

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

ISABELA CRISTINA PIRONELI

**DETECÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES UTILIZANDO-SE
ABORDAGEM ELETROANALÍTICA**

**PATOS DE MINAS - MG
NOVEMBRO DE 2021**

ISABELA CRISTINA PIRONELI

**DETECÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES UTILIZANDO-SE
ABORDAGEM ELETROANALÍTICA**

“Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia”

Orientadora: Prof^a Dr^a Djenaine de Souza

PATOS DE MINAS – MG

NOVEMBRO DE 2021

SOLICITAÇÃO**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO (TCC) - BIOTECNOLOGIA
AUTORIZAÇÃO DE DEPÓSITO DA VERSÃO FINAL**

Eu, Professora Orientadora Djenaine de Souza, autorizo o depósito da **VERSÃO FINAL** do Trabalho de Conclusão de Curso – TCC, e uma cópia da monografia, visto que os ajustes apontados pela banca foram realizados.

Aluna: Isabela Cristina Pironeli Matrícula: 41621BTC005

Título do trabalho: DETECÇÃO DE NEUROTRANSMISSORES UTILIZANDO-SE ABORDAGEM ELETROANALÍTICA.

Djenaine de Souza

Professora Orientadora/IQ/UFU/Patos de Minas



Documento assinado eletronicamente por **Djenaine de Souza, Professor(a) do Magistério Superior**, em 04/11/2021, às 13:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **3144735** e o código CRC **F42628B4**.

RESUMO

Os neurotransmissores são os principais mensageiros e neuromoduladores do sistema nervoso central. Sabe-se atualmente que estão relacionados à incidência de muitas doenças de origem neurológica, como Parkinson e TDAH, além de serem importantes alvos de estudo da farmacocinética. Logo, torna-se necessário explorar técnicas para mensurar seus níveis in vivo a fim de diagnosticar e prevenir o surgimento de psicopatologias. Os ultramicroeletrodos são sensores elétricos que possibilitam o estudo de amostras in vivo, sem danificar a integridade celular circundante. No presente estudo, foi realizado uma revisão bibliográfica das principais metodologias e avanços obtidos na identificação dos neurotransmissores.

Palavras-chave: Neurotransmissores; Ultramicroeletrodos; Voltametria cíclica; Voltametria de onda quadrada; Nanosensores;

ABSTRACT

Neurotransmitters are the main messengers and neuromodulators of the central nervous system. It is currently known that they are related to the incidence of many diseases of neurological origin, such as Parkinson's and ADHD, in addition to being important targets for pharmacokinetic studies. Therefore, it becomes necessary to explore techniques to measure their levels in vivo in order to diagnose and prevent the emergence of psychopathologies. Ultramicroelectrodes are electrical sensors that allow the study of samples in vivo, without damaging the surrounding cell integrity. In the present study, a bibliographical review of the main methodologies and advances obtained in the identification of neurotransmitters was carried out.

Keywords: *Neurotransmitters; Ultramicroelectrodes; Cyclic voltammetry; Square wave voltammetry; Nanosensors;*

SUMÁRIO

<u>1</u>	<u>CONSIDERAÇÕES INICIAIS</u>	
<u>1.1</u>	<u>Neurotransmissores</u>	8
<u>2</u>	<u>OBJETIVO</u>	11
<u>3</u>	<u>ELETROANALÍTICA</u>	11
<u>3.1</u>	<u>Voltametria Cíclica</u>	12
<u>3.2</u>	<u>Voltametria de onda quadrada</u>	13
<u>3.3</u>	<u>Reações redox</u>	14
<u>3.4</u>	<u>Ultramicroeletrodos</u>	15
<u>4</u>	<u>DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DE NEUROTRANSMISSORES</u>	17
<u>5</u>	<u>CONCLUSÃO</u>	22
	<u>REFERÊNCIAS</u>	22

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O sistema nervoso é o grande responsável pela percepção dos fatores externos tais como variações de temperatura, choques e sensações diversas através do nosso corpo, assim como do controle e execução de funções básicas e intrínsecas a sobrevivência do organismo como equilíbrio, coordenação motora e principalmente a comunicação do cérebro com todas as partes do corpo. Este sistema, dividido em central e periférico, é constituído por um conjunto de órgãos responsáveis por captar as mensagens, estímulos do ambiente, interpretá-los, arquivá-los e/ou promover reações vitais para a sobrevivência dos indivíduos. As células do sistema nervoso são a base desse sistema operacional e integrado, formando uma rede funcional capaz de processar e armazenar informações (KREBS et al., 2013). Atualmente dois tipos celulares são catalogados, as células da glia (têm a função de proteger e nutrir os neurônios) e os neurônios (responsáveis pela transmissão dos impulsos nervosos), sendo este um dos interesses desta revisão bibliográfica.

Os neurônios são as células excitatórias do sistema nervoso, responsáveis pela propagação do impulso nervoso que se inicia com alterações da diferença de potencial elétrico na membrana celular, o qual pode ser variado de -70 mV para $+35$ mV aproximadamente, um processo que é iniciado com a abertura dos canais de sódio presentes na membrana celular. Ao atingir o máximo de potencial elétrico, inicia-se o processo de repolarização, ao mesmo tempo em que ocorre a propagação do impulso nervoso de uma região a outra do neurônio até sua chegada aos terminais axônicos, onde serão convertidos em sinapses elétricas ou químicas (MOREIRA, 2015).

Quando ocorre a sinapse química, que é unidirecional de maneira que a reação ocorre a partir do neurônio pré-sináptico para o pós-sináptico, através da aproximação destes neurônios, ocorre a liberação de neurotransmissores, que são os mensageiros químicos. Assim, os neurotransmissores são substâncias químicas produzidas dentro do neurônio pré-sináptico e carregam as informações que precisam ser levadas para o neurônio pós-sináptico, resultando na formação de algum tipo de ação ou reação no corpo humano. Os terminais axônicos, que liberam os impulsos elétricos no neurônio pré-sináptico, mantêm esses neurotransmissores internalizados em vesículas com

potencial de interagir com os íons Ca^{2+} que adentram o meio intracelular como consequência da chegada do impulso nervoso. A ligação das proteínas presentes na membrana das vesículas sinápticas com os íons Ca^{2+} levam a fusão da vesícula com a membrana do neurônio, desencadeando na liberação dos neurotransmissores nas fendas sinápticas, onde se ligam a receptores específicos presentes na membrana dos neurônios pós-sinápticos (POLLI LOPES et al., 1999). O complexo neurotransmissor-receptor possibilita a propagação do impulso nervoso ao longo dos neurônios, e assim, a deflagração de uma resposta fisiológica que pode ser de caráter excitatório ou inibitório (COSTA, 2015).

