



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DO CABO DE SANTO AGOSTINHO
BACHARELADO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

MARIA LUIZA GUERRA CAETANO

Desenvolvimento de um protótipo de um software para um sistema não cabeado de captação de eletrocardiograma para experimentação em modelo animal.

Cabo de Santo Agostinho - PE

2024

MARIA LUIZA GUERRA CAETANO

Desenvolvimento de um protótipo de um software para um sistema não cabeado de captação de eletrocardiograma para experimentação em modelo animal

Monografia apresentada ao Curso de Graduação em Engenharia Elétrica da Unidade Acadêmica do Cabo de Santo Agostinho da Unidade Acadêmica do Cabo de Santo Agostinho da Universidade Rural de Pernambuco para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Elétrica

Área de concentração : Processamento de Sinais Biológicos
Orientador: Prof^oDr^o Romildo de Albuquerque Nogueira
Co-orientadora: Prof^aDr^a Jeine Emanuele Santos da Silva

Cabode Santo Agostinho -PE

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos
pelo(a) autor(a)

C127d Caetano, Maria Luiza Guerra.
Desenvolvimento de um protótipo de um software para um sistema não cabeado de captação de eletrocardiograma para experimentação em modelo animal / Maria Luiza Guerra Caetano. - Cabo de Santo Agostinho, 2022.

33 f.; il.

Orientador(a): Romildo de Albuquerque Nogueira.

Co-orientador(a): Jeine Emanuele Santos da Silva.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica Cabo de Santo Agostinho - UACSA, Bacharelado em Engenharia Elétrica, Cabo de Santo Agostinho, BR-PE, 2024.

Inclui referências.

1. Análise de flutuação destendenciada. 2. Arduino. 3. Eletrofisiologia experimental. 4. rato Wistar I. Nogueira, Romildo de Albuquerque, orient. II. Silva, Jeine Emanuele Santos da, coorient. III. Título

CDD 621.3

MARIA LUIZA GUERRA CAETANO

Desenvolvimento de um protótipo de um software para um sistema não cabeado de captação de eletrocardiograma para experimentação em modelo animal

Dissertação apresentada ao Programa de Graduação em Engenharia Elétrica da Unidade Acadêmica do Cabo de Santo Agostinho da Universidade Rural de Pernambuco para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Elétrica.

Aprovada em: 06 de outubro de 2022

Comissão Avaliadora:

Prof^oDr^o Romildo De Albuquerque Nogueira

UFRPE - DMFA

Orientador

Prof. Rodrigo de Paiva Cirilo

UFRPE - UACSA

Prof^o Elias Marques Ferreira de Oliveira

UFRPE - UACSA

Cabo de Santo Agostinho -PE

2024

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a Deus que não me abandonou, à minha mãe Célia Maria Guerra, que sempre me apoiou e cuidou de mim, a minhas avós Cecília Crisoteno Guerra e Gilvaneide Gomes Caetano, que me ouviram nos melhores e piores momentos, ao meu filho Mateus Guerra de Oliveira que transformou e continua me dando forças.

Agradeço a Profª Jeine Silva, minha linda colega de curso inicialmente, depois minha linda orientadora que me ajudou em tantas coisas, ao me conduzir ao meu trabalho e pesquisa, e ter me dado um pouco da sua luz, e ao Prof. Romildo Nogueira a quem dedico muita admiração e carinho.

Aos meus amigos Bruno Lindoso, Edbergue Costa, Victor Felipe, Mirella Claudino, Vanessa, Clariele e Lucas Martins, que sempre me ajudaram a continuar meu curso e a terminar minha pesquisa, obrigada.

E a todos que em algum momento me deram apoio ou desafio, estou aqui graças a vocês. Obrigada!

RESUMO

Usualmente as pesquisas de variabilidade da atividade cardíaca tem como metodologia um estudo do controle autonômico cardíaco. Na experimentação animal, a obtenção dos sinais eletrofisiológicos é feita com o emprego de métodos de contenção química (fármacos) ou mecânica (contensores), que produzem artefatos no sinal de interesse. Uma solução para evitar os transtornos produzidos por esses procedimentos é o uso de sistemas de captação sem fio acoplados ao colete. Apesar de existirem equipamentos com essa tecnologia, a realidade de laboratórios de pesquisa esbarra nas questões de alto custo para aquisição desses equipamentos e a dificuldade relativa ao tamanho dos coletores, os quais são produzidos para cães e gatos, haja vista serem voltados para a clínica médica veterinária de pequenos animais. O presente manuscrito apresenta os resultados obtidos no desenvolvimento de um protótipo de um software para interface gráfica de um sistema não cabeado para registro de eletrocardiograma de ratos Wistar. Para análise dos referidos resultados, os dados obtidos foram confrontados com aqueles captados por meio de um sistema cabeado com uso de um software comercial. Para isso, utilizou-se a análise de flutuação destendenciada (DFA) dos referidos dados, onde não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios obtidos entre os sistemas. Levando-se em conta os resultados iniciais obtidos, o mesmo indica ser viável para aprimoramento e futura utilização na rotina experimental com ratos Wistar, buscando a melhoria da qualidade dos dados e melhor conforto para o modelo experimental.

Palavras-chave: análise de flutuação destendenciada; Arduino; eletrofisiologia experimental; Rato Wistar.

ABSTRACT

Usually, cardiac activity variability research has as its methodology a study of cardiac autonomic control. In animal experiments, electrophysiological signals are obtained using chemical (drug) or mechanical (container) containment methods, which produce artifacts in the signal of interest. A solution to avoid the inconvenience produced by these procedures is the use of wireless capture systems attached to the vest. Despite the existence of equipment with this technology, the reality of research laboratories comes up against the high cost of acquiring this equipment and the relative difficulty of the size of the vests, which are produced for dogs and cats, given that they are aimed at the medical clinic. small animal veterinarian. This manuscript presents the results obtained in the development of a software prototype for a graphical interface of an unwired system for recording the electrocardiogram of Wistar rats. To analyze these results, the data obtained were compared with those captured through a wired system using commercial software. For this, the detrended fluctuation analysis (DFA) of the referred data was used, where no statistically significant differences were observed between the mean values obtained between the systems. Taking into account the initial results, it indicates that it is viable for improvement and future use in the experimental routine with Wistar rats, seeking to improve the quality of the data and better comfort for the experimental model.

Keywords: detrended fluctuation analysis; Arduino; experimental electrophysiology; Wistar rat

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Sistema de condução do coração, evidenciando a sequência de despolarização que se inicia no nó sinusal (SA).....	15
Figura 2: Etapas do potencial de ação cardíaco.	17
Figura 3: Biopotenciais no músculo cardíaco e o traçado do eletrocardiograma em um ciclo cardíaco.	18
Figura 4: Rato wistar com eletrodos posicionados para captação do ECG exibindo derivações periféricas DI, DII e DIII.....	20
Figura 5: Captação do ECG utilizando sistema cabeado com contensão física (A) e sistema wireless (B).....	22
Figura 6: Diagrama explicativo da captação dos sinais cardíacos e demonstração da interface gráfica.....	23
Figura 7: Fluxograma do desenvolvimento o software	23
Figura 8: Programação para armazenar e demonstrar os dados	26
Figura 10: Gráfico de Dispersão dos valores de α -DFA dos ECGs de ratos Wistar	28

LISTA DE ABREVIATURAS

Detrended Fluctuation Analysis	DFA
Dimensão Fractal	DF
Eletrocardiograma	ECG
Integrated Development Environment	IDE

