

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Felipe Campos Kitamura

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE TELEMETRIA PARA O
ESTUDO DE PROPRIEDADES TERMOFÍSICAS EM RATOS WISTAR.**

Juiz de Fora

2014

FELIPE CAMPOS KITAMURA

**DESENVOLVIMENTO DE UM SISTEMA DE TELEMETRIA PARA O
ESTUDO DE PROPRIEDADES TERMOFÍSICAS EM RATOS WISTAR.**

Exame de Qualificação de Mestrado do
Curso de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas, para obtenção do Título de
Mestre em Ciências Biológicas na área de
Genética e Biotecnologia.

José Paulo Rodrigues Furtado de Mendonça

Raúl Marcel González Garcia

Juiz de Fora

2014

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Campos Kitamura, Felipe.

Desenvolvimento de um sistema de telemetria para o estudo de propriedades termofísicas em ratos Wistar / Felipe Campos Kitamura. -- 2014.

101 p.

Orientador: José Paulo Rodrigues Furtado de Mendonça

Coorientador: Raúl Marcel González Garcia

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Imunologia e Genética, 2014.

1. telemetria. 2. termofísica. 3. alta resolução. 4. alta amostragem. 5. múltiplos canais. I. Rodrigues Furtado de Mendonça, José Paulo, orient. II. Marcel González Garcia, Raúl, coorient. III. Título.

FELIPE CAMPOS KITAMURA

“Desenvolvimento de um sistema de telemetria de baixo custo, alta taxa de amostragem, alta resolução e múltiplos canais, para o estudo de propriedades termofísicas de tecidos biológicos em ratos Wistar”

Dissertação de Mestrado submetida à banca examinadora do Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Ênfase em Imunologia e Doenças Infecto-Parasitárias, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos necessários para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 26 10 3 12014.

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. José Paulo Rodrigues Furtado de Mendonça

Orientador

Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. Dr. Valmar Carneiro Barbosa

Universidade Federal do Rio de Janeiro



Prof. Dr. Raúl Marcel González García

Universidade Federal de Juiz de Fora

DEDICATÓRIA

**Aos meus pais, Zilmara e Dante (*in memoriam*), ao meu irmão Fernando, aos meus avós Edilza e Pedro, à Fernanda e aos meus amigos.
Pela compreensão, carinho e apoio.**

AGRADECIMENTOS

A Deus por iluminar o meu caminho e colocar em minha vida pessoas especiais.

Aos meus pais, Zilmara e Dante (in memoriam), pelo exemplo de vida e determinação, pelo apoio e amor.

Ao meu irmão, Fernando, pelo companheirismo e apoio nos momentos de dúvidas e dificuldades.

À minha avó, Edilza, por todas suas orações, torcida, além de estar sempre com a casa aberta pra me receber.

Ao meu avô, Pedro, pelos ensinamentos de vida.

Aos meus amigos César Bastos, Chrystian, Philipe, Carol, Jair, Thiago Mendonça, Matheus Mendonça, Thiago Schroder, Cristiano Gonzaga, Leonardo Homen, Aldo, Igor Rafael, Leandro Cardarelli, Rafael Andrade e a todos os meus R iguais na residência de Radiologia, por estarem sempre ao meu lado, me dando forças e pelos diversos momentos em que me ensinaram muitas idéias novas.

À Fernanda, pela compreensão, incentivo, carinho e por tornar a trajetória do mestrado ainda mais prazerosa.

Ao Prof. Dr. José Paulo Rodrigues Furtado de Mendonça, pela oportunidade de realizar este trabalho, pela orientação, por seus ensinamentos, que foram fundamentais para o meu amadurecimento, pelo seu apoio constante e exemplo profissional.

Ao Prof. Dr. Raúl Marcel González Garcia, pela oportunidade, pela orientação, por sua confiança e ajuda no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Dr. Bernhard Lesche, por ter cedido o impressionante algoritmo de termostato, além de todos os ensinamentos sobre Física e do incentivo constante para que eu permanecesse na pesquisa.

Ao Pedro Paulo, sempre com boa vontade em me ajudar com seu inestimável conhecimento e habilidade com mecânica e eletrônica.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Biologia Molecular e do Laboratório de Física Aplicada, Luiz Caires, Camila, Tatianne e todos os outros alunos desses laboratórios, por sempre estarem dispostos a me ajudar e esclarecer minhas dúvidas, pelos conselhos, pelo apoio e incentivo, pelos momentos divertidos e pela amizade, tão importantes neste período do mestrado.

Aos professores, Lyderson Viccini, Carlos Maranduba e Marcelo, pelos ensinamentos nas disciplinas.

À Laura Ferraz, pela paciência em me ajudar a formatar corretamente este trabalho.

À Universidade Federal de Juiz de Fora e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas pela oportunidade da realização do curso de Mestrado.

À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudos.

Aos familiares e a todos aqueles que, de alguma forma, me ajudaram a realizar este trabalho.

Muito obrigado!

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

- Figura 1. Um sistema de telemetria clássico, com o dispositivo implantável (1), o receptor de dados (2) e o computador (PC) que armazena e mostra as informações. 29
- Figura 2. O dispositivo em azul realiza medidas da temperatura junto ao seu invólucro, na porção em amarelo. O dispositivo em verde permite medir temperatura de órgão específicos, ao posicionar suas hastes (em vermelho) nos sítios anatômicos de interesse. 31
- Figura 3. Descarga típica de uma bateria de lítio. Mantendo constante o consumo, a tensão da bateria (V_{bat}) permanece a maior parte do tempo perto de 3,6 V. Modificado de Lithium Ion Rechargeable Batteries – Technical Handbook (Sony Electronics). 35
- Figura 4. Gráfico relacionando tensão de saída (V_{out}) com tensão de entrada (V_{in}) do regulador. Note que na faixa de trabalho da bateria de lítio (2,7 V a 4,2 V, marcado em azul) a tensão de saída nunca excede 3,3 V. Gráfico retirado do datasheet do TC1185. 35
- Figura 5. Divisor de tensão, sendo R_c uma resistência constante, R_t a resistência do NTC, V_{dd} a tensão de alimentação e V_{out} a tensão que será lida pelo microcontrolador. 36
- Figura 6. Circuito de dithering, mostrando o acoplamento capacitivo do ruído em cada um dos quatro canais de temperatura. R_c são resistores de valor constante, R_t são termistores NTC, C são os capacitores que acoplam o ruído do PIC10F222 ao divisor de tensão. 38
- Figura 7. Divisor de tensão para medida da tensão da bateria (V_{bat}). O microcontrolador (não mostrado) realiza a medida do divisor ($V_{bat}/2$) em relação à tensão de saída do regulador (V_{dd}), que é sempre menor ou igual a 3,3 V. Para tensões da bateria entre 4,2 V e 3,5 V a medida varia de forma linear, mas abaixo de 3,5V ocorre queda da referência (V_{dd}) junto com a queda da bateria, de forma que o valor medido passa a não se alterar mais. 39
- Figura 8. Trânsito de informações entre o “software” no PC e o microcontrolador PIC18FL1220 (Microchip™), passando pelo módulo Bluetooth®. 40
- Figura 9. Tela do “software” de aquisição de dados do sensor. O gráfico maior mostra a temperatura dos quatro NTCs, em 10^{-3} °C. O gráfico menor representa a tensão da bateria, em 10^{-4} V. O eixo das abscissas nos dois gráficos representa o tempo decorrido, sendo cada unidade uma leitura do sensor, que corresponde a 5 segundos. O programa registra em arquivos os dados coletados e permite a inserção de observações dos detalhes do experimento junto aos dados, facilitando a análise posterior das informações. 41
- Figura 10. Tarugo de Alumínio. À esquerda, uma fotografia do tarugo fora do aparato. As setas vermelhas indicam os furos onde ficam os NTCs e o PT100. As setas amarelas mostram as extremidades do fio da bobina ao redor do tarugo. À direita, uma fotografia do tarugo envolto por esferas de isopor, dentro da caixa de isopor. As setas verdes indicam os NTCs dentro dos furos. A seta azul indica o PT100 dentro do furo. 42
- Figura 11. Caixa de isopor de 42 litros, blindada com papel alumínio (seta vermelha) e preenchida com isopor (seta verde). No interior da caixa, nota-se o tarugo de alumínio (seta preta). O PT100 está indicado pela seta azul. Nesta fotografia os NTCs não estão posicionados. 43

- Figura 12. À esquerda, o PT100 da marca Ecil. À direita, gráfico da resistência do PT100 em função da temperatura, conforme dados no manual do fabricante. 43
- Figura 13. Fotografia de todo o aparato, incluindo o tarugo (seta verde) com os NTCs e o PT100 (seta vermelha). O PT100 é lido pelo multímetro Agilent (seta amarela) e os NTCs são lidos pelo sensor que desenvolvemos (seta laranja). Todos esses dados são lidos pelo computador, que utiliza a interface de potência (seta azul) para controlar a temperatura do tarugo. 45
- Figura 14. Interface de potência, com conector USB tipo B para ligar ao PC, borne de quatro vias, sendo as duas centrais (fios amarelo e cinza) para ligação da bobina do tarugo e as duas das extremidades (fios brancos) para conectar a fonte de alimentação. 45
- Figura 15. Acima, a tela do “software” do PC. O primeiro gráfico mostra as leituras dos quatro NTCs, em degraus (escala de 16 bits), o segundo mostra a taxa de variação do PT100, em °C, o terceiro mostra a temperatura do PT100, em °C, o quarto mostra as potências do termostato e o quinto mostra a variância da temperatura em relação ao esperado, em °C². À esquerda, Tref é a temperatura atual do PT100, \bar{X} é a média, S2 é a variância da temperatura em relação ao esperado. Abaixo, um zoom da tela, mostrando somente as leituras dos NTCs (escala de 16 bits). 46
- Figura 16. Temperatura do tarugo em função da hora do dia. No gráfico de cima, o termostato está deligado e, por isso, a temperatura do tarugo oscila conforme a temperatura ambiente, com discreto atraso de fase (dados não plotados). No gráfico de baixo, a temperatura do tarugo (linha roxa) se mantém em 30°C, 40°C ou 50°C, conforme o ajuste arbitrado no “software” no PC. As linhas correspondentes às leituras dos NTCs se sobrepõem. Repare na estabilidade da temperatura quando o termostato está ligado. O gráficos estão em escalas diferente. 48
- Figura 17. Esquema funcional do aparato de calibração. O multímetro lê o valor de temperatura do PT100 (ponto preto no tarugo de alumínio), informa ao computador (verde), que modifica a potência entregue ao tarugo (vermelho). Essa alça fechada funciona como um termostato (algoritmo específico proposto por Lesche). Além disso, a temperatura de ajuste do termostato se modifica de forma arbitrária em função do tempo. Ao percorrer a faixa de temperatura de calibração o PC (verde) armazena e desenha gráficos com as temperaturas instantâneas do PT100 e de cada um dos 4 NTCs (pontos azuis no tarugo). 49
- Figura 18. Sensor de temperatura Bluetooth® de 4 canais. À esquerda em preto e vermelho estão os fios para alimentação com bateria (não mostrada). À direita estão os sensores NTCs (setas pretas). A seta amarela indica o microcontrolador PIC18LF1220, a seta azul indica o circuito gerador de ruído e a seta vermelha indica o módulo transmissor Bluetooth. 50
- Figura 19. Jaqueta para suporte do sensor e da bateria. O desenho mostra como a jaqueta (seta preta) é fixada no animal. O sensor (seta amarela) pode ser ligado/desligado da bateria (seta verde) pelo interruptor (seta azul), para economizar bateria. Os NTCs estão implantados no interior do animal (não visíveis) e seus terminais exteriorizam-se pela região indicada na seta vermelha. 52
- Figura 20. À esquerda, mesa cirúrgica com placa aquecedora no centro, vista de cima. Um sensor de temperatura (seta vermelha) mede a temperatura do resistor de cobre impresso na placa. A cirurgia é realizada com o rato posicionado sobre a placa aquecedora, visando evitar a hipotermia. Nota-se ainda hastes para fixar o rato à mesa (setas amarelas) e para fixar os afastadores cirúrgicos à mesa (setas verdes). No meio, multímetro de bancada informa a medida da temperatura da placa. À direita, fonte de alimentação para fornecer a corrente elétrica para aquecer a placa. 53

- Figura 21. Mesa cirúrgica, vista de perfil, evidenciando a regulagem de inclinação. Acima uma representação esquemática e abaixo uma fotografia. A seta vermelha indica o ajuste de inclinação da mesa. 54
- Figura 22. Fotografia do tempo cirúrgico em que são posicionados os NTCs no animal. Nota-se um NTC sendo posicionado entre dois lobos hepáticos (setas brancas). Os demais foram posicionados em seguida. 56
- Figura 23. Gaiola anti-dispersão de odor. Acima uma representação esquemática, com a tampa aberta. Em baixo, fotografia da caixa fechada com mangueira que leva o ar da caixa para o exaustor, fora do biotério. As setas indicam o sentido do fluxo de ar. 57
- Figura 24. Curva térmica no tarugo de alumínio durante o aumento da temperatura na calibração. 60
- Figura 25. Curva térmica no tarugo de alumínio durante a redução da temperatura na calibração. 61
- Figura 26. Diagrama de dispersão dos valores de leitura do NTC1 em relação à temperatura medida no PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida do NTC é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits). A reta sobreposta corresponde ao modelo de regressão linear para esse conjunto de pontos. 62
- Figura 27. Diagrama de dispersão dos valores de leitura do NTC2 em relação à temperatura medida no PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida do NTC é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits). A reta sobreposta corresponde ao modelo de regressão linear para esse conjunto de pontos. 62
- Figura 28. Diagrama de dispersão dos valores de leitura do NTC3 em relação à temperatura medida no PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida do NTC é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits). A reta sobreposta corresponde ao modelo de regressão linear para esse conjunto de pontos. 63
- Figura 29. Diagrama de dispersão dos valores de leitura do NTC4 em relação à temperatura medida no PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida do NTC é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits). A reta sobreposta corresponde ao modelo de regressão linear para esse conjunto de pontos. 63
- Figura 30. Ampliação do diagrama de dispersão dos valores de leitura do NTC4 em relação à temperatura medida no PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida do NTC é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits). A reta sobreposta corresponde ao modelo de regressão linear para esse conjunto de pontos. 64
- Figura 31. Esquema das dimensões finais do sensor. A área verde corresponde à placa principal do circuito, a área azul representa o módulo Bluetooth e as 4 hastes marrons são os NTCs. 65
- Figura 32. À esquerda, fotografia de uma bateria de lítio de 150 mA.h. No meio, fotografia da chave que liga/desliga a bateria no circuito do sensor (fotografia da direita). Essa chave possui dois pinos (setas pretas) ligados à bateria, com o intuito de carregá-la usando uma fonte externa, sem a necessidade de retirar o aparato do animal. Após a conexão elétrica da bateria e do sensor, esse aparato é fixado ao dorso do animal utilizando a jaqueta. 66

Figura 33. O gráfico representa o experimento A na íntegra. Com a temperatura ascendendo, o rato bebe água a 4 °C.	68
Figura 34. O gráfico representa o experimento B na íntegra. Em eutermia, o rato bebe água a 4 °C.	69
Figura 35. O gráfico representa o experimento C na íntegra. Em eutermia, o rato bebe água em temperatura ambiente e água a 4 °C.	70
Figura 36. O gráfico representa o experimento D na íntegra. Em eutermia, o rato bebe água em temperatura água a 4 °C. Em seguida ele se alimenta	71
Figura 37. O gráfico representa o experimento E na íntegra. O rato foi submetido ao ambiente resfriado a -5 °C.	72
Figura 38. O gráfico representa o experimento F na íntegra. O rato foi anestesiado com um terço da dose habitual de cetamina e xilazina.	73
Figura 39. O gráfico representa o experimento G. O tempo 0 neste gráfico ocorreu após 30 minutos de anestesia. Observa-se que o sensor retal apresentou desvio de sua linha de base para um patamar maior, mantendo resposta similar aos demais, após 50 minutos. A exposição à radiação de micro-ondas ocorreu entre 70 e 160 minutos, período em que não se observa aumento da temperatura.	74
Figura 40.1. A curva preta no gráfico A (Real) representa a queda de temperatura, medida enquanto o animal ingere água a 4 °C. Sobreposta, está a curva vermelha (Fitting), que representa o modelo matemático que melhor explica a curva Real. O gráfico B mostra a derivada dT/dt do modelo no gráfico A.	76
Figura 40.2. O gráfico mostra uma resposta linear durante a subida da temperatura hepática (real), com o modelo matemático que melhor explica a curva, em vermelho (fitting).	77
Figura 41. Sistema digestório humano. O alimento ingerido percorre a boca, esôfago, estômago, intestino delgado, intestino grosso e sai pelo ânus. Para melhor visualização das estruturas, esta figura não representa a real proximidade do fígado com o estômago e com o duodeno (primeira porção do intestino delgado). Modificado de www.infoescola.com.br .	78
Figura 42. Sistema Porta-hepático. A água e os nutrientes absorvidos no intestino são transportados para as veias mesentéricas (setas vermelhas), que desembocam na veia porta (seta azul). Esta se ramifica dentro do fígado, nutrindo esse órgão. Essa é uma outra via para perda de calor pelo fígado quando é ingerida água gelada. Modificado de www.medicinageriatrica.com.br .	79
Figura 43.1. O gráfico mostra detalhes do experimento E, associado a mudança da temperatura do fígado quando o animal é mantido a temperatura de -5 °C.	80
Figura 43.2. Parte do experimento E. O gráfico mostra um fitting da curva associada a queda da temperatura quando o animal foi exposto a ambiente com temperatura de -5 °C.	81
Figura 43.3. Parte do experimento E. O gráfico mostra um fitting da curva associada ao aumento da temperatura quando o animal retornou para o ambiente com temperatura de 2 °C.	82
Figura 44. O gráfico representa a temperatura hepática em um intervalo do experimento F.	83

Figura 45. Temperatura do epidídimo durante o experimento G. Junto visualiza-se três fittings de momentos diferentes do experimento. O Fitting 1 mostra a inclinação aproximada da temperatura do epidídimo sem a exposição a radiação de micro-ondas. O Fitting 2 mostra a inclinação durante a exposição e o Fitting 3, após a exposição.	85
Tabela 1. As colunas, da esquerda para a direita, representam, o coeficiente de difusão térmica (a), densidade de massa (r), condutividade térmica (k) e calor específico (cp). Valores retirados de Incropera et al.	21
Tabela 2. Exemplos de condutividade térmica de tecidos biológicos. Alguns tecidos apresentam anisotropia, como as fibras musculares do antebraço do porco. Informações retiradas de BHATTACHARYA e MAHAJAN (2003).	22
Tabela 3. Valores de temperatura (°C) no instante em que foram determinados a condutividade térmica (k) e o coeficiente de difusão (α). Valores retirados de Bowman et al (1975).	23
Tabela 4. Valores de calor específico e densidade de massa para gordura e sangue. Valores retirados de Guy et al (1974).	23
Tabela 5. Características físicas dos principais modelos de sistema de telemetria no mercado. As colunas, da esquerda para a direita, representam modelo, marca, peso, em gramas, volume, em cm ³ , canais de temperatura, fora de parênteses, canais de outros parâmetros, entre parênteses, tamanho da ponta do sensor de temperatura, em mm. NI: não informado.	30
Tabela 6. Características elétricas dos principais modelos de sistema de telemetria no mercado. As colunas, da esquerda para a direita, representam modelo, resolução da temperatura, em °C, duração da bateria, distância máxima do receptor, tempo entre as amostras, disponibilidade dos dados em tempo real. NI: não informado.	31
Tabela 7. Coeficientes para conversão da resistência (Ω) do PT100 em valores de temperatura (°C).	44
Tabela 8. Registro dos dados de leitura de cada NTC e da temperatura do PT100. Cada linha representa um pacote de dados. No caso do programa de calibração, a cada dez segundos um pacote de dados é registrado. Os valores dos NTCs estão apresentados em degraus (escala de 16 bits) e o do PT100 em 10 ⁻³ °C.	51
Tabela 9. Valores dos coeficientes angulares, lineares e de determinação da regressão linear de cada um dos NTCs em relação ao PT100. Todas as regressões resultaram em um nível de confiança significativo ($p < 0,000001$)	64
Tabela 10. Custo de cada parte do sistema de telemetria desenvolvido. O computador portátil refere-se a qualquer notebook com a configuração mínima de 2GB de RAM e processador dual core com 10MB de espaço livre em disco rígido.	67
Tabela 11. Inclinações aproximadas da temperatura do epidídimo durante as três fases do experimento G	85

RESUMO

A aferição precisa da temperatura de ratos Wistar é um elemento essencial no estudo da termorregulação desse animal. Recentes desenvolvimentos em telemetria tem propiciado medir a temperatura de animais vivos movendo-se livremente, gerando pouca ou nenhuma redução no bem estar do animal e permitindo o registro de informações mais confiáveis. Há evidências de que o coeficiente de difusão térmica (α) de órgãos e tecidos vivos seja um marcador de patologias que alteram a composição tecidual. Além disso, a taxa de absorção específica (SAR) e a condutividade elétrica (σ) dos tecidos têm importante aplicação no estudo da interação das radiações com organismos biológicos. É possível estimar a SAR, α e σ de tecidos vivos estudando a variação térmica destes tecidos. Para isso, é preciso um sistema capaz de medir a temperatura de mais de um órgão do animal vivo, com alta resolução e alta taxa de amostragem, por um curto período. Os dispositivos de telemetria atuais servem muito bem para estudos de termorregulação, mas não dispõem das características necessárias para calcular a SAR, α e σ . Além disso, os sistemas existentes têm alto custo, o que por vezes é proibitivo. O objetivo do trabalho é desenvolver um sistema de telemetria de baixo custo, alta resolução e alta taxa de amostragem, para ratos Wistar, capaz de: (1) medir simultaneamente 4 canais de temperatura e (2) coletar informações da variação da temperatura no tempo, necessárias para a medida da SAR, α e σ em tecidos biológicos, *in vivo* e *in vitro*. Para isto, foi desenvolvido um sistema de telemetria utilizando resistores sensíveis a temperatura, do tipo NTC, microcontroladores PIC® (Microchip®) e módulo Bluetooth®, montados em placa de circuito impresso. Em seguida o sistema foi calibrado em um aparato construído no Laboratório de Física Aplicada do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Juiz de Fora. Este sistema de calibração utilizou como referência um sensor do tipo PT100, medido com o multímetro de precisão Agilent® 34401A. A regressão linear de cada NTC em relação ao PT100 foi aplicada, objetivando estimar a temperatura pelo valor de resistência do NTC. Feito isso, o dispositivo foi testado em ratos Wistar, visando demonstrar possíveis usos do aparelho. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animais da UFJF (nº

085/2012). O coeficiente de determinação de cada NTC com o PT100 foi $r^2 > 0,999$. O dispositivo desenvolvido mede 50 mm x 21 mm x 8 mm, com volume de 8,65 mL, e massa igual a 11,25 g. Possui quatro sensores de 1 mm de diâmetro, presos a hastes de 100 mm, com resolução de $1,53 \times 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}$ e taxa de amostragem de até 1 amostra a cada 5 segundos. O dispositivo mostrou-se capaz de determinar a temperatura com alta resolução, alta taxa de amostragem e baixo custo, quando comparado com os dispositivos encontrados no mercado nacional e internacional. As medidas obtidas permitem, juntamente com outras técnicas, determinar o cálculo da SAR, α e σ do tecido. Não há, até o momento, um dispositivo similar no mercado.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A/D	Analógico/digital
AWG	“American Wire Gauge”
bps	Bits por segundo
Bluetooth®	Protocolo de comunicação sem fio entre dispositivos eletrônicos
c	Calor específico
cal	Caloria
CEUA	Comitê de Ética de Uso de Animais
CONCEA	Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
CRITT	Centro Regional de Inovação e Transferência de Tecnologia
DC	“Direct Current”
g	Grama
h	Coeficiente de transferência de calor por radiação
J	Joule
k	Condutividade térmica
K	Kelvin
kg	Quilograma
kgf	Quilograma-força
L	Litro
m	Metro
mA	Miliampère
mA.h	Miliampère-hora
min	Minuto
ms	Milissegundos
NC3Rs	“National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research”
NTC	“Negative Temperature Coefficient”
°C	Graus Celcius
PC	“Personal Computer”
PIC	Programmable Integrated Circuit
PWM	“Pulse Width Modulation”
RF	Radiofrequência
S	Siemens
S²	Variância
SAR	“Specific Absorption Rate”
SMD	“Surface Mount Device”
UFJF	Universidade Federal de Juiz de Fora
USB	“Universal Serial Bus”
V	Volt

W	Watt
ω_0	Frequência central
α	Difusividade térmica
ϵ_1	Emissividade
ρ	Densidade volumétrica de massa
σ	Condutividade elétrica
σ_1	Constante de Stefan-Boltzmann

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 GRANDEZAS FÍSICAS DE INTERESSE NA TERMORREGULAÇÃO.....	17
1.2 GRANDEZAS FÍSICAS NA CARACTERIZAÇÃO DE PROPRIEDADES INTRÍNSECAS DOS TECIDOS.....	19
1.3 TELEMETRIA.....	27
2 OBJETIVOS.....	33
2.1 OBJETIVO GERAL.....	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	33
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1 DESENVOLVIMENTO DO SENSOR.....	34
3.2 CALIBRAÇÃO DO SENSOR.....	41
3.3 ANIMAIS.....	51
3.4 ADAPTAÇÃO À JAQUETA.....	52
3.5 MESA CIRÚRGICA.....	53
3.6 IMPLANTAÇÃO DO SENSOR.....	54
3.7 GAIOLA ANTI-DISPERSÃO DE ODOR.....	56
3.8 VERIFICAÇÃO DA ESTABILIDADE DO SENSOR.....	57
4 RESULTADOS.....	60
5 DISCUSSÃO.....	74
6 CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS.....	89
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
APÊNDICE A – ESQUEMA ELÉTRICO E “LAYOUT” DA PLACA DO SENSOR.....	96
APÊNDICE B – CÓDIGO FONTE DO “FIRMWARE” NO PIC18FL1220.....	97
APÊNDICE C – FLUXOGRAMA DO PROGRAMA DE CALIBRAÇÃO.....	101

1 INTRODUÇÃO

Diversos trabalhos têm abordado a termorregulação de ratos Wistar para estudar assuntos tão diversos quanto a febre, a atividade física e a obesidade (HEIKENS, 2013). A base para realizar tais estudos é a medida precisa e confiável da temperatura corporal do animal. Dela pode-se derivar muitas outras variáveis, como a taxa de variação da temperatura ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$), a quantidade de calor corporal (cal), a taxa de variação do calor corporal (cal/min ou J/min) e o trabalho realizado pelo animal (kgf.m). Essas variáveis são as mais utilizadas no estudo do balanço entre a produção e a perda de calor no corpo do animal (WEBB, 1995).

Existem várias maneiras de medir a temperatura de ratos. O uso de termômetros de mercúrio pode parecer a metodologia mais óbvia, mas interfere no comportamento do animal e não são adequadas para acompanhar a variação da temperatura com o tempo. Outra possibilidade é utilizar câmeras de infravermelho, mas esse método afere apenas a temperatura da superfície corporal (JASEMIAN, 2012). Há décadas, utiliza-se pequenos termômetros elétricos, como termistores ou termoacopladores (o mais comum, e o que usaremos, é o NTC – “Negative Temperature Coefficient”), que são implantados nos órgãos do rato e as medidas realizadas por aparelhos de bancada através de conexões por fios. Esse método permite monitorar as variações temporais da temperatura, mas dificultam o manejo dos experimentos pela presença de cabos presos aos animais (BIRNIE e GRAYSON, 1952). Nos últimos 10 anos, estão disponíveis comercialmente sistemas de telemetria capazes de realizar medidas no animal e enviá-las sem fio para um computador dedicado para armazenar os dados e mostrá-los em gráficos (BRAGA, 2009). Esses sistemas possibilitaram uma aquisição de dados mais confiável e um melhor bem estar aos animais de laboratório, ao interferirem pouco com o comportamento dos ratos (GRENWIS, 2010). Além disso, esses dispositivos têm características adequadas para estudos de termorregulação, embora não possibilitem estimar outras grandezas termofísicas de potencial interesse.

