

JULIANO AUGUSTO NASCIMENTO LEITE

**ETOFISIÓGRAFO: REGISTRO E ANÁLISE DE
VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E
COMPORTAMENTAIS SINCRONIZADAS**

FLORIANÓPOLIS

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM ENGENHARIA ELÉTRICA**

**ETOFISIÓGRAFO: REGISTRO E ANÁLISE DE
VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E
COMPORTAMENTAIS SINCRONIZADAS**

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

JULIANO AUGUSTO NASCIMENTO LEITE

Florianópolis, Agosto de 2006.

ETOFISIÓGRAFO: REGISTRO E ANÁLISE DE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS SINCRONIZADAS

Juliano Augusto Nascimento Leite

‘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.’

Prof. José Marino Neto, Dr.

Orientador

Prof. Nelson Sadowski, Dr.

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica

Banca Examinadora:

Prof. José Marino Neto, Dr.

Presidente

Prof. Raimes Moraes, Dr.

Prof^a. Anita Maria da Rocha Fernandes, Dra.

Prof. Edison Sanfelice André, Dr.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais:

Adail

Maria Helena

Meu irmão:

João Paulo

Minha namorada:

Daiana

Aos meus avós e padrinhos:

Maria José

Álvaro Augusto (in memorian)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me permitiu estar aqui e traçar este caminho que tanto almejei.

Em especial, agradeço a minha família: meu pai Adail, minha mãe Maria Helena e meu irmão João Paulo que sempre foram os maiores incentivadores e participantes de todas minhas derrotas e vitórias, e sempre estiveram ao meu lado com palavras de incentivo e alegria. Também, agradeço minha madrinha e avó Maria José, e meu avô e padrinho Álvaro (*in memoriam*), que participaram e contribuíram de maneira significativa para minha educação. Porque, todos foram além de suas possibilidades e me ajudaram e ainda ajudam a crescer e ser um homem honesto em todos os momentos de minha vida, estes eu carrego todo meu amor por eles e estão em meus pensamentos todo o tempo.

Agradeço também meus amigos, os quais contribuíram, em muito, por tudo que sou hoje, que seguiram o sentido real da palavra amizade, entre eles: Marquinho, Léo, Helder, Rykio e Caruso, que estão, apesar da distância, sempre presentes.

Agradeço as pessoas que conheci em Florianópolis, desde o primeiro dia em que aqui cheguei. César e baiano pela acolhida e amizade. E a toda a república que viemos a criar (Rep. Do Macaco Molhado), e que desta surgiram bons tempos e grandes amizades: Celsão, Fabão, Bisna, Dú, Salsicha, Jarbas, Tiririca e ao Pedrão que junto comigo ajudou a realizar este trabalho. E todas as amizades conquistadas neste período, toda a turma do “Sempre Fiz Churrasco”.

Agradeço a todas as pessoas do Instituto de Engenharia Biomédica (IEB/UFSC) que ajudaram a contribuir para o meu trabalho e muitos se tornaram bons amigos. Ao Miguel pela atenção em ensinar, a Viviane que ajudou em dúvidas de programação, ao Euler pelo bom humor e a Dani pelas horas de conversa. Agradeço a Bia, que sempre me ajudou a resolver os problemas do dia-a-dia e tornou-se uma grande amiga.

Agradeço ao pessoal da Neurofisiologia, onde podemos realizar nossos testes e agregar conhecimentos em uma área em que os profissionais mostraram-se sempre prestativos e amigos para ajudar em nossos experimentos, relacionados a este trabalho: Dudu Garoto, Alexandre, Bruninho, Murilo e todo o “Banco da Fisiologia”.

Agradeço a pessoa mais importante que conheci neste meu tempo de mestrado e que hoje se faz umas das mais importantes da minha vida: Daiana, minha namorada. A pessoa que foi, é e será sempre a companheira ideal, que esteve ao meu lado todo o tempo, ajudando em tudo o que foi possível e impossível em meu mestrado, minha vida e meu trabalho. Também agradeço a Seu Italo, Dona Nida e a Tati, que me acolheram e me trataram como filho e irmão, quando eu mais precisei. A essa família todo meu carinho.

Agradeço a meu orientador, José Marino Neto, que atuou com todo apoio para minha pesquisa, que me ensinou como ser um bom pesquisador, através da verdade e honestidade. Que me mostrou uma outra área do conhecimento, que de certa forma fez expandir meus horizontes e com isso abrir novas idéias e caminhos a serem seguidos.

"Ninguém pode construir em teu lugar as pontes que precisarás passar para atravessar o rio da vida - ninguém, exceto tu, só tu. Existem, por certo, atalhos sem números, e pontes, e semideuses que se oferecerão para levar-te além do rio; mas isso te custaria a tua própria pessoa; tu te hipotecarias e te perderias. Existe no mundo um único caminho por onde só tu podes passar. Onde leva? Não perguntes, segue-o".-Nietzsche

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

ETOFISIÓGRAFO: REGISTRO E ANÁLISE DE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS SINCRONIZADAS

Juliano Augusto Nascimento Leite

Agosto/2006

Orientador: José Marino Neto, Dr.

Área de Concentração: Engenharia Biomédica.

Palavras-chave: Registro, aquisição, análise, sincronismo, comportamento, dados fisiológicos.

Número de Páginas: 103.

RESUMO:

A análise dos comportamentos animais e de seus substratos neurais dependem de metodologias sistemáticas para classificação, registro e análise das diversas categorias comportamentais emitidas. O registro simultâneo de dados comportamentais e parâmetros fisiológicos é interessante, pois permite correlacionar a expressão externa do animal com mudanças funcionais subjacentes. Para a realização desses registros simultâneos, propôs-se um sistema que realiza o armazenamento de sinais fisiológicos e sinais de imagem (vídeo digital), o sincronismo destes sinais e ferramentas para análise dos mesmos pelo usuário. Um módulo para aquisição de variáveis fisiológicas foi acoplado a instrumentos digitais de registros comportamentais (*webcam*), permitindo a associação dos sinais de vídeo com dados de temperatura corporal e registros eletrográficos (ECG, EEG, EMG). A análise comportamental é realizada por um módulo já existente, o Etógrafo, e associada aos outros módulos, concretizando um sistema que realiza a integração e análise dos sinais de imagem e sinais fisiológicos: o Etofisiógrafo. O desenvolvimento deste sistema possibilitou a realização do sincronismo temporal entre os sinais, de forma a permitir a análise do relacionamento entre os fenômenos comportamentais e fisiológicos emitidos pelo animal.

Este sistema oferece ferramentas interativas (*e.g.* filtros, decomposição espectral, frequência cardíaca instantânea e cálculo do RMS – *Root Mean Square* relacionado aos sinais eletromiográficos) para a análise dos dados adquiridos. Dessa forma, permite-se ao usuário a obtenção de resultados mais consistentes sobre os efeitos comportamentais das manipulações farmacológicas, neurais e/ou ambientais causadas no animal durante o experimento. Assim, o usuário dispõe da visualização dos sinais sincronizados e ferramentas subjacentes, além de ter acesso a um relatório final possibilitando maior consistência à análise etológica.

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

ETHOPHYSIOGRAPH: RECORD AND ANALYSIS OF SYNCHRONIC PHYSIOLOGICAL AND BEHAVIORAL VARIABLES

Juliano Augusto Nascimento Leite

August/2006

Advisor: José Marino Neto, PhD.

Area of Concentration: Biomedical Engineering

Keywords: Recording, acquisition, analysis, synchronism, behavior, physiological data.

Number of Pages: 103.

ABSTRACT:

Behavioral analysis in animals and the study of their neural basis depend on systematic methodologies for classification, recording and analysis of the several behavioral categories emitted. The simultaneous recording of behavioral data and of physiological parameters allows correlation between the animal's external expression with the underlying functional changes. For the accomplishment of these simultaneous recordings, a system that store physiological and image signals (digital video), signals' synchronism and tools for analysis by user was proposed. A module for acquisition of physiological variables was connected in digital instruments for behavioral recordings (webcams), allowing for the synchronization of associate the video signals with body temperature data and physiological data (*e.g.* ECG, EEG, EMG). The behavioral analysis is carried out through of Ethograph, and is associated to the system that perform integration of physiological and image data: the Ethophysigraph. This system made it possible the temporal synchronism between the signals to study the relationship between the behavioral and physiological phenomena emitted by the animal. The system offers tools (*e.g.* digital filters, spectral decomposition, heart rate and RMS calculation – Root

Mean Square related to the electromyographical signals) for the acquired data analysis. Thus, the user makes use of synchronized signals and underlying tools visualization, besides to access a final report that make possible a bigger consistency to the ethologic analysis.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
1.1. OBJETIVOS	5
1.1.1. OBJETIVO GERAL	6
1.1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
1.2. JUSTIFICATIVA	6
1.3. VISÃO GERAL DO SISTEMA ETOFISIÓGRAFO	8
1.4. DEFINIÇÃO DO ESCOPO	11
1.5. ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO	11
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
2.1. MÉTODOS DE ANÁLISE COMPORTAMENTAL	13
2.2. CARACTERÍSTICAS DE SISTEMAS EM INSTRUMENTAÇÃO BIOMÉDICA	19
2.3. PROCESSAMENTO DIGITAL DE SINAIS	19
2.3.1. FILTRAGEM	20
2.3.2. TIPOS DE FILTROS DIGITAIS	21
2.4. ANÁLISE ESPECTRAL DOS SINAIS FISIOLÓGICOS (ECG, EEG E EMG)	25
2.4.1. ESTIMAÇÃO DA PSD ATRAVÉS DO MODELAMENTO AUTORREGRESSIVO	25
2.5. SISTEMAS DE CORES EM IMAGEM	28
2.5.1. LUMINÂNCIA E CROMATICIDADE	29
2.6. OS SINAIS REGISTRADOS PELO ETOFISIÓGRAFO	30
2.6.1. ELETROCARDIOGRAMA	31
2.6.2. ELETROENCEFALOGRAMA	33
2.6.3. ELETROMIOGRAMA	35
2.6.4. TEMPERATURA	36
3. MATERIAIS E MÉTODOS	37
3.1. COMUNICAÇÃO COM O COMPUTADOR	37
3.1.1. SISTEMA OPERACIONAL UTILIZADO	37
3.1.2. LINGUAGEM DE PROGRAMAÇÃO	38
3.1.3. INTERFACE USB	38
3.1.4. PROTOCOLO DE COMUNICAÇÃO	38

3.2. IMPLEMENTAÇÃO DO SOFTWARE	42
3.2.1. IMPLEMENTAÇÃO DO SOFTWARE DE AQUISIÇÃO DE SINAIS BIOELÉTRICOS	43
3.2.2. PROCEDIMENTOS DE CALIBRAÇÃO DOS SINAIS BIOELÉTRICOS – TEMPERATURA	49
3.2.3. ORGANIZAÇÃO DO MÓDULO DE AQUISIÇÃO DOS SINAIS BIOELÉTRICOS.....	53
3.2.4. SINCRONISMO ENTRE OS SINAIS	54
3.2.5. PROCESSAMENTO E TRATAMENTO DE SINAIS	64
3.2.6. INTEGRAÇÃO ETOFISIÓGRAFO E ETÓGRAFO	68
4. RESULTADOS	74
4.1. TESTES DE AQUISIÇÃO DOS DADOS FISIOLÓGICOS	74
4.2. TESTES DE AQUISIÇÃO DE VÍDEO.....	75
4.3. TESTES DE SINCRONISMO	75
4.3.1. DETECÇÃO DO SINAL DE SINCRONISMO VISUAL	75
4.3.2. SINCRONISMO ENTRE OS SINAIS DE VÍDEO E FISIOLÓGICOS	76
4.4. TESTES DE AVALIAÇÃO DOS SINAIS FISIOLÓGICOS <i>In Vivo</i>	78
4.4.1. TESTE DE COMPARAÇÃO ENTRE ETOFISIÓGRAFO E BIOPAC	78
4.4.2. TESTE DE AVALIAÇÃO DO ETOFISIÓGRAFO EM RATOS	82
4.4.3. TESTE DE AVALIAÇÃO DO ETOFISIÓGRAFO EM SINCRONISMO COM O ETÓGRAFO85	
5. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	88
6 DESENVOLVIMENTOS FUTUROS.....	93
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
ANEXO A.....	102
ANEXO B.....	116
ANEXO C.....	117

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: Visão Geral do Sistema Etofisiógrafo.....	8
Figura 1.2: Diagrama em Blocos do Hardware do Módulo Remoto.....	10
Figura 1.3: Diagrama em Blocos do Módulo Base	10
Figura 1.4: Diagrama em Blocos do Escopo do Software.....	11
Figura 2.1: Laboras – Caracteriza diferentes categorias comportamentais.....	18
Figura 2.2: Etógrafo – Registro Comportamental em Vídeo.....	19
Figura 2.3: Janela de Hamming, Janela de Hanning e Janela Retangular	23
Figura 2.4: Quantidades RGB para reproduzir as cores do espectro visível.....	29
Figura 2.5: Coração Humano – Anatomia Interna	32
Figura 2.6: Representação de um eletrocardiograma (ECG).....	33
Figura 2.7: Amostra de 50 segundos do sinal de EEG.....	34
Figura 2.8: Amostra de três segundos de um sinal de EMG.	36
Figura 3.1: Protocolo de transmissão dos sinais de ECG, EEG, EMG e temperatura	40
Figura 3.2: Tela do Etofisiógrafo exibindo a perda de pacotes.....	41
Figura 3.3: Máquina de Estados para Interpretação dos pacotes recebidos pela USB.....	42
Figura 3.4: Diagrama de blocos de funcionamento das <i>threads</i> desenvolvidas.....	44
Figura 3.5: Tela de Inicialização do Etofisiógrafo	45
Figura 3.6: Tela de escolha da quantidade de canais e os sinais atribuídos a cada canal.....	46
Figura 3.7: Tela de visualização e registro dos sinais fisiológicos e Temperatura	47
Figura 3.8: Tela de visualização do armazenamento dos sinais fisiológicos	49
Figura 3.9: Gráfico para extrair as equações para calibrar os sinais bioelétricos.....	51
Figura 3.10: Tela para a obtenção da calibração dos sinais.....	53
Figura 3.11: Diagrama de blocos do software de aquisição dos sinais bioelétricos.....	54
Figura 3.12: Diagrama de visão geral do sistema em relação às bases de tempo	55

Figura 3.13: Tempos de propagação no sistema de aquisição de sinais bioelétricos	57
Figura 3.14: Diagrama da visão geral da aquisição de imagem	57
Figura 3.15: Tempos dos componentes do sistema de aquisição de imagens	58
Figura 3.16: Visão geral do sincronismo	60
Figura 3.17: <i>Frames</i> do vídeo.	62
Figura 3.18: Tela de sincronismo do Etofisiógrafo.	63
Figura 3.19: Diagrama de blocos da identificação dos sinais e de sincronismo	64
Figura 3.20: Tela da realização de tratamento dos sinais de ECG, EMG e EEG	66
Figura 3.21: Tela de registro comportamental de vídeo digital gravado (Etógrafo)	69
Figura 3.22: Tela de registro diretamente do ambiente (Etógrafo).	70
Figura 3.23: Tela do Etofisiógrafo e suas funcionalidades.	71
Figura 3.24: Diagrama de blocos do Etofisiógrafo e Etógrafo	73
Figura 4.1: Teste de aquisição do sinal de vídeo	75
Figura 4.2: Distâncias e localização do LED na arena – sincronismo	76
Figura 4.3: Teste de Sincronismo.	77
Figura 4.4: Conexão Simultânea dos Equipamentos de Aquisição em ratos.	78
Figura 4.5: Comparação dos Sinais de ECG.	79
Figura 4.6: Comparação dos Sinais de EMG.	80
Figura 4.7: Filtragem do Sinal de ECG.	81
Figura 4.8: Espectro de frequência de um sinal de ECG	81
Figura 4.9: Etapa de filtragem utilizando filtro FIR	82
Figura 4.10: Realização do Registro e Aquisição de Sinais Fisiológicos.	84
Figura 4.11: Tela de análise dos sinais fisiológicos adquiridos do animal.	85
Figura 4.12: Teste de avaliação do Etofisiógrafo em sincronismo com o Etógrafo	86
Figura 4.13: Análise Comportamental e de Sinais Fisiológicos em Sincronismo	87

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Comparativo entre sistemas comerciais em relação ao Etofisiógrafo	4
Tabela 2.1: Faixas de Frequência de Sinais Bioelétricos.....	21
Tabela 3.1: Eventos de transmissão de sinais bioelétricos e tempos de propagação.....	56
Tabela 3.2: Eventos de transmissão de imagem com seus tempos de propagação.....	58
Tabela 3.3: Algoritmos para quantificar os sinais bioelétricos analisados.....	66
Tabela 4.1: Desempenho da Aquisição de amostras dos Dados Fisiológicos	74
Tabela 4.2: Análise de Desempenho do sincronismo entre os sinais.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS

.DAT	Arquivo de dados
ADC	<i>Analog-to-Digital Converter</i>
AmpOp	Amplificador Operacional
API	<i>Application Program Interface</i>
AV	Nodo Atrioventricular
AVI	<i>Audio/Video Interleaved</i>
BitBIT	<i>Bit Block Transfer</i>
BMP	<i>Bitmap</i>
CCB	Centro de Ciências Biológicas
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CFS	Departamento de Ciências Fisiológicas
CIE	<i>Commission Internationale de L'eclairage</i>
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
DC	<i>Direct Current</i>
ECG	Eletrocardiograma
EEG	Eletroencefalograma
EMG	Eletromiograma
EOG	Eletrooculograma
f_c	Frequência de corte
f_H	<i>High Frequency</i>
FIR	<i>Finite Impulse Response</i>
f_L	<i>Low Frequency</i>
fps	<i>Frames per second</i>
FTDI	<i>Future Technology Devices International Ltd.</i>
G32	<i>Graphics 32</i>

HBM	<i>Hottinger Baldwin Messtechnik</i>
IEB	Instituto de Engenharia Biomédica
IIR	<i>Infinite Impulse Response</i>
IR	<i>Infrared</i>
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
LNfC	Laboratório de Neurofisiologia Comparada
MB	Módulo Base
Mbps	Mega bits por segundo
MPEG	<i>Moving Picture Experts Group</i>
MR	Módulo Remoto
MS	<i>Microsoft</i>
MUAP	Potencial de Ação da Unidade Motora
NTSC	<i>National Television Standards Committee</i>
PSD	<i>Power Spectral Density</i>
RAM	<i>Random Access Memory</i>
RGB	<i>Red Green Blue</i>
RMS	<i>Root Mean Square</i>
SA	Nodo Sinoatrial
SME	Sinal Mioelétrico
SNC	Sistema Nervoso Central
SO	Sistema Operacional
sps	<i>Samples per Second</i>
UART	<i>Universal Asynchronous Receiver–Trasmitter</i>
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
UML	<i>Unified Modeling Language</i>
USB	<i>Universal Serial Bus</i>

VHS	<i>Video Home System</i>
Webcam	<i>Web Camera</i>
WMV	<i>Windows Media Video</i>

1. INTRODUÇÃO

Um dos princípios básicos do estudo do comportamento afirma que suas propriedades funcionais são determinadas pelas relações simples ou complexas entre os estímulos e as respostas de um organismo (SKINNER, 1981). As pesquisas orientadas para o estudo do comportamento permitem o acúmulo de um conjunto de dados e procedimentos, com sólida fundamentação experimental e conceitual (CATANIA, 1999). Como exemplo, a metodologia e os conceitos derivados da análise comportamental têm fornecido bases adequadas para as investigações dos mecanismos biológicos subjacentes ao comportamento. Assim, a validade do conhecimento científico sobre o comportamento, integra-se em áreas de conhecimento com caráter multidisciplinar. Dentre essas áreas, destaca-se a neurociência. Trata-se de uma área do conhecimento que integra metodologias e conceitos neurofisiológicos, psicológicos, farmacológicos, bioquímicos, anatômicos e genéticos, cujo princípio básico é que a previsão do comportamento, diante da atividade de células neurais, é determinada pelo ambiente físico e social (KANDEL, SCHWARTZ, JESSELL, 1995).

O estudo científico de comportamentos em animais, bem como de seus substratos neurais dependem de metodologias sistemáticas para classificação, registro e análise das diversas categorias comportamentais emitidas (HUTT, 1974). Através desses registros e análises, consegue-se estudar mecanismos e circuitos cerebrais que controlam a expressão dos comportamentos, após administração de substâncias neuroativas ou manipulações do tecido cerebral. Essas informações têm sido em grande parte, registradas e analisadas com o auxílio de programas de computador. Embora eficazes, os sistemas encontrados no mercado são onerosos para o investigador e/ou atendem apenas a um pequeno conjunto particular de necessidades. Geralmente o registro comportamental é feito por uma câmera de vídeo VHS (*Video Home System*) ou de vídeo digital, e o pesquisador realiza a análise do comportamento do animal com o uso de uma prancheta em que vai anotando as categorias de comportamento encontradas durante o experimento.

Existem alguns softwares, como o Espião, desenvolvido por BOSE (2003) no Laboratório de Neurofisiologia Comparada (LNfC), do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), que realizam o registro e a análise automática do comportamento locomotor e não locomotor, em animais de

laboratório. Porém, ele abrange categorias específicas de comportamento. O Etógrafo, também desenvolvido no LNfC, por PEDERIVA (2005), realiza a análise comportamental a partir de vídeo digitais. Através dos sinais de imagem (vídeo) adquiridos, o usuário pode pré-determinar diversos tipos de categorias comportamentais, sem limitações de quantidade e incluí-las através do teclado do computador, de acordo com fatos identificados durante a observação do vídeo. 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.

Existem outros softwares de análise comportamental. O Etholog (OTTONI, 2000) é uma ferramenta utilizada para o registro comportamental através de fitas de vídeo (VHS) ou análise em tempo real, e tem a capacidade de pré-determinar algumas categorias de comportamento definidas pelo usuário e gerar relatórios sobre análise do experimento realizado. O EthoVision (NOLDUS; SPINK; TEGELENBOSH, 2001) é um software de análise comportamental. Realiza o rastreamento do animal na arena, gravação automática de atividades e movimentos. Combina tecnologias de vídeo e computador, com softwares de processamento de imagem, análises de movimentos e reconhecimento de comportamentos.

Nos softwares citados (Etholog e Etho Vision), observa-se que os registros realizados não se preocupam em analisar os fenômenos fisiológicos internos (*e.g.* atividade cardiovascular, etc.) juntamente com a análise comportamental. Existem vários sistemas de aquisição de sinais bioelétricos, porém, muitos deles utilizam cabos que saem do animal e são levados até o computador ou a algum módulo receptor de sinais, provocando desconforto e nem sempre realizam uma boa aquisição dos sinais. Ruídos, artefatos de movimento, problemas que o próprio cabo pode apresentar durante a transmissão, limitação dos canais – por serem dedicados a algum tipo de sinal fisiológico – e alteração no comportamento do animal, são alguns fatores que podem interferir na aquisição dos sinais.

Dentre os softwares existentes para a análise de dados fisiológicos, cita-se o – Catman – que possui junto a ele um equipamento, o Spider 8, ambos da HBM (*Hottinger Baldwin Messtechnik* [<http://www.hbm.com>]). Este módulo fica localizado externamente

ao animal em experimento, e realiza a aquisição dos sinais bioelétricos através de cabos. Através de uma interface RS-232, os dados são enviados ao computador, e são visualizados e armazenados para análise. Outro sistema semelhante é o BIOPAC - MP100 (WPS. Inc. Sarasota, USA), hardware que realiza aquisição dos dados fisiológicos via cabo. O armazenamento, visualização, edição, análise e relatório dos dados são realizados por um software denominado Acqknowledge™. Destes softwares citados anteriormente, nenhum realiza a aquisição e armazenamento de vídeos.

Na literatura, foram encontrados poucos sistemas que realizam a aquisição de dados bioelétricos e de vídeos digitais de forma sincronizada. A unificação desses dados (fisiológicos e de vídeo) permite ao pesquisador gerar relatórios completos de análise de comportamento (vídeo) relacionado aos dados fisiológicos. Alguns desses sistemas (MARTIN; NISHIHO; ONO, 1999; RASNOW *et al.*, 1997) têm a capacidade de realizar este processo. Porém, a aquisição de vídeo é feita por câmeras analógicas e não digitais. No experimento de MARTIN; NISHIHO; ONO (1999), o software implementado é executado em um computador que recebe os dados fisiológicos de um hardware (que pode monitorar até 16 canais de sinal). Os sinais bioelétricos são adquiridos a uma taxa de 50 kbps por canal e os sinais de vídeo adquiridos a uma taxa de 30 fps. Porém, a funcionalidade deste software está restrita à análise de sinais de EEG e movimentos locomotores e não locomotores do animal.

A Tabela 1.1 apresenta um comparativo entre dois sistemas comerciais e o sistema desenvolvido, Etofisiógrafo, sendo que deste último as características serão detalhadas no decorrer no trabalho.

Para realizar experimentos nesta área, é de grande interesse o registro simultâneo de dados comportamentais e de parâmetros fisiológicos (eletrofisiológicos, térmicos e bioquímicos). Este tipo de abordagem permite a correlação entre a expressão externa do fenômeno comportamental (posturas, movimentos, estados, vocalizações, mudanças de cor, etc.) com mudanças funcionais subjacentes (*e.g.*, atividade cardiovascular, temperatura, atividade elétrica cortical), possibilitando uma melhor caracterização dos mecanismos neurais afetados por uma manipulação (*e.g.*, lesão, estimulação elétrica/química, mudanças ambientais).

Tabela 1.1: Comparativo entre os sistemas comerciais (Catman e Acqknowledge) em relação ao Etofisiógrafo

Softwares	1	2	3
Características			
Interface	RS-232	USB 1.2	USB 1.1
Calibração dos Sinais	SIM	SIM	SIM
Calibração Ganho	NÃO	SIM	SIM
Visualização dos Sinais	NÃO	SIM	SIM
Armazenamento dos Sinais Bioelétricos	SIM	SIM	SIM
Armazenamento dos Sinais de Vídeo	NÃO	NÃO	SIM
Sincronismo dos Sinais e Visualização	NÃO	NÃO	SIM
Análises específicas (e.g. filtros) dos Sinais	SIM	SIM	SIM
Análise Comportamental	NÃO	NÃO	SIM

1: Catman (HBM); 2: Acqknowledge™; 3: Etofisiógrafo.

Como regra, busca-se correlacionar aspectos comportamentais (ingestivos e outros) com fenômenos metabólicos provocados por intervenções no Sistema Nervoso Central (SNC) ou manipulações farmacológicas nos sistemas de neurotransmissão. No entanto, visando obter dados em um ou outro nível de análise, os experimentos têm sido realizados em grupos experimentais separados, com o esperado descompasso entre as análises fisiológicas e comportamentais. Sistemas telemétricos que permitam uma correlação mais precisa entre sinais corporais fisiologicamente relevantes e o comportamento observável, como o que se desenvolveu neste projeto, podem determinar um notável avanço na compreensão das relações entre estes fenômenos. Pode ser notado, conforme literatura citada, que sistemas telemétricos implantáveis têm sido cada vez mais utilizados em ratos. No entanto, o emprego destes recursos em aves ainda não foi relatado de forma sistemática; e nada se sabe sobre a viabilidade e os efeitos destes implantes nesta espécie.

Estas abordagens enfrentam, no entanto, diversas dificuldades de natureza técnica. Uma das mais importantes reside na necessidade de conciliar um registro adequado das variáveis fisiológicas (usualmente realizadas por meio de fios condutores elétricos e cateteres acoplados ao animal de experimentação) e a preservação da mobilidade normal do animal em um ambiente, a um tempo controlado e de baixa carga estressora. Além

disto, a sincronização dos registros comportamentais com os registros fisiológicos é dificultada: 1) pelas resoluções temporais diferentes entre estes fenômenos (milissegundos, dezenas de milissegundos para os fenômenos fisiológicos; segundos, dezenas de segundos para os fenômenos comportamentais) e 2) pelos diferentes métodos de aquisição dos registros (polígrafos para os fenômenos fisiológicos, anotações em papel ou registros em vídeo para os fenômenos comportamentais).

Neste projeto, desenvolveu-se um módulo de registro de variáveis fisiológicas que é acoplado a instrumentos digitais de registros comportamentais. Este acoplamento permite a associação, com grande precisão temporal, das imagens (vídeo digital) obtidas de um animal em seu ambiente experimental, com dados de temperatura corporal e registros eletrográficos (eletroencefalograma [EEG], eletrocardiograma [ECG], eletromiograma [EMG]), obtidos por telemetria.

Tendo em vista um equipamento que realize a aquisição de sinais e análise comportamental, ambos em sincronismo, foi proposta a seguinte solução: a aquisição dos sinais de vídeo seria realizada com uma *webcam*, e a análise comportamental com o Etógrafo (PEDERIVA, 2005). A aquisição dos sinais bioelétricos deu-se através de um Módulo Remoto (MR) – Etofisiógrafo – desenvolvido por GIASSI (2006), que fica implantado no animal (pombos ou ratos) e transmite dados de sinais fisiológicos, via infravermelho, a um Módulo Base (MB) que transmite as informações recebidas, através de um cabo USB (*Universal Serial Bus*) ao computador que possui o software de aquisição. Este software apresenta capacidade de armazenamento e processamento dos dados, além de estar em sincronismo com o Etógrafo. Assim, é possível que o usuário tenha acesso aos sinais de imagem e aos dados fisiológicos captados, trabalhe com estes sinais de maneira *off-line* e gere relatórios de análise mais consistentes, envolvendo a análise etológica e dos dados fisiológicos.

1.1. OBJETIVOS

Este item descreve tanto os objetivos gerais quanto os objetivos específicos propostos para esta dissertação.

1.1.1. Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho foi desenvolver um sistema para adquirir, registrar, armazenar, visualizar e analisar os dados das variáveis fisiológicas de um animal, realizando tais tarefas de forma sincronizada com a obtenção e análise de dados comportamentais através de vídeo digital, executadas por um outro módulo, já existente, denominado Etógrafo (PEDERIVA, 2005) e desenvolvido no Laboratório de Bioengenharia (IEB-UFSC).

1.1.2. Objetivos Específicos

São objetivos específicos deste trabalho:

- Desenvolver os módulos que o compõe (Módulo de aquisição e Módulo de análise de sinais fisiológicos) e acoplá-los ao módulo já existente, Etógrafo;
- Integrar outros métodos de análise comportamental a partir de vídeos digitais já desenvolvidos no LNfC, resultando em relatórios de dados fisiológicos adquiridos do animal pelo Etofisiógrafo;
- Armazenar e processar os dados, além de estar em sincronismo com o Etógrafo, possibilitando ao usuário ter acesso à imagem e dados fisiológicos captados simultaneamente;
- Ao final do desenvolvimento, ter o seu desempenho avaliado em animais de laboratório (ratos).

1.2. JUSTIFICATIVA

Devido aos avanços das pesquisas, em âmbito geral, exige-se que novas tecnologias sejam acrescentadas ao arsenal metodológico para o prosseguimento das investigações. É inexorável a necessidade do domínio de tecnologias para manter-se em condições de igualdade na competição científica (ANDERSEN *et al.*, 2001).

Soluções técnicas para o problema da sincronização entre registros comportamentais e fisiológicos têm sido propostas nos últimos anos devido ao barateamento, e aumento de velocidade e recursos dos computadores pessoais, bem como

das câmeras de vídeo digital. Uma série de sistemas que podem mesclar dados fisiológicos e sinais de vídeo tem sido descrita (FENTON; MULLER, 1996; RASNOW *et al.*, 1997; MARTIN; NISHIHO; ONO, 1999). Como regra, tais sistemas são projetados para aplicações em um conjunto restrito de situações comportamentais e fisiológicas (*e.g.*, em esquemas operantes de aprendizado, permitindo o registro e análise de potenciais unitários extracelulares), lançando mão de recursos onerosos de vídeo analógico (e sua posterior conversão *off-line* para arquivos digitais) e de placas especiais para aquisição e conversão de ambos os sinais, por meio de interface de baixa velocidade (como a interface serial RS-232).

Nos últimos anos, o desenvolvimento de câmeras digitais de baixo custo e resolução adequada para a maioria dos registros comportamentais (como as *webcams*), operando por meio de interfaces flexíveis, baratas e que permitem altas taxas de aquisição tanto de dados digitalizados quanto de imagens (como a interface USB – *Universal Serial Bus*), propiciou ferramentas que podem ser utilizadas para refinar a investigação em neurobiologia. Estas tecnologias podem permitir, por exemplo, a sincronização de dados comportamentais e fisiológicos em um único computador, com vantagens técnicas e financeiras em relação aos sistemas citados. Além disso, muitos destes recursos podem ser acoplados a ferramentas modulares de software já existentes, permitindo o seu uso em diferentes aplicações.

Especificamente neste caso, observa-se que os sistemas digitais de registros e análise comportamental não permitem a análise de dados fisiológicos (*eg.*: ECG, EEG, EMG, temperatura corporal). Os equipamentos que realizam a análise desses dados, na maioria dos casos, não atuam em conjunto com equipamentos que realizam a análise dos dados relacionados ao comportamento. Como descrito anteriormente, é importante saber como se comportam os dados fisiológicos no animal para poder utilizar informações mais precisas sobre o comportamento a ser analisado. Assim, foi desenvolvido por GIASSI (2006) um módulo de aquisição e transmissão de sinais biolétricos, via transceptor infravermelho implantado no animal em experimento, adquire esses sinais e transmite a um computador, no qual um software que foi proposto nesta dissertação registra e analisa os dados. Simultaneamente, o comportamento do animal é gravado em vídeo digital. Após o registro dos sinais fisiológicos e de vídeo, o usuário através deste software, realiza o sincronismo dos sinais (fisiológicos e de vídeo) e estes são apresentados no computador. O

pesquisador poderá analisar o experimento realizado com maior precisão. Para tanto, são disponibilizados ao usuário recursos de processamento digital para os sinais bioelétricos e a análise comportamental, em sincronismo com os dados fisiológicos, realizada pelo Etógrafo (PEDERIVA, 2005). Ao final, apresenta-se um relatório com estatísticas sobre a análise do experimento realizado.

1.3. VISÃO GERAL DO SISTEMA ETOFISIÓGRAFO

O Etofisiógrafo constitui-se de um hardware (Módulo Remoto, Módulo Base e Transceptores Infravermelho) desenvolvido por GIASSI (2006) e de um software que realiza o sincronismo dos sinais bioelétricos e de vídeo, e realiza também a análise dos sinais fisiológicos e geração de relatórios, que foram realizados nesta dissertação. A análise comportamental (sinais de vídeo digital) é realizada pelo Etógrafo (PEDERIVA, 2005). Para melhor otimização das análises, o Etógrafo foi incorporado ao Etofisiógrafo, mas estes dois módulos podem atuar em conjunto ou de forma independente.

A Figura 1.1 apresenta uma visão geral do sistema desenvolvido.

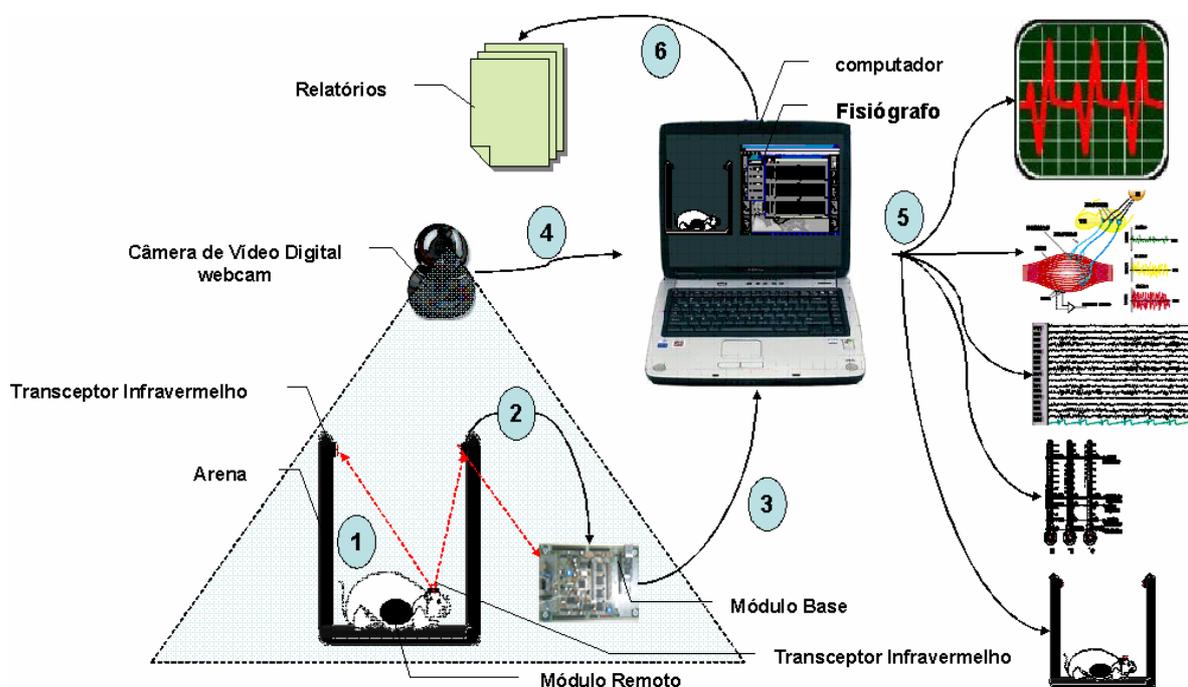


Figura 1.1: Visão Geral do Sistema Etofisiógrafo

O animal situado dentro da arena possui um módulo remoto (implantado) que transmite os sinais bioelétricos via infravermelho (item 1) para um módulo base (MB, item 2) e, através da interface USB (item 3) esses sinais são levados ao computador. Simultaneamente uma *webcam* está registrando o comportamento do animal e, via interface USB (item 4), envia o sinal de vídeo que será armazenado no computador. Os sinais fisiológicos que chegam ao computador são visualizados e armazenados. Após isso, é realizado o sincronismo (*off-line*) entre os sinais bioelétricos e o sinal de vídeo (item 5) e o pesquisador irá utilizar os recursos oferecidos pelo software (*eg*, filtros) para realizar a análise comportamental do animal resultando na geração de relatórios de dados comportamentais e fisiológicos (item 6).

