteit van het hele netwerk werd ook in kaart gebracht.

Een analyse van bestaande data en een vergelijking met andere software toonde aan dat Calima het prima deed. Hierbij werd gebruik gemaakt van vooraf geschatte standaardinstellingen van Calima en wat finetuning. Er is gekeken naar zowel het detecteren van cellen, het vinden van pieken en het correleren van de celactiviteit.



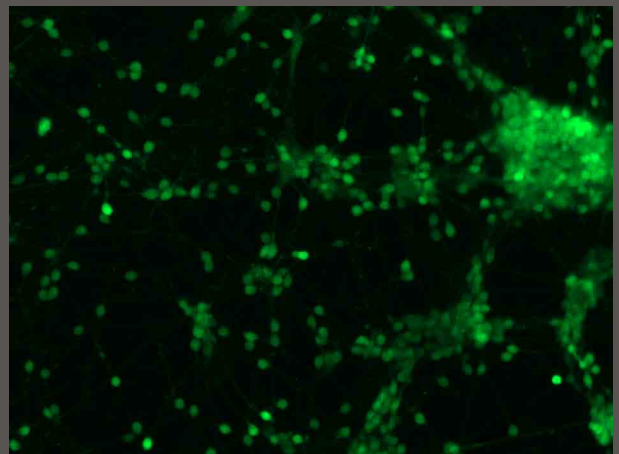
Het linker plaatje laat een calcium dataset zien, de rechter afbeelding toont de cellen die door Calima gevonden werden in het blauw. Er is in dit voorbeeld slechts één cel niet gevonden (rood). Er zijn wel wat cellen als één cel geteld terwijl het er eigenlijk twee zijn (grijs).

Calima bleek ook voldoende snel te zijn. Op een computer van niet al te hoge kwaliteit kon het de activiteit in tientallen cellen bijhouden als er 10 beelden per seconde werden gemaakt. Deze snelheid is nodig om de piekactiviteit in cellen in kaart te brengen. Calciumsignalen die aan groei- en leerprocessen gelinkt zijn, zijn veel trager. Eén beeld per 10 seconden is meestal genoeg om deze signalen te bestuderen. Calima kan in dat geval honderden cellen aan.



Er zijn nu dus interessante mogelijkheden voor nieuw onderzoek: de activiteit en leerprocessen in neuronen realtime bijhouden en de cellen tegelijk bijsturen, bijvoorbeeld.

Maar andere onderzoekers staan ook niet stil. Er zijn in korte tijd al een aantal nieuwe algoritmes uitgedacht. Er zijn nu veel snellere en nauwkeurigere manieren om cellen te vinden. Ook zijn er trucs om per calciumsignaal direct te detecteren of het om een stofwisselingssignaal of een actiepotentiaal gaat, bijvoorbeeld. En er zijn ook betere manieren om de communicatie tussen cellen te bestuderen. Dus voor een toekomstige studie, zou het ook leuk zijn om Calima te updaten met nieuwere technieken.



Een cellweek met neuronen die zijn behandeld met calcium fluorescentieverf. Er zijn duizenden cellen in zo'n kweek.



Ethische verklaring

Soms kan onderzoek, helaas, niet worden uitgevoerd zonder het gebruik van proefdieren. De neuronen die zijn gebruikt om de resultaten die hier gepresenteerd worden – het in kaart brengen van de veranderingen in neuronale patronen die door een elektrisch veld worden aangebracht – werden uit muizen gehaald. Het doel van dit onderzoek was het detecteren van hele subtiele patroonveranderingen om uiteindelijk breinstimulatietechnieken in mensen verder te ontwikkelen.

Een methode met proefdieren is gekozen in plaats van gekweekte neuronen; op het moment dat de experimenten gedaan werden was er geen garantie dat gekweekte neuronen hetzelfde zouden reageren als cellen uit dieren betreffende de geïnjecteerde stromen of de zwakke elektrische velden. In andere woorden, de conclusies die je kunt trekken uit een experiment met gekweekte neuronen zijn momenteel niet betrouwbaar genoeg. Ook moeten neuronen binnen een paar uur nadat ze zijn “geoogst” worden gemeten; breinweefsel uit bijvoorbeeld overledenen die hun lichaam beschikbaar stellen aan de wetenschap is tegen de tijd dat het een laboratorium bereikt te ver vergaan. Breinweefsel dat wordt verwijderd tijdens operaties kan wel worden gebruikt voor experimenten, maar dit soort stukjes zijn vaak epileptisch of bevatten kankercellen. Concluderend zijn stukjes breinweefsel uit andere bronnen dan recent overleden proefdieren om allerlei redenen niet geschikt.

Om het aantal dieren dat nodig was voor de experimenten zo klein mogelijk te houden, zijn er een aantal stappen ondernomen. Allereerst zijn alle experimenten uitgevoerd met goedkeuring van de committee on animal bioethics van de Universiteit van Amsterdam, welke overziet dat de experimenten gevolgd worden volgens de wet en de nieuwste inzichten op het gebied van dierenleed.

Ten tweede werden de dieren zo veel mogelijk gedeeld tussen onderzoekers. Zo’n dozijn breinplakjes konden uit een dier worden gehaald, wat meer is dan een onderzoeker op een meetdag kan meten. Door de breinplakjes met meerdere onderzoekers te delen, konden tot vier sets experimenten parallel plaatsvinden op het materiaal dat uit een enkele muis gehaald werd.

Daarnaast werden verschillende standaard controles uitgevoerd op de gemeten cellen en werd veel residu data opgeslagen. Vaak ging het over op het eerste gezicht overbodig lijkende informatie. Soms kwamen er namelijk nieuwe vragen bovendrijven in latere stadia van een onderzoek, en kon het antwoord gevonden worden in de residu data. Dit kon voorkomen dat er extra experimenten moesten worden gedaan.

En toch, zelfs terwijl de experimenten ontworpen werden om het leed van de dieren zo veel mogelijk te minimaliseren, kun je maar zo veel bereiken als je laboratoriummuizen en -ratten gebruikt. Zoals genoemd aan het begin van deze sectie, gedragen gekweekte neuronen zich momenteel niet precies hetzelfde als cellen uit een proefdier. Maar dat wil niet zeggen dat dit nooit zal gebeuren. Het laatste onderzoek van mijn proefschrift ging over het ontwikkelen van een onderzoeksmiddel dat Brein-op-een-Chip (BoC) onderzoeken kan ondersteunen. Dat onderzoeksveld werkt aan het recreëren van de fysiologische omgeving van het brein zodat gekweekte cellen zich in hun natuurlijke omgeving ontwikkelen. Recente papers beschrijven dat er netwerken van communicerende cellen zijn waargenomen in BoC culturen. Hopelijk kunnen onderzoeksofstellingen met breinen-op-een-chip uiteindelijk de proefdieren volledig vervangen.



Persoonlijk

Mijn eigen onderzoek vereiste het opofferen van tientallen dieren – ik weet niet eens hoe veel precies, omdat we zoals ik eerder aangaf dieren deelden met meerdere onderzoekers en omdat de breinplakjes door de Universiteit van Amsterdam werden verwerkt. Toch vult het me met een gevoel van leegte als ik er diep over nadenk dat een levend wezen in de naam van de wetenschap uiteindelijk maar een getalletje wordt.

Ik was oprecht somber elke keer dat er een experiment mislukte om wat voor reden dan ook, omdat het aanvoelde alsof de inzet veel hoger lag dan voor een puur ingenieursexperiment. Een mede-onderzoeker vertelde me dat je er uiteindelijk aan went, maar ik denk niet dat ik het ooit echt een plaatsje heb kunnen geven. Misschien lag het aan mij, maar toch had ik het idee dat ik niet de enige was die extra gewicht met zich meedroeg tijdens mijn tijd in het lab: de meeste van de onderzoekers die ik sprak vertelden dat ze wilden dat er goede alternatieven voor dierproeven waren.

Begrijp me niet verkeerd, ik ben niet per se tegen dierproeven. Het heeft ons kennis opgeleverd die we anders nooit verkregen zouden hebben. Maar die waardevolle informatie kost wel wat. Ik hoop oprecht dat er binnenkort fatsoenlijke alternatieven voor het gebruik van proefdieren komen. Alternatieven zoals BoC, computergestuurde simulaties of misschien wel iets heel nieuws; wie weet wat de menselijke inventiviteit ons nog gaat brengen.