Há evidências de que outras grandezas termofísicas possam acrescentar informações valiosas ao estudo dos órgãos e tecidos biológicos. Foi descrito que órgãos sadios e doentes podem apresentar diferentes valores de difusividade térmica

(BHATTACHARYA e MAHAJAN, 2003). Utilizando o modelo de bio-calor (PENNES, 1948) e algumas técnicas para medir a taxa de variação da temperatura com o tempo ($\Delta T/\Delta t$) é possível obter a difusividade térmica (α) do tecido biológico frente a uma fonte ou sorvedouro de calor. Mas para isso, é preciso um sistema capaz de realizar medidas de $\Delta T/\Delta t$ confiáveis, com alta resolução e alta taxa de amostragem em mais de um local do corpo do animal (sítio anatômico). De forma geral, os sistemas de telemetria atuais não foram desenhados para fornecer esse tipo de informação. Atualmente, apenas um modelo de sistema de telemetria é capaz de fornecer medidas de temperatura com essas características, como veremos mais a frente. Mas seu custo é alto, ou mesmo proibitivo, em nosso país.

O propósito deste trabalho é desenvolver um sistema de telemetria de baixo custo, que possibilite medir, simultaneamente, a temperatura de mais de um sítio anatômico num rato Wistar, com alta resolução e alta taxa de amostragem. Assim, teremos um sistema nacional capaz de fornecer as informações necessárias para, juntamente com outras técnicas, obter, por exemplo, a difusividade térmica (α), a taxa de absorção específica (SAR), a condutividade térmica (k) e a condutividade elétrica (σ) de tecidos biológicos. Vale ressaltar que é difícil encontrar na literatura valores destas grandezas para tecidos biológicos. Duck (1990) apresenta alguns valores das grandezas termofísicas de tecidos biológicos, na sua maioria *in vitro*.

Além de possibilitar as medidas dessas grandezas termofísicas, o sistema aqui descrito constitui um avanço em estudos de termorregulação convencionais, por permitir aferir a temperatura de 4 sítios anatômicos simultaneamente. Esse recurso oferece uma oportunidade de correlacionar temporalmente essas medidas em um mesmo animal, o que exclui erros devido a fatores externos (COSMI et al., 2009).

1.1 GRANDEZAS FÍSICAS DE INTERESSE NA TERMORREGULAÇÃO

O intuito aqui é apresentar um resumo das dificuldades inerentes para determinação e obtenção de algumas propriedades termofísicas de tecidos biológicos. Várias grandezas físicas do campo da termologia são utilizadas em estudos biológicos, particularmente no estudo da termorregulação de ratos. As grandezas mais

utilizadas nesse contexto são a temperatura (geralmente a corporal interna e a da cauda), a taxa de variação da temperatura ($^{\circ}\text{C}/\text{min}$), a quantidade de calor corporal (cal), a taxa de variação do calor corporal (cal/min) e o trabalho realizado pelo animal (kgf.m). Essas grandezas são as mais utilizadas para o estudo das variações que ocorrem no balanço entre a produção e a perda de calor no corpo do animal. Entretanto, estas medidas podem auxiliar na obtenção indireta de outras grandezas de interesse como, por exemplo, a condutividade térmica e difusividade térmica.

Entende-se por temperatura corporal interna aquela medida nos órgãos internos dos animais. A temperatura corporal interna de ratos é mantida em torno de 37°C a 38°C , graças aos mecanismos de termorregulação. Vários fatores a influenciam, como o ciclo circadiano, o ciclo estral e a exposição ao estresse (BRIESE, 1998).

Sabe-se que alterações seletivas do metabolismo tecidual e do fluxo sanguíneo podem criar diferenças de temperatura em diversas partes do corpo, de forma que cada órgão possa ter uma temperatura diferente, mas dinâmica. Portanto, a temperatura de um determinado órgão pode ter valores diferentes das de outros órgãos e, também, sofrer diferentes variações conforme as condições a que o animal é submetido (CLOSA, ALEMANY e REMESSAR, 1992).

Há evidências de que, ao iniciar um exercício, a temperatura da cauda de um rato sofre discreta queda com posterior ascensão, enquanto a temperatura corporal interna sobe desde o início. Além disso, o uso de bloqueador do receptor de angiotensina II promove maior taxa de aumento da temperatura interna, mas não da temperatura da cauda, demonstrando como dois sítios anatômicos podem responder de forma diferente a um mesmo estímulo (ALMEIDA, COIMBRA e LEITE, 2012).

A medida simultânea da temperatura em dois ou mais sítios anatômicos num mesmo animal permite correlacioná-las temporalmente e excluir interferências externas presentes em métodos prévios (COSMI et al., 2009).

Portanto, é natural o interesse em medir concomitantemente a temperatura de diversos órgãos do rato em estudos que envolvem a termorregulação. Vários trabalhos recentes têm monitorado a temperatura de mais de uma parte do corpo do animal (COSMI et al., 2009; TAFFE, 2013).

Assim, fica clara a importância de se medir a temperatura de mais de um órgão/tecido, de forma simultânea e seriada no tempo.

Este trabalho não tem a intenção de investigar nenhum fenômeno relacionado à termorregulação. Em vez disso, propomos o desenvolvimento de uma nova ferramenta capaz de medir simultaneamente a temperatura de 4 sítios anatômicos, o que pode acrescentar informações valiosas a estudos futuros de termorregulação.

1.2 GRANDEZAS FÍSICAS NA CARACTERIZAÇÃO DE PROPRIEDADES INTRÍNSECAS DOS TECIDOS

Como descrito anteriormente, algumas grandezas termofísicas caracterizam propriedades intrínsecas dos órgãos/tecidos, como é o caso da condutividade térmica e a difusividade térmica.

A condutividade térmica k é obtida a partir da Lei de Fourier,

$$\vec{q}_x = -k \frac{dT}{dx}, \quad (1.1)$$

onde \vec{q}_x é a densidade de potência (W/m^2), que representa a taxa de transferência de calor por condução na direção x por unidade de área perpendicular à direção da transferência. A condutividade térmica é dada em $W/m.K$ e depende das características do material em que o calor está sendo conduzido. A derivada dT/dx é a componente do gradiente de temperatura na direção x .

O primeiro modelo para descrever a transferência de calor em tecidos vivos é a equação de bio-calor, conhecida como equação de Pennes (PENNES, 1948):

$$\frac{\partial T_{tec}}{\partial t} = \alpha_{tec} \nabla^2 T_{tec} + \beta W_{art} (T_{art} - T_{tec}) + \frac{\dot{q}}{\rho_{tec} c_{tec}} \quad (1.2)$$

onde α_{tec} é a difusividade térmica do tecido, $T_{tec}(r,t)$ é a temperatura do tecido numa determinada posição r e num instante t , W_{art} (s^{-1}) é o fluxo de sangue arterial, \dot{q} é a densidade volumétrica de potência (W/m^3) gerada e β é um parâmetro adimensional dado por:

$$\beta = \frac{\rho_{art}c_{art}}{\rho_{tec}c_{tec}} \quad (1.3)$$

onde ρ_{art} (ρ_{tec}) e c_{art} (c_{tec}) são a densidade volumétrica de massa do sangue arterial (tecido) e o calor específico do sangue arterial (tecido), respectivamente.

Resumindo, a equação de Pennes nos diz que a taxa de variação da temperatura num dado tecido depende do coeficiente de difusão do tecido, do fluxo sanguíneo, da diferença de temperatura entre o sangue e o tecido e da produção tecidual de calor.

Assim, em problemas de transferência de calor, seja em um ser vivo ou morto, é importante conhecer algumas características termofísicas como: condutividade térmica (k), densidade volumétrica de massa (ρ), calor específico (c), etc. O produto $\rho.c$ ($J/m^3.K$) é conhecido na literatura como capacidade calorífica volumétrica e representa a capacidade do material armazenar energia térmica. Assim, temos duas grandezas interessantes, a condutividade térmica (k), que está associada à condução do calor, e a capacidade calorífica volumétrica, que está relacionada ao armazenamento do calor. Na análise de transferência de calor, a razão entre a condutividade térmica e a capacidade calorífica volumétrica é conhecida com difusividade térmica (α), ou seja,

$$\alpha = \frac{k}{\rho.c_p} \quad (1.4)$$

que tem unidade m^2/s . Aqui o símbolo c_p significa o calor específico a pressão constante. Em geral, materiais com elevado α são capazes de transferir mais calor do que armazená-lo e para valores reduzidos de α a resposta do material será mais lenta ao transferir o calor. Se um determinado material possui uma certa dinâmica na mudança das características termofísicas, isto pode acarretar mudanças de α ao longo do tempo. A Tabela 1 mostra os valores de constantes termofísicas para alguns materiais não biológicos.

Tabela 1. As colunas, da esquerda para a direita, representam, o coeficiente de difusão térmica (α), densidade de massa (ρ), condutividade térmica (k) e calor específico a pressão constante (c_p). Valores retirados de Incropera et al. (1996).

Material (a 300K)	α (m ² /s)	ρ (kg/m ³)	k (W/m.K)	c_p (J/kg.K)
Bismuto	6,59x10 ⁻⁶	9.780	7,86	122
Titânio	9,32x10 ⁻⁶	4.500	21,9	522
Írídio	50,3x10 ⁻⁶	22.500	147	130
Alumínio	97,1x10 ⁻⁶	2.702	237	903
Cobre	117x10 ⁻⁶	8.933	401	385

A condutividade térmica de tecidos biológicos mortos é uma função linear da temperatura, enquanto tecidos vivos apresentam condutividade dependente da perfusão sanguínea tecidual. Quanto maior a perfusão sanguínea no tecido, maior a condutividade térmica deste tecido. Em geral, a condutividade de tecidos vivos é maior que a de tecidos mortos. Dessa forma, fica claro que há diferença entre a condutividade de um mesmo tecido quando este está morto ou vivo (BHATTACHARYA e MAHAJAN, 2003). A Tabela 2 mostra exemplos de valores de condutividade térmica em tecidos vivos.

Tabela 2. Exemplos de condutividade térmica de tecidos biológicos vivos. Alguns tecidos apresentam anisotropia, como as fibras musculares do antebraço do porco. Informações retiradas de BHATTACHARYA e MAHAJAN (2003).

Tecido	Condutividade térmica (W/m.K)
Músculo do antebraço de porco ao longo da fibra	0,35
Músculo do antebraço de porco através da fibra	0,66
Músculo da perna de porco	0,64
Fígado de porco	2,17
Gordura do pescoço de porco	0,53
Músculo de bovino ao longo da fibra	0,43
Músculo de bovino através da fibra	0,47

Vale ressaltar que para grandes variações de temperatura ($\Delta T \cong 40^\circ\text{C}$), a condutividade térmica de tecido biológico *in vitro* pode variar de forma linear com a temperatura (BHATTACHARYA e MAHAJAN, 2003). Entretanto, no nosso caso de interesse, as variações da temperatura estão entre 35°C a 38°C ($\Delta T \cong 3^\circ\text{C}$), o que permite, até certo ponto, desconsiderarmos a mudança da condutividade térmica com a temperatura.

É muito difícil encontrar na literatura especializada dados de constantes termofísicas para tecidos, tanto *in vitro* como *in vivo*. Na revisão sobre teoria e medidas de propriedades térmicas de biomateriais (BOWMANN et al, 1975) é possível encontrar alguns valores de condutividade e difusividade térmica de alguns tecidos biológicos. Em Bowman et al. (1975), existem alguns dados muito interessantes (veja Tabela 3).

Tabela 3. Valores de temperatura ($^\circ\text{C}$) no instante em que foram determinados a condutividade térmica (k) e o coeficiente de difusão (α). Valores retirados de Bowman et al (1975).

Músculo canino, gracilis, anestesiado com anectine e nembutal	Temperatura ($^\circ\text{C}$)	k ($10^3\text{W/cm}\cdot^\circ\text{C}$)	α ($10^3\text{cm}^2/\text{s}$)
Cão 1	35.8 – 36.9	7.1 – 8.7	0,7 – 0,77
Cão 2	33,5	10,28	1,29
Cão 2, 10 min, post-mortem	30,7	5,04	1,83

Note que há uma queda em torno de 50% do valor da condutividade térmica após a morte do animal, enquanto a queda da temperatura foi de 8,3%. Isto está de acordo com Bhattacharya e Mahajan (2003) em que $k_{\text{vivo}} > k_{\text{morto}}$. Pela equação (1.4) vemos que a relação entre k e α é linear, desde que a capacidade calorífica volumétrica se mantenha constante. Entretanto, os dados acima mostram que isto não ocorreu. Isto reforça o fato de que, para sistemas vivos, a perfusão é um fator muito importante e afeta tanto k quanto $\rho.c$ e, portanto, α .

A Tabela 4, retirada de Guy (1974) mostra alguns valores de $\rho.c$ para tecidos biológicos *in vitro*.

Tabela 4. Valores de calor específico e densidade de massa para gordura e sangue. Valores retirados de Guy et al (1974).

Tecido	Calor Específico (J/kg.°C)	Densidade (kg/m ³)
Gordura	2.260	940
Sangue	3.890	1.060

Passaremos a apresentar algumas técnicas que permitem medir algumas propriedades termofísicas conhecendo $\Delta T/\Delta t$.

A distribuição da temperatura na direção radial de um cilindro metálico de raio R, aquecido ao longo do seu eixo de simetria por uma distribuição de calor uniforme, pode ser obtida resolvendo a equação de difusão do calor em coordenadas cilíndricas (CARSLAW, 1959). Com o conhecimento da função T(r,t) é possível determinar a condutividade térmica. Os cálculos fornecem que

$$k = \frac{q'}{4\pi} \left[\frac{dT}{d \ln(t/t_0)} \right], \quad (1.5)$$

onde q' é constante e representa a potência por unidade de comprimento gerada no eixo de simetria do cilindro e t_0 é o instante inicial. Com o conhecimento da equação (1.5), foi proposto (BHATTACHARYA e MAHAJAN 2003) um equipamento formado por uma ponta de prova cilíndrica que era inserida no tecido biológico. As varrições da temperatura com o tempo eram registradas, e através da equação (1.5), a condutividade térmica era determinada. Os valores encontrados estão apresentados na Tabela 2. Note que estes valores se referem a medidas *in vitro*.

Medidas de $\rho.c$ podem ser obtidas diretamente com o uso de absorção de laser pela amostra. A técnica consiste em medir $\Delta T/\Delta t$ de um determinado material que sofre um aquecimento devido a absorção de um laser (HATTA, 1978; MANSANARES, 1990; TOBERER et al, 2012). Se a variação da temperatura (ΔT) na amostra atingida pelo laser for muito menor que a temperatura ambiente (T_0), ou seja, $\Delta T \ll T_0$, pode-se mostrar que

$$\Delta T = \left(\frac{l_0}{h} \right) \left[1 - e^{-\frac{t}{\rho c d / h}} \right] \quad (1.6)$$

onde l_0 é a intensidade do laser, d a espessura da amostra e $h = 4\varepsilon_1\sigma_1T_0^3$ é chamado de coeficiente de transferência de calor por radiação, com ε_1 e σ_1 sendo a emissividade do material e a constante de Stefan-Boltzmann, respectivamente. Assim, medindo a variação da temperatura com o tempo é possível, através da equação (1.6), determinar ρc . Em muitos casos, a aproximação $\Delta T \ll T_0$ não é satisfeita e pode levar a erros (JUAREZ, 2008). O problema desta técnica com relação ao seu uso na área biológica é que o equipamento utilizado não permite realizar medidas em amostras de tecidos *in vitro* e *in vivo*, ou seja, a técnica é mais utilizada para estudos de novos materiais que não sejam tecidos biológicos. Neste exemplo, uma vez conhecido o valor de ρc , é necessário o conhecimento da difusividade térmica para calcular a condutividade térmica. Existem algumas técnicas para determinar a difusividade térmica, como, por exemplo, a fotoacústica ou o uso de lentes térmicas (GORDON, 1968; ALEXANDRE, 2011). Assim, com o valor de α e ρc é possível, através da equação (1.4), determinar a condutividade térmica (k).

As técnicas aqui apresentadas revelam que é necessário, de uma forma geral, o conhecimento da distribuição da temperatura com o tempo, pois, com este dado, é possível desenvolver modelos capazes de obter medidas diretas ou indiretas das características termofísicas e, como já dito anteriormente, estas medidas podem dar ideia da funcionalidade do tecido ou órgão.

Uma outra situação em que a medida da temperatura com o tempo é muito importante é na obtenção da taxa de absorção específica, comumente chamada de SAR (Specific Absorption Rate) (POLK et al, 1995). É possível mostrar que:

$$\frac{\Delta T}{\Delta t} = \frac{SAR}{c} = \frac{1}{2} \frac{\sigma}{\rho c} |\vec{E}|^2 = \frac{1}{2} \frac{\sigma \alpha}{k} |\vec{E}|^2 \quad (1.7)$$

onde σ é a condutividade elétrica do tecido biológico e \vec{E} , a intensidade do campo elétrico interno associado a onda eletromagnética incidente que atinge o tecido. Se queremos levar em consideração efeitos de perfusão, a expressão correta é (Report, 1981):

$$\frac{\Delta T}{\Delta t} = \frac{SAR}{c} + \frac{1}{\rho c} (q''_{met} - q''_{cond} - q''_{san}) \quad (1.8)$$

onde q''_{met} , q''_{cond} e q''_{san} são as taxas de calor por unidade de volume associadas ao metabolismo, à condução e à perfusão do sangue, respectivamente.

Como é de conhecimento geral, a condutividade elétrica é função da frequência angular (ω) (ASHCROFF, 1976), ou seja $\sigma = \sigma(\omega)$. Assim, o valor de σ só faz sentido se definirmos a frequência do campo elétrico que está interagindo com o tecido biológico. Como exemplo, Gajsek (2002) fornece que a condutividade elétrica para a pituitária tem o valor de 1,55 S/m para frequência de 2.060MHz.

Desta forma, conhecendo o valor da intensidade do campo elétrico e sua frequência angular central ω_0 , a densidade de massa do tecido e o seu calor específico, é possível determinar $\sigma(\omega_0)$ através da equação (1.7). Existe uma falta considerável, na literatura, de valores da condutividade elétrica em função da frequência para tecidos biológicos, *in vitro* e *in vivo*. A equação (1.7) permite obter o valor de σ para uma dada frequência ω_0 , desde que se conheça, a priori, o produto $\rho.c$, os valores experimentais para $\Delta T/\Delta t$ e a intensidade do campo elétrico. Como já visto, existem várias maneiras de determinar $\rho.c$. Sob certas condições, por exemplo, é possível determinar $\rho.c$ usando a técnica da capacitância global (INCROPERA, 1996). Assim, com o conhecimento de \vec{E} , $\rho.c$ e ω_0 , é possível determinar $\sigma(\omega_0)$, desde que possamos determinar, com precisão, o valor de $\Delta T/\Delta t$. Logo, o desenvolvimento de um dispositivo que possa ser usado para medir, em tempo real, a variação da temperatura como função do tempo é de suma importância para gerar os valores da condutividade elétrica de tecidos biológicos.

Note que a técnica proposta só se aplica para tecidos biológicos que respondam a variação da temperatura com o tempo, ou seja, dependendo da frequência pode ocorrer que não exista $\Delta T/\Delta t$ e, portanto, para estas frequências o método não se aplica. Outro erro que também pode ocorrer é que o valor do campo elétrico, produzido pelo gerador de radiofrequência (RF), não necessariamente tem a intensidade esperada ao atingir o tecido biológico, pois, como exemplo, no caso do fígado, a onda precisa atravessar o tecido adiposo sob a pele e, portanto, pode sofrer atenuação. Observe que, no caso do SAR, a condutividade elétrica, a densidade de massa e o calor específico independem da intensidade do campo elétrico. Assim, se

a frequência é fixada, o aumento ou redução da variação da temperatura com o tempo depende, de forma quadrática, do valor da intensidade do campo elétrico.

Note que modelos para explicar a condutividade térmica, a difusividade térmica e a condutividade elétrica de matérias que não sejam tecidos biológicos são extremamente complicados. Por exemplo, para metais existe uma relação entre a condutividade térmica e a condutividade elétrica. A razão entre as duas condutividades é proporcional a temperatura. A constante de proporcionalidade é chamada de número de Lorentz e a relação é a lei de Wiedemann-Franz (ASHCROFF, 1976). Para materiais não metálicos os modelos de condutividade se tornam ainda mais complexos. Não existem modelos para tecidos biológicos *in vitro*, muito menos para tecidos *in vivo*. Mas isto não significa que não se possa realizar medidas destas grandezas termofísicas.

O equipamento desenvolvido neste trabalho permite medir taxas de variações de temperatura da ordem de 0,0003 °C/s. Isto significa dizer que o dispositivo não é capaz de determinar o SAR se $\Delta T/\Delta t$ for menor que 0,0003 °C/s. Assim, se ao realizar uma medida não houver detecção de $\Delta T/\Delta t$, é necessário aumentar a intensidade do campo elétrico para que se possa obter a curva $\Delta T/\Delta t$ e, portanto, determinar a condutividade elétrica do material.

Observe que as medidas realizadas com o uso de $\Delta T/\Delta t$ representam os valores de σ ou α levando em conta todas as variáveis introduzidas por Pennes, como, por exemplo, a taxa de transferência de calor do sangue.

Essa breve conceituação de grandezas tem por objetivo enfatizar que órgãos e tecidos vivos apresentam propriedades termofísicas mensuráveis indiretamente. A equação de Pennes demonstra que é possível inferir a difusão térmica por meio de experimentos que possam determinar, de forma precisa, a variação da temperatura com o tempo. Para isso, é preciso um aparato capaz de aferir a temperatura arterial e tecidual simultaneamente (dois canais). Além disso, como é esperada uma variação da temperatura, é preciso também que esse aparato tenha uma taxa de amostragem grande o suficiente para detectar essa variação da temperatura.

Este trabalho se atem em desenvolver um aparato capaz de realizar essas medidas. Elas fornecerão informações necessárias para trabalhos futuros que irão

determinar o coeficiente de difusão de órgãos sob condições fisiológicas e patológicas, visando descobrir se o coeficiente de difusão é um marcador de alguma condição patológica. É de se esperar que a mudança da composição tecidual (fibrose) ou do fluxo sanguíneo leve a uma mudança no valor medido do coeficiente de difusão (BHATTACHARYA e MAHAJAN, 2003).

Há várias maneiras de realizar medidas de temperatura num animal *in vivo*. Progressos recentes em imagem por ressonância magnética permitem medir a temperatura de planos seccionais do corpo com precisão de 0,2°C. Esse método apresenta a melhor resolução espacial, mas exige que o animal permaneça estático dentro do aparelho de ressonância magnética, o que impõe restrições importantes aos experimentos (CHENG, 2002). Outra forma de medir a temperatura de órgãos internos é implantar cirurgicamente pequenos sensores de temperatura (termistores, NTCs) no corpo do animal, que são monitorados por aparelhos de bancada através da conexão de fios (BIRNIE e GRAYSON, 1952). Isso implica em dificuldades técnicas óbvias na realização dos experimentos. Um terceiro método consiste em utilizar pequenos dispositivos implantáveis que medem a temperatura e enviam seu valor para um computador utilizando uma conexão sem fio. A telemetria é baseada nessa ideia.

1.3 TELEMETRIA

O termo telemetria deriva do grego (*tele* = remoto, *metron* = distância) e pode ser definido como a técnica de processamento e transmissão de dados à distância (Dicionário Caldas Aulete). A telemetria tem aplicações nas mais diversas áreas, incluindo meteorologia, planejamento militar, medicina e pesquisa. Sistemas de telemetria utilizados em experimentação animal são considerados o padrão ouro para coletar parâmetros fisiológicos em animais conscientes e não contidos (BRAGA e PRABHAKAR, 2009). Eles permitem avaliar os animais sem a presença de um observador e sem a utilização de fios, permitindo a ocorrência de comportamentos mais naturais (GRENWIS, 2010).

O uso de modelos animais levanta questões éticas importantes (LEVY, 2012). Diversas organizações têm discutido e proposto alternativas e guias de conduta para

aumentar o bem-estar dos animais de laboratório. Dentre elas destaca-se o “National Centre for the Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research” (NC3Rs), que preconiza a troca do modelo animal por outro (estudos *in vitro*, modelos computacionais), sempre que possível. Entretanto, há diversas questões científicas importantes que só podem ser adequadamente respondidas com um modelo animal. Nesses casos, é essencial refinar a metodologia da pesquisa e o manejo do animal de laboratório, visando promover seu bem-estar. Isso leva, inexoravelmente, à melhora da qualidade dos dados obtidos no experimento, o que permite reduzir o número de animais utilizados. Recentes progressos na telemetria promoveram refinamento e conseqüente redução do uso de animais em pesquisa (GRENWIS, 2010).

A telemetria é considerada o estado da arte em metodologias para monitorar funções fisiológicas em ratos acordados e não contidos, pois minimiza artefatos relacionados ao estresse do animal (BRAGA e PRABHAKAR, 2009).

O presente trabalho é focado nos sistemas de telemetria para medida de temperatura em ratos. Há várias questões científicas importantes que dependem da aferição precisa da temperatura de ratos, como, por exemplo, o estudo da termorregulação e da febre (NAKAMURA, 2011). Foi demonstrado que é possível prever infecções bacterianas em ratos usando a telemetria para monitorar a temperatura corporal (WILLIAMSON et al., 2007). Inclusive pode-se utilizar dessa metodologia para estudar a temperatura corporal de primatas não humanos infectados com patógenos de interesse para segurança nacional, como o *Bacillus anthracis* (WILLENS et al. 2009).

Questões mais práticas também podem ser avaliadas. Um trabalho caracterizou o efeito do condicionamento de ratos na hipertermia por estresse induzida pelo manuseio (KRAMER et al., 2004). Outro trabalho comparou o efeito de diferentes drogas anestésicas na temperatura corporal de macacos (LOPEZ, GIBBS e REED, 2002).

Os sistemas de telemetria funcionam da seguinte forma: um dispositivo (1) implantável ou externo (fixado ao animal por uma jaqueta) é capaz de medir, processar e transmitir parâmetros fisiológicos, sem fio, para um receptor (2), que repassa os dados para um computador (PC) com um “software” dedicado, para registrar em disco

rígido e desenhar gráficos dos dados recebidos (GRENWIS, 2010), conforme a Figura 1.

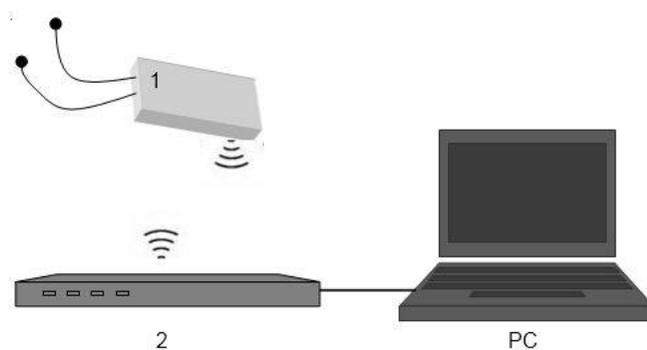


Figura 1. Um sistema de telemetria clássico, com o dispositivo implantável (1), o receptor de dados (2) e o computador (PC) que armazena e mostra as informações.

Há mais de 50 anos, esses sistemas são utilizados em pesquisa, porém sistemas confiáveis e de fácil manuseio se tornaram comercialmente disponíveis apenas nos últimos 10 anos (BRAGA e PRABHAKAR, 2009).

Empresas como Data Sciences International® (DSI), Millar®, Mini Mitter®, TSE Systems® e Integrated Telemetry Systems® disponibilizam um amplo portfólio de produtos com características diversas, sendo a maioria deles de custo alto a proibitivo para uso prático em nosso país. Existem dispositivos para animais de diversos portes, com capacidade de realizar medidas de alguns parâmetros fisiológicos (biopotencial, atividade motora, pressão, temperatura).

A seguir, caracterizaremos alguns modelos capazes de realizar medidas de temperatura em ratos de laboratório. Os modelos listados foram escolhidos a partir dos resultados de buscas nos “websites” das principais empresas fornecedoras de equipamentos para experimentação animal. As informações listadas nas tabelas foram coletadas através de contato por correio eletrônico com os fabricantes, visto que as informações técnicas disponibilizadas nos respectivos “websites” são escassas. As informações listadas como “não informadas” correspondem a 3 ou mais tentativas de contato com o fabricante sem obter resposta. Veja Tabelas 5 e 6.

Tabela 5. Características físicas dos principais modelos de sistema de telemetria disponíveis no mercado. As colunas, da esquerda para a direita, representam modelo, marca, massa, em gramas, volume, canais de temperatura (fora de parênteses), canais de outros parâmetros (entre parênteses), tamanho da ponta do sensor de temperatura. NI: não informado.