O Etofisiógrafo efetua a aquisição, transmissão, recepção e tratamento dos sinais. Os sinais em questão são ECG, EEG, EMG e Temperatura (item 5 da figura 1.1). O sistema possui quatro canais de aquisição, sendo um fixo para a temperatura e os outros três canais configuráveis para a recepção de qualquer um dos sinais de ECG, EEG ou EMG, de acordo com o interesse do pesquisador. Isto se deve ao sistema possuir filtros e amplificadores que podem adaptar cada canal ao sinal (cada sinal possui uma faixa de frequência e ganho característicos) que será de interesse para o experimento.

O animal em experimento, situado dentro de uma arena para registro, possui um circuito elétrico implantado capaz de realizar a aquisição de sinais biolétricos. Este circuito possui tamanho e peso reduzido, diminuindo o desconforto do animal e permitindo um registro comportamental sem as restrições causadas pelos fios elétricos. Este módulo é composto por um microcontrolador MSP430F1232 da Texas Instruments, amplificadores operacionais (AmpOp) utilizado para atribuir ganho aos sinais e filtros passa-baixas para evitar o *aliasing* (sobreposição de componentes espectrais do sinal amostrado). Os dados adquiridos pelo módulo remoto são enviados ao transceptor infravermelho (LED – *Light Emitting Diode*), localizado na cabeça do animal (item 1 da Figura 1.1), conforme detalhado na Figura 1.2 e foi desenvolvido por GIASSI (2006).

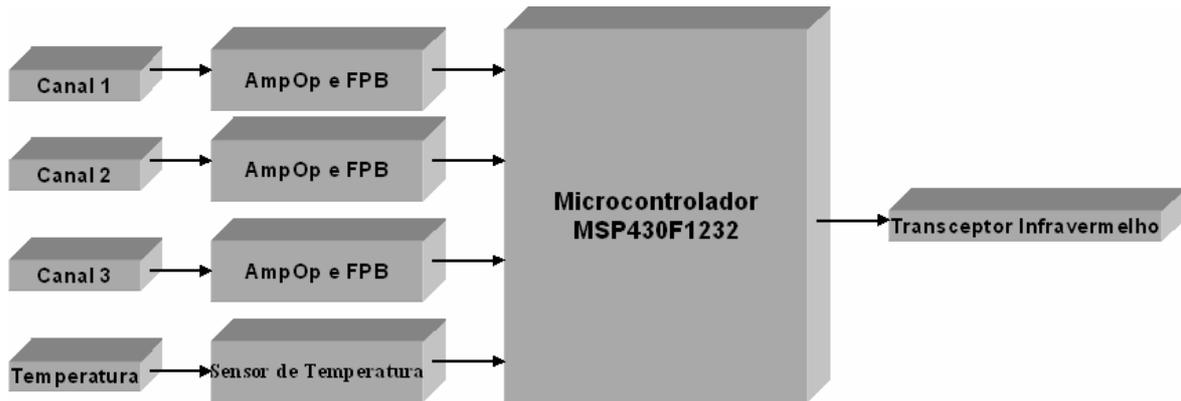


Figura 1.2: Diagrama em Blocos do Hardware do Módulo Remoto

Os sinais infravermelhos são captados pelos transceptores localizados na arena. Estes se encontram dispostos em vários pontos, para que seja coberto todo o espaço no qual o animal ficará durante o experimento e não haja, assim, perda do sinal a ser transmitido e recebido. Os transceptores recebem os sinais que são, então, transmitidos via cabo para o módulo base, localizado fora da arena (item 2 da Figura 1.1). O módulo base utiliza o microcontrolador MSP430F149 da *Texas Instruments* disponibilizando os sinais em pacotes de dados e os enviando através de interface USB (item 3 da Figura 1.1) para o computador, onde serão armazenados, conforme detalhado na Figura 1.3.

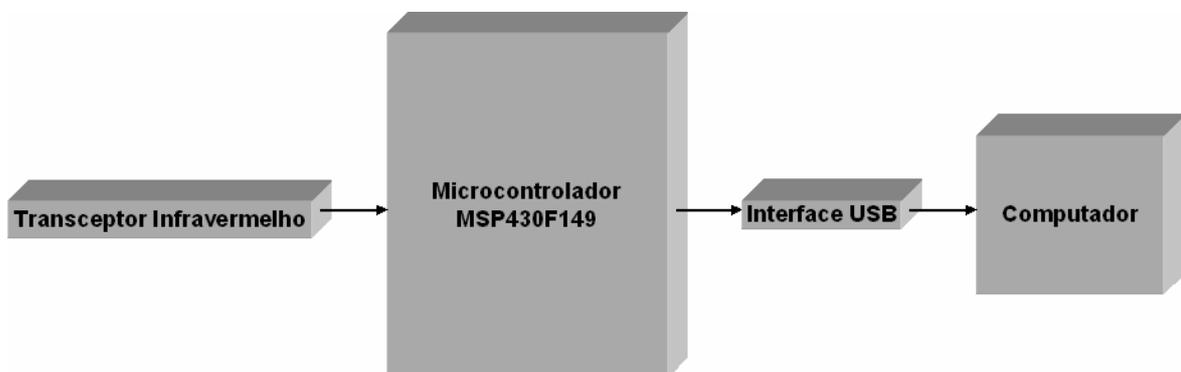


Figura 1.3: Diagrama em Blocos do Módulo Base

Quando os dados bioelétricos chegam ao computador, via interface USB, eles são visualizados graficamente (gráficos de ECG, EEG e EMG) e armazenados, para posterior análise *off-line*. Ao mesmo tempo, os sinais de vídeo digital também estão sendo armazenados no computador.

Simultaneamente à aquisição dos sinais biológicos (Etofisiógrafo), é realizada a aquisição de vídeo, em formato digital, através de uma *webcam*, destinada para a análise

comportamental do animal (item 4 da Figura 1.1) que é realizada pelo Etógrafo (PEDERIVA, 2005).

Após o armazenamento dos sinais (vídeo digital e sinais bioelétricos), é realizada a análise comportamental do animal em experimento. Nesta etapa, o sincronismo entre o vídeo e os sinais bioelétricos é estabelecido, para que o usuário possa analisar, associar e compreender eventos/estados comportamentais aos eventos/estados nos sinais bioelétricos registrados. Após isso, é gerado um relatório (planilhas) sobre toda a análise comportamental e dos dados bioelétricos (item 6 da Figura 1.1).

1.4. DEFINIÇÃO DO ESCOPO

O software desenvolvido e apresentado neste trabalho consiste em módulos relacionados à aquisição dos sinais bioelétricos, à visualização, à calibração, ao armazenamento e à análise desses dados, em sincronismo com o vídeo digital, através do Etógrafo (Figura 1.4). Uma visão mais completa e detalhada é feita no Capítulo 3 – Materiais e Métodos.

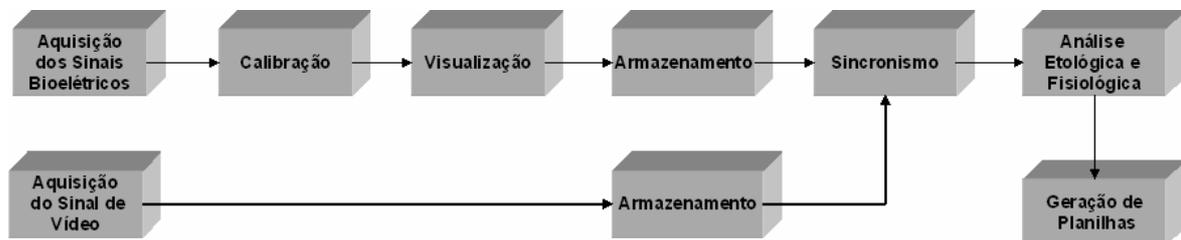


Figura 1.4: Diagrama em Blocos do Escopo do Software

1.5. ORGANIZAÇÃO DO TRABALHO

O Capítulo 1 da dissertação apresenta as partes introdutórias do trabalho, descrevendo seus objetivos, justificativa, visão geral do sistema proposto e definição do escopo. De acordo com a visão geral do sistema, foram escritos os Capítulos 2 e 3, referentes à Fundamentação Teórica e aos Materiais e Métodos que descreve todas as etapas de realizações do sistema desenvolvido.

No Capítulo 4, estão descritos os resultados obtidos com os testes realizados no sistema para sua avaliação e validação. É também discutida a análise de resultados e de

outras características de importância do software desenvolvido e as conclusões, no Capítulo 5.

O Capítulo 6 destina-se a identificação dos próximos passos, e a seguir descrevem-se às referências bibliográficas utilizadas na elaboração da dissertação.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo encontram-se explanados alguns assuntos relacionados ao escopo do trabalho desenvolvido: Métodos de Análise Comportamental, Características de sistemas em Instrumentação Biomédica, Processamento Digital de Sinais, Análise Espectral de Sinais Fisiológicos, Sistemas de Cor em Imagem e os Sinais Fisiológicos contemplados neste trabalho.

2.1. MÉTODOS DE ANÁLISE COMPORTAMENTAL

Um requisito básico para a investigação científica do comportamento animal (incluindo aqueles exibidos pela espécie humana) é a adoção de uma metodologia sistemática para seu registro e para a análise destes registros. Estas metodologias devem estar baseadas na definição dada ao termo comportamento e na forma como é descrito (HUTT, 1974).

Comportamento é qualquer atividade que gera mudanças na forma ou função de uma parte (ou todo) do corpo de um animal em relação à que existia anteriormente. Cada evento destes constitui uma categoria descritiva (CUNHA, 1976). Como exemplo, cita-se o comportamento de andar. Este comportamento possui características relativamente constantes, ou seja, andar é mover alternadamente as pernas, tocando o solo com os pés, deslocando no espaço o corpo do indivíduo como um todo. Este comportamento pode ser segmentado em atos ou unidades menores, como por exemplo, o movimento de flexão e extensão de cada perna, o que caracteriza novas categorias comportamentais (HUTT, 1974).

As categorias comportamentais podem representar uma mudança na aparência ou em uma postura pré-existente de um animal, por exemplo, o camaleão, que de repente muda de cor. Mudanças como essas, de aparência e de postura, caracterizam novas categorias de importância para uma análise comportamental. Desta forma, as categorias descritivas do comportamento estariam determinadas por mudanças físicas (movimento), de postura ou aparência (*e.g.*, mudança de cor), apresentadas por um animal ou ser humano. Assim, comportamento é uma mudança de um padrão no tempo.

Uma análise comportamental pormenorizada pode, ainda, dar uma indicação mais precisa sobre mecanismos neurais que produzem uma determinada mudança no comportamento. Desta forma, métodos de registro e análise comportamental são de especial interesse aos neurocientistas que lidam com mecanismos e circuitos cerebrais, os quais controlam a expressão de comportamentos. Este campo de investigação biomédica usa os registros destas categorias descritivas, para analisar as conseqüências comportamentais da administração de substâncias neuroativas ou de manipulações (lesão, estimulação) do tecido cerebral. Esta abordagem tem sido bem sucedida em identificar circuitos cerebrais que controlam uma série de atributos comportamentais (ZIGMOND *et al.*, 2002; BEAR; CONNORS; PARADISO, 2002; KANDEL; SHWARTS; JESSEL, 2000).

Diversas disciplinas procuram descrever e estudar comportamentos. De particular importância é a Etologia – estudo do comportamento sob um ponto de vista biológico. A Etologia estuda os aspectos causais, funcionais, ontogenéticos (ligados ao desenvolvimento do indivíduo) e filogenéticos (relacionados à evolução da espécie) do comportamento e se notabiliza por utilizar métodos sistemáticos, diretos, quantitativos e de alto poder descritivo, para examinar categorias comportamentais discretas, como padrões de movimentos da cabeça, até as diversas formas de interação social entre membros da espécie.

Os métodos etológicos constituem de uma série de procedimentos para o registro comportamental. A categorização de determinado comportamento é sempre acompanhada de uma minuciosa descrição do mesmo. Esta descrição deve ser clara para que a categoria em questão seja prontamente reconhecida por qualquer outro investigador. Assim, é necessária a definição de cada uma das categorias para que não haja várias interpretações de seu significado, o que poderia acarretar em erros no registro. A descrição deve ser a mais adequada e objetiva possível para que se compreenda o seu significado (CUNHA, 1976; LEHNER, 1979).

Identificar, descrever e nomear uma categoria pode ser uma tarefa longa e desgastante para o observador. É necessário conhecer o animal a ser observado, passar horas observando suas reações, a seqüência de seus comportamentos e tomar conhecimento de detalhes que identificam cada um desses comportamentos. O nível de conhecimento

sobre o animal pode chegar ao ponto de identificar um comportamento antes mesmo que ele ocorra.

O conjunto de categorias comportamentais (acompanhado de suas descrições) que interessam a uma determinada investigação, e que será utilizado no registro dos eventos produzidos pelo animal em estudo, é denominado catálogo comportamental. O catálogo comportamental é, então, a referência de como identificar cada um dos comportamentos a serem observados. Na Etologia, dá-se a esse catálogo de comportamentos o nome de etograma (HUTT, 1974).

Para se realizar a análise de um experimento, há a necessidade de obter seu registro, isto é, um relato da seqüência de comportamentos executados durante um período de tempo pré-determinado. A partir do registro, pode-se fazer um levantamento dos dados comportamentais e, posteriormente, associá-los aos mecanismos e circuitos cerebrais que os controlam. Estes registros podem ser realizados por diversos métodos, envolvendo desde uma simples folha de papel (DA SILVA; MARINO-NETO; PASCHOALINI, 2003) até sofisticados programas de computador (NOLDUS; SPINK; TEGELENBOSH, 2001).

Uma forma mais simples, porém, bastante utilizada para a obtenção e arquivamento dos registros de comportamento é a planilha de dados, isto é, um formulário de papel. Essa planilha é composta pelo catálogo de comportamentos, com os comportamentos de interesse a serem observados no experimento, e por uma série de colunas para anotar a ocorrência dos mesmos. À medida que se observa a ocorrência das categorias, faz-se uma anotação no espaço correspondente as mesmas. Naturalmente, essa planilha só é capaz de mostrar a freqüência com que as categorias ocorrem, já as indicações de duração e latências valem-se do uso de relógios e cronômetros. Essa ainda é uma forma de registro bastante usada atualmente (HÄCKL *et al.*, 2005; DA SILVA *et al.*, 2004; DA SILVA; MARINO-NETO; PASCHOALINI, 2003; SAADOUN; CABRERA, 2002; STEFFENS *et al.*, 1997; DARIO *et al.*, 1996).

Uma outra forma de registro são os gravadores de eventos. Estes são usados para gravar a ocorrência e a duração de eventos e estados. Ao pressionar uma tecla, ativa-se um solenóide que move uma caneta sobre um pedaço de papel em movimento. Esse traço corresponde à duração da categoria, que depende da velocidade de movimento do papel. Para cessar o registro, pressiona-se a tecla correspondente à categoria registrada. A caneta

deixa de marcar o papel. Cada lacuna em branco entre a ocorrência de uma categoria serve como indicativo da frequência de ocorrência da mesma. Esses equipamentos variam no número de canais existentes. Cada canal representa uma categoria comportamental. Registros com equipamento de até 60 canais já foram encontrados na literatura (HUTT, 1974; LEHNER, 1979).

O estenógrafo, um outro equipamento para registro de comportamentos, era considerado bem dinâmico na época em que era usado. Este equipamento registrava eventos simultâneos e, até mesmo, eventos em mais de um animal em experimento, permitindo dados referentes à frequência, número de ocorrências e duração. Ele é composto de várias teclas de letras e de números que variam de zero a nove. Cada tecla pode ser associada a uma categoria comportamental a ser registrada. Têm sido estudados os efeitos de diversas drogas no comportamento de ratos, colocados dois a dois em uma pequena caixa de madeira. Nove categorias de comportamentos de interesse foram separadas (identificadas pelas letras do alfabeto de A à I) e a ocorrência dos comportamentos dos dois ratos foi registrada simultaneamente. A duração de cada categoria foi marcada pressionando-se a mesma tecla em intervalos de um segundo de acordo com um metrônomo elétrico. Este tipo de metodologia padece de limitação do número de teclas disponíveis para as categorias, e da necessidade de treinamento especializado do investigador.

Outra maneira de registrar a análise comportamental, conforme HUTT (1974), era através de fitas de áudio. Tais fitas foram utilizadas, principalmente, para realizar registros a fim de estudar o comportamento de crianças em “campo livre” (*free field*). O uso de fitas de áudio permite gravar a descrição verbal dos comportamentos em um registro permanente para posterior uso pelo investigador. Pode-se também utilizá-las para gravar sons produzidos por animais. Este método permite uma descrição verbal completa de todos os eventos, podendo ser utilizadas codificações verbais para garantir alta velocidade de registro (quando esta é necessária), e podem garantir que eventos muito complexos sejam descritos e registrados. As desvantagens deste método são que as fitas têm um tempo limitado de gravação, a manutenção do acontecimento em tempo real torna-se um problema, e a gravação pode ocasionalmente perturbar os animais em observação. Além de que observações de longa duração podem causar cansaço no investigador, prejudicando a

finalização do experimento, já que após todo o registro ainda há a necessidade da transferência dos dados para planilhas escritas (LEHNER, 1979).

Com o advento dos computadores digitais pessoais, surgiram novas formas de auxílio na obtenção dos registros de comportamentos. Passaram então a ser utilizados como ferramenta para coleta direta, organização, armazenamento e análise estatística de dados, através de entrada direta ou indireta desses dados. Além disso, recursos digitais têm sido utilizados na detecção automática de comportamentos (SAMS-DODD, 1995).

Equipamentos para detecção automática de comportamentos estão disponíveis no mercado. Dispositivos para registro e análise de comportamentos locomotores usam diversas técnicas, incluindo o uso de fotocélulas (SCHWARTING *et al.*, 1993), de sensores de ultra-som (SPINK *et al.*, 2001), e de plataformas com sensores mecânicos no piso, como roletes (SCHWARTING *et al.*, 1993), esferas (SCHWARTING *et al.*, 1993; SPINK *et al.*, 2001). Podem também ser baseados em sistemas que utilizam luz infravermelha (FITZGERALD; BERRES; SCHAEPPPI, 1988; BRUDZYNSKI; KROL, 1997; KAFKAFI *et al.*, 2001) ou em imagens registradas em vídeo analógico ou digital (SCHWARTING *et al.*, 1993; SAMS-DODD, 1995; SPINK *et al.*, 2001; SCHWARZ *et al.*, 2002).

A Figura 2.1 exibe o equipamento LABORAS, da empresa Metris B.B (<http://metris.nl/laboras>). Ele é constituído de sensores de pressão que captam vibrações para caracterizar diferentes categorias comportamentais pré-determinadas. Os sinais elétricos gerados pelos sensores são amplificados, filtrados para eliminação de ruídos, digitalizados e armazenados em um computador. O computador processa esses sinais através de técnicas de processamento digital de sinais e classifica-os dentro de um grupo restrito de categorias (QUINN *et al.*, 2003).



Figura 2.1: Laboras– Equipamento feito com sensores de pressão que captam diversas vibrações que caracterizam diferentes categorias comportamentais pré-determinadas, adaptado de <<http://www.metris.nl/laboras>>.

Uma série de outras formas de registro de comportamentos é conhecida, mas a utilização de registros em vídeo é uma das formas mais interessantes para os etologistas. Obtendo-se o registro através de vídeo, um número maior de levantamentos das categorias pode ser obtido, tendo em vista que o vídeo pode ser assistido mais de uma vez. A cada vez, observam-se determinados detalhes, e até outros comportamentos que não poderiam ser obtidos apenas com a observação em tempo real. Vendo um filme diversas vezes, o pesquisador aprende a antecipar comportamentos, passando a conhecer mais detalhadamente o animal em experimento. Essa percepção é fundamental para reconhecer mais facilmente e registrar corretamente o comportamento observado.

A Figura 2.2 exhibe o Etógrafo (PEDERIVA, 2005), o qual realiza a análise comportamental a partir de vídeos digitais. Através das imagens (vídeo) adquiridas, o usuário pode pré-determinar diversos tipos de categorias comportamentais, sem limitações de quantidade, e incluí-las através do teclado do computador, de acordo com fatos identificados durante a observação do vídeo. 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.

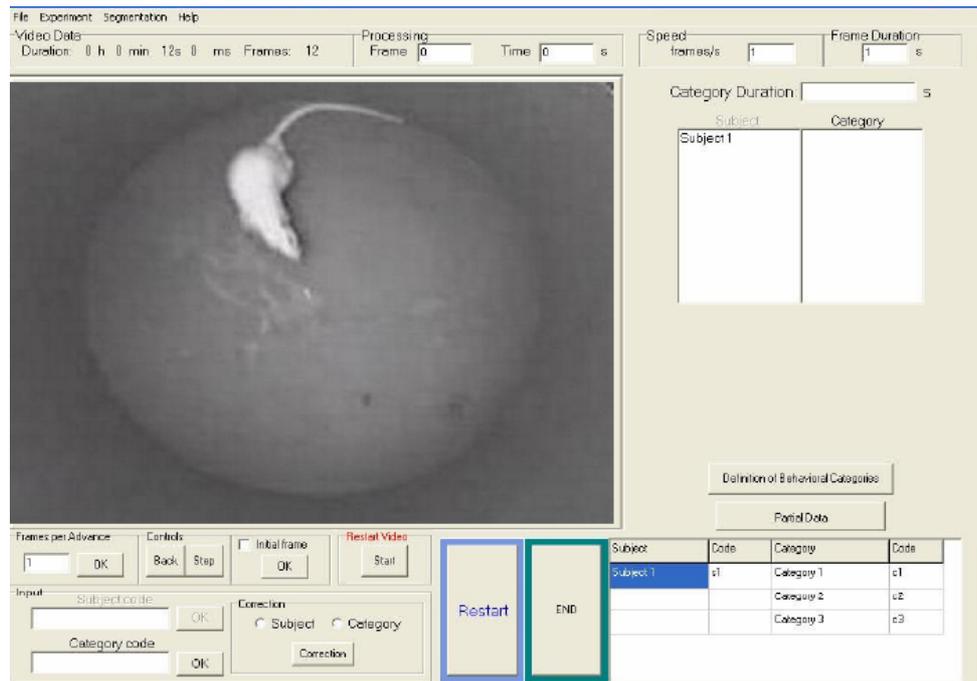


Figura 2.2: Etógrafo – Registro Comportamental em Vídeo, possibilitando o registro das categorias comportamentais observadas durante o experimento.

2.2. CARACTERÍSTICAS DE SISTEMAS EM INSTRUMENTAÇÃO BIOMÉDICA

Os sinais bioelétricos refletem variáveis fisiológicas e, portanto, formam um meio de transmissão de informações (GUYTON; HALL, 1998). Na aquisição dos sinais bioelétricos, é necessário levar em consideração o local no qual é realizado o registro (*e.g.*; a medição através dos eletrodos pode ser evasiva ou invasiva), pois esse tipo de informação varia de acordo com a atividade neural ou muscular do local, influenciando a frequência e a amplitude do sinal.

2.3. PROCESSAMENTO DIGITAL DE SINAIS

Neste item, são descritos alguns dos tratamentos que os sinais fisiológicos podem ser submetidos. Citam-se filtros utilizados para os sinais de ECG, EEG e EMG, além da análise espectral e estimação de densidade espectral de potência dos mesmos sinais.

2.3.1. Filtragem

Processamento Digital de Sinais consiste na análise e/ou condicionamento de um sinal, a fim de extrair alguma informação deste sinal, podendo também, assim, torná-los mais apropriados para alguma aplicação específica (SMITH, 1999). Uma das operações mais utilizadas em processamento digital de sinais é a filtragem. Sua utilização mais comum é relacionar componentes de frequência de um sinal e bloquear outras componentes de frequência. Isto é, a função de transferência do filtro forma uma janela espectral através da qual somente é permitida a passagem da parte desejada do sinal da frequência de entrada. Os sistemas que implementam estas operações são chamados de filtros (SMITH, 1999). Vários tipos de filtros podem ser definidos, dependendo da natureza da operação de filtragem.

Com base na resposta da função de transferência, os filtros são classificados em quatro tipos: passa-baixas, passa-altas, passa-banda e rejeita-banda. Um filtro passa-baixas permite a passagem de todas as componentes de frequência abaixo de f_C , denominada frequência de corte, e atenua todas as frequências acima de f_C . Um filtro passa-altas realiza a tarefa oposta, deixando passar as frequências superiores à f_C e rejeitando as frequências abaixo de f_C . Um filtro passa-banda permite a passagem de frequências dentro do intervalo definido por f_{C1} e f_{C2} e rejeita qualquer frequência fora deste intervalo. O filtro rejeita-banda realiza a operação contrária ao filtro passa-banda, rejeitando somente as frequências definidas dentro da faixa f_{C1} e f_{C2} e permitindo a passagem de quaisquer outras componentes de frequência, podendo ser chamado também de filtro *notch*.

Um sinal pode ser corrompido por interferências indesejáveis, denominadas ruídos. Em muitas aplicações, os sinais desejados ocupam bandas de frequências baixas, desde DC (*Direct Current* – 0 Hz) até f_L Hz (f_L – *Low frequency*), sendo corrompidos por ruídos de altas frequências, acima de f_H Hz (f_H – *High frequency*) com $f_H > f_L$. Nestes casos, pode-se remover o ruído aplicando um filtro passa-baixas com frequência de corte f_C onde $f_L < f_C < f_H$. Uma fonte comum de ruído são radiações de campos elétricos e magnéticos. Os sinais gerados pelas linhas de força aparecem como uma senóide com frequência de 60 Hz corrompendo o sinal desejado. Este ruído pode ser removido por um filtro *notch* de 60 Hz (SMITH, 1999).

2.3.2. Tipos de Filtros Digitais

Os filtros descritos a seguir são ferramentas utilizadas no Etofisiógrafo, as quais possibilitam ao usuário melhores interpretações sobre os sinais bioelétricos em estudo. Sinais distintos possuem distintas faixas de frequência. A Tabela 2.1 descreve a faixa de frequência dos sinais contemplados neste trabalho.

Tabela 2.1: Frequência dos Sinais Bioelétricos.

Sinais	Frequências [Hz]
Electrocardiograma (ECG)	0,3 – 300
Electroencefalograma (EEG)	0,3 – 70
Electromiograma (EMG)	100 – 500

Fonte: Adaptado de TONG; BEZERIANOS; PAUL (2001) e SHAW; LAI; CHIU (2002)

Existem duas classes principais de filtros digitais: Filtros de Resposta Infinita ao Impulso (IIR) e Filtros de Resposta Finita ao Impulso (FIR). Trata-se de sistemas causais, isto é, um sistema que a um dado tempo m , produz uma saída que é dependente somente das entradas presentes e passadas e saídas passadas. A Equação 2.1 expressa a saída presente em termos das entradas presentes e passadas e saídas passadas. C_1 e D_k representam os sinais de saída e entrada, respectivamente.

$$y_n = \sum_{l=0}^L A_l \cdot x_{n-l} - \sum_{k=1}^K B_k \cdot y_{n-k}, \text{ onde: } A_1 = C_1/D_0 \text{ e } B_k = D_k/D_0 \quad (2.1)$$

a) Filtros de Resposta Finita ao Impulso (FIR):

Se as saídas do sistema dependem somente da entrada presente e de um número finito de entradas passadas, então o filtro tem uma resposta impulsiva finita. Ao tornar os coeficientes B_k iguais a zero, na Equação (2.1), obtém-se a representação de um filtro FIR de duração L , onde os coeficientes são equivalentes a sua resposta impulsiva, conforme descreve a Equação (2.2).

$$y_n = \sum_{l=0}^L A_l \cdot x_{n-l} \quad (2.2)$$

Devido ao fato de que os valores passados de saída não influenciam no cálculo dos valores de saída presentes, este filtro também é chamado de filtro não-recursivo (SMITH, 1999). A resposta em frequência de um filtro FIR é composta por uma série de *Fourier*, faz com que os valores nulos indiquem um truncamento na série. Este truncamento não afeta a resposta em amplitude do filtro, porém insere oscilações nas bandas de passagem e atenuação, efeito este chamado de fenômeno de *Gibbs*. Para reduzir as oscilações decorrentes do efeito *Gibbs* em filtros FIR com uma série de coeficientes de *Fourier* finita, utiliza-se uma classe particular de funções de ponderação para modificar os seus coeficientes (SMITH, 1999). Estas funções de ponderação, Equação (2.3), no domínio do tempo são geralmente chamadas de funções de janelamento. Desta forma, a técnica para o projeto dos filtros FIR será multiplicar a resposta impulsiva desejada h por uma classe de funções no domínio do tempo, conhecidas como funções de janelamento.

$$h_n = h_d(n) \cdot a(n), \text{ onde } a(n) \text{ é a função de janelamento utilizada.} \quad (2.3)$$

Conforme se ilustra na Figura 2.3, dentre as funções janelas existentes, destacam-se, em particular para este trabalho, as janelas de Hamming, de Hanning e Retangular.

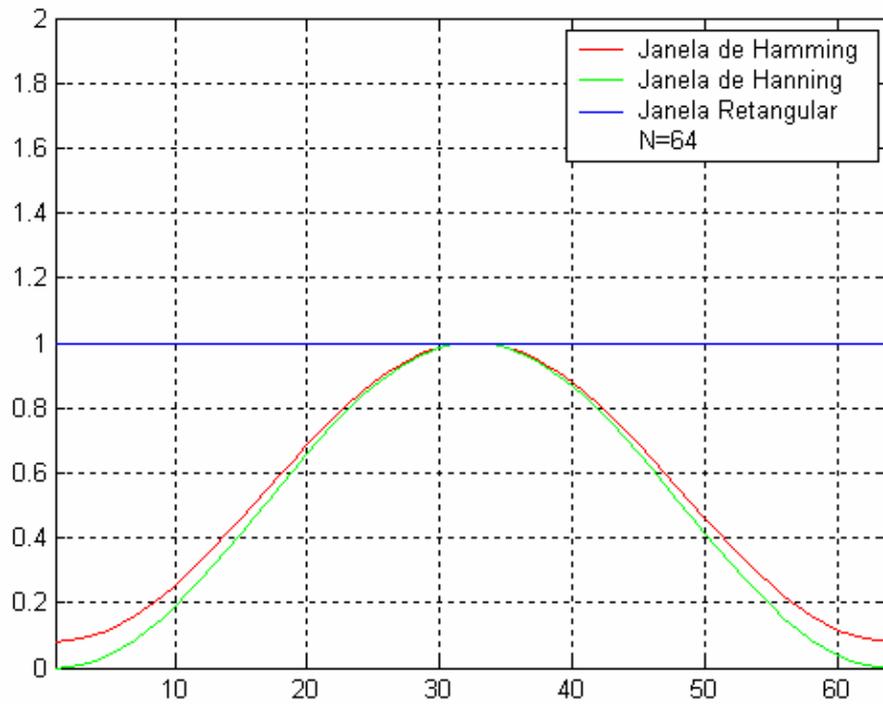


Figura 2.3: Janela de Hamming, Janela de Hanning e Janela Retangular para o número de pontos N=64.

- Janela Retangular

A função da janela retangular é dada pela Equação (2.4):

$$a_R(n) = \begin{cases} 1 & \text{para } |n| \leq \frac{N-1}{2} \\ 0 & \text{demais} \end{cases} \quad (2.4)$$

- Janela de Hamming

A função da janela de Hamming é dada pela Equação (2.5):

$$a_H(n) = \begin{cases} 0,54 + 0,46 \cos\left(\frac{2\pi n}{N-1}\right) & \text{para } |n| \leq \frac{N-1}{2} \\ 0 & \text{demais} \end{cases} \quad (2.5)$$

- Janela de Hanning

A função da janela Hanning é dada pela equação (2.6):

$$a_{Hn}(n) = \begin{cases} 0,5 + 0,5 \cos\left(\frac{2\pi n}{N-1}\right) & \text{para } |n| \leq \frac{N-1}{2} \\ 0 & \text{demais} \end{cases} \quad (2.6)$$

b) Filtros de Resposta Infinita ao Impulso (IIR)

A resposta de um filtro de resposta infinita ao impulso é uma função referente às amostras de entrada presentes e passadas, e das amostras de saída passadas do sinal. A Equação (2.1) representa um filtro IIR porque é uma função dos elementos de excitação e resposta. A dependência das saídas passadas faz com que a duração da resposta seja infinita mesmo quando cessarem os sinais de entrada (SMITH, 1999).

Devido ao fato de que, nestes filtros, os sinais de saída já obtidos fazem parte do cálculo dos sinais de saída ainda por calcular, estes filtros também são chamados de filtros recursivos (SMITH, 1999).

Para filtros digitais IIR, pode-se converter filtros analógicos, tais como: Filtros de Butterworth, Filtros de Chebyshev e Filtros Elípticos, para digitais através de transformada bilinear.

Particularmente, para este trabalho, destaca-se o filtro de Butterworth.

- Filtro de Butterworth

Os filtros de Butterworth são definidos de forma que a magnitude da resposta em frequência seja maximamente plana, na banda de passagem (Equação 2.7).

$$|H(j\Omega)|^2 = \frac{1}{\left(1 + \frac{\Omega}{\Omega_c}\right)^{2N}}, \text{ onde, } \begin{cases} \Omega \text{ é a frequência,} \\ \Omega_c \text{ a frequência de corte do filtro,} \\ N \text{ é a ordem do filtro.} \end{cases} \quad (2.7)$$

2.4. ANÁLISE ESPECTRAL DOS SINAIS FISIOLÓGICOS (ECG, EEG E EMG)

A busca do organismo por seu equilíbrio fisiológico pode ser observada através das flutuações dos sinais bioelétricos, originando um fenômeno ondulatório complexo. No entanto, para que esse fenômeno possa ser analisado, é necessário que o mesmo seja decomposto em ondas mais simples, ou seja, que o sinal fisiológico em questão seja decomposto em suas diferentes componentes de frequência. Os algoritmos matemáticos mais utilizados para esta decomposição são: algoritmos não paramétricos como a Transformada Rápida de Fourier (FFT) ou algoritmos paramétricos como o Modelamento Autorregressivo (AR).

As vantagens dos métodos não paramétricos estão na simplicidade e eficiência computacional do algoritmo FFT, traduzido em processamento rápido, enquanto que nos métodos paramétricos, os modelos AR proporcionam uma melhor resolução espectral, sobretudo no caso de pequenos segmentos de dados (MARPLE, 1987). Ou seja, em alguns casos, picos de energia tais como os referentes à atuação do SNA podem não aparecer claramente no espectro de potência obtido a partir da FFT, ficando espalhados ou mascarados por ruídos. Portanto, diante da superioridade do Modelamento AR quanto à resolução espectral, escolheu-se a implementação de seu algoritmo para a estimação da densidade espectral de potência dos sinais fisiológicos analisados neste trabalho.

2.4.1. Estimação da Densidade Espectral de Potência através do Modelamento Autorregressivo

Considere-se a série temporal $x[n]$, a qual pode corresponder ao registro temporal de qualquer um dos sinais fisiológicos contemplados neste trabalho. Pretende-se modelar $x(n)$ como sendo uma seqüência de saída de um filtro causal ($h[k] = 0$ para $k < 0$), cuja amostra atual é derivada da combinação linear de “ p ” (ordem do modelo) amostras (suas próprias amostras passadas) mais um ruído branco. O modelamento AR para $x[n]$ é definido pela Equação 2.8:

$$x[n] = -\alpha_1 x[n-1] - \alpha_2 x[n-2] - \dots - \alpha_p x[n-p] + w[n] \quad (2.8)$$

Ao ordenar a Equação 2.8, obtém-se a Equação 2.9,

$$x[n] = -\sum_{k=1}^p \alpha_k x[n-k] + w[n] \quad n = 1, 2, \dots, N \text{ (total de intervalos RR)} \quad (2.9)$$

onde: $w[n]$ em geral é um ruído branco, α_k são os parâmetros do filtro recursivo e p a ordem do modelo.

Quando o modelamento AR é usado na estimação espectral, os coeficientes deste filtro (filtro só de pólos) são estimados para que o espectro do sinal de saída do filtro se aproxime do sinal analisado.

Aplicando a transformada Z na Equação 2.9, obtém-se a função de transferência do filtro $H(z)$, onde $X(z)$ e $W(z)$ correspondem, respectivamente, a transformada Z de $x[n]$ e de $w[n]$.

$$H(z) = \frac{X(z)}{W(z)} = \frac{1}{1 + \sum_{k=1}^p \alpha_k z^{-k}} \quad (2.10)$$

A densidade espectral de potência de $x[n]$ é obtida pela Equação 2.11:

$$P_{xx}(z) = P_{ww}(z)H(z)H^*(1/z^*) \quad (2.11)$$

onde (*) significa conjugado complexo. No domínio da frequência, é expresso pela Equação 2.12:

$$P_{xx}(f) = |H(f)|^2 P_{ww}(f) \quad (2.12)$$

onde $P_{ww}(f)$ é a densidade espectral de potência de $w[n]$, e $H(f)$ corresponde à resposta em frequência do modelo. P_{xx} é a densidade espectral estimada. Pretende-se que os

coeficientes estimados ($\hat{\alpha}_k$) do modelo sejam obtidos de modo a minimizar o processo que produz $w[n]$.

Como $w(n)$ é um processo de ruído branco, com média nula e variância σ_w^2 , então $P_{ww}(f) = \sigma_w^2$. Considera-se ainda que $x[n]$ é resultado da amostragem em intervalo Δt do sinal contínuo $x(t)$. A densidade espectral de potência pode ser expressa pela Equação 2.13:

$$P_{xx}(f) = \Delta t \sigma_w^2 |H(f)|^2 \quad (2.13)$$

Atualmente, existe uma variedade de métodos disponíveis para a estimação dos coeficientes do AR. Um dos métodos mais utilizados é o da Covariância Modificada.