Como os neurotransmissores são mediadores químicos, cada um deles tem uma função específica e podem ser quimicamente classificados como aminas, aminoácidos, peptídeos, purinas, gases e ésteres. As aminas são norepinefrina, epinefrina, dopamina ou serotonina, as quais são derivadas do triptofano e outros aminoácidos. Alguns aminoácidos atuam diretamente como neurotransmissores, dentre eles glutamato, ácido γ -aminobutírico, aspartato ou glicina. Os peptídeos são neurotransmissores formados por longas cadeias de aminoácidos, dos quais se destacam endorfinas, dinorfinas e taquicininas. O óxido nítrico (NO) é um importante gás intracelular considerado como neurotransmissor. A acetilcolina é um éster derivado do ácido acético e colina que atua na regulação da memória, aprendizado e sono. Dentre todos estes neurotransmissores identificados até o presente momento, podemos destacar como principais: ocitocina, endorfina, dopamina, adrenalina, noradrenalina e a serotonina em razão do número positivo de estudos e dados abrangendo suas funções e rotas celulares (JIN et al, 1999).

1.1 Neurotransmissores

Os neurotransmissores são importantes moduladores das respostas fisiológicas a condições externas. Cada neurotransmissor irá se combinar com uma célula, as quais possuem receptores específicos para o neurotransmissor, resultando nos processos de transmissão, modulação e amplificação das informações entre neurônios. A reação do neurotransmissor com o neurônio pode resultar em respostas inibitórias (restrição de um potencial de ação no neurônio receptor), excitatória (criação de um sinal elétrico no

neurônio receptor) e modulatória (regulação da população de neurônios). O equilíbrio destes processos entre neurotransmissores e neurônios resulta em bem-estar e equilíbrio fisiológico e neurológico do ser humano. Desta maneira, estudar as reações envolvendo neurotransmissores é de fundamental importância para o entendimento do funcionamento do corpo humano e do comportamento social.

O estudo de neurotransmissores, similar ao estudo de outras moléculas orgânicas, é intrínseco à identificação dos valores de constantes de ionização ou constante de equilíbrio ácido (pK_a) dos mesmos. De acordo com a teoria de Brønsted-Lowry, o valor de pK_a quantifica a facilidade com que um ácido doa ou transfere seus prótons em meio aquoso, dessa forma, quanto menor o valor de pK_a , mais forte será esse ácido e mais fácil será a reação de ionização. Conhecer o seu valor não é determinante para caracterizar o comportamento ácido ou básico de um composto, no entanto nos permite entender o pH onde 50% do mesmo encontra-se em sua forma ionizada (CAIRNS, 2012). Além disto, os valores de pK_a auxiliam na compreensão da farmacocinética dos neurotransmissores:

1. As moléculas em sua forma não ionizadas, conseguem transpor livremente as membranas celulares fosfolipídicas, de forma que, serão distribuídas com mais facilidade e maior velocidade no organismo;
2. Aprisionamento iônico das espécies, em diferentes compartimentos, de forma que, moléculas ácidas irão se concentrar em compartimentos com pH alto, e vice-versa (RANG et al., 2016).

Como demonstrado na Tabela 1, a maioria dos neurotransmissores apresentam pK_a com valores variando de 8,58 a 8,93, indicando a predominância da forma protonada, o que irá influenciar significativamente nas reações em meio fisiológico.

De acordo com as estruturas químicas e os grupamentos químicos presentes na estrutura molecular dos neurotransmissores pode-se caracterizá-los de acordo com suas funções fisiológicas, e agrupá-los de maneira correlata. Dentre os tipos de neurotransmissores existentes, descritos anteriormente, destacam-se as aminas biogênicas e os neuropeptídeos. As aminas biogênicas são compostos orgânicos derivados da descarboxilação de aminoácidos naturais, os neurotransmissores dopamina, norepinefrina, epinefrina, e serotonina são alguns exemplos (ADOLFO; RIBEIRO, 2013). Já os neuropeptídeos apresentam em sua estrutura química uma longa

cadeia de aminoácidos, que contribui de maneira correlata na ação prolongada no sistema nervoso, são exemplos abordados nesse estudo a endorfina e a ocitocina (BOSE et al., 2017).

A dopamina, norepinefrina e epinefrina são derivadas do mesmo aminoácido, a tirosina. Dessa forma, suas estruturas químicas apresentam grandes similaridades, a começar pela presença dos grupamentos catecol e NH₂. Nas sucessivas reações enzimáticas que seguem a formação da L-DOPA, a partir da tirosina, ocorre a formação da dopamina formada a partir de um catecol, associado a uma amina através de uma ponte etil. A dopamina por sua vez, irá sofrer a ação de uma enzima hidroxilase, resultando na norepinefrina com a integração do radical etil. Por fim, a norepinefrina sofrerá a ação da enzima feniletanamina, para formar a epinefrina com um metil associado em sua estrutura (MARANE, 2016). De forma similar, a serotonina é derivada do triptofano e possui em seu esqueleto carbônico, um composto indol associado ao grupamento amina por uma ponte etil.

Para que o neurotransmissor realize suas funções fisiológicas de maneira eficiente, é necessário que seus mecanismos de síntese e liberação estejam operando de forma adequada. Qualquer intercorrência nesses processos, pode levar à desregulação de suas concentrações, favorecendo o surgimento dos efeitos colaterais descritos na Tabela 1.

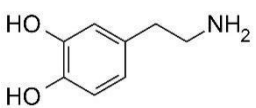
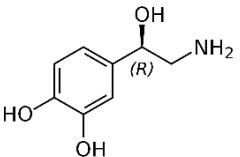
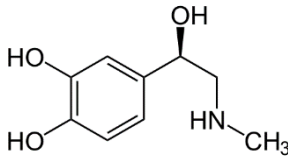
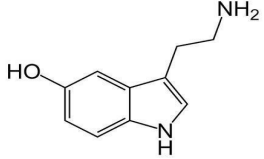
Como cada neurotransmissor apresenta funções específicas no organismo humano, e se presente em concentração inadequada, em níveis elevados ou abaixo do necessário para as reações metabólicas, pode promover efeitos colaterais descritos anteriormente. Desta maneira, observa-se um grande esforço da comunidade científica no desenvolvimento de estudos acerca da relação dos níveis de neurotransmissores no organismo e a predisposição para determinadas patologias, principalmente no caso das psicoses (MATYS et al., 2020).

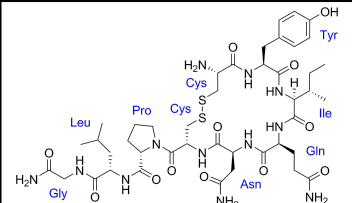
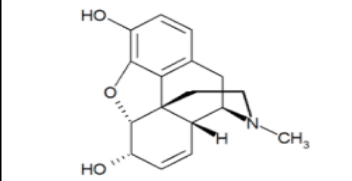
Anteriormente, Didonet (2012) e Scherer (et al., 2011) desenvolveram pesquisas sobre o desequilíbrio químico de neurotransmissores, nos quais as concentrações inadequadas são de neurotransmissores foram relacionadas a transtornos fisiológicos, tais como o desenvolvimento de quadros depressivos e outras doenças psiquiátricas. Estes e outros trabalhos têm demonstrado a necessidade de identificar e quantificar as concentrações de neurotransmissores a fim de promover um diagnóstico mais assertivo,

e antecipado ao surgimento dos sintomas mais críticos. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar um levantamento bibliográfico para avaliar o emprego de técnicas eletroanalíticas para a identificação e quantificação de neurotransmissores, principalmente considerando-se, as condições reais de um organismo vivo.

