

PEDRO GIASSI JUNIOR

**ETOFISIÓGRAFO: PROTÓTIPO DE UM SISTEMA
TELEMÉTRICO PARA REGISTRO DE VARIÁVEIS
FISIOLÓGICAS EM PEQUENOS ANIMAIS**

FLORIANÓPOLIS

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM ENGENHARIA ELÉTRICA

ETOFISIÓGRAFO: PROTÓTIPO DE UM SISTEMA
TELEMÉTRICO PARA REGISTRO DE VARIÁVEIS
FISIOLÓGICAS EM PEQUENOS ANIMAIS

Dissertação submetida à
Universidade Federal de Santa Catarina
como parte dos requisitos para a
obtenção do grau de Mestre em Engenharia Elétrica.

PEDRO GIASSI JUNIOR

Florianópolis, Agosto de 2006.

ETOFISIÓGRAFO: PROTÓTIPO DE UM SISTEMA TELEMÉTRICO PARA REGISTRO DE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS EM PEQUENOS ANIMAIS

Pedro Giassi Junior

‘Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Elétrica, Área de Concentração em *Engenharia Biomédica*, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal de Santa Catarina.’

José Marino Neto, Dr.
Orientador

Prof. Nelson Sadowski, Dr.
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica

Banca Examinadora:

José Marino Neto, Dr.
Presidente

Prof. Raimes Moraes, Dr.

Profª. Anita Maria da Rocha Fernandes.

Prof. Edison Sanfelice André, Dr.

DEDICATÓRIA

**À meus pais, Pedro Giassi
e Maria Irani Casari Giassi**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, a quem amo, e a Jesus, pelo seu amor e salvação.

Aos meus pais e minha irmã, pela educação, pelo amor, pelo carinho, pelo apoio, pela confiança e por me darem força para vencer, sempre.

A Raquel, por estar comigo, mesmo distante, durante esses anos acreditando e me apoiando nessa vitória.

Ao meu orientador, professor Marino, pelos ensinamentos e pela paciência!

Aos colegas do IEB, onde fiz muitos amigos, e bons amigos, que ficarão para sempre, e com os quais aprendi muito.

Aos amigos do banco da fisiologia, pelo auxílio no trabalho e pelos cafezinhos (vários), sempre com um bom papo.

Aos irmãos da República Estudantil Quivara - Morro do Macaco Molhado / Campeche, pelo companheirismo e convivência.

E ao pessoal que sempre esteve comigo nos momentos de lazer e diversão.

Afinal, sempre fiz churrasco.

A Texas Instruments e a Analog Devices, pelo fornecimento gratuito de componentes eletrônicos.

Resumo da Dissertação apresentada à UFSC como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Elétrica.

ETOFISIÓGRAFO: PROTÓTIPO DE UM SISTEMA TELEMÉTRICO PARA REGISTRO DE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS EM PEQUENOS ANIMAIS

Pedro Giassi Junior

Agosto/2006

Orientador: José Marino Neto, Dr.

Área de Concentração: Engenharia Biomédica.

Palavras-chave: Registro, aquisição, biotelemetria, pequenos animais, sinais eletrofisiológicos.

Número de Páginas: 105.

RESUMO: A análise dos comportamentos animais e seus substratos neurais dependem de metodologias sistemáticas para sua classificação, registro e análise das diversas categorias comportamentais emitidas. O registro simultâneo de dados comportamentais e parâmetros fisiológicos permite correlacionar a expressão externa de fenômenos comportamentais com mudanças funcionais subjacentes. Entretanto, estas abordagens necessitam da conciliação de um registro adequado das variáveis fisiológicas com preservação da mobilidade do animal. O presente trabalho descreve o desenvolvimento de um protótipo de um sistema telemétrico para registro de variáveis fisiológicas em pequenos animais. Esse sistema é capaz de adquirir sinais eletrofisiológicos de animais conscientes e transmiti-los através de um *link* de comunicação infravermelho à uma unidade base onde esses dados serão verificados e transmitidos a um computador (IBM-PC ou compatível) através da porta de comunicação USB. O sistema é alimentado com duas baterias de lítio e tem autonomia de mais de três horas ininterruptas de funcionamento. A comunicação entre a unidade remota e a unidade base se faz através de transceptores infravermelho, permitindo a realização de experimentos sub-aquáticos. O sistema possui três canais permitindo a aquisição de qualquer sinal eletrofisiológico na faixa de 0,8-200 Hz, e mais um canal para aquisição da temperatura corpórea do animal. Graças à opção de *shutdown*, o sistema pode ser desligado e religado a medida que seja necessário, sem nenhum contato com o animal, diminuindo o consumo de energia e aumentando a vida útil do sistema. O sistema entrega os dados coletados, através da *interface* USB, a um computador, onde há um *software* responsável por efetuar o registro e a visualização dos dados adquiridos na tela, além de possibilitar a sincronização desses com um vídeo, feito através de uma *webcam*. Os resultados obtidos sugerem a funcionalidade do equipamento como adequada para a aquisição de variáveis fisiológicas de pequenos animais.

Abstract of Dissertation presented to UFSC as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Electrical Engineering.

ETOFISIOGRAFO: TELEMETRIC SYSTEM PROTOTYPE FOR PHYSIOLOGICAL VARIABLES RECORD IN SMALL ANIMALS

Pedro Giassi Junior

August/2006

Advisor: José Marino Neto, PhD.

Area of Concentration: Biomedical Engineering

Keywords: Recording, acquisition, biotelemetry, implantable, small animals, electrophysiological signals.

Number of Pages: 105.

ABSTRACT: The analysis of animal behaviors and their neural substrates depends on systematic methods for classification, recording and analysis of the several behavioral categories. The simultaneous recording of behavioral data and physiological parameters allows for correlations between the external expressions of behavioral phenomena and the underlying functional changes. However, these approaches need conciliation between an adequate record of physiological variables with preservation of animal's mobility and comfort. The present work describes the development of a telemetric system for physiological recordings in small animals. This system allows for acquisition of electrophysiological signals from conscious animals, transmitting them through an infrared communication link to a base unit where these data are verified and re-transmitted to a computer (compatible IBM-PC or) through the USB port. The system is fed by two lithium batteries and it's autonomy up to three uninterrupted hours of operation. The communication between the remote unit and the base unit is performed by infrared transceivers, allowing the accomplishment of underwater experiments. The system has three channels allowing for the acquisition of any electrophysiological signal in the band of 0.8-200 Hz, plus one channel for acquisition of corporal temperature of the animal. Due to the shutdown option, the system can be turned OFF and ON as necessary, without contact with the animal, saving energy and increasing the useful life time. The system delivers the gathered data, through interface USB, to a computer, where a software is responsible for recording and displaying the data acquired in the screen, besides making possible the synchronization of these with a video, record by a web cam. The results corroborate the functionality of the equipment, as useful for the acquisition of physiological variables in small animals.

Sumário

1	Introdução	1
1.1	Objetivos	3
1.1.1	Objetivo Geral.....	3
1.1.2	Objetivos Específicos.....	3
1.2	Justificativa	4
1.3	Visão Geral do Sistema EtoFisiógrafo.....	7
1.4	Escopo do trabalho.....	10
1.5	Metodologia de Trabalho.....	11
1.6	Organização do Trabalho.....	11
2	Fundamentação Teórica	13
2.1	Atividade Elétrica do Sistema Nervoso e Eletroencefalograma.....	13
2.2	Atividade Elétrica do Coração e Eletrocardiograma	14
2.3	Músculo Esquelético e Atividade Elétrica Muscular.....	16
2.4	Temperatura Corporal.....	18
2.5	Biotelemetria.....	19
2.5.1	Tipos de Telemetria	20
2.6	Dispositivos Implantáveis.....	24
2.7	Baterias	25
2.8	Protocolo Synchronous Peripheral Interface (SPI).....	25
2.9	Encapsulamento de Circuitos Implantáveis.....	26
2.10	Restrições ao Uso de Sistemas Implantáveis em Pequenos Animais	26
2.11	Sistema de Referência para validação dos sinais.....	27
3	Materiais e Métodos.....	30
3.1	Arena de Registro	31
3.2	Unidade Remota.....	31
3.3	Ativação do sistema	34
3.4	Modelo de Aquisição dos Sinais.....	34
3.5	Filtros Analógicos.....	35
3.5.1	Filtro Passa-Altas	35
3.5.2	Filtro Passa-Baixas.....	36
3.6	Circuito de condicionamento de sinal.....	38
3.7	Módulo Microcontrolado.....	39
3.8	Modos de economia de energia.....	40
3.9	Conversor Analógico-Digital.....	41
3.10	Comunicação SPI.....	43
3.11	Fonte de Alimentação da Unidade Remota	46
3.12	Interface JTAG.....	47
3.13	Transmissão Infravermelha.....	47
3.14	Unidade Base	51
3.15	DLP-USB245M	53
3.16	Software para programação dos microcontroladores.....	54

3.17	Protocolo de comunicação Unidade Remota – Unidade Base.....	54
3.18	Protocolo de comunicação Unidade Base – Computador.....	57
3.19	Firmware da Unidade Remota	58
3.20	Firmware da Unidade Base.....	58
3.21	Comitê de Ética.....	59
4	Resultados e Discussão	60
4.1	Filtros.....	62
4.2	Circuito Impresso.....	62
4.3	Comunicação Digital Infravermelho.....	64
4.4	Testes de Alcance	67
4.5	Relação Resistência x Distância	69
4.6	Testes Sub-Aquáticos.....	71
4.7	Temperatura	71
4.8	Testes de Consumo de Energia da Unidade Remota	72
4.9	Custo do Sistema.....	72
4.10	Testes em Laboratório.....	74
4.10.1	Validação do Protótipo	74
4.10.2	Avaliação do Protótipo	76
4.10.3	Comparativo entre os sinais adquiridos com o sistema de referência	80
4.11	Unidade Remota Implantável Miniaturizada.....	82
5	Conclusão.....	85
5.1	Trabalhos Futuros	86
6	Referências Bibliográficas	87
	Anexo 1	96
	Anexo 2.....	103

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1 – Típico registro poligráfico de EEG, ECG e EMG em ratos.</i>	5
<i>Figura 2 - Visão Geral do Sistema EtoFisiógrafo. Os dados eletrofisiológicos são coletados do animal e transmitidos a uma unidade receptora que, por sua vez, os retransmite a um computador.</i>	7
<i>Figura 3 - Diagrama em Blocos da Unidade Remota</i>	9
<i>Figura 4 - Diagrama em blocos da Unidade Base</i>	10
<i>Figura 5 - Diagrama em blocos do computador</i>	10
<i>Figura 6 - Representação de um batimento cardíaco (gráfico superior) e a variação do potencial de membrana de cada célula do coração (gráfico inferior). A cada onda do batimento cardíaco é associada uma letra. O intervalo QT se estende do início da onda Q ao final da onda T e o intervalo RR representa o instante de tempo entre duas ondas R consecutivas (ROOKE & SPARKS, 2003).</i>	16
<i>Figura 7 - Diagrama de comunicação SPI. O sinal de clock é gerado e transmitido através da linha de comunicação SCK. O dispositivo master recebe os dados através da linha de comunicação MISO (master in slave out) e transmite dados através da linha de comunicação MOSI (master out slave in)</i>	26
<i>Figura 8 - Sistema de aquisição de sinais eletrofisiológicos – EtoFisiógrafo. A unidade remota adquire os dados eletrofisiológicos do animal e os transmite através de um transceptor infravermelho. Uma unidade base, também através de um transceptor infravermelho, recebe os dados e os retransmite a um computador</i>	30
<i>Figura 9 - Eletrodos utilizados para a aquisição de sinais; (a) ECG; (b) EMG e EEG</i>	31
<i>Figura 10 - Diagrama do Módulo Remoto apresentando os canais de aquisição, tratamento, o microcontrolador, transceptor infravermelho e baterias.</i>	32
<i>Figura 11 – Estágios de amplificação e tratamento de cada canal. O sinal, adquirido pelos eletrodos, passa por um primeiro estágio de amplificação através de um amplificador de instrumentação, seguido por uma filtragem passa-altas. Um segundo ganho então é aplicado por um amplificador operacional, terminando o tratamento com um filtro passa-baixas.</i>	35
<i>Figura 12 - Filtro Passa-Altas Butterworth de Primeira Ordem</i>	36
<i>Figura 13 Filtro Passa-Baixas de Primeira Ordem</i>	36
<i>Figura 14 - Resposta em frequência do filtro passa-altas</i>	37
<i>Figura 15 - Atraso de fase do filtro passa-altas</i>	37
<i>Figura 16 - Resposta em frequência do filtro passa-baixas</i>	38
<i>Figura 17 - Atraso de fase do filtro passa-baixas</i>	38
<i>Figura 18 - Esquema elétrico do circuito de condicionamento de sinais bioelétricos. Estágios de amplificação e filtragem dos sinais.</i>	39
<i>Figura 19 - Diagrama Funcional MSP430F1232</i>	40
<i>Figura 20 - Modos de funcionamento e consumo do MSP430 trabalhando à 1MHz. Modo ativo (Active Mode – AM) e modos de economia de consumo LPM0, LPM2, LPM3 e LPM4</i>	41
<i>Figura 21 – Modos de economia de energia e seu estado provocado no microcontrolador</i>	41
<i>Figura 22 – Modelo de comunicação SPI entre dois dispositivos</i>	43
<i>Figura 23 – Seqüência cronológica de funcionamento da leitura do sensor de temperatura TMP123 através da interface de comunicação SPI. Ativando o TMP123 (Chip Select – CS em nível lógico baixo) os bits de dados (como o valor da temperatura) são sincronizados com os pulsos de clock (SCK) e transmitidos ao microcontrolador através da linha de comunicação SO/I (System Output/Input)</i>	44
<i>Figura 24 – Seqüência cronológica de do funcionamento da comunicação entre o potenciômetro digital AD5204 e o microcontrolador. Alimentando-se o AD5204 (Vdd) e atiando-o (CS em nível lógico baixo) os bits de dados (com o valor da nova resistência) são sincronizados com os pulsos de clock (CLK) e transmitidos ao AD504 através da linha de comunicação SDI (System Data Input)</i>	45
<i>Figura 25 - Diagrama de alimentação do sistema</i>	46
<i>Figura 26 - Diagrama funcional do HSDL3000.</i>	47
<i>Figura 27 - Ângulo de transmissão dos raios infravermelhos</i>	48
<i>Figura 28 - Ângulo de recepção de raios infravermelhos</i>	48
<i>Figura 29 - Localização dos transceptores na arena de registro</i>	49
<i>Figura 30 - Técnica de modulação e demodulação do sinal no padrão IrDA.</i>	50

Figura 31 - Diagrama geral da unidade base. O sinal recebido pelo transceptor infravermelho é decodificado, adquirido e retransmitido ao computador	52
Figura 32 - Diagrama funcional do MSP430F149	52
Figura 33 - Conexão entre o TIR1000 e os objetos de codificação/decodificação HSDL-3000 e MSP430F149.....	53
Figura 34 - Módulo de desenvolvimento DLP-USB245BM	54
Figura 35 - Pacote contendo os dados coletados pela unidade remota.	56
Figura 36 - Diagrama em forma de máquina de estados do firmware implementado na unidade remota...58	58
Figura 37 - Diagrama em forma de máquina de estados do firmware implementado na unidade base.....58	58
Figura 38 - Sinal adquirido pelo AD620 em teste com rato.....	60
Figura 39 - (a) Sinal de ECG adquirido pelo Fisiógrafo com a maior parcela do ganho setado no amplificador operacional (ganho fixo) e ganho menor no amplificador de instrumentação. (b) Sinal de ECG adquirido pelo Fisiógrafo com a maior parcela do ganho configurado no amplificador de instrumentação (ganho variável) e ganho menor no amplificador operacional	61
Figura 40 - Circuito impresso desenvolvido	63
Figura 41 - Placa de desenvolvimento MSPEVB1 utilizada	64
Figura 42 - Transmissão e recepção de 1 byte pelo IrDA.....	65
Figura 43 - Conversão de dados do protocolo IrDA (quadrantes superiores) para UART (quadrantes inferiores) pelo TIR1000	66
Figura 44 - Tempo total de transmissão de 1 pacote, observado no osciloscópio eletrônico.....	67
Figura 45 - Posicionamento para o transceptor infravermelho inicialmente testado.....	67
Figura 46 - Ligação entre os 4 transceptores	68
Figura 47 - Leitura de 1 byte feita pelo TIR1000. Percebe-se que o sinal não chega a zero devido à tensão de junção dos diodos	69
Figura 48 - Maior distância percorrida pelo sinal infravermelho	69
Figura 49 - Arena de registro montada com o Fisiógrafo	70
Figura 50 - Transceptor infravermelho imerso em água	71
Figura 51 - Conexão entre o simulador de ECG, o EtoFisiógrafo e o Osciloscópio para o teste de validação do protótipo	75
Figura 52 - Leitura obtida pelo osciloscópio; (a) Saída do simulador de ECG; (b) Sinal na entrada do conversor AD do EtoFisiógrafo.	75
Figura 53 - Sinais coletados pelo EtoFisiógrafo. Visualização do sinal de ECG pelo software do EtoFisiógrafo após filtragem digital (Filtro passa-baixas, Janela de Hamming, frequência de corte = 50 Hz) e armazenamento em um banco de dados do sistema.....	76
Figura 54 - Colocação dos eletrodos de EEG.....	78
Figura 55 - Colocação dos eletrodos de EMG e ECG.	78
Figura 56 - Aquisição de sinais fisiológicos em um rato	79
Figura 57 - Tela de visualização do EtoFisiógrafo contendo os sinais e ECG, EMG, EEG e Temperatura adquiridos.....	79
Figura 58 - Aquisição simultânea de um sinal de ECG entre o EtoFisiógrafo e o BIOPAC.....	81
Figura 59 - Aquisição simultânea de um sinal de EMG entre o EtoFisiógrafo e o BIOPAC	82
Figura 60 - Diagrama do circuito implantável e dimensões estimadas	83
Figura 61 - Raio-X de um implante em um rato (KRAMER et al., 1993).....	84
Figura 62 - Circuito de transmissão (contendo o transceptor infravermelho) acoplado a um molde de resina da cabeça de um rato.....	84
Figura A2 1 - Diagrama funcional e dimensões do AD620	103
Figura A2 2- Pinagem e dimensões do TLC2254.....	103
Figura A2 3 - Pinagem e dimensões do REF3012 (Dimensões em mm).....	104
Figura A2 4 - Funcional e dimensões do AD5204 (Dimensões em mm).....	104
Figura A2 5 - Diagrama funcional e dimensões do TMP123 (Dimensões em mm)	105
Figura A2 6 - Dimensões e modelo da bateria (Dimensões em mm)	105
Figura A2 7 - Dimensões MSP4301232 (Dimensões em mm).....	106
Figura A2 8 - funcional do TPS60202 (Dimensões em mm)	106
Figura A2 9 - Diagrama funcional do TPS60401	107
Figura A2 10 - Dimensões do HSDL3000 (Dimensões em mm)	107

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1 – Faixas de frequência dos principais sinais eletrofisiológicos adquiridos de pequenos animais (encontrados na literatura).</i>	8
<i>Tabela 2 - Relação entre código e ação a ser tomada pelo microcontrolador</i>	57
<i>Tabela 3 - Lista de preços dos componentes eletrônicos que compõem a unidade remota</i>	73
<i>Tabela 4 - Lista de preços dos componentes eletrônicos que compõem a unidade base</i>	73
<i>Tabela A1 1 - Relação entre o Valor Decimal e Resistência do AD5204 para cálculo do ganho no AD620</i>	96

LISTA DE ABREVIATURAS

ACLK	Auxiliary Clock
ADC	Conversor Analógico/Digital
CEUA	Comitê de Ética do Uso de Animais
CI	Circuito Integrado
DCOCLK	DC Oscillator clock
ECG	Eletrocardiograma
EEG	Eletroencefalograma
EMG	Eletromiograma
FIFO	First In First Out
IrDA	Infrared Data Association
IRLED	Infrared Light Emitting Diodes
JTAG	Joint Test Action Group
LNfC	Laboratório de Neurofisiologia Comparada
LED	Light Emitting Diode
LPM	Low Power Mode
MCLK	Main System Clock
PVC	Poli(Cloreto de Vinila)
QFN-32	Quad Flatpack No-Lead
SIMO	Slave in, Master out
SMCLK	Sub System Clock
SMD	Surface Mount Devices

SMT	Surface Mount Technology
SOMI	Slave out, Master in
SPI	Synchronous Peripheral Interface
T.A.T	Turn Around Time
TSSOP	Thin Shrink Small Outline Plastic Packages
USART	Universal Synchronous/Asynchronous Receive Transmit
USB	Universal Serial Bus

1 Introdução

Um conjunto de disciplinas das Neurociências (Neurofisiologia, Psicologia e Farmacologia) estuda os efeitos de drogas sobre o comportamento animal com o objetivo de verificar os mecanismos de ação das mesmas ou como ferramenta para elucidar um processo neuroquímico desconhecido (KELLY *et al.*, 1986). Numerosos distúrbios eletrofisiológicos, neuroetológicos e psicofarmacológicos requerem o registro simultâneo de dados comportamentais e de parâmetros fisiológicos (eletrofisiológicos, térmicos, bioquímicos). Este tipo de abordagem permite a correlação entre a expressão externa do fenômeno comportamental (posturas, movimentos, estados cognitivos, vocalizações, mudanças de cor, etc.) com mudanças funcionais subjacentes (e.g., atividade cardiovascular, temperatura, atividade elétrica do Sistema Nervoso), possibilitando melhor caracterização dos mecanismos neurais afetados por uma manipulação (e.g., lesão, estimulação elétrica/química, mudanças ambientais).

Buscando atender a necessidade de ferramentas para se medir e registrar o comportamento animal, o Laboratório de Neurofisiologia Comparada (LNfC), do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), tem desenvolvido alguns projetos, como o “Espião” (BOSE, 2003). Esse projeto realiza o traçado do movimento do animal quantificando movimentos locomotores e não-locomotores e propiciando uma descrição mais completa dos comportamentos animais, já que ele identifica e quantifica comportamentos impossíveis de serem identificados a olho nu pelo investigador. Esse programa utiliza vídeos digitais de experimentos para identificar se o animal está parado ou se apresenta movimentos locomotores ou não-locomotores. Rastreia também, o movimento do animal na arena apresentando a distância total que o animal percorreu durante o experimento. Estes são parâmetros não identificados facilmente a olho nu pelo investigador. Outro projeto desenvolvido no LNfC é o Etógrafo (PEDERIVA, 2005) que é um *software* responsável pelo registro comportamental de animais a partir de vídeo digitais. Através dos sinais de imagem (vídeo) adquiridos, o usuário pode visualizar categorias de comportamento e incluí-las, através do teclado do computador, em um relatório. O Etógrafo permite também a

realização de análises comportamentais diretamente do ambiente. Após a realização do experimento, o software gera e disponibiliza ao usuário um relatório final com estatísticas sobre a análise do experimento realizado.

Surgiu então, a necessidade de se desenvolver um instrumento que fosse capaz de adquirir os sinais fisiológicos dos animais experimentados e transmití-los ao computador, onde um *software* pudesse tratar esses sinais e disponibilizá-los ao pesquisador, em conjunto com os registros comportamentais adquiridos.

Para implementar um sistema de aquisição de dados eletrofisiológicos, a utilização de recursos telemétricos é frequentemente recomendada. A necessidade de conciliar um registro adequado das variáveis fisiológicas (usualmente realizadas por meio de fios e cateteres acoplados ao animal de experimentação) e a preservação da consciência e mobilidade normal do animal em um ambiente a um tempo controlado e de baixa carga estressora é um fator cada vez mais presente no ambiente de pesquisa. A telemetria foi vastamente usada para medição contínua de temperatura, frequência cardíaca e atividade motora em animais livres de movimento, para avaliar seus respectivos ritmos biológicos (ESSLER & FOLK, 1961; LANGE *et al.*, 1991; MATTES & LAMMER, 1991 *apud* PRUDIAN *et al.*, 1997). Ela combina sensores e transmissores miniaturizados e implantáveis para a detecção e transmissão de sinais biológicos a um receptor remoto. Estes sinais analógicos, convertidos em sinais digitais, são enviados a um sistema de aquisição de dados em um computador, para armazenamento e manipulação/análise posterior, e têm sido utilizados para a coleta de dados como a pressão arterial, fluxo sanguíneo, Eletrocardiograma (ECG), Eletroencefalograma (EEG), Eletromiograma (EMG), pH plasmático, temperatura corporal e índices de atividade corporal em animais com locomoção desimpedida por fios/cateteres (ver, e.g., ANDERSEN *et al.*, 1999 ; ANTIER *et al.*, 1998; BAUMANS *et al.*, 2001; KAWAHITO *et al.*, 1993; KRAMER & KINTER, 2003; TSUSHIDA *et al.*, 2004; VALDASTRI *et al.*, 2004).

Este tipo de registro permite a análise de múltiplos parâmetros funcionais com maior fidelidade e propriedade quanto às relações fisiológicas e comportamentais,

reduzindo o número de animais empregados em um dado experimento. A literatura científica recente tem produzido argumentos contundentes em favor do uso da telemetria como alternativa aos métodos tradicionais de monitoramento de animais de laboratório, em termos não apenas da qualidade e quantidade dos dados obtidos, mas também ao bem-estar dos animais (com notável redução no número e considerável refinamento dos experimentos) e nos custos da investigação (KRAMER & KINTER, 2003).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é desenvolver o protótipo de um sistema telemétrico para a aquisição, registro e análise de dados fisiológicos, auxiliando o estudo dos efeitos comportamentais e eletrofisiológicos - como alterações na frequência cardíaca, tônus muscular, variações no sinal eletroencefalográfico e estados de temperatura corporal – provocados por drogas aplicadas em pequenos animais de laboratório despertos e de movimentação livre, buscando minimizar as condições de stress e eliminando artefatos experimentais.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver o protótipo de um sistema telemétrico para aquisição de sinais eletrofisiológicos em animais de pequeno porte;
- Projetar e implementar circuitos eletrônicos para condicionamento, amplificação, filtragem e digitalização de sinais fisiológicos, disponibilizando quatro canais que possam ser configurados remotamente pelo usuário, com amostragem de 500 amostras por segundo;
- Projetar e implementar um protocolo de comunicação de dados seguro e confiável para a comunicação entre a unidade remota e a unidade base, e entre a unidade base e o computador, via *interface* USB;

- Implementar a função de liga/desliga no sistema para preservar a carga da bateria durante o período de desinteresse na aquisição (recuperação pós-cirúrgica, etc...);
- Utilizar tecnologia de componentes eletrônicos de baixo consumo de energia, encapsulamento de dimensões reduzidas, baixo custo e fácil aquisição;
- Realizar testes para avaliar a funcionalidade do sistema e validar os resultados obtidos;
- Desenvolver um projeto, para implementação de um sistema telemétrico de registro de dados eletrofisiológicos totalmente implantável em pequenos animais, em dimensões apropriadas, que preserve a saúde do animal e permita sua movimentação livre.

1.2 Justificativa

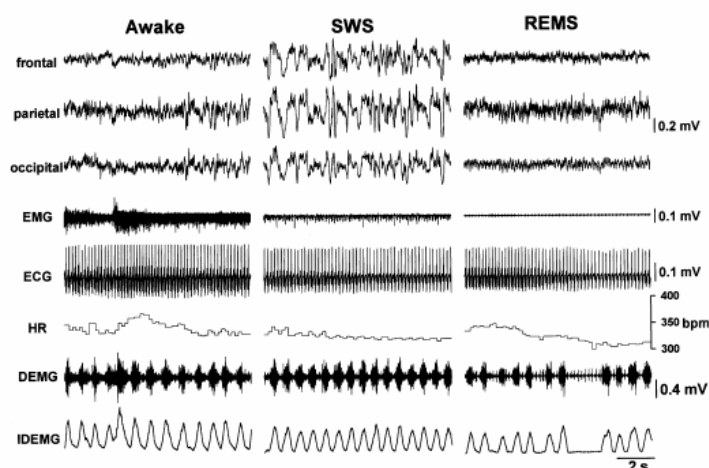
A observação de dados fisiológicos de animais, alterados pela aplicação de drogas é de extrema importância para o pesquisador conhecer o efeito dessas em seu organismo. Sabe-se também, que a qualidade das medições fisiológicas coletadas de animais conscientes não estressados é superior, desde que coletadas sob condições que melhor representam o estado normal do animal. Essas coletas são menos influenciadas por substâncias químicas, stress, e outros fatores fisiológicos, sendo mais preditivas do que poderia ser alcançado em seres humanos (KRAMER & KINTER, 2003).

Como exemplo, podemos ressaltar a importância do estudo da atuação de anestésicos (ketamina e éter) (PRUDIAN *et al.*, 1997) e da melatonina (SIMON *et al.*, 2002) em ratos através da análise de seus parâmetros fisiológicos como a frequência cardíaca, da temperatura e atividade motora. A administração prolongada de certas substâncias, como o ópio por exemplo, produzem alterações no sistema fisiológico do animal, como tolerância e abstinência, provocando mudanças nas funções autônomas do organismo. Essas podem incluir alterações cardiovasculares (i.e., frequência cardíaca e pressão sangüínea), mudanças na respiração e mudanças na termorregulação (McNALLY & CARRIVE, 2006).

A análise do eletromiograma em estudos da função muscular tem chamado uma crescente atenção durante esses recentes anos e tem sido aplicada buscando avaliar fatores como a capacidade da resistência muscular, o limiar anaeróbico e láctico, a biomecânica muscular, o aprendizado motor, o relaxamento neuromuscular, o caminhar e pedalar ótimos, contusão muscular, doenças musculares, atividades da unidade motora, e fadiga do músculo esquelético (MORITANI & YOSHITAKE, 1998).

A temperatura corporal também atua como um bom indicador em todas as espécies, sendo um importante indicador do estado fisiológico do animal. Processos físicos, químicos e em parte biológicos são afetados pela temperatura (BRODY, 1945; HALES, 1984). Bactérias como a *Klebsiella pneumoniae*, quando inoculadas em ratos, provocam hipotermia, perda de massa corporal e sinais clínicos de desconforto. A leitura da temperatura corporal pode prever um estado de morte do animal, podendo antecipar a sua eutanásia, evitando-se assim, seu sofrimento (KORT *et al.*, 1998).