Sabe-se que, no modelamento autoregressivo, os coeficientes a_k são calculados por meio de equações lineares e, para isto, procura-se uma relação entre os parâmetros AR e a seqüência de autocorrelação $r_{xx}(m)$ de $x(n)$.

No Método da Covariância Modificada, a autocorrelação é estimada a partir de $x[n]$, e os coeficientes do modelamento AR são determinados a partir da Equação 2.14:

$$\begin{bmatrix} r_{xx}(0) & r_{xx}(-1) & \cdots & r_{xx}(-p) \\ r_{xx}(1) & r_{xx}(0) & \cdots & r_{xx}(-p+1) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ r_{xx}(p) & r_{xx}(p-1) & \cdots & r_{xx}(0) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 \\ a_1 \\ \vdots \\ a_p \end{bmatrix} = - \begin{bmatrix} \sigma_w^2 \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \end{bmatrix} \quad (2.14)$$

Para que a matriz de autocorrelação seja semi-definida, a estimativa da autocorrelação é dada pela Equação 2.15:

$$r_{xx}(m) = \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-m-1} x^*(n) \times (n+m); \quad \text{para } m \geq 0 \quad (2.15)$$

Substituindo os valores de autocorrelação, estimados pela Equação 2.15, na Equação 2.16 obtêm-se as estimativas dos coeficientes $\hat{\alpha}_k$ e da variância $\hat{\sigma}_w^2$. Dessa

forma, a densidade espectral de potência calculada através do Método da Covariância Modificada é expressa por:

$$P_{xx}(f) = \frac{\hat{\sigma}_w^2 \Delta t}{\left| 1 + \sum_{k=1}^p \hat{\alpha}_k e^{-j2\pi f k \Delta t} \right|^2} \quad (2.16)$$

onde Δt é o intervalo de amostragem do sinal fisiológico em questão e f é a frequência. A quantidade máxima de picos no espectro analisado depende do número de coeficientes estimados, ou seja, da ordem do modelo. Já a localização destes picos é determinada pela posição dos pólos complexos de $H(z)$ no plano Z .

a) Seleção da Ordem do Modelo

A seleção da ordem (p) para estimar os coeficientes ($a_1, a_2, a_3, \dots, a_n$) do modelamento AR não é um processo trivial. Uma ordem muito baixa resulta num espectro subestimado, isto é, alguns picos podem não ser apresentados. Já a escolha de ordem muito alta resulta no aparecimento de picos falsos.

Para a estimação dos coeficientes do modelamento autoregressivo referentes à análise espectral dos sinais de eletrocardiograma (ECG), segundo estudos de BAYKAL; RANJAN; THAKOR (1994) e GE; SRINIVASAN; KRISHNAN (2002), o valor da ordem utilizado foi $p=4$. Para a estimação dos coeficientes referentes à análise espectral dos sinais de eletroencefalograma (EEG), o valor da ordem do modelo foi definido como $p=6$, conforme se recomenda nos estudos de PALANIAPPAN (2006). Já para os sinais eletromiográficos, encontraram melhores resultados para a análise espectral de EMG utilizando $p=20$.

2.5. SISTEMAS DE CORES EM IMAGEM

Esta seção aborda os fundamentos sobre luminância e cromaticidade, os quais foram utilizados no tratamento do sinal de imagem (vídeo) para a obtenção do estabelecimento do sincronismo entre os sinais de imagem e fisiológicos.

2.5.1. Luminância e Cromaticidade

O modelo tricromático de Young-Helmholtz estabelece que o sistema de processamento de cor do olho humano é baseado na amostragem das faixas vermelha (*red*), verde (*green*) e azul (*blue*) do espectro visível do olho humano. Assim, é natural que se busque uma representação tridimensional do espaço de cor. A base de cores primárias é constituída por três cores nas faixas vermelha, verde e azul do espectro visível, o que resultou no primeiro modelo padrão básico da CIE (*Commission Internationale de L'eclairage*), o CIE-RGB (<http://www.cie.co.at>).

No monitor de um computador, as três cores primárias emitidas em cada um dos tubos de raios catódicos (vermelho a 700 nm, verde a 546 nm e azul a 436 nm) não correspondem às cores detectadas pelo olho humano. Há então, que modificar as proporções de intensidade de cor aplicadas a cada uma das componentes primárias emitidas (Figura 2.4).

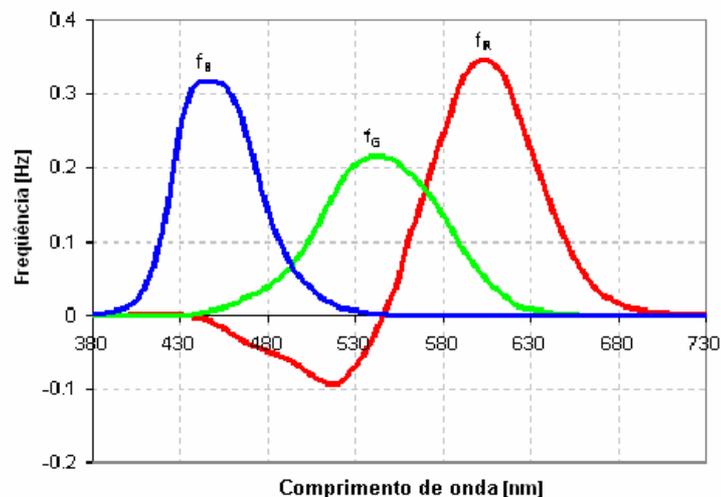


Figura 2.4: Quantidades RGB necessárias para reproduzir todas as cores do espectro visível. (f_R : faixa Red (vermelho), f_G : faixa Green (verde), f_B : faixa blue (azul))

Para este trabalho, foi utilizada a detecção de cores através de um vídeo digital. Desta forma, utilizou-se um padrão derivado do RGB, o modelo YIQ.

Este modelo, empregado no sistema NTSC (*National Television Standards Committee*), foi um dos modelos criados para permitir que as emissões dos sistemas de televisão em cores fossem compatíveis com os receptores em preto e branco. Ele baseia-se

na separação dos sinais de cor RGB em um sinal de luminosidade, ou luminância (Y), e dois sinais de cromaticidade (I e Q) ou diferença de cor. Segundo GONZALEZ; WOODS (1992), a definição de luminância consiste na ponderação dos valores das componentes RGB de uma cor que é dada pela Equação (2.17):

$$Y = 0,299.R + 0,587.G + 0,114.B \quad (2.17)$$

Os outros dois parâmetros (I e Q) contêm a informação correspondente à cor propriamente dita, sendo calculados por diferenças ponderadas entre as componentes vermelha e azul da cor no espaço RGB e a luminância Y, e estão representadas nas Equações (2.18) e (2.19).

$$I = 0,74.(R - Y) + 0,27.(B - Y) \quad (2.18)$$

$$Q = 0,48.(R - Y) + 0,41.(B - Y) \quad (2.19)$$

2.6. OS SINAIS REGISTRADOS PELO ETOFISIÓGRAFO

A seguir, são apresentados os sinais fisiológicos que são registrados, armazenados e analisados pelos Etofisiógrafo. O valor diagnóstico desses sinais está no fato de manifestarem alterações patológicas do órgão ou sistema em que ocorrem. Suas variações no tempo podem ser de forma lenta ou muito rápida, não existindo um padrão fixo para o comportamento temporal de cada sinal. A energia física envolvida em um sinal fisiológico pode ser de natureza elétrica (*e.g.* ECG, EEG e EMG) ou não elétrica (*e.g.* térmica, mecânica, luminosa, etc.) (SABBATINI, 1995).

Como ocorre com os sinais fisiológicos em humanos, os dos animais em que são realizados os estudos (neste caso os ratos), também se manifestam como oscilações rápidas e lentas. Desta forma, os mecanismos que geram os potenciais nos ratos por certo não diferem dos que atuam no homem e em outros animais (ANDERSEN *et al.*, 2001). Assim sendo, a descrição dos sinais neste trabalho teve como base os sinais de seres humanos.

No estudo da Etologia, o comportamento do animal é geralmente analisado com o auxílio de uma câmera de vídeo, como já descrito anteriormente. Embora esse método permita seguir movimentos e ações de forma grosseira do animal (ou ser humano), somente o registro eletrofisiológico possibilita detectar movimentos finos como frequência cardíaca, epilepsias leves, movimentos dos olhos, dedos, etc. Para registros simples, somente a câmera ou o próprio observador é suficiente, mas em estudos de maior envergadura, é necessário registrar sinais que caracterizem fisiologicamente o comportamento em estudo.

Pode-se identificar a partir dos sinais fisiológicos, diversas patologias, como a isquemia (ao analisar o ECG), epilepsia (ao analisar o EEG), e também índices como a frequência cardíaca. Ao estudar, por exemplo, os estados de vigília e sono, também torna-se necessária a identificação de movimentos através do EMG. A partir da análise de parâmetros desses sinais, pode-se estimar diversos mecanismos como alerta, medo, sono e repouso, por exemplo. Uma pessoa que esteja olhando fixamente pode estar muito atenta ou distraída; analisando a frequência cardíaca, consegue-se distinguir de imediato: número de batimentos cardíacos elevados (78 ou mais batimentos por minuto) no caso da atenção e baixo (70 ou menos) durante a distração (ANDERSEN *et al.*, 2001).

2.6.1. Eletrocardiograma

A eletrocardiografia foi inicialmente proposta pelo eletrofisiologista alemão Willem Einthoven, através do galvanômetro de fio. Este permitiu o registro do eletrocardiograma com grande fidelidade. A eletrocardiografia é o estudo dos potenciais gerados pela atividade elétrica cardíaca. Não se pode, contudo, considerar somente a análise do eletrocardiograma como o estado elétrico do miocárdio. Ela é um retrato do estado clínico cardíaco em todos os aspectos: frequência cardíaca, dimensões físicas e existência ou não de disfunções anatômicas ou fisiológicas (ANTONI, 1996).

A Figura 2.5 exhibe o coração, órgão composto por células excitáveis (TORTORA, 2000) que conduzem o impulso elétrico e se contraem ao serem estimuladas por suas vizinhas. A origem do estímulo elétrico cardíaco está localizada (em um batimento normal) no nodo sinoatrial, que é composto por células dotadas de ritmicidade intrínseca.

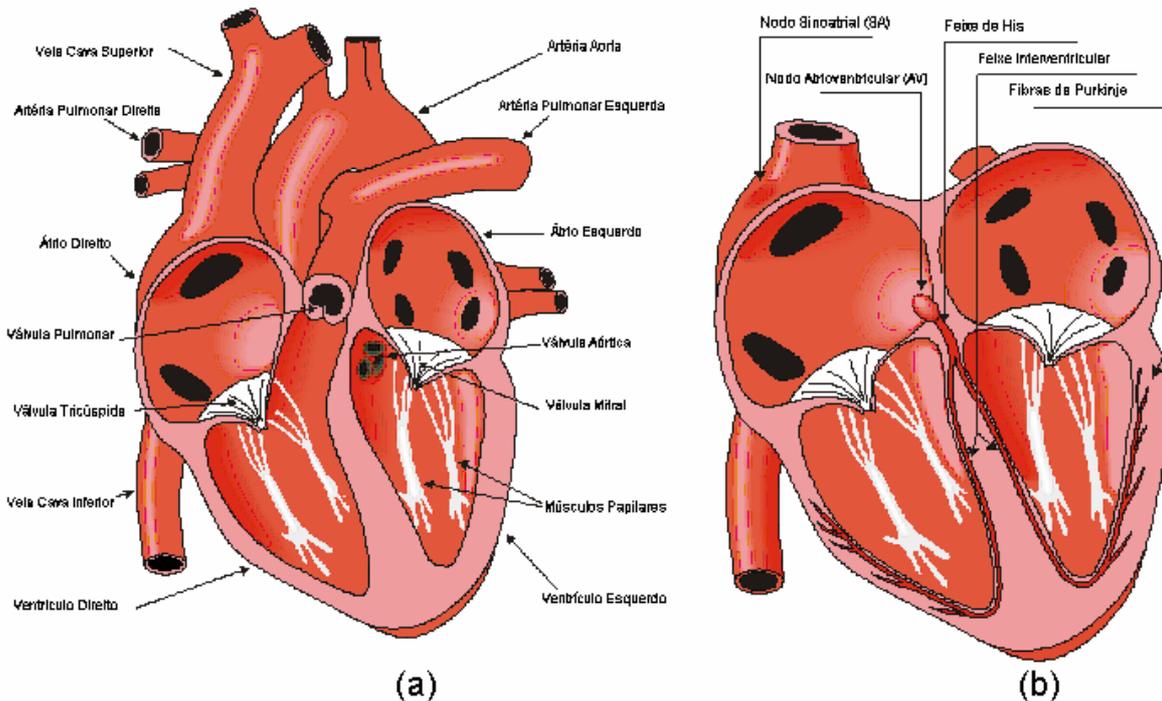


Figura 2.5: Coração Humano – Anatomia Interna: em (a) as partes que constituem a atividade mecânica do coração e em (b) os constituintes da atividade elétrica, ou seja, o sistema excito-condutor. Fonte: MALMIVUO; PLONSEY (1995).

Iniciada a excitação no nodo sinoatrial (SA), ao exceder um determinado potencial limiar, as células vizinhas despolarizam-se propagando o potencial de ação. A condução se realiza através de todos o músculo cardíaco e também, dos caminhos preferenciais que transmitem o impulso de excitação de forma rápida. Assim, o estímulo transmite-se aos dois átrios que se contraem e chegam ao miocárdio ventricular através do nodo atrioventricular (AV). O nodo AV é constituído por um conjunto de células que se caracterizam por apresentar uma condução lenta.

Desta forma, a excitação fica “retida” no nodo atrioventricular, durante um certo intervalo de tempo (o suficiente para que os átrios tenham bombeado o sangue aos ventrículos). Passado este tempo, a excitação segue o caminho em direção aos ventrículos através do feixe de His de forma rápida. A partir desse ponto, a velocidade de excitação acelera-se até atingir as fibras de Purkinje na qual transmite-se a todos os pontos de ambos os ventrículos causando suas contrações. O registro da atividade elétrica decorrente desses potenciais de ação, ao longo do tempo, em localizações pré-definidas, é denominado eletrocardiograma (ANTONI, 1996; BERNE; LEVY, 2003).

O ciclo descrito controla a contração síncrona dos átrios e depois, dos ventrículos, o que permite o bombeamento do sangue através do sistema circulatório. O sangue venoso com pouco oxigênio ingressa no coração pelo átrio direito, passa depois pelo ventrículo direito, sendo bombeado para os pulmões, onde é oxigenado. Retorna ao coração pelo átrio esquerdo e segue para o ventrículo esquerdo do qual o sangue arterial será bombeado para o resto do corpo.

A morfologia do eletrocardiograma é apresentada na Figura 2.6. Neste traçado, são apresentadas as ondas que constituem um ECG: onda P, complexo QRS e onda T. A onda P corresponde a despolarização dos átrios, o complexo QRS corresponde a despolarização dos ventrículos e a onda T corresponde a repolarização dos ventrículos. A repolarização dos átrios fica mascarada pelo complexo QRS.

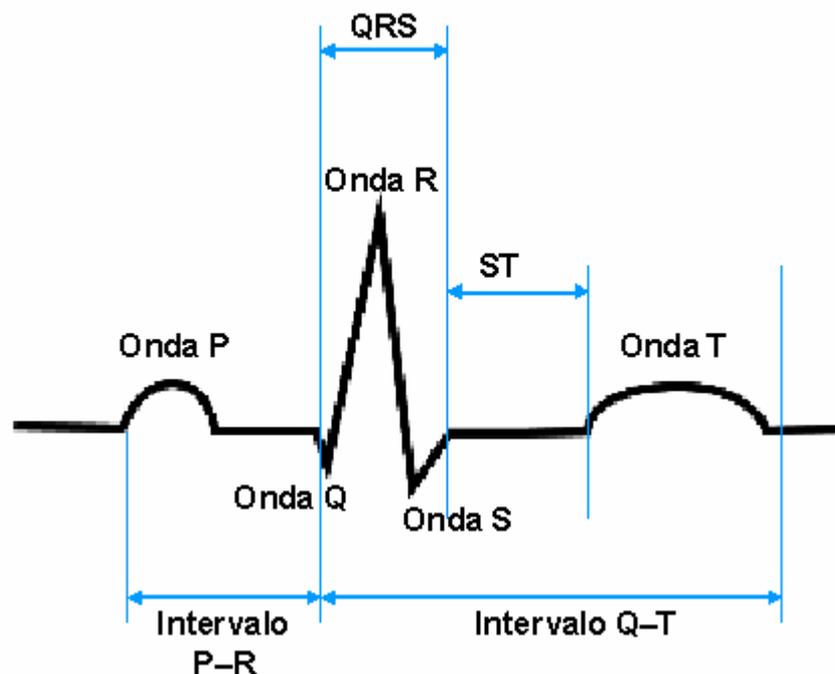


Figura 2.6: Representação de um eletrocardiograma, constituído pela onda P (despolarização atrial), complexo QRS (despolarização ventricular) e a onda T (repolarização ventricular).

2.6.2. Eletroencefalograma

Os primeiros registros de sinais elétricos do Sistema Nervoso foram noticiados no ano de 1875, quando o fisiologista Richard Caton fazia experiências com animais, e

registrou pequenas variações de correntes elétricas no cérebro, através do uso de eletrodos corticais posicionados no córtex e conectados a um galvanômetro (COSTA, 1994).

Em 1883, James Mackenzie introduziu uma novidade no registro dos sinais que passou a ser feito à tinta em rolos de papel, ao invés do registro realizado sobre superfícies esfumaçadas. Mais tarde, Mackenzie desenvolveu o polígrafo, capaz de realizar registros de longa duração feitos também sobre rolos de papel. Somente em 1924, Hans Berger registrou sinais elétricos cerebrais através do crânio e do couro cabeludo (ARDIGO, 1994).

O registro visível da atividade elétrica do cérebro é conhecido como eletroencefalograma (EEG), mostrado na Figura 2.7, e é amplamente utilizado para propósitos clínicos e de pesquisa. Inúmeros métodos têm sido desenvolvidos para o estudo do funcionamento das várias partes do cérebro através do EEG.

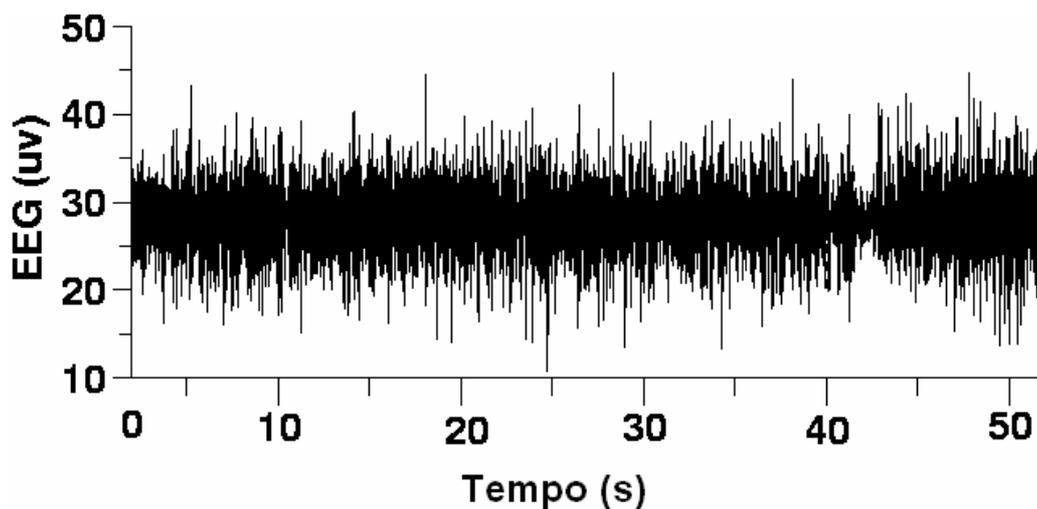


Figura 2.7: Amostra de 50 segundos do sinal de EEG retirado do hipocampo de um rato.

Três maneiras de registrar a atividade elétrica do cérebro são usualmente utilizadas:

- a) Registro em **profundidade**: Consiste na inserção de eletrodos no tecido neural do cérebro;
- b) **Eletrocortigrama**: Colocam-se eletrodos na superfície exposta do cérebro;
- c) **Eletroencefalograma**: Mais utilizado, é feito com técnica não-invasiva, utilizando-se eletrodos de superfície colocados no escalpo.

A análise de frequência do EEG tem sido usada como ferramenta de processamento com o objetivo de auxiliar o diagnóstico de epilepsia, doenças mentais, disfunções psiquiátricas, desordens no sono, entre outros. A faixa de frequência no EEG de escalpo está compreendida entre DC (0 Hz) e 70 Hz (AL-IMARI; RASHID; AL-DAGSTANY, 2003), com maior potência distribuída entre 0,5 e 60 Hz. As amplitudes neste caso são de 2 a 100 μV , para um EEG normal, chegando a 300 μV em descargas epileptiformes. A densidade espectral de potência do EEG varia muito com o local de registro, idade e estado físico-emocional do paciente.

O registro de cada canal do eletroencefalograma é obtido através da diferença de potencial entre dois eletrodos. Cada conjunto de dois eletrodos é referenciado pelo termo "derivação", podendo ser do tipo monopolar ou bipolar (GUEDES; BAKER, 1989).

Na derivação monopolar a diferença de potencial é medida entre um eletrodo e uma tensão de referência, que pode ser um dos eletrodos, uma referência extra-cerebral (orelha, nariz, queixo, mandíbula) ou a média da tensão de todos os canais (COSTA, 1994).

2.6.3. Eletromiograma

O sinal mioelétrico é proveniente do potencial de ação que percorre a fibra muscular levando-a à contração. A primeira dedução lógica de que um músculo gera correntes elétricas foi documentada pelo italiano Francesco Redi, em 1666. Ele suspeitou que o choque da enguia elétrica era de origem muscular (BIEDERMAN, 1898). As primeiras investigações à respeito da relação entre a eletricidade e a contração muscular foram realizadas por Luigi Galvani, em 1791, que despolarizava pernas de sapo com o toque de varas metálicas, causando a contração muscular.

A Eletromiografia (EMG), que é considerada o estudo das funções musculares através da captação do sinal mioelétrico (SME), utiliza dispositivos para a detecção, amplificação e apresentação do SME em forma gráfica.

Os potenciais de ação da unidade motora (MUAP), ao percorrer as fibras musculares geram um campo eletromagnético nas redondezas das fibras. Um eletrodo, localizado dentro deste campo, é capaz de detectar o potencial elétrico referente a uma contração muscular, o sinal mioelétrico (Figura 2.8).

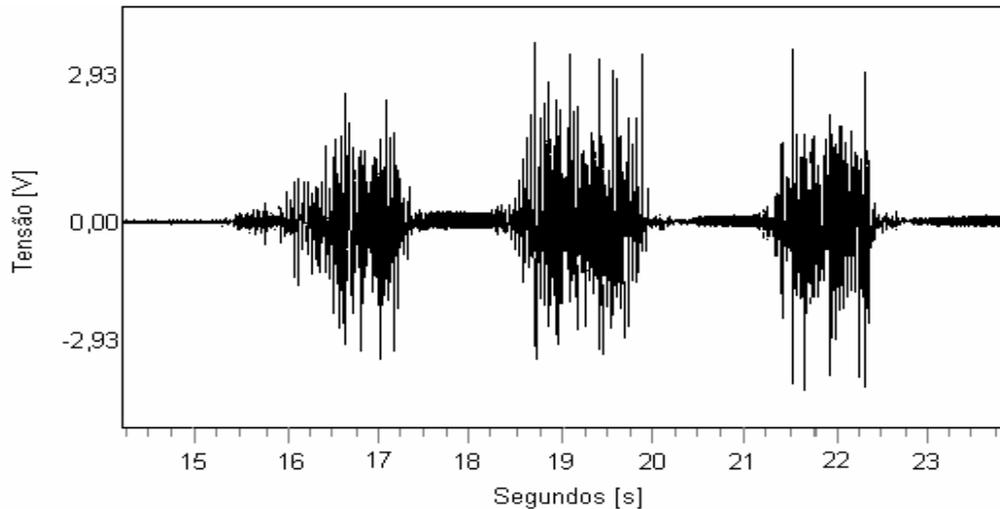


Figura 2.8: Amostra de três segundos de um sinal de EMG relativo da contração do músculo gastrocnêmio de um rato.

O SME pode ser obtido por meio de configurações monopolares e bipolares. A configuração monopolar obtém diferenças de potenciais entre dois pontos, sendo um deles o ponto de referência. Na configuração bipolar, são obtidos dois sinais em relação a uma referência, e posteriormente são subtraídos, neste caso são necessários três pontos de detecção.

2.6.4. Temperatura

Pássaros e mamíferos possuem a capacidade de manter a temperatura corporal em limites estreitos, apesar das flutuações da temperatura do meio ambiente. A manutenção da temperatura corporal (aproximadamente 37° C em humanos) exige mecanismos que a regule precisamente. O limite considerado absoluto para a sobrevivência é de 43° C, no entanto, algumas pessoas podem sofrer convulsões quando a temperatura corporal atinge 41° C (WIDMAIER; RAFF; STRANG, 2006).

Todos os tecidos do corpo produzem calor, porém apenas aqueles que estão em contato com o ambiente têm a capacidade de perder calor, 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; CONNORS; PARADISO, 2002).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Este capítulo apresenta os materiais e métodos utilizados no sistema desenvolvido. Isto é, a descrição de como foi desenvolvido o sistema (software) explicando sucintamente o seu desenvolvimento.

3.1. COMUNICAÇÃO COM O COMPUTADOR

Este item descreve como é realizada a transmissão dos dados, através de um protocolo de comunicação, desde a entrada desses dados pela interface USB até software instalado no computador. Descreve também, o sistema operacional e a linguagem de programação utilizada.

3.1.1. Sistema Operacional Utilizado

Aplicações em tempo real caracterizam-se pelo cumprimento de tarefas em prazo pré-estabelecido. Este tempo limite é chamado *deadline*. Existem Sistemas Operacionais (SO) que realizam tarefas em tempo real, como o Linux, por exemplo. Porém, como este software proposto está em operação conjunta ao Etógrafo, (PEDERIVA, 2005), tendo sido este implementado no SO MS-WindowsTM. Uma vez que o público alvo do projeto é em sua maioria usuário do SO MS-WindowsTM, a implementação foi feita também neste sistema. Apesar do SO MS-WindowsTM não ter sido desenvolvido para aplicações em tempo real, adota-se estratégias para obtenção de um melhor desempenho. Através de técnicas de programação, utilização de bibliotecas, monitoração do estado dos recursos do computador, *multithreading*¹ e prioridades, a utilização deste sistema operacional multitarefa² passa a ser viável. Na implementação do software, o sistema atua no SO MS-WindowsTM e roda na versão Windows XP. Os testes do software foram realizados em computadores com processadores iguais ou superiores a 2 GHz e 256 MB de memória RAM (*Random Access Memory*).

¹ Multithreading: Capacidade que um programa tem de executar várias tarefas concorrentes.

² Multitarefa: Capacidade de um SO tem de executar mais de um programa ao mesmo tempo.

3.1.2. Linguagem de Programação

A linguagem de programação utilizada para a implementação do software foi a Borland Builder C++®. Ela possui vantagens e facilidades de ter o ambiente visual aliado à linguagem orientada ao objeto (C++).

3.1.3. Interface USB

Foi realizada uma escolha entre as interfaces USB, canal serial (RS-232), e interface paralela. Atualmente, os computadores não vêm mais com a interface serial e também ela se restringe a baixas velocidades, e neste caso a taxa utilizada para amostragem do sinal em estudo é relativamente alta para uma interface serial. Em relação à porta paralela existiria uma maior dificuldade de construir ou utilizar *drivers*³ disponíveis no SO MS-Windows™, e o que se buscou neste projeto foi à simplicidade e facilidade de uso dos componentes envolvidos.

Desta forma a interface USB versão 1.1 foi a escolhida, pois possui uma taxa de transmissão de onze (11) Mega bits por segundo (Mbps), facilidade de utilização e disponibilidade do *driver*, além de fornecer até 500 mA de corrente a 5 volts de tensão, tornando possível a alimentação de periféricos diretamente a partir da placa mãe do computador. Neste caso, foi utilizado o *chip* do fabricante FTDI (*Future Technology Devices International Ltd.*) FT245BM, e o *driver* D2XX também da FTDI.

3.1.4. Protocolo de Comunicação

Para realizar a comunicação entre o hardware e o computador através da USB foi elaborado um protocolo de transmissão de dados, que é um conjunto bem definido de regras e convenções a ser adotado quando se deseja obter uma interação organizada entre duas ou mais entidades envolvidas em um dado processo (CHIOZZOTO; SILVA, 1999).

Este protocolo possui um pacote (*frame*), apresentados na Figura 3.1 e a velocidade com que estes pacotes são transmitidos do módulo de aquisição dos sinais, para o computador é de 500 *frames* por segundo (fps). Esta velocidade de transmissão foi

³ Drivers: Programa que permite que os SOs e os programas instalados consigam identificar e utilizar um determinado periférico.

escolhida porque ela gera uma boa resolução do sinal, e também por outros motivos que serão melhores explicados adiante.

O pacote possui os seguintes campos:

Campo de Inicialização

Possui, em código hexadecimal, o número cinquenta e cinco (55h) para indicar que este é o início do pacote; e seu tamanho é de um (1) Byte. Serve para realizar o sincronismo do *frame* indicando o início de um novo pacote;

Campo do Número Seqüencial

Sua função é indicar o número do *frame* para organizar a seqüência de forma que nenhum *frame* fique fora de ordem, seu tamanho é de dois (2) Bytes. Esta informação garante a integridade do protocolo quanto à perda de dados. A cada novo *frame* transmitido pelo módulo remoto, este campo é incrementado de 1; e vai de 0 a 65536 seqüencialmente e reiniciando em valor 0;

Campo Canal 1

Este campo contém as informações oriundas do canal do um (1). O conteúdo deste canal, que recebe o sinal bioelétrico adquirido do animal, será definido pelo usuário, podendo ser sinal de ECG, EEG ou EMG. O tamanho deste campo é de dois (2) Bytes;

Campo Canal 2

Este campo contém as informações oriundas do canal dois (2). O conteúdo deste canal, que recebe o sinal bioelétrico adquirido do animal será definido pelo usuário, podendo ser sinal de ECG, EEG ou EMG. O tamanho deste campo é de dois (2) Bytes;

Campo Canal 3

Este campo contém as informações oriundas do canal três (3). O conteúdo deste canal, que recebe o sinal bioelétrico adquirido do animal será definido pelo usuário, podendo ser sinal de ECG, EEG ou EMG. O tamanho deste campo é de dois (2) Bytes;

Campo Canal 4

Este campo contém as informações oriundas do canal quatro (4). O conteúdo deste canal, que recebe o sinal bioelétrico adquirido do animal é dedicado à temperatura. O tamanho deste campo é de dois (2) Bytes;

Campo de CheckSum

Campo que faz a adição em módulo de 16 bits dos campos: número sequencial e dos canais 1, 2, 3 e 4, para checar se não houve perda de algum dado do pacote corrente, seu tamanho é de dois (2) Bytes .

Campo de Finalização

Possui, em código hexadecimal, o número 5Ah para indicar que este é o final do pacote e seu tamanho é de um (1) Byte.

A escolha para que os campos tivessem o tamanho de 2 bytes se deve ao conversor ADC (*Analog-to-digital Converter*) utilizado no hardware ser de 10 bits. Fica mais interessante na manipulação colocar 10 bits em um campo de 16 bits.

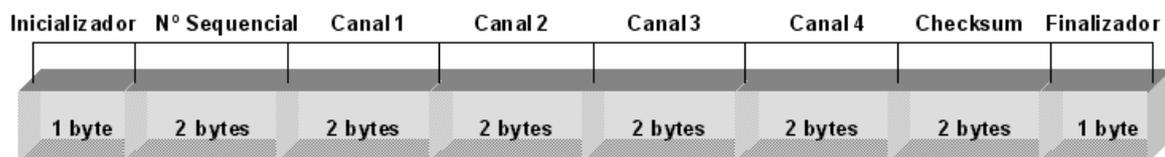


Figura 3.1: Campos do pacote de protocolo de transmissão: Inicializador, Número Sequencial, Canal 1 (ECG, EEG, EMG), Canal 2 (ECG, EEG, EMG), Canal 3 (ECG, EEG, EMG), Canal 4 (dedicado à temperatura), Checksum e Finalizador.

A troca de informações entre o computador e o módulo de aquisição de dados acontece sob a forma de pacotes de dados. A unidade de informação para a USB é o *byte*⁴.

Desta maneira, como se viu anteriormente no protocolo, o pacote começa com um número hexadecimal 55h e termina com o número hexadecimal 5Ah. Assim, o *buffer*⁵ de recepção da porta USB monitora constantemente a presença do caractere 55h. Quando ele for recebido, ele concatena os demais caracteres até o caractere 5Ah ser recebido. Este é o

⁴ Byte: 8 *bits* - Unidade de informação que pode ser transmitida e processada.

⁵ Buffer: Área da memória do computador usada para armazenamento temporário dos dados.

processo de sincronismo. Após o pacote ter sido inteiramente montado, ele será interpretado por uma máquina de estados e exibido na tela do computador. Caso haja perda de pacotes, função realizada pelo campo de *checksum*, o resultado dado pela máquina de estados será zero, (graficamente o sinal vai para zero) e com isso o usuário saberá que naquele momento houve perda de informação. Porém, a integridade temporal é mantida pelo campo do número seqüencial. A perda de dados pode ser normal neste caso. Um fato comum é que as prioridades do sistema operacional sobrepõem as do software, desta maneira pode haver perdas de informação. No caso do módulo remoto implantado no animal, o dispositivo de transmissão infravermelho (no caso o LED) está localizado na cabeça do animal, assim, pode haver momentos em que o LED não seja “visualizado” pelas unidades foto-receptoras, localizadas na arena e ocorra a perda de alguns dados. Essas perdas de dados estão representadas na Figura 3.2 e exibe a tela do Etofisiógrafo no momento em que o sinal de ECG, no caso, é levado para o nível zero.



Figura 3.2: Tela do Fisiógrafo exibindo a perda de pacotes – leva o sinal para zero.

Momento em que o sinal de ECG é levado para o nível zero.

A este processo que foi explicado sobre sincronização e interpretação dos pacotes dá-se o nome de máquina de estados e é apresentado em forma de diagrama na Figura 3.3.

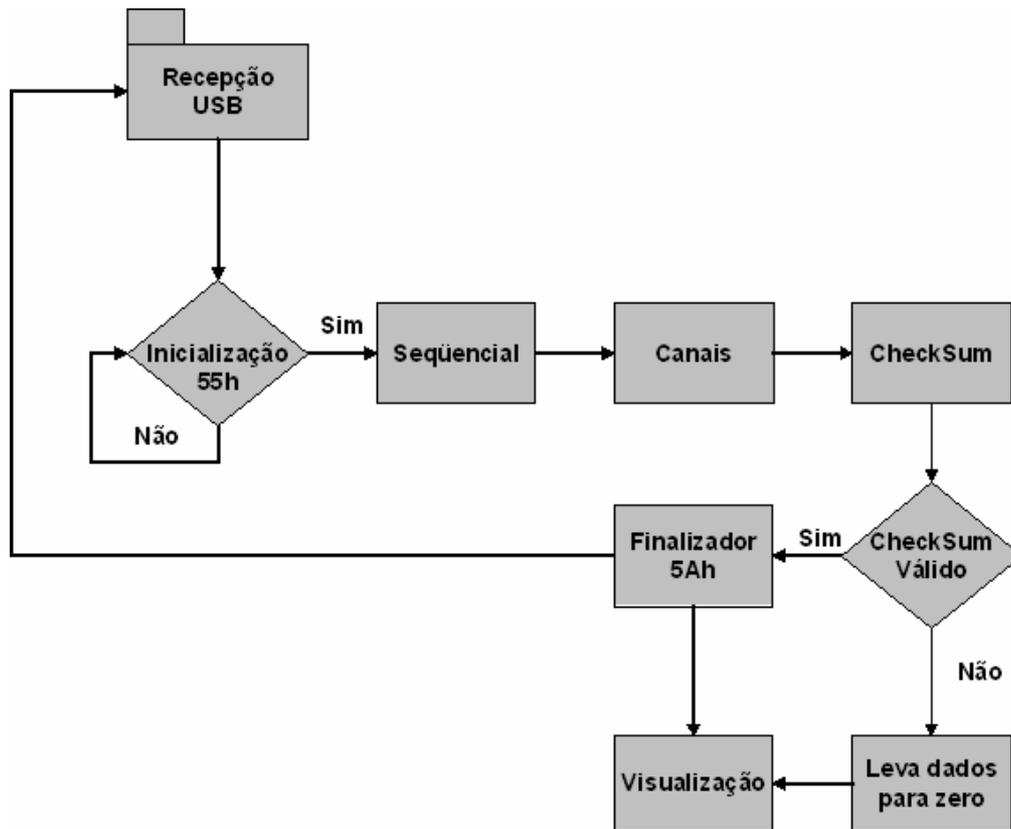


Figura 3.3: Máquina de Estados – Interpretação dos pacotes (frames) recebidos pela USB.

3.2. IMPLEMENTAÇÃO DO SOFTWARE

Nesta seção, serão mostradas as características de implementação do software, isto é, as opções para o usuário tanto na parte de aquisição dos sinais, calibração, exibição e armazenamento, como na análise comportamental e processamento e tratamento dos sinais fisiológicos.

Os diagramas referentes a modelagem do sistema desenvolvido encontram-se apresentados no Anexo A.