Para isto, foram pesquisados os neurotransmissores, dopamina, norepinefrina, epinefrina, serotonina, endorfina e ocitocina, em razão de sua relevância para compreensão dos fatores relacionados à farmacocinética e eletroquímica neural, pois estes estão envolvidos na existência de diferentes patologias clínicas e comportamentais, e são fundamentais nas rotas metabólicas principais para o funcionamento do organismo.

Tabela 1 – Principais neurotransmissores, com suas respectivas estruturas químicas, funções metabólicas, efeitos colaterais e valores de pK_a .

Neurotransmissor	Estrutura química	Funções metabólicas	Efeitos colaterais	pK_a
Dopamina		Regulação do sistema motor, participação no sono-vigília, e influência no aprendizado.	Espasmos, náusea, vômito, arritmias cardíacas, hipotensão, anemia hemolítica, retenção urinária, úlcera duodenal, dor abdominal, boca seca, pesadelos, taquipneia, bruxismo, confusão e insônia.	8,93
Norepinefrina		Controle de ansiedade, atenção, comportamentos alimentares, aprendizagem e memória.	Isquemia e morte do membro.	8,58
Epinefrina		Ação excitatória sobre o sistema nervoso central, responsável pelo estado de alerta, estimulando o aumento da frequência cardíaca e pressão arterial.	Teratogenicidade, aceleração da frequência cardíaca fetal e atraso do segundo estágio do parto em mulheres grávidas. Edema pulmonar, hemorragia vascular cerebral, vasoconstrição renal e dos membros, angina de peito, isquemia cardíaca, necrose, ansiedade e dor de cabeça.	8,59
Serotonina		Regulação do sono, estado de alerta, apetite, humor e temperatura corporal.	Transtorno de humor, fadiga, desânimo, ansiedade e depressão	NR

Ocitocina		Aumenta a sensação de bem-estar e felicidade, além de diminuir a sensação de estresse e ansiedade.	Isquemia miocárdica, taquicardia, arritmia, espasmos uterinos, e hipertonia. Em grávidas pode levar à convulsões, coma e até morte.	NR
Endorfina		Ação analgésica, influencia no humor e na sensação de bem-estar.	Alterações de humor, dores no corpo, irritabilidade, ansiedade, tristeza e falta de disposição.	NR

Fonte: próprio autor

NR = não reportado

2 OBJETIVO

O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão bibliográfica acerca da aplicabilidade dos ultramicroeletrodos para identificação e quantificação dos neurotransmissores dopamina, norepinefrina, epinefrina, serotonina, endorfina e ocitocina.

3 METODOLOGIA

Esse trabalho foi realizado através de buscas nas bases de dados *Science Direct*® e *SciELO*®, utilizando as palavras chaves *neurotransmitter*, *ultramicroelectrodes*, *dopamine*, *norepinephrine*, *epinephrine*, *endorphine*, *serotonin* e *ocitocine*. Foram considerados os trabalhos publicados entre os anos de 2001 e 2021.

4 ELETROANALÍTICA

Empregando-se técnicas eletroanalíticas é possível identificar e quantificar compostos de interesse biológico, bem como obter informações referentes à termodinâmica de reações eletroquímicas, a partir de informações como, corrente, potencial, carga elétrica ou outras propriedades elétricas. Seu emprego baseia-se na utilização de condutores elétricos (eletrodos) em contato com condutor iônico (eletrólito) contendo as espécies eletroativas de interesse, de forma que os íons dissolvidos na solução possibilita a troca de elétrons entre ambos na interface eletrodo/solução (WANG, 2006). As técnicas eletroanalíticas possuem características vantajosas frente às demais ferramentas analíticas, tais como a cromatografia e espectroscopia, como rapidez na realização das análises, baixo custo instrumental, e possibilidade de medidas diretas, sem que a amostra tenha que passar por procedimentos prévios como purificação e separação (SOUZA, 2003). Atualmente, as técnicas de voltametria cíclica, voltametria de onda quadrada, voltametria de pulso diferencial e amperometria têm ganhado grande destaque na detecção de compostos de interesse biológico, ambiental e industrial (GALLI et al., 2006), sendo essas duas primeiras de grande importância para os estudos envolvendo a detecção de neurotransmissores em amostras biológicas. O emprego destas técnicas requer que as espécies químicas de interesse sofram reações de oxidação ou redução, chamadas de reações redox.

4.1 Reações redox

Um tipo de reações químicas importantes envolvendo sistemas biológicos e ambientais são as reações de oxirredução, ou reações redox, que são caracterizadas pela troca de elétrons entre duas substâncias, de forma que, o número final de elétrons se mantenha inalterado. Para a reação acontecer é necessário que haja um agente oxidante, uma espécie que irá receber os elétrons, tornando-se reduzida, e um agente redutor que será oxidado após doar seus elétrons (FRANCO; VARGAS, 2018). Existem exemplos de reações redox no cotidiano, observa-se que se trata de reações comuns ao funcionamento fisiológico, como exemplo os processos de fotossíntese, metabolismo, respiração aeróbica (BANERJEE, 2007) e processos celulares como proliferação, diferenciação e apoptose (MENG et al., 2017).

Nas células, tecidos e líquidos biológicos estas reações são identificadas através do balanço redox, determinado pela presença dos pares redox. Na prática, a concentração das substâncias redox é relacionada à diferença de potencial elétrico que circula por um meio reacional, seja meio ambiente ou meio fisiológico Aon (et al., 2010). A transferência de elétrons entre as espécies redox produz uma corrente elétrica, denominada como corrente faradaica, em que os valores absolutos podem ser relacionados às taxas de reações redox, ou número de elétrons transferidos na reação global (WANG, 2006).

Nos sistemas fisiológicos ocorrem inúmeras reações redox, as quais são responsáveis pelo perfeito funcionamento do corpo humano. Por exemplo, no cérebro, a fosforilação oxidativa mitocondrial consegue suprir a alta demanda energética através da produção de ATP, de forma simultânea ainda realiza a conversão de O_2 em H_2O . Em situações específicas, ocorre a produção colateral de espécies reativas ao oxigênio, como os radicais livres e as hidroxilas (RANG et al., 2016), em razão de seu caráter instável, essas espécies tendem a atacar muitas moléculas-chaves ao funcionamento do organismo, como os lipídeos de membrana, enzimas e DNA. O excesso dessas substâncias ativas no organismo, pode gerar um desequilíbrio no balanço redox através da desproporção entre as espécies pró e antioxidantes, levando à célula ao estresse oxidativo (FERREIRA, 2008). Esse processo pode evoluir para um quadro de processo inflamatório, e assim, influenciar também, no surgimento de doenças neurodegenerativas e danos neurológicos (RANG et al., 2016).

