

## **APRENDIZAGEM INTERDISCIPLINAR: DESENVOLVIMENTO DE INCUBADORA DE OVOS DE GALINHA PARA REALIZAÇÃO DE ENSAIOS CIENTÍFICOS**

**Marcos E. Nepomuceno** – marcos.nepomuceno@unifeb.edu.br  
Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos - unifeb  
Av. Professor Roberto Frade Monte, 389  
14.783-226 – Barretos – São Paulo

**Patricia A. de Andrade** – patiiamoroso@gmail.com  
Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos - unifeb  
Av. Professor Roberto Frade Monte, 389  
14.783-226 – Barretos – São Paulo

**Breno Q. Shimoyama** – breno\_shimoyama@hotmail.com  
Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos - unifeb  
Av. Professor Roberto Frade Monte, 389  
14.783-226 – Barretos – São Paulo

**Kémily de F. Lago** – kemilyfaria.lago@hotmail.com  
Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos - unifeb  
Av. Professor Roberto Frade Monte, 389  
14.783-226 – Barretos – São Paulo

**Resumo:** O relato deste artigo se refere a uma experiência interdisciplinar entre os cursos de Engenharia Elétrica e Física Médica. Refere-se à construção de uma incubadora de ovos para pesquisa de medicamentos contra o câncer. Utilizou-se uma câmara fria comercial e um controlador indicador de temperatura e umidade digital da marca FullGauge. O projeto foi desenvolvido por professores e alunos dos cursos acima citados e coordenado pelo Centro de Inovação Tecnológica (CIT) do UNIFEB de Barretos, S.P. A boa interação técnica entre pesquisadores do Hospital de Câncer de Barretos, professores e alunos do UNIFEB foi fundamental para o êxito da proposta inicial.

**Palavras-chave:** Ensino interdisciplinar. Incubadora. Angiogênese.

### **1 INTRODUÇÃO**

O Hospital de Câncer de Barretos promove atendimento hospitalar, especializado em oncologia, em âmbito nacional, para pacientes do Sistema Único de Saúde, apoiando

programas de prevenção, ensino e pesquisa. Os serviços prestados são de qualidade e com valores como amor, honestidade, humildade, ética e respeito. Esse hospital trouxe uma demanda ao Centro de Inovações Tecnológicas (CIT) do UNIFEB, quanto à criação de uma incubadora de ovos de galinha, capacitada com sistema eletrônico de controle e monitoramento em tempo real de temperatura, umidade e esterilização da câmara interna por luz ultravioleta. Tal equipamento, ainda não existente no mercado, será voltado para a área de pesquisa científica na busca de tratamentos contra o câncer. Este é um dos projetos apoiados pelo Programa de Apoio à Pesquisa do Hospital.

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), a cada ano, 12,7 milhões de pessoas são diagnosticadas com câncer e 7,6 milhões morrem devido à doença. Estimativas apontam um aumento drástico nestes números até 2030 (DECLARAÇÃO MUNDIAL CONTRA O CÂNCER, 2008). Levando em consideração estes números é que entram as pesquisas na busca de novos métodos e medicamentos na luta contra o câncer.

Dentre os modelos experimentais de substâncias antiangiogênicas, encontra-se o ensaio *in vivo* de membrana corioalantoica de embrião de galinha, um modelo simples e de baixo custo que fornece um estudo complexo da migração e proliferação tumoral (RIBATTI, 1996; ADAIR; MONTANI, 2011; EGOSHI; ZISCHLER, 2015; CURY, 2016). Existem grandes vantagens em se utilizar o embrião como hospedeiro, tais como: o embrião é capaz de sustentar células de diferentes origens; além disso, as proteínas da matriz celular do embrião se assemelham com o ambiente fisiológico natural do tumor e outra vantagem é a gama de veículos que podem ser utilizados, como papel filtro, agarose, metilcelulose, colágeno, que facilitam o crescimento vascular (ADAIR; MONTANI, 2011).