Ten slotte wil ik een klein gebaar maken richting de dieren die werden gebruikt voor mijn onderzoek. Er bestaat niet zo iets als een minuut stilte op papier, maar ik denk dat een moment van reflectie op zijn plaats is. Dus daarom laat ik de volgende pagina leeg.



Bronnen

Het verhaal over hoe onze ideeën over het brein zich in de loop der eeuwen hebben ontwikkeld, is geen simpel relaas. Ik heb wat dingen moeten versimpelen en verkorten om het behapbaar te maken. Ik heb een aantal interessante wetenschappers moeten overslaan, jaren aan studie in een paar woorden moeten samenvatten en geniale doorbraken moeten uitleggen in Jip- en Janneketaal. Dus hou in gedachten dat het verhaal verre van compleet is.

In dit overzicht van de bronnen die ik heb gebruikt en geef ik wat context of extra informatie waar nodig. Als je interesse hebt in het doorkammen van de fascinerende geschiedenis van de neurofysiologie, dan zou je bij de bronnen die ik heb gebruikt kunnen beginnen. Als je ook maar half zo veel plezier hebt in het lezen als ik, dan eindig je wellicht alsnog met een interessante nieuwe hobby.

De bronnen zijn gesorteerd per pagina. De afbeeldingen worden geteld vanaf de linkerbovenhoek naar de rechterbenedenhoek.

Paginas

Pagina 1: [1-5]. Achtergrondafbeelding 3-5: Old Egypt Glyphs Font [6], laat the Linux Kernel Init() void zien [7].
Pagina 2: [8-11]. Afbeelding 5 “Galvani’s experiment tijdens onweer” (publiek domein) [12].
Pagina 3: [11], [13], [15-17]. Afbeelding 2 “experiment bij executie” (publiek domein) [14].
Pagina 4: [13], [16], [18-26]. Afbeelding 1 “foto van bloemen door Gabriel Lippmann” (publiek domein) [27]. Ik kon het niet laten om een klein eerbetoon aan Helmholtz op te nemen. Hij maakte namelijk bijdragen aan fysiologie én elektromagnetisme, mijn specialisatie. Daarnaast vind ik het ook leuk dat zijn studenten zich hebben gericht op warmtestraling, wat het onderwerp was van mijn afstudeerscriptie, en licht en elektromagnetische straling, welke beiden heel dicht bij mijn vakgebied liggen. En ik had ook een klein excuus nodig om Gabriel Lippmann te tekenen - de wetenschapper met ‘s werelds meest prominente moustache.
Pagina 5: [25-26], [28-30], [32, Hoofdstuk 3]. Afbeelding 2 “de actiepotentialaals zoals gereconstrueerd door Bernstein” ‘gebruikt met toestemming van Springer Nature’ [32].
Pagina 6: [11] [13] [25] [32] (Hoofdstuk 1, 18), [33]
Pagina 7: [32] (Hoofdstuk 2), [34-35]. Afbeelding 2 “meetsensor in inktvis axon” (‘gebruikt met toestemming van John Wiley and Sons’) [37]. Afbeelding 3 “Actiepotentialaals gemeten door Hodgkin en Huxley” ‘gebruikt met toestemming van Springer Nature’ [38]. Merk hierbij op dat Bernstein in eerste instantie ook de spanningspiek boven de 0 volt mat die door Hodgkin en Huxley werd gerapporteerd. En met hem een aantal anderen. Maar na het bedenken van de membraantheorie, bedacht Bernstein dat de piek een meetfout moest zijn. Dus dat een neuron spanningspieken boven de 0 volgt kan maken werd zo’n 35 jaar over het hoofd gezien.
Pagina 8: [32] (Hoofdstuk 3, 4), [40]. Afbeelding 6 “formules van het HH-model” [40]. Fatt en Katz zouden in 1970 een Nobelprijs winnen voor hun andere ontdekkingen die betrekking hadden op synaptische overdracht.
Pagina 9: [32] (Hoofdstuk 4), [41-49]. Afbeelding 1 “icoontjes telephone [51] (CC BY 3.0), settings [52] (CC BY 3.0) en learning [53] (CC BY 3.0)”. Afbeelding 8 “meting aan een openend en sluitend ionkanaal” ‘gebruikt met toestemming van Springer Nature’ [50]. Merk hier op dat de rol van calcium in andere typen zenuwcellen dan het brein, zoals hart en spierweefsel, anders kan zijn dan dat in het brein.
Pagina 10: [43], [45], [46], [51]. Afbeelding 1 “Muis CA1 pyramidaalcellen gemaakt met differentiële contrastmicroscopie” [52]. Afbeelding 2 “Actiepotentialaals in mouse CA1 pyramidaalcel” [53]. Afbeeldingen 3 en 4: “Neher theorie van ionkanalen” gebaseerd op [43]. Afbeelding 6 “Natriumion met eerste laag waterschil” gebaseerd op afbeelding [54]. Afbeelding 7 “Kalium gaat een kaliumkanaal binnen” en “filterselectiviteit” gebaseerd op [51], [55-57].
Pagina 11: [50], [52], [53], [55-59]. Afbeelding 1 “Natriumkanalen gerendered vanuit Röntgenstructuur SEK0 PDB” [60] en “Kaliumkanalen gerendered vanuit Röntgenstructuur 3LUT PDB” [61], 3D structuren gegenereerd door PyMol 1.74 [62], renders door 3DSMax 2016 [63].
Pagina 12: [58], [59], [64-66]. Afbeelding 7 “Golgigekleurde pyramidaalcel” [80] (CC BY-SA 3.0 licentie). Cajal werd niet afgeschrikt, maar juist aangemoedigd door zijn uitvinding. Hij bouwde nog veel meer kanonnen, schrijft hij in zijn memoires.
Pagina 13: [31], [79-85]. “Alle tekeningen door Cajal zijn nu publiek domein”.
Pagina 15: [31], [86]. [87] ‘gebruikt met toestemming van Springer Nature’. [88] Afbeelding met CC-BY open access licentie.
Pagina 16: Afbeelding 1: Gebruikt met toestemming van [89]. Afbeelding 2: CC-BY afbeelding uit [90]. Afbeelding 4: Afbeelding met CC-BY licentie [91]. Afbeelding 5: Afbeelding gebruikt met toestemming van Springer Nature [92].
Pagina 20 – 23: gebaseerd op Hoofdstuk 3 van [93].



Pagina 24 – 27: gebaseerd op Hoofdstuk 4 van [93].

Pagina 28 – 31: gebaseerd op Hoofdstukken 5 en 6 van [93] en [94], [95].

Pagina 32 – 34: gebaseerd op [93].

Visuele impressies

Om de hoofdstukken in dit boekje te ondersteunen, zijn er wat visuele impressies gemaakt. Alle afbeeldingen werden gemaakt met Blender 3.5 [96]. Er werden enkele bestaande modellen gebruikt voor het renderen. De oorspronkelijke bronnen worden hier genoemd. De meeste modellen zijn licht gewijzigd ten opzichte van de oorspronkelijke bron (materialen toegevoegd, aantal vertices gewijzigd, aanpassingen van 3D-vorm).

Voor de kافت werden 3D vormen berekend met UCSF ChimeraX 1.5 [97]. De vormen werden geëxporteerd naar Blender 3.5 en daar gerendered. Protein Data Bank [98] vormen SEK0, 1K4C, 5GJV (natrium, kalium en calcium kanalen) [66], [99], [100], en 3GD8, 3KJ6, 2KPF, 2JWA (andere membraanstructuren) [101], [102], [103], [104] werden gebruikt.

De 3D breinrenders op pagina 2 en 42 gebruiken een 3D model door mijn collega Steven Beumer. Het is een scan van zijn eigen brein. Het model is gebruikt met toestemming van Steven.

Pagina 46 gebruikt een 3D model van een hippocampus CA1 pyramidaalcel [105].

Pagina 24 gebruikt 108 metingen in dezelfde cel uit de data die werd verzameld voor Hoofdstuk 4 van [93]. Het script [106] en de Blender node tree [107] werden gebruikt om de afbeelding te maken.

Pagina 28 is volledig zelfgemaakt. De code is een klein stukje van CALIMA's `utils.cs` script.

Pagina 32 gebruikt het muismodel uit [108].

Pagina 36 gebruikt drie thesissen van collega's [109], [110], [111].

Bronnen

[1] M. Tomorad, "Ancient Egyptian funerary practices," 2009.

[2] M. F. Bear, B. W. Connors, and M. Paradiso, "Neuroscience: Exploring the Brain," 1996.