Modelo	Marca	Massa (g)	Volume (cm ³)	Canais	Sensor (mm)
G2 E	MiniMitter	1,6	1,15	1	Superfície
F40-TT	DSI	7,5	3,5	2	1,8
TR50B	Millar	12	NI	1(2)	Superfície
T36F	ITS	13	4,95	1(3)	NI
Stellar	TSE	15,5	8,9	1(3)	NI

Tabela 6. Algumas características dos principais modelos de sistema de telemetria disponíveis no mercado. As colunas, da esquerda para a direita, representam modelo, resolução da temperatura, duração da bateria, distância máxima do receptor, tempo entre as amostras, disponibilidade dos dados em tempo real. NI: não informado.

Modelo	Resolução	Bateria	Distância	Amostragem	Tempo real
F40-TT	0,01°C	4 meses	42 cm	5 s / 10 min	NI
Stellar	0,1°C	18 meses	5 m	10/60 min	Não
G2 E	0,1°C	eterna	12 cm	30 s	Sim
TR50B	NI	4-7 h	5 m	2 h	Sim
T36F	NI	6 meses	1 m	7,8 ms	Sim

Os sistemas de telemetria para monitoramento de temperatura de ratos apresentam, atualmente, características físicas bastante distintas. A massa pode variar desde 1,6g até 15,5g e o volume de 1,15 cm³ até 8,9 cm³, sendo que a maioria dos dispositivos tem 1 canal de temperatura e alguns têm canais para medidas de outros parâmetros fisiológicos (biopotencial, pressão).

Alguns modelos são constituídos por um monobloco que inclui o sensor de temperatura e, por isso, medem a temperatura do local onde foram implantados. Geralmente são utilizados para medir a temperatura corporal, quando não há necessidade de estudar um órgão específico. Outros possuem hastes com o sensor de temperatura na ponta, permitindo aferir a temperatura de sítios anatômicos diferentes daquele onde o dispositivo foi implantado. Ver Figura 2.

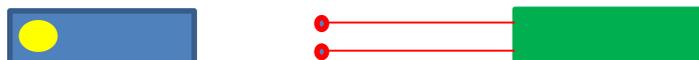


Figura 2. O dispositivo em azul realiza medidas da temperatura junto ao seu invólucro, na porção em amarelo. O dispositivo em verde permite medir temperaturas de órgãos específicos, ao posicionar suas hastes (em vermelho) nos sítios anatômicos de interesse.

Com as informações disponíveis nas Tabelas 5 e 6, apenas um dos modelos avaliados reúne as características essenciais para coletar os dados necessários para inferirmos o coeficiente de difusão térmica de órgãos ou tecidos. Os modelos Stellar (TSE) e G2 E (MiniMitter) não possuem resolução, nem número de canais, nem taxa de amostragem suficientes. O modelo TR50B (Millar) não possui canais nem taxa de amostragem suficientes. O modelo T36F (ITS) não possui canais suficientes.

O modelo F40-TT (DSI) apresenta todos os pré-requisitos. Entretanto, seu custo é um importante dificultador de sua utilização em nosso país. O preço de todo o sistema com dois dispositivos F40-TT é US\$29.995,00 (cotação em 02/12/2013), sem considerar o custo de importação e impostos.

O Laboratório de Física Aplicada do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Juiz de Fora mantém diálogo constante com o Instituto de Ciência Biológicas, visando identificar questões biológicas cuja solução possa ser desenvolvida com o auxílio de tecnologias no âmbito da física e da engenharia elétrica. Diversas parcerias foram firmadas até o momento, gerando produções científicas e técnicas, inclusive algumas das quais patenteadas. Esses trabalhos multidisciplinares permitiram criar ferramentas inéditas, altamente específicas, otimizando metodologias de pesquisa empregadas para responder a diversas perguntas biológicas. Algumas dessas novas ferramentas apresentam melhor funcionalidade e/ou menor custo quando comparadas às existentes no mercado.

O presente trabalho está inserido nesse contexto. Pensando em, futuramente, caracterizar o coeficiente de difusão térmica de órgãos e tecidos vivos em situações fisiológicas e patológicas, foi proposta a criação de uma ferramenta, de baixo custo, capaz de fornecer as informações necessárias para essa caracterização. Desenvolvemos um sistema de telemetria para ratos, de baixo custo, dedicado para

medidas de temperatura em 4 canais simultâneos, com alta taxa de amostragem e alta resolução.

Este projeto de pesquisa está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animais (CEUA) DA PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF, em reunião realizada em 05/03/2013, sob protocolo de número 085/2012.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um sistema de telemetria para ratos Wistar, capaz de fornecer informações necessárias para medir a SAR, o coeficiente de difusão térmica e a condutividade elétrica em tecidos biológicos, *in vivo* e *in vitro*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O objetivo deste trabalho é desenvolver um sistema de telemetria de baixo custo, alta resolução e alta taxa de amostragem, para ratos Wistar, e que seja capaz de medir simultaneamente 4 canais de temperatura e coletar informações da variação da temperatura com o tempo, que possa ser utilizada na determinação da medida da SAR, da difusividade térmica (α) e da condutividade elétrica (σ) em tecidos biológicos, *in vivo* e *in vitro*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DESENVOLVIMENTO DO SENSOR

Visando medir a temperatura interna de ratos Wistar, foi desenvolvido um sensor de temperatura sem fio de quatro canais, alimentado com uma bateria de lítio, capaz de enviar os valores de temperatura, via Bluetooth®, para um computador. O computador possui um “software” desenvolvido especificamente para mostrar, em tempo real, as informações coletadas e registrá-las em arquivos para posterior análise.

O sensor é composto de seis partes: (1) bateria de lítio, (2) regulador de tensão de 3,3 V, (3) microcontrolador PIC para conversão analógico-digital, (4) microcontrolador PIC para geração de *dither*, (5) resistores do tipo NTC e (6) módulo Bluetooth®.

Foi escolhida a bateria de lítio por apresentar melhor relação entre capacidade de armazenamento e peso, além de melhor relação capacidade de armazenamento e volume. Levando em consideração que a corrente elétrica média de consumo do sensor é de 20 mA, uma bateria com capacidade de 600 mA.h seria capaz de manter o sistema em funcionamento por 30 horas. Entretanto, como o sistema necessita de uma tensão mínima de 3,3 V para funcionar, a capacidade total da bateria não é utilizada, de forma que os 600 mA.h permitem uma autonomia real de 20 horas de funcionamento ininterrupto. A Figura 3 mostra uma curva de descarga típica de uma bateria de lítio.

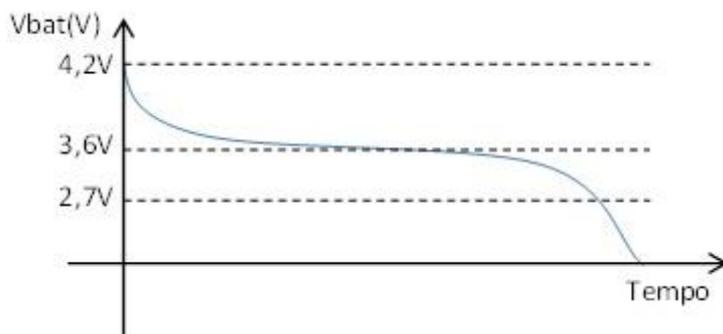


Figura 3. Descarga típica de uma bateria de lítio. Mantendo constante o consumo, a tensão da bateria (V_{bat}) permanece a maior parte do tempo perto de 3,6V. Modificado de Lithium Ion Rechargeable Batteries – Technical Handbook (Sony Electronics).

A tensão da bateria varia de 4,2 V (totalmente carregada) até 2,7 V (totalmente descarregada). Por isso, é necessário um regulador de tensão para limitar a tensão de alimentação do circuito em 3,3 V. Foi utilizado o regulador modelo TC1185 por apresentar diversas vantagens em relação a reguladores convencionais, como, por exemplo, alta acurácia ($\pm 0,5\%$), baixa queda de tensão (máximo 270 mV) e baixa corrente de base (máximo 50 μA), sendo ideal para aplicações alimentadas por baterias. A Figura 4 mostra a relação entre a tensão de entrada e a tensão de saída do regulador. Gráfico retirado do “datasheet” do TC1185.

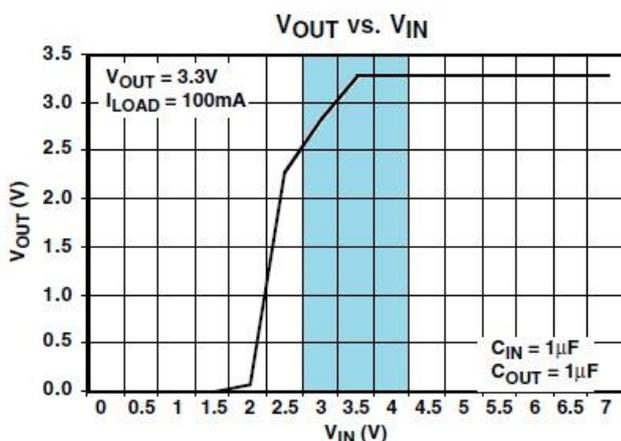


Figura 4. Gráfico relacionando a tensão de saída (V_{out}) com a tensão de entrada (V_{in}) do regulador. Note que na faixa de trabalho da bateria de lítio (2,7 V a 4,2 V), marcada em azul, a tensão de saída nunca excede 3,3 V. Gráfico retirado do “datasheet” do TC1185.

Os termistores NTC são resistores cuja resistência elétrica diminui à medida que sua temperatura aumenta. Eles são cerâmicas semicondutoras policristalinas compostas por uma mistura de cromo, manganês, ferro, cobalto e níquel. De forma a

simplificar e reduzir o tamanho do hardware do sensor, optou-se por utilizar um divisor de tensão para medir a resistência do termistor (R_t). A Figura 5 ilustra o circuito.

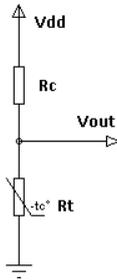


Figura 5. Divisor de tensão, sendo R_c uma resistência constante, R_t a resistência do termistor, V_{dd} a tensão de alimentação e V_{out} a tensão que será lida pelo microcontrolador.

A equação abaixo mostra a relação entre as resistências e a tensão de saída.

$$V_{out} = V_{dd} \cdot \frac{R_t}{R_c + R_t} \quad (3.1)$$

O valor de R_c foi otimizado para permitir a maior variação possível de V_{out} para os valores extremos de R_t entre 20°C (R_{20}) e 40°C (R_{40}). Assim, sendo a variação de V_{out} (ΔV_{out}), dada por:

$$\Delta V_{out} = V_{dd} \cdot \left(\frac{R_{20}}{(R_c + R_{20})} - \frac{R_{40}}{(R_c + R_{40})} \right) \quad (3.2)$$

e tomando como valor máximo da variação de V_{out} o ponto em que:

$$\frac{d\Delta V_{out}}{dR_c} = 0, \quad (3.3)$$

é possível calcular numericamente o valor ideal de R_c para o qual há melhor resolução da leitura. Para o termistor escolhido, $R_c = 7,5k\Omega$.

As leituras dos termistores NTC são realizadas por quatro canais do conversor A/D de 10 bits do microcontrolador PIC18LF1220. Dentro da faixa entre 20°C e 40°C e, utilizando $R_c = 7,5k\Omega$, cada variação de 1°C na temperatura de R_t leva a uma mudança em V_{out} que corresponde a aproximadamente 0,997% de V_{dd} (dados experimentais). Um conversor A/D de 10 bits permite segregar a escala total (V_{dd}) em 1.024 degraus (2^{10}), que, neste caso, correspondem cada um a 0,097% de V_{dd} . Assim, a conversão com 10 bits permite detectar apenas variações de até aproximadamente 0,1°C ($1^\circ C \times 0,097/0,997$). Já a conversão com 16 bits permite segregar a escala total

(V_{dd}) em 65.536 degraus (2^{16}), que, neste caso, correspondem cada um a 0,0015% de V_{dd} . Isso possibilita detectar variações de até aproximadamente 0,0015°C ($1^\circ\text{C} \cdot 0,0015/0,997$). Portanto, 10 bits são insuficientes para atingir uma resolução na ordem de 10^{-3} °C, o que é possível com o uso de conversor A/D de 16 bits. Dessa forma, foi implementado no microcontrolador um algoritmo de processamento de sinais chamado “oversampling”, capaz de aumentar a resolução do sinal ao aumentar a frequência de amostragem do sinal, na presença de ruído (MADAPURA, 2008).

O algoritmo de “oversampling” consiste em adquirir um número grande de amostras de um sinal com ruído, visando um resultado com maior resolução. Isto é possível por reduzir o erro de quantização do conversor A/D.

O número de bits que se deseja aumentar na resolução do conversor A/D determina o número de amostras necessárias para realizar uma leitura de maior resolução. A fórmula para o cálculo do número de amostras está expressa na equação (3.4).

Visando aumentar para 16 bits a resolução de leitura, calculou-se o número de amostras necessárias para gerar uma leitura. Sendo n o número de bits adicionais ($n=16-10=6$):

$$\text{Número de Amostras} = (2^n)^2 = (2^6)^2 = 4.096 \quad (3.4)$$

Para calcular o valor de leitura gerado por essas 4096 amostras, basta somar todas as amostras e dividir por 2^n , conforme a equação (3.5):

$$\text{Leitura} = \text{Int} \left(\frac{1}{2^n} \sum_{k=1}^{2^{2n}} \text{Amostra}_k \right) = \text{Int} \left(\frac{1}{64} \sum_{k=1}^{4.096} \text{Amostra}_k \right) \quad (3.5)$$

De maneira simples, esse algoritmo soma 2^{2n} amostras e divide o resultado por 2^n , resultando em uma leitura com n bits a mais de resolução. Para mais detalhes sobre o algoritmo de oversampling consulte Madapura (2008).

Esse algoritmo foi implementado nos quatro canais. A amostragem e conversão das 4096 amostras de cada canal demora cerca de 800 ms, totalizando 4,0 segundos a leitura dos quatro canais de temperatura mais a medida da tensão da bateria (descrita adiante). O envio desse pacote de informações por Bluetooth® para o PC demanda um período menor que 3 ms.

Note que, se o sinal de origem for perfeitamente sem ruído, o sinal lido em cada amostra será exatamente o mesmo e o valor da leitura terá a mesma resolução do conversor A/D (10 bits). Portanto, é necessário que exista no sinal um ruído perceptível pelo conversor. A introdução desse ruído no sinal torna aleatório o erro de quantização do conversor (MADAPURA, 2008). Esse processo é chamado de “dithering”.

O circuito de “dithering” do sensor é composto por um microcontrolador PIC10F222 programado para gerar um ruído. Este é acoplado capacitivamente na saída de cada divisor de tensão, de forma a não adicionar um componente de corrente contínua ao sinal (DC). Na Figura 6 apresentamos o circuito.

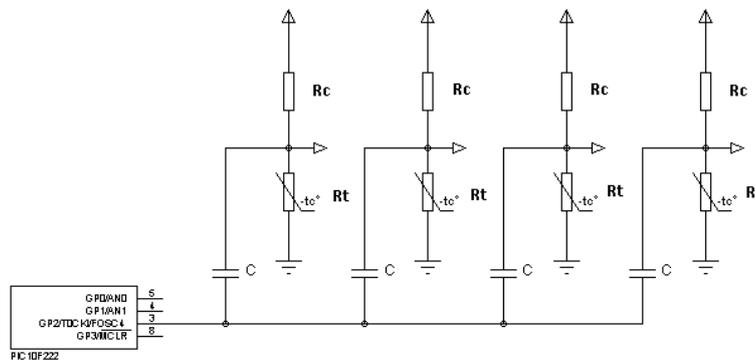


Figura 6. Circuito de “dithering”, mostrando o acoplamento capacitivo do ruído em cada um dos quatro canais de temperatura. R_c são resistores de valor constante, R_t são termistores NTC e C são os capacitores que acoplam o ruído do PIC10F222 ao divisor de tensão.

Após a aquisição das leituras dos quatro canais (c) de temperatura obtemos quatro variáveis de 16 bits (**Leitura**) cujos valores dependem das tensões lidas em cada divisor de tensão (V_{out}), da seguinte forma:

$$Leitura(c) = Int \left(65.535 \frac{V_{out}(c)}{V_{dd}} \right) \quad (3.6)$$

Como as tensões de cada divisor dependem das resistências R_c e R_t , substituindo (3.1) em (3.6), obtemos:

$$Leitura(c) = Int \left(65.535 \frac{R_t(c)}{R_c + R_t(c)} \right) \quad (3.7)$$

Isso mostra que a leitura independe da tensão de alimentação V_{dd} .

O microcontrolador PIC18LF1220 também realiza a medida da tensão da bateria, possibilitando estimar o tempo restante de funcionamento do dispositivo. Para isso, o microcontrolador realiza a medida em um divisor de tensão de resistores iguais, ligado à bateria (e não à saída do regulador de tensão, como nos termistores NTC). Na Figura 7 é apresentado o circuito.

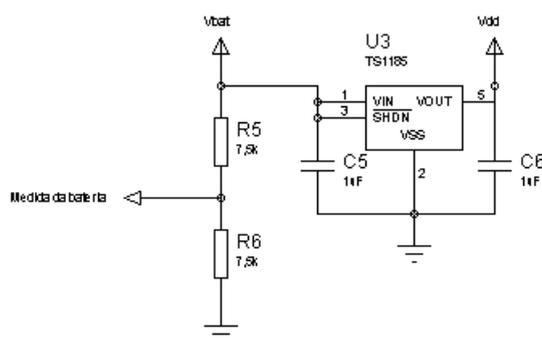


Figura 7. Divisor de tensão para medida da tensão da bateria (V_{bat}). O microcontrolador (não mostrado) realiza a medida do divisor ($V_{bat}/2$) em relação à tensão de saída do regulador (V_{dd}), que é sempre menor ou igual a 3,3 V. Para tensões da bateria entre 3,5 V e 4,2 V a medida varia de forma linear, mas abaixo de 3,5 V ocorre queda da referência (V_{dd}) junto com a queda da bateria, de forma que o valor medido passa a não se alterar mais.

A tensão da bateria (V_{bat}) também é armazenada na variável de 16 bits **Leitura(bat)**, de modo que:

$$Leitura(bat) = Int\left(32.768 \frac{V_{bat}}{V_{dd}}\right) \quad (3.8)$$

Para valores de V_{bat} entre 3,5 V e 4,2 V, V_{dd} é sempre 3,3 V. Mas quando V_{bat} fica abaixo de 3,5 V, V_{dd} começa a reduzir (conforme Figura 4). Assim, a variável **Leitura(bat)** reflete bem a tensão da bateria até 3,5 V. Abaixo desse valor, **Leitura(bat)** mantém um valor estável.

Além de realizar a leitura das tensões de cada canal, o microcontrolador PIC18LF1220 se comunica com o módulo Bluetooth® via serial “full-duplex” a 115.200 bps, com o intuito de trocar informações com o “software” de aquisição no PC.

O módulo Bluetooth® RN42 (Roving Networks®) foi escolhido por apresentar baixo consumo, antena embutida e transparência na comunicação com o PC. Após alimentado, ele é reconhecido pelo PC, sendo necessário o pareamento na primeira conexão. Em seguida é criada uma porta serial virtual por onde o “software” do PC se comunica com o módulo RN42. Com isso, a informação transita do “software” no PC

até o PIC18LF1220 e vice-versa. Uma representação do sistema é apresentado na Figura 8.



Figura 8. Trânsito de informações entre o “software” no PC e o microcontrolador PIC18LF1220 (Microchip™), passando pelo módulo Bluetooth®.

A cada 5 segundos o computador envia um comando de leitura para o sensor. Após receber esse comando, o sensor realiza as leituras e envia os valores de volta para o “software” no PC. Esses dados são convertidos em valores de temperatura segundo curvas de regressão previamente caracterizadas na calibração do sensor. As temperaturas, então, são plotadas em um gráfico e armazenadas em disco rígido para posterior análise.

O apêndice A contém o esquema elétrico e o “layout” da placa de circuito impresso do sensor de temperatura. Todo o circuito foi construído manualmente com componentes eletrônicos de montagem em superfície (“Surface Mount Device”).

O “firmware” do PIC18LF1220 foi programado em linguagem C e seu código está listado no apêndice B. O “software” de captura dos dados no PC foi desenvolvido em Microsoft Visual C# 2010. Sua tela está apresentada na Figura 9. O gráfico maior representa as medidas de temperatura dos NTCs (A a D) e o gráfico menor indica a tensão da bateria. O programa permite anotar observações junto aos dados arquivados, de forma a facilitar a interpretação dos experimentos.

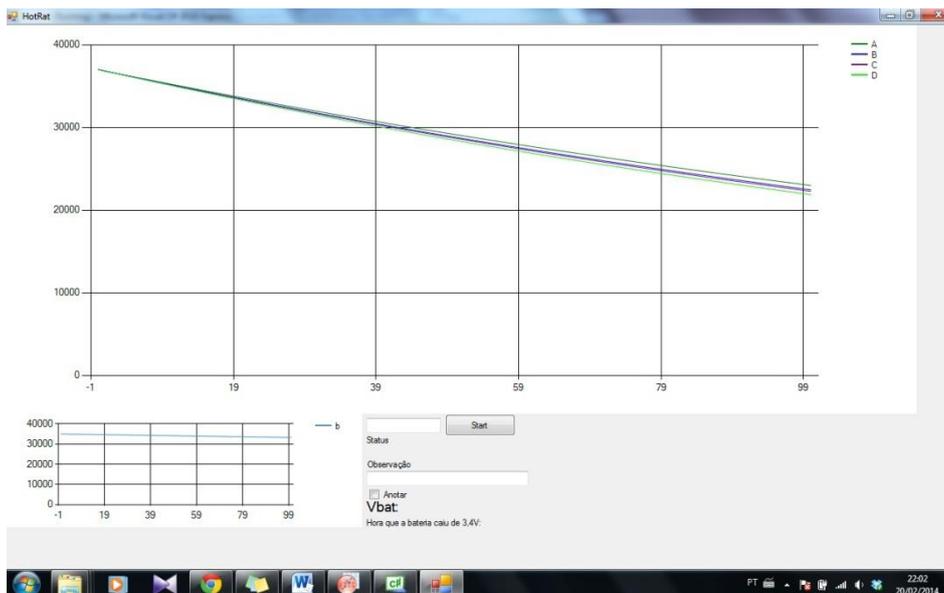


Figura 9. Tela do “software” de aquisição de dados do sensor. O gráfico maior mostra a temperatura dos quatro NTCs, em 10^{-3}°C . O gráfico menor representa a tensão da bateria, em 10^{-4} V. Os eixos das abscissas nos gráficos representam o tempo decorrido, sendo cada unidade uma leitura do sensor, que corresponde a 5 segundos. O programa registra em arquivos os dados coletados e permite a inserção de observações dos detalhes do experimento junto aos dados, facilitando a análise posterior das informações.

3.2 CALIBRAÇÃO DO SENSOR

Foi desenvolvido um aparato capaz de calibrar simultaneamente os quatro sensores de temperatura, que são termistores do tipo NTC. Este aparato é composto por 6 partes: (1) tarugo de alumínio termicamente isolado, (2) sensor de temperatura de referência do tipo PT100, (3) multímetro de precisão, (4) interface de potência para aquecer o tarugo, (5) sensor para monitorar os quatro termistores NTC (descrito na seção anterior) e (6) “software” em PC para controle da temperatura no tarugo.

O tarugo de alumínio é um cilindro de 7,5 cm de raio, com 5 cm de altura e com massa de 2.380 g. Na superfície lateral do cilindro há uma bobina de 160 voltas com fio AWG 29 (0,31 mm de diâmetro), por onde passa a corrente elétrica para aquecer o cilindro, controlada pela interface de potência. Dessa forma, a fonte de calor está na lateral do tarugo. Na superfície superior, a 3 mm da borda, foram feitos 4 furos de 3 mm de diâmetro e 30 mm de profundidade. Nesses furos ficam os quatro termistores a serem calibrados e o PT100, que mede a temperatura de referência. Essas medidas

foram otimizadas pensando em criar um sistema com grande capacidade térmica, em que todos os sensores distam igualmente da fonte de calor. A Figura 10 representa fotografias do aparato.

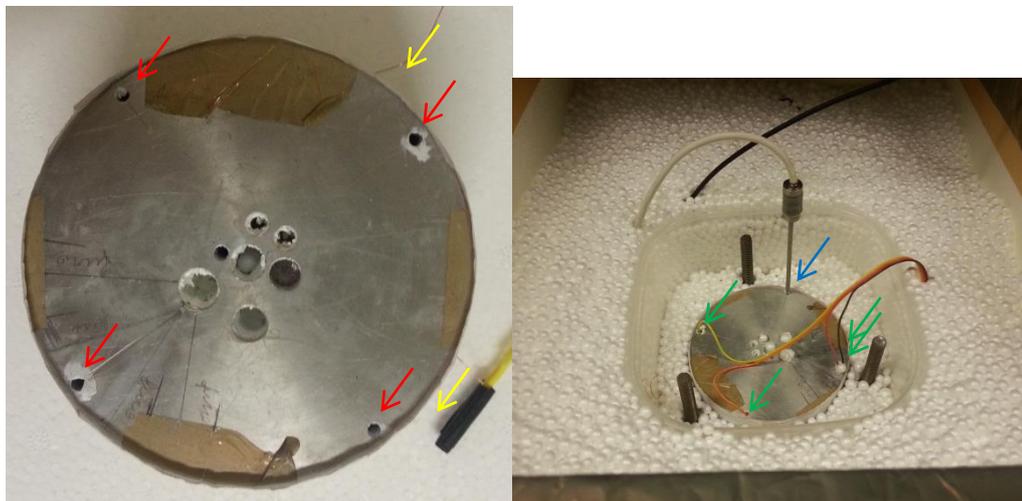


Figura 10. Tarugo de alumínio. À esquerda, uma fotografia do tarugo fora do aparato. As setas vermelhas indicam os furos onde ficam os termistores e o PT100. As setas amarelas mostram as extremidades do fio da bobina ao redor do tarugo. À direita, uma fotografia do tarugo envolto por esferas de isopor e dentro de uma caixa de isopor. As setas verdes indicam os termistores dentro dos furos. A seta azul indica o PT100 dentro do furo.

Externamente ao tarugo há uma camada de 2 mm de isopor revestido com papel alumínio. Todo esse sistema encontra-se no centro de uma caixa de isopor de 42 litros, também revestida com papel alumínio. O espaço vazio da caixa foi preenchido com esferas de isopor de 2mm de diâmetro, visando reduzir a troca de calor e manter a temperatura interna do tarugo. A Figura 11 é uma fotografia de uma parte do aparato.

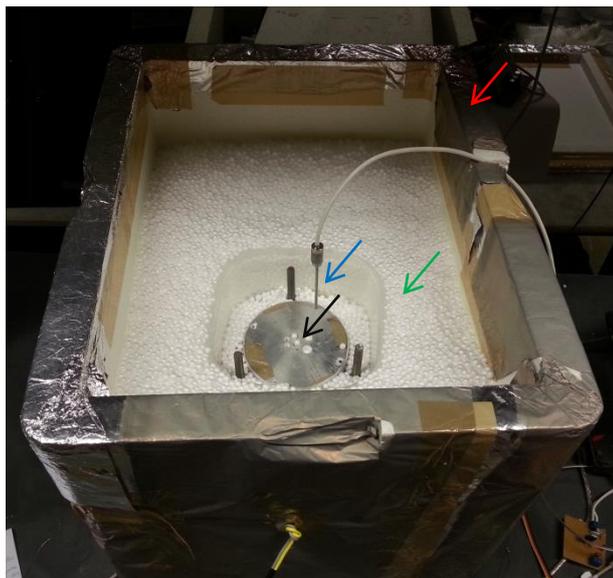


Figura 11. Caixa de isopor de 42 litros, forrada com papel alumínio (seta vermelha) e preenchida com esferas de isopor (seta verde). No interior da caixa, nota-se o tarugo de alumínio (seta preta). O PT100 está indicado pela seta azul. Nesta fotografia os termistores não estão posicionados.

O sensor de temperatura de referência utilizado foi o PT100 da série TS da marca Ecil (veja fotografia na Figura 12).

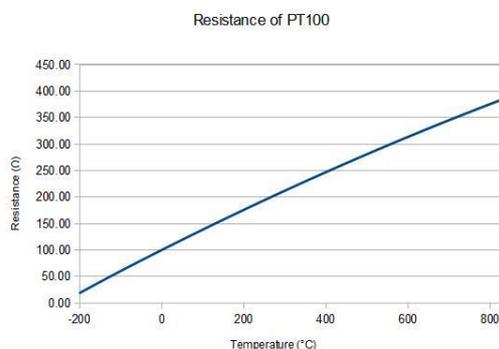


Figura 12. À esquerda, o PT100 da marca Ecil. À direita, gráfico da resistência do PT100 em função da temperatura, conforme dados no manual do fabricante.

