



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO EM ENGENHARIA DE
CONTROLE E AUTOMAÇÃO



Sistema para aquisição de ECG em cobaias pequenas

Autor: Cássio Anderson da Silva Rodembuch

Orientador: Mário Roland Sobczyk Sobrinho

Porto Alegre, 7 de janeiro de 2020

Sumário

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vii
Lista de Figuras	ix
Lista de Abreviaturas e Siglas	x
Lista de Símbolos	xii
1 Introdução	1
1.1 Objetivo Geral	2
1.2 Objetivos Específicos	2
2 Revisão Bibliográfica	3
2.1 Variabilidade da Frequência Cardíaca	3
2.2 Canulação da Carótida	3
2.3 Procedimentos de ECG	4
2.3.1 Posicionamento dos Eletrodos	5
2.4 Análise do sensor	6
2.4.1 Equivalência do sensor	6
2.5 Trabalhos relacionados	8
3 Metodologia	9
3.1 Amplificação do sinal	9
3.2 Filtragem analógica	10
3.3 Aquisição do sinal	12
3.4 Sistema de visualização de dados	13
3.5 Ajustes funcionais	15
4 Resultados	17
4.1 Comparação com Equipamento Comercial	18
4.1.1 Eletrocardiógrafo Comercial	18
4.1.2 Teste Realizado	19
4.1.3 Análise dos Sinais	19
4.1.4 Medição com Cobaia Canulada	20
4.2 Discussão do Resultados	20

5	Conclusão	23
6	Referências	25
A	Código Arduino	29
B	Código Python	31
C	Circuito Total	35

Agradecimentos

Agradeço ao meu orientador por todo o incentivo e disponibilidade para me ajudar e auxiliar na confecção deste trabalho. Agradeço ao professor Tiago Becker pelo oferecimento da demanda e por intercambiar as relações com o laboratório de pesquisa. Agradeço ao Laboratório Translacional da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, cuja responsável é a professora Katya Rigatto. Faço um agradecimento especial à doutoranda do Laboratório Translacional, Renata Streck, pela ajuda e dedicação ao contribuir para este trabalho.

Agradeço também aos meus amigos e colegas, Carolina Magalhães, Nery Marques Neto, Pedro Rhoden, Antônio Airoidi, Henrique Jongh Pinheiro pelo apoio, compreensão e sugestões dadas que acrescentaram muito para este trabalho se realizar.

Quero agradecer ao técnico do laboratório de Pneumática, Henrique Wilson Werkhausen Filho, pela disponibilidade em ajudar nos testes do circuito, além do empréstimo do espaço para realização dos mesmos.

Agradeço ao professor Valner Brusamarello pela ajuda e também pelos ensinamentos na disciplina de Instrumentação que contribuíram para a realização deste trabalho.

Por fim, agradeço a minha avó, Juracy Marques da Silva, falecida este ano, pois sem o incentivo dela, nada disso teria começado.

Resumo

Este trabalho tem como missão descrever a elaboração de um sistema de aquisição de eletrocardiograma para rato de laboratório. Atualmente, é feito um exame invasivo na cobaia, conhecido como canulação da carótida, que mede a pressão arterial do rato. Testou-se utilizar o eletrocardiógrafo para humanos. Entretanto, a taxa de amostragem de 600 amostras por segundo é insuficiente para a medição. A fim de melhorar a qualidade dos dados adquiridos, evitando também a realização deste exame invasivo que causa a morte da cobaia, deseja-se aumentar a taxa de amostragem na aquisição dos exames de 600 para 2000 amostras por segundo. Sendo assim, a caracterização do sinal obtido ficaria mais evidente, pois a frequência cardíaca do rato é em torno de três vezes maior do que a do ser humano. Enfim, realiza-se alguns testes com a nova taxa de amostragem, obtendo-se uma melhoria na captação do sinal de eletrocardiograma da cobaia.

Palavras-chave: eletrocardiograma, rato, canulação, taxa de amostragem.

Abstract

This work has the task of describing a laboratory mouse electrocardiogram acquisition system. Currently, an invasive test on a guinea pig, known as a carotid cannula, measures rat blood pressure. Test or use the electrocardiograph for humans. However, a sample rate of 600 copies per second is insufficient for the reduction. In order to improve the quality of the acquired data, also to avoid performing this invasive test that causes the guinea pig's death, it wants to increase the sample capture rate from 600 to 2000 used per second. Thus, a characterization of the allowed signal would be more evident, since the heart rate of the punch is around three times higher than the human being. Finally, perform some tests with new sampling rate, obtaining an improvement in the guinea pig's signal capture.

Keywords: electrocardiogram, mouse, cannulation, sample rate.

Lista de Figuras

1	Canulação em cobaias (adaptado de Wayman, 2016)	1
2	Pulsção adquirida por canulação	4
3	Impedância da pele com o sensor. Adaptado de (Moreira, 2016)	5
4	Onda analisada no ECG (Shea, 2016)	5
5	Parâmetros de Eletrocardiograma	6
6	Circuito do corpo com o sistema de aquisição.	7
7	Diagrama de Blocos do Sistema	9
8	INA128p com seguidor de tensão (Instruments, 2013)	10
9	Filtro passa-faixa ativo	11
10	Sinais mostrados em bits por amostras	12
11	Fluxograma de interrupção	13
12	Fluxograma do sistema em PYTHON	14
13	Circuito de Alimentação Negativa (Corporation, 2019)	15
14	Resultado ECG cobaia em Volts por amostras	17
15	Realização do Teste Simultâneo	18
16	Comparação dos Sinais no MATLAB	19
17	Resultado da canulação no MATLAB	20

Lista de Abreviaturas e Siglas

CC	<i>Corrente Contínua.</i>	9, 11–13
ECG	<i>Eletrocardiograma.</i>	1–10, 12, 13, 15, 17–20, 23
EOG	<i>Eletrooculogramagrama.</i>	8
FC	<i>Frequência Cardíaca.</i>	2–4, 8, 18, 20, 23
FIR	<i>Finite Impulse Response.</i>	8
SNA	<i>Sistema Nervoso Autônomo.</i>	3
VFC	<i>Variabilidade da Frequência Cardíaca.</i>	2–4, 19, 20

1 Introdução

O uso de cobaias é muito significativo na indústria farmacêutica. Antes de serem distribuídos em farmácias, novos medicamentos são testados em animais, pois os roedores possuem uma fisiologia muito parecida com a de seres humanos. Existem inúmeros tipos de testes feitos nessas cobaias para verificar as alterações que os medicamentos fazem no organismo de um mamífero. (Batalha, 2017)

O *Eletrocardiograma* (ECG) é um teste realizado para monitorar os impulsos elétricos do coração. Neste exame, dentre as características obtidas, pode-se identificar os picos R, que em conjunto com as ondas Q e S, representam a contração dos ventrículos. (Roberto, 2018) As variações entre os intervalos das ondas R dos batimentos cardíacos, representam a atuação do sistema nervoso autônomo sobre o comportamento da frequência cardíaca. (Lopes, 2013)

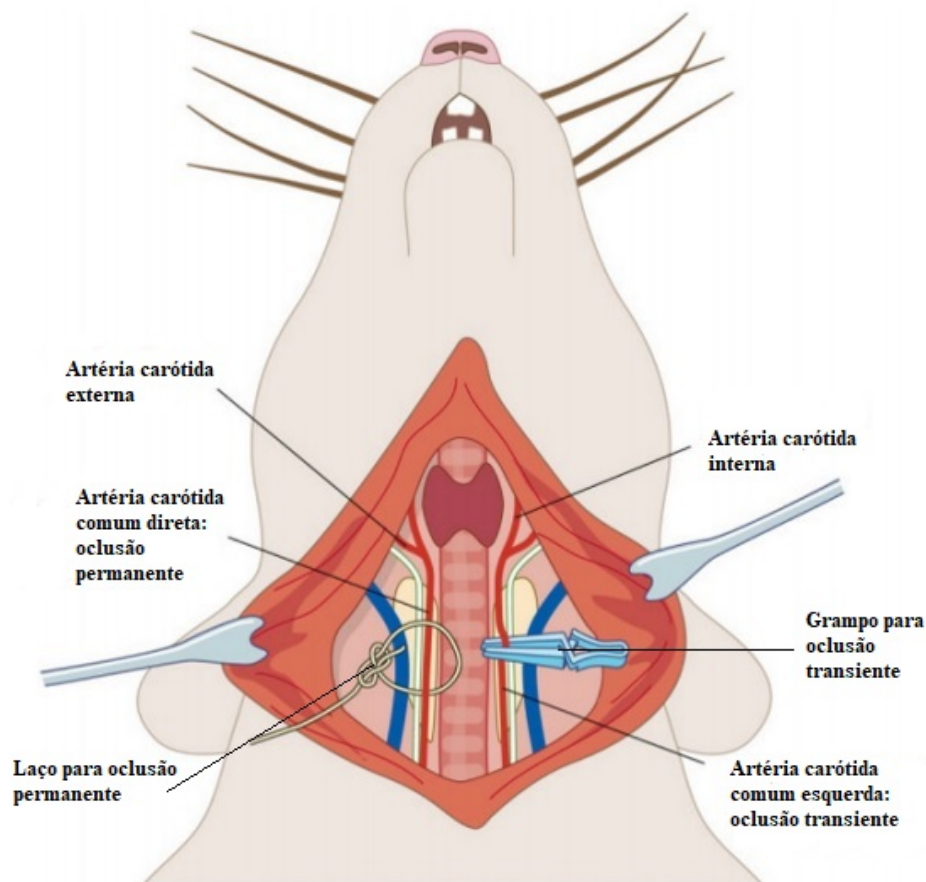


Figura 1: Canulação em cobaias (adaptado de Wayman, 2016)