Como exemplo, a Figura 1 apresenta um típico registro poligráfico de um rato nos estados: acordado (*awake*), sono de ondas lentas (*slow wave sleep* – SWS) e sono REM (*rapid eye movement*). Do topo para baixo, pode-se observar o EEG (do córtex frontal, parietal e occipital), o EMG do pescoço na parte dorsal, o ECG, a frequência cardíaca (*heart rate*), o EMG do diafragma (DEMG) normal e na sua forma integrada (IDEMG).



Fonte: SHAW *et al.*, 2002

Figura 1 – Típico registro poligráfico de EEG, ECG e EMG em ratos.

A telemetria surge como uma alternativa à aquisição de dados convencional, eliminando os artefatos provocados pela atuação do pesquisador na monitoração de funções fisiológicas em animais de laboratório conscientes e de movimentação livre (LEON *et al.*, 2004), além de diminuir os artefatos oriundos das inúmeras interfaces entre o animal e o sistema de registro.

A radiotelemetria pode reduzir substancialmente o uso de animais e os custos de pesquisa associados, aumentando o número de parâmetros que podem ser coletados de um grupo de animais. Elimina-se assim, a necessidade de um grupo satélite ou estudos separados para coletar os mesmos dados, permitindo o uso de desenhos amostrais em blocos, e aumentando a precisão dos dados em estudos tanto individuais como em grupos. Um atributo das preparações telemetrizadas é que, com as precauções adequadas, animais podem ser reutilizados para estudar doses diferentes e testar regimentos, para verificar a eficácia individual e respostas ao envenenamento, até em estudos separados. O uso de estudos em blocos filtra a variação inter-animal e reduz a necessidade de animais para obter o mesmo nível de significância estatística para avaliar a resposta de dose/tratamento. A telemetria permite coletar dados cardiovasculares, continuamente ou periodicamente, por períodos prolongados de tempo, sendo compatível com o uso de blocos randomizados, substituindo desenhos de estudos convencionais. A redução no uso de animais, alcançada pelo uso de desenhos em blocos randomizados, ao invés de desenhos randomizados, é de 75%, sem perda de significância estatística (KRAMER & KINTER, 2003).

A telemetria por infravermelho é o método de comunicação mais adequado para esses experimentos por serem menos susceptíveis a ruídos eletromagnéticos (RIEMANN & EVANS, 1999), por apresentarem transmissores com pequenas dimensões (SANTIC, 1991), e por permitir seu uso em condições sub-aquáticas (TSUCHIDA *et al.*, 2004).

Através de pesquisas realizadas pela *Internet* no meio científico e no mercado, não foi encontrado equipamento similar nacional ao proposto no presente trabalho, ou

seja, a implementação de um sistema telemétrico para aquisição de sinais eletrofisiológicos em pequenos animais, sendo mais uma motivação para a sua realização.

1.3 Visão Geral do Sistema EtoFisiógrafo

A Figura 2 apresenta uma visão geral do sistema de telemetria proposto para o registro de variáveis fisiológicas. O animal em experimento é conectado (através de eletrodos) à um circuito eletrônico, responsável pela aquisição, condicionamento, digitalização e transmissão dos sinais adquiridos através de um transceptor infravermelho. Um segundo circuito é responsável pela recepção do sinal infravermelho e verificação de sua validade. Depois de conferido, os dados são então transmitidos ao computador através da *interface* USB. No computador, esses sinais são armazenados e, posteriormente, sincronizados com um registro comportamental em vídeo obtido através do ETÓGRAFO (PEDERIVA, 2005), permitindo uma análise mais aprofundada do experimento realizado.



Figura 2 - Visão Geral do Sistema EtoFisiógrafo. Os dados eletrofisiológicos são coletados do animal e transmitidos a uma unidade receptora que, por sua vez, os retransmite a um computador.

Esse sistema, então denominado EtoFisiógrafo, é responsável pela aquisição, condicionamento, digitalização, transmissão, recepção, verificação e retransmissão de sinais eletrofisiológicos. O sistema possui quatro canais de aquisição, sendo um para a leitura da temperatura corporal e os outros três configuráveis para a recepção de qualquer sinal fisiológico (numa determinada faixa de frequência e amplitude), de acordo com o interesse do pesquisador. Isto se deve ao fato do sistema possuir filtros analógicos que permitem a passagem de sinais de uma vasta faixa de frequência (0,8 a 200 Hz) e amplificadores operacionais que podem adaptar cada canal ao sinal (cada sinal possui uma amplitude característica) que será de interesse para o experimento. A Tabela 1 apresenta os principais sinais eletrofisiológicos e suas faixas de frequência de atuação.

Tabela 1 – Faixas de frequência dos principais sinais eletrofisiológicos adquiridos de pequenos animais (encontrados na literatura).

Sinal	Faixa de Frequência	Referência
Eletrocardiograma	0,5 – 200 Hz	ENOKAWA <i>et al.</i> , 1997 (Ratos)
		MAKI <i>et al.</i> , 1998 (Porcos)
	0,1 – 200 Hz	KETTLEWELL, <i>et al.</i> , 1997 (Galinhas)
	10 – 100 Hz	SHAW <i>et al.</i> , 2002 (Ratos)
	30 – 100 Hz	DARBIN <i>et al.</i> , 2002 (Ratos)
	0,3 – 300 Hz	TONG <i>et al.</i> , 2001 (Ratos)
Eletroencefalograma	1 – 40 Hz	TSUCHIDA <i>et al.</i> , 2004 (Lagosta)
	0,3 – 70 Hz	SHAW <i>et al.</i> , 2002 (Ratos)
	0,5 – 50 Hz	DARBIN <i>et al.</i> , 2002 (Ratos)
	0,3 – 70 Hz	TONG <i>et al.</i> , 2001 (Ratos)
	1 – 115 Hz	VYSSOTSKI <i>et al.</i> , 2006 (Pombos)
Eletrooculograma	0 – 100 Hz	PEACHEY <i>et al.</i> , 2002 (Ratos)
Eletroretinograma	0 – 100 Hz	PEACHEY <i>et al.</i> , 2002 (Ratos)
Eletromiograma	100 – 475 Hz	JAROSIEWICZ <i>et a.</i> , 2004 (Ratos)
	0 – 750 Hz	HODGSON <i>et al.</i> , 2001 (Macacos)
	100 – 500 Hz	SHAW <i>et al.</i> , 2002 (Ratos)

Observando a tabela 1, podemos concluir que o EtoFisiógrafo é capaz de realizar a aquisição dos principais sinais eletrográficos, mesmo tendo sua aquisição restrita à uma faixa do sinal eletromiográfico.

Como o objetivo deste trabalho é desenvolver um sistema de aquisição de sinais bioelétricos para pesquisa com eletrocardiograma, eletroencefalograma e eletromiograma, o estudo será mais focado nesses sinais.

A Figura 3 traz uma visão geral o sistema remoto, em forma de um diagrama de blocos.

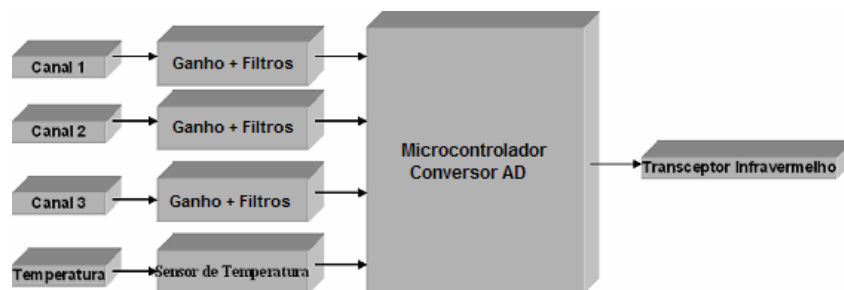


Figura 3 - Diagrama em Blocos da Unidade Remota

Três canais analógicos são disponibilizados de forma a receber um ganho variável (1000 a 50000), e uma filtragem, de forma a permitir a passagem do sinal de uma faixa de frequência de 0,8-200 Hz, eliminando qualquer interferência indesejada. Esses três canais são conectados a um conversor analógico/digital, incorporado ao microcontrolador, onde serão digitalizados. Um quarto canal adquire a temperatura corporal do animal. Realizadas todas as aquisições, os dados são então encapsulados em pacotes de dados e enviados a um transceptor infravermelho, onde serão transmitidos.

Um outro circuito, a unidade base, é responsável pela aquisição dos sinais transmitidos. Seu diagrama de blocos é apresentado na Figura 4. Também através de um transceptor infravermelho, o sinal é recebido da unidade remota e os dados verificados pelo microcontrolador. Após sua averiguação e posterior validação, os dados são então enviados ao microcomputador, a uma taxa de 500 pacotes de dados por segundo, fazendo

uso de um módulo de *interface* USB, onde serão tratados e armazenados em um software, desenvolvido por LEITE (2006), e então disponibilizados ao pesquisador.

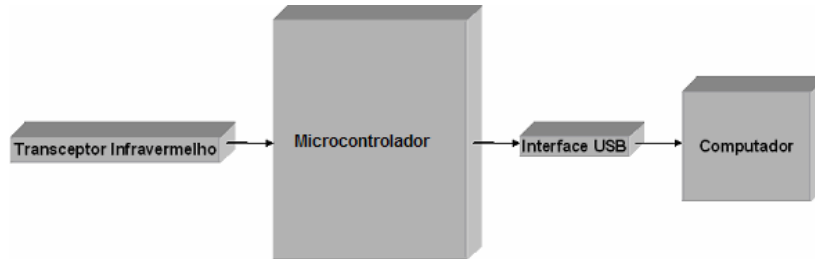


Figura 4 - Diagrama em blocos da Unidade Base

O computador, através de um canal de *interface* USB, recebe os dados provenientes da unidade base. Um segundo canal é usado para receber as imagens do experimento. O software do computador sincroniza os dados provenientes da *webcam* com os dados provenientes do circuito de aquisição e os disponibiliza ao pesquisador, que agora poderá realizar um estudo comportamental, através das imagens, em conjunto com um estudo fisiológico, através dos gráficos dos sinais. A Figura 5 ilustra essa conexão.

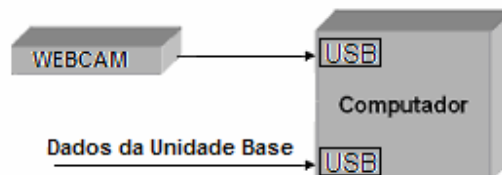


Figura 5 - Diagrama em blocos do computador

1.4 Escopo do trabalho

O conjunto EtoFisiógrafo e Etógrafo (PEDERIVA, 2005) envolve o trabalho de três pesquisadores. A unidade de telemetria por infravermelho (unidade base e unidade remota), circuitos, *hardware* e *firmware* são apresentados nesse trabalho. O aplicativo para recepção, visualização, sincronismo e tratamento dos sinais no computador foi

desenvolvido por LEITE (2006). O Etógrafo, software agregado ao EtoFisiógrafo, foi desenvolvido por PEDERIVA (2005).

1.5 Metodologia de Trabalho

Para o desenvolvimento deste trabalho realizou-se uma revisão bibliográfica sobre os principais tópicos relacionados, tais como: estudo comportamental, sinais eletrofisiológicos, telemetria, aquisição de sinais eletrofisiológicos, filtros analógicos, procedimentos cirúrgicos para implantes eletrônicos, e restrições ao seu uso.

Os primeiros passos compreenderam o planejamento e avaliação de desempenho dos circuitos analógicos de aquisição propostos, utilizando o *software* de simulação PSPICE versão 9.0 (versão estudantil – *freeware*). Em seguida, realizou-se a montagem desses e testes para verificação da funcionalidade e desempenho. Verificada a funcionalidade, um circuito impresso foi construído e sua montagem realizada. Testado e aprovado, testes de aquisição de sinais foram realizados e sua posterior avaliação em laboratório.

1.6 Organização do Trabalho

O primeiro capítulo apresenta uma breve introdução ao tema desta dissertação, a motivação do trabalho desenvolvido, os objetivos a serem atingidos, uma visão geral do EtoFisiógrafo, a definição do escopo do trabalho e a metodologia empregada.

O segundo capítulo trata da fundamentação teórica, abordando aspectos básicos e de interesse desse trabalho da anatomia e fisiologia animal, bem como a forma de aquisição e transmissão de dados à distância (telemetria), sua validação e suas restrições, e uma breve descrição sobre circuitos implantáveis, protocolos de comunicação e baterias.

O terceiro capítulo discorre sobre a implementação do sistema proposto e traz a descrição funcional dos módulos que compõe tanto o *hardware* e como o *software*.

O quarto capítulo apresenta uma discussão sobre os resultados obtidos em experimentação com o protótipo implementado e faz um comparativo destes com o sistema de referência.

O quinto capítulo traz a conclusão do trabalho realizado, suas contribuições, limitações e futuras implementações para seu aperfeiçoamento.

O sexto capítulo apresenta a bibliografia utilizada no desenvolvimento dessa dissertação.

2 Fundamentação Teórica

2.1 Atividade Elétrica do Sistema Nervoso e Eletroencefalograma

O córtex cerebral contém células nervosas classificadas em piramidal e não piramidal, em função de sua morfologia, distribuição laminar e índice de neurotransmissores. As células piramidais projetam seus axônios para outras áreas do encéfalo e para a medula espinhal. Eles são neurônios excitatórios; seus transmissores são conhecidos por serem glutamatérgicos. Células piramidais têm as maiores projeções nervosas do córtex cerebral e, além das projeções locais do córtex, as células piramidais também possuem axônios colaterais que se projetam localmente. Alguns axônios colaterais podem se estender em alguns milímetros em um plano paralelo a camadas corticais. Conexões feitas por axônios colaterais possuem um papel importante na atividade elétrica coletiva de neurônios corticais e no estabelecimento de atividade dispersa durante a epilepsia (MARTIN *et al.*, 1991).

Os dendritos apicais das células piramidais geralmente atravessam várias camadas e são sempre orientadas perpendicularmente à superfície do encéfalo. Isto permite que entradas de diferentes camadas corticais colidam em diferentes pontos ao longo da árvore dendrítica. Além disso, os dendritos contêm regiões capazes de gerar potenciais de ação que amplificam a corrente sináptica, fazendo deste modo sinapses em locais distantes muito mais efetivas do que poderia ser possível baseado nas propriedades passivas das membranas dendríticas. A atividade elétrica das células piramidais é a principal origem dos potenciais de EEG (MARTIN *et al.*, 1991).

Os ritmos do EEG apresentam oscilações e relacionam-se com o estado comportamental, como os níveis de alerta, sono ou vigília, além de estados patológicos, como crises epiléticas. Os ritmos são caracterizados pela faixa de frequência que apresentam, sendo denominados com letras gregas. Os ritmos Beta caracterizam-se por serem rápidos e maiores que 14 Hz, indicando um córtex ativado. Ritmos Alfa apresentam aproximadamente frequências entre 8 e 13 Hz e estão associados com a vigília em repouso. Ritmos Delta são lentos, menores que 4 Hz, apresentam grande amplitudes e são característicos do sono profundo. Na maioria dos casos, ritmos de baixa

amplitude e alta frequência estão associados à vigília e estado de alerta ou sono paradoxal. Ritmos de amplitude elevada e baixa frequência associam-se com estágios de sono de ondas lentas e estados patológicos de coma. Esta situação justifica-se pela grande ativação do córtex no processamento de informações, onde o nível de atividade dos neurônios corticais é relativamente alto e dessincronizado (BEAR *et al.*, 2001).

Um dos assuntos mais significantes da implementação de um EEG é a avaliação e a quantificação de suas ondas. Em humanos, o EEG tem sido usado para várias aplicações (THAKOR & TONG, 2004) como:

- Diagnóstico de doenças neurais, tais como doença de Parkinson, Alzheimer, Wilson, epilepsia e tumores cerebrais;

- Avaliação neuro-funcional e fisiológica. O EEG é aceito como uma medida funcional do cérebro. O EEG quantificado ajuda a entender mudanças eletrofisiológicas e funcionais com estados mentais (relaxamento/depressão, atenção, ansiedade, fadiga e dor) e fisiológicos (sono, desperto e anestesiado).

- Monitoramento de dano neurológico, analisando os sinais de EEG em eventos de derrame, isquemia por hipóxia, trauma e coma.

É importante ressaltar que, assim como ocorre em eletroscilogramas humanos, os ritmos dos ratos (que é o modelo animal mais utilizado) também se manifestam com oscilações rápidas (dessincronizações) e lentas (fusos, ondas delta de sono, ondas teta). Os mecanismos que geram os potenciais no rato não diferem dos que atuam no ser humano, assim como em gatos e outros animais (ANDERSEN *et al.*, 2001).

2.2 Atividade Elétrica do Coração e Eletrocardiograma

A comunicação elétrica no coração tem início através de células auto-rítmicas que geram o potencial de ação que se propaga para outras células através de junções comunicantes. A onda de despolarização é seguida pela contração que acomete o átrio e, posteriormente, o ventrículo (SILVERTHORN, 2003).

O coração possui um marca-passo próprio, chamado de nó sinoatrial, que caracteriza-se como um grupo de células auto-ritmicas localizadas no átrio direito próximo à veia cava. Outras fibras auto-ritmicas não contráteis formam um sistema de condução que propaga os potenciais de ação através do coração (SILVERTHORN, 2003).

O eletrocardiograma é utilizado para avaliar os eventos elétricos gerados pelo coração. Os potenciais de ação das células do músculo cardíaco podem ser visualizadas como baterias que geram energia para mover os fluídos corporais. Essas correntes são originadas por todos os potenciais de ação que ocorrem simultaneamente em várias células miocárdicas e podem ser detectadas por eletrodos situados em regiões específicas do corpo (WIDMAIER *et al.*, 2006). Os sinais registrados do ECG constituem a soma dos potenciais elétricos originários de todas as células do coração ao longo do tempo. Como a despolarização está relacionada à contração do músculo cardíaco, os eventos elétricos observados no ECG são associados à contração ou relaxamento dos átrios ou ventrículos (SILVERTHORN, 2003).

A frequência cardíaca observada em ratos está entre 300 e 500 batimentos por minuto, o que corresponde em um intervalo entre os batimentos cardíacos de 120-200 ms (PILZ & OEDEKOVEN, 1995).

A Figura 6 a seguir ilustra um sinal de ECG normal típico. A primeira deflexão, a onda P, corresponde ao fluxo de corrente durante a despolarização atrial. A segunda deflexão, o complexo QRS, ocorre aproximadamente 0,15 s depois, sendo resultado da despolarização ventricular. Ela é uma deflexão complexa porque os caminhos tomados pela onda em despolarização através das paredes densas ventriculares diferem constantemente, e as correntes geradas pelos fluídos corpóreos mudam de direção. De qualquer forma, a deflexão é ainda chamada de complexo QRS. A última deflexão, a onda T, é o resultado da repolarização ventricular. A repolarização atrial não é, normalmente, evidente no ECG porque ela ocorre no mesmo período em que observa-se o complexo QRS (WIDMAIER *et al.*, 2006).

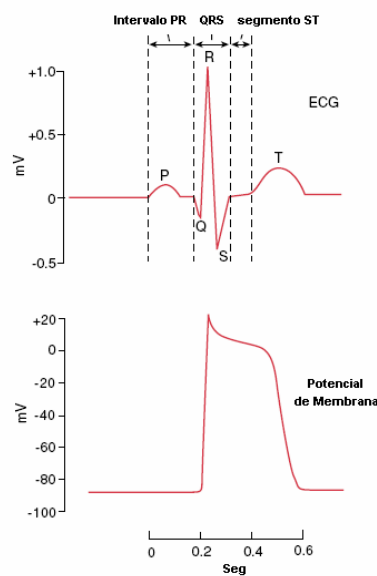


Figura 6 - Representação de um batimento cardíaco (gráfico superior) e a variação do potencial de membrana de cada célula do coração (gráfico inferior). A cada onda do batimento cardíaco é associada uma letra. O intervalo QT se estende do início da onda Q ao final da onda T e o intervalo RR representa o instante de tempo entre duas ondas R consecutivas (ROOKE & SPARKS, 2003).

O ECG não é um sinal gerado diretamente das mudanças do potencial de membrana de células musculares cardíacas. Na verdade, o ECG é mensuração das correntes geradas no fluido extracelular pelas mudanças que ocorrem simultaneamente em várias células cardíacas (WIDMAIER *et al.*, 2006). Ele fornece informações sobre a frequência e ritmo de excitação, bem como o padrão de condução excitatória gerada pelo coração. Através da sua observação, pode-se tirar uma série de informações a respeito do indivíduo sob-análise, como estresse, atenção ou medo, sendo uma importante ferramenta nas mãos de pesquisadores em testes de substâncias farmacológicas e seus efeitos colaterais.

2.3 Músculo Esquelético e Atividade Elétrica Muscular

O tecido muscular é constituído por células diferenciadas, sendo classificado em: músculo esquelético, músculo cardíaco e músculo liso. Grande parte dos músculos esqueléticos está unida aos ossos através de tendões, obtendo a função do controle dos movimentos do corpo. O músculo cardíaco é encontrado apenas no coração e tem a função de ejetar sangue através do sistema circulatório. Esses dois tipos de músculos são

ainda classificados como músculos estriados devido à uma série de faixas (estrias) observadas ao microscópio. O músculo liso está localizado em órgãos internos e tubos, constituindo, por exemplo, o estômago, bexiga urinária e vasos sanguíneos. O músculo liso possui uma aparência homogênea ao microscópio, sem formação de estrias (SILVERTHORN, 2003).

Como dito anteriormente, o músculo esquelético é co-responsável por movimentos amplos de força, envolvendo-se em tarefas como andar, correr e carregar objetos, assim como movimentos pequenos e delicados, como a manutenção do globo ocular e a manipulação de objetos. Os músculos esqueléticos fazem a ligação entre o corpo e o meio externo. Muitas destas interações, como caminhar ou falar, ocorrem através de controle voluntário. Outras ações, como respirar ou piscar os olhos, ocorrem através de controle vegetativo, mesmo podendo ser suprimido por um breve período de tempo (MEISS, 2003).

Células musculares, como outros tipos de células vivas, possuem um sistema de superfície e membranas internas com várias funções. Uma fibra muscular esquelética é cercada pela sua superfície externa por uma membrana celular eletricamente excitável suportada por um fino material fibroso. Juntas, estas camadas formam uma superfície celular, chamada sarcolema. Além das funções típicas de qualquer membrana celular, o sarcolema gera e conduz potenciais de ação como os gerados pelas células nervosas. (MEISS, 2003).

Os potenciais gerados pelos músculos (cuja contração gera os movimentos que se deseja registrar durante a vigília e o sono dessincronizados) são ativadas pelos axônios dos motoneurônios. O conjunto de um motoneurônio e todas as células musculares por ele inervados denomina-se unidade motora. Por conseguinte, quando uma unidade motora é ativada, cada uma das células musculares que dela participam gera uma salva de potenciais de ação e um par de eletrodos no interior do músculo capta a soma dos potenciais das células musculares ao seu redor. Uma característica relevante da ativação de uma unidade motora é que a tensão de seus potenciais de ação se expressa com valor quase constante. Isso é compreensível, visto que sempre o número de células musculares

é ativado pelo impulso axônico que a elas chega. A frequência dos potenciais de ação da unidade motora gradua a força de sua contração. Quando o registro eletromiográfico mostra elevada frequência de potenciais, pode-se inferir que o músculo está se contraindo intensamente (ANDERSEN *et al.*, 2001; Timo-Iaria, 1985).

A eletromiografia é caracterizada pela detecção, amplificação e apresentação dos potenciais elétricos originários a partir da contração muscular. Os sinais captados pelos eletrodos são de baixa amplitude (na ordem de μV), podendo ser amplificado mais de mil vezes, sendo exposto em mV (LOW & REED, 2001). Portanto, a eletromiografia envolve tanto o registro dos potenciais de ação de fibras musculares sob as condições do movimento voluntário quanto à observação de potenciais de ação espontâneos, caso estes estejam presentes, registrando as fibras musculares em repouso (NESTOR & NELSON, 2003).

Existem muitas aplicações para o EMG. Ele é usado clinicamente para o diagnóstico de problemas neurológicos e neuromusculares. É usado também por laboratórios e clínicos treinados no uso de *biofeedback* ou avaliação ergonômica e em vários tipos de laboratórios de pesquisa, incluindo aqueles envolvidos com biomecânica, controle motor, fisiologia neuromuscular, desordem de movimento, controle postural, e terapia física, podendo também ser utilizado em experimentação animal para se medir tônus muscular (estimar força) ou registrar participação de um determinado músculo em um movimento.

2.4 Temperatura Corporal

Pássaros e mamíferos, incluindo humanos, são capazes de manter sua temperatura corporal em estreitos limites apesar das flutuações severas da temperatura ambiente. A manutenção da “alta” temperatura corporal (aproximadamente 37° C em humanos) impõe a exigência de mecanismos regulatórios precisos. Algumas pessoas sofrem convulsões quando a temperatura corporal atinge 41° C, e 43° C é considerado o limite absoluto para a sobrevivência (WIDMAIER *et al.*, 2006).

O calor é produzido em todos os tecidos do corpo, mas é perdido para o ambiente apenas pelos tecidos em contato com o mesmo – predominantemente pela pele e pelo trato respiratório. O calor é transportado pelo corpo das áreas de maior produção de calor, para todo o resto, e do centro do corpo em direção a pele. Dentro do corpo, o calor tem duas formas de transporte: pelos tecidos ou pelo sangue, dependendo da taxa do fluxo sanguíneo (BEAR *et al.*, 2001).

O uso de drogas em experimentos pode provocar alterações no metabolismo e na temperatura do animal experimentado. O registro da sua temperatura corpórea durante o experimento é extremamente importante para se conhecer as alterações que o animal está sofrendo durante os testes.

2.5 Biotelemetria

O termo telemetria envolve tudo o que um investigador possa medir (*metron*) à distância (*tele*). O uso da telemetria permite o registro comportamental e fisiológico inalterado pela presença de um observador humano. Obviamente, um transmissor telemétrico é um intruso não natural também, mas pela perspectiva do animal, ele pode ser uma carga constante ao invés de um distúrbio agudo (WOLCOTT, 1995).

A biotelemetria é definida como a transmissão de dados biológicos ou fisiológicos de um local remoto a um lugar que tenha a capacidade de interpretá-los. Telemetria biomédica é um campo especial da instrumentação biomédica que freqüentemente permite transmissão de informação biológica de um lugar inacessível a um local de monitoração remoto. Biotelemetria inclui a capacidade de monitorar humanos e animais com mínima restrição provendo a reprodução dos dados transmitidos. Se técnicas de medição e monitoramento são aplicadas a humanos e animais restritos, o estresse provocado pela imobilização causa alterações nas variáveis medidas. De acordo com esse conceito, a vantagem da biotelemetria é a medição de variáveis fisiológicas em humanos e animais conscientes e com movimentação livre (GULER & UBEYLI, 2002).

Medições realizadas com biotelemetria podem ser diferenciadas em duas categorias:

1. Variáveis bioelétricas, como sinais de ECG, EMG, e EEG;
2. Variáveis fisiológicas que requerem transdutores, como pressão sangüínea, pressão gastrointestinal, fluxo sangüíneo, e temperatura. Usando transdutores apropriados, telemetria pode ser empregada para uma vasta variedade de variáveis fisiológicas (CROMWELL *et al.*, 1980).

A biotelemetria é um importante método para a monitoração de variáveis bioelétricas e fisiológicas por prover um meio de comunicação sem fio entre o objeto de estudo e o equipamento de captação dos dados. Dados biomédicos têm sido telemetrizados através de qualquer meio entre dois lugares, incluindo ar, espaço, água, e tecido biológico, usando uma variedade de formas de energia modulada, como ondas eletromagnéticas, luz, e ultra-som (GULER & UBEYLI, 2002).

Dimensões, custo, complexidade do circuito, requisitos de energia (e vida útil operacional), transdutores, natureza dos dados a serem transmitidos e desempenho ditam o *design* do equipamento telemétrico.

2.5.1 Tipos de Telemetria

Telemetria por Rádio-Frequência

Em geral, sistemas de biotelemetria envolvem o uso de transmissão via rádio. Uma onda portadora de rádio frequência é um sinal senoidal propagada em forma de ondas eletromagnéticas quando aplicada a uma antena de transmissão apropriada. Telemetria a rádio é uma ferramenta excelente para reunião de dados biológicos de animais e suas interações com o meio onde vivem (SALVATORI *et al.*, 1999). A escolha da frequência de operação tem sido sempre o assunto de considerável controvérsia no meio dos pesquisadores. Muitos selecionam a radiofrequência na qual conduzem seus estudos baseados somente na disponibilidade do equipamento possuído ou simplesmente na tradição. Pesquisadores frequentemente não estão totalmente cientes do impacto próximo da escolha da frequência no desempenho geral do sistema e seu impacto final sobre a qualidade dos dados que o estudo gera (SISAK *apud* GULER & UBEYLI, 2002).

Telemetria por Ultra-Som

Energia acústica é a melhor técnica disponível para peixes marinhos enviarem sinais à distância. Intervalos ultra-sônicos 30–100 kHz são superiores a maioria dos intervalos de audição animal e são transmitidos com pequena perda de energia através da água do mar (VOEGELI *et al.*, 2001). Existe uma necessidade de se revelar as atividades diárias de animais que se afastam da vista de um observador aquático e de se obter informações sobre comportamento, além dos lugares de recaptura e soltura. Telemetria por ultra-som parece se adaptar bem a esses estudos onde animais podem ser seguidos por barcos por vários quilômetros de distância (SUNDSTRÖM *et al.*, 2001).

Telemetria por Infravermelho

Telemetria por infravermelho também possui um vasto campo de aplicação. A radiação infravermelha habilita a transmissão de diferentes parâmetros fisiológicos de cobaias em movimento como pacientes em unidades de tratamento intensivo, repartições, recém-nascidos em incubadoras e animais em laboratórios biológicos e hospitalares. Em sistemas típicos de biotelemetria por infravermelho, o paciente carrega um transmissor alimentado por uma bateria e um ou mais pequenos bancos de diodos emissores de luz infravermelha (IRLEDs – do inglês *infrared light emitting diodes*) que enviam dados codificados a um receptor foto-detector localizado remotamente (WELLER, 1985).

Radiação infravermelha, na transmissão de informações, é usada de duas maneiras: radiação direta (*narrow beam*), e radiação difusa infravermelha. Radiação difusa infravermelha preenche quase de forma uniforme a sala onde o transmissor e o receptor infravermelho estão localizados. A mobilidade do transmissor utilizado pelo paciente é completa dentro da sala, sem nenhuma restrição. A cobertura da sala com radiação infravermelha é baseada em reflexões nas paredes, teto, e chão. Esta é a razão pela grande quantidade de aplicações da radiação infravermelha difusa na biotelemetria em relação a radiação infravermelha direta em medições de parâmetros biológicos (GULER & UBEYLI, 2002).

