



Pontifícia Universidade Católica do Paraná

LUIZ RODRIGO GROCHOCKI

**PROPOSTA DE OTIMIZAÇÃO DE UM SISTEMA DE
LESÃO MEDULAR EXPERIMENTAL**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
TECNOLOGIA EM SAÚDE
PUCPR**

**CURITIBA
2006**

PUCPR

LUIZ RODRIGO GROCHOCKI

**PROPOSTA DE OTIMIZAÇÃO DE UM SISTEMA DE LESÃO
MEDULAR EXPERIMENTAL**

CURITIBA

2006

LUIZ RODRIGO GROCHOCKI

**PROPOSTA DE OTIMIZAÇÃO DE UM SISTEMA DE LESÃO
MEDULAR EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Percy Nohama

Co-Orientador: Luiz Roberto Gomes Vialle

CURITIBA

2006

G873p
2006

Grochocki, Luiz Rodrigo
Proposta de otimização de um sistema de lesão medular experimental / Luiz Rodrigo Grochocki ; orientador, Percy Nohama ; co-orientador, Luiz Roberto Gomes Vialle. – 2006.
xi, 119 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (mestrado) - Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2006
Inclui bibliografia

1. Medula espinhal - Ferimentos e lesões - Diagnóstico. 2. Paraplegia.
3. Medicina - Processamento de dados. I. Nohama, Percy. II. Vialle, Luiz Roberto Gomes. III. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde. III. Título.

CDD 20. ed. 617.482075
617.837
610.285



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Tecnologia em Saúde

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA EM SAÚDE
DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ

DEFESA DE DISSERTAÇÃO Nº 026

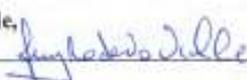
Aos 24 dias do mês de maio de 2006 realizou-se a sessão pública de defesa da dissertação “Proposta de Otimização de um Sistema de Lesão Medular Experimental”, apresentada por **Luiz Rodrigo Grochocki** como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia em Saúde, – Área de Concentração – Bioengenharia, perante uma Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Dr. Percy Nohama,
PUCPR (Presidente)


assinatura

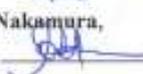
Aprovado
paracet (aprov/ reprov.)

Prof. Dr. Luiz Roberto Gomes Vialle,
(PUCPR)



Aprovado

Prof. Drª Eunice Kimie Kyosen Nakamura,
(UNIANDRADE)



Aprovado

Conforme as normas regimentais do PPGTS e da PUCPR, o trabalho apresentado foi considerado APROVADO (aprovado/reprovado), segundo avaliação da maioria dos membros desta Banca Examinadora. Este resultado está condicionado ao cumprimento integral das solicitações da Banca Examinadora registradas no Livro de Defesas do Programa. Deve cumprir em 90 dias todas as adequações solicitadas pela Banca Examinadora na arguição e nos volumes da Dissertação.


Prof. Dr. João da Silva Dias
Diretor do PPGTS PUCPR



“ Quando o homem alcança o processo de educação, espiritualiza a vida, liberta-se do tempo, entra triunfante na eternidade.”

Leocádio J. Correia

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Percy Nohama, por ser um grande pesquisador e pelo estímulo à pesquisa e desenvolvimento de soluções na área de reabilitação que ajudam a tantas pessoas.

Ao Dr. Emiliano Neves Vialle, pela colaboração nas atividades de laboratório.

Ao Prof. Dr. Luiz Roberto Gomes Vialle, por possibilitar a realização desta pesquisa.

Ao Prof. Dr. Marcos Vinicius Ferrari pelos ensinamentos de medicina veterinária.

Aos meus amigos Anderson Salgado Migliosi e Tiago Brito, pela colaboração no desenvolvimento deste sistema.

Ao meu amigo Rodrigo Barbosa e Silva, pela colaboração no desenvolvimento do software.

Ao meu amigo Nilson Berno Jr, pela ajuda no desenho e confecção das peças.

Dedico este trabalho a minha família. Em especial ao meu pai por ser um médico de verdade, que honra os princípios da medicina.

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	x
TABELAS.....	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Objetivos.....	02
1.2 Estrutura da dissertação.....	03
2 REVISÃO DA LITERATURA	05
2.1 Lesão medular: Anatomia e fisiologia.....	05
2.2 Lesão medular traumática e não traumática.....	09
2.3 Lesão medular completa e incompleta.....	10
2.4 Paraplegia e tetraplegia.....	11
2.5 Lesão Medular Experimental.....	11
2.5.1 Histórico da Lesão Medular Experimental.....	12
2.5.2 Lesão medular aberta e fechada.....	17
2.5.3 Transecção completa e transecção parcial.....	18
2.5.4 Lesão por contusão e por compressão.....	19
2.6 Dispositivos estáticos e dinâmicos.....	20
2.6.1 Compressão por grampo.....	21
2.6.2 New York University Impactor.....	21
2.6.3 Ohio State University Impactor.....	22
2.6.4 Dispositivo Pneumático.....	23
2.7 Animal.....	24
2.7.1 Manuseio do animal.....	25
2.8 Técnicas de verificação da lesão.....	26
2.8.1 Anotações comportamentais para pontuação do método BBB.....	27
2.8.2 Preparo de lâminas.....	27

2.9 Sensores de deslocamento.....	29
2.9.1 <i>Encoder</i> ópticos ou codificadores ópticos.....	29
2.9.2 <i>Encoder</i> magnético.....	31
2.10 Aquisição de dados.....	31
2.10.1 Condicionamento de sinais.....	31
2.10.2 Conversores analógico-digital.....	32
2.11 Controle e automação.....	33
2.12 Processamento de imagem.....	34
2.12.1 Matlab.....	35
3 MATERIAIS E MÉTODOS	39
3.1 VISÃO GERAL	39
3.2 MÓDULO DE CONTUSÃO	40
3.2.1 Hardware do modulo de contusão.....	40
3.2.1.1 Mecanismo de Contusão.....	42
3.2.1.2 Placa de aquisição.....	46
3.2.1.3 Computador.....	47
3.2.2 Software do módulo de contusão.....	48
3.3 PROTÓTIPO DO MECANISMO DE CONTUSÃO.....	52
3.4 MÓDULO DE ANÁLISE HISTOLÓGICA.....	53
3.4.1 Hardware do módulo de análise histológica.....	54
3.4.1.1 Microscópio.....	54
3.4.1.2 Placa de aquisição.....	56
3.4.1.3 Computador.....	57
3.4.2 Software do módulo de análise histológica.....	57
3.5 AVALIAÇÃO DO SISTEMA.....	57
3.5.1 Método de avaliação eletro-mecânico do módulo de contusão.....	58
3.5.2 Método de avaliação por meio de protocolo “in vivo”.....	61
3.5.3 Teste do módulo de análise histológica.....	62
4 RESULTADOS.....	63
4.1 Resultados da avaliação eletro-mecânico do módulo de contusão.....	63

4.2 Avaliação do comprometimento motor.....	66
4.3 Módulo de análise histológica.....	66
5 DISCUSSÃO.....	69
5.1 O que não foi feito e o que deve ser feito no futuro.....	76
6 CONCLUSÃO	79
REFERÊNCIAS	81
ANEXO 1	91
ANEXO 2	107
ANEXO 3	115
ANEXO 4	117

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Medula espinhal.....	6
Figura 2 – Rede de computadores.....	6
Figura 3 – Visão macroscópica da medula espinhal.....	7
Figura 4 – Desenho esquemático das conexões medula com órgão.....	8
Figura 5 – Lesão Medular Traumática.....	9
Figura 6 – Transecção parcial.....	18
Figura 7 – Transecção completa.....	19
Figura 8 – Artefato de compressão.....	20
Figura 9 – Artefato de contusão por queda de peso.....	20
Figura 10 – Visão global do sistema NYU.....	22
Figura 11 – Desenho esquemático do dispositivo OSU.....	23
Figura 12 – Dispositivo Pneumático.....	24
Figura 13 – Medula lesionada.....	28
Figura 14 – Áreas de corte da medula.....	29
Figura 15 – Princípio de funcionamento do <i>encoder</i> rotacional.....	30
Figura 16 – Princípio de funcionamento do <i>encoder</i> linear.....	30
Figura 17 – Diagrama básico de um sistema de controle e automação.....	33
Figura 18 – Módulo de contusão.....	39
Figura 19 – Módulo de análise histológica.....	40
Figura 20 – Diagrama de blocos do módulo de contusão.....	41
Figura 21 – Diagrama de fluxo do módulo de contusão.....	41
Figura 22 – Visão geral do mecanismo de contusão.....	42
Figura 23 – Mecanismo de contusão.....	43
Figura 24 – Mecanismo de controle de deslocamento medular.....	45
Figura 25 – Ilustração do posicionamento das hastes no animal.....	46
Figura 26 – Diagrama de blocos da placa de aquisição.....	46
Figura 27 – Diagrama de fluxo de dados.....	78
Figura 28 – Processamento do programa.....	49
Figura 29 – Tela principal do programa.....	50

Figura 30 – Tela do programa que mostra os resultados de todas as experiências armazenadas no banco de dados.....	51
Figura 31 – Protótipo sobre o impactor NYU.....	52
Figura 32 – Protótipo com elementos de automação.....	53
Figura 33 – Diagrama de fluxo do módulo de análise histológica.....	54
Figura 34 – Microscópio com câmera acoplada.....	55
Figura 35 – Placa de vídeo com entrada CATV e A/V.....	56
Figura 36 – Adaptador RCA-AV.....	56
Figura 37 – Diagrama de blocos do software de análise histológica.....	57
Figura 38 – Protótipo para teste de sensibilidade dos Encoders.....	58
Figura 39 – Auxílio do paquímetro para deslocar as hastes.....	59
Figura 40 – Teste de sensibilidade e contato com solução salina.....	60
Figura 41 – Teste do impacto com massa de modelar.....	61
Figura 42 – Tela do software para teste do módulo de contusão.....	64
Figura 43 – Arquivo texto contendo os dados das experiências.....	65
Figura 44 – Imagem digitalizada por microscópio eletrônico.....	67
Figura 45 – Imagem lâmina obtida com o módulo de análise histológica.....	67
Figura 46 – Imagem digitalizada por microscópio eletrônico.....	68
Figura 47 – Imagem lâmina obtida com o módulo de análise histológica	68
Figura A1 - Vista lateral.....	91
Figura A2 - Vista frontal.....	91
Figura A3 - Vista superior.....	92
Figura A4 – Suporte de fixação.....	92
Figura A5 – Suporte de fixação.....	93
Figura A6 – Pino do suporte de fixação.....	94
Figura A7 – Haste.....	94
Figura A8 – Pinça.....	95
Figura A9 – Suporte da base vertical eixo y.....	96
Figura A10 – Base vertical eixo y.....	97
Figura A11 – Peça que realiza o deslocamento no eixo y.....	98
Figura A12 – Base horizontal eixo x.....	99
Figura A13 – Peça interna da base horizontal eixo x.....	100

Figura A14 – Suporte do eixo z.....	101
Figura A15 – Peça interna da base horizontal eixo z.....	102
Figura A16 – Base horizontal eixo z.....	103
Figura A17 – Haste e chaveta.....	104
Figura A18 – Haste.....	105
Figura A19 – Suporte da base.....	106
Figura A20 – Planta baixa da placa de aquisição.....	107
Figura A21 – Blocos principais do circuito.....	108
Figura A22 – Circuito da fonte de alimentação.....	109
Figura A23 – Circuito de entrada dos <i>Encoders</i>	109
Figura A24 – Conectores de expansão.....	110
Figura A25 – Circuito com relê.....	111
Figura A26 – Bloco de conexão RS 232.....	112
Figura A27 – Circuito que realiza o curto-circuito.....	112
Figura A28 – Foto de circuito montado para avaliar o funcionamento.....	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Linha do tempo do estudo da Contusão Medular Traumática.....	14
Tabela 2 – Mostra os resultados das variações das hastes.....	64
Tabela 3 – Resultados do impacto em massa de modelar.....	66
Tabela A1 – Tabela de exame do comprometimento motor.....	115

RESUMO

Uma das grandes dificuldades encontradas no estudo da lesão medular traumática consiste no método científico para se obter em laboratório a lesão medular traumática padronizada. Apesar de diversos laboratórios buscarem uma solução, há carência por uma solução que seja nacional, automatizada e de fácil utilização. Por isso, o presente estudo buscou automatizar o sistema usado no Laboratório de Lesão Traumática Experimental do Hospital Cajuru – PUC-PR, trazendo uma proposta inovadora e mais eficaz. O sistema foi dividido em dois módulos: módulo de contusão e módulo de análise histológica. O módulo de contusão utiliza a técnica de contusão medular aberta, pós-laminectomia, através de queda de peso. E o módulo de análise histológica consiste em um microscópio acoplado a um computador para a realização de estudos pós impacto do dano medular. Na avaliação do sistema automatizado, foram realizados testes eletrônicos, mecânicos, experiências com 5 ratos seqüencialmente submetidos ao dispositivo de contusão, avaliação motora pelo score OSU e comparação de imagens. Como resultado das regras implementadas, foi possível verificar que todos os ratos apresentaram lesão medular completa abaixo do ponto de contusão, e que as imagens capturadas pelo módulo de análise histológica são suficientemente nítidas para o uso em estudos histológicos pós-lesão. Desta forma, concluiu-se que o sistema segue um padrão confiável de lesão, sendo sua automatização fator importante na melhoria da qualidade das experiências.

ABSTRACT

One of the great difficulties found in the study of spinal cord injury consists of the scientific method to get in laboratory standardized traumatic medular contusion. Although diverse laboratories are searching a solution, has lack for a solution that is national, automatized and of easy use. Therefore, the present study we searched to automate the Laboratory of Experimental Traumatic Injury system used at Cajuru Hospital - PUC-PR, aiming to create a newel proposal. The system was divided in two components: module of contusion and module of histological analysis. The contusion module uses the technique of direct bruise, after laminectomy, through weight fall. The module of histological analysis consists of a microscope connected to a computer for the accomplishment of studies after the impact damaging spinal cord. For evaluation of the automatized system involving electronics hardware and software parts tests had been carried through, mechanics parts and *in vivo* experimental protocol with 5 rats sequentially submitted to the device, the motor evaluation according to OSU score, and comparison of images. As result of the implemented rules was possible to verify that the all rats show completely lose of function above spinal cord contusion point and that images acquired by histological analyses module was sharp enough to be used to histological studies after lesion. Thus, system has a trustworthy standard of Injury being its automatization an important factor that increases the quality of experimental procedures.

CAPITULO 1

INTRODUÇÃO

A lesão medular traumática afeta milhões de pessoas no mundo inteiro, desde os tempos mais remotos até os dias de hoje (NADERI et. al., 2004). Este tipo de lesão traz sérios comprometimentos para a vida social do indivíduo, pois a medula está diretamente ligada aos mecanismos neuronais de controle fisiológico. Geralmente, a pessoa assolada por esta lesão sofre disfunções nos sistemas fisiológicos, e tais disfunções acarretam em uma limitação de sua participação ativa na sociedade (TORTORA, 2000).

Com o crescimento da população e da violência urbana, o aumento do número de veículos e a elevada estatística de acidentes causados no trânsito e por armas, também elevaram os números de casos de lesão medular. No Brasil, a faixa etária atingida pela lesão medular traumática varia entre 18 e 30 anos (IBGE, 2000). Apesar do Brasil não contar com dados estatísticos oficiais, pode-se ter uma idéia pelos dados da Associação de Assistência à Criança Deficiente, que apontam como as maiores causas de lesão medular no Brasil, os acidentes com armas de fogo (43,5%), os acidentes automobilísticos (30,5%), quedas de alturas (13%) e mergulhos em locais rasos (6,8%) (AACD, 2004).

Dos primórdios da civilização até pouco tempo atrás, a lesão medular era considerada uma enfermidade sem tratamento e sem cura. Porém, graças ao clamor social por uma solução, a medicina mudou e hoje busca na bioengenharia e biomedicina soluções para tão assolador mal (VIALLE, 2001).

O primeiro passo para a aplicação de novas terapias é a busca de um modelo experimental que simule o modelo humano para uma possível transposição de resultados, posteriormente (IWANAMI et. al., 2005). Uma das grandes dificuldades encontradas no estudo da lesão medular traumática consiste no método científico para se obter em laboratório a lesão medular padronizada. O refinamento do modelo experimental é o ponto crucial para o sucesso e eficácia de novas terapias. O modelo experimental deve gerar confiabilidade e reprodutibilidade às experiências. Precisa ser confiável, a ponto de permitir que o funcionamento do dispositivo não

interfira nos resultados, e reprodutível, para propiciar ao pesquisador a possibilidade de reproduzir os mesmos resultados diversas vezes (VANICKÝ et. al., 2001; BEHRMANN, 1992).

No Brasil, há carência de dispositivos para o estudo experimental de lesão medular traumática (VIALLE, 2001), o que limita a busca por novas terapias. Um país com tantos pesquisadores qualificados ainda vem empregando soluções muitas vezes precárias ou, quando possível, aplicando soluções importadas. Estas, a exemplo do dispositivo encontrado no Laboratório de Lesão Traumática Experimental do Hospital Cajuru-PR, são de difícil acesso, têm interfaces complicadas, e deixam a desejar quanto à confiabilidade.

Um novo modelo inovaria se trouxesse uma proposta que limitasse a necessidade da intervenção do pesquisador para acionar o dispositivo, alterasse o mecanismo de fixação do animal, tornasse a interface mais amigável e compreensiva, e tivesse um módulo de análise histológica integrado. Baseado nesta lacuna científica, o presente estudo, empregando uma metodologia objetiva e sistemática, buscou otimizar o modelo New York University - NYU usado no laboratório de Lesão Traumática Experimental do Hospital Cajuru-PUCPR.

Portanto, o projeto desenvolvido tem motivação na possibilidade de criar um novo horizonte às pesquisas experimentais com lesão medular, e relevância justificada na carência de uma solução automatizada com interface simplificada e compreensível. Pois, abalizado em relatos científicos, pode-se afirmar que a lesão medular é uma enfermidade de abrangência mundial, em que a descoberta de novas terapias depende de um modelo experimental antes de transpor para o humano (DABNEY et al., 2004).

1.1 OBJETIVOS

O objetivo geral desta pesquisa consiste em desenvolver um sistema de lesão medular traumática experimental para animais de pequeno porte.

Os objetivos específicos são:

- (1) criar um sistema eletrônico de controle do mecanismo de queda de peso;
- (2) desenvolver uma interface com o usuário simplificada;

(3) propor um módulo de análise histológica acoplado ao módulo de contusão.

1.2 ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

Feita a delimitação do problema e as considerações iniciais necessárias sobre a lesão medular experimental no capítulo 1, passar-se-á, no capítulo 2, a uma revisão bibliográfica onde será dada uma visão global dos estudos realizados na área de lesão medular, inclusive apresentando uma tabela cronológica do tema. Feito isto, no capítulo 3, delimitar-se-ão os materiais usados e os métodos utilizados, dando uma visão aprofundada do trabalho idealizado e executado. A partir dos materiais e métodos, no capítulo 4, são apresentados os resultados obtidos através da implementação de métodos e materiais. Feita a leitura dos resultados, o leitor é levado a acompanhar, nos capítulos 5 e 6, a discussão e as conclusões obtidas com esta pesquisa.

CAPITULO 2

REVISÃO DA LITERATURA

2.1 LESÃO MEDULAR: ANATOMIA E FISIOLOGIA

Etimologicamente, medula significa miolo e indica tudo o que está dentro. Portanto, a medula espinhal tem sua denominação baseada na origem etimológica por estar dentro do canal espinhal ou vertebral (HOUAISS, 2001).

Anatomicamente, a medula é descrita por Machado (2000) como:

“uma massa alongada, cilíndrica, de tecido nervoso situada, dentro do canal vertebral, sem ocupá-lo completamente e ligeiramente achatada ântero-posteriormente. Tem calibre não-uniforme, por possuir duas dilatações, as intumescências cervical e lombar, de onde partem maior número de nervos através dos plexos braquial e lombossacral, para inervar os membros superiores e inferiores, respectivamente.”

A medula, apesar de corresponder a apenas 2% do sistema nervoso central, inerva áreas motoras e sensitivas de todo o corpo, com exceção somente dos nervos cranianos (MACHADO, 2000).

A lesão medular ocorre devido à morte dos neurônios da medula e à interrupção de comunicação entre os axônios oriundos do cérebro e suas conexões com os neurônios da medula. Esta interrupção cessa a comunicação entre o cérebro e as partes do corpo abaixo da área lesada.

Segundo Tortora (2000), “a medula espinhal conduz impulsos nervosos ao longo dos tratos entre o encéfalo e a periferia, e serve como integrador dos reflexos espinhais.” Baseando-se neste conceito, procurou-se fazer uma analogia entre as figuras 1 e 2, ou seja, foi trazido para o mundo tecnológico o funcionamento do sistema nervoso. Com esta analogia, pode-se visualizar o funcionamento da medula como uma rede de computadores (estruturas) ligados por um barramento (medula) e recebendo informações de um centro de controle (cérebro). Por exemplo, se ocorrer uma ruptura no ponto X da figura 2, os computadores à direita deste ponto podem não funcionar, pois não trocarão informações com o centro de controle. O mesmo

ocorre com a medula quando lesionada: os órgãos abaixo do ponto lesionado não trocam informação e deixam de responder.

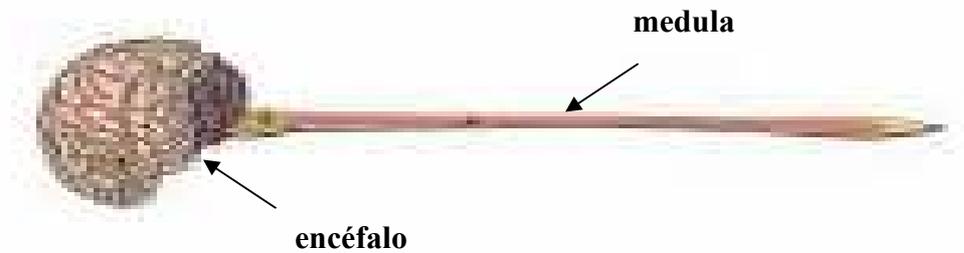


Figura 1 – Medula espinhal (adaptado de NOGUEIRA, 2004)

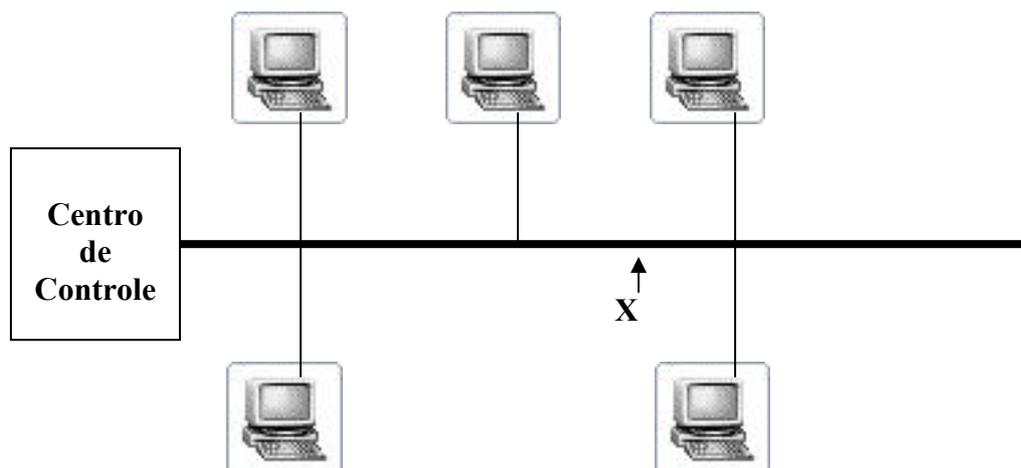


Figura 2 – Rede de computadores.

Assim, segundo Fernandes (2004), o conceito de medula seria a “estrada” por onde as informações motoras e sensitivas viajam entre o cérebro e o corpo. Ela contém, conforme ilustra a figura 3, os tratos espinhais (matéria branca) que envolvem a área central (matéria cinzenta), onde a maior parte dos corpos das células neuronais estão localizados. A matéria cinzenta está organizada em segmentos que compreendem neurônios motores e sensitivos.

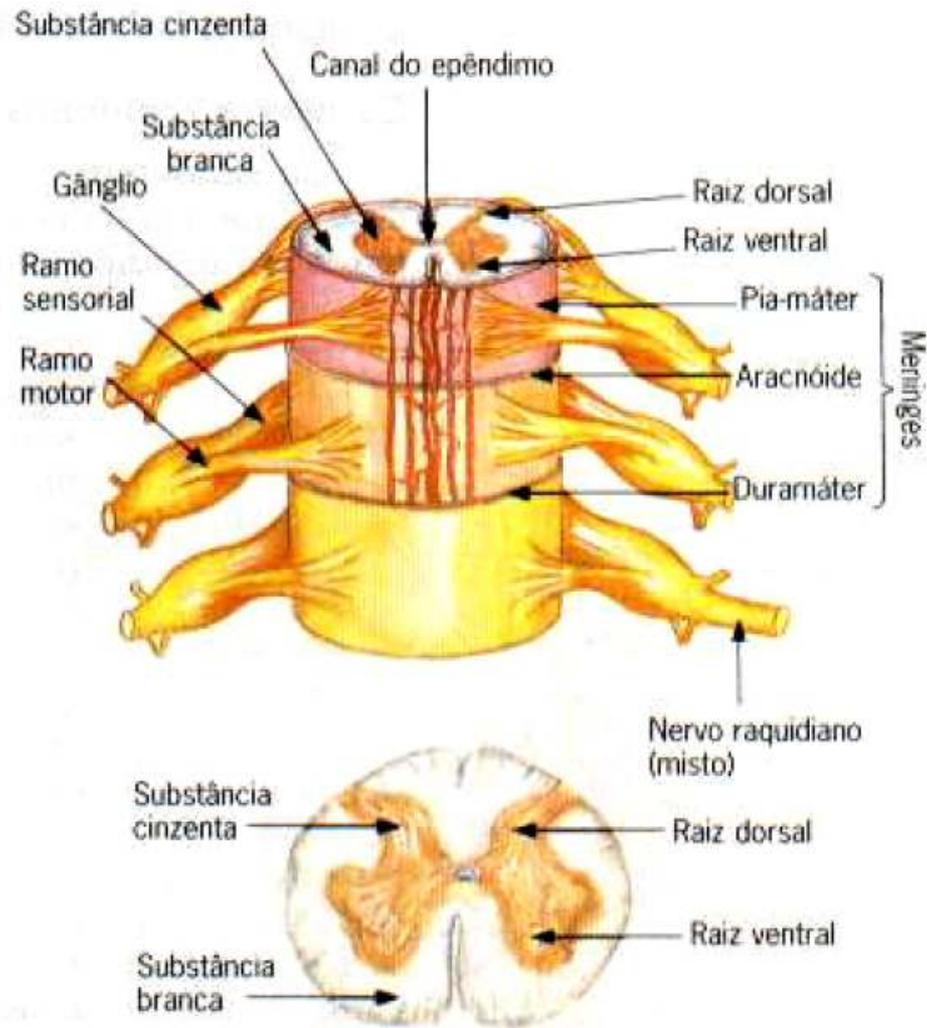


Figura 3 – Visão microscópica da medula espinhal (de MACHADO, 2000).

Os nervos da medula, conforme ilustra a figura 4, conectam-se com o corpo através das raízes nervosas que saem da coluna e abastecem os nervos das pernas, bexiga, etc. Observa-se que o sistema está interligado em regiões bem definidas. Por exemplo, a região que é responsável pela aceleração do coração está interligada à região torácica da coluna. Portanto, pode-se visualizar através da ilustração a complicação fisiológica que a lesão em determinados pontos pode acarretar ao indivíduo.

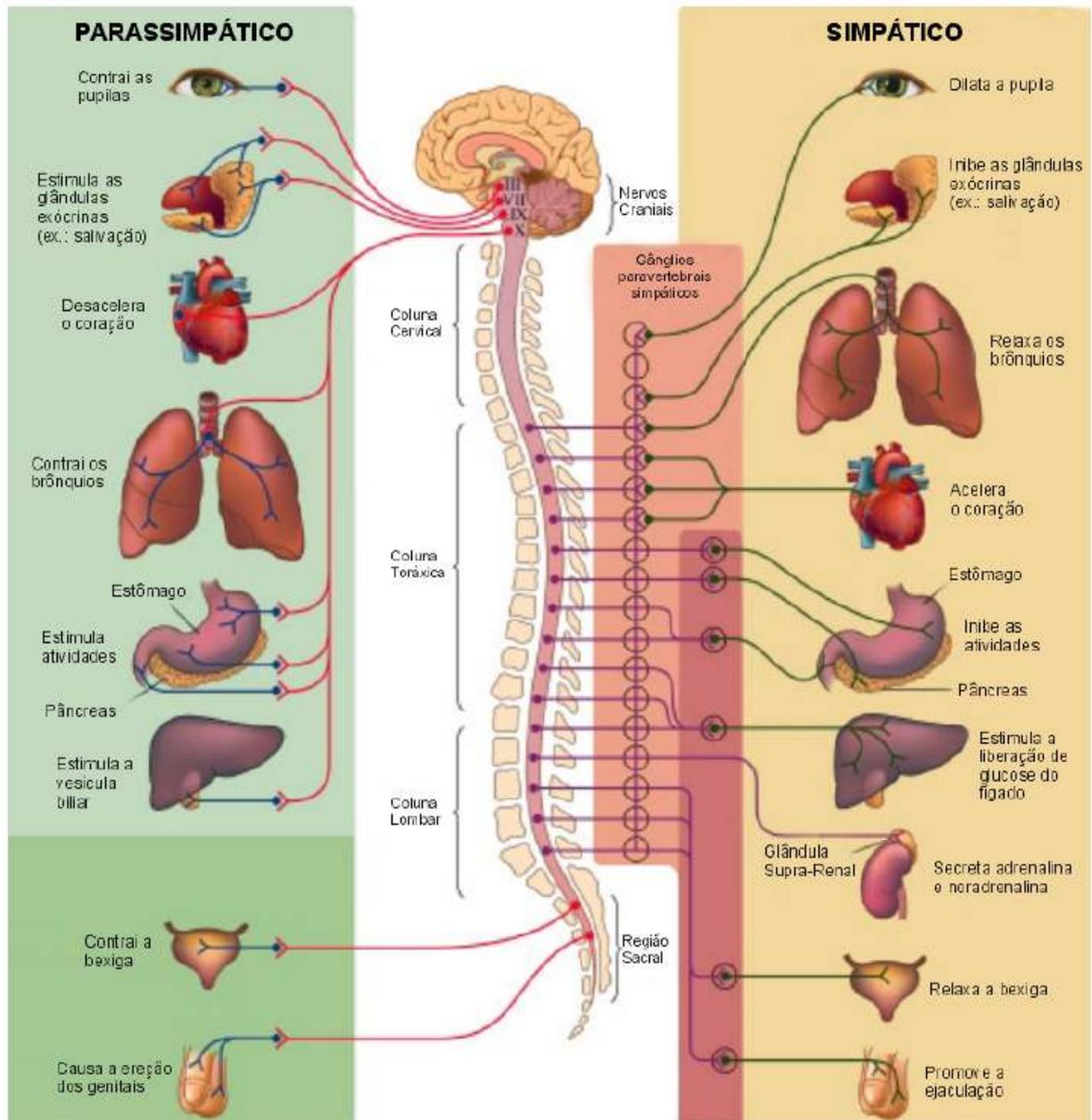


Figura 4 – Desenho esquemático mostrando: ao centro, a coluna e aos seus lados, órgãos do sistema que estão interligados com a medula recebendo e enviando sinais (adaptado de SENE, 2003 apud MATTHEWS, 2000).

O sistema ilustrado na figura 4 mostra a divisão feita para definir o antagonismo que caracteriza o sistema simpático e parassimpático. Esta divisão é importante para o estudo das lesões medulares, pois ajuda a identificar os possíveis efeitos de uma lesão em determinado ponto da coluna. Lesões entre a primeira vértebra torácica e a segunda lombar afetam o sistema simpático. Já as lesões na

região do tronco encefálico, segunda, terceira e quarta vértebras sacrais afetam o sistema parasimpático (NOGUEIRA, 2004).

2.2 LESÃO MEDULAR TRAUMÁTICA E NÃO TRAUMÁTICA

As lesões podem ser definidas como Traumáticas e Não-Traumáticas, herdando sua nomenclatura do seu fato gerador. As traumáticas têm sua origem em um trauma, por exemplo, fratura de vértebra. Já as não-traumáticas têm seu fato gerador numa doença, por exemplo, a poliomielite. Neste estudo, enfatizou-se a lesão medular traumática devido a 81,9 % dos casos de lesão medular terem seu fato gerador em um trauma (BRASIL, 2004). O trauma, nestas situações, gera uma fratura, como mostra a figura 5, em uma ou mais vértebras que podem se deslocar, comprimindo a medula, ou os fragmentos de ossos da fratura podem invadir o canal medular, ou ainda, ambos os casos concomitantemente (NOGUEIRA, 2004).

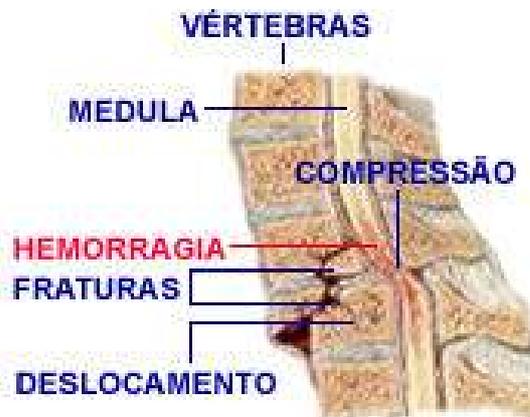


Figura 5 – Lesão Medular Traumática (de NOGUEIRA, 2004)

Os efeitos das Lesões Medulares Traumáticas são percebidos em dois momentos: num primeiro momento, provocam a morte de alguns neurônios e a rupturas de axônios; em um segundo momento, iniciam-se as lesões secundárias, onde, o sistema de defesa do corpo, instintivamente, tenta bloquear o processo de lesão e as células de defesa começam a destruir outras células. Também no segundo momento, começa a ocorrer a morte de células por falta de oxigênio e

nutrientes. Estudos relatados por Tator e Fehlings(1991) confirmam que a lesão medular segue dois momentos: o primário ou mecânico e secundário ou isquêmico.

Cristante (2004) relata as conseqüências da lesão medular:

“o trauma medular resulta em destruição mecânica, hemorragia, diminuição da perfusão, hipóxia tecidual, edema e, finalmente, necrose dos elementos neurais, portanto, após a lesão mecânica primária, os processos fisiológicos secundários (liberação de mediadores endógenos que levam à progressão da lesão neuronal por alterações fisiológicas e metabólicas) rapidamente ocorrem no local e ao redor da lesão. A compressão persistente da medula por fragmentos ósseos, ligamentos ou disco intervertebral também pode exacerbar o dano mecânico após a lesão primária”.

