*Desenvolvimento de um método
computadorizado para avaliação funcional das
lesões de nervos periféricos através da análise
da marcha: modelo experimental em ratos*

Autor: Marcelo Fernando Selli
Orientador: Prof. Dr. Nilton Mazzer
1998

Programa de Pós-Graduação Interunidades em Bioengenharia

*Escola de Engenharia de São Carlos
Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Instituto de Química de São Carlos*

DESENVOLVIMENTO DE UM MÉTODO COMPUTADORIZADO PARA
AVALIAÇÃO FUNCIONAL DAS LESÕES DE NERVOS PERIFÉRICOS
ATRAVÉS DA ANÁLISE DA MARCHA: MODELO EXPERIMENTAL EM
RATOS.

MARCELO FERNANDO SELLÍ

DEDALUS - Acervo - EESC

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação Interunidades Bioengenharia (Escola de Engenharia de São Carlos, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos) da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Bioengenharia.

ORIENTADOR : Prof. Dr. Nilton Mazzer

CO-ORIENTADOR : Prof. Dr. Cláudio Henrique Barbieri

Ribeirão Preto
- 1998 -

Class.	TESE-EEESC
Cott.	5401
Tombo	T0275/01
Sysno	1065488

Ficha Catalográfica preparada pela Biblioteca Central do Campus Administrativo de Ribeirão Preto - USP

Selli, Marcelo Fernando

Desenvolvimento de um método computadorizado para avaliação funcional das lesões de nervos periféricos através da análise da marcha: modelo experimental em ratos. Ribeirão Preto, 1998.

60p.:il.; 31cm.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-Graduação Interunidades Biengenharia (Escola de Engenharia de São Carlos, Escola de Medicina de Ribeirão Preto, Instituto de Química de São Carlos) da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Bioengenharia.

Orientadores: Mazzer, Nilton; Barbieri, Cláudio Henrique
1. Nervos periféricos – Lesões. 2. Avaliação funcional.

Universidade de São Paulo

Curso de Pós-Graduação Interunidades Bioengenharia

Escola de Engenharia de São Carlos

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Instituto de Química de São Carlos

Av. Dr. Carlos Botelho, 1465 - C. P. 359 - 13560-970 - São Carlos - SP - BRASIL

Tel. (016)2739585 - Fax. (016)2739586 - Email: bioeng @ sc.usp.br

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DISSERTAÇÃO DE
MESTRADO DO ALUNO MARCELO FERNANDO SELLI APRESENTADA
AO CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO INTERUNIDADES BIOENGENHARIA-
EESC/FMRP/IQSC - USP, EM 15/12/1998.

Prof. Dr. Nilton Mazzer (Orientador) - FMRP/USP

Prof. Dr. José Marcos Alves - EESC/USP

Prof. Dr. Walter Manna Albertoni - UNIFESP

Dedicatória

Ao meu falecido Pai.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Nilton Mazzer , pela pronta orientação neste trabalho.

Ao Prof. Dr. Cláudio Henrique Barbieri, pelas criteriosas revisões.

A Elias Félix Oliveira, pela aplicação deste trabalho.

A toda a minha família, em especial meus pais, Basilio e Therezinha pelo apoio nos piores momentos.

A Liliane, pelo apoio, estímulo e amor, com que me conduziu nesse difícil período.

Ao amigo Sr. Wilson Wadhy Mighel Rebehy, pelo decisivo incentivo.

A Smar Equipamentos Industriais, à Usina São Carlos, Santa Sofia Empreendimentos e Destinform, empresas para as quais trabalhei durante o período em que conduzi este trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS	iii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Generalidades	1
1.2 Avaliação em Modelo Experimental.....	2
1.3 Análise Funcional da Marcha.....	3
1.3.1 Método de DE MEDINACELI, RENZO & WYATT (1984).....	4
1.3.2 Método de CARLTON & GOLDBERG (1986).....	7
1.3.3 Método de BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989).....	9
1.4 Métodos de Registro da Marcha.....	14
1.4.1 Utilização de Filmes de Raio X.....	14
1.4.2 Utilização de Papel e Azul de Bromfenol.....	14
1.5 Objetivo do Trabalho.....	17
2 MATERIAIS.....	18
2.1 Ferramentas de Implementação.....	18
2.1.1 Hardware utilizado.....	19
2.1.2 Software utilizado.....	20
3 MÉTODOS.....	21
3.1 Impressão da Marcha.....	21
3.2 O Processo de Avaliação Funcional.....	23
3.3 Implementação	25
3.3.1 Arquitetura do Banco de Dados Relacional.....	26
3.3.2 Fluxo de Dados.....	28
3.3.3 Sintaxe de Diálogo com o Usuário.....	31
3.3.4 Apresentação Gráfica dos Resultados.....	33
3.4 Testes e Acompanhamentos.....	33

4	RESULTADOS	34
4.1	O Software Aplicativo.....	34
4.1.1	Hardware Necessário.....	36
4.1.2	Software Necessário.....	36
4.2	Operação do Sistema.....	37
4.2.1	Criação dos Grupos Experimentais.....	37
4.2.2	Entrada das Trilhas de Pegadas no AFNP.....	39
4.2.3	Calibração do Sistema de Medição.....	41
4.2.4	Medição das Pegadas.....	43
4.3	Apresentação Gráfica dos Resultados.....	45
4.3.1	Variáveis Primárias.....	45
4.3.2	Índices Funcionais.....	46
4.4	Comparação dos Métodos de Avaliação.....	48
4.5	Aplicação do Método.....	50
5	DISCUSSÃO	53
6	CONCLUSÕES	56
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
8	BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTAR	59

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 – Medição das pegadas obtidas por DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982).....	3
FIGURA 02 – Índice Funcional do Ciático por DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982).....	4
FIGURA 03 – Mesa digitalizadora por DE MEDINACELI, DERENZO, WYATT (1984).....	6
FIGURA 04 – Equações de CARLTON & GOLDBERG (1986)	8
FIGURA 05 – Procedimento experimental de BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989).....	10
FIGURA 06 – Equações de BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989)....	13
FIGURA 07 – Comparação entre métodos de registro de marcha.....	16
FIGURA 08 – Registro da trilha obtido segundo o método de LOWDON, SEADER & URBANIAK (1988), por (OLIVEIRA, 1988).....	22
FIGURA 09 – Diagrama de blocos de operação.....	24
FIGURA 10 – Arquitetura do banco de dados relacional.....	27
FIGURA 11 – Diagrama de fluxo de dados equivalente.....	30
FIGURA 12 – Diagrama de sintaxe de diálogo : ROVIRA(1991).....	32
FIGURA 13 - Janela Principal do AFNP, com item Arquivo ativado.....	35
FIGURA 14 – Janela Principal do AFNP, com item Relatório ativado.....	35
FIGURA 15 – Janela (AFNP) de Grupos Experimentais.....	38
FIGURA 16 – Janela (AFNP) de Trilhas de Pegadas.....	40
FIGURA 17 – Janela (AFNP) de Calibração do Sistema Métrico.....	42
FIGURA 18 – Janela (AFNP) de Medições.....	44
FIGURA 19 – Janela (AFNP) Gráfico de Medições.....	46
FIGURA 20 – Janela (AFNP) Gráfico de Índices.....	47
FIGURA 21 – Janela (AFNP) Estatística.....	47
FIGURA 22 – Comparação entre média de índices.....	48
FIGURA 23 – Comparação entre desvio padrão de índices.....	49

FIGURA 24 – Resultados da Aplicação da por OLIVEIRA (1998).....	51
FIGURA 25 – Resultados da Aplicação da por OLIVEIRA (1998).....	52
FIGURA 26 – Características das Equações de CARLTON & GOLDBERG (1986).....	54

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS COM DEFINIÇÃO

AFNP – Avaliação Funcional de Nervos Periféricos

SFI – *Sciatic Functional Index*. Índice Funcional do Ciático (%).

PFI – *Peroneal Functional Index*. Índice Funcional do Peroneiro (%).

TFI – *Tibial Functional Index*. Índice Funcional do Tibial (%).

SIMS – *Sciatic Index Management System*, por De Medinaceli (1984).

