



## Teste e Caracterização de um Sensor de Multieletrodos para Registro de Sinais Eletrofisiológicos

Bianca de Quadros Cerbaro<sup>1</sup>, Carolina de Barros Vidor<sup>2</sup>; Ricardo Vaz Breda<sup>3</sup>,  
Ricardo Meurer Papaléo<sup>1</sup> (orientador)

<sup>1</sup>Faculdade de Física, PUCRS; <sup>2</sup>Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais, PUCRS; <sup>3</sup>Instituto de Pesquisas Biomédicas, Hospital São Lucas da PUCRS

### Resumo

Este trabalho apresenta os resultados de ações de pesquisa relacionadas à implementação de procedimentos de medida de sinais eletrofisiológicos *in vitro* com o uso de sensores de multieletrodos micronano-fabricados (QWANE, 2011). Tais ações consistiram na caracterização dos sensores por microscopia óptica, no desenvolvimento de uma interface eletrônica que permita integrar o sensor a um sistema de aquisição de dados, no estabelecimento de protocolos para correto manuseio dos sensores e preparação destes para cultura celular e no desenvolvimento de um sistema de perfusão a fim de viabilizar a experimentação com fatias vivas de tecido. Busca-se, com isso, aperfeiçoar o desenvolvimento dos sensores, adaptando-os à realidade do laboratório e ao tipo de tecido utilizado.

### Introdução

Os arranjos de multieletrodos (ou matrizes multieletrodo, do inglês *multi-electrode array* – MEA) representam uma metodologia privilegiada de análise *in vitro* para estudar o circuito elétrico equivalente de cultura de células excitáveis, neurônios dissociados ou fatias de tecido neural. O estímulo e o registro do sinal são feitos de modo simultâneo em vários locais da fatia, de forma extracelular, usando muitos neurônios sob condições *in vitro*. Os sinais extracelulares (ou potenciais de campo, do inglês *field potentials* –FPs) refletem o pico de atividade de neurônios individuais ou superpostos, permitindo analisar um mapa de conectividade funcional compreendendo suas atividades fisiológicas e patologias associadas. (SPIRA, 2013).

Este trabalho apresenta os resultados das ações realizadas no âmbito de um projeto de pesquisa financiado pelo CNPq e desenvolvido em caráter de cooperação internacional entre a PUCRS e a École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), na Suíça. Os sensores utilizados são arranjos de multieletrodos modelo MEA60 200 Pt, fabricado pela empresa Qwane Biosciences SA, a qual é *spin-off* do Centro de MicroNano-Tecnologia da EPFL.

## **Metodologia**

A caracterização dos sensores foi realizada através da obtenção de imagens por meio de microscopia óptica, no Centro de Microscopia e Microanálises (CEMM) da PUCRS. Utilizou-se uma câmera de vídeo digital marca Motic, modelo Moticam 2500, acoplada a um estereomicroscópio marca Olympus modelo SZ 51, com ampliações entre 30 e 40 vezes.

Depois, foi concluída a interface entre o sensor o sistema de aquisição de dados para estabelecer as conexões eletrônicas necessárias ao uso do MEA como estímulo e registro da resposta eletrofisiológica obtida, iniciada anteriormente (VIDOR, 2012).

O desempenho do sistema quando dentro e fora de uma gaiola de Faraday específica foi verificado. Para aprimorar a interface eletrônica, foi desenvolvido um projeto com o Laboratório IDEA, da PUCRS. Para cuidados sobre uso e manuseio, desinfecção e limpeza dos sensores pré e pós experimentos, são utilizados protocolos baseados nas limitações técnicas dos sensores, fornecidos pelo fabricante (QWANE, 2011).

O tecido é mantido irrigado no sensor com solução de Ringer enviada por uma bomba peristáltica, durante o tempo de medição dos sinais elétricos. De forma a limitar a entrada e saída de líquido do sensor, criou-se um molde de teflon para confecção de uma tampa de silicone com duas agulhas. O desempenho da tampa foi testada ligando suas agulhas à bomba de perfusão, com uma vazão de líquido constante.