2.3 LESÃO MEDULAR COMPLETA E INCOMPLETA

A lesão medular pode ser completa ou incompleta. Quanto mais próxima do centro de controle, maior será o comprometimento da rede. Ou seja, quanto mais alta for a lesão na coluna, maior será a perda motora e sensorial nas partes do corpo abaixo dela. São ditas completas aquelas lesões que interrompem completamente a comunicação abaixo da altura lesionada, e incompletas quando a lesão é parcial, havendo uma comunicação parcial com os órgãos abaixo da área lesionada. Suponha-se neste caso, um cabo de rede UTP¹ como barramento, com 4 pares de fios interligando a rede. Se forem cortados todos os 4 pares de fios, haverá uma lesão completa; se forem cortados, por exemplo, 2 pares, ocorrerá uma lesão incompleta e provavelmente consiga-se enviar alguns dados pelos pares restantes. De acordo com a classificação da *American Spinal Injury Association-ASIA* (2001), a lesão completa acontece quando atinge todas as vias motoras e sensitivas e a incompleta quando afeta somente algumas vias motoras e/ou sensitivas. Dados estatísticos apontam que 45% dos lesionados têm total ausência de sensibilidade ou movimento abaixo do nível da lesão, e que 55 % dos lesados têm presença parcial de sensibilidade ou movimento abaixo do nível da lesão. Estes números apontam

¹ O cabo UTP consiste de 4 pares trançados de fio de cobre, ou seja, 8 pequenos fios.

para uma linha tênue entre as lesões completas (45%) e incompletas (55%) (AACD, 2004).

2.4 PARAPLEGIA E TETRAPLEGIA

A lesão medular pode ser classificada funcionalmente em duas categorias: tetraplegia e paraplegia. A tetraplegia está relacionada com lesões na região cervical, a qual afeta os membros inferiores, superiores e o tronco. Já a paraplegia, está relacionada com lesões nas regiões tóraxica, lombar ou sacral, atingindo os membros inferiores e o tronco (ASIA, 2001). Embora o censo brasileiro de 2000 não forneça dados detalhados, estima-se em 955 mil tetraplégicos, paraplégicos ou hemiplégicos no Brasil (IBGE, 2000).

2.5 LESÃO MEDULAR EXPERIMENTAL

Há, no meio científico, uma necessidade de se entender como ocorre a lesão medular e quais suas alterações e comprometimentos. É no modelo animal experimental que os pesquisadores buscam esse entendimento. Por questões éticas e de segurança, novos tratamentos são preferencialmente testados previamente em animais. Desta forma, busca-se no modelo animal fazer testes pré-clínicos para depois transferir para seres humanos. Assim, pode-se definir a lesão medular experimental como a lesão proposital em animais, na fase pré-clínica com o objetivo de buscar novas terapias que possam ser transportadas para o ser humano.

Estudos com lesões medulares propositalis são fundamentais para a evolução das técnicas de cura. Segundo Meyer et al. (2003), “os estudos que envolvem lesão medular experimental são fundamentais para a compreensão dos mecanismos secundários de lesão tecidual decorrentes do trauma raquimedular”. Seguindo a mesma linha, prescreve Hwang et al. (2004), “um modelo animal da lesão medular traumática é essencial para compreender os mecanismos da lesão, a regeneração medular, e para o desenvolvimento de novas modalidades de terapias”.

Desta necessidade, surgiram algumas técnicas de se efetuar propositalmente a lesão medular.

2.5.1 HISTÓRICO DA LESÃO MEDULAR EXPERIMENTAL

Segundo Lifshutz e Colohan (2004), o trauma medular é uma doença que assola o ser humano muito antes do próprio surgimento da medicina. Por ser uma doença que afeta geralmente a população em faixa etária produtiva e com expectativa de vida, a Lesão Medular foi alvo de estudos que atravessaram o tempo. Os médicos egípcios (3000 a 2500 a.C), conforme manuscrito encontrado por Edwin Smith, já citavam em seus tratados de cirurgia a lesão medular traumática como uma doença não tratável, ou seja, casos sem esperança. Já no período de Hipócrates (500 a.C – 500 d.C), pai da medicina, observa-se grandes avanços na classificação e descrição clínica da lesão medular. Hipócrates e os hindus foram os primeiros a utilizarem a tração como tentativa de correção de desvios na coluna. Leonardo da Vinci relatou: “A rã morreu instantaneamente quando a medula foi cortada...”, apesar de exímio engenheiro, arquiteto e estudioso da medicina, não foi ele o primeiro a identificar esta patologia. Aulus Cornelius Celsus (30 d.C), o disseminador das teorias de Hipócrates, foi o primeiro a notar a rápida morte quando lesada a medula. Em 130 d.C, Aretaeus (81 – 138 d.C) foi um dos pioneiros na elaboração de níveis de lesão medular, mas foi seu contemporâneo Galeno (129 – 216 d.C) que mais avançou o estudo no período clássico, sendo considerado o segundo pai da medicina. Na idade média, foram introduzidas as cirurgias de coluna como tratamento para a lesão medular traumática. Nessas cirurgias, tentava-se efetuar a descompressão da coluna (NADERI et al., 2004). E assim, a lesão medular traumática foi remontando a história até o século 20, no qual iniciou o período da lesão medular experimental. Conforme a tabela 1, várias foram as experiências envolvendo coelhos, gatos, cães, porcos, macacos e ratos. No entanto, os cientistas não tinham como efetuar experiências repetitivas e confiáveis, pois não conseguiam padronizar as lesões sem um equipamento que os auxiliassem (VIALLE et al., 2002). Foi quando Alfred Reginald ALLEN, em 1911, criou o primeiro aparelho de lesão medular padronizada, qualificando a lesão como sendo o produto do peso, em gramas, pela altura, em centímetros (g/cm). Allen buscou através da padronização do impacto sobre a coluna, descobrir o peso máximo suportado pela coluna. O

aparelho de Allen consistia em uma série de pesos que eram soltos de uma distancia fixa, através de uma base, sobre a coluna exposta de cães.

Na ordem cronológica, exposta na tabela 1, pode-se observar pontos marcantes década a década após 1911. A partir do modelo do Dr Allen, (1911), surgiram diversos estudos que usavam como base o modelo de pesos, porém, muito se discutia sobre a quantificação da lesão e que animal utilizar. Na década de 70, havia muita imprecisão nos resultados obtidos. Já na década de 80, com a introdução de tecnologias como a máquina fotográfica e sensores, pesquisadores como Wrathall, Gale e Noble conseguiram resultados mais precisos. Além da precisão e confiabilidade, houve uma busca por sistemas de fácil manuseio e de baixo custo. Nessa época, houve um consenso sobre a utilização de animais de pequeno porte. Em busca da confiabilidade, simplicidade, economia, Noble e Wrathall, em 1987, propuseram alternativas para tornar o dispositivo de lesão medular experimental popular nos centros de pesquisa. Neste mesmo ano, Bresnahan et al. (1987), com o intuito de aprimorar o modelo de contusão, desenvolveu um aparelho que armazenava variáveis como deformação da medula, velocidade e altura da queda. Na década de 90, com o avanço da tecnologia, outros modelos foram testados, inclusive empregando tecnologias com laser e ressonância magnética. Hoje em dia, o modelo mais utilizado é o aparelho de contusão desenvolvido pela Universidade de Nova York, tendo como seu prencunciador o Dr. Gruner (1992). No entanto, o modelo desenvolvido, deixa a desejar em diversos aspectos, principalmente, no que diz respeito à confiabilidade, facilidade de manuseio e possibilidade de expansão.

A tabela 1 proporciona uma visão cronológica e geral do contexto da lesão medular experimental. Porém, observa-se que a maior parte literatura está relacionada aos textos médicos. Poucos são os textos contendo dados técnicos relacionados à engenharia, ou seja, não se encontrou disponível na literatura textos específicos sobre os dispositivos propriamente ditos. Desta forma, houve dificuldades para revisar a literatura com bases em sistemas e dispositivos de lesão medular experimentais. Por isso, a tabela elaborada está baseada predominantemente em textos médicos sobre estudos da lesão medular.

Tabela 1 – Linha do tempo do estudo da Contusão Medular Traumática Experimental.

Ano	Pesquisador	Animal	Caracterização do Método
1890	SCHMAUS	Coelho	Observação da degeneração da medula (NADERI et al., 2004).
1900	BIKELES	Coelho	Confirmação do trabalho de Schmaus(NADERI et al., 2004).
1900	LUGENBERGE	Porco da Índia	Reportou a degeneração medular (NADERI et al., 2004).
1907	MC VEIGH	Cão	Compressão da medula exposta criando hemorragia e edemas (LIFSHUTZ, COLOHAN, 2004)
1907	THOMPSON	Cão	Uso da extremidade do escalpelo para efetuar a lesão (LIFSHUTZ, COLOHAN, 2004).
1908-1914	ALLEN	Cão	Padronização da distância e pesos que eram derrubados na medula exposta (ALLEN, 1911)
1971	DUCKER	Macaco	Pesos de 10, 15, 20, 25 gramas eram derrubados a uma altura de 20 centímetros da medula exposta (DUCKER et al., 1971).
1973	RIVLIN	Macaco	Insuflação de balonete no espaço extradural da espinha do macaco (RIVLIN, TATOR, 1978).
1975	HUNG	Gato	Pesos eram derrubados através de um tubo de náilon na medula exposta. Para registrar a deformação utilizou-se uma câmera fotográfica (HUNG et al.,1975)
1975	DANIELL	Gato e macaco	Pesos eram derrubados em uma base que transferia a força sobre a medula exposta. A deformação era medida através de um strain gauge ligado a um osciloscópio (DANIELL et al., 1975)
1976	KOOZEKANANI	Cão	Pesos eram derrubados na medula exposta através de um tubo. A deformação era capturada por câmeras fotográficas e simuladas em computador (KOOZEKANANI et. al., 1976).
1976	DOHRMANN	Gato	Adaptação de sensores de deslocamento, indutores e osciloscópios para medir a velocidade, o impulso, e a energia (DOHRMANN et al., 1976).
1976	EIDELBERG	Rato e Coelho	Método de compressão progressiva colocando pesos diretamente na medula por um determinado tempo (EIDELBERG et al., 1978).
1978	RIVLIN e TATOR	Rato	Uso de um clipe para efetuar uma compressão equivalente a 180 gramas (RIVLIN et al, 1978).
1979	HUNG	Gato	Tentativa de estabelecer um critério de padronização que recomendava o uso de um peso de 20g, uma haste de 5 mm de diâmetro e uma massa de 0,1 g (HUNG et al., 1979).
1979	MOLT	Gato	Analisa da influência de variáveis como massa da queda de peso, o diâmetro da haste, e o peso do animal (MOLT et al., 1979).
1979	GERBER	Cão	Estudo sobre os efeitos de diferentes formatos e diâmetros da haste de contusão (GERBER, CORRIE, 1979).

1981	HUNG	Gato	Alongamento longitudinal da espinha para obter a força de tensão (HUNG et al., 1981).
1981	BOHLMAN	Cão	Testes e comparação dos métodos de queda de peso e compressão progressiva (BOHLMAN et al., 1981).
1982	ANDERSON	-	Proposta de um modelo pneumático que seria capaz de controlar a velocidade e a compressão da medula (ANDERSON, 1982).
1983	KHAN	Rato	Comparação dos métodos de queda de peso, clipe, e o balão extradural (KHAN et al., 1983).
1983	FORD	Gato	Introdução de um circuito eletrônico no modelo de Allen na tentativa de garantir que a lesão era produzida por um único impacto (FORD, 1983)
1985	WRATHALL, GALE, NOBLE	Rato	Utilização da queda de peso de 10 g derrubados, na medula exposta, a distância de 0, 2.5, 5, 7.5, 10, e 17.5 cm com uma haste de 2.4 mm de diâmetro. Análise de parâmetros morfológicos relacionados com a altura e o peso da haste (WRATHALL et al., 1985)
1986	BLIGHT	Gato	A medula exposta e estabilizada por um suporte fixado ao processo espinhal. Os pesos utilizados tinham de 10 a 13 g com diâmetro de 5 mm derrubados a uma distância de 20 cm (BLIGHT, 1986).
1986	IIZUKA	Rato	Proposta de um sistema automatizado de análise do dano axonal (IIZUKA et al., 1986).
1986	BLACK, MARKOWITZ, MECHANIC KUSHNER	Rato	Definição do rato como animal mais vantajoso para modelo experimental. Teste do modelo estático, que consistia em colocar um peso sobre a medula, e um modelo dinâmico que media força por <i>strain gauge</i> . Estudos matemáticos que concluíram que o peso contribui com 95% da lesão motora e o tempo de duração com 5% (BLACK et al., 1986).
1987	NOBLE, WRATHALL	Rato	Proposta de modificações no modelo de 1985 com o intuito de baratear o modelo (NOBLE et al., 1987).
1987	BRESNAHAN, BEATTIE, TODD, NOYES	Rato	Proposta de um dispositivo eletro-mecânico de controle com realimentação. Com contínuo monitoramento da força e deslocamento da medula (BRESNAHAN et al., 1987).
1988	PANJABI, WRATHALL	Rato	Definição dos parâmetros biomecânicos como altura da queda, força, impulso; e funcionais como o escore de máximo plano inclinado, escore motor, e escore de comportamento comparado (PANJABI et al., 1988).
1989	NOBLE, WRATHALL	Rato	Estudos histológicos para definição da relação entre a substância branca, a contusão e o déficit motor (NOBLE et al., 1989).
1989	MAIMAN	Gato	Injeção de radioisótopo na medula de gatos levando ao fluoroscópio para verifica os efeitos do impacto (MAIMAN et al., 1989).
1990	FINKELSTEIN	Rato	Definição de um parâmetro para o estudo histológico do dano a massa cinzenta e branca. Após a contusão com a queda de pesos, identificava-se o epicentro da lesão, a

			partir de onde eram feitas as secções para o estudo histológico (FINKELSTEIN et al., 1990).
1990	WEIRICH	Rato	Utilização da ressonância magnética para avaliar a resposta à contusão medular. Comparação com o estudo histológico (WEIRICH et al., 1990).
1990	BENZEL	Rato	Proposta de uma nova técnica de lesão usando compressão ventral uma modificação de um clipe de aneurisma de DeBakey (BENZEL et al., 1990).
1991	BLIGHT	Porco da Índia	Proposta da utilização de um par de fórceps modificado para efetuar a lesão (BLIGHT, 1991).
1991	BRESNAHAN	Rato	Proposta de um modelo de análise tridimensional assistido por computador que fornecia mais dados que a análise histológica convencional (BRESNAHAN et al., 1991).
1992	GRUNER	Rato	Descreveu pela primeira vez o dispositivo desenvolvido pela Universidade de Nova York (GRUNER, 1992)
1994	CONSTANTINI e YOUNG	Rato	Utilização do dispositivo desenvolvido pela Universidade de Nova York (CONSTANTINI, YOUNG, 1994).
1994	FALCONER	Rato	Teste de tecnologias como a Ressonância Magnética, Laser e eletrodos para analisar os parâmetros biomecânicos (FALCONER et al., 1994).
1995	BASSO, BEATTIE, BRESNAHAN	Rato	Definição da escala de avaliação motora BBB (BASSO et al., 1995).
1996	PINTAR	Humanos	Busca de transposição para humanos do modelo animal. Utilização de cadáveres onde o impacto dorsal era reproduzido em gelatina e monitorado por sensores de pressão piezoelétricos (PITAR et al., 1996).
1996	HAGHIGHI	Gato	Um eletrodos RF que gera 65 °C durante 1 min foi introduzido na espinha (HAGHIGHI et al., 1996).
1998	KUHN, WRATHALL	Camundongo	Reestudo do modelo de queda de pesos aplicados a camundongos (KUHN et al., 1998).
1999	HIRUMA	Rato	Utilização de três diâmetros de cliques para efetuar a lesão (3 mm, 2 mm, 1 mm). Cada clipe era aplicado a uma profundidade de deformação de 1 mm, 2 mm, 3 mm (HIRUMA et al., 1999).
1999	KHAN	Gato e Rato	Descrição de um modelo que produzia um força de 65 N em gatos e de 35 Newton em ratos, produzindo lesões severas e moderadas (KHAN et al. 1999).
2000	METZ	Rato	Validação do modelo de Allen, e demonstração da possibilidade de transposição do modelo animal para o humano (METZ et al., 2000).
2000	JAKEMAN	Camundongo	Adaptação do modelo proposto para ratos para camundongos (JAKEMAN et al., 2000).
2000	FAROOQUE	Camundongo	Apresentação de um modelo baseado na queda de peso, com uma escala para

			quantificar a função motora, e uma base computacional para quantificar o dano medular (FAROOQUE, 2000).
2001	CHADI	Rato	Utilização de dois modelos: o da Universidade de Nova York e um bisturi ajustável com sensores infra-vermelho de movimento (CHADI et al., 2001).
2001	VANICKY	Rato	Utilização da técnica de compressão por balão introduzindo o balão entre as vértebras T8 e T9 e inflando por 5 min (VANICKÝ et al., 2001).
2002	YOUNG	Rato	Revisão das potencialidades da técnica de queda de pesos e do dispositivo da Universidade de Nova York (YOUNG, 2002).
2002	SEKI	Rato	Proposta de um dispositivo pneumático para lesão experimental (SEKI et al., 2002).
2002	KAPTANOGLU	Rato	Proposta de um escore ultraestrutural para quantificar a lesão (KAPTANOGLU et al., 2002).
2003	CARLSON	Cão	Utilização de um pistão hidráulico para efetuar a pressão na coluna (CARLSON et al., 2003).
2004	HWANG	Rato	Proposta de um dispositivo pneumático de lesão (HWANG et al., 2004).
2004	DABNEY	Rato	Proposta de um dispositivo computacional que aplica forças para estirar a medula. São controladas variáveis de comprimento, velocidade e duração do estiramento (DABNEY et al., 2004).

2.5.2 LESÃO ABERTA E LESÃO FECHADA

As lesões medulares experimentais podem seguir duas técnicas: a lesão aberta, que expõe a medula do animal através de um procedimento cirúrgico, e a fechada, onde a lesão é produzida sem expor a medula do animal. Pode-se afirmar que a lesão fechada é um procedimento evasivo e a aberta, invasivo.

Vialle (2001) afirma:

“as lesões medulares experimentais abertas, isto é, com exposição da medula, são as que criam as melhores condições para estudo. As lesões fechadas, produzem um sem numero de fraturas da vértebra atingida cujos fragmentos alteram o curso natural da lesão medular que se pretende estudar, impedindo análises histológicas mais detalhadas.”

Para estudos experimentais, o método mais utilizado é o da lesão aberta devido às melhores condições de padronização e fidelidade dos efeitos pós-trauma.

2.5.3 TRANSECÇÃO COMPLETA E TRANSECÇÃO PARCIAL

Em laboratório, uma transecção completa ou parcial da medula pode ser obtida com um micro-bisturi ou uma micro-tesoura (figuras 6 e 7). Expõe-se a medula (lesão aberta), e com o micro-bisturi secciona-se a medula efetuando a lesão. A transecção completa causa um maior dano ao tecido espinhal e a sua irrigação sanguínea, assim como a cicatrização, incluindo o fibroblasto (LEME et. al., 2005). Devido à simplicidade do procedimento cirúrgico e à simplicidade do manejo do animal, a transecção é uma técnica de baixo custo e fácil de ser realizada. Esta técnica é eficaz quando se deseja avaliar a regeneração axonal e recuperação motora em animais com transecção completa. No entanto, deixa a desejar no que diz respeito à transecção parcial, pois há uma dificuldade em se efetuar várias lesões parciais de mesma intensidade e tamanho. Apesar de poder ocorrer uma completa perda de sensibilidade e movimentos, é raro, em acidentes com seres humanos, a transecção (LU, 2000). Portanto, a transecção não simula o que ocorre na realidade dos acidentes com seres humanos. (KWON et. al., 2002).

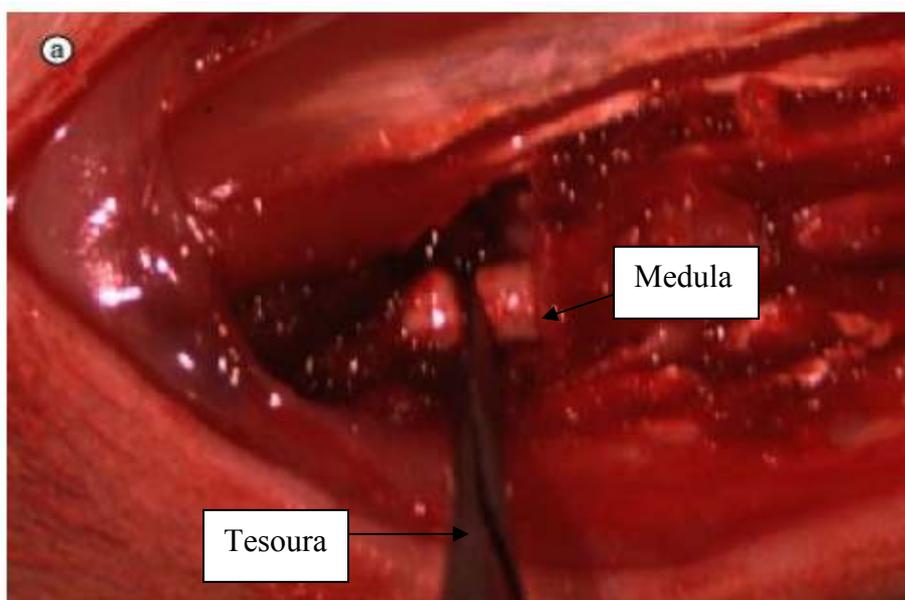


Figura 6 – Transecção parcial (de LU, 2000).

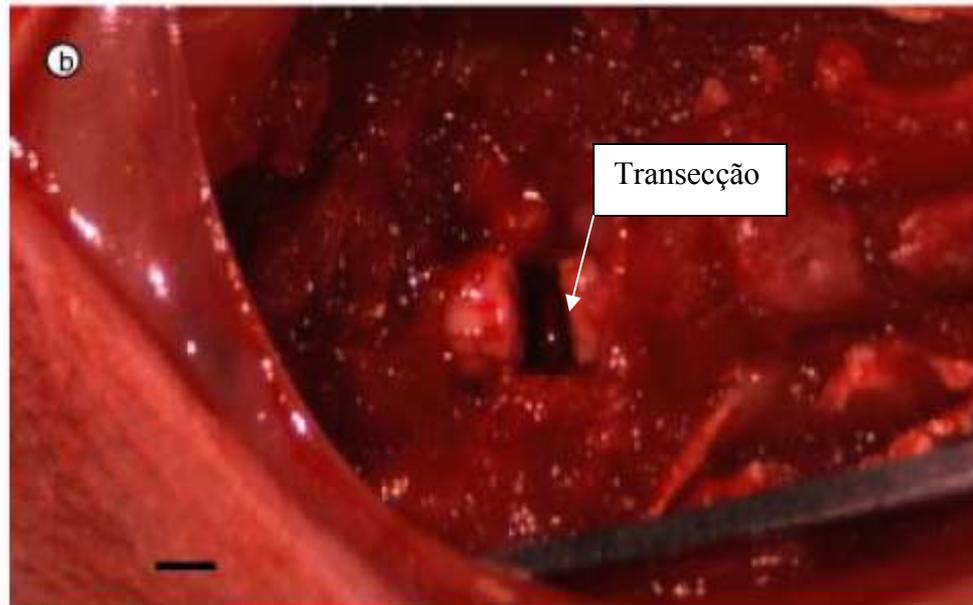


Figura 7 – Transecção completa (de LU, 2000).

2.5.4 LESÃO POR CONTUSÃO E POR COMPRESSÃO

As técnicas de lesão medular experimental por contusão e por compressão são as que mais se aproximam do que ocorre em acidentes envolvendo humanos (KWON et. al, 2002). A compressão é uma técnica, como o próprio nome sugere, que consiste em comprimir a medula gerando a lesão. A maneira mais comum de se efetuar esta técnica, conforme ilustra a figura 8, é expor a medula do animal e colocar sobre ela pesos por um determinado período de tempo. Na literatura, constam técnicas como a de McWeigh (1923) que comprimia a medula com o próprio dedo (*apud* LU, 2000). Já a contusão é uma técnica que consiste em contundir a medula com algum artefato que lese a medula. A maneira mais comum de se efetuar a contusão, conforme ilustra a figura 9, consiste em soltar um peso através de um tubo, de uma distância fixa, sobre a medula exposta. No entanto, existem dispositivos que utilizam inovações tecnológicas para efetuar este tipo de lesão (KWON et. al., 2002).

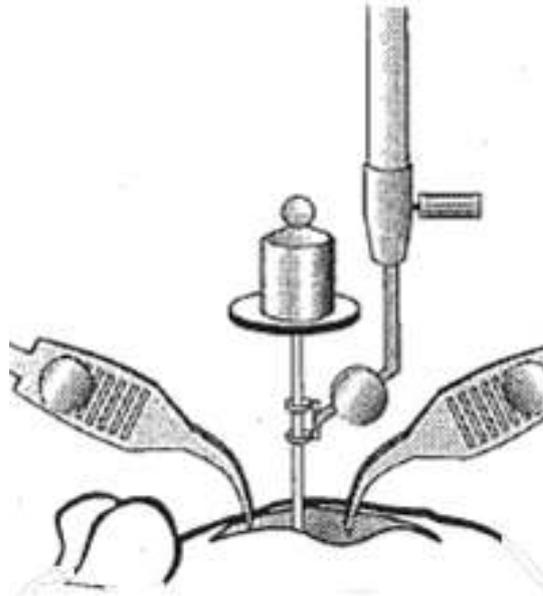


Figura 8 – Peso sobre uma base para comprimir a medula (de Farooque, 2000).

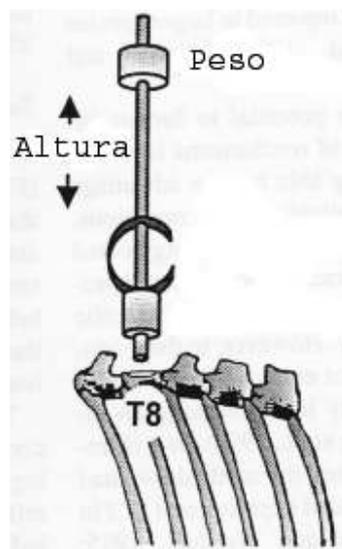


Figura 9 – Artefato de contusão por queda de peso (de KUHN e WRATHALL, 1998).

2.6 DISPOSITIVOS DE LESÃO MEDULAR EXPERIMENTAL ESTÁTICOS E DINÂMICOS

Quanto aos dispositivos de lesão medular traumática, pode-se encontrar duas classes: a dos dinâmicos, que geralmente utiliza a técnica de queda de peso, e a classe dos estáticos, que geralmente emprega a técnica de compressão progressiva. Esta, por força dos materiais e métodos utilizados (pressão com balonete inflável,

clipes, fórceps) é mais barata e de fácil execução. No entanto, sua fidelidade deixa a desejar (VIALLE, 2001). Já os dispositivos dinâmicos utilizam técnicas mais caras e exigem mais dos seus operadores, porém, devido à tecnologia empregada, podem fornecer maior fidelidade nos resultados (VIALLE, 2001).

2.6.1 COMPRESSÃO POR GRAMPO

O modelo de compressão por grampo, também chamado de compressão por clipe, foi introduzido por Rivlin e Tator (1978). Este modelo consistia em comprimir a medula por tempos determinados (3 s, 1 e 5 min) com clipe de aneurisma modificado. Este modelo foi aprimorado por Fehlings e Tator (1991), permitindo a escolha da força aplicada pelo clipe entre valores que variavam de 2 a 98 g. Segundo Kwon (2002), esta técnica de compressão permite o controle de variáveis como tempo e força aplicada, porém, não avalia variáveis como deformação da medula. A compressão por clipe apresentou uma alternativa para a lesão por contusão, pois ao contrário do rápido impacto da contusão, a compressão permite simular a compressão gradual da medula por um determinado tempo. Isto contribuiu para a compreensão do impacto neuro-funcional resultante do tempo de descompressão da medula.

2.6.2 O DISPOSITIVO DESENVOLVIDO NA UNIVERSIDADE DE NOVA YORK

O dispositivo Impactor-NYU, como usualmente é conhecido, foi, pela primeira vez, descrito por Gruner (1992). A idéia criada, algum tempo depois, foi estudada e adaptada por um consórcio de oito laboratórios americanos chamado *Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study-MASCIS*. A figura 10 mostra uma visão global do sistema onde as setas indicam: no gabinete aberto, pode-se ver a indicação da fonte de corrente contínua que fornece energia para o computador e para a placa de aquisição; encaixada na placa mãe do computador, no *slot* ISA, há a indicação da placa de aquisição; ainda tem-se a indicação do *black box* (caixa preta), que efetua a interface entre o dispositivo mecânico e a placa de aquisição; e a indicação dos tipos de conectores com seus respectivos números de pinos (9 pinos e 37 pinos). O

princípio de funcionamento do dispositivo baseia-se em uma haste que é solta de 4 diferentes alturas sobre a medula exposta do animal, gerando com isso lesões de diferentes intensidades sendo o equipamento capaz de monitorar através do computador parâmetros como a velocidade da haste, o tempo de queda e o deslocamento da medula. Um dado interessante, incluído pelo consórcio, foi uma série de procedimentos para diminuir erros na realização das experiências como o dispositivo.

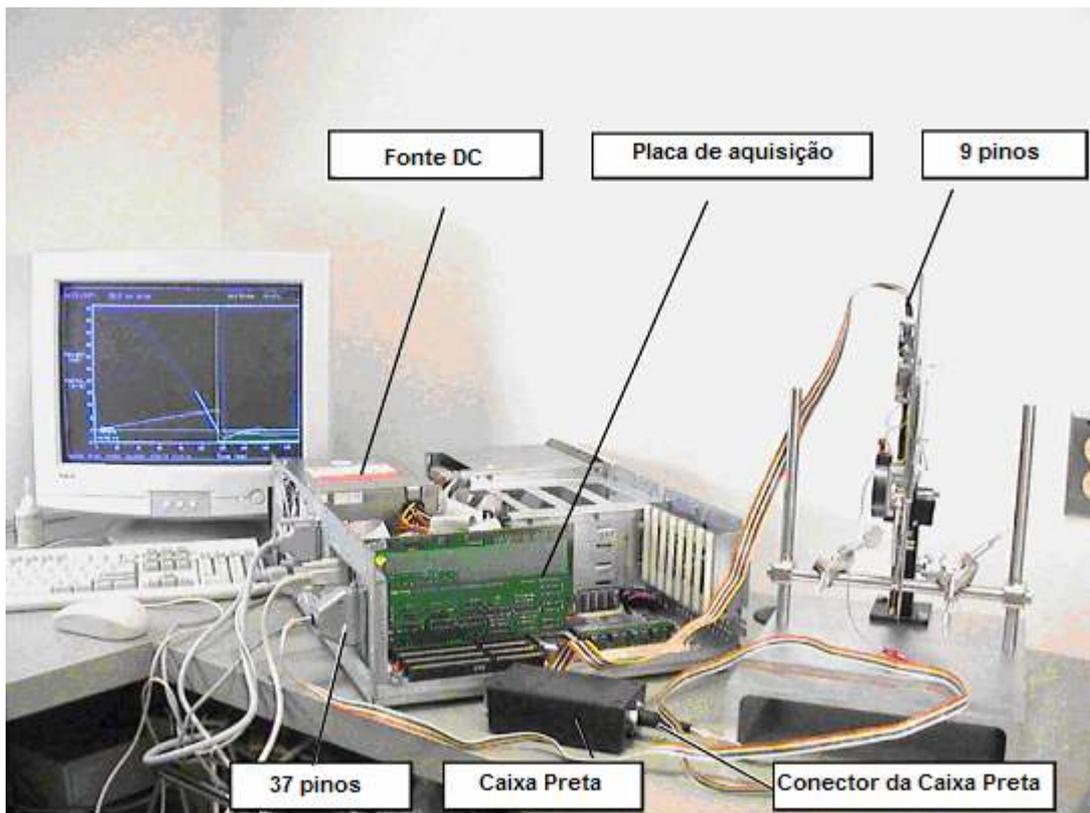


Figura 10 – Visão global do sistema NYU (de YOUNG, 2003).

2.6.3 O DISPOSITIVO DESENVOLVIDO PELA UNIVERSIDADE DE OHIO

O dispositivo OSU, como ordinariamente é chamado, foi, pela primeira vez, descrito por Noyes (1987), e leva o nome de OSU devido à Ohio State University onde foi desenvolvido. Este equipamento, do tipo dinâmico, conforme ilustra a figura 11, segue muito de perto a idéia proposta pelo impactor NYU. A medula é exposta através de laminectomia e as vértebras são estabilizadas por grampos fixados ao processo espinhoso. Então, uma haste vertical com uma área de contato de 30 μm

aplica uma força de 3000 N, gerando um deslocamento de medula predeterminado de aproximadamente 0,8 a 1,1 mm (KWON, 2002). Todo o monitoramento deste processo biomecânico, é efetuado através de uma placa de aquisição e o programa desenvolvido na plataforma Lab-VIEW®; sendo possível monitorar a força aplicada e o deslocamento da medula (JAKEMAN et. al., 2000).

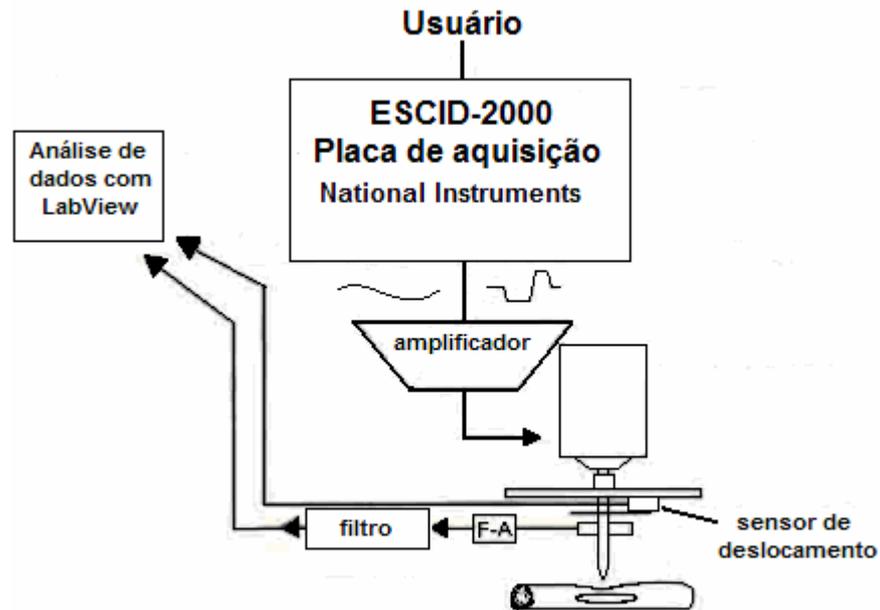


Figura 11 – Desenho esquemático do dispositivo OSU adaptado por Jakeman e Stokes (2002).

2.6.4 DISPOSITIVO PNEUMÁTICO

O dispositivo pneumático, figura 12, foi desenvolvido na Universidade de Chung-Ang na Korea, tendo como seu idealizador Hwang et al. (2004). Este dispositivo dinâmico segue basicamente os mesmos princípios de lesão do dispositivo NYU e OSU. Porém, ao invés de utilizar uma haste para contundir a medula, o dispositivo usa o ar comprimido.