NTOF – *Normal to Other Foot*. Distância entre a pegada normal e a experimental (mm)

ETOF – *Experimental to Other Foot*. Distância entre a pegada experimental e a normal (mm).

NPL – *Normal Print Length*. Comprimento da pegada normal (mm).

EPL – *Experimental Print Length*. Comprimento da pegada experimental (mm)

NTS – *Normal Toe Spread*. Espalhamento da pegada normal, definido como a distância entre o primeiro e quinto dedos (mm).

ETS – *Experimental Toe Spread*. Espalhamento da pegada experimental (mm).

NIS – *Normal Intermediary Spread*. Espalhamento intermediário da pegada normal, definido como a distância entre o segundo e quarto dedos (mm).

EIS – *Experimental Intermediary Spread*. Espalhamento intermediário da pegada experimental (mm).

NIT – *Normal Intermediary Toes*. O mesmo que NIS.

EIT – *Experimental Intermediary Toes*. O mesmo que EIS.

RESUMO

Métodos histológicos e eletrofisiológicos de avaliação da regeneração dos nervos periféricos não provêem dados sobre o real estado funcional do membro interessado, mesmo em condições experimentais controladas. Métodos de avaliação funcional têm sido propostos, mas a correlação entre os seus resultados e aqueles dos métodos histológicos e eletrofisiológicos ainda não está perfeitamente estabelecida, o que demanda maiores investigações. Estas, por outro lado, necessitam do aprimoramento dos métodos de captação, armazenamento e processamento dos dados obtidos. Neste trabalho, foi desenvolvido um programa de computador capaz de captar, armazenar e processar as imagens das pegadas de ratos submetidos a diferentes tipos de lesão dos nervos ciático, peroneiro e tibial, obtidas numa trilha de marcha (walking track), com base nos métodos de DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982), DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT (1984), CARLTON & GOLDBERG (1986) e BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989). O programa desenvolvido é compatível com o sistema Microsoft® Windows™ NT/95/98, possibilitando a utilização de recursos gráficos e a geração e impressão de gráficos resultantes, tendo sido testado em estudos experimentais em andamento sobre lesões do nervo ciático do rato, submetido a diferentes formas de tratamento. Ficou demonstrado que o programa, ao automatizar e dar maior agilidade à avaliação, permite ao pesquisador a utilização de um número maior que o usual de animais nos grupos experimentais e a captação, armazenamento e processamento de um volume maior de dados, possibilitando a obtenção de índices independentes para os nervos ciático, peroneiro e tibial, bem como a comparação entre os índices propostos pelos autores supramencionados, através de gráficos de média e desvio padrão. O desempenho do programa, que é de rápido aprendizado e fácil emprego, foi altamente satisfatório e a precisão e uniformidade das avaliações levaram a resultados mais confiáveis.

ABSTRACT

Histologic and electrophysiological methods for evaluation of the regeneration of peripheral nerves do not provide data on the actual functional state of the involved limbs, even in controlled experimental conditions. Functional evaluation methods have been proposed, but the correlation between the results obtained and histologic and electromyographic data are not yet well established, what demands more investigations. On the other hand, these require improved methods of acquisition, storing and processing of data obtained either experimentally or clinically. In this work, a computer program was developed to allow for acquisition, storing and processing the images of footprints of rats submitted to different types of lesion to the sciatic, peroneal and tibial nerves, obtained on a walking track, based on the methods proposed by DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982), DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT (1984), CARLTON & GOLDBERG (1986) and BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989). The program developed is compatible with the Microsoft WindowsTM NT/95/98 system, permitting the use of graphic resources and generation and printing of the resulting graphics, since it was tested with ongoing experimental studies on the regeneration of the sciatic nerve of rats submitted to different types of treatment. It was demonstrated that by automatizing and providing evaluation with greater agility, the program permitted the use of a wider number of animals than usual in the experimental groups and the acquisition, storing and processing of a larger volume of informations, allowing for obtaining independent functional indexes for the sciatic, peroneal and tibial nerves, as well as the comparison between the indexes proposed by the above mentioned authors, by graphics of mean and standard deviation. The performance of the program, which is of quick learning and easy to use, was highly satisfactory and the precision and uniformity of the evaluations carried out made the results more reliable.

1 - INTRODUÇÃO

1.1- Generalidades

A partir da década de 80, o nervo ciático de diferentes animais tem sido usado em estudos e pesquisas sobre regeneração de nervos periféricos. Lesões no tronco do nervo, seguidas de diversas formas de tratamento e submetidas a diferentes técnicas de avaliação funcional do membro, têm sido um dos focos de pesquisas sobre a regeneração do nervo ciático, em particular, e dos nervos periféricos, em geral.

Nesse período, a análise da marcha tornou-se uma grande ferramenta laboratorial nesse campo, permitindo inferências sobre o "estado de funcionalidade" motora do membro afetado por uma lesão neurológica. Outro fato importante é que os nervos periféricos de ratos, incluindo o ciático, têm estrutura morfológica praticamente indistinguível daquela dos nervos de humanos, conforme observações de estudos histológicos. Juntas, estas duas assertivas nortearam a evolução de alguns métodos de análise da marcha, como meio de avaliação funcional da regeneração nervosa, e que foram usadas como base teórica deste trabalho.

Especificamente, no presente trabalho estar-se-á trabalhando com a quantificação funcional, por meio da análise da marcha, do nervo ciático, tibial e peroneiro posterior, complementando as avaliações histológica e eletrofisiológica, que constituem, cada uma delas, um vasto e distinto escopo de estudo.

1.2 – Avaliação em Modelo Experimental

As técnicas de avaliação funcional do nervo ciático, com métodos baseados em histologia e eletrofisiologia, têm sido questionadas através dos tempos, devido à baixa correlação entre os resultados obtidos e a resposta funcional do membro, com enfatizado por DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982), DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT (1984), CARLTON & GOLDBERG (1986) and BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989). Efetivamente, nos métodos de análise histológica, a quantificação do "estado de regeneração" dos axônios, observados em cortes transversais, não necessariamente se correlacionam com a funcionalidade do nervo. No caso das análises eletromiográficas, a análise simples do módulo de intensidade e da velocidade de condução elétrica, adquiridos através de eletrodos e apresentados por computadores ou osciloscópios de raios catódicos, também não trazem resultados conclusivos, o que decorre, em parte, da baixa relação sinal/ruído do sinal elétrico adquirido.

Neste contexto, surgiram os trabalhos e publicações sobre avaliações funcionais baseadas na análise da marcha, com modelos experimentais em ratos.

1.3 – Análise Funcional da Marcha

DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982) descreveram a primeira equação para análise funcional da regeneração do nervo ciático em ratos. A equação foi gerada através das medidas de determinados parâmetros nas pegadas normais (perna direita) e de medidas equivalentes nas pegadas ditas experimentais (perna esquerda, com lesão do nervo ciático), obtidas fazendo os animais caminharem sobre filmes de raios-X expostos com as patas molhadas em solução reveladora (Figura 1).

FIGURA 01: Medição das pegadas obtidas por DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982).

A equação foi derivada empiricamente, atribuindo um peso igual às variáveis medidas e empregando um fator de ajuste (2,2), como se segue:

$$SFI = \left[\left(\frac{ETOF - NTOF}{NTOF} \right) + \left(\frac{NPL - EPL}{EPL} \right) + \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + \left(\frac{EIS - NIS}{NIS} \right) \right] \times 2.2 \times \frac{100}{4}$$

onde: ETOF: Experimental to other foot

NTOF: Normal to other foot

NPL: Normal print lenght

EPL: Experimental print lenght

ETS: Experimental toe spread

NTS: Normal toe spread

EIS: Experimental intermediary toe spread

NIS: Normal intermediate toe spread

FIGURA 02 : Índice Funcional do Ciático por DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982).

Essa equação foi chamada de Índice Funcional do Ciático (SFI, ou Sciatic Functional Index), seu resultado variando de -100%, que significa disfunção completa, a 0%, que significa normalidade.

