

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**  
**UNICAMP**  
**FACULDADE DE ENGENHARIA ELÉTRICA**  
**DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA BIOMÉDICA**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia Elétrica da UNICAMP como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Elétrica.

**TÍTULO: CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA RELAÇÃO FORÇA-FREQÜÊNCIA NO ÁTRIO ESQUERDO DE RATO.**

**AUTOR:** José Luis Puglisi

**ORIENTADOR:** Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa

**CO-ORIENTADOR:** Prof. Dr. José Wilson Magalhães Bassani

Campinas, São Paulo, 1992

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por JOSÉ LUIS PUGLISI e aprovada pela Comissão Julgadora em 15 / 10 / 1992.

*[Assinatura]*  
Orientador

1228787

" ... O inferno dos vivos não é algo que será; se existe, é aquele que já está aqui, o inferno no qual vivemos todos os dias, que formamos estando juntos. Existem duas maneiras de não sofrer. A primeira é fácil para a maioria das pessoas: aceitar o inferno e tornar-se parte deste até o ponto de deixar de percebê-lo. A segunda é arriscada e exige atenção e aprendizagem contínuas: tentar saber reconhecer quem e o que, no meio do inFEErno, não é inferno, e preservá-lo, e abrir espaço. "

Italo Calvino, *As cidades invisíveis*.

Dedico este trabalho aos meus Pais,  
Pedro e Enriqueta, pelo seu perma-  
nente apoio nestes difíceis anos.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Prof. Dr. José Wilson Magalhães Bassani, meu "Mestre Espiritual" e Guia iluminador desta tese.

Agradeço ao Prof. Dr. Eduardo Tavares Costa, quem assumiu a tarefa de Orientador cumprindo-a com eficácia e dedicação, e ao Prof. Dr. Sergio Santos Mühlen pela sua amizade e sugestões para esta tese.

A Samuel E. de Lucena pela sua gentil e valiosa colaboração na correção do manuscrito da tese.

A Marcelo Gurjão de Godoy pela sua amizade e companheirismo no Laboratório de Bioengenharia do Centro de Engenharia Biomédica da UNICAMP.

A Gilson pela sua ajuda na parte experimental da tese.

A Karla Rocha e Paulo Antonino pela sua amizade e permanente alegria durante estes anos.

A Josué B. de Paula pela leitura dos últimos capítulos e sugestões.

A Marcio Nagae pela sua ajuda.

A Verónica Valentinuzzi pela sua companhia. Com ela aprendi a virtude da paciência.

Aos demais Professores, colegas e amigos do Departamento de Engenharia Biomédica.

Agradeço ao Governo do Brasil por possibilitar a realização do Curso de Pós-Graduação neste país, e ao CNPq pelo auxílio financeiro, pelo qual eu sou profundamente grato.

## RESUMO

A influência do intervalo entre os batimentos na geração da força de contração tem sido objeto de numerosas tentativas de modelamento. Koch-Weser e Blinks postularam que as variações da força com a frequência poderiam ser analisadas em termos de : (1) A Contração de Estado de Repouso; (2) O Efeito Inotrópico Negativo da Ativação - EINA; e (3) O Efeito Inotrópico Positivo da Ativação - EIPA. Baseando-se nesta hipótese, foi implementado um modelo para simular os efeitos da frequência na força de contração.

Os parâmetros correspondentes ao EINA, EIPA e CER foram obtidos experimentalmente utilizando a técnica da Estimulação Cardíaca Programada em átrio esquerdo de rato. Os dados experimentais foram então utilizados na simulação em computador do modelo por meio de uma linguagem de alto nível.

## ABSTRACT

The influence of the interval between beats in the force of contraction has been subject of several attempts of modelling. Koch-Weser e Blinks stated that the force-interval relationships could be described in terms of: (1) the Rested State Contraction - RSC; (2) the Positive Inotropic Effects of Activation - PIEA and (3) the Negative Effects of Activation - NIEA. Based on that hypothesis, a model has been developed in order to simulate the effects of the frequency in the force of contractions.

The RSC, PIEA and NIEA parameters were obtained experimentally using the Cardiac Programed Estimulation in the left rat atrium. Therefore the experimental data were used to perform the computer simulation with a high level language.

## INDICE

### Capítulo 1

Conceitos Básicos.....	1
Generalidades.....	2
Estrutura da Célula Muscular Cardíaca.....	3
Teoria dos Filamentos Deslizantes.....	6
Acoplamento Excitação-Contração (E-C).....	7

### Capítulo 2

A Relação Força-Frequência.....	11
Resenha Histórica.....	12
Hipótese de Koch-Weser e Blinks.....	19
Modelo da Variação da Força de Contração.....	22

### Capítulo 3

Objetivos.....	25
----------------	----

### Capítulo 4

Materiais e Métodos.....	27
Parte Experimental.....	28
Simulações.....	52

### Capítulo 5

Resultados e Discussão.....	60
-----------------------------	----

### Capítulo 6

Conclusões.....	72
-----------------	----

### Capítulo 7

Bibliografia.....	75
-------------------	----

### Apêndice I

Tabelas, Gráficos e Registros.....	78
------------------------------------	----

### Apêndice II

Listagem do Programa.....	100
---------------------------	-----

# Capítulo 1

## Conceitos Básicos

"...Existem mais coisas no átrio  
esquerdo do rato, do que pode  
imaginar a tua vã filosofia."

J.W.M.B.

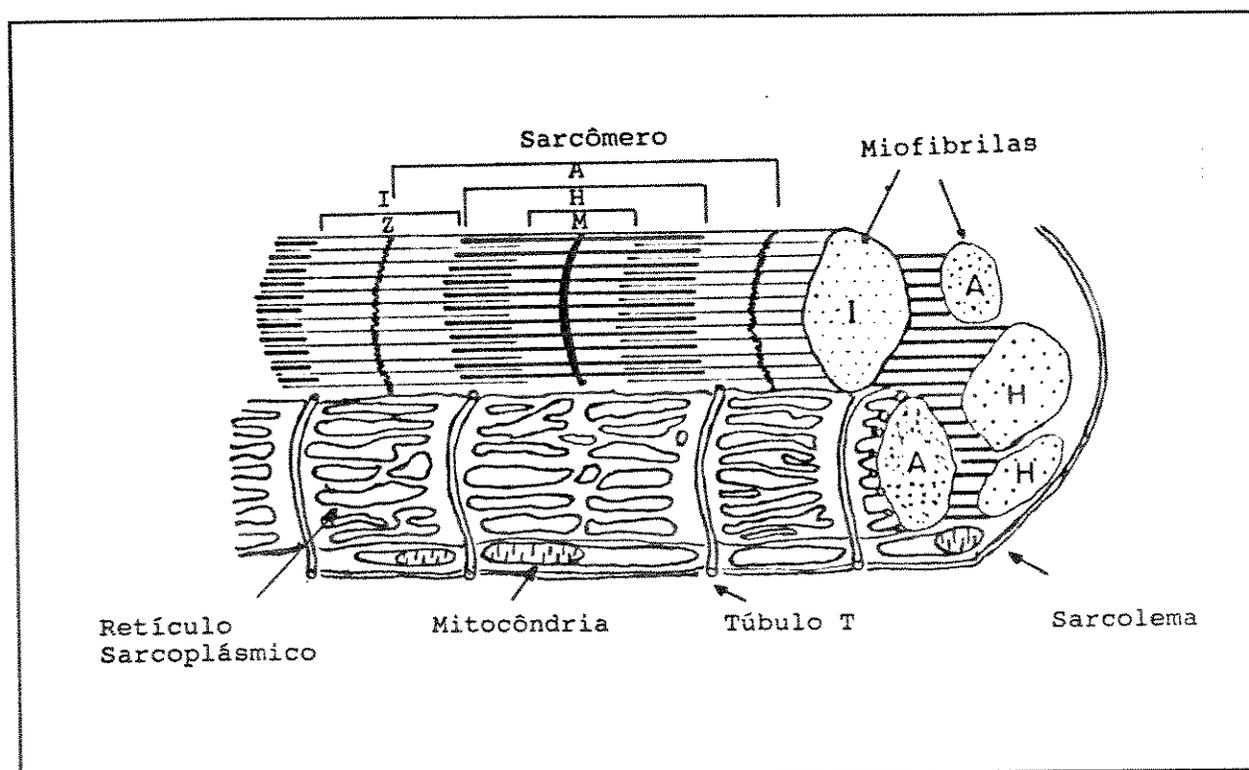
## Generalidades

A característica básica de qualquer tipo de músculo é a conversão de energia química proveniente da hidrólise do ATP em trabalho mecânico, a contração. Os músculos apresentam para a execução desta conversão um sistema altamente organizado. A contração de uma fibra cardíaca não difere fundamentalmente da contração de uma fibra muscular esquelética. Embora do ponto de vista estrutural haja algumas diferenças importantes entre estas fibras, o processo contrátil ao nível dos miofilamentos é essencialmente o mesmo. Muitos conceitos formulados a partir de estudos em músculo esquelético mostraram-se aplicáveis à fibra cardíaca.

A fibra muscular cardíaca, quando comparada à esquelética, apresenta menor número de miofibrilas, maior quantidade de mitocôndrias, discos intercalares com baixa resistência elétrica, túbulos transversos de maior diâmetro e um retículo sarcoplásmico menos desenvolvido. O desencadeamento de um potencial de ação em um ponto da musculatura cardíaca ocasiona a contração de toda a massa muscular. Já as fibras do músculo esquelético, por estarem eletricamente isoladas, contraem-se individualmente. Por último, a velocidade de encurtamento e a tensão desenvolvida são menores no músculo cardíaco do que no músculo esquelético.

## Estrutura da Célula Muscular Cardíaca

Na microscopia óptica, a célula muscular cardíaca apresenta zonas claras e escuras alternadas. Essas bandas se repetem ao longo de toda a célula. As regiões mais claras foram denominadas bandas I (isotrópicas) e as bandas adjacentes mais escuras bandas A (anisotrópicas). Dividindo uma banda I em duas partes simétricas, observa-se uma linha escura denominada de linha Z (Fig.1.1).



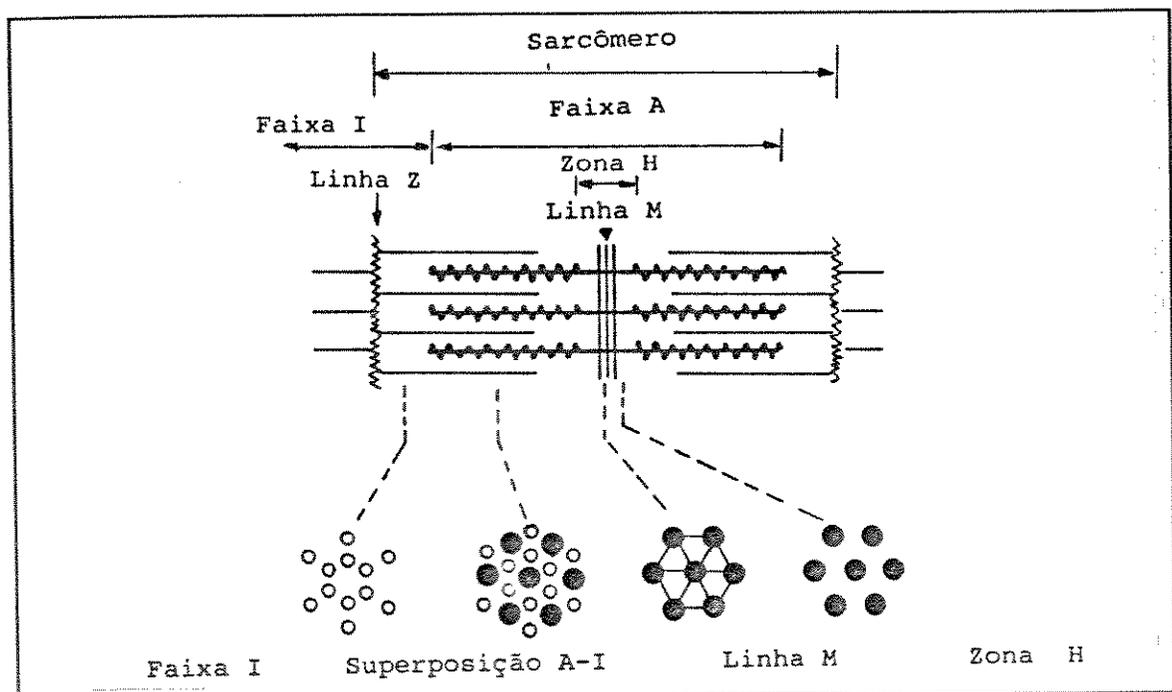
**Figura 1.1** Desenho ilustrando as relações entre os elementos da membrana e a treliça de filamentos. (Redesenhado de Murphy, R.A., 1990).

Com o advento do microscópio eletrônico foi possível estudar com maiores detalhes a estrutura da célula muscular. Cortes longitudinais mostraram que, estendendo-se de uma ponta a outra da célula, acham-se numerosas fibrilas denominadas miofibrilas. Hanson e H.E. Huxley em 1955 mostraram que as miofibrilas são constituídas por duas espécies de filamentos, sendo que um deles é aproximadamente duas vezes mais grosso que o outro.

O sarcômero, espaço compreendido entre duas linhas Z, é a unidade contrátil da célula. Inserindo-se na linha Z e dirigindo-se para a região central do sarcômero, localizam-se os filamentos finos. Esses filamentos são agregados proteicos, constituídos principalmente de actina. Na zona central do sarcômero, entremeados entre os filamentos finos, encontram-se os filamentos mais grossos. Os filamentos grossos são também agregados proteicos em que a principal proteína é a miosina. Os filamentos finos e grossos entram em contato entre si, por um sistema intrincado de pontes que desempenham um papel essencial na contração.

As bandas A identificadas na microscopia ótica correspondem às regiões do sarcômero em que os filamentos finos se superpõem aos filamentos grossos. São regiões da célula de maior conteúdo proteico. Por outro lado, as bandas I correspondem às regiões de filamentos de actina e linha Z. As diversas miofibrilas da célula estão organizadas de tal modo que as linhas Z de uma miofibrila estão na mesma altura das linhas Z da miofibrila adjacente. Dessa forma, quando se observa uma banda A ou I da célula com microscópio,

estas representam a soma de todos os sarcômeros das diversas miofibrilas daquela região. Na parte central da banda A distingue-se uma zona pouco mais clara denominada zona H. Esta zona corresponde à região em que se encontram somente os filamentos grossos. Em cortes passando por regiões onde os filamentos finos se superpõem aos grossos, pode-se observar que cada filamento grosso está circundado por seis filamentos finos em arranjo hexagonal (Fig. 1.2).



**Figura 1.2** Esquema longitudinal e corte transversal mostrando as relações entre os filamentos finos e grossos de um sarcômero. (Redesenhado de Murphy, R.A., 1990).

## **Teoria dos Filamentos Deslizantes**

Uma vez conhecida a estrutura básica das miofibrilas, foi possível estudar as variações estruturais durante o processo de contração. A.F. Huxley e Niedergerke, em 1954 (Murphy, 1990), observaram que, tanto durante o encurtamento como no estiramento, a dimensão da banda A permanece constante, ao passo que o comprimento da banda I varia com o grau de comprimento e/ou estiramento. À medida que o músculo diminui de comprimento, observa-se um deslizamento dos filamentos finos em direção à região central do sarcômero, levando a uma progressiva diminuição da banda I e da zona H, sendo que esta última desaparece nos grandes encurtamentos do sarcômero.

Como as miofibrilas estendem-se de um polo a outro da célula e são constituídas de diversos sarcômeros alinhados em série, a contração destes leva a uma diminuição no tamanho do músculo. A energia necessária para que se dê o deslizamento dos filamentos durante a contração provém da hidrólise de ATP, ao nível das pontes cruzadas existentes entre os dois filamentos.