2.5.2 Comparação Entre os Tipos de Telemetria

O uso de luz modulada infravermelha como uma alternativa a portadoras de rádio-freqüência em biotelemetria tem várias vantagens: impulsos elétricos ruidosos causados por outros equipamentos causam interferência em *links* de rádio-telemetria (RIEMANN & EVANS, 1999). Em telemetria por infravermelho, existe muito menos ruídos naturais ou gerados pelo homem causando interferência. O espaço ocupado pelas antenas receptoras e transmissoras não existem na telemetria infravermelha. O transmissor usado pelo paciente/cobaia é mais compacto e não requer bobina indutiva, podendo-se fazer uso de tecnologia *surface mount* (SMT) utilizando componentes *surface mount* (SMD) reduzindo significativamente o tamanho do dispositivo (SANTIC, 1991). Quando sistemas de biotelemetria infravermelha são usados para localização e monitoração de pacientes em hospitais, não existem restrições de largura de banda, não existindo evidências que a transmissão infravermelho cause algum tipo de interferência eletromagnética em qualquer dispositivo médico, garantindo sua utilização em salas cirúrgicas.

A maior desvantagem do uso de biotelemetria infravermelha é que seu alcance é curto e restrito a uma simples sala. Mas isso não é problema se os pacientes ou cobaias estiverem confinados a pequenos quartos ou arenas. Outra desvantagem é o fato de que um sistema telemétrico infravermelho tem dificuldades com operação multi-sistemas operando em um mesmo espaço, não sendo tão simples como é para a rádio-telemetria. O consumo do transmissor dos sistemas de telemetria infravermelha é relativamente alto, se tornando também uma grande desvantagem deste (GULER & UBEYLI, 2002).

2.5.3 Vantagens do Uso da Telemetria

Telemetria é o “estado da arte” na monitoração de funções fisiológicas em animais de laboratório acordados e de movimentação livre, sendo uma poderosa ferramenta nas mãos de farmacêuticos e toxicólogos para a definição das conseqüências fisiológicas e patofisiológicas derivadas de mudanças moleculares, celulares e em tecidos

biológicos, e na predição da efetividade e segurança de novos compostos em humanos (KRAMER & KINTER, 2003).

O uso de animais de laboratório requer cada vez mais a implementação dos 3 “Rs” de Russel e Burch (1959, de *Replacement, Reduction and Refinement* ou, em português, Substituição, Redução e Refinamento). A telemetria e registro simultâneo de comportamentos poderiam contribuir diretamente com as possibilidades de Redução e de Refinamento no uso de animais. A Redução pode advir do uso de um menor número de animais por aumentar o número de parâmetros que pode ser coletado de um grupo experimental (eliminando a necessidade de grupos ou estudos adicionais para obter tais dados). A telemetria também representa uma ação em prol do Refinamento, uma vez que reduz o estresse e o desconforto do animal experimental (ao mesmo tempo adicionando precisão e qualidade aos dados experimentais), além de reduzir custos. Por exemplo, o exame de parâmetros cardiovasculares em roedores (ratos e camundongos) equipados com implantes telemétricos e monitorados nas suas caixas de alojamento mostram valores de frequência cardíaca e pressão arterial significativamente menores que os relatados na literatura (obtidos por métodos convencionais, ver, e.g., BAZIL *et al.*, 1993; BROCKWAY *et al.*, 1991; KRAMER *et al.*, 1993).

Como vantagens do uso da telemetria, tem-se:

1. Redução do sofrimento animal comparado com técnicas de medição convencionais. Telemetria representa o método mais humano para monitoração de parâmetros fisiológicos em animais de laboratório conscientes e de movimentação livre;
2. Pode eliminar o uso de contenções, o que pode aliviar uma fonte potencial de artefatos experimentais e variabilidade inter-animal;
3. Redução do uso animal de 60% a 70% em estudos simples e mais de 90% em múltiplos estudos;
4. Refinamento no uso animal permite coleção de dados continua virtualmente irrestrita (dias, semanas, meses ou mais) sem a necessidade de nenhum cuidado animal;

5. Disponível para uso em todos as espécies animais, de ratos a macacos, e mais recentemente, peixes.

Como desvantagens do uso da telemetria, tem-se:

1. Custo para a aquisição do equipamento necessário;
2. Treinamento e certificações especializadas são requeridas para preparar cirurgicamente e estudar os animais telemetrizados;
3. Amostragem regular ou continua gerando largas quantidades de dados que pode levar a problemas de análise;
4. Espaço dedicado dentro do animal precisa ser encontrado para se conduzir os estudos.

Críticos dessa tecnologia questionam os efeitos da massa e volume do transmissor implantado no comportamento e no estresse do animal e nas suas funções fisiológicas. Os animais parecem tolerar a implantação do transmissor sem problemas óbvios, tão quanto as técnicas de esterilização de alta qualidade são usadas, e isso será discutido mais a frente no trabalho.

2.6 Dispositivos Implantáveis

O uso temporário de métodos invasivos para o implante de sensores sob a pele e/ou dentro de cavidades do corpo pode eliminar artefatos experimentais associados a procedimentos não-invasivos (KRAMER & KINTER, 2003).

O transmissor pode ser engolido ou cirurgicamente implantado na cobaia. Esses sistemas permitem monitoração e aquisição de dados de cobaias conscientes e livres de movimento. Cobaias conscientes provêm dados livres dos efeitos da anestesia. Isto tem sido claramente visto na literatura que agentes anestésicos podem causar mudanças na pressão sangüínea, na freqüência cardíaca, na resistência vascular periférica, na termoregulação, na função gastrointestinal e outras funções do corpo. Comparados com modelos de animais restringidos, animais instrumentados com implantes telemétricos são livres de infecções resultantes de cateteres externos e fios de chumbo que são

freqüentemente requeridas quando se usam jaquetas telemétricas (ver DOWNE *et al.*, 2003). Nessa situação, animais são livres de estresse e desconforto de carregar instrumentos em roupas próprias. Uma vez que o dispositivo telemétrico é implantado, dados podem ser monitorados 24 horas por dia sem contato ou intervenção humana enquanto o animal permanece na sua própria gaiola. Entretanto, existem alguns requerimentos para o uso de telemetria implantável. Unidades implantáveis devem ser relativamente pequenas e leves. A fonte de energia interna deve ser usada por um tempo longo (GULER & UBEYLI, 2002).

2.7 Baterias

A escolha das baterias a serem utilizadas em dispositivos biomédicos implantáveis é um fator importante a ser discutido. Elas devem maximizar a densidade de energia, serem confiáveis e não produzirem gás durante a sua descarga. Para isso, as baterias devem ser seladas hermeticamente para evitar vazamentos de gases, que podem correr a altas temperaturas (STOTTS *et al.*, 1989). Suas dimensões devem ser reduzidas, para não ocupar muito espaço no interior do animal e seu peso diminuto, evitando o desconforto animal.

2.8 Protocolo Synchronous Peripheral Interface (SPI)

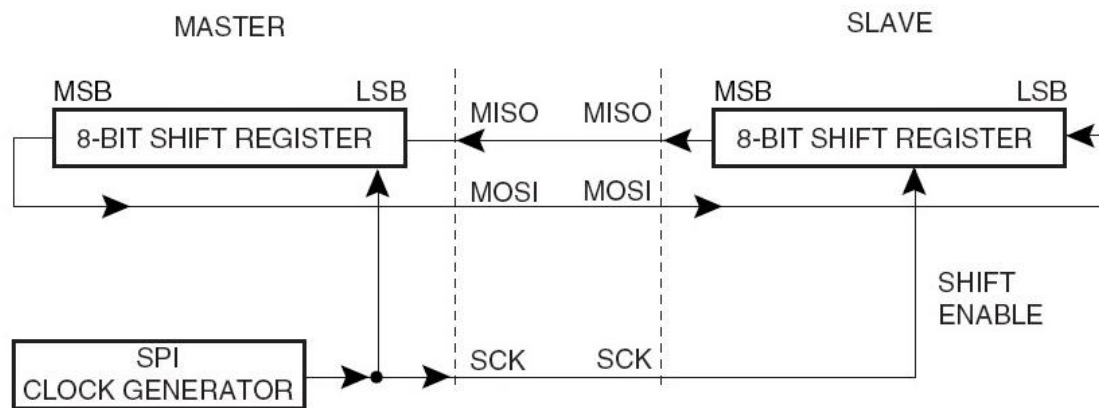
O protocolo de comunicação SPI é uma forma de comunicação que proporciona uma transferência síncrona de dados, a uma alta velocidade, entre o microcontrolador e um ou mais circuitos periféricos.

A comunicação entre dispositivos SPI faz-se sempre entre um dispositivo *master* (mestre) e um *slave* (escravo).

O dispositivo *master* é a parte ativa nesse sistema e deve prover o sinal de *clock* na transmissão serial em que a comunicação SPI é baseada. O dispositivo *slave* apenas recebe e envia dados se requerido pelo dispositivo *master*.

A Figura 7 apresenta um diagrama da comunicação SPI. O sinal de *clock* é gerado pelo dispositivo *master*. Esse sinal, ao chegar no registrador do dispositivo *slave*, desloca

os dados contidos no registrador de comunicação para o terminal de conexão MISO (*master in, slave out*). Esses, ao chegar no registrador do dispositivo *master*, desloca os dados presentes no registrador de comunicação e o atualiza com os novos dados. A comunicação termina quando o sinal de *clock* se encerra.



Fonte: http://avrhelp.mcselec.com/Using_the_SPI_protocol.html

Figura 7 - Diagrama de comunicação SPI. O sinal de *clock* é gerado e transmitido através da linha de comunicação SCK. O dispositivo *master* recebe os dados através da linha de comunicação MISO (*master in slave out*) e transmite dados através da linha de comunicação MOSI (*master out slave in*)

2.9 Encapsulamento de Circuitos Implantáveis

As partes implantáveis do sistema de aquisição de dados devem ser encapsuladas com material biocompatível, para não reagir com o organismo animal, sendo um fator de extrema importância. As técnicas mais usadas hoje em dia são:

1. Epoxy, borracha de silicone, ou outro polímero;
2. Envoltura de metal inerte soldada;
3. Pirex e cerâmica, selados com epoxy ou com solda para metal;

2.10 Restrições ao Uso de Sistemas Implantáveis em Pequenos Animais

O uso de sistemas biotelemétricos implantáveis em pequenos animais deve observar algumas restrições quanto à suas aplicações. O animal a ser experimentado não deve sofrer nenhuma perturbação ou desconforto que altere seu cotidiano, comportamento ou seus sinais eletrofisiológicos. Analisando essas observações, discute-

se a influência de alguns fatores que possam vir a interferir na perfeita aquisição dos sinais, deturpando o valor medido e pondo em risco a validade dos dados. O implante intraperitoneal de transmissores biotelemétricos pode provocar mudanças no crescimento e no ritmo circadiano dos animais, distúrbios na ingestão de comida e água, e na sua atividade motora (LEON *et al.*, 2004).

Dois desses fatores são o peso e tamanho máximos que o dispositivo implantável deve possuir em relação ao tamanho e peso do animal experimentado. Estudos mostram que o peso do equipamento, incluindo baterias e encapsulamento, não deve ultrapassar 20% do peso total do animal, correndo o risco de provocar invalidação dos dados adquiridos e sofrimento animal (LEON *et al.*, 2004; MORAN *et al.*, 1998).

Um terceiro fator a ser considerado é a dissipação de calor gerada pelo dispositivo telemétrico e sua influência sobre os tecidos animais. Um dispositivo implantável com uma eletrônica e comunicação limitada com o mundo externo raramente é um problema do ponto de vista térmico. Agora, em se tratando de implantes, que constantemente estimulam o corpo humano e seus tecidos neurais com um grande número de eletrodos e está em constante comunicação com o mundo externo, a dissipação de calor pode se tornar um importante elemento no design do projeto. Os principais parâmetros responsáveis pelo aumento do calor dissipado são: a energia requerida para a eletrônica implantada, o número de eletrodos e a descarga da bateria. Estes parâmetros devem ser especialmente analisados e verificados (LAZZI, 2005).

2.11 Sistema de Referência para validação dos sinais

A validação de um sistema de telemetria inclui calibração/verificação do sensor, confirmação de que o sinal do sensor é recebido e acumulado dentro do sistema de aquisição de dados, confirmação de que todos os programas e sub-rotinas de processamento dos dados pós-coletados estão de acordo com as especificações, e a confirmação da exatidão e precisão dos dados de saída. Quando múltiplos animais/sistemas são estudados simultaneamente, a validação precisa ser realizada para cada sistema em cada animal (KRAMER & KINTER, 2003).

É necessário validar os sensores e os sinais telemétricos transmitidos para se conferir a exatidão desses em relação ao intervalo dos dados fisiológicos medidos antecipadamente, e para se verificar a estabilidade do sistema em relação ao tempo de uso pretendido. Aproximações experimentais para validar transmissores incluem medições simultâneas em animais individuais ou grupos separados, comparando o sinal telemétrico com aquele obtido através de técnicas convencionais. Quando feita essa comparação, pequenas diferenças nos valores absolutos podem ser antecipadas baseadas na diferença de colocação dos eletrodos. Agentes farmacológicos de curta ação e manipulações ambientadas podem ser usadas para induzir mudanças agudas em parâmetros fisiológicos para testar intervalos dinâmicos; alternativamente, variações no ciclo circadiano podem ser usadas. Estabilidade pode ser mais bem aproximada através de medições coletadas depois da implantação e, novamente, antes do transmissor ser removido. O resultado de um protocolo de validação deve demonstrar que os dados coletados usando a telemetria e os coletados usando técnicas convencionais devem ser iguais, tanto em valores relativos (aumentando ou diminuindo com o tempo) como absolutos; diferenças nos valores absolutos podem ser pós-corrigidas com um valor de off-set conhecido, se necessário (KRAMER & KINTER, 2003).

O trabalho de KRAMER & KINTER (2003) propõe o seguinte método para validação:

- 1) Conduzir os procedimentos recomendados pelo fabricante do dispositivo específico a ser implantado e qualquer parâmetro de *off-set* pré-estabelecido pelo fabricante.
- 2) Implantar o transmissor usando procedimentos esterilizados de acordo com um protocolo aprovado por um comitê ético apropriado.
- 3) Calibrar e conectar a tecnologia convencional para a qual o sinal telemétrico vai ser comparado.
- 4) Simultaneamente, coletar os dados usando as duas tecnologias e comparar as duas saídas; 4a) se as saídas estiverem dentro dos limites previamente estabelecidos (+- 10%), continue; 4b) se não, diagnostique a diferença, corrija-a, e continue.

- 5) Administrar doses apropriadas de agentes farmacológicos de curta ação ou manipulações para induzir excursões em parâmetros primários; simultaneamente, registrar os resultados e comparar as saídas.
- 6) Remover a tecnologia convencional, fechar as incisões remanescentes e recuperar o animal da anestesia.
- 7) Para determinar a longevidade da estabilidade do sinal, reanestesiá-lo o animal telemetrizado para uma prévia transmissão de falha e repetir o passo 4 e 5. Registrar as diferenças. Eutanizar a preparação e recuperar o dispositivo implantado para condicionamento.

3 Materiais e Métodos

A Figura 8 apresenta a concepção do sistema de aquisição de sinais fisiológicos desenvolvido (ETOFISIÓGRAFO) sendo este formado por uma unidade remota, uma unidade base e um computador. A unidade remota é responsável pela aquisição, pré-processamento e transmissão dos dados adquiridos do animal experimentado. A unidade base é composta por um microcontrolador, responsável pela aquisição do sinal infravermelho (emitido pela unidade remota através do transceptor infravermelho), pelo encapsulamento dos dados contidos neste sinal, pela aquisição de mais um canal de temperatura (temperatura ambiente), e envio ao microcomputador, através da porta de comunicação USB (*Universal Serial Bus*) pelo módulo de comunicação DLP-USB245M (DLP Design - USA). Um LED (*Light Emitting Diode*) conectado a unidade base funciona como um instrumento para a posterior sincronização entre os dados fisiológicos adquiridos pelo EtoFisiógrafo e os dados comportamentais, adquiridos pelo Etógrafo (PEDERIVA, 2005).

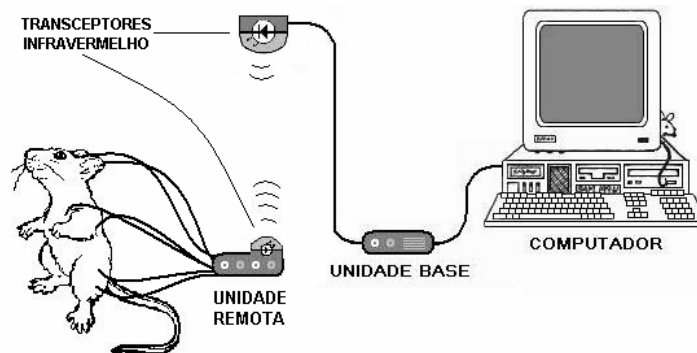


Figura 8 - Sistema de aquisição de sinais eletrofisiológicos – EtoFisiógrafo. A unidade remota adquire os dados eletrofisiológicos do animal e os transmite através de um transceptor infravermelho. Uma unidade base, também através de um transceptor infravermelho, recebe os dados e os retransmite a um computador.

No *firmware*, presente no microcontrolador, estão as rotinas necessárias para gerenciar a aquisição, o tratamento e a transmissão dos dados ao PC.

3.1 Arena de Registro

Para a realização dos testes e experimentos, uma arena de registro foi construída. Ela possui dimensões aproximadas de 50 x 30 x 40 cm (comprimento, largura e altura, respectivamente).

3.2 Unidade Remota

A unidade remota é encarregada da aquisição, digitalização, encapsulamento e transmissão dos sinais eletrofisiológicos. Ela é composta por uma parte analógica, responsável pela aquisição e condicionamento do sinal, e uma parte digital, onde um microcontrolador, contendo um conversor analógico/digital (ADC) incorporado, tem a função de comunicar-se com o sensor de temperatura para fazer a sua aquisição, comunicar-se com o potenciômetro digital para controlar o ganho do circuito analógico, converter o sinal recebido no conversor AD, e comunicar-se com o tranceptor infravermelho para realizar a transmissão dos dados à unidade base.

Os sensores para a aquisição dos sinais de ECG são colocados subcutaneamente ao animal, sendo costurados na parede do tecido. São compostos por fios de aço inox, de 0,25 mm de espessura externa, dispostos em forma de círculos de 5 mm de diâmetro. Parafusos de aço inox são utilizados para a aquisição do EEG, sendo fixados no crânio do animal. Já os eletrodos de EMG são compostos por prata e recobertos por *teflon*, sendo fixados internamente ao músculo desejado. Uma pequena área do eletrodo é descascada (retirado o teflon) garantindo que só aquela região irá adquirir potenciais (Figura 9).

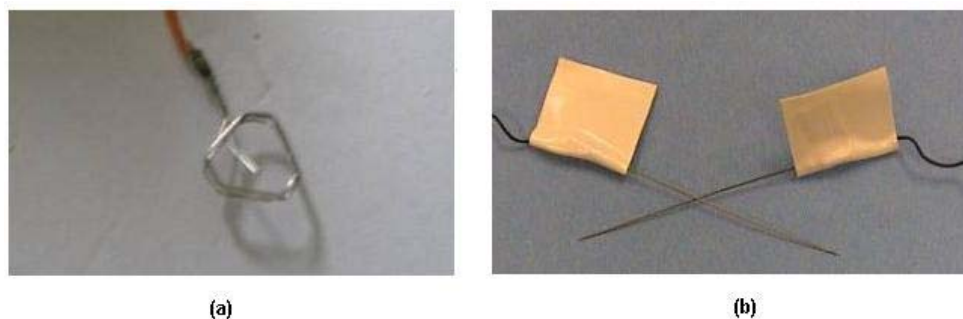


Figura 9 - Eletrodos utilizados para a aquisição de sinais; (a) ECG; (b) EMG e EEG

O diagrama de blocos dos canais de aquisição de sinais é mostrado na Figura 10.

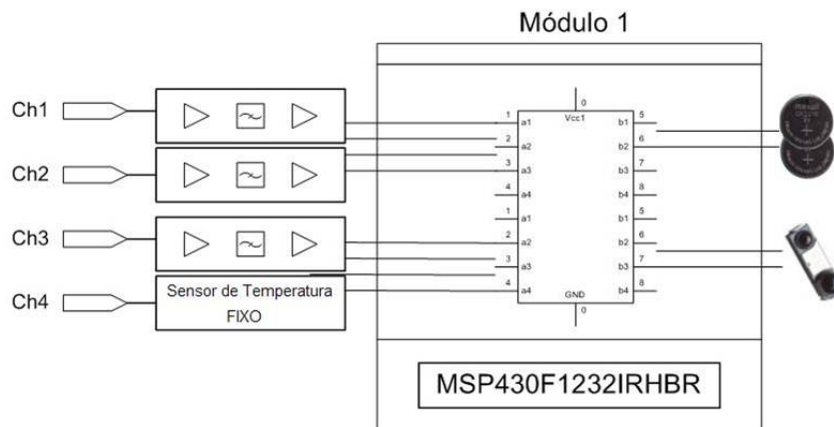


Figura 10 - Diagrama do Módulo Remoto apresentando os canais de aquisição, tratamento, o microcontrolador, transceptor infravermelho e baterias.

Para a aquisição dos sinais bioelétricos, o amplificador de instrumentação utilizado é o circuito integrado (CI) AD620 (Analog Devices – U.S.A), devido a sua alta impedância de entrada ($10\text{ G}\Omega$) e alta taxa de rejeição de modo-comum CMMR (*common-mode rejection ratio*) mínima de 100 dB, o que é muito importante devido a maior parte do ruído do sinal ser de modo comum (METTINGVANRIJN et al., 1991; WEBSTER, 1992). Outro fator bastante relevante para a escolha foi o seu baixo ruído de entrada ($9\text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$), se comparado aos outros amplificadores de instrumentação encontrados no mercado. A Equação 1 é dada pelo fabricante do componente (Analog Devices - USA) para cálculo do ganho, que é dependente do valor do resistor R_G .

$$G = \frac{49.4k\Omega}{R_G} + 1 \quad (\text{Equação 1})$$

O amplificador operacional escolhido para se dar ganho ao sistema foi o TLC2254-Q1 (Texas Instruments – U.S.A) devido o seu baixo consumo ($35\mu\text{A}$ por canal), baixo ruído ($19\text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$) e diminuto encapsulamento TSSOP (*Thin Shrink Small Outline Plastic Packages*), tendo ainda a possibilidade de 4 amplificadores por circuito integrado.

Os ganhos dos amplificadores são distribuídos em duas etapas. Um primeiro ganho é aplicado no amplificador de instrumentação. Para isso usou-se um potenciômetro digital com a resistência variável. Este ganho pode variar de 1 a 100 sem provocar distorções no sinal, como foi verificado em experimento. Ganhos maiores podem ser aplicados, mas corre-se o risco de que ocorra saturação do sinal na saída do amplificador. O segundo estágio do ganho é aplicado logo após a eliminação da componente DC (0 Hz) do sinal realizada pelo filtro passa-altas e tem valor fixo 500. Assim, o ganho total do sistema é definido pela faixa de 500 a 50000, certificando que os sinais desejados tenham um ganho adequado, elevando-os aos limites do conversor AD.

Uma referência de tensão é utilizada para se elevar o sinal após realizado o desacoplamento. Isso se faz necessário para garantir que o sinal adquirido esteja totalmente na faixa do conversor AD (0 a 2,5 V), e que nenhuma parcela sua seja desprezada. O circuito integrado utilizado para essa aplicação é o REF3012 (Texas Instruments) devido ao seu baixo consumo de corrente (50 μ A), por fornecer 1,25 V de tensão na saída (tensão intermediária a faixa do conversor AD), e por se encontrar disponível no diminuto encapsulamento SOT-23-3.

Para se alterar o ganho do amplificador de instrumentação, fez-se uso do circuito integrado AD5204 (Analog Devices). Nele, existem 4 potenciômetros digitais com resistência variando de 0 a 100 k Ω , independentemente. A sua comunicação com o microcontrolador é realizada digitalmente por apenas 3 fios através do protocolo de comunicação SPI pela USART (*Universal Synchronous/Asynchronous Receive Transmit*), e seu funcionamento será descrito mais adiante. O encapsulamento utilizado foi o TSSOP-24.

O sensor de temperatura utilizado no trabalho foi o TMP123 (Texas Instruments). Ele permite a leitura de uma faixa de temperatura de -25 à +85° C, com resolução de 0,0625 °C, que compreende a faixa de temperatura corporal, já que a temperatura interna do animal varia apenas em uma estreita faixa em torno de 37 °C. A comunicação com o

microcontrolador é feita também através da USART e pelo protocolo serial de 3 fios SPI, e será descrito posteriormente. O encapsulamento é o SOT23-6.

As baterias utilizadas para o fornecimento de energia do sistema são de lítio do modelo CR2032 (PANASONIC). Elas possuem 3V de tensão e tem capacidade para fornecer 220 mAh de corrente. Suas dimensões são bastante reduzidas constituindo a melhor opção para o sistema.

3.3 Ativação do sistema

Após a cirurgia de implantação do circuito no animal, um período de recuperação de aproximadamente 14 dias deve ser observado, até que o animal recupere seu peso inicial e se recupere das incisões (MORAN *et al.*, 1998). Nesse período, o sistema deve estar desativado, consumindo o mínimo de energia possível.

Após a completa recuperação do animal, esse já estará apto para ser experimentado. O sistema deve ser então ativado, iniciando o processo de aquisição dos sinais.

Para essa ativação, um *reed switch* (COTO Technology) foi conectado entre a alimentação do circuito e uma das portas de entrada do microcontrolador. Com a aproximação de um campo magnético, gerado por um ímã, os terminais do *reed switch* se unem, fechando o circuito, que por sua vez gerará uma interrupção, inicializando o sistema.

3.4 Modelo de Aquisição dos Sinais

A aquisição dos sinais eletrofisiológicos é realizada primeiramente por um amplificador de instrumentação, seguido por um filtro passa-altas, por um amplificador operacional e por um filtro passa-baixas. O diagrama pode ser visto na Figura 11.

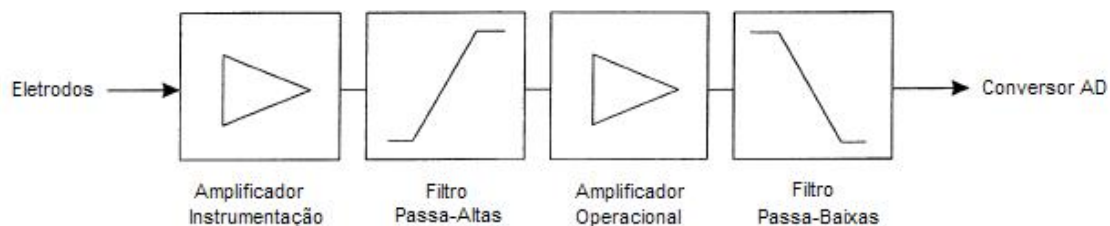


Figura 11 – Estágios de amplificação e tratamento de cada canal. O sinal, adquirido pelos eletrodos, passa por um primeiro estágio de amplificação através de um amplificador de instrumentação, seguido por uma filtragem passa-altas. Um segundo ganho então é aplicado por um amplificador operacional, terminando o tratamento com um filtro passa-baixas.

3.5 Filtros Analógicos

Para o condicionamento do sinal, dois filtros analógicos de primeira ordem foram utilizados, um passa-altas e passa-baixas. Tais filtros se destinam a eliminar a interferência provocada pela ação de outros potenciais que possam vir a contaminar o sinal. O sistema de filtros apresentado destina-se a monitoração de sinais eletrofisiológicos, tendo sua faixa plana cobrindo de 0,8 a 200 Hz, suficiente para a aquisição dos sinais de interesse.

3.5.1 Filtro Passa-Altas

Após sua passagem pelo amplificador de instrumentação, o sinal é aplicado à entrada do filtro passa-altas de primeira ordem. Esse filtro é capaz de realizar uma atenuação do sinal de 20 dB/década, e possui uma frequência de corte (-3dB) em 0,8 Hz. Sendo assim, restringe a banda passante à faixa de interesse, eliminando as componentes de baixa frequência provenientes da respiração, e eliminando também a componente DC do sinal, que possa vir a ocorrer, proveniente dos potenciais de meia célula, resultantes do contato entre os eletrodos e os tecidos do animal.

A Figura 12 apresenta a topologia do filtro ativo utilizado para implementar o filtro passa-altas tipo *Butterworth* de primeira ordem com frequência de corte em 0,8 Hz.

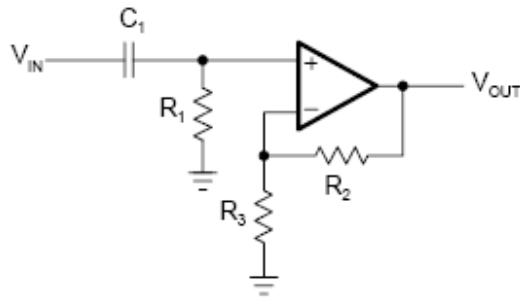


Figura 12 - Filtro Passa-Altas *Butterworth* de Primeira Ordem

Nessa topologia, o ganho é fixo e calculado pela Equação 2.

$$\text{Ganho} = 1 + \frac{R_2}{R_3} \quad (\text{Equação 2})$$

3.5.2 Filtro Passa-Baixas

O filtro passa-baixas está localizado logo após a saída do amplificador operacional. Ele tem a tarefa de eliminar potenciais com frequências indesejadas (ruído) atuando também como um filtro *anti-aliasing* (limitador de largura de banda), evitando o efeito de *aliasing*. A frequência de corte (-3dB) desse filtro é de 200 Hz. Isso se deve ao fato de a taxa de amostragem do conversor AD ser de 500 amostras por segundo. Segundo Nyquist (1928), a frequência de amostragem deve ser pelo menos 2 vezes maior que a máxima frequência do sinal obtida, evitando o *aliasing*. A Figura 13 apresenta a topologia do filtro passivo passa-baixas de primeira ordem, com frequência de corte em 200 Hz.