1.3.1 – O Método de DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT (1984)

Posteriormente, DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT (1984) descreveram o primeiro método computadorizado de avaliação do índice funcional do ciático, o Sistema de Manuseio do Índice do Ciático (SIMS, ou Sciatic Index Management System). Utilizaram-se para isso de uma combinação cara e complexa de equipamentos, que incluíam um computador de grande porte (Main Frame), estações terminais gráficas para análise, um terminal serial tipo PT 100, uma mesa digitalizadora, um sistema

de manuseio de base de dados (dbms, database management system) e pacotes estatísticos. Nesse experimento, sete ratos Sprague-Dawley foram anestesiados, o tronco do nervo ciático esquerdo (próximo à ramificação do peroneiro e tibial) foi esmagado com uma pinça de extremidades serrilhadas por 1 minuto, de forma a aplicar uma força constante de compressão na área de secção transversal. A ferida operatória era fechada em seguida e o animal era seguido por um período de 53 dias, durante o qual eram obtidos registros da sua marcha. Era sabido, que esse tipo de ferimento no tronco do nervo provocaria uma total paralisia motora e sensitiva do membro, mas que após algumas semanas o nervo recuperaria suas funções normais, com a regeneração das suas fibras. Os registros da marcha foram obtidos já no pré-operatório, e depois, a intervalos regulares, em tiras de filme de raios-X, do mesmo modo que no experimento anterior (DE MEDINACELI, FREED & WYATT, 1982).

O uso do SIMS foi feito na seguinte seqüência:

1. aquisição das medidas das variáveis em mesa digitalizadora e em terminal gráfico colorido (Figura 3);
2. transferência dos dados ao Main-Frame;
3. manipulação dos dados no dbms, portado no Main-Frame, através de um terminal tipo caracter PT-100;
4. geração de arquivos de dados para tratamento com outros pacotes estatísticos;
5. geração de relatórios.

Para avaliação do método, os cálculos do SFI (Índice Funcional do Ciático) foram feitos por dois observadores independentes, em três eventos diferentes:

1. cálculos efetuados à mão por observador principal;
2. cálculos efetuados no SIMS por observador principal;
3. cálculos efetuados no SIMS por observador não treinado.

Os resultados da comparação e correlação entre classes foi considerado excelente, com exceção do quarto dia pós-operatório, devido às dificuldades do animal em efetuar as primeiras caminhadas.

Figura 03: Mesa digitalizadora por DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT (1984).

A implementação do método SIMS, segundo DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT (1984), trouxe alguns benefícios à avaliação da função nesses casos, como a diminuição do tempo de avaliação, o aumento da precisão e a uniformidade do método, vantagens que viriam a aumentar a produtividade de seu centro de pesquisas, habilitando os pesquisadores a obterem avaliações mais fáceis e rápidas do SFI.

1.3.2 – O Método de CARLTON & GOLDBERG (1986)

Posteriormente, CARLTON & GOLDBERG (1986), mesmo diante da confiabilidade do método de DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT (1984) para avaliação do SFI, desenvolveram um método próprio, com o objetivo de aumentar as condições de análise da função dos nervos ciático, peroneiro e tibial submetidos à transecção seguida de microneurografia.

Assim, operaram 18 ratos Wistar, com peso médio de 200 g, distribuídos em quatro grupos experimentais, como se segue:

1. lesão do componente tibial;
2. lesão do componente peroneal;
3. lesão de todo o nervo (ciático);
4. controle ("sham operation") .

Nesse modelo experimental, a lesão, unilateral, análoga para cada grupo, foi o esmagamento num local situado 10 mm proximalmente à fossa poplíteia da perna esquerda. No quarto grupo, de controle, foi realizada apenas a dissecação fascicular, sem esmagamento de nervo. Impressões da marcha, registradas em filme de raios-X, foram obtidas semanalmente, por um período de cinco semanas. Para a avaliação do SFI foi utilizada uma modificação da equação de DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT (1984), pela retirada do fator de distância ao outro pé (TOF- to other foot) e ajuste na constante de peso (Figura 3). Já para os nervos tibial e peroneiro foram desenvolvidas equações utilizando a análise da regressão linear de múltiplas variáveis. As equações ficaram como se seguem(figura 4):

$$SFI = \left[\left(\frac{NPL - EPL}{EPL} \right) + \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + \left(\frac{EIS - NIS}{NIS} \right) \right] \times 73$$

$$TFI = 125 \times \left(\frac{NPL - EPL}{EPL} \right) - 43.8 \times \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + 252 \times \left(\frac{EIS - NIS}{NIS} \right)$$

$$PFI = 2 \times SFI - TFI$$

FIGURA 04 : As equações de CARLTON & GOLDBERG (1986).

onde:

SFI: Índice Funcional do Ciático

TFI: Índice Funcional do Tibial

PFI: Índice Funcional do Peroneiro. As demais siglas são as mesmas que para a equação de DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT (1984).

Como resultado da aplicação das suas equações, CARLTON & GOLDBERG (1986) obtiveram, na primeira semana de avaliação, os seguintes resultados:

Grupo 1: Esmagamento do Peroneiro:

PFI : -50%
TFI : Normal
SFI : -32%

Grupo 2 : Esmagamento do Tibial

PFI : Normal
TFI : -99%
SFI : -55%

Grupo 3 : Esmagamento total do Ciático

PFI : -99%
TFI : -90%
SFI : -97%

Após cinco semanas, os índices referentes aos três nervos se normalizaram.

1.3.3 – O Método de BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989).

Com o objetivo de desenvolver e testar equações independentes mais confiáveis para avaliações funcionais da regeneração dos nervos ciático, tibial e peroneiro, um experimento foi conduzido por Bain & Mackinnon & Hunter (1989). Foram utilizados ratos Wistar brancos treinados, pesando de 200 a 250 gramas, com alimentação e ciclo de luz controlados. O procedimento cirúrgico unilateral constou basicamente da exposição do nervo ciático e identificação dos seus ramos, por abordagem transmuscular do glúteo maior. Os animais foram escolhidos ao acaso e distribuídos em quatro grupos, conforme o tipo de procedimento realizado:

1. Grupo controle ("Sham operation");
2. Lesão completa (perda total de função) do nervo peroneal;
3. Lesão completa do nervo tibial posterior;
4. Lesão completa do nervo ciático.

Em adição, o lado experimental também foi escolhido ao acaso em cada animal. A extremidade proximal do nervo seccionado era cuidadosamente posta em posição intramuscular e suturada no músculo glúteo. Produzida a lesão num dos ramos, os demais eram preservados.

As impressões da marcha dos animais foram obtidas em tiras de filme de raios-X de 8,2 x 42 cm identificadas apenas com o número do animal testado, sendo as patas dos animais umedecidas em solução reveladora, segundo o método de DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982). Várias pegadas foram registradas em cada filme. Algumas, de leitura impossível devido ao arraste da cauda do animal ou à sobreposição das pegadas, foram desprezadas. As seguintes medições foram efetuadas:

1. TOF ("to opposite foot"): distância ao pé oposto;
2. PL ("print length"): comprimento da pegada;

3. PA ("print angle"): distância entre a pegada e a linha média da marcha;
4. TS ("toes spread"): distância do primeiro ao quinto dedos;
5. IT ("intermediate toes spread"): distância entre o segundo e quarto dedos.

As medições foram feitas para as pegadas experimentais e para as normais, rotuladas respectivamente como E e N. Por exemplo, NTOF representa a distância entre o maior dedo da pegada normal ao maior dedo da pegada operada.

FIGURA 05 : Procedimento experimental de BAIN, MACKINNON & HUNTER, (1989).

Em geral, foi notada uma excelente constância nos parâmetros das diferentes pegadas numa mesma trilha. Porém, para maior rigor matemático, era utilizada em cada registro a máxima distância medida. As medidas foram feitas numa mesa digitalizadora (Hipad Digitizer, Houston Instruments, Austin, Texas), ligada a um computador pessoal (IBM PC XT, IBM Armonk, N.Y), utilizando um software de morfometria (Bioquant II, R&M Biometrics, Nashville, Tenn.).

