

# INSTRUMENTAÇÃO ELETRÔNICA PARA NEUROQUÍMICA E ESTIMULAÇÃO CEREBRAL

C. E. de Araujo\*, P. J. Abatti\*\*, C. da Cunha\*\*\*,  
A. Gómez\*\*\* e P. A. Dombrowski\*\*\*

\* Instituto Federal do Paraná - IFPR, Curitiba, Brasil

\*\* Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Curitiba, Brasil

\*\*\* Universidade Federal do Paraná - UFPR, Curitiba, Brasil

e-mail: carlos.araujo@ifpr.edu.br

**Resumo:** Neste trabalho descreve-se o projeto e construção de um detector de neurotransmissores com emprego de voltametria cíclica de varredura rápida – (fast scan cyclic voltammetry) FSCV e de um estimulador eletrônico capaz de excitar o núcleo subtalâmico NST. Com o sistema desenvolvido pode-se, por exemplo, estimular regiões cerebrais com base na concentração de dopamina tratando da reabilitação de doentes parkinsonianos.

**Palavras-chave:** DBS, FSCV, Neuroestimulador, Neuroquímica, Estimulador Cerebral .

**Abstract:** *This paper describes the design and construction of a detector of neurotransmitters with the use of fast scan cyclic voltammetry (FSCV) and one electronic stimulator capable of exciting the subthalamic nucleus NST. The developed system may be used, for example, to stimulate brain regions take into account the dopamine concentration in order to do the rehabilitation of parkinson's patients.*

**Keywords:** DBS, FSCV, Neurostimulator, Neurochemistry, Brain Stimulator.

## Introdução

Os equipamentos e dispositivos de estimulação cerebral profunda ou *deep brain stimulation* (DBS) são utilizados principalmente para regular os problemas de movimento associados com a Doença de Parkinson (DP), convulsões e epilepsia cuja introdução clínica foi realizada por Benabid et al., em 1987. Outras aplicações incluem o tratamento de distúrbios motivacionais, depressão severa e transtornos obsessivo compulsivo [1,2].

A interligação do sistema nervoso central - SNC (que depende dos neurotransmissores em suas sinapses) com a medula espinal evidencia a dependência dos movimentos voluntários ao correto funcionamento do SNC. No SNC a geração da dopamina (DA) na substância negra e a projeção dos neurônios, nesta última, ao estriado explica parcialmente porque a excitação elétrica nos núcleos subtalâmicos (NST) aumenta a concentração do neurotransmissor no estriado. As projeções do estriado ao córtex motor são extremamente importantes na ordenação dos

movimentos e a falta do neurotransmissor leva às condições de tremor e paralisia que caracterizam a DP.

No monitoramento de substâncias químicas cerebrais a voltametria cíclica de varredura rápida – (*fast scan cyclic voltammetry* – FSCV) vem sendo amplamente empregada. Sua alta resolução temporal, assim como uma ótima diferenciação química, através das propriedades de redução e oxidação (REDOX) conferem confiabilidade à técnica [3].

Neste trabalho descreve-se o projeto e construção de um detector de neurotransmissores com emprego de FSCV além de um estimulador eletrônico capaz de excitar o NST.

## Materiais e métodos

**Voltametria Cíclica** – Como o nome indica, o potencial é variado a partir de um valor inicial para um potencial final, retornando ao potencial inicial, geralmente a uma taxa de variação de 300 volts por segundo. A corrente é continuamente medida sendo plotada em relação ao potencial (figura 1). Devido a característica capacitiva dos eletrodos e a variação de potencial, uma corrente chamada de fundo (*background*) também é gerada, pois a corrente varia em função da capacitância de dupla camada (Cdl) do eletrodo e da taxa de variação de tensão E (V). Para obter a corrente REDOX de interesse retira-se (por software ou hardware) o *background* e a resultante é similar ao do último gráfico da Figura 1-a. Com múltiplas varreduras realizadas, uma visualização em gráfico tridimensional torna mais fácil a verificação das mudanças de REDOX. Esse gráfico (Figura 1-b) demonstra a variação temporal nas abcissas com as varreduras de potencial nas ordenadas entre -0,4 e 1,0 Volts, tendo as correntes em escala colorimétrica de ordem de grandeza de nA.