## Acoplamento Excitação-Contração (E-C)

O acoplamento E-C envolve o aumento da concentração de cálcio intracelular -  $[Ca^{++}]_i$ , a difusão do cálcio para o filamento fino, e a alteração estrutural no filamento fino que permita a ciclagem das pontes cruzadas e, conseqüentemente, a interdigitação dos filamentos. Para que o relaxamento aconteça, o cálcio deve ser removido do espaço intracelular até os valores iniciais da concentração intracelular.

A primeira evidência de que o cálcio poderia transmitir o sinal dado pelo potencial de ação na superfície da membrana para a maquinaria contrátil no interior da fibra muscular veio dos experimentos de Heilbrunn e Wiercinski em 1947 (Ebashi, 1991). Eles descobriram que a injeção de íons cálcio, ainda que em pequenas concentrações, produzia contrações prolongadas na musculatura, efeito que não era compartilhado por nenhum outro cátion (Reiter, 1988)

Uma vez identificado o cálcio como "segundo mensageiro" (isto é, um íon ou uma molécula que se difunde para o aparelho contrátil fibrilar e regula o ciclo das pontes cruzadas), surgiu o problema de que no músculo cardíaco, a quantidade de cálcio que entrava pelos canais voltagem-dependentes era insuficiente para produzir uma contração. Bassingthwaigthe e Reuter (1972) assumiram que  $Ca^{++}$  adicional era liberado por

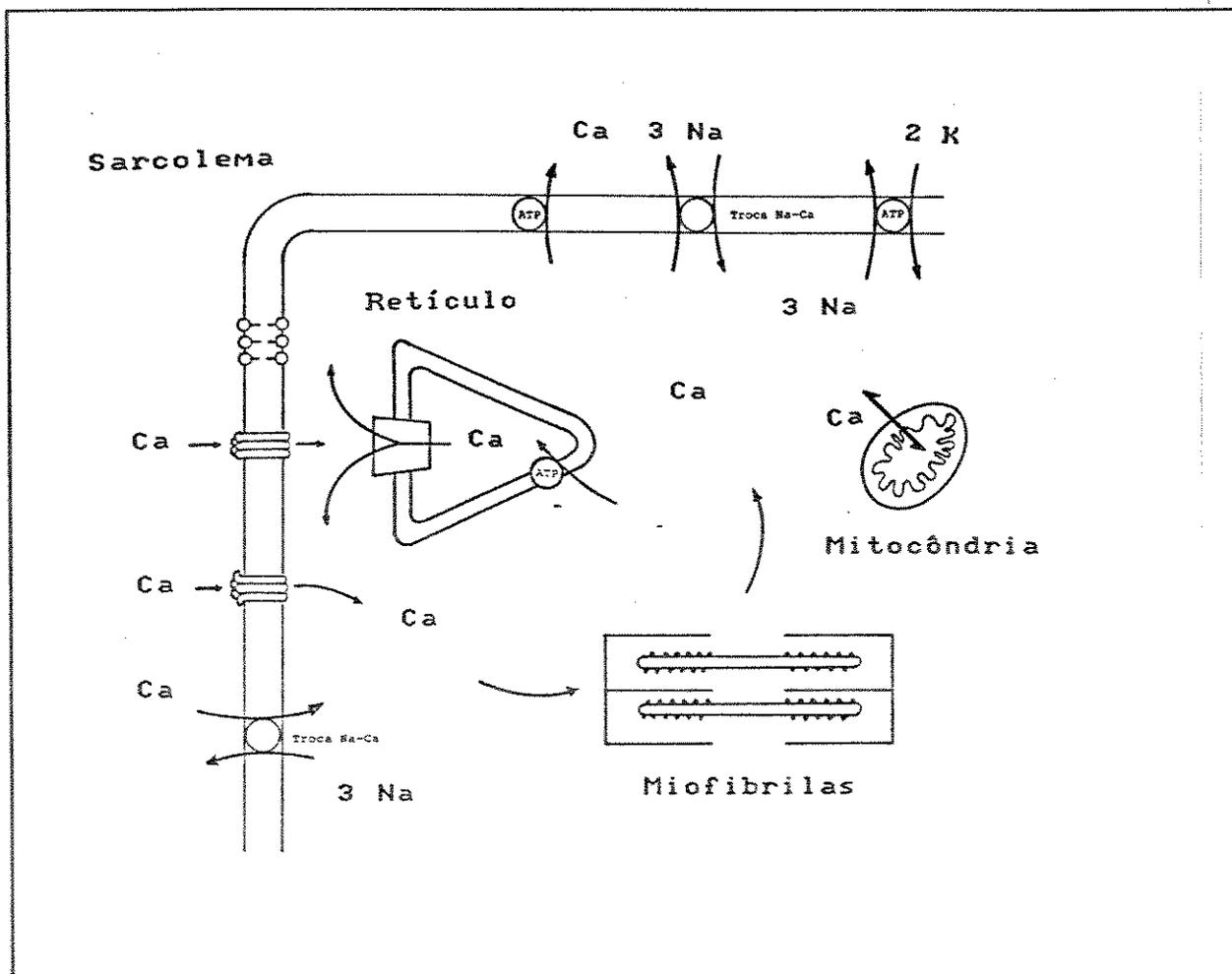
compartimentos internos. Fabiato e Fabiato (1975) postularam uma teoria que ligava a liberação de  $\text{Ca}^{++}$  de sítios internos com o "gatilho" da corrente de  $\text{Ca}^{++}$  trans-membrana: A "Liberação de Cálcio Induzida pelo Cálcio" (Calcium Induced Calcium Release). Segundo esta teoria, a corrente de  $\text{Ca}^{++}$  serviria para induzir a liberação do  $\text{Ca}^{++}$  que foi armazenado no Retículo Sarcoplásmico (RS). Este acúmulo de  $\text{Ca}^{++}$  teria sido feito através de bombas do RS durante o relaxamento da fibra (Fabiato, A. e Fabiato, F., 1975; Fabiato, A., 1985).

Outros mecanismos que serviriam para abaixar a  $[\text{Ca}^{++}]_i$  seriam as bombas de  $\text{Ca}^{++}$  presentes no sarcolema, e a troca Na/Ca. Esta última utilizaria o gradiente do Na para drenar o Ca. Podendo ser um processo bi-direcional, serviria tanto para aumentar a  $[\text{Ca}^{++}]_i$  durante a contração, quanto para diminuí-la durante a diástole (Vetter e Will, 1986). Por último um outro compartimento que poderia acumular grandes quantidades de  $\text{Ca}^{++}$  intracelular seria a mitocôndria. Ela poderia captar Ca por meio de um transporte unidirecional ("uniporter") e, por sua vez, liberar Ca para o citosol por meio da troca Na/Ca mitocondrial. Porém, não teria um papel muito importante na regulação "batimento a batimento", senão para certas situações, nas quais a célula se encontre com uma sobrecarga de Ca, como ocorre nos processos isquêmicos (Bers, 1990).

Resumindo : Durante o potencial de ação cardíaco, o Ca pode entrar na célula via canais voltagem-dependentes (mais de um tipo de canal) e também via troca Na/Ca, esta última operando em sentido inverso. Esse Ca pode contribuir diretamente para a ativação dos miofilamentos e pode também ativar a liberação de Ca pelo retículo sarcoplásmico. Os filamentos são ativados pela combinação do influxo de Ca e da liberação de Ca pelo RS.

Para que o relaxamento ocorra, o Ca deve ser retirado do citoplasma. Pelo menos três processos estão envolvidos na remoção: a recaptação de Ca para o RS pela bomba de Ca do RS, o transporte de Ca para fora da célula via troca Na/Ca e a extrusão de Ca pela bomba de Ca do sarcolema [Fig. 1.3].

Qualquer desbalanceamento nos fluxos de Ca leva a ganho ou perda na quantidade resultante do íon, o que pode depletar ou sobrecarregar a célula, com sérios prejuízos ao seu desempenho contrátil, ou mesmo dano irreversível (Bassani, 1991).



**Figura 1.3** Diagrama esquemático da regulação da concentração de cálcio da célula muscular cardíaca. (Redesenhado de Bassani, J.W.M. Relatório de Atividades. 1991).

## **Capítulo 2**

# **A Relação Força-Frequência**

"... O modelo não é uma cópia da realidade, senão uma síntese do conhecimento."

J.W.M.B.

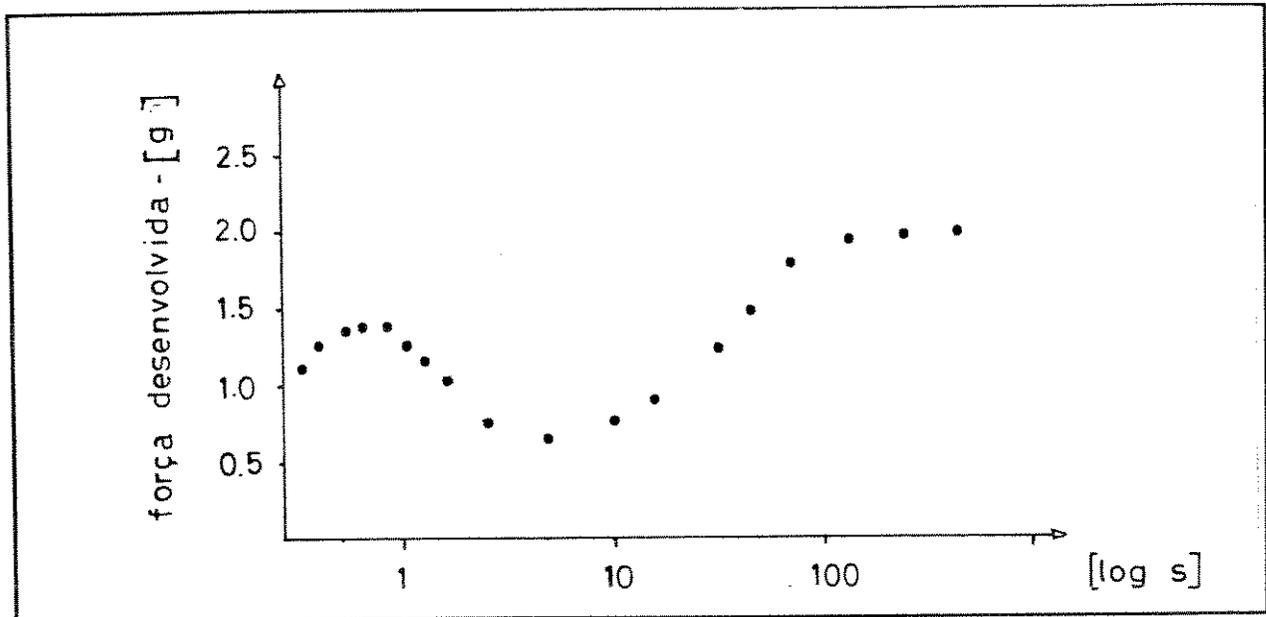
## Resenha Histórica

Desde os primeiros trabalhos de Bowditch (1871) e os de Woodworth (1902), a relação força-frequência tem intrigado inúmeros pesquisadores (Koch-Weser e Blinks, 1963). A experiência pioneira de Bowditch mostrou que, no coração de sapo, quando reiniciava-se a estimulação após uma pausa, a força de contração aumentava desde um valor pequeno até o valor de regime. Ele chamou a este incremento gradual na força de contração de fenômeno de "Escada" (Meijler, 1962). Este experimento simples teve o grande mérito de chamar a atenção dos pesquisadores para a dependência da força da contração do músculo cardíaco com o intervalo entre os batimentos. A partir daí, numerosos experimentos foram feitos para observar as características dessa relação.

Observou-se que o fenômeno varia de classe para classe, seja anfíbio ou mamífero, e dentro da mesma classe difere de animal para animal. E no mesmo animal depende do tipo de tecido, atrial ou ventricular, obtendo-se registros particulares para cada caso.

Por exemplo, na Figura 2.1 pode-se observar a relação força-frequência do átrio de gato em função de distintas sequências estimulatórias. Para intervalos prolongados a contração possui uma grande intensidade. À medida que o intervalo entre as contrações diminui, a força decresce até um certo valor para depois começar a aumentar, atingindo um pico em 0.5 Hz, continuando a cair novamente.

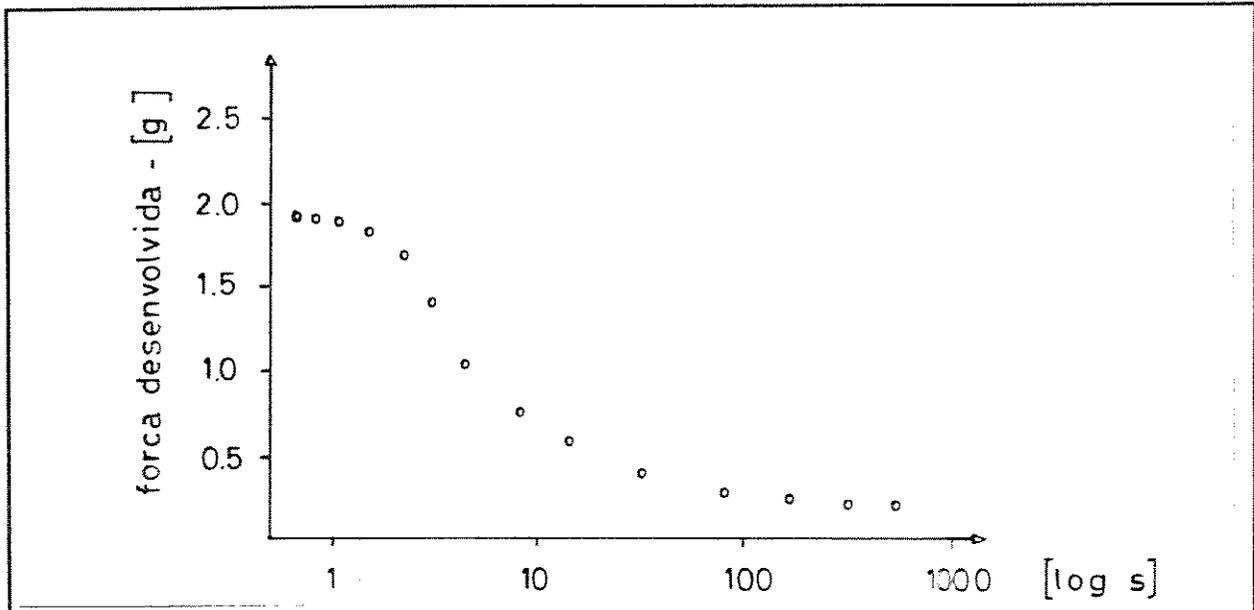
Já o ventrículo do gato apresenta um comportamento radicalmente diferente [Fig. 2.2]. Neste caso o músculo papilar de gato desenvolve uma força de pouca intensidade para os grandes intervalos, aumentando quando o intervalo diminui.



**Figura 2.1** Relação força-frequência de átrio de mamífero (átrio de gato). A ordenada representa a força desenvolvida, a abscissa o logaritmo do intervalo entre batimentos. Redesenhado de Koch-Weser e Blinks, 1963.

Para os anfíbios, o ventrículo de sapo mostra uma relação força-frequência diferente das anteriores [Fig. 2.3]. Para intervalos de 1000 segundos, a força resultante é pequena, cresce ao diminuir o intervalo até 2,5 segundos, para depois começar a cair.

Nas mudanças entre duas frequências regulares, o padrão também difere para cada caso particular. A Figura 2.4 mostra a evolução temporal da força de contração no átrio de gato quando se varia a frequência de 2 Hz para 4 Hz. Vê-se que a força começa a cair até atingir um mínimo, continuando a crescer lentamente até atingir seu novo valor de regime.