Atualmente, a avaliação do comportamento do coração é obtida através da medição da variação da pressão arterial do rato. O procedimento consiste em abrir o tórax do animal para inserir um cateter na carótida para realizar a medição, como pode ser visto na Figura 1. Entretanto, este método

não é muito efetivo na medição da *Variabilidade da Frequência Cardíaca* (VFC), pois pode ser influenciado pela hemodinâmica do sistema de bombeamento sanguíneo, devido ao entupimento da carótida do rato na realização do exame. Além disso, trata-se de um método muito invasivo que além de causar estresse na cobaia, acaba resultando no óbito da mesma.(da Silva, 1999)

Um método testado para substituir a canulação na cobaia é a medição da *Frequência Cardíaca* (FC) por um eletrocardiógrafo utilizado em humanos. Entretanto, a taxa de amostragem desse equipamento, 600 amostras por segundo, é insuficiente para a avaliação da variabilidade da FC da cobaia, pois a FC do rato é três vezes maior do que a FC do ser humano.

A fim de aumentar a taxa de amostragem, deseja-se desenvolver um sistema de aquisição para o sinal de ECG em ratos. Este sistema compõe-se de um sensor de captação, um módulo de tratamento do sinal, um sistema de aquisição que transmitirá através de comunicação serial os dados para um computador e por fim uma interface para visualização e arquivamento do sinal.

1.1 Objetivo Geral

Deseja-se desenvolver um sistema de aquisição de sinal de ECG para ratos de laboratório. Necessita-se elaborar um circuito capaz de captar, amplificar e filtrar o sinal capturado para uma melhor visualização das ondas de interesse do exame de ECG.

1.2 Objetivos Específicos

- Verificar a possibilidade de utilização do mesmo sensor utilizado em humanos
- Condicionar o sinal de ECG obtido da cobaia
- Configurar a taxa de amostragem para uma melhor caracterização da onda de ECG
- Desenvolver um sistema para visualização do sinal adquirido

2 Revisão Bibliográfica

Este capítulo é dedicado ao embasamento teórico dos procedimentos realizados neste trabalho. Primeiramente, relata-se um breve noção sobre a variabilidade da frequência cardíaca. Logo após, discutem-se a técnica de canulação da carótida da cobaia. Posteriormente, verifica-se os principais aspectos de interesse no sinal de ECG. Depois disso, analisam-se as características do sensor de ECG, bem como os efeitos deste arranjo sobre o sinal a ser adquirido. Por fim, são apresentados outros trabalhos disponíveis na literatura relacionada ao tema.

2.1 Variabilidade da Frequência Cardíaca

O coração é um órgão, cuja atividade é controlada pelo *Sistema Nervoso Autônomo* (SNA). Este sistema é dividido em terminações simpáticas, que se estendem pelo miocárdio e terminações para-simpáticas pelo nódulo sinusal, o miocárdio atrial e o nódulo atrioventricular. O aumento da FC está relacionado com a ação simpática, enquanto que a ação para-simpática tem relação com a diminuição da FC. O SNA responde a estímulos fisiológicos e ambientais como: respiração, estresse, alterações hemodinâmicas, etc. Estas respostas são refletidas nas variações dos intervalos entre as ondas R do batimento cardíaco, o que é chamado de VFC. (Lopes, 2013)

A avaliação da VFC demonstra o comportamento de determinadas variáveis fisiológicas, já que aumento da VFC indica uma boa adaptação do organismo e a redução tem sido apontada como indicativo de doenças. Além disso, serve para relacionar algumas patologias com a modulação autonômica do organismo. (Vanderlei, 2009) Por essa razão, exames relativos à frequência cardíaca devem ser capazes não somente de medir a FC por si só (i.e, seu valor *médio*), como também, as *variações* dessa frequência. Uma vez que tais variações podem ser pequenas, os *períodos de amostragem* envolvidos na sua identificação devem ser curtos, implicando a necessidade de equipamentos de aquisição relativamente rápidos em comparação com a frequência cardíaca média.

2.2 Canulação da Carótida

Uma das técnicas mais utilizadas para verificação da VFC é a canulação da carótida da cobaia. O procedimento inicia com a anestesia da cobaia para que a mesma não sinta dor. Logo depois, verifica-se os reflexos do animal antes do procedimento de tricotomia, que consiste na depilação da área de operação. Posteriormente, efetua-se uma incisão entre a cabeça e o pescoço do rato, conforme mostrado na Figura 1. Por fim, a carótida é isolada por linhas de nylon e então, é inserido o sensor que obstrui a carótida para medição da pulsação da cobaia.(adaptado de Wayman, 2016) Na Figura 2 verifica-se o resultado do exame de canulação, que mostra a medição da pressão arterial da cobaia. Nota-se que as curvas tem características arredondadas, o que dificulta a identificação da VFC. No exame de ECG os picos R são bem pronunciados, facilitando a avaliação da VFC. Além disso, acredita-se que a obstrução do sistema hemodinâmico causa alterações nas respostas do SNA,

alterando as medições da VFC. (Lopes, 2013)



Figura 2: Pulsação adquirida por canulação

2.3 Procedimentos de ECG

O ECG é um exame que mede a atividade elétrica do coração. Os sinais elétricos, captados através da pele, são transmitidos para superfície do corpo e captados por eletrodos feitos de platina fixados na pele. Estes são sinais eletromiográficos vindos de um músculo do coração, o miocárdio. (de Souza, 2015) A figura 3 mostra as camadas que os sinais vindos do miocárdio precisam percorrer para chegar até o eletrodo. Nota-se que o conjunto reunido forma uma impedância equivalente, que precisa ser considerada na análise do circuito de aquisição do sinal.

A Figura 4 mostra como é dividida a análise da onda obtida em um ECG. A FC é medida pela contagem dos picos R em um período de tempo. Em ratos, a FC é, em média de 350 batimentos por minuto, correspondendo a um período de de 133 ms. (Medina, 2007) De acordo com (ASCARI, 2016), os demais intervalos demarcados no sinal de ECG podem ser entendidos como segue:

- ONDA “P”: Representa a atividade elétrica associada com o impulso inicial gerado no módulo Sino Atrial e a sua passagem através dos átrios, causando contração.
- INTERVALO “PR”: Representa o período que vai do início da onda “P” até o começo do complexo “QRS” e significa o tempo que o impulso original leva para atingir os ventrículos a partir de sua origem no módulo Sino Atrial.
- COMPLEXO “QRS”: A ativação dos ventrículos produz um conjunto de 03 etapas principais. A primeira deflexão para baixo denomina-se “Q”; a primeira para cima, de grande amplitude, “R”, e a segunda para baixo, “S”. As três juntas representam a contração dos ventrículos.
- SEGMENTO “ST”: Este intervalo compreende o período entre o término da estimulação (despolarização) e o início da recuperação (repolarização) dos músculos ventriculares.
- ONDA “T”: esta onda representa a maior parte da fase de recuperação (repolarização)

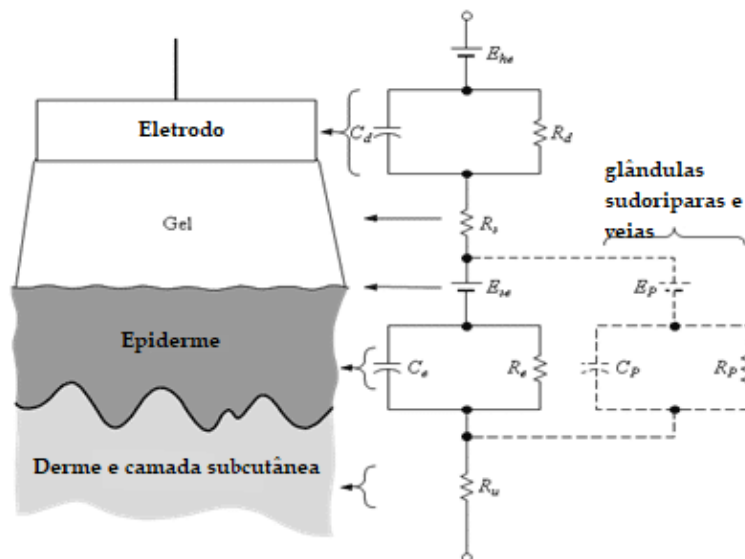


Figura 3: Impedância da pele com o sensor. Adaptado de (Moreira, 2016)

ventricular após uma contração.