Foram gerados cinco fatores, compostos pela subtração do valor medido na pegada experimental pelo valor medido na pegada normal, e dividida essa diferença pelo valor medido na pegada normal:

1. Fator da distância ao pé oposto, ou TOFF: $(\text{ETOF} - \text{NTOF}) / \text{NTOF}$;
2. Fator comprimento da pegada, ou PLF: $(\text{EPL} - \text{NPL}) / \text{NPL}$;
3. Fator ângulo da pegada, ou PAF: $(\text{EPA} - \text{NPA}) / \text{NPA}$;
4. Fator espalhamento dos dedos, ou TSF: $(\text{ETS} - \text{NTS}) / \text{NTS}$;
5. Fator espalhamento intermediário, ou ITF: $(\text{EIT} - \text{NIT}) / \text{NIT}$.

Na análise de regressão linear múltipla, os fatores criados foram entrados como variáveis independentes. A regressão utilizou como a variável dependente o déficit do nervo (*índice funcional do ciático*, com o valor de -100 em animais com o nervo ciático seccionado e de 0 em animais do grupo controle; *índice funcional tibial*, com o valor de -100 em animais com o nervo tibial posterior seccionado e de 0 em animais do grupo controle; e *índice funcional peroneal*, com o valor de -100 em animais com o nervo peroneal seccionado e de 0 em animais do grupo controle).

Pela primeira vez neste tipo de estudo, foram feitas análises da variância significativa das variáveis medidas nas trilhas e dos fatores criados. As análises foram feitas da seguinte maneira:

1. Foi estabelecido que cada uma das variáveis medidas na pegada normal (NTOF, NPL, NPA, NTS, NIT) não poderia ter, entre os diferentes grupos, variância significativa. Como resultado dessas análises, todas as variáveis normais foram aprovadas;
2. Foi estabelecido que as variáveis medidas na pegada experimental (ETOF, EPL, EPA, ETS, EIT) devem necessariamente ter variância significativa entre os diferentes grupos. Nessa análise, a variável EPA (Ângulo da pegada experimental) não teve variação dependente das lesões seletivas causadas em cada grupo, tendo sido reprovada e retirada do procedimento. Não foi notada variância significativa entre lados operados num mesmo grupo;
3. Analogamente, foi estabelecido que os fatores estudados (PLF – *fator comprimento da pegada*, TSF – *fator espalhamento de dedos*, ITF – *fator espalhamento intermediário*, TOF – *fator distância ao pé oposto*) devem necessariamente ter variância significativa entre os grupos, uma vez que devem ser correlacionados com as lesões seletivas. O fator PAF (*fator ângulo da pegada*) não participou do ensaio, porque a variável experimental EPA (ângulo de pegada experimental), que compõe o fator, foi excluída anteriormente. Pelos testes realizados, foi constatada a inexistência de variância significativa entre grupos para o fator TOF. Os demais fatores (PLF, TSF, ITF) foram aprovados e, portanto, utilizados nas equações.

Após as medições e seleção das variáveis a serem usadas, e de posse da matriz de constantes de peso (tipo { $b_1, b_2, \dots, b_n$ }) resultante da análise de regressão linear múltipla, foram determinadas as equações para os índices funcionais independentes dos nervos ciático, peroneal e tibial posterior, como se seguem:

$$SFI = -38.3 \times \left(\frac{EPL - NPL}{NPL} \right) + 109.5 \times \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + 13.3 \times \left(\frac{EIT - NIT}{NIT} \right) - 8.8$$

$$TFI = -37.2 \times \left(\frac{EPL - NPL}{NPL} \right) + 104.4 \times \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + 45.6 \times \left(\frac{EIT - NIT}{NIT} \right) - 8.8$$

$$PFI = 174.9 \times \left(\frac{EPL - NPL}{NPL} \right) + 80.3 \times \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) - 13.4$$

FIGURA 06 : Equações de BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989).

1.4 – Métodos de Registro da Marcha

1.4.1 – Utilização de Filmes de Raio X

DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982) utilizaram-se de tiras de filme de raios-X para obterem o registro do padrão da marcha de ratos. Os animais, com as patas umedecidas em solução reveladora, eram postos a caminhar por sobre esse filme, numa passarela especialmente construída, deixando dessa maneira a impressão da marcha. Outros grupos de pesquisadores utilizaram-se do mesmo método posteriormente (DE MEDINACELI, DERENZO & WYATT, 1984; CARLTON & GOLDBERG, 1986; BAIN, MACKINNON & HUNTER, 1989).

1.4.2 – Utilização de Papel e Azul de Bromofenol

LOWDON, SEADER & URBANIAK (1988) descreveram um método alternativo ao das tiras de filme de raios-X para registro de pegadas, propondo o uso de tiras de papel, nas mesmas dimensões usadas com os filmes e tratadas com uma solução a 0,5% de anidrosulfona de azul de bromofenol em acetona. Depois de secas, as tiras de papel assim tratadas adquirem uma coloração laranja e necessitam de acondicionamento em local seco, pois a umidade as torna paulatinamente azuladas. Os animais, ao caminharem sobre essas tiras com as patas umedecidas, produzem uma pegada azulada.

Os autores testaram o método num ensaio com 20 ratos Wistar adultos, comparando-o com o das tiras de filme de raios-X. Para cada um dos métodos, foi calculado o índice funcional do ciático de DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982), por dois observadores diferentes.

Como resultado, não foi encontrada diferença significativa entre as médias observadas nos dois métodos (t-test). Entretanto, o coeficiente de correlação para os valores lidos nas trilhas em papel pelos observadores foi 0,93, contra um coeficiente de correlação de 0,81 para os valores lidos nos filmes de raios-X pelos observadores. Outra observação importante foi a necessidade de repetição do teste, que foi de seis trilhas em 20 para o filme de raios-X e de uma trilha em 20 para o papel. Foi constatado também que o método do papel impregnado com azul de bromofenol custou cerca de um trinta avos ($1/30$) do método do filme. O preparo das tiras de papel é simples e rápido, e seu funcionamento é adequado se a secagem e estocagem forem satisfatórias.

FIGURA 07 : Comparação entre métodos de registro de marcha. À direita o registro utilizando filmes de raios-X, e à esquerda o registro utilizando método de LOWDON, SEADER & URBANIAK (1988).

1.5 – Objetivos do Trabalho

Foi o objetivo deste trabalho a análise, projeto e desenvolvimento de um método computadorizado capaz de prover o pesquisador com um gerenciador de bancos de dados que possa receber as imagens das pegadas de ratos, armazenando-as, processando-as e automatizando os cálculos, conforme as necessidades do pesquisador interessado na obtenção dos índices funcionais dos nervos ciático, tibial e peroneiro, segundo os métodos de DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982), CARLTON & GOLDBERG, 1986 e BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989), visando operacionalizar e dar maior produtividade às pesquisas que façam uso da avaliação funcional desses nervos periféricos, no curso de investigações sobre a regeneração de nervos periféricos.

Foi implementado um aplicativo (programa de computador) integrado, utilizando um computador Pentium compatível IBM, com monitor de vídeo SVGA e um *scanner* digital de mesa.

2 – MATERIAIS

Observando o mercado das estações gráficas de computação e atento às tecnologias, funcionalidades e custos, optou-se por utilizar como plataforma o difundido computador pessoal PC/AT e, como sistema operacional, o Microsoft Windows™ 95/98/NT. Essa decisão foi tomada com base na análise da relação custos/benefícios, uma vez que as tecnologias selecionadas atendem satisfatoriamente às necessidades descrita, com baixos custos.

Para aquisição e medições das trilhas gravadas na marcha dos ratos, as imagens são lidas por um *scanner* digital de mesa e copiadas para o banco de dados (Borland Paradox™) do sistema. Esse banco de dados armazena as imagens e todas as demais informações contidas no escopo da análise funcional dos nervos em estudo. Posteriormente, os dados são processados e os relatórios são gerados e apresentados graficamente, com opção de impressão.