A descrição do software implementado está dividida nos seguintes tópicos:

- a) Aquisição, leitura, interpretação, calibração dos sinais, apresentação gráfica na tela do computador e registro em arquivo (coleção de informações em um formato que o possa manipular.);

- b) Apresentação gráfica dos dados recebidos, e os métodos de análise e processamento dos sinais utilizados para o tratamento e interpretação dos sinais fisiológicos.
- c) Sincronismo com vídeo de análise comportamental (Etógrafo) desenvolvido por (PEDERIVA, 2005).

3.2.1. Implementação do Software de Aquisição de Sinais Bioelétricos

Como o software de aquisição adquire as amostras dos sinais bioelétricos a uma taxa de velocidade relativamente alta, solicitando do sistema operacional um processamento dedicado para esta aquisição de sinais, utilizou-se o conceito de *multithreading*. *Thread* ou linha de execução é ferramenta para o desenvolvimento de sistemas computacionais, pois permite que tarefas não correlatas possam ser projetadas e executadas em paralelo (SEIXAS; SZUSTER, 2003).

As várias *threads* de um programa podem trocar dados entre si e compartilhar o mesmo espaço de memória e os mesmos recursos do sistema. Esta ferramenta foi utilizada para realizar várias tarefas que são necessárias na aquisição, armazenamento e exibição dos dados em tempo real.

O software desenvolvido utiliza três *threads*. A *thread* principal do processo e de maior prioridade é responsável pela verificação da chegada dos dados na porta USB. Com a chegada dos dados ela também é responsável pela leitura, sincronismo, interpretação dos pacotes e por fim, o armazenamento em um *buffer* circular⁶ do computador do sinal adquirido pelo Etofisiógrafo. A segunda *thread*, compartilha a mesma área de memória, sendo responsável por exibir o traçado dos sinais adquiridos. A terceira *thread* cuida de retirar um trecho do *buffer* e gravar em um arquivo o sinal recebido. Observa-se que a segunda e terceira *threads* são disparadas por um relógio (*timer*), e esse tipo de procedimento é utilizado para reduzir breves travamentos do sistema (*flickers*).

Cada *thread* possui um ponteiro da memória que está sendo acessada, i.e. a *thread* 1 é responsável pela verificação, leitura, sincronismo e interpretação dos dados que

⁶ Buffer Circular: Caso o índice atinja a última posição, a próxima posição passa a ser zero.

chegam da USB. Assim como as outras *threads* 2 e 3 exercem suas funções de exibição do sinal e armazenamento dos dados respectivamente.

O fluxo normal de execução de uma *thread* é: estar no estado "executando" por um determinado tempo; ir para o estado "pronto" para dar a chance à outra *thread* de utilizar o processador e por fim, voltar ao estado "executando" por um determinado tempo completando assim um ciclo que irá terminar quando acabar a sua execução. Depois disso, a *thread* passa ao estado "morto".

A Figura 3.4 apresenta o diagrama de blocos de funcionamento das threads, e a função que cada uma delas desempenha no software. Está apresentado para um canal geral (canal n), mas estendendo-se para todos os quatro canais existentes.

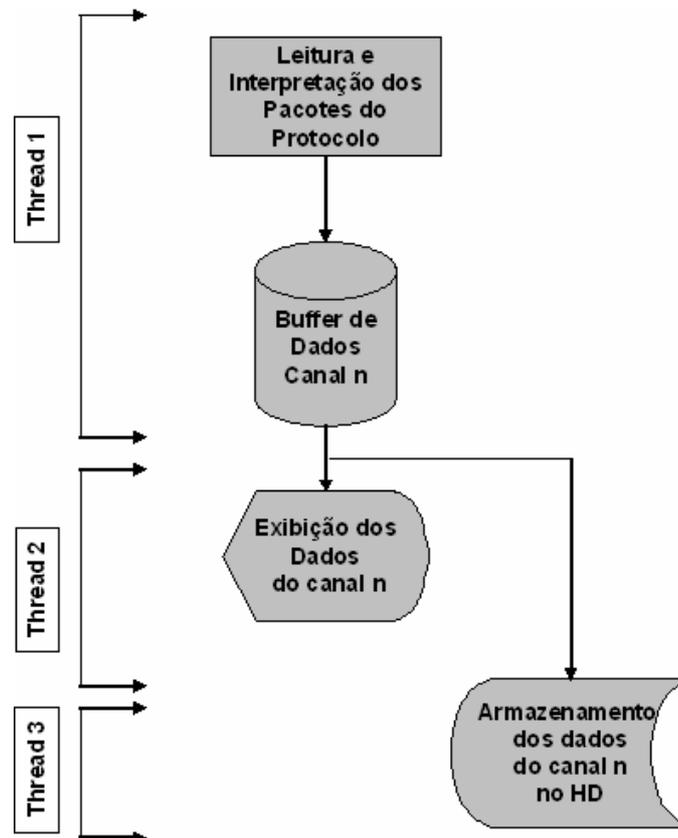


Figura 3.4: Diagrama de blocos de funcionamento das threads, e a função exercida no software. Generalizado para um canal geral (canal n), mas estendendo-se para todos os quatro canais existentes.

Obtido o entendimento do funcionamento do software de aquisição, utilizando *threads* e *timers*, será exibido a seguir como o usuário interage com o software para realizar a visualização e armazenamento dos sinais, em tempo real.

a) Visualização dos Sinais:

O sinal que chega via USB pelo módulo base, é sincronizado e interpretado através da máquina de estados do software e em seguida exibidos na tela do computador. O usuário então visualiza o que está ocorrendo com os sinais adquiridos. Para tal tipo de exibição foi escolhida a ferramenta *G32 (Graphics 32)* < <http://graphics32.org> >. Esta ferramenta suporta altas taxas de velocidades (Até 8000 Hz). O componente *G32* utilizado para exibir os sinais bioelétricos é o *TPaintBox32*. Esta ferramenta é um software livre.

Ao executar o software, a primeira tela que se apresenta é a tela de inicialização, apresentada na Figura 3.5, na qual consta de uma barra de menus com as opções do Etofisiógrafo (Figura 3.5(a)), Etógrafo (Figura 3.5(b)) e Etofisiógrafo Sincronismo (Figura 3.5(c)).



Figura 3.5: Tela de Inicialização do Etofisiógrafo: barra de menus com opções para: a) Etofisiógrafo, b) Etógrafo e c) Etofisiógrafo Sincronismo.

Dentre as opções do menu Etofisiógrafo, existe a de aquisição dos sinais (*Acquisition Physiograph*). Esta é responsável pela escolha do número de canais (Figura 3.6 (a)) e o que cada um deles exibirá (Figura 3.6 (b)) na tela do computador. Esta opção permite escolher quantos canais podem ser utilizados e, de cada canal, qual o sinal está sendo analisado (o que cada canal recebe, não é definido apenas pelo usuário no software, mas também no hardware, onde os eletrodos são posicionados de forma a receber os sinais desejados). Já existem três sinais pré-definidos para cada canal: ECG, EEG e EMG. O quarto canal é dedicado exclusivamente para a medida da temperatura. Existe também um campo para indicar qual módulo remoto está sendo utilizado no animal (Figura 3.6(c)), é indicado por uma sigla (MR – Módulo Remoto), seguido pelo número do módulo em uso (*e.g.*: 001).

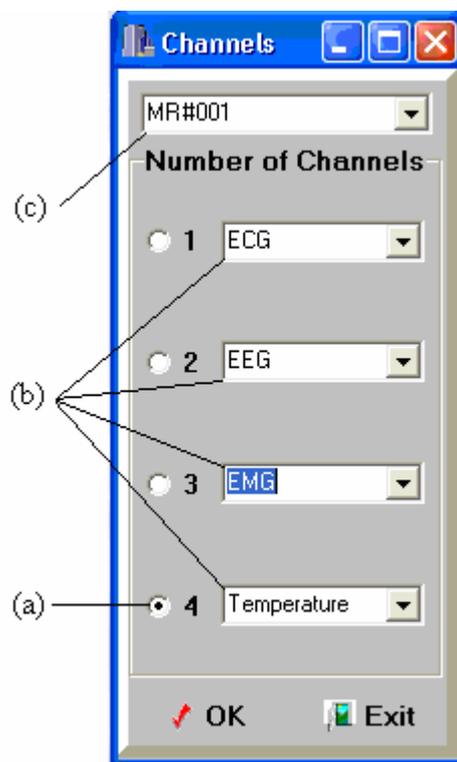


Figura 3.6: Tela de escolha: a) Quantidade de canais que será utilizado no experimento (até 4 canais), b) Sinais (ECG, EEG e EMG) que serão atribuídos a cada canal utilizado, c) Indica qual módulo remoto está sendo utilizado no experimento.

Após a escolha do número de canais e dos sinais que cada canal irá receber, uma tela para a visualização dos sinais, mostrada na Figura 3.7 (a), irá se tornar ativa para o

usuário. Assim, o sistema é ligado (Figura 3.7 (b) – botão *on/off*) e então, é iniciada a exibição dos sinais na tela do computador.

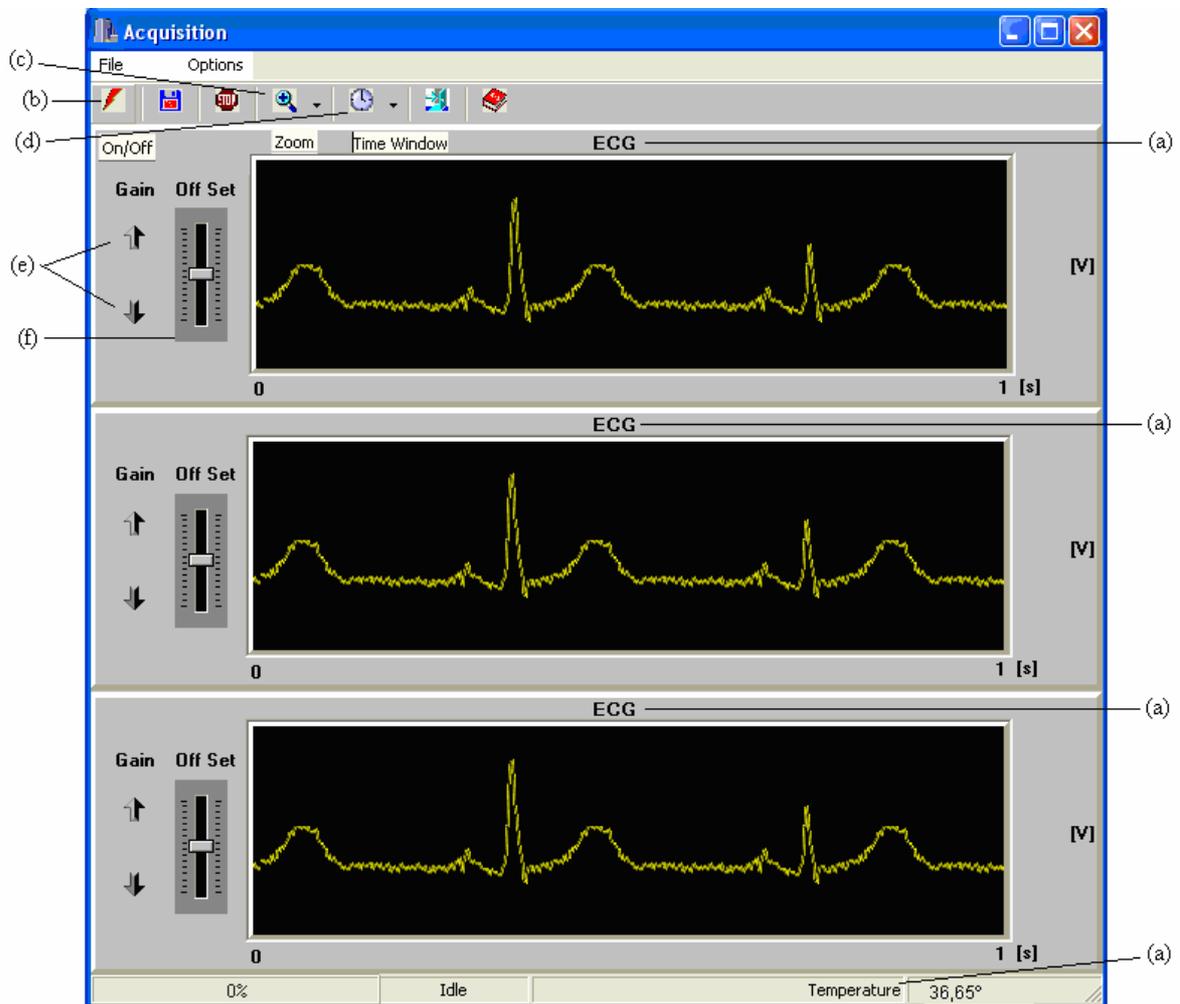


Figura 3.7: Tela de visualização: a) Sinais fisiológicos: ECG, EEG, EMG e Temperatura, b) botão de *on/off*, c) botão de zoom dos sinais, d) botão de resolução da janela de tempo dos sinais, e) botões de ganho para cada um dos sinais, f) botões de *off-set* para cada um dos sinais.

Durante a visualização, o usuário tem a opção de aumentar ou diminuir os ganhos (variação da amplitude do sinal, exibidos na Figura 3.7 (e)) e ajuste de *off-set* (variação do deslocamento do sinal, exibidos na Figura 3.7 (f)). Ao variar o ganho, é enviado um comando do software através da USB. Esta informação chega ao módulo base, sendo enviada ao módulo remoto e assim, alterado o ganho. Cada canal possui um ajuste de ganho independente, e após o ganho ser modificado no módulo remoto, os dados retornam alterados ao software.

Não existe um protocolo para o envio e recebimento do ganho ao módulo remoto, e sim um comando que envia o dado necessário (1 byte) para realizar a variação do ganho no circuito. Este comando é da biblioteca do *chip* FTD2XX da FTDI. O módulo remoto ao receber este comando altera os dados dos sinais (aumento ou diminuição do ganho) e envia novamente ao computador. Desta forma os pacotes do protocolo chegam modificados ao computador. O comando para o envio dos dados do ganho é exemplificado a seguir:

```
//Envia 0xF3 para o Hardware, fazendo diminuir o ganho do sinal do canal 3
BytesToFtdi[0] = 0xF3;
// Escreve no FTDI
FT_Write(Device.ftHandle,&BytesToFtdi,1,&BytesWritten);
```

Na tela de aquisição dos sinais, há também as opções de dar zoom no sinal (Figura 3.7(c)), podendo ser esse zoom de 1, 2, 3, 4, 6, 8 e 10 vezes o tamanho do sinal. Outra ferramenta possibilita mudar o intervalo de tempo (Figura 3.7(d)), podendo este intervalo ser de 1, 5, 10, 20 e 30 segundos de sinal amostrado.

b) Armazenamento de Dados:

Além da visualização, os sinais são armazenados em arquivos do tipo *DAT* (arquivo de dados). Para uma taxa de 500 amostras por segundo, e com resolução de 10 bits, utilizando os quatro canais disponíveis, este formato gera 2500 bytes por segundo, ou seja, 150 kbytes por minuto. Assim, este padrão gera um volume relativamente pequeno de dados, comparado ao disco rígido de um computador, que armazena, por exemplo, 80 GB de dados.

Após a visualização dos dados, o usuário tem a opção de armazená-los (*record*), como exibido na Figura 3.8(a). Uma tela de indicação de tempo irá se tornar ativa ao usuário (Figura 3.8(c)). Assim, escolhe-se o tempo de duração do armazenamento dos sinais. O usuário também pode, no decorrer do armazenamento, encerrá-lo caso seja de sua necessidade (Figura 3.8(b)), sem perder os dados que já foram armazenados anteriormente. A barra de status (situada no rodapé da tela que exhibe os sinais) exhibe o percentual proporcional ao período de tempo já armazenado dos sinais e exhibe também, o valor do canal de temperatura.

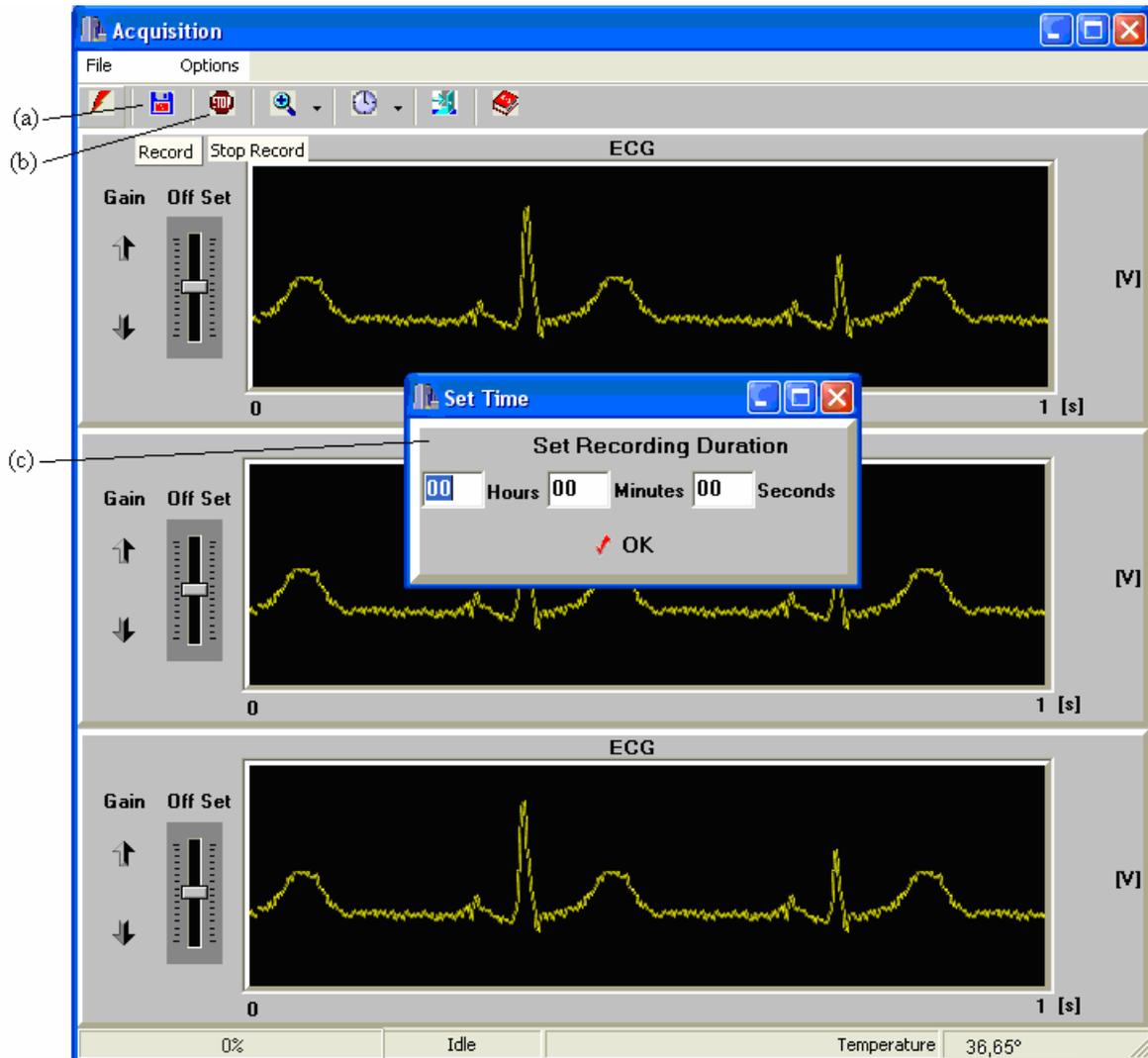


Figura 3.8: Tela de visualização do armazenamento dos sinais fisiológicos escolhido pelo usuário. a) Botão para armazenar os sinais, b) Botão para parar o armazenamento dos sinais, c) Tela de indicação de tempo.

3.2.2. Procedimentos de Calibração dos Sinais Bioelétricos – Temperatura

Os sinais analógicos amostrados do animal em experimento (em particular a temperatura), que são adquiridos pelo hardware e interpretados pelo software não possuem um valor exato das grandezas envolvidas. Isto ocorre, por exemplo, devido a erros de arredondamento do software, erros intrínsecos dos componentes eletrônicos utilizados no hardware e ao converter esses sinais analógicos para digitais. Assim, uma forma de conseguir uma exatidão maior é realizar um procedimento de calibração, comparando os valores que são lidos do software com valores de referência. Isto é, com equipamentos que

possuam boa exatidão, e atenda aos propósitos da análise em que estiver sendo submetido. Dois por cento (2%) de erro na medida é um bom valor a ser considerado como confiável (BARBETA, 1998). Desta forma, é utilizado para a calibração do sinal de temperatura este método, para se ter uma melhor exatidão dessa medida.

Para calibrar a temperatura, utilizou-se do método de análise de regressão linear. Método esse que utiliza a relação entre duas ou mais variáveis quantitativas (ou qualitativas) de tal forma que uma variável pode ser predita a partir da outra ou outras. O software recebe o sinal amostrado (Eixo X – da Figura 3.9) e exibe seu valor bruto. Essas medidas são comparadas com os equipamentos considerados referência (Eixo Y – da Figura 3.9). Assim, comparam-se os dados da seguinte maneira:

Coloca-se o equipamento (termômetro) de referência em um valor mínimo. Coloca-se o termômetro do circuito e o termômetro de comparação de referência em uma temperatura baixa, medindo-se as temperaturas X_1 e Y_1 que são as medidas do sinal amostrado e do equipamento de referência, respectivamente. Após, coloca-se os equipamentos em um valor máximo. Colocam-se os componentes em uma temperatura alta para o sinal a ser calibrado, medindo-se as temperaturas X_2 e Y_2 que são as medidas do sinal amostrado e do equipamento de referência, respectivamente. Compara esses valores do sinal amostrado com os valores do equipamento de referência. Essa comparação é melhor visualizada na Figura 3.9, que mostra um gráfico genérico para a calibração das medidas. O gráfico gerado é linear com coeficiente angular e um deslocamento inicial é uma reta, e assim utilizou-se da equação para calcular os coeficientes α e β .

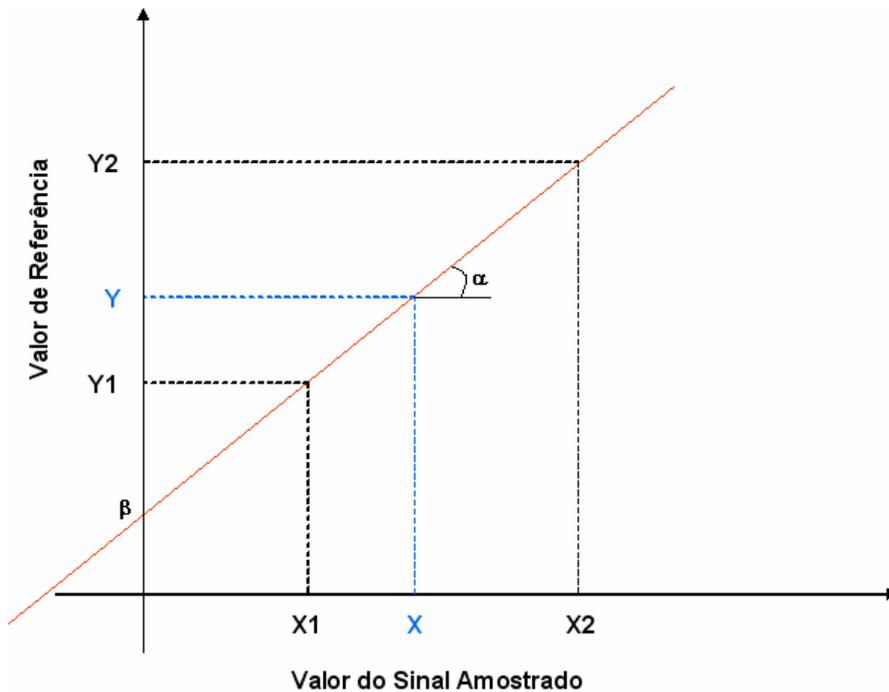


Figura 3.9: Gráfico utilizado para extrair as equações para realizar a calibração dos sinais bioelétricos.

Tem-se do gráfico da Figura 3.7 a Equação da reta (3.1):

$$Y = \alpha.X + \beta \quad (3.1)$$

Aplicando-se os valores para baixa temperatura, obtém-se a Equação (3.2):

$$Y1 = \alpha.X1 + \beta \quad (3.2)$$

Aplicando-se os valores para a alta temperatura, obtém-se a Equação (3.3):

$$Y2 = \alpha.X2 + \beta \quad (3.3)$$

Nas Equações (3.2) e (3.3) as incógnitas são α e β , que são os parâmetros da Equação da reta. Das Equações (3.2) e (3.3), isolando-se e igualando as equações, isola-se α como é apresentado na Equação (3.4) e determina-se o coeficiente angular α :

$$\alpha = \frac{Y_2 - Y_1}{X_2 - X_1} \quad (3.4)$$

Aplicando-se o valor calculado de α na Equação (3.2) obtém-se β como apresentado na Equação (3.5):

$$\beta = Y_1 - \alpha \cdot X_1 \quad (3.5)$$

Obtido os valores de α e β pelas Equações (3.4) e (3.5), substitui os valores na Equação (3.1). Desta forma obtém-se os valores calibrados de cada amostra do sinal.

A tela da interface desenvolvida para a obtenção da calibração dos sinais, é apresentada na Figura 3.10. A calibração é realizada antes do módulo remoto ser implantado no animal. Cada módulo recebe um número de série para facilitar a sua identificação (eg. MR#001, MR#002,..., MR#n). O usuário identifica o número de série do módulo remoto (MR), e inicia a calibração dos sinais. Escolhe-se um dos sinais a ser calibrado, e informa ao sistema os valores de mínimo e máximo do sinal, segundo o valor do equipamento de referência. O valor que é fornecido pelo software é exibido também nesta tela, para o usuário poder comparar as temperaturas. Após isso, a configuração de calibração é armazenada em um banco de dados, não havendo necessidade que o usuário calibre novamente os sinais. A critério do usuário, pode-se acrescentar ou excluir outros sinais, os quais ficarão armazenados em um banco de dados.

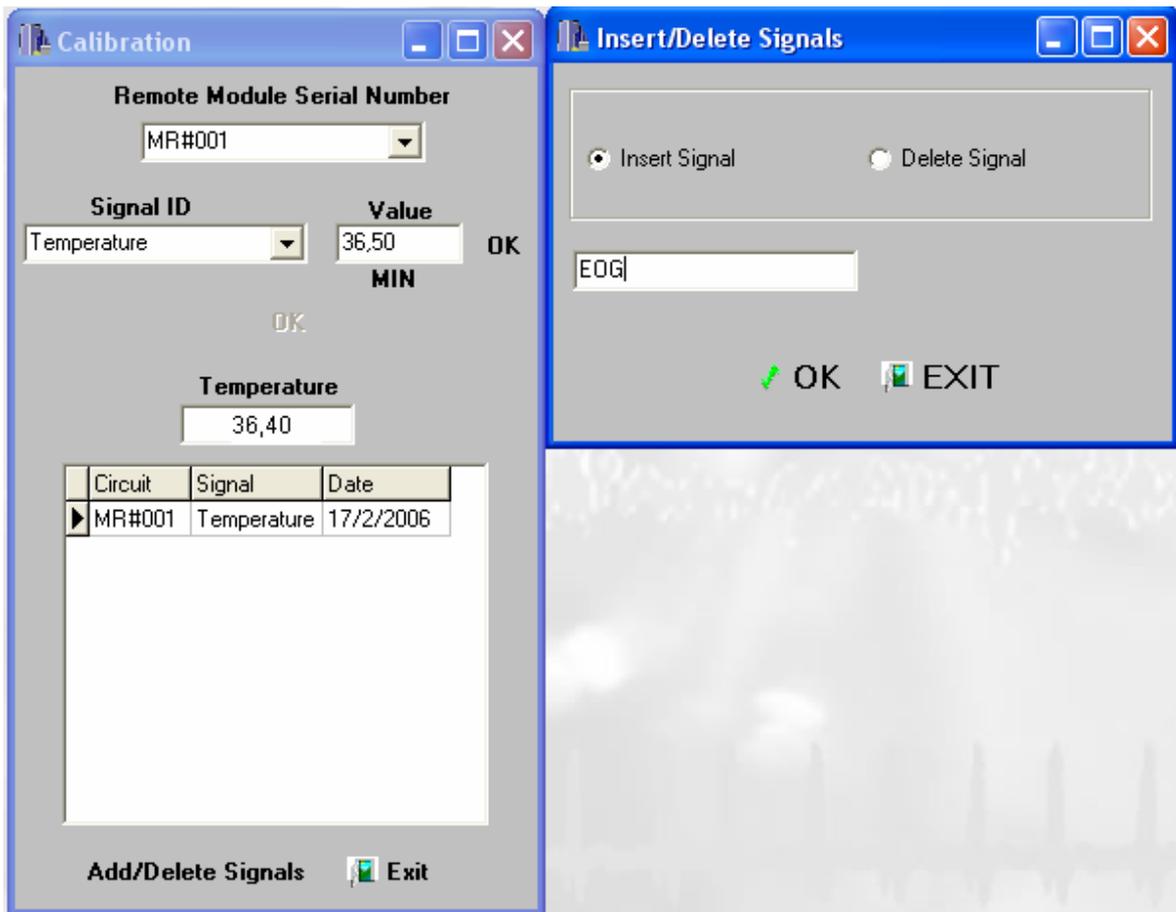


Figura 3.10: Tela para a obtenção da calibração dos sinais: Escolhe o circuito a ser utilizado; seleciona-se o sinal desejado para a pesquisa; ou insere-se um novo nome de um sinal que não está no banco de dados. Após isso, marca-se o valor mínimo e máximo, respectivamente, para o sinal em medição que está sendo comparado com o instrumento de referência. O usuário pode incluir ou excluir outros sinais.

3.2.3. Organização do Módulo de Aquisição dos Sinais Bioelétricos

O módulo base (MB), situado fora da arena, irá receber do módulo remoto (MR) os sinais fisiológicos e encaminhar os dados via USB, onde a *thread 1* irá fazer a leitura, sincronismo e interpretação dos pacotes de dados. Ocorre então a calibração do circuito. Após a calibração, o sinal é exibido pelas funções atribuídas a *thread 2*. Se houver necessidade de aumentar ou diminuir o ganho para a melhor visualização do sinal, o comando é enviado do software até o módulo remoto e o ganho alterado. Essa decisão sobre o ganho ocorre na *thread 2*, onde é visualizado os sinais. Finalmente, é realizado o

armazenamento dos sinais pela *thread 3*. A Figura 3.11 exibe o diagrama de blocos do funcionamento do software de aquisição dos sinais bioelétricos.

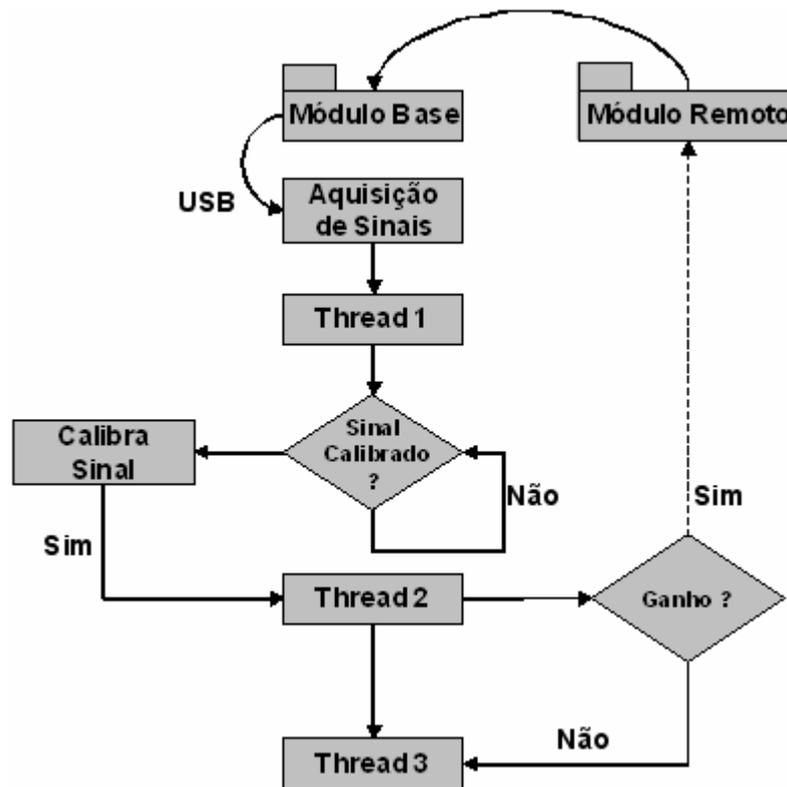


Figura 3.11: Diagrama de blocos de funcionamento do software de aquisição dos sinais bioelétricos.

3.2.4. Sincronismo entre os Sinais Fisiológicos e de Imagem

Nesta seção, descrevem-se os procedimentos de sincronização entre os sinais bioelétricos e o sinal de vídeo relacionado aos dados comportamentais do animal em experimento. A Figura 3.12 representa o sistema de aquisição de sinais (bioelétricos e imagem) juntamente com o valor dos cristais (base de tempo) dos respectivos microcontroladores utilizados no Etofisiógrafo.

No item (a), faz-se uma análise de todos os atrasos de tempo sofridos por um evento bioelétrico desde a sua geração, até a chegada do dado correspondente na tela do computador. No item (b), de forma semelhante, faz-se a mesma análise para o sinal de vídeo. No item (c) é descrito o protocolo para a inserção do sincronismo dos sinais

(bioelétricos e de imagem). E no item (d) a metodologia para a detecção do sincronismo nos sinais.

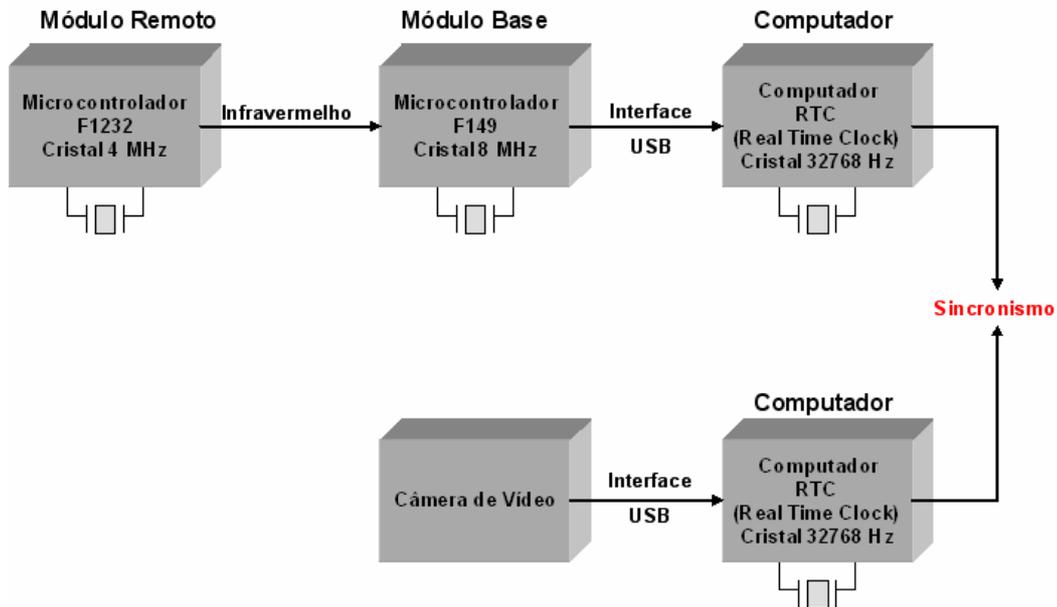


Figura 3.12: Diagrama de visão geral do sistema em relação às bases de tempo dos sistemas (Módulo Remoto, Módulo Base, Computador e Câmera de Vídeo).

a) Análise de Propagação dos Sinais Bioelétricos:

Conforme apresentado na Figura 3.12, o sistema proposto é constituído por: módulos (remoto e base) e computadores (de aquisição de sinais bioelétricos e de sinal de vídeo). Cada sistema possui a sua base de tempo, os cristais. Cristais são elementos sólidos nos quais os átomos, moléculas ou íons constituintes estão dispostos em uma ordem regular, repetindo esses padrões nas três dimensões espaciais. Esses materiais possuem frequências de ressonância naturais. Quando um cristal é deformado mecanicamente, ele gera um campo elétrico com a frequência de ressonância natural do material, essa propriedade é a Piezoelétrica dos cristais. Esta frequência gerada através do campo elétrico é utilizada como sendo a base de tempo para os microcontroladores e microprocessadores devido a sua exatidão.

Devido a cada sistema possuir a sua base de tempo (cristais) não existe uma forma confiável de sincronizar todos esses relógios numa mesma faixa de milisegundos ou microsegundos. A seguir, é apresentada uma análise dos tempos que causam o atraso e assim a falta de sincronismo, de todos os principais componentes que são utilizados no

sistema. Os módulos base e remoto, computadores e a transmissão de dados via USB, e infravermelho. Da análise de eventos de transmissão de sinais bioelétricos, obtêm-se a Tabela 3.1 e a Figura 3.13.

Tabela 3.1: Eventos de transmissão de sinais bioelétricos com seus respectivos tempos de propagação.