**Eletrodos** – Neste trabalho eletrodos de diminutas dimensões foram utilizados causando mínimas lesões quando implantados com diâmetros entre 5 a 30 micrômetros e comprimentos de 25 a 400 micrômetros.

O comportamento de um microeletrodo é capacitivo, pois a dupla camada de cargas em sua superfície o caracteriza como tal. Por esse efeito e pela magnitude das correntes de oxirredução ser pequena, mais de 90% da corrente de varredura num sistema voltamétrico deve-se a capacitância do eletrodo [5], [6].

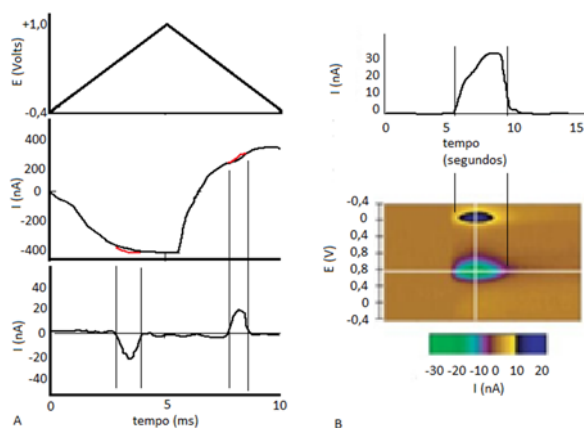


Figura 1: A - Rampa de potencial aplicada, variação de corrente (background + REDOX) e por último a corrente resultante REDOX após subtração de background. B - Corrente de oxidação relativa a tensão de 700 mV e o gráfico tridimensional de vários voltamogramas [4].

**Cirurgia** – Os procedimentos cirúrgicos foram realizados nos laboratórios de farmacologia da UFPR de acordo com o Comitê de Experimentação de Uso Animal sob número CEUA - 440.

A cirurgia nos ratos tem por objetivo a localização de três pontos específicos: o NST para introdução do eletrodo de estimulação, a SNC - para aplicação de droga depletora de neurônios dopaminérgicos para modelamento animal DP (não realizado neste estudo), e o Estriado para medição da DA.

Para registrar as estimulações um sistema de aquisição de dados foi utilizado composto por eCorder 410 (Edaq Incorporated, EUA) e um optoisolador Isoflex (A.M.P.I., ISRAEL). Neste procedimento os eletrodos de referência e auxiliar ficam alocados em pipeta com solução salina 0,9% do lado oposto a linha central. O eletrodo de registro é um microeletrodo de fibra de carbono - CFM. As Coordenadas utilizadas foram: STh – NST: Antero posterior AP -3,8, Médio Lateral 2,50, Dorso Ventral - 6,5. Para o Estriado: SDM CPu (caldado putamen) núcleo acumbens: AP 1,2; ML 3,7; DV -5,0 num ângulo de 20 graus (Figura 2).

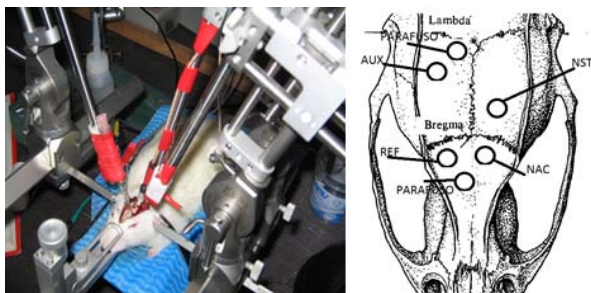


Figura 2: cirurgia e localização de eletrodos.

Os anestésicos utilizados são cetamina (100mg/kg) e xilazina (10 mg/kg). O animal é mantido anestesiado até

a finalização do procedimento. Para realizar os orifícios nos crânios dos animais utilizou-se uma furadeira com broca de 2 mm. A Figura 2 mostra os pontos de interesse no crânio.