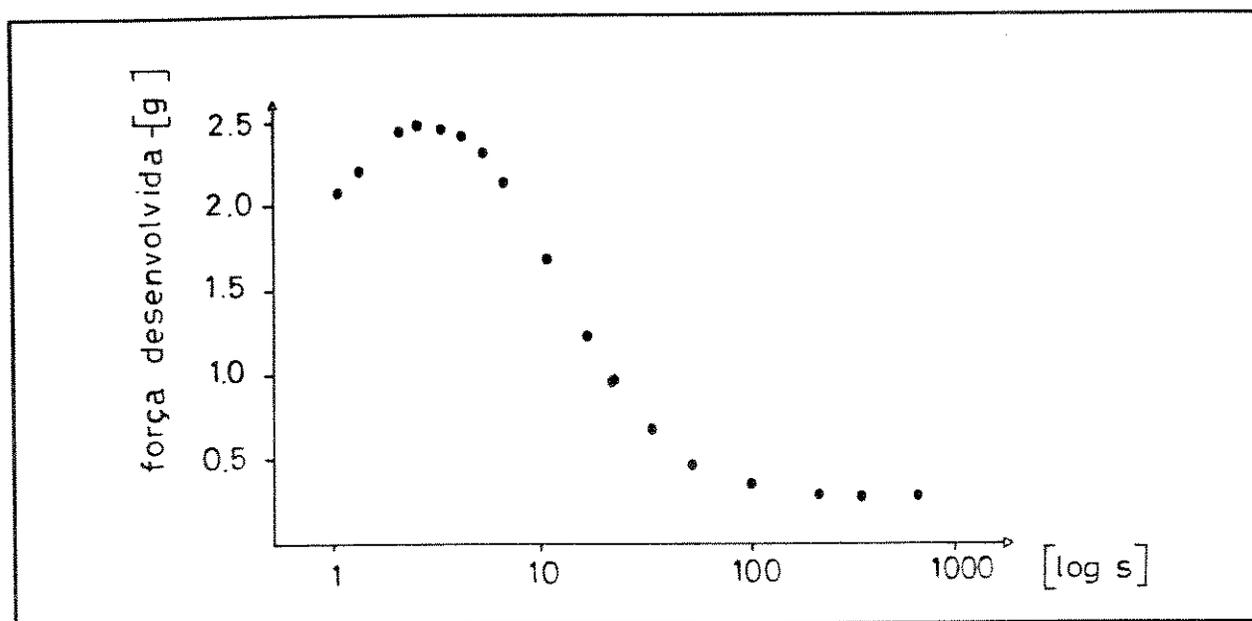


**Figura 2.2** Relação força-frequência do ventrículo de mamífero (músculo papilar de gato). Redesenhado de Koch-Weser e Blinks, 1963.

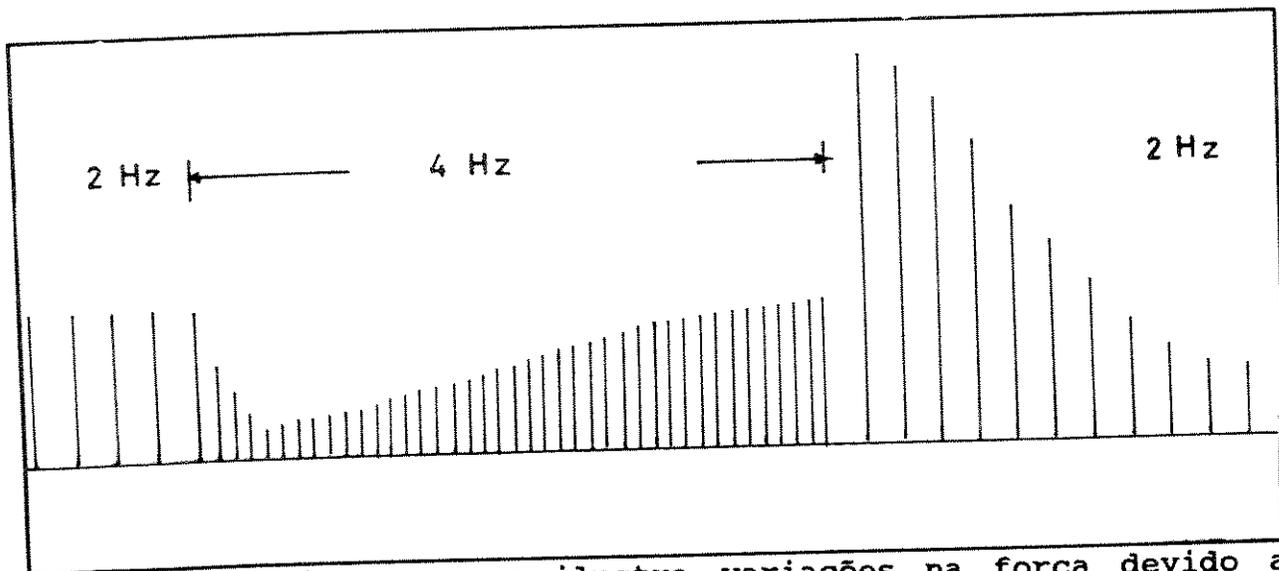
No músculo papilar de gato, quando é variada a frequência de 0,5 Hz para 1 Hz, existe um "transiente" nos primeiros batimentos após a mudança em frequência, seguido por um crescimento do tipo exponencial na força [Fig. 2.5].

Por último, no ventrículo de sapo, quando a frequência de estimulação varia de 0,1 Hz para 0,5 Hz a força aumenta monotonicamente segundo ilustra a Figura 2.6.

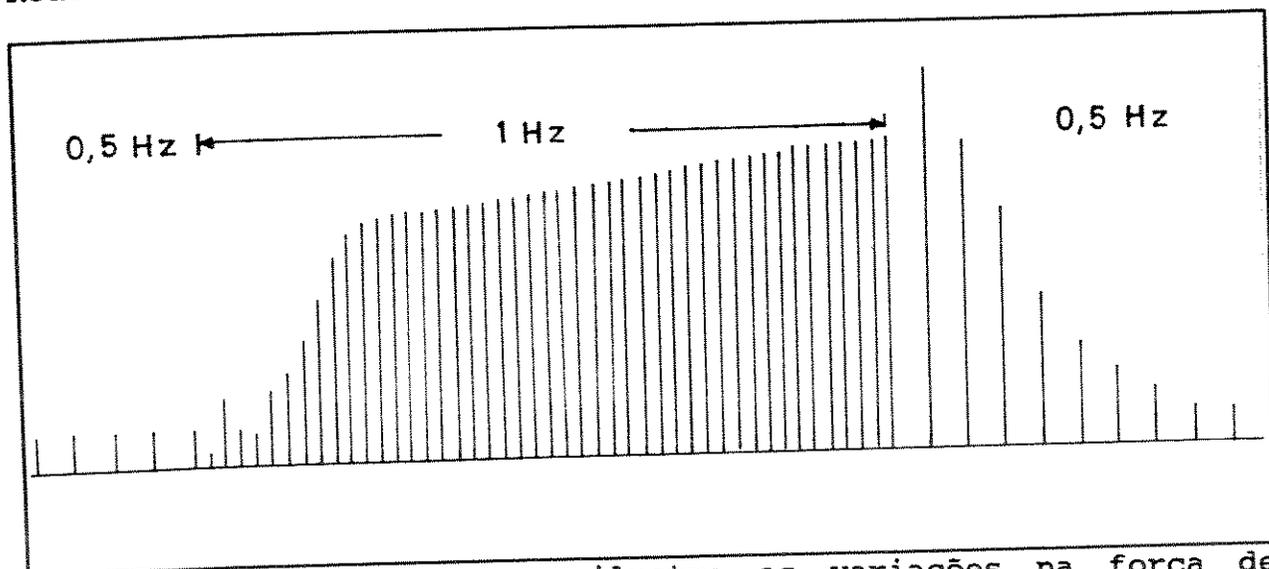
Também foi explorado o efeito das pausas entre os batimentos e a inclusão de extra-estímulos [Figs. 2.7 e 2.8].



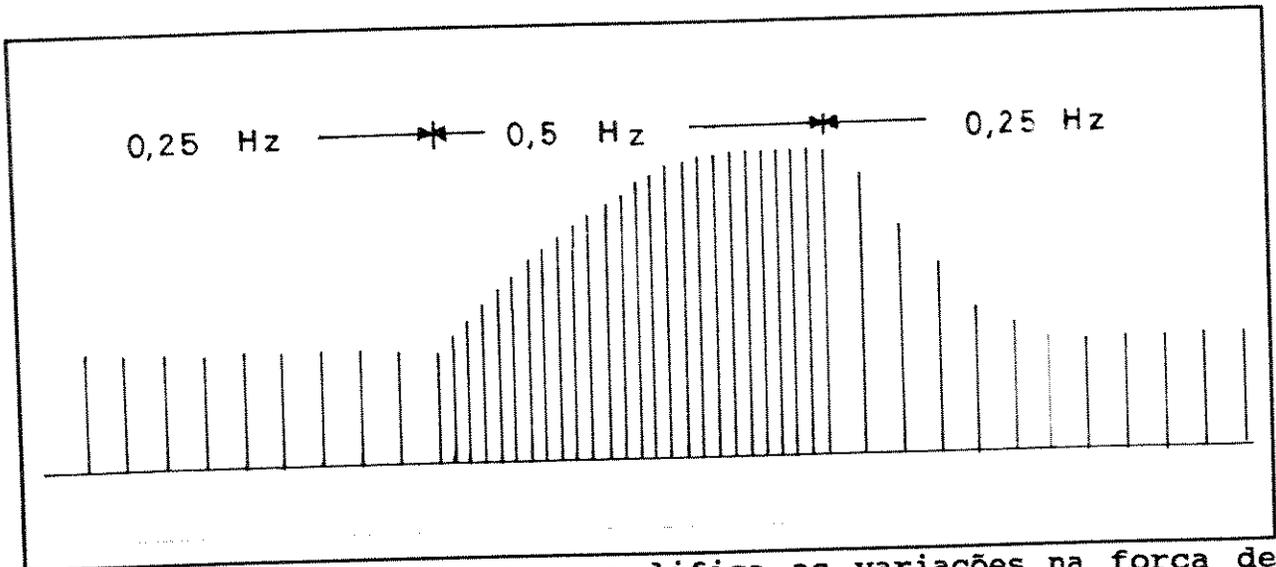
**Figura 2.3** Relação força-frequência do ventrículo de sapo. Redesenhado de Koch-Weser e Blinks, 1963.



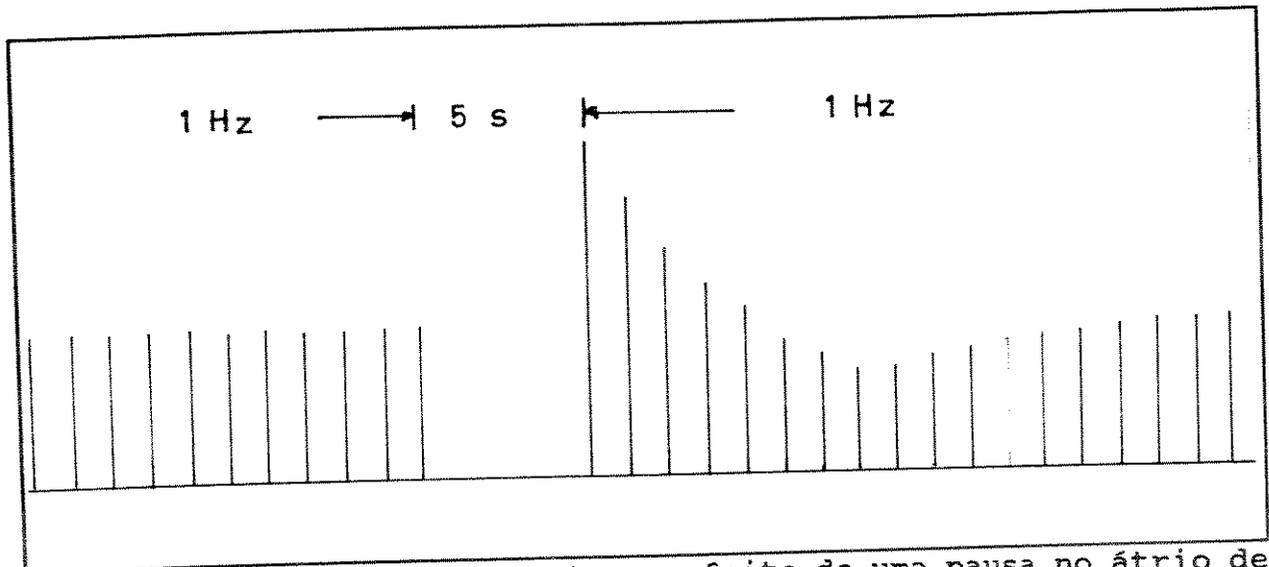
**Figura 2.4** Diagrama que ilustra variações na força devido a mudanças de uma frequência regular para outra no átrio de gato. Redesenhado de Koch-Weser e Blinks, 1963.



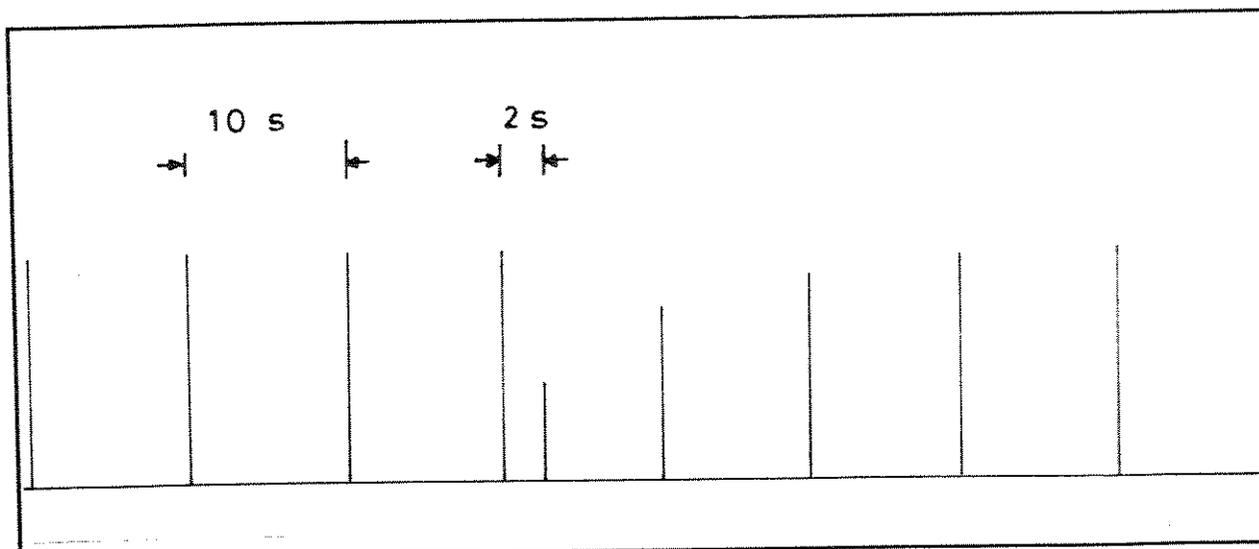
**Figura 2.5** Diagrama que ilustra as variações na força de contração do músculo papilar de gato ante mudanças na frequência de estimulação. Redesenhado de Koch-Weser e Blinks, 1963.



**Figura 2.6** Diagrama que exemplifica as variações na força de contração no ventrículo de sapo quando alterada a frequência dos estímulos. Redesenhado de Koch-Weser e Blinks, 1963.