Esse sensor é composto por um fio fino de platina que possui uma resistência dependente da temperatura. Caracteristicamente são sensores de alta precisão e estabilidade. A função resistência do PT100 (R) é para temperaturas positivas é diferente da função para temperaturas negativas. Para $T > 0$, a função é dada por:

$$R(T) = R_0 \cdot (1 + AT + BT^2) \quad (3.9)$$

onde $R(T)$ é a resistência do PT100 na temperatura T e os coeficientes R_0 , A e B são apresentados na Tabela 7. Note que o coeficiente R_0 representa o valor da resistência a 0°C .

Tabela 7. Coeficientes para conversão da resistência (Ω) do PT100 em valores de temperatura ($^\circ\text{C}$).

Coeficiente	Valor
R_0	100 Ω
A	$3,9083 \times 10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$
B	$5,7750 \times 10^{-7} \text{ }^\circ\text{C}^{-2}$

Uma vez determinado R , o valor de T é obtido resolvendo-se a equação (3.9). O resultado é:

$$T = \frac{A}{2B} \left[\sqrt{1 + \frac{4B}{A^2} \left(\frac{R}{R_0} - 1 \right)} - 1 \right] . \quad (3.10)$$

O “software” no PC, que controla a temperatura do tarugo, recebe do multímetro Agilent, modelo 34401A, os valores de resistência do PT100 e, utilizando a equação (3.10), calcula o valor da temperatura na borda do tarugo, conforme a fotografia da Figura 13. De acordo com o valor da temperatura determinado, o “software” no PC decide quanto de potência deve ser entregue ao tarugo e envia essa informação à interface de potência (Figura 14). Essa interface gera um sinal de PWM (“Pulse Width Modulation”) cujo ciclo ativo modifica a corrente elétrica média na bobina ao redor do tarugo permitindo aquecê-lo mais ou menos. Assim, o “software” funciona como um termostato altamente efetivo.

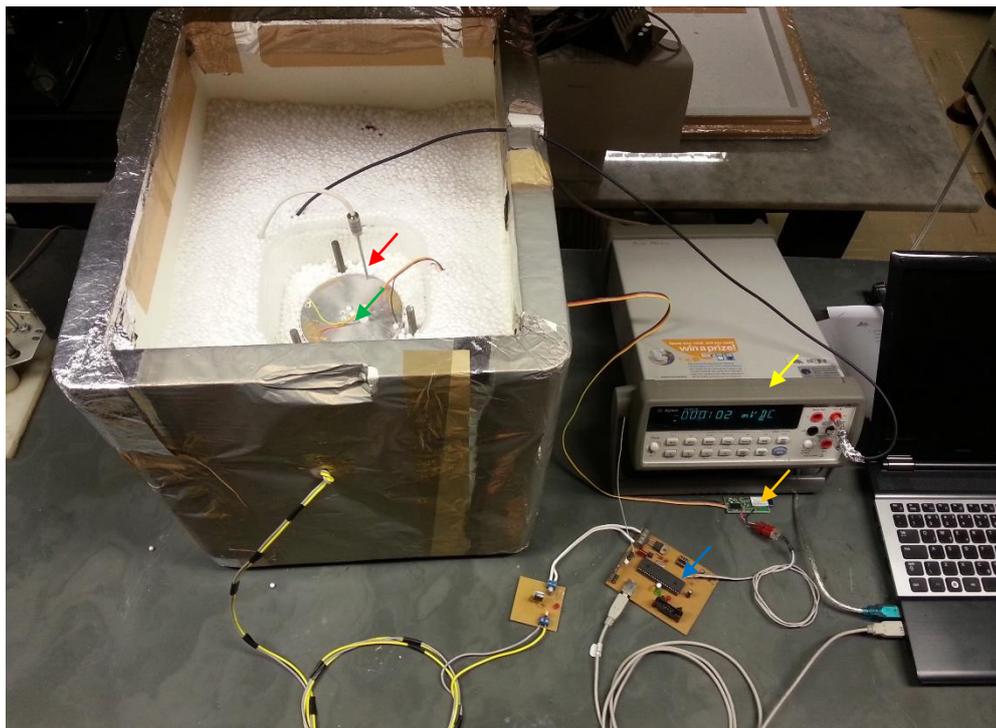


Figura 13. Fotografia de todo o aparato, incluindo o tarugo (seta verde) com os termistores e o PT100 (seta vermelha). O PT100 é lido pelo multímetro Agilent (seta amarela) e os termistores são lidos pelo sensor que desenvolvemos (seta laranja). Todos esses dados são lidos pelo computador, que utiliza a interface de potência (seta azul) para controlar a temperatura do tarugo.

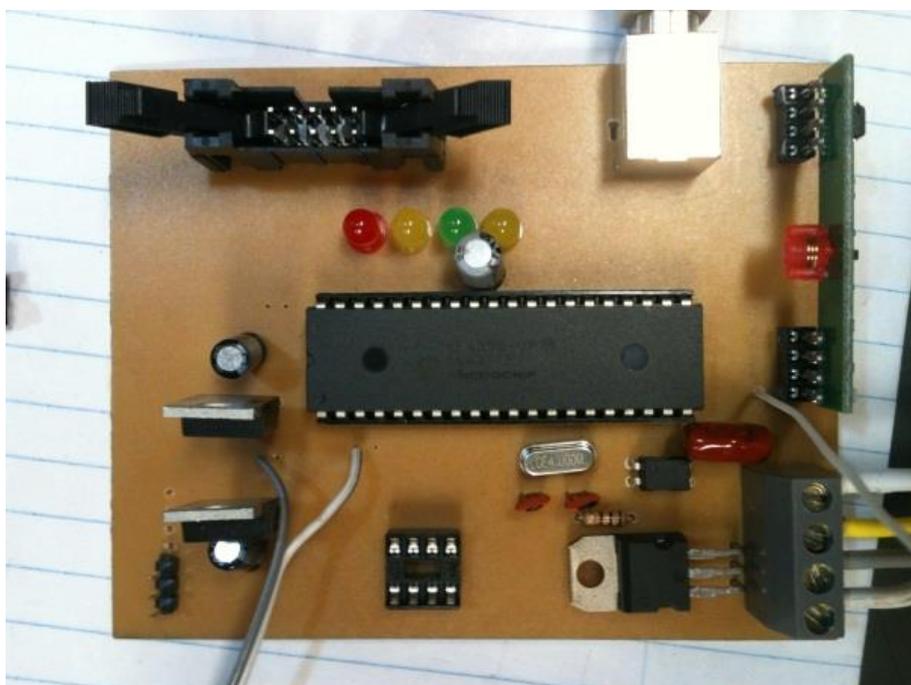


Figura 14. Interface de potência, com conector USB tipo B para ligar ao PC, borne de quatro vias, sendo as duas centrais (fios amarelo e cinza) para ligação da bobina do tarugo e as duas das extremidades (fios brancos) para conectar à fonte de alimentação.

Além disso, esse “software” também recebe os valores de resistência dos quatro NTCs, lidos pelo sensor descrito na sessão anterior. Essas informações (NTCs e PT100) são coletadas a cada 10 segundos, plotadas em gráficos e registradas em arquivos para posterior análise de regressão e correlação. A Figura 15 é uma tela do “software”, ilustrando gráficos das leituras dos termistores (sensores de 1 a 4), dos valores de temperatura do PT100 (sensor 5) e sua derivada no tempo (dT/dt). O programa também mostra o valor atual da temperatura do PT100 (T_{ref}) e vários parâmetros relacionados ao algoritmo do termostato.

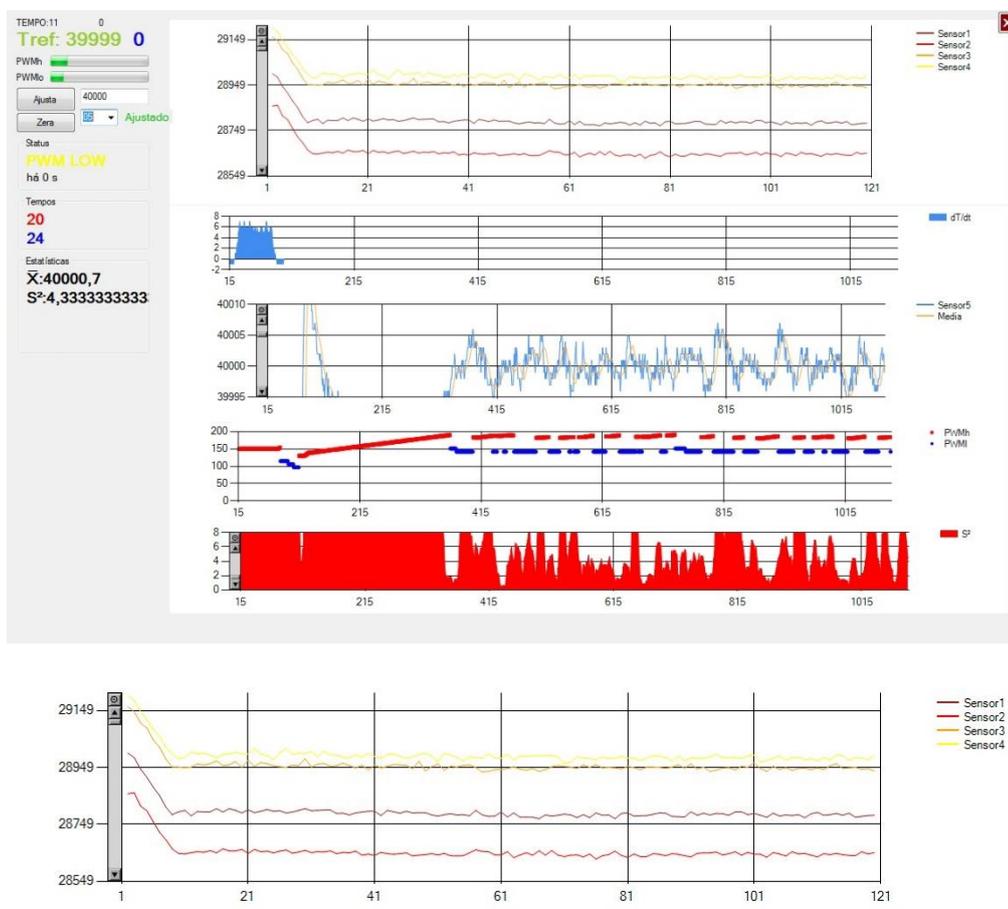


Figura 15. Acima, a tela do “software” do PC. O primeiro gráfico mostra as leituras dos quatro NTCs, em degraus (escala de 16 bits), o segundo mostra a taxa de variação do PT100, em $10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}/10\text{s}$, o terceiro mostra a temperatura do PT100, em $10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}$, o quarto mostra as potências do termostato, em escala de 10 bits, e o quinto mostra a variância da temperatura em relação a T_{ref} , em $10^{-3} \text{ }^\circ\text{C}^2$. À esquerda, T_{ref} é a temperatura atual do PT100, \bar{X} é a média, S^2 é a variância da temperatura em relação a T_{ref} . Abaixo, um zoom da tela, mostrando somente as leituras dos termistores (escala de 16 bits).

Parâmetros estatísticos como média da temperatura (\bar{X}) e variância (S^2) em relação à temperatura de ajuste do termostato (T_{ref}) também são calculados, conforme

a equação abaixo, como uma forma de verificar a estabilidade momentânea dos dados.

$$S^2(t) = \frac{1}{N} \sum_{n=t-N}^t (T_n - T_e)^2 \quad (3.11)$$

O termostato implementado no “software” do PC não segue algoritmos usuais do tipo liga/desliga, de acordo com a temperatura de ajuste. Foi utilizado um algoritmo avançado (informações ainda não publicadas), proposto pelo Professor Bernhard Johannes Lesche, do Laboratório de Física Aplicada do Instituto de Ciências Exatas da UFJF, capaz de manter uma estabilidade térmica na ordem de 10^{-2} °C em 100% do tempo, mesmo com as mudanças externas de temperatura. A Figura 16 (parte superior) mostra a temperatura interna do tarugo ao longo de um dia, quando o termostato está deligado. Nota-se a influência climática no interior da caixa fechada. Ao ligar o termostato, a temperatura interna do tarugo permanece constante (na temperatura ajustada), conforme se observa na Figura 16 (parte inferior).

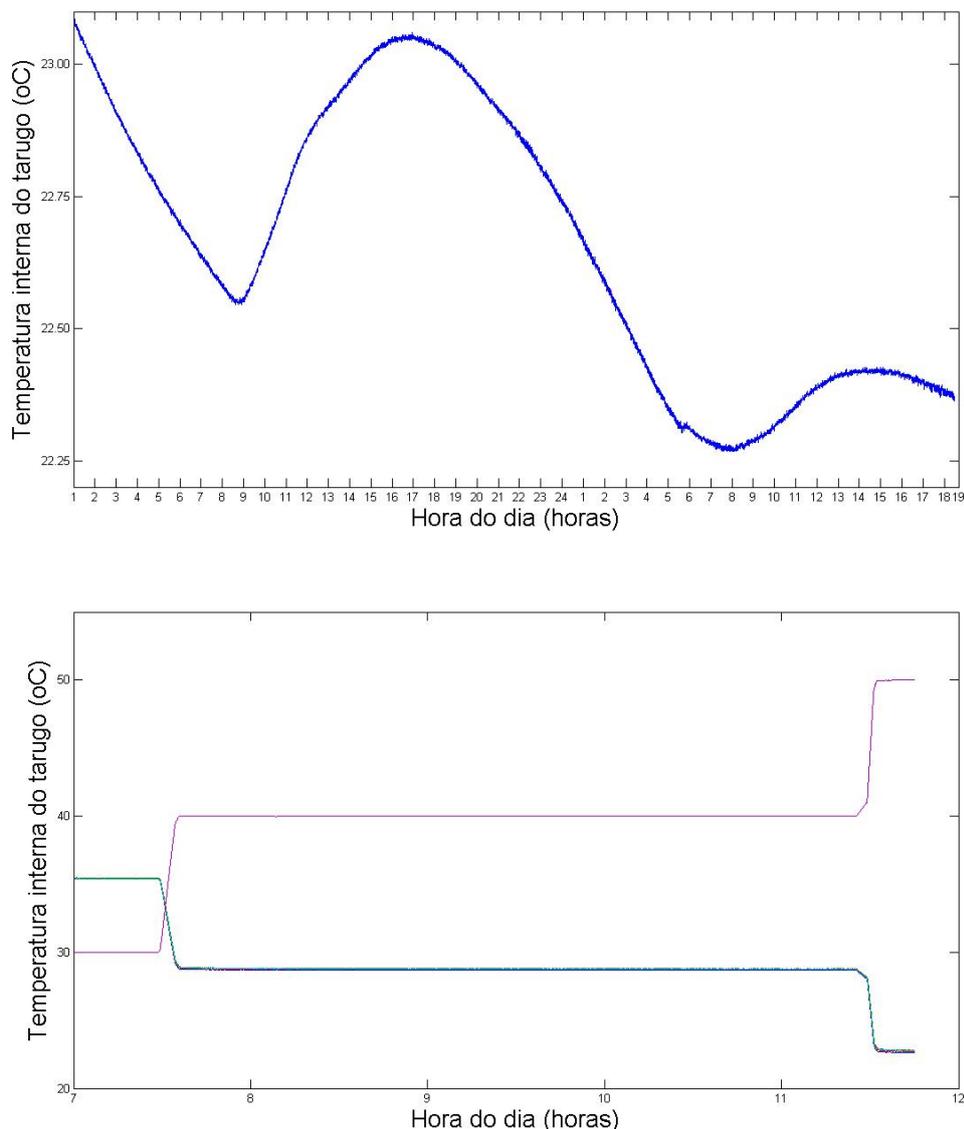


Figura 16. Temperatura do tarugo em função da hora do dia. No gráfico de cima, o termostato estava deligado e, por isso, a temperatura do tarugo oscilava conforme a temperatura ambiente, com discreto atraso de fase (dados não plotados). No gráfico de baixo, a temperatura do tarugo (linha roxa) se mantinha em 30 °C, 40 °C ou 50 °C, conforme o ajuste arbitrado no “software” no PC. As linhas correspondentes às leituras dos NTCs se sobrepõem. Repare na estabilidade da temperatura quando o termostato está ligado. O gráficos estão em escalas diferente.

Além de funcionar como um termostato convencional, esse algoritmo permite modificações dinâmicas na temperatura de ajuste, de forma que a função da temperatura no tempo possa ser escolhida. A Figura 17 exemplifica de forma esquemática todo o processo.

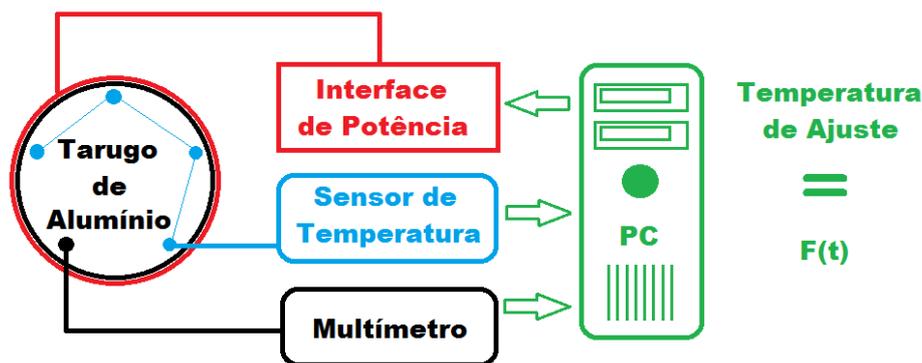


Figura 17. Esquema funcional do aparato de calibração. O multímetro lê o valor de resistência do PT100 (ponto preto no tarugo de alumínio), informa ao computador (verde), que determina a temperatura e, se necessário, modifica a potência entregue ao tarugo (vermelho). Essa alça fechada funciona como um termostato (algoritmo específico proposto por Lesche). Além disso, a temperatura de ajuste do termostato pode ser alterada utilizando-se uma função do tempo. Ao percorrer a faixa de temperatura de calibração o PC (verde) armazena e desenha gráficos com as temperaturas instantâneas do PT100 e de cada um dos 4 termistores (pontos azuis no tarugo).

No caso específico desta calibração foi utilizada a função:

$$T(t) = \tau t,$$

onde τ é a taxa de variação da temperatura e T é o instante de tempo. A taxa de variação ideal é a menor possível, visando manter ao máximo a homogeneidade da temperatura no tarugo. Para evitar demora excessiva na etapa de calibração foi arbitrado que o processo não deveria demorar mais que 5 dias. O valor de $0,36 \text{ }^\circ\text{C} / \text{hora}$ permite ir de $22 \text{ }^\circ\text{C}$ a $42 \text{ }^\circ\text{C}$ e retornar a $22 \text{ }^\circ\text{C}$ em 4 dias e 15 horas.

Todo o sistema foi alimentado por um “nobreak” para assegurar que picos de energia não interrompessem o processo.

O “software” de calibração dos dados no PC também foi desenvolvido em Microsoft Visual C# 2010. O fluxograma simplificado do “software” de calibração dos NTCs está disponível no apêndice C.

Utilizando esse aparato, a calibração foi realizada de acordo com as seguintes etapas:

Etapa 1: Posicionamento dos quatro NTCs e do PT100 na mesma profundidade nas bordas do tarugo, utilizando pasta termocondutora. Preencher a caixa de isopor com esferas de isopor até o topo. Fechar a caixa e aguardar a estabilização de sua temperatura interna.

Etapa 2: Alimentar os circuitos envolvidos no processo de calibração e conectá-los ao PC:

- Multímetro Agilent: conectar PT100 na entrada de ohmímetro (utilizando cabo blindado), conectar o cabo USB no computador e ligar o cabo de força.
- Interface de potência: conectar na fonte de energia (bateria de 12 V do “nobreak”), no USB do computador e na bobina do tarugo (Figura 14).
- Sensor dos termistores: conectar bateria de lítio carregada com 4,2 V, conectar os fios dos termistores ao sensor (Figura 18).



Figura 18. Sensor de temperatura Bluetooth® de 4 canais. À esquerda, em preto e vermelho, estão os fios para alimentação com bateria (não mostrada). À direita estão os sensores NTCs (setas pretas). A seta amarela indica o microcontrolador PIC18LF1220, a seta azul indica o circuito gerador de ruído e a seta vermelha indica o módulo transmissor Bluetooth®.

Etapa 3: Executar o “software” No PC e aguardar 4 dias e 15 horas (tempo necessário para calibrar de 22 °C a 42 °C). Durante esse período a temperatura do tarugo vai de 22 °C a 42 °C e retorna a 22 °C, numa taxa de 0,36 °C /hora. Enquanto isso, o “software” armazena, a cada 10 segundos, um pacote de cinco variáveis de dados, que corresponde à leitura do PT100 e às 4 leituras dos NTCs em calibração. A Tabela 8 ilustra alguns pacotes de dados da maneira que são armazenados.

Tabela 8. Registro dos dados de leitura de cada NTC e da temperatura do PT100. Cada linha representa um pacote de dados. No caso do programa de calibração, a cada dez segundos um pacote de dados é registrado. Os valores dos NTCs estão apresentados em degraus (escala de 16 bits) e o do PT100 em 10^{-3}°C .

NTC1	NTC2	NTC3	NTC4	PT100
34756	34791	34904	35030	30001
34754	34789	34900	35028	30007
34749	34786	34897	35021	30013
34746	34779	34894	35017	30019
34742	34777	34890	35013	30024
34738	34775	34888	35009	30027
34735	34771	34882	35007	30034
34730	34768	34880	35003	30039
34728	34763	34876	34999	30045

Etapa 4: Realizar análise estatística dos dados coletados. Foram determinados os coeficientes de regressão linear para cada um dos sensores de temperatura (NTCs) – variáveis dependentes – em relação ao PT100 – variável independente. Para verificar o poder explicativo do modelo foram calculados os coeficientes de determinação para cada equação.

3.3 ANIMAIS

Foram utilizados ratos Wistar machos com 90 dias de vida, pesando entre 300 e 350 gramas, provenientes do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora. Antes do experimento, os ratos foram mantidos em gaiolas coletivas em biotério climatizado a $(22 \pm 2)^{\circ}\text{C}$, sob um ciclo de 12 horas luz-escuro e com 12 trocas de ar por hora. É importante chamar a atenção que, após a cirurgia de implante dos termistores, cada indivíduo foi transferido para uma gaiola individual (gaiola anti-dispersão de odor), mantida sob uma pressão discretamente subatmosférica, para evitar a dispersão do odor para os outros animais. A alimentação fornecida era composta de ração Nuvilab CR1 irradiada e água, ambos *ad libitum*.

3.4 ADAPTAÇÃO À JAQUETA

Após a cirurgia, o rato deverá ter quatro sensores NTCs alocados internamente. A leitura desses NTCs é realizada pelo sensor de temperatura, alimentado por uma bateria de lítio, ambos alocados no dorso do animal para impedir a auto-manipulação. Para fixar o sensor e a bateria no dorso do animal, foi desenvolvida uma jaqueta específica.

A jaqueta é composta de uma tira de couro branco, com fendas laterais e velcro nas extremidades. Na porção dorsal há um bolso onde é fixado o sensor com a bateria (veja Figura 19).

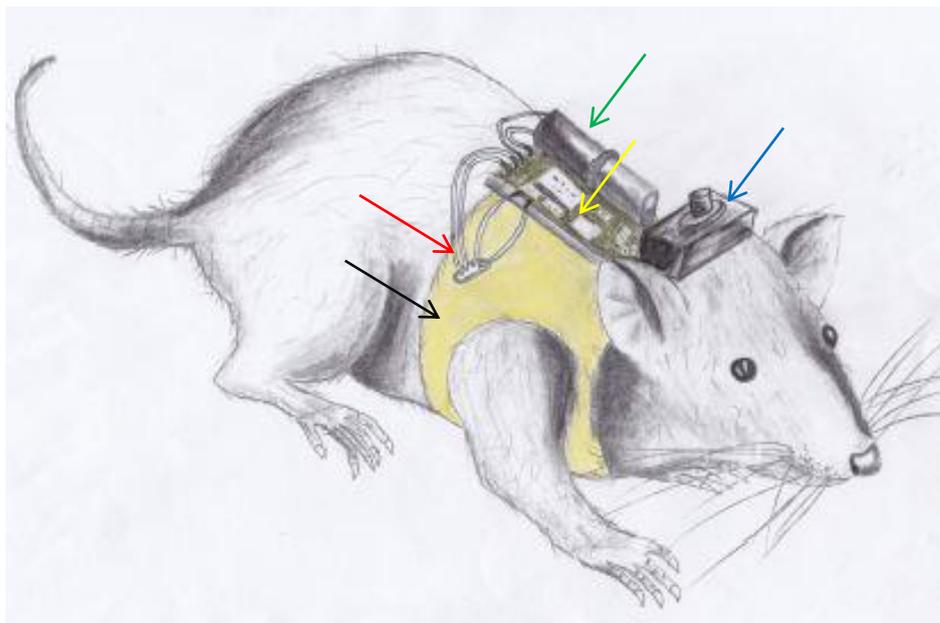


Figura 19. Jaqueta para suporte do sensor e da bateria. O desenho mostra como a jaqueta (seta preta) é fixada no animal. O sensor (seta amarela) pode ser ligado/desligado da bateria (seta verde) pelo interruptor (seta azul), para economizar bateria. Os termistores estão implantados no interior do animal (não visíveis) e seus terminais exteriorizam-se pela região indicada na seta vermelha.

As medidas de cada jaqueta são feitas de acordo com o tamanho do animal, sendo possível ajuste fino do tamanho final ao posicionar o velcro. Cada animal permaneceu com a jaqueta um mês antes da cirurgia para adaptação prévia.

3.5 MESA CIRÚRGICA

Com o intuito de posicionar corretamente o animal durante a cirurgia e evitar hipotermia intra e pós-operatória, foi utilizada uma mesa cirúrgica, construída especificamente para este propósito, no Laboratório de Física Aplicada do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Juiz de Fora.

A mesa possui fixadores para afastadores e para os dentes incisivos superiores, além de contar com um sistema de ajuste de inclinação e controle da temperatura da superfície (veja Figuras 20 e 21).

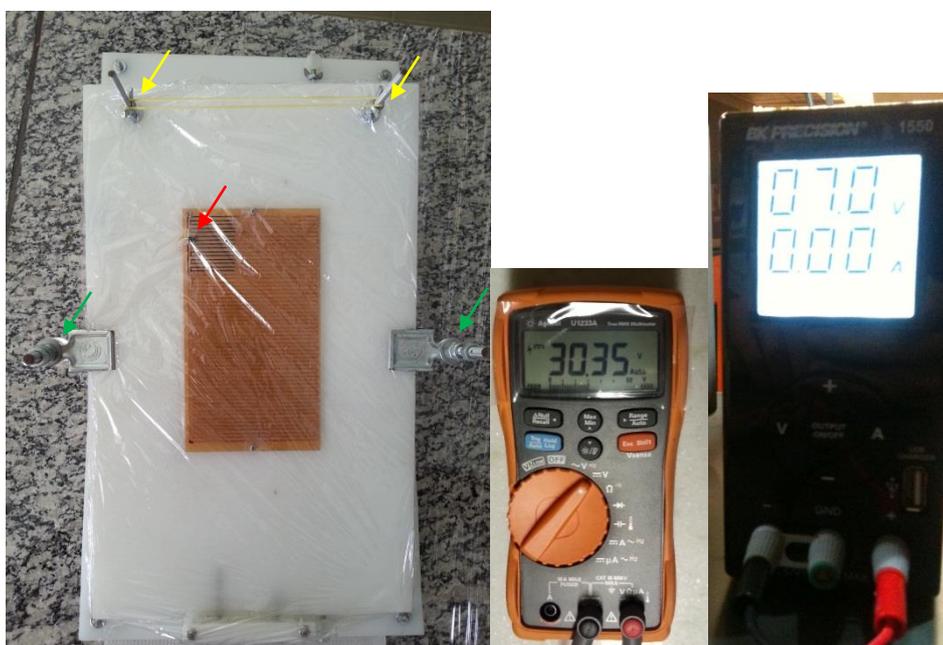


Figura 20. À esquerda, vista superior da mesa cirúrgica com placa aquecedora no centro, vista de cima. Um sensor de temperatura (seta vermelha) mede a temperatura do resistor de cobre impresso na placa. A cirurgia é realizada com o rato posicionado sobre a placa aquecedora, visando evitar a hipotermia. Nota-se ainda hastes para fixar o rato à mesa (setas amarelas) e para fixar os afastadores cirúrgicos à mesa (setas verdes). No meio, multímetro de bancada informa a medida da temperatura da placa. À direita, fonte de alimentação para fornecer a corrente elétrica para aquecer a placa.