**Circuito de Voltmetria FSCV** – Sobre o CFM é aplicada uma rampa de variação de potencial, cada ciclo com duração de 9 ms. O sinal analógico, resultante de oxidação e redução, consiste de uma corrente da ordem de nano amperes que é amplificado por um amplificador operacional AO de instrumentação OPA 2340 (Burr Brown) funcionando como transdutor corrente – tensão. A rampa é proveniente do próprio conversor digital analógico – de 12 bits do Arduino DUE que contém o Microcontrolador ARM Cortex-M3 de 32 bits SAM3x8E (Atmel) com 84MHz de clock - e é aplicada nos dois AO's. O sinal é subtraído no AO INA 2132 (Burr Brown) para retirada do sinal rampa inserido na porta não inversora do OPA 2340. Em seguida o sinal é convertido no módulo AD de 12 bits do microcontrolador. O sinal digitalizado segue para o módulo de comunicação serial do microcontrolador que está conectada ao LMX9830 - (Texas Instruments - TI) de tecnologia de comunicação *wireless* (Bluetooth). Os sinais enviados são captados por um módulo DONGLE *Bluetooth* no computador de mesa onde os dados podem ser armazenados e processados. Uma segunda versão também foi desenvolvida e utiliza o AO 2604 e um INA 126, ambos alimentados simetricamente por um conversor DC151505 - TI. O circuito foi modificado e é ilustrado na Figura 3 [7].

**Circuito DBS** – O estimulador consiste de dois terminais trançados implantado no NST. Este implante recebe pulsos bipolares de tensão limitando a níveis seguros para os animais (+/- 800  $\mu$ A) as correntes provenientes de um amplificador operacional - AO LF-353 - TI funcionando como buffer de tensão. A alimentação é simétrica, provida por um conversor DCP010515DBP.

O AO recebe o sinal do conversor digital analógico, MCP 4725 (Microchip) - para obtenção do nível de tensão, o dispositivo completo está na foto da Figura 4.

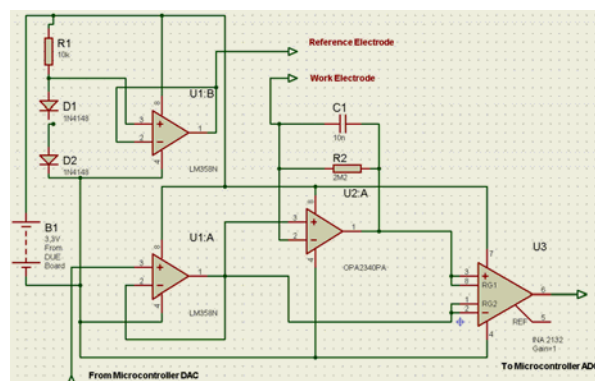


Figura 3: Circuito analógico do FSCV.

**Software de Aquisição** – A aquisição é feita por comunicação serial onde o usuário configura velocidade de comunicação, taxa de transmissão, número da porta,

etc. Uma Função de Detecção de Padrão (Labview) é utilizada para selecionar os valores de corrente transmitidos se referindo ao número da leitura (são realizadas 120 leituras) por período 9 ms seguidos de um período de transmissão de 300ms (figura 5). A cada período de 15 segundos os dados são salvos em arquivo na pasta especificada pelo usuário.



Figura 4: Circuito de voltametria e estimulador.

**Software de Leitura** – O software de leitura permite escolher o arquivo e selecionar a referência de leitura (o número da leitura) utilizada pelo programa. A partir deste ponto o voltamograma gerado é calculado pelo número de médias especificadas pelo usuário. Este procedimento gera o gráfico correspondente ao voltamograma de *background* – Esta corrente de fundo precisa ser retirada da medição. Feito isto o usuário seleciona a leitura desejada a ser analisada. O software então gera o voltamograma final que corresponde ao voltamograma de leitura menos o voltamograma de *background* médio (Figura 6).

**Firmware** – O firmware gravado no microcontrolador estabelece a comunicação serial em um *baud rate* de 115200 *bits per second*, gera a onda triangular por meio de um laço *for*, executa a conversão DAC internamente e no mesmo laço as conversões ADC salvando os dados em uma *string*. No intervalo entre 2 leituras completas consecutivas as correntes lidas e armazenadas em *string* seguem para a porta serial sendo enviadas por *Bluetooth* ao computador.