[3] H. Diels, W. Kranz, and G. Plamböck, "Die Fragmente der Vorsokratiker," 1939.

[4] F. R. Freeman, "Galen's ideas on neurological function.," *J. Hist. Neurosci.*, vol. 3 4, pp. 263–271, 1994.

[5] E. Crivellato and D. Ribatti, "Soul, mind, brain: Greek philosophy and the birth of neuroscience," *Brain Res. Bull.*, vol. 71, pp. 327–336, 2007.

[6] Manfred Klein, "Old Egypt Glyph Font." <https://www.dafont.com/old-egypt-glyphs>.

[7] Linus Torvald, "Linux Kernel (static void __init setup_boot_config)," 2020. <https://www.kernel.org/doc/> (accessed Dec. 20, 2020).

[8] A. Rooney, *The Story of Neuroscience - From trephining to artificial intelligence*. Arcturus Publishing, 2017.

[9] P. Harting, "Johannes Swammerdam Een levensschets," *Album der Nat.*, vol. 25, no. 1, pp. 16–28, 1876.

[10] M. Cobb, "Timeline: exorcizing the animal spirits: Jan Swammerdam on nerve function.," *Nature reviews. Neuroscience*, vol. 3, no. 5. England, pp. 395–400, May 2002, doi: 10.1038/nrn806.

[11] A. Verkhratsky and V. Pappas, "History of electrophysiology and the patch clamp.," *Methods Mol. Biol.*, vol. 1183, pp. 1–19, 2014.

[12] L. Galvani, "Galvani frog legs experiment setup from Wikimedia Commons, the free media repository," *De Viribus Electricitatis in Motu Musculari*, 1791. https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Galvani_frog_legs_experiment_setup.png&oldid=229958883 (accessed Dec. 26, 2019).

[13] A. Verkhratsky, O. Krishtal, and O. H. Petersen, "From Galvani to patch clamp: the development of electrophysiology.," *Pflügers Arch.*, vol. 453, pp. 233–247, 2006.

[14] L. Figuier, "Les merveilles de la science, ou Description populaire des inventions modernes." Typ 815.67.3922, Houghton Library, Harvard University, 1867.

[15] R. C. Sha, "Volta's Battery, Animal Electricity, and Frankenstein," *Eur. Romant. Rev.*, vol. 23, no. 1, pp. 21–41, 2012, doi: 10.1080/10509585.2012.639182.

[16] L. Pearce Williams, "Hermann von Helmholtz," *Britannica*. 2022, [Online]. Available: <https://www.britannica.com/biography/Hermann-von-Helmholtz>.

[17] A. Stinner, "Calculating the age of the Earth and the Sun," 2002.

[18] NobelPrize.org, "Max Planck – Biographical." <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1918/planck/biographical>.

[19] R. S. Shankland, "Michelson and his interferometer," *Phys. Today*, vol. 27, no. 4, pp. 37–43, Apr. 1974, doi: 10.1063/1.3128534.

[20] NobelPrize.org, "Gabriel Lippmann – Biographical." <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1908/lippmann/biographical> (accessed Feb. 02, 2022).

[21] NobelPrize.org, "Wilhelm Wien – Biographical." <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1911/wien/biographical/> (accessed Feb. 02, 2022).

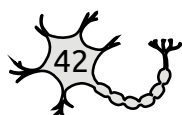
[22] W. Einthoven, "The String Galvanometer and the Measurement of the Action Currents of the Heart," in *Nobel Lectures Physiology or Medicine 1922–1941*, Amsterdam: Elsevier Publishing Company, 1965.



- [23] A. K. Solomon, "biophysics," *Britannica*. 2022, [Online]. Available: <https://www.britannica.com/science/biophysics>.
- [24] G. Finkelstein, "Emil du Bois-Reymond vs Ludimar Hermann," *C. R. Biol.*, vol. 329, no. 5, pp. 340–347, 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.crv.2006.03.005>.
- [25] S. M. Schuetze, "The discovery of the action potential," *Trends Neurosci.*, vol. 6, no. 1983, pp. 164–168, 1983, doi: [10.1016/0166-2236\(83\)90078-4](https://doi.org/10.1016/0166-2236(83)90078-4).
- [26] E. Carmeliet, "From Bernstein's rheotome to Neher-Sakmann's patch electrode. The action potential," *Physiol. Rep.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–30, 2019, doi: [10.14814/phy2.13861](https://doi.org/10.14814/phy2.13861).
- [27] G. Lippmann, "Color picture of flowers." [Online]. Available: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lippmann_photo_flowers.jpg.
- [28] E. Seyfarth, "Julius Bernstein (1839–1917): pioneer neurobiologist and biophysicist," *Biol. Cybern.*, vol. 94, pp. 2–8, 2005.
- [29] E. M. Terry, *Advanced Laboratory Practice in Electricity and Magnetism*. New York: McGraw-Hill, 1929.
- [30] J. Lombard, "Once upon a time the cell membranes: 175 years of cell boundary research," 2014.
- [31] F. López-Muñoz, J. Boya, and C. Alamo, "Neuron theory, the cornerstone of neuroscience, on the centenary of the Nobel Prize award to Santiago Ramón y Cajal," *Brain Res. Bull.*, vol. 70, no. 4, pp. 391–405, 2006, doi: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2006.07.010>.
- [32] B. Hille, "Ion channels of excitable membranes," 3rd ed., Sinauer Associates Inc, 2001.
- [33] J. Bernstein, "Ueber den zeitlichen Verlauf der negativen Schwankung des Nervenstroms," *Arch. für die gesamte Physiol. des Menschen und der Tiere*, vol. 1, no. 1, pp. 173–207, 1868, doi: [10.1007/BF01640316](https://doi.org/10.1007/BF01640316).
- [34] A. Kleinzeller, "Chapter 1 Charles Ernest Overton's Concept of a Cell Membrane," in *Current Topics in Membranes and Transport*, vol. 48, no. C, D. W. A. K. D. M. F. Deamer, Ed. Academic Press, 1999, pp. 1–22.
- [35] C. J. Schwiening, "A brief historical perspective: Hodgkin and Huxley," *J. Physiol.*, vol. 590, no. 11, pp. 2571–2575, 2012, doi: [10.1113/jphysiol.2012.230458](https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.230458).
- [36] J. Z. Young, "The Functioning of the Giant Nerve Fibres of the Squid," *J. Exp. Biol.*, vol. 15, no. 2, pp. 170–185, 1938, doi: [10.1242/jeb.15.2.170](https://doi.org/10.1242/jeb.15.2.170).
- [37] NobelPrize.org, "Peyton Rous – Biographical." <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1966/rous/biographical/> (accessed Feb. 03, 2022).
- [38] A. L. Hodgkin and A. F. Huxley, "Action Potentials Recorded from Inside a Nerve Fibre," *Nature*, vol. 144, no. 3651, pp. 710–711, 1939, doi: [10.1038/144710a0](https://doi.org/10.1038/144710a0).
- [39] A. L. Hodgkin and A. F. Huxley, "Resting and action potentials in single nerve fibres," *J. Physiol.*, vol. 104, no. 2, pp. 176–195, Oct. 1945, doi: [10.1113/jphysiol.1945.sp004114](https://doi.org/10.1113/jphysiol.1945.sp004114).
- [40] A. L. Hodgkin and A. F. Huxley, "A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve," *J. Physiol.*, vol. 117, no. 4, pp. 500–544, Aug. 1952, doi: [10.1113/jphysiol.1952.sp004764](https://doi.org/10.1113/jphysiol.1952.sp004764).
- [41] H. J. Knot et al., "Twenty years of calcium imaging: Cell physiology to dye for," *Mol. Interv.*, vol. 5, no. 2, pp. 112–127, 2005, doi: [10.1124/mi.5.2.8](https://doi.org/10.1124/mi.5.2.8).
- [42] M. G. Lamont and J. T. Weber, "The role of calcium in synaptic plasticity and motor learning in the cerebellar cortex," *Neurosci. Biobehav. Rev.*, vol. 36, no. 4, pp. 1153–1162, Apr. 2012, doi: [10.1016/j.neubiorev.2012.01.005](https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.01.005).
- [43] T. C. Südhof, "Calcium control of neurotransmitter release," *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 4, no. 1, p. a011353, Jan. 2012, doi: [10.1101/cshperspect.a011353](https://doi.org/10.1101/cshperspect.a011353).
- [44] NobelPrize.org, "Press release Nobel Prize in Physiology or Medicine 1991," 1991. <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1991/press-release/> (accessed Feb. 02, 2022).
- [45] NobelPrize.org, "Erwin Neher – Biographical." <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1991/neher/biographical/> (accessed Feb. 02, 2022).
- [46] NobelPrize.org, "Bert Sakmann – Biographical." <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1991/sakmann/biographical/> (accessed Feb. 02, 2022).
- [47] D. Ogden and P. Stanfield, "Chapter 4 Patch clamp techniques for single channel and whole-cell recording," 1999.
- [48] N. P. Staff, H.-Y. Jung, T. Thiagarajan, M. Yao, and N. Spruston, "Resting and Active Properties of Pyramidal Neurons in Subiculum and CA1 of Rat Hippocampus," *J. Neurophysiol.*, vol. 84, no. 5, pp. 2398–2408, Nov. 2000, doi: [10.1152/jn.2000.84.5.2398](https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.5.2398).
- [49] O. P. Hamill, A. Marty, E. Neher, B. Sakmann, and F. J. Sigworth, "Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches," *Pflugers Arch.*, vol. 391, no. 2, pp. 85–100, Aug. 1981, doi: [10.1007/BF00656997](https://doi.org/10.1007/BF00656997).
- [50] R. A. Serway, *Principles of Physics*, 2nd ed. New York: Fort Worth : Saunders College Pub, 1998.
- [51] OnlineWebFonts, "Icon Telephone." WordPress, [Online]. Available: <http://www.onlinewebfonts.com/icon>.
- [52] OnlineWebFonts, "Icon Settings." WordPress, [Online]. Available: <http://www.onlinewebfonts.com/icon>.