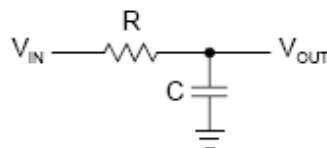


Figura 13 Filtro Passa-Baixas de Primeira Ordem

A resposta em frequência dos filtros passa-altas e passa-baixas obtidas em simulação no *software* PSPICE versão 9.0 (versão estudantil – *freeware*), podem ser

observadas nas Figuras 14 e 16. Devido às aproximações dos valores calculados dos resistores e capacitores em relação aos comercialmente disponíveis, uma pequena variação no resultado pode ser encontrada. Os gráficos dos atrasos de fase provocados pelos filtros passa-altas e passa-baixas podem ser encontrados nas Figuras 15 e 17.

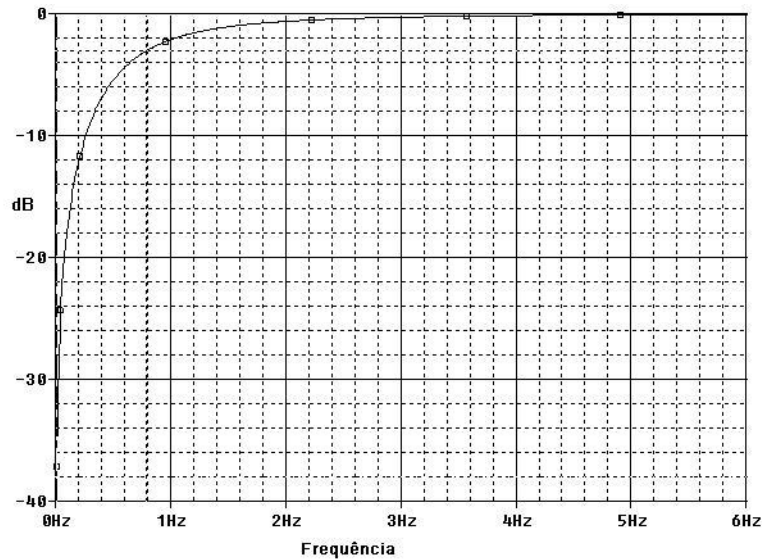


Figura 14 - Resposta em frequência do filtro passa-altas

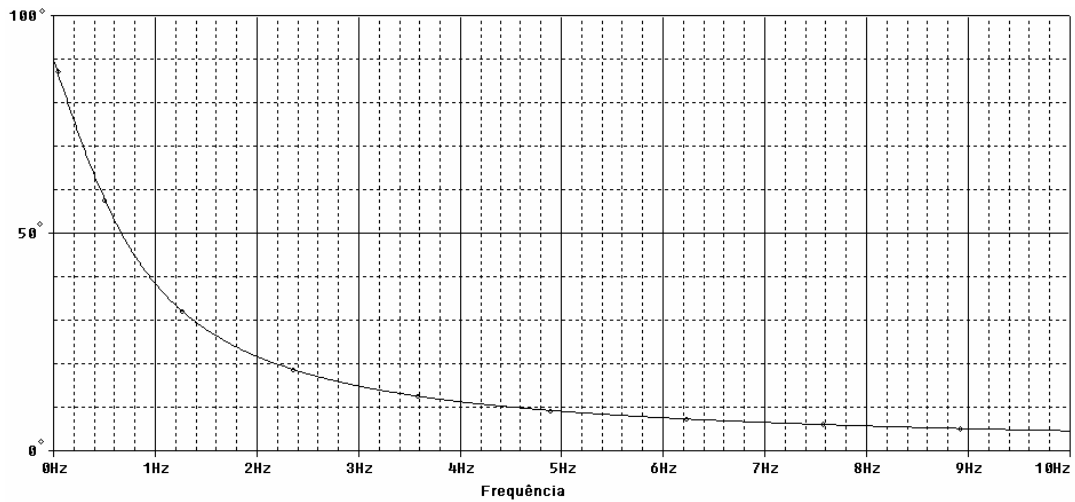


Figura 15 - Atraso de fase do filtro passa-altas

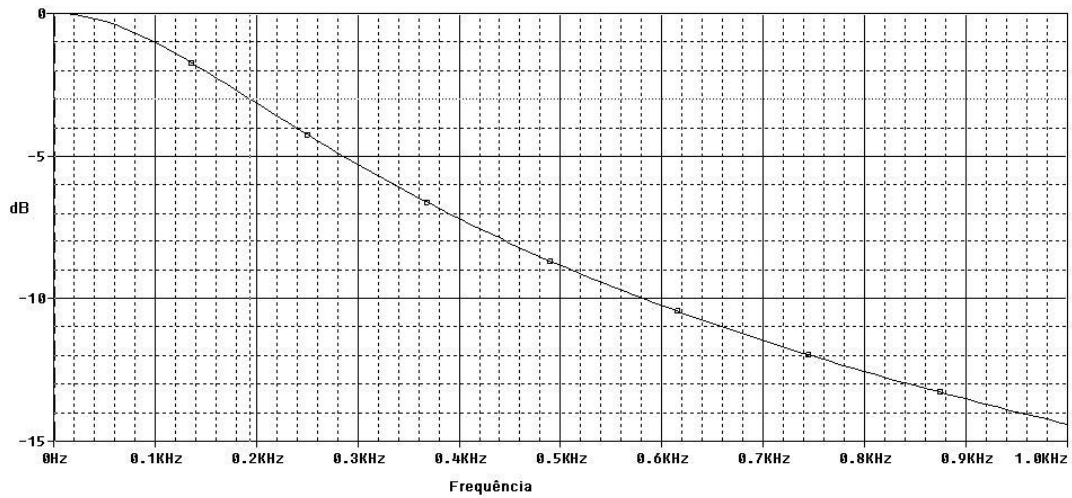


Figura 16 - Resposta em freqüência do filtro passa-baixas

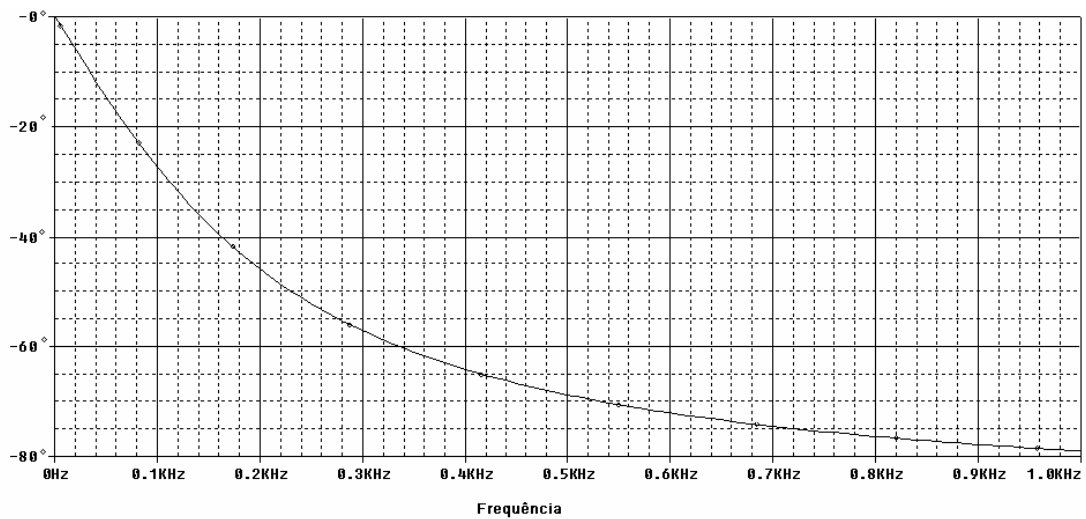


Figura 17 - Atraso de fase do filtro passa-baixas

3.6 Circuito de condicionamento de sinal

A Figura 18 apresenta o esquema elétrico dos circuitos de condicionamento do sinal bioelétrico, sendo composto pelo amplificador de instrumentação AD620 com ganho ajustado entre 2 e 100, através do potenciômetro digital AD5204. O sinal desbalanceado que sai do amplificador de instrumentação passa pelo filtro passa-altas e sofre um deslocamento de +1,25 V. A próxima etapa é o ganho fixo de valor 500

aplicado pelo amplificador operacional TLC2254. Já estando o sinal na faixa permitida pelo conversor AD, um filtro passa-baixas é então aplicado e o sinal está pronto para ser digitalizado. O modelo de aquisição dos três canais é idêntico.

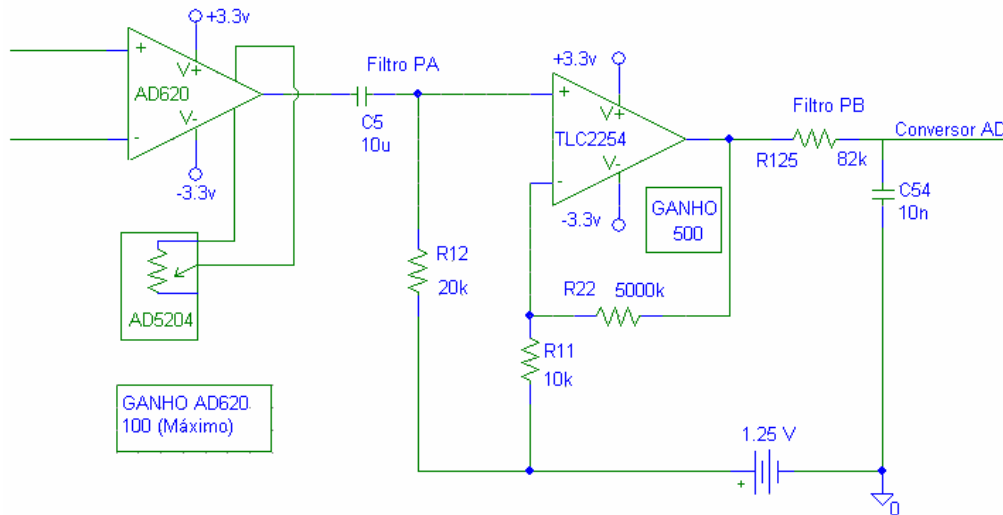


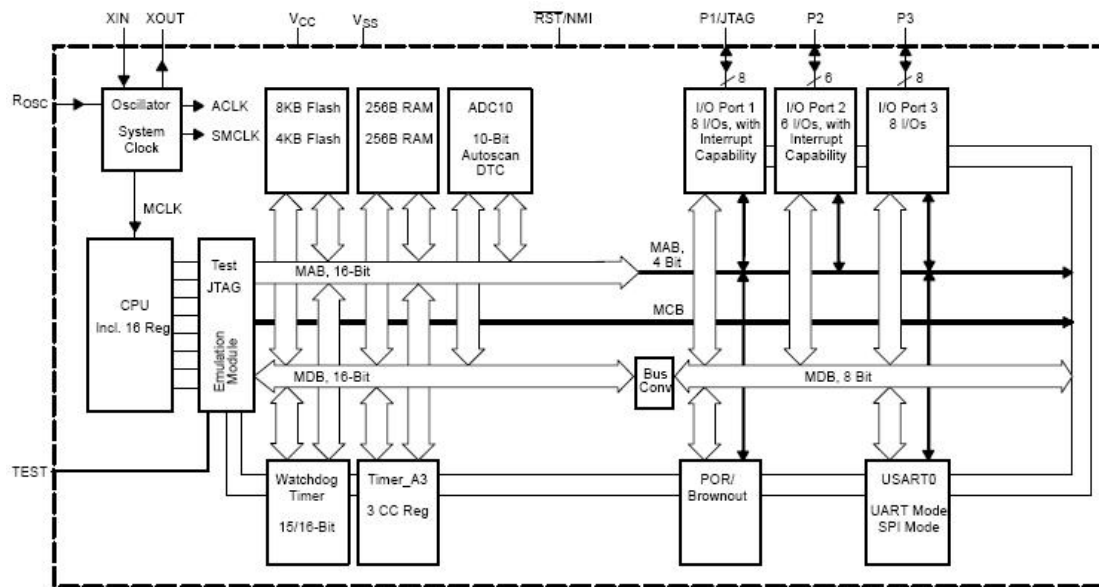
Figura 18 - Esquema elétrico do circuito de condicionamento de sinais bioelétricos. Estágios de amplificação e filtragem dos sinais.

3.7 Módulo Microcontrolado

O microcontrolador da unidade remota, utilizado neste trabalho, foi o MSP430F1232 (Texas Instruments), pertencente à família de microcontroladores RISC de 16 bits MSP430. Essa escolha foi feita pelo fato de esse microcontrolador trabalhar em uma baixa faixa de alimentação (1,8 a 3,6 V), possuir 8 kB de memória *flash*, ter uma USART e um ADC (*Analog-to-Digital Converter*) incorporados, ser de baixo consumo (200 μ A no modo ativo e 4 modos de economia de energia) e, principalmente, ser disponibilizado no encapsulamento QFN-32 (*Quad Flatpack No-Lead*), que é o menor encontrado hoje no mercado.

A Figura 19 apresenta um diagrama em blocos geral para a família de microcontroladores MSP430 da Texas Instruments, destacando-se a memória interna para programa com 8 kbytes de memória flash, o conversor analógico-digital de 10 bits, as

portas de entrada/saída com capacidade de interrupção, a *interface* serial com modo UART ou SPI e o timer de 16 bits.

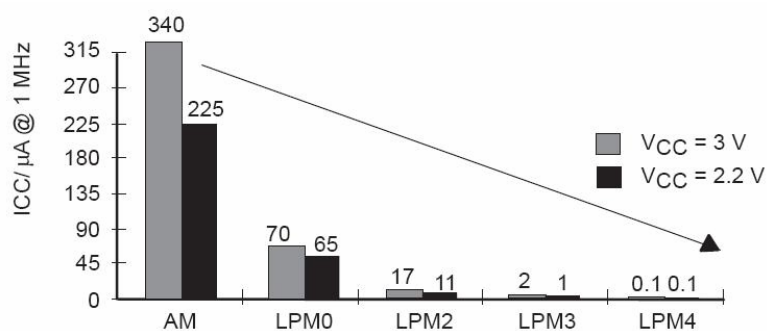


Fonte: Texas Instruments

Figura 19 - Diagrama Funcional MSP430F1232

3.8 Modos de economia de energia

O MSP430F1232 ainda possui quatro modos de economia de energia, que permitem “adormecê-lo”, mas não desligá-lo totalmente. São eles os modos LPM0, LPM2, LPM3 e LPM4, e seus respectivos consumos podem ser observados na Figura 20. Essa é uma importante característica do microcontrolador, considerando que o sistema implantado deverá permanecer “adormecido” por um tempo (dias) durante a recuperação cirúrgica, como será descrito mais à frente.



Fonte: Texas Instruments

Figura 20 - Modos de funcionamento e consumo do MSP430 trabalhando à 1MHz. Modo ativo (Active Mode – AM) e modos de economia de consumo LPM0, LPM2, LPM3 e LPM4

O microcontrolador possui incorporado a si quatro *clocks* que podem ser utilizados: o MCLK (*Main system Clock*) que é o *clock* principal, o ACLK (*Auxiliary Clock*) que é o *clock* auxiliar, o SMCLK (*Sub System Clock*) que é o *clock* secundário e o DCOCLK (*DC Oscillator clock*) que é o *clock* gerado internamente pelo microcontrolador. De acordo com o modo de economia de energia, a CPU e os *clocks* podem ser desligados, fazendo o microcontrolador trabalhar apenas em interrupções internas (geradas por ele próprio) ou externas. A Figura 21 traz os modos de consumo de energia do microcontrolador e seus respectivos efeitos.

Modo	Status CPU e Clocks					
Ativo	CPU	CLOCKS				Ativado
LPM0	CPU	MCLK	ACLK	SMCLK		Desativado
LPM1	CPU	MCLK	DC Osc.	SMCLK	ACLK	
LPM2	CPU	MCLK	DC Osc.	SMCLK	DC Generator	ACLK
LPM3	CPU	MCLK	DC Osc.	SMCLK	DC Generator	ACLK
LPM4	CPU	CLOCKS				

Figura 21 – Modos de economia de energia e seu estado provocado no microcontrolador

3.9 Conversor Analógico-Digital

O conversor A/D de 10 bits incorporado ao microcontrolador é responsável pela conversão do sinal analógico, recém adquirido pelo circuito analógico, para digital. A

freqüência de amostragem empregada foi de 500 amostras por segundo, como já mencionado. Esta taxa foi escolhida pelo fato de ser o maior valor que se poderia aplicar, haja vista que a taxa de transmissão do sinal é de 115 kbps, e que quatro canais são utilizados. Sendo então Vel_1bit a velocidade de transmissão de 1 bit, pode-se calcular:

$$Vel_1bit = \frac{1}{115200} = 8,68\mu s$$

Tendo em vista que 1 pacote possui 96 bits (como será visto posteriormente), e que a cada 8 bits (1 byte) 2 bits são adicionados (*start* e *stop* bits), tem-se o número total de bits por transmissão ($Total_bits$):

$$Total_bits = 96 + 24 = 120bits$$

Calculando-se o tempo total de transmissão, obtém-se tempo de transmissão do pacote (Vel_pac):

$$Vel_pac = 8,68[\mu s] \cdot 120[bits] = 1,04ms$$

Considerando a taxa de amostragem sendo de 500 sps, tem-se o intervalo de tempo para a transmissão de 1 pacote ($período_tx$):

$$período_tx = \frac{1}{500} = 2ms$$

Tendo realizado esse cálculo, pode-se então afirmar que o valor da freqüência de amostragem é o máximo aceitável, considerando que a taxa de transmissão de um pacote leva aproximadamente 1 ms e que o microcontrolador requer cerca de 1 ms para realizar as outras tarefas como aquisição do ADC, comunicação com o sensor de temperatura e potenciômetro digital, e seu próprio processamento.

Considerando este valor, a freqüência de corte do filtro passa-baixas foi reduzida para 200 Hz, como já foi mencionado.

A tensão de referência utilizada no conversor A/D é gerada pelo próprio microcontrolador, tendo sido selecionada em 2,5 V. Portanto, a resolução do conversor A/D (*resolução_AD*):

$$resolução_AD = \frac{V_{ref}}{2^{10}} = \frac{2,5}{1024} = 0,00244V \text{ ou } 2,44mV$$

Considerando o ganho máximo do circuito 50000, essa resolução corresponde, na amplitude do sinal original de interesse, a uma resolução de 48,8[nV].

3.10 Comunicação SPI

Como visto anteriormente, o microcontrolador possui periférico para estabelecer comunicação serial com outros circuitos integrados. A USART, quando configurada no modo SPI, torna-se uma poderosa ferramenta de comunicação para o microcontrolador, permitindo uma comunicação rápida e simples com outros circuitos que atendam a essa especificação.

No circuito desenvolvido, o microcontrolador utiliza essa ferramenta para se comunicar com o sensor de temperatura e com o potenciômetro digital. Para isso, apenas três fios são utilizados, sendo um para transmissão de dados (SIMO – *Slave in, Master out*), um para recepção de dados (SOMI – *Slave out, Master in*) e um para o *clock* (para o sincronismo da comunicação) como pode ser observado na Figura 22.

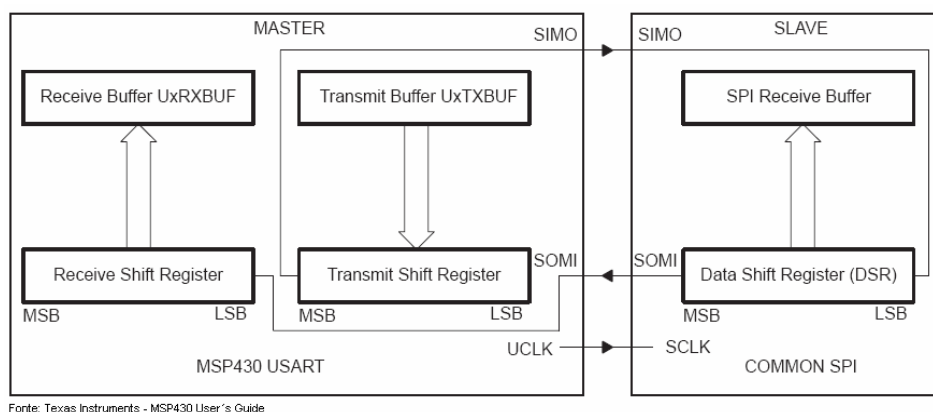
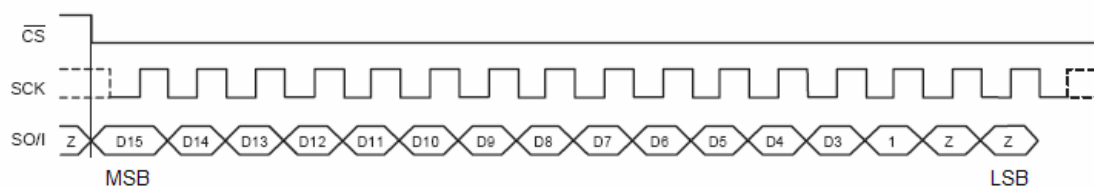


Figura 22 – Modelo de comunicação SPI entre dois dispositivos.

Apesar de usarem o mesmo protocolo de comunicação SPI, o potenciômetro digital e o sensor de temperatura apresentam uma forma um pouco diferente de se comunicar com o microcontrolador.

Para o sensor de temperatura, o microcontrolador, como mestre, faz uso das linhas de transmissão UCLK e SIMO do periférico USART para realizar a leitura da temperatura através do sensor TMP123. Nele, 16 bits são disponibilizados contendo o valor da temperatura adquirida.

A Figura 23 apresenta o procedimento de leitura da temperatura através do protocolo de comunicação SPI. Nele, o microcontrolador gera o sinal de *clock* SCK, fazendo com que o dispositivo selecionado (TMP123) disponibilize as informações no canal SO/I, iniciado pelo bit D15 (o mais significativo) e finalizado com o bit D3 (menos significativo). Os três bits finais (1, Z e Z) servem apenas para completar a palavra de dados de 16 bits, pois o protocolo SPI opera com múltiplos de 8 bits. O dado então é recebido pelo microcontrolador e montado no pacote de dados para ser transmitido.



Fonte: Texas Instruments

Figura 23 – Seqüência cronológica de funcionamento da leitura do sensor de temperatura TMP123 através da interface de comunicação SPI. Ativando o TMP123 (*Chip Select* – CS em nível lógico baixo) os bits de dados (como o valor da temperatura) são sincronizados com os pulsos de *clock* (SCK) e transmitidos ao microcontrolador através da linha de comunicação SO/I (*System Output/Input*)

Com o potenciômetro digital, a comunicação funciona de forma um pouco diferente. Neste caso, o microcontrolador (mestre) envia dados ao potenciômetro digital contendo a identificação do potenciômetro (existem quatro) e o novo valor da resistência.

A Figura 24 apresenta o comando de escrita para o potenciômetro digital AD5204. Nessa situação, o microcontrolador envia o sinal de *clock* (CLK) e os dados (comando de escrita) para o potenciômetro digital. Os bits A2, A1 e A0 efetivam o endereçamento de qual potenciômetro terá seu valor alterado. Os bits D7 a D0 indicam qual o novo valor que o potenciômetro irá assumir.

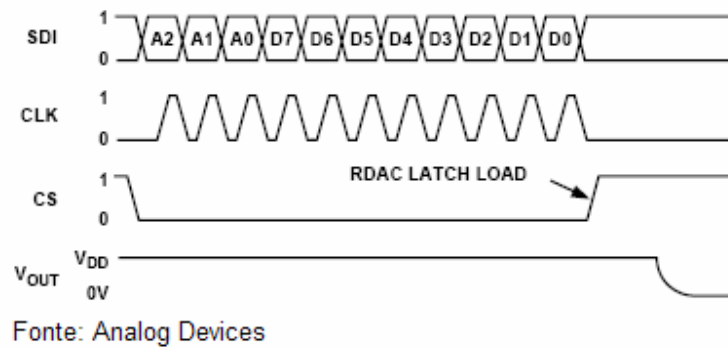


Figura 24 – Seqüência cronológica de do funcionamento da comunicação entre o potenciômetro digital AD5204 e o microcontrolador. Alimentando-se o AD5204 (Vdd) e atando-o (CS em nível lógico baixo) os bits de dados (com o valor da nova resistência) são sincronizados com os pulsos de *clock* (CLK) e transmitidos ao AD504 através da linha de comunicação SDI (*System Data Input*)

Na família AD5204, existem modelos com três valores de resistências diferentes: 10 k Ω , 50 k Ω e 100 k Ω . No protótipo implementado, foi utilizado o modelo de 100 k Ω , visando abranger uma maior faixa de valores. No Anexo I, encontra-se uma tabela contendo a relação entre os valores decimais aplicados ao potenciômetro e suas respectivas resistências.

A leitura da temperatura ocorre uma vez a cada segundo. Isto se deve ao tempo de aquisição e conversão do sinal lido ser relativamente longo (320ms) e também, por não requerer uma alta taxa de amostragem, tendo em vista que a temperatura corporal do animal não varia de forma rápida. O potenciômetro digital é manipulado ocasionalmente, através de botões disponibilizados na interface do software (desenvolvido por LEITE, 2006), de acordo com a necessidade do pesquisador.

3.11 Fonte de Alimentação da Unidade Remota

Para regular a tensão de alimentação do circuito, dois circuitos integrados foram utilizados. O regulador de tensão TPS60202 e o inversor de tensão TPS60401, ambos da Texas Instruments.

O primeiro é responsável por gerar a tensão positiva, alimentando o circuito com +3,3 V. O segundo é responsável pela alimentação negativa, gerando -3,3 V. Ambos foram escolhidos para este projeto por apresentarem um baixo consumo (35 μ A e 65 μ A, respectivamente) e por serem disponibilizados no encapsulamento MSOP-10 e SOT23-5, respectivamente. A partir da tensão aplicada na entrada (1,8 a 3,6 V), o TPS60202 fornece uma tensão em sua saída de 3,3 V e uma corrente de até 100 mA. É um módulo fundamental para o sistema, considerando que a alimentação deste é feita por baterias que, com certo tempo de uso, terão sua tensão reduzida, podendo comprometer o funcionamento de todo o sistema.

A Figura 25 apresenta um diagrama da alimentação do sistema utilizando o TPS60202 e o TPS60401.

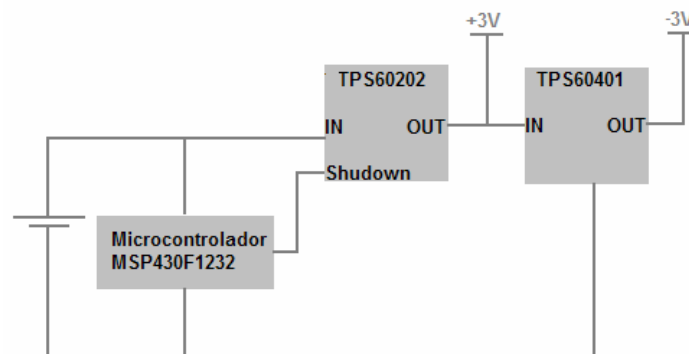


Figura 25 - Diagrama de alimentação do sistema

Uma outra importante vantagem encontrada, e muito importante para o melhor funcionamento do sistema, é o fato do TPS60202 possuir a opção de *shutdown*, desligando todo o circuito analógico e consumindo apenas 0,05 μ A. Esse fato se apresenta indispensável para o circuito, pois permite o desligamento total da placa, e

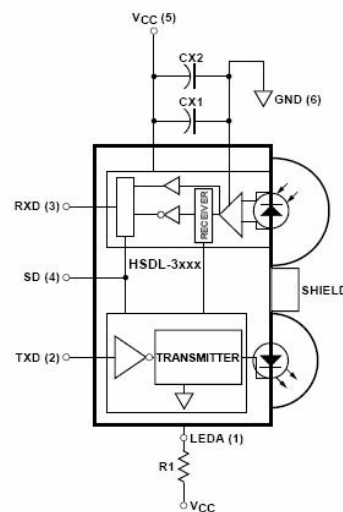
conseqüentemente, economia de energia, em períodos em que essa não estiver em uso, como em pós-operatórios ou, simplesmente, períodos de desinteresse.

3.12 Interface JTAG

Para programar o microcontrolador, foi utilizada a *interface JTAG* (Joint Test Action Group – IEEE 1149.1) que é incorporada ao MSP430F1232. A *interface JTAG* é utilizada para o acesso e programação da memória *flash* do microcontrolador. A conexão utiliza apenas 5 fios entre a porta paralela do computador e o microcontrolador (JTAG Technologies).

3.13 Transmissão Infravermelha

A transmissão do pacote de dados é realizada através do transceptor infravermelho HSDL 3000#007 (AGILENT Technologies) que, por sua vez, funciona de acordo com o protocolo de comunicação IrDA *Physical Layer Specifications 1.3 (IrDA Standards, 1998)*. A Figura 26 apresenta um diagrama funcional do HSDL3000.



Fonte: Texas Instruments

Figura 26 - Diagrama funcional do HSDL3000.

A escolha desse componente deve-se ao seu encapsulamento com dimensões bastante reduzidas (2,70 x 9,10 x 3,65 mm), pelo seu alcance satisfatório (distância típica de 1,5 m) e pelo seu baixo consumo.

A transmissão é realizada por uma seqüência de pulsos cujo comprimento das ondas pertencente a faixa de 850 a 900 nm (Texas Instruments, DATASHEET, HSDL-3000).

Fisicamente, o foco de transmissão do transceptor infravermelho está relacionado ao diagrama de irradiação, o qual possui um ângulo de irradiação máximo de 60° na transmissão e de 30° na recepção. Fora desses limites, fica impossível a comunicação. As Figuras 27 e 28 ilustram os diagramas de irradiação e recepção dos raios infravermelhos pelos transceptores e seus ângulos limites.

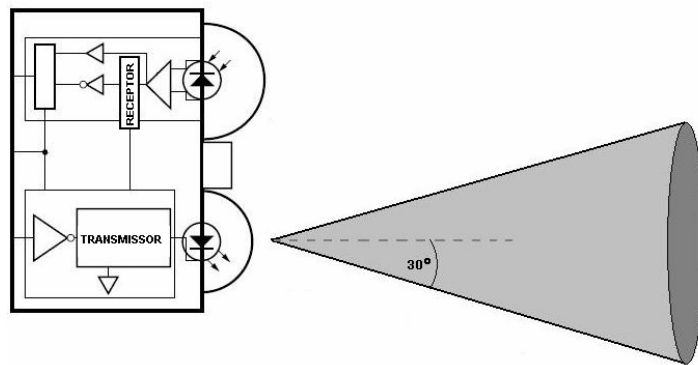


Figura 27 - Ângulo de transmissão dos raios infravermelhos

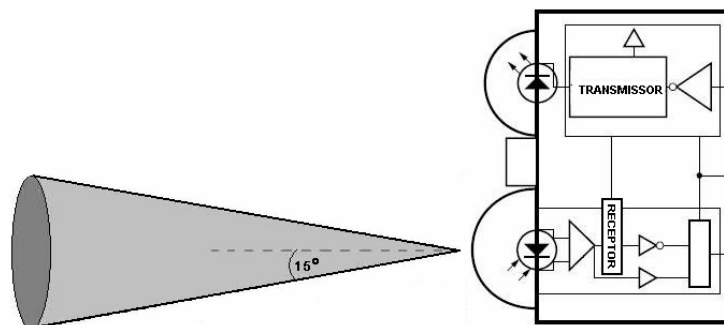


Figura 28 - Ângulo de recepção de raios infravermelhos

Considerando que o local para o experimento animal (arena de registro) possui dimensões aproximadas de 50 x 30 x 40 cm (comprimento, largura e altura, respectivamente), testes empíricos foram realizados com o intuito de se avaliar o alcance e cobertura necessários para que nenhuma região do local fique sem sinal.