2.1 – Ferramentas de Implementação

Dada a necessidade do uso de uma ferramenta de banco de dados (*dbms – database management system*), passou-se à determinação de filosofias e funcionalidades necessárias às ferramentas de implementação (softwares) que serão utilizadas para a geração do aplicativo alvo para a avaliação funcional dos nervos ciático, peroneiro e tibial:

1. Banco de dado projetado para armazenar e manipular imagens (as trilhas de pegadas);
2. Linguagem de programação com suporte para execução eficiente de cálculos matemáticos (para os cálculos de índices funcionais);

3. Linguagem de programação com eficiente interface para banco de dados;
4. Linguagem de programação com bom suporte de computação gráfica, para processamento *pixel a pixel* das imagens das pegadas (padrão de imagem lida no *scanner*, onde ela é codificada como uma matriz de *pixels* ou pontos) e processamento vetorial (padrão gerado pelo computador, baseado em sistema cartesiano), para apresentação dos gráficos de resultados e evoluções no tempo dos índices apurados pelo aplicativo;
5. Linguagem de programação com suporte para geração de interface gráfica com o sistema operacional (Microsoft Windows 95/NT).

2.1.1 – Hardware Utilizado

Elementos de *hardware* utilizados no desenvolvimento do projeto:

1. Microcomputador Pentium 133 Mhz, com 16 Mbytes de memória RAM e disco rígido de 2.1 Gbytes, monitor SVGA color de 17 polegadas;
2. Impressora HP DeskJet 600 para impressão dos gráficos;
3. *Scanner* colorido de mesa Genius.

2.1.2 – Software Utilizado

Elementos de *Software* utilizados no desenvolvimento do projeto:

1. Sistema operacional **Windows 95** (Microsoft Corporation);
2. Gerenciador de bancos de dados **Database Desktop** ver 7.0 (Borland International, Inc.) ;
3. Compilador de programas para plataforma Microsoft Windows 95 e Windows NT (32 bits) **Borland Delphi II** (Borland International, Inc.) ;
4. *Software* para aquisição e armazenamento de imagens via scanner, **Paint Shop Pro** ver 4.14 (Jasc, Inc) ;
5. **Microsoft Word** para documentação e formatação do texto (Microsoft Corporation) ;
6. *Software* para documentação técnica **Visio Technical** (Visio Corporation).

3 - MÉTODOS

A descrição dos métodos utilizados neste trabalho visa esclarecer os procedimentos de elaboração do software (AFNP-USP), uma vez que possibilitar a aplicação do método de avaliação funcional é o objetivo deste trabalho, estando melhor discutida na seção Resultados.

3.1 – Impressão da Marcha

O método de impressão da marcha utilizado para os testes foi aquele descrito por LOWDON, SEADER & URBANIAK (1988), que emprega papel branco impregnado por azul de bromfenol. Todavia, a utilização de filmes de raios-X é possível, desde que consideradas as dificuldades de tratamento da imagem adquirida, que pode não ter a mesma definição e contraste do método aqui utilizado (Figura 8).

Figura 08 : Registro da trilha obtido segundo o método de LOWDON, SEADER & URBANIAK (1988). (OLIVEIRA, 1988).

3.2 – O Processo de Avaliação Funcional

A avaliação funcional de nervos periféricos por meio da análise da marcha constitui-se de diferentes etapas. Uma vez determinado o objetivo da investigação, formam-se os grupos experimentais, seguindo critérios próprios do grupo de pesquisa.

A escolha do método de registro das pegadas é de arbítrio dos pesquisadores, porém é fortemente sugerido por nós que seja utilizado o método da tiras de papel impregnado com azul de bromofenol de LOWDON, SEADER & URBANIAK (1988). Os registros das trilhas devem ser adquiridos nos períodos pré e pós-operatórios, com intervalo de aquisição determinado pelo pesquisador. De posse desses registros, entra-se no escopo do método de avaliação descrito na Figura 8.

AVALIAÇÃO FUNCIONAL DE NERVOS PERIFÉRICOS

DIAGRAMA DE BLOCOS DE SEQUÊNCIA DE OPERAÇÕES

FIGURA 08 : Diagrama de blocos de operação do sistema

3.3 – Implementação

A implementação do aplicativo segue os seguintes passos :

1. Análise, projeto e implementação dos bancos de dados, seguindo estrutura relacional, de maneira a permitir boas extrações de informações;
2. Construção e testes do banco de dados, inserção de dados simulados e extração de relatórios e gráficos, em caráter experimental;
3. Análise e projeto do aplicativo, cuja tarefa é adquirir as medições dos registros das pegadas, executar rotinas de cálculos e salvar valores em registros do banco de dados;
4. Análise e projeto do módulo de extração de relatórios e gráficos, a partir dos cálculos efetuados no módulo de aquisição;
5. Escrita de arquivos de código em linguagem Object Pascal, configuração, compilação e testes do projeto de software;
6. Implementação de software de configuração e instalação automática do aplicativo, para posterior distribuição.

3.3.1- Arquitetura do Banco de Dados Relacional

A análise do banco de dados segue preceitos estabelecidos por DATE (1988). Numa abordagem totalmente relacional, as tabelas foram implementadas conforme a Figura 9.

Como pode ser visto na Figura 10, a estrutura relacional dos arquivos segue relação de $1 \rightarrow n$ para as tabelas GRUPOS $\rightarrow$ RATOS e RATOS $\rightarrow$ TRILHAS, expressando que um grupo experimental se refere a vários ratos e um rato se refere a várias trilhas de pegadas. Da mesma maneira, pode-se observar a relação $1 \rightarrow 1$ entre as tabelas TRILHAS $\rightarrow$ DE MEDINACELI (SFI), TRILHAS $\rightarrow$ GOLDBERG (SFI, TFI, PFI), TRILHAS $\rightarrow$ MACKINNON (SFI, TFI, PFI) e TRILHAS $\rightarrow$ MEDIDAS (NPL, NTS, NIS, NTOF, EPL, ETS, EIS, ETOF), o que expressa que a cada trilha que é gravada e medida estão relacionadas quatro tabelas de informações, cada uma delas contendo os valores calculados pelo software no momento da medição das pegadas com o *mouse*.

Determinada a estrutura relacional das tabelas, estas foram implementadas e postas em teste utilizando o sistema de gerenciamento de banco de dados Borland Paradox™, para posteriormente serem integradas ao AFNP.

AVALIAÇÃO FUNCIONAL DE NERVOS PERIFÉRICOS ARQUITETURA DO BANCO DE DADOS

FIGURA 10 : Arquitetura do banco de dados relacional.

3.3.2 – Fluxo de Dados

Conforme descrito por DE MARCO (1989), o diagrama de fluxo de dados pode ser utilizado de maneira clara e eficiente para a documentação da análise de sistemas de informação que utilizam bancos de dados.

A figura 11 descreve o diagrama fluxo de dados equivalente à implementação da AFNP. Neste tipo de documentação, as 'bolhas' representam os processos computacionais, as barras paralelas representam as tabelas (arquivos) e as setas curvas representam o fluxo da informação.

Ainda observando a figura 11, pode-se ver a bolha 1 (GRUPOS EXPERIMENTAIS) alimentando os arquivos de grupos e ratos, evidenciando a instanciação dos grupos experimentais, que no sistema será o primeiro passo do pesquisador de nervos periféricos. É essa bolha que deve criar os diferentes grupos experimentais e cadastrar cada um dos ratos no grupo ao qual o animal pertence.

A bolha 2 (FOOTPRINTS) lê informações nos arquivos GRUPOS e RATOS e escreve informações no arquivo de TRILHAS DE PEGADAS. É nesse arquivo que é introduzida a imagem lida em *scanner* do registro das pegadas feito no procedimento experimental.

A bolha 3 (INDICES FUNCIONAIS) processa os dados mais importantes, como a medição das pegadas e os cálculos dos índices funcionais, segundo as equações descritas pelos autores citados na seção **Arquitetura do banco de dados relacional**. Após os cálculos e validações, a bolha 3 alimenta os arquivos de índices, denominados respectivamente de **De Medinaceli, Goldberg e Mackinnon**, e de medidas (mm), com os índices calculados e as informações relacionadas, lidas nos arquivos GRUPOS, RATOS e TRILHAS DE PEGADAS.

Tendo sido discutidas todas as bolhas de entrada de dados e cálculos, observam-se também as bolhas 4 e 5, que geram as saídas de dados, ou seja, os relatórios gráficos que concentram as informações selecionadas pelo usuário, que podem ser visualizadas em janela Windows™ e, se desejado, redimensionadas e enviadas à impressora.

AVALIAÇÃO FUNCIONAL DE NERVOS PERIFÉRICOS DIAGRAMA DE FLUXO DE DADOS EQUIVALENTE

FIGURA 11 : Diagrama de fluxo de dados equivalente.