As técnicas voltamétricas são técnicas de corrente-tensão, onde uma diferença de potencial elétrico é aplicada resultando em energia suficiente para que ocorra a reação de transferência de elétrons e consequentemente a geração de corrente com intensidade proporcional à concentração da espécie eletroativa (CHRISTIAN et al., 2013). O sinal de corrente é registrado em função do potencial aplicado, resultando em um voltamograma com perfil corrente elétrica vs. potencial elétrico, com perfil dependente do mecanismo e cinética da reação de interesse. Como a reação é um processo interfacial (eletrodo/solução), os limites para polarização do eletrodo são estabelecidos por seu intervalo de trabalho, isto é, uma faixa de potencial específica que delimita os valores de potencial elétrico onde as reações de interesse acontecem (SCHOLZ, 2010).

3.2 Voltametria Cíclica

A voltametria cíclica é um dos métodos qualitativos mais empregados atualmente em virtude de sua capacidade de gerar informações cinéticas e eletrodinâmicas a partir de eventos eletroquímicos. Sua relevância provém de uma análise rápida, que possibilita a determinação das propriedades redox em moléculas eletroativas de interesse científico (SCHOLZ, 2010). O experimento inicia-se com a aplicação de um potencial inicial (E_1), de valor suficiente para que as espécies em análise não iniciem o processo de oxirredução, esse potencial é varrido linearmente até atingir o potencial final (E_2), onde a direção da varredura será invertida e o potencial retorna para seu valor inicial. E_2 deve ser definido de forma que o intervalo de potencial ($E_2 - E_1$) abranja o valor necessário para iniciar o processo redox nas espécies de interesse.

As reações na interface do eletrodo irão definir o perfil dos voltamogramas. Quando elas ocorrem com rapidez considerável, em comparação com o transporte de massa, os resultados registrados obedecerão à lei de Nernst (COMPTON; BANKS, 2011), que define um padrão redox (E) correspondente às concentrações das espécies em suas formas reduzidas e oxidadas ($[Red]$ e $[Ox]$, respectivamente). A equação de Nernst abaixo (1), descreve os fatores que irão influenciar na obtenção do potencial de redução dependente (E):

$$E = E^0 - \frac{2,3026RT}{nF} \log \frac{[Red]^b}{[Ox]^a} \quad \text{Equação 1}$$

onde a e b correspondem aos coeficientes estequiométricos das espécies nas formas reduzidas e oxidadas, R a constante universal de gases ($8.3143 \text{ V C K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T a temperatura (em escala Kelvin) e F a constante de Faraday ($96,487 \text{ C eq}^{-1}$) (CHRISTIAN et al., 2013).

Já as reações consideradas irreversíveis, se caracterizam pela troca lenta de elétrons entre a superfície do eletrodo e a espécie eletroativa. Nesse caso, o voltamograma registrado apresentará apenas a corrente de redução ou de oxidação. A

corrente de pico resultante (i_p) será diretamente influenciada pelo aumento da velocidade de varredura (v) e também com o coeficiente de transferência de elétrons (α) e o coeficiente de difusão (D), de acordo com a Equação 2:

$$i_p = (2,99 \times 10^5) n(\alpha n)^{1/2} A C_0 D_0^{1/2} v^{1/2} \quad \text{Equação 2}$$

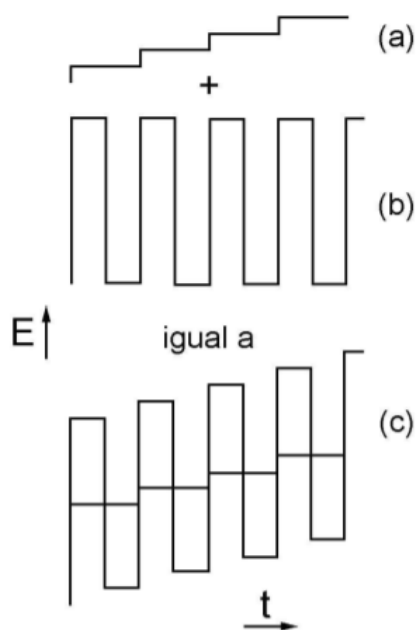
2

onde A, C, e D correspondem respectivamente à área eletroativa do eletrodo, concentração das espécies e o número de elétrons transferidos na reação redox (n) também é considerado na obtenção da corrente de pico (WANG, 2006).

3.3 Voltametria de onda quadrada

De acordo com os estudos de Aleixo (2018), a Figura 1 esquematiza a programação de aplicação de potenciais empregada na voltametria de onda quadrada. Inicialmente, ocorre a superposição de uma escada de potenciais (*a*) a uma série de pulsos de potenciais simétricos (*b*), resultando em uma variação de potenciais na forma de escada (*c*).

Figura 1: Forma de aplicação de pulsos de potenciais na voltametria de onda quadrada, onde em (a) temos a escada de potenciais sobrepostos a pulsos de igual amplitude (b), resultando na variação de potencial na forma de escada (c)



Fonte: Aleixo, 2018.

A possibilidade de obtenção de voltamogramas com perfil gaussiano, com potenciais de pico, corrente de pico e largura de picos bem definidos, e a possibilidade de variação de potenciais em alta velocidade, representa a principal vantagem para utilização da voltametria de onda quadrada. Além disso, aplicando-se modelos matemáticos adequados pode-se avaliar o mecanismo e cinética das reações, com um significativo aumento de sensibilidade em razão da minimização da corrente capacitiva. (SOUZA, 2003).

3.4 Ultramicroeletrodos

Os eletrodos são empregados em métodos eletroanalíticos como condutores elétricos. Quando em contato com uma solução eletrolítica ocorrerá a polarização de sua superfície, ocasionado pela presença de espécies eletroativas dissolvidas. Conseqüentemente, será gerado um gradiente de concentração perpendicular à superfície do eletrodo, podendo resultar na reação redox e geração de corrente elétrica proporcional à concentração da espécie eletroativa dissolvida na solução. O gradiente de concentração e a intensidade desta corrente pode sofrer influência de fatores externos, como a técnica de voltametria empregada, as condições hidrodinâmicas da

solução, e a geometria do eletrodo (SCHOLZ, 2010), dessa forma, muitas modificações estruturais foram propostas a fim de garantir um processo de difusão mais sensível e eficiente, dentre eles, o emprego de ultramicroeletrodos.

Os ultramicroeletrodos são eletrodos preparados em escala micrométrica ou menor. Seu tamanho reduzido confere algumas características vantajosas frente aos eletrodos convencionais, possibilitando a identificação de reações redox em solventes de baixa condutividade, e na ausência de eletrólitos de suporte. Além disso, os ultramicroeletrodos podem ser facilmente empregados em experimentos voltamétricos com altas velocidades de varreduras de potencial elétrico, ampliando as possibilidades de investigações eletroquímicas de reações redox de cinética rápida, tais como as reações com neurotransmissores (FERREIRA, 2008).