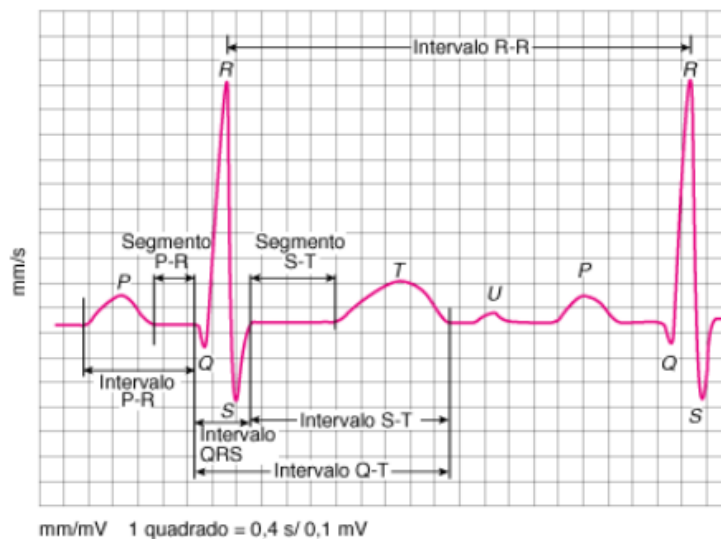


Figura 4: Onda analisada no ECG (Shea, 2016)

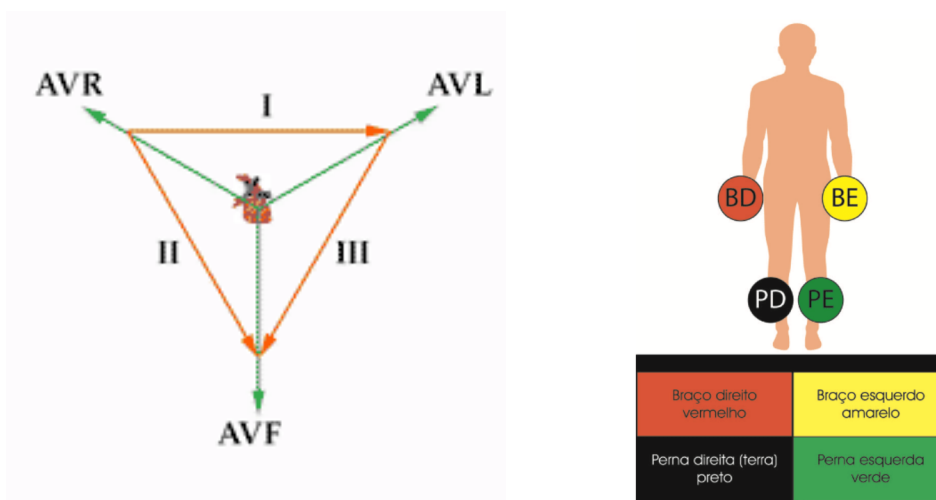
2.3.1 Posicionamento dos Eletrodos

Existem algumas configurações para o posicionamento do eletrodo em um paciente ao realizar-se um exame de ECG. A principal configuração é onde se tem três derivações, como é mostrado na

Figura 5a. Neste experimento, optou-se por utilizar apenas a primeira derivação, pois é a derivação principal.

Na Figura 5b verifica-se o posicionamento dos eletrodos em um paciente. Nota-se que o eletrodo da perna direita é o terra, ou seja, a referência para os outros eletrodos. Neste experimento utilizou-se apenas uma derivação, a derivação D1, que é a diferença entre os membros superiores do examinado.

A lei de Einthoven diz que a soma da derivação D1 com a derivação D3 deve ser igual a derivação D2. Isto permite verificar se o posicionamento dos eletrodos periféricos está correto. (EKG, 2019)



(a) Derivações Periféricas (EKG, 2019)

(b) Derivações Periféricas (EKG, 2019)

Figura 5: Parâmetros de Eletrocardiograma

2.4 Análise do sensor

Os sensores utilizados para captação dos sinais de ECG são compostos pelo cabo, mais o eletrodo que serve para fixação e condução no paciente. Sabe-se que todo condutor pode ser equivalente a uma resistência. Para verificar se o cabo utilizado para medição em humanos pode ser usado para medição em roedores, avalia-se as características apresentadas como condutor. Neste trabalho, refere-se como sensor o conjunto formado pelo eletrodo mais o cabo utilizado para conectar ao sistema.

2.4.1 Equivalência do sensor

Na Figura 6 verifica-se o circuito equivalente da impedância da pele, mostrado na Figura 3, em conjunto com a resistência do cabo e a impedância do circuito de aquisição. Acredita-se que a

impedância do sensor mais impedância do corpo não influenciam no circuito, pois existe uma alta impedância na entrada do mesmo. Verifica-se na Equação 1 a função de transferência do circuito mostrado na Figura 6. Nota-se que se a impedância de entrada do circuito, $R_{circuito}$, tende a infinito, fazendo com que o ganho da função de transferência tenda a um. Isto, mostra um comportamento de filtro passa-todas, o que não restringe as frequências mais altas vindas do sinal de ECG.

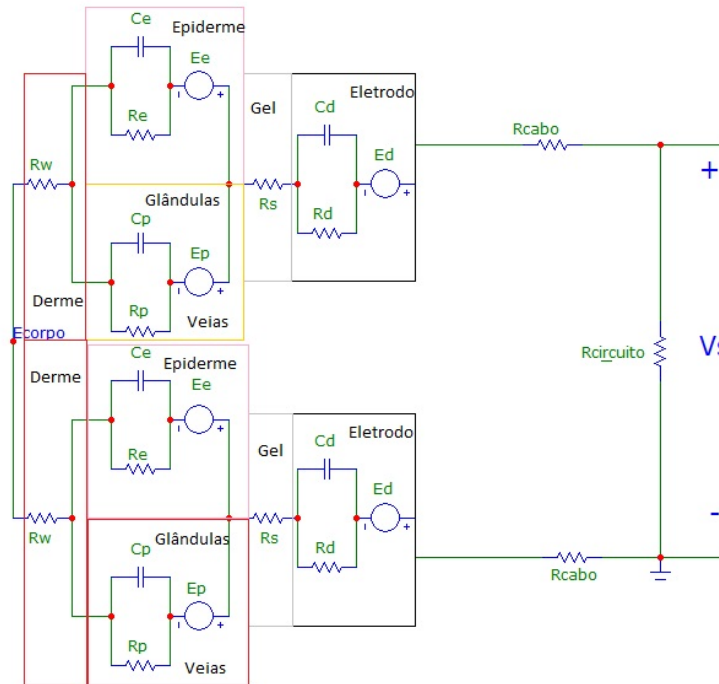


Figura 6: Circuito do corpo com o sistema de aquisição.

Nota-se que como o valor da resistência do cabo é pequeno, podendo ser considerado nulo e com uma impedância de entrada tendendo a um valor infinito, o circuito fica isolado da influência da impedância do corpo.

$$T = \frac{R_{circuito}(S + \frac{1}{R_p C_p})(S + \frac{1}{R_d C_d})}{R_{circuito}(R_{soma} + 1)(S + \frac{1}{R_p C_p})(S + \frac{1}{R_d C_d}) + \frac{C_e}{C_p}(S + \frac{1}{R_e C_e})(S + \frac{1}{R_d C_d}) + R_d(S + \frac{1}{R_p C_p})}, \quad (1)$$

Na Figura 6 nota-se siglas que indicam a relação do componente do circuito com a parte da impedância relacionado do corpo. A seguir, descreve-se esses componentes:

- R_e e C_e são a resistência e capacitância da epiderme, respectivamente
- R_p e C_p são a resistência e capacitância das glândulas sudoríparas e veias, respectivamente
- R_d e C_d são a resistência e capacitância do eletrodo, respectivamente
- R_w é a resistência da derme e camada subcutânea

- R_s é a resistência do gel condutor
- R_{cabo} é a resistência do cabo condutor
- R_{soma} é igual a R_w , mais R_s , mais duas vezes R_{cabo}
- $R_{circuito}$ é a impedância equivalente do circuito de aquisição

2.5 Trabalhos relacionados

Existem trabalhos citando a confecção de sistemas de aquisição de ECG em humanos. Há uma dissertação de mestrado da Universidade de São Paulo, onde o mestrando propõe um circuito com amplificador de instrumentação composto por dois estágios. Além disso, o sistema usa um módulo condicionador do sinal contendo um filtro passa-faixa e um amplificador de ganho final para melhor visualização da onda. A conversão de sinal analógico para digital é feita com a utilização de um microcontrolador. Por fim, os sinais são enviados para um dispositivo ANDROID, através de uma comunicação *bluetooth*. (de Souza, 2015)

A canulação é um método muito invasivo que serve para medir a pressão arterial e, por inferência, medir a frequência cardíaca. Uma monografia da Universidade Estadual Paulista fala sobre a utilização desta técnica em ratos não anestesiados. A princípio o roedor é anestesiado no dia anterior à medicação. Neste mesmo dia, a cobaia é canulada para que no dia seguinte, com os tubos expostos atravessando a pele do animal, possam ser feitas as medições sem anestesia. (de Oliveira, 2010) Neste exame, pode-se obter a curva de pressão arterial do examinado e a FC, que é um dos objetivos deste trabalho.