3.3.3 – Sintaxe de Diálogo com o Usuário

Na documentação das interfaces com o usuário, foi utilizado o diagrama de sintaxe de diálogo, descrito por ROVIRA (1991). Esse tipo de documentação se presta a descrever formalmente os diálogos principais entre o usuário e o software. Caixas arredondadas representam janelas de diálogo, que no Microsoft™ Windows® podem representar quaisquer janelas com botões, menus ou qualquer objeto de interação com o usuário. Linhas simples representam possibilidades de execução, oferecidas ao usuário naquela janela. Os rótulos escritos acima das linha simples identificam as opções disponíveis e as caixas quadradas de dupla parede vertical representam as janelas de exibição sem opções de diálogo com o usuário.

ROVIRA (1991) desaconselha o uso de seu diagrama para documentos com forte orientação a objetos. Mesmo o AFNP tendo uma fraca orientação a objetos e eventos (induzida pelo sistema operacional MS Windows®), neste trabalho foi utilizado o diagrama de ROVIRA para a documentação de Sintaxe de Diálogo, uma vez que esse diagrama expressa com clareza e de forma intuitiva as principais opções que o usuário deverá fazer no uso do programa. A figura 12 descreve o diagrama de ROVIRA do AFNP, que pode ser bastante útil na operação do sistema, permitindo clareza na escolha das opções de diálogo com o software pelo usuário. Nas seções seguintes, algumas janelas do AFNP serão mostradas, cada uma delas tendo a sua representação no diagrama da Figura 12.

AVALIAÇÃO FUNCIONAL DE NERVOS PERIFÉRICOS DIAGRAMA DE SINTAXE DE DIÁLOGO (ROVIRA)

FIGURA 12 : Diagrama de sintaxe de diálogo (ROVIRA, 1991).

3.3.4 – Apresentação Gráfica dos Resultados

Os módulos de apresentação dos resultados foram criteriosamente projetados, para possibilitarem a visualização numa só janela dos gráficos de evolução temporal dos índices dos diferentes autores ou das medições efetuadas. Nessa mesma janela é oferecida a opção de visualização de gráficos de média e desvio padrão das variáveis estudadas.

3.4 – Validação do Software

Exaustivos testes de integridade de bancos de dados foram efetuados. A estrutura relacional foi testada em implementações anteriores do banco de dados, uma delas utilizada por OLIVEIRA (1995). Outros testes funcionais foram feitos, através da utilização do programa por OLIVEIRA (1998).

Após a correção de alguns problemas, o AFNP apresentou-se estável para uso em laboratório, com posterior aplicação por OLIVEIRA (1998).

4 – RESULTADOS

O trabalho resultou num *software* aplicativo, o AFNP, integrado e portátil em sistemas operacionais Microsoft™ Windows 95®, Windows 98® e Windows NT® versão 4.0 ou superior. A utilização de recursos gráficos do sistema operacional pelo AFNP, aliada à utilização do Borland™ Delphi® versão 2.0 (32 bits), resultou num programa que segue os padrões de interface com o usuário, para programas MS Windows®, tornando a sua utilização fácil e intuitiva. A utilização do padrão Borland™ Paradox®, por sua vez, resultou num banco de dados seguro e poderoso.

4.1 – O Software Aplicativo

O AFNP possui uma primeira janela, a principal, orientada a menu, através da qual o usuário faz a navegação para as janelas operacionais de edição de grupos, cadastramento de animais, execução das medições e geração de gráficos, conforme pode ser visto nas figuras 13 e 14.

FIGURA 13: Janela principal do AFNP, com item Arquivo ativado.

FIGURA 14 : Janela principal do AFNP, com item Relatório ativado.

4.1.1 – *Hardware* necessário

Para a utilização do AFNP pelo pesquisador de nervos periféricos, são necessários os seguintes itens de *hardware*:

1. Computador PC Pentium 100 Mhz ou superior
 - 1.1. 16 Mb de memória RAM ou mais;
 - 1.2. 500 Mb de espaço em disco rígido ou mais;
 - 1.3. Monitor de vídeo SVGA 800 x 600 ou maior;
 - 1.4. Mouse serial padrão ou mouse padrão Logitech™;
2. *Scanner* gráfico padrão de mesa;
3. Impressora gráfica.

4.1.2 – *Software* necessário

São necessários os seguintes itens de *software*:

1. Sistema operacional MS Windows 95®, ou MS Windows 98® ou Windows NT® versão 4.0 ou superior;
2. *Software* para aquisição de imagens.

4.2 – Operação do Sistema

A operação do sistema AFNP deve ser feita durante os trabalhos experimentais conduzidos pelo pesquisador.

4.2.1 – Criação dos Grupos Experimentais

No início dos trabalhos experimentais, na fase pré-operatória, o usuário deve criar os Grupo Experimentais, na janela apresentada na Figura 15. Os grupos devem ser criados, numerados (a partir do número 1), e nomeados (caixa de edição "Descrição"). A caixa de memória denominada "Notas" pode conter dados complementares ao grupo corrente. A navegação pode ser feita através do painel localizado acima dos campos de cada tabela.

Da mesma forma, ainda na janela de Grupos experimentais os animais são alocados no grupo pertinente, na tabela vista na Figura 15 numerados (a partir de 1). O campo "Notas", ao lado da tabela de animais, pode ser preenchido para observações acerca de cada animal, para acompanhamento futuro dos trabalhos experimentais.

Grupos

Nro do Grupo: 1

Descrição: Exerto de nervo

Notas

Nro_Grupo	Nro_Rato	Notas
1		2 (Memo)
1		3 (Memo)
1		4 (Memo)
1		5 (Memo)
1		6 (Memo)

Notas

FIGURA 15 : Janela de Grupos Experimentais, onde o AFNP disponibiliza os recursos de criação dos grupos experimentais e cadastramento dos animais pertencentes aos diferentes grupos.

4.2.2 - Entrada das Trilhas de Pegadas no AFNP

Após a formação dos grupos experimentais, o pesquisador deve entrar com os registros das trilhas de pegadas. As trilhas devem ser numeradas de 0 a n (n: número de semanas de avaliação no período pós-operatório) para cada animal. O registro da semana 0 é a gravação das pegadas obtidas no período pré-operatório. Os registros obtidos no período pós-operatórios serão numerados com o número da semana da gravação das pegadas, contando a partir da data da operação.

A entrada do registro das pegadas deve ser feita na janela de "Print Fooths", descrita na figura 16. Nesse momento, é necessário o uso de um programa de aquisição de imagens para inserção da imagem no AFNP. No programa do *scanner* (MS Imaging®, por exemplo), o usuário faz a aquisição da imagem. Depois disso, no programa do *scanner*, o usuário deve utilizar o recurso "Copy/Paste" do MS Windows®, copiando a imagem para a área de transferência, e em seguida colar a imagem no campo indicado na janela "TRILHAS DE PEGADAS", como indicado na figura 16.

Print Foots

Tabela de Grupos

2

Enxerto de Músculo

Tabela de Ratos

11

Tabela de Trilhas

Nro. Leitura	Data Leitura
6	4/7/97
7	4/21/97
8	5/5/97

FIGURA 16: Janela de TRILHAS DE PEGADAS onde é feita a criação e entrada das trilhas adquiridas no decorrer da pesquisa de nervos periféricos

4.2.3 Calibração do Sistema de Medição

Devido à grande variedade de equipamentos e resoluções de imagens, foi criada uma janela no AFNP para a calibração do sistema de medição, que pode ser vista na figura 17. Dessa maneira, é possível converter as coordenadas de tela (pixels) para o sistema métrico (mm).

A utilização deste procedimento compõe-se dos seguintes passos:

1. Obtenção de uma folha padrão de medidas conhecidas, como por exemplo duas retas, uma vertical e outra horizontal, de 100 milímetros cada;
2. Aquisição pelo *scanner* digital de imagens, utilizando a mesma configuração que o equipamento usará para as aquisições das trilhas de pegadas;
3. Copiar, via "*Copy/Paste*", a imagem padrão para a janela de calibração, como descrito na figura 17;
4. Preencher os campos disponíveis para a dimensão conhecida;
5. Marcar os pontos inicial e final para o segmento de reta vertical;
6. Repetir a operação 5 para o segmento de reta horizontal;
7. Após a calibração, clicar na tecla Salvar.