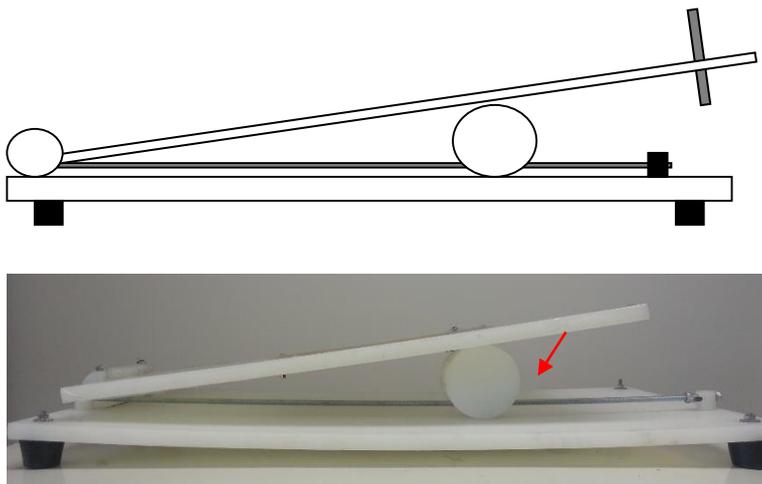


Figura 21. Mesa cirúrgica, vista de perfil, evidenciando a regulação de inclinação. Acima uma representação esquemática e abaixo uma fotografia. A seta vermelha indica o ajuste de inclinação da mesa.

3.6 IMPLANTAÇÃO DO SENSOR

A implantação dos NTCs é um procedimento cirúrgico que visa alocar corretamente cada NTC em um sítio anatômico específico. Para tanto, foram seguidas as seguintes etapas:

Etapa 1. Cuidados pré-anestésicos: revisão do histórico sanitário da colônia, inspeção do aspecto físico do animal a ser operado e privação de ração quatro horas antes da anestesia, mantendo água *ad libitum*.

Etapa 2. Antibioticoprofilaxia e analgesia preemptiva: administração subcutânea de cloridrato de cefalexina (15 mg/kg) e sulfato de morfina (3 mg/kg), trinta minutos antes da incisão cirúrgica.

Etapa 3. Anestesia: administração intraperitoneal de dose padrão de solução de cloridrato de cetamina (90 mg/kg) e cloridrato de xilazina (10 mg/kg).

Etapa 4. Cirurgia:

- durante todo o procedimento foi realizado fechamento ocular periódico, visando prevenir a ceratite por ressecamento;

- posicionamento na mesa cirúrgica, em decúbito lateral esquerdo, com ajuste da temperatura da mesa visando manter a temperatura interna do rato (37,5°C);
- incisão cutânea subcostal direita, com divulsão do espaço subcutâneo peri-incisional;
- incisão da musculatura da parede abdominal lateral direita, no espaço divulsionado;
- alocação dos quatro NTCs em diferentes sítios anatômicos, conforme ilustra a Figura 22:
 - um subcutâneo;
 - um intraperitoneal, no recesso esplenorrenal;
 - dois intraperitoneais, entre lobos hepáticos diferentes;
- fixação dos NTCs por fios de sutura 5.0;
- sutura das incisões por planos;
- fixação do conector externo na pele.

Etapa 5. Pós-operatório: colocação da jaqueta com o sensor de temperatura e sua bateria (conforme explicado na seção 3.4) e observação sobre a mesa cirúrgica até o despertar, com controle da temperatura, para evitar hipotermia. Transferência para gaiola anti-dispersão de odor, com observação nas primeiras 48 horas, para identificar precocemente eventuais complicações, pesquisar dor de forma sistemática e administrar analgésico (sulfato de morfina 3 mg/kg a cada 2-4 horas).

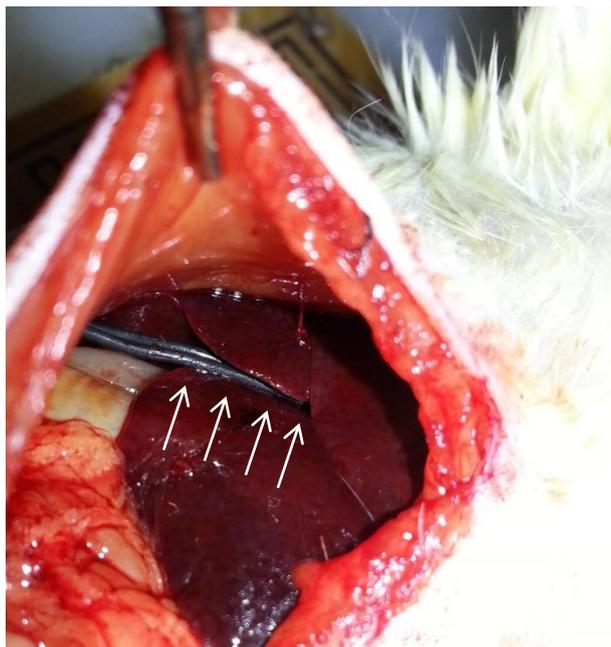


Figura 22. Fotografia do tempo cirúrgico em que foram posicionados os termistores no animal. Nota-se um NTC sendo posicionado entre dois lobos hepáticos (setas brancas). Os demais foram posicionados em seguida.

3.7 GAIOLA ANTI-DISPERSÃO DE ODOR

Visando isolar o odor dos animais recém operados, utilizou-se uma gaiola anti-dispersão de odor construída especificamente para este propósito no Laboratório de Física Aplicada do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Juiz de Fora.

A gaiola consiste em uma caixa de acrílico transparente com 45 cm de comprimento, 35 cm de largura e 25 cm de altura, com tampa superior removível e dotada de travas. Na Figura 23 são apresentados um esquema e uma fotografia da gaiola. No interior da gaiola existe um suspensor onde ficam alojados o bebedouro, a ração e um termômetro. A tampa possui dois orifícios de 4 cm de diâmetro distantes 25 cm um do outro. Um dos orifícios é conectado a uma traqueia que leva a um exaustor. O outro fica aberto para o biotério. Dessa forma é criada uma pressão discretamente subatmosférica dentro da gaiola, permitindo que o fluxo de ar ocorra sempre do biotério para dentro da gaiola, mas nunca o contrário. Além disso, há uma fonte de calor próxima à gaiola, que é ligada no período pós-operatório.

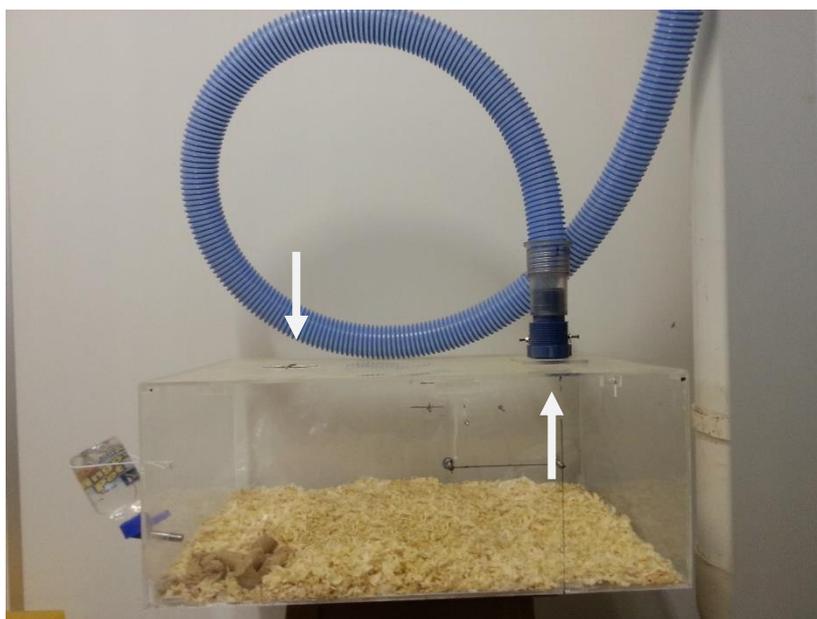
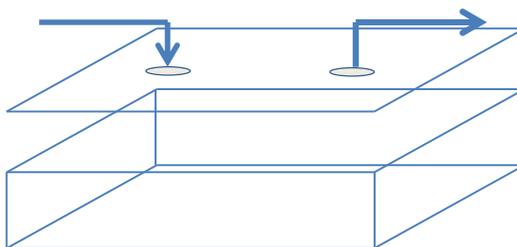


Figura 23. Gaiola anti-dispersão de odor. Acima uma representação esquemática, com a tampa aberta. Em baixo, fotografia da caixa fechada com mangueira que leva o ar da caixa para o exaustor, fora do biotério. As setas indicam o sentido do fluxo de ar.

3.8 VERIFICAÇÃO DA ESTABILIDADE DO SENSOR

Foram realizados sete experimentos em ratos Wistar. O objetivo destes experimentos foi verificar a estabilidade e a acurácia do equipamento nas medidas em tecidos biológicos *in vivo* e em tempo real, com sensores localizados no fígado, no tecido subcutâneo e intraperitoneal, na maioria dos experimentos. Os experimentos realizados foram os seguintes:

Experimentos A, B, C e D – Agua Gelada - Referem-se à medida da temperatura quando o rato realizou ingestão espontânea de água gelada, em torno de 4 °C.

Experimento E – Resfriamento - Refere-se à medida da temperatura quando o rato foi submetido a um ambiente com temperatura em torno de -5 °C.

Experimento F – Anestesia - Refere-se à medida da temperatura quando o rato foi submetido a anestesia com cetamina e xilazina.

Experimento G – SAR - Refere-se à medida da temperatura quando o rato foi exposto a radiação de micro-ondas emitidas por telefone celular. Neste experimento os sensores foram posicionados no testículo, no epidídimo, no subcutâneo e no reto.

Foram realizadas cirurgias para implantar os sensores de temperatura em quatro sítios anatômicos no mesmo animal: dois hepáticos (entre lobos diferentes), um intra-abdominal (no hipocôndrio esquerdo) e um subcutâneo (ventral), exceto quando explicitado diferente.

Após cada experimento, foram propiciadas a todos os ratos as condições necessárias para que retornassem ao seu estado de homeostase, incluindo temperatura ambiente adequada, água e ração *ad libitum*.

Vale ressaltar que o interesse nestes experimentos não foi gerar dados estatísticos, mas verificar a viabilidade do equipamento na medida da temperatura, sua robustez, a durabilidade da carga elétrica da bateria, os efeitos de perdas e falhas de transmissão dos dados para o PC e a localização e o desprendimento dos sensores NTC. O resto desta seção será dedicado à descrição da implementação de cada experimento acima mencionado.

No experimento **A**, o rato foi submetido ao jejum de água por dez horas (das 22 às 8 horas). Após nove horas de jejum (às 7 horas), ele foi anestesiado com éter para gerar hipotermia e, após recuperação parcial da hipotermia, foi oferecida água gelada (4 °C). Esse experimento visou caracterizar a variação térmica do corpo do rato durante a ingestão de água fria, ao recuperar da hipotermia.

No experimento **B**, o rato foi submetido ao jejum de água por dez horas (das 22 às 8 horas). Após as dez horas de jejum (às 8 horas), foi oferecida água gelada (4 °C). Esse experimento visou caracterizar a variação térmica do corpo do rato durante a ingestão de água fria.

No experimento **C**, o rato foi submetido ao jejum de água por dez horas (das 22 às 8 horas). Após as dez horas de jejum (às 8 horas), foi oferecida água em temperatura ambiente (22 °C) e água gelada (4 °C). Esse experimento visou caracterizar a variação térmica do corpo do rato durante a ingestão de água a 22 °C e a 4 °C.

No experimento **D**, o rato foi submetido ao jejum de água e comida por dez horas (das 22 às 8 horas). Após as dez horas de jejum (às 8 horas), foi oferecida água gelada (4 °C). Após atingir o patamar de temperatura inicial foi oferecida ração padrão. Esse experimento visou caracterizar a variação térmica do corpo do rato durante a ingestão de água fria e de ração.

No experimento **E**, o rato aclimatizado em temperatura ambiente de 22 °C foi submetido a uma temperatura ambiente de -5 °C, dentro da gaiola anti-dispersão de odor por 60 minutos. Esse experimento visou caracterizar a variação térmica do corpo do rato durante a exposição a um ambiente muito frio.

No experimento **F**, o rato foi anestesiado com um terço da dose habitual de cetamina e xilazina (30 mg/kg de cloridrato de cetamina e 3,3 mg/kg de cloridrato de xilazina). O animal foi deixado dentro da caixa, sobre a maravalha, sob cuidado periódico para não desenvolver ceratite devido ao ressecamento ocular. Esse experimento visou caracterizar a variação térmica do corpo do rato após anestesia.

No experimento **G**, o rato foi exposto à radiação de micro-ondas de telefone celular (Nokia modelo 1120) visando demonstrar possível efeito térmico dessa radiação. Durante o período de exposição, o telefone foi acionado e mantido em ligação ativa, para outro telefone, durante 1 hora e 30 minutos e a uma distância de 3 cm do animal. Neste experimento foram medidas as temperaturas do subcutâneo, do epidídimo, do testículo e do reto. As medidas foram realizadas com o animal anestesiado visando mantê-lo imóvel, mas vivo.

4 RESULTADOS

Passaremos, agora, a apresentar os resultados das medidas realizadas com o equipamento desenvolvido.

O primeiro passo é verificar a confiabilidade do equipamento e a acurácia obtida.

A curva térmica do tarugo de alumínio durante a calibração dos termistores NTC apresentou taxa de subida e descida constantes ($0,36\text{ }^{\circ}\text{C/h}$), conforme mostram as Figuras 24 e 25. O tempo total de calibração foi de 4 dias e 15 horas, sendo metade durante a subida e a outra metade na descida.

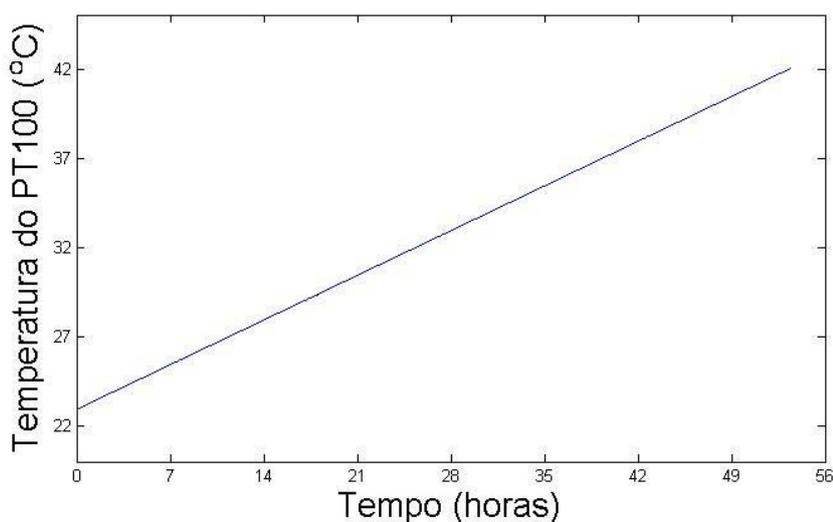


Figura 24. Curva térmica do tarugo de alumínio durante o aumento da temperatura na calibração.

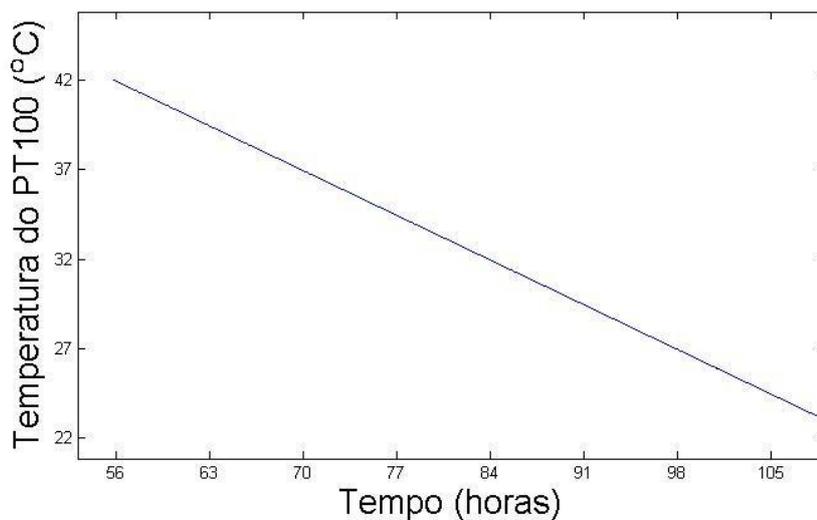


Figura 25. Curva térmica do tarugo de alumínio durante a redução da temperatura na calibração.

Durante a calibração, o PT100 e cada NTC foram medidos de 10 em 10 segundos. As Figuras 26 a 29 apresentam os diagramas de dispersão da leitura de cada NTC em relação ao PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida dos NTCs é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits), conforme a equação (3.7).

Em cada gráfico há, também, o modelo de regressão linear que melhor representa os dados.

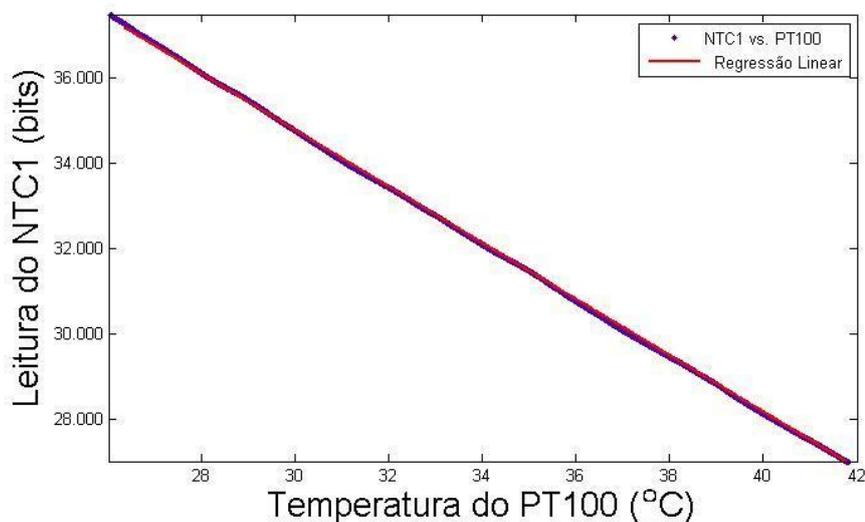


Figura 26. Diagrama de dispersão dos valores de leitura do NTC1 em relação à temperatura medida no PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida do NTC

é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits). A reta sobreposta corresponde ao modelo de regressão linear para esse conjunto de pontos.

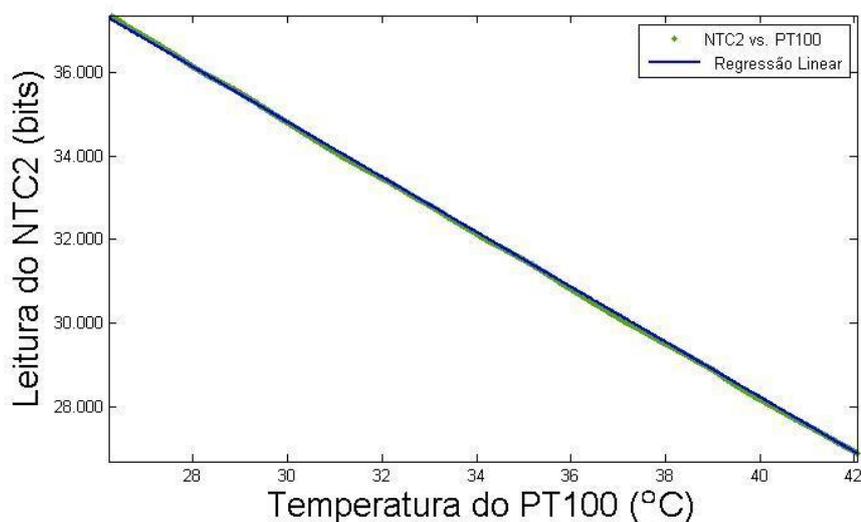


Figura 27. Diagrama de dispersão dos valores de leitura do NTC2 em relação à temperatura medida no PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida do NTC é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits). A reta sobreposta corresponde ao modelo de regressão linear para esse conjunto de pontos.

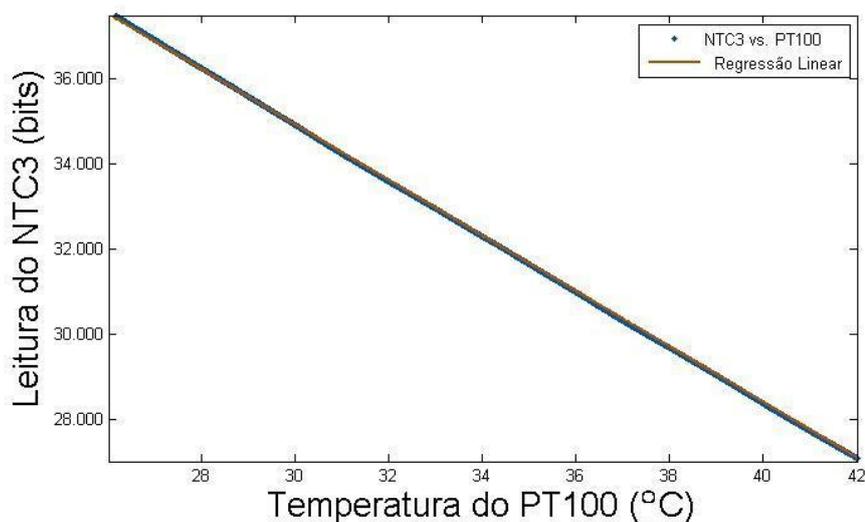


Figura 28. Diagrama de dispersão dos valores de leitura do NTC3 em relação à temperatura medida no PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida do NTC é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits). A reta sobreposta corresponde ao modelo de regressão linear para esse conjunto de pontos.

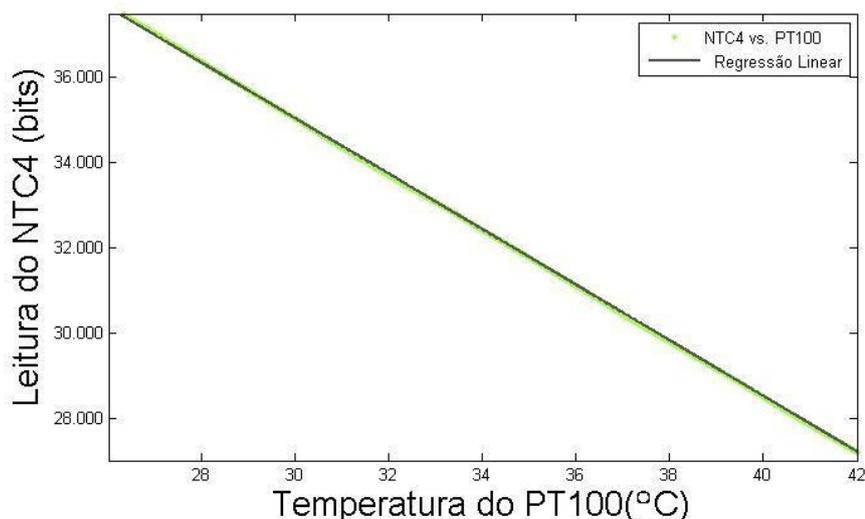


Figura 29. Diagrama de dispersão dos valores de leitura do NTC4 em relação à temperatura medida no PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida do NTC é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits). A reta sobreposta corresponde ao modelo de regressão linear para esse conjunto de pontos.

A Figura 30 apresenta uma ampliação da Figura 29, para mostrar com detalhes o diagrama de dispersão do NTC4 em relação ao PT100. Junto está a reta da regressão linear. A ampliação dos diagramas de dispersão dos outros termistores apresenta resultados semelhantes.

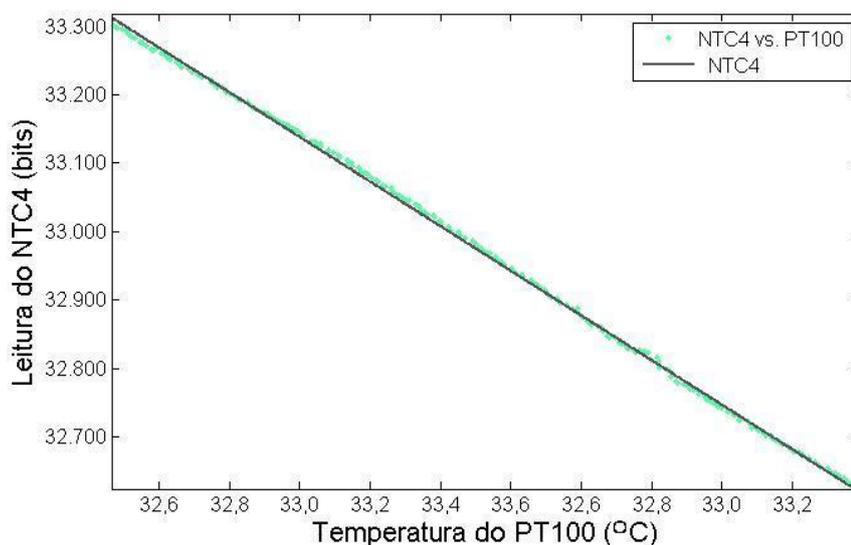


Figura 30. Ampliação do diagrama de dispersão dos valores de leitura do NTC4 em relação à temperatura medida no PT100. A unidade de medida do PT100 é dada em °C. A unidade de medida do NTC é dada em degraus de leitura do conversor A/D, com escala de 65.536 degraus (16 bits). A reta sobreposta corresponde ao modelo de regressão linear para esse conjunto de pontos.

Os modelos de regressão linear dos NTCs em relação à temperatura apresentaram coeficientes com valores semelhantes, tanto angulares quanto lineares. Todos resultaram em coeficientes de determinação (r^2) próximos de 1. A Tabela 9 lista essas informações.

Tabela 9. Valores dos coeficientes angulares, lineares e de determinação da regressão linear de cada um dos NTCs em relação ao PT100. Todas as regressões resultaram em um nível de confiança significativo ($p < 0,000001$).

NTC	Coeficiente Angular($^{\circ}\text{C}^{-1}$)	Coeficiente Linear	r^2
1	-0,6607	54.590	0,9998
2	-0,6577	54.530	0,9998
3	-0,6524	54.490	0,9999
4	-0,6520	54.590	0,9999

Após construído, o sensor (sem bateria) apresentou massa de 11,250g e volume de 8,65 mL, sendo suas dimensões conforme a Figura 31. A bateria recarregável é desconectável, possibilitando alterar o tamanho e massa final do aparelho. Os modelos de bateria testados têm massas iguais a 19,8 g (600 mA.h) e 3,6 g (110 mA.h) e têm volume de 20,19 mL e 5,76 mL, respectivamente. A princípio, qualquer bateria de lítio pode ser usada, desde que a massa total do dispositivo permaneça dentro de um limite aceitável. Cada NTC mede 1 mm de diâmetro e é ligado ao sensor por um fio de cobre esmaltado de 100 mm de comprimento. A Figura 32 é uma fotografia de todo o aparato, com bateria, sensor e uma chave, que permite ligar e deligar o circuito a qualquer momento. A chave apresenta, ainda, dois pinos conectados à bateria, usados para carregá-la com uma fonte externa, sem a necessidade de retirar o equipamento do animal. Todo o aparato é fixado ao dorso do animal utilizando a jaqueta.

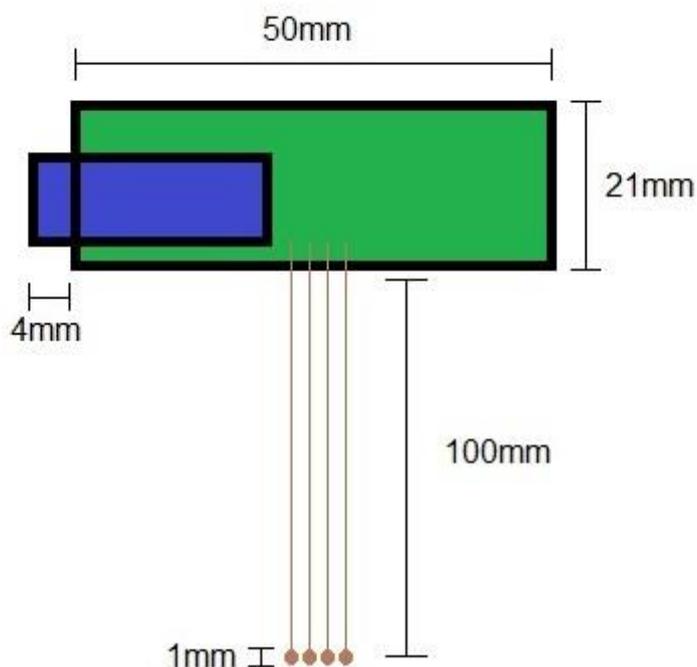


Figura 31. Esquema com as dimensões finais do sensor. A área verde corresponde à placa principal do circuito, a área azul representa o módulo Bluetooth® e as 4 hastes marrons são os fios conectados aos NTCs (discos marrons).