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	12
2.1 OBJETIVO GERAL.....	12
2.1.1 Objetivos específicos.....	12
3. HISTÓRICO	13
3.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA	13
3.1.1 Justificativa.....	14
3.2 ATIVIDADE ELÉTRICA CARDÍACA	14
3.3 FRACTALIDADE DA ATIVIDADE ELÉTRICA CARDÍACA	19
3.4 O ELETROCARDIOGRAMA EM MODELO ANIMAL.....	20
3.5 O DESENVOLVIMENTO DE SOFTWARE E INTERFACE GRÁFICA	21
4. METODOLOGIA	21
4.1 ASPECTOS ÉTICOS E BIOENSAIOS	21
4.2 CAPTAÇÃO DOS SINAIS CARDÍACOS.....	22
4.3 ANÁLISE DE FLUTUAÇÃO DESTENDENCIADA (DFA)	24
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

No Brasil há uma elevada incidência de doenças cardíacas que acometem a população adulta, segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia - SBC (2021), cerca de 14 milhões de brasileiros têm alguma doença no coração e cerca de 400 mil morrem por ano em decorrência dessas enfermidades, o que corresponde a 30% de todas as mortes no país, em 2021. Esse fato tem despertado o interesse para o desenvolvimento de pesquisas voltadas à análise de sinais biológicos correspondentes à eletrofisiologia cardíaca. Segundo Oliveira (2020) este fato é de extrema importância para a sociedade, pois ajuda a desenvolver e aprimorar métodos matemáticos e estatísticos que auxiliam na análise desse tipo de dado.

Nessa perspectiva, muitos pesquisadores utilizam modelos animais, em especial o rato Wistar (*Rattus norvegicus* var. *albinus*) para buscar entender a eletrofisiologia desse sistema tanto em condições normais, quanto mimetizando patologias relacionadas ao sistema cardiovascular, buscando extrapolar os resultados encontrados para os seres humanos. De maneira semelhante, com a evolução das especialidades da clínica médica veterinária, cada vez mais a compreensão do significado biológico dessa atividade elétrica do coração tem despertado interesse na área da pesquisa experimental. Entretanto, um dos gargalos para o desenvolvimento deste tipo de análise é o alto custo relacionado à aquisição de equipamentos que permitam a captação deste tipo de sinal em laboratórios de pesquisa, como o eletrocardiograma (ECG.).

Os biopotenciais são sinais que advêm das atividades celulares e dos processos fisiológicos gerados nos seres vivos. Como consequência de parte desses processos, pequenos sinais elétricos podem ser medidos e analisados de maneira direta ou indireta por meio de técnicas de captação dos mesmos. Desta maneira, é possível avaliar o funcionamento de algumas atividades biológicas, a exemplo da atividade cardíaca (RAMINHOS, 2009). Com o ECG é possível obter-se um sinal que é o somatório elétrico da atividade celular gerada no músculo cardíaco. O mesmo é normalmente captado por meio de eletrodos localizados na superfície corporal do tórax do indivíduo a ser analisado. O registro do ECG pode ser utilizado no auxílio ao diagnóstico de diversas alterações no sistema cardiovascular como arritmias cardíacas, doenças cardíacas congênitas e constatação de áreas do coração afetadas por infartos (RAMINHOS, A. B., 2009).

Dado a relevância da atividade elétrica do coração para o adequado funcionamento do corpo, a avaliação do traçado do ECG traz informações que auxiliam na compreensão da fisiologia cardíaca. Esse biopotencial caracteriza-se por diferentes ondas no traçado do ECG: P, Q, R, S e T. O estudo do complexo QRS e das ondas P e T permite avaliar o estado de

saúde dos indivíduos. Por exemplo, o intervalo entre dois picos R (intervalo R-R) fornece a frequência de batimento cardíaco para um certo intervalo de tempo. O ritmo desse batimento é regulado por células auto excitáveis presentes no átrio cardíaco (nodo sinoatrial). Alterações deste parâmetro (arritmias) podem estar associadas a processos patológicos que podem comprometer a saúde do indivíduo e a investigação das causas relacionadas a estas alterações contribuem para um correto diagnóstico e terapêutica do paciente, possibilitando ao mesmo a preservação e melhoria da qualidade de vida (HALL, 2011).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAL

Prototipar um software para demonstração gráfica da atividade elétrica cardíaca de ratos Wistar captada por meio de um sistema não cabeado desenvolvido em Arduino

2.1.1 Objetivos específicos

- Desenvolver uma interface gráfica utilizando a plataforma do Arduino para um hardware de captação de ECG não cabeado;
- Comparar os resultados obtidos com aqueles adquiridos por meio de um software comercial.

3. HISTÓRICO

3.1 APRESENTAÇÃO DO PROBLEMA

As pesquisas que são desenvolvidas na área de eletrofisiologia experimental utilizam modelos animais, como roedores e lagomorfos, em decorrência das similaridades dos sistemas biológicos dessas espécies com o de humanos. Um exemplo é o trabalho desenvolvido no Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional da Universidade Federal Rural de Pernambuco, *campus* sede, onde utiliza-se o rato Wistar albino como modelo animal para pesquisas relacionadas à análise de biopotenciais por meio da técnica do ECG com um sistema cabeado.

Apesar de ser um método clássico, este último apresenta algumas desvantagens que comprometem a aquisição dos dados de interesse, em razão da necessidade de contenção química e/ou mecânica que produz alterações no registro do biopotencial, seja em decorrência do efeito do fármaco ou do estresse produzido aos animais, respectivamente. Essa contenção é necessária em razão do hábito natural dos roedores gerar prejuízos quando o sistema cabeado é utilizado, pois do contrário, os animais roem os fios, causando prejuízo material e comprometendo a aquisição dos dados.

Uma maneira de solucionar a questão da contenção seja química ou mecânica e as perdas materiais observadas na aquisição deste tipo de dados seria utilizar um sistema não cabeado (*wireless*). Embora existam alguns modelos disponíveis no mercado, além de escassos, apresentam para a realidade do laboratório a limitação do alto custo de aquisição e o fato de que são desenvolvidos apenas para pequenos animais (cães e gatos), voltados à clínica médica de pequenos animais e não à pesquisa utilizando animais de laboratório. A captação do sinal de ECG em ratos geralmente é realizada por meio de sistemas cabeados, de forma análoga àquela realizada em humanos. Entretanto, para os roedores, isto apresenta algumas desvantagens. Por exemplo, quando as medições são realizadas com os animais em vigília (acordados), os mesmos são colocados dentro de contêntores, gerando estresse. Quando não são utilizados contêntores, os animais acabam danificando o equipamento, uma vez que tendem a roer os cabos que ficam ao seu alcance.

O uso de fármacos tranquilizantes ou quando é utilizado o método de congelamento por susto (*frost*) também alteram a atividade cardíaca normal dos animais. Estas situações afetam o resultado final da análise do eletrocardiograma, comprometendo consequentemente a análise dos dados e inferências realizadas com base nestes (KONOPELSKI; UFNAL, 2016).

O uso da comunicação sem fio tem se mostrado eficiente para a realização de pesquisas com roedores, como nos trabalhos realizados por Liang et al (2011) e Sanyal et al (2012).

O desenvolvimento de equipamentos de baixo custo que possibilitem a aquisição e análise de dados eletrofisiológicos de modelos animais podem dar suporte às pesquisas em diversas áreas, em especial aquelas relacionadas à compreensão dos processos fisiológicos e fisiopatológicos dos animais e humanos (OLIVEIRA, 2014).

3.1.1 Justificativa

As patologias do sistema cardiovascular são a principal causa de óbito no mundo e também no Brasil, segundo a Organização Mundial de Saúde. Dentre os diversos métodos diagnósticos auxiliares utilizados para avaliar a função cardíaca, o uso de equipamentos e softwares é cada vez mais presente na rotina médica. Cada técnica possui uma particularidade e especificidade, e neste sentido, o eletrocardiograma é o mais empregado para avaliar a função cardíaca, em especial às questões relativas à atividade elétrica do coração, crucial para a função que este órgão desempenha, interferindo inclusive em outros sistemas. Este tipo de registro também é utilizado na eletrofisiologia experimental utilizando como modelo animal os ratos Wistar, dentre outras variedades.