É importante ressaltar que este procedimento deve ser feito a cada mudança de configuração, ou ao menos uma vez na instalação do sistema.

FCalibr

Calibração de Escala de Medidas (mm)

Coordenadas de tela		Medidas de Calibração	
Horizontal	Vertical	Horizontal	Vertical
P1 (61,19)	P1 (352,18)	100 (mm)	100 (mm)
P2 (355,10)	P2 (355,313)	0.340 (mm/pixel)	0.2550 (mm/pixel)

Diagrama de calibração mostrando uma escala de 10cm horizontal e 10cm vertical, com uma escala diagonal de 10cm e 5cm. A escala horizontal é rotulada "10cm" e a vertical "10cm". A escala diagonal é rotulada "10" e "5".

Horizontal Vertical Salvar Cancelar

FIGURA 17 : Janela de Calibração do sistema métrico.

4.2.4 - Medição das Pegadas

O processo de medição das pegadas se torna relativamente simples e muito rápido com a utilização do AFNP. A partir de um clique duplo de mouse sobre a imagem gravada na janela de Trilhas de Pegadas, é aberta uma nova janela, a de Medições, descrita na figura 18. Nessa janela, para efetuar a medição, o pesquisador deve:

1. Navegar pela imagem e eleger as pegadas normal e experimental a serem medidas;
2. Observando o painel superior à esquerda da janela, selecionar a variável a ser medida;
3. Marcar os pontos de medida na imagem à esquerda;
4. Repetir os passos 2 e 3 para todas as variáveis;
5. Observar se as marcações estão corretas;
6. Clicar na tecla Calcula.

Concluída a medição de um registro, o pesquisador fecha a janela de Medições e pode repetir o procedimento sucessivamente, até concluir todos os registros de trilhas de pegadas entrados no sistema.

FIGURA 18 : Janela de Medições do AFNP.

4.3 – Apresentação Gráfica dos Resultados

Na janela principal do AFNP existe a opção de menu Relatório. Se essa opção for ativada, como na figura 14, o usuário terá duas outras opções de relatórios gráficos: gráficos de Medições (variáveis primárias) e gráfico de Índices Funcionais.

4.3.1 – Variáveis Primárias

A figura 19 descreve a janela de gráficos de variáveis primárias. Uma vez nessa janela, o usuário pode selecionar se deseja gráficos gerados para um animal em específico ou para um grupo. Se for selecionado gráfico para grupos, o sistema gera automaticamente os gráficos de média e desvio padrão, considerado o grupo selecionado no painel de navegação, localizado na porção superior da janela. À esquerda da janela, o usuário possui *check buttons*, para a seleção interativa das variáveis a serem observadas.

O pesquisador pode fazer observações interativas, comparando evoluções temporais das variáveis e, se desejar, um clique duplo em um dos dois gráficos habilita o botão “Imprimir”, possibilitando a sua impressão.

FIGRURA 19 : Janela de gráfico de medições.

4.3.2 – Índices Funcionais

A janela de gráficos de índices funcionais, vista na figura 20, é análoga à janela descrita na seção anterior, porém projetada para gerar gráficos comparativos entre os diferentes índices funcionais. Nas janelas de gráficos, temos também o botão Estatística, que abre a janela descrita na figura 21.

FIGURA 20 : Janela de gráfico de Índices.

FEstat

ÍNDICES FUNCIONAIS POR GRUPOS

Ciático de De Medinaceli:

Semana:	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Média:	7.2	-68.2	-61.5	-70.7	-68.6	-70.3	-67.0	-50.7	0.0	0.0	0.0
Desvio:	43.0	23.7	28.1	16.5	15.0	17.4	17.0	32.2	0.0	0.0	0.0
(n):	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	0

Ciático de De Goldberg:

Semana:	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Média:	15.5	-91.8	-80.9	-84.8	-85.4	-81.7	-77.7	-66.5	0.0	0.0	0.0
Desvio:	41.9	19.6	18.6	13.1	18.9	17.0	23.2	24.8	0.0	0.0	0.0
(n):	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	0

Ciático de De Mackinnon:

Semana:	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Média:	9.3	-94.8	-80.9	-87.4	-88.5	-87.1	-79.9	-77.6	0.0	0.0	0.0
Desvio:	35.3	13.2	15.0	6.8	11.8	19.4	21.4	16.1	0.0	0.0	0.0
(n):	9	9	9	9	9	9	9	9	0	0	0

FIGURA 21 : Janela de estatística

4.4 - Comparação dos Métodos de Avaliação

As figuras 22 e 23 descrevem a possibilidade de comparação entre os resultados obtidos pelas equações de diferentes autores.

FIGURA 22 : Comparação entre médias de índices

FIGURA 23 : Comparação entre desvio-padrão do índices.

4.5 – Aplicação do Método

Em sua versão final (1998), o software AFNP foi aplicado em dois trabalhos experimentais conduzidos no Laboratório de Bioengenharia da Disciplina Ortopedia e Traumatologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Os resultados apresentados nessa seção referem-se ao trabalho de OLIVEIRA (1998).

Produzindo lesões no nervo ciático de ratos, foram criados quatro grupos experimentais, conforme o procedimento reparativo realizado:

1. Enxerto de nervo;
2. Enxerto de músculo;
3. Ressecção segmentar;
4. Controle.

As gravações das pegadas foram feitas a intervalos semanais, começando com uma antes da operação e indo até a sétima semana pós-operatória, totalizando leituras. Todas as operações no AFNP foram efetuadas em aproximadamente 20 horas de trabalho, para um total de 40 animais. Consideradas as nove leituras por animal, foram totalizadas cerca de 360 trilhas de pegadas, que foram medidas e processadas para o cálculo dos índices descritos pelos autores citados anteriormente.

Nas figuras 24 e 25 são mostrados os gráficos comparativos para os grupos experimentais descritos.

FIGURA 24: Resultados da Aplicação por OLIVEIRA (1998)

FIGURA 25: Resultados da Aplicação por OLIVEIRA(1998)

5 - DISCUSSÃO

Algumas considerações podem ser feitas, se forem observados os diferentes métodos de avaliação funcional da marcha em ratos submetidos a lesão e diferentes tipos de reparo dos nervos ciático, peroneiro e tibial, tais como descritos por DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982), CARLTON & GOLDBERG (1986) e BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989). Sobre os trabalhos de por DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982), pode-se dizer que tiveram o mérito do pioneirismo de seus estudos, abrindo caminho para os demais, que na realidade foram suas versões aperfeiçoadas.

No que se refere às equações de CARLTON & GOLDBERG (1986) , podem ser apontados dois detalhes:

- 1- A equação do ciático remete à equação de DE MEDINACELI, FREED & WYATT (1982), sem considerar as distâncias *TOF- to opposite foot* e com um ajuste diferente da constante de peso, como visto na figura 26;
- 2- O índice funcional do peroneiro curiosamente é apenas um arranjo entre o índice funcional do ciático (SFI) e o índice funcional do tibial (TFI), conforme visto na Figura 26.

EQUAÇÃO (CIÁTICO) DE DE MEDINACELI (1982)

$$SFI = \left[\left(\frac{ETOF - NTOF}{NTOF} \right) + \left(\frac{NPL - EPL}{EPL} \right) + \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + \left(\frac{EIS - NIS}{NIS} \right) \right] \times 2.2 \times \frac{100}{4}$$

EQUAÇÕES DE GOLDBERG (1982)

$$SFI = \left[\left(\frac{NPL - EPL}{EPL} \right) + \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + \left(\frac{EIS - NIS}{NIS} \right) \right] \times 73$$

$$TFI = 125 \times \left(\frac{NPL - EPL}{EPL} \right) - 43.8 \times \left(\frac{ETS - NTS}{NTS} \right) + 252 \times \left(\frac{EIS - NIS}{NIS} \right)$$

$$PFI = 2 \times SFI - TFI$$

$73 = 2.2 \times 100 / 3$

?