Para avaliar a proliferação tumoral e angiogênese *in vivo*, geralmente é utilizado o ensaio de membrana corioalantoide (CAM) (MARTINHO et al., 2013; MARTINHO et al., 2012; CARUANA et al., 1998). Desta forma, para o ensaio de membrana corioalantoide (CAM), ovos de galinha fertilizados são incubados a 37°C e 70% de umidade, em que no terceiro dia de desenvolvimento, uma janela é aberta na casca dos ovos, sendo coberta com fita adesiva e retornarão à incubação. No nono dia de desenvolvimento, são injetadas células tumorais, aproximadamente  $3 \times 10^6$  células serão ressuspensas em 20  $\mu$ l de matrigel e colocadas/injetadas sobre a CAM. No 13º dia, os tumores formados serão fotografados *in ovo* utilizando Stereomicroscópio (Olympus SZ2-LHAD). Caso seja de interesse do estudo, após fotografar os tumores formados no 13º dia, é possível avaliar o papel de inibidores, sendo utilizada uma concentração fixa (IC50) em 20  $\mu$ l de DMEM (0% SFB e 0% P/S) e colocado sobre os tumores. No 17º dia (72 horas após a incubação com o inibidor), os tumores são fotografados novamente *in ovo*. Os ovos de galinhas são sacrificados a -80°C por 10 minutos, e a CAM de cada um é retirada, fixada em paraformaldeído 4% e fotografada *ex ovo*, além de ser incluída em parafina para análises histológicas posteriores. O perímetro dos tumores são medidos utilizando o ImageJ nos dias 13 e 17. Os resultados são expressos por meio da média da porcentagem do crescimento dos tumores de cada grupo, do dia 13 (considerado como 0%) até o dia 17,  $\pm$  SD. Para o descarte, os ovos são autoclavados (CURY, 2016).

Levando-se em consideração os dados de ocorrências de novos casos hoje e a estimativa para estes até 2030, 26 milhões de novos casos e 17 milhões de mortes, fica claro que medidas preventivas devem ser tomadas. Os custos com o câncer, na economia, sem considerar gastos médicos, com mortes prematuras e invalidez, chegam a US\$1 trilhão.

Devido a estes custos e à alta taxa de mortalidade é que se investe grandemente na área de pesquisa. A incubadora utilizada no processo de pesquisa de métodos de tratamentos já existe no mercado, porém não apresenta todos os recursos necessários para a pesquisa de

estudo, ministração dos medicamentos para controle da angiogênese e apresenta também um elevado preço de compra.

Na busca de novos métodos de tratamento, foi construído um equipamento desenvolvido pelo Centro de Inovações Tecnológicas – CIT do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos – UNIFEB - uma incubadora, que será de grande valia para o estudo de ministração dos medicamentos para controle da angiogênese.

## 2. OBJETIVO

Produzir uma incubadora de ovos de galinha com sistema eletrônico de controle e monitoramento de temperatura e umidade no qual devem estar previstos mecanismos de esterilização por meio de luz germicida UV, que possa registrar em tempo real todos os controles do processo.

## 3. METODOLOGIA

A incubadora de ovos foi confeccionada no Centro de Inovações Tecnológicas- CIT, do Centro Universitário da Fundação Educacional de Barretos- UNIFEB. O projeto consistiu na adaptação de uma câmara fria (fig1), cedida pelo Hospital de Câncer de Barretos, a qual passou por uma adaptação elétrica e mecânica. Foi adicionada uma resistência na câmara interna cuja função é provocar o aquecimento da mesma, um ventilador para forçar a ventilação dentro da câmara e um umidificador de ar por ultrassom.

Figura 1 - Câmara fria comum.



Fonte: [www.ethaik.com.br](http://www.ethaik.com.br)

Os requisitos do aparelho para atender os fins científicos foram especificados pelos pesquisadores do Hospital de Câncer de Barretos sendo câmara interna e grades em aço inoxidável, com capacidade de 300 ovos, dotado de suporte em nylon autoclavável para a sustentação dos mesmos. O ajuste de temperatura deve atender um range de 15 a 40°C com ventilação forçada e umidade controlada na faixa de 45 a 70%. Fazem-se necessários



monitoramento e registro em tempo real da temperatura e umidade assim como alarme de segurança contra queda de energia ou mudança na temperatura e umidade interna.

Para este controle, foi aplicado um controlador e indicador de temperatura e umidade digital da marca FullGauge (fig.2). Este possui três saídas, uma para controle de temperatura, outra para umidade e a terceira, uma saída auxiliar que foi usada para ligar o compressor da câmara fria no caso da temperatura interna tender a ultrapassar o valor dos 37°C. Além disso, monitora em função do tempo, conforme configurado pelo usuário, o status das saídas, tornando possível verificar se a variável controlada está sendo alcançada ou não e pode enviar estes dados para um computador através de um canal serial RS485. Este controlador também possui um alarme sonoro interno, para avisos de ocorrências fora do padrão.