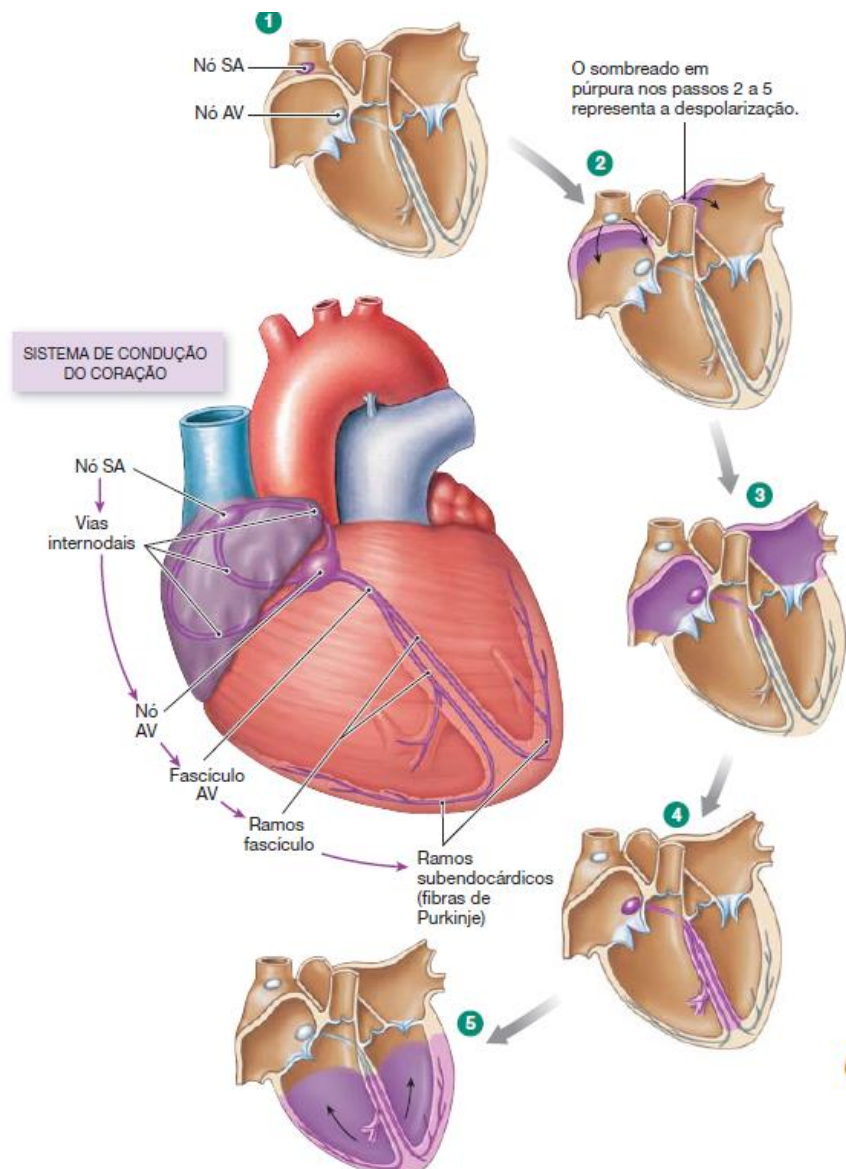
Com o desenvolvimento do hardware de baixo custo para captação de sinais de ECG, foi-se observado que as interfaces gráficas pré estabelecidas - inicialmente neste caso, utilizou-se a interface gráfica do próprio compilador do Arduino (Arduino IDE) - eram extremamente simples e não apresentavam características para a devida análise visual dos sinais captados, tornando-se necessário desenvolver uma interface mais adequada.

3.2 ATIVIDADE ELÉTRICA CARDÍACA

O músculo cardíaco atua como uma bomba propulsora responsável pela ejeção do sangue no circuito vascular, fundamental para o transporte de oxigênio e nutrientes para os tecidos e eliminação de metabólitos produzidos pela respiração celular, como o dióxido de carbono. O movimento rítmico de contração e relaxamento dessa musculatura é controlado pelo sistema nervoso autônomo, responsável pela geração de biopotenciais elétricos que se propagam a partir do nó sinusal, um conjunto de células musculares localizadas no átrio direito (denominadas células P e que atuam como um marca-passo natural) uma rede de fibras musculares cardíacas especializadas cujas células são auto rítmicas e auto excitáveis, fazem

sinapse com as células miocárdicas atriais, se propagando até o átrio esquerdo, como ilustrado na figura 1.

Figura 1: Sistema de condução do coração, evidenciando a sequência de despolarização que se inicia no nó sinusal (SA).



Fonte: Silverthorn, 2017.

O sistema de condução do coração demonstra a sequência de despolarização que tem início no nó sinusal (SA), promovendo a despolarização dos ventrículos e se propagando progressivamente pelas vias nodais até o nó atrioventricular (AV) e, em seguida, ao fascículo atrioventricular, alcançando as fibras de Purkinje nos ventrículos direito e esquerdo do coração. Isso resulta na contração das câmaras cardíacas.

A despolarização é o processo pelo qual as células cardíacas perdem a sua polaridade elétrica, ou seja, ocorre uma inversão na distribuição dos íons de carga dentro e fora da célula. No sistema de condução do coração, a despolarização ocorre de forma sequencial, iniciando-se no nó sinusal (SA).

O nó sinusal (SA) é o marca-passo natural do coração, responsável por gerar o impulso elétrico que inicia a contração cardíaca. Esse impulso se propaga para os átrios, promovendo a despolarização atrial. Em seguida, o impulso elétrico é conduzido ao nó atrioventricular (AV) através das vias nodais.

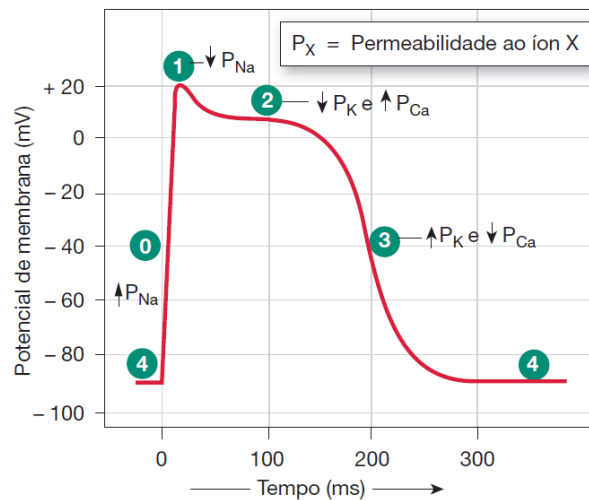
No nó AV, ocorre um leve atraso na condução do impulso elétrico, permitindo que os átrios se contraíam completamente antes que o impulso atinja os ventrículos. Após o nó AV, o impulso é transmitido ao longo do fascículo atrioventricular e se difunde pelas fibras de Purkinje nos ventrículos direito e esquerdo.

Essa sequência de despolarização no sistema de condução do coração é fundamental para garantir uma contração coordenada e eficiente das câmaras cardíacas, resultando em um bom funcionamento do sistema cardiovascular.

A partir do nó SA, o impulso elétrico é transmitido por meio de vias condutoras para os átrios e para o nó AV. Dessa forma, o potencial de ação gerado neste último se propaga ao longo do complexo estimulante do coração e se dispersa para estimular as fibras musculares contráteis atriais e ventriculares (TORTORA; DERRICKSON, 2010).