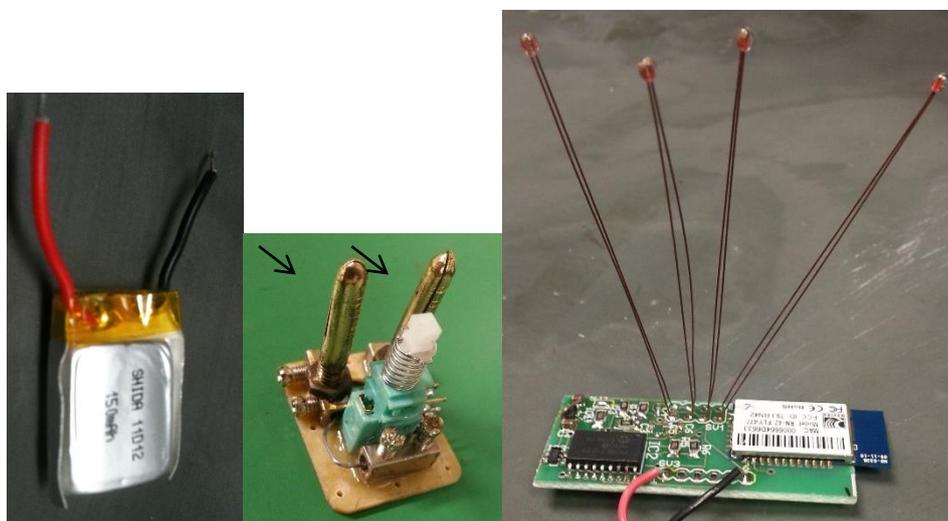


Figura 32. À esquerda, fotografia de uma bateria de lítio de 150 mA.h. No meio, fotografia da chave que liga/desliga a bateria no circuito do sensor (fotografia da direita). Essa chave possui dois pinos (setas pretas) ligados à bateria, com o intuito de carregá-la usando uma fonte externa, sem a necessidade de retirar o aparato do animal. Após a conexão elétrica da bateria e do sensor à chave, esse aparato é fixado ao dorso do animal utilizando a jaqueta.

Dentro da faixa de temperatura de 20 a 40 °C, a resolução térmica encontrada foi de $1,53 \times 10^{-3}$ °C para cada incremento de 1 grau na leitura do conversor analógico/digital.

A taxa de amostragem programada é de 1 amostra a cada 5 segundos, sendo que o tempo necessário para leitura dos 4 NTCs e da tensão da bateria é de 4 segundos.

A autonomia do dispositivo depende da capacidade da bateria utilizada e do consumo do circuito eletrônico. Após alimentar o sensor com a bateria, o consumo médio permanece em 20 mA, independente de o sensor estar ou não realizando medidas e transmitindo dados para o computador. Com a bateria de 600 mA.h, a autonomia real foi de 20 horas (em vez de 30 horas) e com a bateria de 110 mA.h foi de aproximadamente 4 horas (em vez de aproximadamente 6 horas). O motivo dessa diferença foi previamente explicado na metodologia.

O custo de todo o sistema descrito neste trabalho, para aquisição de dados de um animal por vez, está sumarizado na Tabela 10, com a discriminação do custo unitário de cada parte do sistema. Para aquisição de dados de mais de um animal é necessário incluir mais sensores de temperatura. A cotação foi realizada em 23/01/2014.

Tabela 10. Custo de cada parte do sistema de telemetria desenvolvido. O computador portátil refere-se a qualquer “notebook” com a configuração mínima de 2GB de RAM, processador “dual core” e 10MB de espaço livre em disco rígido.

Item	Custo unitário (R\$)
Sensor de temperatura	250,00
“software” de aquisição de dados no computador	0,00
Computador portátil para aquisição de dados	900,00
Total para um sensor de temperatura	1150,00

A seguir, exemplificamos o uso do sensor em algumas situações, com mero intuito ilustrativo. Não foram realizados experimentos visando estudar fenômenos termorregulatórios. A proposta é mostrar possíveis potencialidades do equipamento desenvolvido no trabalho. O protocolo de cirurgia utilizado para implantar os sensores e realizar os experimentos abaixo foi descrito no item 3.6 (Implantação do Sensor).

O gráfico da Figura 33 mostra os resultados das medidas realizadas no experimento **A**, em que o rato ingere água gelada enquanto sua temperatura está em ascensão, recuperando-se da hipotermia induzida pelo éter. Note que, no caso específico, pode-se ver no gráfico que há uma tendência geral de aumento da temperatura corpórea desde o instante 0 até 34 minutos, devido à recuperação do efeito do éter. Percebe-se ainda uma queda na temperatura hepática e intra-abdominal, relacionada à ingestão de água gelada, reversível após parada da ingestão. A temperatura subcutânea não foi influenciada pela ingestão de água, no intervalo de tempo analisado. Durante todo o experimento a temperatura ambiente estava em 21 °C e se manteve neste patamar. A variação da temperatura do subcutâneo guardou íntima relação com a posição do animal. Quando a pele próxima ao NTC ficava livre ao ar, a temperatura neste sensor reduzia e, quando essa região mantinha contato com a maravalha, a temperatura aumentava.

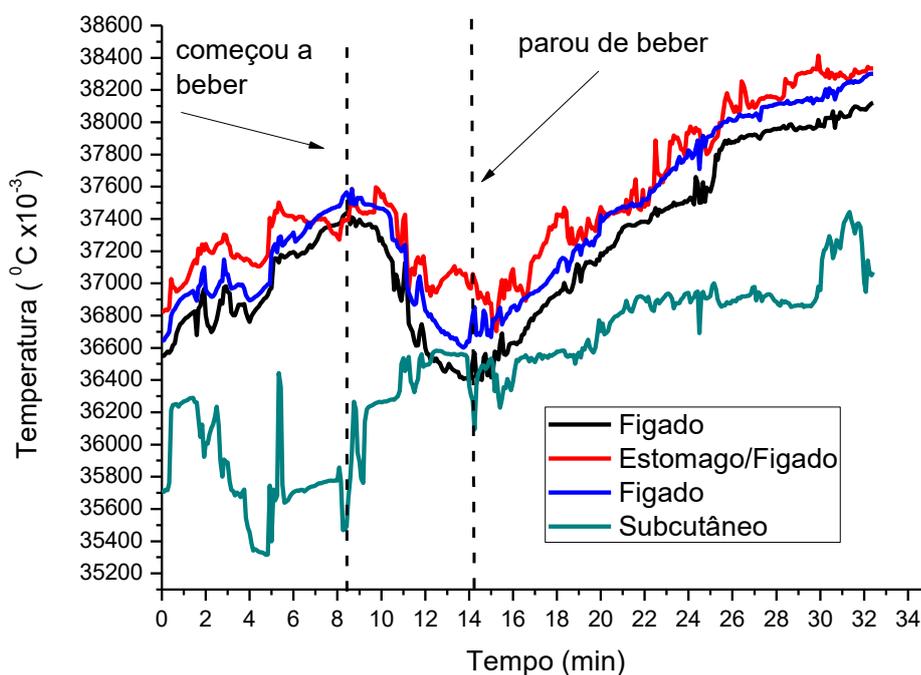


Figura 33. O gráfico representa o experimento A na íntegra. Com a temperatura ascendendo, o rato bebe água a 4°C.

O experimento **B** foi muito similar ao **A**, exceto por ocorrer num rato em temperatura inicialmente constante, entre 0 e 1 minuto no gráfico. A Figura 34 ilustra o comportamento das temperaturas corpóreas ao ingerir água gelada nessa condição.

Ocorre queda inicial das temperaturas internas, mas não da pele. Com a parada da ingestão, ocorre retorno da temperatura para valores mais elevados. Repare que, durante o experimento, o animal andou, ficando um período sem beber água. Nesse intervalo houve aumento discreto e transitório das temperaturas internas.

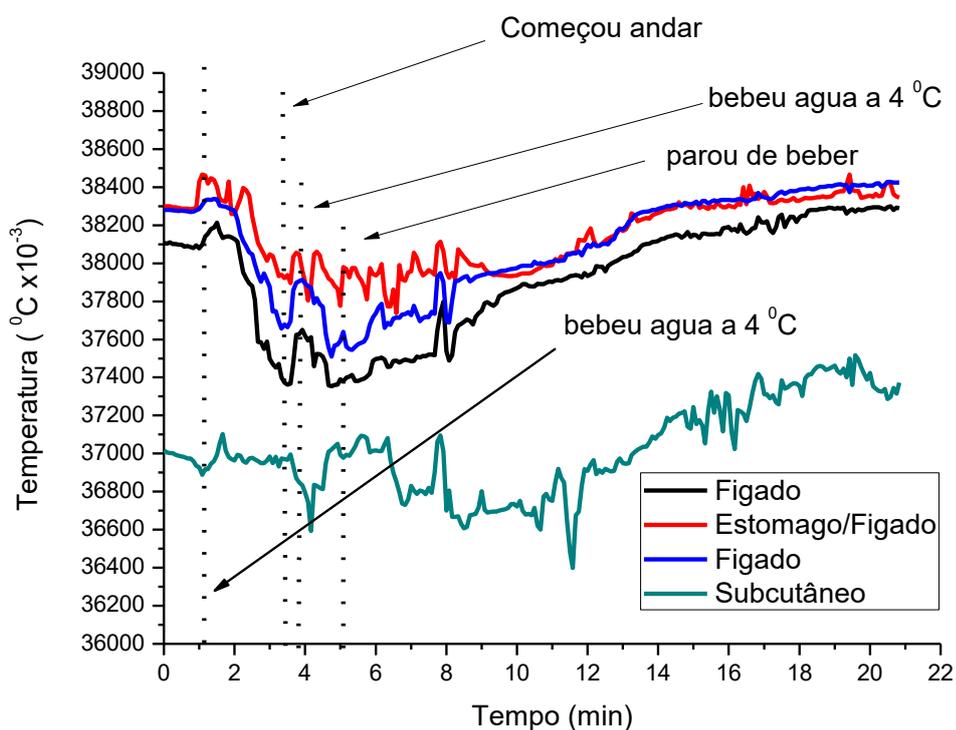


Figura 34. O gráfico representa o experimento B na íntegra. O rato bebe água a 4°C .

O resultado do experimento **C** está representado na Figura 35. Nele o rato recebe água a 22°C e, em seguida, a 4°C . Note que há queda discreta da temperatura hepática do rato, com a ingestão de água, independente de a água ser gelada ou em temperatura ambiente.

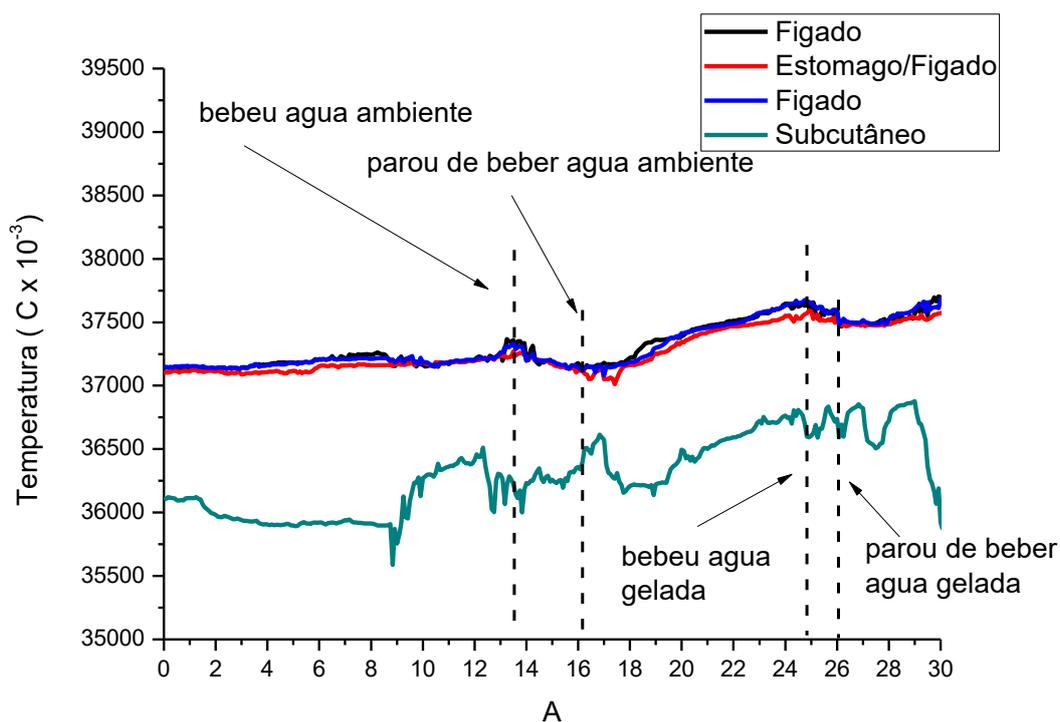


Figura 35. O gráfico representa o experimento **C** na íntegra. O rato bebe água em temperatura ambiente e água a 4°C.

No experimento **D**, verifica-se que após ingerir água gelada, a temperatura hepática sofre queda. Após a alimentação, ocorre um aumento da temperatura hepática acima do patamar inicial, conforme visualizado na Figura 36.

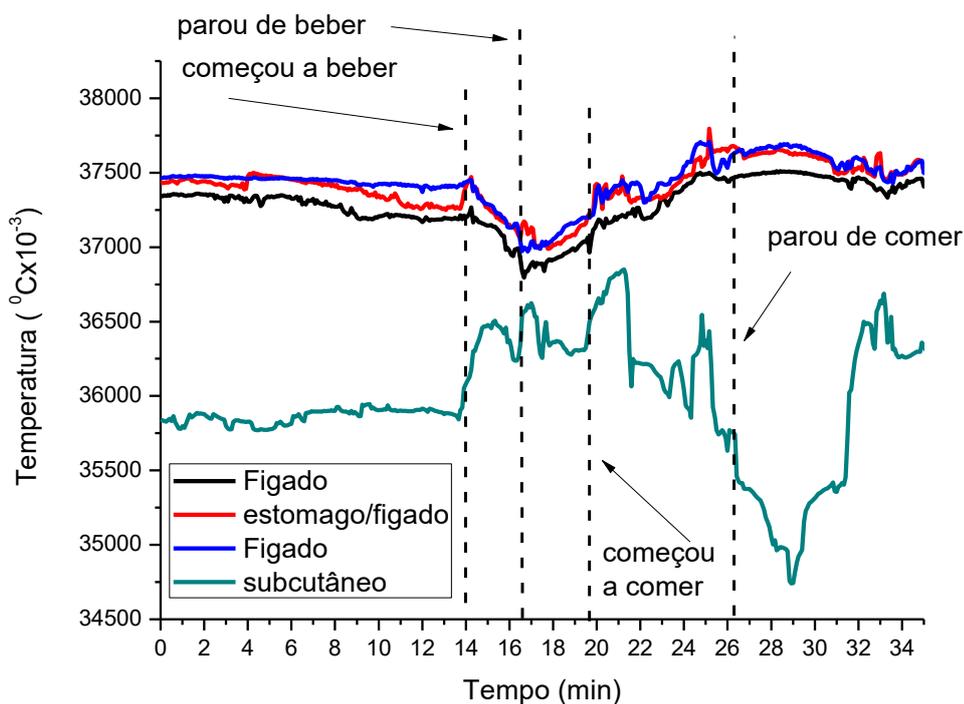


Figura 36. O gráfico representa o experimento **D** na íntegra. O rato bebe água a 4°C . Em seguida ele se alimenta.

No experimento **E**, colocamos o animal em um ambiente com temperatura de -5°C . A Figura 37 ilustra os dados. Aos 7 minutos o animal foi transferido para o ambiente frio. Repare que ocorre elevação inicial da temperatura hepática de cerca de $0,5^{\circ}\text{C}$ nos primeiros 10 minutos (entre 7 e 17 minutos). Em seguida, ela desce para o patamar inicial em 15 minutos (entre 17 e 32 minutos). A partir de então a queda é “aparentemente linear” (veremos que não é exatamente linear) até completar 60 minutos de exposição ao frio, quando foi registrada a menor temperatura. Aos 70 minutos, o rato foi retirado do ambiente frio e percebe-se um aumento da temperatura em direção ao patamar inicial, com taxa de variação muito similar à de queda ($0,1^{\circ}\text{C} / \text{min}$).

A temperatura subcutânea exibe um comportamento muito similar às temperaturas internas. No entanto, nota-se duas diferenças importantes. Não há o aumento inicial de $0,5^{\circ}\text{C}$ antes da queda e surge uma oscilação de alta amplitude sobreposta ao traçado da temperatura subcutânea, podendo corresponder a variações induzidas pelo tremor e pela locomoção exacerbada. Isso porque o tremor

altera a resistência de contato entre o NTC e o tecido, levando a alterações na leitura. Além disso, a locomoção, ao alterar a posição do animal, faz com que a pele próxima ao NTC fique ora em contato com a maravalha, ora em contato com o ar frio, causando alterações bruscas de temperatura da pele.

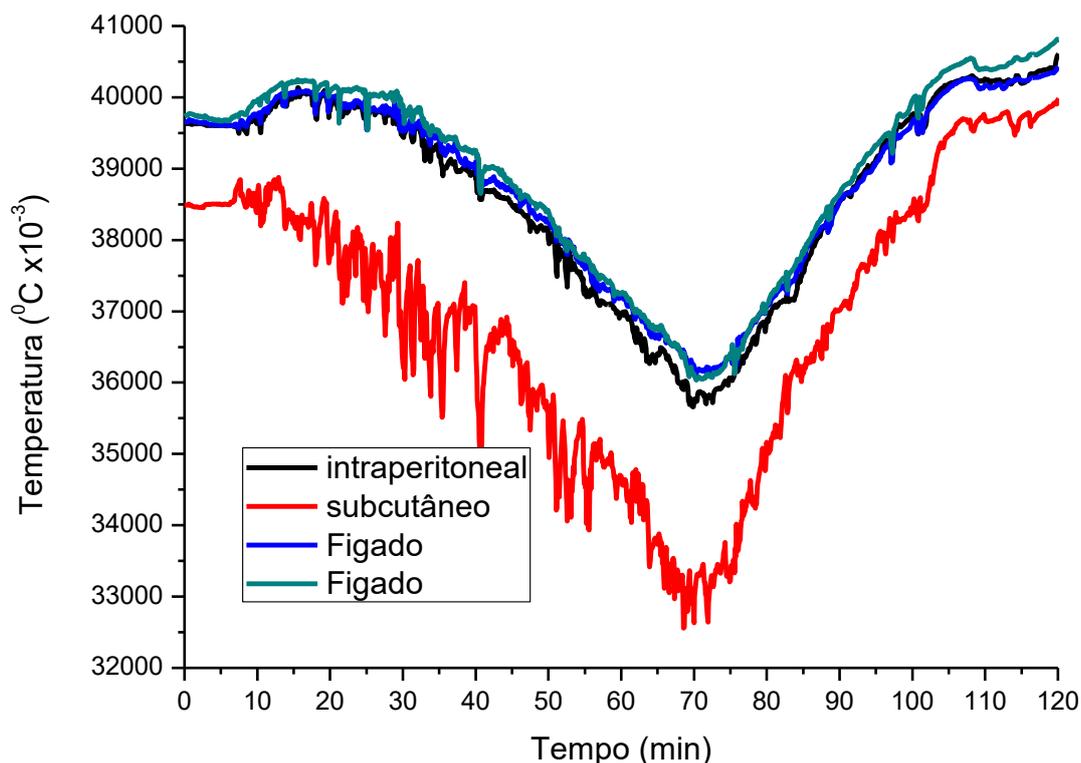


Figura 37. O gráfico representa o experimento **E** na íntegra. O rato foi submetido a um ambiente resfriado a -5°C .

Conforme descrito anteriormente, avaliamos também a influência da dose baixa de anestésicos (30 mg/kg de cloridrato de cetamina e 3,3 mg/kg de cloridrato de xilazina) sobre a temperatura corporal. Durante todo esse experimento (**F**) o animal foi mantido na caixa anti-dispersão de odor com maravalha. Os resultados encontrados estão apresentados na Figura 38.

Após a administração dos anestésicos, aos 10 minutos, inicia-se a queda da temperatura hepática, rápida e marcante, atingindo ponto mais baixo, de $33,5^{\circ}\text{C}$, após 50 minutos da administração dos anestésicos. Já o retorno ao patamar inicial demora 240 minutos. A temperatura subcutânea, mais uma vez, reflete a movimentação do animal. Nesse caso, nota-se o início das oscilações no despertar da anestesia, aos

50 minutos, seguido de aumento progressivo na amplitude das oscilações. Esse fenômeno guarda íntima relação com a movimentação do animal.

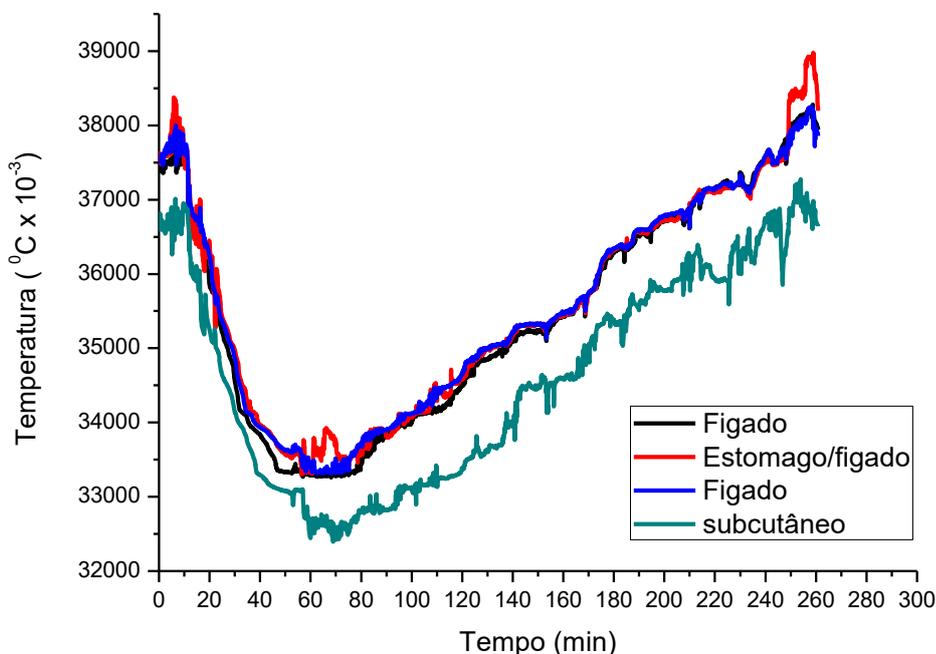


Figura 38. O gráfico representa o experimento **F** na íntegra. O rato foi anestesiado com um terço da dose habitual de cetamina e xilazina.

No experimento **G** (Figura 39), o rato foi anestesiado e exposto a radiação de telefone celular. Neste teste, um dos sensores (retal) apresentou mau funcionamento. Nos primeiros minutos de registro, iniciado 30 minutos após a anestesia, nota-se queda generalizada da temperatura em todos os canais, exceto o retal, que apresenta tendência diferente até os 50 minutos. Após esse período o sensor no reto mantém-se desviado, mas volta a apresentar tendência de queda similar aos outros sensores. Esse mau funcionamento ocorreu antes mesmo de o telefone celular ser acionado.

Aos 70 minutos de experimento o telefone celular foi acionado e mantido ligado até os 160 minutos, totalizando 90 minutos de exposição à radiação. Nesse período, não foi observado aumento da temperatura de nenhum dos sensores.

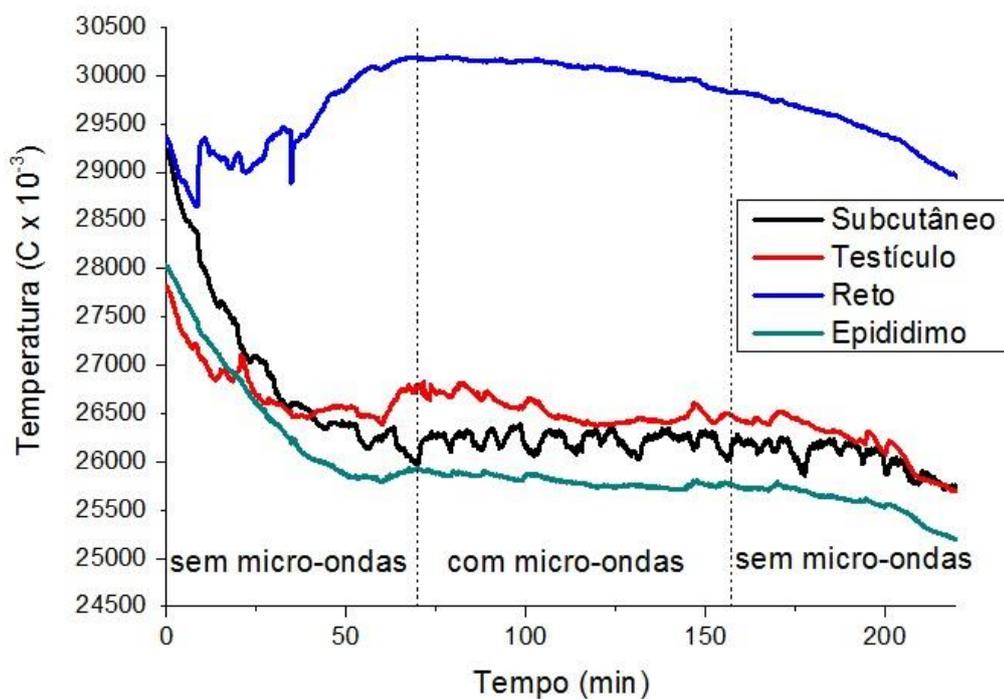
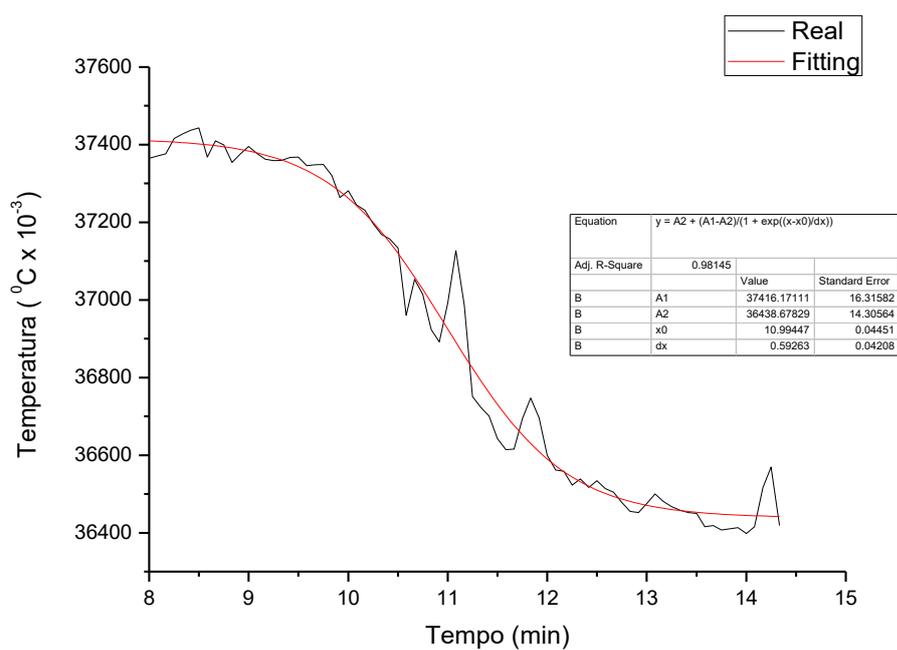


Figura 39. O gráfico apresenta os resultados do experimento **G**. O instante 0 neste gráfico corresponde ao instante em que já havia passado 30 minutos de anestesia. Observa-se que o sensor retal apresentou desvio de sua linha de base para um patamar maior, mantendo resposta similar aos demais após 50 minutos. A exposição à radiação de micro-ondas ocorreu entre 70 e 160 minutos, período em que não se observa aumento da temperatura.