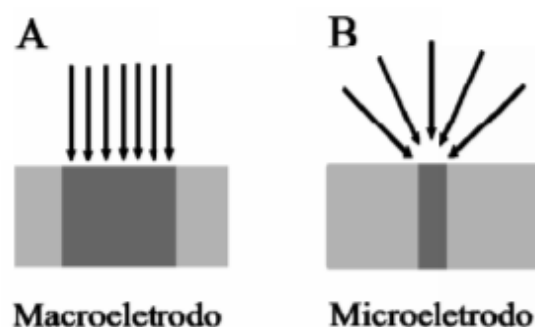
Os ultramicroeletrodos ganharam notoriedade no campo científico ao final da década de 60, com os trabalhos de Martin Fleischmann (RAMOS, 2002). Nos anos seguintes seu uso foi difundido globalmente, possibilitando o surgimento de uma grande diversidade de ultramicroeletrodos de diferentes tamanhos, materiais e formatos geométricos (CASTRO, 2011).

Entre os materiais mais utilizados para a fabricação de ultramicroeletrodos destacam-se os metais nobres como platina e ouro, e as fibras de carbono (RAMOS, 2002), mas também podem ser empregados ródio, irídio e ligas metálicas contendo algum destes metais e filmes de mercúrio ou polímeros.

Os ultramicroeletrodos preparados a partir de fibras de carbono têm apresentado excelente aplicabilidade para o monitoramento de substâncias em sistemas biológicos devido sua biocompatibilidade, boa capacidade de transferência eletrônica, e fácil fabricação, tornando possível sua aplicação para a investigação de células e tecidos, com mínima perturbação ou danos fisiológicos, porque que a corrente elétrica que circula pelo sistema apresenta valor desprezível (REN et al., 2017). Cabe ainda ressaltar a possibilidade de modificação da superfície desses ultramicroeletrodos, a fim de aumentar a sensibilidade e seletividade da análise, ampliando a resposta eletroquímica, e até protegendo a superfície dos eletrodos de incrustações, impurezas e bloqueios parciais das superfícies por reagente ou produtos envolvidos na reação redox de interesse (FERREIRA, 2008).

Com o uso de eletrodos de tamanhos convencionais, o transporte de massa irá ocorrer predominantemente através da difusão planar, resultando no esgotamento das espécies redox circunjacentes à superfície do eletrodo, conseqüentemente a corrente resultante será tempo dependente, uma vez que ela será reduzida com o passar do tempo. Entretanto, o emprego de ultramicroeletrodos irá induzir esse mesmo processo por um curto intervalo, uma vez que a distância de difusão é consideravelmente menor do que a dos eletrodos convencionais, como pode ser observado no esquema da Figura 2. Após um tempo maior, esse processo dará lugar à difusão radial, de forma que a convecção forçada irá gerar o transporte de espécies redox à superfície, resultando em uma corrente independente do tempo (BAUR, 2007). Em prática, a difusão esférica, predominante no ultramicroeletrodo, irá aumentar a taxa de difusão, conseqüentemente melhorando a sensibilidade analítica.

Figura 2 – (A) Transporte de massa predominantemente por difusão planar, típica de eletrodos de tamanhos convencionais; (B) Difusão esférica ou radial em ultramicroeletrodos.



Fonte: Castro, 2011.

A difusão radial nos ultramicroeletrodos ocorre como resultado da diminuição do diâmetro radial do condutor elétrico, realizada durante sua fabricação. Logo, com esse processo pode-se obter iguais valores para a espessura da camada de difusão e do diâmetro do eletrodo (SCHOLZ, 2010). Dessa forma, para mensurarmos a corrente total (i_{total}) de um analito precisamos considerar os valores referentes à corrente planar (i_{planar}) e a corrente radial (i_{radial}), como mostrado na Equação 3:

$$i_{total} = i_{planar} + i_{radial} \quad \text{Equação 3}$$

A corrente radial deve ser considerada em eletroanálise utilizando ultramicroeletrodos de geometria esférica, hemisférica ou de disco, e pode ser obtida através da Equação 4, considerando os elementos: r sendo o raio do eletrodo, a função de sua geometria (WANG, 2006), n como o número de elétrons, D o coeficiente de difusão da espécie eletroativa e F a constante Faraday (FERREIRA, 2008):

$$i_{radial} = arnFDC$$

$$i_{radial} = arnFDC$$

F é a constante de Faraday e C a concentração da espécie redox. Desta maneira, a corrente é fortemente dependente do valor de r .

5 DETERMINAÇÃO ELETROANALÍTICA DE NEUROTRANSMISSORES

Em função das vantagens do emprego de ultramicroeletrodos, descritas anteriormente, inúmeras pesquisas têm sido desenvolvidas com a preparação e emprego destes eletrodos na análise de neurotransmissores. Muitos trabalhos descrevem a preparação dos eletrodos, aplicação em sistemas biológicos e análises *in vivo*, como será discutido abaixo.

Zestos, et al. (2013) utilizaram ultramicroeletrodos de fibra de carbono para medir os níveis de dopamina *in vivo*. A metodologia para fabricação do ultramicroeletrodo foi desenvolvida a partir do uso de capilares de teflon preenchidos com epóxi, uma alternativa frente a utilização de capilares de vidro. Para validação do experimento, empregaram a técnica de voltametria cíclica de varredura rápida, obtendo valores de sensibilidade à dopamina semelhantes aos eletrodos revestidos de vidro, com faixa linear de 0,1–10 M e um LOD (limite de detecção) de 24 nM. Os resultados obtidos impactaram positivamente os avanços científicos da aplicabilidade de ultramicroeletrodos em organismos complexos, uma vez que a utilização de eletrodos revestidos com vidro é proibida em primatas superiores, em razão da baixa resistência

do material, com possibilidade de fragmentação de sua estrutura durante a análise *in vivo*.

Em 2008, Soh et al. pesquisaram a aplicabilidade de ultramicroeletrodos de diamante dopado com boro para detecção de dopamina em solução com pH fisiológico. As características intrínsecas do diamante possibilitaram algumas vantagens em análises eletroquímicas de analitos com alta sensibilidade, como a geração de correntes de fundo reduzidas, respostas estáveis e reproduzíveis por longos períodos, além da redução de incrustações na superfície do eletrodo e alto potencial para eletrólise de eletrólitos.

Outros estudos como o elaborado por Raina et al. (2010), também testaram a aplicação do microeletrodo de diamante dopado com boro para detecção de neurotransmissores com maior sensibilidade. No estudo em questão, utilizaram ultramicroeletrodos fabricados a partir de nanodiamantes para detecção de dopamina em solução tampão fosfato-salino 0,1 M com pH de 7,4. Baseado em uma taxa de varredura de 10 mV/s, identificou-se uma ampla janela de potencial de aproximadamente 3 V, com perfil sigmoidal, para concentrações dopaminérgicas de 100 μM , 200 μM , 400 μM , 600 μM e 800 μM . Os resultados obtidos demonstram uma correlação linear entre a corrente observadas e as concentrações dopaminérgicas.