- [53] OnlineWebFonts, "Icon Learning." WordPress, [Online]. Available: <http://www.onlinewebfonts.com/icon>.
- [54] E. Neher and B. Sakmann, "Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres," *Nature*, vol. 260, no. 5554, pp. 799–802, 1976, doi: 10.1038/260799a0.
- [55] NobelPrize.org, "Popular information 2003 Nobel Prize Chemistry." <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2003/popular-information/> (accessed Feb. 02, 2022).
- [56] E. A. L. Raaijmakers, "Differential interference contrast microscope picture of mouse CA1 pyramidal cells." 2018.
- [57] E. A. L. Raaijmakers, "Action potential in mouse CA1 pyramidal cell." 2018.
- [58] Wikimedia Commons, "File:Na+H2O.svg - Wikimedia Commons, the free media repository," 2020. <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=13274737> (accessed Feb. 03, 2022).
- [59] R. MacKinnon, S. L. Cohen, A. Kuo, A. Lee, and B. T. Chait, "Structural conservation in prokaryotic and eukaryotic potassium channels," *Science*, vol. 280, no. 5360, pp. 106–109, Apr. 1998, doi: 10.1126/science.280.5360.106.
- [60] D. A. Doyle et al., "The structure of the potassium channel: molecular basis of K⁺ conduction and selectivity," *Science*, vol. 280, no. 5360, pp. 69–77, Apr. 1998, doi: 10.1126/science.280.5360.69.
- [61] S. Dutta and D. Goodsell, "Molecule of the Month: Potassium Channels," 2003. <https://pdb101.rcsb.org/motm/38> (accessed Feb. 03, 2022).
- [62] P. Caumette, J.-C. Bertrand, and P. Normand, "Some Historical Elements of Microbial Ecology," in *Environmental Microbiology: Fundamentals and Applications: Microbial Ecology*, J.-C. Bertrand, P. Caumette, P. Lebaron, R. Matheron, P. Normand, and T. Sime-Ngando, Eds. Dordrecht: Springer Netherlands, 2015, pp. 9–24.
- [63] S. Fransen, "Antoni van Leeuwenhoek, His Images and Draughtsmen," *Perspect. Sci.*, vol. 27, no. 3, pp. 485–544, 2019, doi: 10.1162/posc_a_00314.
- [64] E. K. Schulte, "Standardization of biological dyes and stains: pitfalls and possibilities," *Histochemistry*, vol. 95, no. 4, pp. 319–328, 1991, doi: 10.1007/BF00266958.
- [65] C. Sotelo, "Viewing the brain through the master hand of Ramon y Cajal," *Nat. Rev. Neurosci.*, vol. 4, no. 1, pp. 71–77, 2003, doi: 10.1038/nrn1010.
- [66] S. Ahuja et al., "Structural basis of Nav1.7 inhibition by an isoform-selective small-molecule antagonist," *Science* (80-.), vol. 350, no. 6267, p. aac5464, 2015, doi: 10.1126/science.aac5464.
- [67] X. Chen, Q. Wang, F. Ni, and J. Ma, "Structure of the full-length Shaker potassium channel Kvl.2 by normal-mode-based X-ray crystallographic refinement," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 107, no. 25, pp. 11352–11357, Jun. 2010, doi: 10.1073/pnas.1000142107.
- [68] L. Schrödinger, "The PyMOL Molecular Graphics System." 2016.
- [69] Autodesk, "3DS Max 2016." 2016.
- [70] A. Leeuwenhoek, "Illustration of spinal cord of a cow." 1717, [Online]. Available: <https://lensonleeuwenhoek.net/content/spinal-cord-cow>.
- [71] E. A. L. Raaijmakers, "Differential interference contrast microscope picture of mouse CA1 pyramidal cells 2." 2018.
- [72] G. G. Valentin, "Nerve cell." *Nova Acta Phys-Med. Acad. Leopoldina*, Breslau, 1836.
- [73] A. Chvátal, "Discovering the Structure of Nerve Tissue: Part 2: Gabriel Valentin, Robert Remak, and Jan Evangelista Purkyně," *J. Hist. Neurosci.*, vol. 24, pp. 1–26, 2015, doi: 10.1080/0964704X.2014.977677.
- [74] O. F. K. Deiters, "Drawing of a nerve cell from the spinal cord." Braunschweig, pp. 1–318, 1865.
- [75] S. y Cajal and J. De Carlos, "Pedro Ramón y Cajal: The Legacy of a Neurohistologist, a Medical Doctor, and a Pathologist," *Anat. Rec.*, vol. 303, 2019, doi: 10.1002/ar.24137.
- [76] S. R. y Cajal, "Recuerdos de mi Vida," vol. 1, Madrid Imprenta y Librería de N. Moya, 1917.
- [77] S. Finger, "Minds behind the brain: A history of the pioneers and their discoveries," no. ISBN 0-19-508571-X, New York: Oxford University Press, pp. 197–216.
- [78] NobelPrize.org, "Life and Discoveries of Santiago Ramón y Cajal." <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1906/cajal/article/> (accessed Feb. 06, 2022).
- [79] G. J. Zamora-Berridi, C. Pendleton, G. Ruiz, A. A. Cohen-Gadol, and A. Quiñones-Hinojosa, "Santiago Ramón y Cajal and Harvey Cushing: Two Forefathers of Neuroscience and Neurosurgery," *World Neurosurg.*, vol. 76, no. 5, pp. 466–467, 2011, doi: 10.1016/j.wneu.2011.04.001.
- [80] B. Jacobs, "Golgi stained pyramidal cell." Wikipedia Commons, [Online]. Available: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=651365>.
- [81] S. Ramon y Cajal, "Drawing of the neural circuitry of the rodent hippocampus (No. 1408)." Instituto Santiago Ramón y Cajal, 1911.
- [82] S. Ramon y Cajal, "Drawing of an astrocyte in the human hippocampus (No. 135)." Instituto Santiago Ramón y Cajal, [Online]. Available: <https://www.themarginalian.org/2017/02/23/beautiful-brain-santiago-ramon-y-cajal/>.
- [83] S. Ramón y Cajal, "Dendrites of pyramidal neurons of the rabbit cerebral cortex (no 1416)." 1911.



Instituto Santiago Ramón y Cajal.

[84] S. Ramón y Cajal, "Purkinje neuron from the human cerebellum (No. 328)." Instituto Santiago Ramón y Cajal, 1899.

[85] S. Ramon y Cajal, "Nerve cells." Instituto Santiago Ramón y Cajal.

[86] NobelPrize.org, "Sir Charles Sherrington - Biographical." Accessed: Feb. 18, 2022. [Online]. Available: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1932/sherrington/biographical/>.

[87] C. S. Sherrington, *The Integrative Action of the Nervous System*, vol. 76, no. 1962. 1907.

[88] A. Dosemeci, R. J. Weinberg, T. S. Reese, and J.-H. Tao-Cheng, "The Postsynaptic Density: There Is More than Meets the Eye," *Front. Synaptic Neurosci.*, vol. 8, 2016, doi: 10.3389/fnsyn.2016.00023.