Essas alterações são causadas pelo deslocamento de íons entre o interior e o exterior da célula cardíaca através de proteínas denominadas canais iônicos voltagem-dependentes. Ao serem transmitidas às células cardíacas, o estímulo elétrico promove a abertura de canais iônicos dependentes de voltagem. Os fluxos dos íons (corrente iônica) resultam na inversão do potencial de membrana (para valores positivos) e caracterizam as fases do potencial de ação muscular cardíaco, ilustrado na figura 2, onde: fase 0 - despolarização (o potencial de membrana alcança valores positivos da ordem de +20 mV) promovida pela ativação de canais rápidos de Na⁺ e influxo desse íon; fase 1 - repolarização precoce e incompleta, decorrente da abertura de alguns canais para K⁺, permitindo a fluxo desses cátions para o meio extracelular; fase 2 - platô cardíaco, decorrente da abertura de canais rápidos de Ca²⁺, que retardam a repolarização, mantendo a célula despolarizada por mais tempo e promovendo a manutenção do potencial de membrana em valores positivos; fase 3 - repolarização propriamente dita, com redução da permeabilidade ao Ca²⁺ e aumento da permeabilidade ao K⁺; fase 4 - a célula retorna ao potencial de repouso (-90 mV).

Figura 2: Etapas do potencial de ação cardíaco.



Fonte: Silverthorn, 2017

A figura 2 descreve os diferentes estágios da despolarização. Vamos entender cada um deles:

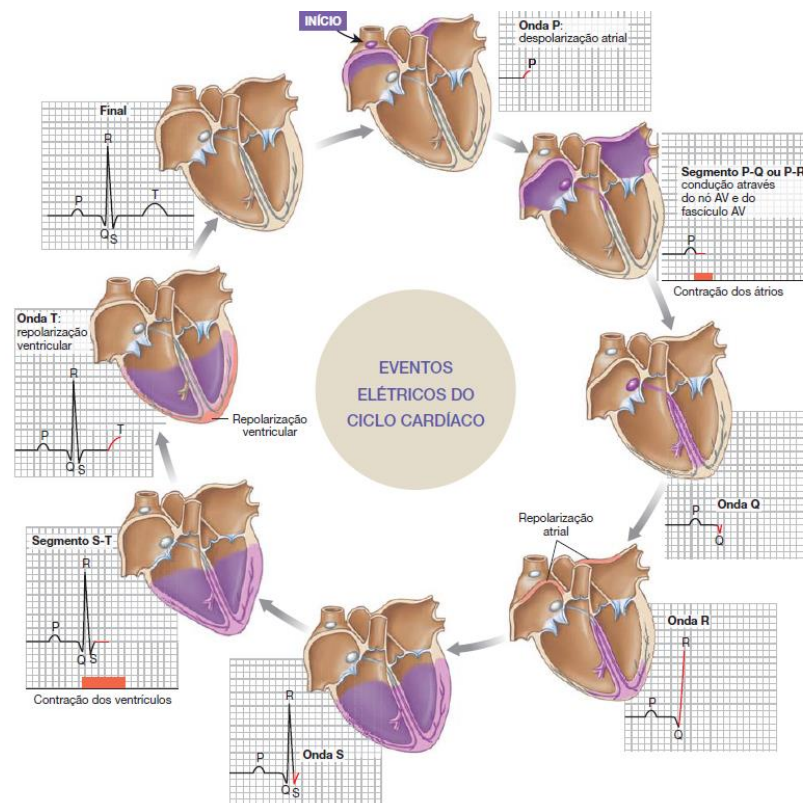
1. Estágio 0: Neste estágio, os canais de sódio (Na^+) se abrem, permitindo a entrada de íons de sódio para dentro da célula cardíaca. Isso leva a uma rápida mudança na polaridade elétrica da célula, resultando em uma despolarização rápida.
2. Estágio 1: Após a rápida entrada de íons de sódio, os canais de sódio se fecham para interromper o fluxo de íons de sódio para dentro da célula. Isso marca o fim do estágio de despolarização inicial.
3. Estágio 2: Neste estágio, os canais de cálcio (Ca^{2+}) são abertos, permitindo a entrada de íons de cálcio para dentro da célula. Essa entrada de íons de cálcio contribui para a manutenção da despolarização e prolongamento do potencial de ação.
4. Estágio 3: Após um período de tempo, os canais de cálcio se fecham, limitando a entrada de íons de cálcio para dentro da célula. Ao mesmo tempo, os canais de potássio (K^+) lentos são abertos, permitindo a saída de íons de potássio da célula. Isso leva a uma repolarização gradual da célula.
5. Estágio 4: Este estágio representa o potencial de repouso, onde a célula apresenta uma polaridade elétrica estável antes do próximo ciclo de despolarização.

No processo de despolarização do sistema de condução do coração, ocorre uma sequência de abertura e fechamento de canais iônicos que são responsáveis pela mudança na distribuição dos íons de carga dentro e fora das células cardíacas.

Esses diferentes estágios de despolarização e repolarização são essenciais para a correta transmissão do impulso elétrico no sistema de condução do coração, garantindo uma contração coordenada e eficiente do músculo cardíaco.

Os sinais elétricos gerados no músculo cardíaco podem ser captados por meio do eletrocardiograma, e na sequência, serem medidos e analisados de maneira direta ou indireta, o que permite avaliar o comportamento elétrico do coração (RAMINHOS, 2009). Esse biopotencial é caracterizado por ondas traçadas no ECG, cujos aspectos podem ser usados para identificar as anomalias ou arritmias cardíacas quando comparado ao sinal obtido em condições não patológicas (RAMINHOS, A. B., 2009). O referido sinal corresponde aos potenciais elétricos que são gerados nas células do marca-passo localizadas no átrio direito que percorrem os átrios e são conduzidos aos ventrículos e são responsáveis pelos mecanismos de contração e relaxamento cardíaco (fig. 3).

Figura 3: Biopotenciais no músculo cardíaco e o traçado do eletrocardiograma em um ciclo cardíaco.



Fonte: Silverthorn, 2017

A onda P manifesta o impulso elétrico oriundo do nó sinoatrial e a despolarização dos átrios. Já o segmento P-R está relacionado à condução do potencial de ação desde o nó sinoatrial ao nó atrioventricular. O complexo QRS indica a despolarização ventricular originada pelo ensejo do sinal elétrico do nó atrioventricular. A repolarização atrial ocorre também nesse período (CASCINO, 2021).

3.3 FRACTALIDADE DA ATIVIDADE ELÉTRICA CARDÍACA

Os objetos fractais são caracterizados por não permitirem uma aplicação de geometria euclidiana para sua análise. Esses objetos, inicialmente foram descritos por Mandelbrot (1982) que observou a homogeneidade das estruturas e sua repetição ao longo do tempo. Eles podem ser observados em diversas áreas como a astronomia, processamento de sinais e sinais fisiológicos. Pela natureza fractal dos sistemas biológicos, essa teoria tem sido aplicada na área médica (NAYERI, 2017).

Esses objetos são caracterizados por algumas propriedades: i) autossimilaridade, a qual significa que partes de um objeto ou processo são semelhantes ao objeto ou processo todo; ii) dependência de escala (*scaling*), que significa dizer que a medida da grandeza depende da escala na qual foi medida; iii) dimensão fractal, a qual provê uma descrição quantitativa da auto similaridade e dependência de escala e iv) as propriedades estatísticas anômalas das grandezas fractais, que se caracterizam pela inexistência de medidas de centralidade e dispersão dos objetos e processos fractais (BASSINGTHWAIGHTE et al., 1994).