Um trabalho que serviu de base para esta monografia, trata da análise de sinal obtido pela obtenção de um *Eletrooculogramagrama* (EOG). A análise começa fazendo a amplificação do sinal, pois a amplitude do mesmo é muito pequena. Posteriormente, o sinal passa por três tipos de filtro para retirar as componentes de frequência indesejadas: Filtros passa-baixa, passa-alta e rejeita-faixa. Após a amostragem, o sinal passa por uma filtragem realizada por um filtro do tipo *Finite Impulse Response* (FIR) para condicionar os ruídos do sinal. Por fim, os movimentos oculares são registrados através de sinais elétricos emitidos pela movimentação dos olhos do paciente. Os exames são arquivados para futuras amostras. (Rosa, 2016) Este trabalho serviu de base para elaborar a parte de aquisição de sinal do sistema.

Por fim, há um trabalho com uma proposta parecida com a deste sistema desenvolvido. O trabalho propõe a obtenção do ECG para cobaias pequenas. Entretanto, o desenvolvimento se limita à confecção dos estágios iniciais do projeto, que são a amplificação e filtragem do sinal de ECG. Não há testes efetivos em cobaias, apenas testes com ondas senoides de diversas frequências. (Neto, 2017)

3 Metodologia

Dividiu-se o projeto para desenvolver este sistema em etapas. Primeiramente, o sinal obtido pelo sensor passa por uma amplificação. Isto porque, a amplitude do sinal de ECG é muito pequena. Posteriormente, o sinal amplificado precisa ser filtrado devido a ruídos diversos do ambiente. Optou-se por utilizar um filtro passa faixa que filtre as componentes de *Corrente Contínua* (CC) e limite a banda de passagem para baixas frequências. A amostragem é feita em um micro controlador (Arduíno Uno) através da entrada analógica do mesmo. Calcula-se o período de amostragem necessário para se obter uma frequência de amostragem de 2 kHz. Por fim, a interface foi feita em linguagem PYTHON para que o sinal possa ser arquivado para uma posterior análise. Os dados são captados pela porta serial do computador ligado ao Arduíno. Na Figura 7 verifica-se as etapas do projeto.

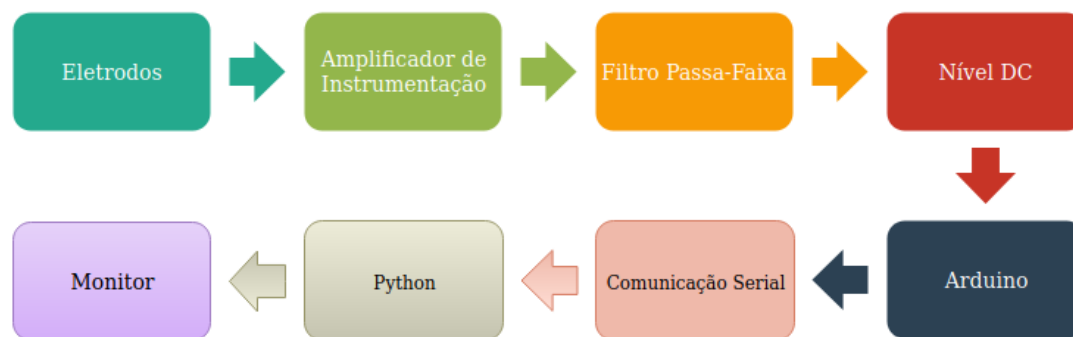


Figura 7: Diagrama de Blocos do Sistema

3.1 Amplificação do sinal

A etapa inicial é composta pela amplificação do sinal obtido pelos sensores de ECG. Como a amplitude do sinal fica entre 1 e 3 milivolts, o ganho total do circuito de aquisição deve ficar em torno de mil vezes para que o sinal varie entre 0 a 5 Volts, que é a amplitude de trabalho do micro controlador utilizado.

A fim de garantir a primeira etapa de ganho, escolheu-se um circuito integrado chamado INA128p, que é um amplificador de instrumentação com o ganho determinado pela Equação 2. Neste projeto, o resistor R_G escolhido tem o valor de 68Ω . Isto fornece na primeira etapa um ganho de 865 vezes.

$$G = 1 + \frac{50k\Omega}{R_G}, \quad (2)$$

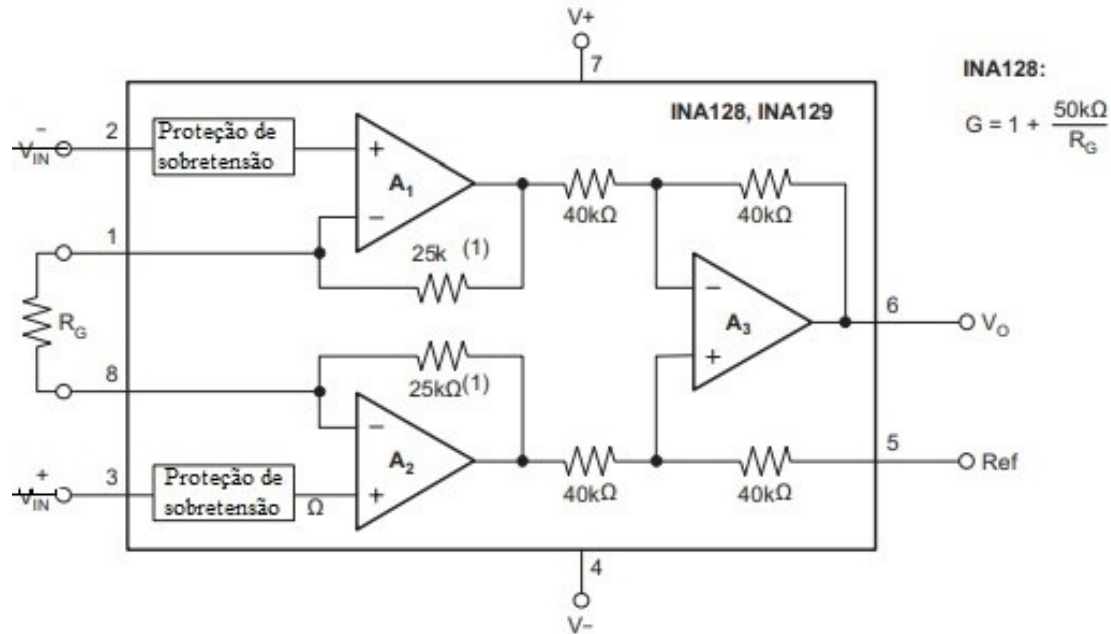


Figura 8: INA128p com seguidor de tensão (Instruments, 2013)

Optou-se por este circuito integrado, pois trata-se de um componente de alto desempenho. Outra opção seria utilizar três amplificadores operacionais para montar o amplificador de instrumentação. Entretanto, como o INA128p é um circuito compactado, com baixo consumo de corrente, alta rejeição de modo comum (rejeição a interferências comuns as duas entradas), conforme dados do fabricante, escolheu-se este componente já que o sinal de ECG é um sinal muito sensível a qualquer interferência. (Instruments, 2013)

3.2 Filtragem analógica

Apesar de o amplificador de instrumentação ser o resultado da subtração dos sinais de entrada e assim, eliminar o ruído comum aos dois sinais, precisa-se utilizar um filtro para eliminar os ruídos indesejados. Portanto, optou-se por uma configuração passa-faixa de Sallen-Key. Utilizou-se esta topologia, pois permite o cálculo dos componentes de forma simplificada, é menos sensível às variações dos valores de componente e a resposta em frequência é mais dependente do circuito integrado escolhido. Como neste projeto foi utilizado o amplificador OPA4134, um amplificador de áudio de alta qualidade, garantimos um bom funcionamento desta topologia. (Adel S. Sedra, 2014) A equação 3 mostra a função de transferência de cada estágio do filtro passa-faixa com fator de qualidade unitário.