A partir destes testes, optou-se por utilizar, para a recepção da unidade base, 4 transceptores infra-vermelho, visando aumentar a região de recepção e abranger todo o local do experimento. A Figura 29 ilustra a disposição dos transceptores na arena de registro.

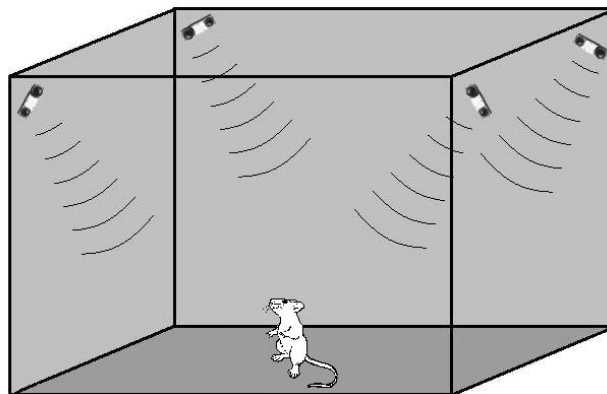


Figura 29 - Localização dos transceptores na arena de registro

A comunicação IrDA é realizada através de um protocolo próprio de comunicação (*IrDA Standards*). Esse protocolo é constituído de três camadas básicas: IrPHY, IrLAP, e IrLMP. Juntas, essas camadas são responsáveis por toda a comunicação entre os transceptores, desde a forma como os bits são transmitidos e seu tempo, até a verificação de erros, confirmação de entrega de pacotes, endereçamento de pacotes (para o caso de comunicação entre 3 ou mais equipamentos), e outros (SHARP, Optoelectronic Devices Application, 2005). Para este trabalho, apenas a camada IrPHY que é a camada física foi implementada. Isso devido a necessidade de uma alta velocidade de comunicação, por se tratar de um sistema de trabalho em tempo real, e pelo propósito de se usar apenas um circuito implantado por vez, não necessitando endereçamento dos pacotes transmitidos.

Para a comunicação IrDA, no protocolo físico IrPHY, os pulsos de transmissão foram reduzidos para 3/16 do período de 1 bit, sendo esse variável de acordo com a velocidade de transmissão desejada. Se um dado transmitido é um lógico 0, então luz infravermelha (850 a 900 nm) é irradiada por um período de 3/16 de 1 bit. Se o dado transmitido é um lógico 1, então nada é irradiado. Assim, o consumo de energia é reduzido. A Figura 30 ilustra as formas de ondas dos sinais de transmissão e recepção especificados pela IrDA. A forma de onda 1 representa o sinal original a ser transmitido com a seqüência binária 0101. A forma de onda 2 é a modulação 3T/16 de um bit do sinal original. A forma de onda 3 representa a tradução de um nível lógico alto em emissão de fótons infravermelho. A forma de onda 4 representa a resposta do tranceptor infravermelho a um pulso de luz. A forma de onda 5 representa a demodulação feita na forma de onda 4. Dessa forma, o receptor infravermelho envia para o microcontrolador a seqüência de bits decodificada (0101).

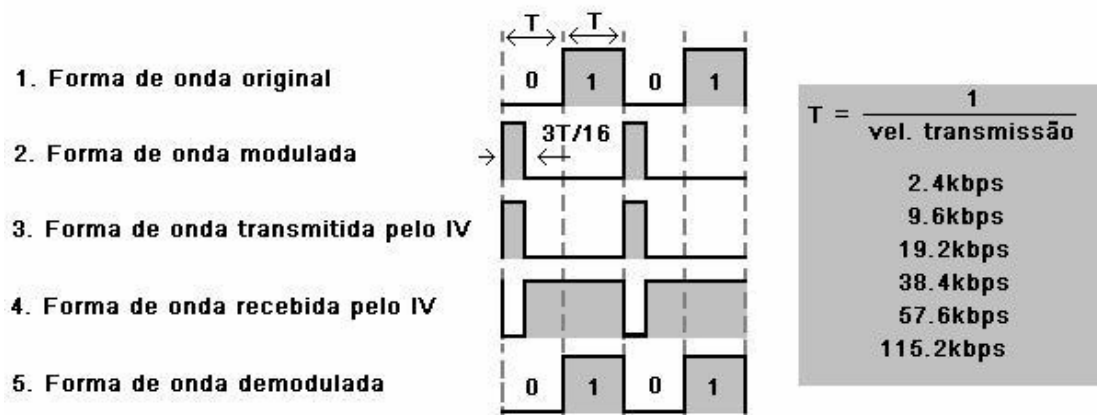


Figura 30 - Técnica de modulação e demodulação do sinal no padrão IrDA.

O uso desse modo de transmissão é responsável por uma redução de 81% no consumo de energia, se comparado aos modos convencionais (Dallas Semiconductor - MAX3100).

Uma outra recomendação IrDA, é o acréscimo de um *delay* entre as transmissões de dados pelos microcontroladores. Quando o LED emissor de um tranceptor infravermelho está transmitindo, o seu LED receptor também recebe os sinais da sua

própria transmissão, que deverão ser desprezados. Tendo isso em vista, um tempo T.A.T (*Turn Around Time*) deve ser inserido entre as transmissões dos dois LED emissores dos transceptores em comunicação, visando evitar perdas de informação. Esse tempo não deve ser inferior a 30 μ s (IrDA v. 1.3).

Considerando todas essas características, pode-se afirmar que esse sistema de transmissão é o mais apropriado para comunicação entre terminais móveis que requerem baixo consumo e grande miniaturização (SHARP, Optoelectronic Devices Application, 2005).

Na unidade remota, a comunicação entre o microcontrolador e o transceptor infravermelho foi realizada totalmente via software, observando as regras e formas impostas pelo protocolo IrDA v.1.3 mencionadas anteriormente, devido a necessidade de se diminuir o consumo total de energia e reduzir ao máximo o volume da unidade.

3.14 Unidade Base

A unidade base é responsável pela recepção dos dados transmitidos pela unidade remota, sua interpretação e verificação, aquisição da temperatura ambiente, encapsulamento dos dados em um novo pacote e envio desse pacote para o computador. Sua principal função é fazer a transmissão dos dados recebidos da unidade remota para o computador. O microcontrolador MSP430F149 (Texas Instruments) com *clock* a 8 MHz foi utilizado. A escolha deveu-se ao fato desse microcontrolador ser da mesma família do microcontrolador da unidade remota, possuindo os mesmos periféricos e mesma arquitetura de desenvolvimento, além de possuir 60 kB de memória *flash*, dois *timers* e duas USARTs, lembrando que na unidade base não existem restrições de tamanho e consumo. As Figuras 31 e 32 apresentam um diagrama geral da unidade base e um diagrama funcional do MSP430F149, respectivamente.

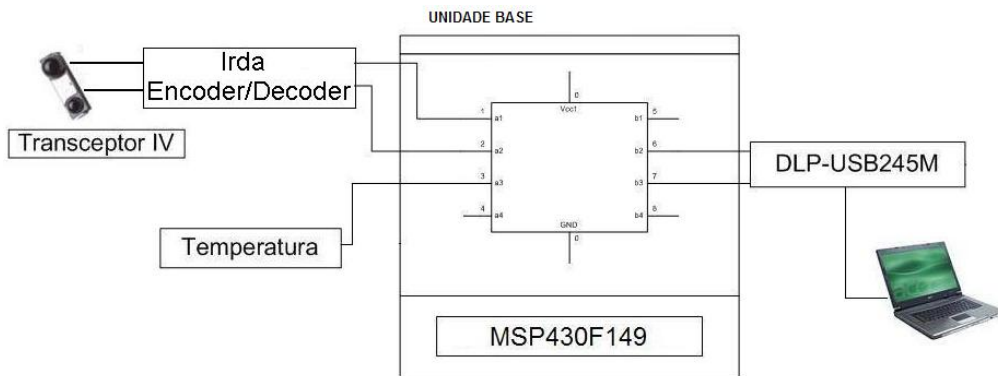


Figura 31 - Diagrama geral da unidade base. O sinal recebido pelo transceptor infravermelho é decodificado, adquirido e retransmitido ao computador

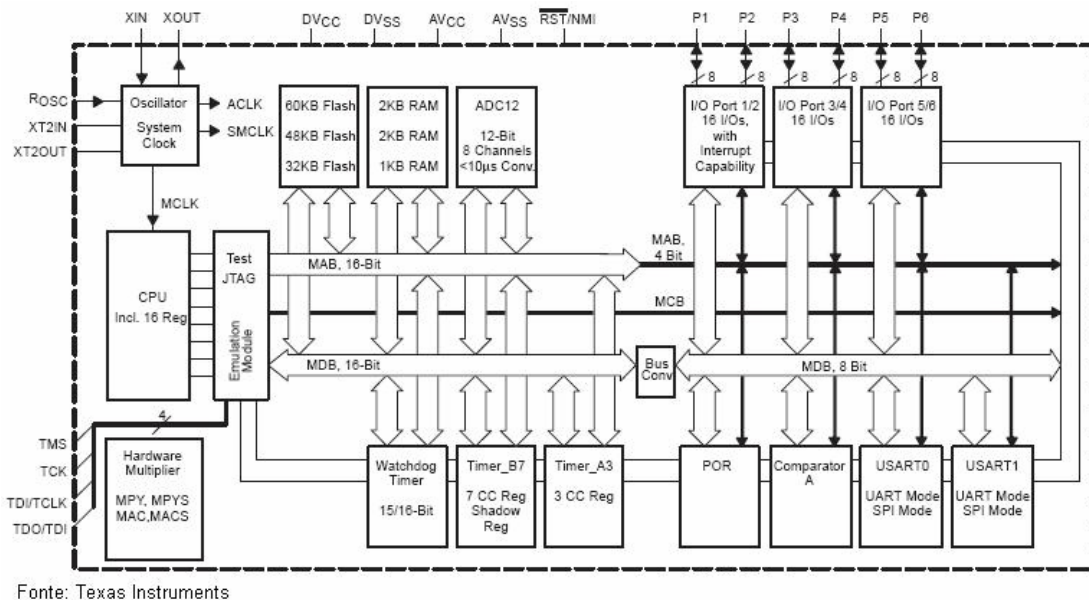


Figura 32 - Diagrama funcional do MSP430F149

Para realizar a *interface* entre o microcontrolador e o transceptor infravermelho, foi utilizado o codificador/decodificador TIR1000 (Texas Instruments). Esse tem por finalidade converter o protocolo de comunicação UART em IrDA, fazendo a *interface* de dados entre o microcontrolador e o transceptor infravermelho. Para isso, basta conectar diretamente a saída e entrada da UART do microcontrolador com os seus respectivos terminais no TIR1000. E da mesma maneira procede a conexão TIR1000-HSDL3000. Para se definir a velocidade de codificação/decodificação utilizada pelo TIR1000, basta

lhe suprir um *clock* em uma frequência 16 vezes maior que a velocidade de transmissão. Foi adicionado então um *clock* na frequência de 2MHz, realizando uma codificação/decodificação de dados a uma velocidade de 125 kbps. A Figura 33 ilustra as conexões entre microcontrolador MSP430F149, o codificador/decodificador TIR1000 e o transceptor infravermelho HSDL-3000.

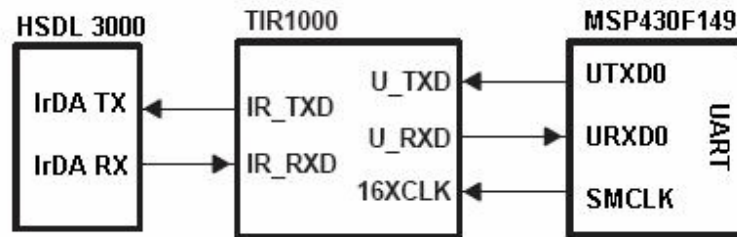


Figura 33 - Conexão entre o TIR1000 e os objetos de codificação/decodificação HSDL-3000 e MSP430F149

3.15 DLP-USB245M

O módulo utilizado para realizar a *interface* entre o microcontrolador e o computador é o DLP-245BM (DLP Design – USA), que contém todo o *hardware* e o *firmware* necessário à comunicação USB. Toda camada que envolve o protocolo USB, propriamente dito, está implementada no *firmware* do dispositivo FTD245BM que é o controlador do módulo. São fornecidos todos os *drivers* de comunicação para instalação no computador, para desenvolvimento em ambiente C++ *Builder* (Borland) ou *Visual C++* (Microsoft) bem como documentação detalhada.

Segue algumas de suas características:

- Velocidade de envio e recebimento de dados, de 1 MBps;
- Gerenciamento do protocolo de comunicação USB no próprio módulo;
- Pode fornecer 3.3 Volts, ou 5 Volts para alimentar outros circuitos adicionais;
- Compatível com os padrões USB 1.1 e USB 2.0;

- 384 bytes reservados em buffer FIFO (*First In First Out*) para transmissão;
- 128 bytes reservados em FIFO (*First In First Out*) para recepção;
- Montado em soquete de 24 pinos, facilitando sua integração com outros circuitos discretos.

A Figura 34 apresenta o módulo de desenvolvimento DLP-USB245BM.

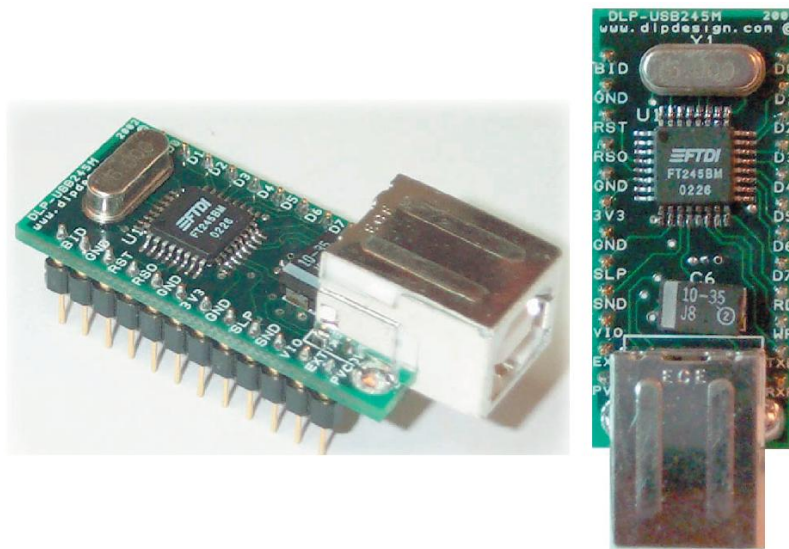


Figura 34 - Módulo de desenvolvimento DLP-USB245BM

3.16 Software para programação dos microcontroladores

Para a implementação do *firmware* dos microcontroladores da unidade remota e da unidade base, foi utilizado o *software* IAR C/C++ Compiler for MSP430 versão 3.30A / W32 - Kickstart (IAR Systems, 2002-2005, *freeware*).

3.17 Protocolo de comunicação Unidade Remota – Unidade Base

Para a realização da comunicação entre a unidade remota e a unidade base, um protocolo de comunicação foi desenvolvido, buscando atender a demanda de informações necessárias a serem transmitidas, com velocidade e qualidade de transmissão.

Os sinais adquiridos são encapsulados em um pacote (*frame*), que é transmitido a cada 2 ms. Este pacote, além de conter dados dos quatro canais de aquisição, contém um código inicializador, um número seqüencial, um verificador de integridade do pacote (*Checksum*) e um código finalizador.

A estrutura do protocolo pode ser separada em campos e é identificada a seguir:

Inicialização:

Para a inicialização do pacote, um byte é dedicado de forma a sincronizar a transmissão do pacote com sua recepção. A esse byte foi atribuído o valor 55h.

Número Seqüencial:

Dois bytes do pacote são dedicados à sua numeração. Isso se deve a organização do pacote, de forma a ordenar a sua recepção. Esse campo é muito importante para o protocolo de comunicação. Através dele, o *software* presente no computador tem controle da transmissão e pode descobrir se algum pacote foi perdido durante ela. Sem esse campo, caso ocorra alguma perda de pacotes durante a comunicação infravermelha ou durante a comunicação USB, o computador terá o conhecimento de quantos pacotes foram perdidos e por quanto tempo, disponibilizando essa informação na tela.

Esse campo tem dois bytes para numerar os pacotes, variando, portanto, de 0 a 65535. Assim, considerando que um pacote é transmitido a cada 2 ms, teremos uma cobertura de aproximadamente 131 segundos sem que nenhum número se repita, aumentando a confiança da transmissão.

Canais de Aquisição:

Os próximos oito bytes são dedicados aos dados dos canais de aquisição dos sinais bioelétricos. Quatro canais dividem esses bytes e são compostos pelos valores dos sinais convertidos pelo conversor AD e lido pelo sensor de temperatura.

Verificador de Integridade:

Este campo é responsável pela verificação da integridade do pacote. Isto é necessário para se diagnosticar qualquer falha na transmissão que possa vir a ocorrer, como por exemplo, uma inversão de bits devido à interferência no *link* de comunicação ou mesmo uma perda momentânea do sinal. Esse verificador é formado por uma soma byte a byte, que é realizada com o número seqüencial e os canais adquiridos. Para ele são dedicados dois bytes do pacote.

Finalização:

Este último byte é responsável pela finalização do pacote. Seu valor atribuído foi 5Ah e tem a finalidade de encerrar a transmissão.

O pacote (*frame*) pode ser visualizado na Figura 35:

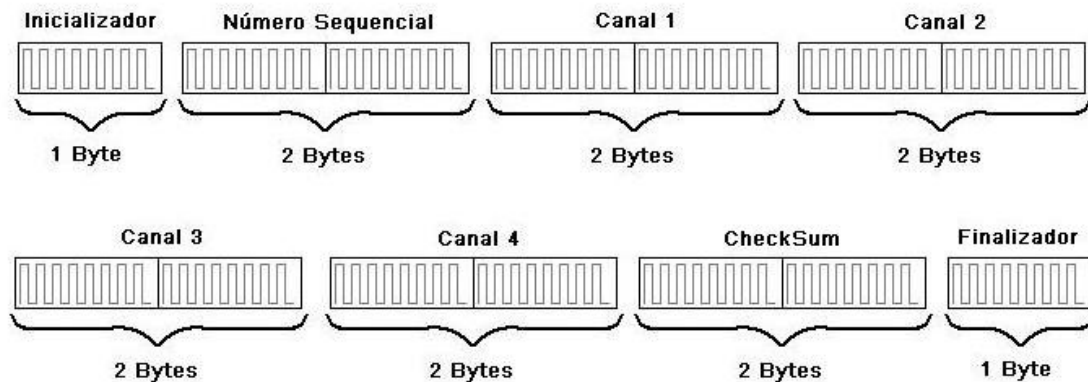


Figura 35 - Pacote contendo os dados coletados pela unidade remota.

Quando se faz necessário alterar o valor interno das resistências do potenciômetro digital, a unidade base, após receber o pedido composto por 1 byte de alteração realizado pelo software presente no computador, o envia para a unidade remota. Ao receber o pedido, a unidade remota identifica no byte recebido qual das 3 resistências presentes no potenciômetro deve ser alterada e se essa alteração deve ser um incremento seu valor atual, resultando em uma redução no ganho do sistema, ou um decremento, resultando em um aumento do mesmo. Esse byte pode ser definido conforme a Tabela 2:

Tabela 2 - Relação entre código e ação a ser tomada pelo microcontrolador

Valor do Byte	Interpretação
0x01h	Decrementa Resistência 1
0x02h	Decrementa Resistência 2
0x03h	Decrementa Resistência 3
0xF1h	Incrementa Resistência 1
0xF2h	Incrementa Resistência 2
0xF3h	Incrementa Resistência 3
0xAAh	Desativa o sistema (modo economia energia)

Quando se deseja também desligar o sistema, ao receber essa solicitação, a unidade base envia 1 byte para a unidade remota contendo o valor 0xAAh. Essa, ao receber e identificar esse byte, coloca o sistema em modo de economia de energia, desligando a sua CPU e seus *clocks*.

3.18 Protocolo de comunicação Unidade Base – Computador

A comunicação entre a unidade base e o computador é semelhante à comunicação entre a unidade base e a unidade remota. Após receber o pacote de dados enviado pela unidade remota, a unidade base abre-o e confere a sua validade analisando o campo de *checksum*. Após validado o pacote, a unidade base remonta-o, adiciona o valor da temperatura ambiente lido e envia-o ao computador através da *interface* USB, constituída pelo módulo DLP-USB245M. Caso receba algum comando do software presente no computador, ele é verificado e retransmitido para a unidade base. Caso o valor do byte recebido seja 0x77h, a unidade base possui um LED que prontamente é aceso e começa a piscar intermitentemente em intervalos de 5 segundos. Esse LED funciona como sincronismo para o software contido no computador, para auxiliar no sincronismo entre o registro em vídeo, realizado pelo Etógrafo, e o registro eletrofisiológico, realizado pelo Fisiógrafo.

3.19 Firmware da Unidade Remota

A Figura 36 apresenta um diagrama em forma de máquina de estados do funcionamento do *firmware* desenvolvido para o microcontrolador da unidade remota.

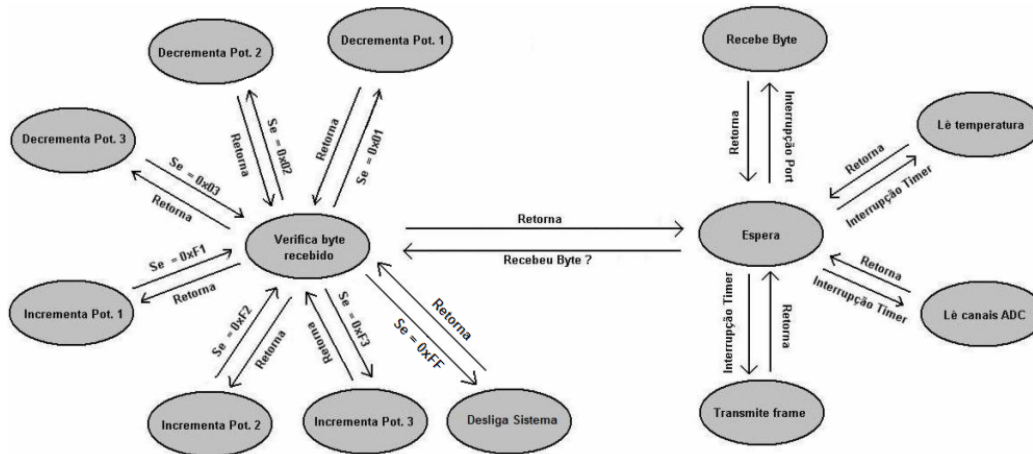


Figura 36 - Diagrama em forma de máquina de estados do firmware implementado na unidade remota

3.20 Firmware da Unidade Base

A Figura 37 apresenta um diagrama em forma de máquina de estados do funcionamento do *firmware* desenvolvido para o microcontrolador da unidade base.

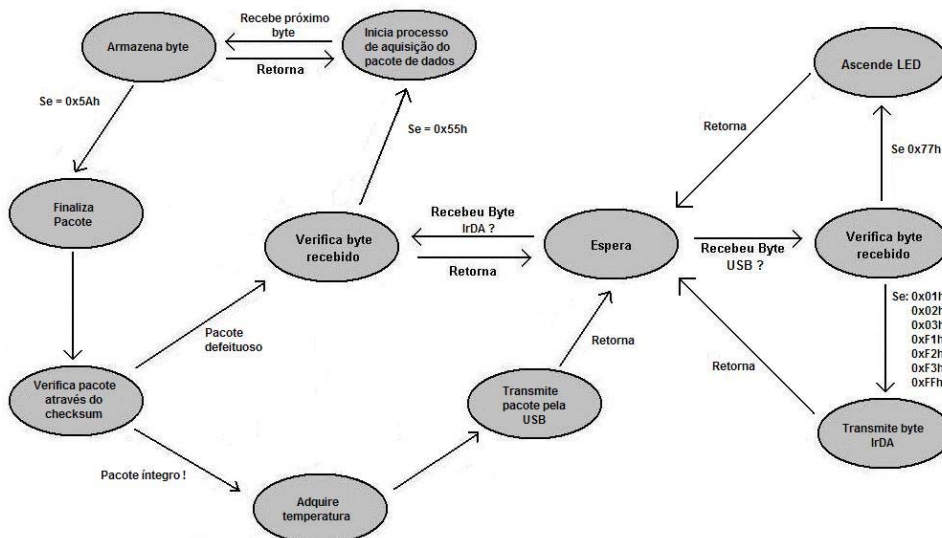


Figura 37 - Diagrama em forma de máquina de estados do firmware implementado na unidade base

3.21 Comitê de Ética

O desenvolvimento deste trabalho e o uso de animais em testes e experimentos foi aprovado pelo Comitê de Ética do Uso de Animais da UFSC (CEUA), de acordo com o protocolo PP00005 de título: EtoFisiógrafo, um sistema telemétrico digital para registro e análise de variáveis fisiológicas e comportamentais sincronizadas, no dia 9/11/2005, tendo a validade de dois anos, a contar da data de aprovação.

4 Resultados e Discussão

Testes foram realizados visando examinar e aperfeiçoar a funcionalidade do sistema desenvolvido. Desde testes relativos a parte analógica do sistema, como a frequência de corte e a ordem dos filtros, a faixa de ganho necessária para os sinais eletrofisiológicos desejados, o formato e composição de eletrodos e o consumo total, como testes relativos à parte digital, tais como velocidade e alcance do sinal infravermelho e seu posicionamento, desativamento do circuito e sua reativação, testes de consumo e demais testes de funcionalidade.

Para o desenvolvimento dos canais de aquisição dos sinais fisiológicos, primeiro foram realizados testes em ratos (2 machos Wistar, entre 250 e 300 g). Nesses testes, o animal experimentado foi preparado seguindo todas as normas e recomendações exigidas pela CEUA e seu procedimento completo é ainda explicado neste capítulo. Depois de sedado, os eletrodos foram introduzidos subcutaneamente ao animal, sendo posicionados de acordo com a derivação I proposta por Einthoven (1912), para a aquisição do sinal de ECG (partindo do princípio que a forma de aquisição dos demais sinais – EEG e EMG – são semelhantes à forma de aquisição do sinal de ECG, optou-se por iniciar os testes com este). Os eletrodos foram então conectados à entrada do amplificador de instrumentação. A saída foi então amostrada através de um osciloscópio digital (THS 720 – Tektronix – USA). Foram então observados os seguintes resultados (Figura 38):

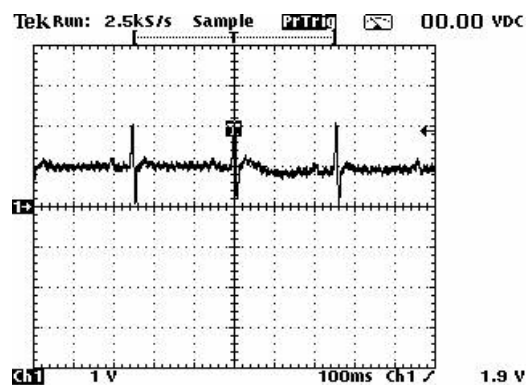


Figura 38 - Sinal adquirido pelo AD620 em teste com rato

O ganho aplicado no amplificador de instrumentação foi de 100. Mais uma etapa de ganho 10 foi aplicada através de um amplificador operacional, totalizando um ganho 1000. Pode-se considerar então, que o sinal adquirido tenha a amplitude de 2 mV de pico na entrada do amplificador. Entende-se esse valor alto devido o fato de o sinal ser coletado subcutaneamente. Para se eliminar a tensão de *off-set* provocada pela tensão de modo comum, um filtro passa-altas foi acoplado à saída do amplificador de instrumentação. Buscando respeitar os limites da faixa de aquisição do conversor AD, uma referência de tensão de 1,25 V se mostrou necessária para se elevar a linha de base do sinal e impedir que tensões negativas pertencente ao sinal chegassem a entrada do conversor.

A escolha de se colocar o ganho variável no primeiro estágio do ganho do sinal, ou seja, no amplificador de instrumentação, se deu pelo fato de o AD620 possuir um baixo valor de ruído na entrada, em relação ao TLC2254 utilizado no segundo estágio do ganho, o que levou a conclusão de que quanto maior o ganho aplicado no amplificador de instrumentação, melhor será a qualidade do sinal lido em relação ao ruído existente. Não foi observada a saturação do sinal (devido aos altos ganhos aplicados e ao potencial de meia-célula existente) nos testes realizados, como se pôde comprovar nas imagens obtidas através de um osciloscópio na Figura 39.