Assim como um fractal geométrico, em que pequenos fragmentos se assemelham ao objeto inteiro, uma série temporal é considerada auto-semelhante quando fragmentos menores exibem flutuações estatisticamente semelhantes ao todo original, desde que devidamente redimensionados. Este aspecto é relevante na análise da eletrofisiologia cardíaca, especialmente em relação à variabilidade da frequência cardíaca, a qual pode refletir processos autossimilares (CASTIOGLIONI et al., 2010).

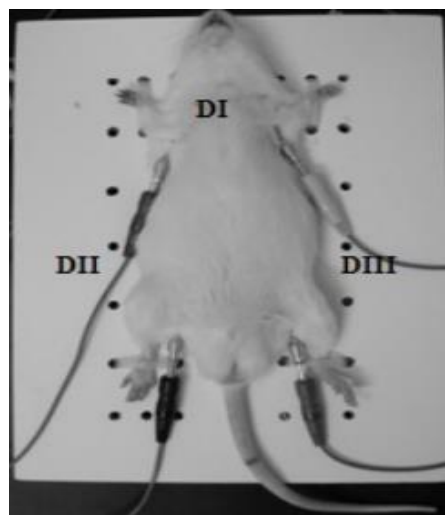
Os ritmos de contração e relaxamento das câmaras cardíacas representam manifestações significativas do sistema cardiovascular. Tais ritmos podem ser tanto periódicos quanto não-periódicos, dependendo das variações temporais e/ou espaciais. Funcionamentos fisiológicos, normais ou patológicos, podem ser associados às dinâmicas regulares ou irregulares dos sistemas biomédicos (SAVI, 2006).

3.4 O ELETROCARDIOGRAMA EM MODELO ANIMAL

Os modelos animais vêm enriquecendo o entendimento de vários aspectos referentes à genética, doenças e interações medicamentosas dos fármacos. Neste sentido, o rato Wistar é frequentemente usado, pois a sua fisiologia assemelha-se à da espécie humana (SILVANIA, 2013). Por ser um animal de porte pequeno, eles ocupam pouco espaço e a criação torna-se de baixo custo, como também por ter um ciclo de vida pequeno quando requerido os animais no biotério requer uma espera de menor tempo. Os ratos constituem um modelo animal muito importante e útil para o estudo da eletrofisiologia cardíaca experimental, devido à possibilidade de utilizar derivações similares àquelas realizadas convencionalmente em humanos e outras espécies (PEREIRA-JUNIOR et al., 2010). Um ECG padrão possui 12 derivações separadas, em que seis delas são classificadas como precordiais, denominadas V1, V2, V3, V4, V5 e V6.

As demais derivações são classificadas como periféricas, podendo ser bipolares ou unipolares aumentadas. As primeiras formam o chamado "Triângulo de Einthoven" e são denominadas: DI, colocado entre o membro anterior direito e o esquerdo; DII, colocado entre o membro anterior direito e o posterior esquerdo; DIII, posicionado entre os membros anterior esquerdo e posterior esquerdo. Já as derivações unipolares captam o potencial elétrico entre uma região teórica do Triângulo de Einthoven e sua extremidade: aVR, avaliando potencial absoluto no membro anterior direito; aVL, avaliando potencial absoluto no membro anterior esquerdo; aVF, avaliando potencial absoluto no membro posterior esquerdo (SILVA, 2008; TOMAZATI, 2010).

Figura 4: Rato wistar com eletrodos posicionados para captação do ECG exibindo derivações periféricas DI, DII e DIII.



Fonte: Guerra, 2015

3.5 O DESENVOLVIMENTO DE SOFTWARE E INTERFACE GRÁFICA

O desenvolvimento de uma interface gráfica consiste em criar uma interface humano-máquina para que seja possível aferir em tempo real os dados obtidos pelo hardware de captação de sinal, utilizando a tela de um computador ou outro dispositivo para visualizar os dados registrados.

Santori definiu o que é a instrumentação virtual como “um instrumento cuja função geral e recursos são determinados em software” (SANTORI, 1990). E o pesquisador Goldberg descreve que “um instrumento virtual é composto de algumas subunidades, alguns computadores de uso geral, alguns softwares, e um pouco de conhecimento” (GOLDBERG, 2000). De modo geral, os autores captaram a ideia inicial que uma máquina pode simular como qualquer outra, desde que tenha o software instalado (SUMATHI et al., 2007).

O recurso de instrumentação virtual pode inserir novas técnicas que podem ser empregadas para projetar diferentes interfaces que sejam necessários aos processos reais, a exemplo das inúmeras áreas que lidam com sistemas de medição, aquisição e teste, permitindo uma fácil utilização e integração com o meio e mutável conforme as necessidades que possam a ser colocadas. Os fatores mais notáveis dessa ascensão são o rápido desenvolvimento e disseminação dos computadores, e a elevada rapidez de conversão de dados (SUMATHI et al., 2007).

4. METODOLOGIA

4.1 ASPECTOS ÉTICOS E BIOENSAIOS

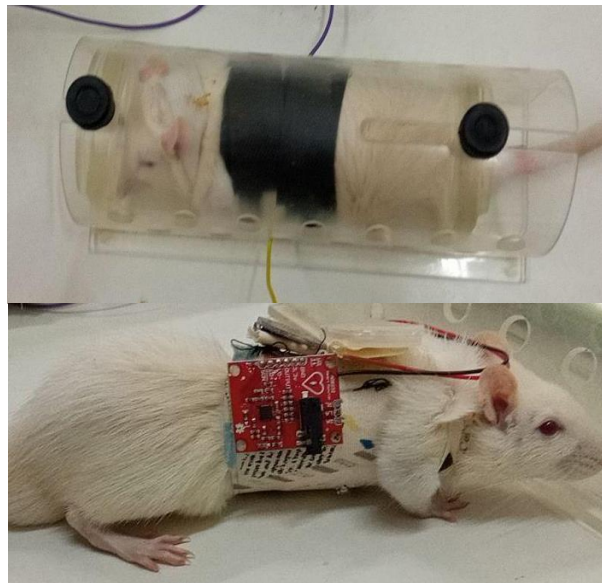
Este projeto de pesquisa foi desenvolvido em conformidade com o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA, tendo sido submetido ao CEUA-UFRPE (Licença n. 4758160821).

Os animais utilizados no experimento foram fornecidos, mantidos e manipulados no Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da UFRPE, seguindo condições ambientais controladas, como temperatura de $25\pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 50%, além de um ciclo claro-escuro de 12/12 horas. Os animais tinham acesso livre a ração comercial Presence® e água potável.

Antes do início dos protocolos experimentais, os animais passaram por um período de 30 dias de manipulação. Em seguida, foram condicionados para a utilização dos coletes confeccionados e para permanecerem nos contêntores.

A aquisição dos registros do ECG (eletrocardiograma) foi realizada no Laboratório de Biofísica Teórico-Experimental e Computacional (LABTEC) do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA-UFRPE), conforme as figuras 4 e 5 do projeto de pesquisa.

Figura 5: Captação do ECG utilizando sistema cabeado com contensão física (A) e sistema wireless (B).