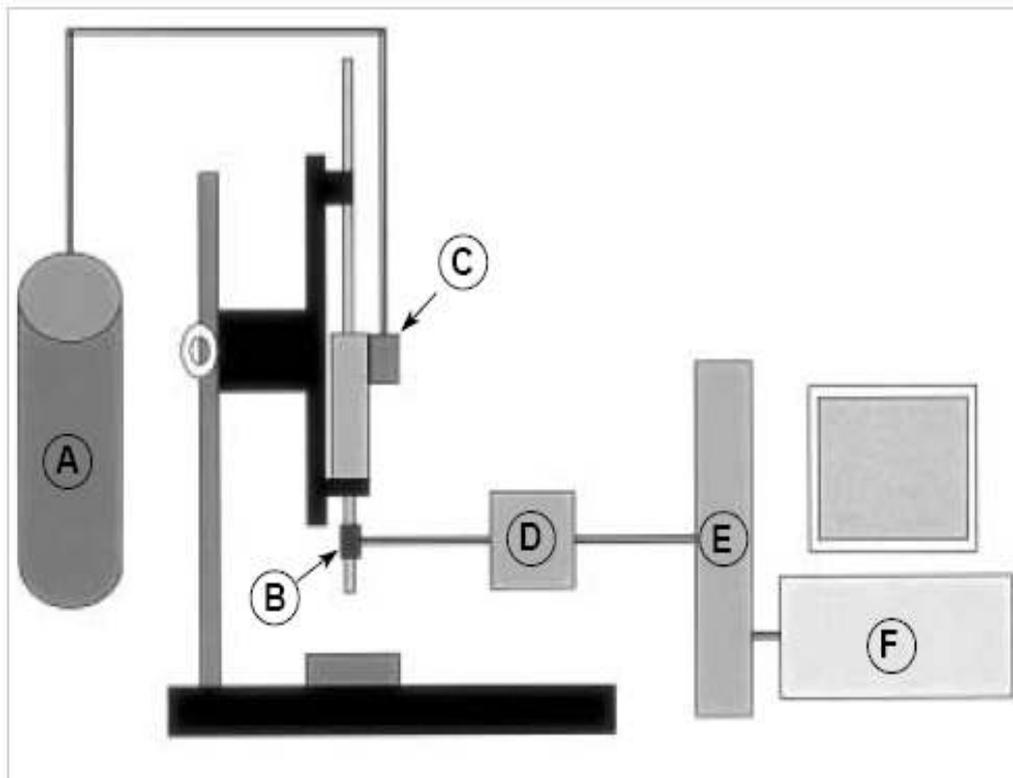


Figura 12 – A, é o cilindro de ar; B, sensor ; C, válvula que libera o ar; D é um amplificador de sinal; E uma placa de aquisição; F representa o computador (de HWANG, 2004).

O dispositivo monitora grandezas como força, velocidade, e aceleração do ar, através do sensor representado na figura 12 pela letra B, que envia um sinal para uma placa de aquisição (E) que, por sua vez, é controlada por um programa de instrumentação virtual desenvolvido na plataforma do Lab-VIEW®.

2.7 ANIMAL

Desde os primórdios da lesão medular experimental até hoje em dia, uma gama enorme de animais foi testada (KWON, 2002). A própria tabela 1, exposta na explanação histórica da lesão experimental, aponta estudos com macacos, cães, ovelhas, ratos e camundongos. Porém, observa-se que com o decorrer do tempo, os camundongos e ratos tornaram-se os mais populares animais usados em experimentos de lesão medular experimental (KUHN e WRATHALL, 1998). Isto ocorreu devido a uma grande pressão da sociedade por limitar o uso de mamíferos

de grande porte. Desta forma, os ratos, com seu pequeno porte, sua facilidade de manutenção, baixo custo, capacidade de resposta terapêutica, assumiram o posto de animal de melhor custo benefício. Black et al. (1988) demonstraram que o rato apresentava-se como um modelo confiável, passíveis de lesões graduáveis e reprodutíveis. E estudos demonstraram que a histopatologia dos ratos é muito similar a dos animais de grande porte (NOBLE e WRATHALL, 1985).

2.7.1 MANUSEIO DO ANIMAL

Como cada pesquisador utilizava seu próprio procedimento de anestesia, cirurgia e manuseio do animal antes e após a lesão medular, em 2003, um consórcio de universidades americanas através do *Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study*, prescreveu após estudos com cerca de 3000 ratos, um protocolo de recomendações de cuidados com os animais (YOUNG, 2003). Essas recomendações são divididas em: padronização dos animais, com o uso de ratos, 77 ± 1 dias de idade, peso de 300 a 400 g para machos e de 200 a 300 g para fêmeas; padronização da anestesia usando pentobarbital intraperitoneal, 35-55 mg/kg para fêmeas e 55-75 mg/kg para machos, espera de 5 min, suplemento de 5 mg; padronização do procedimento cirúrgico, raspagem dos pelos dorsais do animal, desinfecção com solução iodada, contagem das vértebras até chegar a oitava torácica (T8), realização de laminectomia expondo a medula mas preservando o processo espinhoso T8 e T11; padronização dos cuidados após a lesão, devendo o animal, nas primeiras horas após a lesão, ser mantido aquecido; se houver hemorragia ou estresse, administração de 10 mg de solução salina subcutânea; sucção traqueal se houver cianose ou dificuldade para respirar; administrar Kefzol subcutâneo por 10 dias; o animal deve ser mantido em caixa isolada, deve-se esvaziar a bexiga do animal toda tarde; para o sacrifício o animal de ser anestesiado com pentobarbital (45 mg/kg para fêmea e 55 mg/kg para macho), deve-se administrar 1 ml de lidocaína 1%, 200 ml de solução salina, 300 ml de paraformaldeído; por fim, efetivação da decapitação e exsanguinação.

2.8 TÉCNICAS DE VERIFICAÇÃO DA LESÃO

Para verificar a severidade das contusões medulares e os efeitos pós-trauma, encontram-se, na literatura, técnicas como: análise do comprometimento motor, análise histológica, potencial motor evocado e ressonância magnética. A análise do comprometimento motor deve ser a técnica de menor custo e de mais fácil realização (YOUNG, 2003). Não requer equipamentos especiais, somente a observação dos movimentos dos animais. Esta técnica foi padronizada por Basso, Beattie, Bresnahan (1995) que criaram um escore de avaliação do comprometimento motor do animal. A técnica adota uma escala de 21 pontos, que são observados em ratos com lesão incompleta, permitindo ao pesquisador classificar o nível de comprometimento motor. A classificação é feita anotando os pontos obtidos através da observação dos movimentos dos ratos durante 4 min. O ponto zero indica que o animal tem comprometimento motor total, e o ponto 21 indica nível normal de locomoção. A escala de zero até 21, para uma comparação com a lesão em humanos, geralmente é dividida em 3 grupos: de 8 a 12, como baixa capacidade locomotora sem suportar peso; de 13 a 16, capacidade intermediária de locomoção com demonstração de suportar peso; e de 17 a 21, alta capacidade locomotora caracterizada pela normal locomoção com apenas pequenas deficiências.

A técnica de análise histológica é a mais difundida e utilizada no meio científico devido ao seu custo acessível e confiabilidade. Esta técnica, consiste na retirada, através de laminectomia, de áreas próximas à contusão da medula do animal, para a confecção de lâminas, para determinar o tamanho da lesão e seu efeitos. O estudo histológico permite ao pesquisador avaliar a hemorragia, hipoxia neuronal, dano à substância branca e perda neuronal em decorrência da contusão (NOBLE, WRATHALL, 1989) (FINKELSTEIN et al., 1990). Já a ressonância magnética é uma técnica que apresenta resultados que seguem os parâmetros da análise histológica, porém, o custo é muito alto. Hackney et al. (1994) apresentaram estudos que avaliavam os resultados da contusão através da ressonância magnética quantificando o dano à substância branca. No Brasil, a técnica mais utilizada é a análise histológica, porém, a maioria das soluções são importadas, de alto custo e separadas do módulo de contusão.

2.8.1 ANOTAÇÕES COMPORTAMENTAIS PARA PONTUAÇÃO DO MÉTODO BBB

Segundo Vialle (2001), o índice locomotor de Basso, Beattie e Bresnahan (1995) do Laboratório de Neurociências da Universidade Estadual de Ohio é determinado por 2 examinadores que observam o rato por 4 min e fazem anotações comportamentais em uma ficha (vide anexo 4) com base nos movimentos habituais dos ratos. São anotados 10 comportamentos relacionados ao tronco, cauda, e membros posteriores. São eles:

- (1) movimento dos membros posteriores: quadril, joelho e tornozelo;
- (2) posição do tronco: lateral, média, propulsão com a cauda;
- (3) abdome: achatado, paralelo ou elevado do plano;
- (4) posição das patas: raspa o solo, apóia, não apóia;
- (5) apoio das patas: apoio dorsal ou plantar;
- (6) coordenação: membros anteriores e posteriores;
- (7) dedos: incidência de impulsões;
- (8) posição predominante das patas: rotação e levanta na marcha;
- (9) instabilidade do tronco: Sim/Não;
- (10) cauda: movimentos para cima e para baixo.

2.8.2 PREPARO DE LÂMINAS

A correta confecção das lâminas é peça chave para o sucesso da análise histológica. Existem diversas técnicas para o preparo de lâminas, sendo que as técnicas utilizadas na análise da lesão medular são similares às técnicas de preparo empregadas para outros tecidos (KAPTANOGLU et al., 2002). Porém, com o surgimento do consórcio de universidades que deu origem ao MASCIS, houve uma recomendação que propõe que se sigam as seguintes recomendações: identificada macroscopicamente a área de contusão, conforme figura 13, efetua-se uma secção de 4 cm (2 cm em sentido cranial e 2 cm em sentido caudal). As secções obtidas a 2 cm cranial e caudal ao local do trauma são submetidas à solução tamponada de

formaldeído a 10%, submetidas a processador automático de tecidos e embebidas em parafina.

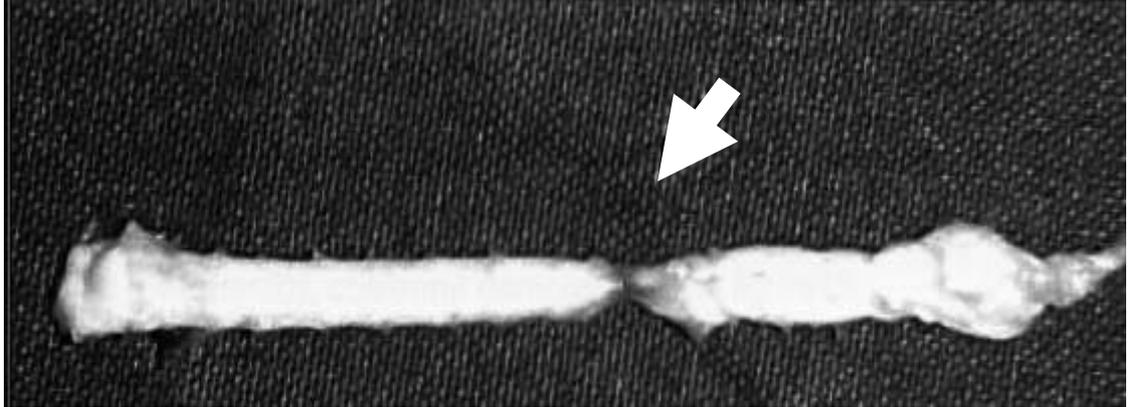


Figura 13 – Seta apontando para a área lesionada (de VIALLE, 2001).

Em seguida, determina-se uma área compreendida entre 0,5 cm cranial e 0,5 cm caudal ao ponto central da contusão. Deste ponto, faz-se cortes histológicos seriados de 5 μ m de espessura, realizados a intervalos de 500 μ m, num total de 10 cortes. Os 1,5 cm proximais e distais restantes são seccionados a intervalos de 5 mm, resultando em três cortes de 5 μ m de espessura para cada área próxima e distal à zona contundida. Após a devida identificação, os cortes são corados pelos métodos de hematoxilina-eosina e *luxol fast blue* para mielina, combinado com cresil-violeta para neurônios. De cada um dos 16 cortes histológicos são produzidas 3 lâminas, sendo 16 coradas por hematoxilina-eosina e 16 coradas por *Luxol Fast Blue*. Em cada lâmina, conforme figura 14, a medula é subdividida em 9 áreas ou compartimentos padrão, 5 delas correspondentes às colunas de substância branca e 4 aos cornos de substância cinzenta. Em cada uma das 9 áreas, são avaliados os quatro critérios de lesão: degeneração de substância branca, hemorragia, perda neuronal e injúria hipóxica neuronal (YOUNG, 2003).

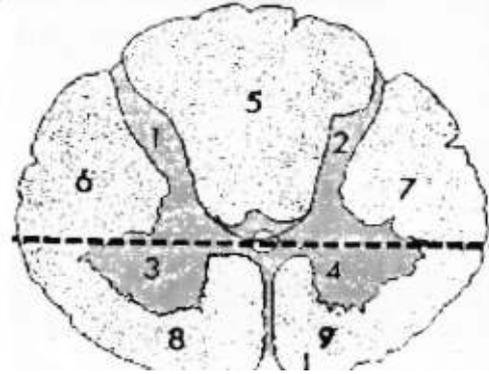


Figura 14 – Desenho representando as 9 áreas de corte (de VIALLE, 2001)

2.9 SENSORES DE DESLOCAMENTO

A maioria dos projetos envolvendo partes mecânicas com movimentos controlados por meio da eletrônica necessita de um dispositivo que permita a comunicação entre as partes mecânicas e eletrônicas. Há a necessidade de se transformar uma forma de energia em outra, geralmente em energia elétrica devido a sua forma apropriada para o processamento em circuitos eletrônicos. Esses dispositivos captam elementos do equipamento ou mesmo elementos externos e enviam para o processamento e controle eletrônico. Para fazer cumprir essa função sensível, existem os transdutores (BRAGA, 2005). No caso específico da lesão medular traumática experimental, observa-se a necessidade da utilização de sensores de deslocamento, os quais passar-se-á a descrever na seqüência.

2.9.1 ENCODER ÓPTICO OU CODIFICADOR ÓPTICO

Os *encoders* ópticos, conforme ilustram as figuras 15 e 16, são sensores de deslocamento que determinam a posição através de um disco ou trilho marcado por onde passa um feixe de luz (BRAGA, 2005). Este feixe de luz é transmitido de um lado do disco ou trilho e recebido do outro lado, gerando um trem de pulso proporcional ao deslocamento do disco.

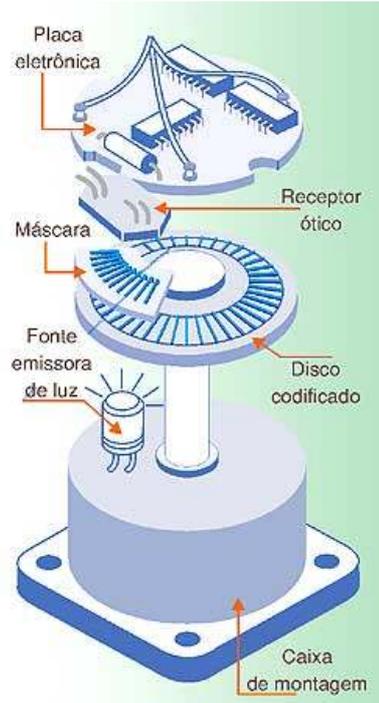


Figura 15 – Princípio de funcionamento do *Encoder* rotacional (de MATIAS, 2005).

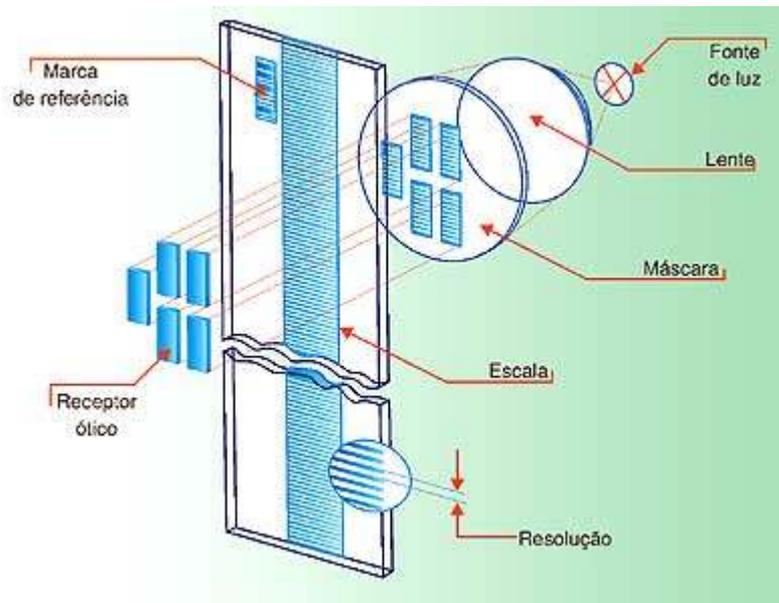


Figura 16 – Princípio de funcionamento do *Encoder* linear (de MATIAS, 2005).

Os *encoders* ópticos podem ser classificados quanto ao tipo de deslocamento a ser medido. Quando medem um deslocamento ao longo de um eixo (trilho) são chamados de lineares, e quando medem um deslocamento ao redor de um eixo (disco) são chamados de rotacionais. Podem, ainda, ser classificados como

absolutos, quando é gravado um código ao longo do disco ou trilho que é lido conforme o movimento; e como relativo, quando o disco ou trilho tem raias ou buracos que, conforme o movimento, interrompe o feixe de luz sendo gerado o pulso (BRAGA, 2005).

2.9.2 ENCODER MAGNÉTICO

Os *encoders* magnéticos são sensores que executam um chaveamento eletrônico devido à presença de um campo magnético externo, próximo e dentro da zona sensível do sensor, proveniente, na maioria dos casos, de um ímã permanente (BRAGA, 2005). Estes sensores podem ser sensíveis aos dois pólos do ímã ou sensíveis a apenas um pólo. O *encoder* magnético pode ter a forma de disco ou trilho, porém, diferente dos *encoders* ópticos, eles são confeccionados com material ferroso que, ao passar pelas raias ou buracos, há uma interrupção do campo magnético sendo gerado o pulso de deslocamento.

2.10 AQUISIÇÃO DE DADOS

O uso de computadores pessoais para fins de instrumentação e controle tem aumentado, principalmente, em decorrência do baixo custo, facilidade e recursos disponíveis na maioria dos modelos de computadores. Hoje é comum o uso de computadores pessoais de configuração básica por cientistas que utilizam placas de expansão para pesquisas laboratoriais, teste e medições. Para este uso ter qualidade e performance satisfatórias, deve-se especificar o uso para propriedades como tipo de sensor a ser utilizado, técnica de condicionamento de sinais, conversão de sinais analógicos, *software* e *hardware* de medição (BRAGA, 2005).

2.10.1 CONDICIONAMENTO DE SINAIS

Na definição de um projeto de aquisição de dados para medição de grandezas, geralmente, depara-se com grandezas que geram sinais de baixa intensidade e qualidade, ou seja, os sinais de saída dos transdutores ou sensores

muitas vezes precisam ser condicionados de modo a prover sinais adequados para os dispositivos de instrumentação. O condicionador de sinal é apresentado de várias formas, como módulos dedicados ao condicionamento de sinal, condicionamento embutido no dispositivo de instrumentação (a exemplo de um multímetro digital ou osciloscópio). Basicamente, o estágio de condicionamento de sinais em um circuito consiste em um estágio em que o sinal é deixado de uma maneira bem definida para que o sinal seja compreendido pelos demais estágios do circuito (COBBOLD, 1974). Condicionadores de sinal amplificam sinais de baixa amplitude, isolam, filtram, excitam, e provêem uma ponte para a geração de um sinal apropriado para o dispositivo de instrumentação (WEBSTER, 1998).

2.10.2 CONVERSÃO ANALÓGICO-DIGITAL

As grandezas encontradas na natureza encontram-se em forma analógica. Por isso, quando se deseja efetuar uma aquisição de dados através de uma interface que é interligada ao computador, faz-se necessário que essa interface efetue a conversão da forma analógica para a digital, que é a forma utilizada pelo computador (OPPENHEIM et al, 1975).

Para entender como acontece a conversão analógico-digital é importante, a compreensão do Teorema de Nyquist, o conceito de taxa de amostragem e a largura de banda. De acordo com o Teorema de Nyquist, a taxa de amostragem (frequência) mínima deve ser o dobro da frequência mais alta do sinal amostrado (MOORE, ZOURIDAKIS, 2004). Teoricamente, é possível recuperar informação de sinais abaixo da Frequência de Nyquist. A taxa de amostragem é aquela na qual um sinal é adquirido e discretizado por um conversor analógico-digital. A largura de banda analógica descreve a faixa de frequências (em hertz) em que um sinal pode ser digitalizado com precisão. Esta limitação é determinada pela resposta em frequência do canal de entrada do digitalizador. Sinais de entrada com frequências acima da largura de faixa resultam em perda de amplitude e deslocamentos de fase (SEMMLOW, 2004).

2.11 CONTROLE E AUTOMAÇÃO

Não existe propriamente uma definição conceitual uma sobre controle e automação, no entanto, existem explicações. O objetivo do desenvolvimento de sistemas com técnicas de controle e automação decorre da necessidade de tornar as máquinas, processos, produtos em sistemas que trabalhem de maneira auto-regulada e ou auto-gerenciada. Para o alcance deste objetivo, o sistema deve possuir um controlador que pode ser mecânico, eletro-eletrônico, software ou eletro-pneumático (BRAGA, 2005). Na figura 17, pode-se visualizar o diagrama de blocos de um sistema de controle básico.

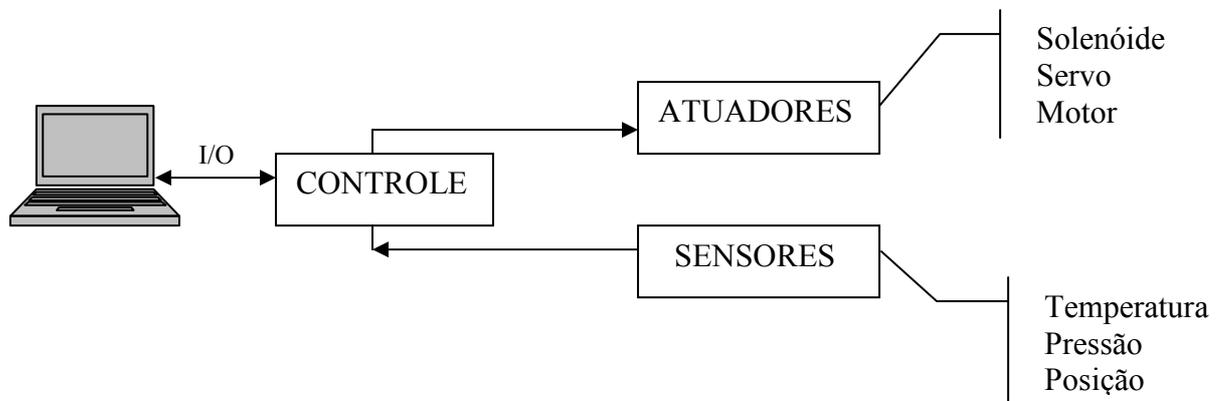


Figura 17 – Diagrama básico de um sistema de controle e automação.

O sistema automatizado tem como elementos comuns os sensores, atuadores e o controlador. Sensores são os elementos que fazem a leitura do atual estado da máquina enviando para o centro de controle a situação do processo para que este tome as medidas necessárias. Existem sensores para leitura das mais diversas grandezas como posição, temperatura e pressão. Já os elementos atuadores são aqueles que produzem alguma ação no mecanismo, atendendo a comandos que podem ser manuais ou automáticos. Pode-se citar os solenóides, os servo-motores e motores que realizam movimentos induzidos pelo centro de controle sobre a máquina. Estes elementos têm um caminho comum, são concentrados no centro de controle. Diante disto, o sistema de controle faz a leitura dos sensores (entrada) para saber da atual posição do processo, jogam estes dados em uma lógica que envia um comando para que os atuadores realizem a tarefa desejada. Os centros de controle geralmente são placas de expansão microprocessadas ou conectadas a um

computador. Esses dispositivos responsáveis pelo controle de mecanismo têm a característica de possuir portas de entradas e saída (portas de I/O) que servem para a comunicação entre os elementos do sistema. As portas de I/O podem utilizar portas e barramentos como porta serial, paralela, barramento agp, pci para fazer o interfaceamento. Além de permitir a comunicação com os elementos do sistema, pode fazer a comunicação com outros sistemas (MINK, TERRA, 1997).

2.12 PROCESSAMENTO DE IMAGEM

As primeiras aplicações envolvendo aquisição e processamento de imagem datam da segunda década do século XX decorrente do impulso tecnológico gerado pelos programas espaciais (MARQUES, VIEIRA, 1999). Outro fator determinante da disseminação do processamento de imagem decorre do lançamento e popularização a preços reduzidos dos computadores pessoais (SNELLING, 1984).

Hoje em dia, a diversidade de aplicativos de processamento de imagens abrange praticamente todos os ramos da atividade humana, como Medicina, Biologia, Meteorologia ou Engenharia.

A medicina é uma das áreas que mais tem sido beneficiada pela evolução exponencial da computação nos últimos anos. Tal evolução tem contribuído para o crescimento da ciência através de um suporte a simulações e experimentos o que tornou mais rápido, eficaz e simples o teste e comprovação experimental. A simbiose entre medicina e computação poupa o pesquisador da realização de tarefas cansativas e demoradas como as análises histológicas (DUCAN, 2000).

Sistemas para a aquisição e processamento de imagem envolvem *hardware* e *software*. O *hardware*, geralmente uma placa de aquisição acoplada a uma câmera, captura as imagens e as envia ao *software* que, sob a forma de algoritmos, processa a imagem (MARQUES, VIEIRA, 1999). A maioria das rotinas de processamento de imagem são implementadas via *software*. Desta forma, faz-se necessário uma interface que permita a manipulação de rotinas e implementações matemáticas que possibilitem a automatização dos procedimentos. Desta forma, o sistema de processamento digital de imagem tem a função de modificar as informações contidas na imagem com o intuito de torná-las passíveis de interpretação visual e

quantificação (GONZALEZ, 2004). Isto faz com que as informações estejam nítidas para serem classificadas, medidas, contadas e comparadas. A maioria das informações resultantes da leitura de uma imagem digital é de formato numérico, ou seja, com dados relativos áreas, perímetros, volumes, intensidade, cor, etc.

Embora exista uma grande variedade técnicas e metodologias diferenciadas de aquisição e processamento de imagens, a presente pesquisa dará ênfase ao *software* MatLab® que será descrito no próximo tópico.

2.12.1 MatLab®

O Matlab® é um ambiente de desenvolvimento com uma linguagem intuitiva e um ambiente computacional técnico de fácil utilização. Tem um conjunto de ferramentas de extensão (*toolbox*) que contém diversas funções matemáticas já implementadas, úteis para o processamento e aquisição de imagem. Ou seja, podem ser incorporadas rotinas pré-definidas e pacotes para cálculos específicos. Ele consegue reunir em um ambiente a computação matemática, uma linguagem intuitiva com alta taxa de reaproveitamento de código, já que possui uma gama de funções implementadas na forma de *toolbox*, bem como faz de maneira simples acesso a dispositivos de *hardware*. Os comandos do Matlab® são muito próximos da forma como se escreve expressões, o que torna seu uso simples e fácil. Não é uma linguagem compilada, portanto, é mais lenta, um grande número de funções importantes são *built-in*, ou seja, se for possível escrever código com as funções definidas no Matlab® ao invés de implementar código próprio o resultado final é um programa tão ou mais rápido que um desenvolvido totalmente em uma linguagem tradicional (MATHWORK, 2005). Uma desvantagem encontrada nos aplicativos criados no Matlab® é que estes só rodam no ambiente Matlab®. Logo, para executar programas em linguagem Matlab® é necessário ter instalado o software Matlab®.

Com base nestas características pode-se dizer que o ambiente Matlab® acelera o desenvolvimento e reduz o tempo despendido com programação.

As imagens no Matlab® podem ser tratadas como um sinal de forma bidimensional ou mesmo tridimensional em alguns casos. Imagens bidimensionais são representadas na forma de um vetor bidimensional, já imagens volumétricas são

representadas por vetores tridimensionais. Neste último caso as imagens podem ser construídas a partir de múltiplos vetores bidimensionais. Desta forma, independente do formato da imagem, esta sempre é representada por um ou mais vetores bidimensionais. Estes vetores são da forma $I(m,n)$, onde I representa o menor elemento da imagem (*pixel*). O conjunto de elementos são corriqueiramente indexados em matrizes de forma que 'm' e 'n' representam a localização vertical e horizontal do elemento. Esta forma de indexar os elementos é reconhecida pelo Matlab como *pixel coordinates*, no entanto não é a única. Os elementos também podem seguir a forma espacial de indexação (*spatial coordinates*) onde os elementos são colocados em um plano de coordenadas. Nesta forma de indexação as coordenadas da imagem colocada sobre o plano são localizadas e representadas por variáveis 'x' e 'y', como em um plano cartesiano (SEMMLLOW, 2004).

O Matlab® possui 4 diferentes classes ou esquemas de codificação de imagens com o intuito de otimizar o uso de memória e seu reflexo nas escalas de cores, de cinza e preto e branco. O esquema de imagens indexadas (*indexed*) e imagens RGB são utilizados para armazenar imagens coloridas. As imagens indexadas não são recomendadas para o processamento de imagens, porém fornece de modo fácil e flexível a colorização de imagens em escalas de cinza com o auxílio do *toolbox* de processamento de imagem. Já o esquema RGB, produz o efeito chamado *truecolor* onde o esquema de cores é dividido em 3 vetores de cores fundamentais: vermelha (*red*), verde (*green*) e azul (*blue*). Estas cores são passíveis de modificação independentes através do ajuste em seus vetores. Outro esquema de codificação é a classe de intensidade (*intensity*) onde cada ponto representa o brilho ou o valor da escala de cinza. Por isso, esta classe é amplamente utilizada nas imagens em escala de cinza. Já nas imagens em preto e branco, o esquema mais utilizado é o binário (*binary*), pois o vetor pode ser representado em um esquema lógico de 0 e 1 (SEMMLLOW, 2004).

Para reduzir os requisitos de armazenamento de imagem o Matlab® prove os formatos de dados *uint8*, *uint16* e *double*. Os formatos *uint8* e *uint16* reservam 1 ou 2 bytes para cada elemento do vetor, já o *double* reserva 8 bytes para cada elemento (SEMMLLOW, 2004).

O Matlab® prove uma série de comandos para mostrar uma imagem na tela, sendo o comando *imshow* o mais simples e usado. Sua chamada de função segue o formato: *imshow (I, arg)*. 'I' é o vetor da imagem e 'arg' o argumento que varia de acordo com o formato da imagem (MATHWORK, 2005).

O armazenamento de imagem no Matlab® pode ser efetuado através do comando *imwrite*. Este comando tem chamada *imwrite (I, nomedoarquivo.ext, arg1, arg2,...)*, onde 'I' é o vetor da imagem, 'ext' é a extensão do arquivo e 'arg' é o argumento. Vale ressaltar que o Matlab® aceita como extensão formatos como: .bmp, .gif, .jpeg, .png, .pcx e .tiff. Da mesma forma que o arquivo pode ser gravado com o comando *imwrite*, outro comando pode ser usado para a leitura de arquivos. Este comando é chamado *imread*, tendo sua chamada de função na forma: *imread ('nomedoarquivo.ext')*. Desta forma pode-se efetuar o armazenamento e a leitura de arquivos através de comandos simples e sugestivos (MATHWORK, 2005).

No processamento de imagem operações básicas de matemática são essenciais para a manipulação das propriedades das imagens. Neste aspecto o Matlab® é uma ferramenta que de forma fácil e útil prove ferramentas para operações como adição, subtração, multiplicação e divisão de imagem, e até mesmo entre imagens. Por exemplo, operações aritméticas de multiplicação e adição por constantes é uma maneira simples de aumentar o brilho ou o contraste de uma imagem (SEMMLOW, 2004). Desta forma, o Matlab® torna-se uma ferramenta poderosa que através da matemática proporciona uma infinidade de operações lógicas que resultam no processamento e otimização da imagem.

A segmentação é uma das principais operações na análise histológica automatizada através do processamento de imagem, pois é através desta operação que os objetos de interesse são diferenciados para descrição e reconhecimento posteriores. Tem especial valor para a medicina pela capacidade de separar e identificar estruturas biológicas de interesse (SEMMLOW, 2004). Duas são as técnicas que as operações de segmentação estão baseadas: descontinuidade e similaridade. Na descontinuidade a diferenciação é feita com base nas mudanças de tons de cinza o que permite a identificação das bordas da imagem. Já na similaridade, a diferenciação é feita com base em limiares de aglomeração ou regiões (SEMMLOW, 2004).

O Matlab® através de suas rotinas *built-in* prove uma série de ferramentas para se efetuar a segmentação. As operações mais básicas são efetuadas com as funções *im2bw*, *grayscale* e *imhist*, no entanto, há rotinas como *edge* que realiza a detecção de bordas através de algoritmos diversos. A chamada para esta função é: $I_edge = edge(I_f, 'método', .3)$, no campo método pode ser colocado o tipo de filtro que será utilizado.

Além das funções de filtro e segmentação, o Matlab® traz operadores morfológicos que são muito úteis no processo de detecção das estruturas de interesse biológico. Dentre os operadores morfológico mais importantes no *toolbox* de processamento de imagem estão a dilatação e a erosão. A dilatação tende a expandir bordas, limiões ou regiões, enquanto a erosão tende a comprimir ou eliminar pequenas regiões (SEMMLOW, 2004). No Matlab® as funções de dilatação e erosão são respectivamente *imdilate* e *imerode*, tendo como chamada de função $I = imdilate(I, estrutura)$ e $I = imerode(I, estrutura)$ onde 'estrutura' é a variável que indica a forma geométrica que deseja-se utilizar na erosão ou dilatação. As figuras geométricas de erosão e dilatação podem ser do tipo disco, linha, retângulo, diamante e quadrado.

CAPÍTULO 3

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 VISÃO GERAL

O sistema idealizado contém, basicamente, dois módulos: o módulo de contusão e o módulo de análise histológica. O módulo de contusão, conforme ilustrado na figura 18, é dividido em *hardware* e *software*. No módulo de *hardware*, há uma estrutura mecânica, os sensores, a placa de aquisição e o microcomputador. O *software* envolve os programas de aquisição de dados e da interface com o usuário.

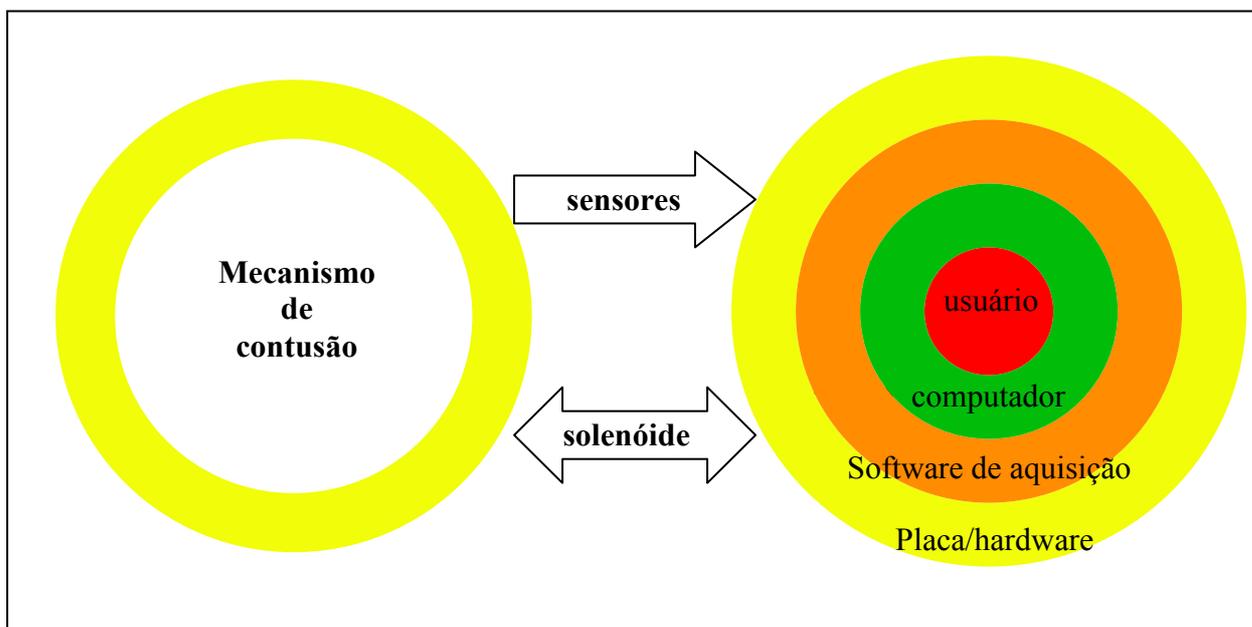


Figura 18 – Módulo de contusão

O módulo de análise histológica, ilustrado na figura 19, compõe-se de *hardware* e *software*, sendo o *hardware* um microcomputador, uma placa de aquisição, e um microscópio acoplado a uma câmera. O *software* compõe-se de programa de aquisição e processamento de imagem.