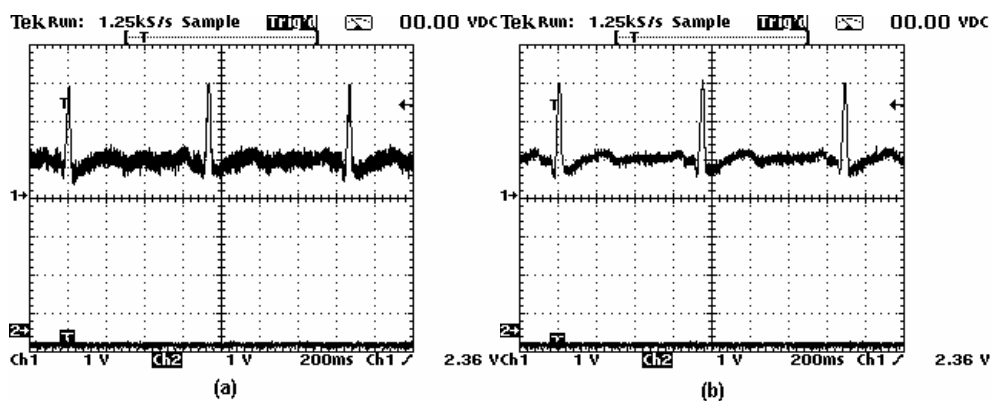


Figura 39 - (a) Sinal de ECG adquirido pelo Fisiógrafo com a maior parcela do ganho setado no amplificador operacional (ganho fixo) e ganho menor no amplificador de instrumentação. (b) Sinal de ECG adquirido pelo Fisiógrafo com a maior parcela do ganho configurado no amplificador de instrumentação (ganho variável) e ganho menor no amplificador operacional

4.1 Filtros

Para o condicionamento do sinal, filtros de primeira ordem foram utilizados (um passa-baixas e um passa-altas). A atenuação provocada por esses filtros na banda de rejeição do sinal é de 20 dB/década. Para o tratamento ideal do sinal adquirido, seria necessário o uso de um filtro maior, como um filtro de oitava ordem, para se obter uma curva de atenuação mais íngreme e conseqüentemente, melhor filtragem do sinal interferente. Porém, devido às limitações de espaço e consumo, impostas pelo objetivo de se construir um sistema com dimensões reduzidas, fez-se necessário o uso de um filtro de primeira ordem. Para se tentar evitar o *aliasing*, optou-se reduzir a frequência de corte do filtro passa-baixas para 200 Hz (250 Hz anteriormente devido à frequência de Nyquist) para se obter maior margem de segurança.

4.2 Circuito Impresso

Para o desenvolvimento do protótipo do circuito telemétrico, um circuito impresso foi projetado e então, construído. Todo o circuito de aquisição de dados e a *interface* USB foram distribuídos na mesma placa de fibra de vidro, só que em regiões separadas para serem destacadas uma da outra. Visando evitar a interação entre os circuitos analógicos que compõe os amplificadores dos canais de aquisição de sinais com os circuitos digitais (microcontrolador, sensor de temperatura e potenciômetro digital), os mesmos foram separados em setores com único ponto de aterramento. Uma coluna de furos metalizados foi disponibilizada para a conexão dos eletrodos para a aquisição de sinais, uma segunda para a conexão com as baterias, uma terceira para a conexão com o sensor de temperatura e uma quarta para a conexão com o circuito contendo o transceptor infravermelho. A Figura 40 apresenta o circuito impresso já montado.

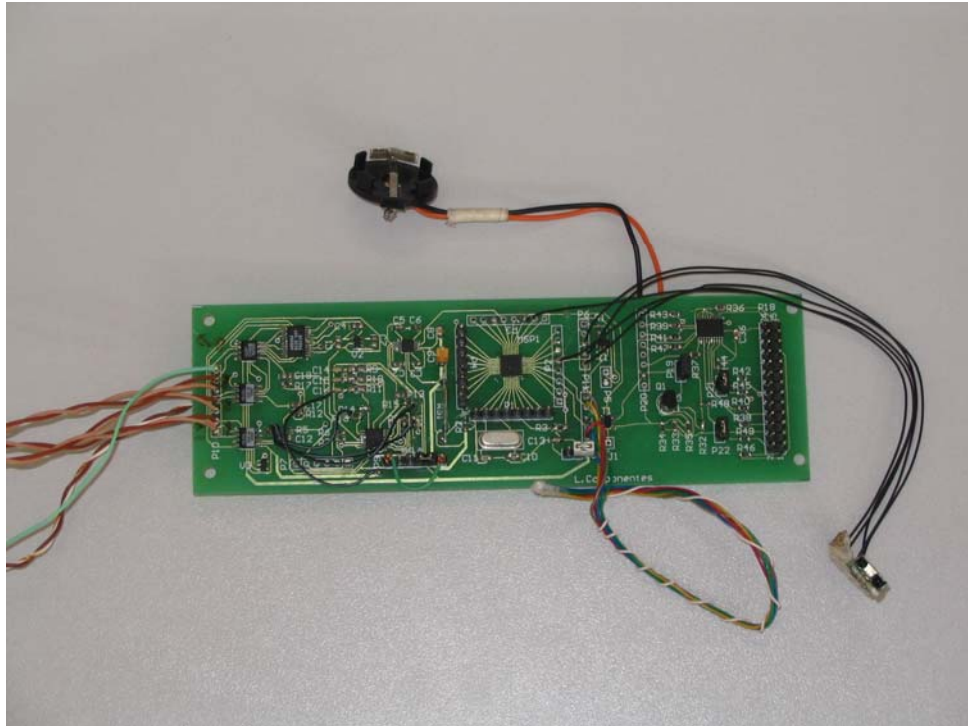


Figura 40 - Circuito impresso desenvolvido

O circuito impresso se encontra nas dimensões 15 cm x 4,5 cm x 5 mm, sendo que a *interface* JTAG possui as dimensões 4,5 cm x 4,5 cm x 5mm e sua massa total é de 42 gramas.

A unidade base foi desenvolvida em uma placa de desenvolvimento - MSPEVB1 (SANTOS-JUNIOR *et al.*, 2003) medindo 10 cm x 16 cm x 5 cm. Todo o circuito de aquisição do sinal pelo transceptor infravermelho e de comunicação via *interface* USB com o computador foi montado na placa de desenvolvimento. A Figura 41 a apresenta já montada.

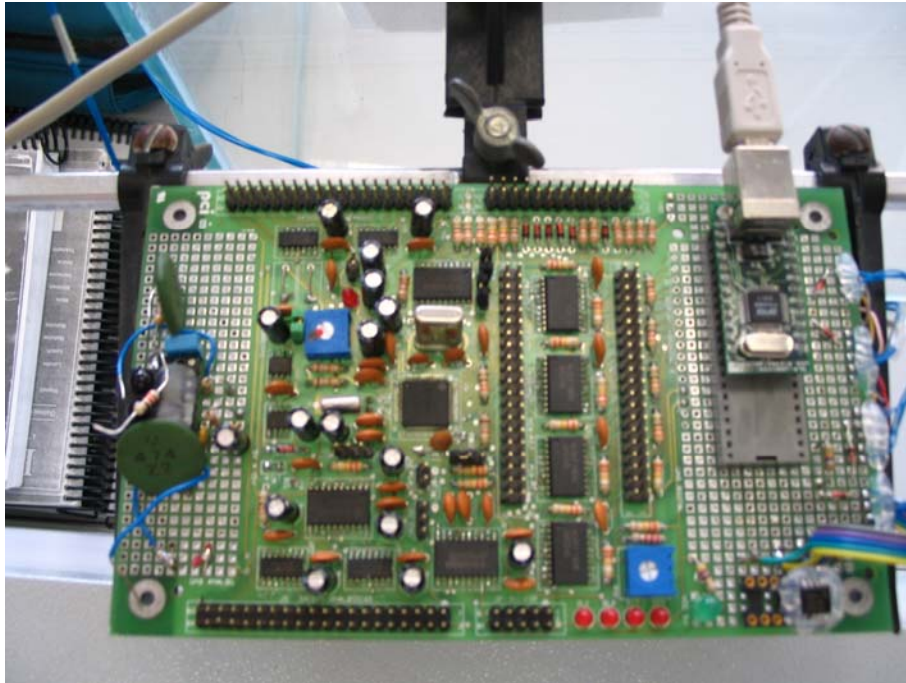


Figura 41 - Placa de desenvolvimento MSPEVB1 utilizada

Uma arena de registro também foi construída para a realização de testes e experimentos.

4.3 Comunicação Digital Infravermelho

Para a realização de testes com a comunicação digital infravermelho utilizaram-se as duas unidades, base e remota. Primeiro, foi realizada a transmissão de um byte da unidade remota para a unidade base e observaram-se os sinais dos terminais TX (transmissão) e RX (recepção) fazendo uso do osciloscópio. A Figura 42 exemplifica o teste.

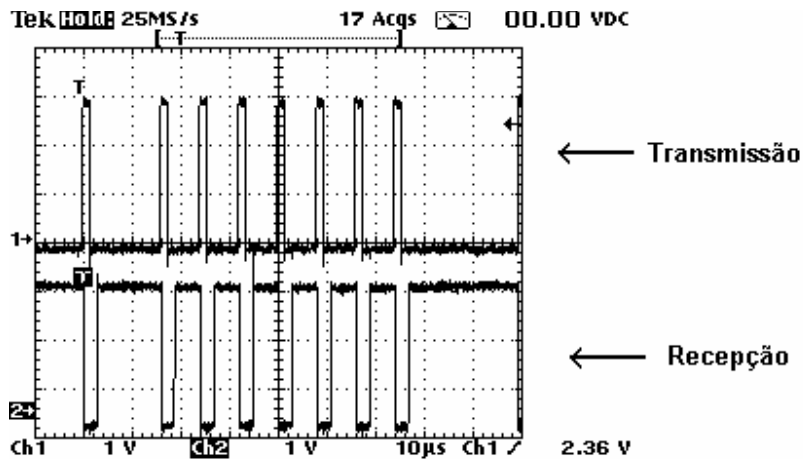


Figura 42 - Transmissão e recepção de 1 byte pelo IrDA

Através desse teste, pôde-se observar os tempos para transferência de 1 byte e os tempos de cada bit. Como a comunicação entre o microcontrolador e o transceptor infravermelho na unidade remota foi realizada totalmente via software, ou seja, sem o uso de um codificador próprio visando economizar espaço e reduzir o consumo, foi importante observar esses tempos no osciloscópio para reproduzi-lo nas portas do microcontrolador. Verificados os tempos e comparados com a exigência do protocolo IrDA, realizou-se a comunicação entre as duas unidades. Para a unidade base, um codificador/decodificador IrDA - UART foi utilizado para se simplificar a comunicação e salvar processamento da CPU, já que a unidade base é responsável pela intermediação da unidade remota e o computador, tendo que se comunicar com eles quase que simultaneamente. A Figura 43 apresenta a codificação de bytes no formato do protocolo IrDA para o protocolo de comunicação UART.

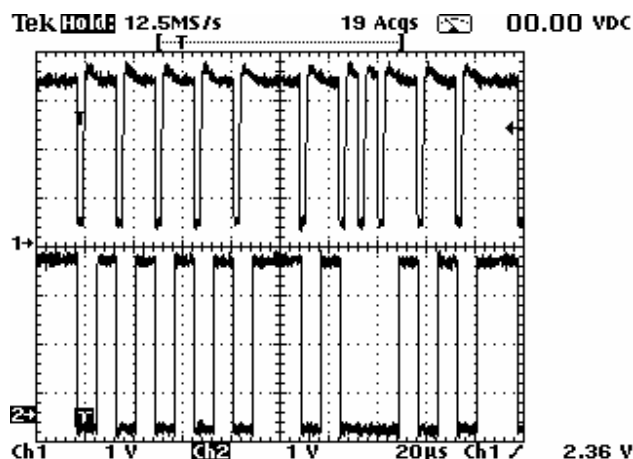


Figura 43 - Conversão de dados do protocolo IrDA (quadrantes superiores) para UART (quadrantes inferiores) pelo TIR1000

Uma necessidade do codificador/decodificador TIR1000 (Texas Instruments) utilizado é a entrada de um sinal de *clock* de 16 vezes a velocidade de transmissão que se deseja utilizar. Para isso, um cristal de 1,8426 MHz deveria ser usado, já que se deseja uma velocidade de 115200 bits por segundo. Um teste foi realizado configurando um dos *clocks* do microcontrolador da unidade base a uma velocidade de 2 MHz e conectando-o a entrada de *clock* do TIR1000. Tendo isso em vista, a velocidade de transmissão de dados foi alterada para 125000 bps e o objetivo de transmissão foi alcançado, mesmo sendo a taxa máxima de transmissão permitida pelo transceptor infravermelho (HSDL3000) de 115200 bps de acordo com o fabricante. Isso melhorou a comunicação do sistema, já que a tornou mais rápida e não por isso menos confiável, pelo menos no que se refere aos testes de perda de pacotes realizados, quando se pôde observar que nenhum pacote foi perdido ou danificado durante a transmissão.

O tempo de transmissão de 1 byte foi então reduzido para 80 µs. Lembrando-se que a cada transmissão de 1 byte são acrescentados o *start* e o *stop* bits, o tempo total de transmissão de um pacote contendo 14 bytes é de 1,25 ms, como pode ser visto na Figura 44.

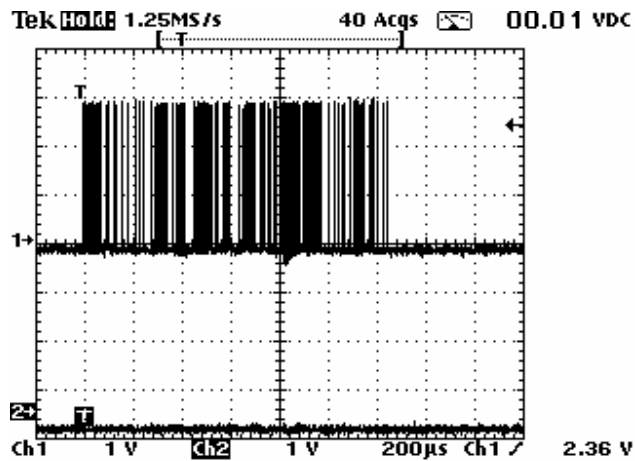


Figura 44 - Tempo total de transmissão de 1 pacote, observado no osciloscópio eletrônico

4.4 Testes de Alcance

Outros testes foram realizados buscando analisar a faixa de cobertura do sinal infravermelho na arena de registro. Inicialmente, pensou-se em usar um tranceptor infravermelho posicionado na região posterior do crânio do animal para a transmissão da unidade remota e um segundo, no centro da arena, a uma distância de 70 cm da base, para a recepção da unidade base. A Figura 45 ilustra esse posicionamento.

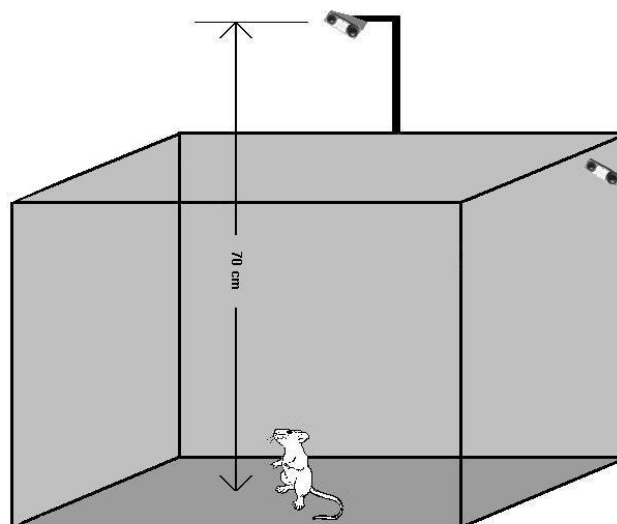


Figura 45 - Posicionamento para o tranceptor infravermelho inicialmente testado

O teste de alcance foi satisfatório, porém, qualquer inclinação lateral da cabeça do animal acarretaria perda da comunicação. Decidiu-se então, utilizar mais LEDs na recepção visando aumentar a região de abrangência do sinal. Foram então dispostos 4 LEDs transceptores, um em cada canto superior dela. Mas para realizar a ligação entre os LEDs, foram acoplados diodos, um a cada transceptor, entre eles e a alimentação. Um diagrama das conexões é disposto na Figura 46.

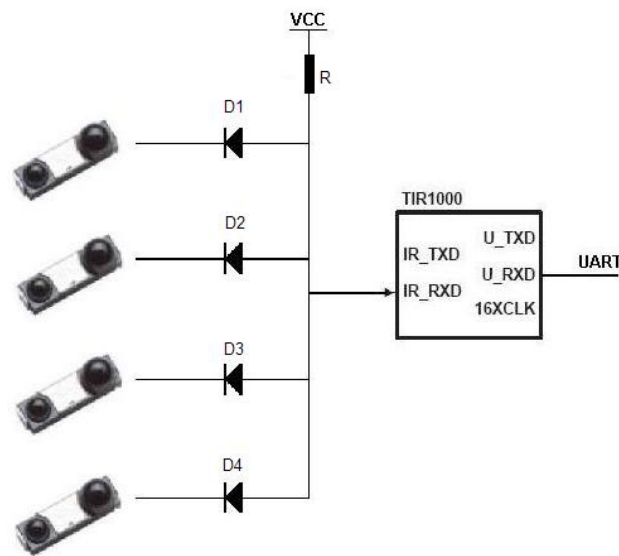


Figura 46 - Ligação entre os 4 transceptores

Dessa forma, o sistema funciona como uma porta lógica “ou”. Qualquer transceptor que receber um sinal (ou até mais de um), quando baixar o nível lógico de sua porta (sabendo que essa é a resposta a um pulso de luz, como visto anteriormente), estará baixando também o nível lógico na entrada do TIR1000, transmitindo então o sinal. A Figura 47 traz a recepção de 1 byte pelo codificador/decodificador TIR1000 após os diodos.

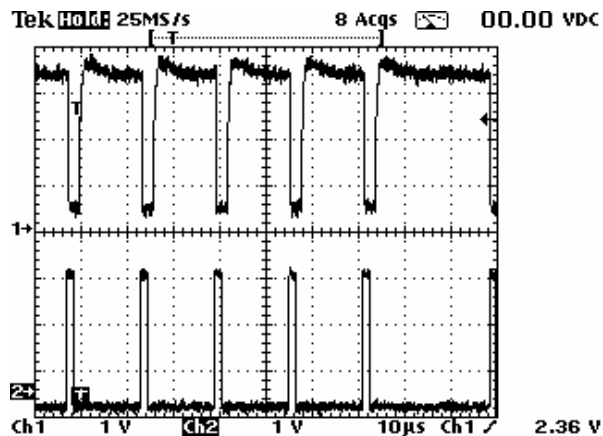


Figura 47 - Leitura de 1 byte feita pelo TIR1000. Percebe-se que o sinal não chega a zero devido à tensão de junção dos diodos

4.5 Relação Resistência x Distância

De acordo com a fabricante Agilent Technologies, o alcance máximo do HSDL3000 é por volta de 1,5 metros em suas condições ideais de uso. Para isso, é sugerido o uso de um resistor de 2,2 Ohms entre a alimentação e o LED transmissor para regular a passagem de corrente. Considerando as dimensões da arena de registro sendo 50 cm x 30 cm x 40 cm (comprimento x largura x altura), a máxima distância que o feixe luminoso emitido pelo transceptor irá percorrer é de 70,71 cm, considerado a ocasião em que apenas 1 transceptor (o mais distante) esteja recebendo o sinal. A Figura 48 ilustra o diagrama da maior distância a ser percorrida pelo sinal infravermelho dentro da arena de registro.

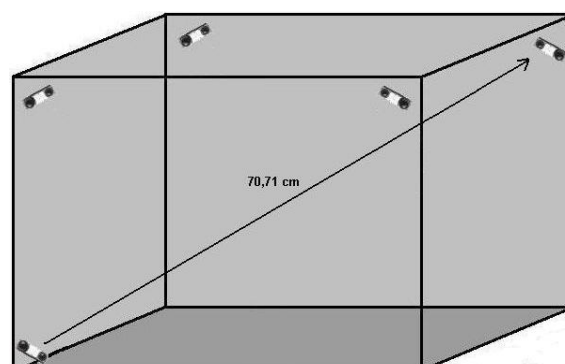


Figura 48 - Maior distância percorrida pelo sinal infravermelho

Pôde-se então testar resistores de maior valor, visando limitar um pouco mais o consumo de corrente pelo LED e, conseqüentemente, reduzir o consumo do transceptor. Descobriu-se então que um valor satisfatório para a resistência, dadas as medidas da arena de registro, é de 10 Ohms, proporcionando uma transmissão segura e reduzindo o consumo.

A Figura 49 reproduz a arena de registro construída com o Fisiógrafo montado para testes.

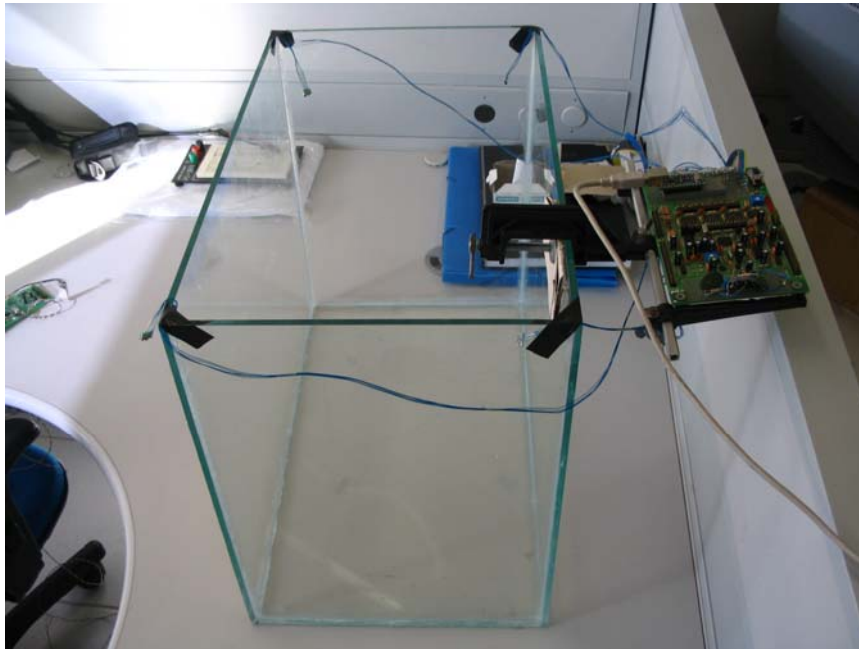


Figura 49 - Arena de registro montada com o Fisiógrafo

Mais testes devem ser realizados visando avaliar a relação entre a resistência aplicada entre a alimentação do transceptor infravermelho e a alimentação do sistema e o alcance da luz infravermelha propiciado. A partir desses testes, pôde-se criar uma tabela com esses valores para o caso de pesquisadores necessitarem fazer uso de arenas de registro de dimensões diferentes da aqui utilizada. Com essa tabela em mãos, o pesquisador poderá alterar o alcance do IrDA de acordo com a sua necessidade, aumentando a utilidade do sistema aqui desenvolvido.

4.6 Testes Sub-Aquáticos

Observando-se a hipótese do uso do circuito em condições sub-aquáticas, testes foram realizados com o intuito de se avaliar a funcionalidade (possíveis desvios e atenuação dos raios infravermelhos) do transceptor infravermelho. Recobriu-se então o transceptor infravermelho com uma fina camada de PVC e posicionou-o no fundo de um recipiente completado de água. A Figura 50 ilustra essa preparação.

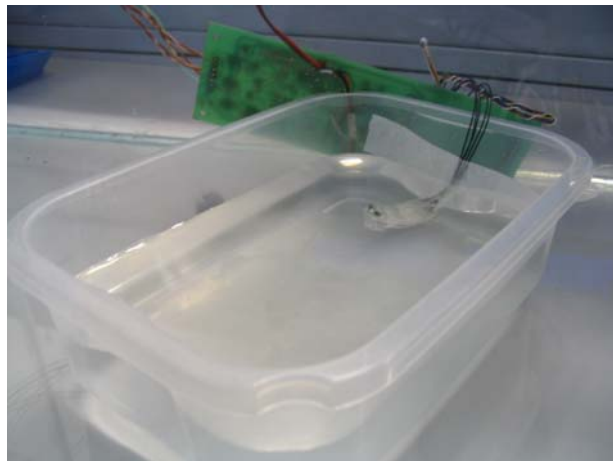


Figura 50 - Transceptor infravermelho imerso em água

Foi então ligado o equipamento e deixado transmitindo pacotes por aproximadamente 5 minutos. Após o término da transmissão, analisou-se os dados recebidos e observou-se que nenhum pacote foi perdido, corroborando a funcionalidade da transmissão sub-aquática do transceptor infravermelho.

4.7 Temperatura

O uso do sensor TMP123 (Texas Instruments) para a aquisição da temperatura mostrou-se simples e bastante confiável. Mas sabe-se da necessidade de se realizar testes para aferição de sua medida, buscando garantir que o valor mensurado pelo sensor é realmente o valor que se está sendo medido. Caso haja diferença entre as medições, deve-se então realizar uma calibração do sensor.

4.8 Testes de Consumo de Energia da Unidade Remota

Testes foram realizados para verificar o consumo de energia do sistema e sua autonomia de uso. Fazendo uso de duas baterias CR2032 (Panasonic), uma somente para o transceptor infravermelho e outra para os demais componentes do circuito, o sistema foi alimentado e deixado em funcionamento total. Após duas horas e quarenta minutos de funcionamento, o sistema começou a apresentar falhas. Estudando o circuito, observou-se que a tensão da bateria dedicada ao circuito estava em 2,2 V e que a tensão no circuito, entregue pelo regulador de tensão estava em 3,3 V (lembrando que o regulador de tensão TPS60202 permanece funcionando até enquanto alimentado por 1,8 V), não sendo essa então a razão da falha observada no sistema. Medindo a tensão da bateria dedicada ao transceptor infravermelho, observou-se que essa estava em 2 V, o que acabava por reduzir o alcance dos raios infravermelhos transmitidos. Pode-se então sugerir um estudo mais completo sobre o uso de resistores de maior valor na limitação do consumo de corrente do IrDA e um posicionamento mais adequado dos transceptores de recepção, visando aumentar ainda mais a autonomia do sistema.

Analisando o consumo de corrente apenas do circuito, pôde-se observar que este consome 9 mAh de corrente, sendo o AD620 a maior fonte de consumo, consumindo 1 mAh cada um.

O Irda consome em média 12 mAh, considerando que esse consumo é variável, de acordo com os pulsos de transmissão, onde os picos podem chegar a 500 mA.

Em modo *shutdown*, o único componente do sistema que permanece funcionando é o microcontrolador, consumindo em torno de 17 μ Ah (Texas Instruments), permitindo seu uso por meses.

4.9 Custo do Sistema

As Tabelas 3 e 4 a seguir apresentam os custos de aquisição dos componentes e circuitos impressos do protótipo do sistema para a unidade remota e unidade base.

Tabela 3 - Lista de preços dos componentes eletrônicos que compõem a unidade remota

DESCRIÇÃO	FABRICANTE	CUSTO Unit	QDADE *	CUSTO Tot	Observação
MSP430F1232	Texas Instruments	2.50 US\$	1	2.50 US\$	amostra
REF3012	Texas Instruments	0.60 US\$	1	0.60 US\$	amostra
TLC2254	Texas Instruments	0.75 US\$	1	0.75 US\$	amostra
TPS60202	Texas Instruments	0.95 US\$	1	0.95 US\$	amostra
TPS60401	Texas Instruments	0.33 US\$	1	0.33 US\$	amostra
TMP123	Texas Instruments	0.90 US\$	1	0.90 US\$	amostra
AD620	Analog Devices	3.27 US\$	3	9.81 US\$	amostra
AD5204	Analog Devices	2.23 US\$	1	2.23 US\$	amostra
HSDL-3000	Agilent Technologies	R\$ 14,42	1	R\$ 14,42	compra
Reed Switch	COTO Technologies	R\$ 3,15	1	R\$ 3,15	compra
Crystal 4 MHz	ABC Xtal	R\$ 2,50	1	R\$ 2,50	compra
Resistores	Tayo Yuden	R\$ 0,01	34	R\$ 0,34	compra
Capacitores	Tayo Yuden	R\$ 0,01	30	R\$ 0,30	compra
Baterias	Panasonic	R\$ 1,90	2	R\$ 2,80	compra
Placa Circuito Impresso (10 pl.)	DigiCart	R\$ 350,00	1	R\$ 350,00	compra

Tabela 4 - Lista de preços dos componentes eletrônicos que compõem a unidade base

DESCRIÇÃO	FABRICANTE	CUSTO Unit	QDADE *	CUSTO Tot	Observação
MSP430F149	Texas Instruments	6.05 US\$	1	6.05 US\$	amostra
TMP123	Texas Instruments	0.90 US\$	1	0.90 US\$	amostra
TIR1000	Texas Instruments	1.35 US\$	1	1.35 US\$	amostra
HSDL-3000	Agilent Technologies	R\$ 14,42	4	R\$ 57,68	compra
DLP-USB245BM	DLP Design	R\$ 160,00	1	R\$ 160,00	compra
Crystal 8 MHz	ABC Xtal	R\$ 2,50	1	R\$ 2,50	compra
Resistores	Tayo Yuden	R\$ 0,01	34	R\$ 0,34	compra
Capacitores	Tayo Yuden	R\$ 0,01	30	R\$ 0,30	compra
Placa Circuito Impresso	DigiCart	R\$ 350,00	1	R\$ 350,00	compra
Cabo USB	Clone	R\$ 12,00	1	R\$ 12,00	compra

Os valores (em dólar) são para aquisição de no mínimo 1000 peças e não está incluso o valor dos impostos para importação.

Todos os componentes utilizados encontram-se disponíveis no mercado. A escolha de cada componente se deu tanto por sua qualidade, como por suas dimensões e

consumo, observando sempre se seu *status* está ativo e em produção, buscando não adquirir componentes obsoletos, e atendendo aos requisitos do projeto.

4.10 Testes em Laboratório

Testes em laboratório com simulador e animais para avaliação e validação do protótipo foram realizados.

4.10.1 Validação do Protótipo

Para a validação do protótipo, testes de aquisição de sinais foram realizados, aplicando-se um sinal conhecido, na entrada do EtoFisiógrafo, produzido por um equipamento certificado na entrada do canal de aquisição, e comparou-se o sinal da saída com a leitura de um osciloscópio.

O equipamento utilizado para a geração do sinal foi um simulador de ECG (ECG *Simulator*) modelo ECG *Plus*, marca Bio-Tek (USA) nº 116787 pertencente ao LAT (Laboratório de Avaliação Técnica – IEB – UFSC). O equipamento simula sinais de qualquer uma das 12 derivações em amplitudes que variam de 0,5 mV até 2 mV e com frequências variando de 60 bpm (batimentos por minuto) até 240 bpm. Possui ainda uma saída independente e fixa, de alto nível, com 1 volt de pico.

Para a realização do teste, o canal 1 do osciloscópio utilizado (THS 720 – Tektronix – USA) foi ligado diretamente à saída de alto nível do simulador, e o canal 2 foi ligado à saída do canal analógico de aquisição do Fisiógrafo e à entrada de seu conversor AD. Um sinal de 1 mV a 120 batimentos por minuto foi então aplicado na entrada do amplificador de instrumentação do EtoFisiógrafo e o ganho do canal setado para 1000. A Figura 51 ilustra o esquema de ligações entre o simulador de ECG, o EtoFisiógrafo e o Osciloscópio.