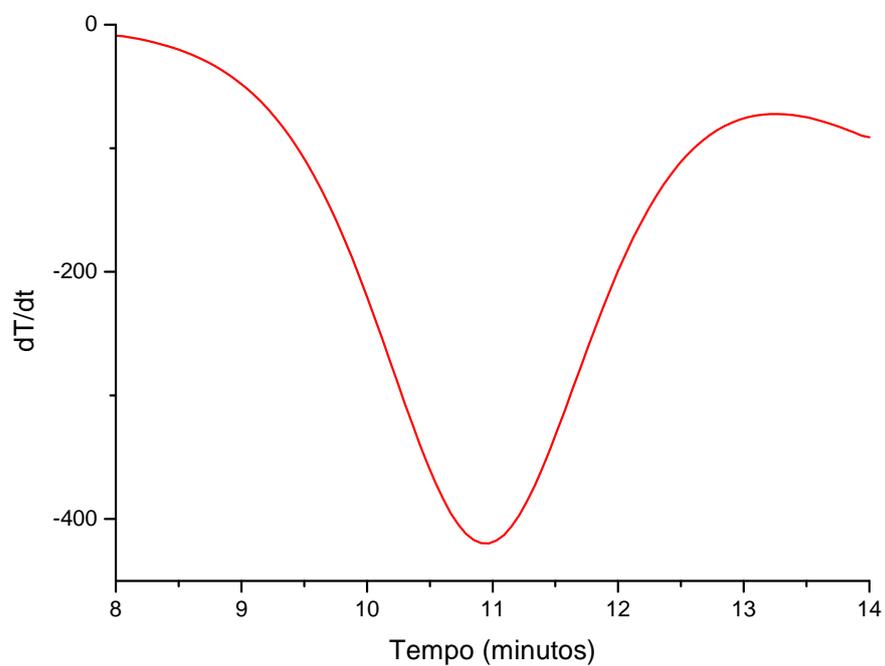
5 DISCUSSÃO

Os resultados dos experimentos **A**, **B**, **C** e **D** corroboram com os encontrados por Adachi e Suruga (1986) e Adachi, Funawashi e Ohga (1991). Os resultados mostram que ocorre queda da temperatura hepática com a ingestão de água e aumento desta temperatura com a ingestão de ração. Este último efeito caracteriza a termogênese hepática relacionada à alimentação.

No experimento **A**, a ingestão de água gelada levou à queda da temperatura hepática, que retornou ao valor inicial após parar de beber. Nota-se que o comportamento das curvas de queda e de subida da temperatura é completamente diferente. As Figuras 40.1 e 40.2 deixam claro o comportamento da temperatura hepática nestes dois casos. A Figura 40.1 mostra a temperatura hepática associada à medida experimental e um ajuste que melhor descreve os dados. Para instantes de tempo acima de 14 minutos, vemos que temperatura cresce de forma linear com o tempo enquanto a queda da temperatura entre 8 min e 14 min não é linear. Observe que a partir de 8 minutos, instante em que o animal começou a beber água gelada, até aproximadamente 11 minutos, quando ainda permaneceu bebendo água, a derivada dT/dt é negativa e se afasta de zero. Para o intervalo de tempo $11 \text{ min} < t < 14 \text{ min}$, dT/dt continua negativa, mas indo em direção a derivada zero. Como dT/dt está relacionada a taxa de transferência de calor, isto significa que no início o fígado estava perdendo calor com a passagem da água fria e esta perda se torna cada vez maior até chegar por volta de 11 minutos. Depois, continua ocorrendo a perda de calor, mas esta é cada vez menor. Esta simples análise indica que o fígado, ou o sistema de termorregulação, levou aproximadamente 6 minutos (tempo de resposta) para iniciar a geração de calor e elevar a temperatura.



A



B

Figura 40.1. A curva preta no gráfico A (Experimental) representa a queda de temperatura, medida enquanto o animal ingere água a 4°C. Sobreposta, está a curva vermelha (Ajuste), que representa o modelo matemático que melhor se ajusta aos dados. O gráfico B mostra a derivada dT/dt do modelo no gráfico A.

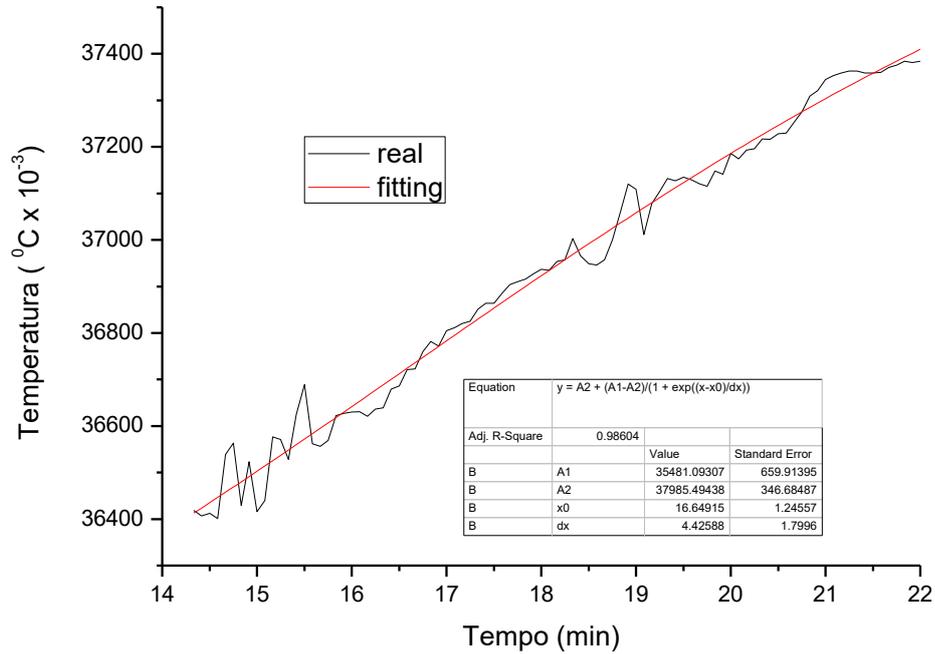


Figura 40.2. O gráfico mostra uma resposta quase linear durante a subida da temperatura hepática (Experimental), com o modelo matemático que melhor se ajusta aos dados (Ajuste).

Para entendermos melhor esse processo, de perda de calor do fígado ao ingerir água gelada, é necessário compreender a anatomia e a fisiologia do sistema digestivo. Será explicado superficialmente o funcionamento do sistema digestório humano, que é muito similar ao do rato. O alimento ingerido percorre boca, esôfago, estômago, intestino delgado, intestino grosso e sai pelo ânus, conforme a Figura 41. O fígado toca o estômago e o duodeno (primeira porção do intestino delgado) em uma parcela considerável de suas superfícies, permitindo troca direta de calor.

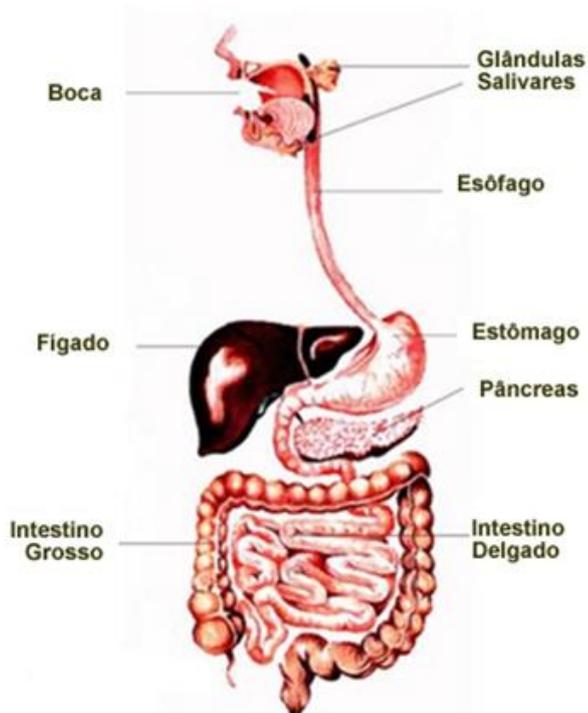


Figura 41. Sistema digestório humano. O alimento ingerido percorre boca, esôfago, estômago, intestino delgado, intestino grosso e sai pelo ânus. Para melhor visualização das estruturas, esta figura não representa a real proximidade do fígado com o estômago e com o duodeno (primeira porção do intestino delgado). Modificado de www.infoescola.com.br.

Durante a passagem do alimento, há digestão e absorção de substâncias, principalmente no estômago e no intestino delgado. Grande parte da água e dos nutrientes absorvidos é transferida para as veias que drenam o intestino. Essas veias se juntam para formar a veia porta, que é o principal vaso nutridor do fígado. Esse sistema de veias, que saem do intestino, formando a veia porta, e se ramificam dentro do fígado, é chamado de Sistema Porta-hepático, como ilustrado na Figura 42. Assim, a água gelada ingerida segue esse caminho até chegar ao fígado.

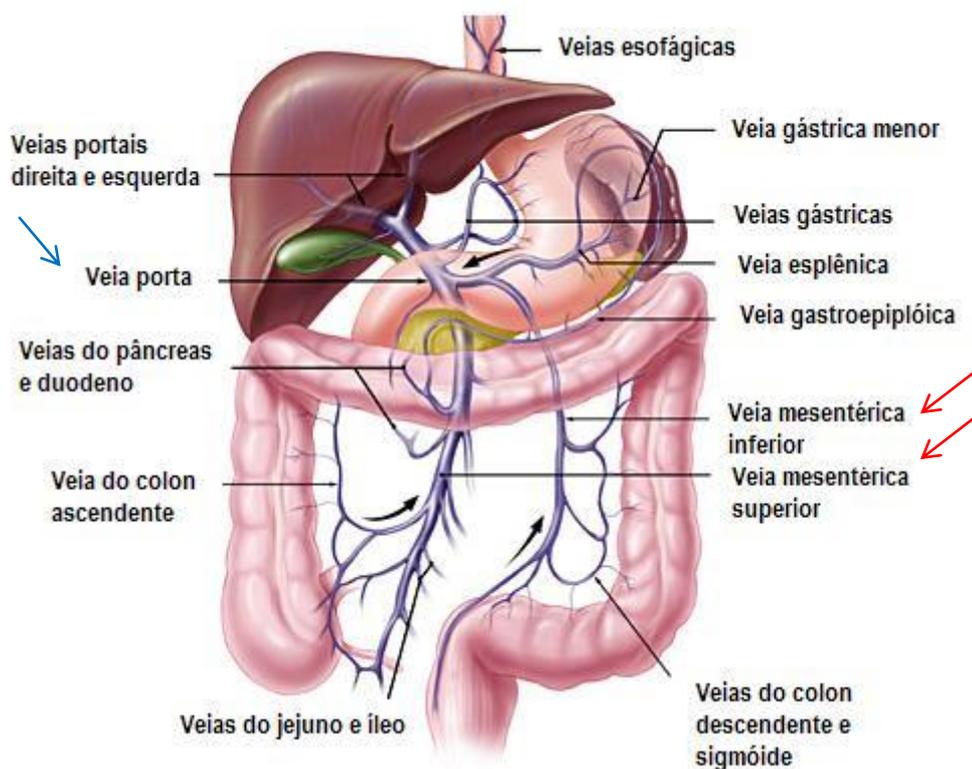


Figura 42. Sistema Porta-hepático. A água e os nutrientes absorvidos no intestino são transportados para as veias mesentéricas (setas vermelhas), que desembocam na veia porta (seta azul). Esta se ramifica dentro do fígado, nutrindo esse órgão. Essa é uma outra via para perda de calor pelo fígado quando é ingerida água gelada. Modificado de www.medicinageriatrica.com.br.

Portanto, para entender como a água gelada ingerida resfria o fígado, é preciso levar em consideração a transferência direta de calor pelo contato do estômago/duodeno com o fígado e também o caminho que a água faz até chegar ao fígado.

É importante chamar a atenção para o fato de que as análises apresentadas acima necessitam de mais experimentos e estudos, mas o que pretendemos mostrar é que o dispositivo desenvolvido permite realizar estudos muito interessantes sobre respostas de órgãos e do sistema de termorregulação.

O experimento **E** está ilustrado no gráfico da Figura 43.1. Nele vemos 4 pontos interessantes. O ponto A refere-se ao instante em que o animal foi colocado no ambiente com temperatura de $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vemos que, antes do ponto A, a temperatura do animal estava estável. Após o ponto A, há um aumento da temperatura hepática, visando aumentar a produção de calor corporal (CLOSA, ALEMANY e REMESAR,

1992). O aumento da temperatura hepática é tão mais intenso quanto menor a temperatura ambiente (STONER, 1973; DE VRIES et al., 1993). O ponto B corresponde a temperatura máxima medida no experimento, em torno de 40,1 °C. A partir do ponto B, vemos claramente que há uma queda da temperatura até o patamar de 35,7 °C, passando pela temperatura inicial (ponto C). O tempo gasto para ir de B até D corresponde a 52,5 minutos. No instante 70 minutos o animal foi retirado do ambiente que estava a -5 °C e foi levado para um ambiente a 22 °C. O ponto D representa a temperatura mais baixa medida no experimento.

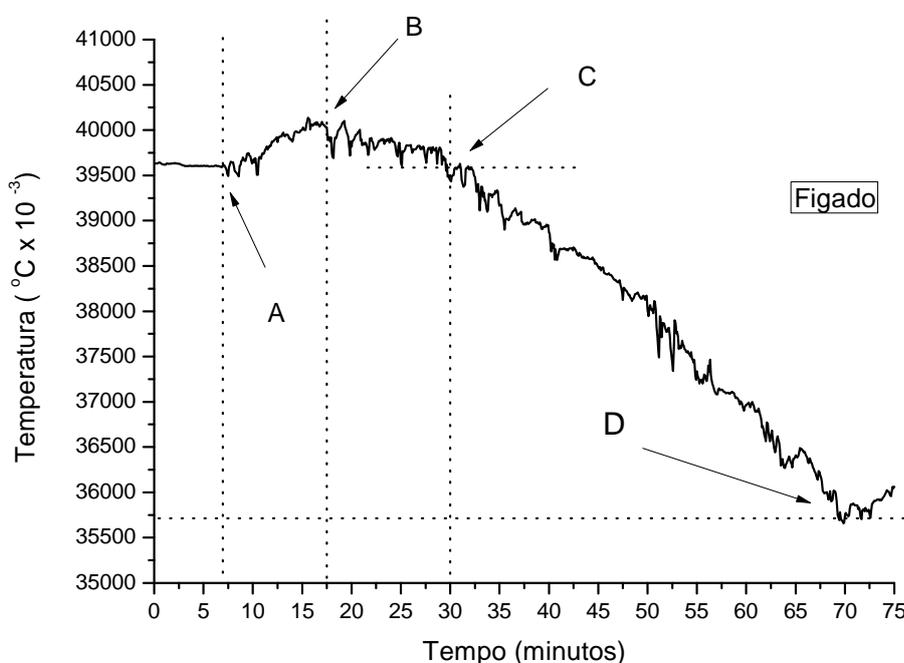


Figura 43.1. O gráfico mostra detalhes do experimento E, associado à mudança da temperatura do fígado quando o animal é mantido à temperatura de -5 °C.

As Figuras 43.2 e 43.3 mostram os ajustes aos dados experimentais de temperatura como função do tempo, quando a temperatura do animal está caindo e subindo, respectivamente. Entre os pontos B e D a geração de calor é suplantada pela retirada de calor, associada à condução, convecção e radiação. Note que o melhor ajuste para a perda de calor é um decaimento exponencial e, para o caso em que a temperatura do ambiente volta a ser 22 °C, a taxa de crescimento da temperatura é linear. Isto significa que os fatores para a produção de calor em temperaturas ambientes menores que a corpórea não são os mesmos. Observe que todos os dados

obtidos se referem a tempo real e *in vivo*, ou seja, o equipamento desenvolvido pode ser útil para analisar efeitos de temperatura externas e a termorregulação.

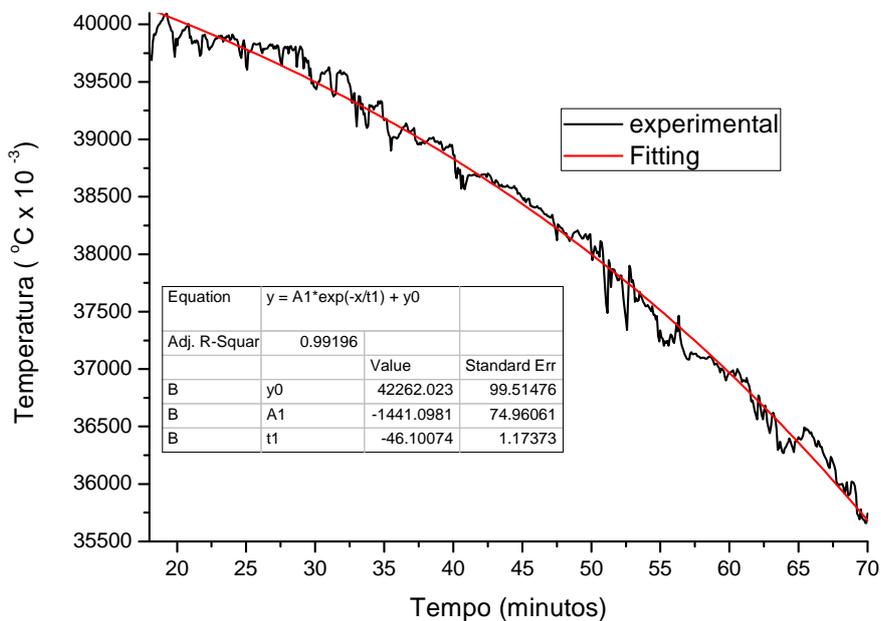


Figura 43.2. Parte do experimento E. O gráfico mostra um ajuste aos dados associados à queda da temperatura quando o animal foi exposto a um ambiente com temperatura de -5°C .

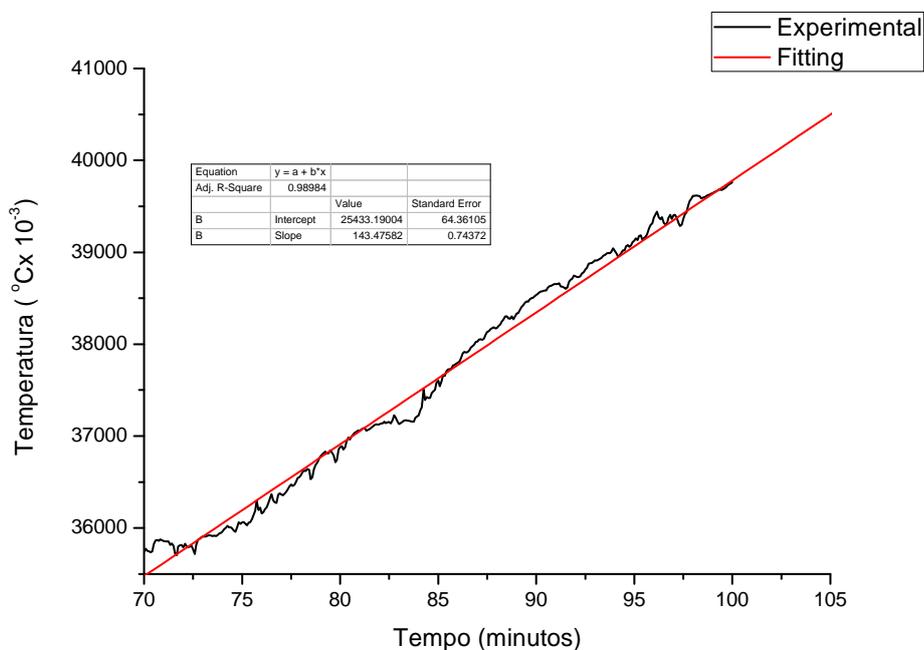


Figura 43.3. Parte do experimento E. O gráfico mostra um ajuste dos dados associados ao aumento da temperatura quando o animal retornou para o ambiente com temperatura de 22°C .

Sobre o experimento **F**, a Figura 44 mostra em detalhes o gráfico da temperatura hepática entre 0 e 100 minutos. Nela é possível notar que o estudo dinâmico da temperatura hepática pode trazer informações relevantes sobre o período pós-anestésico. Perto dos 54 minutos, o rato começa a esboçar movimentos com as vibrissas. Desse ponto em diante, nota-se oscilações de baixa amplitude no traçado. Após os 75 minutos, ele inicia movimentação das patas, com locomoção evidente após 80 minutos. A partir desse instante, aumenta a taxa de subida da temperatura, simultaneamente à intensificação das oscilações em torno da linha de base. Note que, após 30 minutos do início do experimento, a inclinação da curva começa a reduzir até que se torna horizontal aos 47 minutos, indicando que a perda passa a ser igual ao ganho de calor.

Este experimento demonstra a queda de temperatura causada pela cetamina e xilazina, drogas anestésicas. Na literatura é possível encontrar demonstração que o éter, assim como o pentobarbital, geram hipotermia transitória semelhante no rato. Birnie e Grayson (1952) sugeriram não haver relação entre o despertar da anestesia e o retorno da temperatura ao patamar inicial pré-anestésico. De fato, no momento do retorno ao patamar inicial o rato já havia despertado há bastante tempo. Entretanto, nossa observação mostra que não é o retorno ao patamar inicial que se relaciona com o despertar, mas sim o início das oscilações em torno da linha de base do traçado de temperatura. Isso sugere uma correlação entre esse achado e o nível de consciência do animal.

É possível que, após os 35 minutos, o bloqueio neuromuscular da xilazina tenha começado a passar, levando a um aumento do tônus muscular e conseqüente aumento da produção de calor. Isso explica a redução da inclinação da curva, que passa a ser uma reta horizontal após 47 minutos. Caso isso seja verdade, a queda do módulo da derivada da temperatura em relação ao tempo guarda relação com o término do efeito da xilazina.

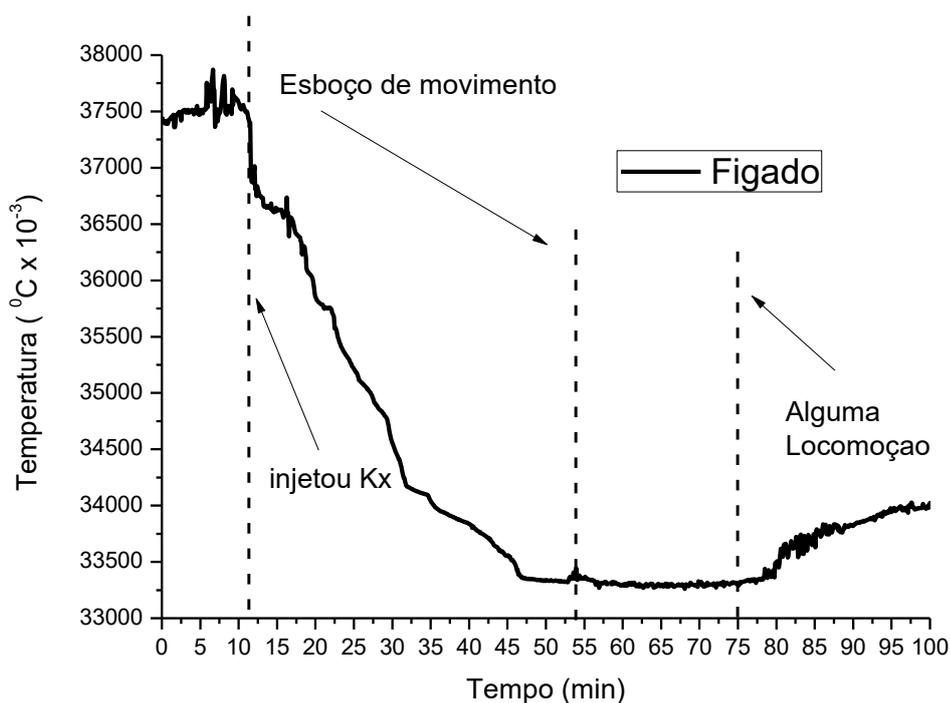


Figura 44. O gráfico representa a temperatura hepática em um intervalo de tempo durante o experimento **F**.

Note que, em todos os experimentos, a temperatura do subcutâneo é sempre inferior à temperatura dos órgãos internos, mas, de forma geral, sempre acompanha as alterações da temperatura desses órgãos, exceto quando o animal se aproxima e encosta em superfícies que podem ceder ou roubar calor. No gráfico da Figura 36, fica claro que, ao comer, a temperatura do fígado do animal aumenta, enquanto a temperatura do subcutâneo decresce. Isto pode ser explicado pelo fato de que, ao parar para comer, o animal permanece mais tempo encostado na superfície da gaiola e, portanto, perde calor por condução.

No experimento **G**, o mau funcionamento do sensor retal pode ser explicado por falha de isolamento dos terminais do NTC. A presença de fluidos biológicos pode desfazer o isolamento dos terminais em regiões pontuais e levar ao acréscimo de um caminho alternativo para a corrente do divisor de tensão. Isso levaria a uma queda na resistência equivalente (NTC e tecido em paralelo), ocasionando um falso aumento na temperatura.

Com relação ao estudo da interação da radiação com os diferentes tecidos biológicos, os outros três sensores que mantiveram seu funcionamento não mostram aumento da temperatura dos órgãos estudados. Em princípio, esperava-se um aumento da temperatura, pois, conforme a equação (1.7), o SAR depende fortemente da amplitude do campo elétrico. O valor do campo elétrico pode ser medido por um medidor isotrópico EMR 300. O valor médio encontrado foi de aproximadamente 4 V/m, na faixa de frequência de 1,8 GHz (frequência de telefonia móvel). Utilizando valores conhecidos de condutividade elétrica do epidídimo (NISBET, 2012), temos que $\sigma = 1,39 \text{ S/m}$, e, se o volume do epidídimo do rato está em torno de $0,39 \text{ cm}^3$ (WEN, 2000) e a massa medida no experimento foi de 0,45 g, utilizando a equação (1.7) temos que o SAR é aproximadamente 20mW/kg. Este valor é muito baixo quando comparado com valores de SAR que podem produzir mudanças de temperatura da ordem de 1 a 2 °C, que são geralmente valores acima de 8 W/kg. Por outro lado, pode-se observar que o coeficiente angular das curvas apresentadas na Figura 45, com e sem a presença da radiação de micro-ondas oriundas do aparelho de celular, são bem diferentes. Uma hipótese que poderia ser apresentada é que a anestesia reduz a temperatura corpórea e que, durante a permanência do celular ligado, o calor gerado pela absorção da radiação pelo tecido, como por exemplo o epidídimo, é menor que a perda de calor devido ao efeito da anestesia, e isto acaba gerando uma perda de $1,55 \times 10^{-3} \text{ °C/min}$ (Tabela 11). Quando o celular é desligado, não existe mais a geração de calor por absorção de radiação e a perda é mais acentuada, ou seja, em torno de $8,8 \times 10^{-3} \text{ °C/min}$. Note que esta conclusão precisa ser analisada com mais cuidado e há a necessidade de realizar um maior número de experimentos para que se possa ter uma base estatística confiável. Na realidade, o que pode-se mostrar é que o equipamento pode ser muito útil nesta linha de pesquisa. Um outro dado importante é que foram realizadas medidas de compatibilidade eletromagnética para saber se a presença da radiação do celular afetaria a eletrônica e os sensores NTCs. Os testes com o equipamento mostraram que não foi detectada nenhuma mudança nos valores de temperatura devido ao acionamento do celular próximo a ele.

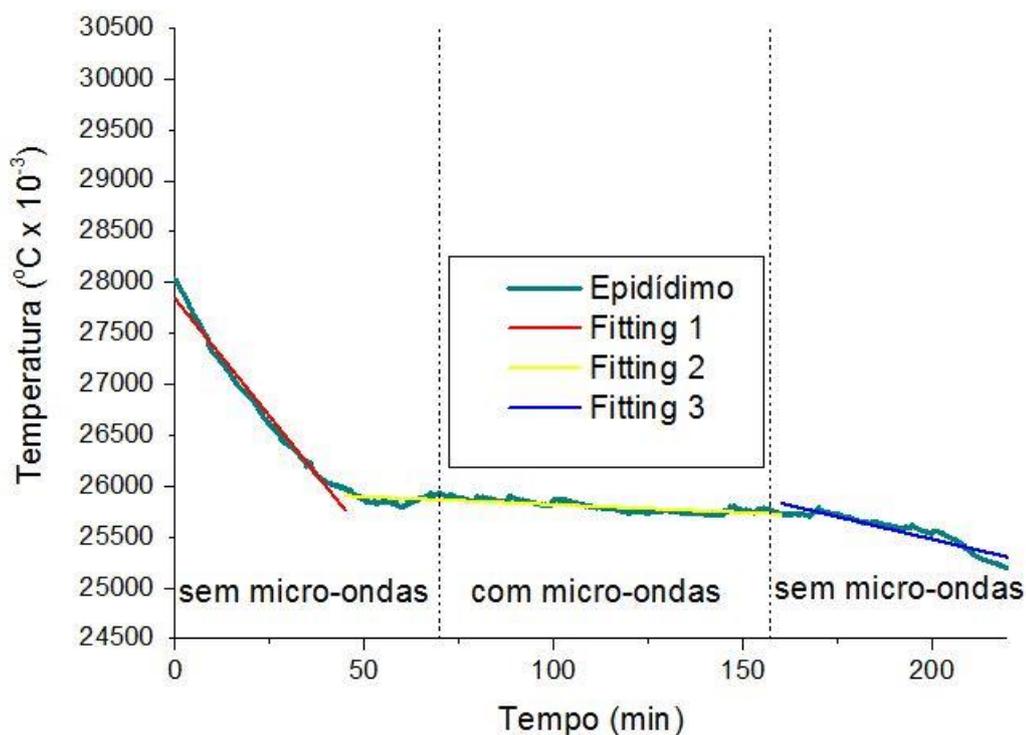


Figura 45. Temperatura do epidídimo durante o experimento **G**. Junto visualiza-se três ajustes em momentos diferentes do experimento. O Ajuste 1 mostra a inclinação aproximada da temperatura do epidídimo sem a exposição à radiação de micro-ondas. O Ajuste 2 mostra a inclinação durante a exposição e o Ajuste 3, após a exposição.