**Figura 2.7** Diagrama que mostra o efeito de uma pausa no átrio de mamífero. Redesenhado de Koch-Weser e Blinks, 1963.



**Figura 2.8** Diagrama que mostra o efeito de um extra-estímulo no átrio de mamífero. Redesenhado de Koch-Weser e Blinks, 1963.

Em face destes resultados, surgiu uma ampla nomenclatura para a descrição desses fenômenos, tais como "Escada Positiva", "Escada Negativa", "Potenciação Pós-pausa", "Potenciação Pós-extra-sistólica", "Potenciação Pós-estimulação", etc.

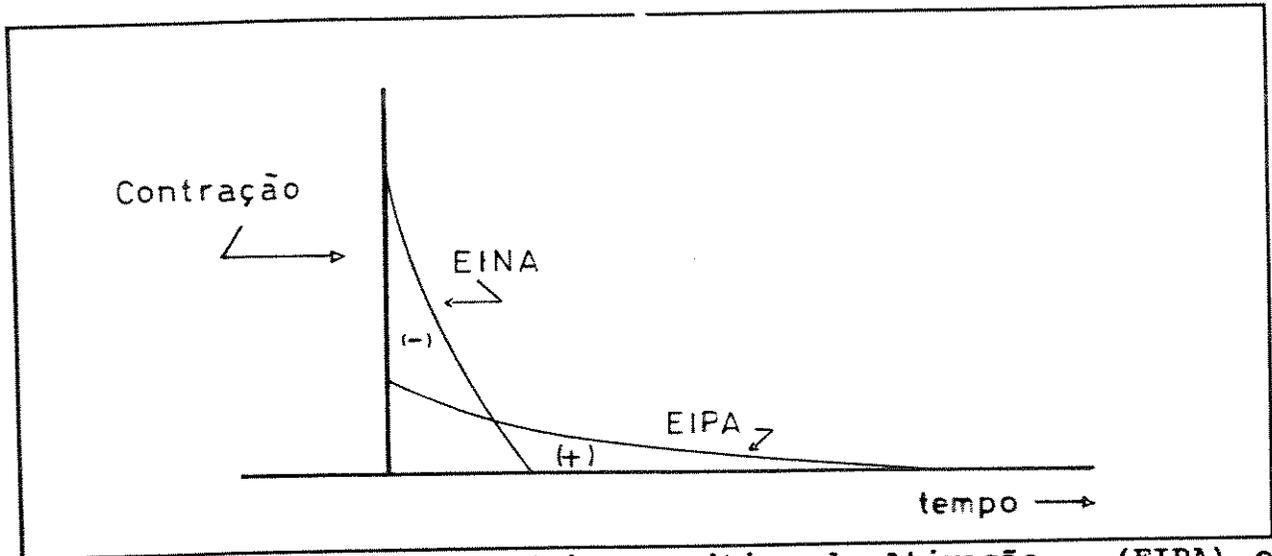
Em meio a todas estas descrições qualitativas, Woodworth sugeriu a possibilidade de que esses fenômenos sejam devidos à ação de dois efeitos antagônicos, idéia retomada por Kruta em 1937 e que serviu como base para que Koch-Weser e Blinks formassem sua hipótese (Blinks e Koch-Weser, 1961).

## Hipótese de Koch-Weser e Blinks

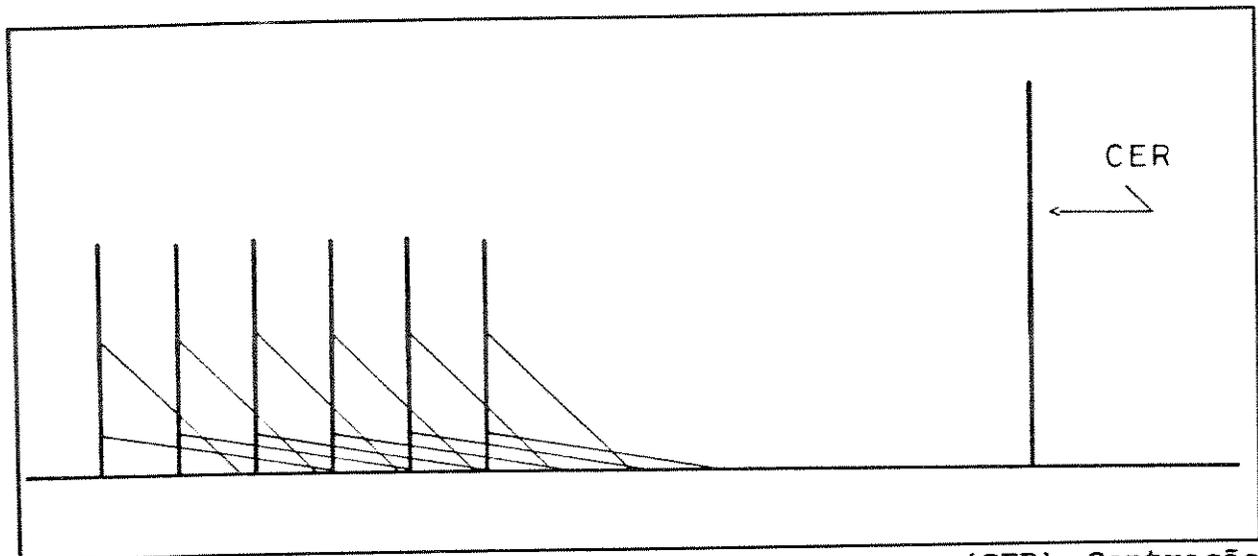
Segundo esses autores, a relação força-frequência estaria governada por três fatores : (1) O Efeito Inotrópico Negativo da Ativação - EINA, (2) O Efeito Inotrópico Positivo da Ativação - EIPA, e (3) A Contração do Estado de Repouso - CER.

Após cada contração, gerar-se-iam modificações transitórias no músculo cardíaco que resultariam em dois efeitos opostos. Um deles tenderia a diminuir a força de contração nos batimentos subsequentes, o Efeito Inotrópico Negativo da Ativação; este seria de grande intensidade porém de curta duração. O outro efeito contribuiria para aumentar a força dos próximos batimentos, o Efeito Inotrópico Positivo da Ativação, de pouca intensidade mas com uma duração prolongada [Fig. 2.9]. Ambos os efeitos possuiriam uma evolução temporal, decaindo com o tempo. Após um intervalo suficientemente longo, ambos os efeitos teriam desaparecido e a contração seria independente dos batimentos anteriores; essa contração seria a Contração do Estado de Repouso [Fig. 2.10].

Estes efeitos seriam susceptíveis de acumulação, resultando que a força de um batimento precedido por uma sequência qualquer de estimulação seria igual à Contração do Estado de Repouso menos o valor acumulado do Efeito Inotrópico Negativo da Ativação mais o valor acumulado do Efeito Inotrópico Positivo da Ativação.



**Figura 2.9** Efeito Inotrópico Positivo da Ativação - (EIPA) e Efeito Inotrópico Negativo da Ativação - (EINA).



**Figura 2.10** Contração de Estado de Repouso - (CER) Contração produzida após extintos os Efeitos Inotrópicos Positivo e Negativo da Ativação (EIPA e EINA).

Isto seria válido para qualquer intervalo entre os batimentos prévios, seja em um ritmo regular ou não, e para qualquer valor da força de contração resultante, sempre que não se ultrapassassem os limites fisiológicos. A acumulação seria soma algébrica simples, e o decaimento do tipo exponencial (Koch-Weser e Blinks, 1962; e Koch-Weser, e Blinks, 1963) .

As variações observadas na força, quando alterada a frequência de estimulação, seriam devidas a variações no EINA e no EIPA até atingir seu novo valor de regime. Em condições de frequência constante, a quantidade dos efeitos produzidos a cada contração igualaria a quantidade perdida pelo seu decaimento temporal.

Baseado nestas hipóteses foi implementado o modelo descrito a seguir.

## Modelo da Variação da Força de Contração com a Frequência

A expressão matemática que representa a força da contração é dada por :

$$F(n) = CER - \sum_{i=1}^{i=n-1} EINA_i + \sum_{i=1}^{i=n-1} EIPA_i \quad (1)$$

Na equação (1) CER é a Contração do Estado de Repouso, EINA é o Efeito Inotrópico Negativo da Ativação, EIPA é o Efeito Inotrópico Positivo da Ativação e F(n) a força de contração do batimento enésimo de uma sequência qualquer.

O EIPA e o EINA teriam uma evolução exponencial como segue:

$$EINA = A * \exp(-\alpha t) \quad (2)$$

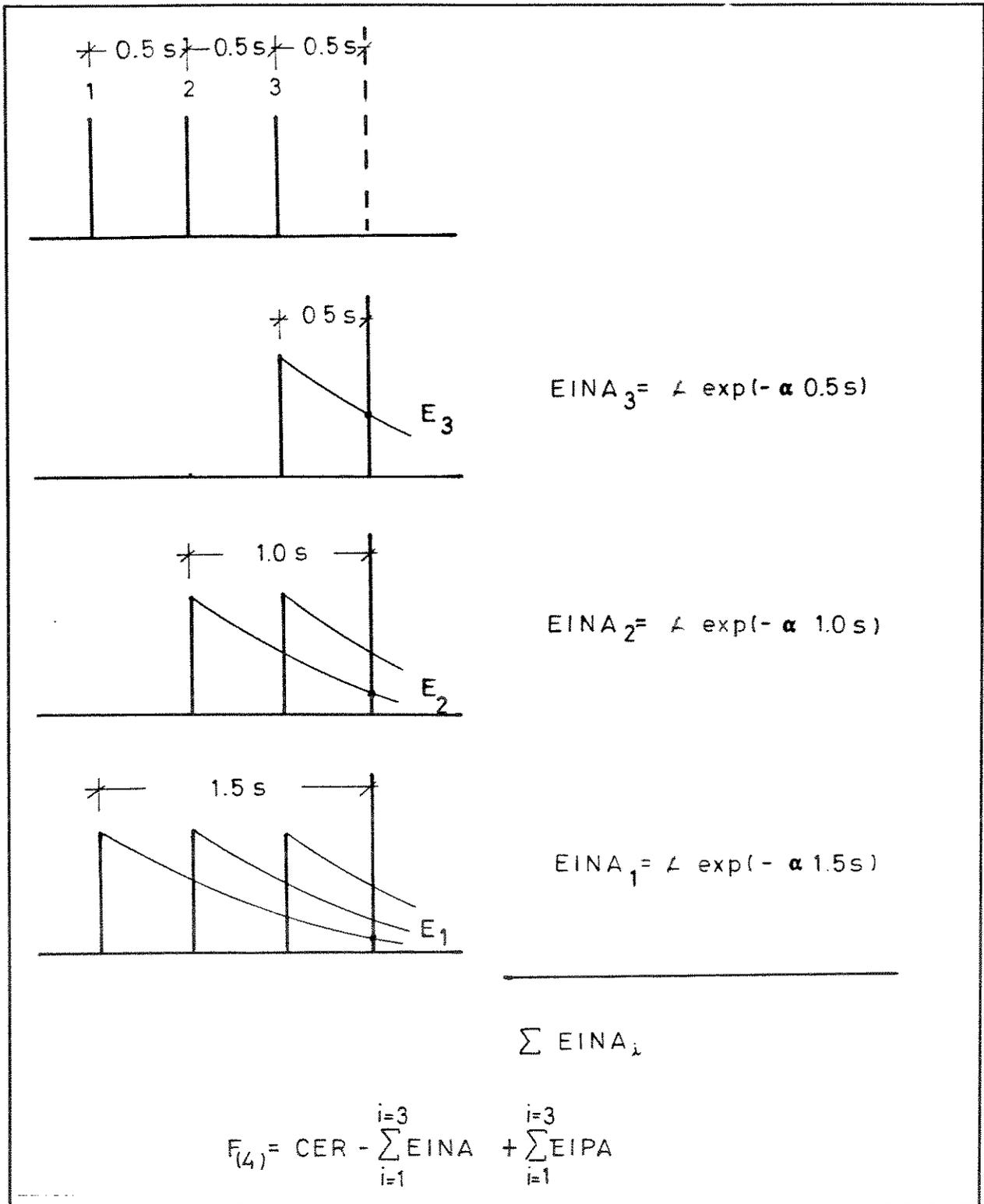
$$EIPA = B * \exp(-\beta t) \quad (3)$$

Nas equações (2) e (3) A e B seriam os valores iniciais dos efeitos e  $\alpha$  e  $\beta$  as constantes de tempo.

Koch-Weser e Blinks esclarecem que o EINA poderia ter um rápido decaimento inicial, superior ao de um processo exponencial simples (Blinks e Koch-Weser, 1961).

Supondo uma sequência de três batimentos, espaçados a cada 500 ms [Fig. 2.11], para se calcular a força do quarto batimento é necessário calcular o efeito inotrópico negativo produzido pelo terceiro batimento para 0.5 s, o efeito inotrópico negativo gerado pelo segundo batimento para 1 s, e o gerado pelo primeiro batimento para 1.5 s. Somando-os obtém-se o valor acumulado do EINA. O mesmo procedimento seria feito com o EIPA, e depois aplicada a equação [1].

Este procedimento seria válido quaisquer valores do intervalo entre os batimentos prévios.



**Figura 2.11** Procedimento para calcular a força desenvolvida após uma sequência qualquer. Por razões de simplicidade não foram desenhados os valores de EIPA.

## **Capítulo 3**

### **Objetivos**

"...Quando alguém não sabe o que está procurando, quando o encontra não sabe que o achou."

J.W.M.B. (Na sala de aula)

Os objetivos desta tese são os seguintes:

- 1.- O aprendizado e o domínio da técnica experimental conhecida como Estimulação Cardíaca Programa (ECP) aplicada ao músculo cardíaco de rato.
- 2.- Levantamento dos dados experimentais com a ECP aplicada ao átrio esquerdo de rato, de modo de obter os parâmetros propostos no modelo de Koch-Weser & Blinks.
- 3.- Utilizar os parâmetros para implementação computacional do referido modelo em linguagem de alto nível, simulando assim o comportamento da fibra muscular cardíaca.