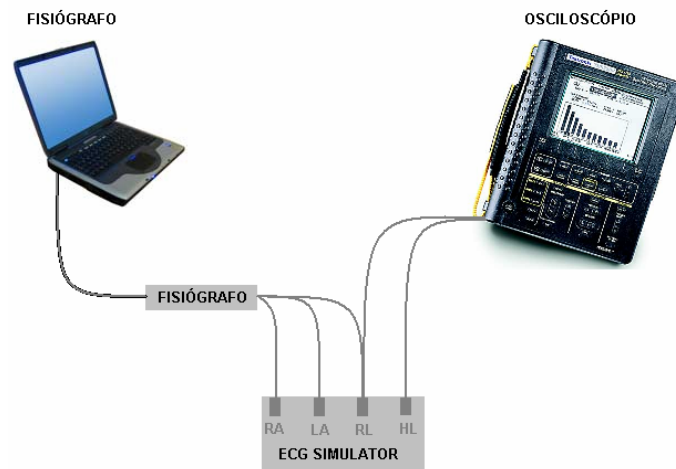


Figura 51 - Conexão entre o simulador de ECG, o EtoFisiógrafo e o Osciloscópio para o teste de validação do protótipo

O sinal lido na entrada do conversor AD apresentou a amplitude de 1 volt pico-a-pico, como se era esperado. A Figura 52 apresenta a leitura obtida no osciloscópio, sendo o canal 1 o sinal na saída do simulador de ECG e o canal 2 na entrada do conversor AD do EtoFisiógrafo. As diferenças existentes entre os dois sinais justificam-se por dois motivos: os circuitos simplificados utilizados no condicionamento do sinal (topologias dos filtros) e ao capacitor de *trimmer* existente na ponteira do osciloscópio. Pode-se, contudo, observar que as características morfológicas do sinal foram mantidas na entrada do conversor AD.

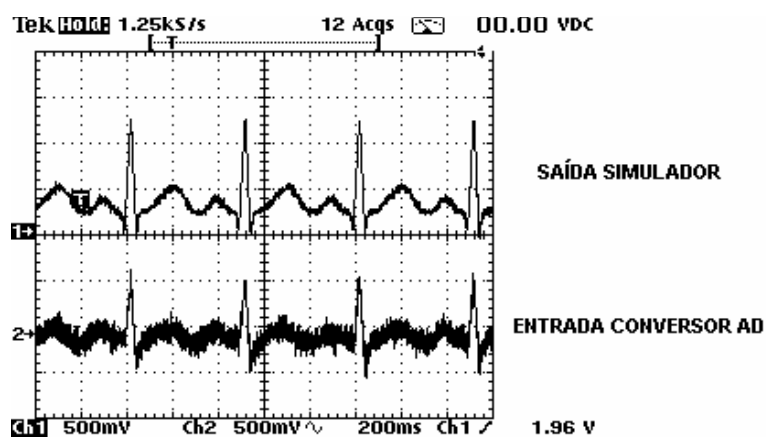


Figura 52 - Leitura obtida pelo osciloscópio; (a) Saída do simulador de ECG; (b) Sinal na entrada do conversor AD do EtoFisiógrafo.

A Figura 53 apresenta o sinal de ECG coletado do simulador de ECG (ECG *Simulator*), tratado digitalmente e visualizado pelo *software* EtoFisiógrafo.

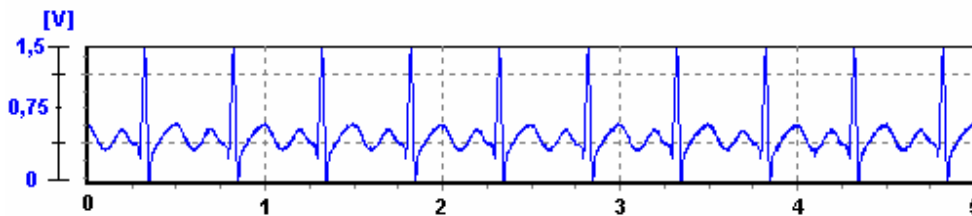


Figura 53 - Sinais coletados pelo EtoFisiógrafo. Visualização do sinal de ECG pelo *software* do EtoFisiógrafo após filtragem digital (Filtro passa-baixas, Janela de Hamming, frequência de corte = 50 Hz) e armazenamento em um banco de dados do sistema.

Comparando-se o sinal de ECG gerado pelo simulador e o sinal de ECG gravado no banco de dados do EtoFisiógrafo verifica-se que as características morfológicas visualizadas do sinal são mantidas.

4.10.2 Avaliação do Protótipo

Procedimento Cirúrgico

Os experimentos laboratoriais foram realizados em dois ratos Wistar, adultos machos, pesando aproximadamente 350g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os animais foram mantidos no Biotério Setorial do Departamento de Ciências Fisiológicas (CFS/CCB) com água e ração *ad libitum*, à temperatura ambiente controlada (~22° C) e período claro-escuro de 12 horas (07h-19h – claro sob luz artificial). Todos os experimentos seguiram os preceitos éticos postulados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

Para que os estudos eletrofisiológicos pudessem ser viabilizados, assim como a conseqüente implantação dos eletrodos de EEG, ECG e EMG, os animais foram anestesiados com uma dose de 0,3 ml/100g de cloridrato de cetamina em associação a uma dose fixa de 0,1 ml de xilazina via intraperitoneal. O procedimento cirúrgico teve

início a partir da constatação da profundidade desejada de anestesia (ausência de reflexos de retirada da pata frente ao pinçamento das pregas interdigitais e da retração da cauda após pinçamento da mesma). O animal foi então preso a uma prancha de contenção para pequenos animais onde foi realizada a tricotomia da região cefálica, região torácica bilateral e quadrante posterior direito do animal, sendo ainda realizada assepsia dos locais com anti-sépticos PVPI (Poli-vinil Pirrolidona Iodo).

Ato contínuo foi realizada a fixação do animal ao aparelho estereotáxico, prendendo-o pelas barras auriculares e pela presilha nasal, além da contenção das patas traseiras. Injetou-se 1ml de lidocaína via subcutânea na região cefálica do rato, com intuito de diminuir hemorragia proveniente do processo cirúrgico, facilitando o implante dos eletrodos, dos micro-parafusos e aderência do acrílico autopolimerizante à calota craniana.

Na seqüência, foi realizada incisão longitudinal na região cefálica, seguida da raspagem da superfície óssea e marcação dos pontos de implantação e perfuração dos mesmos através de uma broca (1/8”) motorizada. Após limpeza da região exposta, são implantados manualmente os eletrodos corticais e, através da torre estereotáxica, eletrodos subcorticais (hipocampais) de liga NiCr (70% Ni e 30% Cr) com diâmetro de 0,06mm no encéfalo do animal, além de um micro-parafuso de aço inoxidável 1/8” no crânio com a função de obter um sinal-referência e fixação do capacete composto por acrílico. Ressalta-se que os eletrodos subcorticais são soldados aos pinos do soquete após a sua implantação, enquanto os eletrodos corticais já estão previamente soldados ao soquete. Após a implantação dos eletrodos, coloca-se ao redor dos mesmos, acrílico associado ao respectivo polimerizador, com intuito de fixar os eletrodos à calota.

Para aquisição dos sinais mioelétricos, foi realizada incisão longitudinal de aproximadamente 3 cm ao longo da linha posterior da pata traseira direita. É realizada a liberação de fâscias musculares do músculo da coxa direita do animal, expondo os ventres. Ocorre então, a implantação de eletrodos bipolares de liga NiCr no ventre muscular através de uma agulha-guia, que transpassava o músculo e aloca o eletrodo no mesmo com a exposição de 1mm do fio no interior do músculo.

O procedimento de implantação dos eletrodos cardíacos iniciou-se através da incisão de 3 mm bilateral na porção torácica do animal. Implantou-se a seguir um eletrodo específico através de cada incisão, mantendo-o em contato com o gradil costal e fixando-o através de sutura à pele do animal.

Após aquisição dos dados desejados, o animal é submetido a uma superdosagem de anestésico, realizando assim, a eutanásia conforme os preceitos éticos do COBEA.

As Figuras 54 e 55 apresentam a colocação dos eletrodos.

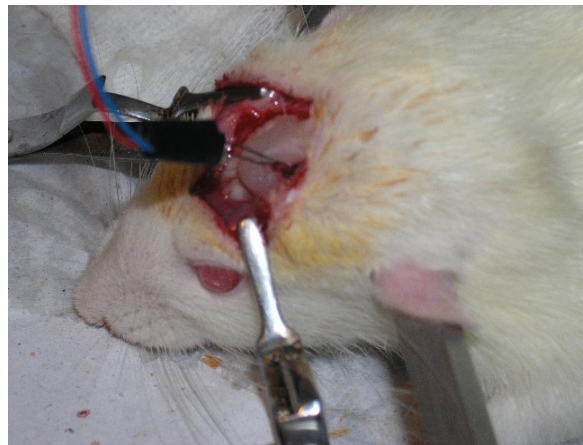


Figura 54 - Colocação dos eletrodos de EEG

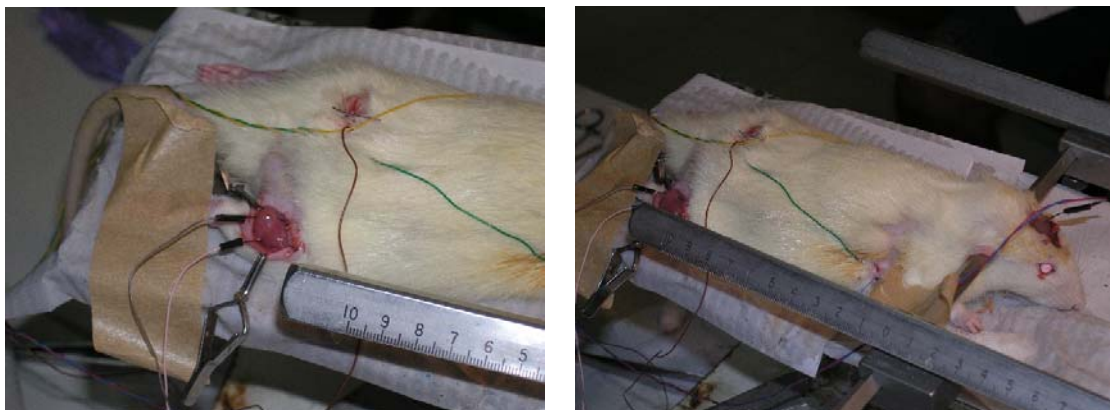


Figura 55 - Colocação dos eletrodos de EMG e ECG.

A Figura 56 apresenta o Fisiógrafo registrando os seus sinais fisiológicos.



Figura 56 - Aquisição de sinais fisiológicos em um rato

O dados obtidos e tratados através do software Fisiógrafo podem então, ser observados na Figura 57.

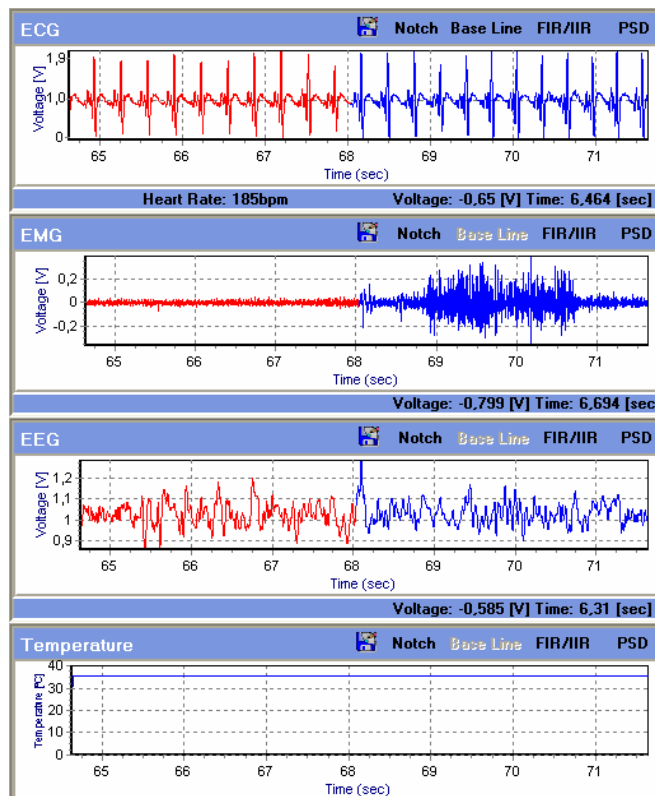


Figura 57 - Tela de visualização do EtoFisiógrafo contendo os sinais e ECG, EMG, EEG e Temperatura adquiridos

Através do software desenvolvido por LEITE (2006), pode-se realizar um tratamento digital do sinal, como a aplicação do filtro *notch*, utilizado para remover a interferência de 60 Hz proveniente da rede elétrica. O filtro de linha de base é utilizado para eliminar as oscilações do sinal decorrentes dos artefatos de movimento. Para isso, utilizou-se um filtro digital IIR, com aproximação *Butterworth* de 2ª ordem e frequência de corte de 2 Hz. O filtro FIR foi implementado nas suas formas passa-altas e passa-baixas. Disponibilizou-se a opção entre três tipos de janelamento: Janela de Hamming, Janela de Hanning e Janela Retangular. Por fim, o filtro IIR implementado nas suas formas: passa-altas e passa-baixas. Também estão disponíveis ferramentas de apoio ao usuário como um índice da frequência cardíaca instantânea, a densidade espectral de potência (PSD) e o valor eficaz (RMS).

Pode-se afirmar então que os sinais obtidos satisfazem, visualmente, a necessidade dos pesquisadores, proporcionando a medição da frequência cardíaca instantânea do animal, através do sinal de ECG coletado; uma análise dos sinais neurais através da leitura do sinal de EEG, a frequência dos potenciais de ação, indicando o tônus muscular, através da leitura do sinal de EMG, e a temperatura corporal do animal.

4.10.3 Comparativo entre os sinais adquiridos com o sistema de referência

Seguindo a linha do experimento realizado anteriormente, outro teste com um rato Wistar, macho, medindo aproximadamente 350 gramas, foi realizado. Dessa vez, para se avaliar a funcionalidade e comprovar a eficácia do EtoFisiógrafo, um sistema de referência foi utilizado em conjunto. Para isso, o EtoFisiógrafo foi acoplado a um sistema digital convencional (o polígrafo digital BIOPAC-MP100, da WPI Inc, Sarasota, USA) para o registro de variáveis fisiológicas. Ambos os eletrodos, do EtoFisiógrafo e do BIOPAC, foram atados e inseridos no animal (adquirindo, dessa forma, os mesmo potenciais). Esses registros tiveram a duração de 10 minutos e buscaram identificar similaridades e eventuais discrepâncias entre os registros obtidos por meio do equipamento em teste e um equipamento comercialmente disponível e sobejamente testado em experimentos fisiológicos.

Analisando-se cada sinal independentemente, pode-se ter uma boa interpretação dos dados obtidos. Para o sinal de ECG, a Figura 58 apresenta um gráfico dos resultados obtidos.

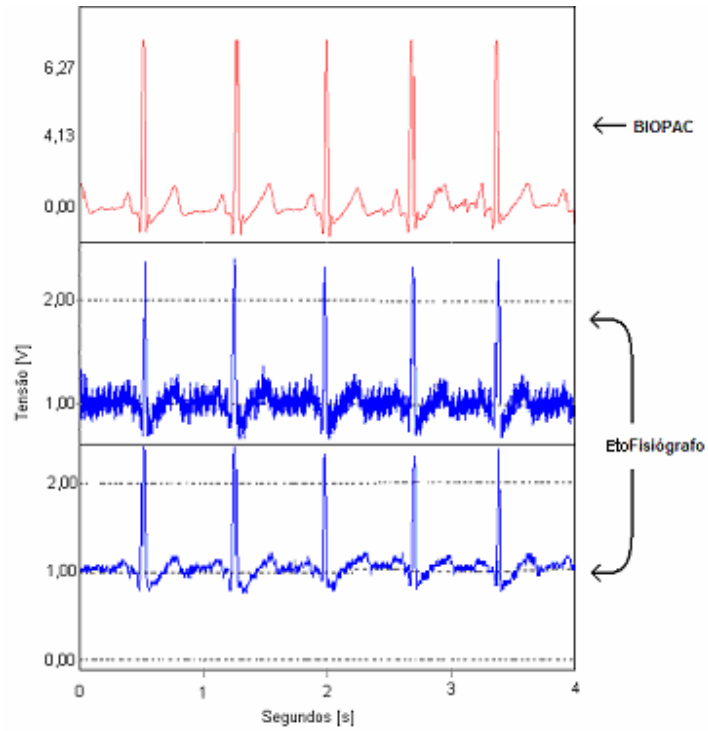


Figura 58 - Aquisição simultânea de um sinal de ECG entre o EtoFisiógrafo e o BIOPAC

A Figura 59 traz a forma de onda encontrada na aquisição do EMG.

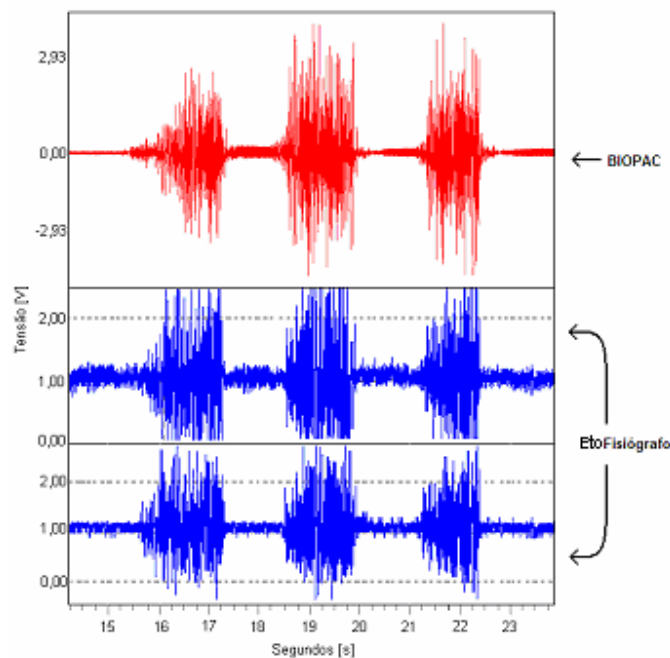


Figura 59 - Aquisição simultânea de um sinal de EMG entre o EtoFisiógrafo e o BIOPAC

Os sistemas tiveram ganhos diferentes, acarretando numa diferença de amplitude dos sinais lidos, não sendo um fator relevante na avaliação, já que o intuito dos testes era realizar uma avaliação qualitativa do sinal.

De acordo com o teste realizado e com o resultado obtido, pode-se afirmar que o BIOPAC obteve sinais com menos ruído se comparados aos sinais adquiridos pelo EtoFisiógrafo. Porém, vale salientar que o BIOPAC possui filtros específicos para cada canal de aquisição e para cada sinal desejado, limitando o seu uso apenas a esse sinal, enquanto que o EtoFisiógrafo possui canais iguais e sem filtros específicos para cada sinal, permitindo a aquisição de qualquer sinal na faixa de 0,8 a 200 Hz. Qualquer filtragem que se faça necessária, na visão do pesquisador, o software implementado no computador por LEITE (2006) possui os filtros e funções necessárias.

4.11 Unidade Remota Implantável Miniaturizada

Como um dos objetivos deste trabalho, foi projetado um circuito final, com dimensões reduzidas, visando implantá-lo em pequenos animais. Ele possui dimensões

reduzidas, como 3 cm x 3 cm x 5 mm (largura x comprimento x espessura), mais a envoltura de silicone, e estima-se que sua massa não ultrapasse 25 gramas. Um outro pacote é formado pelas baterias e é conectado ao primeiro através de fios. Estima-se que esse pacote possua as mesmas dimensões do pacote com o circuito de aquisição. Na parte posterior da cabeça do animal, propõe-se a implantação do circuito de transmissão, contendo o transceptor infravermelho. Esse possui dimensões de 1 cm x 5 mm x 5 mm. A Figura 60 traz um diagrama do circuito implantável projetado, sua implantação e suas dimensões

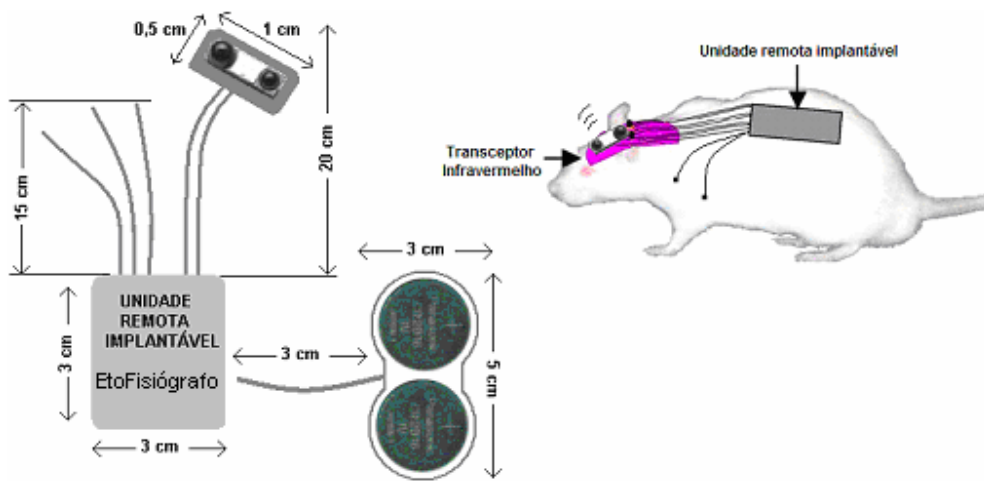


Figura 60 - Diagrama do circuito implantável e dimensões estimadas

O encapsulamento constitui-se, buscando selar e isolar o circuito e as baterias do organismo do animal, primeiramente por um filme de PVC e depois é coberto por uma camada de borracha de silicone (SIQMOL – Siquiplas).

Pretende-se implantar o circuito de aquisição na cavidade peritoneal do animal, como mostra o raio-x de um rato na Figura 61.

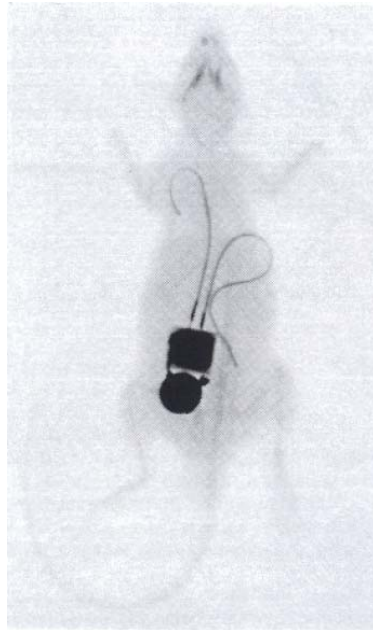


Figura 61 - Raio-X de um implante em um rato (KRAMER *et al.*, 1993).

A Figura 62 apresenta o circuito de transmissão desenvolvido, contendo o transceptor infravermelho, e seu posicionamento em um molde feito de resina da cabeça do animal.

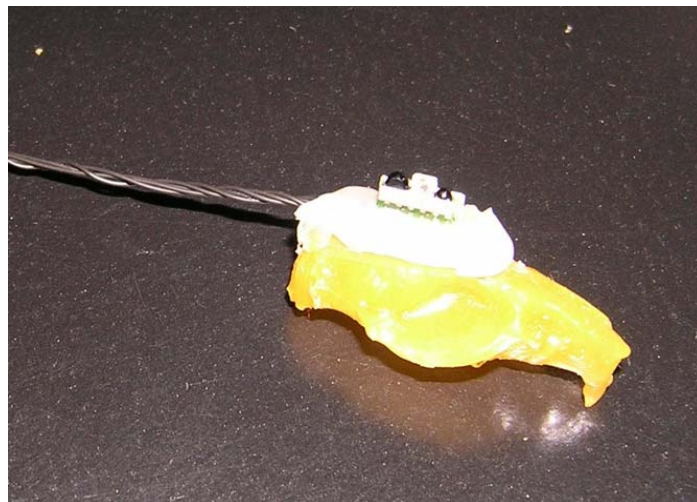


Figura 62 - Circuito de transmissão (contendo o transceptor infravermelho) acoplado a um molde de resina da cabeça de um rato

5 Conclusão

De acordo com a proposta inicial do trabalho, o desenvolvimento de um protótipo de um sistema telemétrico para aquisição de sinais eletrofisiológicos em pequenos animais foi realizado. Os resultados obtidos experimentalmente, tanto em laboratório quanto em experimentos comprovam que os objetivos foram alcançados. Para tanto, um protótipo de uma unidade remota e uma unidade base foram construídos.

Circuitos eletrônicos para condicionamento, amplificação, filtragem e digitalização de sinais fisiológicos, disponibilizando quatro canais que possam ser configurados remotamente pelo usuário foram implementados, testados e validados, por meio de testes com dispositivos de prova (simulador de ECG) e experimentos com animais “*in vivo*”.

O protocolo de comunicação de dados entre os transceptores infravermelhos implementado mostrou-se seguro e confiável em testes relativos a perda de pacotes realizados. Os testes relativos à comunicação entre a unidade base e o computador não apontaram falhas, confirmando a sua qualidade e confiabilidade.

O sistema desenvolvido pode ser desligado de acordo com o interesse do pesquisador, salvando energia durante períodos em que não se deseja medir nenhum sinal, como períodos pós-cirúrgicos, que podem levar semanas. O sistema tem ainda a capacidade de ser ligado à distância, através de um ímã, sem a necessidade de nenhum contato físico com o animal, evitando situações de *stress*.

Todos os componentes utilizados no desenvolvimento do protótipo encontram-se disponíveis no mercado e são de fácil aquisição, sendo que foram escolhidos tanto por suas qualidades como por suas dimensões e consumo, buscando sempre atender aos requisitos do projeto.

O consumo de energia do circuito telemétrico alcançou o objetivo para atuar em registros fisiológicos, sendo que novas pesquisas devem ser realizadas buscando aumentar ainda mais a autonomia do sistema.

Os sinais de ECG, EEG, EMG e temperatura, adquiridos em experimentos, se mostraram satisfatórios, já que atingiram o objetivo de auxiliar pesquisadores nos seus respectivos conteúdos, atingindo o objetivo principal do trabalho. Mais testes devem ser realizados, buscando atenuar ou até eliminar fontes de ruído externas ao sistema, que possam vir a dificultar o estudo dos sinais, como proximidade de antenas emissoras de sinais de rádio-freqüência e ruídos provenientes da rede elétrica.

Continuidade deve ser dada ao trabalho, buscando implementar um circuito de aquisição de sinais totalmente implantável, utilizando telemetria por infravermelho, para auxiliar pesquisadores no estudo da aplicação de drogas em pequenos animais.

5.1 Trabalhos Futuros

Como sugestões para trabalhos futuros, pode-se citar:

- Estudar o uso de um sistema de alimentação externa, via rádio-freqüência, buscando aumentar a autonomia do sistema.

- Aumentar a taxa de amostragem no conversor AD para 1 kHz, filtrar digitalmente o sinal no próprio microcontrolador e, após *downsampling*, transmitir a 500 amostras por segundo.

- Desenvolver um algoritmo de compactação de dados do sinal, após a sua conversão. Isso reduziria o tempo de transmissão pelos transeptores infravermelho e, conseqüentemente, o consumo total do sistema.

- Uso de filtros analógicos disponibilizados em circuitos integrados, como o TLC14 (Texas Instruments), que é um filtro passa-baixas Butterworth de quarta ordem e tem sua freqüência de corte definida pela aplicação de um *clock* externo.

6 Referências Bibliográficas

Agilent Technologies; <http://www.agilent.com>.

Analog Devices; <http://www.analog.com>.

ANDERSEN, M.L.; VALLE, A.C.; TIMO-IARIA, C., et al. Implantação de elétrodos para o estudo eletrofisiológico do ciclo vigília-sono do rato. *Universidade Federal de São Paulo, São Paulo*, 2001.

ANTIER D.; ZHANG B.L.; MAILIET F., et al. Effects of neonatal focal cerebral hypoxia-ischemia on sleepwalking pattern, ECoG power spectra and locomotor activity in the adult rat. *Brain Res* 807: 29–37, 1998.

BAUMANS V.; BOUWKNECHT J.A.; BOERE H., et al. Intra-abdominal transmitter implantation in mice: Effects on behaviour and body weight. *Anim Welfare* 10: 291–302, 2001.

BAZIL, M.K.; KRULAN, C. and WEBB, R.L. Telemetric monitoring of cardiovascular parameters in conscious spontaneously hypertensive rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 22: 897–905, 1993.

BEAR, M; CONNORS, B; PARADISO, M.; *Neuroscience: exploring the brain*. 2ª ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2001.

BOSE, R.C. *Proposta para um Sistema de Rastreamento e Análise de Movimentos em Animais de Laboratório*. Florianópolis, 2003. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Instituto de Engenharia Biomédica, Universidade Federal de Santa Catarina.

BROCKWAY, B.P.; MILLS, P.A. and AZAR, S.H. A new method for continuous chronic measurement and recording of blood pressure, heart rate, and activity in the rat via radio-telemetry. *Clin Exp Hypertens* 3: 885–895, 1991

BRODY, S. Bioenergetics and growth. *Reinhold Publ. Corp.*, New York, NY, (1945).

CROMWELL, L.; WEIBELL, F.J. and PFEIFFER, E.A., Biotelemetry. In Huebner, V. (ed.); *Biomedical Instrumentation and Measurements*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, cap. 12, pp. 316–343, 1980.

Dallas Semiconductor – Maxim; <http://www.maxim-ic.com>. MAX3100 universal asynchronous receiver transmitter (UART).

DARBIN, O.; CASEBEER, D. J. and NARITOKU, D. K. Cardiac Dysrhythmia Associated with the Immediate Postictal State after Maximal Electroshock in Freely Moving Rat. *International League Against Epilepsy – Blackwell Publishing Inc. – Epilepsia*. 43(4):336-341. 2002

DOWNE, R.D.; BLAISE, J.H. and BRONZINO, J.D. Design of a Digital Radio-Frequency Telemetry System For Recording of Electrophysiological Data in Freely Moving Rats. *IEEE TRANS. BIOMED ENGINEERING*, 2003.

ENOKAWA, C.; YONEZAWA, Y.; MAKI, H. et al. A Microcontroller-based Implantable Telemetry System for Sympathetic Nerve Activity and ECG Measurement. *Proceeding 19th Inter Conf – IEEE/EMBS*. 1997.