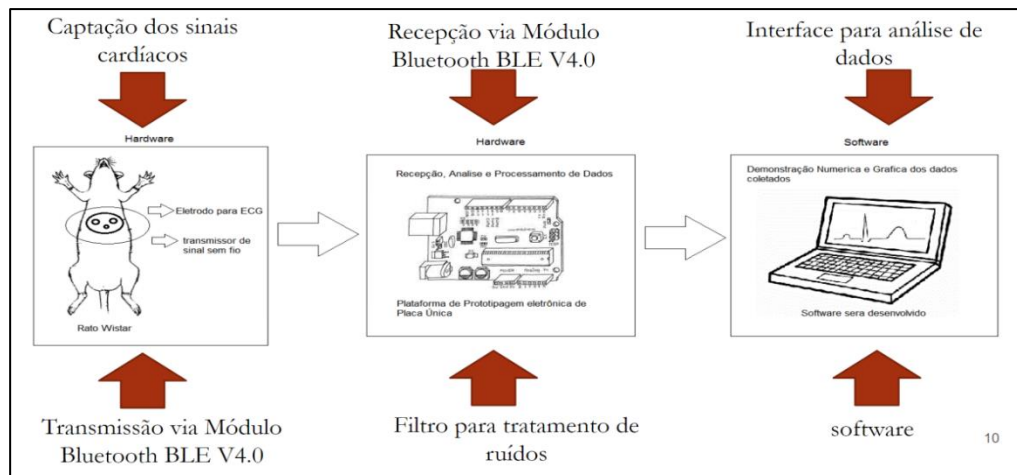
Fonte: A autora, 2022.

4.2 CAPTAÇÃO DOS SINAIS CARDÍACOS

O dispositivo portátil desenvolvido permite captar os sinais elétricos da atividade cardíaca de ratos Wistar. Esses sinais são transmitidos via rede sem fio a uma placa com microcontrolador por meio de eletrodos localizados no colete do animal. A placa é controlada pela lilypad (arduino) associada a um módulo bluetooth. A recepção do sinal é feita por outro módulo bluetooth e os dados são controlados e processados por outro Arduino. Por fim, os dados são demonstrados por meio de uma interface gráfica desenvolvida.

Essa tecnologia tem aplicações importantes na área da pesquisa científica, permitindo o monitoramento da atividade cardíaca de ratos de forma não invasiva e em tempo real. Isso possibilita a análise dos padrões de atividade cardíaca e o estudo de possíveis alterações ou anomalias.

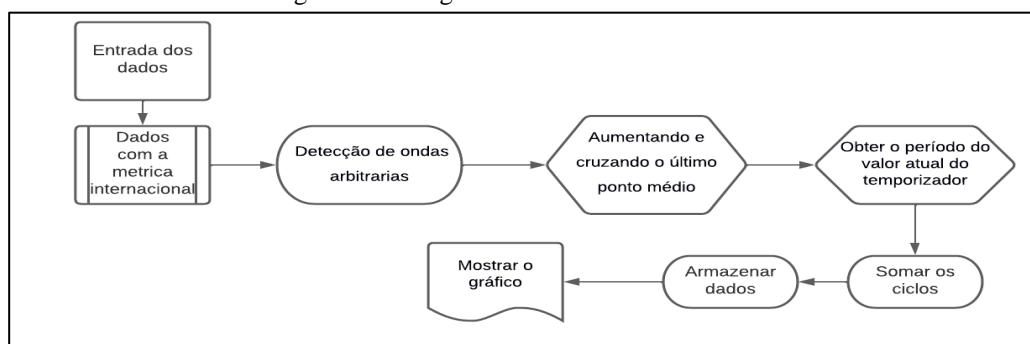
Figura 6: Diagrama explicativo da captação dos sinais cardíacos e demonstração da interface gráfica.



Um sistema de instrumentação virtual consiste num software utilizado para desenvolver testes computadorizados e sistemas de medição; para controlar dispositivos de hardware de medição recorrendo a um computador; e para exibir de modo gráfico os resultados da medição de dados no monitor do computador. Os dados resultantes do ensaio de medição são adquiridos por um dispositivo externo ligado ao computador (GOLDBERG, 2000).

Na etapa de programação foi seguido o uso de uma interface gráfica que possibilitasse uma fácil visualização do sinal adquirido, seguindo uma lógica que os dados sejam coletados e colocados em uma métrica internacional, para possibilitar internacional, possibilitando realizar análises, detectar as ondas e amplificar o sinal para melhorar a demonstração dos gráficos. Para isto, os ciclos eram contados e somados num tempo médio de sete minutos (tempo de registro realizado pelo hardware desenvolvido alimentado por um sistema de bateria), e por fim demonstrando o gráfico (fig. 7).

Figura 7: Fluxograma do desenvolvimento o software



Fonte: A autora, 2022.

4.3 ANÁLISE DE FLUTUAÇÃO DESTENDENCIADA (DFA)

Do inglês DetrendedFluctuationsAnalysis (DFA), essa técnica permite eliminar a tendência de uma série em diferentes escalas, analisando as flutuações inerentes aos dados, considerando-se como flutuações a medida de variabilidade do sinal associada a variância de cada segmento da série em diferentes escalas e dados.

O método apresenta uma modificação da análise da raiz quadrática média da caminhada aleatória, e baseia-se na análise de flutuações dos dados após a retirada das tendências das séries temporais. Dessa forma, o sinal de interesse é integrado a séries auto similares. Para isso, obtém-se a série integrada a partir da série temporal original x_i com $i = 1, 2, 3, \dots, N$ por meio da equação 1.

$$Y(k) = \sum_{i=1}^k (x(i) - \bar{x}) \quad (1),$$

onde \bar{x} é a média dos valores $x(i)$ com $i = 1, 2, \dots, N$ e k é um número inteiro (PENG et al., 1995).

A inserção acima permite que a série se transforme em um processo auto similar. Em seguida, a série $y(k)$ é dividida em intervalos de comprimento igual n . A integração acima permite que a série original seja transformada em um processo auto similar. Depois, a série $y(k)$ é dividida em intervalos de comprimento igual a n . São feitos ajustes usando funções polinomiais para cada intervalo, sendo classificadas como: linear (DFA-1), quadrática (DFA-2) ou cúbica (DFA-3), que representa a tendência em cada intervalo. A ordenada do segmento linear (DFA-1), que representa a tendência no intervalo de tamanho n , é denotada (k) .

A remoção da tendência é realizada com a subtração do valor do ajuste linear (k) do valor correspondente da série integrada $y(k)$. Conforme Peng et al. (1995), a função que representa o tamanho das flutuações para o tamanho n dos intervalos usados para remover a tendência é dada pela equação 2:

$$F(n) = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N [y(k) - y_n(k)]^2} \quad (2),$$

O cálculo é feito para vários tamanhos do intervalo n para determinar a relação entre as flutuações $(F(n))$ e o tamanho do intervalo n . Para processos fractais (auto similares) $F(n)$ aumenta com n pela lei de potência,

$$F(n) \sim n^\alpha \quad (3),$$

O expoente de auto similaridade podendo ser calculável utilizando o coeficiente angular da reta obtida por regressão linear de gráfico $\log F(n)$ versus $\log n$ (PENG et al., 1995). O parâmetro de auto similaridade α da série integrada é relacionado com a função de correlação da série original da seguinte forma:

$\alpha < 1/2$: anti-correlacionado, sinal anti-persistente;

$\alpha \cong 1/2$: ausência de correlação, ruído branco, não apresenta memória;

$1/2 < \alpha < 1$: correlação de longo alcance do tipo persistente;

$\alpha \cong 1$: ruído tipo $1/f$;

$\alpha > 1$: não estacionário, como caminhos aleatórios;

$\alpha \cong 3/2$: ruído tipo browniano.