Figura 2 - Controlador FullGauge.



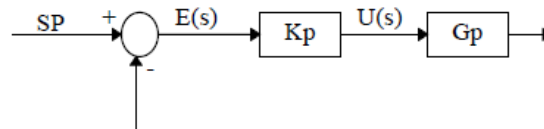
Fonte: Autor

#### 4. DESENVOLVIMENTO

O controlador marca FullGauge aplicado é um equipamento de mercado de baixo custo que opera com controle PID (Proporcional, Integral e Derivativo) e a calibração do controlador (sintonização de controladores) consiste em deduzir, partindo da resposta do sistema, quando este é sujeito a entradas específicas, determinados valores que vão permitir o cálculo dos referidos parâmetros. A vantagem deste procedimento é não existir necessidade de conhecer o modelo do sistema (por vezes muito difícil de determinar). Pode-se assim concluir que se deverá recorrer a este procedimento somente quando o custo de calibração do controlador for inferior ao custo associado à análise do sistema e o projeto do controlador estiver adequado.

Deve-se usar o método analítico que consiste em sintonizar os modos PID para uma aplicação específica de modo que, determinados critérios de desempenho, sejam verificados. Este é usado sempre que a função de transferência do sistema é conhecida (OGATA, 2010).

Ação Proporcional: neste tipo de controlador a relação entre a sua saída e o sinal de erro,  $e(t)$ , é dada por:

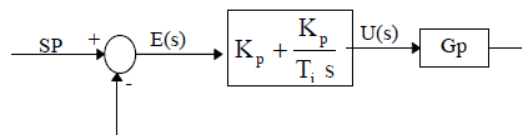


(1)

$$u(t) = K_p e(t) \xrightarrow{L} U(s) = K_p E(s)$$

Já que  $K_p$  é designado por ganho proporcional. Um controlador proporcional consiste essencialmente num amplificador com ganho ajustável. Uma característica importante desta ação de controle é a existência de um erro residual permanente sempre que ocorre uma alteração de carga, e o sistema que se pretende controlar seja do tipo 0. O erro estacionário que é dependente de  $K_p$  e da carga pode ser minimizado por um aumento de  $K_p$ . No entanto deve-se notar que o aumento deste parâmetro conduz a um aumento do tempo de estabelecimento e eventualmente até à instabilidade.

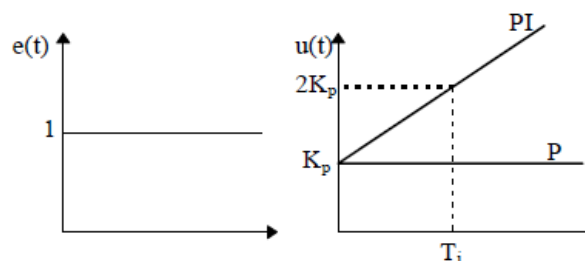
Ação Proporcional – Integral: se considerar-se que a saída do controlador é agora função do erro e do integral do erro, está-se diante de um controlador proporcional – integral:



(2)

$$u(t) = K_p \left( e(t) + \frac{1}{T_i} \int_0^t e(\tau) d\tau \right) \xrightarrow{L} U(s) = K_p \left( 1 + \frac{1}{T_i s} \right) E(s)$$

Já que  $T_i$  (tempo integral) é o tempo necessário para que a contribuição da ação integral igual à da ação proporcional. Este tempo é expresso em segundos ou minutos.

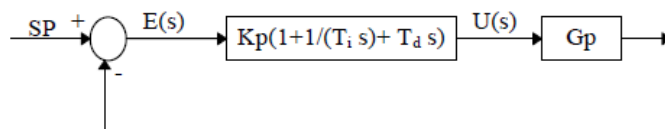


(3)

A componente integral, ao adicionar um polo na origem da função de transferência do controlador, elimina o erro estacionário de posição, independentemente do sistema que se pretende controlar. Se, por um lado, como já referido anteriormente, a ação integral elimina o erro estacionário, por outro, aumenta o tempo de estabelecimento e piora a estabilidade relativa, o que usualmente é indesejável.