## **Capítulo 4**

### **Materiais e Métodos**

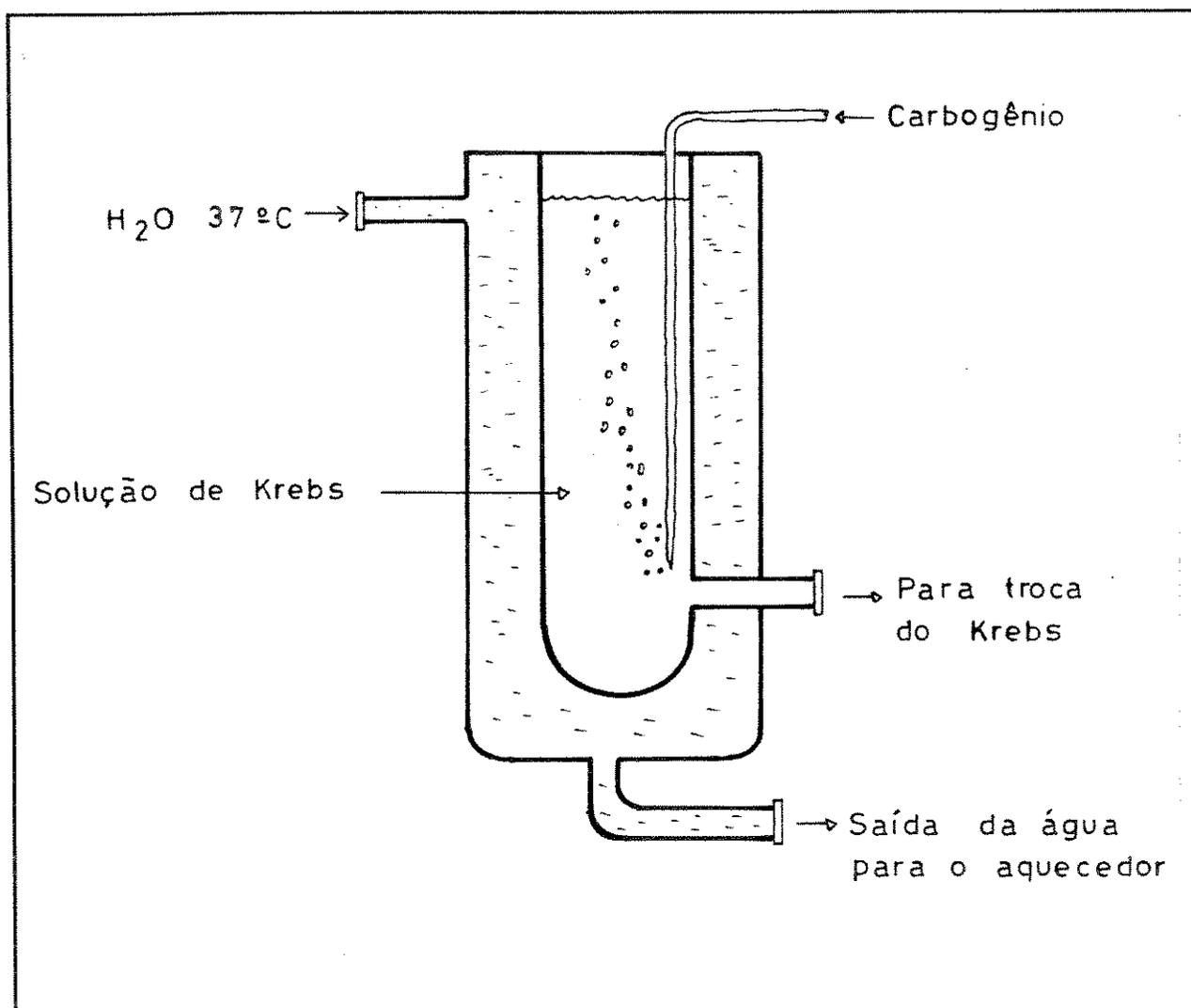
" I made this chapter longer than usual because I lack the time to make it shorter."

Pascal, Provincial Letters XVI

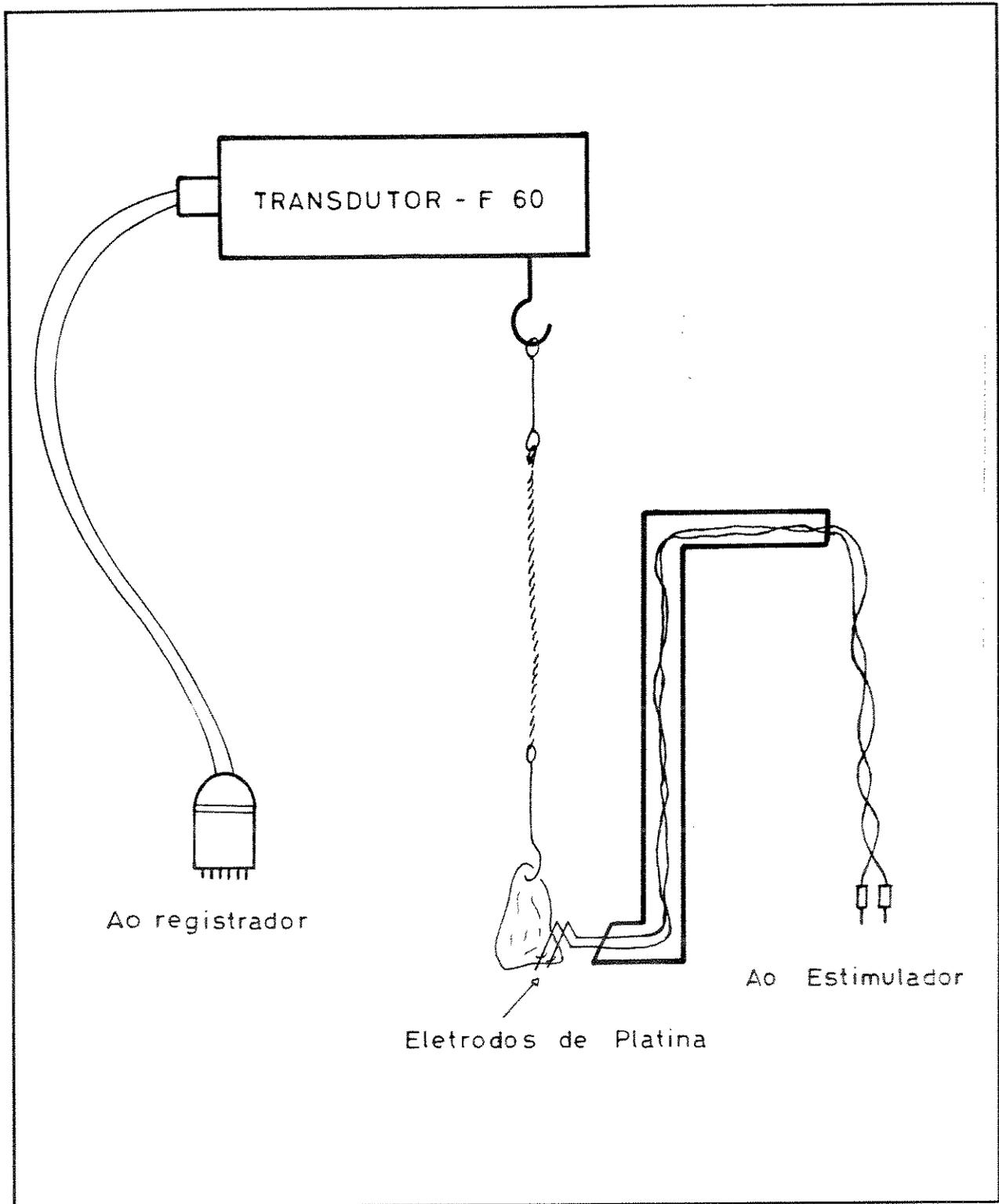
## Parte Experimental

Foram utilizados ratos adultos (250 - 300 g). Após a extração do átrio esquerdo, este era colocado em uma cuba de 20 ml, contendo solução de Krebs a 37 °C, onde se fazia burbulhar carbogênio (95% O<sub>2</sub> - 5% CO<sub>2</sub>) [Fig. 4.1]. Dois eletrodos de platina eram inseridos no tecido para a estimulação, e prendia-se o outro extremo a um transdutor de força (Narco Biosystems, modelo F60) [Fig. 4.2]. O comprimento do músculo era ajustado em 90% do valor ótimo. A saída do transdutor era amplificada e mostrada, junto com o estímulo elétrico, na saída de um registrador de papel (Narco Biosystems, modelo NARCOTRACE 40) e na tela de um osciloscópio de memória (Tektronix modelo 5111A). Deixava-se estabilizar a preparação em uma frequência fixa durante uma hora. Durante esse tempo trocava-se toda a solução de Krebs a cada 15 min [Fig. 4.3]. Distintas sequências estimulatórias foram implementadas através de um Estimulador Cardíaco Programável desenvolvido no Laboratório de Bioengenharia do Centro de Engenharia Biomédica (UNICAMP) (Godoy, 1990).

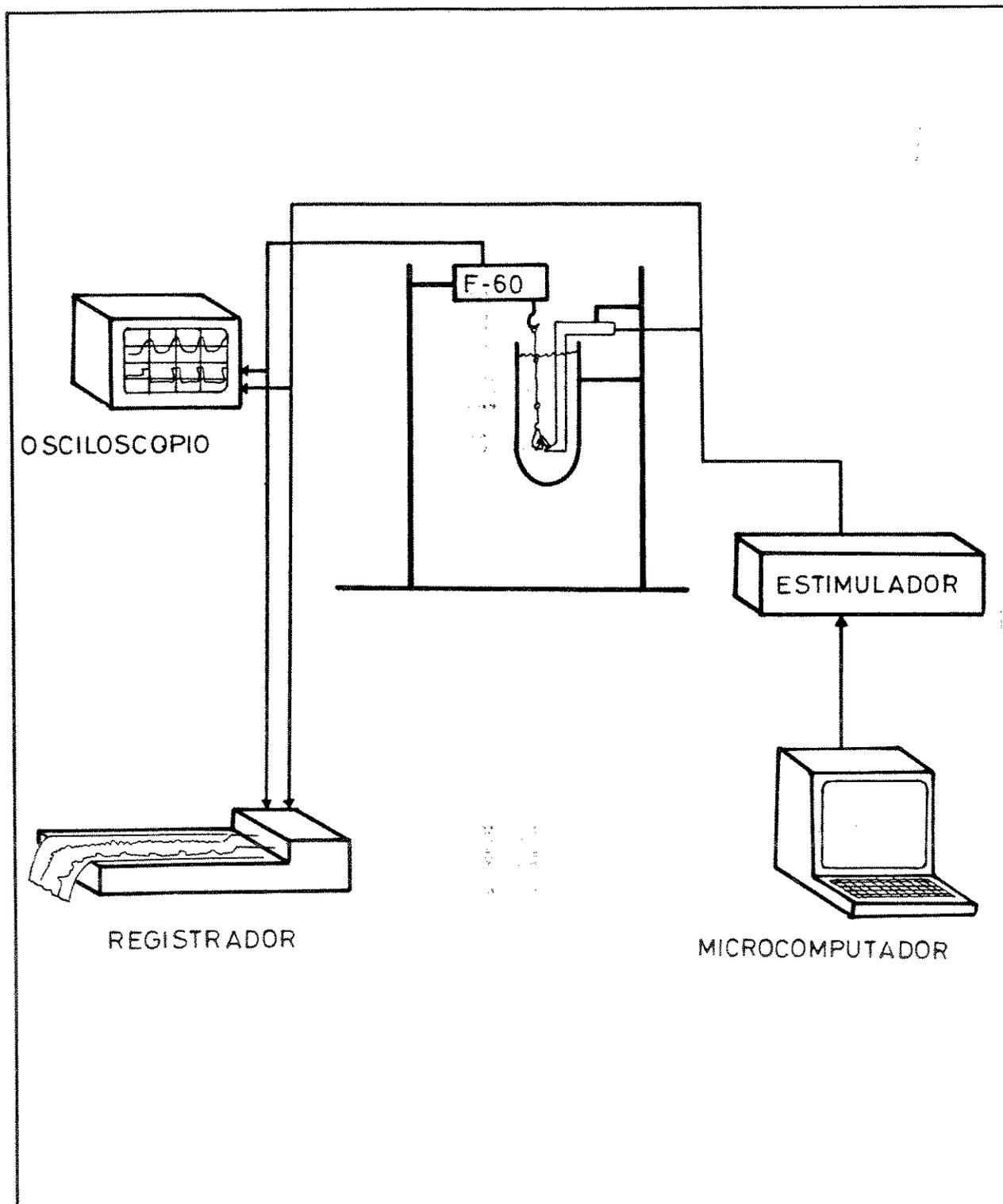
Foram utilizados pulsos de corrente bifásicos de 5 ms de duração com intensidade média de 0.5 mA. A versatilidade do estimulador permitiu implementar diferentes protocolos estimulatórios que envolviam mudanças "ON LINE" do intervalo entre os pulsos.



**Figura 4.1** Cuba onde se colocava a preparação. Continha Solução de Krebs e fazia-se burbulhar carbogênio. Permanentemente recirculava-se água aquecida a 37 C.



**Figura 4.2** O tecido era fixado por um par de eletrodos de platina e um gancho de aço inox. conectado a um transdutor de força.



**Figura 4.3** Diagrama completo do experimento. Um Estimulador Cardíaco Programável fornecia os pulsos elétricos. A força resultante era amplificada e mostrada em um registrador de papel e na tela de um osciloscópio de memória.

Foram feitos três tipos básicos de experiências :

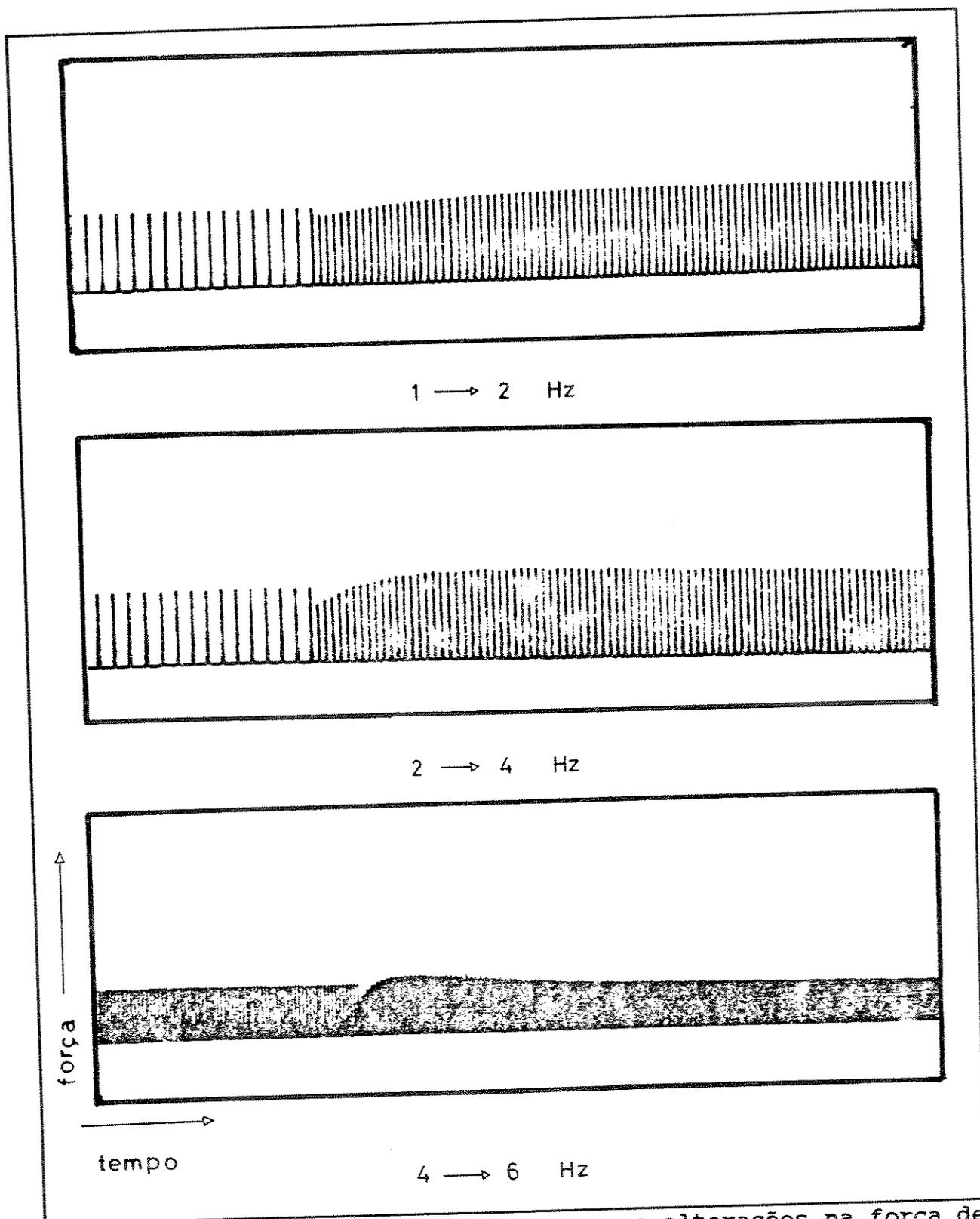
- a) Frequências Constantes.
- b) Inclusão de Extra-estímulos.
- c) Inclusão de Pausas.

Protocolo a - frequências constantes :

O objetivo era observar o valor da força de contração em distintas frequências.