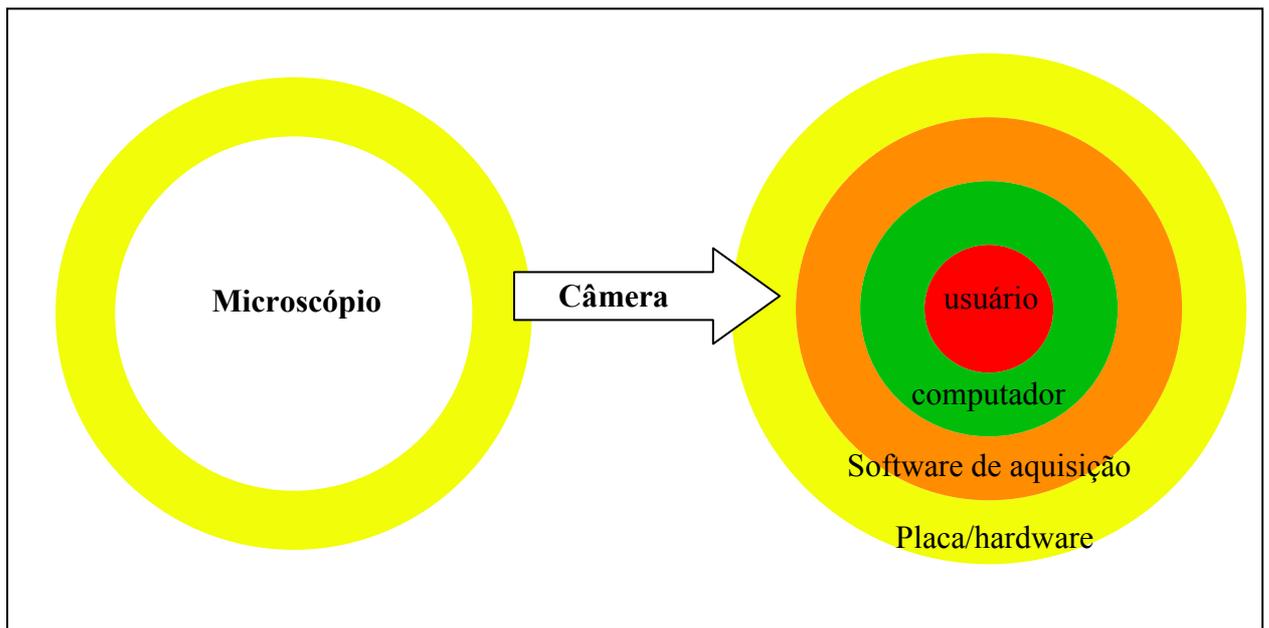


Figura 19 – Módulo de análise histológica.

3.2 MÓDULO DE CONTUSÃO

Este módulo é responsável pela produção da lesão padronizada, sensoriamento da deformação produzida pelo impacto e armazenamento dos dados de cada experiência.

3.2.1 *Hardware* do módulo de contusão

O *hardware* do módulo de contusão, ilustrado na figura 20, é formado por 3 blocos principais:

- (1) mecanismo de contusão: é responsável pela contusão medular propriamente dita;
- (2) placa de aquisição: efetua a comunicação entre os sensores e atuadores do mecanismo de contusão e o PC;
- (3) PC: é responsável pela leitura, processamento e armazenagem dos dados.

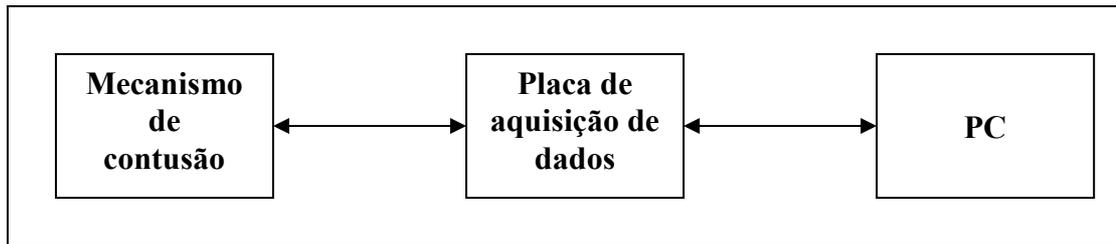


Figura 20 – Diagrama de blocos do módulo de contusão

Com esta composição, pode-se definir o fluxo de dados dos blocos. A figura 21 mostra que o mecanismo de contusão sofre a influência de duas implicações que são os sensores e o solenóide, que a placa de aquisição recebe informações dos sensores e envia para o PC e recebe comando do PC, que aciona o solenóide.

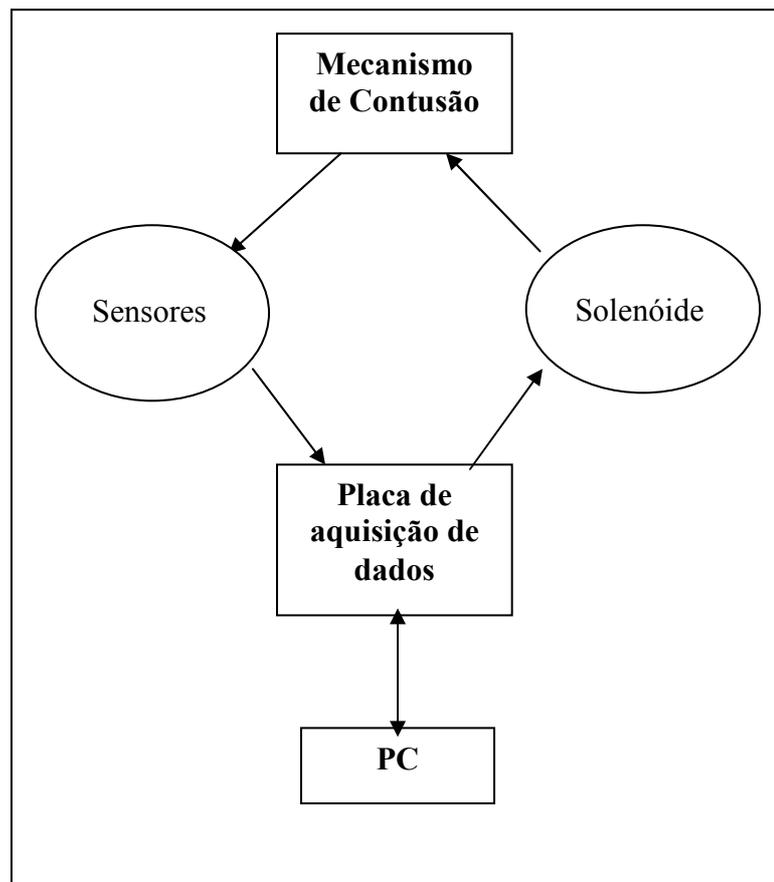


Figura 21 – Diagrama de fluxo do módulo de contusão.

3.2.1.1 Mecanismo de Contusão

A figura 22 ilustra o mecanismo de contusão idealizado, que segue o modelo de queda de peso proposto pelo Dr. Allen (1911). O mecanismo idealizado tem três graus de liberdade, ou seja, desloca-se em três direções: altura, largura e profundidade; sendo estes movimentos realizados por parafusos seguindo *design* proposto por Farooque (2000). Já as hastes de contusão e controle de deslocamento seguem o *design* do modelo NYU.

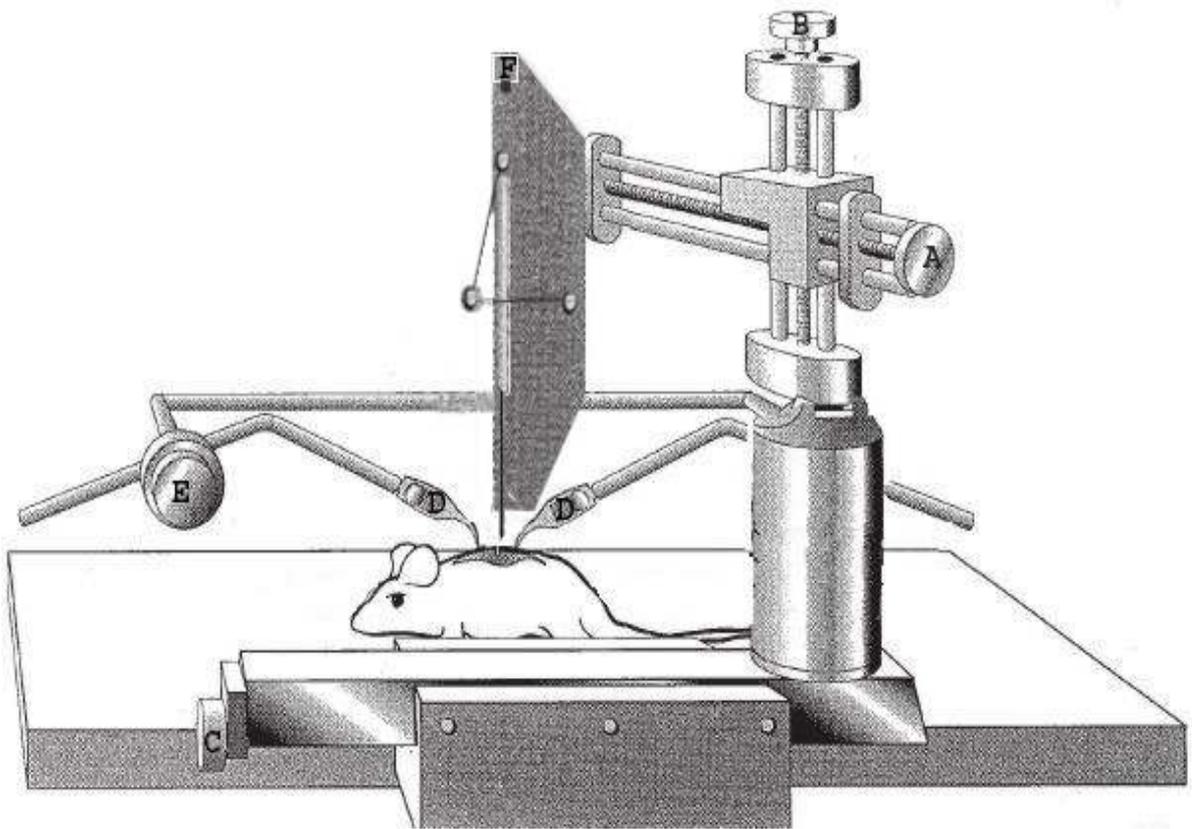


Figura 22 – Visão geral do mecanismo de contusão idealizado onde A indica o parafuso de deslocamento do eixo z, B indica o parafuso de deslocamento no eixo y, C indica o parafuso de deslocamento x, D indica as pinças de fixação do animal, E indica o parafuso de regulação das pinças, F indica o solenóide.

A figura 23 mostra uma visão explodida da haste de contusão passando por dentro do tubo metálico em corte horizontal, onde pode-se visualizar as hastas que articulam o mecanismo ligado ao *encoder 1*.

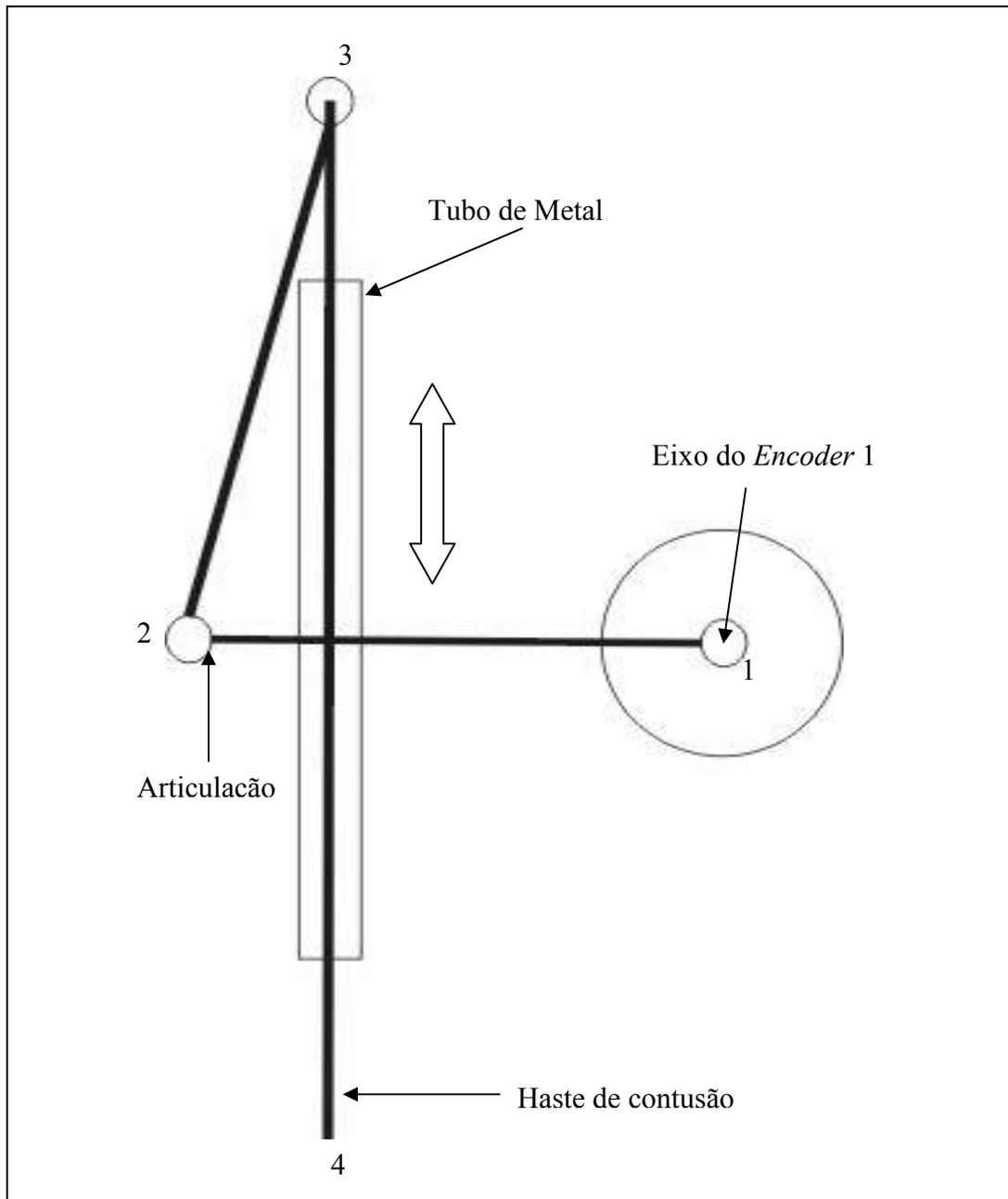


Figura 23 – Mecanismo de contusão.

Esse mecanismo articulado possui 3 hastes:

- (1) do ponto 1 ao 2 com 108 mm de comprimento, diâmetro de 2,06 mm e peso de 1,3085 g;
- (2) do ponto 2 ao 3 com 84 mm de comprimento, diâmetro de 2,4 mm e peso de 1,6240 g;
- (3) do ponto 3 ao 4 com 200 mm de comprimento, diâmetro de 2,95 mm e peso de 5,9304 g.

Na ponta da haste de contusão, articulada no ponto 3, possui um pino de metal ferroso que permite a aderência ao eletro-ímã. As articulações dos pontos 1, 2, e 3 são construídas com náilon, que é um material auto-lubrificante. Na entrada e saída do tubo de metal de 10 cm também existe náilon para que a haste de contusão possa deslizar por dentro do tubo. A seta de dupla implicação, ao lado do tubo de metal, indica o sentido de movimento da haste de contusão. Com esta composição articular, o mecanismo poderá ser ajustado de forma gradual para uma queda de alturas variáveis de 0 até 5 cm. Desta forma, esse mecanismo articulado transfere o peso da haste de contusão para o animal, provocando a lesão medular.

A figura 24 ilustra o mecanismo articulado responsável pela captura de qualquer movimento da coluna do animal. Este mecanismo é formado pelas seguintes partes:

- (1) do ponto 1 ao 2, haste com 40 mm de comprimento articulada ao eixo do encoder no ponto 1;
- (2) do ponto 2 ao 3, haste com 80 mm de comprimento articulada por náilon;
- (3) tubo de metal de 30 mm com extremidades com náilon.

Na ponta da haste, que vai do ponto 2 ao 3, existe uma pequena barra transversal de 10 mm. Esta pequena barra fica posicionada sobre o processo espinhoso. Sendo que qualquer movimento no sentido da seta ao lado do tubo de metal é detectado pelo *encoder*.

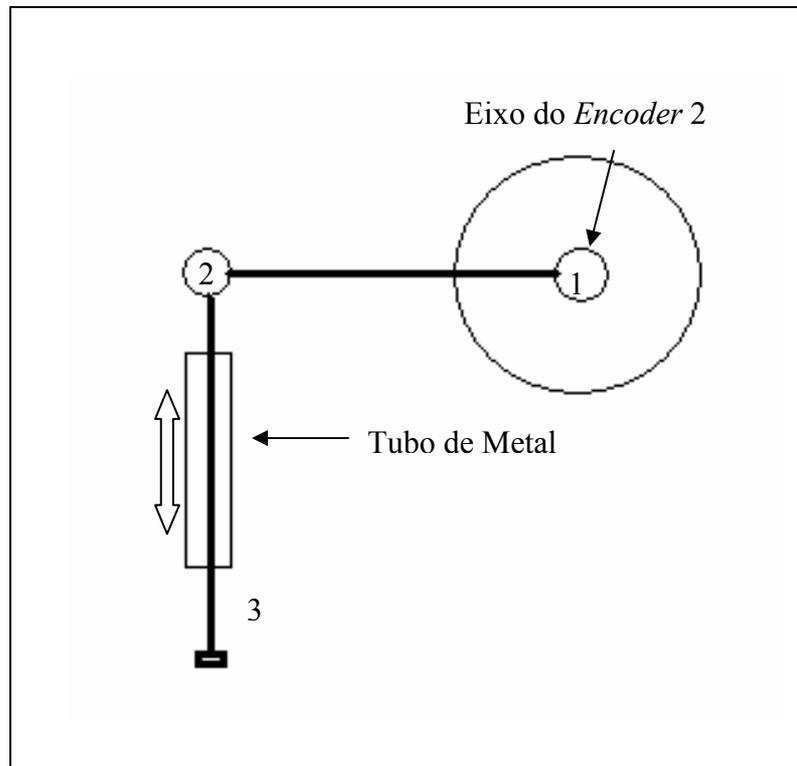


Figura 24 – Mecanismo de controle de deslocamento medular.

Todas as peças do dispositivo foram desenhadas detalhadamente para usinagem em formato de desenho técnico, e podem ser vistas no anexo 1.

A figura 25 ilustra como as hastes ficam posicionadas no animal que será submetido à contusão. A medula do animal é exposta por laminectomia² ao nível da décima vértebra torácica (T10), ou seja, a parte óssea da coluna vertebral é retirada para expor a medula. Feito isto, a haste de controle de deslocamento é posicionada sobre o processo espinhoso da nona vértebra torácica (T9), e a haste de contusão é liberada sobre a medula exposta.

² Excisão de lâmina vertebral.

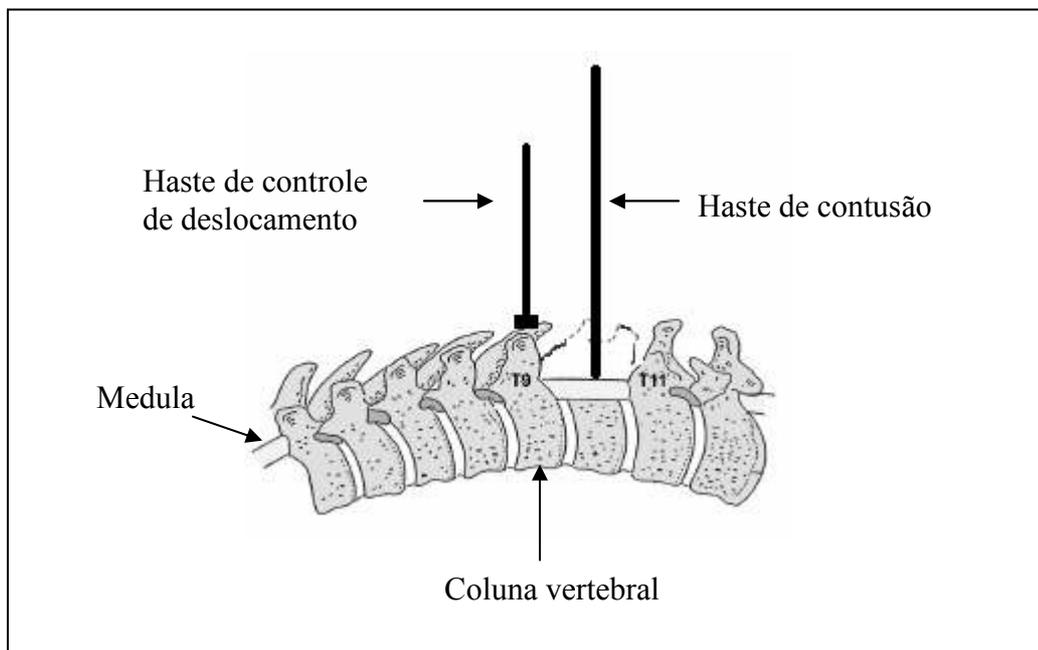


Figura 25 – Ilustração do posicionamento das hastes no animal.

3.2.1.2 Placa de aquisição

A placa de aquisição transforma o microcomputador PC em um instrumento de medição e controle. Ela permite monitorar processos e promover ações de controle com comandos em linguagens de alto nível, neste caso, Linguagem C. A figura 26 ilustra, através de diagrama de blocos, a estrutura da placa de aquisição.

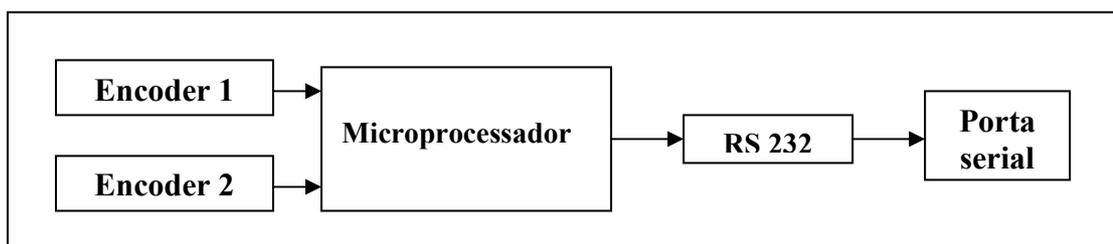


Figura 26 – Diagrama de blocos da placa de aquisição.

A placa de aquisição tem como entrada os sinais do *encoder 1* (haste de contusão) e *encoder 2* (haste de controle de deslocamento). Os sinais são enviados

ao microprocessador onde são processados matematicamente. Como saída, a placa de aquisição tem um sinal serial que é enviado para a porta serial do computador após passar pelo circuito integrado MAX 232. Esta placa foi projetada com o intuito de prever futuras expansões de recursos, sendo que foram deixadas 8 portas do microprocessador livres. Com os recursos da placa de aquisição, pode-se monitorar grandezas analógicas e digitais, além de enviar sinais de controle. Como a placa permite expansão e fica na parte externa do computador, pode-se, por exemplo, expandir os recursos para medidas de temperatura e pressão. Conforme ilustrado na figura 25, a placa de aquisição tem uma interface com o computador através da porta serial e prima pela mobilidade, ou seja, o fato de ser externa ao computador e com tamanho de 5,5x11,5 cm permite que seja portada facilmente. A planta baixa da placa de aquisição com suas principais conexões e circuitos elétricos pode ser vista no Anexo 2.

3.2.1.3 Computador

O computador tem a função de enviar comandos para a placa de aquisição acionar o solenóide, coletar dados dos sensores, assim como armazenar os dados. Toda a comunicação com a placa de aquisição é feita via porta serial do computador. Para tal tarefa, utilizou-se a seguinte configuração:

- (1) IBM/PC compatível com o mínimo de 128 MB de memória RAM e processador de 1 GHz;
- (2) placa mãe com porta serial;
- (3) placa de vídeo com entrada para sinal de vídeo;
- (4) monitor VGA;
- (5) sistema operacional Windows 98 ou superior.

Com essa configuração, garante-se tanto a utilização do equipamento no módulo de contusão como no módulo de análise histológica.

3.2.2 Software do módulo de contusão

O software de operação do módulo de contusão foi desenvolvido em Microsoft Visual Basic, apresentando uma interface limpa e intuitiva para o usuário final. A escolha do Visual Basic deve-se ao fato de ser um ambiente de desenvolvimento RAD (Rapid Application Development) com codificação simples tanto na captura dos dados da porta serial quanto no armazenamento dos valores em um sistema gerenciador de banco de dados. Também há o fato de que os dados resultantes da contusão na cobaia são processados diretamente na placa de aquisição do módulo de contusão. Então, o programa tem por função mostrar os resultados obtidos de forma clara ao usuário e também servir de interface com o sistema gerenciador de banco de dados.

Internamente, o programa envia um comando (no caso, o sinal para iniciar é representado por um número inteiro) para a placa acionar o sistema. Após a finalização da experiência, a placa de aquisição envia ao software as variáveis *encA*, *encB* e *temC* (pela ordem, valores do *encoder A*, do *encoder B* e do tempo de queda). Respectivamente, representam os deslocamentos das barras 1 e 2 e o tempo que a haste de contusão levou para sair do solenóide até o contato com a medula do animal. Esquemáticamente, o sistema pode ser visto na figura 27.

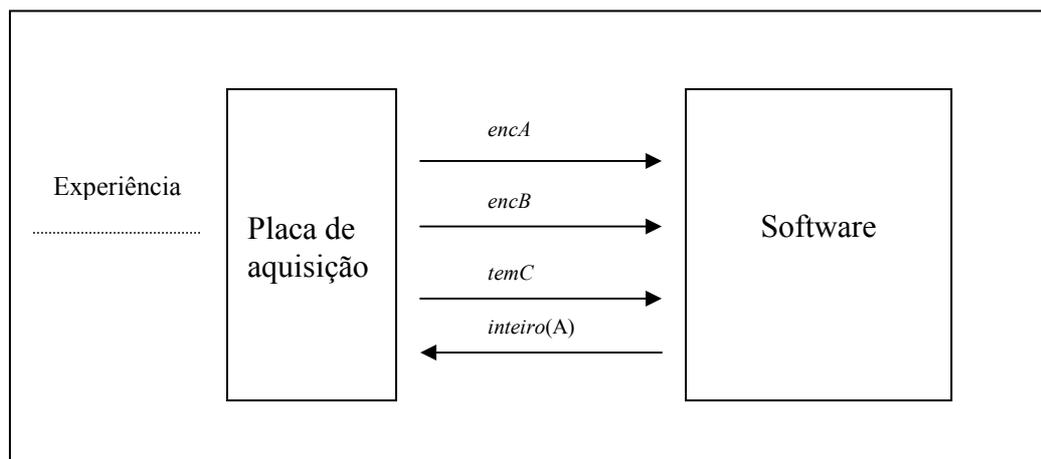


Figura 27 – Diagrama de fluxo de dados.

Uma vez capturados os resultados, juntamente com dados básicos da experiência, tais como denominação e data, eles podem ser gravados em banco de

dados para posterior uso e/ou comparação. Para fins de testes durante o desenvolvimento do trabalho, utilizou-se o gerenciador de banco de dados MySQL para armazenar os resultados. Mesmo assim, qualquer banco de dados que suporte interface ODBC (Open Database Connectivity) pode ser usado com o sistema.

Neste estudo, foi empregada a análise essencial de sistemas para modelagem do sistema, haja visto que uma abordagem mais complexa, como orientação a objetos, seria desnecessária já que, em suma, o software apenas apresentará os dados processados pela placa. O esquema de processamento do programa pode ser entendido com o auxílio da figura 28, que mostra os dados chegando da placa de aquisição na forma de três variáveis x_1 , x_2 e t_1 que, respectivamente, referem-se ao dados do sensor A, sensor B e tempo de experiência, bem como mostra o processamento destes dados através da geração de relatórios e gráficos e armazenamento dos dados.

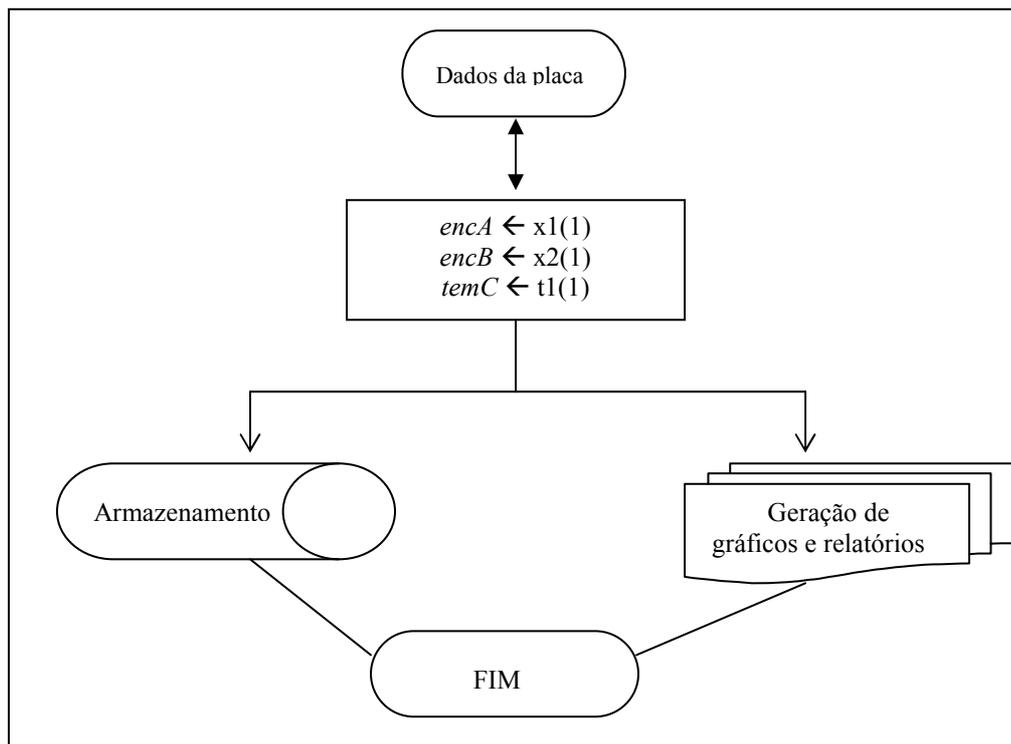


Figura 28 – Processamento do programa.

Para operação do sistema, conforme ilustra figura 29, o usuário primeiramente deve preencher os campos nome, idade e peso do animal. Após, deve ativar o módulo clicando o botão “Ativar”. Com isso, as variáveis internas são

liberadas e um bit é enviado à porta serial, fazendo com que o solenóide seja ativado e a haste de contusão presa. A partir desse ponto, basta ao usuário aguardar 10 s para que a haste de contusão seja liberada para queda.

Assim que os dados são enviados à porta serial, através do componente MSComm, nativo do Visual Basic, o programa captura o resultado e o exibe nas caixas de texto “Deslocamento da Coluna (mm)”, “Distância da haste (mm)” e “Tempo de queda (ms)”. O Deslocamento da coluna pode gerar tanto um resultado negativo (a favor da gravidade) ou positivo (contra a gravidade). Da mesma forma, a distância percorrida pela haste, é negativa, pois esta movimenta-se a favor da gravidade.

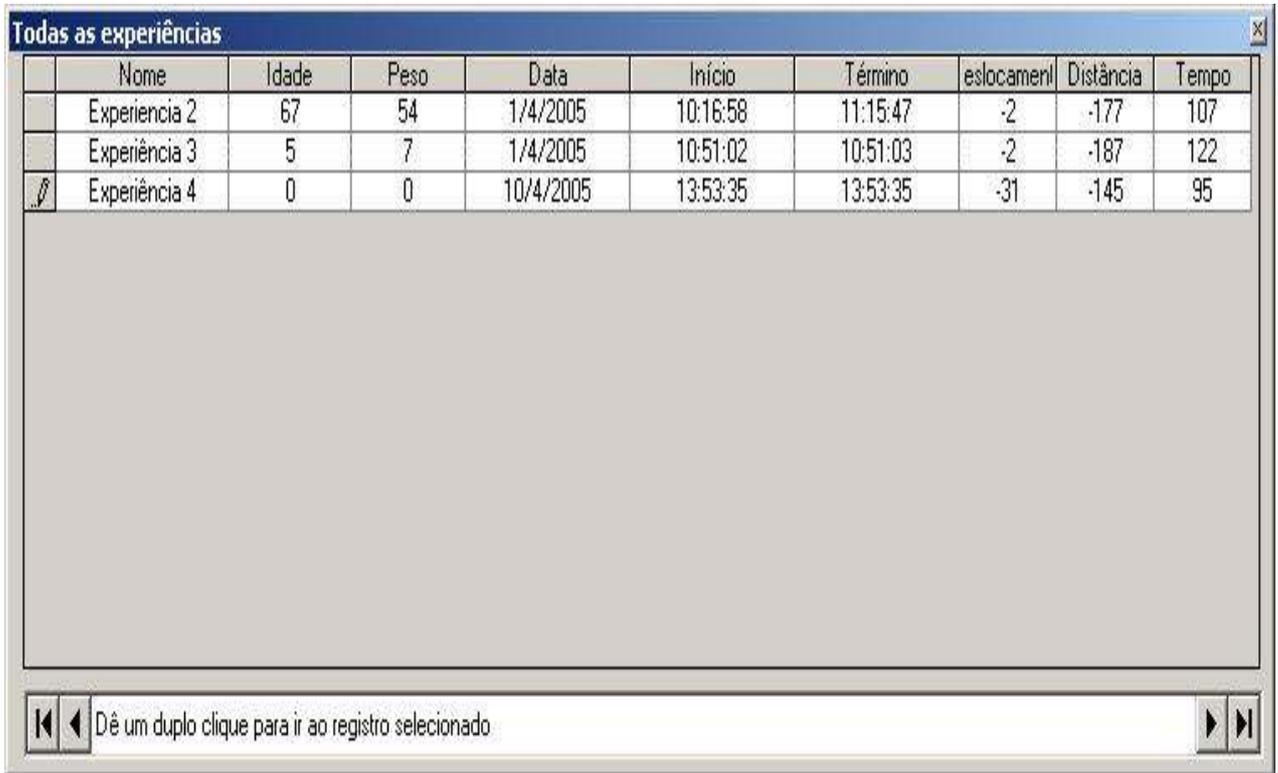
Dados da Experiência					
Nome:	Experiencia 2	Idade da Cobaia (dias):	67	Peso da Cobaia (g):	54
Data:	1/4/2005	Hora de Início:	10:16:58	Hora de Término:	11:15:47

Resultados da Experiência					
Deslocamento da coluna (mm):	-2	Distância da haste (mm):	-177	Tempo da queda (ms):	107

Figura 29 – Tela principal do programa que aciona e grava dados da experiência mostrando uma distância percorrida de 177 mm e um deslocamento da coluna de 2 mm a favor da gravidade, sendo que a haste demorou 107 ms para sair do ponto inicial até o ponto final da lesão.