Ação Proporcional – Integral – Derivativa: este modo resulta da combinação dos modos proporcional, integral e derivativo. Pode-se afirmar que resulta num compromisso

entre as vantagens e desvantagens de um PI e as vantagens de um PD. A saída do controlador é dada por:



(4)

$$u(t) = K_p \left( e(t) + \frac{1}{T_i} \int_0^t e(\tau) d\tau + T_d \frac{de(t)}{dt} \right) \xrightarrow{L} U(s) = K_p \left( 1 + \frac{1}{T_i s} + T_d s \right) E(s)$$

Neste tipo de controlador, o modo integral é usado para eliminar o erro estacionário causado por grandes variações de carga. O modo derivativo, com o seu efeito estabilizador, permite um aumento do ganho e reduz a tendência para as oscilações, o que conduz a uma velocidade de resposta superior quando comparado com P e PI. No entanto, estas propriedades assumem um caráter geral e podem existir exceções em determinados sistemas. Geralmente, para uma função de transferência em cadeia aberta com a seguinte forma:

$$\frac{1}{s^2 + 2\xi\omega_n s + \omega_n^2}$$

(5)

Um  $K_p$  elevado tem o efeito de reduzir o tempo de subida e o erro estacionário (sem nunca o eliminar). O controle integral terá como efeitos, por um lado, eliminar o erro estacionário e por outro piorar a resposta transitória, isto é, torná-la mais oscilatória. Sempre que se utiliza controle integral, deve-se testar inicialmente com um  $K_p$  reduzido. A utilização do controle derivativo tem como principal consequência uma melhoria da estabilidade do sistema, reduzindo a sobre-elevação e melhorando a resposta transitória. Os efeitos na resposta, do sistema em malha fechada, de adicionar os modos proporcional, integral e derivativo podem ser verificados na tabela 1 abaixo:

Tabela 1- Efeitos na resposta

Resposta CF	Tempo de Subida	Sobre-elevação	Tempo de Estabelecimento	Erro Estacionário
Proporcional	Diminuição	Aumento	Sem alteração	Diminuição
Integral	Diminuição	Aumento	Aumento	Elimina
Derivativo	Sem alteração	Diminuição	Diminuição	Sem alteração

Fonte: OGATA, 2010

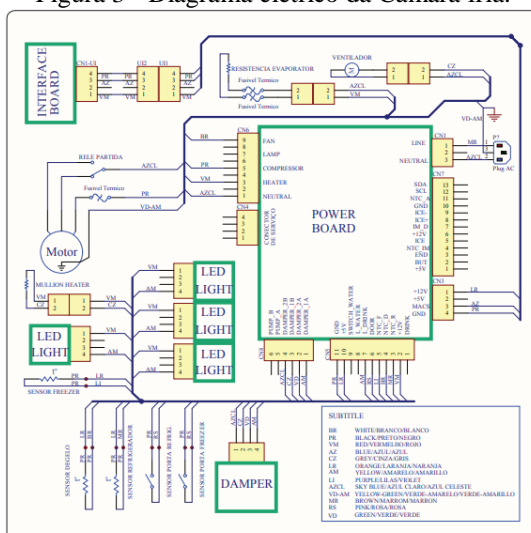
Quanto à decisão do tipo de controlador a usar numa determinada aplicação, não é possível obter uma resposta definitiva. Idealmente, o controlador mais simples que satisfaça à “resposta desejada” é o que deve ser escolhido. No entanto, esta é uma escolha que geralmente só se pode fazer quando a aplicação é simples ou quando existe alguma informação relativa a aplicações semelhantes.

Para o projeto em questão, o controlador utilizado da marca FullGauge se mostrou eficiente para a resposta esperada na estabilidade da temperatura e umidade.

Foi montado um circuito paralelo ao original da câmara fria, preservando-se, na íntegra, o original (fig.3), permitindo desta forma que a incubadora possa aquecer ou refrigerar.



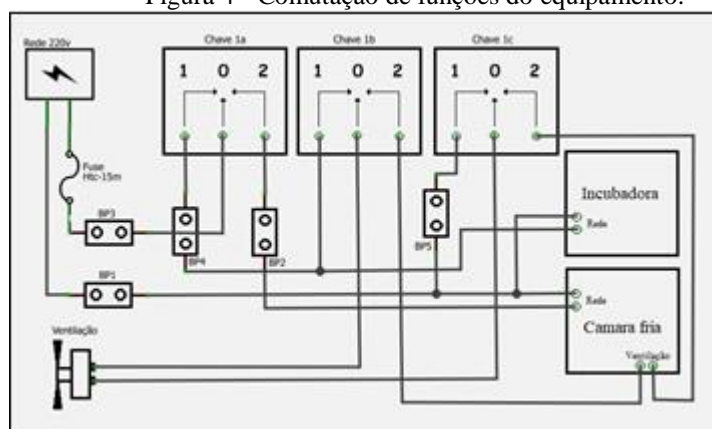
Figura 3 - Diagrama elétrico da Câmara fria.