FUCHS, B.; VOGEL, S.; SCHROEDER, D.; Universal application-specific circuit for bioelectric data acquisition. *Medical Eng. & Phys.* 24:695-701, 2002.

GULER, N.F. and UBEYLI, E.D.; Theory and Applications of Biotelemetry. *Journal of Medical Systems*, Vol. 26, No. 2, April 2002.

HALES, J.R.S. “Thermal physiology”. Raven Press, New York, NY. (1984).

HODGSON, J. A.; WICHAYANUPARP, S.; RECKTENWALD, M. R. et al. Circadian Force and EMG Activity in Hindlimb Muscles of Rhesus Monkeys. *J Neurophysiol.* vol 86. 2001.

“IrDA standards”, <http://www.irda.org> (1998). Acessado em 03/2006.

JAROSIEWICZ, B. and SHAGGS, W. E. Level of Arousal During the Small Irregular Activity State in the Rat Hippocampal EEG. *J Neurophysiol* 91:2649-2657, 2004.

“Joint Test Action Group – IEEE 1149.1”. <http://www.jtag.com>. Acessado em 02/2006.

KAWAHITO S., UEDA S., ISHIDA M., et al. A CMOS Integrated Circuit for Multichannel Multiple-Subject Biotelemetry Using Bidirectional Optical Transmissions. *IEEE TRANS. BIOMED ENGINEERING*, 41:400-406,1994.

KELLY, A.E.; CADOR, M. and STINUS, L. Exploration and It's Measurement - A Psychopharmacological Perspective. *Neuromethodos*, Vol 13, pp 95-144, 1986.

KETTLEWELL, P. J.; MITCHELL, M. A. and MEEKS, I. R. An implantable radiotelemetry system for remote monitoring of heart rate and deep body temperature in poultry. *Computers and Electronics in Agriculture*. 17;161-175. 1997

KORT, W.J.; HEKKING-WEIJMA, I.M.; ten KATE, M.T. et al. Determining body temperature using a microchip implant system. *Human endpoints in animal exp. for biomedical research*. 1998.

KRAMER, K. and KINTER, L.B. Evaluation and applications of radiotelemetry in small laboratory animals. *Physiol. Genomics* 13:197-205, 2003.

KRAMER, K., van ACKER, S.A.B.E., VOSS, H.P. et al. Use of Telemetry to Record Electrocardiogram and Heart Rate in Freely Moving Mice. *JPM* vol. 30 no. 4. 209-215, 1993.

LAZZI, G. Thermal Effects of Bioimplants. *IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine*. 2005.

LEITE, J.A.N. *Fisógrafo: Registro e Análise de Variáveis Fisiológicas e Comportamentais Sincronizadas*. Florianópolis, 2006. Dissertação (Mestrado em

Engenharia Elétrica) – Instituto de Engenharia Biomédica, Universidade Federal de Santa Catarina.

LEON, L.R.; WALKER, L.D.; DUBOSE, D.A. et al. Biotelemetry transmitter implantation in rodents: impact on growth and circadian rhythms. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 286:R967-R974, 2004.

LOW, J.; REED, A. *Eletroterapia explicada: princípios e prática*. 3ª ed. São Paulo: Manole, 2001.

MAKI, H.; YONEZAWA, Y.; HARADA, E. et al. An implantable telemetry system powered by a capacitor having high capacitance. *Proceedings of the 20th Annual Int. Conf. IEEE Eng. in Med. And Bio. Soc.* Vol. 20, No 4, 1998.

MARIEB, E.N.; *Human Anatomy & Physiology*. 6ª ed. Benjamin/Cummings, 2003.

MARTIN, J.H. in KANDEL, E; SCHWARTZ, J and JESSELL, T. *Principles of neural science*. 3ª ed. Elsevier, 1991.

McNALLY, G.P. and CARRIVE, P. A telemetric examination of cardiovascular function during the development of, and recovery from, opiate dependence in rats. *Physiology & Behavior* 88, 55 – 60, 2006.

MEISS, R. A.; *Medical Physiology*. 2 ed. Lippincott Williams & Wilkins. Capítulos 8, 9. 2003.

METTINGVANRIJN, A.C.; PEPPER, A. and GRIMBERGEN, C.A. High-quality recording of bioelectric events - Part 2: Low-noise, low-power multichannel amplifier design. *Medical & Biological Engineering & Computing*. n. 29(Jul.), p. 433-440, 1991.

MORAN, M. M.; ROY, R.R.; WADE, C.E. et al. Size constraints of telemeters in rats. *Journal of Applied Physiology* 85: 1564 – 1571, 1998.

MORITANI, T. and YOSHITAKE, Y. The use of electromyography in applied physiology. *Journal of Electromyography and Kinesiology* 8 363–381, 1998.

NESTOR, D.E.; NELSON, R.M.; Avaliação eletrofisiológica: uma revisão in CURRIER, D.P.; HAYES, K.W.; NELSON, R.M. Eletroterapia clínica. 3ª ed. São Paulo, Manole, 2003.

PEACHEY, N. S.; STANTON, J. B. and MARMORSTEIN, A. D. Noninvasive recording and response characteristics of the rat dc-electroretinogram. *Visual Neuroscience*. 19, 693–701. 2002.

PEDERIVA, C.N. Etógrafo: *Um Sistema de Auxílio ao Registro e à Análise Comportamental*. Florianópolis, 2005. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina.

PILZ, P.K.D.; OEDEKOVEN, C.; Frequency of the 22 kHz call of rats is modulated by the rhythm of the heart rate. *Physiology & Behavior*, Vol. 57, n.2, pp. 325-330, 1995.

PRUDIAN, F.; GANTENBEIN, M.; PELISSIER, A.L. et al. Daily rhythms of heart rate, temperature and locomotor activity are modified by anaesthetics in rats: a telemetry study. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 355:774-778, 1997.

RIEMANN, A.I. and EVANS, N.E. The incidence of radio-frequency impulsive noise within hospital buildings: Initial measurements in the 450 MHz band. *Med. Eng. Phys.* 21:569–574, 1999.

ROOKE, T.W.; SPARKS, H.V.; *Medical Physiology*. 2 ed. Lippincott Williams & Wilkins. Capítulo 13, 2003.

SALVATORI, V.; SKIDMORE, A.K.; CORSI, F. et al. Estimating temporal independence of radio-telemetry data on animal activity. *J. Theor. Biol.* 198(4):567–574, 1999.

SANTIC, A.; Theory and application of diffuse infrared biotelemetry. *Crit.l Rev. Biomed.Eng.* 18(4):289–309, 1991.

SANTOS JUNIOR, J.L.L.; PEREIRA, M.M. and SOVIERZOSKI, M.A. Sistema de Desenvolvimento de Baixo Custo para Controle Digital e Processamento de Sinais Baseado na Arquitetura da Família MSP430. In: VIII PIBIC - *Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica CEFET-PR, 2003, Curitiba. Anais do VIII PIBIC - Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica CEFET-PR/CNPq, 2003.* p. 176-179.

SHAW, F.; LAI, C. L. and CHIU, T. H. A low noise flexible integrated system for recording and analysis of multiple electrical signals during sleep-wake states in rats. *Journal of Neuroscience Methods.* 118;77-87. 2002.

SILVERTHORN, D.U. *Fisiologia Humana: Uma abordagem integrada.* 2ª ed. Manole, 2003.

SIMON, N.; VIDAL, J.; MOUCHET, J. and BRUGGEROLE, B. Lack of daily rhythms major modifications despite continuous infusion of melatonin in the rat. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 25, 285–288, 2002.

SPENCE, A. P.; *Anatomia humana básica.* 2ª ed. Manole, 1991.

STOTTS, L.J.; INFINGER, K.R.; BABKA J. et al. An 8-bit Microcomputer with Analog Subsystems for Implantable Biomedical Application. *IEEE JOURNAL OF SOLID-STATE CIRCUITS*, VOL. 24, NO. 2, Abril 1989.

SUNDSTRÖM, L. F.; GRUBER, S. M.; CLERMONT, S. M. et al. Review of elasmobranch behavioral studies using ultrasonic telemetry with special reference to the lemon shark, *Negaprion brevirostris*, around Bimini Islands, Bahamas. *Environ. Biol. Fishes* 60:225–250, 2001.

THAKOR, N.V. and TONG, S. Advances in Quantitative Electroencephalogram Analysis Methods. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 6:453-95, 2004.

Texas Instruments, <http://www.texasinstruments.com>.

TIMO-IARIA, C. Sistema Nervoso. Seção III. Fisiologia Básica. Editora M. M. Aires. Ed. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro. 21-300, 1985.

TONG, S.; BEZERIANOS, A.; PAUL, J. et al. Removal of ECG interference from the EEG recordings in small animals using independent component analysis. *Journal of Neuroscience Methods*. 108:11-17. 2001.

TSUCHIDA, Y.; HAMA, N. and TAKAHATA, M. An optical telemetry system for underwater recording of electromyogram and neuronal activity from non-tethered crayfish. *Journal of Neuroscience Methods* 137, 103–109, 2004.

Using the SPI protocol. Acessado de http://avrhelp.mcselec.com/Using_the_SPI_protocol.html; Acesso feito em 25/04/2006.

VALDASTRI, P.; MENCIASSI, A.; ARENA, A. et al. An Implantable Telemetry Platform System for In Vivo Monitoring of Physiological Parameters *IEEE TRANS. INF TECHNOL BIOMED*, 8: 271-278, 2004

VOEGELI, F.A.; SMALE, M.J.; WEBBER, D.M. et al. Ultrasonic telemetry tracking and automated monitoring technology for sharks. *Environ. Biol. Fishes* 60:267–281, 2001.

VYSSOTSKI, A. L.; SERKOV, A. N.; ITSKOV, P. M. et al. Miniature Neurologgers for Flying Pigeons: Multichannel EEG and Action and Field Potentials in Combination with GPS Recording. *J Neurophysiol*. 95:1263-1273. 2006.

WANG, L.; JOHANNESSEN, E.; HAMMOND, P.A. et al. A Programmable Microsystem Using System-on-Chip for Real-time Biotelemetry. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 52, No. 7, July 2005

WEBSTER, J.G. *Medical Instrumentation - Application and Design*. 2. ed. Houghton Mifflin, Boston (1992).

WELLER, C. Modulation scheme suitable for infrared biotelemetry. *Electron. Lett.* 21(14):601–602, 1985.

WIDMAIER E.P.; RAFF, H. and STRANG, K.T. *Vander's Human Physiology: The mechanisms of body function*. 10^a ed. McGraw-Hill, 2006.

WOLCOTT, T.G. New options in physiological and behavioral ecology through multichannel telemetry. *J. Exp. Marine Biol. Ecol.* 193:257-275, 1995.

ANEXOS

Anexo 1

Tabela A1 1 - Relação entre o Valor Decimal e Resistência do AD5204 para cálculo do ganho no AD620

Potenciômetro Digital AD5204		
Valor decimal	Resistência 10K	Resistência 100K
0	45	391
1	84	782
2	123	1173
3	162	1564
4	201	1955
5	240	2346
6	279	2737
7	318	3128
8	357	3519
9	396	3910
10	435	4301
11	474	4692
12	513	5083
13	552	5474
14	591	5865
15	630	6256
16	669	6647
17	708	7038
18	747	7429
19	786	7820
20	825	8211
21	864	8602
22	903	8993
23	942	9384
24	981	9775
25	1020	10166
26	1059	10557
27	1098	10948
28	1137	11339
29	1176	11730
30	1215	12121
31	1254	12512
32	1293	12903

33	1332	13294
34	1371	13685
35	1410	14076
36	1449	14467
37	1488	14858
38	1527	15249
39	1566	15640
40	1605	16031
41	1644	16422
42	1683	16813
43	1722	17204
44	1761	17595
45	1800	17986
46	1839	18377
47	1878	18768
48	1917	19159
49	1956	19550
50	1995	19941
51	2034	20332
52	2073	20723
53	2112	21114
54	2151	21505
55	2190	21896
56	2229	22287
57	2268	22678
58	2307	23069
59	2346	23460
60	2385	23851
61	2424	24242
62	2463	24633
63	2502	25024
64	2541	25415
65	2580	25806
66	2619	26197
67	2658	26588
68	2697	26979
69	2736	27370
70	2775	27761
71	2814	28152

72	2853	28543
73	2892	28934
74	2931	29325
75	2970	29716
76	3009	30107
77	3048	30498
78	3087	30889
79	3126	31280
80	3165	31671
81	3204	32062
82	3243	32453
83	3282	32844
84	3321	33235
85	3360	33626
86	3399	34017
87	3438	34408
88	3477	34799
89	3516	35190
90	3555	35581
91	3594	35972
92	3633	36363
93	3672	36754
94	3711	37145
95	3750	37536
96	3789	37927
97	3828	38318
98	3867	38709
99	3906	39100
100	3945	39491
101	3984	39882
102	4023	40273
103	4062	40664
104	4101	41055
105	4140	41446
106	4179	41837
107	4218	42228
108	4257	42619
109	4296	43010
110	4335	43401

111	4374	43792
112	4413	44183
113	4452	44574
114	4491	44965
115	4530	45356
116	4569	45747
117	4608	46138
118	4647	46529
119	4686	46920
120	4725	47311
121	4764	47702
122	4803	48093
123	4842	48484
124	4881	48875
125	4920	49266
126	4959	49657
127	4998	50048
128	5037	50439
129	5076	50830
130	5115	51221
131	5154	51612
132	5193	52003
133	5232	52394
134	5271	52785
135	5310	53176
136	5349	53567
137	5388	53958
138	5427	54349
139	5466	54740
140	5505	55131
141	5544	55522
142	5583	55913
143	5622	56304
144	5661	56695
145	5700	57086
146	5739	57477
147	5778	57868
148	5817	58259
149	5856	58650

150	5895	59041
151	5934	59432
152	5973	59823
153	6012	60214
154	6051	60605
155	6090	60996
156	6129	61387
157	6168	61778
158	6207	62169
159	6246	62560
160	6285	62951
161	6324	63342
162	6363	63733
163	6402	64124
164	6441	64515
165	6480	64906
166	6519	65297
167	6558	65688
168	6597	66079
169	6636	66470
170	6675	66861
171	6714	67252
172	6753	67643
173	6792	68034
174	6831	68425
175	6870	68816
176	6909	69207
177	6948	69598
178	6987	69989
179	7026	70380
180	7065	70771
181	7104	71162
182	7143	71553
183	7182	71944
184	7221	72335
185	7260	72726
186	7299	73117
187	7338	73508
188	7377	73899

189	7416	74290
190	7455	74681
191	7494	75072
192	7533	75463
193	7572	75854
194	7611	76245
195	7650	76636
196	7689	77027
197	7728	77418
198	7767	77809
199	7806	78200
200	7845	78591
201	7884	78982
202	7923	79373
203	7962	79764
204	8001	80155
205	8040	80546
206	8079	80937
207	8118	81328
208	8157	81719
209	8196	82110
210	8235	82501
211	8274	82892
212	8313	83283
213	8352	83674
214	8391	84065
215	8430	84456
216	8469	84847
217	8508	85238
218	8547	85629
219	8586	86020
220	8625	86411
221	8664	86802
222	8703	87193
223	8742	87584
224	8781	87975
225	8820	88366
226	8859	88757
227	8898	89148

228	8937	89539
229	8976	89930
230	9015	90321
231	9054	90712
232	9093	91103
233	9132	91494
234	9171	91885
235	9210	92276
236	9249	92667
237	9288	93058
238	9327	93449
239	9366	93840
240	9405	94231
241	9444	94622
242	9483	95013
243	9522	95404
244	9561	95795
245	9600	96186
246	9639	96577
247	9678	96968
248	9717	97359
249	9756	97750
250	9795	98141
251	9834	98532
252	9873	98923
253	9912	99314
254	9951	99705
255	9990	100096

Anexo 2

Lista de Componentes utilizados e suas respectivas dimensões:

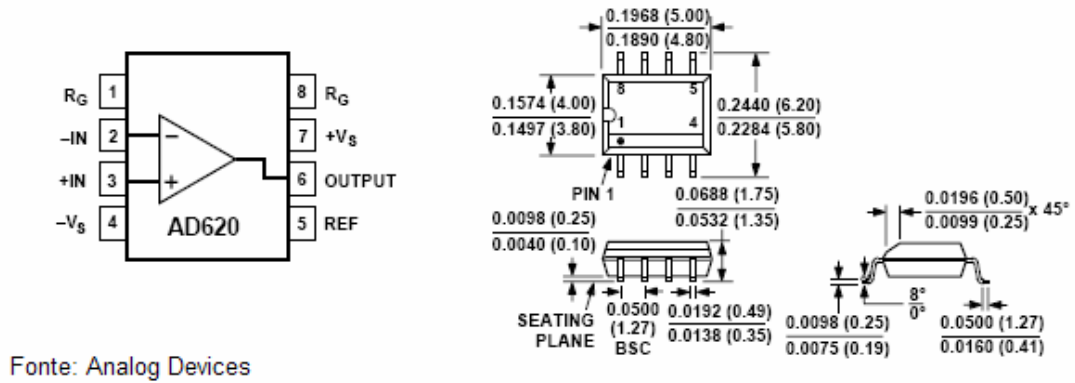


Figura A2 1 - Diagrama funcional e dimensões do AD620

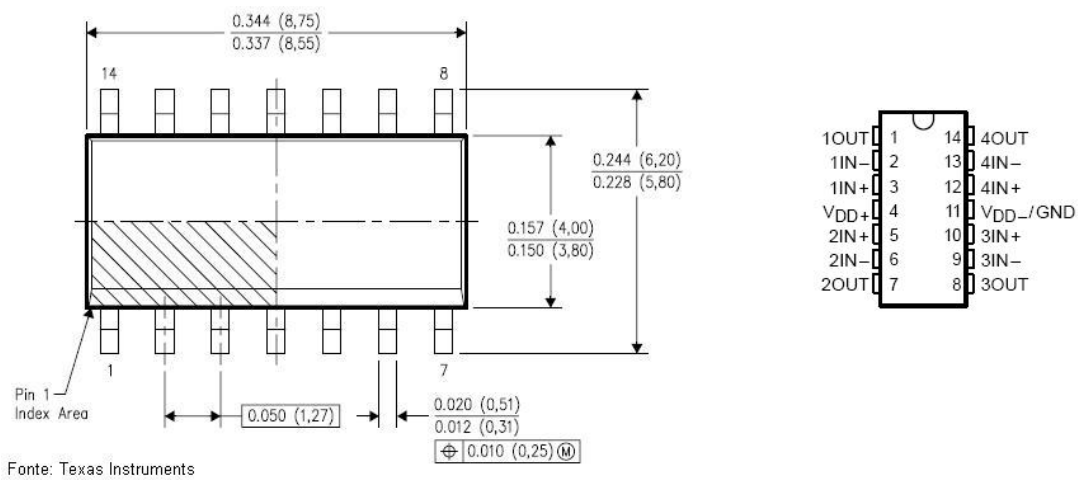
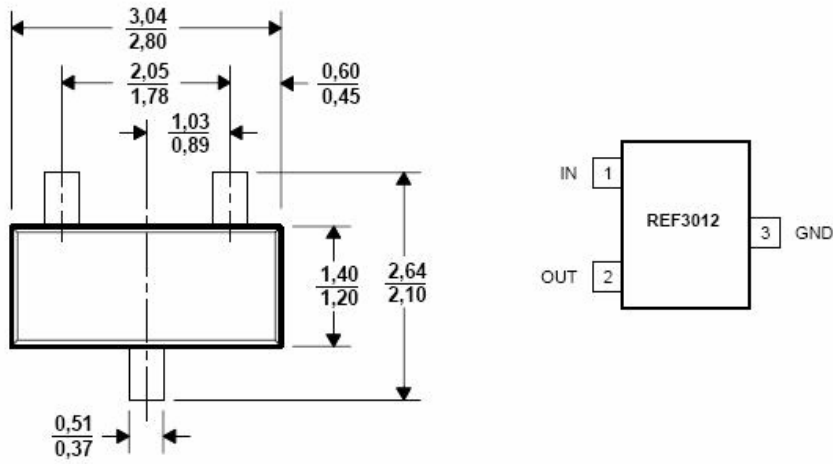
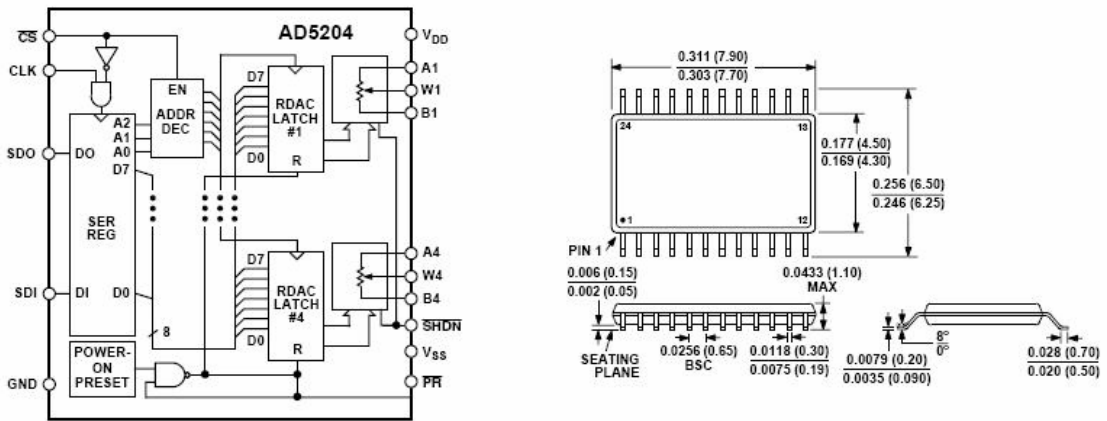


Figura A2 2- Pinagem e dimensões do TLC2254



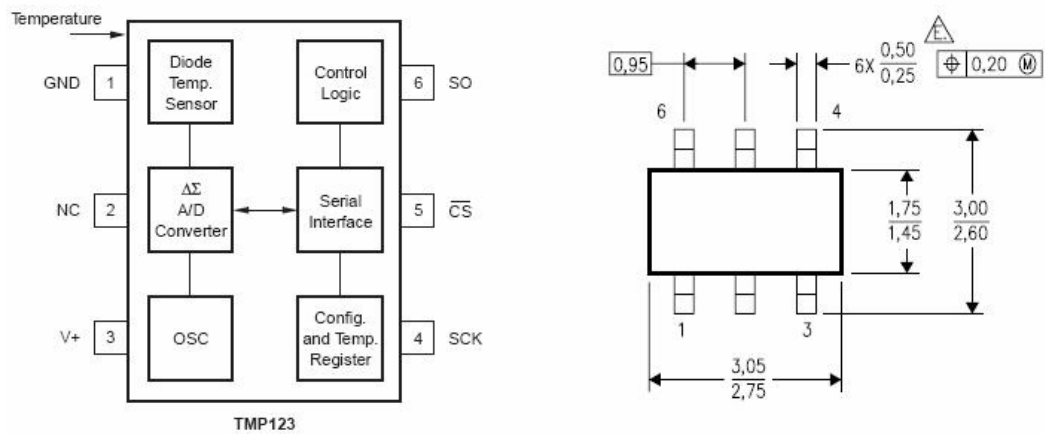
Fonte: Texas Instruments

Figura A2 3 - Pinagem e dimensões do REF3012 (Dimensões em mm)



Fonte: Analog Devices

Figura A2 4 - Funcional e dimensões do AD5204 (Dimensões em mm)



Fonte: Texas Instruments

Figura A2 5 - Diagrama funcional e dimensões do TMP123 (Dimensões em mm)

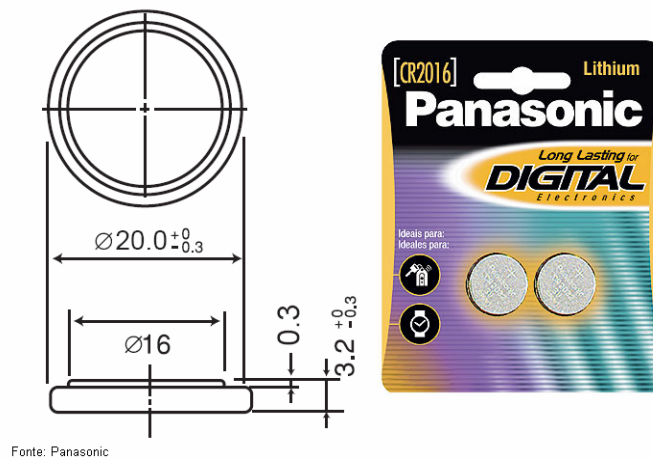
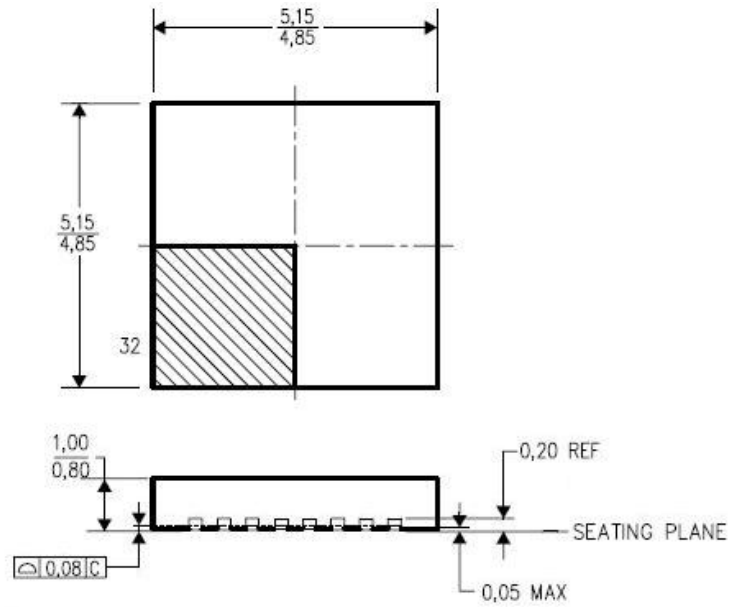
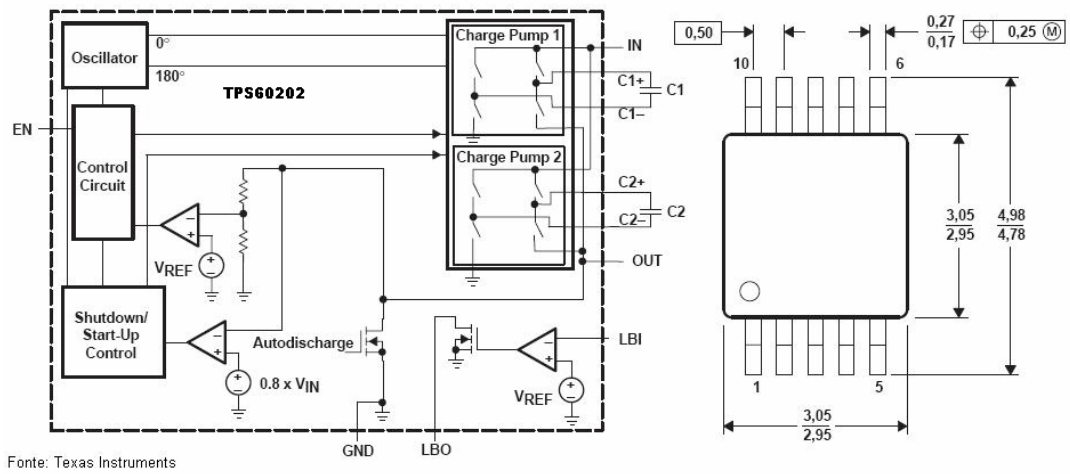


Figura A2 6 - Dimensões e modelo da bateria (Dimensões em mm)



Fonte: Texas Instruments

Figura A2 7 - Dimensões MSP4301232 (Dimensões em mm)



Fonte: Texas Instruments

Figura A2 8 - funcional do TPS60202 (Dimensões em mm)

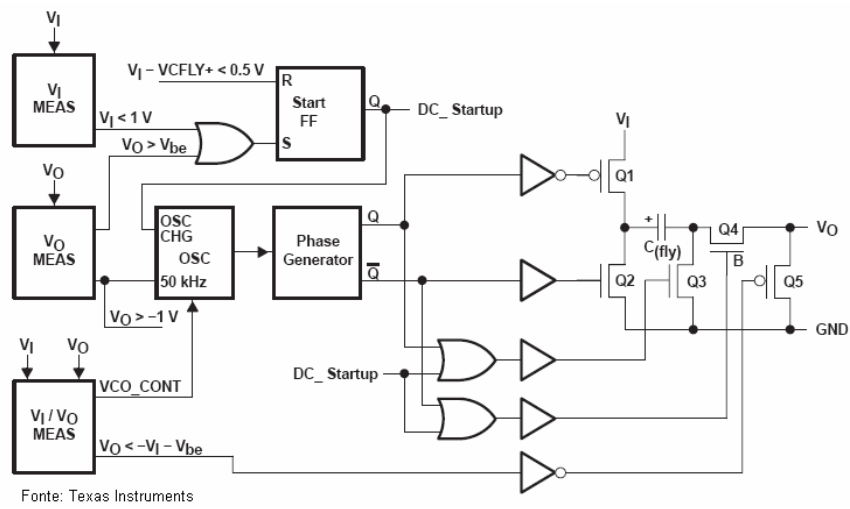


Figura A2 9 - Diagrama funcional do TPS60401

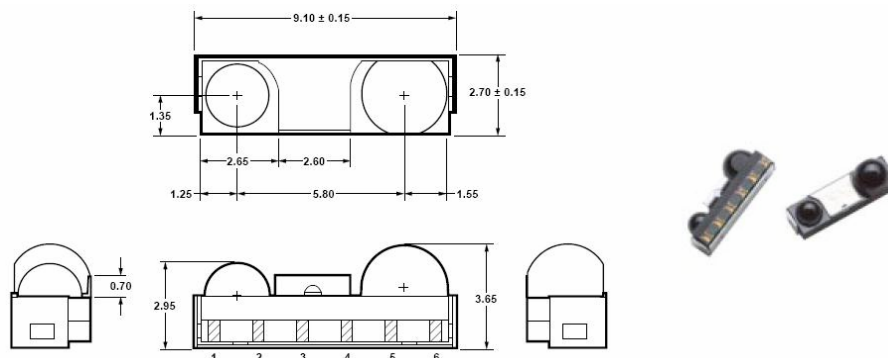


Figura A2 10 - Dimensões do HSDL3000 (Dimensões em mm)