[89] R. J. G. van Sloun et al., "Super-Resolution Ultrasound Localization Microscopy Through Deep Learning," *IEEE Trans. Med. Imaging*, vol. 40, no. 3, pp. 829–839, 2021, doi: 10.1109/TMI.2020.3037790.

[90] R. Luttge, "Nanofabricating neural networks: Strategies, advances, and challenges," *J. Vac. Sci. Technol. B*, vol. 40, no. 2, 2022, doi: 10.1116/6.0001649.

[91] M. Abernot and T.-S. Aida, "Simulation and implementation of two-layer oscillatory neural networks for image edge detection: bidirectional and feedforward architectures," *Neuromorphic Comput. Eng.*, vol. 3, no. 1, p. 14006, Feb. 2023, doi: 10.1088/2634-4386/acb2ef.

[92] S. T. Keene et al., "A biohybrid synapse with neurotransmitter-mediated plasticity," *Nat. Mater.*, vol. 19, no. 9, pp. 969–973, 2020, doi: 10.1038/s41563-020-0703-y.

[93] E. A. L. Raaijmakers, "Nudging neurons: Characterizing the behavior of single neurons and small networks in the presence of weak electric fields," Eindhoven University of Technology, 2023.

[94] F. D. W. Radstake, E. A. L. Raaijmakers, R. Luttge, S. Zinger, and J. P. Frimat, "CALIMA: The semi-automated open-source calcium imaging analyzer," *Comput. Methods Programs Biomed.*, vol. 179, 2019, doi: 10.1016/j.cmpb.2019.104991.

[95] E. A. L. Raaijmakers, N. Wanders, R. M. C. Mestrom, and R. Luttge, "Analyzing Developing Brain-On-Chip Cultures with the CALIMA Calcium Imaging Tool," *Micromachines*, vol. 12, no. 4, 2021, doi: 10.3390/mil2040412.

[96] Blender Foundation, "Blender." Blender Foundation, 2023, [Online]. Available: <https://www.blender.org/>.

[97] E. F. Pettersen et al., "UCSF ChimeraX: Structure visualization for researchers, educators, and developers," *Protein Sci.*, vol. 30, no. 1, pp. 70–82, 2021, doi: <https://doi.org/10.1002/pro.3943>.

[98] H. M. Berman et al., "The Protein Data Bank," *Nucleic Acids Res.*, vol. 28, no. 1, pp. 235–242, 2000, doi: 10.1093/nar/28.1.235.

[99] Y. Zhou, J. H. Morais-Cabral, A. Kaufman, and R. MacKinnon, "Chemistry of ion coordination and hydration revealed by a K⁺ channel-Fab complex at 2.0 Å resolution," *Nature*, vol. 414, no. 6859, pp. 43–48, 2001, doi: 10.1038/35102009.

[100] J. Wu et al., "Structure of the voltage-gated calcium channel Cav1.1 at 3.6 Å resolution," *Nature*, vol. 537, no. 7619, pp. 191–196, 2016, doi: 10.1038/nature19321.

[101] J. D. Ho et al., "Crystal structure of human aquaporin 4 at 1.8 Å and its mechanism of conductance," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 106, no. 18, pp. 7437–7442, 2009, doi: 10.1073/pnas.0902725106.

[102] M. P. Bokoch et al., "Ligand-specific regulation of the extracellular surface of a G-protein-coupled receptor," *Nature*, vol. 463, no. 7277, pp. 108–112, 2010, doi: 10.1038/nature08650.

[103] K. S. Mineev et al., "Dimeric structure of the transmembrane domain of glycophorin a in lipidic and detergent environments," *Acta Naturae*, vol. 3, no. 2, pp. 90–98, Apr. 2011.

[104] E. V. Bocharov et al., "Spatial Structure of the Dimeric Transmembrane Domain of the Growth Factor Receptor ErbB2 Presumably Corresponding to the Receptor Active State*," *J. Biol. Chem.*, vol. 283, no. 11, pp. 6950–6956, 2008, doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M709202200>.

[105] JustasB(Sketchfab nickname), "Hippocampus CA1 Pyramidal Cell." <https://sketchfab.com/>, 2019, [Online]. Available: <https://skfb.ly/6SCUz>.

[106] VupliDerts(Gitlab nickname), "Import CSV Data into Blender." 2023, [Online]. Available: https://gitlab.com/VupliDerts/import-csv-data-into-blender/-/raw/main/import_csv.py.

[107] Nickol6(YouTube nickname), "Blender geometry node tree to display .csv data." 2023, [Online]. Available: <https://drive.google.com/file/d/1S2WY2S2R69CVvP2Sapn-dE140oSKfTNz/view>.

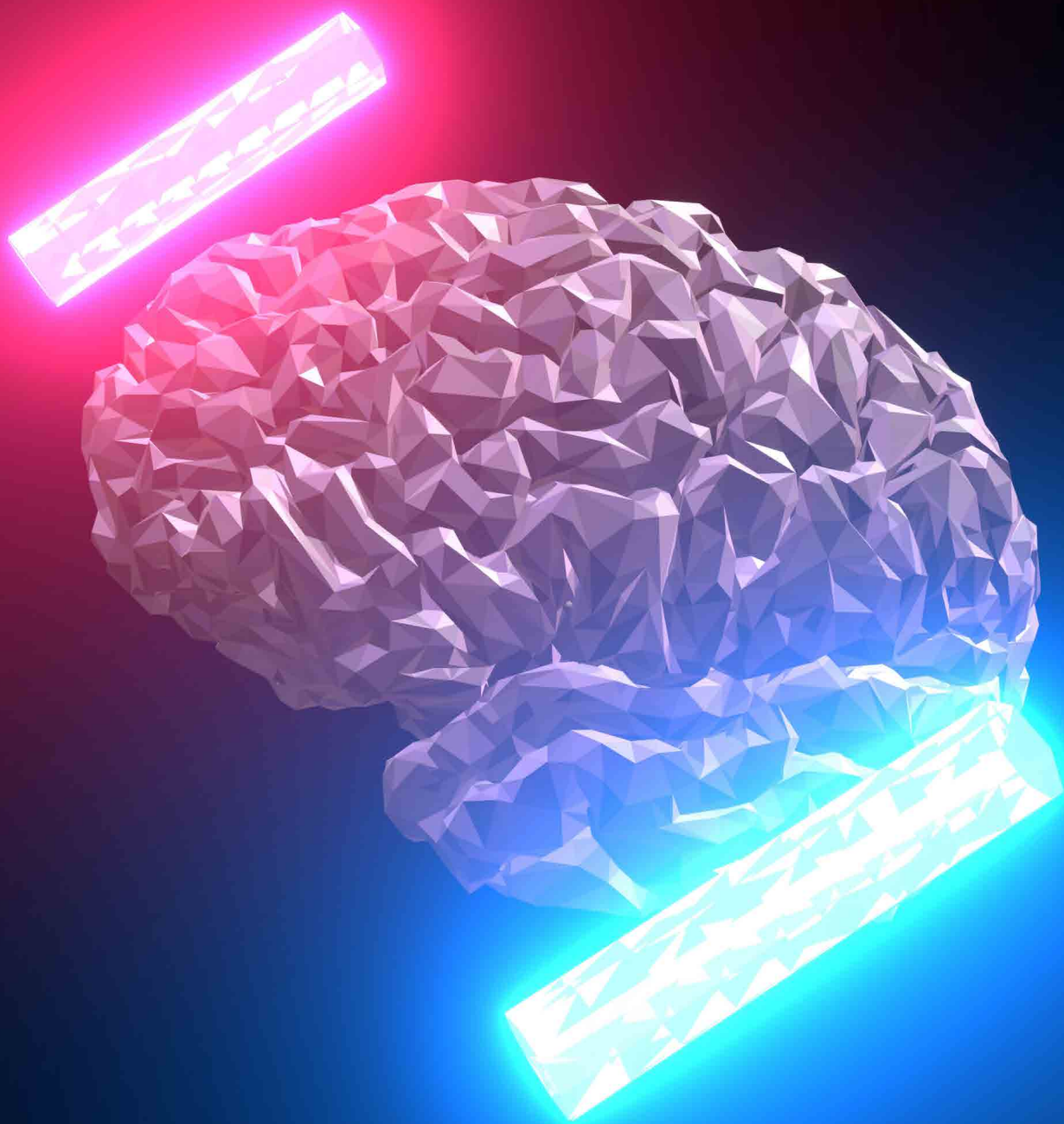
[108] Dayruke(Sketchfab nickname), "Mouse Low Poly." <https://sketchfab.com/>, 2019, [Online]. Available: <https://sketchfab.com/3d-models/mouse-low-poly-2f34c0d825e84b289880b21754b9ce36>.