Com a finalização da captura dos dados e exibição para usuário, um clique no botão “Salvar” gravará o resultado no banco de dados. O botão “Excluir” serve para

que o procedimento que estiver sendo mostrado na tela seja apagado do banco de dados. Além desses, o botão “Visualizar” abre outra tela com os resultados das experiências que estão armazenados no banco de dados, conforme ilustra a figura 30.



	Nome	Idade	Peso	Data	Início	Término	deslocamenl	Distância	Tempo
	Experiencia 2	67	54	1/4/2005	10:16:58	11:15:47	-2	-177	107
	Experiencia 3	5	7	1/4/2005	10:51:02	10:51:03	-2	-187	122
	Experiencia 4	0	0	10/4/2005	13:53:35	13:53:35	-31	-145	95

Figura 30 – Tela do programa que mostra os resultados de todas as experiências armazenadas no banco de dados: idade em dias, peso em gramas, deslocamento em milímetros, distância em milímetros e tempo em mili segundos.

O seguinte pseudo-código é executado pelo programa durante a execução:

- (1) abre porta serial;
- (2) envia inteiro para a porta serial;
- (3) aguarda 10 s;
- (4) captura conteúdo porta serial;
- (5) armazena valores nas variáveis encA, encB e temC;
- (6) fecha porta serial;
- (7) exhibe resultados na tela.

3.3 PROTÓTIPO DO MECANISMO DE CONTUSÃO

Devido à falta de recursos financeiros para a confecção das peças do mecanismo de contusão o projeto foi prototipado (figura 31) sobre o mecanismo do impactor NYU, o qual segue o mesmo princípio de funcionamento idealizado por Allen (1911) e proposto neste estudo.

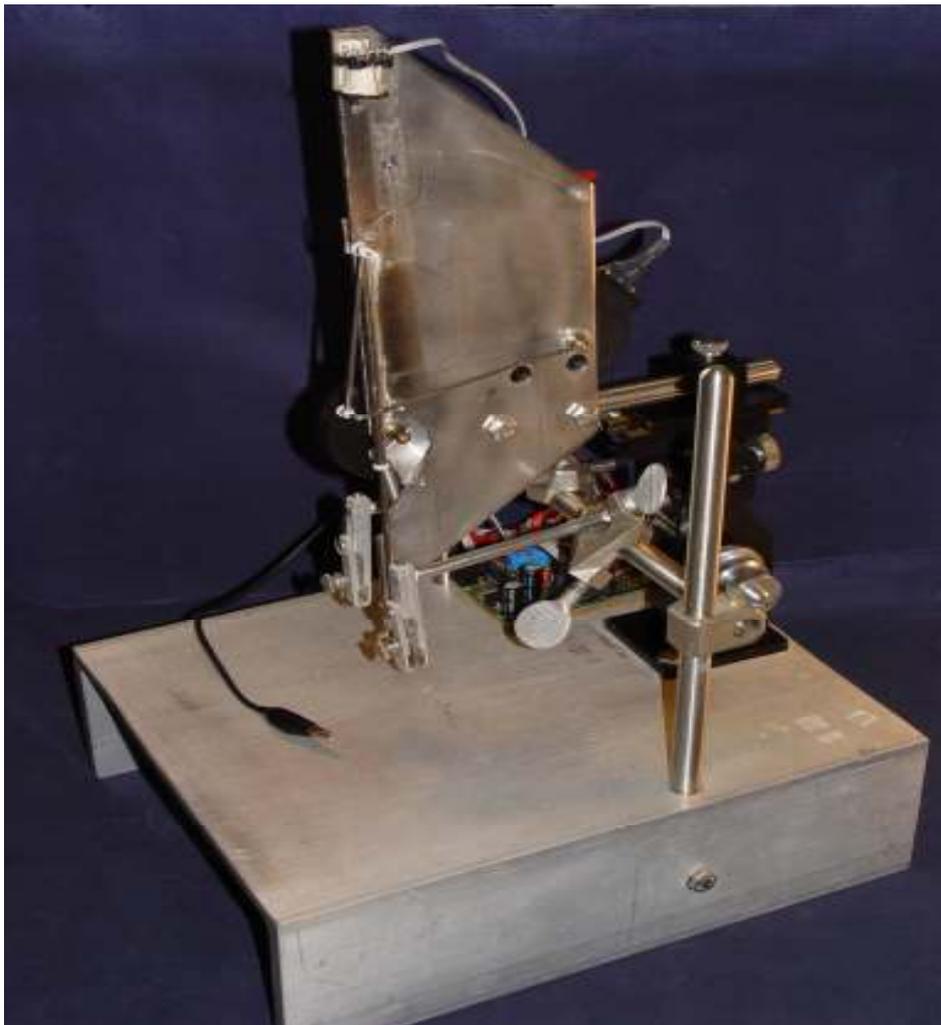


Figura 31 – Protótipo sobre o impactor NYU

Neste protótipo, figura 32, foram incluídos os elementos de automação: solenóide e placa de aquisição e controle. O solenóide prende e solta a haste de contusão automaticamente, de acordo com o comando da placa de aquisição e

3.4.1 Hardware do módulo de análise histológica

O *hardware* do módulo de análise histológica, conforme ilustra a figura 33, é formado por 3 blocos principais:

- (1) microscópio: é responsável pela ampliação das lâminas e captura das imagens através de uma câmera;
- (2) placa de aquisição: efetua a comunicação entre a câmera e o PC;
- (3) PC: responsável pela leitura, processamento e armazenagem dos dados.

Com essa composição, pode-se definir o fluxo de dados dos blocos no seguinte sentido: o microscópio amplia a imagem da lâmina, a câmera captura essa imagem, a placa de aquisição envia comandos para a câmera, recebe a imagem e envia para o computador.

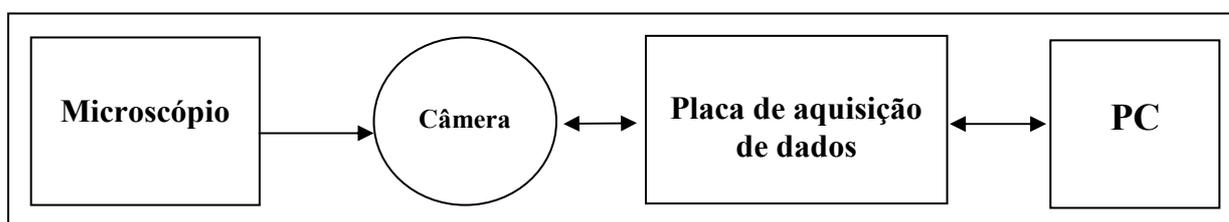


Figura 33 – Diagrama de fluxo do módulo de análise histológica.

3.4.1.1 Microscópio

Utilizou-se, conforme mostra a figura 34, um microscópio binocular com as seguintes especificações:

- (1) canhão binocular com ajuste interpupilar e suporte para acoplamento de câmera;
- (2) oculares com aumento de 10x;
- (3) objetivas com aumentos de 40, 100, 150 vezes;

- (4) iluminação com controle de intensidade;
- (5) focalização coaxial;

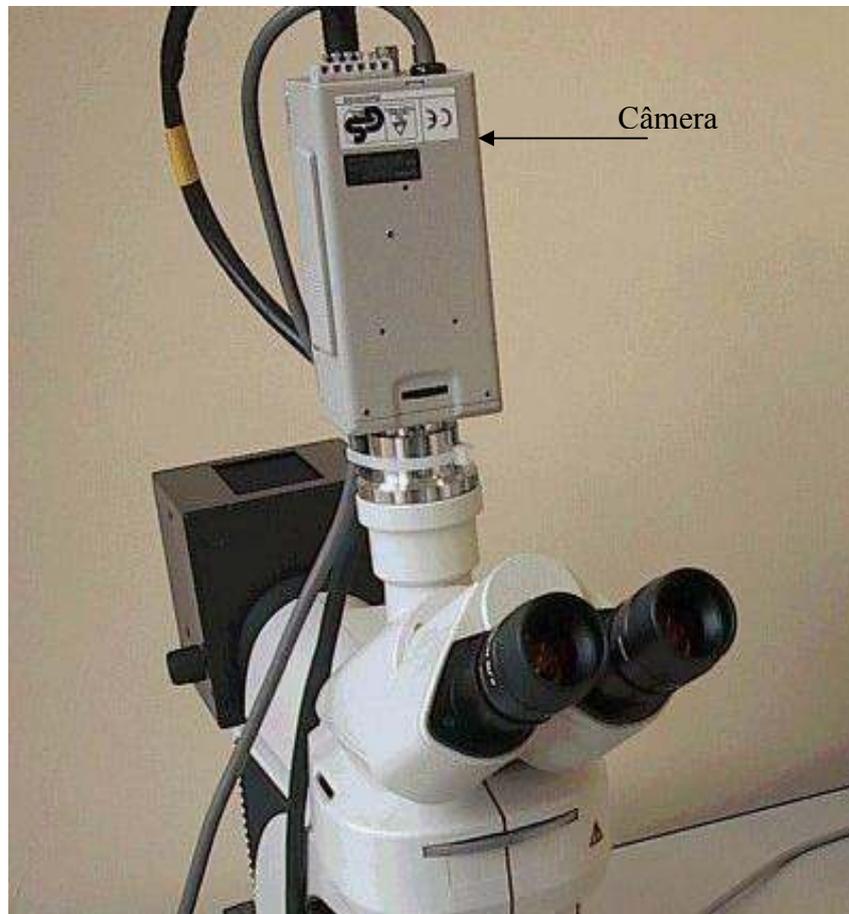


Figura 34 – Microscópio com câmera acoplada.

Utilizou-se, ainda, uma câmera CCD com as seguintes especificações:

- (1) Colorida;
- (2) Resolução de 480 linhas;
- (3) Compensação de luminosidade;
- (4) Auto íris;
- (5) Saídas Y/C e video composto;
- (6) NTSC e Pal-M.

3.4.1.2 Placa de aquisição

A placa de aquisição faz a interface entre o microscópio e o computador, neste módulo, a placa de aquisição utilizada, conforme ilustra a figura 35, foi uma placa de vídeo com as seguintes características:

- (1) Barramento AGP;
- (2) Memória de 32 MB;
- (3) Resolução de 1920 x 1200;
- (4) Entrada de vídeo.

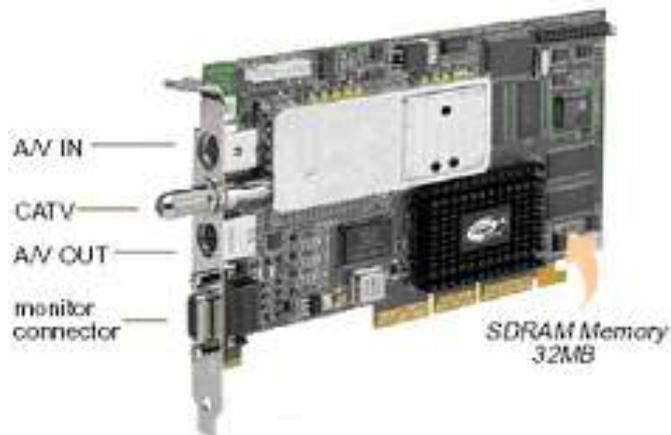


Figura 35 – Placa de vídeo com entrada CATV e AV.

Como a placa de aquisição não tem entrada compatível com a câmera utilizou-se o adaptador RCA-AV que possui conexão RCA, como mostra a figura 36.

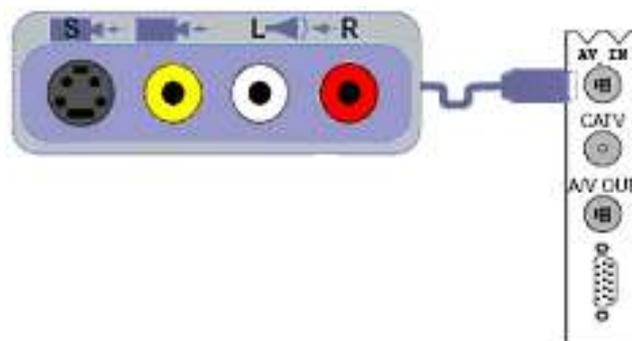


Figura 36 – Adaptador RCA-AV.

3.4.1.3 Computador

O computador tem a função de enviar comandos para a placa de aquisição acionar a câmera, capturar, processar e armazenar as imagens do microscópio. Para esta tarefa, utilizou-se a mesma configuração do módulo de contusão.

3.4.2 Software do módulo de análise histológica

O *software* deste módulo deve permitir que o cientista possa capturar e analisar as imagens produzidas pelo microscópio. A melhor solução encontrada e disponível foi o *software* Matlab® com o seu Toolbox de aquisição de imagem versão 1.7. O Toolbox efetua a interface entre o Matlab® e o *hardware* permitindo que o Matlab® acesse diretamente o *hardware* conforme o fluxo de dados apresentado na figura 37. O Toolbox de aquisição de imagem faz o acesso à placa de aquisição que, por sua vez, está recebendo dados da câmera acoplada ao microscópio.

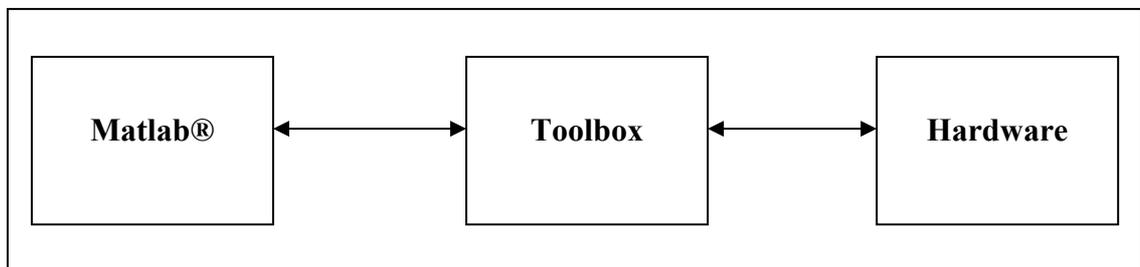


Figura 37 – Diagrama de blocos do software de análise histológica.

3.5 AVALIAÇÃO DO SISTEMA

A avaliação do sistema seguiu em busca de uma regra científica fundamental baseada em pesquisas encontradas na literatura, onde buscou-se identificar determinados fenômenos, que sempre que pesquisados, se repetiram e que são passíveis de reprodução em futuras experiências, assim como buscou-se através de testes práticos simular e verificar o sistema proposto. Desta forma, trilhou-se um caminho para chegar-se ao objetivo desta dissertação.

Para uma melhor delineamento do caminho a ser seguido, a avaliação foi dividida em três grandes enfoques:

- (1) teste do módulo de contusão que avaliou o funcionamento do aparelho de contusão;
- (2) avaliação do comprometimento motor do animal pelo escore BBB;
- (3) teste do módulo de análise histológica através comparação das imagens obtidas no Laboratório de Lesão Traumática Experimental do Hospital Cajuru – PUC-PR e as do módulo de análise histológica.

3.5.1 Método de avaliação eletro-mecânico do módulo de contusão.

Para comprovação do funcionamento eletro-mecânico do sistema foram efetuados os testes descritos a seguir.

Teste dos Encoders ao movimento das hastes através de displays

A figura 38 ilustra o sistema idealizado. Este teste consiste em deslocar a haste de contusão e de deslocamento gradualmente com auxílio de um paquímetro (vide figura 39) e verificar a resposta dos *Encoders* no display.

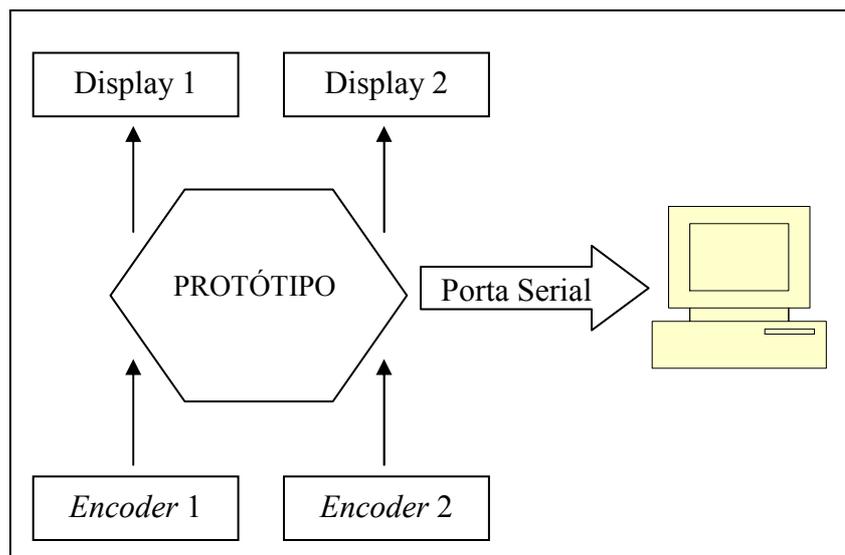


Figura 38 – Protótipo para teste de sensibilidade dos Encoders.

O protótipo consiste em um circuito eletrônico montado sobre um *proto-board* (vide Anexo 3), que permite ajuste eletrônico antes da confecção da placa definitiva. Aproveitando esta flexibilidade, adicionou-se ao circuito dois *displays* conectados aos *encoders* para avaliar os *encoders* quando ocorre o deslocamento das hastes.



Figura 39 – Deslocamento da haste de contusão com auxílio do paquímetro

Teste de condutividade em solução salina

Este teste consiste em submeter uma esponja embebida em solução salina³ ao módulo de contusão (figura 40). A haste de contusão, ao entrar em contato com a solução salina, fecha o circuito entre a haste de contusão e a garra simulando o que ocorre na medula exposta. Quando a haste é liberada tem início a cronometragem do tempo, e quando a haste fecha o circuito com a garra a cronometragem é finalizada. Desta forma, pode-se avaliar se o dispositivo de contagem do tempo da queda da haste de contusão está funcionando corretamente.

³ A solução salina é uma substância eletrolítica apresentando condutividade elétrica como ocorre com o sangue.

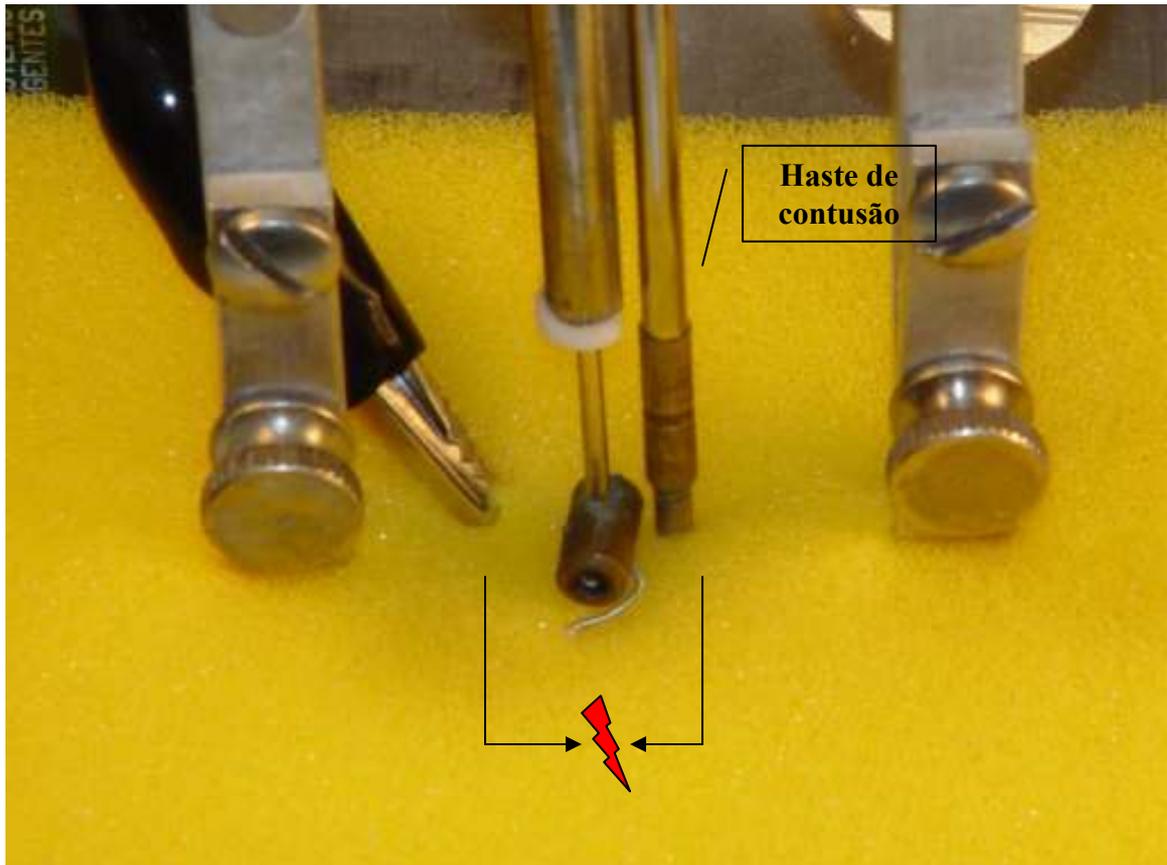


Figura 40 – Teste de sensibilidade e contato com solução salina. A haste de contusão ao encontrar a solução salina da esponja, fecha o circuito com a garra que está ligada a esponja. Este teste simula o que ocorre com a medula exposta.

Teste do impacto em massa de modelar

Este teste consiste em submeter um filete de massa de modelar ao sistema de contusão efetuando a medição da profundidade do buraco gerado pela queda da haste de contusão (altura fixa) com um micrômetro (figura 41). Desta forma, pode-se avaliar se liberando a haste de uma altura fixa obtém-se um resultado padrão, ou seja, resultados iguais de impacto.

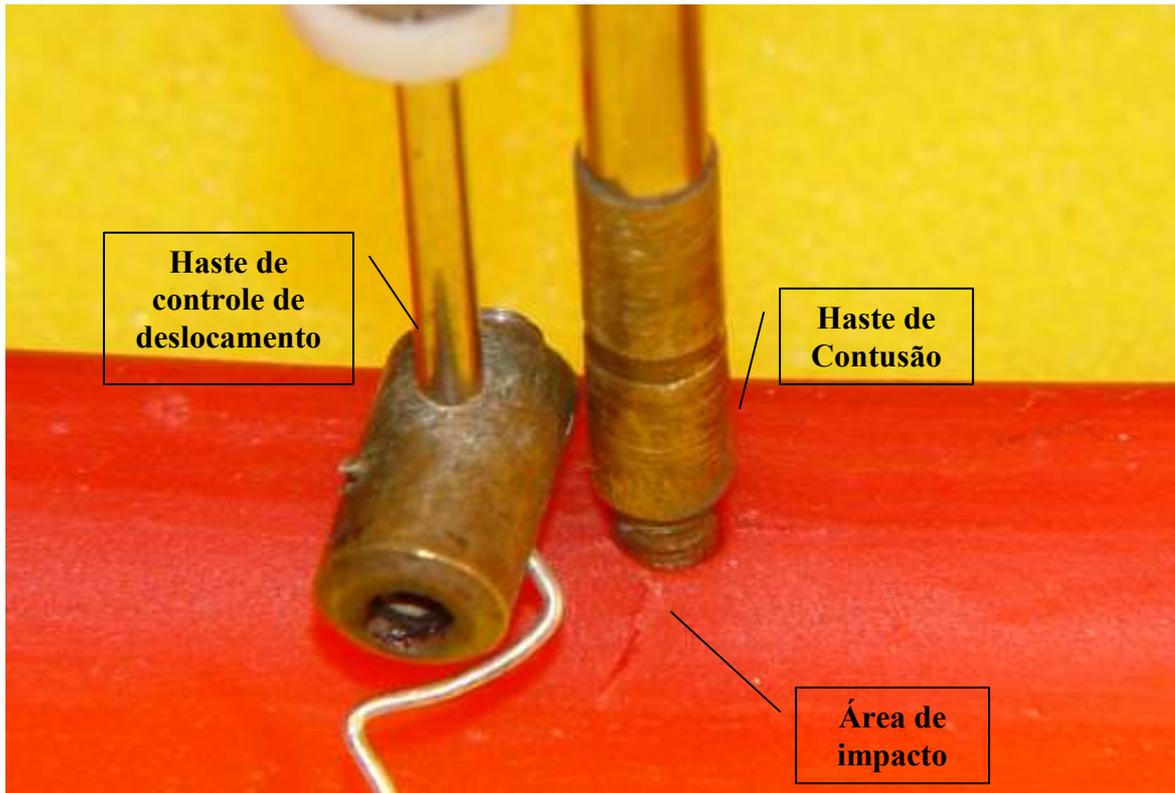


Figura 41 – Teste do impacto em massa de modelar.

Teste da placa de aquisição com software o software Serial Terminal

O aplicativo Serial Terminal foi desenvolvido especialmente para este teste. Este aplicativo monitora diretamente a porta serial enviando estes dados uma a tela do aplicativo e salva o dados em um arquivo texto. Desta forma, pode-se monitorar a consistência dos dados enviados pela placa de aquisição para sua transposição para um aplicativo mais complexo. Basicamente, o teste consiste em acionar o sistema e verificar, através do monitoramento da porta serial, se a placa de aquisição está coletando e enviando corretamente os dados para o computador.

3.5.2 Método de avaliação por meio de protocolo experimental *in vivo*

Para comprovação de que o sistema é capaz de efetuar lesões completas ou incompletas de forma padronizada, foram submetidos ao sistema 5 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*, Rodentia mammalia), da linhagem Wistar, procedentes do Laboratório de Lesão Traumática Experimental do Hospital Cajuru (PUC-PR),

com idade variando entre 115 e 130 dias, sendo a média de idade 122 dias. O peso esteve entre 200 e 253 g, com média igual a 229 g.

Os procedimentos de manuseio do animal foram conduzidos por equipe médica seguindo os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e o protocolo proposto pelo MASCIS – Multicenter Animal Spinal Cord Injury Study, e autorização obtida pelo Laboratório de Lesão Traumática Experimental para realizar experiências com ratos.

O método consistiu em anestésiar o animal, expor a medula através de laminectomia no nível T10, contusão da medula com o dispositivo e avaliação motora após 48 h. Após 48 h da experiência, os animais foram submetidos ao exame físico pelo escore OSU – Ohio State University, também conhecido pelas iniciais dos seus autores BBB, o qual permite avaliar se a lesão foi eficiente ou não.

3.5.3 Teste do módulo de análise histológica

Instalados todos os *hardwares*, o *software* Matlab® e o seu Toolbox de processamento de imagem. Foram submetidas lâminas idênticas, preparadas de acordo com as recomendações do MASCIS, comparando as imagens obtidas com o módulo de análise histológica com as capturadas com microscopia eletrônica no Laboratório de Lesão Traumática Experimental do Hospital Cajuru (PUC-PR).

Seguiram-se os seguintes passos:

- (1) configuração do Matlab® para identificar a placa de aquisição (vide anexo 5)
- (2) configuração das propriedades da câmera (vide anexo 6);
- (3) uso do comando *getsnapshot* para adquirir a imagem da câmera (vide anexo 7).

CAPÍTULO 4

RESULTADOS

O desenvolvimento de pesquisas com novos equipamentos visa obter alternativas para substituição de equipamentos que já existem, porém, não são completos, ou mesmo criação de algo inovador. Para comprovar a viabilidade deste novo projeto, realizaram-se testes de viabilidade técnica. Tanto o módulo de contusão quanto o módulo de análise histológica apresentaram bom desempenho. Entretanto, para uma melhor caracterização do sistema, deve-se fornecer informações sobre suas limitações. No caso do módulo de contusão, realizar testes que indiquem qual é a real capacidade do sistema quanto ao peso da haste, atrito, desgaste e durabilidade dos componentes. Já o módulo de análise histológica abre um leque enorme para futuros estudos, inclusive a automatização da leitura das lamínas e contagem de células.

4.1 RESULTADOS DO MÉTODO DE AVALIAÇÃO ELETRO-MECÂNICO DO MÓDULO DE CONTUSÃO

A tabela 2 mostra o resultado do teste dos *Encoders*. O resultado foi satisfatório e mostra que os *Encoders* respondem corretamente às variações das hastes.

A primeira coluna mostra a variação manual do paquímetro, a segunda e terceira colunas mostram as variações dos *Encoders* 1 e 2 como resposta ao deslocamento efetuado nas hastes com o auxílio do paquímetro. Observa-se que a resposta ao deslocamento segue um padrão conforme se efetua o deslocamento gradual das haste com o auxílio do paquímetro. Como este teste teve o objetivo de somente avaliar o funcionamento dos *Encoders*, não foram abordadas a incerteza e o erro das medidas.

Tabela 2 – Resultado da movimentação das hastes, onde o display 1 representa o movimento do *Encoder 1* e o display 2 do *Encoder 2*.

Paquímetro (mm)	Display 1 (m)	Display 2 (m)
1 mm	0,001	0,001
2 mm	0,002	0,002
5 mm	0,005	0,005
10 mm	0,010	0,010
15 mm	0.015	0.015
20 mm	0.020	0.020
30 mm	0.030	Máximo 20 mm
50 mm	0.050	-
70 mm	0.070	-

O teste de condutividade através de uma esponja embebida em solução salina mostrou que o sistema de medida de tempo aciona o cronômetro ao liberar o solenóide e o pára ao fechar um curto-circuito através da solução salina, entre a haste de contusão e a garra.

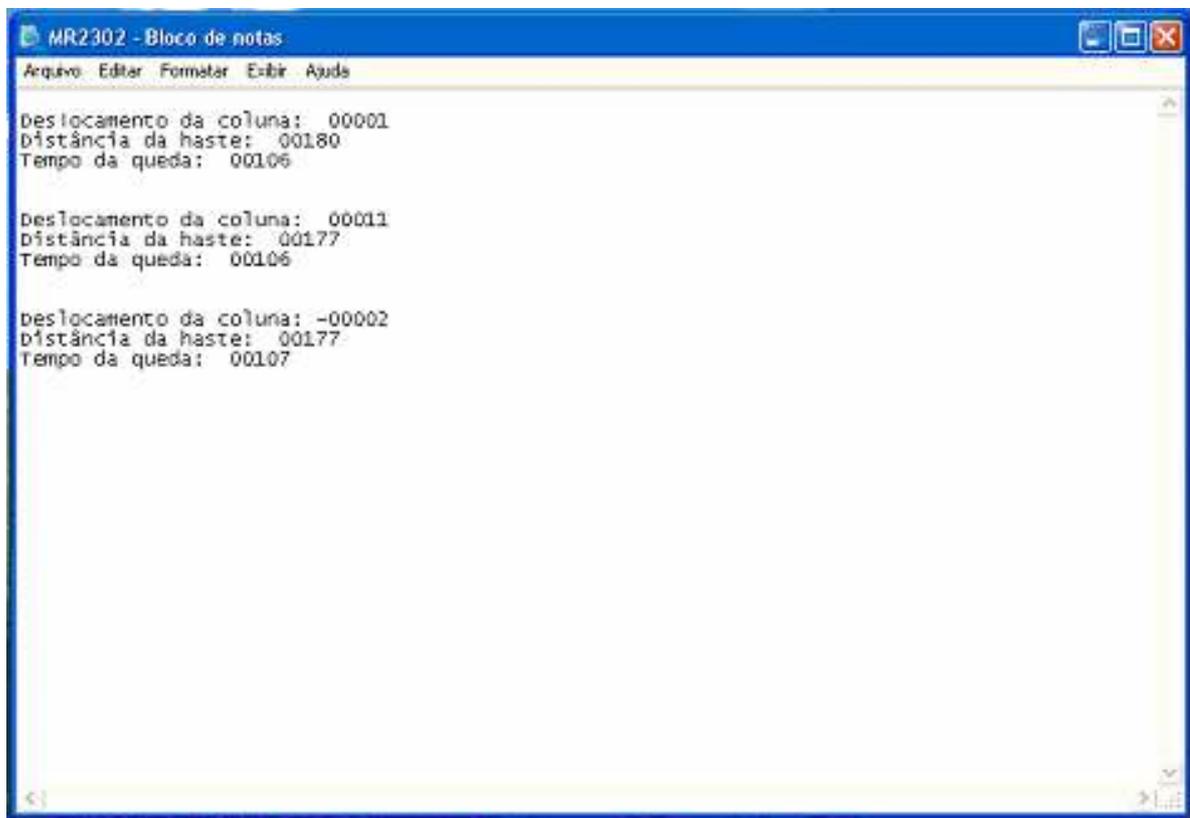
Para o teste de funcionamento da placa de aquisição e o do módulo de contusão como um todo, utilizou-se o *software* Serial Terminal (figura 42) desenvolvido especialmente para este teste.



Figura 42 – Tela do *software* para teste do módulo de contusão.

O software, uma vez acionado o botão iniciar, ativa o solenóide e zera os *encoders*. Após 10 s, desativa o solenóide. Finalizando a experiência, o *software* imprime na tela os resultados:

- (1) deslocamento da coluna, ou seja, o deslocamento do *encoder 2*;
- (2) a distância percorrida pela haste de contusão, ou seja, *encoder 1*;
- (3) e tempo de queda da haste de contusão;
- (4) além de imprimir na tela os resultados, o *software* grava os resultados em um arquivo texto (figura 43).



```
MR2302 - Bloco de notas
Arquivo  Editar  Formatar  Exibir  Ajuda

Deslocamento da coluna: 00001
Distância da haste: 00180
Tempo da queda: 00106

Deslocamento da coluna: 00011
Distância da haste: 00177
Tempo da queda: 00106

Deslocamento da coluna: -00002
Distância da haste: 00177
Tempo da queda: 00107
```

Figura 43 – Arquivo texto contendo os dados das experiências

Este teste apresentou como resultado a integração entre *software* e *hardware*, de forma que a comunicação entre eles, permitiu o acionamento do solenóide, a captura dos sinais dos *encoders*, e a apresentação dos dados e controles na tela do computador.

O teste de impacto em massa de modelar gerou os resultados da tabela 3 que mostraram o correto funcionamento da parte mecânica do módulo de contusão. A tabela mostra que, liberando a haste de contusão de uma altura fixa de 3,5 cm, sempre ter-se-á um buraco com médio de 1,52 mm. Ou seja, a experiência pode ser repetida várias vezes com os mesmos parâmetros.

Tabela 3 – Resultados do impacto em massa de modelar.

Teste (altura fixa de 3,5 cm)	Buraco mm
1	1.5
2	1.6
3	1.5
4	1.5
5	1.5

4.2 AVALIAÇÃO DO COMPROMETIMENTO MOTOR

Os ratos foram avaliados clinicamente, conforme o escore OSU, sendo que todos apresentaram lesão medular completa abaixo do ponto de contusão. Com este exame ficou comprovado que o aparelho é capaz de produzir lesões completas de forma padronizada.

4.3 MÓDULO DE ANÁLISE HISTOLÓGICA

Instalados todos os *hardwares*, o *software* Matlab® e o seu Toolbox de processamento de imagem, o *software* toolbox reconheceu a placa de aquisição, foi possível configurar as propriedades da câmera via *software*, e fazer a aquisição de imagens de lâminas posicionadas no microscópio. As lâminas selecionadas foram digitalizadas anteriormente através de microscopia eletrônica. Comparando as imagens (figuras 44, 45, 46, 47) observa-se que as imagens obtidas com o módulo de análise histológica são nítidas, e permitem visualizar as estruturas celulares coradas pelo método para mielina onde o arranjo da substância cinzenta (núcleos) permanece não-corada e a substância branca se cora intensamente. Desta maneira,

chega-se ao resultado de que módulo permite ao pesquisador identificar estruturas celulares da medula espinhal que indiquem perda neuronal e hemorragia pós-contusão.