$$T(s) = 1,22 \frac{\omega_0 s}{s^2 + \omega_0 s + \omega_0^2}, \quad (3)$$

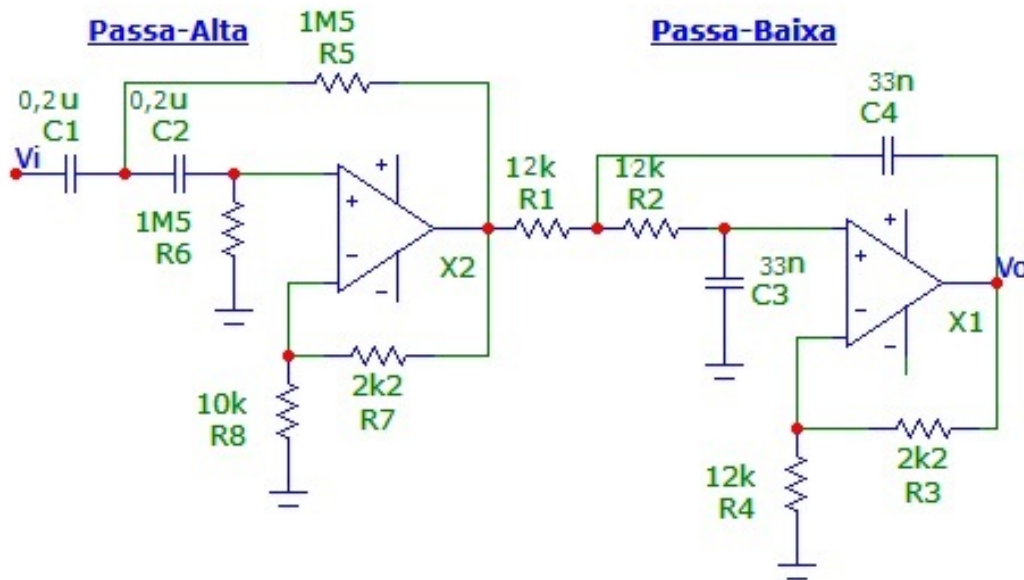


Figura 9: Filtro passa-faixa ativo

A figura 9 mostra como foi montado o filtro passa-faixa. Primeiramente, o sinal que sai do INA128 passa pelo amplificador configurado para permitir a passagem de sinais de alta frequência. Objetiva-se com isso, eliminar o nível CC do sinal. A frequência selecionada para este filtro é de 0,5 Hz, o que é suficiente para deixar o *offset* do sinal zerado. Entretanto, na última etapa do circuito é adicionado um nível CC que será explicado na próxima subseção. A frequência de corte do filtro pode ser obtida utilizando-se dois resistores de 1,5 M Ω e dois capacitores de 200 nF. A equação 4 demonstra como foi calculada a frequência de corte.

$$F_c = \frac{1}{2\pi RC}, \quad (4)$$

Posteriormente, o sinal passa pelo segundo estágio do filtro passa-faixa, onde é permitida a passagem apenas de sinais com frequência abaixo da frequência de corte desejada. Para isso, utiliza-se a equação 4 para obter-se o valor dos capacitores e resistores necessários. Sendo assim, determina-se que os resistores devem ser de 12 k Ω , enquanto que os capacitores devem ser de 33 nF para obter-se uma frequência de corte de 400 Hz. Nesta etapa, o ganho de cada estágio do filtro ficou em 1,22 unidades. Com isso, o ganho total do circuito fica em aproximadamente 1095.

Na Figura 10a mostra-se o sinal obtido na saída do INA128p, antes de passar pelo filtro passa-

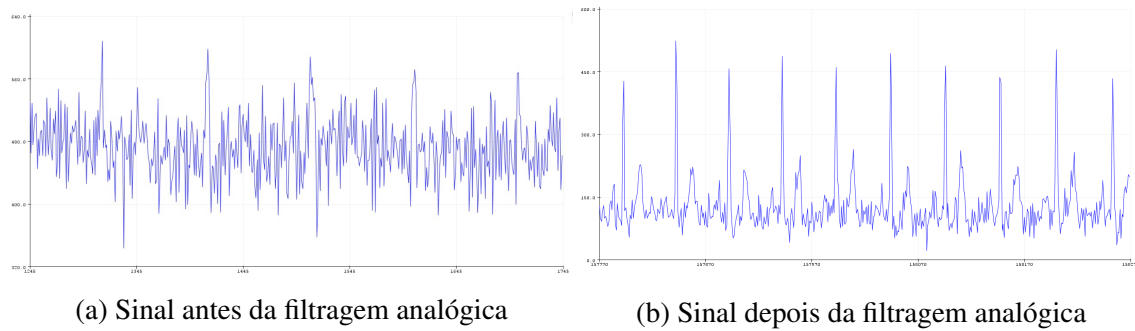


Figura 10: Sinais mostrados em bits por amostras

faixa. Já na Figura 10b verifica-se o sinal após passar pelos dois estágios do filtro passa-faixa e com o nível CC adicionado para visualização na tela do *plotter serial* do ARDUINO.

3.3 Aquisição do sinal

O sinal de ECG, vindo da combinação dos circuitos anteriores, foi amostrado utilizando-se o micro controlador ARDUINO. Inserindo-se o sinal em uma das entradas analógicas do equipamento, pode-se fazer a aquisição do sinal com a taxa de amostragem desejada de 2 kHz. O código de funcionamento está no apêndice deste trabalho. Basicamente, escolhe-se a frequência de amostragem desejada e através de um cálculo utilizando o número de *bits* do *timer* do micro controlador, consegue-se ajustar o intervalo de tempo onde uma interrupção será acionada para fazer a amostragem. A equação 5 mostra como é calculado o registro de comparação que é utilizado pelo ARDUINO ao acionar a interrupção. O sinal de *clock* máximo do processador é dividido por oito vezes a frequência desejada. Este valor é diminuído de uma unidade, pois os bits do registrador variam de 0 a 65535 bits.(Corporation, 2010)

$$Registro = \frac{16MHz}{8 * fs} - 1, \quad (5)$$

A função selecionada na rotina de interrupção realiza apenas uma instrução, a de imprimir uma amostra do sinal naquele momento. Como o intervalo de tempo nominal entre uma amostra e outra é muito pequeno (500 us), precisa-se executar nesta interrupção o mínimo de instruções possível, porque pode ocorrer que enquanto a função selecionada estiver sendo executada, uma nova interrupção seja acionada. Isto faria com que houvesse uma perda da amostra, causando uma distorção no sinal. Com o intuito de verificar se a amostra está sendo medida corretamente, usa-se a função *micros()*, que imprime na porta serial a cada interrupção o tempo decorrido, em micro segundos desde o início do código executado. Diminuindo-se o tempo atual pelo anterior, tem-se o tempo real entre amostras de 504 us. Este período de amostragem fornece uma frequência de amostragem de 1984 Hz. Conforme a documentação do ARDUINO, a função *analogRead()* tem

um tempo de execução 100 micro segundos, sobrando tempo suficiente para gerar as interrupções, sem perdas de amostras. (ARDUINO, 2019) A Figura 11 mostra o fluxograma de funcionamento da rotina de interrupção do código do ARDUINO. Nota-se que há um laço de verificação do comparador até que atinja o valor ajustado para zerar o contador. Neste momento, é quando ocorre a amostragem do sinal.

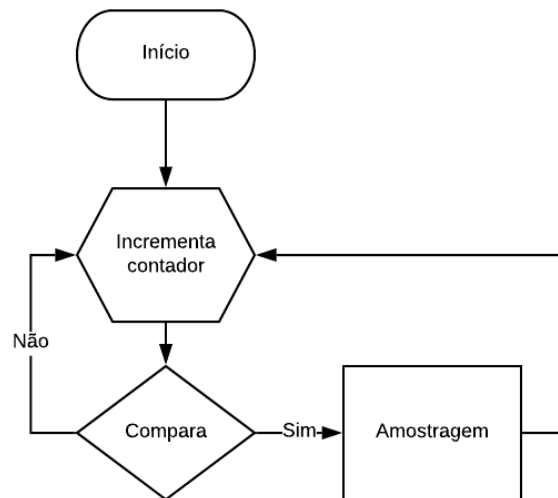


Figura 11: Fluxograma de interrupção

A fim de melhorar a visualização do sinal, optou-se por adicionar ao circuito um ajuste de nível CC antes de transmitir o sinal para o ARDUINO. Após passar pelo filtro passa-faixa, o sinal é inserido em um circuito com amplificador operacional na configuração não-inversora de ganho unitário. Além disso, a tensão de um potenciômetro de 3,3 k Ω é somado ao sinal de entrada do amplificador. Como a tensão no micro controlador varia de 0 a 5 volts, com o auxílio do potenciômetro, pode-se ajustar nível do sinal nesta faixa de tensão. Isto é necessário, pois as ondas Q e S do ECG são negativas e não seriam visualizadas.

3.4 Sistema de visualização de dados

A visualização dos dados obtidos é realizada através de uma interface criada na linguagem PYTHON. Esta linguagem é bastante conhecida pela vasta contribuição de seus usuários através da confecção de bibliotecas para uso comum de sua comunidade. Isto só é possível por tratar-se de uma ferramenta gratuita que incentiva o desenvolvimento de sistemas.

Uma das bibliotecas utilizadas na confecção deste supervisor é a *PygraphQt* que é utilizada para traçar o gráfico com os pontos adquiridos pelo micro controlador. O sistema de supervisor funciona, basicamente, utilizando a interrupção causada pelo envio de um dado através da porta

serial do computador. Cada vez que um dado é enviado, uma função é acionada executando código necessário para fazer a aquisição e realizar o traçado do gráfico. Para que tudo isso ocorra em tempo real, a atualização do gráfico gerado ocorre com um pequeno atraso com relação a aquisição realizada pelo ARDUINO.

Além da função a ser executada na interrupção do sistema, existe uma outra função chamada dentro da primeira que é utilizada para salvar as amostras recebidas via porta serial. Os dados são guardados em um arquivo texto, cujo cabeçalho e nome do arquivo indicam qual foi a frequência de amostragem selecionada.