A ação de ultramicroeletrodos produzidos a partir de fibras de carbono e diamantes foi comparada no experimento realizado por Hua Dong (2009). No estudo, foi avaliado o desempenho dos ultramicroeletrodos na detecção de norepinefrina frente a administração medicamentosa de sete diferentes drogas. A análise de neurotransmissores simultâneo ao uso de drogas farmacêuticas é importante para avaliar a interação entre eles e a eficiência terapêutica. Observou-se que a eletro-oxidação de alguns medicamentos ocorreu mais rápido no ultramicroeletrodo de diamante dopado com boro, no entanto a oxidação da norepinefrina ocorreu de forma mais lenta quando comparado com o ultramicroeletrodo de fibra de carbono.

Em 2020 Khan publicou um estudo sobre a utilização de chips baseados em arranjos de microeletrodos para impedir a progressão da doença de Parkinson. Seu experimento baseou-se na identificação do neurotransmissor dopamina em culturas de células 3D, a fim de mensurar a ocorrência da exocitose em neurônios individuais. O arranjo foi sintetizado a partir de 54 ultramicroeletrodos com 5 e 10 micrômetros, empregando as técnicas de voltametria cíclica e amperometria para caracterização. Os

resultados obtidos demonstraram-se promissores frente à alternativas aos tratamentos tradicionais para doenças neurodegenerativas.

Experimentos *in vivo* também foram realizados com foco no estudo de psicopatologias, como realizado por Xiao, et al. (2019). A fim de detectar a atividade neurológica associada ao comportamento patológico da epilepsia, utilizaram ultramicroeletrodos de platina modificados com óxido de grafeno, para identificação dos neurotransmissores glutamina e dopamina e a atividade eletrofisiológica no hipocampo, em quatro camundongos epiléticos despertos. O estudo com animais acordados tem como objetivo gerar uma resposta neuroquímica livre de influências da anestesia geral, reproduzindo as condições fisiológicas habituais. Os resultados demonstraram que durante os minutos que antecedem a crise epilética, os níveis de glutamina aumentaram quase 70%, enquanto a dopamina aumentou cerca de 40% de seus valores normais, possibilitando o estabelecimento de uma previsão anterior à alteração comportamental típica.

Um dos maiores desafios encontrados no processo de obtenção e mensuração dos neurotransmissores de interesse, é a interferência causada por substâncias eletroativas, como metabólitos secundários, outros neurotransmissores, e principalmente, ácido úrico e ácido ascórbico. Esses últimos conquistaram notória preocupação da comunidade científica por serem oxidados na mesma faixa de potencial que as catecolaminas, provocando interferências e respostas voltamétricas sobrepostas (HE; ZHENG, 2012), além disso, suas concentrações muitas vezes se apresentam de forma mais abundante que os demais neurotransmissores. Segundo Robinson et al. (2008), em amostras de fluídos extracelulares cerebrais o ácido ascórbico encontra-se na concentração de 0,5 mM, cerca de 10.000 a 1.000.000 de vezes maior do que a concentração de catecolaminas na mesma amostragem. Diante desse cenário, a importância de novas ferramentas eletroanalíticas se tornam evidentes e indispensáveis para os avanços clínicos e científicos da área, com destaque para as publicações de Özel (2011), Zhou (2020) e Cho e Wang (2018).

Uma das principais técnicas empregadas na determinação de amostras com maior seletividade baseia-se no uso de ultramicroeletrodos modificados. Özel, et al. (2011) realizaram análises *in vivo*, a fim de detectar serotonina empregando ultramicroeletrodos de fibras de carbono modificados com quitosana, caracterizado pela

técnica de voltametria cíclica. O objetivo principal do estudo foi o desenvolvimento de uma metodologia seletiva e sensível, capaz de minimizar a interferência do ácido ascórbico na amostragem, e facilitar a detecção da serotonina em embriões de peixes. Constatou-se que a quitosana consegue inibir a resposta do ácido ascórbico com grande facilidade em pH fisiológico, uma vez que possui grupos amino reativos em sua estrutura com um valor de pK_a de 6,5, enquanto o ácido ascórbico possui pK_a 4,2. Além disso, foi observado que a serotonina e a quitosana possuem uma interação favorável, em virtude da protonação do grupamento amino da serotonina em pH fisiológico. Ao final do experimento, obtiveram um limite de detecção para serotonina de 1,6 nM, com uma sensibilidade de 5,12 nA/M, faixa linear de 2 a 100 nM, e reprodutibilidade de 6,5%.

A utilização de ultramicroeletrodos híbridos também foi relatada nos experimentos de Zhou, et al. (2020) para detecção de serotonina e dopamina em soro humano. Para o estudo, foi construído um ultramicroeletrodo de grafeno dopado com nitrogênio. O limite de detecção (LOD) estimado foi de 0,69 nM e 6,5 nM, em razão da linearização da curva de calibração da corrente de pico, de oxidação *versus* concentração. Além disso, constatou-se que a interferência de íons inorgânicos e amostras biológicas foi insignificante, contribuindo para a alta seletividade da ferramenta. Os resultados obtidos demonstraram uma excelente aplicabilidade da ferramenta na identificação *in situ* dos neurotransmissores, demonstrando uma promissora ferramenta para o diagnóstico clínico.

No sentido contrário, Cho e Wang (2018) avaliaram o uso de ultramicroeletrodos, não modificados, sintetizados a partir de fibras de carbono para detecção simultânea da norepinefrina e epinefrina em amostras com altas concentrações de ácido ascórbico e ácido úrico a partir da técnica de voltametria cíclica de onda quadrada. O experimento baseou-se nas diferenças presentes na reversibilidade do processo redox dos neurotransmissores e das amostras interferentes.

Podemos observar através da Tabela 2, uma grande predominância de estudos envolvendo as catecolaminas, principalmente, a dopamina. Isso acontece por dois fatores principais: os neurotransmissores derivados da tirosina (dopamina, epinefrina e norepinefrina) e do triptofano (serotonina) são eletroquimicamente ativos, de forma que o potencial necessário para sua oxidação está dentro dos limites pré-estabelecidos dos

eletrodos de carbono e metálicos, em tampão fisiológico. Sendo assim, pode-se detectá-los através de suas reações redox, enquanto os neuropeptídeos como a endorfina e a ocitocina se caracterizam como contrárias à eletroatividade, impossibilitando a análise eletroquímica por métodos tradicionais (ROBINSON et al., 2008). Por fim, devemos considerar também o extenso acervo científico atribuído à dopamina desde sua descoberta como neurotransmissor, há 50 anos por Arnold Carlsson, impactando a neurociência, e possibilitando avanços significativos no tratamento de doenças psicológicas (INVERSEN et al., 2007).