Sistema	Tempo de Propagação	
Módulo Remoto (componente F1232)	t	Instante do evento (sinal bioelétrico).
	$\Delta_{01} - \Delta t_{\text{cond.}}$	Tempo de propagação do sinal pelos circuitos de condicionamento (amplificadores e filtros).
	$\Delta_{02} - \Delta t_{\text{ADC}}$	Tempo de conversão do ADC (<i>Analog-to-digital converter</i>) (digitalização do sinal).
	$\Delta_{03} - \Delta t_{\text{int-t}}$	Latência de interrupção do <i>timer</i> (tempo não-determinístico).
	$\Delta_{04} - \Delta t_{\text{proc.}}$	Tempo de processamento (formação do <i>frame</i>).
	$\Delta_{05} - \Delta t_{\text{TX}}$	Tempo de transmissão de dados pela UART (<i>Universal Asynchronous Receiver – Transmitter</i>).
	$\Delta_{06} - \Delta t_{\text{INT-U}}$	Latência de interrupção da UART (tempo não-determinístico).
Transmissão Infravermelha (IR)	$\Delta_{07} - \Delta t_{\text{IR-T}}$	Tempo de retardo para conversão de sinal elétrico em óptico (fótons).
	$\Delta_{10} - \Delta t_{\text{fótons}}$	Tempo de percurso dos fótons (menor do que um metro), dependente da distância entre transmissor e receptor infravermelho.
Módulo Base (componente F149)	$\Delta_{20} - \Delta t_{\text{IR-R}}$	Tempo de retardo para conversão de sinal óptico (fótons) em sinal elétrico.
	$\Delta_{21} - \Delta t_{\text{RX}}$	Tempo de recepção dos dados pela UART.
	$\Delta_{22} - \Delta t_{\text{INT-R}}$	Latência da interrupção da UART (tempo não-determinístico).
	$\Delta_{23} - \Delta t_{\text{proc}}$	Tempo de processamento, verificação do frame, agregação de outros sinais, formação do frame (variável).
Transmissão pela Interface USB	$\Delta_{24} - \Delta t_{\text{USB-T}}$	Tempo de escrita na interface USB.
	$\Delta_{30} - \Delta t_{\text{USB-L}}$	Latência de transmissão pela interface USB (tempo não-determinístico).
Computador	$\Delta_{40} - \Delta t_{\text{USB-W}}$	Tempo de recepção e escrita dos dados buffer de recepção USB no computador.
	$\Delta_{41} - \Delta t_{\text{USB-Lat}}$	Latência do aplicativo no computador até receber os dados no <i>buffer</i> de recepção USB (tempo não-determinístico).

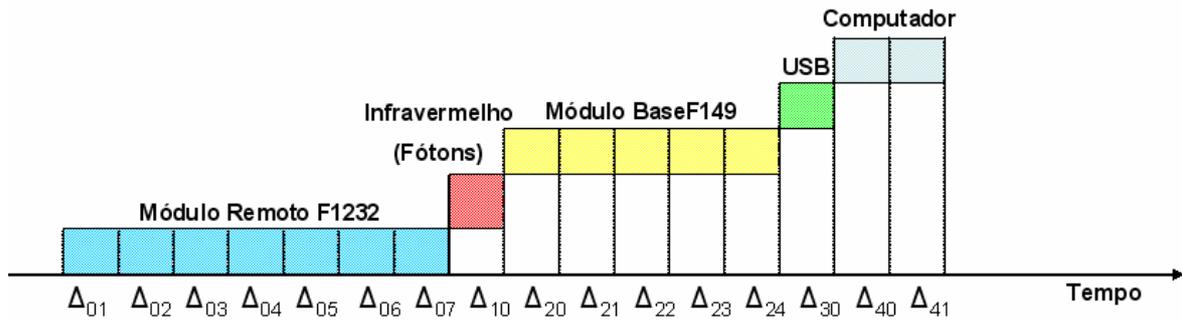


Figura 3.13: Tempos dos componentes do sistema de aquisição de sinais bioelétricos (módulo remoto (F1232), transmissor infravermelho, módulo base (F149), USB e computador).

Alguns destes eventos possuem duração desprezível (picosegundos ou nanosegundos), mas outros eventos possuem duração significativa e variável que ao longo da duração de um experimento podem representar erros muito expressivos (acima de 5%) no sincronismo entre os sinais.

b) Análise de Propagação do Sinal de Imagem:

As *webcams* comerciais fornecem trinta quadros de imagem por segundo, sendo que cada quadro representa eventos de 33,3 ms ($\frac{1}{30} s$). O sensor que executa a captura da imagem possui circuitos internos de controle automático de ganho que controlam o tempo de integração de imagem para que estas possuam sempre o mesmo nível de iluminação, dentro dos limites possíveis de controle. Desta forma, o tempo em que o sensor fica “aberto” recebendo fótons para mostrar a imagem é variável, e não controlável pelo usuário. Dentro do intervalo de um quadro (33,3 ms) não é possível saber o instante e a largura da janela de abertura para a captura de fótons que irão formar a imagem. A Figura 3.14 exibe a visão geral da aquisição de imagem.

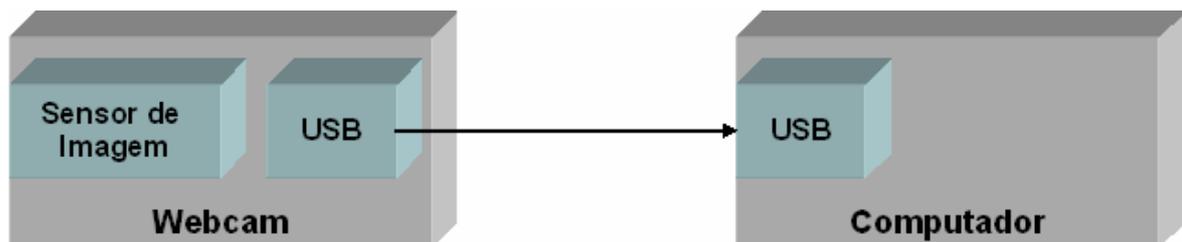


Figura 3.14: Diagrama da visão geral da aquisição de imagem.

Fazendo-se uma análise de eventos de transmissão de imagem, obtém-se a Tabela 3.2 e a Figura 3.15.

Tabela 3.2: Eventos de transmissão de imagem com seus respectivos tempos de propagação.

Sistemas	Tempos de Propagação	
Webcam	Δt	Janela de tempo de integração para formação da imagem ($\leq 33,3\text{ ms}$). Captura de fótons – geração de sinais elétricos correspondentes à imagem.
	Δ_{50}	Tempo de processamento e preparação dos dados.
	Δ_{51}	Tempo de escrita na interface USB 2.0.
Transmissão pela Interface USB	$\Delta_{60} - \Delta t_{\text{USB-L}}$	Latência de Transmissão pela interface USB (tempo não-determinístico).
Computador	$\Delta_{70} - \Delta t_{\text{USB-W}}$	Tempo de recepção e escrita dos dados no <i>buffer</i> de recepção USB no computador.
	$\Delta_{71} - \Delta t_{\text{USB-Lat}}$	Latência do aplicativo no computador para perceber a existência de dados no <i>buffer</i> de recepção USB (tempo não-determinístico).

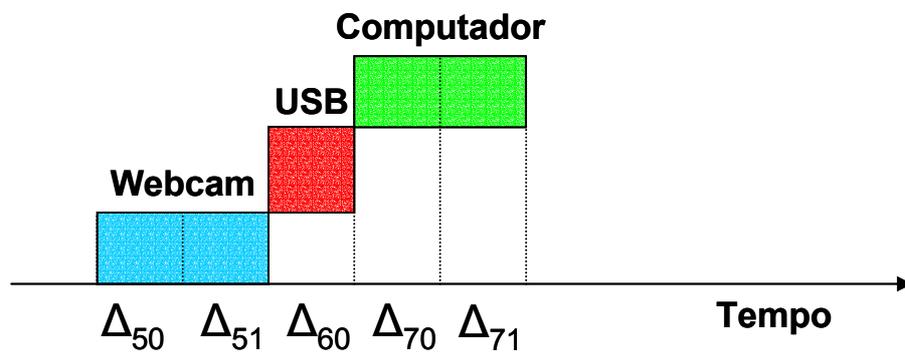


Figura 3.15: Tempos dos componentes do sistema de aquisição de imagens (webcam, USB e computador).

De forma semelhante, alguns destes eventos não são representativos em termos de duração de tempo, mas outros são e possuem uma duração variável, não sendo determinística. Como se pode ver, nas bases de tempo descritas, observa-se que para realizar um sincronismo bem definido, entre a imagem de vídeo e os sinais bioelétricos, há diversas variáveis envolvidas. Desta maneira, é complexa a realização de um sincronismo exato, devido a todos os componentes do sistema dependerem de intervalos de tempos variáveis para sincronizar os sinais.

c) Protocolo para Inserção do Sincronismo dos Sinais:

Conforme apresentado, é difícil estabelecer um protocolo entre os relógios dos sistemas para que o tempo seja utilizado como elemento para estabelecer o sincronismo entre os eventos bioelétricos e a imagem. Desta forma, foi desenvolvido um protocolo que utiliza as próprias informações dos sinais bioelétricos e sinal de imagem para estabelecer o sincronismo temporal entre os eventos.

Nesta abordagem, a aquisição do sinal de vídeo é realizada (através de uma *webcam*), e este sinal é armazenado no computador. Após o início da gravação do sinal de vídeo, o Etofisiógrafo começa a armazenar os sinais bioelétricos. No momento em que a gravação dos sinais bioelétricos é iniciada, um comando é enviado pelo software, no computador, para o módulo base, via USB (item 1 da Figura 3.16). Este comando tem por finalidade acender um LED (LED de Sincronismo) que está localizado na arena, no campo de visão da *webcam*, na qual é realizado o experimento (item 2 da Figura 3.16).

O comando para o envio dos dados para o LED acender é exibido a seguir:

```
//Envia 0x77 para o Hardware, fazendo acender o LED de sincronismo
    BytesToFtdi[0] = 0x77;
// Escreve no FTDI
    FT_Write(Device.ftHandle,&BytesToFtdi,1,&BytesWritten);
```

O LED aceso sinaliza o momento que o software iniciou o armazenamento dos sinais fisiológicos. Seu posicionamento na arena é flexível. Desta maneira, o usuário pode colocá-lo de forma que a câmera consiga visualizá-lo, sem incomodar visualmente o animal, durante o experimento. A ação de “acender o LED” é também armazenada pela *webcam*.

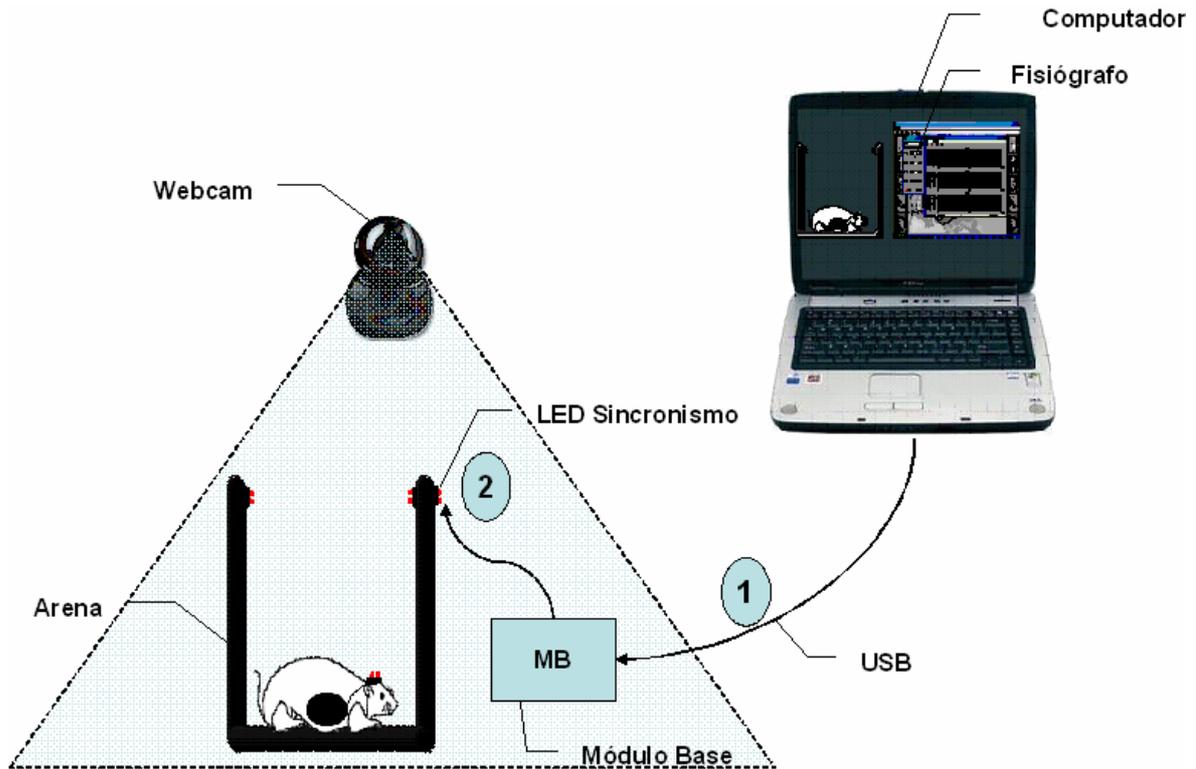


Figura 3.16: Visão geral do sincronismo – (1) Comando que aciona o LED de sincronismo, é transmitido do software, no computador, para o módulo base, via USB. (2) Comando que aciona o LED de sincronismo, é transmitido do módulo base até o LED.

Para a realização do sincronismo, de forma a depender o mínimo possível das bases de tempo dos sistemas envolvidos foram utilizadas ferramentas de tratamento de imagens, e API⁷ (*Application Program Interface*) para a obtenção de melhores resultados.

d) Metodologia para a Detecção do Sincronismo nos Sinais:

Após os sinais de vídeo e fisiológicos serem armazenados, foi desenvolvido todo o procedimento para a identificação dos sinais de sincronismo. Para a identificação visual, dos sinais de vídeo adquirido, utilizou-se biblioteca *Media Player* do C++ Builder®. Esta biblioteca já possui métodos definidos (*play*, *pause*, *stop*, *step*, e outros). Porém este componente possui uma limitação na leitura dos diversos tipos de formatos compactados de vídeos existentes (*mpeg*, *avi*, *wmv* entre outros), pois ela trabalha somente com vídeos no formato AVI (*Audio/Video Interleaved*). Devido a esta limitação, durante os

⁷ API – *Application Programming Interface*: Conjunto de funções e estruturas fornecidas pelo próprio Sistema Operacional

experimentos utilizou-se somente o formato AVI, sem compactação. Os sinais bioelétricos são visualizados pela biblioteca *TeeChart*© do C++ Builder®.

Para os experimentos realizados, estão pré-definidas no software as frequências de amostragem de 30 fps e 500 sps. Ou seja, os sinais de vídeo são gravados a trinta (30) quadros (ou *frames*) por segundo. Isto significa que a cada $\frac{1}{30}$ s uma imagem é captada pelo sensor da câmera. Já os sinais bioelétricos são armazenados a 500 amostras por segundo (500 sps). Isto é, uma amostra a cada $\frac{1}{500}$ s. Obtém-se assim, a seguinte relação:

$$R = \frac{1/30}{1/500} = 16,667 \quad (3.6)$$

Isto significa que a cada uma amostra (*frame*) do sinal de vídeo, são apresentadas aproximadamente dezessete (17) amostras dos sinais bioelétricos. Esta é a relação de correspondência entre os dois sinais que deve ser observada para o estabelecimento do sincronismo. A escolha da frequência de amostragem para os sinais fisiológicos obedece ao Teorema de Nyquist: A quantidade de amostras por unidade de tempo de um sinal deve ser maior que o dobro da maior frequência contida no sinal a ser amostrado, para que possa ser reproduzido integralmente sem erro de *aliasing* (sobreposição de componentes de frequência do sinal) (SMITH, 1999).

Assim, os sinais de vídeo e fisiológicos são exibidos na tela e o usuário dará início ao processo de detecção de mudança de cor no LED. O vídeo é constituído por *frames* (que são imagens) e através da análise de cada um desses frames, pela API *bitblt* (*Bit Block Transfer*), é que se obtém o momento exato da mudança de cor/brilho (Crominância/Luminância) do LED.

Bit Block Transfer é uma técnica para tornar mais rápida a geração e atualização de telas gráficas, na qual blocos de dados de uma imagem são transferidos diretamente de uma região da memória de vídeo para outra. Na computação gráfica e na animação, uma técnica de programação que manipula, na memória, blocos retangulares de bits

representando a cor e outros atributos dos pixels⁸ que formam uma imagem na tela. A transferência de blocos de bits funciona movendo esses blocos de bits por inteiro através da RAM de vídeo do computador, de modo que possam ser rapidamente apresentados em uma posição desejada da tela.

Para o caso da obtenção do sincronismo, a API *bitblt* transfere um bloco de dados de uma imagem, (neste caso a transferência é o *frame*) para uma outra área. A outra área é um componente do C++ Builder® – *TImage* – o qual possui, dentre outras funções, a de armazenar o *frame* que é analisado no momento da apresentação de vídeo pelo *Media Player*. O *TImage* armazena a imagem no formato BMP⁹ (*Bitmap*) de 24 bits no padrão RGB (*Red, Green, Blue*). A seguir, tem-se um exemplo do código da aplicação da API *bitblt*:

```
BitBlt(Image1->Canvas->Handle,0,0,(pontos[2].x-pontos[1].x),(pontos[1].y-  
pontos[2].y),hdc,GetPoint.x,GetPoint.y,SRCCOPY);
```

Para uma otimização deste sistema, ao abrir o vídeo, o usuário, irá selecionar a área onde se localiza o LED de sincronismo, exibido na Figura 3.17(a). Esta área selecionada tem um tamanho definido de 10 por 10 pixels. Assim, a imagem a ser analisada não é todo o *frame* e sim, somente uma área deste.

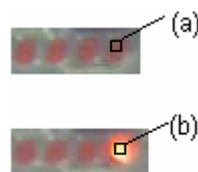


Figura 3.17: (a) Área selecionada para análise do LED, neste *frame* o LED está apagado, (b) *Frame* que exhibe o momento em que o LED acende. Somente a área selecionada é que é analisada.

Assim, após selecionar a área desejada, inicia-se automaticamente a busca, no sinal de vídeo, pela mudança de luminosidade (Y) e crominância (I e Q) no LED. Ao ocorrer uma mudança significativa, isto é, uma diferença do *frame* atual com o próximo, na ordem da luminância e crominância igual a dez (10), significa que naquele momento o LED

⁸ *Pixel* :Picture Element – É o menor elemento em um dispositivo de exibição de imagem.

⁹ *Bitmap*: É a imagem na qual registram-se as informações (cor e posicionamento) de cada pixel, utilizando uma matriz bidimensional.

acendeu (indicação do momento em que iniciou o armazenamento dos sinais bioelétricos), exibido na Figura 3.17(b). Desta forma, é interrompida a varredura no sinal de vídeo, e este sinal é pausado no exato momento da mudança de cor no LED. Nesta etapa, os sinais bioelétricos já estão sendo visualizados, através da biblioteca TeeChart©. A partir desse momento, o sincronismo é estabelecido (Figura 3.18(a)), segundo a relação da equação (3.6). Isto é, para cada *frame* de vídeo deslocado no tempo, aproximadamente 17 amostras dos sinais fisiológicos também são deslocadas e exibidas graficamente (estas amostras são exibidas em um outro tom de cor), mostrado na Figura 3.18(b). Pode ocorrer do usuário selecionar a área errada, na qual se encontra o LED, nesta situação uma mensagem de erro é enviada (a mensagem é enviada após o algoritmo ter analisado 40% do vídeo e não haver encontrado mudança na cor do LED) e o usuário pode selecionar novamente a área na qual se encontra o LED para realizar o sincronismo corretamente.

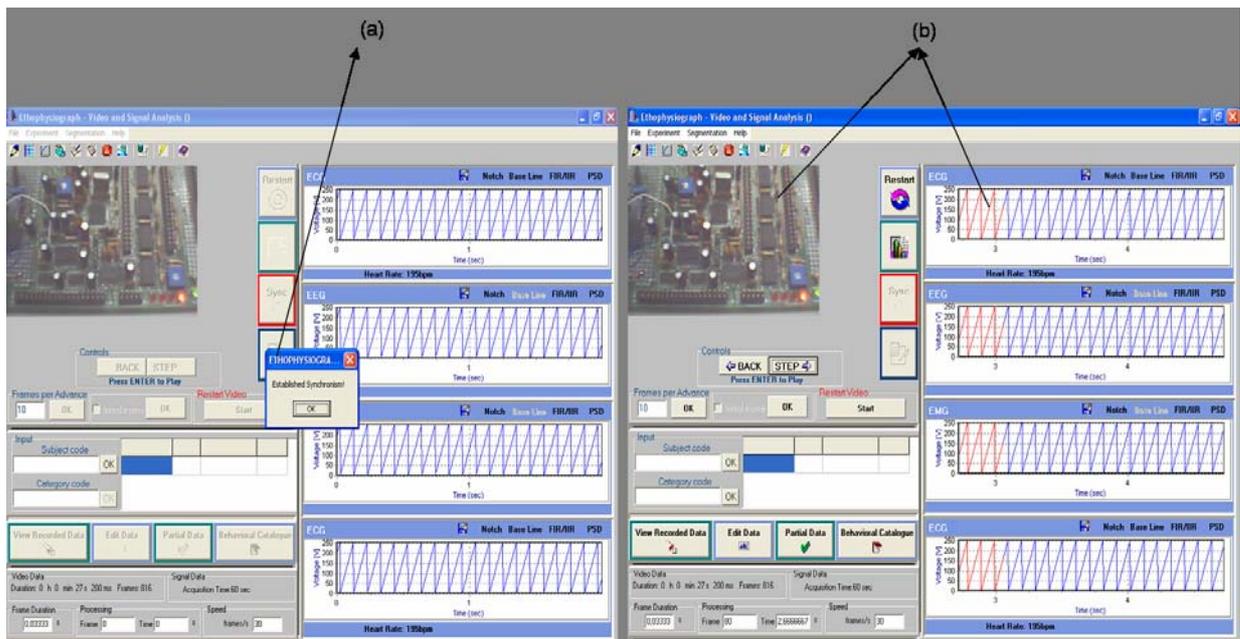


Figura 3.18: Tela de sincronismo do Etofisiógrafo: (a) Momento do estabelecimento do sincronismo entre os sinais após ter sido selecionada a área na qual se encontra o LED e detectada a mudança de cor, (b) Após o sincronismo estabelecido, o *frame* do vídeo exibido corresponde a aproximadamente 17 amostras do sinal fisiológico (exibidos na tela de cor diferente do restante do sinal).

A Figura 3.19 mostra o diagrama de blocos de funcionamento do sincronismo.

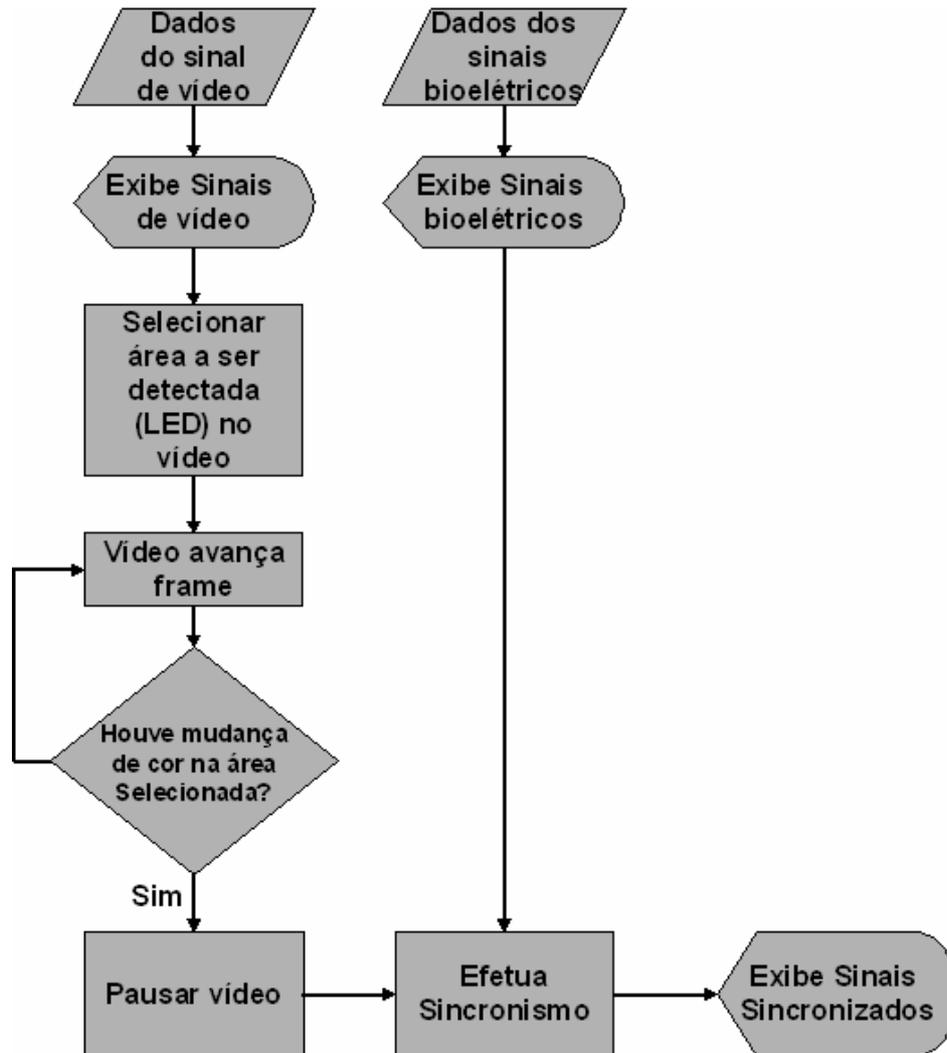


Figura 3.19 Diagrama de blocos da identificação dos sinais e do processo de sincronismo.

3.2.5. Processamento e Tratamento de Sinais

Realizada a aquisição dos dados fisiológicos (armazenados em arquivos do tipo .DAT), e colocados em sincronismo com o sinal de vídeo, é realizada a análise destes. Para o caso da análise comportamental (adquirida do vídeo), esta é realizada através do Etógrafo (PEDERIVA, 2005). Para a análise dos sinais bioelétricos, devido aos vários tipos de sinais que são analisados; foram implementados alguns filtros básicos para ajudar o pesquisador a observar os sinais e eventos ligados a estes de forma mais clara. Entretanto, implementaram-se também, alguns índices que possam, de alguma forma, quantificar os sinais analisados, ampliando as possibilidades de análise e conclusões do usuário.

Os filtros implementados e disponíveis para utilização do usuário segundo suas necessidades são:

- a) **Filtro *Notch*:** Este filtro é utilizado para eliminar o ruído de 60 Hz da rede elétrica ($F_c=60$ Hz; $F_b=3$ Hz; $F_s=500$ Hz);
- b) **Filtro de Linha de Base:** Filtro utilizado para eliminar as oscilações do sinal decorrentes aos artefatos de movimento. Utilizou-se um filtro digital IIR passa-altas, com aproximação *Butterworth* de 2ª ordem e frequência de corte $F_c=2$ Hz;
- c) **Filtro FIR (*Finite Impulse Response*):** Implementou-se o filtro 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. A frequência de corte é definida pelo usuário ($F_s=500$ Hz; $T_w=10$ Hz);
- d) **Filtro IIR (*Infinite Impulse Response*):** Assim como o filtro FIR, disponibilizou-se o filtro IIR nas suas duas formas: passa-altas e passa-baixas, e a frequência de corte é definida pelo usuário. Para este filtro utilizou-se aproximação *Butterworth* de 4ª ordem.

Devido à variedade dos sinais (ECG, EEG, EMG), a frequência de corte de cada um deve ser definida pelo usuário. A Figura 3.20 ilustra a tela do software que realiza os tratamentos descritos para os sinais.

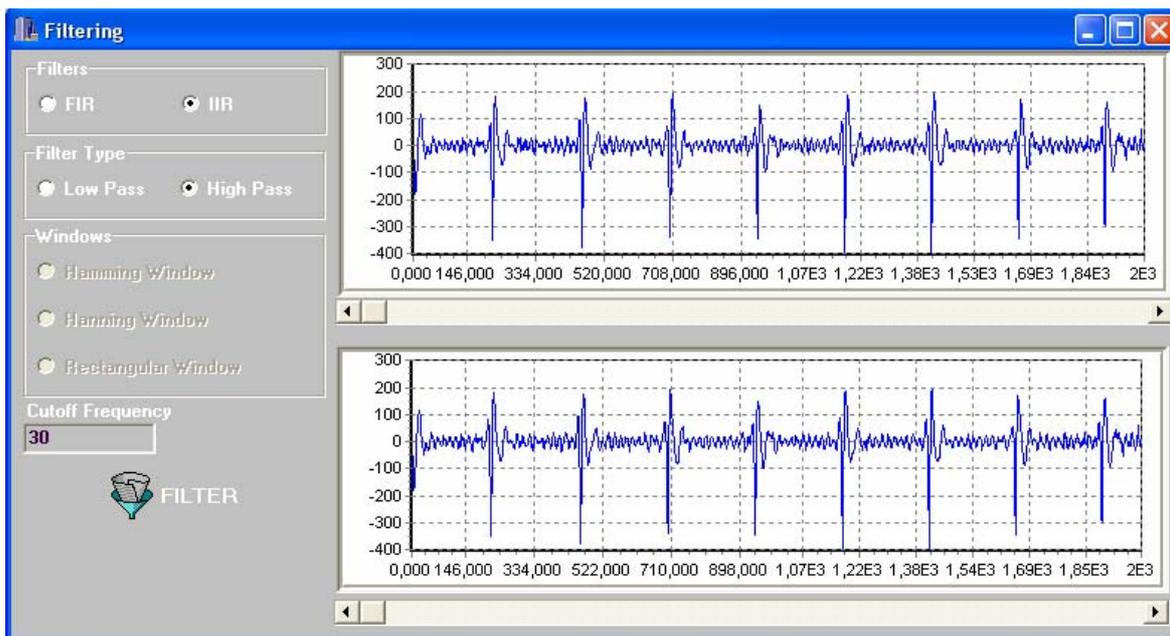


Figura 3.20: Tela do software que realiza o tratamento dos sinais de ECG, EMG e EEG, com frequência de corte variável para cada um dos sinais.

Os algoritmos implementados no intuito de quantificar os sinais bioelétricos analisados, de forma que o usuário possa obter conclusões mais consistentes de suas análises, são listados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3: Algoritmos para quantificar os sinais bioelétricos analisados.

Sinais Bioelétricos	Frequência Cardíaca Instantânea	Densidade Espectral de Potência	RMS – Root Mean Square
ECG	X	X	
EEG		X	
EMG		X	X

a) Frequência Cardíaca Instantânea

Para computação da frequência cardíaca instantânea, necessitou-se da implementação de um algoritmo que localizasse os picos de ondas R (identificadora do batimento cardíaco) durante o sinal de ECG. Para tanto, utilizou-se de uma metodologia a fim de detectar os complexos QRS existentes no sinal, para então identificar a localização no tempo de cada onda R (batimento cardíaco). Como o complexo QRS contém componentes de sinal numa banda de frequência relativamente grande, de 2 Hz até 100 Hz,

de forma a permitir eliminar a interferência das altas frequências e, em particular, a interferência da rede elétrica (60 Hz) e do ruído de alta frequência do EMG, utilizaram-se os seguintes filtros digitais:

- Filtro passa-altas: O filtro utilizado foi um filtro digital IIR (*Infinite Impulse Response*), com aproximação *Butterworth* de 2ª ordem, com frequência de corte igual a 10 Hz;
- Filtro passa-baixas: Para o filtro passa-baixas, também se utilizou um filtro digital IIR, com aproximação *Butterworth* de 4ª ordem e com frequência de corte de 40Hz;

A partir deste momento, os registros filtrados passaram pela identificação dos picos das ondas R, através da aplicação da primeira derivada ponderada, de acordo com a Equação (3.7).

$$y(n) = x_n - x_{n-1} \quad (3.7)$$

onde n varia de dois até o número de pontos do sinal, y_n é a primeira derivada do sinal filtrado em x_n .

Mesmo após estes processos, erros na detecção podem ser causados pela presença de ruído imprevisível e/ou distúrbios no sinal. Desta forma utilizou-se de um *threshold* baseado no valor máximo encontrado no sinal (*threshold* = 45% do valor máximo), para então encontrar todos os picos de ondas R.

Tendo obtido a posição no tempo de cada um dos picos das ondas R (batimento cardíaco), bastou a verificação da quantidade de batimentos cardíacos existentes no minuto centrado exatamente no instante de tempo que o usuário solicitar.

b) Densidade Espectral de Potência (PSD)

O índice que representa a densidade espectral de potência de um sinal foi disponibilizado para ser utilizado por qualquer um dos sinais bioelétricos analisados neste trabalho. O algoritmo implementado para a estimação espectral, e conseqüente, PSD foi o Modelamento Autorregressivo através do Método da Covariância Modificada.

A definição da ordem para estimação dos coeficientes do modelo obedeceu às recomendações da literatura para cada tipo de sinal bioelétrico (BAYKAL;RANJAN;THAKOR, 1994; GE; SRINIVASAN; KRISHNAN, 2002; PALANIAPPAN, 2006). Para estimação da PSD de sinal de ECG, a ordem escolhida foi $p=4$. Para estimação da PSD de sinal de EEG a ordem foi $p = 6$. Já para os sinais de EMG, a ordem estabelecida foi $p=20$.

c) RMS (Root Mean Square)

RMS é um índice que trata de quantificar a atividade elétrica muscular (BEVILAQUA-GROSSI *et al.*, 2005). Dessa forma, o RMS foi implementado a fim quantificar os sinais de EMG analisados, conforme especificado na Equação (3.8).

$$RMS_{EMG} = \sqrt{\frac{1}{T} \int_0^{T-1} x(t)^2 dt} \quad \text{onde T = total de amostras do sinal.} \quad (3.8)$$

3.2.6. Integração Etofisiógrafo e Etógrafo

O Etógrafo (PEDERIVA, 2005) é um software de Etografia, isto é, de análise do registro comportamental de um ou mais indivíduos. Permite o registro a partir de um vídeo digital gravado de um experimento (Figura 3.21) e análise de vídeo quadro a quadro ou com avanço a seu controle. Realiza a geração de relatórios finais de frequências, durações, latências e outros atributos das categorias comportamentais, integradas para diversos registros e experimentos.

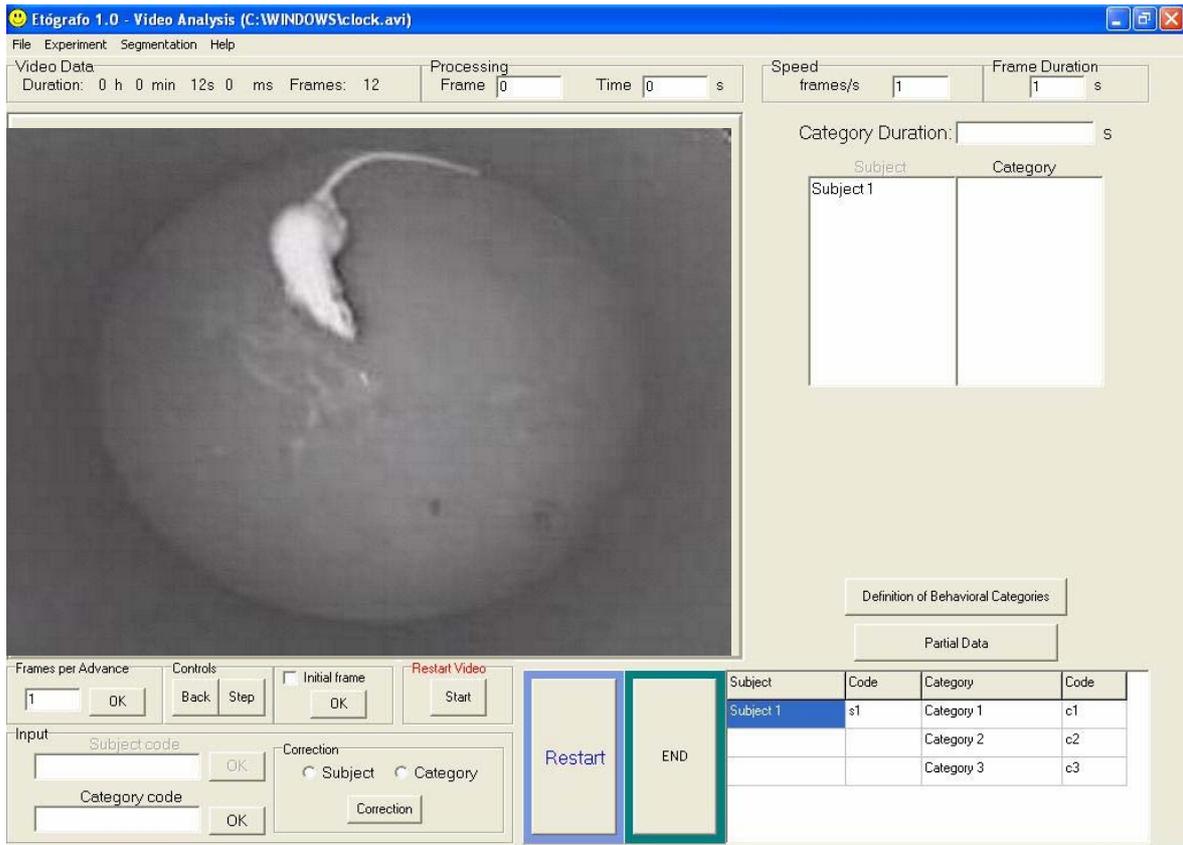


Figura 3.21: Tela de registro comportamental de um ou mais indivíduos a partir de um vídeo digital gravado de um experimento (Etógrafo).

O registro também pode ser adquirido diretamente do ambiente, e também, gera relatórios finais de frequências, durações, latências e outros atributos das categorias comportamentais, integradas para diversos registros e experimentos em que não haja a possibilidade ou o interesse de obtenção de vídeos digitais (Figura 3.22).