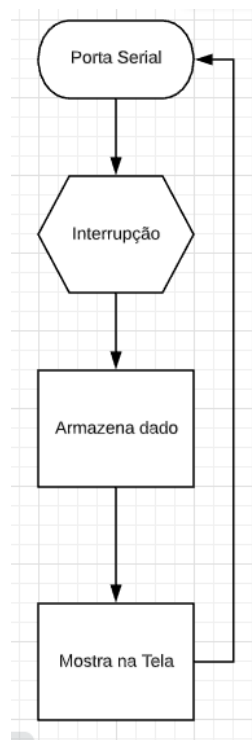


Figura 12: Fluxograma do sistema em PYTHON

Na Figura 12, verifica-se o fluxograma de funcionamento do código desenvolvido em PYTHON, como foi explicado, anteriormente.

Para ajustar a amplitude do sinal mostrada na confecção do gráfico, precisa-se ajustar o ganho do sinal de acordo com ganho dado ao sinal pelo circuito de condicionamento, que é de 1095. Para isso, basta dividir o valor final da amostra por este valor. Sendo assim, a escala do valor do sinal ficaria em milivolts.

3.5 Ajustes funcionais

Um dos principais ajustes, foi a colocação de um capacitor de 100 μF na alimentação de cada Amplificador operacional. Isto fez com que a tensão que alimenta os amplificadores operacionais ficasse menos oscilante. Anteriormente, como a amplitude de oscilação da tensão de alimentação do circuito era muito maior que amplitude do sinal de ECG, perdia-se o sinal em meio a esta oscilação, impossibilitando a aquisição do sinal. Este tipo de capacitor utilizado em paralelo com a alimentação de circuito é chamado de capacitor de desacoplamento. (Martó, 2016) Escolheu-se uma bateria de 9 volts, como forma de alimentação para o circuito. Além disso, para ter uma tensão de 5 volts na entrada do circuito, utilizou-se um regulador de tensão, conhecido como LM7805. Afim de conseguir a mesma tensão negativa, usou-se um componente que fornecia a tensão inversa, chamado 7660. A Figura 13 mostra como é o diagrama de ligação dos componentes obtido no *datasheet*.

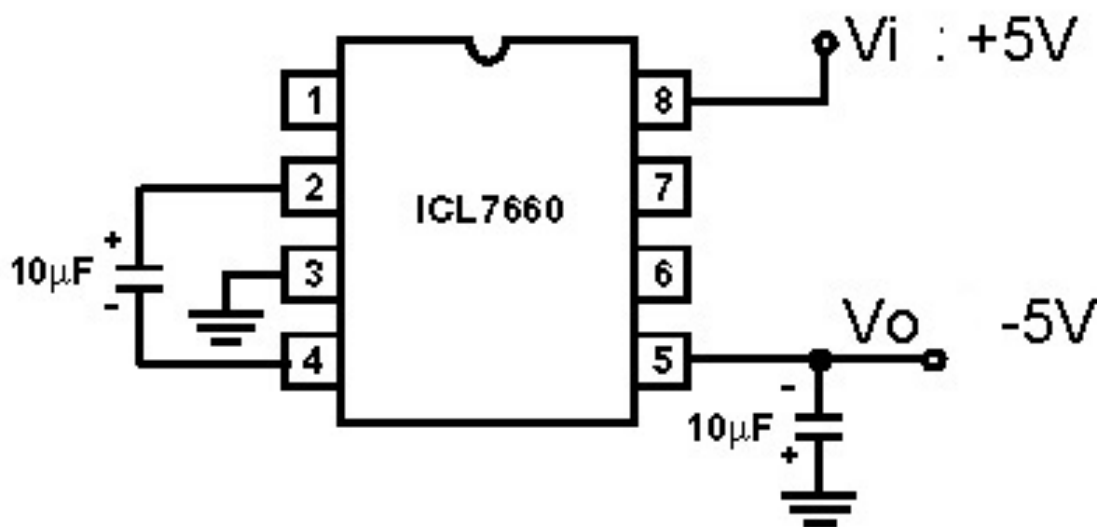


Figura 13: Circuito de Alimentação Negativa (Corporation, 2019)

4 Resultados

As cobaias utilizadas nos testes de ECG foram emprestadas pelo laboratório de fisiologia translacional da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, conforme os termos éticos de pesquisa, que estuda a variabilidade da frequência cardíaca.

O circuito montado foi testado na cobaia de laboratório para verificar o seu funcionamento. O rato foi tricotomizado nas posições recomendadas e os eletrodos foram fixados no mesmo. No momento da realização do experimento, a cobaia estava sedada. Portanto, não sentia nenhum tipo de dor ou desconforto.

Após fixar os cabos nos eletrodos, é preciso ligar o circuito na alimentação e o cabo USB conectado ao computador para transmissão dos dados ser feita através da porta serial.

As amostras foram coletadas pelo micro controlador ARDUINO UNO e transmitidas para o sistema de visualização confeccionado em linguagem PYTHON. Este software foi desenvolvido apenas para traçar os dados coletados em um gráfico mostrado em tempo real. Além disso, o sistema de visualização guarda os pontos da amostra em um arquivo texto, nomeado com a frequência de amostra e um número aleatório para não ser sobre escrito.

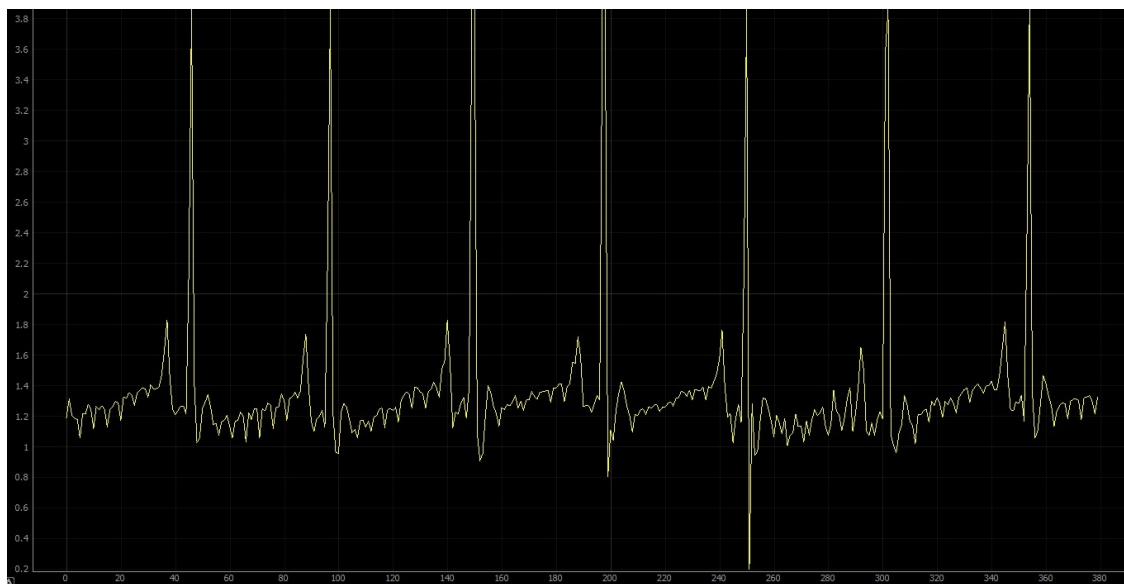


Figura 14: Resultado ECG cobaia em Volts por amostras

A Figura 14 mostra os resultados obtidos no primeiro teste realizado em uma cobaia pequena. Nota-se que o formato da onda é bem similar ao que a literatura demonstra como sinal de ECG. (de Lima Malagueta Vieira, 2015) Nele, pode-se verificar os formatos de onda citados na Figura 4.

4.1 Comparação com Equipamento Comercial

Por questões de validação do sistema, realizou-se um teste simultâneo do sistema de aquisição com o equipamento comercial. Além de verificar a eficiência no aumento da taxa de amostragem, deseja-se verificar a semelhança entre os formatos de onda obtidos nos equipamentos.

4.1.1 Eletrocardiógrafo Comercial

Atualmente, a medição do ECG é feita com um aparelho de aquisição comercial. Este equipamento é utilizado para realizar medições em humanos. Entretanto, a taxa de amostragem é de 600 amostras por segundo, o que é insuficiente para medição do exame em um rato de laboratório, que possui, em média, uma FC três vezes maior que a do ser humano.

Na Figura 16 verifica-se o sinal captado pelo equipamento comercial ao realizar o exame na cobaia. Nota-se que o formato de onda é diferenciado, pois a referência utilizada no exame não é a mesma utilizada no sistema desenvolvido neste trabalho. No caso do sistema comercial, o aterramento do sinal foi colocado na perna esquerda, enquanto que no sistema desenvolvido o eletrodo de terra foi ligado à perna direita, como está indicado na literatura.(Figuinha, 2013) Apesar disso, pode-se visualizar um formato de onda similar ao obtido pelo sistema em questão.



Figura 15: Realização do Teste Simultâneo

4.1.2 Teste Realizado

Realizou-se a aquisição do ECG, simultaneamente, com os dois sistemas de aquisição, o comercial e o desenvolvido neste trabalho. A Figura 15 mostra como foram dispostos os sistemas para realização do exame. O cabo utilizado pelo sistema de aquisição foi levemente aberto para fixação dos cabos do equipamento comercial. Sendo assim, os dois sistemas puderam adquirir o sinal do ECG do rato ao mesmo tempo.