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o teste de Shapiro-Wilks para verificar a normalidade da distribuição dos dados do ECG obtidos pelo método desenvolvido. Os dados com distribuição gaussiana foram analisados pelo teste t de *Student* não pareado ($p < 0,05$) utilizando-se o software Graphpad Prisma ® 9.3.0.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

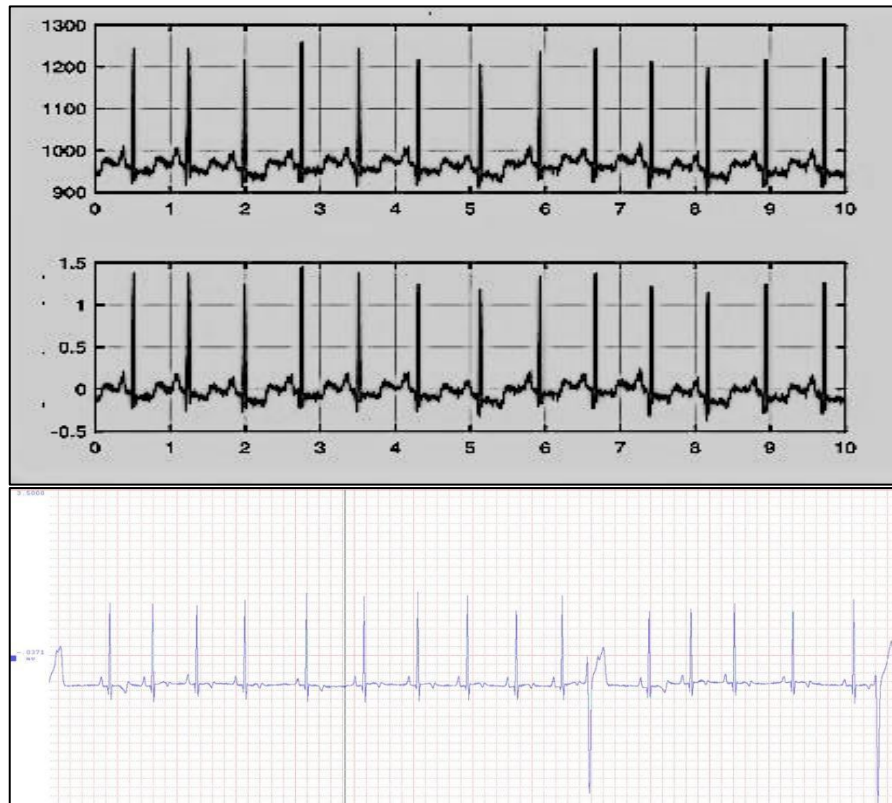
O software foi desenvolvido em linguagem C. A programação criada está na figura 8.

Para iniciar o programa, detalhamos os dados a serem coletados e as respectivas unidades de medida. Na sequência detectamos as ondas arbitrárias e recebendo a cada ciclo de tempo, e depois armazenando-o de forma circular, obtendo-se assim um período total de 5 ondas (PQRST).

Posteriormente, faz-se o *reset* da aquisição realizada e inicia-se a coleta do próximo círculo. Finalmente, obtém-se o gráfico do sinal na tela, possibilitando sua posterior análise por meio dos métodos matemáticos. Aqui foram escolhidas as ondas QRS, pois elas apresentam maior visualização gráfica, tanto no wireless quanto no cabeado, como demonstrado na figura 9 (A e B, respectivamente).

Optou-se por utilizar a linguagem C++ por ser mais visual, e para os loops das leituras feitas com os dados coletados, utilizou-se MAX_BUFFER. Já para detecção de ondas arbitrárias foi selecionada *freqDetec()* e para salvar os dados, o comando *round robin*.

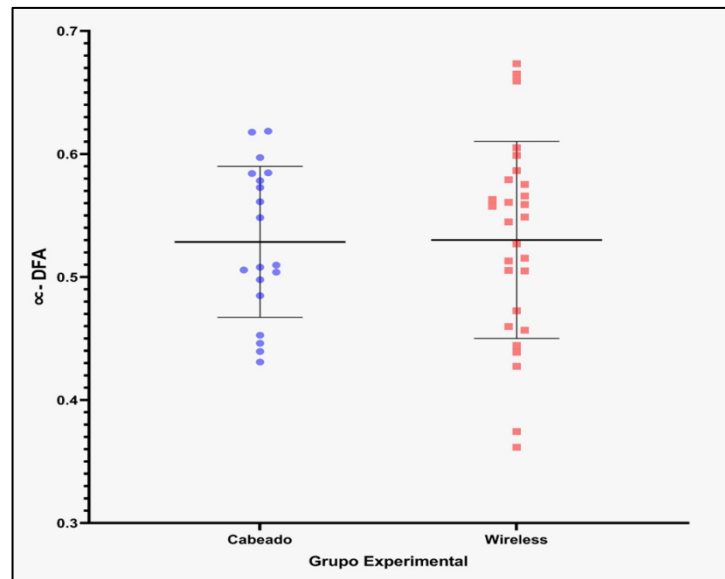
Figura 9: Interface do sinal de ECG obtido pelo método wireless com protótipo Arduino (A) e pelo sistema cabeado com Software Windaq (B).



Fonte: A autora, 2022.

A análise do DFA foi também aplicada a cada um dos registros da atividade cardíaca obtida pelo método cabeado e wireless, mostrando resultado de coeficientes α -DFA bem semelhantes (wireless = $0,5402 \pm 0,0016$, $n = 28$ e cabeado = $0,5286 \pm 0,021$, $n = 19$), não apresentando diferença estatisticamente significativa entre os mesmos ($t = 0,07323$, $p = 0,9419$), como pode ser observado na figura 10.

Figura 9: Gráfico de Dispersão dos valores de α -DFA dos ECGs de ratos Wistar



Fonte: A autora, 2022.

O gráfico de dispersão dos valores de α -DFA dos ECGs de ratos Wistar foi obtido por meio do sistema não cabeado (wireless) desenvolvido e de um sistema cabeado com software comercial (Windaq).

Castiglioni e colaboradores (2010) usaram a referida técnica sobre a frequência cardíaca (intervalo R-R) para avaliar a resposta do sistema nervoso autônomo em pacientes humanos sem relato de alteração cardíaca submetidos a diferentes fármacos com efeito sobre a pressão sanguínea, obtendo valores desse parâmetro que variaram com características também de correlação de longo alcance ($\frac{1}{2} > \alpha > 1$).

Castro e colaboradores (2013) utilizaram o parâmetro do DFA para avaliar as oscilações da frequência cardíaca em intervalos R-R do ECG obtidos em cães hípidos adultos, com o objetivo de estabelecer parâmetros quantitativos que caracterizassem alterações no referido parâmetro durante situações de esforço e repouso, obtendo valores de mediana iguais a α -DFA = 0,6618 e α -DFA = 0,8293, respectivamente, com diferença estatisticamente significativa entre os grupos experimentais. Assim, essa ferramenta pode ser utilizada para parametrizar diferentes condições fisiológicas (repouso e esforço), com perspectiva de uso em condições patológicas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos resultados preliminares obtidos, podemos considerar que o protótipo do software desenvolvido foi eficaz na demonstração gráfica dos dados da atividade cardíaca de ratos Wistar. Esses resultados foram comparáveis aos obtidos utilizando um sistema cabeado e software comercial, indicando a possibilidade de desenvolver um sistema de baixo custo para análise de biopotenciais em experimentos com animais.

No entanto, para aprimorar o sistema, algumas melhorias são necessárias. Uma delas é a modificação do filtro para reduzir os ruídos presentes no gráfico coletado. Isso garantirá uma maior precisão na análise dos dados cardíacos. Além disso, é importante tornar a interface gráfica mais intuitiva para os usuários, facilitando a interpretação dos resultados e o uso do sistema como um todo.

Essas melhorias futuras contribuirão para o desenvolvimento de um sistema ainda mais eficiente e confiável para a análise de biopotenciais em experimentos com animais. Com um sistema de baixo custo e alto desempenho, será possível realizar estudos mais detalhados da atividade cardíaca em ratos Wistar, ampliando o conhecimento científico nessa área.