FIGURA 26: Características das equações de CARLTON & GOLDBERG(1986)

Já nos trabalhos de BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989) observa-se um rigoroso e elaborado processo matemático e estatístico, realizado pelos autores, que culminaram por dar ao método maiores relevância e confiabilidade. As expressivas análises de variância significativa, aplicadas às variáveis medidas e aos fatores determinados, esgotam a discussão sobre as medições que devem ou não compor as equações de índices funcionais. Por outro lado, o método de análise de regressão linear de múltiplas variáveis atribui constantes de peso, que verdadeiramente caracterizam equações independentes para os diferentes nervos analisados. Outro ponto importante a observar nas equações de BAIN, MACKINNON & HUNTER (1989) é que estas equações não levam em seus

denominadores nenhuma variável lida na pegada experimental, o que reduz o desvio padrão dos índices calculados em relação aos dos outros autores.

No registro da marcha, foi feita a opção pelo método do papel impregnado com azul de bromofenol, proposto por LOWDON, SEABER & URBANIAK, em lugar do registro em filmes de raios-X, considerando que aquele método é mais prático, mais econômico, produz imagens mais nítidas e apresenta alta correlação de resultados e aproveitamento dos registros.

O *software* AFNP-USP, resultado deste trabalho, apresenta como diferença fundamental dos demais métodos computadorizados a portabilidade, ou seja, pode ser instalado e utilizado por qualquer usuário (pesquisador de nervos periféricos) em qualquer instituição ou laboratório. Sua utilização, tornada fácil e intuitiva pelo padrão de interface MS Windows™, habilita o pesquisador a escolher, mediante análise dos gráficos resultantes, o(s) índice(s) de seu interesse, dentre aqueles disponíveis dos autores mencionados anteriormente. A análise dos gráficos de desvio-padrão de variáveis primárias permite a localização e identificação de registros de marcha problemáticos, que podem então ser retrabalhados ou desprezados. Comparações entre aplicação dos diferentes métodos podem ser feitos em cada trabalho especificamente.

Alguns dos benefícios inerentes ao uso do *software* podem ser citados: a) A alta performance permite o uso de um número maior de animais por grupo e um número maior de grupos, permitindo resultados estatísticos mais confiáveis; b) A sua utilização permite padronização entre diferentes aplicações dentro de um mesmo centro de pesquisas, diminuindo o esforço de orientação e aumentando a produtividade acadêmica; c) O sistema gera relatórios gráficos seletivos, que podem ser impressos e diretamente concatenados aos textos dos trabalhos dos pesquisadores.

6– CONCLUSÕES

- 1 AFNP-USP (Avaliação Funcional de Nervos Periféricos –USP) é um *software* portátil, o que assegura a sua utilização em diferentes estudos de regeneração de nervos;
- 2 A utilização deste método é fácil e intuitiva, por aderir aos padrões de interface com o usuário para *softwares* que “rodam” sobre MS Windows™ 95/NT/98;
- 3 Pelo fato de oferecer ao pesquisador de nervos periféricos (usuário) uma maior performance no processo de avaliação, este pode ampliar o número de animais no estudo, tendo melhores resultados estatísticos, maior rendimento e economia de tempo;
- 4 O uso desse *software* permite que o pesquisador observe e confronte os diferentes índices funcionais dos diferentes autores, através dos gráficos de médias e desvios padrões, deixando para o pesquisador a escolha dos índices a serem utilizados em seus resultados.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAIN, J.R.; MACKINNON, S. E.; HUNTER, D. A. (1989) – Functional evaluation of complete sciatic, peroneal and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconst Surg.*, **83**: 129-138.
- CARLTON, J. M. & GOLDBERG, N. H. (1986) – Quantitating Integrated muscle function following reinnervation. *Surg Forum*, **37**: 611-612.
- DATE, C. J. (1988) – Banco de Dados: tópicos avançados / C.J.Date; tradução Newton Dias de Vasconcellos; revisor técnico Nelson Luiz Correa Rabelo. – Rio de Janeiro: Campus.
- DeMARCO, T. (1989) – Análise Estruturada e Especificação de Sistemas / Tom DeMarco; tradução de Maria Beatriz Gomes Soares Veiga de Carvalho. – Rio de Janeiro : Campus.
- DE MEDINACELI, L.; FREED, W. J.; WYATT, R. J. (1982)– An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp. Neuro*, **77** : 634-643.
- DE MEDINACELI, L.; DERENZO, E.; WYATT, R. J. (1984) – Rat sciatic functional index data management system with digitized input. *Comput. Biomed Res.*, **17** : 185-192.
- LOWDON, I. M. R.; SEABER A. V.; URBANIAK, I. R. (1988) – Na improved method of recording rats tracks for measerements of the sciatic functional index of De Medinaceli. *J. Neurosci Meth.*, **24** : 279-281.

OLIVEIRA, E. F (1995). Estudo experimental da recuperação das lesões do nervo ciático por esmagamento – Análise funcional da marcha e correlação morfométrica. Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP.

OLIVEIRA, E.F.: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP (1998). Dados não publicados. Tese de Doutorado em andamento.

ROVIRA, C. A. (1990) – Rovira Diagrams – These simple diagrams help analysts and designers plan, code, and debug user interface routines. *Computer Language, janeiro*: 59-67.

8 – BIBLIOGRAFIA COMPLEMENTAR

BOOCH, G. (1991) – Object Oriented Design with applications. California, The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc.

EZZELL, BEM. (1991) – Programação Gráfica em Turbo C++: Uma Abordagem Orientada por Objeto: Tradução Carlos Henrique Mink e Armênio Torres Santiago Cardoso; Rio de Janeiro. Editora Ciência Moderna Ltda.

Gonazales, R. C.; Woods, R. E. (1993) – Digital Image Processing . New York. Addison-Wesley Publishing Company.

HEINRY, LOREN. (1993) – Advanced graphics programming using C/C++. New York, John Wiley & Sons, Inc.

HEINRY, LOREN. (1993) – Programação Gráfica para Windows com Borland C++ / Loren Henry; tradução Renata Barbosa da Silva Neto e Marcelo Pettengill. – Rio de Janeiro : LTC-Livros Técnicos e Científicos Ed.

Holzner, S. (1993) – Programando com o Visual C++ / Steven Holzner; Tradução de Luiz Fernando Diniz Junqueira. – Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora.

KOVÁCS, ZSOLT LÁSZLO. (1997) - O Cérebro e a sua mente: uma introdução à neurociência computacional/ Zsolt Laszlo Kovács – São Paulo: Edição Acadêmica.

LANGSAM, Y.; AUGENSTEIN, M. J.; TENENBAUM, A. M. (1996) – Data structures using C and C++. Second edition. New Jersey, Prentice Hall.

Microsoft ODBC 2.0 Programmer's Reference and SDK Guide. The Microsoft Open Database Standard for Microsoft Windows™ and Windows NT™ (1994). New York. Microsoft Press.

PAGE-JONES, MEILIR. (1988) – Projeto estruturado de sistemas / Meilir Page-Jones ; tradução Silvia Maria Almeida Barros, Eliana Maria Lene Gotilla, Zileia Francisca dos Santos. – São Paulo : McGraw-Hill.

RUBENKING, N. J. (1996) – Programação em Delphi para Leigos / Neil J. Rubenking; Tradução: Ana Beatriz dos Santos Pereira. – São Paulo: Berkeley Brasil.

SCHILDT H. (1989) – Linguagem C: Guia prático e interativo / Herbert Schildt; tradução Lars Gustav Erik Unonius; revisão técnica Cláudio Gaiger Silveira, Mônica Soares Rufino, Bix Informática. –São Paulo : McGraw-Hill.

SCHILDT H. (1989) – C avançado: guia do usuário / Herbert Schildt; tradução Cláudio Gaiger Silveira; revisão técnica Mônica Soares Rufino. São Paulo: McGraw-Hill.

SCHILDT H. (1996) – Programando em C C++ com Windows 95 / Herbert Schildt; tradução Lars Gustav Erick Unonius; revisão técnica José Carlos F. Guimarães. – São Paulo: Makron Books.

TENENBAUM, AARON M. (1986) – Data structures using PASCAL. New Jersey, Prentice Hall.