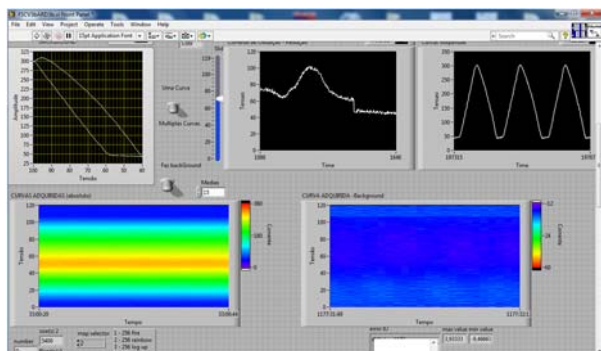


Figura 5: software de aquisição: no alto da esquerda para direita: Voltamograma de corrente de *Background* em função da tensão aplicada, Corrente de oxidação (na tensão de 700mV) para solução salina (linha de base) 40  $\mu\text{mol}$  de dopamina (primeiro pico) e 20  $\mu\text{mol}$  de

dopamina (segundo Pico) e gráfico de correntes em função do tempo durante as voltametrias cíclicas. Em baixo: Gráfico 3D colorimétrico total e por último Gráfico 3D colorimétrico final.

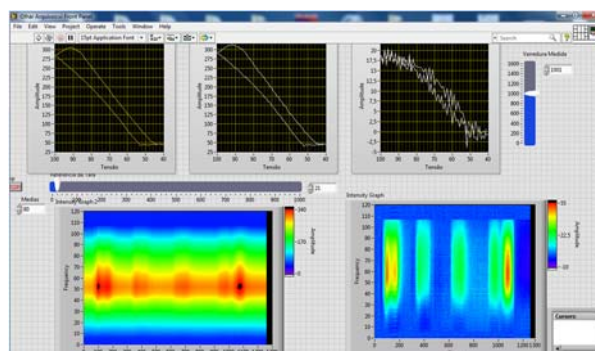


Figura 6: corrente de background, voltamograma em análise e final. Gráfico 3D total e final.

## Resultados e Discussão

**Circuito DBS** – A Figura 7 foi obtida com eletrodo agudo aplicado ao núcleo accumbens, no estriado, com aquisição do sinal enquanto foram realizados estímulos com o protótipo DBS. O primeiro trem de pulsos empregou corrente de 300  $\mu\text{A}$  diretamente no núcleo subtalâmico. O segundo trem foi realizado com 500  $\mu\text{A}$ .

**Laços de Voltametria** – o formato do laço de voltametria cíclica obtida caracteriza a substância sendo analisada. A Figura 8 mostra dois voltamogramas típicos de dopamina.

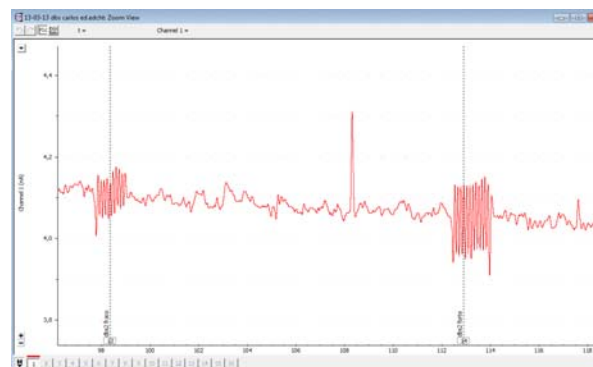


Figura 7: Corrente medida no estriado durante duas DBS (frequência de estimulação de 10 Hz). Escala de corrente em nA.

**Voltametria Tridimensional** – a representação dos laços de voltametria no modo tridimensional permite visualizar com clareza a injeção de fluxos de diferentes concentrações de neurotransmissor. Na Figura 9 visualiza-se a injeção de misturas de 4 e 7  $\mu\text{mol}$ .

**Concentração de DA** - As correntes de Oxidação tem picos característicos na tensão de 700 mV para DA e por isso construiu-se em Labview um gráfico que monitora as correntes no potencial desejado – através de um *slider*. Dessa maneira diferentes concentrações

causam correntes REDOX proporcionais as mesmas (Figura10).

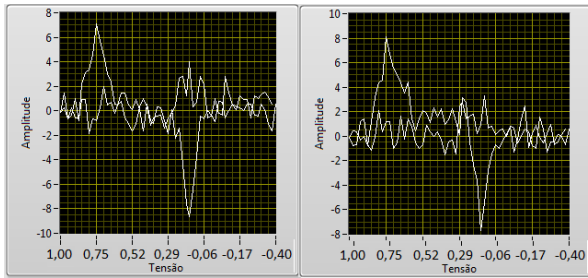


Figura 8: Voltamogramas típicos de dopamina na concentração de 10  $\mu\text{mol}$ .