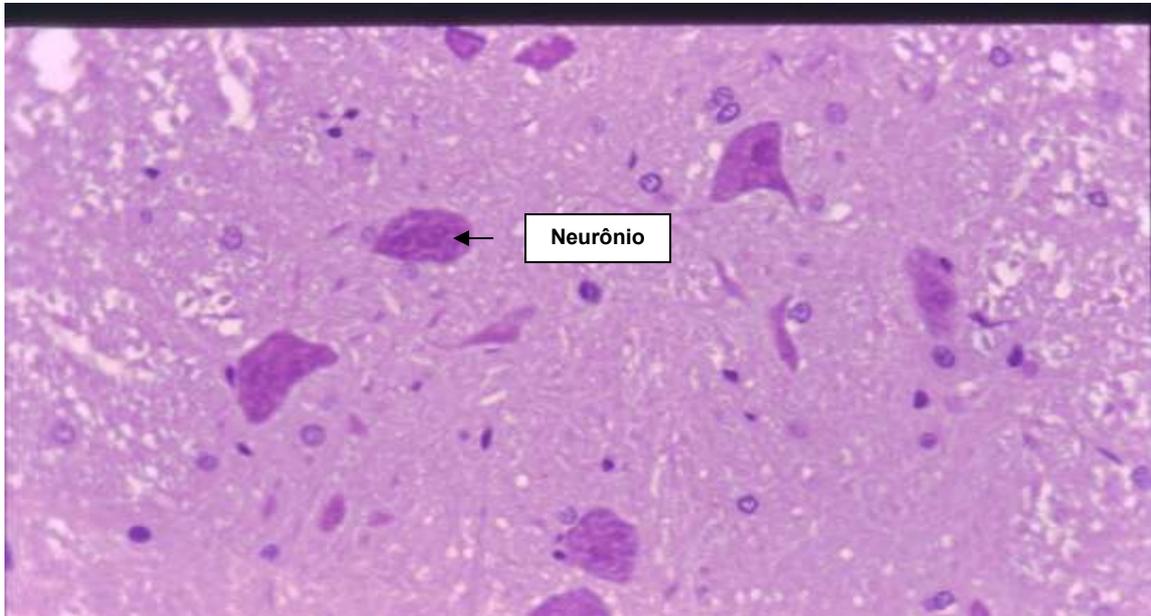


Figura 44 – Imagem digitalizada por microscópio eletrônico.

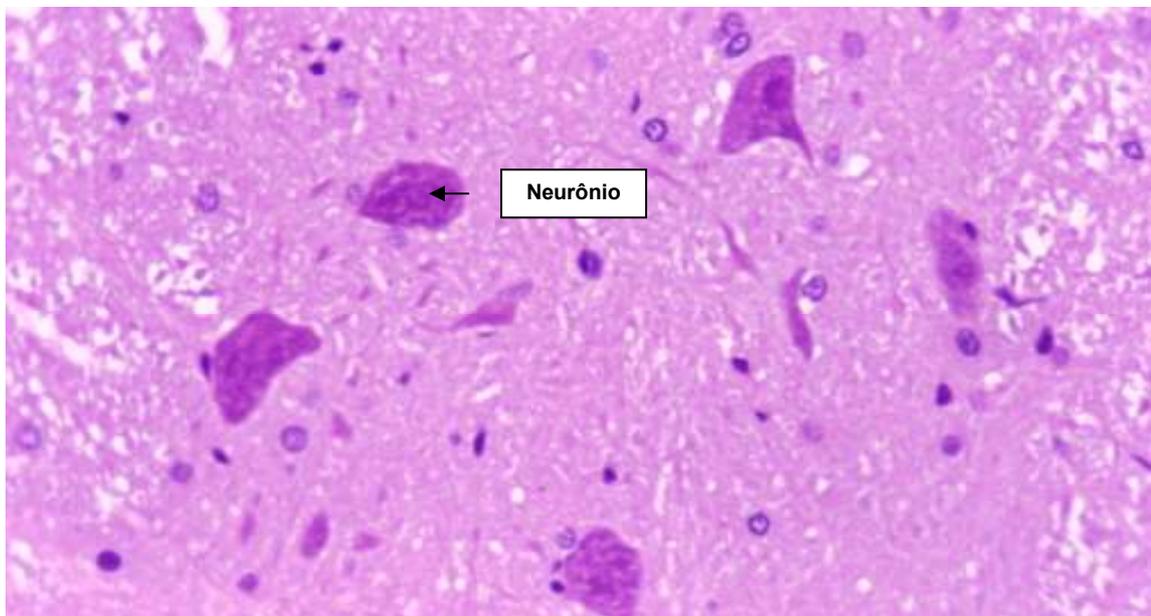


Figura 45 – Imagem da mesma lâmina obtida com o módulo de análise histológica, mostrando que ambas as figuras apresentam nitidez satisfatória para o estudo histológico.

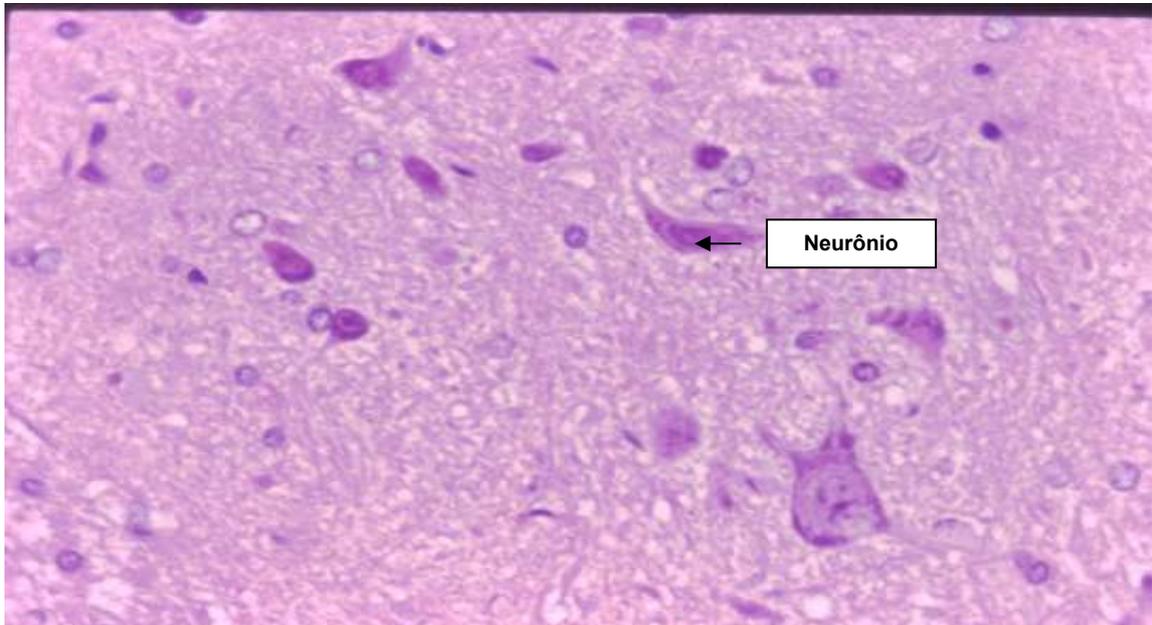


Figura 46 – Imagem digitalizada por microscópio eletrônico.

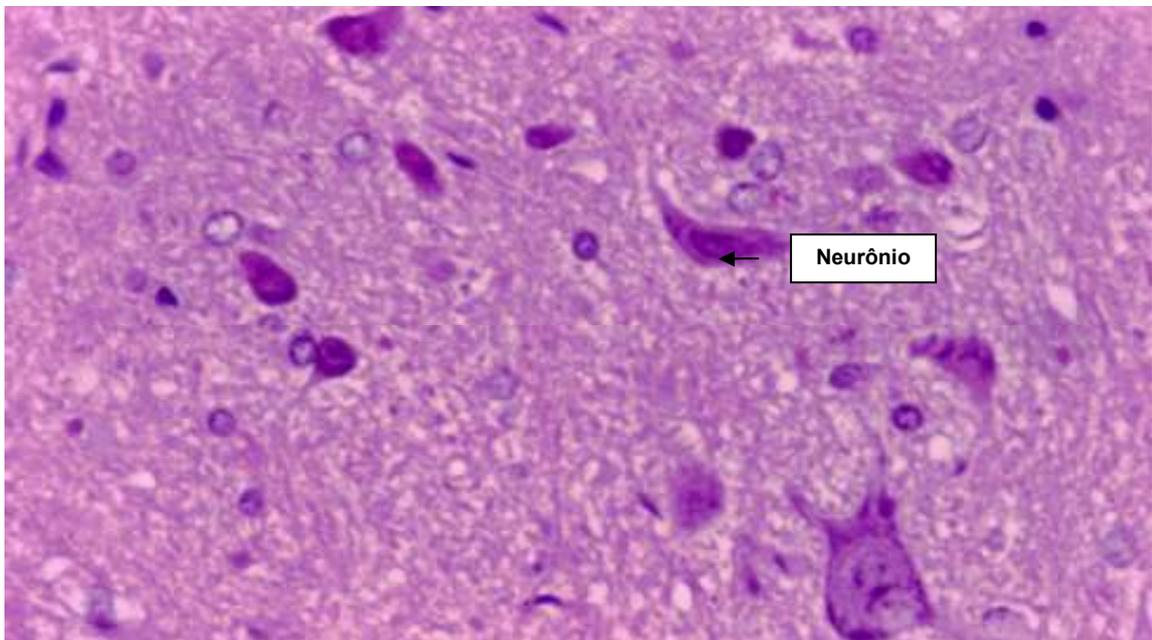


Figura 47 – Imagem da mesma lâmina obtida com o módulo de análise histológica.

CAPÍTULO 5

DISCUSSÃO

Desde a tentativa de Allen (1991) em padronizar e controlar por meio de padrões mensuráveis a lesão medular traumática, diversas foram as tentativas de encontrar um modelo experimental ideal. Especialmente, na última década, viu-se um emergente realce em busca de terapias através de modelos experimentais (RAMER et al., 2000). O grande impulso veio da necessidade de compreensão da pato-fisiologia da lesão medular e do refinamento das terapias. A partir dessas necessidades, surgiram inúmeros modelos, métodos e terapias. Na literatura, encontram-se pacificados alguns pontos como a necessidade de padronização do método de contusão medular, a utilização de ratos e camundongos, a utilização do método de contusão aberta, a utilização dos dispositivos dinâmicos de queda de pesos, a utilização da avaliação motora e análise histológica para verificação dos resultados, e busca por automatização dos sistemas. Os pontos críticos encontrados na literatura e, em especial, no modelo utilizado no Laboratório de Lesões Traumática Experimentais do Hospital Cajuru foram: (a) a necessidade da determinação do ponto de início e final da experiência, pois a maioria dos dispositivos são acionados manualmente, o que dificulta a definição precisa dos pontos de início e fim da experiência; (b) a necessidade de um dispositivo que permita efetuar a contusão e análise histológica em um mesmo local; e (c) a necessidade de um dispositivo nacional com interface clara e de fácil compreensão. A maior dificuldade encontrada na definição da revisão bibliográfica deu-se pela maioria dos artigos encontrados serem específicos da área médica, ou seja, trazem pouca ou nenhuma informação técnica sobre os dispositivos de lesão medular experimental utilizados. Assim, os pontos críticos foram baseados em sua maioria em relatos encontrados na literatura médica e na experiência da equipe do Laboratório de Lesão Traumática Experimental do Hospital Cajuru – PUC.

Estudos experimentais podem ser feitos com uma gama enorme de espécies (FERNANDEZ et al., 1991). Neste estudo, seguiu-se a orientação pacífica na literatura, do uso de ratos ou camundongos como espécime para estudos

experimentais (JAKEMAN et al., 2000). Em levantamento realizado por Fagundes (2004) na base de dados dos maiores *sites* de publicações médicas identificou-se que dentre as seis espécies de animais mais citadas (camundongo, coelho, cão, suíno e primatas) a soma das porcentagens de ratos e camundongos gera um índice cerca de 85% de utilização. Os animais de pequeno porte têm a vantagem de seu manuseio e criação serem simples. A criação não exige grandes espaços pois suas gaiolas são pequenas, geralmente em forma de prateleira. O ciclo de procriação de animais de pequeno porte, em especial os roedores é muito rápido. A alimentação ocorre em forma de ração sendo de pequena monta em relação a animais carnívoros e de maior porte. Um bom modelo experimental deve atender aos quesitos: (a) permitir o estudo dos fenômenos biológicos ou de comportamento do animal; (b) que um processo patológico espontâneo ou induzido possa ser investigado; (c) que o fenômeno, em um ou mais aspectos, seja semelhante ao fenômeno em seres humanos (FAGUNDES, 2004). O modelo animal escolhido para este estudo confere todos os requisitos exigidos, pois permite o estudo dos fenômenos biológicos ou comportamentais conforme relatos citados na literatura do uso do escore BBB para a avaliação do comprometimento motor; permite a investigação dos fenômenos pato-fisiológicos conforme relatos de análises pós lesão; e ainda confere o item em que o modelo deve apresentar fenômeno semelhante ao que ocorre em humanos, neste caso, relatos indicam que o modelo segue dois momentos bem delineados de lesão medular conforme acontece em humanos. Além disto, o modelo escolhido mostrou que realmente é de baixo custo, de fácil manuseio, acessível, e com potencial de atender às necessidades de estudos experimentais traumáticos. A grande dificuldade encontrada no trabalho quanto aos animais foi encontrar animais para a experiência, pois a espécie utilizada não é facilmente encontrada no comércio e a fato da mudança de sede do laboratório também prejudicou esta aquisição já que o biotério também foi removido. Assim recorreu-se ao biotério da Pontifícia Universidade Católica do Paraná. No entanto o mesmo só dispunha de animais que já estavam envolvidos em outras pesquisas e outros animais de grande porte. Então recorreu-se à Universidade Federal do Paraná onde se encontraram algumas pesquisas relacionadas ao tema onde se pôde obter auxílio ao presente estudo.

Dispositivos de lesão medular experimental têm papel fundamental no sucesso de novas terapias. A busca pela sofisticação desses dispositivos reduz drasticamente o número de animais requeridos, o tempo de experimento, e a incerteza dos resultados. A eletrônica tem papel fundamental na evolução tecnológica da bioengenharia, tornando através da automação, as experiências científicas mais rápidas e precisas. Segundo Castrucci (1969), a automação de processos tem sido, neste século, uma tecnologia de profunda repercussão cuja importância reside na quantitativa melhora dos processos. A somatória da eletrônica, mecânica e inteligência artificial têm contribuído para o desenvolvimento de dispositivos cada vez menos dependentes de atos humanos consequentemente reduzindo falhas. Na indústria eletrônica, existem muitos componentes, sensores e atuadores que podem ser úteis para futuros estudos sobre o sistema. Cabe aos novos estudiosos projetarem novos módulos de expansão do sistema.

Existem diversos modelos de equipamentos e técnicas de lesão medular; porém, para a discussão deste estudo tomou por base o modelo proposto por Gruner (1992), o qual utiliza a técnica de lesão medular experimental aberta e se assemelha mais ao modelo idealizado neste estudo no qual a equipe do Hospital Cajuru possui vasta experiência de utilização. A escolha da técnica da queda de peso e lesão medular experimental aberta se deu por causa de o aparelho mais difundido e com mais documentação utilizar esta técnica, bem como por as lesões medulares experimentais fechadas através da contusão produzirem fraturas que alteram o curso natural da lesão medular (VIALLE, 2001). Assim, chegou ao consenso de que a melhor alternativa seria seguir a técnica utilizada no modelo de dispositivo já usado pois isto facilitaria a implementação assim como reproduziria mais fielmente o que ocorre com o ser humano lesionado. O equipamento mais popular é o desenvolvido com base no modelo de Gruner (1992) pelo laboratório de neurocirurgia da Universidade de Nova York. A haste de contusão deste equipamento, como a maioria dos equipamentos de contusão por queda de peso, é acionada manualmente; neste caso, através de uma agulha amarrada a uma linha. A haste de contusão é elevada e presa por uma agulha. Quando o usuário quer disparar a haste puxa a agulha que consequentemente solta a haste. Um método um tanto rudimentar que infelizmente ainda é utilizado neste dispositivo. Sua

interface é disposta toda em inglês, o *software* roda em plataforma DOS pouco amigável, sua placa de aquisição deve ser instalada em *slot* de barramento ISA e tem a deficiência de sua placa ser somente de aquisição não fazendo controle.

Baseado nesta lacuna tecnológica, o presente trabalho buscou descrever e caracterizar um dispositivo projetado para produzir ferimentos consistentes e quantificáveis em ratos. Todos os controles deste dispositivo são eletrônicos, sendo a instalação e operação realizável facilmente por um único usuário. O instrumento grava e armazena os resultados da contusão para a análise quantitativa subsequente.

Diferentemente do impacto NYU, que utiliza o mecanismo de deslocamento (3 graus de liberdade) de um microscópio, todas as peças do mecanismo de contusão foram desenhadas na forma de desenho técnico o que possibilita a confecção das peças através da usinagem de materiais, evitando a necessidade de importação. O deslocamento em 3 graus de liberdade no dispositivo NYU é oriundo de um mecanismo de microscópio que utiliza o sistema de pinhão e cremalheira. Num primeiro momento até tentou-se projetar mecanismo semelhante; no entanto, em pesquisa de campo averiguou-se que não havia cremalheira e pinhão comerciais acessíveis e de baixo custo. Havia somente peças importadas específicas para robótica de altíssimo custo o que inviabilizaria o projeto. Então, recorreu-se a ferro velhos em busca de alguma sucata que pudesse fornecer peças que pudessem ser adaptadas ao projeto. A peça mais próxima encontrada foi a de uma direção de veículo, mas era grande para a finalidade desejada. A última alternativa seria recorrer a usinagem da cremalheira e do pinhão, porém em pesquisa junto as ferramentarias e mesmo no setor de engenharia mecânica da PUC-PR, contactou-se que a confecção da ferramenta para fazer tal peça oneraria demais o custo do projeto. Diante destes fatos, com o auxílio de engenheiros mecânicos partiu-se em busca de uma nova solução. A melhor solução encontrada foi a substituição do sistema de cremalheira e pinhão por parafusos de rosca sem fim os quais são facilmente encontrados ou mesmo confeccionados e proporcionam os mesmo movimentos do microscópio. A placa de aquisição do módulo de contusão, ao contrário do modelo NYU, foi modelada prevendo futuras expansões e novas automações. Assim como, traz portabilidade ao equipamento ao suprimir a

necessidade de se instalar a placa em um *slot* interno do computador. Estas características geram vantagem com relação a equipamentos como o pneumático que utiliza placa de aquisição proprietária da National Instruments® e o NYU que necessita de conectar a placa dentro do computador. Em um primeiro momento avaliou-se qual tipo de conexão com o computador seria melhor, chegando-se à conclusão de que a placa interna tem a vantagem de ficar protegida e não necessitar de fonte externa; porém, tira a portabilidade do sistema; a conexão através da paralela poderia impedir a conexão de uma impressora; restou a opção das portas serial RS 232 e USB, escolhida a RS232 por a maioria dos computadores possuírem tal porta. No entanto, ao iniciarem os testes verificou-se que somente *notebooks* mais antigos possuem porta serial o que obriga o usuário a adquirir um adaptador do tipo USB para Serial. Portanto, a placa de aquisição conectada a porta serial tem suas vantagens e desvantagens. Como vantagens, observou-se a característica da mobilidade, da possibilidade de utilização em computadores mais antigos sem porta USB. A desvantagem é a necessidade de fonte externa de alimentação e aquisição de adaptador para a utilização em notebooks mais modernos. Outra característica inovadora da placa de aquisição é a sua capacidade de controle. Através da interface, o usuário pode enviar comandos para a placa de aquisição e controle e acionar determinados dispositivos, a exemplo do solenóide que prende a haste de contusão ou mesmo um servo motor para elevar a haste de contusão para a altura desejada. O solenóide que prende a haste de contusão para soltá-la automaticamente foi outra peça que gerou dificuldades para se implementar. Em pesquisa no comércio local não foi encontrado nenhum exemplar comercial e no mercado externo encontrou-se somente peças para robótica a um custo inviável para o projeto. Diante disso, optou-se pela confecção de um solenóide capaz de prender a haste de contusão. Utilizou-se fio de cobre esmaltados (28 AWG – 0,5 mm) e um carretel utilizado em bobinas com um núcleo de metal. A intenção inicial do projeto era incluir o controle de um servo motor de modelismo que teria a função de elevar a haste de contusão automaticamente até a altura definida pelo usuário através da interface do programa. No entanto, seria necessária a aquisição de um servo motor e a usinagem de peças para dar suporte a esse mecanismo. Isto não foi

possível por falta de apoio do setor de engenharia mecânica e falta de recurso para a aquisição de materiais.

O impactor NYU possui um *software* que apresenta uma interface DOS, totalmente na língua inglesa, que dificulta a interpretação dos dados gerados pelo equipamento. Já o *software* proposto neste estudo apresenta de forma clara e simplificada os dados necessários para a avaliação da lesão.

Todo sistema de controle necessita de uma central de controle que comanda as funções do equipamento. Neste projeto, a solução de mais baixo custo e fácil acesso foi o PC que comandou as placas de aquisição através da porta serial e barramento AGP. O computador utilizado neste projeto é de uso já difundido, e abre horizontes para módulos de expansão em termografia, processamento de imagem e mesmo melhorias na automatização. A grande vantagem deste sistema é permitir que o usuário personalize a interface de controle de acordo com suas necessidades. Comparando com o sistema manual, este sistema oferece basicamente vantagens de custo, rapidez, precisão.

Os dispositivos de lesão medular traumática experimental, em sua maioria, são avaliados através da reação anatômica, bioquímica, neurofisiológica, e do comprometimento motor do animal após a contusão (KWON et al., 2002). Buscando um denominador comum entre as ciências exatas e biológicas, balanceou-se o conhecimento da equipe médica ao conhecimento de engenharia resultando em uma metodologia inovadora. Na primeira fase, buscou-se na engenharia e fora de modelos *in vivo*, a comprovação da dinâmica básica do dispositivo projetado. Onde foram realizados os testes eletro-mecânicos do módulo de contusão. De posse da comprovação de correto funcionamento eletro-mecânico, transportou-se o teste para o modelo *in vivo*, seguindo-se a orientação e experiência da equipe médica, a qual sugeriu o protocolo MASCIS de manuseio do animal, e o escore BBB para verificação do comprometimento motor. Com esta metodologia, acredita-se ter chegado a uma avaliação segura do cerne deste projeto, que é o módulo de contusão.

O módulo de análise histológica foi idealizado buscando a solução que melhor se enquadrava às necessidades do projeto, ou seja, a facilidade de se ter a possibilidade de efetuar a análise histológica no mesmo laboratório da contusão. A

maioria dos estudos de terapias e testes de novos medicamentos para lesão medular envolvem o estudo histológico pós-lesão. Desta forma, é imprescindível, que junto do módulo de contusão, o cientista tenha um módulo de análise histológica. Vislumbrando esta lacuna, este estudo propôs e idealizou um módulo de análise histológica junto ao módulo de contusão. Comparando com relatos literários, observou-se que a maioria dos estudos necessita de análise histológica, porém, esta é feita fora do laboratório de lesão medular (KWON, 2002). Isto gera morosidade no processo. Por isso, a inclusão do módulo de análise histológica junto ao módulo de contusão trouxe agilidade ao processo experimental. Para testar este módulo, utilizou-se a comparação de imagens obtidas com outro sistema de análise histológica e o desenvolvido. Observou-se que o módulo de análise histológica idealizado supre as necessidades básicas do pesquisador de lesão medular, porém deve ser melhorado e efetuados mais testes. Um fator positivo do módulo desenvolvido, é a possibilidade de desenvolvimento futuro de um sistema automatizado de leitura de lâminas. No decorrer do estudo, identificou-se que para a inclusão do módulo capaz de efetuar a análise histológica dentro do laboratório de lesão medular experimental ia muito além de um microscópio, uma câmera e um computador com o programa de processamento de imagem. Descobriu-se que havia todo um procedimento de preparação do material para a confecção da lâmina a ser lida pelo sistema. Procedimento este que envolve conhecimento e materiais específicos da histologia; portanto, há a necessidade de equipamentos e materiais diversos e inerentes a histologia, bem como um usuário capacitado para efetuar o preparo das lâminas. Diante disto, observou-se que o módulo de análise histológica vai além do projetado no que diz respeito aos procedimentos de preparo das lâminas, porém, atende magnificamente as necessidades do pesquisador no que tange às análises das lâminas pós-lesão a partir do momento que estas estão prontas para leitura. Mesmo diante dessas dificuldades encontradas, o módulo de análise histológica contribui para a facilitação do processo de avaliação da lesão, pois permite que o pesquisador tenha ao seu lado um dispositivo que possa fazer a leitura das lâminas a qualquer momento. Ou seja, de posse das lâminas, o pesquisador pode analisá-las e compará-las na hora em que for necessário.

Neste sentido, visando experiências eficientes, rápidas e de baixo custo, este trabalho obteve resultados satisfatórios quanto aos objetivos de desenvolver, automatizar, e avaliar um sistema de lesão medular traumática para áreas experimentais. Assim como, abriu horizontes para a continuidade dos estudos.

5.1 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Os horizontes que são vislumbrados a partir deste trabalho apontam para um estudo aprofundado na parte mecânica, do desgaste e atrito das peças; na parte eletrônica, a busca de novas expansões (exemplo termografia); na parte clínica, o estudo de novas terapias; e na área histológica, o processamento automatizado de imagem. Além dessas linhas, o dispositivo é de suma importância nos estudos pré-clínicos com células-tronco nos traumas raqui-medulares, pois sem o dispositivo fica inviável os estudos experimentais.

A parte de usinagem das peças do módulo de contusão não foi desenvolvida neste por falta de recursos financeiros. O que obrigou a montagem de um protótipo a partir do equipamento NYU disponível no laboratório de Lesão Medular Traumática Experimental. Desta forma, como trabalho inicial, deve-se dar prioridade a parte de confecção e usinagem das peças do módulo de contusão, pois, a partir da confecção de uma estrutura mecânica própria poder-se-á melhorar a parte de fixação do animal, bem como, pode-se introduzir um trilho junto à haste de contusão para acoplamento de um servo-motor que elevaria a haste automaticamente. O atrito e desgaste gerado nas partes mecânicas remetem ao estudo das propriedades físicas dos materiais que podem influenciar, no decorrer do tempo, no correto funcionamento do sistema. Outra expansão interessante seria o acoplamento de um termômetro ao sistema, pois todo animal tem sua temperatura tomada antes e depois do procedimento de lesão. Portanto, a introdução de um termômetro que medisse a temperatura do animal, remetesse e armazenasse esses dados diretamente na ficha do animal no banco de dados das experiências, seria de grande utilidade.

Deve ser estudado melhor o ciclo cardíaco e respiratório do animal no momento da experiência, quem sabe até criando um monitoramento destes ciclos.

O módulo de análise histológica neste trabalho foi basicamente idealizado e comprovado que em leitura de lâminas idênticas, por um microscópio eletrônico e pelo módulo de análise histológica, ele pode gerar um resultado satisfatório. No entanto, a idéia inicial não se limita à mera leitura de lâminas. O *software* Matlab foi escolhido devido a suas ferramentas que auxiliam no desenvolvimento de aplicativos para o processamento automatizado de imagens. Como este recurso não foi explorado nesta dissertação devido à reestruturação do Laboratório de Lesão Medular Experimental, que prejudicou o trabalho por falta de profissional especializado em histologia para orientar os estudos, assim como, pela falta de estrutura física com a mudança de sede, este é um ramo a ser expandido. Portanto, entende-se que o núcleo do estudo futuro relacionado ao módulo de análise histológica está no desenvolvimento de um aplicativo que efetue automaticamente a contagem das células levadas ao microscópio pós-lesão.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES

Neste trabalho, apresentou-se uma nova forma computacional de realizar experimentos de lesão medular traumática. Os modelos de queda de pesos são modelos consolidados cientificamente e são amplamente utilizados. O mesmo não pode ser dito de modelos automatizados. O trabalho contribuiu para um aprofundamento no conhecimento sobre os simuladores de lesão medular, assim como propôs um novo sistema. O trabalho desenvolvido teve como objetivos automatizar o mecanismo de contusão e simplificar a interface com o usuário, bem como, a proposta de um módulo de análise histológica. Objetivos estes que, com o fim do trabalho foram atingidos com a automatização do mecanismo de contusão, com a criação de uma nova interface com o usuário e com a proposta do módulo de análise histológica. O novo sistema foi validado por meio de análise analítica, numérica e comparativa, através da avaliação eletrônica, mecânica e experimental, permitindo ao pesquisador concluir que: o sistema é simples, prático e produz lesões padronizadas. O sistema desenvolvido, devido a sua característica tecnológica, abre horizontes para a continuidade dos estudos e expansão das funcionalidades do sistema.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACD. **Dados estatísticos sobre a causa da lesão medular.** Disponível em: http://www.aacd.org.br/voce_imprensa.asp?sublink2=12&conteudo_id=380. Acesso em: 29 out. 2004.

ALLEN, A.R. Surgery of experimental lesion of spinal cord equivalent to crush injury of fracture dislocation of the spinal column. **American Medical Association**, v.LVII, n.9, p878-880, 1911.

ANDERSON, T.E. A controlled pneumatic technique for experimental spinal cord contusion. **J Neurosci Methods**. 1982 Nov;6(4):327-33.

ASIA. **ASIA impairment scale.** Disponível em: http://www.asia-spinalinjury.org/publications/2001_Classif_worksheet.pdf. Acesso em 20 jan 2005.

BASSO, D.M.; BEATTIE, M.S.; BRESNAHAM, J.C. A sensitive and reliable locomotor rating scale for open field testing in rats. **Journal of neurotrauma**. 1995 Feb; 12(1):1-21.

BASSO, D.M.; BEATTIE, M.S.; BRESNAHAM, J.C. Graded histological and locomotor outcomes after spinal cord contusion using the NYU weight-drop device versus transection. **Exp. Neurology**, n. 139, p. 244-256, 1996.

BEHRMANN, D.L., J.C. BRESNAHAN, M. S. BEATTIE, B.R. SHAH. Spinal cord injury produced by consistent mechanical displacement of the cord in rats: Behavioral and histological analysis. **J. Neurotrauma** 9: 197–217, 1992.

BENZEL E.C., HADDEN T.A., NOSSAMAN B.C., LANCON J., KESTERSON L. Does sufentanil exacerbate marginal neurologic function? **J. Neurosurg Anesthesiol**. 1990; 2:50-52.

BLACK, P.; MARKOWITZ, R.S.; COOPER, V.; MECHANIC, A.; KUSHNER, H.; DAMJANOV, I.; FINKELSTEIN, S.; WACHS, K.C. Models of Spinal Cord Injury: Part 1. Static load technique. **Neurosurgery**, v.19, n.5, p.752-762, 1986.

BLACK, P.; MARKOWITZ, R.S.; MECHANIC, A.; KUSHNER, H.; Models of Spinal Cord Injury: Part 2. A mathematical model. **Neurosurgery**, v.19, n.5, p.763-766, 1986.

BLACK, P.; MARKOWITZ, R.S.; COOPER, V.; MECHANIC, A.; KUSHNER, H.; DAMJANOV, I.; FINKELSTEIN, S.; WACHS, K.C. Models of Spinal Cord Injury: Part 3. Dynamic load technique. **Neurosurgery**, v.22, n.1, p.51-60, 1988.

BLIGHT A.R., Morphometric analysis of a model of spinal cord injury in guinea pigs, with behavioral evidence of delayed secondary pathology. **J Neurol Sci.** 1991 Jun;103(2):156-71.

BOHLMAN, H.H., BAHNIUK, E., FIELD, G., RASKULINECZ, G.. Spinal cord monitoring of experimental incomplete cervical spinal cord injury: a preliminary report. *Spine.* 1981 Sep-Oct;6(5):428-36.

BRAGA, Newton C. **Curso de instrumentação eletrônica.** São Paulo: Editora Saber, 2000.

BRAGA, Newton C., **Eletrônica básica para mecatrônica.** São Paulo: Editora Saber, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Informação e Informática do SUS. **Número de Internações Hospitalares por causas externas no ano de 2003 e número de mortes por trauma no ano de 2001.** São Paulo: DATASUS, 2004. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br>. Acesso em: 20 jan 2005.

BRESNAHAN, J.C.; BEATTIE, M.S.; TODD III, F.D.; NOYES, D.H. A behavioral and anatomical analysis of spinal cord injury produced by a feedback-controlled impaction device. **Exp. Neurol.**, n.95, p.548-570, 1987.

BRESNAHAN, J.C., BEATTIE, M.S., STOKES, B.T., CONWAY, K.M. Three-dimensional computer-assisted analysis of graded contusion lesions in the spinal cord of the rat. **J Neurotrauma.** 1991 Summer;8(2):91-101.

CARLSON, G.D., GORDEN, C.D., OLIFF, H.S., PILLAI, J.J., LAMANNA, J.C. Sustained spinal cord compression: part I: time-dependent effect on long-term pathophysiology. **J Bone Joint Surg Am.** 2003 Jan;85-A(1):86-94.

CASTRUCCI, P.B.I. Controle automático: teoria e projeto. São Paulo: EDUSP, 1969.

CHADI, G., ANDRADE, M.S., LEME, R.J., GOMIDE, V.C. Experimental models of partial lesion of rat spinal cord to investigate neurodegeneration, glial activation, and behavior impairments. **Int J Neurosci.** 2001;111(3-4):137-65.

COBBOLD, Richard S. C. Transducer for biomedical measurements: principles and applications. New York: John Wiley & Sons, 1974.

CONSTANTINI, S.; YOUNG, W. The effects of methylprednisolone and ganfliside GM1 on acute spinal cord injury in rats. **J. Neurosurg,** n.80, p.97-111, 1994.

CRISTANTE, Alexandre Fogaça. **Avaliação funcional dos efeitos do tempo de descompressão após trauma medular na recuperação neurológica em ratos wistar**. Disponível em http://www.sbot.org.br/arquivos_congressos/2004/OR050.cfm. Acesso em: 02 dez 2004.

DABNEY, K.W., EHRENSHTEYN, M., AGRESTA, C.A., TWISS, J.L., STERN, G., TICE, L., SALZMAN, S.K. A model of experimental spinal cord trauma based on computer controlled intervertebral distraction: characterization of graded injury. **Spine**. 2004 Nov 1; 29(21):2357-64.

DANIELL, H.B., FRANCIS, W.W., LEE, W.A., DUCKER, T.B. A method of quantitating injury inflicted in acute spinal cord studies. **Paraplegia**. 1975 Nov;13(3):137-42.

DOHRMANN, G.J., PANJABI, M.M., WAGNER, F.C. JR. An apparatus for quantitating experimental spinal cord trauma. **Surg Neurol**. 1976 May;5(5):315-8.

DUCAN, J.S. AYACHE, N. Medical Image Analysis: Progress over Two Decades and the Challenges Ahead. **IEEE Trans. on Pattern Analysis and Machine Intelligence**. v. 1, n. 22, p. 85-106, 2000.

DUCKER, T.B.; KINDT, G.W.; and KEMPE, L.G. Pathological findings in acute experimental spinal cord trauma. **J. Neurosurg**, n.35, p.700-708, 1971.

EIDELBERG. E.; STATEN, E.; WATKINS, J.C.; MCGRAW, D.; and McFADDEN. A model of spinal cord injury. **Surg. Neurol.**, v.06, p.35-38, 1976.

FAGUNDES, Djalma José, TAHA, Murched Omar. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cir. Bras.**, jan./fev. 2004, vol.19, no.1, p.59-65.

FALCONER. J.C.; NARAYANA, P.A.; BHATTACHARJEE, M.B.; and LIU, S.J. Quantitative MRI of spinal cord injury in a rat model. **Mag. Res. Med.**, n.32. p.484-491, 1994.