Tabela 2 – Determinação eletroanalítica de neurotransmissores, indicando-se a técnica voltamétrica empregada, o tipo de ultramicroeletrodo e a amostra em que a análise foi aplicada.

Neurotransmissor	Técnica Empregada	Ultramicroeletrodo	Amostra	Referência
Dopamina	Voltametria cíclica	diamante dopado com boro	Célula em solução controlada, com pH fisiológico	Soh, K. L. et al. (2008)
Dopamina	Voltametria cíclica de varredura rápida	fibras de carbono	<i>In vivo</i>	Zestos, et al. (2013).
Dopamina	Voltametria cíclica	nanodiamantes com incorporação de nitrogênio	Solução salina tamponada com fosfato em pH fisiológico	Raina, S. et al. (2010).
Dopamina e Glutamato	Voltametria cíclica e cronoamperometria	nanopartículas de platina modificados com óxido de grafeno reduzido	<i>In vivo</i> , camundongos acordados	Xiao, G. et al. (2019).
Norepinefrina	Voltametria de onda quadrada	platina	Amostra de urina	Moraes, F. C. et al. (2012).
Norepinefrina	Voltametria Cíclica	diamante dopado com boro e fibra de carbono	Soluções contendo neurotransmissor e fármacos	Dong, H., et al. (2009)
Norepinefrina e Epinefrina	Voltametria Cíclica de onda quadrada	fibra de carbono	Solução salina tamponada com fosfato em pH fisiológico	Cho e Wang (2018)
Epinefrina	Voltametria Cíclica	fibra de carbono	Amostra de urina	Hernández, P. et al. (1998).

Epinefrina	Voltametria cíclica	ouro	Célula <i>in vitro</i>	González-García, O. et al. (2008).
Serotonina	Voltametria cíclica	fibra de carbono modificado com quitosana	<i>In vivo</i>	Özel, R. E. et al. (2011).
Serotonina e Dopamina	Voltametria cíclica, cronoamperometria e voltametria de diferencial de pulso	grafeno dopado com nitrogênio	Soro humano, tamponado com fosfato	Zhou, H. et al. (2020).

Fonte: próprio autor

6 CONCLUSÃO

A partir das informações abordadas no presente estudo, torna-se evidente a crescente preocupação do campo científico, no desenvolvimento de metodologias analíticas eficientes para a detecção dos neurotransmissores, favorecendo sua aplicação no diagnóstico e compreensão de neuropatologias de caráter clínico e comportamental.

Muitos neurotransmissores ainda possuem poucas evidências científicas acerca das suas concentrações e interações com outros compostos químicos, estando ainda com poucas pesquisas e conseqüentemente acervo pequeno para revisões mais conclusivas e abrangentes, logo evidencia-se a necessidade da ampliação das pesquisas e dos estudos correlatos a fim de garantir a obtenção de informações básicas essenciais para o avanço experimental e científico, relacionando níveis de neurotransmissores, reações redox e diagnóstico de patologias psiquiátricas ou comportamentais.

Além disso, percebe-se que a utilização dos ultramicroeletrodos para análises qualitativas dos neurotransmissores são eficientes e vem demonstrando notória sensibilidade e seletividade na identificação das moléculas alvos, possibilitando a experimentação *in vivo*.

REFERÊNCIAS

ADOLFO, J.; RIBEIRO, O. (2013). **Caraterização e Otimização de Sensores Eletroquímicos para Aminas Biogénicas**. [s.l: s.n.].

AON, M. A., CORTASSA, S., & O'ROURKE, B. (2010). Redox-optimized ROS balance: A unifying hypothesis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, 1797(6–7). <https://doi.org/10.1016/j.bbabbio.2010.02.016>

ALEIXO, L. M. **Voltametria**: conceitos e técnicas. Revista Chemkeys, Campinas, SP, n. 3, p. 1–21, 2018. DOI: 10.20396/chemkeys.v0i3.9609. Disponível em: <https://econtents.bc.unicamp.br/inpec/index.php/chemkeys/article/view/9609>. Acesso em: 18 out. 2021.

BABIĆ, S.; HORVAT, A.; MUTAVDZIC PAVLOVIC, D.; KASTELAN-MACAN, M. Determination of pKa values of active pharmaceutical ingredients. **Trends in Analytical Chemistry**, Zagrebe, 26 (11), 1043–1061, 2007. doi:10.1016/j.trac.2007.09.004.

BAUR, J. E. (2007). Diffusion Coefficients. **In Handbook of Electrochemistry**. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-044451958-0.50036-7>.

BANERJEE, Ruma. **Redox Biochemistry**. Canadá: Wiley. 2007.

BOSE, U.; SUWANSA-ARD, S.; MAIKAEAO, L.; MOTTI, C.; HALL, M.; CUMMINS, S. Neuropeptides encoded within a neural transcriptome of the giant triton snail *Charonia tritonis*, a Crown-of-Thorns Starfish predator. **Peptides**, v. 98, dez. 2017.

CAIRNS, Donald. **Essentials of Pharmaceutical Chemistry**. 4ª edição. Londres: Pharmaceutical Press. 2012.

CASTRO, Pollyana. **Fabricação de Microeletrodos para Aplicações em Microscopia Eletroquímica de Varredura**. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 2011.

COMPTON, P. R.; BANKS, E. **Understanding Voltammetry**. 2ª edição. Imperial College Press: Londres. 2011.

COSTA, Ana Sofia Velosa da. **Neurotransmissores e Drogas: Alterações e implicações clínicas**. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Portugal, 2015.

CHEVION, S., ROBERTS, M. A., & CHEVION, M. (2001). The use of cyclic voltammetry for the evaluation of antioxidant capacity. **Bio-Assays for Oxidative Stress Status** (pp. 120–130). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-50957-4.50021-1>

CHO, T.; WANG, J. Selective Voltammetric Measurements of Epinephrine and Norepinephrine in Presence of Commonwealth Interferences Using Cyclic Square-Voltammetry at Unmodified Carbon Electrodes. **Wiley Online Library**, v. 30, n. 1-6, 2018.

CHRISTIAN, G. D.; DASGUPTA, P. K.; SCHUG, K. A. **Analytical Chemistry**. 7ª edição. Wiley. 2013.

DIDONET, J. J. **Estudo dos efeitos comportamentais do neuropeptídeo S em camundongos submetidos a modelos animais de Parkinson**. Dissertação (Mestrado em Psicologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

DOBBELAERE, T.; VEREecken, P. M.; DETAVERNIER, C. A. USB-controlled potentiostat/galvanostat for thin-film battery characterization. **HardwareX**, v. 2, n. 34-49, 2017.

DONG, H. et al. Drug effects on the electrochemical detection of norepinephrine with carbon fiber and diamond microelectrodes. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v.632, n.1-2, jul. 2009.