Tabela 11. Inclinações aproximadas da temperatura do epidídimo durante as três fases do experimento **G**.

Fases	Inclinação (°C por minuto)
Pré-exposição (Ajuste 1)	-46,19
Exposição (Ajuste 2)	-1,55
Pós-exposição (Ajuste 3)	-8,82

Para uma exposição a intensidade baixa de radiação de micro-ondas, existe a possibilidade de o aumento na temperatura tecidual ser tão insignificante que ultrapassa a capacidade de detecção no nosso sensor. Além disso, fontes de ruído, como movimentos involuntários do rato, mesmo anestesiado (respiração, contração de musculatura cremastérica), causam uma variação na linha de base da temperatura, eventualmente mascarando um pequeno aquecimento devido à radiação.

O melhor sensor para um experimento depende do que se quer investigar. É preciso avaliar o tamanho do modelo animal (determina o tamanho máximo do sensor), a velocidade que se espera na mudança da temperatura (determina a taxa de amostragem), a duração do experimento (determina a autonomia da bateria) e a necessidade de avaliar a temperatura de mais de um órgão do animal (número de canais), entre outros fatores.

O sensor descrito neste trabalho foi desenvolvido especificamente para ser aplicado em experimentos curtos (algumas horas) que exijam alta taxa de amostragem, já que pretende-se utilizar esse aparato para determinar coeficientes de difusão do calor. Entretanto, há uma infinidade de experimentos que não necessitam de alta taxa de amostragem, mas, em contrapartida, demoram dias ou meses. Para esses trabalhos, vários sensores comercialmente disponíveis são adequados.

Comparativamente aos modelos disponíveis, o sensor desenvolvido apresenta maior taxa de amostragem, maior resolução e maior número de canais, além do custo bem menor. Por outro lado o tamanho e o peso do nosso sensor são maiores que os dos sensores disponíveis. Dos modelos comerciais, o F40-TT, da DSI, é o que apresenta características mais próximas do sensor que desenvolvemos. Para um sistema de monitoramento de 2 ratos, o custo do sistema da DSI é de US\$29,995.00, enquanto nosso sistema tem custo total de R\$1,400,00. Isso inclui 2 sensores de telemetria e um computador com o “software” para aquisição dos dados.

Além disso, nosso sensor possibilita troca da bateria. Os modelos TR50B e G2 E permitem carregar a bateria de forma sem fio enquanto armazenam dados (não enviam dados simultaneamente), mas os modelos Stellar, F40-TT e T36F não permitem recarga nem troca de bateria, sendo necessário comprar um novo sensor quando a bateria descarrega, o que eleva o custo de manutenção desses modelos. Um planejamento errado do custo total do sistema pode inviabilizar um projeto de pesquisa. Isso pode ocorrer se não for tomado o devido cuidado em considerar a necessidade de reposição dos sensores que não permitem a troca da bateria.

A maioria dos modelos comercialmente disponíveis necessita de um receptor de dados específico da marca (adquiridos separadamente). Há também a necessidade de adquirir o “software” para coleta e análise dos dados. Portanto, o custo dos sistemas convencionais é bem maior que apenas o preço do sensor. Nosso

equipamento utiliza um “software freeware” (desenvolvido no Laboratório de Física Aplicada do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Juiz de Fora) e o sensor utiliza tecnologia Bluetooth® para transmitir os dados, podendo se comunicar diretamente com qualquer computador que interaja com dispositivos dotados de tal tecnologia. Não há necessidade de um receptor específico, como ocorre com os modelos preexistentes.

A distância máxima de alcance entre o sensor e o receptor varia de 12 cm a 5 m nos sistemas disponíveis, sendo que os dois sistemas de maior alcance (Stellar e TR50B) têm muito baixa taxa de amostragem (10 minutos a 2 horas). Assim, o sistema de captura de dados deve estar dentro desse raio, o que pode dificultar a realização do experimento. Nosso dispositivo permite a transmissão até 10m sem barreiras ou até 5m com barreiras (entre salas diferentes), possibilitando afastar o computador dos animais. Essa pode ser uma boa estratégia para evitar danos aos aparelhos eletrônicos por excesso de amônia e partículas em suspensão encontrados nos biotérios.

A autonomia da bateria é extremamente variável entre os modelos (algumas horas a eterna). De forma geral, há direta correlação entre a taxa de amostragem e o consumo da bateria. No caso do Stellar, por exemplo, mudar sua taxa de amostragem de 10 para 60 minutos aumenta em seis vezes a duração da bateria. Portanto, grande parte da diferença de autonomia da bateria está na taxa de amostragem. Nosso equipamento possui consumo fixo e permite adquirir a uma taxa de amostragem de 1 amostra a cada 5 segundos. Pode-se escolher a bateria mais adequada de acordo com a duração prevista do experimento, evitando peso desnecessário. Os modelos que têm duração eterna dependem de ser carregados periodicamente com um dispositivo que fica sob a gaiola/caixa do animal. Durante a carga não é possível transmitir dados.

Considerando as características eletrônicas, o equipamento desenvolvido atingiu o objetivo proposto. Foi possível reunir num único dispositivo uma resolução térmica, taxa de amostragem, número de canais e custo não encontrados em outros aparelhos. Essas características atendem ao propósito de coletar as medidas necessárias para a determinação de coeficientes de difusão do calor. Apesar de a

bateria durar apenas 20 horas no nosso modelo, esse tempo é mais que suficiente para realizar os experimentos propostos.

Em relação às dimensões e à massa, o nosso dispositivo apresentou resultado satisfatório, havendo possibilidade de melhora. Se considerarmos que um animal suporta no máximo 10% de sua massa, um rato adulto (350g) suporta a massa do nosso sensor com a bateria de 600 mA.h, que é 31,05g.

Todo o circuito do sensor foi montado manualmente, sem ferramentas específicas para construir microcircuitos eletrônicos. O uso de equipamentos específicos permite reduzir o tamanho do sensor pela metade. Com um sistema de produção industrial automatizado, a redução pode ser ainda mais significativa.

Outra maneira de melhorar o tamanho do aparelho é reduzir a bateria. No atual modelo do sensor o consumo é fixo em 20 mA. Dessa forma, a redução da bateria leva, invariavelmente, a uma redução da autonomia. Por exemplo, a troca de uma bateria de 600 mA.h por uma de 110 mA.h permite uma redução de 70% no tamanho da bateria, às custas de uma redução de autonomia de 20 horas para 4 horas.

Futuramente pretendemos trocar o módulo Bluetooth® do sensor por um módulo de radiofrequência que pode ser desligado quando não estiver em uso. Com isso, o consumo do circuito será dependente da taxa de amostragem. Comparativamente ao modelo atual, uma amostra a cada 5 segundos consumirá apenas 2 mA (10% do consumo atual). Isso permitiria reduzir em 5 vezes o tamanho da bateria e mesmo assim dobrar a autonomia. Além disso, em experimentos que necessitam menor taxa de amostragem, o consumo será proporcionalmente menor. Outra vantagem de se usar esse novo módulo de radiofrequência é que seu tamanho é metade do módulo Bluetooth®. Essa redução no tamanho do rádio leva a uma diminuição de 20% do tamanho total do sensor.

Há possibilidade de aumentar discretamente a taxa de amostragem do sensor com uma simples reconfiguração do firmware no PIC18LF1220. O programa original sempre realiza medidas dos 4 NTCs e da bateria. É possível reprogramá-lo para realizar somente as medidas dos NTCs. Assim, o tempo de amostragem cai de 4,0 segundos para 3,2 segundos. A medida da bateria pode ser realizada por função

separada, que é executada esporadicamente. Isso propiciaria tempo de resposta ainda mais rápido do sensor, embora não seja algo essencial.

Uma proposta para trabalhos futuros é empregar a ferramenta aqui descrita para investigar os valores do coeficiente de difusão do calor de órgãos e tecidos de ratos Wistar *in vivo*. A comparação entre animais com órgãos saudáveis e animais com órgãos doentes permitirá estudarmos se o coeficiente de difusão do calor é um marcador diagnóstico e/ou prognóstico em diversas patologias, já que se espera uma modificação do coeficiente de difusão quando há alteração da composição tecidual (BHATTACHARYA e MAHAJAN, 2003).

Todos os mecanismos participantes na termorregulação, desde a mudança conformacional de um canal iônico sensível à temperatura num dendrito neuronal até a atuação de um neurotransmissor liberado pelo axônio, fazem parte de uma intrincada rede de processos indissociáveis, envolvendo as mais variadas áreas do conhecimento. Portanto, a regulação térmica nos seres vivos é um tema interdisciplinar, envolvendo, principalmente, a biologia, a física, a química e a matemática.

Por isso, é de fundamental importância articular corretamente os conhecimentos de cada uma das áreas para entender o problema de forma mais ampla. Isso significa dizer que é de extrema importância conhecer os modelos físicos que descrevem cada experimento, entendendo suas limitações, mas, principalmente, sabendo como utilizar o modelo para adquirir informações que, de outra maneira, seriam difíceis ou mesmo impossíveis de determinar.

6 CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

O sistema de telemetria desenvolvido atingiu os objetivos de ter alta resolução, alta taxa de amostragem e baixo custo, permitindo leituras simultâneas de 4 canais de temperatura, que podem, inclusive, ser usadas para a determinação do coeficiente de difusão do calor. O próximo passo é trabalhar na redução das dimensões do dispositivo. Outro fator importante é que se trata de um dispositivo capaz de ser instalado em um animal e permite que as medidas sejam feitas em tempo real e *in vivo*. Vale ressaltar que já foi solicitado o pedido de patente ao Centro Regional de Inovação e Transferência de Tecnologia da UFJF (CRITT/UFJF).

O dispositivo tem um grande potencial para ser utilizado no estudo de termorregulação. Como sabemos, os mecanismos envolvidos na termorregulação são extremamente complexos, pois possuem muitas variáveis. A maioria dos equipamentos desenvolvidos para o estudo da termorregulação não são preparados para serem adaptados ao animal *in vivo*. A maior quantidade de informação sobre grandezas termofísicas se refere a tecidos *in vitro* e isto, conforme já foi discutido, é muito diferente quando se faz medidas *in vivo*.

O equipamento permite medir o tempo de resposta dos diversos órgãos quando submetidos a uma diferença de temperatura. É possível medir mudanças de temperatura quando um animal está se movimentando, comendo, bebendo, próximo a uma fonte de radiação eletromagnética, sob anestesia, ou em qualquer outra situação experimental. Cada um destes estudos pode gerar novos protocolos interessantes e isto abre várias perspectivas interessantes de futuros trabalhos. Um destes trabalhos é o uso da radiação de micro-ondas para estimar a condutividade térmica e elétrica do tecido biológico nesta faixa de frequência. A determinação destas condutividades são essenciais para o uso da chamada ablação por micro-ondas para a eliminação de tumores, principalmente do fígado. A proposta da técnica é antiga (WILLIAM, 1980), mas, com os conhecimentos de novos valores das condutividades *in vivo*, a discussão sobre esta técnica voltou à tona (WENBIN, 2013).

Outro exemplo de trabalho futuro, e que já está sendo iniciado, é a medida da temperatura em duas regiões distintas do pulmão, uma com edema e a outra sem

edema. Acredita-se que a região mais ventilada teria uma temperatura mais baixa que a temperatura da região com edema pulmonar. Se este tipo de análise se confirmar, será possível gerar futuros protocolos para o acompanhamento de edemas pulmonares em Unidades de Terapia Intensiva.

Da mesma forma que se pode usar o dispositivo proposto para o pulmão, pode-se usá-lo para outros órgãos. Assim, o equipamento desenvolvido poderá ser o ponto de partida para vários outros projetos de pesquisa associados ao estudo de propriedades termofísicas de tecidos *in vivo*.

7 REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICAS

AGREN, G.; LUND, I.; THIBLIN, I.; LUNDEBERG, T. Tail skin temperatures reflect coping styles in rats. **Physiology and Behavior**, v. 96, p. 374 - 382, 2009.

ALEXANDRE, P.S. Implantação das técnicas de Fotoacústica e rc e aplicações em sistemas vítreos. **Tese de doutorado. Dep. de Física, UFJF**. 2011.

ALMEIDA, R.S.V; COIMBRA, C.C.; LEITE, L.H.R. Ação da angiotensina II central sobre o balanço térmico e o desempenho físico. Dissertação de mestrado, **EEFFTO/UFMG**. 2012.

ASHCROFF, N.W.; MERMIN, N.D. Solid State Physics. **CBS**. 1976.

AULETE, F.J.C; VALENTE, A.L.S. iDicionário Aulete. **Lexikon editora digital**. 2014

BHATTACHARYA, A.; MAHAJAN, R. L. Temperature dependence of thermal conductivity of biological tissues. **Physiological measurement**, v. 24, n. 3, p. 769, 2003.

BIRNIE, J. H.; GRAYSON, J. Observations on temperature distribution and liver blood flow in the rat. **Journal of Physiology**, v. 116, p. 189 - 201, 1952

BLUMM, J.; LINDERMANN, A. Characterization of the thermophysical properties of molten polymers and liquids using the flash technique. **High Temperatures-High Pressures**. 35/36 (6): 627. 2007

BOWMAN, H.F.; CARVALHO, E.G.; WOODS, M. Theory, measurement, and application of thermal properties of biomaterials. **Annu. Rev. Biophys. Bioeng**, 43-80. 1975.

BRAGA, V.A.; PRABHAKAR, N.R. Refinement of telemetry for measuring blood pressure in conscious rats. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS**, v. 48, n. 3, p. 268, 2009.

CALLISTER, W.D. *Materials Science and Engineering - An Introduction*. **John Wiley and Sons**. 757 p. 2003.

CHENG, H.M.; PLEWES, D.B. Tissue thermal conductivity by magnetic resonance thermometry and focused ultrasound heating. **Journal of Magnetic Resonance Imaging**, v. 16, n. 5, p. 598-609, 2002.

CLOSA, D.; ALEMANY, M.; REMESAR, X. Effect of cold exposure on organ temperatures in Wistar and Zucker fa/fa rat. **Journal of Thermal Biology**, v. 17, n. 2, p. 83 - 88, 1992.

COSMI, S.; PAWLYK, A. C.; ALFINITO, P. D.; ROMAN, J.; ZHOU, T.; DEECHER, D. C. Simultaneous telemetric monitoring of tail-skin and core body temperature in a rat model of thermoregulatory dysfunction. **Journal of Neuroscience Methods**, v. 178, p. 270 - 275, 2009.

DE VRIES J.; J. H. STRUBBE; W. C. WILDERING; J. A. GORTER; A. J. A. PRINS. Patterns of body temperature during feeding in rats under varying ambient temperatures. **Physiology and Behavior**, v. 53, n. 2, p. 229 - 235, 1993.

DUCK, F. *Physical Properties of Tissue*. **Academic**, New York, pp.167–223. 1990.

GAJSEK, P.; WALTERS, T.J.; HURT, W.D.; ZIRIAX, J.M.; NELSON, D.A.; MASON, P.A. Empirical validation of SAR values predicted by FDTD modeling. **Bioelectromagnetics** 23:37-48. 2002.

GORDON, J.P.; LEITE, R.C.C.; PORTO, S.P.S.; WHINNERY, J.R. Long-Transient Effects in Lasers with Inserted Liquid Samples. **Journal of Applied Physics**. v. 36, p. 3 - 8, 1965.

GREENWIS, J.E. Recent advances in telemetry promote further progress in reduction and refinement. **National Centre for Replacement, Refinement and Reduction of Animals in Research. Recent Advances in Telemetry**, 20. 2010

GUY, A.W.; LEHMANN, J.F.; STONEBRIDGE, J.B. Therapeutic applications of electromagnetic power. **Power IEEE**. 62, 55, 1974.

HATTA, I. Heat capacity measurements by means of thermal relaxation method in medium temperature range. **Review of Scientific Instruments**. v. 50, p. 292 - 295. November, 1978.

HEIKENS, M.J.; GORBACH, A.M.; EDEN, H.S.; SAVASTANO, D.M.; CHEN, K.;Y.; SKARULIS, M.C.; YANOVSKI, J.A. Core body temperature in obesity. **The American journal of clinical nutrition**, 93(5), 963-967. 2011.

INCROPERA, F.P.; DEWITT D.P. Fundamentos de transferência de calor e de massa. 4 edição. **CTC**, 1996

JASEMIAN, Y.; GAZERANI, P.; DAGNAES-HANSEN, F. Infrared Thermography in Serotonin-Induced Itch Model in Rats. **Open Dermatology Journal**, v. 6, 2012.

JUAREZ, G.G.; AVALOS, D.A.; MEDINA, R.; LUNA, M.V. Metrological aspects of thermal relaxation technique by radiation loss for volumetric heat capacity measurements. **The European Physical Journal Special Topics**. v. 153, p.171 - 173, 2008.

LEVY, N. The use of animal as models: ethical considerations. **International Journal of Stroke**, v. 7, n. 5, p. 440-442, 2012.

LOPEZ, K.R.; GIBBS, P.H.; REED, D.S. A Comparison of Body Temperature Changes Due to the Administration of KetamineAcepromazine and TiletamineZolazepam Anesthetics in Cynomolgus Macaques. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 41, n. 2, p. 47-50, 2002.

MADAPURA, J.M. Achieving Higher ADC Resolution Using Oversampling. **Application Note AN1152, Microchip Techonology Inc., USA**, 2008.

MANSANARES, A.M.; BENTO, A.C.; VARGAS, H.; LEITE, N.F.; MIRANDA, L.C.M. Photoacoustic measurement of the thermal properties of two layer system. **Physical Review B**. v. 42, p. 4447 - 4486, September, 1990.

NAKAMURA, K. Central circuitries for body temperature regulation and fever. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 301, p. 1207 - 1228, 2011.

NISBET, H.O.; NISBET, C.; AKAR, A.; CEVIK, M.; KARAYIGIT, M.O. Effects of exposure to electromagnetic field (1.8/0.9 GHz) on testicular function and structure in growing rats. **Res Vet Sci** 93:1001-1005. 2012.

PENNES, H. H. Analysis of tissue and arterial blood temperatures in the resting forearm. **Journal of Applied Physiology**, v. 1, p. 93-122, 1948.

POLK, C.; POSTOW, E. Biological Effects of Electromagnetic Fields. **CRC press**. 1995.

REPORT. Radiofrequency electromagnetic fields. Properties, quantities and units, biophysical interaction and measurements. **National Council on Radiation Protection and Measurement**. Report No 67, Washington, D.C., March, 1981.

STONER, H. B. The role of the liver in non-shivering thermogenesis in the rat. **Journal of Physiology**, v. 232, p. 285 - 296, 1973

TOBERER, E.S.; BARANOWSKI, L.L.; DAMES, C. Advances in Thermal Conductivity. **Annu. Rev. Mater. Res.** 179-209. 2012.

WEBB, P.A.U.L. The physiology of heat regulation. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**. 268(4), R838-R850. 1995.

WEN, X.H.; YANG, Z.W. Quantitative study on the spermatozoal storage capacity of epididymis in rats and monkeys. **Asian J Androl** 2:73. 2000.

WENBIN, Z.; MENGDI L.; HONG P.; XIAOAN L.; YANNI J.; YUFENG W.; LIJUN L.; QIANG D.; SHUI W. Comparison of ablation zones among different tissues using 2450 MHz cooled-shaft microwave antenna: Results in Ex Vivo porcine Models. **PLOs**. vol 8 1-7, 2013.

WILLIAM T.J.; RANDY L.J.; MARC D.R.; DANIEL J.S. Microwave power absorption differences between normal and malignant tissue. **Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys.** Vol6, 681-687, 1980.

WILSON, J. Materials Data. 2007

APÊNDICE

APÊNDICE A – ESQUEMA ELÉTRICO E “LAYOUT” DA PLACA DO SENSOR

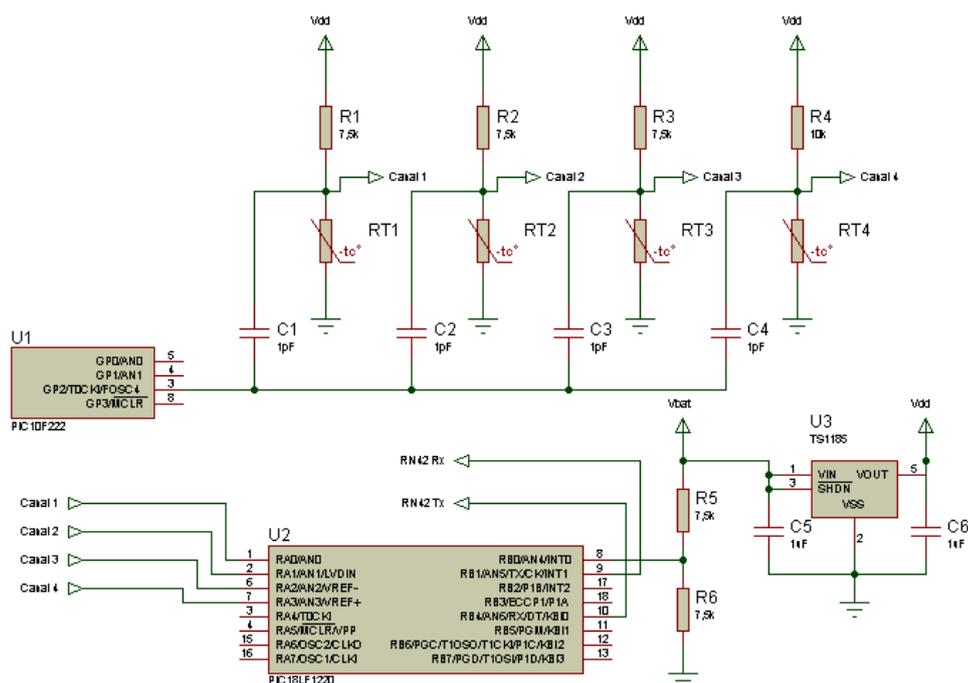


Figura A1. Esquema elétrico do circuito do sensor.

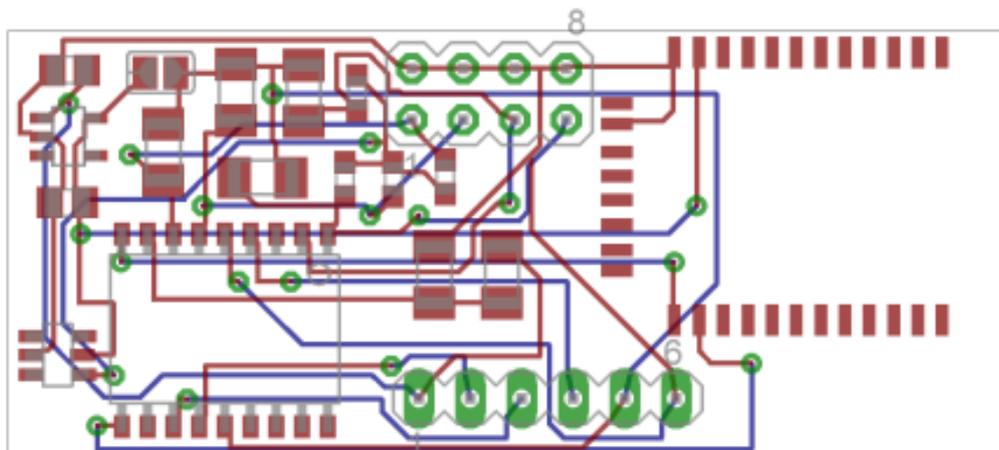


Figura A2. Placa dupla face do circuito do sensor.

APÊNDICE B – CÓDIGO FONTE DO “FIRMWARE” PARA O PIC18FL1220

```
#include "main.h"

int c;
int16 bateria, Canal_A, Canal_B, Canal_C, Canal_D;
int32 acumulador,i;
int16 leitura;

void envia()
{
    printf("b%05Lu",bateria);
    printf("A%05Lu",Canal_A);
    printf("B%05Lu",Canal_B);
    printf("C%05Lu",Canal_C);
    printf("D%05Lu\r\n",Canal_D);
}

void oversample(void)
{
    acumulador=0;
    for (i=0;i<65536;i++)
    {
        acumulador+=read_adc();
    }
    acumulador=acumulador/1024;
    leitura=acumulador;
}

void sample(void)
{
```

```
    acumulador=0;
    for (i=0;i<4096;i++)
    {
        acumulador+=read_adc();
    }
    acumulador=acumulador/64;
    leitura=acumulador;
}
```

```
#int_RDA
```

```
void RDA_isr(void)
{
    c=getc();

    if (c=='B')
    {
        set_adc_channel(4);
        delay_us(10);
        sample();
        printf("%Lu\r\n",leitura);
    }

    if (c=='W')
    {
        set_adc_channel(4);
        delay_us(10);
        sample();
        bateria=leitura;

        set_adc_channel(0);
    }
}
```

```
    delay_us(10);
    oversample();
    Canal_A=leitura;

    set_adc_channel(1);
    delay_us(10);
    oversample();
    Canal_B=leitura;

    set_adc_channel(2);
    delay_us(10);
    oversample();
    Canal_C=leitura;

    set_adc_channel(3);
    delay_us(10);
    oversample();
    Canal_D=leitura;
    envia();
}

}

void main()
{

    setup_adc_ports(sAN0 | sAN1 | sAN2 | sAN3 | sAN4 | VSS_VDD);
    setup_adc(ADC_CLOCK_DIV_2 | ADC_TAD_MUL_2);
    setup_wdt(WDT_OFF);
    setup_timer_0(RTCC_INTERNAL);
    setup_timer_1(T1_DISABLED);
```

```
setup_timer_2(T2_DISABLED,0,1);
setup_timer_3(T3_DISABLED|T3_DIV_BY_1);
enable_interrupts(INT_RDA);
enable_interrupts(GLOBAL);
setup_oscillator(OSC_8MHZ|OSC_INTRC);

sleep();

}
```

APÊNDICE C – FLUXOGRAMA DO PROGRAMA DE CALIBRAÇÃO

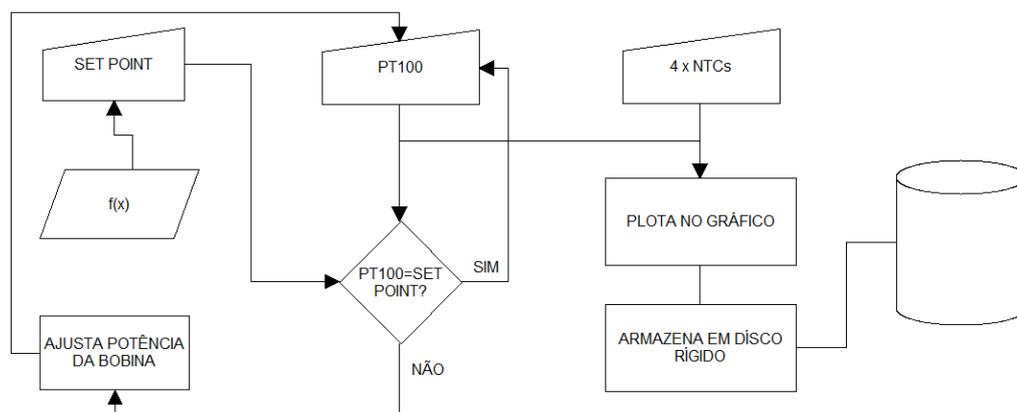


Figura C1. Fluxograma do programa de calibração dos termistores NTC, implementado em Microsoft Visual C# 2010.