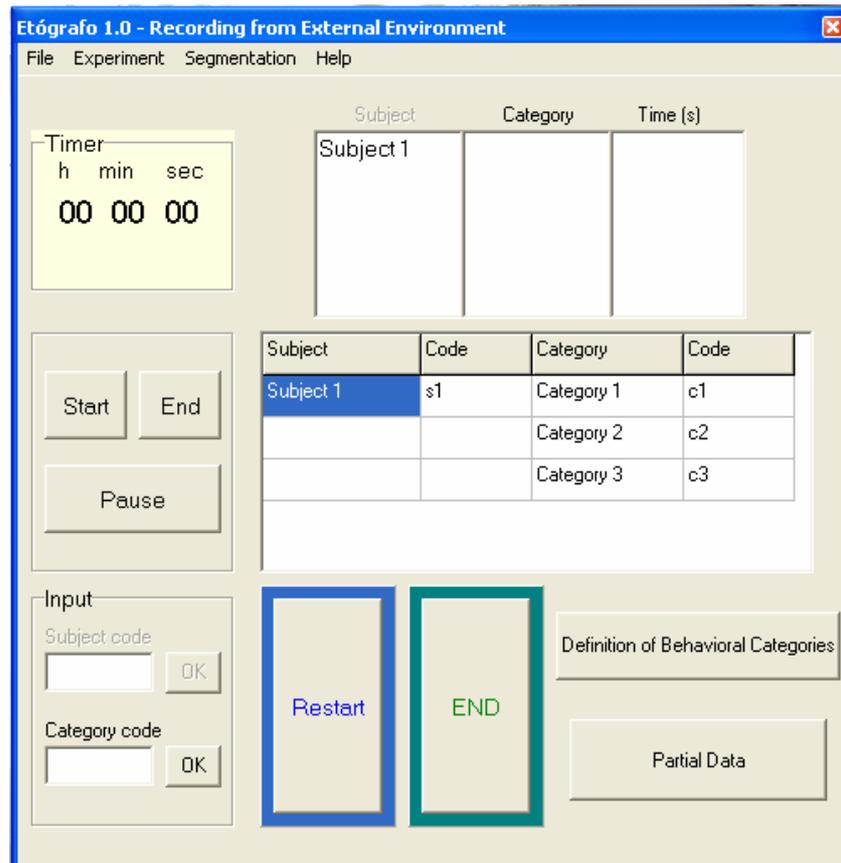


Figura 3.22: Tela de registro diretamente do ambiente (Etógrafo).

O Etofisiógrafo, sistema proposto nesta dissertação, realiza a aquisição de sinais bioelétricos de animais em experimento relacionados à análise comportamental. Juntamente com a aquisição dos sinais fisiológicos, ocorre também à aquisição dos sinais de vídeo relativo ao experimento. Após o armazenamento desses sinais (bioelétricos e de vídeo), ocorre o processo de sincronização do Etógrafo e Etofisiógrafo. O software permite também o uso de alguns tipos de filtros (FIR e IIR com as opções de passa-baixas e altas frequências, rejeita-faixa e passa-faixa e também opções de janelamento: Hamming, Hanning e Retangular), o botão de acesso a estas ferramentas está exibido na Figura 3.23(d), para melhor interpretação e estudo mais detalhado dos sinais. Além do filtro *notch* (para retirar ruídos de 60 Hz) (Figura 3.23(b)) e filtro de linha de base para o ECG (retira a variação da linha de base do sinal) (Figura 3.23(c)). A análise espectral dos sinais de ECG, EEG e EMG podem ser efetuadas através da estimação da densidade espectral de potência (PSD) calculada pelo modelamento AR (Figura 3.23(e)). Ferramentas gráficas também são apresentadas: *zoom*, *crosshair* (indicador da posição dos eixos x e y do gráfico do sinal observado), a possibilidade de salvar determinada área de interesse do sinal para posterior

estudo (Figura 3.23(a)), e mudança do tempo total da janela do sinal amostrado. Também são gerados relatórios (planilhas no Microsoft Excel) sobre o experimento que foi realizado (frequência cardíaca instantânea, temperatura, PSD e RMS) (Figura 3.23(f)) e estão relacionados com os dados obtidos e gerados para a planilha do Etógrafo. Para o caso de somente o Etofisiógrafo estar ativo (não estar em sincronismo com o Etógrafo) o cálculo dos parâmetros instantâneos (frequência, PSD, RMS e temperatura) para a quantidade de amostra visualizada no sinal é realizado através de um botão conforme indica a Figura 3.23(g).

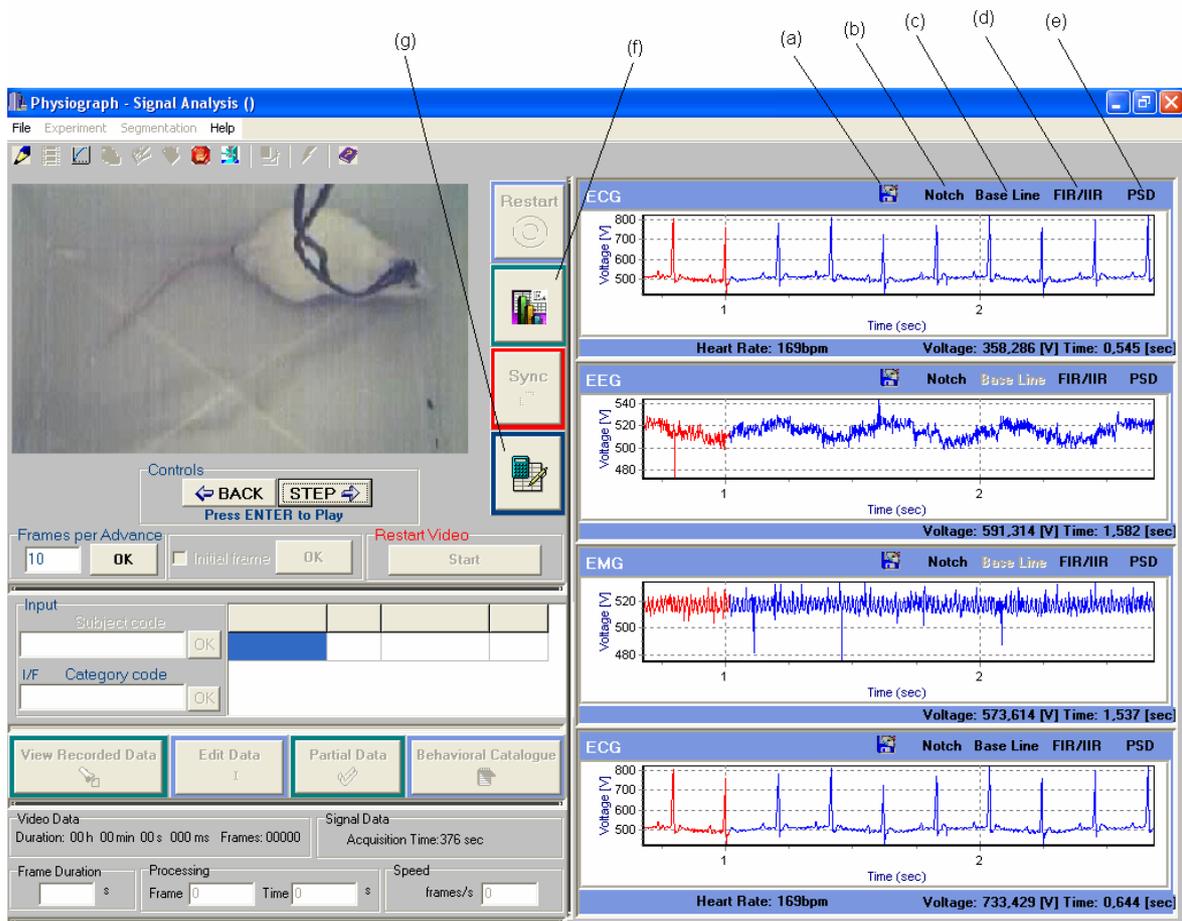


Figura 3.23: Tela do Etofisiógrafo e suas funcionalidades: a) botão para salvar parte do sinal (formato .bmp), b) botão para o filtro Notch, c) Botão para o Filtro de Linha de Base, d) Botão para os Filtros FIR e IIR, e) Botão para estimação da PSD dos sinais, f) Botão que executa a planilha dos resultados (relatório), g) Botão que efetua os cálculos dos índices instantâneos

Apesar de os dois sistemas poderem atuar em módulos independentes, foi proposta uma integração de ambos, um sincronismo dos sinais de imagem e bioelétricos. Esta integração auxilia na investigação do registro comportamental. Além de observar o que acontece com comportamento do animal (vídeo), pode-se também visualizar o que acontece com os sinais fisiológicos durante o experimento. Assim, o pesquisador consegue determinar e estudar com maior precisão determinados comportamentos, e o que ocorre aos sinais relacionados à atividade cardíaca, muscular, temperatura e atividade cerebral, ao animal quando é submetido a um experimento.

O Etofisiógrafo é um módulo independente e pode também ser acoplado ao Etógrafo, e desta interação obtém-se diversos tipos de experimentos a serem realizados. O pesquisador utilizando somente o Etógrafo, realiza o registro diretamente do ambiente, ou o registro dos comportamentos através de um arquivo de vídeo. Da mesma forma, o usuário utiliza somente o Etofisiógrafo para visualizar os sinais fisiológicos durante um experimento (o usuário utiliza somente a parte de aquisição, que é utilizada para observar os sinais diretamente do animal no ambiente). Armazenar esses sinais e depois realizar uma análise mais detalhada, aplicando filtros e estudando partes dos sinais separadamente. Ou após ter armazenado vídeo e sinais bioelétricos, sincronizar esses sinais e obter uma análise completa do ponto de vista comportamental e fisiológico (eg., Vídeo, ECG, EMG, EEG, Temperatura). A Figura 3.24 mostra o diagrama de blocos do software com seus módulos de análise comportamental e de dados fisiológicos.

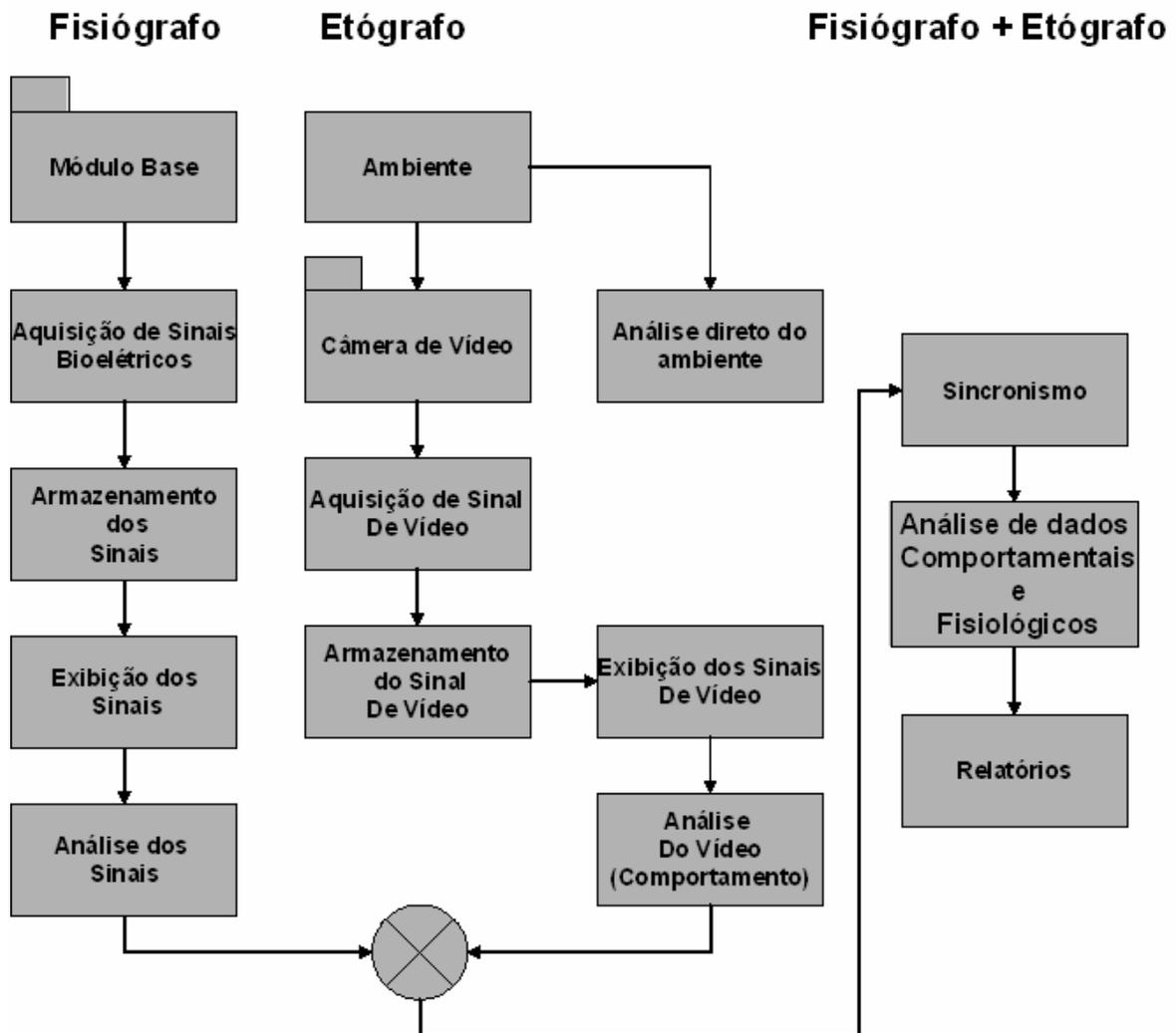


Figura 3.24: Diagrama de blocos do Etofisiógrafo e Etógrafo com seus módulos independentes, porém com possibilidade de sincronismo para realização de análises mais precisas (análise comportamental através de sinal de vídeo e análise de sinais bioelétricos).

4. RESULTADOS

Para avaliação do sistema proposto, foram realizados testes relacionados à aquisição dos dados fisiológicos (observando se os sinais enviados pelo módulo remoto são armazenados e vistos de forma precisa no computador), aquisição de vídeo (número de *frames* por segundo), sincronismo dos sinais fisiológicos e de vídeo, e a aplicação das ferramentas para os dados fisiológicos com geração de relatórios, realizadas através de testes em ratos.

4.1. Testes de Aquisição dos Dados Fisiológicos

Para a avaliação do desempenho do algoritmo de aquisição dos sinais bioelétricos, foram avaliados os números de amostras recebidas em tempos pré-determinados (10 s, 5 min, 20 min, 40 min e 60 min). A Tabela 4.1 apresenta o desempenho do algoritmo, mostrando os resultados gerais (Total) e para cada arquivo individualmente.

Tabela 4.1: Desempenho da Aquisição de amostras dos Dados Fisiológicos

Tempo de Registro	TA	FP	FN	VP	TFD	Se	VPP	TE (%)
10s	5000	0	0	5000	0	100%	100%	0%
5min	150000	0	0	150000	0	100%	100%	0%
20min	600000	0	0	600000	0	100%	100%	0%
40 min	1200000	0	0	1200000	0	100%	100%	0%
60 min	1800000	0	0	1800000	0	100%	100%	0%
Total	3750000	0	0	3750000	0	100%	100%	0%

TA: Total de Amostras

FP: Falsos Positivos

FN: Falsos Negativos

VP: Verdadeiros Positivos

TFD: Total Falsas Detecções

Se: Sensibilidade

VPP: Valor Preditivo Positivo

TED: Taxa de Erro de Detecções

Observou-se eficiência no método de aquisição de dados utilizado. Após um tempo total de 7510 segundos, totalizando 3750000 amostras, todas foram recebidas e armazenadas corretamente. O algoritmo comportou-se de maneira bastante satisfatória, obtendo 100% de sensibilidade (Se%), 100% de preditividade positiva (VPP%) e uma taxa de erro de detecção (TED %) de 0%. Portanto, os resultados de detecção das amostras dos sinais fisiológicos podem ser considerados satisfatórios. Todas as amostras enviadas pelo módulo remoto foram identificadas e recebidas de maneira correta pelo software.

4.2. Testes de Aquisição de Vídeo

No teste de vídeo, foram gravados dez segundos (10 s), cinco minutos (5 min), dez minutos (10 min), vinte minutos (20 min), quarenta minutos (40 min) e sessenta minutos (60 min) de sinal, com vídeo não compactado e vídeo compactado no formato AVI, com uma taxa de amostragem de 30 *frames* por segundo. Este teste foi realizado utilizando uma *webcam Creative NX* registrando um relógio analógico (Figura 4.1), observando se houve atraso ou adiantamento de tempo (*frames*) durante o registro. De todos os experimentos realizando esta metodologia de comparação com o relógio analógico, concluiu-se que não houve atraso ou avanço de *frames* durante a aquisição de vídeo.



Figura 4.1: Teste de aquisição do sinal de vídeo: Compara o tempo gravado pela câmera com o tempo registrado pelo relógio analógico.

4.3. Testes de Sincronismo

Esta seção está dividida no relato dos resultados obtidos na detecção do LED e do sincronismo dos sinais de imagem e dados bioelétricos.

4.3.1. Detecção do Sinal de Sincronismo Visual

A detecção do sinal de sincronismo visual através do LED no local no qual é realizado o experimento é de extrema importância. Através do LED, é que se tem o

indicativo (ao acender) de quando começaram as gravações do sinal de dados fisiológicos. Na arena em que são realizados os experimentos, a câmera fica localizada a setenta e cinco centímetros (75 cm) de altura em relação ao lugar no qual situa-se o animal. A arena (semelhante a um aquário) possui uma altura de cinquenta centímetros (50 cm). Para melhor detecção do LED posicionou-se este na borda superior da arena (a vinte e cinco centímetros da câmera). A Figura 4.2 mostra as distâncias existentes e o local de posição do LED. O posicionamento do LED na arena foi obtido após testar o LED em outras localizações da arena (no interior e exterior das bordas inferiores e superiores), porém a posição na qual o LED é mais bem detectado pela câmera foi em qualquer um dos lados (interior e exterior) da borda superior.

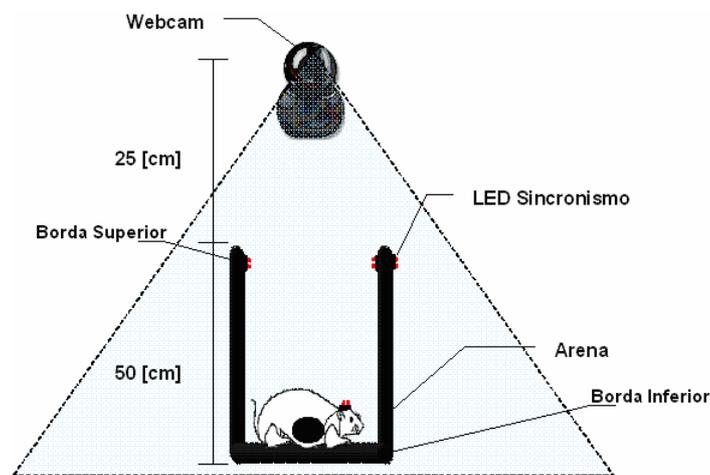


Figura 4.2: Distâncias e localização do LED na arena para estabelecimento do sincronismo.

4.3.2. Sincronismo entre os Sinais de Vídeo e Fisiológicos

Para o teste de sincronismo, foram registrados 10 s, 5 min, 20 min, 40 min e 60 min de vídeo (registrando o LED do módulo base) e sinais de teste (formas de ondas). Primeiramente, o usuário inicia o registro dos sinais de vídeo. Após isso, o usuário através do Etofisiógrafo, começa a realizar o registro de sinais gerados pelo módulo base (ondas dentes de serra, senoidal e quadrada). No exato instante que é iniciado o registro dos sinais, um comando é automaticamente enviado do software ao módulo base, o que fará o LED inicialmente apagado, acender durante um intervalo de 5 segundos e ficar apagado em um intervalo de 5 segundos, durante todo o tempo de registro dos dados. No mesmo instante um sinal enviava 0 (zero) quando o LED estava apagado e 1 (um) quando estava aceso,

este sinal foi armazenado. Após terminar a aquisição dos sinais, estes foram analisados (Etofisiógrafo) para que o estabelecimento do sincronismo fosse observado (Figura 4.3).

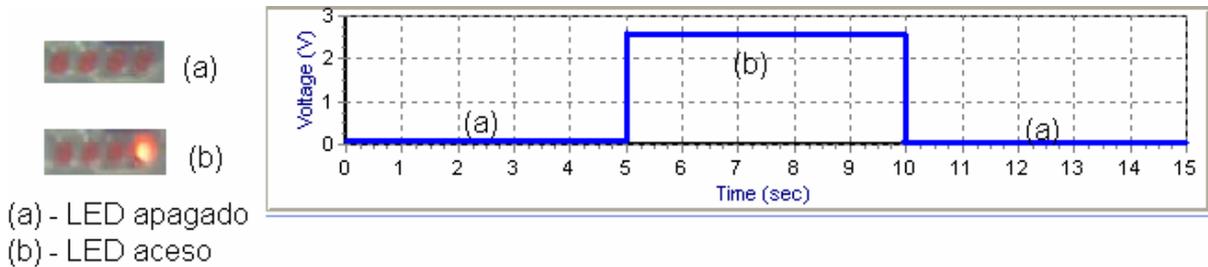


Figura 4.3: Teste de Sincronismo: (a) LED apagado – sinal nível lógico 0 (tensão 0 V); (b) LED aceso – sinal com nível lógico 1 (tensão 2,5 V).

Porém, como a taxa de aquisição dos dados fisiológicos é de 500 amostras por segundo e a taxa de *frames* de sinal de vídeo é de 30 amostras por segundo, tem-se que cada *frame* de vídeo apresentado equivale a 16,667 (Equação 3.6) amostras de sinal fisiológico. Como esse valor não é inteiro, é feito o arredondamento para 17 amostras, o que gera um acréscimo de 0,333 amostras no sinal. Desta forma, para cada *frame* de vídeo exibido serão correspondentes 17 amostras do sinal, conforme exibe a Tabela 4.2 que foi construída para apresentar uma hora de sinal.

Tabela 4.2: Análise de Desempenho do sincronismo entre os sinais.

Tempo [s]	Amostras de Sinal Vídeo	Amostras de Sinal Fisiológico	R	Arredondamento	Diferença de amostras de sinal	Diferença de amostras de vídeo	Diferença de tempo [s]
1	30	500	16,667	17	0,333	0,019	0,001
2	60	1000	33,334	34	0,666	0,039	0,001
3	90	1500	50,001	51	0,999	0,059	0,002
...
3600	108000	1800000	60001,2	61200	1198,8	71,927	2,398

Isso significa que ao final do sincronismo entre os sinais, após uma hora de sinais exibidos, devido ao erro de arredondamento ocorrido durante o sincronismo existirão, a mais, aproximadamente 2,398 segundos de sinal de vídeo (ou aproximadamente 71,927 *frames*). Nos sinais fisiológicos, isto corresponde a aproximadamente 1198,8 amostras para o mesmo tempo de 2,398 segundos. Ou seja, os dois 2,398 segundos de vídeo, não são

apresentados. Portanto, observa-se uma taxa de erro de 0,067% para o sincronismo dos sinais.

4.4. Testes de Avaliação dos Sinais Fisiológicos *In Vivo*

Para os testes *in vivo*, foram realizados dois tipos de experimentos. O primeiro teste comparou o Etofisiógrafo com um sistema comercial de aquisição de dados fisiológicos (BIOPAC). O segundo teste foi realizado em ratos para avaliar o desempenho do Etofisiógrafo, desde a aquisição dos dados até a exibição e análise destes, ou seja, suas funcionalidades foram verificadas.

4.4.1. Teste de Comparação entre Etofisiógrafo e BIOPAC

Este teste foi realizado com o intuito de avaliar o Etofisiógrafo através da comparação deste com um sistema já comercialmente validado. O BIOPAC é um hardware que realiza aquisição dos dados fisiológicos via cabo. O armazenamento, visualização, edição, análise e relatório dos dados são realizados por um software denominado *Acqknowledge*.

Para este teste, o Etofisiógrafo e o BIOPAC foram acoplados através de eletrodos, em um rato, para realizar medidas de ECG e EMG. Os dois sistemas foram ligados em paralelo para que houvesse a aquisição simultânea dos mesmos sinais fisiológicos, conforme apresentado na Figura 4.4.

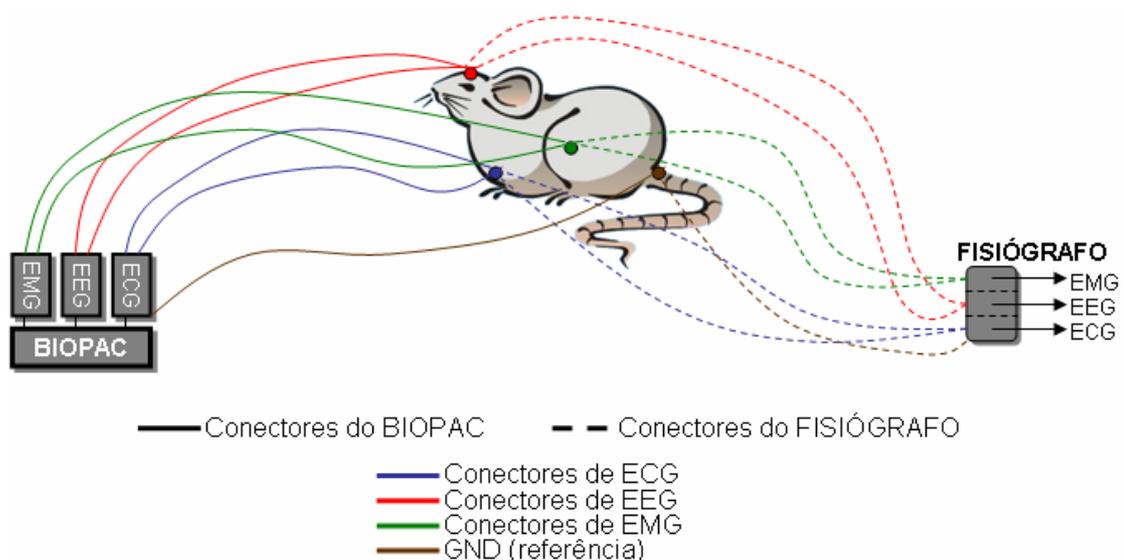


Figura 4.4: Conexão Simultânea dos Equipamentos de Aquisição em ratos.

Após a aquisição e armazenamento dos dados fisiológicos, estes foram exibidos em seus respectivos softwares e na mesma escala de tempo. As Figuras 4.5 e 4.6 apresentam a comparação entre os sinais de ECG e EMG, adquiridos de cada sistema. Em cada uma das figuras, o primeiro sinal mostrado corresponde ao BIOPAC, o segundo ao Etofisiógrafo e o terceiro corresponde ao sinal filtrado, também do Etofisiógrafo.

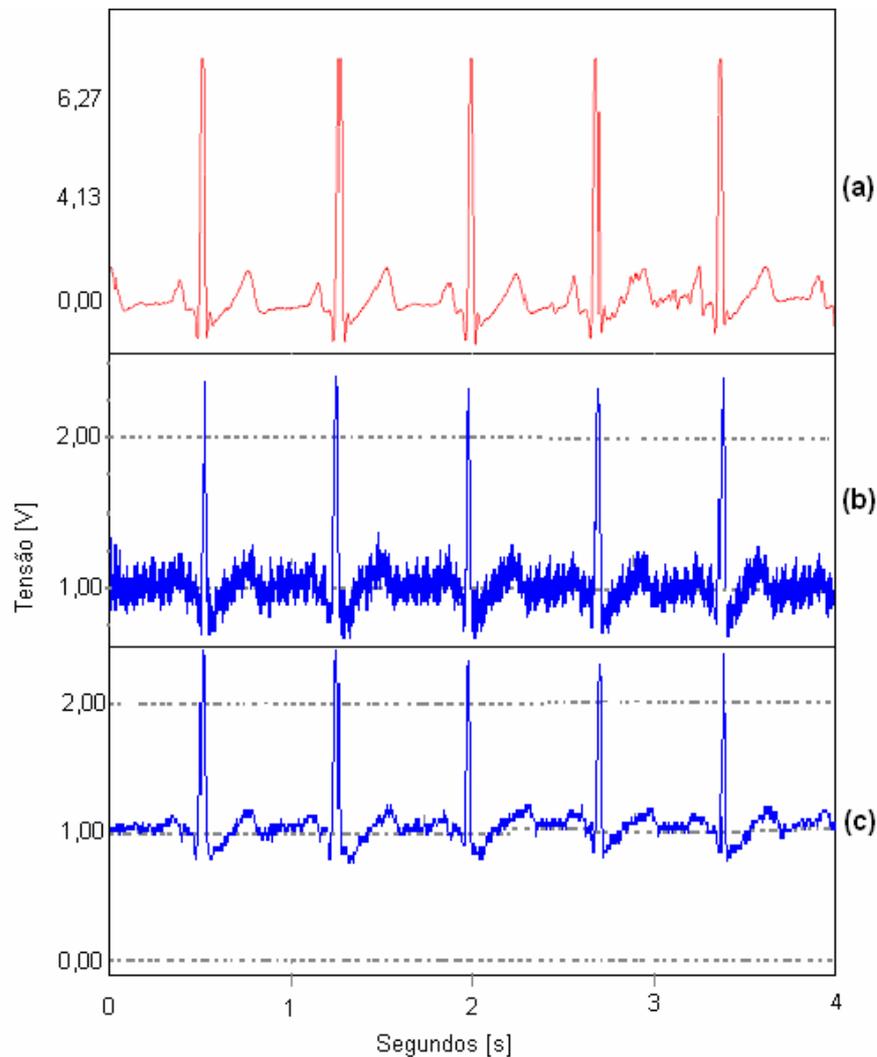


Figura 4.5: Comparação dos Sinais de ECG: (a) Sinal referente ao BIOPAC;(b) Sinal referente ao Etofisiógrafo;(c) Sinal filtrado referente ao Etofisiógrafo.

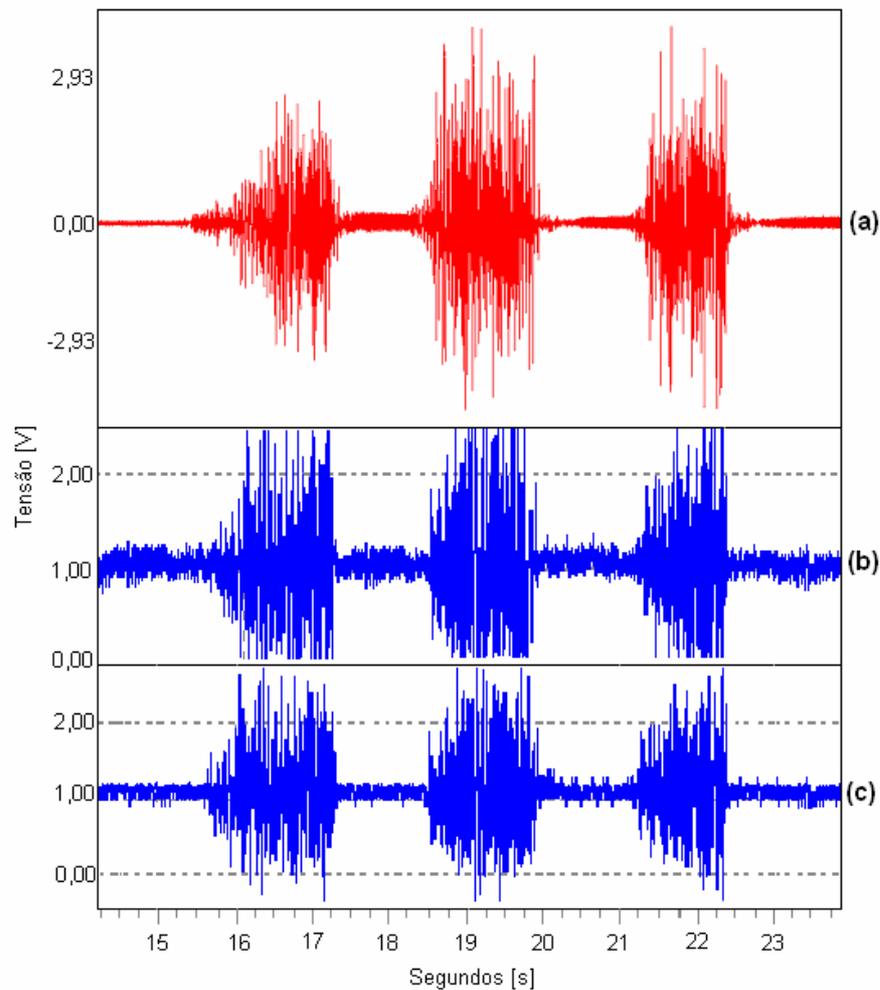


Figura 4.6: Comparação dos Sinais de EMG: (a) Sinal referente ao BIOPAC;(b) Sinal referente ao Etoфизиографо;(c) Sinal filtrado referente ao Etoфизиографо.

Para demonstrar os testes com filtros, a seguir são descritas as etapas que foram seguidas para realizar a filtragem do sinal de ECG (Figura 4.7 (a)). Primeiramente foi eliminado o ruído de 60 Hz (rede elétrica), através da utilização de um filtro *Notch* (Figura 4.7(b)). Em seguida, para saber em que faixas de frequências estavam outras frequências de ruído no sinal (caso houvesse), utilizou-se o Modelamento Autoregressivo para estimação da PSD, exibindo o espectro de frequências do sinal (Figura 4.8 (a)). Desta forma, observou-se, que após a utilização do filtro *notch*, havia uma componente de mais alta frequência (Figura 4.8 (b)), que pode também interferir numa avaliação do sinal de ECG. Assim, para eliminar esta componente, utilizou-se de um filtro FIR passa-baixas (Janela de *Hamming*) com frequência de corte de 60 Hz. A Figura 4.9 (a) exhibe o sinal antes da utilização do filtro, e a Figura 4.9 (b) que exhibe o sinal filtrado. Assim, na Figura

4.7 (c), é exibido o traçado do sinal de ECG (5 segundos), com os devidos filtros utilizados para a melhor visualização e posterior análise deste sinal.

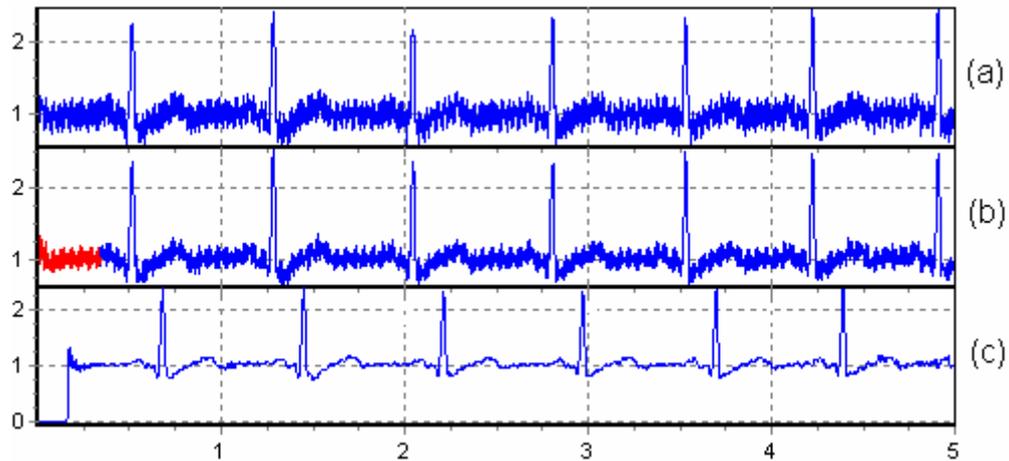


Figura 4.7: Filtragem do Sinal de ECG. (a) Sinal Original, (b) Sinal filtrado com filtro *notch*, (c) Sinal Filtrado com filtro FIR passa-baixas (Janela de Hamming) e frequência de corte de 60 Hz.

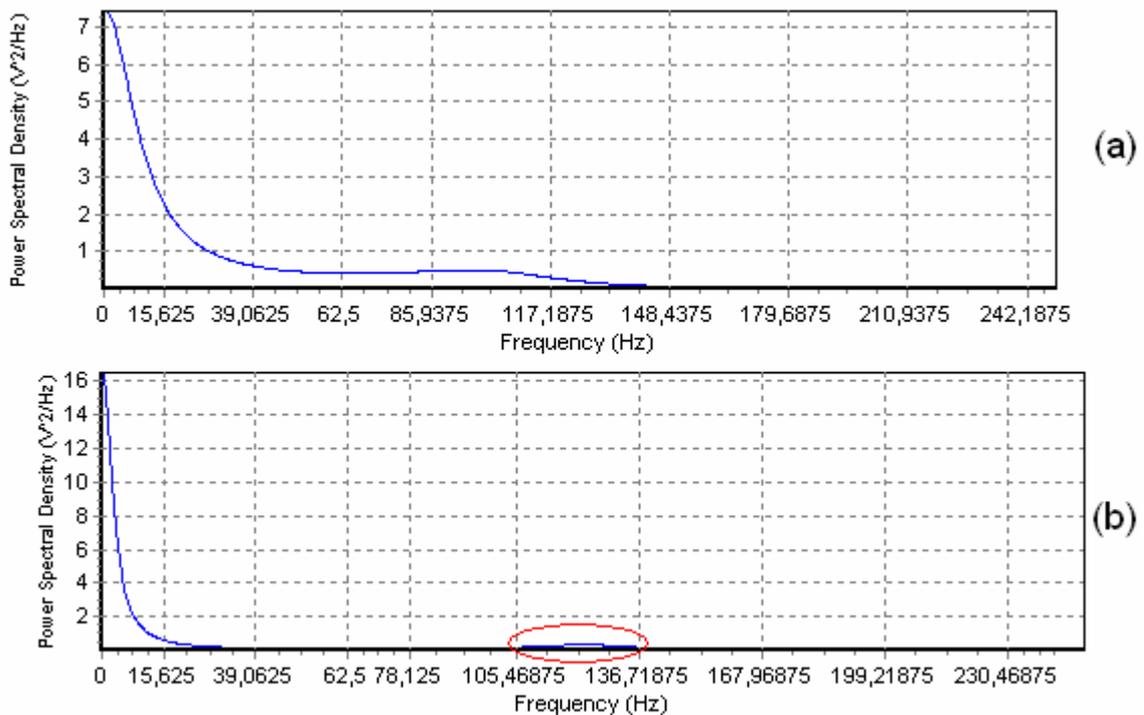


Figura 4.8: Espectro de frequência de um sinal de ECG. (a) Espectro de frequência / estimação da PSD do sinal de ECG original, (b) Espectro de frequência / estimação da PSD do sinal ECG após filtro *notch*.