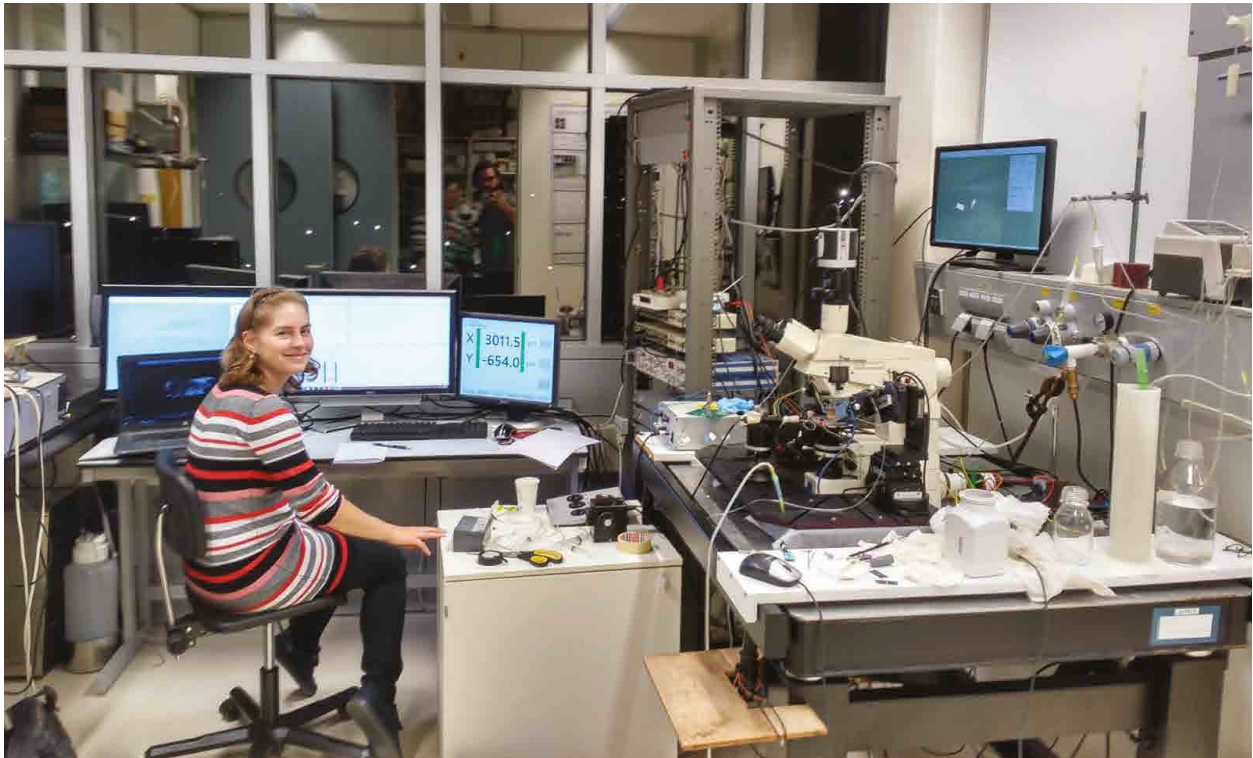
[109] A. Reniers, "Uncertainties in millimeter-wave antenna design, modeling and characterization: The observer effect," PhD Thesis Eindhoven University of Technology, 2022.

[110] T. P. G. van Nunen, "Wireless Power Transfer for Implantable Medical Devices: High-Power and Midfield Considerations," Eindhoven University of Technology, 2023.

[111] A. J. (Teun) van den Biggelaar, "Over-the-air characterization of millimeter-wave integrated antenna systems," Technische Universiteit Eindhoven, 2020.







Elles Adriana Lamberdina Raaijmakers werd geboren op 16 november 1989. Pas op dat je haar niet verwisselt met Elles Adriana Van Megen, een Limburgse dame met wie Elles haar twee ongebruikelijke eerste namen deelt door een kosmisch toeval en die, mogelijk door nog meer toeval, Elles haar schoonmoeder is.

Elles ging naar de Maria ter Heideschool tot 2002 en slaagde voor het Gymnasium van het Zwijsen college in 2008, toevallig dezelfde scholen als waar haar eerste promotor Martijn van Beurden ook naartoe ging. Verder zouden mensen het typisch kunnen vinden dat Martijns vader, die vroeger docent was, ooit een leerling in de klas had die Antoon Raaijmakers heet - de vader van Elles. De geschiedenis herhaalt zich.

Elles zette hetzelfde studieplan als haar eerste promotor voort en behaalde haar bachelor- en mastertitels in elektrotechniek in 2012 en 2015. Tijdens haar studie was ze lid van het 55^e Bestuur van studievereniging Thor in het allereerste Thorbestuur met een man/vrouw verhouding van 50%. Dit was een mijlpaal die voorheen onmogelijk leek. Een andere mijlpaal tijdens haar studie was het organiseren van een studiereis naar Brazilië, welke werd begeleid door faculteitslid-op-papier-maar-student-in-karakter Rob Mestrom. Wat Elles en Rob op dat moment nog niet wisten, was dat Rob Mestrom (weken) later benoemd zou worden tot afstudeerbegeleider van Elles en nog later haar copromotor zou worden.

Tijdens haar studie specialiseerde Elles zich in biomedische technologie via een minor en keuzevakken. Gedurende haar PhD in elektromagnetische breinstimulatie aan de Technische Universiteit Eindhoven werkte Elles voor haar cel experimenten samen met het Swammerdam Institute for Life Sciences aan de Universiteit van Amsterdam. Ze ontdekte daar dat ingenieurswetenschappen, waar je zelf de regels opstelt als je een product ontwerpt, en biologie, waar men zich een weg moet banen door de reeds opgestelde regels van Moeder Natuur, twee hele verschillende zaken zijn. Toch beschouwt ze de nieuwe ideeën over biochemische processen en statistiek die ze via de UvA heeft opgepikt van

onschatbare waarde.

Momenteel werkt Elles aan een onderzoeksproject gerelateerd aan elektronische chips onder begeleiding van professor Peter Baltus. Geheel volgens de regels van het universum, kregen de ouders van Elles haar partner Edgar verkering op de bruiloft van prof. Baltus, wiens vrouw een oud-klasgenote van hen bleek te zijn. Maar voor iemand hier een complot of vorm van vriendjespolitiek in ziet - we kwamen hier onlangs per toeval achter.

Andere noemenswaardige prestaties van Elles bestaan uit het vangen van 630 verschillende Pokémon en het afkijken van maar liefst drie series en spin-offs van Star Trek. In haar vrije tijd houdt Elles van het luisteren naar Franse jaren tachtig new wave muziek, het lezen van archaïsche Bijbelteksten en het eten van chips zonder deze eerst in een bakje te doen.

Elles heeft een jongere broer en zus, waarvan de laatste haar geboortedag deelt met Elles haar partner Edgar. Ze heeft drie neefjes, wie alle drie in dezelfde week geboren zijn. Elles zelf heeft een dochter en verwacht een tweede dochter op de verjaardag van de eerste.

Helaas zijn de statistische methoden die tot dusver in deze thesis beschreven zijn volstrekt onvoldoende om een kansberekening te doen op alle toevalligheden die hier beschreven zijn. Elles is overigens niet van plan om een van haar toekomstige dochters Elles Adriana te noemen omdat familiefeestjes momenteel al verwarrend genoeg zijn, overweegt wel een carrière als docent waardoor de optie om Martijn zijn dochters ooit in de klas te krijgen open blijft, is niet van plan om studiereizen te organiseren voor haar andere begeleiders, is enigszins teleurgesteld dat er geen statistische link naar haar tweede promotor Regina Lüttge gevonden is, en is erg tevreden over het feit dat ze voor haar familie maar een paar verjaardagen hoeft te onthouden.