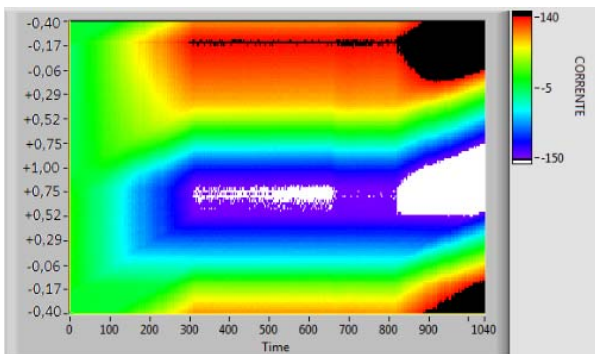


Figura 9: Voltametria tridimensional com a tensão em volts nas ordenadas e o número das varreduras nas abscissas. As correntes são representadas por cores e estão em nA.

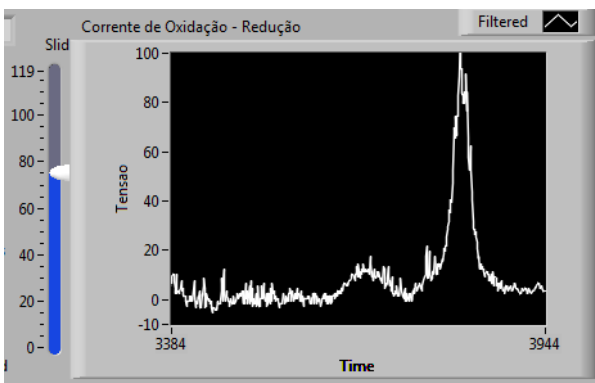


Figura 10: corrente medida na tensão de oxidação de 700 mV para concentrações de 1 e 5  $\mu\text{mol}$ .

## Conclusão

Neste trabalho obteve-se um estimulador cerebral possível de utilização em DBS e desenvolveu-se uma instrumentação sensível à alteração de DA por FSCV. A Figura 7 comprovou a eficácia do DBS e a figura 8 caracteriza a DA. As figuras 9 e 10 confirmam a sensibilidade do aparato em diferentes concentrações.

Com os resultados obtidos pode-se, por exemplo, utilizar o sistema para estimular regiões cerebrais com

base na concentração de dopamina tratando da reabilitação de doentes parkinsonianos.

## Agradecimentos

Agradecemos ao Engenheiro André Oliveira da National Instruments pelo apoio no desenvolvimento dos softwares e ao CNPq pelo apoio financeiro.

## Referências

- [1] Friehs, G. et al., “Deep brain stimulation: Clinical findings in intractable depression and OCD,” in 10th Annu. Conf. Int. FES Soc., Montreal, Canada, July 2005.
- [2] Benabid, A. L. et al., “Combined (thalamotomy and stimulation) stereotactic surgery of the vim thalamic nucleus for bilateral parkinson disease,” *Appl. Neurophysiol.*, vol. 50, no. 1–6, pp. 344–346, 1987.
- [3] Wang, Joseph. *Analytical Electrochemistry*, Second Edition. Copyright 2000 Wiley-VCH ISBNs: 0-471-28272-3 (Hardback); 0-471-22823-0 (Electronic).
- [4] Garris et. Al. *In Vivo Voltammetry with Telemetry in Electrochemical Methods for Neuroscience – 2009*.
- [5] Geddes, L. A.; Baker, L. E. *Principles of Biomedical Instrumentation*, 3<sup>a</sup> ed. Nova Yorque: Wiley, 1989.
- [6] Webster, J.G. *Medical Instrumentation Application and Design*. 3<sup>a</sup> ed. New York: John Wiley & Sons, 1998 ISBN: 0-471-15368-0
- [7] Shon, Y. M.; et al., *Comonitoring of adenosine and dopamine using the wireless instantaneous neurotransmitter concentration system: Proof of principle*. *J. Neurosurgery*, v.112, p.539-48. 2010.