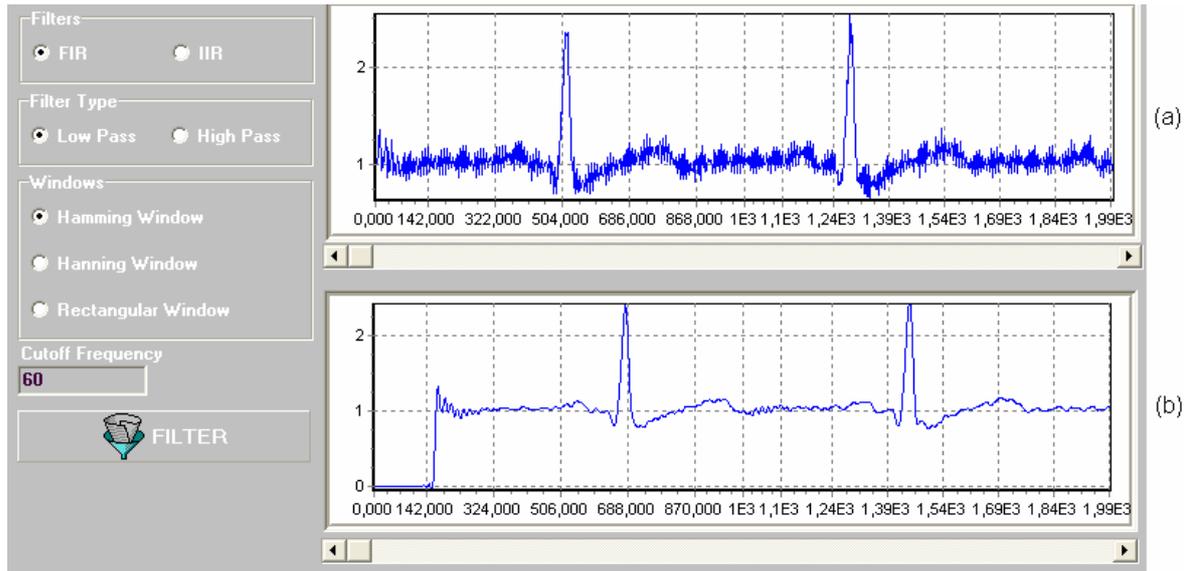


Figura 4.9: Etapa de filtragem utilizando filtro FIR. (a) Sinal de ECG após filtro *notch*, (b) Sinal de ECG após filtro FIR - passa-baixas (Janela de Hamming) e frequência de corte de 60 Hz.

4.4.2. Teste de Avaliação do Etofisiógrafo em Ratos

Para este experimento, foram utilizados ratos, devido a sua grande resistência e capacidade de sobrevivência em condições adversas. O rato mais comum nos laboratórios de pesquisa é uma variedade albina, selecionada no instituto *Wistar* de *Philadelphia*, cujo pêlo é inteiramente branco e, por isso, esse animal é conhecido como *rato albino* ou *rato Wistar*. Cabe ressaltar que a utilização de ratos para este estudo teve aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFSC, sob o protocolo de número PP00005/CEUA em 9/11/2005, conforme Anexo B.

Os experimentos laboratoriais foram realizados em ratos, 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 ($\sim 22^\circ \text{C}$) 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).

Logo após, 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, foram 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 craniana.

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 foi submetido a uma superdosagem de anestésico, realizando assim a eutanásia conforme os preceitos éticos do COBEA.

Os sinais fisiológicos foram adquiridos pelo módulo remoto, enviados ao módulo base e estes sinais foram registrados e armazenados em um computador (Figura 4.10).



Figura 4.10: Tela do Etofisiógrafo: Realização do Registro e Aquisição de Sinais Fisiológicos.

A Figura 4.11 exibe a Tela do Etofisiógrafo após os sinais fisiológicos serem adquiridos, para a realização da análise destes sinais, durante sessenta minutos.

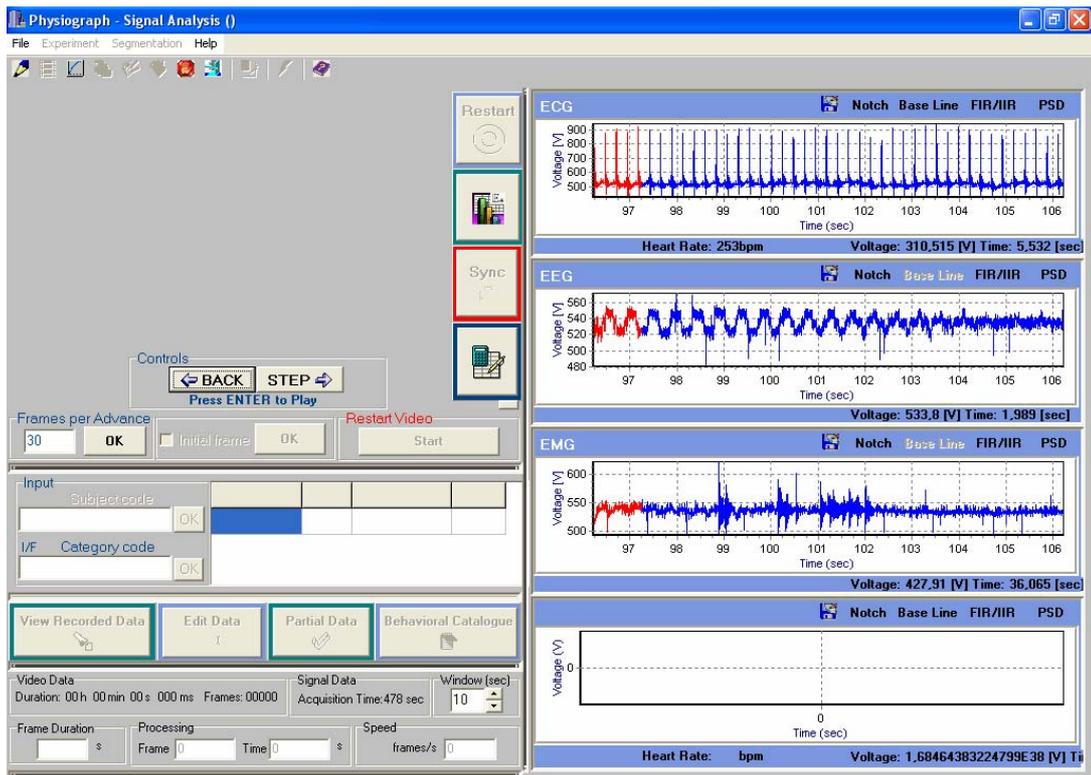


Figura 4.11: Tela de análise dos sinais fisiológicos (ECG, EEG e EMG) adquiridos do animal.

4.4.3. Teste de Avaliação do Etofisiógrafo em Sincronismo com o Etógrafo

Neste teste realizou-se uma análise que envolveu desde a aquisição e armazenamento dos sinais de vídeo por uma *webcam*, e os sinais fisiológicos pelo Etofisiógrafo, até a análise dos sinais em sincronismo e do estudo comportamental realizado pelo Etógrafo. Para este teste, os dados fisiológicos envolvidos foram: temperatura ambiente, ECG e EMG, adquiridos a uma taxa de 500 amostras por segundo. O vídeo foi adquirido e armazenado através de uma *webcam*, BRAVIEW 330MP, a uma taxa de 30 *frames* por segundo. Os sinais de vídeo e fisiológicos foram adquiridos em computadores distintos durante um intervalo de 30 segundos. O vídeo realizado consistia em avaliar o comportamento da frequência cardíaca, variação de temperatura ambiente e a contração muscular (Figura 4.12).

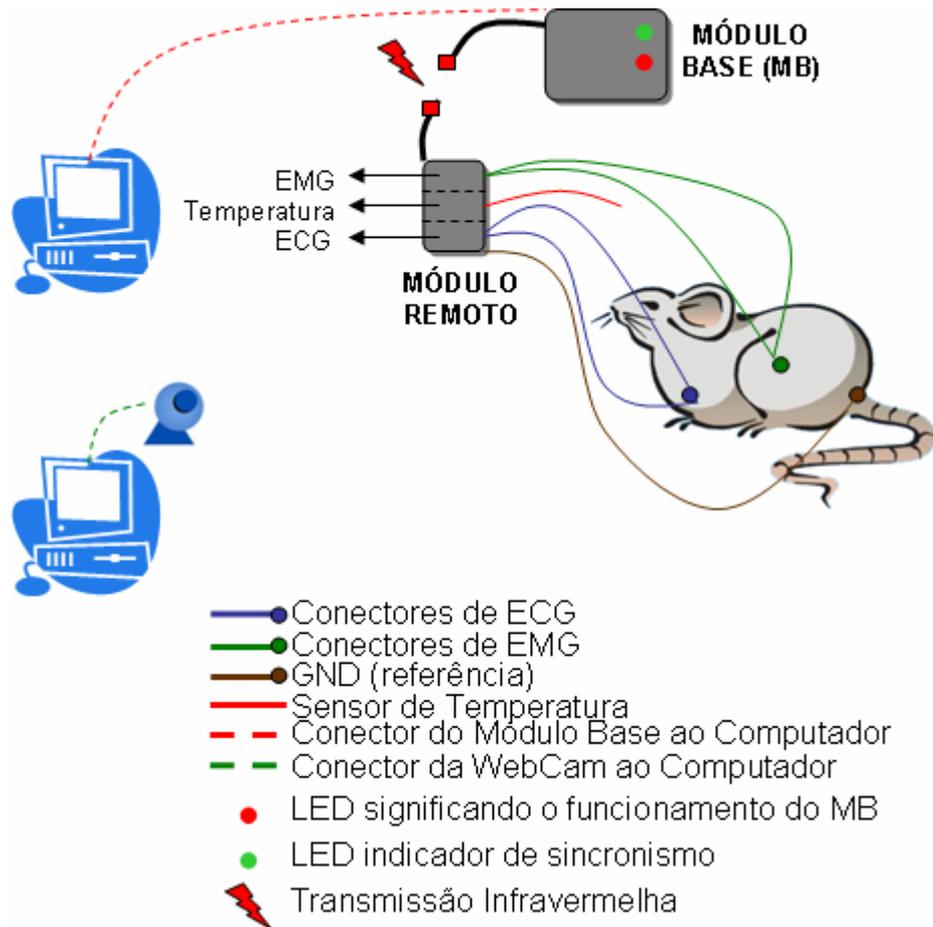


Figura 4.12: Teste de avaliação do Etofisiógrafo em sincronismo com o Etógrafo

Durante o tempo de aquisição, foram avaliados os comportamentos do animal, tais como: comer, beber água e levantar membros anteriores. Portanto, a partir destes dados foi avaliado o sincronismo dos sinais (vídeo e dados fisiológicos), confrontando a análise comportamental (Etógrafo) com a análise dos sinais bioelétricos (Etofisiógrafo). Para a realização deste sincronismo, durante a aquisição dos dados de vídeo existia na arena a placa do módulo base, a qual possui um LED indicativo para o sincronismo. Desta forma, foi iniciada a aquisição do vídeo em um computador, e após alguns segundos, iniciou-se a aquisição dos sinais fisiológicos em outro computador. No momento em que foi inicializada a aquisição dos sinais fisiológicos, um comando foi enviado ao módulo base, realizando o acendimento do LED de sincronismo. Após o armazenamento destes sinais, estes foram exibidos no Etofisiógrafo, e estabeleceu-se o sincronismo entre eles (Figura 4.13). Ao término da análise, o usuário tem a possibilidade de gerar uma planilha contendo duração do experimento, comportamentos registrados e índices dos sinais fisiológicos (temperatura ambiente, frequência cardíaca, PSD e RMS) correspondentes a cada

comportamento. O Anexo C apresenta um exemplo deste relatório gerado pelo Etofisiógrafo.

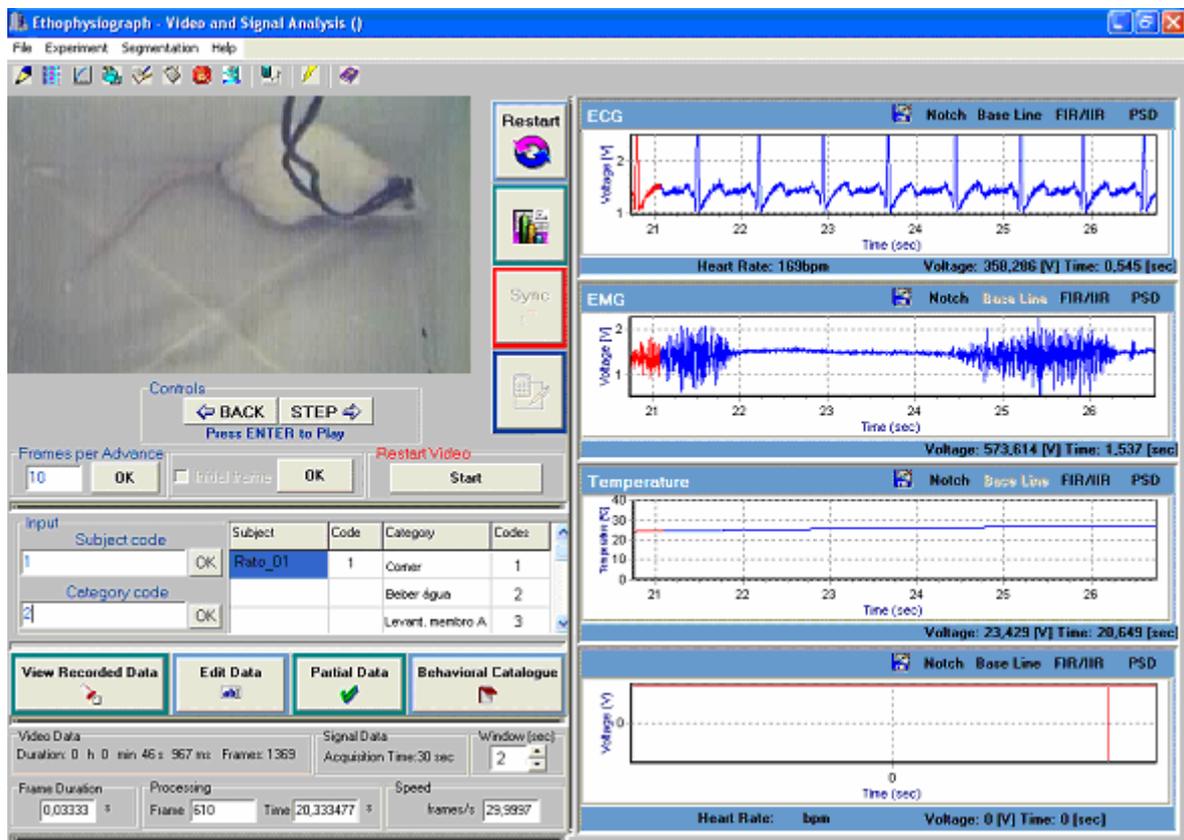


Figura 4.13: Tela do Etofisiógrafo para Teste da Análise Comportamental e de Sinais Fisiológicos em Sincronismo.

5. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver um software para adquirir, registrar, armazenar, visualizar e analisar variáveis fisiológicas de um animal. Também, realizar estas tarefas de forma sincronizada com a análise comportamental (através de vídeo digital) executada por um módulo denominado Etógrafo (PEDERIVA, 2005). Para esta proposta, o objetivo foi alcançado. Os algoritmos que desempenham as funções necessárias para o pleno funcionamento do software foram avaliados e discutidos no decorrer desta dissertação e alcançaram o desempenho esperado de acordo com o objetivo proposto. No decorrer do desenvolvimento e dos testes encontraram-se situações que tiveram de ser contornadas para obter resultados com melhores consistências para o desempenho do software.

Para avaliação do software foram realizados testes relacionados à aquisição dos dados fisiológicos, aquisição de vídeo, sincronismo dos sinais fisiológicos e de vídeo, e a aplicação das ferramentas para os dados fisiológicos com geração de relatórios, realizadas através de testes em ratos.

A Seção 4.1 apresenta o teste de aquisição dos dados fisiológicos. Foi observado que o algoritmo para aquisição dos sinais bioelétricos apresentou 100% de detecção correta para as amostras enviadas do módulo remoto para o computador, indicando um bom desempenho do algoritmo.

A Seção 4.2 apresenta o teste de aquisição de vídeo e pode-se observar que os tempos se mantêm os mesmos tanto para o vídeo compactado como para o não compactado, assim como a taxa de *frames*. O compactador utilizado foi a versão *trial DivX 5.0.2 Pro Bundle* da *DivX®*. Porém observou-se que após a gravação do sinal, quando este era compactado durante gravação, que ao fazer sua visualização através do *Media Player* da *Borland®*, este não realizava a função de voltar o vídeo, seja em modo contínuo ou *frame a frame*. Porém, se o mesmo vídeo fosse gravado sem a utilização de um compactador e, após a gravação, o vídeo fosse compactado, este erro não acontecia (PEDERIVA, 2005). Desta maneira recomenda-se ao usuário que realize a compactação dos vídeos após a gravação e não durante esta. Ao instalar o Etofisiógrafo, um pacote com diversos compactadores é disponibilizado ao usuário. Foi pesquisado um compactador

(*Huffyuv* v 2.1.1 *Patch* 0.2.5, este é um software livre) que ao utilizá-lo durante a gravação não causa este problema descrito, porém sua compactação não é muito eficiente (em teste realizado com um vídeo sem compactação, obteve-se 30MB e para este codificador resultou em 15MB e um vídeo utilizando um compactador como o *DivX*, a compactação resultou em 2,5 MB), mas garante uma grande qualidade na imagem. Esse compactador também está disponível no pacote de compactadores fornecido junto ao Etofisiógrafo.

Na Seção 4.3, são apresentados os testes realizados para o posicionamento do LED de sincronismo, e com isto pode-se estabelecer a altura e posição na qual este ocuparia na arena. Durante o experimento a câmera registrou o comportamento do animal, o LED não poderia ficar no interior da arena, pois pode causar incômodos visuais ao animal atrapalhando em algum tipo de experimento que estivesse sendo realizado. Como a câmera fica voltada inteiramente para o interior da arena, a solução foi dispô-lo na borda desta, de forma que a câmera registrasse a imagem do emissor de luz. Também foi tomado o cuidado para que o animal não fique sem foco pela câmera durante o registro do experimento. Porém, o LED fica levemente sem foco. Para corrigir este problema, no algoritmo, diminuiu-se a área fixada ao redor do ponto selecionado pelo usuário (LED) de 10 por 10 pixels para 5 por 5 pixels. Desta maneira consegue-se maior precisão na identificação do LED de sincronismo, mesmo que este esteja parcialmente sem foco.

Outro valor foi alterado no algoritmo de detecção do LED, e está relacionado à imagem base que é o primeiro *frame* com o LED apagado. O algoritmo compara este primeiro *frame* com os seguintes até encontrar o que teve uma mudança significativa de luminância e crominância, que era da ordem de 10. Este valor foi alterado para que o próprio usuário possa modificá-lo. Isto se deve a grande sensibilidade, já que uma pequena mudança era detectada no espaço selecionado. Com isto uma simples sombra já daria uma alteração no brilho e na cor do vídeo, fazendo com que o algoritmo detectasse de forma incorreta esta alteração, podendo não ser o momento de acendimento do LED. Assim, o usuário pode definir qual a ordem do valor que vai ser utilizado. Isto é, como padrão o sistema fixa o valor na ordem de 50, porém, se o LED não for encontrado, o usuário pode diminuir este valor até encontrar uma diferença que detecte a mudança de cor no LED. Desta forma, conseguiu um melhor desempenho para o algoritmo e atingiu-se de forma satisfatória uma boa resposta à sensibilidade na mudança de luminância e crominância no momento em que é detectado LED aceso.

Observou-se também que existe uma pequena taxa de erro (0,067%) na aquisição dos dados bioelétricos em relação à quantidade correta relacionada ao número de *frames* do sinal de vídeo. Porém, levando em conta que, após uma hora (3600 s) de registro de sinais fisiológicos e vídeo, tem-se 2,398 segundos de sinal de vídeo a mais do que os sinais fisiológicos, conclui-se que o arredondamento para 17 amostras acarreta em um erro que, no entanto, pode ser considerável aceitável. Assim, não é exigido do algoritmo de sincronização realizar várias sincronizações durante o experimento, otimizando desta maneira o software. Foi atingido com isso objetivo de sincronismo entre sinais fisiológicos e sinais de imagem proposto nesta dissertação.

A Seção 4.4 apresenta testes realizados *in vivo* com a finalidade de avaliar o desempenho do software. Foram analisados o registro e armazenamento dos sinais de vídeo e fisiológicos. Em seguida, realizado o sincronismo entre esses sinais e a análise comportamental e dos sinais fisiológicos (utilizando filtros e ferramentas para a análise desses). Finalmente, foi gerado um relatório final sobre todo o experimento realizado.

O primeiro teste *in vivo* foi um comparativo entre os sinais adquiridos pelo Etofisiógrafo e o BIOPAC. Este teste teve como objetivo realizar o registro e armazenamento dos sinais fisiológicos (ECG e EMG) de ratos e compará-los. Neste contexto observou-se que o BIOPAC já possui alguns filtros para os sinais analisados (*Notch* e linha de base). No caso do Etofisiógrafo, estes filtros são utilizados somente depois de realizada a aquisição dos sinais. Desta forma, observou-se que os sinais continham ruídos, e que após a aplicação dos filtros (*Notch* e passa-baixas), esses ruídos foram eliminados e o sinal apresentado foi o mesmo exibido pelo BIOPAC, isto ocorreu tanto para o ECG e EMG.

O segundo teste *in vivo* foi realizado para avaliar a aquisição dos sinais fisiológicos (ECG, EEG e EMG). Os sinais foram adquiridos e armazenados de forma correta (sem perdas de dados). Após a aquisição, estes sinais foram analisados no Etofisiógrafo e utilizou-se de filtros para deixar o sinal livre de ruídos indesejáveis (como ruído da rede elétrica) e foi gerado um relatório final com dados referentes à frequência cardíaca, PSD e RMS.

O terceiro teste *in vivo* foi realizado com a finalidade de avaliar o sincronismo entre o sinal de vídeo e os sinais fisiológicos (ECG, EMG e temperatura ambiente), em conjunto

com o módulo da análise comportamental (PEDERIVA, 2005). Durante todo o teste, os algoritmos utilizados apresentaram-se consistentes, atribuindo um bom desempenho ao sistema como um todo.

A análise e estudo de comportamentos e de funções neurais dependem de metodologias para classificação, registro e análise das diversas categorias comportamentais emitidas e de sinais neurais associados a elas. Através dessas análises, consegue-se estudar mecanismos e circuitos cerebrais que controlam a expressão dos comportamentos. Neste projeto, desenvolveu-se um módulo de registro de variáveis fisiológicas que é acoplado a instrumentos digitais de registro comportamental. Este acoplamento permite a associação, com grande precisão temporal, das imagens (vídeo digital) obtidas de um animal em seu ambiente experimental, com dados de temperatura corporal e registros eletrográficos (eletroencefalograma [EEG], eletrocardiograma [ECG], eletromiograma [EMG]), obtidos por telemetria. Após a aquisição destes sinais de imagem e fisiológicos, ocorre a sincronização dos mesmos.

Para atingir o sincronismo, foi desenvolvido um software de aquisição de dados fisiológicos de modo que não perdesse amostras durante o processo de aquisição. A aquisição de imagem foi feita por uma *webcam*, pois assim consegue-se um baixo custo para realização dos experimentos. Para realizar o sincronismo dos dados bioelétricos e de imagem, era necessário um indicativo que mostrasse no vídeo o momento que começa o armazenamento dos dados fisiológicos. Primeiramente, utilizou-se do próprio relógio do computador para marcar o início do armazenamento, porém testes demonstraram que não seria possível, pois muitas bases de tempo estavam envolvidas no processo, gerando atrasos após o sincronismo. Foi então proposto um procedimento que após iniciar o armazenamento de vídeo, um LED fosse aceso, indicando o momento exato do início da aquisição dos sinais bioelétricos. Um comando enviado do software para o módulo base aciona este LED. Após os dados serem armazenados eles são visualizados pelo usuário, o qual seleciona a área em que o LED está localizado no vídeo. O algoritmo desenvolvido compara os *frames* até encontrar uma mudança significativa (LED acendeu) entre um *frame* e outro e, a partir deste momento, dá-se o sincronismo com os sinais fisiológicos. Após testes esse algoritmo mostrou-se eficiente, atingindo assim um dos principais objetivos deste trabalho.

O usuário também conta com o auxílio de filtros para os sinais fisiológicos, detecção de frequência cardíaca instantânea (caso seja analisado um sinal de eletrocardiograma), *root mean square* que realiza a quantificação do sinal de EMG e estimação da PSD, que estima a densidade espectral de potência do sinal. Existem também, ferramentas de auxílio visual, que possibilitam realizar o *zoom* dos sinais e salvar determinados trechos do mesmo, em formato de imagem para análises posteriores e comparações com outros experimentos. São fornecidas, ao final do experimento, planilhas com os dados que foram analisados pelo usuário (categorias, tempos, frequências, latências, etc).

Assim, através de testes para avaliação do algoritmo (implementado em C++ Builder), localização e detecção de possíveis erros e suas soluções, o software foi delimitado como proposto no início desta dissertação. Resultados esperados e satisfatórios foram alcançados para a realização de um software que é um módulo para integrar outros já existentes, como o Etógrafo (PEDERIVA, 2005).

6. DESENVOLVIMENTOS FUTUROS

Em função dos resultados dos testes realizados sugerem-se algumas implementações futuras para a melhoria do sistema:

- a) Existem outros módulos que podem ser acoplados junto ao Etofisiógrafo, como o já realizado com o Etógrafo, aumentando funcionalidades no sistema e ajudando o pesquisador a realizar maiores variedades de experimentos em um módulo único. Dentro deste contexto cita-se o “Espião”, software desenvolvido por BOSE (2003) no Laboratório de Neurofisiologia Comparada (LNfC), do Departamento de Ciências Fisiológicas da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), realiza o registro e a análise automática do comportamento locomotor e não locomotor, em animais de laboratório.
- b) Em relação ao software desenvolvido, para a etapa de aquisição de sinais, podem ser pesquisadas melhores bibliotecas de visualização, a fim de melhorar características como: melhor desempenho e velocidade de processamento. Utilizando esses recursos a serem pesquisados consegue-se melhorias nas taxas de aquisição dos sinais fisiológicos, não limitando somente as atuais 500 amostras por segundo. Da mesma maneira pode-se utilizar *webcams* com maior taxa de aquisição de *frames* por segundo. Assim, possibilita ao usuário que consiga mais informações e detalhes para a realização de experimentos.
- c) Para as análises dos sinais fisiológicos, podem-se implementar inúmeras ferramentas que venham auxiliar o usuário, como outras ferramentas de processamento digital de sinais, melhorias na detecção dos complexos QRS do sinal de ECG (*wavelets*), outros índices que quantifiquem o sinal de EMG, bem como do EEG.
- d) No sistema desenvolvido o processo de calibração foi implementado apenas para o sinal de temperatura. Ao calibrar os outros sinais tem-se a possibilidade de uma melhor exatidão dos dados adquiridos.
- e) O relatório final gerado (planilhas) pode ser aperfeiçoado a fim de melhor transparecer os resultados ao usuário. É mais interessante, por exemplo, gerá-los

através de um banco de dados, além de que todos os dados ficariam a disposição do usuário para que gerasse outros relatórios a qualquer instante.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acqknowledge™, <http://www.piinc.com>

AL-IMARI, A.A.; RASHID, K.A.; AL-DAGSTANY, M. Telemetry Based System for Measurement and Monitoring of Biomedical Signals. In: 3rd IEEE INTERNATIONAL WORKSHOP ON SYSTEM-ON-CHIP FOR REAL-TIME APPLICATIONS (2003). *Anais*. 2003.

ANDERSEN, L. M., DO VALLE, C.A., TIMO-IARIA, C., TUFIK, S. *Implantação de Eletrodos para o Estudo Eletrofisiológico do Ciclo Vigília-Sono do Rato*, 2001.

ANTONI, H. *Comprehensive Human Physiology*. Springer. v. 2, cap. Electrocardiography, p. 1834 – 1855, 1996.

ARDIGO, Jubilo D., *Polígrafo Computadorizado para Sinais Bioelétricos*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Elétrica (área de concentração Engenharia Biomédica – Centro Tecnológico). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 1994.

BARBETA, P. A. *Estatística Aplicada às Ciências Sociais*. 2 ed. Editora da UFSC. Florianópolis, 1998

BAYKAL, A.; RANJAN, R.; THAKOR, N.V. Model-based analysis of the ECG during early stages of ventricular fibrillation. *J. Electrocardiol.*, v. 27, 1994.

BEAR, M. F., CONNORS, B. W., PARADISO, M. A. *Neuroscience: Exploring the Brain*. 2. ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2002.

BERNE, R.; LEVY, M.; Matthew, N. *Fisiologia*. 4. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2003.

BEVILAQUA-GROSSI, D.; FELICIO, L.R.; SIMOES, R. *et al.* Electromyographic activity evaluation of the patella muscles during squat isometric exercise in individuals with patellofemoral pain syndrome. *Rev Bras Med Esporte*, v. 11, n. 3, p. 159-163, 2005.

BIEDERMAN, W. *Electrophysiology*. London, 1898.

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

BRUDZYNSKI, S. M., KROL, S. Analysis of Motor Activity in Rat: Parallelism Index, a New Measure of Locomotor Exploratory Pattern. *Physiology Behavior*, vol62, #3, pp 635-642, 1997.

BRUN, S.R.M.; DA LUZ, V.; FERNANDES, M.F.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J. Atypical angiotensin receptors may mediate water intake induced by central injections of angiotensin II and of serotonin in pigeons *Regulatory Peptides*, v. 98, p. 127–135, 2001.

CATANIA, A.C. *Aprendizagem: comportamento, linguagem e cognição*. (SOUZA, D.G. Trad.). Porto Alegre: Ed. Artes Médicas, 1999.

Catman – HBM (Hottinger Baldwin Messtechnik), <http://www.hbm.com>.

CHIOZZOTO, M.; SILVA, L. A.P. *TCP/IP Tecnologia e Implementação, 1 ed.* São Paulo: Ed. Érica, 1999.

CIE – *Commission Internationale de L'eclairage*, <http://www.cie.co.at>.

COSTA, M.H., *Derivação da Fonte de Sinais EEG: Correlação e Mapeamento Cerebral*. Tese de Mestrado, Programa de Engenharia Biomédica, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1994.

CUNHA, W. H. A. Alguns Princípios de Categorização, Descrição e Análise do Comportamento; *Ciência e Cultura*, v 28, p 15-24, 1976.

DA SILVA, A., MARINO-NETO, J., PASCHOALINI, M.A. Feeding Induced by Computador injections of NMDA and AMPA-Kainate Receptor Antagonists into Ventral Striatal and Ventral Pallidal areas of the pigeon, *Brain Research*, v 966, p.

76– 83, 2003.

DA SILVA, R.A.; OLIVEIRA, S.T.; HACKL, L.P.N.; SPILERE, C.I.; FARIA, M.S.; MARINO-NETO, J.; PASCHOALINI, M.A. Ingestive behaviors and metabolic fuels after central injections of 5-HT1A and 5-HT1D/1B receptors agonists in the pigeon Brain Research v 1026, p 275– 283 , 2004.

DARIO, A.J.S.; LOPES, P.R.C.; FREITAS, C.G.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J. Electrographic patterns of postprandial sleep after food deprivation or intraventricular adrenaline injections in pigeons. *Brain Res. Bull* . v 39, p 249-254, 1996.

FENTON, A.A.; MULLER, R.U. Using digital video techniques to identify correlations between behavior and the activity of single neurons. *J Neurosci Methods*, v 70, p 211–27, 1996

FITZGERALD, R. E., BERRES, M., SCHAEPPPI, U. Validation of a Photobeam System for Assessment of Motor Activity in Rats. *Toxicology*, #49, pp 433-439, 1998.

FTDI – Future Technology Devices International Ltd, <http://www.ftdichip.com>

GE, D.; SRINIVASAN, N.; KRISHNAN, S.M. Cardiac Arrhythmia Classification using Autoregressive Modeling. *BioMedical Engineering OnLine*, v. 1, n. 5, p. 1-12, 2002.

GIASSI, P. *Etofisiógrafo: Protótipo de um Sistema Telemétrico Implantável para Registro de Variáveis Fisiológicas em Pequenos Animais*. Florianópolis, 2006. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina.

GONZALEZ, R. C.; WOODS, R. E. *Digital Image Processing*. New York, Addison -Wesley, 1992.

Graphics 32, <http://graphics32.org>

GUEDES, L. A., BAKER, L. E., *Principles of Applied Biomedical Instrumentation*.

Wiley Interscience, Ney York, 1989.

GUYTON, Arthur. C, HALL, John E. *Tratado da Fisiologia Médica*. 9 ed. Interamericana. Rio de Janeiro, 1998.

HACKL, L.P.N.; RICHTER, G.O.; FARIA, M.S.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J.; Behavioral effects of 8-OH-DPAT injections into pontine and mesencephalic areas containing 5-HT-immunoreactive perikarya in the pigeon. *Brain Research*, v. 1035, p 154–167, 2005.

HUTT, H. *Observação Direta e Medida do Comportamento*. (BODY, C. M. Trad.). São Paulo, EPU, Ed. da Universidade de São Paulo, 1974.

KAFKAFI, N., MAYO, C., DRAI, D., GOLANI, I., ELMER, G. Natural Segmentation of the Locomotor Behavior of drug-Induced Rats in a Photobean Cage. *Journal of Neuroscience Methods*, #109, pp 111-121, 2001.

KANDEL, E. R., SHWARTS, J. H., JESSEL, T. M. *Principles of Neural Science*. 4. ed. McGraw-Hill/Appleton and Lange, 2000.

KANDEL, E.R.; SCHWARTZ, J.H.; JESSELL, T.M. *Essentials of neural sciences and behavior*. New York: Elsevier. 1995.

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

LEHNER, P. N., *Handbook of Ethological Methods*. Garland STPM Press, 1979.

MALMIVUO, J.; PLONSEY, R. *Bioelectromagnetism - Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields*. Reading: Oxford University Press, New York, 1995.

MARPLE, S.L. *Digital Spectral Analysis with Applications*. New Jersey: Prentice-Hall, 1987.

MARTIN, P.D., NISHIHO, H., ONO, T. A Combined Electrophysiological and Video Data Acquisition System Using a Single Computer. *J Neurosci Methods*, v.

92, p. 169-177, 1999.

Metris B.B, <http://www.metris.nl/laboras>

Noldus Information Technology b.v., Wageningen, The Netherlands.
<http://www.noldus.com> .

NOLDUS, L.P.J.J., SPINK, A.J., TEGELENBOSH, R. A. J. EthoVision: A Versatile Video Tracking System for Automation of Behavioral Experiments. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*, v 33, p 398-414, 2001.

OTTONI, B.E.; Etholog 2.2: A tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. *Behavior Research Methods, Instruments, & Computers*. v 32, p. 446-449, 2000.

PALANIAPPAN, R. Towards Optimal Model Order Selection for Autoregressive Spectral Analysis of Mental Tasks Using Genetic Algorithm. *International Journal of Computer Science and Network Security*, v. 6, n.1A, p. 153-162, 2006.

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

QUINN, L. P., STEAN, T. O., TRAIL B., DUXON, M. S., STRATTON, S. C., BILLINTON, A., UPTON, N., LABORASTM: Initial Pharmacological Validation of a System Allowing Continuous Monitoring of Laboratory Rodent Behaviour. *Journal of Neuroscience Methods*, New York, #130, pp 1-6, 2003.

RASNOW, B.; ASSAD, C.; HARTMANN, M.J.; BOWER, J.M. Applications of multimedia computers and video mixing to neuroethology. *J Neurosci Meth*, v. 76, p. 83–91, 1997.

SAADOUN, A., CABRERA, M.C. Effect of 5-HT1A Receptor Agonist 8-OH-DPAT on Food and Water Intake in Chickens, *Physiology and Behavior*, v. 75, p. 1-5, 2002.

SABBATINI, R.M.E. O Computador no Processamento de Sinais Biológicos.

Revista Informédica, v. 2, n. 12, p. 5-9, 1995.

SAMS-DODD, F. Automation of the Social Test by a Video-Tracking System: Behavioral Effects of Repeated Phencyclidine Treatment. . *Journal of Neuroscience Methods*, #59, pp 157-167, 1995.

SCHWARTING, R. K. W., GOLDENBERG, R., STEINER, H., FORNAGUERA, J. HUSTON, J. P. A Video Image Analyzing System of Open-Field Behavior in Rat Focusing on Behavioral Asymmetries. *Jornal of Neuroscience Methods*, #49, pp 199-210, 1993.

SCHWARZ, S., HOFMANN, M. H., GUTZEN, C., SCHALAX, S., EMDE, G. D. Viwer: A Program for Visualising, Recorder, and Analysing Animal Behavior. *Computer and Programs in Biomedicine*, #67, pp 55-66, 2002.

SEIXAS,F.C.; SZUSTER, M. *Programação Concorrente em Ambiente Windows: Uma Visão de Automação*. Editora UFMG: Belo Horizonte, 2003.

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*. v. 118, p. 77-87, 2002.

SKINNER, B.F. Selection by consequences. *Science*, v 213, p 501-504, 1981.