Após o período de estabilização na frequência de 1 Hz, mudava-se para 2, 4, 6 e 8 Hz, aguardando-se 10 minutos em cada frequência [Fig. 4.4]. Em cada frequência era medido o novo valor de regime da força de contração. Com esses dados foi construído o gráfico da Figura 4.5. Este gráfico permite ver a relação força-frequência negativa característica do átrio esquerdo de rato. À medida que a frequência aumenta, a força de contração cai.

A Tabela 4.1 mostra os dados obtidos para seis ratos. A força é expressa em gramas. A coluna 8 corresponde ao valor médio, e a 9 ao desvio padrão.



**Figura 4.4** Registros onde observam-se as alterações na força de contração produzidas por mudanças na frequência.

Relação Força-Frequência Valor Médio +/- STD

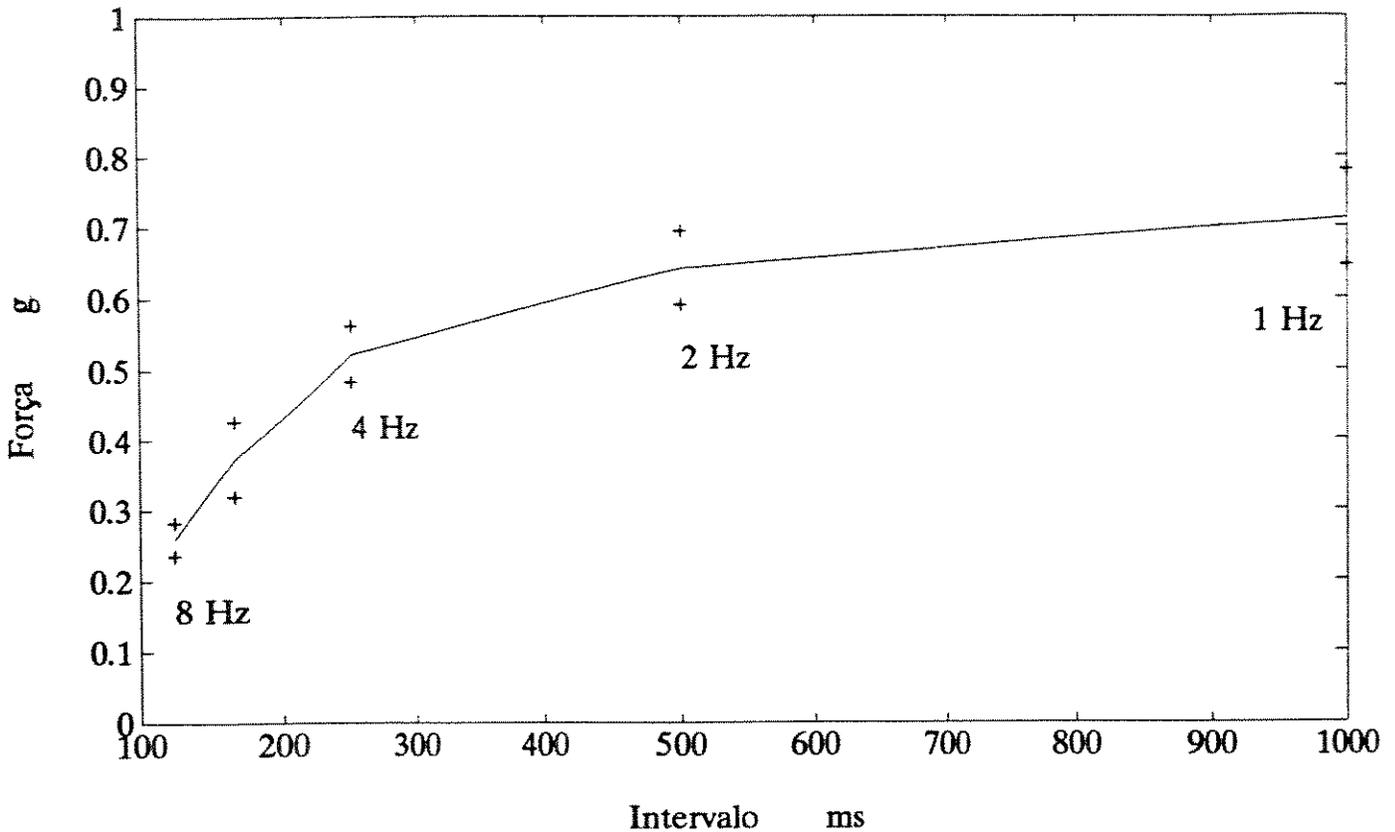


Figura 4.5 Relação força-frequência do átrio esquerdo de rato. Valor médio de 6 ratos.

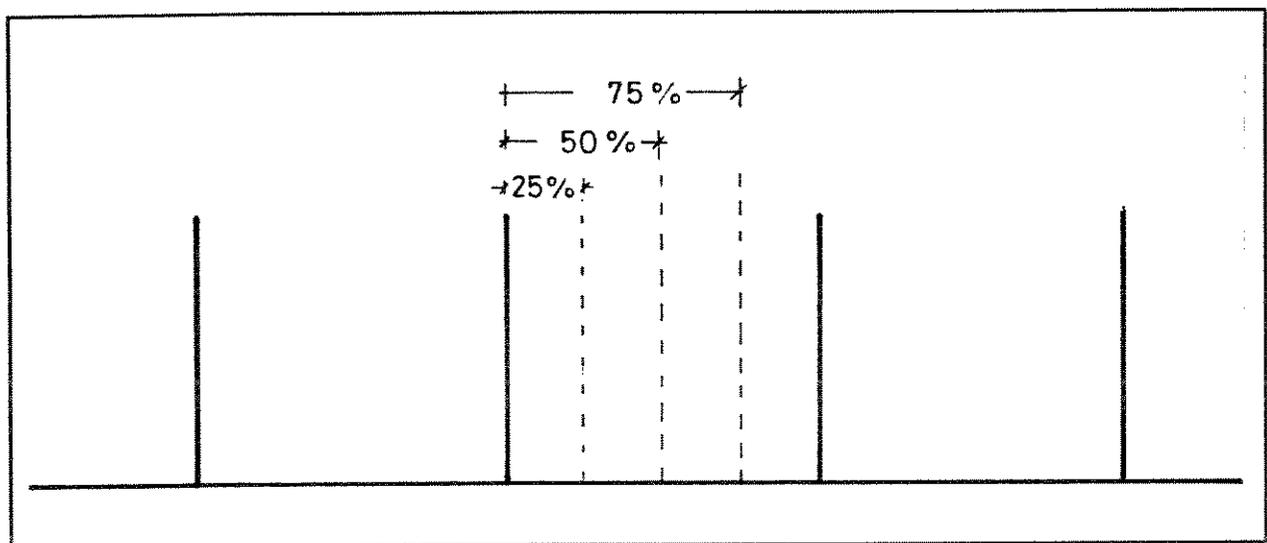
Força [g]		vs								Frequencia [Hz]	
FREQ	RATO #1	RATO #2	RATO #3	RATO #4	RATO #5	RATO #6	MEDIA	STD			
1	0.725	0.650	0.700	0.650	0.850	0.700	0.712	0.067			
2	0.650	0.600	0.600	0.625	0.750	0.625	0.642	0.051			
4	0.525	0.500	0.475	0.525	0.600	0.500	0.521	0.039			
6	0.375	0.300	0.350	0.425	0.450	0.325	0.371	0.052			
8	0.250	0.250	0.250	0.275	0.300	0.225	0.258	0.024			

Tabela 4.1 Valores da força de contração para distintas frequências estimulatórias.

Protocolo b - inclusão de extra-estímulos :

O objetivo era observar os efeitos inotrópicos produzido pela inclusão de extra-estímulos dentro da frequência de regime.

Após o período de estabilização, eram introduzidos extra-estímulos em 25, 50 e 75% do intervalo entre batimentos. Frequências de trabalho : 1, 2, 4, 6 e 8 Hz [Fig. 4.6].



**Figura 4.6** Protocolo experimental para observar os efeitos de extra-estímulos durante uma frequência regular.

As figuras 4.7, 4.8, 4.9 mostram os registros obtidos para 1, 2 e 4 Hz.

No caso de 1 Hz (1000 ms entre batimentos) o extra-estímulo para 25 % do intervalo (250 ms) produz uma contração menor e o próximo batimento (após 750 ms) praticamente não sofre alterações.

Para 2 Hz (500 ms) o extra-estímulo em 25 % (125 ms) gera uma contração sensivelmente menor, e o batimento seguinte (375 ms depois) resulta maior do que a contração de regime.

Já para 4 Hz (250 ms) o extra-estímulo em 25 % (62,5 ms) origina uma contração apenas perceptível, sendo aumentadas as contrações posteriores.

Não foi possível obter sempre contrações para extra-estímulos em 25 ou 75 % do intervalo para 6 ou 8 Hz. Deve-se levar em consideração que isso implica um extra-estímulo em 41,5 ms para 6 Hz, e 31,25 ms para 8 Hz. Talvez esse tempo seja curto demais para desencadear uma contração.

Um detalhe interessante é que a capacidade para produzir uma contração com um extra-estímulo não depende exclusivamente do tempo. Experimentos feitos fora deste protocolo mostraram que na frequência de 1 Hz não se consegue uma contração com extra-estímulos antes dos 100 ms, fato que é perfeitamente possível nas frequências acima de 2 Hz.

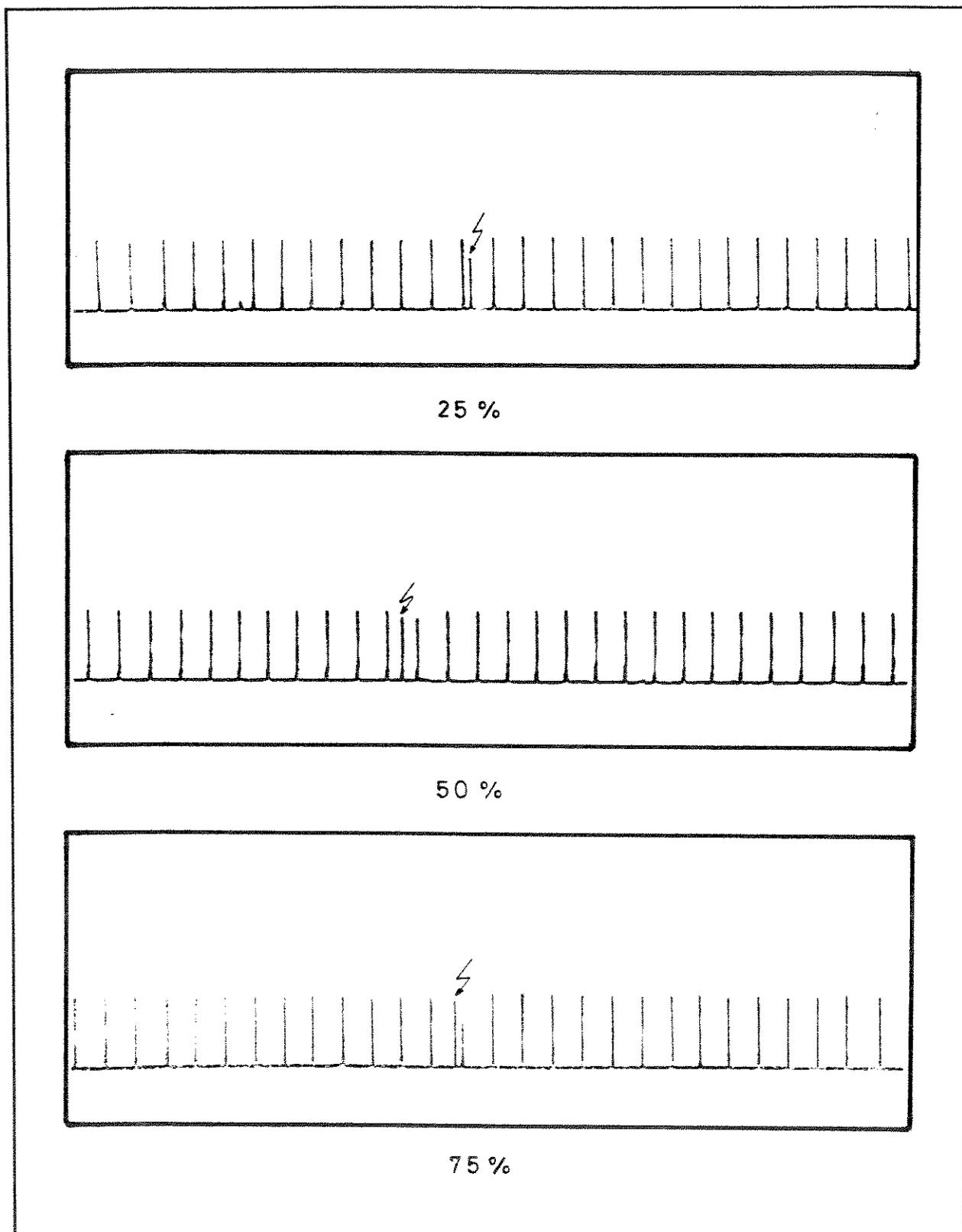
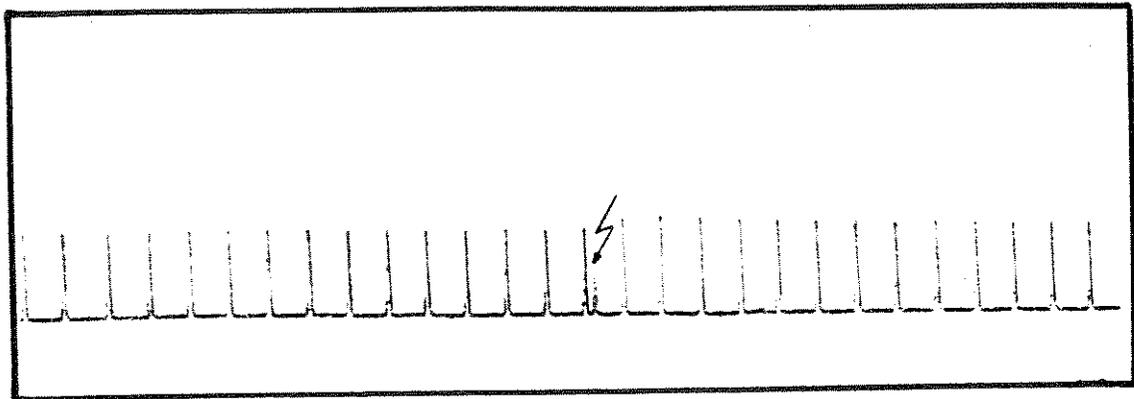
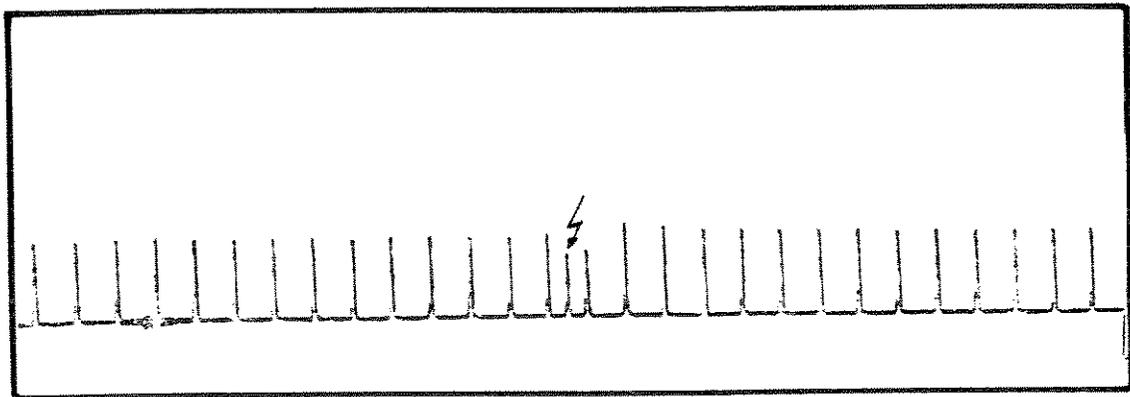


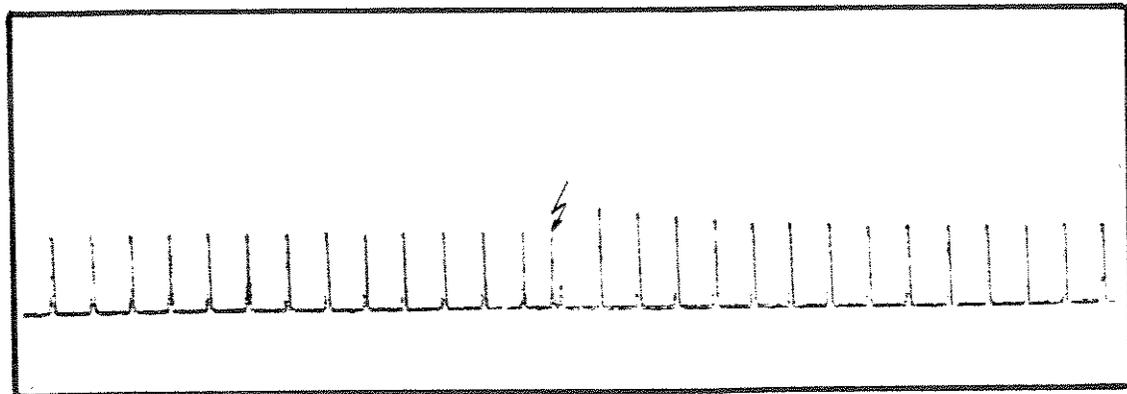
Figura 4.7 Efeitos do extra-estímulo em 1 Hz.