Considerando essas considerações, podemos concluir que o projeto do TCC obteve resultados promissores e apresentou potencial para contribuir com avanços na pesquisa de biopotenciais em experimentos com animais. Os resultados preliminares indicam a viabilidade e a eficácia do sistema desenvolvido, além de identificar áreas de melhoria para trabalhos futuros. Com as melhorias propostas, espera-se que o sistema possa ser amplamente utilizado em estudos experimentais, oferecendo uma alternativa de baixo custo e alta qualidade para a análise da atividade cardíaca em ratos Wistar.

REFERÊNCIAS

- ADDISON, P. S. **Fractals and chaos: an illustrated course**. Edinburgh: Napier University, 1997. 256 p.
- BASSINGTHWAIGHTE, J. B.; LIEBOVITCH, L. S.; WEST, B. J. **Fractal physiology**. New York: Oxford University Press, 1994. 364 p.
- BATALHA, E. Uso de animais em pesquisa abrange desafios éticos e compromisso com novas tecnologias. **Portal Fiocruz**, Rio de Janeiro, 23 fev. 2017. Disponível em: <https://portal.fiocruz.br/noticia/uso-de-animais-em-pesquisa-abrange-desafios-eticos-e-compromisso-com-novas-tecnologias>. Acesso em: 30 nov. 2020.
- CASCINO, T.; SHEA, M. J. **Eletrocardiograma (ECG)**. Michigan.: Manual MSD, 2020. Disponível em: www.msmanuals.com/pt-br/profissional/doen%C3%A7as-cardiovasculares/exames-e-procedimentos-cardiovasculares/eletrocardiografia. Acesso em: 30 nov. 2020.
- CASTIGLIONI, P. *et al.* Scale exponents of blood pressure and heart rate during autonomic blockade as assessed by detrended fluctuation analysis. **Journal of Physiology**, Cambridge: University Press, nov. 2011. DOI: <https://dx.doi.org/10.1113/jphysiol.2010.196428>.
- CASTRO, C. **Análise de flutuações sem tendência aplicada na avaliação da frequência cardíaca em cães da raça Rottweiler**. 2013, 88f. Tese (Doutorado em Biociência Animal) – Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/4545>. Acesso em: 10 out. 2020.
- CHAVIER, L. F. **Programação para arduino primeiros passos**. Santa Catarina: Instituto Federal Catarinense, 2017 E-book (p. 10). Disponível em: <https://professor.luzerna.ifc.edu.br/marcelo-cendron/wp-content/uploads/sites/40/2017/03/Programa%C3%A7%C3%A3o-para-Arduino-Primeiros-Passos-Conceitos-iniciais-de-programa%C3%A7%C3%A3o-para-Arduino-Projeto-de-eletr%C3%B4nica-modular-com-Arduino-Circuitar.pdf/>. Acesso em: 10 out. 2020.
- CHORILLI, M.; MICHELIN, D. C.; SALGADO, H. R. N. Animais de laboratório: o camundongo. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 28, n. 1, p. 11-23, ISSN 1808-4532, 2007. Disponível em: <https://rcfba.fcfar.unesp.br/index.php/ojs/article/view/531/529>. Acesso em: 10 abr. 2022.
- GOLBERG, H. What is virtual instrumentation?. **IEEE Instrumentation & Measurement Magazine**, vol. 3, no. 4, p. 10-13, Dec. 2000, doi: 10.1109/5289.887453..
- LIANG, S. F. et al. Closed-loop seizure control on epileptic rat models. **Journal of Neural Engineering**, v. 8, p. 045001, 14 ago. 2011. DOI: <https://doi.org/10.1088/1741-2560/8/4/045001>.
- OLIVEIRA, A. T. **Deteção do complexo QRS em sinais cardíacos utilizando FPGA**. 2009. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Universidade Estadual de Campinas, SP, 58f. Campinas – SP, 2009. DOI: <https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2009.475403>.

OLIVEIRA, G. M. M. *et al.* Cardiovascular statistics. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 115, n. 3, p. 308-439. DOI: <https://doi.org/10.36660/abc.20200812>.

OLIVEIRA, I.; BALBINOT, A. **Eletrocardiograma portátil através de aplicativo para sistema operacional Android..** In: **Congresso Nacional de Engenharia Biomédica**, 2014, Belo Horizonte. [Anais XXIV Congresso Nacional de Engenharia Biomédica]. Belo Horizonte: Canal 6, 2014. p 1-4. Disponível em: https://www.canal6.com.br/cbeb/2014/artigos/cbeb2014_submission_514.pdf . Acesso em: 9out. 2020.

PENG, C. K. *et al.* Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series. **Chaos**, Basel: Journal of Nonlinear Science, nov. 1994. DOI: 10.1063/1.166141.

PETERS, V.M.; GUERRA, M.O.. Ausência de toxicidade reprodutiva e sistêmica em ratos Wistar tratados com extrato seco de Ginkgo Biloba durante o período de desmame à puberdade. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais**, [s. l.], v. 7, ed. único, p. 15-21, 2015. Disponível em: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/riee/article/view/24019/13301>. Acesso em: 10 jun. 2024.

RAMINHOS, J. P. B. D. V. **Aquisição de sinais fisiológicos: aplicação ao controlo de uma plataforma móvel a partir do ECG.** 2009, 106f . Dissertação (Mestrado em Engenharia Electrotécnica e de Computadores) – Departamento de Engenharia Electrotécnica e de Computadores, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009. Disponível em : <https://scholar.tecnico.ulisboa.pt/api/records/hHuNtL6JnUXgmVUre5oDEAmwgNq0RDvGZP6F/file/5326545738ff28ca0af9849546e6b922f4484d9c7a1990e60a4eed389e07e90.pdf>. Acesso em: 11 out. 2020

RAMINHOS, A. B. **Bioeletrogênese: fundamentos e aplicações.** 2. ed. São Paulo: Editora Acadêmica, 2009.

SANYAL, S. N. *et al.* Cardiac autonomic nerve abnormalities in chronic heart failure are associated with presynaptic vagal nerve degeneration. **Pathophysiology**, v. 19, n. 4, p. 253-260, set. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2012.06.004>.

SANTORINI, M. An instrument that isn't really (Laboratory virtual instrument engineering workbench). **IEEE Spectrum**, Austin, v. 27, n. 8, p. 36-39, ago. 1990. DOI: <https://doi.org/10.1109/6.58432>.

SAVI, M. A. **Dinâmica não-linear e caos.** 1. ed. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2006.

SILVA, M. C. **Sistema para avaliação da conformidade de eletrocardiógrafos.** 2008, 16f. Dissertação (Mestrado em Metrologia) – Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008. Disponível em: https://www.maxwell.vrac.puc-rio.br/12402/12402_1.PDF. Acesso em: 10 set. 2021.

SILVANIA, M. P.; NEVES FILHO, M. M.; WENZEL, E.. **Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do biotério de produção e experimentação da FCF-IQ/USP.** São Paulo: USP, 2013. Disponível em: <https://lidoc.paginas.ufsc.br/files/2013/10/Manual-Cuidados-e-Procedimentos-FCF-IQ-USP.pdf>. Acesso em: 11 out. 2020.

SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. Aumenta o número de mortes por doenças cardiovasculares no primeiro semestre de 2021. **Portal de cardiologia** . Rio de Janeiro, 8 ago. 2021. Disponível em: <https://www.portal.cardiol.br/post/aumenta-o-n%C3%BAmero-de-mortes-por-doen%C3%A7as-cardiovasculares-no-primeiro-semester-de-2021>. Acesso em: 9 set. 2022.

TOMAZATI, A. O. **Deteção do complexo QRS em sinais cardíacos utilizando FPGA**. 2009, 136 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP, 2009. DOI:<https://doi.org/10.47749/T/UNICAMP.2009.475403>