4.1.3 Análise dos Sinais

Os dados obtidos no exame seriam guardados em um arquivo texto para posterior análise. Entretanto, houve um problema no laço de salvamento do arquivo de texto. Devido a isso, alguns dados não foram salvos durante a realização do teste no rato. Mesmo assim, realizou-se uma análise no programa MATLAB para verificar a caracterização dos sinais, o que possibilitou a identificação do erro no código de arquivamento. Na Figura 16 verifica-se os sinais traçados. Nota-se que o sinal do aparelho comercial fica mal caracterizado devido à baixa taxa de amostragem do equipamento. Sendo assim, não consegue-se fazer uma boa avaliação da VFC.

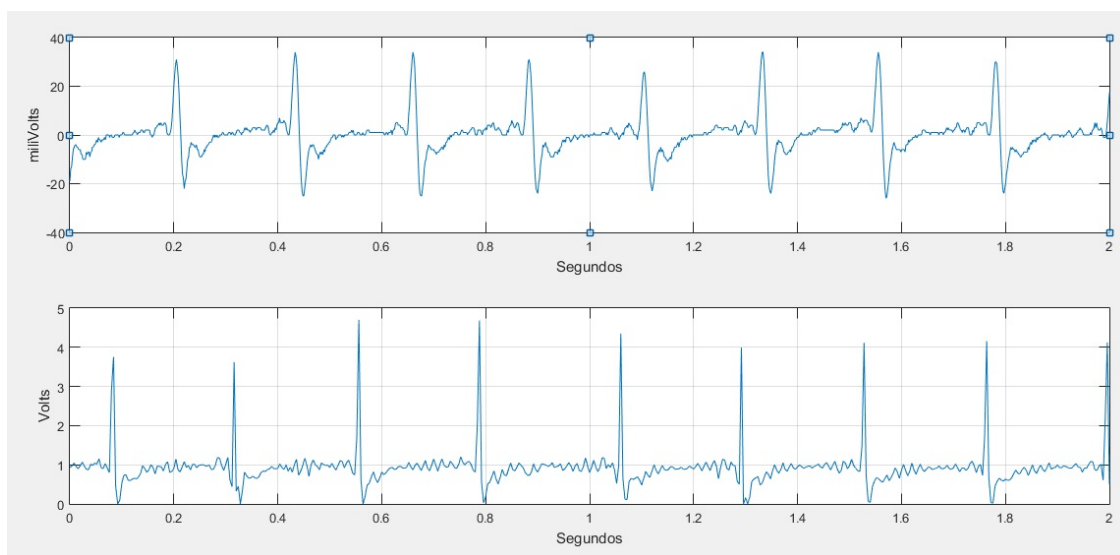


Figura 16: Comparação dos Sinais no MATLAB

Verifica-se que nos picos R, o formato da onda obtido por este sistema de aquisição é bem mais aguda que na onda obtida pelo equipamento comercial. Este fato caracteriza bem o objetivo deste trabalho em melhorar a aquisição do ECG, facilitando a avaliação da VFC. Nota-se na Figura 16, que apesar das tensões dos sinais serem diferentes, devido ao ganho desconhecido dado no aparelho comercial, o sinal do equipamento comercial possui picos arredondados, o que indica uma perda de informações da onda R. Já no sistema desenvolvido, tem-se picos bem caracterizados com a ponta bem aguda, o que é importante para avaliação da VFC.

4.1.4 Medição com Cobaia Canulada

Um dos maiores objetivos deste projeto é evitar que o rato seja canulado para medição da pulsação, e por consequência venha a óbito. Por isso, realizou-se um teste simultâneo de aquisição do ECG, enquanto a cobaia estava canulada, como mostrou-se na Figura 1. Neste teste, os eletrodos foram mantidos nas mesmas posições do teste anterior e a cobaia estava com o sensor para medição de pulsação na sua cânula direita. A intensidade do sinal de ECG vindo da cobaia diminuiu, fazendo com que o sistema de aquisição não captasse o sinal. Sendo assim, o teste não foi bem sucedido, mas abriu um precedente para a melhoria na sensibilidade do circuito de aquisição.

Na Figura 17 verifica-se o resultado da medição da pressão arterial feita com o exame de canulação. Nota-se que as curvas do sinal são arredondadas, o que dificulta a análise da VFC, já que este é o resultado da ação do coração, enquanto deseja-se medir variação no comando que é dado ao órgão. Além disso, o dado fornecido por este exame é uma FC média, que não é suficiente para avaliar a VFC. Por isso, almeja-se realizar a avaliação da VFC com um equipamento com uma taxa de amostragem de no mínimo 2 KHZ.

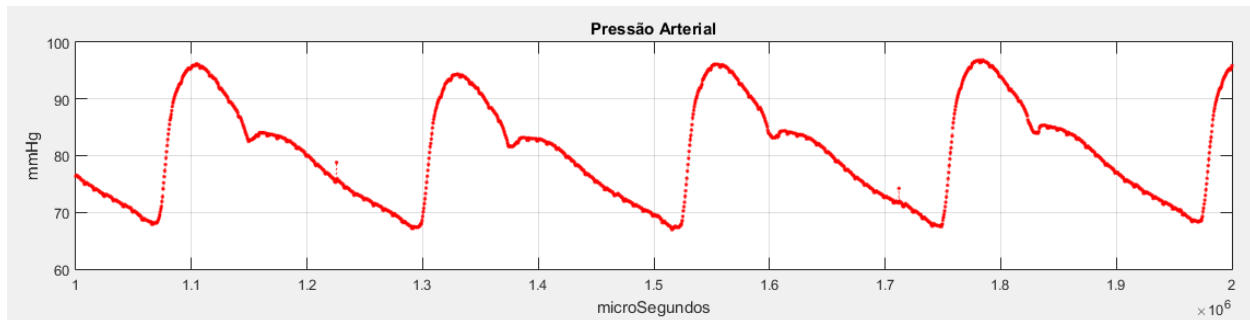


Figura 17: Resultado da canulação no MATLAB

4.2 Discussão do Resultados

Neste capítulo, relatou-se os testes realizados com o sistema deste trabalho. Primeiramente, realizou-se um teste simultâneo do equipamento comercial com este sistema desenvolvido. Neste teste, verificou-se as características dos sinais dos equipamentos. Nota-se que o sinal do equipamento comercial tem amostragem insuficiente, pois o formato da onda R é arredondada, o que não dá certeza se os picos do sinal mostram a amplitude real. A análise dos sinais no programa MATLAB demonstrou um erro no código desenvolvido em PYTHON durante o arquivamento dos dados no arquivo de texto. Isto impossibilitou a comparação efetiva dos dois sistemas, o comercial com o desenvolvido neste trabalho.

O objetivo da realização do ECG em conjunto com a medição da pressão arterial por canulação era verificar se havia alguma influência do entupimento da carótida pelo sensor da canulação na aquisição do ECG. Entretanto, o sistema não captou o sinal elétrico vindo da cobaia, devido a

baixa intensidade do mesmo. Esta seria uma oportunidade de melhoria do sistema, aumentar a sensibilidade do sinal para melhorar a captação do mesmo.

Acredita-se que uma pré amplificação do sinal poderia ser a solução para este problema. Porém, devido a características divergentes nos componentes como resistores, não seria garantido um ganho igual para os dois eletrodos de entrada, fazendo com que o ruído comum aos dois cabos se amplificasse de forma diferente, não sendo eliminado no amplificador de instrumentação, totalmente. Outra questão a ser avaliada, seriam os mal contatos da solda na placa perfurada, o que seria resolvido passando a utilizar-se uma placa de circuito impresso.

Por fim, notou-se um fato interessante no momento dos testes realizados com a cobaia, o regulador de tensão utilizado para alimentar o circuito estava aquecendo. Contornou-se esta intempérie, utilizando-se um dissipador de calor acoplado com pasta térmica ao componente.

5 Conclusão

Este trabalho atingiu muitos dos seus objetivos iniciais, como por exemplo, uma melhor caracterização das ondas significativas em um ECG. Além disso, demonstrou-se que é possível utilizar o mesmo sensor usado na aquisição de ECG para humanos, em ratos. A estabilização da tensão de entrada tornou-se fundamental para o funcionamento do circuito. Sem isso, o sinal não era amplificado, pois a variação da tensão nos amplificadores "consumia" o sinal, já que sua amplitude é baixa. A taxa de amostragem foi garantida pela rotina de amostragem de tempo do micro controlador. Outro ponto importante é a análise dos dados adquiridos nos dois sistemas, comercial e desenvolvido, para validação deste projeto, o que foi possível, parcialmente, pois houve um erro no código de arquivamento do sistema de visualização do sinal adquirido.

Enfim, o objetivo do exame de canulação foi obter a FC do rato de laboratório. Uma aquisição de sinal de ECG foi feita em conjunto com a canulação para verificar se havia influência na aquisição do ECG. Entretanto, durante o teste realizado com a cânula não foi possível amostrar o ECG devido a baixa sensibilidade do sistema.

6 Referências

adaptado de Wayman, C., D. D. A. R. L. A. H. B. T. S. Y. K. G. B. J. S. C. D. M. L., 2016. Performing permanent distal middle cerebral with common carotid artery occlusion in aged rats to study cortical ischemia with sustained disability.