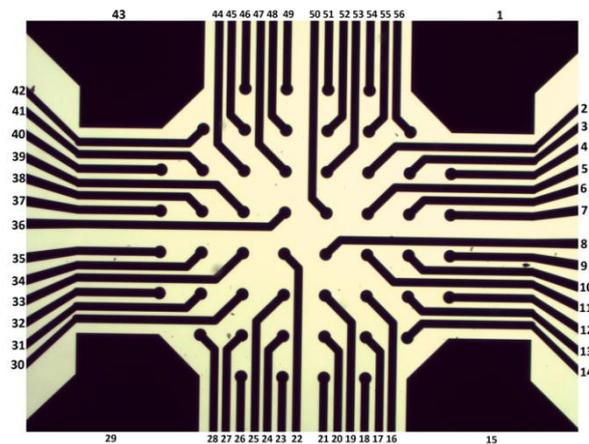
## **Resultados**

As imagens por MO mostraram a disposição dos eletrodos no sensor. Com isto, foi possível estabelecer um mapa, atribuindo um número a cada eletrodo (figura1).

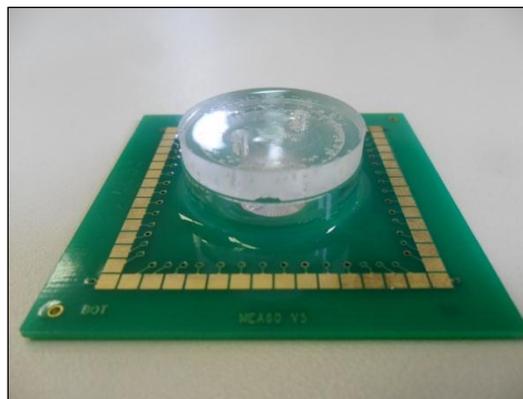
O teste da gaiola de Faraday e as medidas com a primeira interface eletrônica mostraram uma possível influência externa nos fios de registro e estímulo, dada a sua

proximidade. A diferença entre as duas situações é evidente, obtendo-se uma atenuação significativa do sinal elétrico da célula quando localizada fora da gaiola. O sistema aprimorado desenvolvido em parceria com o IDEA ainda não foi testado.

A tampa de silicone (figura 2) mostrou-se útil para vedação, permitindo a entrada e saída de líquido sem vazamento por cerca de vinte minutos. O teste com população de neurônios serão realizados posteriormente.



**Figura 1** – Imagem de microscopia eletrônica com mapa da numeração dos microeletrodos do sensor MEA.



**Figura 2** - Tampa de silicone sobre o sensor.

## Conclusão

As imagens por MO permitiram conhecer a disposição dos microeletrodos no sensor. A tampa de silicone se mostrou adequada para vedar a quantidade de líquido no sensor e permitiu adaptar a bomba peristáltica. O interfaceamento eletrônico desenvolvido ainda não foi testado.

Como metas futuras, projeta-se realizar testes de medidas elétricas com o sensor e a interface criada pelo laboratório IDEA, propondo melhorias em concomitância com a bomba

de perfusão e aperfeiçoando as tampas de silicone já confeccionadas Além disto, faz-se necessário testar os protocolos de limpeza e desinfecção. Com isto, será possível propor melhorias no sistema eletrônico e no próprio MEA, otimizando o uso e o desenvolvimento de dispositivos microfabricados.

## **Referências**

QWANE, Biosciences. Mea60 Biochips: User Manual. Disponível em: < [http://www.qwane.com/Products/MEAs/Documents/MEA60\\_User\\_Manual.pdf](http://www.qwane.com/Products/MEAs/Documents/MEA60_User_Manual.pdf) > Acesso em 28 de abril de 2013.

SPIRA, Micha E.; HAI, Aviad. Multi-electrode array technologies for neuroscience and cardiology. **Nature Nanotechnology**, v. 8, p. 83-94, Fev. 2013.

TAKETANI, Makoto; BAUDRY, Michel. Advances in network electrophysiology using multi-electrode arrays. Springer: Los Angeles, c2006. 478 p.

VIDOR, C. B. **Teste e Caracterização de uma Matriz Multieletrodo Para Registro De Sinais Eletrofisiológicos *In Vitro***. 2012. 76 f. Monografia (Graduação em Física) – Faculdade de Física, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.