FERREIRA, D. **Detecção amperométrica, com microeletrodos, de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio em células isoladas estimuladas por substâncias biologicamente ativas**. 150 f. Dissertação (Doutorado em Química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2008.

FRANCO, R.; VARGAS, M. R. Redox Biology in Neurological Function, Dysfunction, and Aging. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 28, n. 18, 20 jun. 2018.

GALLI, A.; SOUZA, D.; GARBELLINI, G. S.; COUTINHO, C. F. B.; MAZO, L. H.; AVACA, L. A.; MACHADO, S. A. S. (2006). Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, 29(1). <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100020>

GONZÁLEZ-GARCÍA, O.; ARIÑO, C.; DÍAZ-CRUZ, J. M.; ESTEBAN, M. Suitability of gold-array ultramicroelectrodes for electrochemical detection in flow systems. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 135, n. 1, dez. 2008.

HE, M.; ZHENG, X. A highly sensitive and selective method for dopamine detection based on poly (folic acid) film modified electrode. **Elsevier**, v. 173, n. 29-34.

HERNÁNDEZ, P.; SÁNCHEZ, I.; PATÓN, F.; HERNÁNDEZ, L. Cyclic voltammetry determination of epinephrine with a carbon fiber ultramicroelectrode. **Talanta**, v. 46, n. 5, ago. 1998.

IVERSEN, S. D.; IVERSEN, L. L. Dopamine: 50 yrs in perspective. **Trends in Neuroscience**, v. 5, n. 188-93, 2007.

JIN, J.; MIWA, L.; TU, H.; JIN, L. Determination of nitric oxide with ultramicrosensors based on electropolymerized films of metal tetraaminophthalocyanines. **Talanta**, v. 48, n. 5, mai. 1999.

KHAN, M. S. **Chip based microelectrode array systems for modelling neurodegenerative diseases: A Multidisciplinary Approach to Model Neurodegenerative Disease**. DTU Bioengineering, 2020.

KREBS, C.; WEINBERG, J.; AKESSON, E. **Neurociências Ilustrada**. [S.I]: Artmed, 2013. 421p.

MARANE, S. **Influência dietética na química cerebral**. 2016. 94 f. Dissertação (Graduação em Farmácia-Bioquímica) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2016.

MATYS, J.; GIEROBA, B.; JÓŹWIAK, K. Recent developments of bioanalytical methods in determination of neurotransmitters in vivo. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 180, fev. 2020.

MENG, J.; LV, Z.; QIAO, X.; LI, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, C. The decays of redox-stress response capacity is a substantive characteristic of aging: Revising the redox theory of aging. **Redox Biology**, v. 11, n. 365-374, 2017.

JONG-MIN, M.; THAPLIYAL, N.; HUSSAIN, K.; GOYAL, R.; SHIM, Y. Conducting polymer-based electrochemical biosensors for neurotransmitters: A review. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 102, abr. 2018.

MOREIRA, C. Potencial de Ação. **Revista de Ciência Elementar**, Lisboa, v.3, n.4, pg. 253, 2015.

ÖZEL, R. E.; WALLACE, K. N.; ANDREESCU, S. Chitosan coated carbon fiber microelectrode for selective in vivo detection of neurotransmitters in live zebrafish embryos. **Analytica Chimica Acta**, v. 695, n. 1-2, jul. 2011.

PACHECO, W.; SEMAAN, F.; ALMEIDA, V.; RITTA, A.; AUCÉLIO, R. **Voltammetry: A brief review about concepts**. **Revista Virtual de Química**. Sociedade Brasileira de Química, 2013.

POLLI LOPES, A.; ROSA, L.; BELEBONI, R.; PEREIRA, R.; VASCONCELOS, C.; MOREIRA, J. **Aspectos moleculares da transmissão sináptica**. Ribeirão Preto, SP: 1999. 21p.

REN, Q-Q.; WU, J.; ZHANG, W-C.; WANG, C.; QIN, X.; LIU, G-C.; LI, Z-X.; YU, Y. Real-time in vitro detection of cellular H₂O₂ under camptothecin stress using horseradish peroxidase, ionic liquid, and carbon nanotube-modified carbon fiber ultramicroelectrode. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 245, n. 615-621, 2017.

RAINA, S.; KANG, W. P.; DAVIDSON, J. L. Fabrication of nitrogen-incorporated nanodiamond ultra-microelectrode array for Dopamine detection. **Diamond and Related Materials**, v. 19, n. 2-3, fev. 2010.

RAMOS, C. **Construção, otimização e aplicação analítica de ultramicroeletrodos de platina e de fibra de carbono modificados com filmes de mercúrio**. 111 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

RANG, H. P.; RITTER, J.; FLOWER, R. **Rang & Dale: Farmacologia**. (Tradução Gea Consultoria Editorial). 8ª edição. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

ROBINSON, D.; HERMANS, A.; SEIPEL, A.; WIGHTMAN, M. Monitoring Rapid Chemical Communication in the Brain. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 7, 2008.

WANG, Joseph. **Analytical Electrochemistry**. 3ª edição. Nova Jersey: John Wiley & Sons, Inc. 2006.

SANGUBOTLA, R.; KIM, J. Recent trends in analytical approaches for detecting neurotransmitters in Alzheimer's disease. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 105, ago. 2018.

SCHERER, E. A.; GITAÍ, D. L. G.; BRUSCO, J.; LUCIO-ETEROVIC, A. K. B.; ANDRADE, V.; CARLOTTI, C. G.; HALLAK, J.; LEITE, J.; MOREIRA, J. Neurotransmitter related to depression and psychosis in patients with temporal lobe epilepsy. **European Psychiatry**, v. 26, n. 1, 2011.

SCHOLZ, Fritz. **Electroanalytical Methods**: Guide to Experiments and Applications. 2ª edição. New York: Springer. 2010.

SOH, K. L.; KANG, W.; DAVIDSON, J.; WONG, Y. Diamond-derived ultramicroelectrodes designed for electrochemical analysis and bioanalyte sensing. **Diamond and Related Materials**, v. 17, n. 4–5, abr. 2008.

SOUZA, D.; MACHADO, S.; AVACA, L. Square Wave Voltammetry. Part I: theoretical aspects. **Química Nova**, v. 26, n. 1, 2003.

XIAO, G.; XU, S.; SONG, Y.; ZHANG, Y.; LI, Z.; GAO, F.; XIE, J.; SHA, L.; XU, Q.; SHEN, Y.; CAI, X. In situ detection of neurotransmitters and epileptiform electrophysiology activity in awake mice brains using a nanocomposites modified microelectrode array. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 288, jun. 2019.

ZESTOS, A.; NGUYEN, M.; POE, B.; JACOBS, C. Epoxy insulated carbon fiber and carbon nanotube fiber microelectrodes. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 182, jun. 2013.

ZHOU, H.; YU, R.; WANG, C. Simple multistep assembly of hybrid carbon material based microelectrode for highly sensitive detection of neurotransmitters. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 863, n. 15, apr. 2020.