25 %



50 %



75 %

Figura 4.8 Efeito do extra-estímulo para 2 Hz.

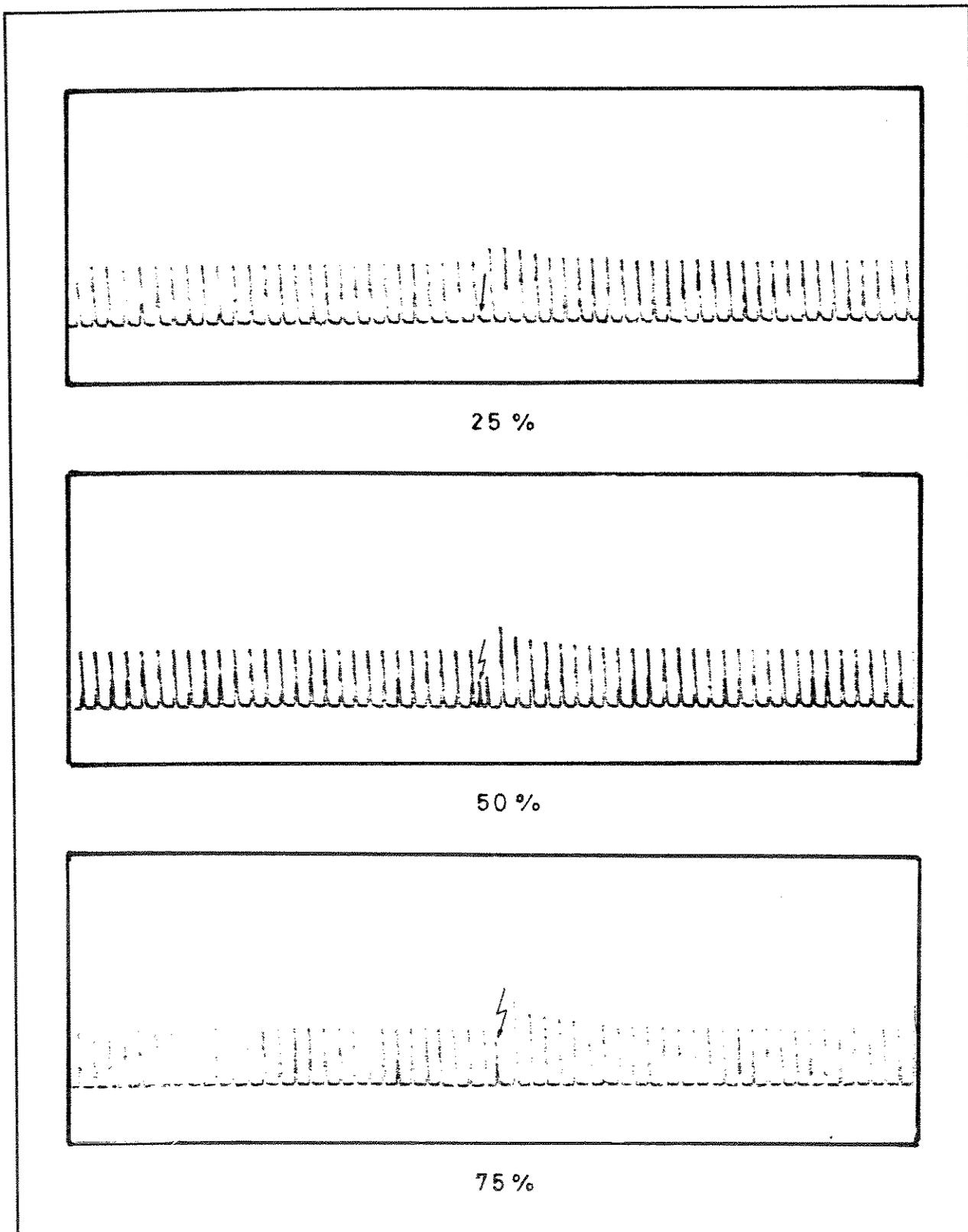


Figura 4.9 Efeito do extra-estímulo em 4 Hz.

### Protocolo c - 1 - inclusão de pausas :

Este protocolo serve para determinar a Curva de Restituição Mecânica. Esta curva é típica no estudo da relação força-frequência. É obtida com os valores da força de contração quando se reinicia a estimulação após uma pausa.

Para o caso particular do átrio esquerdo do rato, conforme as pausas são incrementadas, a força aumenta até chegar ao valor máximo para depois decair até atingir o valor da CER [Fig. 4.10]. As frequências de trabalho utilizadas foram 2, 4, 6 e 8 Hz. As pausas ocorreram em 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 180, 240 e 300 segundos. A tabela 4.2 mostra o valor médio e o STD da força após uma pausa, obtido de seis ratos para cada frequência.

Na Figura 4.11 são mostradas as distintas Curvas de Restituição Mecânica. É notável observar que os valores máximos da força variam com a frequência. Nas frequências superiores, atinge-se o pico da força em períodos de tempo menores, sendo o valor absoluto desse pico também menor. Lembra-se aqui que a relação força-frequência é negativa.

O valor da força de contração atingido após uma pausa de 300 segundos (5 minutos) seria, segundo nossa interpretação, o valor da Contração de Estado de Repouso (CER).

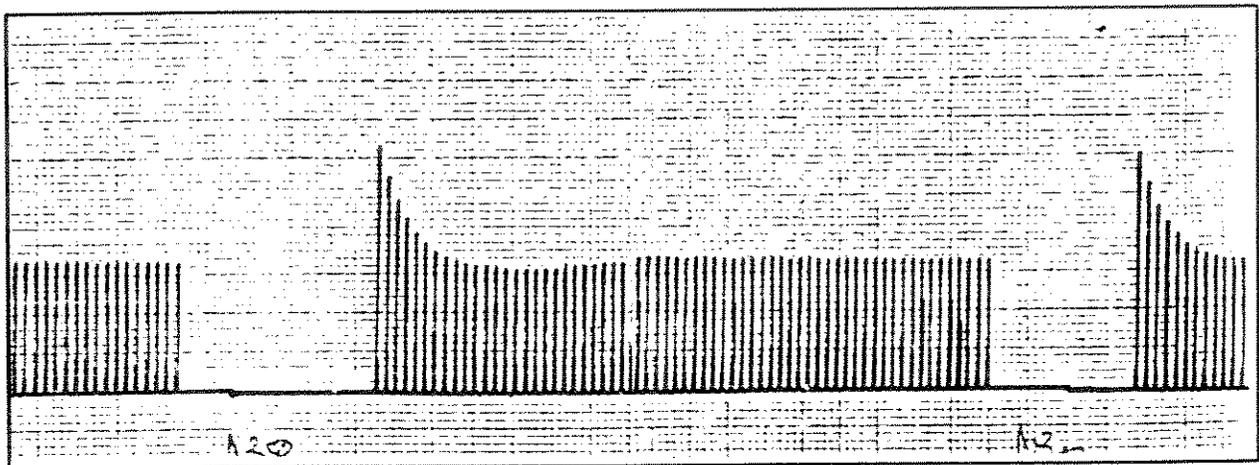
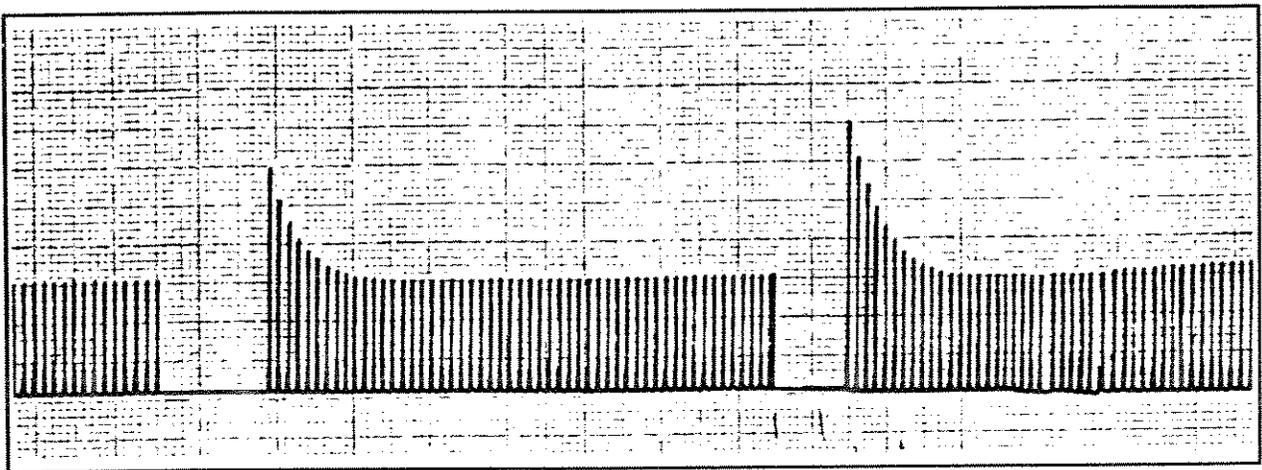
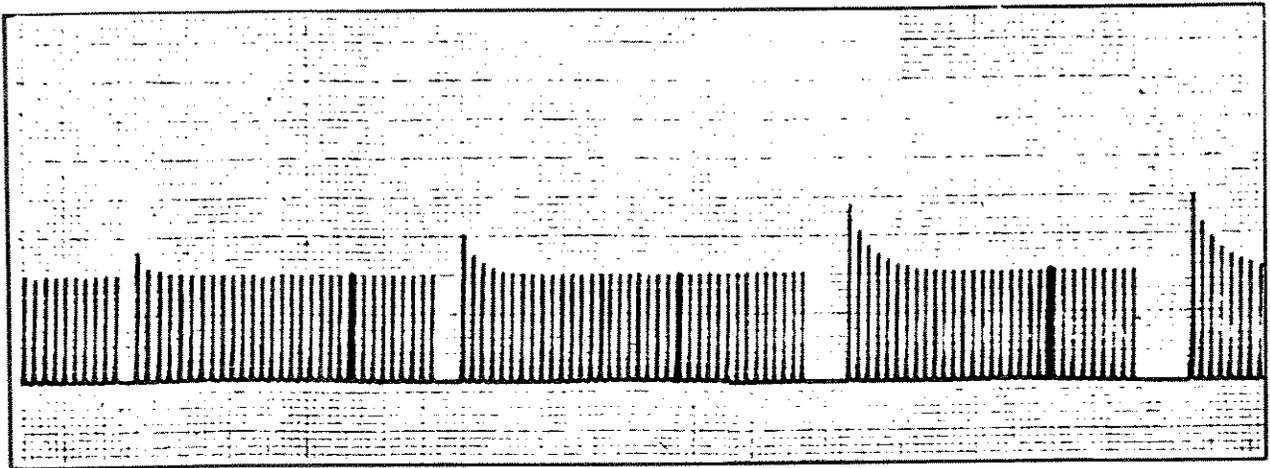


Figura 4.10 Registros obtidos da variação da força após uma pausa.

VALOR DA FORÇA DE CONTRACAO APOS UMA PAUSA				
Intervalo	2 Hz	4 Hz	6 Hz	8 Hz
1	17.66	16.66	17.42	17.08
5	23.66	23.5	23.33	21.58
10	26.42	26.03	25.08	22.25
20	29	26.83	25	22
30	29.08	26.58	24.75	21.78
40	29	26.17	24.42	21.33
50	28.08	25.83	23.83	20.92
60	27.5	25.25	22.92	20.5
120	25.92	23.83	21.25	19.67
180	25	23.08	19.83	18.58
240	24.75	22.42	19	17.92
300	24	21.83	18.33	17.58

**Tabela 4.2** Valor médio de seis ratos da força da contração após uma pausa. Intervalo em segundos, força em mm (10 mm = 0,5 g).

Curvas de Restituição Mecânica - Dados Reais

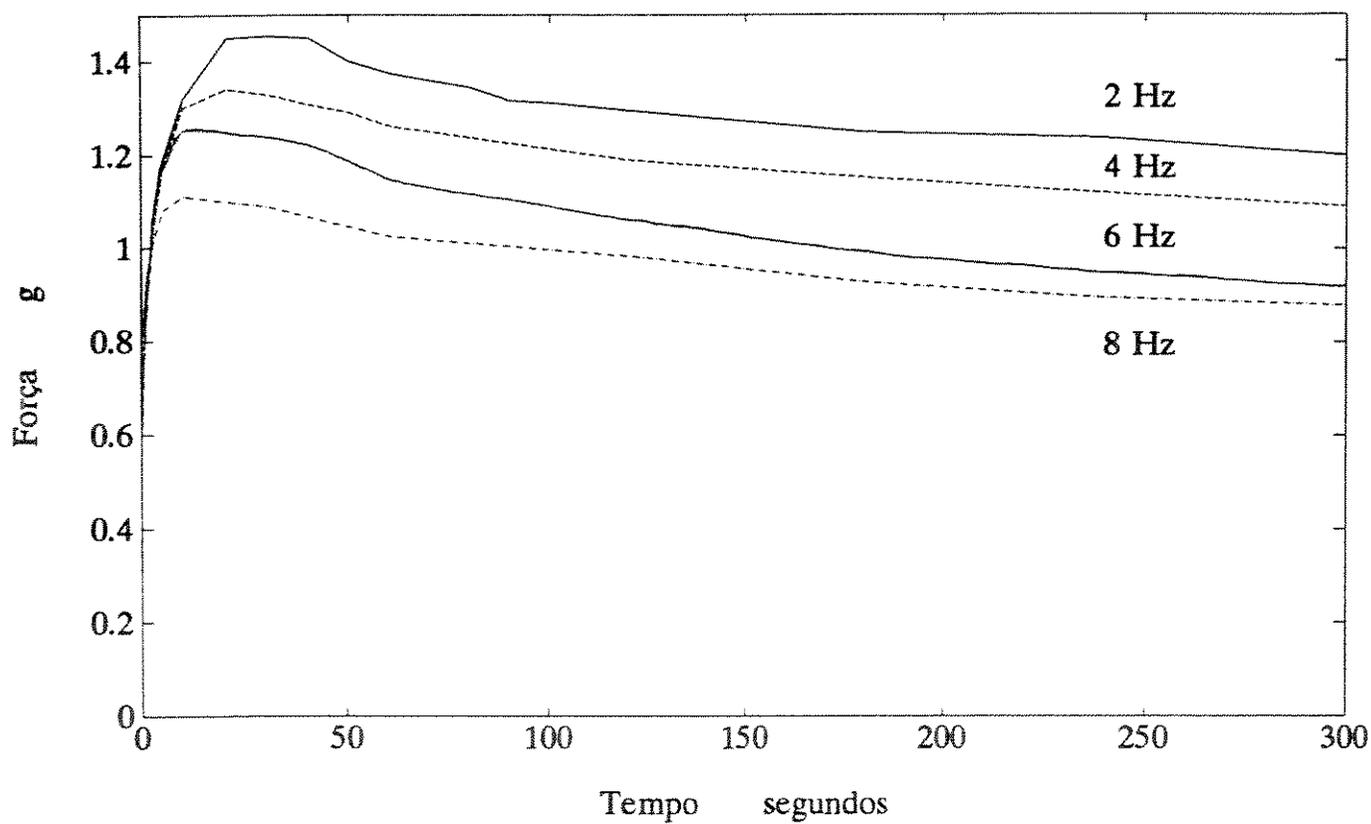


Figura 4.11 Curvas de Restituição Mecânica, obtidas para 2, 4, 6 e 8 Hz.