SMITH, W. S. *The Scientist and Engineer's Guide to Digital Signal Processing*, 2. ed. Editora California Technical Publishing, 1999.

SPINK, A. J., TEGELENBOSH, R. A. J., BUMA, M. O. S., NOLDUS, L. P. J. J. The EthoVision Video Tracking System – A Toll for Behavioral Phenotyping of Transgenic Mice. *Physiology and Behavior*, #73, pp 731-744, 2001.

STEFFENS, S. M.; CASAS, D.C.; MILANEZ, B.C.; FREITAS, C.Q.; PASCHOALINI, M.A.; MARINO-NETO, J. Participação de receptores 5-HT_{2a-2c} e 5-HT-3 na regulação da ingestão de alimentos e água em pombos. XIX Congresso Latinoamericano de Ciências Fisiológicas, 1997, v. 19, p. 22, Caracas, Venezuela, *Anales*, Caracas: ALACF, 1997.

Stenograph, <http://www.stenograph.com>.

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

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*. v. 108, p. 11-17, 2001.

TORTORA, G.J. *Corpo Humano: Fundamentos de anatomia e fisiologia*. 4. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2000.

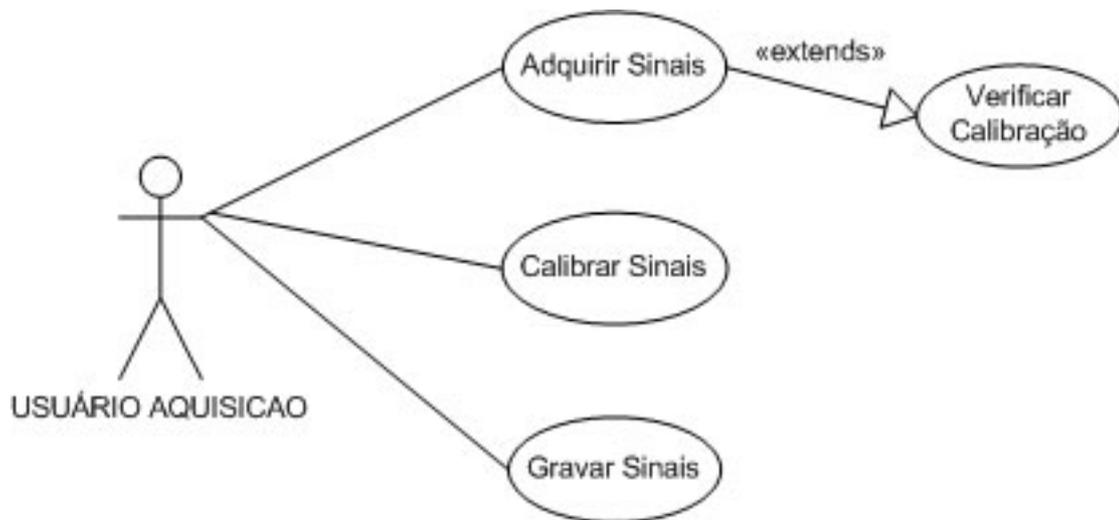
WIDMAIER, E.P.; RAFF, H.; STRANG, K.T.; *Vander's Human Physiology: The mechanisms of body function*. 10^a ed. McGraw-Hill, 2006.

ZIGMOND, J. M., SQUIRE, R. L., BLOOM, F. E., MCCONNEL, S. K., ROBERTS, J. C., SPITZER, N. C. *Principles of Neural Science*. 2. ed. Academic Press, 2002.

ANEXO A

Diagramas de Casos de Uso

1. Etofisiógrafo Aquisição



1.1 Cenários

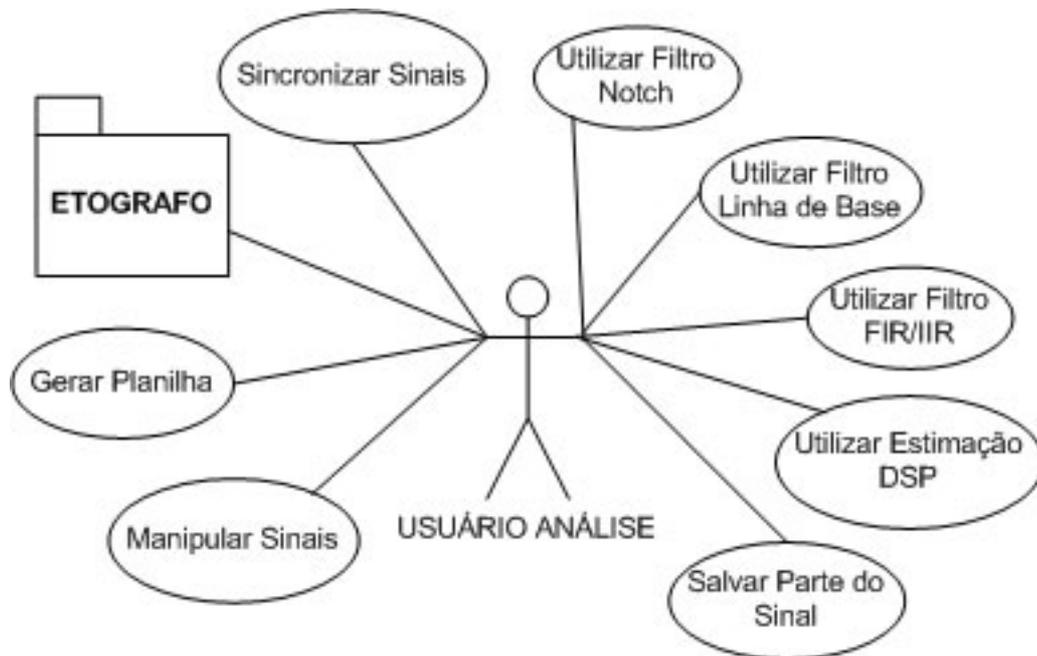
Adquirir Sinais
1- Usuário solicita aquisição de sinais 2- Usuário escolhe canais e sinais a serem adquiridos 3- Usuário ativa início da aquisição 4- Sistema ativa threadLeitura e threadPlota 5- Usuário visualiza sinais adquiridos
Exceções:
4- Sinais não estão calibrados nos canais escolhidos

Verificar Calibração
1- Sistema verifica se os sinais estão calibrados para os circuitos escolhidos

Calibrar Sinais
1- Usuário solicita calibrar sinal no circuito 2- Sistema inclui sinal no banco de dados 3- Usuário entra com parâmetros para calibração 4- Sistema calibra sinal no circuito
Exceções:
2- Sinal já existe no banco de dados

Gravar Sinais
1- Usuário solicita gravar sinal 2- Usuário informa tempo de registro 3- Sistema ativa threadGrava

2. Etofisiógrafo Análise



2.1 Cenários

Sincronizar Sinais
1- Usuário abre sinal de vídeo 2- Usuário abre sinais biológicos 3- Usuário ativa opção sincronismo 4- Usuário seleciona área no vídeo onde se encontra o LED sincronismo 5- Sistema efetua varredura no vídeo até encontrar mudança de cor no LED sincronismo 6- Sistema pausa o vídeo e efetua sincronismo dos sinais
Exceções:
6- Sistema não encontra mudança de cor no LED sincronismo

Utilizar Filtro Notch
1- Usuário solicita Filtro Notch para o Sinal 2- Sistema aplica algoritmo do filtro notch e apresenta sinal filtrado

Utilizar Filtro Linha de Base

- 1- Usuário solicita Filtro Linha de Base para o Sinal
- 2- Sistema aplica algoritmo do filtro linha de base e apresenta sinal filtrado

Utilizar Filtro FIR/IIR

- 1- Usuário solicita Filtro FIR/IIR para o Sinal
- 2- Usuário escolhe tipo do filtro
- 3- Usuário escolhe forma do filtro
- 4- Usuário escolhe janela do filtro
- 5- Usuário escolhe frequência de corte do filtro
- 6- Sistema aplica algoritmo da especificação escolhida para o filtro e apresenta sinal filtrado

Exceções:

- 4- Tipo do filtro escolhido foi IIR

Utilizar Estimação DSP

- 1- Usuário solicita estimação da DSP do sinal
- 2- Usuário define intervalo do sinal para estimação da DSP
- 3- Sistema aplica modelo modelo autoregressivo (ordens: 4 para ECG, 6 para EEG e 20 para EMG) utilizando método da covariância modificada e estima a DSP dos sinais de ECG, EEG e EMG.

Salvar Parte do Sinal

- 1- Usuário ativa opção salvar parte do sinal como figura
- 2- Usuário seleciona área do sinal que deseja salvar
- 3- Usuário escolhe local para salvar a imagem
- 4- Sistema salva parte selecionada do sinal como imagem

Manipular Sinais

- 1- Usuário define quantidade de amostras para avanço e retrocesso do sinal
- 2- Usuário define tempo das janelas dos sinais
- 3- Usuário solicita avançar ou retroceder sinal
- 4- Sistema apresenta sinais biológicos e de vídeo avançados/retrocedidos sincronizadamente
- 5- Sistema apresenta frequência cardíaca instantânea do sinal de ECG

Exceções:

- 5- Não existe sinal de ECG em análise

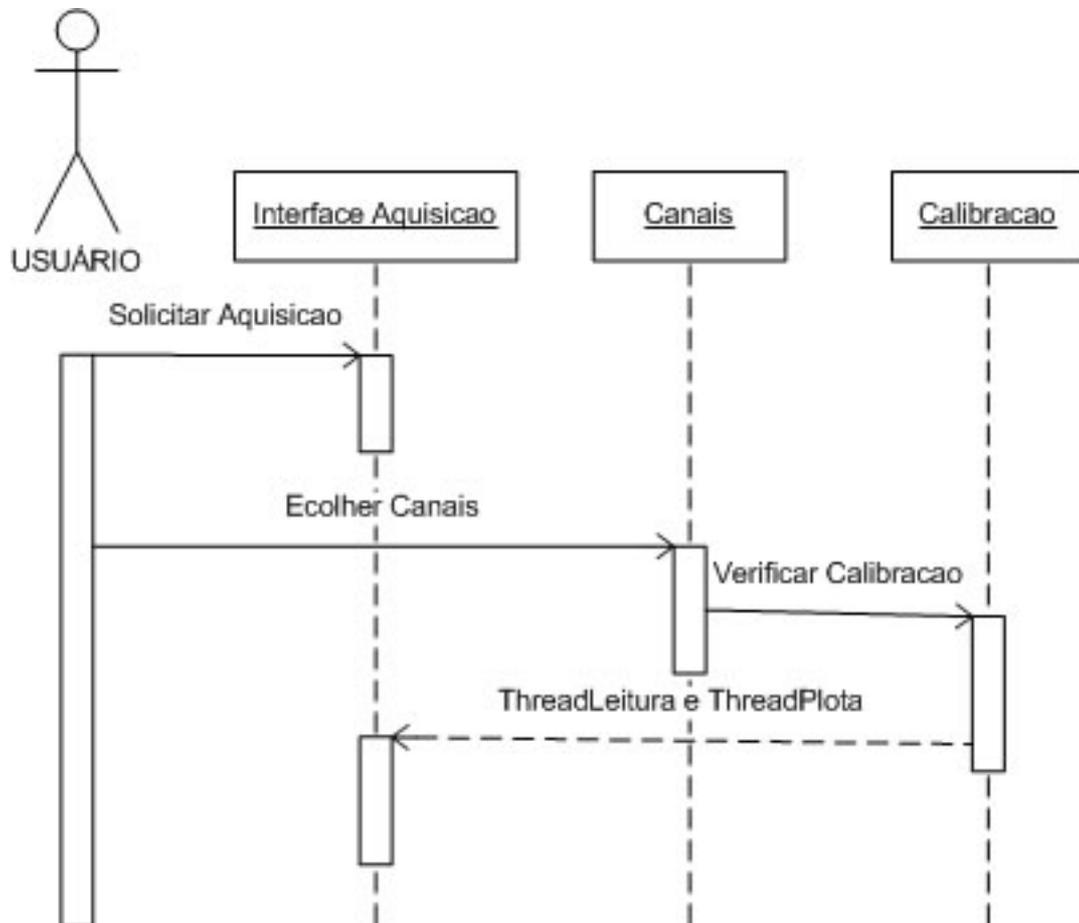
Gerar Planilhas

- 1- Usuário solicita planilha de dados
- 2- Sistema obtém dados da análise atual
- 3- Sistema apresenta planilha de dados

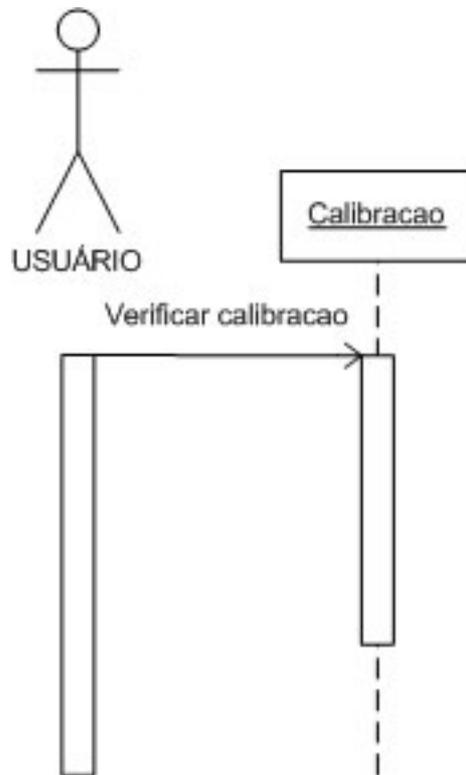
Diagramas de Classe

Diagramas de Seqüência

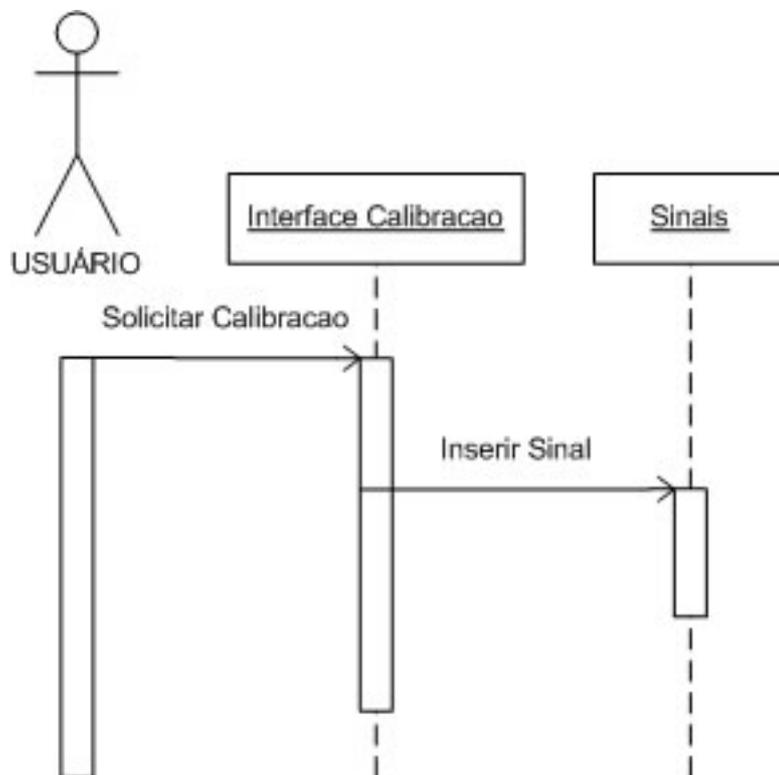
1. Adquirir Sinais



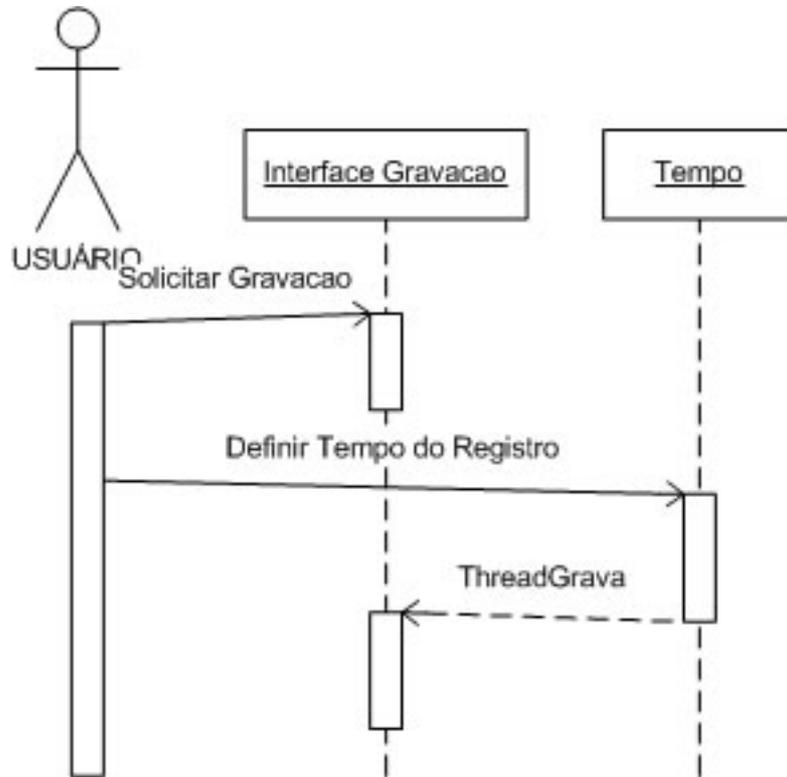
2. Verificar Calibração



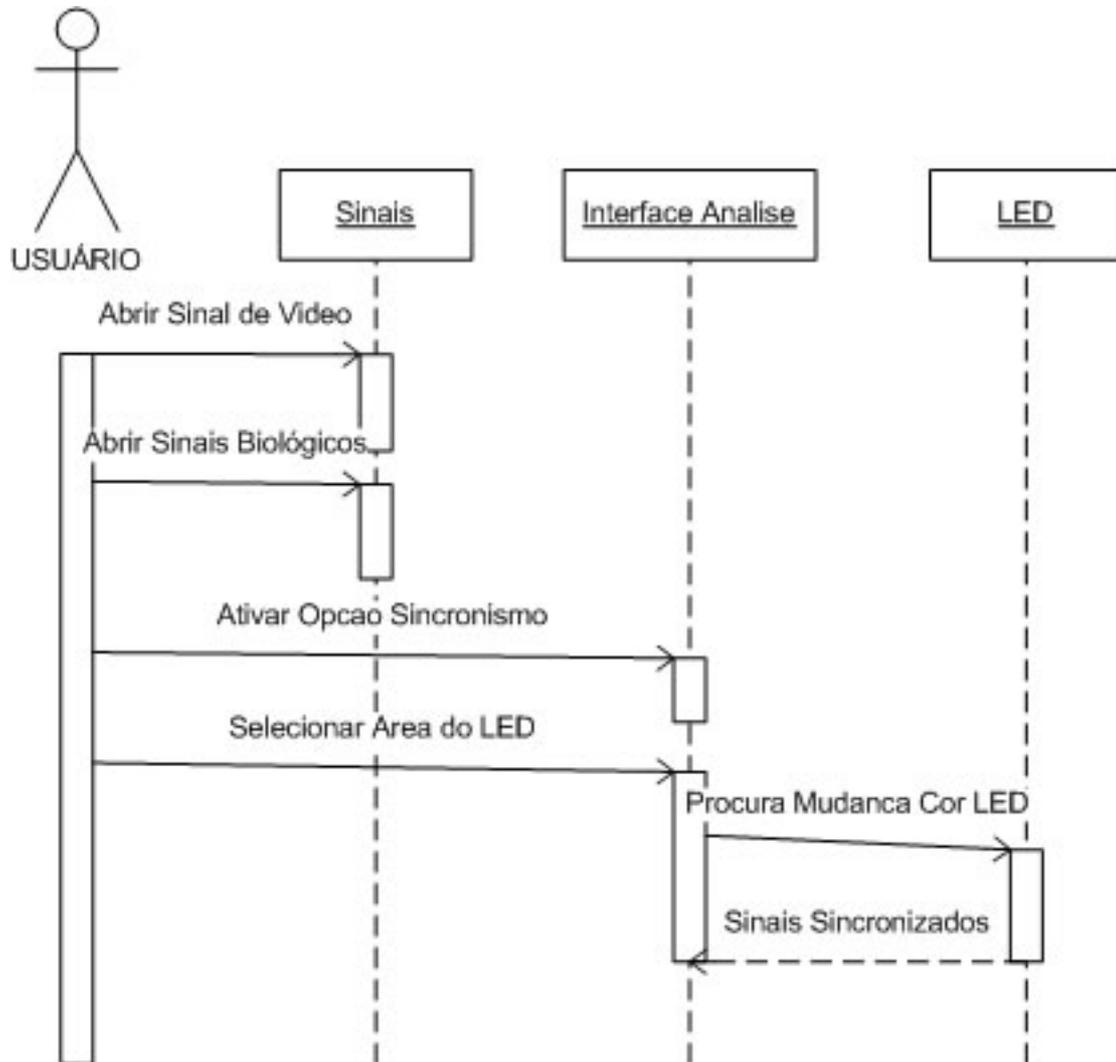
3. Calibrar Sinais



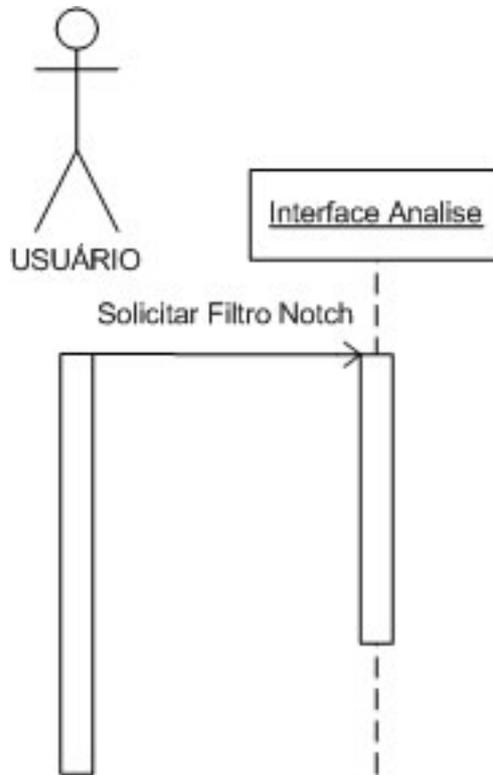
4. Gravar Sinais



5. Sincronizar Sinais



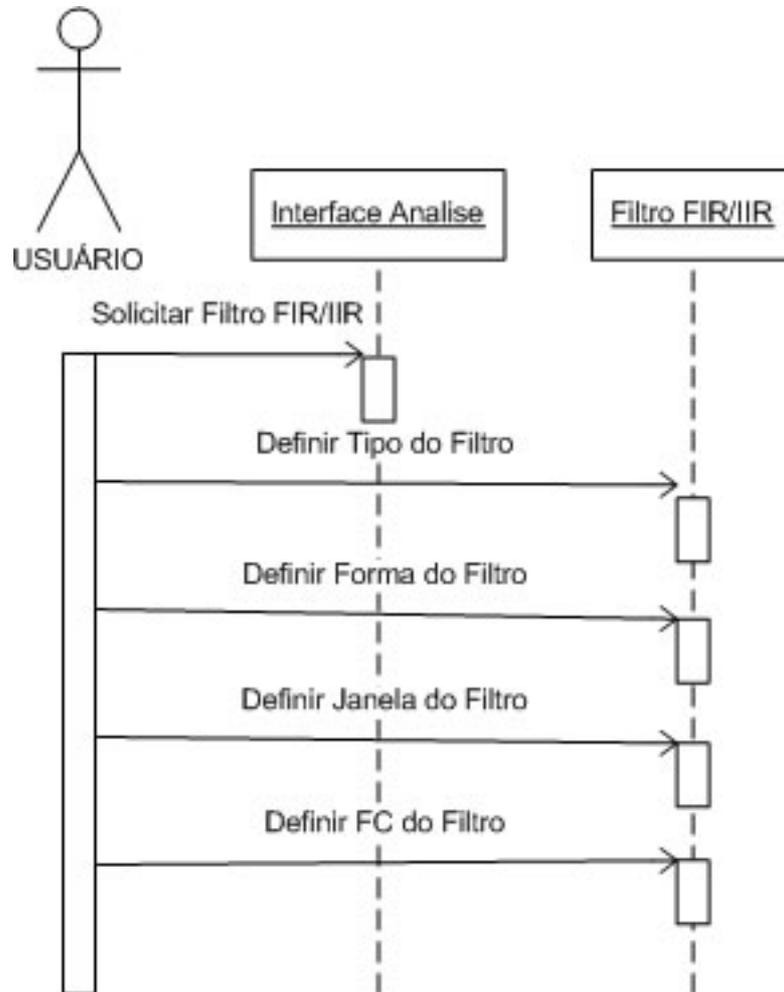
6. Utilizar Filtro Notch



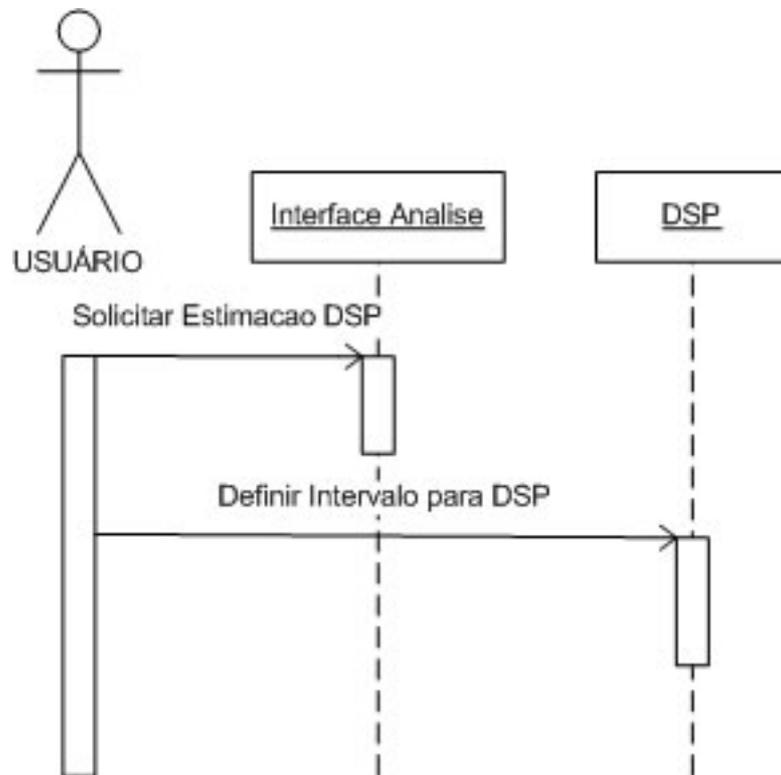
7. Utilizar Filtro Linha de Base



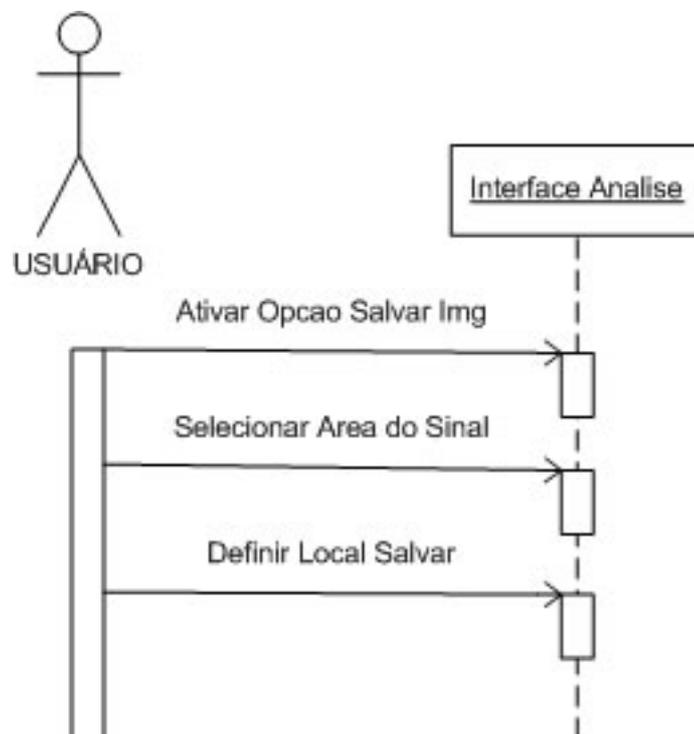
8. Utilizar Filtro FIR/IIR



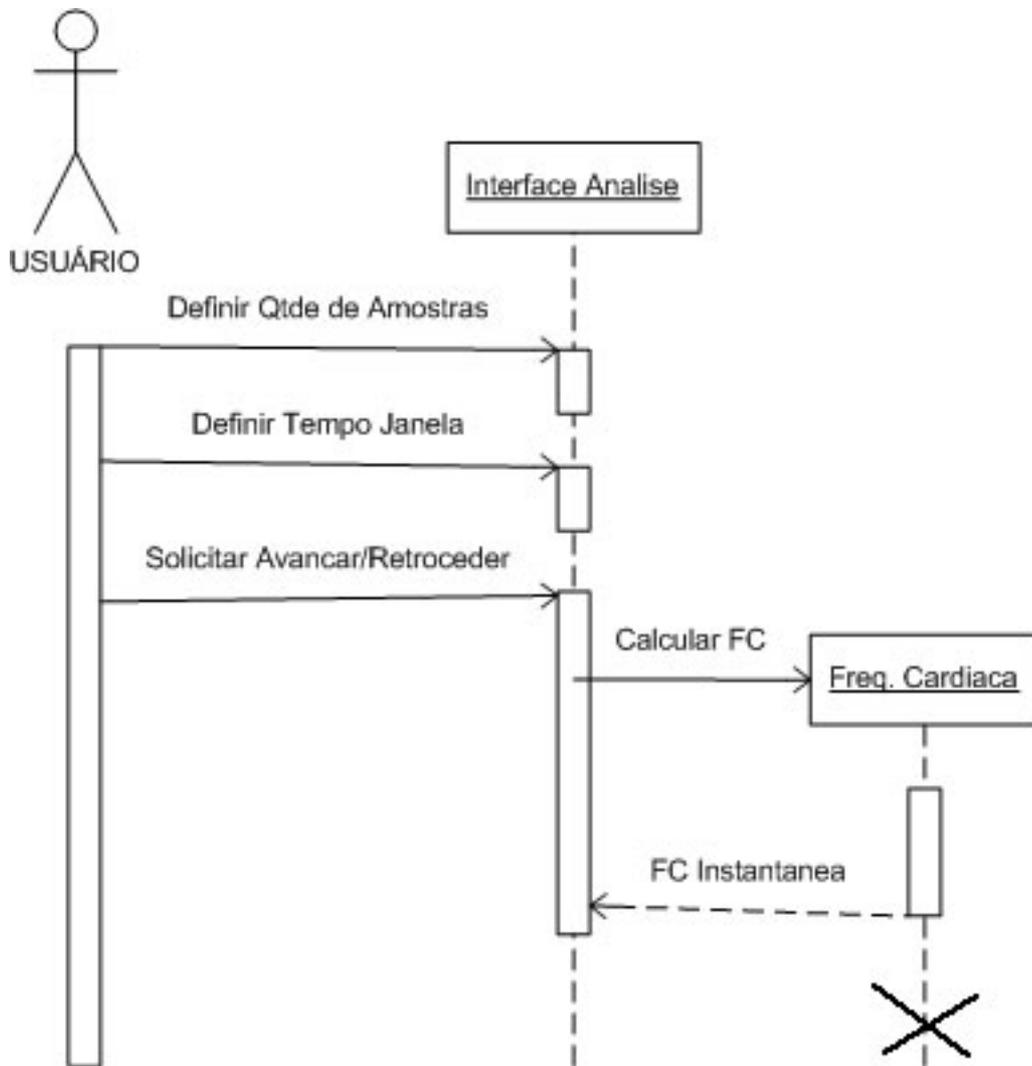
9. Utilizar Estimação DSP



10. Salvar Parte do Sinal



11. Manipular Sinais



12. Gerar Planilhas

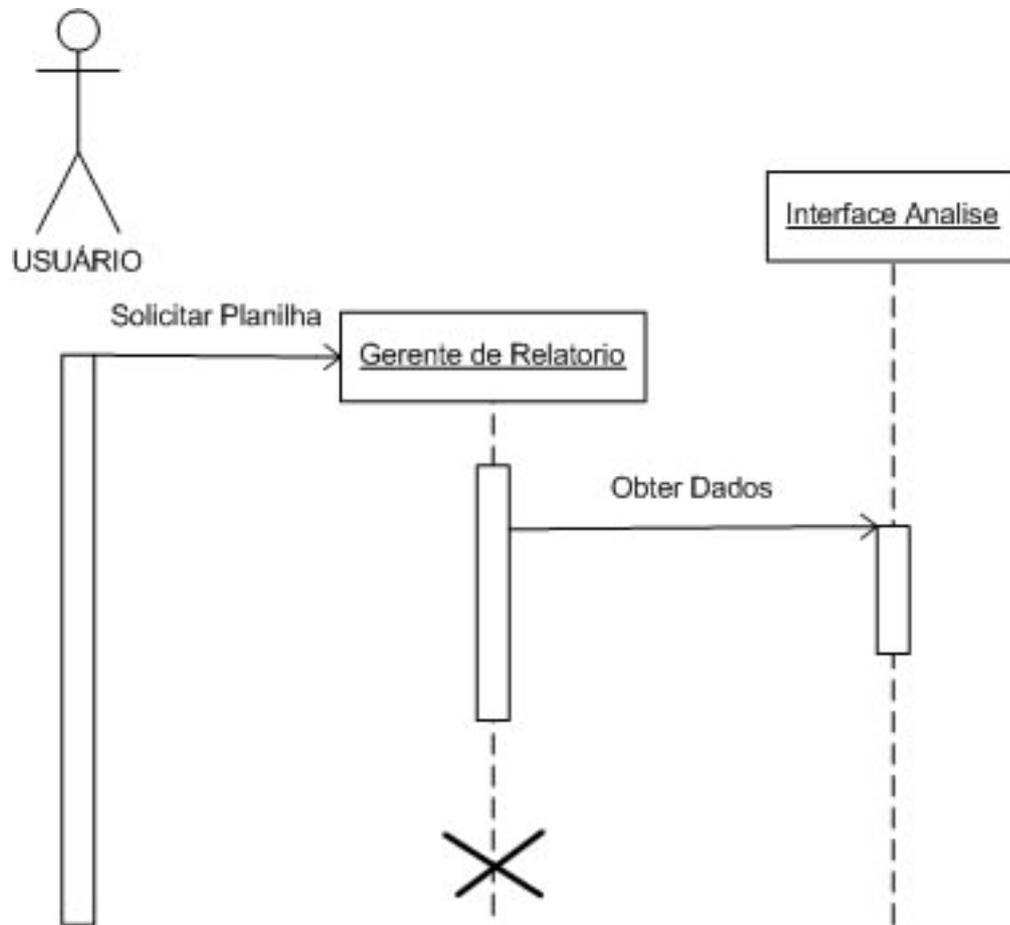
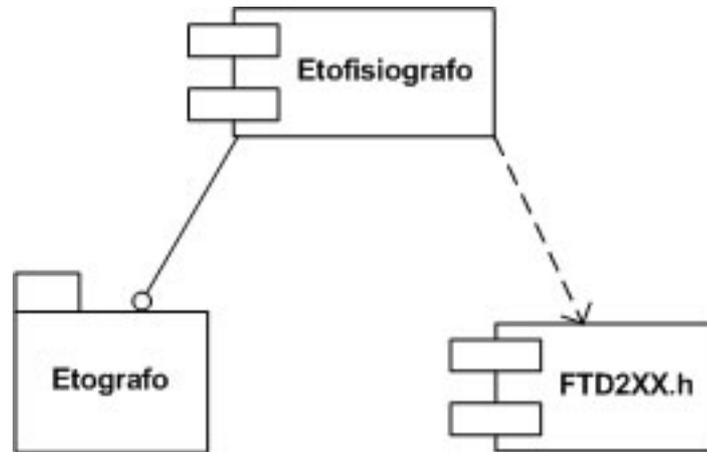


Diagrama de Componentes



ANEXO B

Resultado de Solicitação de Protocolo

Protocolo: PP00005

Título

ETOFISIÓGRAFO, UM SISTEMA TELEMÉTRICO DIGITAL PARA REGISTRO E ANÁLISE DE VARIÁVEIS FISIOLÓGICAS E COMPORTAMENTAIS SINCRONIZADAS

Data de Entrada: 17/10/2005

Resultado: Aprovado

Data/Prazo

Considerações

Da: Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA.

Ao: Prof. Dr. José Marino Neto Departamento de Ciências Fisiológicas-CCB

Prezado Professor, Em relação ao Protocolo de Pesquisa sob sua responsabilidade, cadastrado sob o número PP00005/CEUA e intitulado – Etofisiógrafo, um sistema telemétrico digital para registro e análise de variáveis fisiológicas e comportamentais sincronizadas – a Presidente da CEUA deliberou o seguinte:

APROVADO por 2 (dois) anos, a contar desta data, por seis votos favoráveis e cinco votos contrários, envolvendo o uso de 25 pombos e 25 ratos Wistar, durante o período.

Por ocasião do término desse protocolo, DEVERÁ SER APRESENTADO RELATÓRIO detalhado relacionando o uso de animais no Projeto desenvolvido aos resultados obtidos, conforme formulário ON LINE CEUA (por exemplo, anexando arquivos de trabalhos publicados em revistas científicas, resumos de congressos, ficha catalográfica de teses ou dissertações, resumos de capítulos de livro, processos e patentes, etc) e/ou benefícios resultantes de pesquisas para seres humanos e/ou para animais, sejam estes benefícios de natureza acadêmica, aplicada, industrial, etc.

Atenciosamente,

Profª Drª Fátima Regina Mena Barreto Silva

Presidente/CEUA/PRPe/UFSC

Data 09/11/2005