Publicaties

Journals

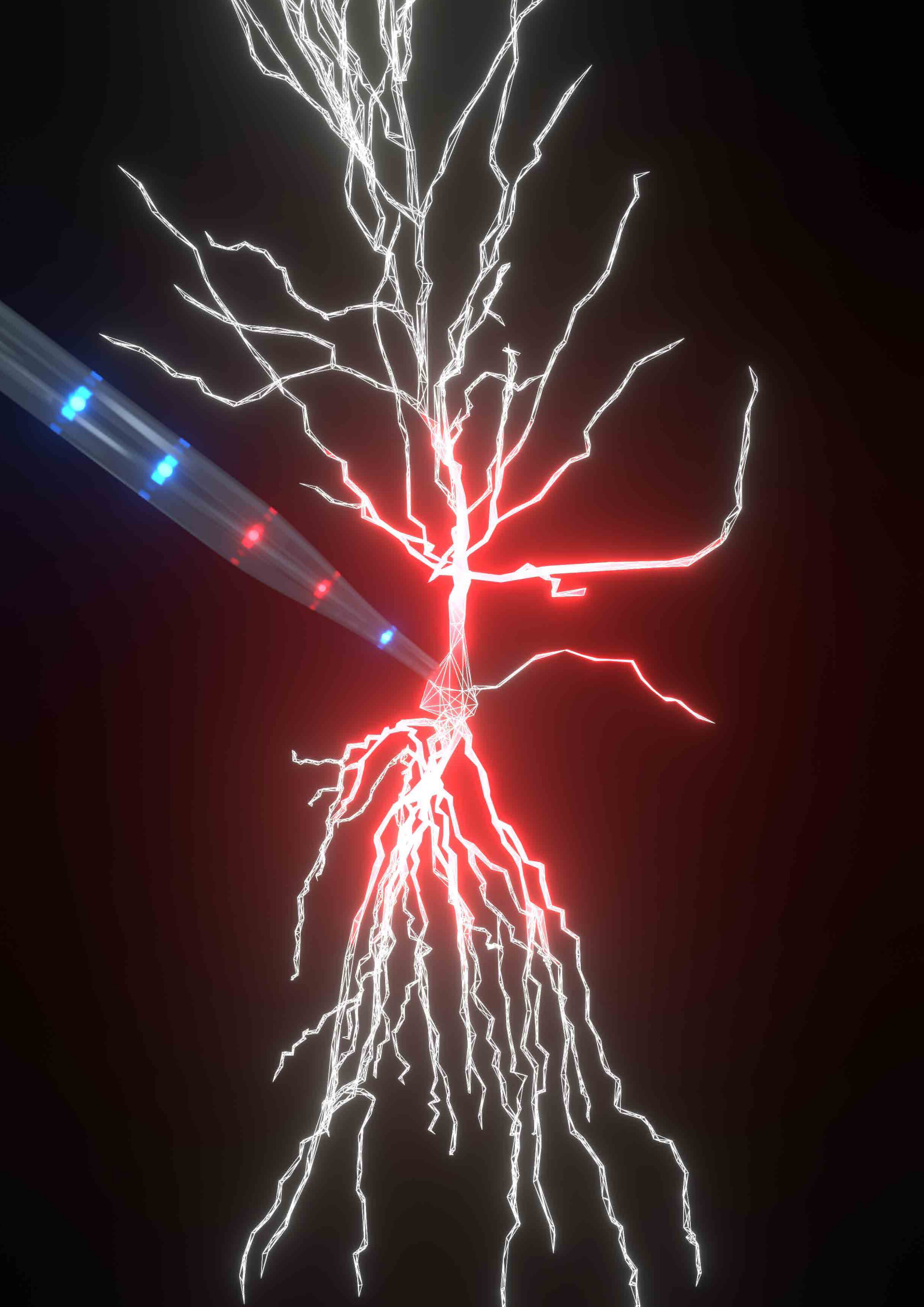
- J1. Elles A. L. Raaijmakers, Rob M.C. Mestrom, Kemal Sumser, Ghassan Salim, Gerard C. van Rhoon, Jeroen Essers, Margarethus M. Paulides, "An MR-compatible antenna and application in a murine superficial hyperthermia applicator," August 18, 2018, *International Journal of Hyperthermia*. 34, 6, pag. 697–703. Werk niet gerelateerd aan thesis.
- J2. Fer D. W. Radstake, Elles A. L. Raaijmakers, Regina Lüttge, Sveta Zinger, Jean-Philippe Frimat, "CALIMA: the semi-automated open-source calcium imaging analyzer," 1 okt 2019, *Computer Methods and Programs in Biomedicine*. 179, 10 pag., 104991. Shared first authorship.
- J3. Elles A. L. Raaijmakers, Nikki Wanders, Rob M. C. Mestrom, Regina Lüttge, "Analyzing Developing Brain-On-Chip Cultures with the CALIMA Calcium Imaging Tool," April 8, 2021, *Micromachines*. 12, 4, 412.
- J4. Elles A. L. Raaijmakers, Rob M. C. Mestrom, Dmitri N. Yousef Yengej, Martijn C. van Beurden, Wytse J. Wadman, "Changes in neuronal firing patterns induced by weak DC electric fields," Paper in voorbereiding.

Conferentiepraatjes

- C1. Elles A. L. Raaijmakers, Margarethus M. Paulides, Rob. M. C. Mestrom, "An MRI-compatible hyperthermia applicator for small animals," 12th International Congress of Hyperthermic Oncology (2016 ICHO), April 11–15, 2016, New Orleans, LA, USA, New Investigator Travel Award. Werk niet gerelateerd aan thesis.
- C2. Debby C.W. Klooster, Elles A. L. Raaijmakers, Maarten J.R.A. Van Rossum, Martijn C. Van Beurden, Paul A. J. M. Boon, Rob M. C. Mestrom, "Non-invasive brain stimulation: From field modeling to neuronal activation," 12 Jan 2021, 2020 50th European Microwave Conference, EuMC 2020. Institute of Electrical and Electronics Engineers, p. 1059–1062 4 p. 9338077.
- C3. Elles A. L. Raaijmakers, Zeph M. C. Van Berlo, "Billions of blue blistering barnacles! What we can learn from comics about the visualization of complex ideas," 32nd Annual Conference of the European Association for Education in Electrical and Information Engineering (EAEIE), June 14–16, 2023, Eindhoven. Werk geaccepteerd. Werk niet gerelateerd aan thesis.

Posters

- P1. Elles A. L. Raaijmakers, Rob M. C. Mestrom, Margarethus M. Paulides, "Murine head & neck applicator: hyperthermia prototype development," Joint URSI – NARF – AP-S Symposium, Dec 7, 2015, Drienerburcht, Twente, Nederland. Best poster presentation. Werk niet gerelateerd aan thesis.
- P2. Elles A. L. Raaijmakers, Maarten J. R. A. v. Rossum, Rob M. C. Mestrom, René M. H. Besseling, Anton G. Tjhuis, Bert P. Aldenkamp, "The Spectral Content of TMS Signals: An Analysis of Frequency-Related Neurostimulation Mechanisms," Kempenhaeghe congress, March 11, 2016.
- P3. Elles A. L. Raaijmakers, René M. H. Besseling, Rob M. C. Mestrom, "Neuronal Targeting with Electrical Stimuli: A description of a setup for an experimental evaluation," Kempenhaeghe congress, March 24, 2017.
- P4. Elles A. L. Raaijmakers, Dmitri N. Yousef Yengej, Wytse J. Wadman, "Measuring the Sub-Threshold Influence of an Electromagnetic Field on Neuronal Spiking Behavior," Swammerdam Institute of Life Science congress, June 14, 2018.
- P5. Elles A. L. Raaijmakers, Dmitri N. Yousef Yengej, Martijn C. v Beurden, Wytse J. Wadman, Rob M.C. Mestrom, "Zapping Neurons: Measuring the Sub-Threshold Influence of an Electromagnetic Field on Neuronal Spiking Behavior," Kempenhaeghe congress, June 14, 2019.
- P6. Nikki Wanders, Maaïke F.J. Fransen, Elles A.L. Raaijmakers, Sija Xie, Regina Lüttge, "Substrate stiffness effects on neuronal cell culture in vitro," Nanobiotechnology for Cell Interfaces seminar, March 17, 2021.
- P7. Elles Raaijmakers, Marco Barros Barreto, Peter Baltus, "Integrated circuits designed by the public," Joint ProRISC – SAFE conference, July 14–15, 2022, Twente, Nederland. Best poster presentation. Werk niet gerelateerd aan thesis.