Fonte: <http://www.parcrivierasg.co/schematics/r22-wiring-diagram.html>

No diagrama (fig.4) abaixo, tem-se o circuito de comutação do equipamento desenvolvido, no qual a chave comutadora, quando selecionada na posição “1”, converte a câmara fria para incubadora e quando selecionado a posição “2”, tem-se a função da câmara fria convencional.

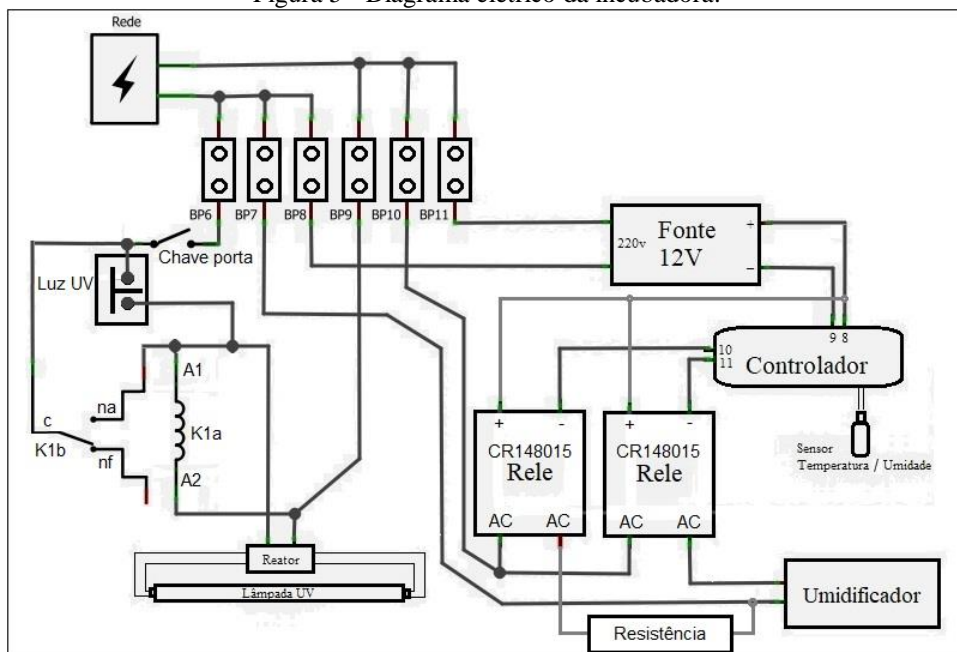
Figura 4 - Comutação de funções do equipamento.



Fonte: Autor

O circuito de controle da temperatura e umidade controlado pelo FullGauge (fig. 2), foi montado conforme topologia apresentada no diagrama elétrico que se segue (fig.5.):

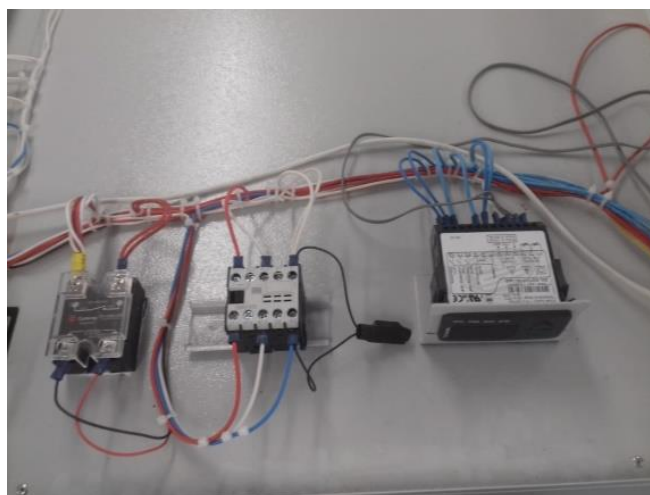
Figura 5 - Diagrama elétrico da incubadora.



Fonte: Autor

As fotos na sequência (fig. 6 e 7) apresentam o circuito do controlador montado assim como a câmara fria adaptada para a função de incubadora.