FALCONER, J.C.; PONNADA, A.; NARAYANA, P.A.; BHATTACHARJEE, M.B.; and LIU, S.J. Characterization of an experimental spinal cord injury model using waveform and morphometric analysis. **Spine**, v.21, n.1, p. 104-112, 1996.

FAROOQUE M. Spinal cord compression injury in the mouse: presentation of a model including assessment of motor dysfunction. **Acta Neuropathol (Berl)**. 2000 Jul;100(1):13-22.

FERNANDES, Flavia. **Classificação e terminologia da lesão medular**. Disponível em: <http://www.geocities.com/HotSprings/3725/translation5.html>. Acesso em: 29 out. 2004.

FERNANDEZ, E., PALLINI, R., MARCHESE, E., et al. Experimental studies on spinal cord injuries in the last fifteen years. **Neurol Res**. 1991;13:138-59.

FINKELSTEIN S.D., GELLESPIE J.A., MARKOWITZ R.S., JOHNSON D.D., BLACK P. Experimental spinal cord injury: qualitative and quantitative histopathologic evaluation. **J. Neurotrauma**. 1990 Spring;7(1):29-40.

FORD RW. A reproducible spinal cord injury model in the cat. **J Neurosurg**. 1983 Aug;59(2):268-75.

GALE, K.; KERASIDES, H.; WRATHALL, J.R. Spinal cord contusion in the rat: Behavioral analysis of functional neurological impairment. *Exp. Neurol.*, n.88, p.123-134, 1985.

GERBER, A.M., CORRIE, W.S. Effect of impounder contact area on experimental spinal cord injury. **J. Neurosurg**. 1979 Oct; 51(4):539-42.

GONZALEZ, R.C., WOODS, R.E., EDDINS, S.L. Digital Image Processing using Matlab, Prentice Hall, 2004.

GRUNER, J.A. A monitored contusion model of spinal cord injury in the rat. **J. Neurotrauma**. 1992;9:123-6.

HACKNEY, D.B., FORD, J.C., HAND, C.M, MARKOWITZ, R.S, JOSEPH, P.M., BLACK, P. Experimental spinal cord injury: MR correlation to intensity of injury. **J Comput Assist Tomogr**. 1994 May-Jun;18(3):357-62.

HACKNEY, D.B, FINKELSTEIN, S.D, HAND, C.M, MARKOWITZ, R.S, BLACK, P. Postmortem magnetic resonance imaging of experimental spinal cord injury: magnetic resonance findings versus in vivo functional deficit. **Neurosurgery**. 1994 Dec;35(6):1104-11.

HAGHIGHI. S.S., PEREZ-ESPEJO, M.A., RODRIGUEZ, F., CLAPPER, A. Radiofrequency as a lesioning model in experimental spinal cord injury. **Spinal Cord**. 1996 Apr;34(4):214-9.

HIGHAM, D.J., HIGHAM, N.J., 2000, Matlab guide, SIAM.

HIRUMA, S., OTSUKA, K., SATOU, T., HASHIMOTO, S. Simple and reproducible model of rat spinal cord injury induced by a controlled cortical impact device. **Neurol Res.** 1999 Apr;21(3):313-23.

HOUAISS, Antônio. **Dicionário Houaiss da Língua Portuguesa.** Rio de Janeiro: Objetiva, 2001.

HUNG, T.K., ALBIN, M.S., BROWN, T.D., BUNEGIN, L., ALBIN, R., JANNETTA, P.J. Biomechanical responses to open experimental spinal cord injury. **Surg Neurol.** 1975 Aug;4(2):271-6.

HUNG, T.K., LIN, H.S., ALBIN, M.S., BUNEGIN, L., JANNETTA, P.J. The standardization of experimental impact injury to the spinal cord. **Surg Neurol.** 1979 Jun;11(6):470-7.

HWANG, S.N. PARK, S.W. KIM, Y.B. MIN, B.K. KWON, J.T. SUK, J.S. Development of a rat model of graded contusive spinal cord injury using a pneumatic impact device. **Journal of Korean Medical Sci.** 2004 Aug;19(4):574-80.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (Brasil) – Censo demográfico 2000 – **Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA.** Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 26 fev. 2003.

IIZUKA, H, YAMAMOTO, T, IWASAKI, Y, KONNO, H, KADOYA, S. Experimental spinal cord injury: quantitation of axonal damage by automated image analysis. **J. Neurosur.** 1986 Feb; 64(2):304-8.

IWANAMI, A., YAMANE, J., KATOH, H., NAKAMURA, M., MOMOSHIMA, S., ISHII, H., TANIOKA, Y., TAMAOKI, T., TOYAMA, Y., OKANO, H. Establishment of graded spinal cord injury model in a nonhuman primate: the common marmoset. **Journal of Neuroscience Research.** 2005 Mar; 80:172-181.

JAKEMAN, L.B., STOKES, B.T. Experimental modeling of human spinal cord injury: a model that crosses the species barrier and mimics the spectrum of human citopathology. **Spinal Cord.** 2002, 40: 101-109.

JAKEMAN, L.B., GUAN, Z., WEI, P., PONNAPPAN, R., DZWONCZYK, R., POPOVICH, P.G., STOKES, BT. Traumatic spinal cord injury produced by controlled contusion in mouse. **J Neurotrauma.** 2000 Apr;17(4):299-319.

KAPTANOGLU, E., PATAOGLU, S., SURUCU, H.S., HAYRAN, M., BESKONAKLI, E. Ultrastructural scoring of graded acute spinal cord injury in the rat. **Journal of Neurosurg.** 2002 Jul; 97(1); 49-56.

KHAN, M., GRIEBEL, T. Acute spinal cord injury in the rat: comparison of three experimental techniques. **Can. J. Neurol. Sci.** 1983 Aug;10(3):161-5.

KHAN, T., HAVEY, R.M., SAYERS, S.T., PATWARDHAN, A., KING, W.W. Animal models of spinal cord contusion injuries. **Lab Anim Sci.** 1999 Apr;49(2):161-72.

KOOZEKANANI, S.H.; VISE, W.M.; HASHEMI, R.M.; and MCGHEE, R. Possible mechanisms for observed pathophysiological variability in experimental spinal cord injury by the method of Allen. **J. Neurosurg.**, v.44, p.429-434, 1976.

KUHN, P.L.; WRATHALL, J.R. A mouse model of graded contusive spinal cord injury. **J. of Neurotrauma**, v.15, n.2, p.125-140, 1998.

KWON, Brian., OXLAND, R., TETZLAFF, W., Animal models used in spinal cord regeneration research. **Spine.** 2002. 27(14):1504-10.

LEME, R.J. MOON, L.D.F. OUDEGA, M. Schwann cells for spinal cord repair. **Brazilian journal of medical and biological research.** (2005) 38: 825-835.

LIFSHUTZ, Jason. COLOHAN, Austin. **A brief history of therapy for traumatic spinal cord injury.** Disponível em: www.aans.org/education/journal/neurosurgical/jan04/16-1-5.pdf. Acesso em: 30 out. 2004.

LU, JAKE. **Transplantation of nasal olfactory tissues into transected spinal cord of adult rats.** University of New South Wales. 2000.

MACHADO, A. B. M. **Neuroanatomia Funcional.** 2ª Ed., Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 2000.

MAIMAN DJ, COATS J, MYKLEBUST JB. Cord/spine motion in experimental spinal cord injury. **J Spinal Disord.** 1989 Mar;2(1):14-9.

MARQUES FILHO, O., VIEIRA NETO, H. **Processamento Digital de Imagens.** Rio de Janeiro: Brasport, 1999.

MATIAS, J. **Mecatronica Atual: Encoder.** Disponível em: <http://www.mecatronicaatual.com.br/artigos/cnc/index.htm>. Acesso em: 01 dez 2005.

MATHWORKS. **User Guide for Image Processing.** Disponível em: <http://www.mathworks.com>. Acesso em 01 dez 2005.

MEYER, F., VIALLE, E., VIALLE, L.R.G. Alterações vesicais na lesão medular experimental em ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18, n. 3, p. 203-207.

METZ, G.A., CURT, A., van de MEENT, H., KLUSMAN, I., SCHWAB, M.E, DIETZ, V. Validation of the weight-drop contusion model in rats: a comparative study of human spinal cord injury. **Journal of Neurotrauma**. 2000 Jan; 17(1):-17.

MINK, Carlos, TERRA, Claudio. Montando, configurando e expandindo seu computador. São Paulo: Makron Books, 1997.

MOLT, J.T., NELSON, L.R., POULOS, D.A., BOURKE, R.S. Analysis and measurement of some sources of variability in experimental spinal cord trauma. **J Neurosurg**. 1979 Jun;50(6):784-91.

MOORE, James; ZOURIDAKIS, George. Biomedical technology and devices. New York: CRC press, 2004.

NADERI, S. TÜRE, U. PAIT, G. History of spinal cord localization. **Neurosurg Focus**. 2004, (16): 1-5.

NOBLE, L.J.; WRATHALL, J.R. Spinal cord contusion in the rat: morphometric analyses of alterations in the spinal cord. **Exp. Neurol**. 1985 Apr;88(1):135-49.

NOBLE, L.J.; WRATHALL, J.R. An inexpensive apparatus for producing graded spinal cord contusive injury in the rat. **Exp Neurol**. 1987 Feb;95(2):530-3.

NOBLE, L.J., WRATHALL, J.R. Correlative analyses of lesion development and functional status after graded spinal cord contusive injuries in the rat. **Exp. Neurol**. 1989 Jan; 103(1):34-40.

NOGUEIRA, Sergio Antonio. **Lesão Medular**. Disponível em: <http://www.lesaomedular.com.br/lesaomedular.htm>. Acesso em: 29 out. 2004.

NOYES, D.H. Correlation between parameters of spinal cord impact and resultant injury. **Exp Neurol**. 1987 Mar;95(3):535-47.

NOYES, D.H. Electromechanical impactor for producing experimental spinal cord injury in animals. **Med Biol Eng Comput**. 1987 May;25(3):335-40.

OPPENHEIM, Alan W.; SCHAFER, Ronald W. **Digital Signal Processing**. New Jersey: Prentice Hall, 1975.

PANJABI, M.M., WRATHALL, JR. Biomechanical analysis of experimental spinal cord injury and functional loss. **Spine**. 1988 Dec; 13(12):1365-70.

PINTAR, F.A, SCHLICK, M.B, YOGANANDAN, N., MAIMAN, D,J. Instrumented artificial spinal cord for human cervical pressure measurement. **Biomed Mater Eng**. 1996;6(3):219-29.

RAMER, M., HARPER, G., BRADBURY, E., Progress in spinal cord research: A refined strategy for the International Spinal Research Trust. **Spinal cord**. 2000;38:449-72.

RIVLIN. A.S.; TATOR, C.H. Effect of duration of acute spinal cord compression in a new acute cord injury model in rat. **Surg. Neurol.**, v.10, p. 39-43, 1978.

SEKI, T., HIDA, K., TADA, M., KOYANAGI, I., IWASAKI, Y. Graded contusion model of the mouse spinal cord using a pneumatic impact device. **Neurosurgery**. 2002 May;50(5):1075-81; discussion 1081-2.

SEMMLOW, John L. **Biosignal and biomedical signal processing**. New York: Marcel Dekker, 2004.

SENE, Marcela O. **Efeitos da estimulação elétrica neuromuscular sobre o gasto energético de lesados medulares**. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/82/82131/tde-01092003-110729>. Acesso em: 02 dez. 2005.

SNELLING, K. W. **The IBAS Image Analyser and its Use in Particle Size Measurements**. WINFRITH, United Kingdom Atomic Energy Authority. AEEW-R1869, 1984.

TEXAS INSTRUMENTS CORPORATED. **Optoelectronics and image-sensor data book**. USA: Texas Instruments, 1990.

TATOR, C.H., FEHLINGS, M.G. Review of the secondary injury theory of acute spinal trauma with emphasis on vascular mechanism. **Journal of Neurosurg.**, v. 75, p. 15-26, 1991.

TORTORA, Gerard J. **Corpo Humano: fundamentos de anatomia e fisiologia**. Porto Alegre: Artmed, 2000.

VANICKÝ, I., URDZÍKOVÁ, L., SAGANOVÁ, K., CÍZKOVÁ, D., GÁLIK, J. A simple and reproducible model of spinal cord injury induced by epidural balloon inflation in the rat. **Journal of neurotrauma**. 2001 Dec;18(12):1399-407.

VIALLE, E., VIALLE, L.R.G., RASERA, E., CECHINEL, C., LEONEL, L., SEYBOTH, C. Avaliação da recuperação motora em ratos submetidos a lesão medular experimental. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v.37, p 83-88, 2002.

VIALLE, L.R. **Instalação de um sistema de estudo de lesões medulares experimentais em animal**. Dissertação (Doutorado em Clínica Cirúrgica) – Setor de Ciências da Saúde, UFPR, Curitiba, 2001.

WEBSTER, John G. Medical instrumentation: application and design. New York: John Wiley & Sons, 1998.

WEIRICH SD, et al. Histopathologic correlation of magnetic resonance imaging signal patterns in a spinal cord injury model. **Spine**. 1990 Jul; 15(7):630-8.

WRATHALL. J.R.; PETEGREW. R.K.; HARVEY F. Spinal cord contusion in the rat: production of graded, reproducible, injury groups. **Exp. Neurol.**, v.88, p,108-122, 1985.

YOUNG W. Spinal cord contusion models. **Prog. Brain Res**. 2002; 137:231-55.

YOUNG W. The spinal cord impactor. **Rutgers University**. 2003 May; 1-128.

ANEXO 1
Desenho técnico

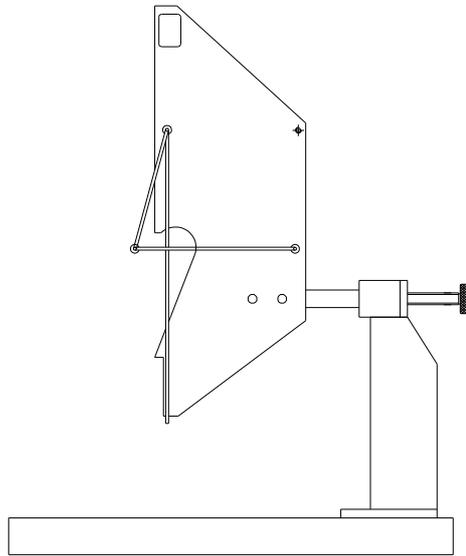


Figura A1 - Vista lateral.

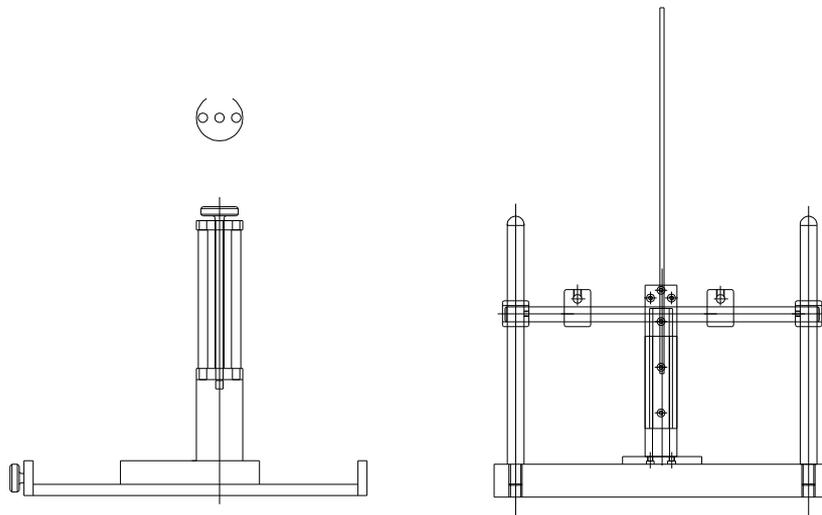


Figura A2 - Vista frontal.

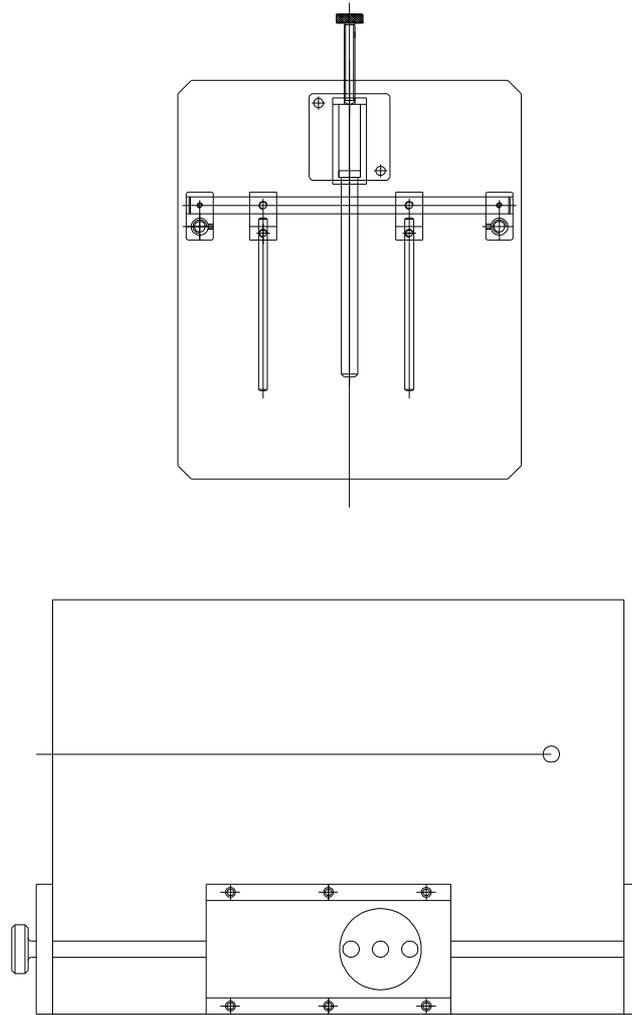


Figura A3 - Vista superior.

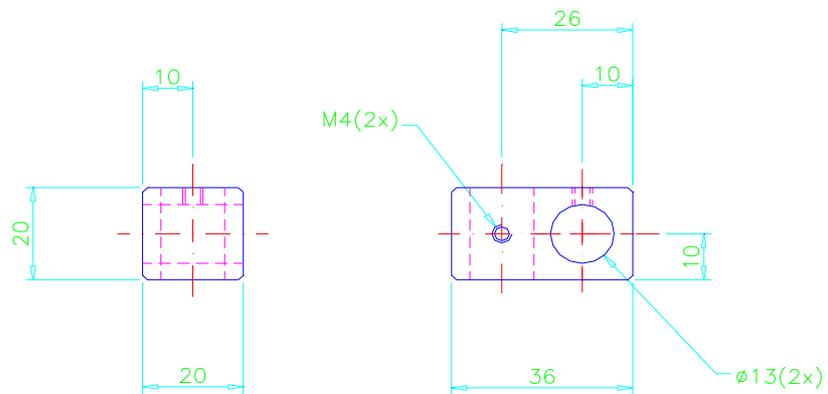
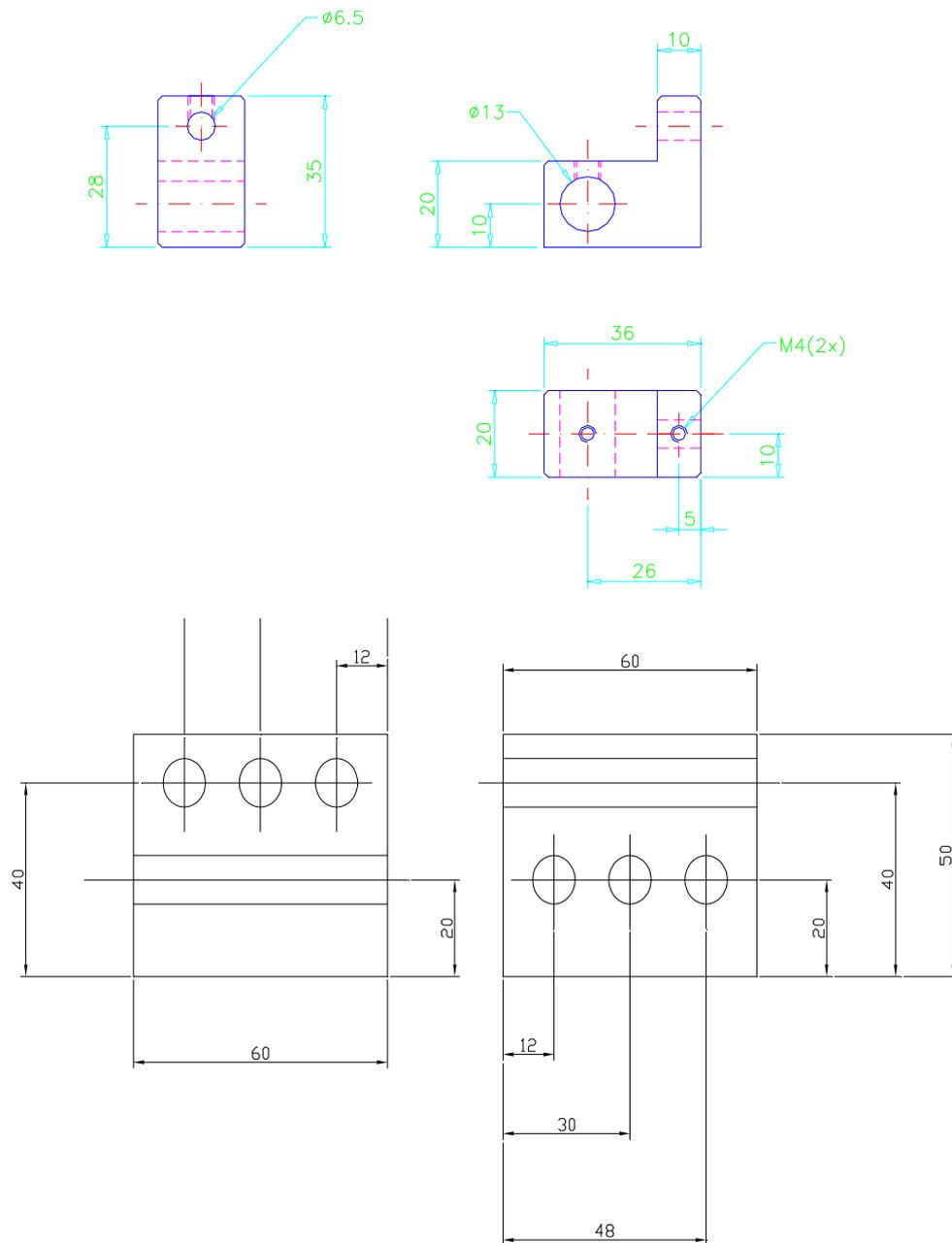
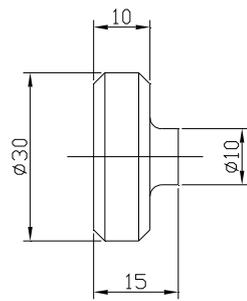
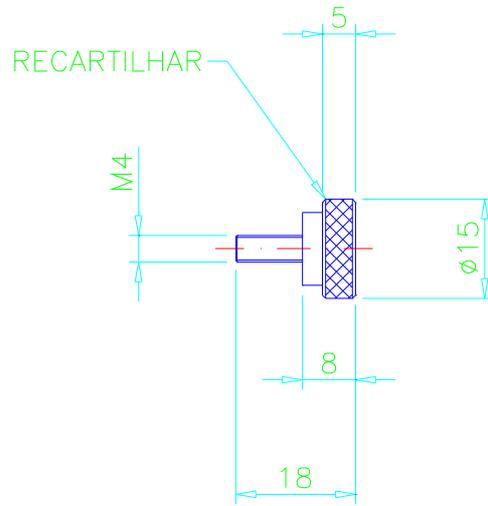


Figura A4 - Suporte de fixação.

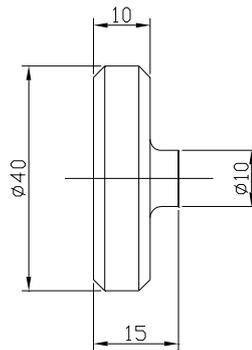


60x60x50 - 1 peça

Figura A5 - Suporte de fixação.



$\phi 30 \times 15$ 1-peça



$\phi 40 \times 15$ 2-peça

Figura A6 - Pino do suporte de fixação.

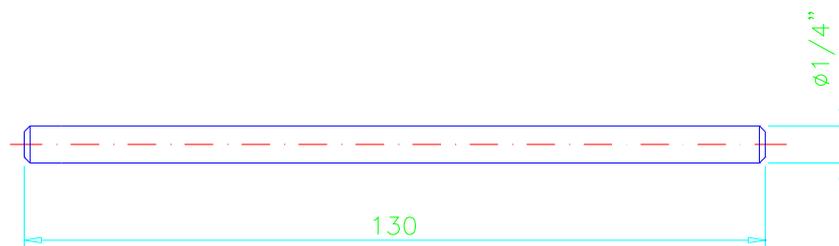


Figura A7 – Haste.

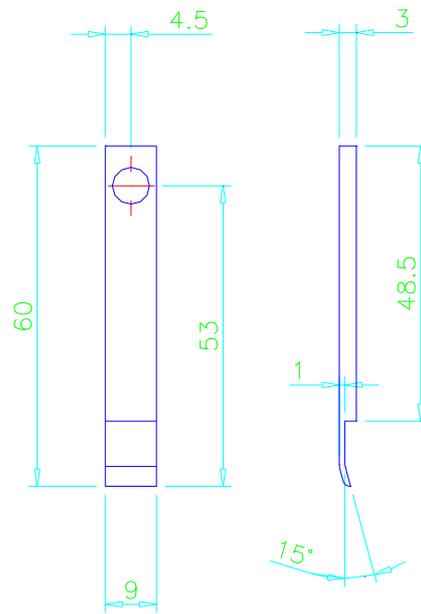


Figura A8 – Pinça.

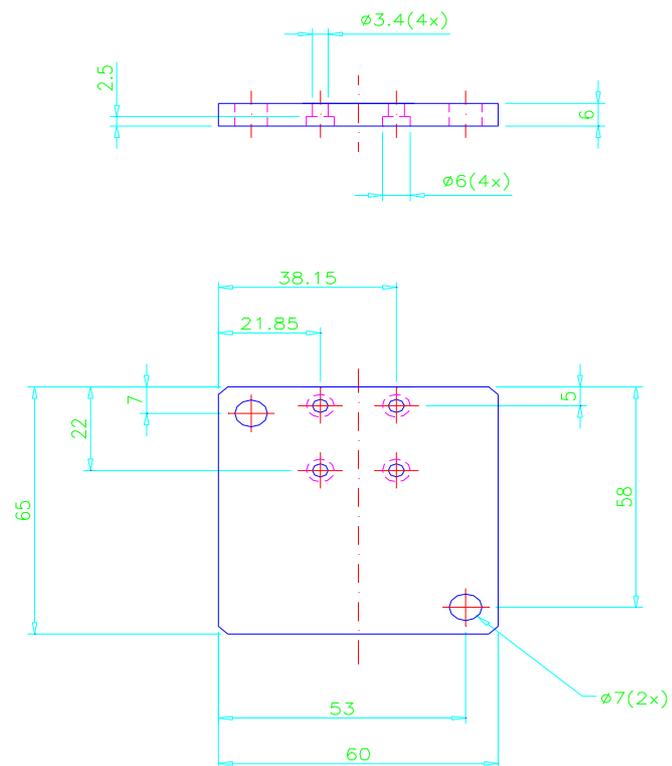


Figura A9 - Suporte da base vertical eixo y.

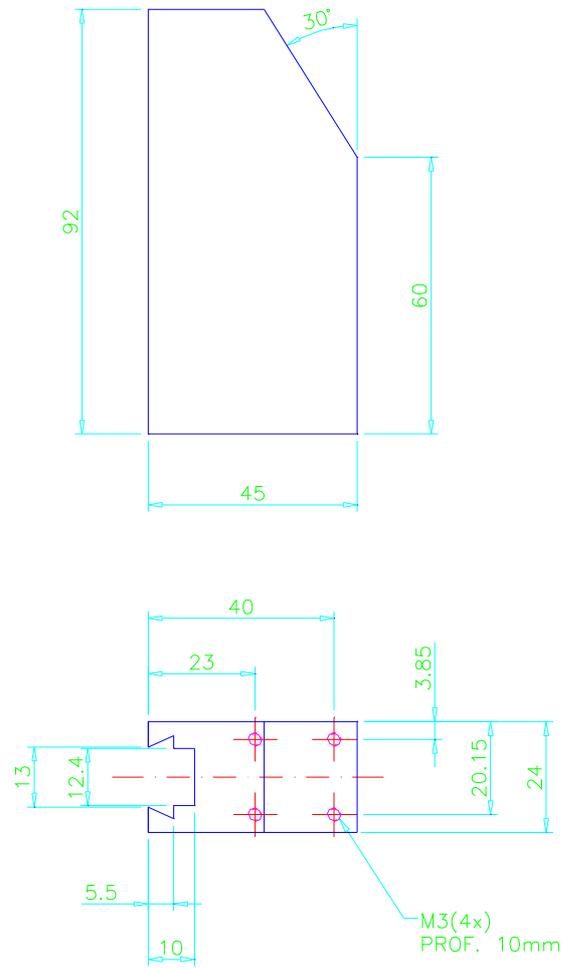


Figura A10 - Base vertical eixo y.

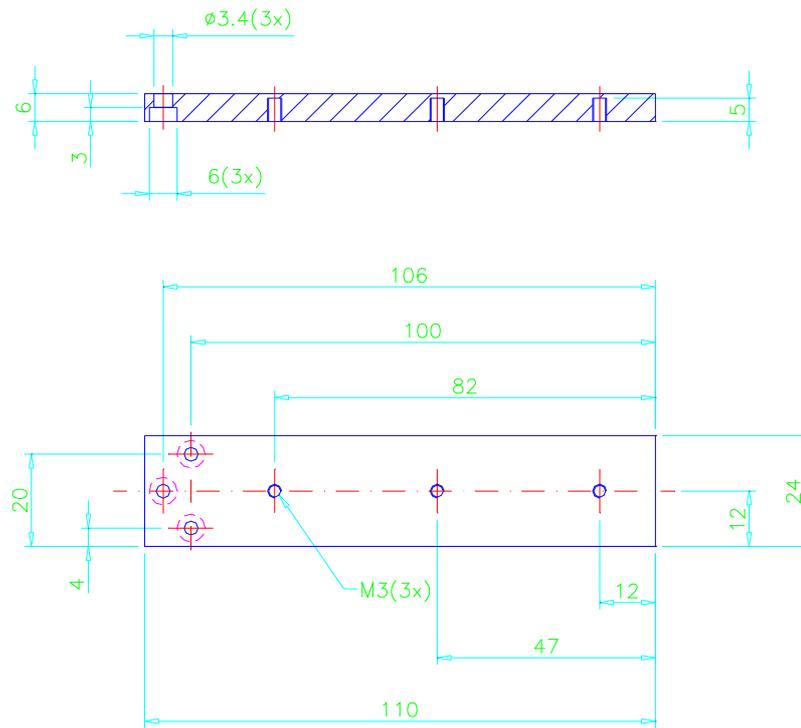


Figura A11 - Peça que realiza o deslocamento no eixo y.

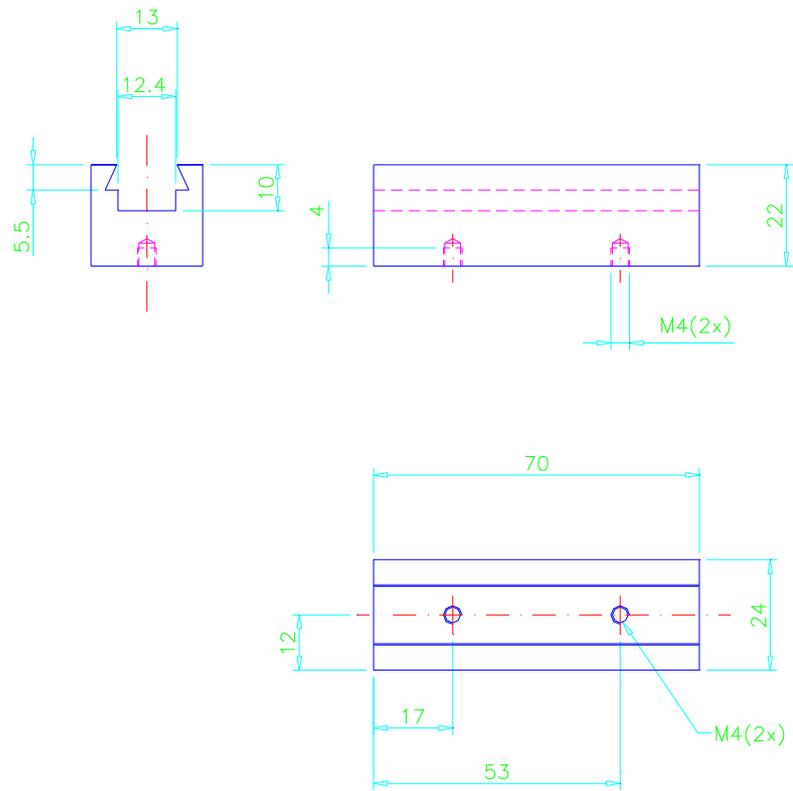


Figura A12 - Base horizontal eixo x.

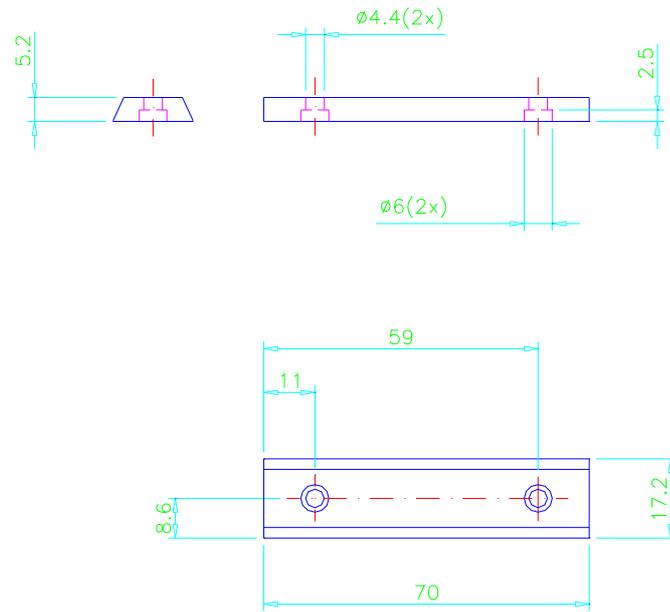


Figura A13 - Peça interna da base horizontal eixo x.