Dankwoord

Het schrijven van een proefschrift over breinstimulatie kan eigenlijk wel worden samengevat als het denken over denken. Ik wil hierbij dan ook de vele grote geesten bedanken die hun gedachten en inzichten met me hebben willen delen. Natuurlijk zijn er mensen die een bijzondere rol hebben gespeeld. Ik zal ze hier noemen in semi-alfabetische volgorde.

Allereerst zijn daar mijn promotoren en mijn copromotor. Ik wil **Martijn**, mijn eerste promotor, bedanken voor de flitsende discussies die we altijd hadden. Je bent de onbetwiste allerbeste in numerieke wiskunde, maar door allerlei omstandigheden dreef mijn project aanvankelijk ver weg van de fysica en de numerieke methodes die zo duidelijk jouw expertise zijn. Het was erg uitdagend voor ons allebei om de wereld van de fysiologie uit te kammen vanuit een ingenieusblik. Je hebt hoge standaarden en wil dingen echt begrijpen, dus ik ben erg blij dat we uiteindelijk de thesis hebben kunnen afronden zonder afbreuk te doen aan de kwaliteit van ons werk. En ik ben extra trots op Studie I, waar we onze gezamenlijke interesses in kwijt konden.

Ik ben altijd blij om samen te kunnen werken met **Regina**, mijn tweede promotor. Je ziet de mogelijkheden in elke situatie, ook wanneer ik zelf denk dat we op een dood spoor zijn beland. Ik heb veel geleerd van jouw positieve energie. Onze gesprekken waarin we het hadden over de mogelijkheden en de moeilijkheden van het vrouw-zijn in de man-gedomineerde en competitieve technisch-academische wereld waren erg belangrijk voor me. Je hebt me geleerd dat het beter is om een manier te vinden om jezelf te blijven dan om overal een wedstrijd in te zien. Dank je, dat was precies wat ik moest horen.

Ik heb het gevoel voor humor van **Rob**, mijn copromotor, altijd bewonderd. Je hebt het talent om precies het juiste ding op het juiste moment te zeggen, vaak in de vorm van complexe en gelaagde grappen met een verborgen boodschap. Je hebt ook een grote detailkennis over een groot aantal onderwerpen, maar het is echt je gevatheid dat je de mentor maakt die je bent. Ik heb van jou geleerd dat je trots moet zijn op een rol als docent, een functie waarvan de waarde vaak over het hoofd wordt gezien in de academische wereld.

De belangrijkste presentatie van je leven geven is een uitdaging. Ik keek erg op tegen mijn verdediging totdat jij me te hulp schoot, **Karin Herrebout**. Bedankt voor je geduld, je fantastische advies en je hulp bij het samenstellen van mijn verhaal.

Ik heb elektrofysiologie en statistiek geleerd van **Helmut Kessels** en **Wytse Wadman**, wie beiden veel hebben bijgedragen aan mijn onderzoek. Wytse, ik wil je bedanken dat je me de gelegenheid hebt gegeven om elektrofysiologie in het lab te bestuderen. Van jou heb ik geleerd dat je als ingenieur zelf de regels opstelt van de uitvinding waar je aan werkt, en dat je als bioloog de reeds bestaande regels van Moeder Natuur bestudeert – en dat beide wetenschappen een totaal andere manier van denken vereisen. Ik heb veel geleerd van je eindeloze stroom aan ideeën.

Helmut, ik ben erg blij dat je bereid was om de methoden en statistiek van mijn proefschrift door te kammen. En ik ben zeer verheugd dat je plaats hebt genomen in mijn promotiecommissie, want je expertise en advies hebben geholpen om mijn onderzoeken te ontwikkelen.

Ik wil ook mijn vele aardige collega's van het **Wadman lab** (later **Kessels lab**) van de

Universiteit van Amsterdam noemen, vooral *Dmitri, Michel, Janna, Xante, Cato, Tamar, Niels, Femke, Aile, Hui, Taco, Jan, Natalie, Pascal* en *Karin*. Ik heb van jullie ontzettend veel geleerd over het leven rondom een elektrofysiologie lab, een ervaring die ik niet had willen missen.

Mijn collega's van de *Elektromagnetisme onderzoeksgroep* wil ik ook niet overslaan. Allereerst wil ik mijn mede-PhDstudenten noemen, vooral *TVN, Niels, Anouk, Steven, Martijn, Leroy, Ellen, Teun* en *Roel*. Bedankt voor het delen van memes, verhalen en goed advies. Ik heb eveneens veel goed advies gekregen van mijn andere collega's, senior onderzoekers en professors, *Bas, Roeland, Maarten, Suzanne, Bart* en *Mark*.

René en *Ad*, ik ben dankbaar dat jullie beide de tijd hebben genomen om een vroege versie van dit boekje te lezen en van commentaar te voorzien. En *Elles* en *Herman*, bedankt voor jullie hulp bij de Nederlandse vertaling van dit boekje.

Ik voel me ook erg welkom in mijn nieuwe sgroep, de *Integrated Circuits onderzoeksgroep*. Dus bedankt *Peter, Margot, Rainier, Remco, Kevin, Erik, Kyle, Martijn, Stijn, Jan, Marco, Eugenio, Marion, Pieter, Georgi, Dusan, Vojkan, Antonio, Piyush, Johan, Corné, Yijing, Irena* en de anderen. Ik heb tot dusver met veel plezier met jullie samengewerkt, en ik kijk uit naar onze toekomstige projecten.

Pierre en *Tim*, mijn mede-afstudeerders aan de *hyperthermiegroep van het Erasmus MC*; ik heb het altijd naar mijn zin tijdens onze uitjes. Ik hoop dat onze PhD-avonturen snel eindigen, maar dat onze gezamenlijke borrels blijven.

Mijn oude studiegenoten, waarvan ik de meesten ken via *studievereniging Thor*, betekenen ook veel voor me. Ik kijk altijd uit naar de jaarlijkse *Penningmeester* en *Commissaris Onderwijs*-etentjes, of ik bezoek het Walhalla om een drankje te doen met mijn oude maatjes zoals *Fer* of *Daan*. Maar ik moet wel toegeven dat ik me daar inmiddels best oud begin te voelen.

Ten slotte aan mijn *familie*, mijn *ouders*, mijn *broer* en *zus*, en mijn *schoonfamilie*: bedankt voor jullie steun. *Edgar*, mijn partner; ik hoop dat we altijd samen uitvindingen blijven doen en samen kunstprojecten blijven opzetten. En ik kijk uit naar de dag dat onze kinderen zich bij onze plannen aansluiten.

Disclaimer

Dit boekje is gemaakt om het wetenschappelijk werk dat is gepresenteerd in het proefschrift “Nudging neurons: Characterizing the behavior of single neurons and small networks in the presence of weak electric fields” samen te vatten en te ondersteunen.

Als je geïnteresseerd bent in de details achter het proefschrift, dan is het onder andere te vinden in de bibliotheek van Technische Universiteit Eindhoven:

ISBN: 978-90-386-5727-1.

NUR: 959.

Kaft: Ontwerp door Elles Raaijmakers & Edgar van Megen, gegenereerd met Blender 3.5, Chimera X version 1.5 end Protein Data Bank vormen.

Copyright © 2023 door Elles Raaijmakers.

Alle rechten voorbehouden. Niets van deze uitgave mag verveelvoudigd worden zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de auteursrechthebbende.

Gerelateerd onderzoek

Pagina 19 laat al zien dat er fascinerende onderzoeken plaatsvinden bij de Technische Universiteit Eindhoven. Als je meer wilt weten over andere neuron-gerelateerde onderzoeken, dan ga naar een van de volgende websites (alle sites zijn in het Engels):

<https://www.tue.nl/en/research/research-groups/electromagnetics/>

<https://www.tue.nl/en/research/research-groups/integrated-circuits/>

<https://www.tue.nl/en/research/research-groups/signal-processing-systems/>

<https://www.tue.nl/en/research/research-groups/microsystems/>

De onderzoeksgroep waarmee ik samen heb gewerkt tijdens het deel van mijn onderzoek dat ik aan de Universiteit van Amsterdam uitvoerde:

<https://sils.uva.nl/content/research-groups/cellular-and-computational-neuroscience/research-lines/research-lines-csn.html>

De onderzoekspagina's van mijn begeleiders:

Martijn van Beurden, computational electromagnetism

<https://www.tue.nl/en/research/researchers/martijn-van-beurden>

Regina Lüttge, neuro-nanoscale engineering

<https://www.tue.nl/en/research/researchers/regina-luttge/>

Rob Mestrom, multiphysics and clinical electromagnetism

<https://www.tue.nl/en/research/researchers/rob-mestrom>