Figura 6 - Circuito elétrico do controlador da incubadora.



Fonte: Autor.



Figura 7 - Montagem da incubadora.



Fonte: Autor

## 5. CONCLUSÃO

Quanto aos objetivos do próprio CIT, este projeto pôde contribuir primorosamente coma colocação em prática de conteúdos de disciplinas do curso da Engenharia Elétrica; a vivência e o treinamento de competências, habilidades e atitudes (CHA) no decorrer de todas as fases do projeto; e, por fim, a incorporação do rigor científico desde os primeiros passos do planejamento por meio do levantamento bibliográfico inicial até a escrita e a submissão deste presente artigo.

O equipamento se mostrou eficiente, pois a incubadora apresenta as especificidades técnicas exigidas pela pesquisa experimental contra o câncer. As incubadoras comerciais além de serem de alto custo não apresentam todos os requisitos exigidos para tais pesquisas.

A integração entre os cursos de Engenharia Elétrica e Física Médica ocorreu por meio do Centro de Inovação Tecnológica (CIT) do UNIFEB, conforme proposta inicialmente elaborada para tal finalidade. A boa interação técnica entre pesquisadores do Hospital de Câncer de Barretos, professores e alunos do UNIFEB foi fundamental para o êxito da proposta inicial.

## REFERÊNCIAS

ADAIR, T.H.; MONTAIN, J.P. **Angiogenese**. Morgan & Ciências da Vida de Claypool, New Jersey p. 9-18, 2011.

CARUGANA, G; CAMBARERI, AC; GONDA, TJ; ASHMAN, LK. **Transformation of NIH3T3 fibroblasts by the c-Kit receptor tyrosine kinase: effect of receptor density and ligand- requirement**. Oncogene, 1998.

CURY, F.P. **Papel funcional das isoformas GNNK+ E GNNK- DE KIT em glioblastoma**: Dissertação apresentada ao programa de PósGraduação da Fundação Pio XII- Hospital de

Câncer de Barretos para obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Oncologia, Barretos, 2016

DECLARAÇÃO MUNDIAL CONTRA O CÂNCER, 2008. Disponível em:  
[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes\\_programas/site/home/internacional/declaracao\\_mundial\\_contra\\_cancer](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/acoes_programas/site/home/internacional/declaracao_mundial_contra_cancer). Acesso em: 23 fev. 2018.

EGOSHI, C; ZISCHLER, P. Quantificação da Angiogênese Induzida por Tumor em Membrana Cariolantóica de Embrião de Galinha. Biosciencejournal, Uberlândia, v.31, n.1, p. 303-310, 2015.

MARTINHO, Olga; Granja, Sara; JARAQUEMADA, Teresa; CAEIRO, Cláudia; MIRANDA-GONÇALVES, Vera; HONAVAR. Mrinalini. **Downregulation of RKIP is associated with poor outcome and malignant progression in gliomas**. Acesso em: 23 Jan. 2012

MARTINHO, Olga; SILVA-OLIVEIRA. Renato; MIRANDA-GONCALVES. Vera; CLARA. Carlos; ALMEIDA. José Reynaldo; CARVALHO. André Lopes. **In Vitro and In Vivo Analysis of RTK Inhibitor Efficacy and Identification of Its Novel Targets in Glioblastomas**. Acesso em: 1 Abr. 2013

OGATA, Katsuhiko. **Engenharia de controle moderno**. 5ª edição, Prentice Hall, 2010.

RIBATTI D., VACCA A., RONCALI L., DAMMACO F. **The chick chorioalantoic membrane as a model for in vitro research on angiogenesis**. 1996.

**INTERDISCIPLINARY LEARNING:  
INCUBATORY DEVELOPMENT OF CHICKEN EGGS TO CARRY OUT SCIENTIFIC  
TESTS**

**Abstract:** *The report of this article refers to an interdisciplinary experience between the Electrical Engineering and Medical Physics courses. Refers to the construction of an egg incubator for research on cancer drugs. A commercial cold chamber and a controller and temperature and humidity indicator FullGaugewere used. The project was developed by professors and students of the courses mentioned above and coordinated by the Technological Innovation Center (CIT) of UNIFEB of Barretos, S.P. The good technical interaction between researchers at Cancer Hospital of Barretos, S.P., UNIFEB teachers and students was fundamental to the success of the initial proposal.*

**Key-words:** *Interdisciplinary teaching, Incubator, Angiogenesis.*