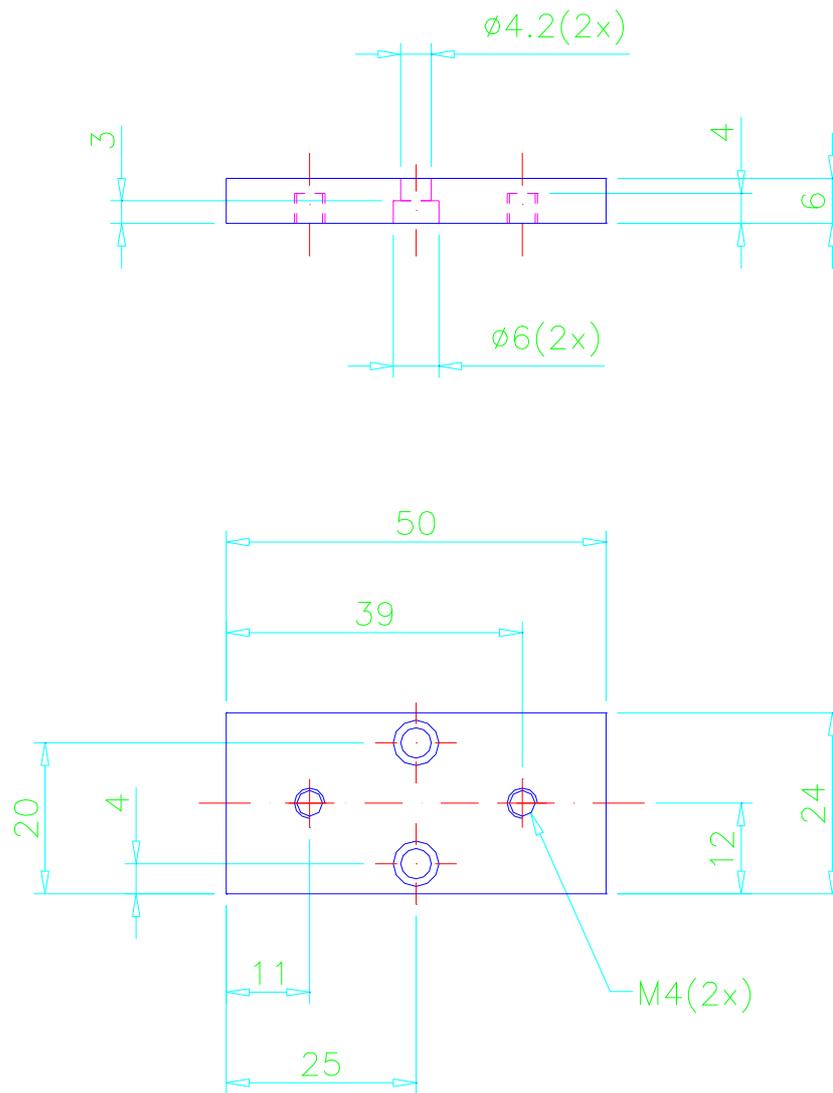


Figura A14 - Suporte do eixo z.

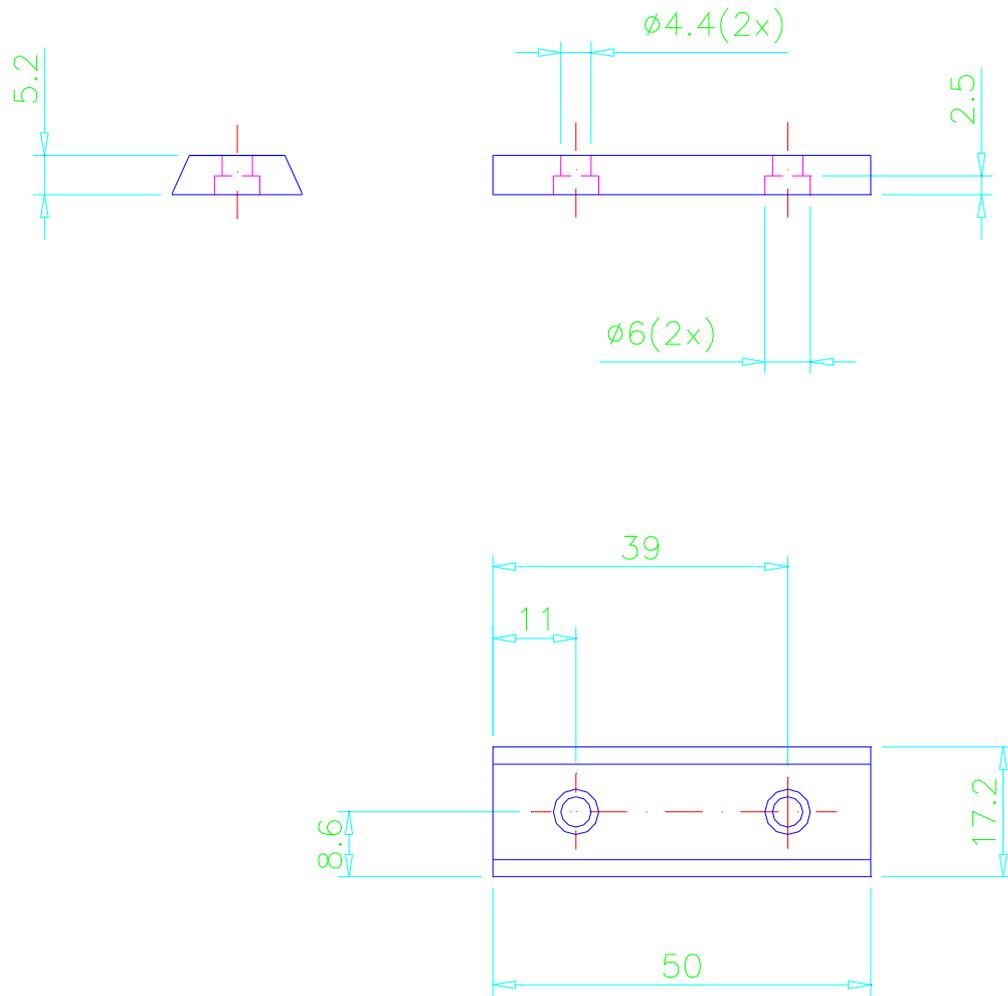
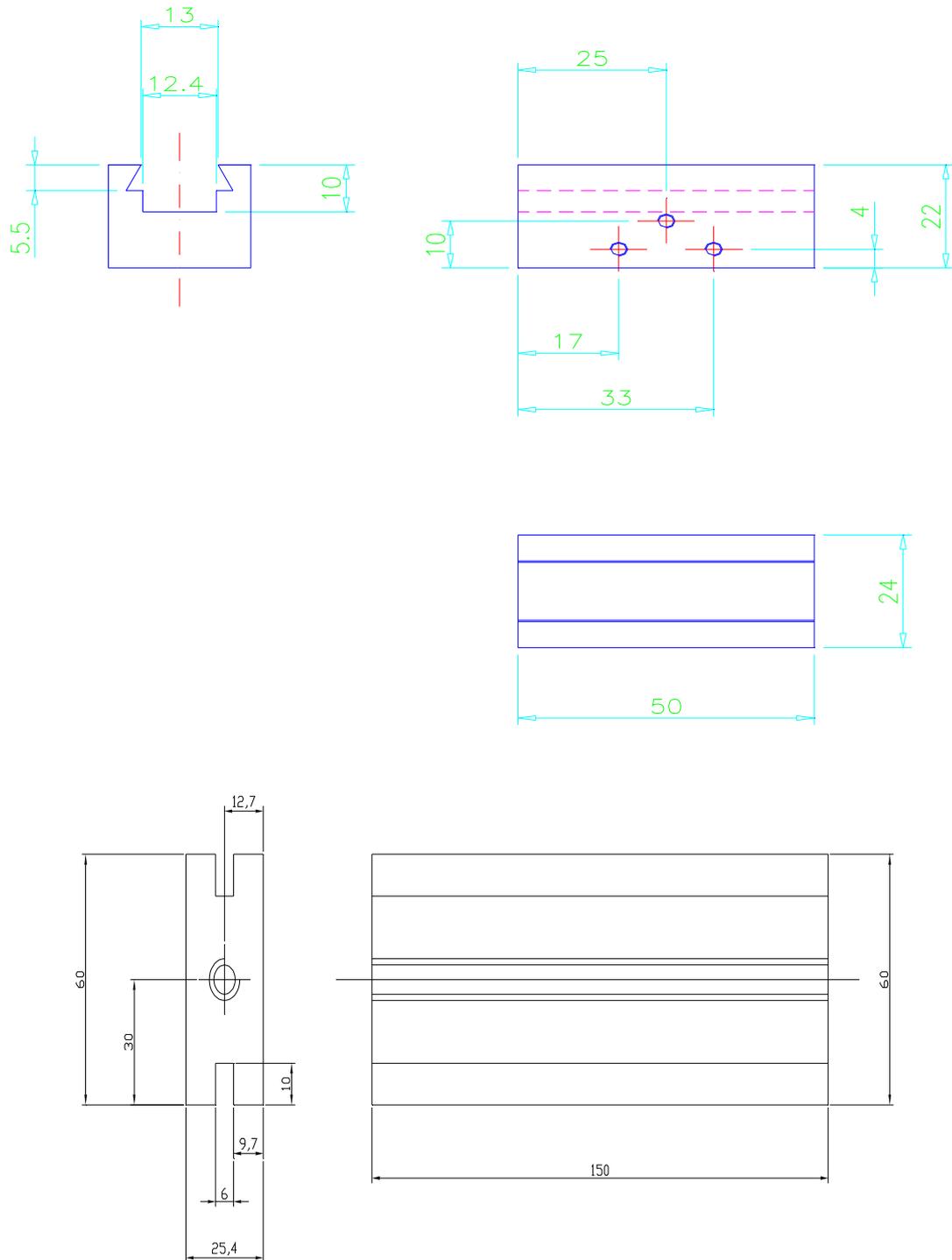


Figura A15 - Peça interna da base horizontal eixo z.



1"x60X150 - 1 peça

Figura A16 - Base horizontal eixo z.

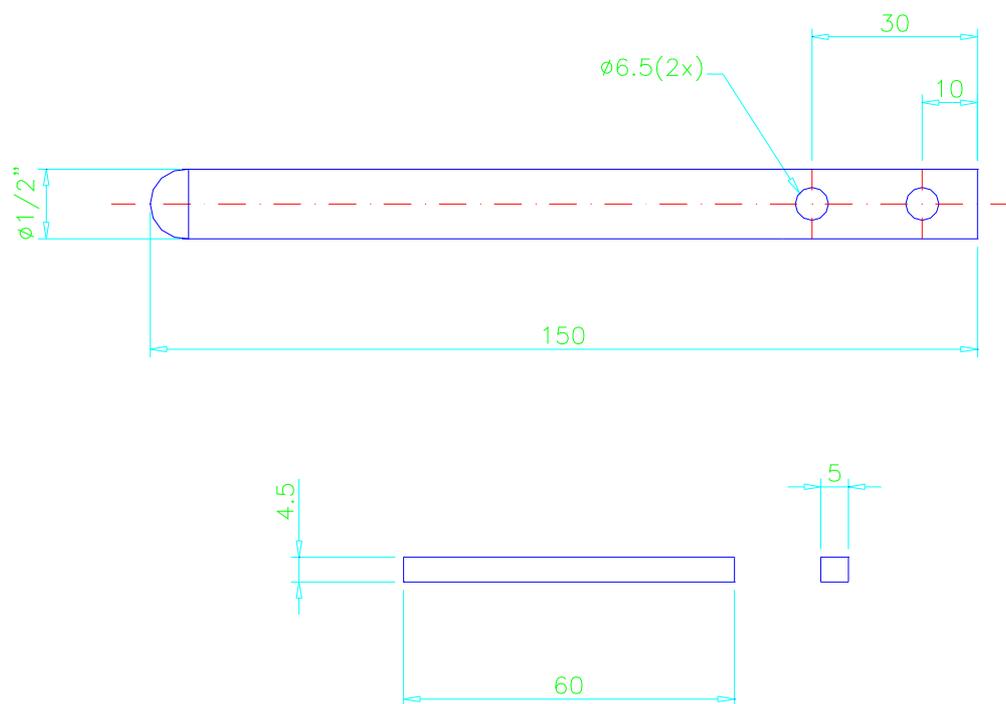


Figura A17 - Haste e chaveta.

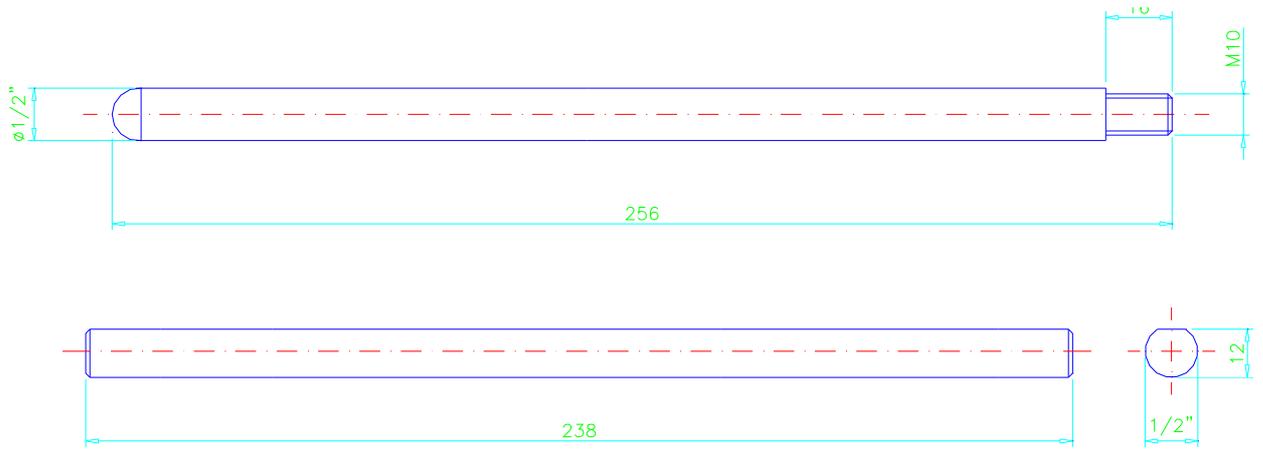


Figura A18 – Haste.

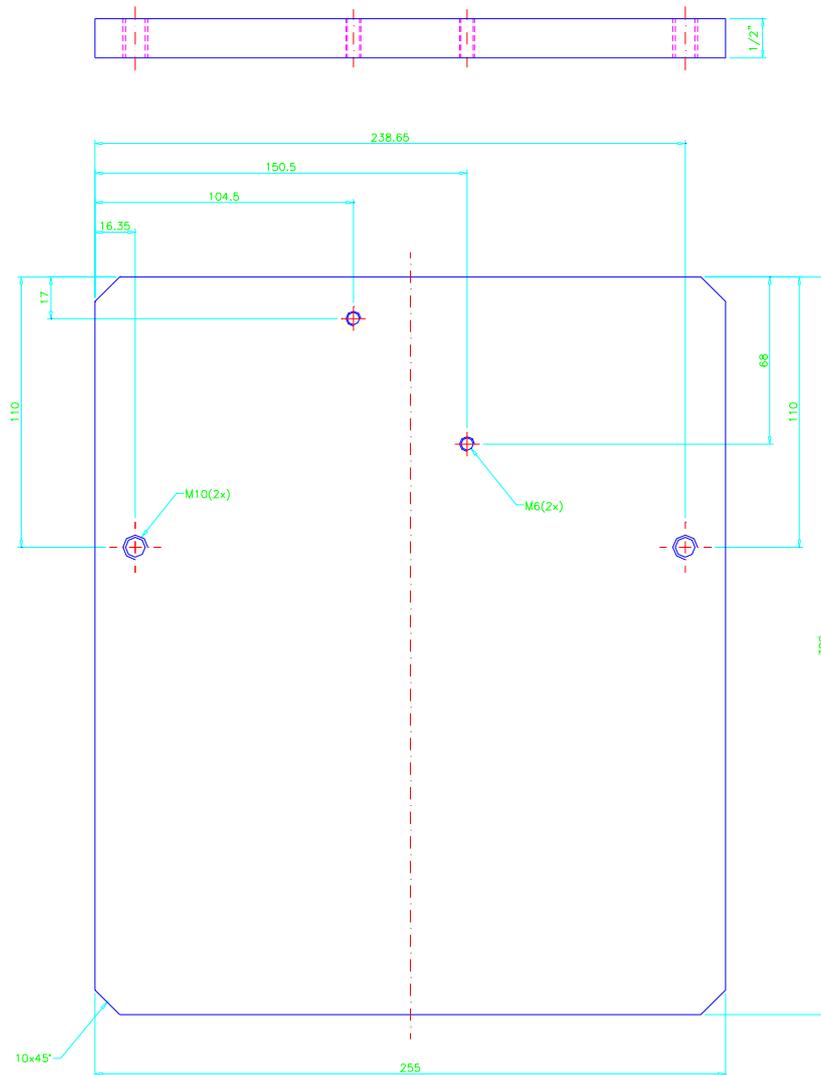


Figura A19 - Suporte da base.

ANEXO 2

PLANTA BAIXA DA PLACA DE AQUISIÇÃO E CIRCUITOS.

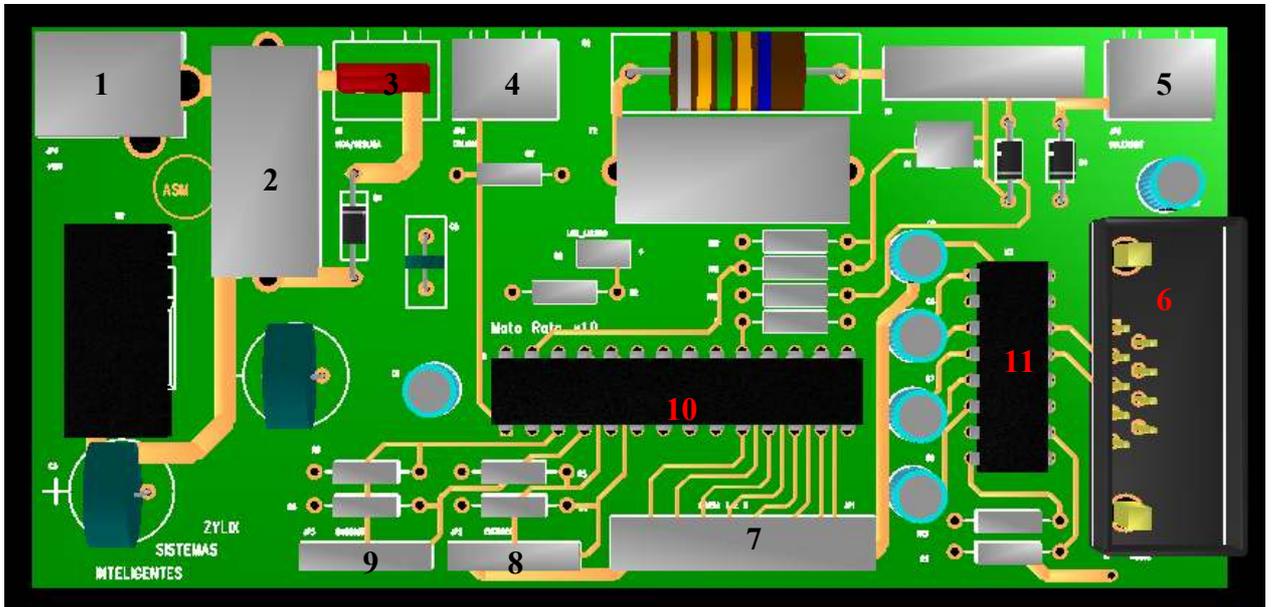


Figura A20 - Planta baixa da placa de aquisição.

Os principais pontos desta planta foram numerados na planta da placa de aquisição e são:

1. entrada da fonte de alimentação 12 VDC;
2. fusível de segurança;
3. chave de liga-desliga;
4. conector para os fios que fazem o curto-circuito que para a contagem do tempo. Um fio fica ligado a haste de contusão e outro com uma garra jacaré fica preso na coluna do rato. Quando a haste desce e encosta na coluna do rato ocorre um curto através de solução salina entre os dois fios. Desta forma pode-se calcular o tempo de queda da haste;
5. conector do solenóide;
6. conector para a porta serial;
7. pinos de expansão;
8. conector do Encoder 1;
9. conector do Encoder 2;

10. Microprocessador;
11. Circuito integrado MAX 232.

Circuitos Eléctricos

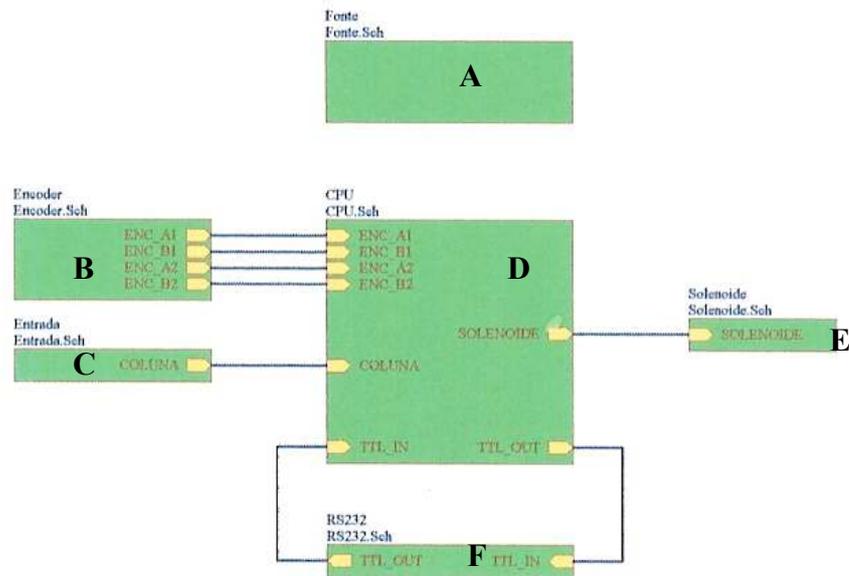


Figura A21 - Blocos principais do circuito, A indica a fonte de alimentação, B bloco de entrada dos *Encoders*, C é o bloco que realiza o curto circuito entre a haste de contusão e a garra, D é a CPU, E o bloco do solenóide, e F o bloco da interface serial RS 232.

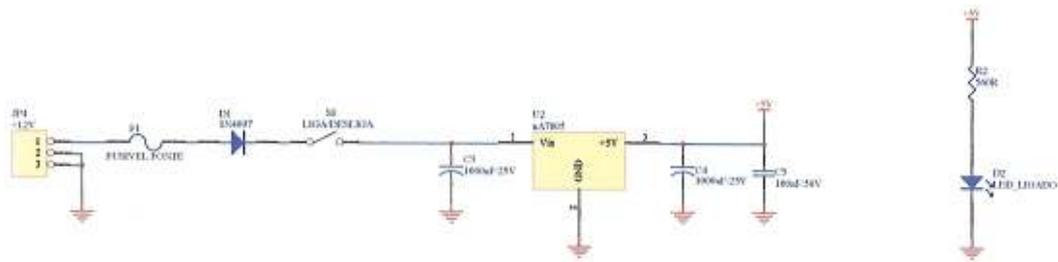


Figura A22 - Circuito da fonte de alimentação.

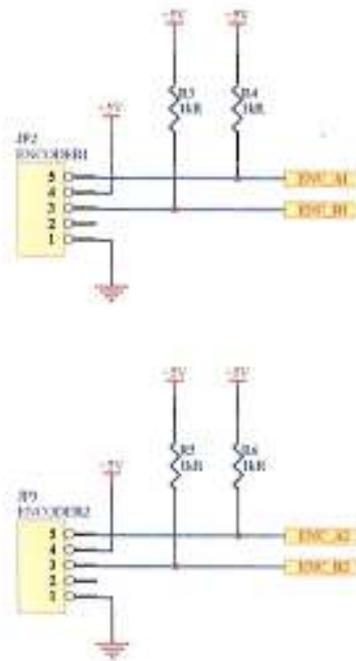


Figura A23 - Circuito de entrada dos *Encoders*.

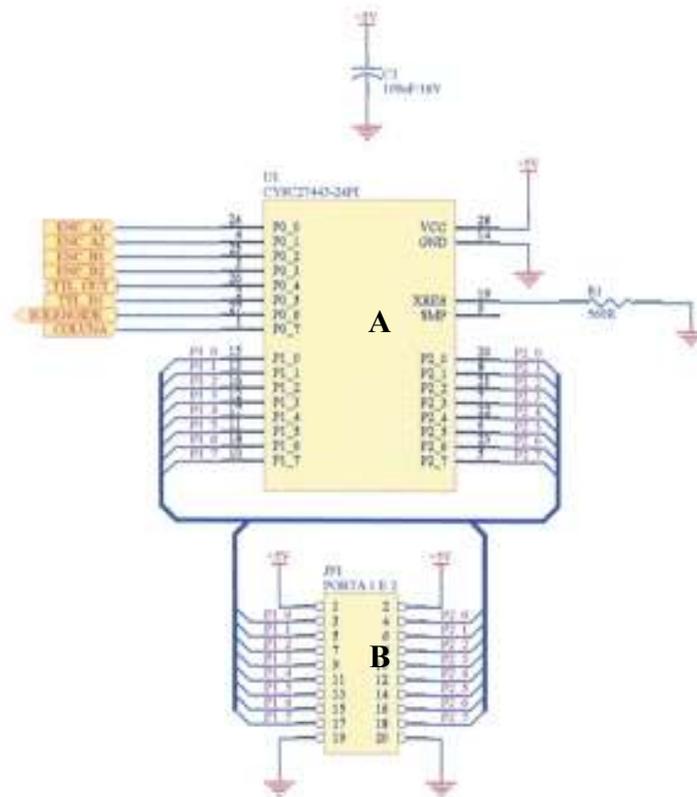


Figura A24 - Blocos que ilustra as portas para futura expansão, onde A é a CPU e B um conector de 20 pinos para possíveis expansões.

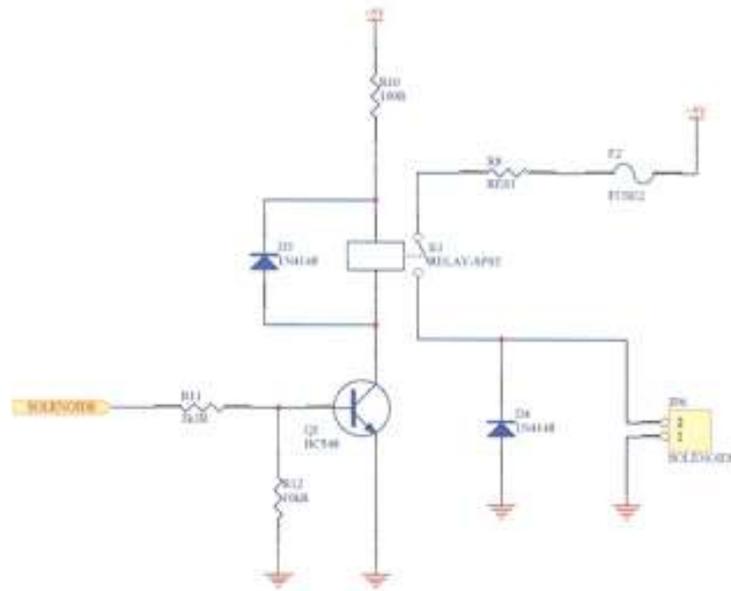


Figura A25 - Circuito com relê para acionamento do solenóide.

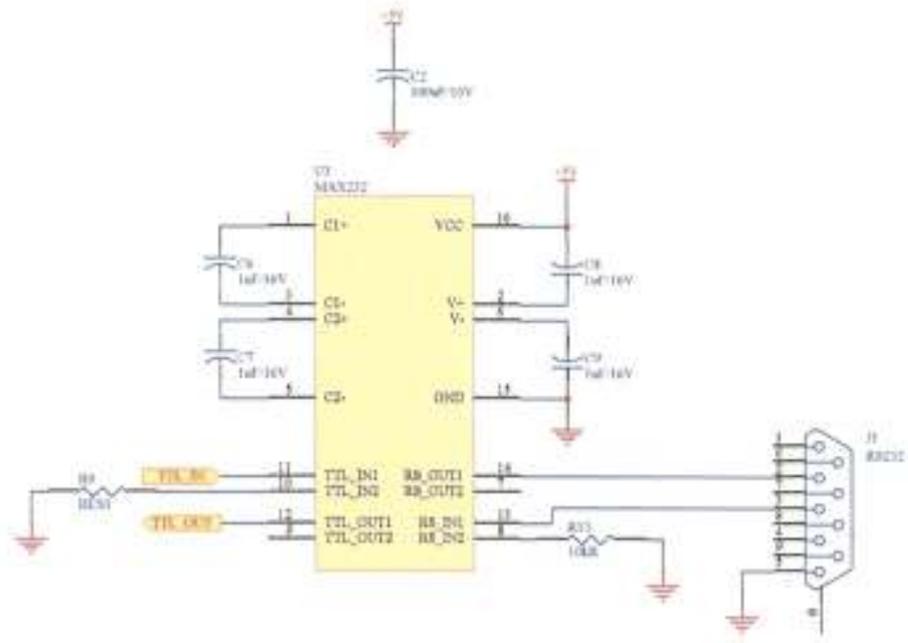


Figura A26 - Bloco de conexão RS 232.

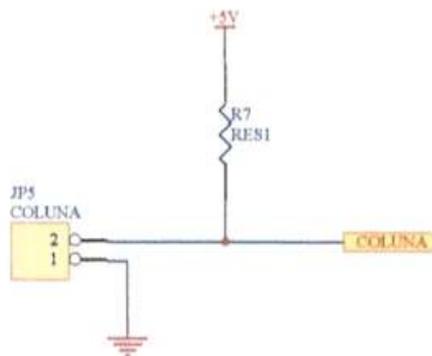


Figura A27 - Circuito que realiza o curto circuito entra a haste de contusão e a garra.

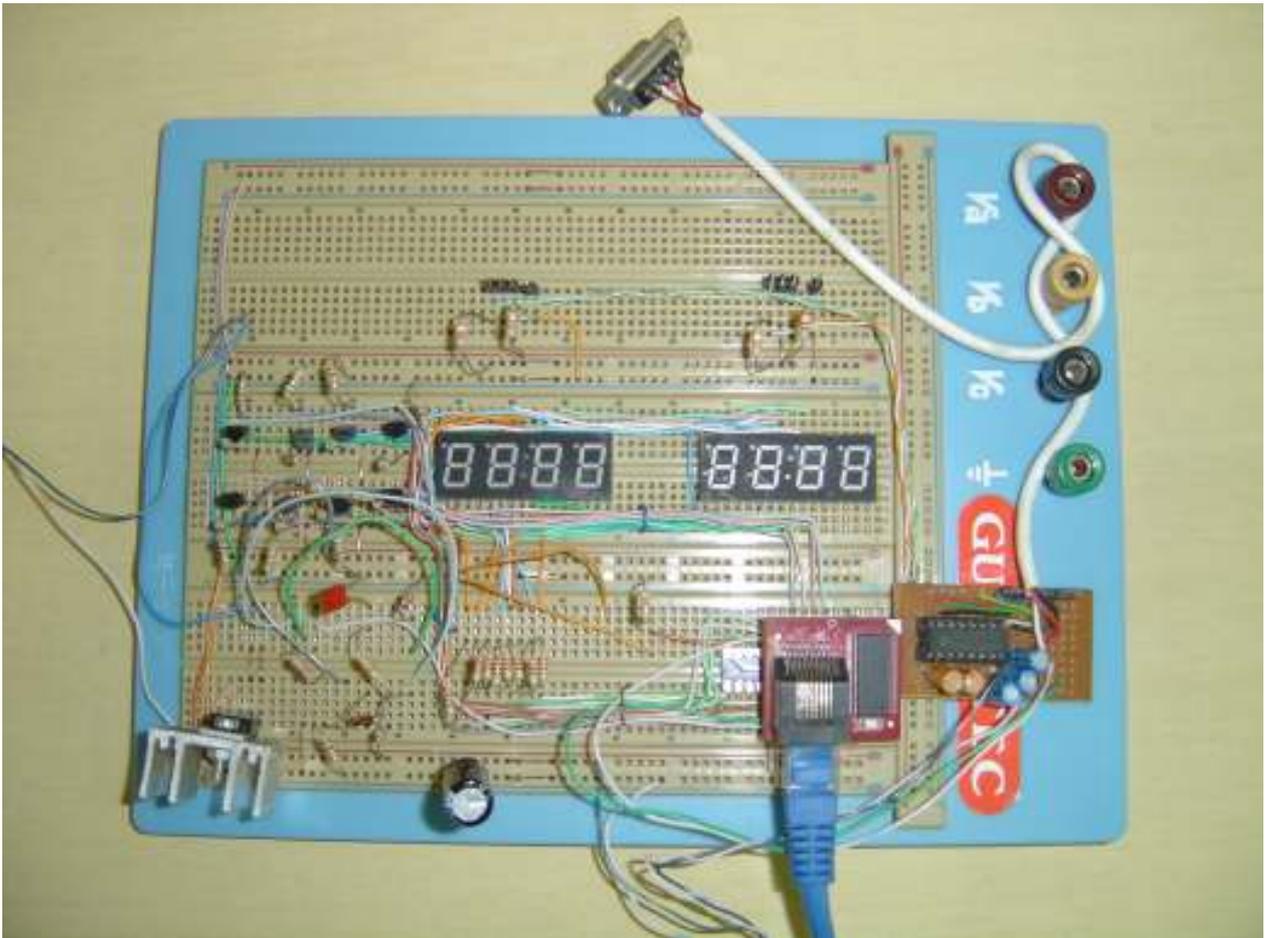


Figura A28 - Foto do circuito montado para avaliar o funcionamento.

ANEXO 3

MODELO DO PROTOCOLO PARA EXAME DO COMPROMETIMENTO MOTOR DO ANIMAL (VIALLE, 2001)

Tabela A1 - Tabela de exame do comprometimento motor

ESCALA BBB

ANIMAL:	MEMBRO DIREITO	MEMBRO ESQUERDO
MOVIMENTO DO QUADRIL		
MOVIMENTO DO JOELHO		
MOVIMENTO DO TORNOZELO		
POSICAO DO TRONCO		
ABDOME		
POSICIONAMENTO DA PATA		
MARCHA		
COORDENAÇÃO		
IMPULSÃO DOS DEDOS		
POSIÇÃO DA PATA		
INSTABILIDADE DO TRONCO		
CAUDA		

ANEXO 4 COMANDOS DO MATLAB

COMANDOS DO MATLAB PARA AQUISIÇÃO DE IMAGEM

Reconhecendo a placa de aquisição

Uma entrada de vídeo representa uma conexão entre o Matlab e a placa de aquisição. Para criar uma entrada de vídeo utilize a função VIDEOINPUT. Por exemplo:

```
vidobj = videoinput('dt', 1, 'RS170')
```

Identificando o tipo de entrada

Um vídeo pode estar no formato RGB, para identificar o use:

```
sources = vidobj.Source
```

Selecionando um objeto para aquisição

A seleção pode ser feita pelo nome:

```
set(vidobj, 'SelectedSourceName', 'VID2')
```

Para obter um arquivo que já está selecionado utiliza-se a função GETSELECTEDSOURCE:

```
selectedsrc = getselectedsource(vidobj)
```

Acessando as propriedades de vídeo

Para acessar essas propriedades utilize:

```
get(selectedsrc)
```

Para deletar um objeto do workspace utilize-se:

```
delete(vidobj)  
clear vidobj
```

COMANDOS DO MATLAB PARA ACESSAR AS PROPRIEDADES DA IMAGEM

Acessando as propriedades

Para acessar todas as propriedades de video utilize-se a função GET:

```
vidobj = videoinput('winvideo', 1);  
get(vidobj)
```

Para acessar uma propriedade especifica utilize-se a função GET com o nome do objeto e o nome da propriedade. Por exemplo, para altera o brilho:

```
brightnessValue = get(src, 'Brightness')  
brightnessValue =
```

Configurando as propriedades

Para configurar uma propriedade utiliza-se a função SET:

```
set(vidobj, 'LoggingMode')  
[ disk | disk&memory | {memory} ]
```

Para configurar a propriedade especifica de um objeto utiliza-se a função SET o nome do objeto, o nome da propriedade a ser alterada:

```
set(vidobj, 'TriggerRepeat', 2)  
set(src, 'Contrast', 100)
```

COMANDO DO MATLAB PARA VISUALIZAR IMAGEM EM TEMPO REAL

Visualizando uma imagem em tempo real

Para visualizar uma imagem utilize a função PREVIEW:

```
vidobj = videoinput('winvideo', 1);  
preview(vidobj)
```

Capturando uma foto

Para capturar uma foto utilize-se a função GETSNAPSHOT:

```
snapshot = getsnapshot(vidobj);  
imagesc(snapshot)
```