URL <https://www.jove.com/pdf/53106/jove-protocol-53106-performing-permanent-distal-middle-cerebral-with-common-carotid?language=Portuguese>

Adel S. Sedra, K. C. S., 2014. Microeletronics circuits.

ARDUINO, 2019. Referências da linguagem ARDUINO.

URL <https://www.arduino.cc/reference/pt/language/functions>

ASCARI, T. M., 2016. Princípios básicos do eletrocardiograma.

URL <https://docplayer.com.br/10612569-Principios-basicos-do-eletrocardiograma.html>

Batalha, E., 2017. Uso de animais em pesquisa abrange desafios éticos e compromisso com novas tecnologias.

URL <https://portal.fiocruz.br/noticia/uso-de-animais-em-pesquisa-abrange-desafios-eticos-e-compromisso-com-novas-tecnologias>

Corporation, A., 2010. DataSheet do componente.

URL <https://www.alldatasheet.com/datasheet-pdf/pdf/422610/ATMEL/ATMEGA328P.html>

Corporation, I., 2019. Datasheet icl7660.

URL <https://html.alldatasheet.com/html-pdf/541063/INTERSIL/ICL7660/2724/7/ICL7660.html>

da Silva, L. P., 1999. Estudo da frequência cardíaca e pressão arterial de repouso e após bloqueio farmacológico do sistema nervoso autônomo em ratos jovens e velhos.

URL http://repositorio.unicamp.br/jspui/bitstream/REPOSIP/314424/1/Silva_LilianPintoda_M.pdf

de Lima Malagueta Vieira, L. L., 2015. Estudo dos efeitos da metformina na eletrogênese cardíaca.

URL <https://docplayer.com.br/110635622-Eletrogenese-cardiaca.html>

de Oliveira, N. L., 2010. Canulação de vasos sanguíneos para registro de pressão arterial e frequência cardíaca em ratos não anestesiados.

URL <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/149414/000851609.pdf?sequence=1>

de Souza, P. V. E., 2015. Sistema de aquisição de sinais de emg e ecg para plataforma android.

URL https://www.ufpe.br/documents/39830/1359036/259_PedroSouza/9fd3d859-f844-48cd-99c2-0d5f22b121d6

EKG, M., 2019. Derivações do eletrocardiograma.

URL <https://pt.my-ekg.com/generalidades-ecg/derivacoes-ecg.html>

Figuinha, F., 2013. Você sabe colocar os eletrodos do ecg de forma correta? tem certeza?

URL <https://cardiopapers.com.br/curso-basico-de-eletrocardiograma-parte-04/>

Instruments, T., 2013. Precision, Low Power INSTRUMENTATION AMPLIFIERS.

URL <http://pdf1.alldatasheet.com/datasheet-pdf/view/545749/TI1/INA128P.html>

Lopes, P. F. F., 2013. Aplicabilidade clínica da variabilidade da frequência cardíaca.

URL <http://revistaneurociencias.com.br/edicoes/2013/RN2104/revisao/870revisao.pdf>

Marto, J., 2016. Capacitor de desacoplamento.

URL <https://www.embarcados.com.br/capacitores-de-desacoplamento>

Medina, 2007. Parâmetros fisiológicos rato.

URL <https://www.ufcspa.edu.br/index.php/animais-e-cuidados>

Moreira, T., 2016. Projeto de circuito para eletrocardiógrafo.

URL <https://www.embarcados.com.br/projeto-eletrocardiografo/>

Neto, Augusto G A, R. R. C. D. J. B. D. H. T. M. L. K. J. P. D. A. P. e. E. S. R., 2017. Equipamentos de ecg (eletrocardiograma) para cobaias pequenas.

Roberto, J. V. B., 2018. Determinação do perfil eletrocardiográfico em ratos, utilizando técnica não invasiva, provenientes do biotério das faculdades nova esperança-pb.

URL <http://www.facene.com.br/wp-content/uploads/2018/05/7.-DETERMINA%C3%87%C3%83O-DO-PERFIL-ELETROCARDIOGR%C3%81FICO-EM-RATOS-UTILIZANDO-T%C3%89CNICA-N%C3%83O-INVASIVA-PROVENIENTES-DO-BIOT%C3%89RIO-DAS-FACULDADES-NOVA-ESPERAN%C3%87A-PB.pdf>

Rosa, A. B. L., 2016. Proposta de um sistema para condicionamento de sinais de eletrooculograma.

Shea, M. J., 2016. Eletrocardiografia.

URL <https://www.msmanuals.com/pt/profissional/dist%C3%BArbios-cardiovasculares/exames-e-procedimentos-cardiovasculares/eletrocardiografia>

Vanderlei, L. C. M., 2009. Noções básicas de variabilidade da frequência cardíaca e sua aplicabilidade clínica.

URL http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-76382009000200018

A Código Arduino

```
#include<avr/interrupt.h>

int y;
int freq;
int fs;

void setup() {
  // Inicializa a porta serial:
  Serial.begin(115200);
  pinMode(A0, INPUT);
  delay(1500);

  fs = 2000;
  freq = (16000000/(8*fs))-1;

  cli(); //desabilita interrupcao para executar setup
  TCCR1A = 0;// zera registrador A
  TCCR1B = 0;// zera registrador B
  TCNT1 = 0;//zera contador 1
  OCR1A = freq; //define o tempo de interrupcao do timer sendo no maximo 65536
  //registro de comparacao = [ 16,000,000Hz/ (8 * frequência de interrupcao desejada)
  TCCR1B |= (1 << WGM12); //ativa registrador
  TCCR1B |= (0 << CS12) | (1 << CS11) | (0 << CS10); // ativa comparacao do timer de
  TIMSK1 |= (1 << OCIE1A); //ativa interrupcao do timer
  TCCR2B = TCCR2B & B11111000 | B00000001;

  sei(); //ativa interrupcoes
}

void loop() {

}

ISR(TIMER1_COMPA_vect){ //funcao ativada quando ocorre a interrupcao
  cli();
  Serial.println(analogRead(A0));
  sei();
}
```


B Código Python

```
from scipy import signal
from pyqtgraph.Qt import QtGui, QtCore
import numpy as np
import pyqtgraph as pg
from pyqtgraphptime import time
from random import randint
import serial
import time
import winsound
import csv

b=winsound.Beep
texto = []
data = [0]
cont = 0
bat= 0
contbat = 0
prima = 0
media = 0
salva = "N"
fs=500

def verifica_portas():
    portas_ativas = []
    for numero in range(10):
        try:
            objeto_verifica = serial.Serial("COM"+str(numero))
            portas_ativas.append((numero, objeto_verifica.portstr))
            objeto_verifica.close()
        except serial.SerialException:
            pass
    return portas_ativas

print("Numero da porta | Nome da Porta")
for numero,portas_ativas in verifica_portas():
    print("      %d      |      %s" % (numero,portas_ativas))
```

```

porta=int(input("Digite o número da porta:"))
time.sleep(2)
while fs <1000 or fs >4000:
    fs = int(input("Digite a frequencia de 1000 a 4000 hz:"))
    time.sleep(2)
raw = serial.Serial("COM"+str(porta), 115200)

print("Frequencia selecionada: "+str(fs))
nome_do_arquivo = str(randint(1000,9999)) +str(randint(1000,9999))
fname = "ECG_"+nome_do_arquivo+"_fs"+str(fs)+".txt"
#raw = serial.Serial(portas_ativas, 115200)
#raw = serial.Serial("COM7", 115200)
raw.close()
raw.open()
raw.write(fs)
print("Aguarde o início do gráfico...")

app = QtGui.QApplication([])

p = pg.plot()
p.setWindowTitle('ECG para Cobaias Pequenas')
curve = p.plot(pen=(255,255,0), name="Amarelo curva Y")

def arquivo(dado):
    arquivo = open(fname, 'w')
    arquivo.writelines("Frequencia de amostragem: "+str(fs)+"\n")
    arquivo.writelines(str(dado))
    arquivo.close()

def update():
    global curve,curve2, data, cont,bat,contbat,prima,fs,media
    line = raw.readline()
    if int(line):
        data.append(int(line))
        arquivo(texto)
    xdata = np.array(data)
    texto.append(5*int(line)/1023)
    p.showGrid(x = True, y = True, alpha = 0.3)
    app.processEvents()

```

```
arquivo(texto)
if int(line) > int(2*round(media,0)):
    prima=int(line)
    #print(int(line))
if prima > int(line):
    prima = 0
    bat = bat+1
    b(1000,100)
if contbat >= 60*fs:
    print(bat)
    bat = 0
    contbat = 0
if len(data) != 0:
    media = sum(data)/len(data)
    data.pop(0)
    #if prima > fs/4:
    curve.setData((5*xdata/1023)/340)
    #prima = 0
    #prima = prima+1

timer = QtCore.QTimer()
timer.timeout.connect(update)
timer.start(0)

if __name__ == '__main__':
    import sys
    if (sys.flags.interactive != 1) or not hasattr(QtCore, 'PYQT_VERSION'):
        QtGui.QApplication.instance().exec_()
```


C Circuito Total