## Protocolo c - 2 - inclusão de pausas :

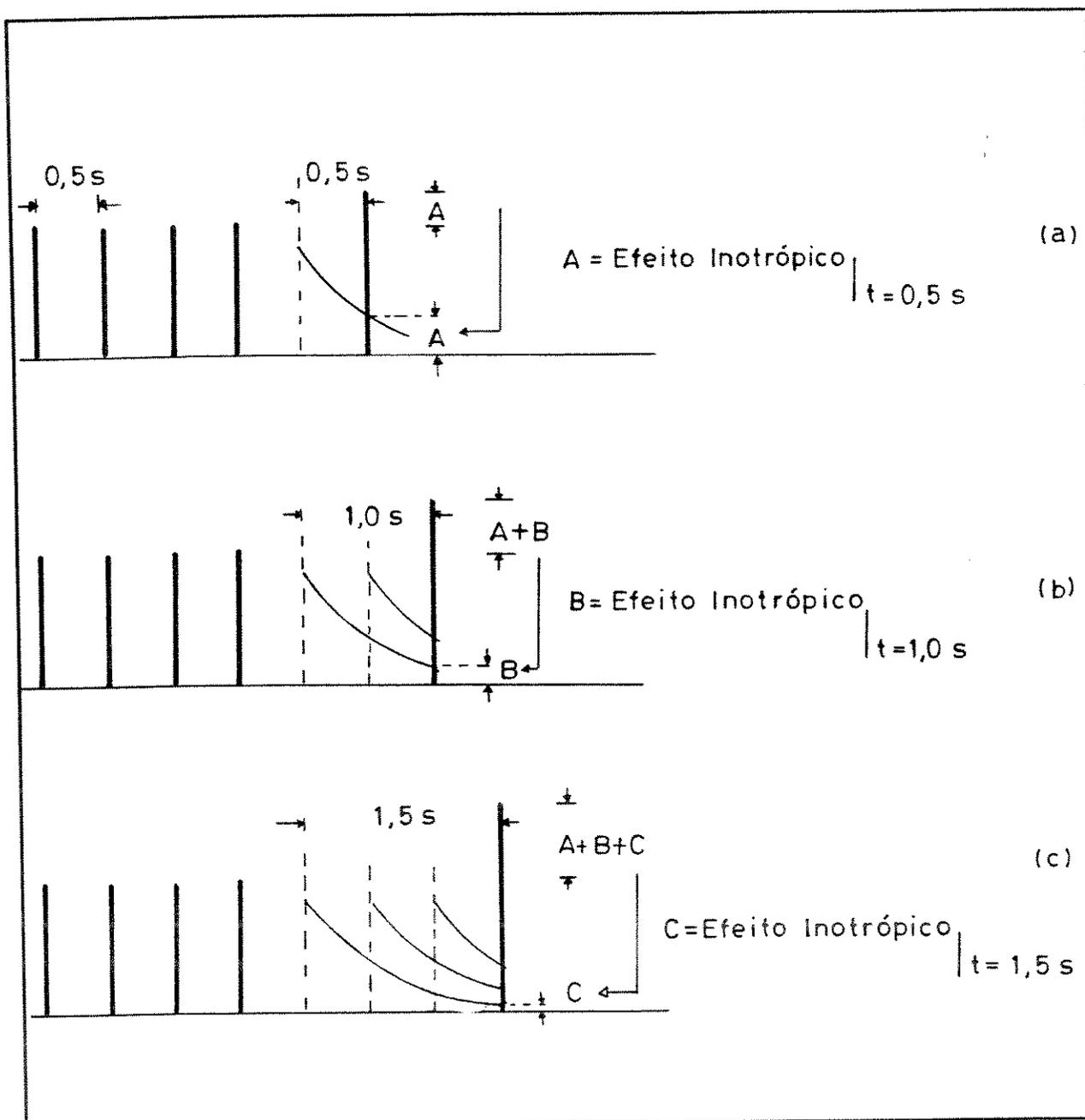
Este protocolo serve para determinar os efeitos inotrópicos produzidos por um batimento na frequência de trabalho.

Após o período de estabilização, davam-se pausas equivalentes à perda de um até dez batimentos, em passos de um.

Os resultados eram interpretados da seguinte forma : Supondo uma frequência de 2 Hz (0,5 s), dava-se uma pausa equivalente a perder um batimento. A diferença entre o valor da força de contração do primeiro pulso após a pausa e o valor de regime será igual ao valor do efeito inotrópico do batimento perdido após 0,5 segundos [Fig. 4.12-a].

A seguir dava-se uma pausa equivalente a perder dois batimentos. A diferença agora seria igual ao efeito inotrópico do primeiro batimento perdido para 1 segundo, mais o efeito inotrópico do segundo batimento perdido para 0,5 segundos [Fig. 4.12-b]. Como o valor do efeito de um batimento perdido para 0,5 segundos já foi medido no experimento anterior, é fácil medir o valor do efeito de um batimento perdido para 1 segundo.

A seguir dava-se uma pausa equivalente a perder três batimentos. A diferença resulta igual ao efeito inotrópico do primeiro batimento perdido para 1,5 segundos, mais o valor do efeito inotrópico do segundo batimento perdido para 1 segundo, mais o



**Figura 4.12** Protocolo experimental para avaliar a evolução temporal do efeito inotrópico de um batimento.

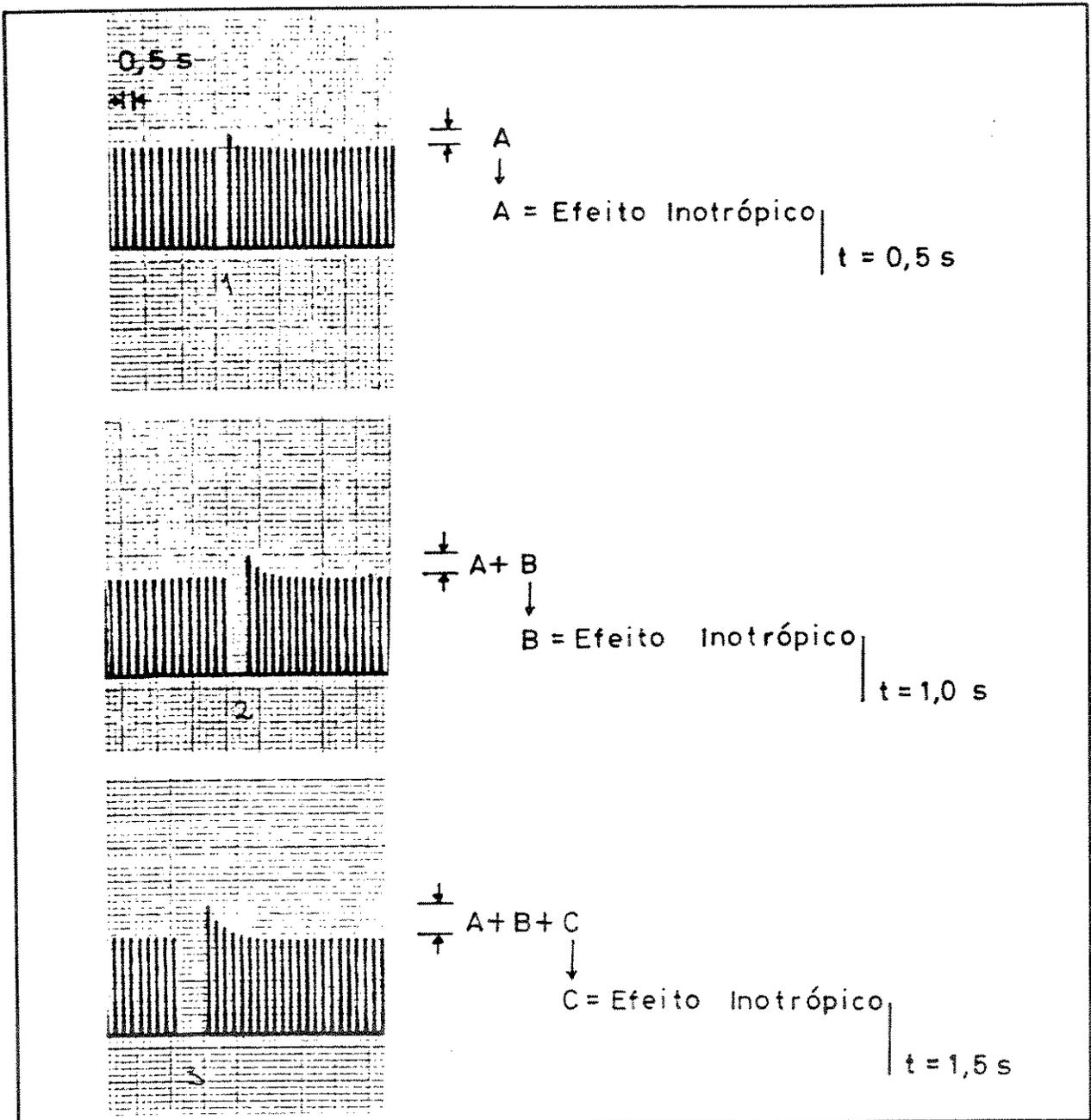


Figura 4.13 Registros obtidos no protocolo experimental para medir a evolução temporal dos efeitos inotrópicos

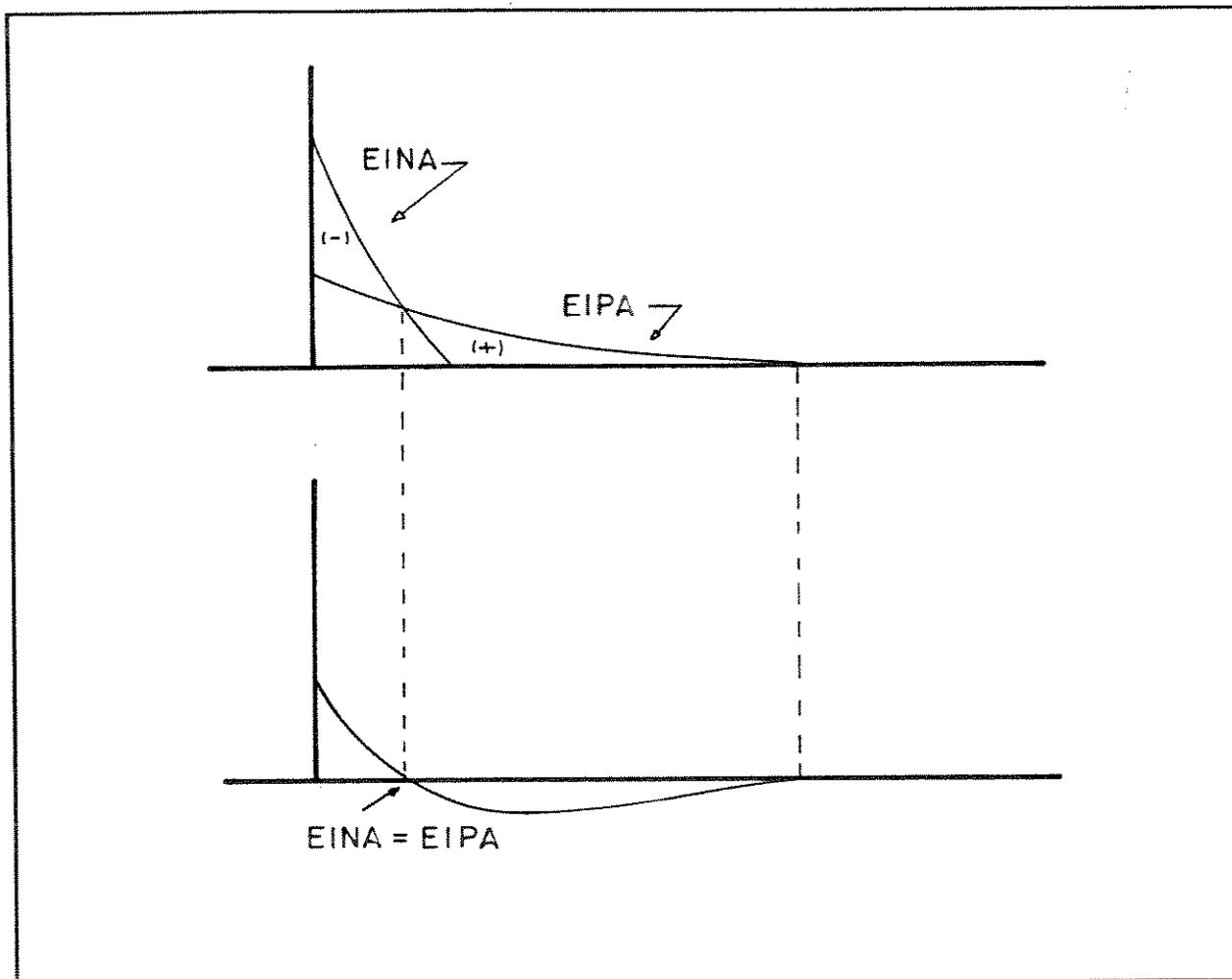
valor do efeito inotrópico do terceiro batimento perdido para 0,5 segundos. Novamente os valores dos efeitos inotrópicos para 0,5 e 1 segundos já foram medidos nos dois experimentos anteriores, restando só calcular o valor para 1,5 segundos [Fig. 4.12-c].

Deste modo obtem-se os valores dos efeitos inotrópicos para 0,5; 1; 1,5 segundos, etc... Esta metodologia repetiu-se para os dez primeiros batimentos, obtendo-se a evolução temporal dos efeitos inotrópicos experimentalmente [Fig. 4.13]. Deve-se lembrar que tanto o EINA quanto o EIPA acontecem simultaneamente o que dá uma resultante como mostrada na Figura 4.14. As frequências de trabalho foram 2, 4, 6 e 8 Hz. Foram usadas 6 ratos para cada caso.

O Gráfico 4.15 ilustra esses valores. Para encontrar a expressão matemática que governa a evolução temporal desses efeitos foi utilizado o programa MATLAB ( Mathworks Inc., Estados Unidos) para fazer um ajuste de curvas. Foi usada a função FITDEMO que implementa o algoritmo de Nelder-Mead para minimizar funções não-lineares de múltiplas variáveis.

O conjunto de dados [ y, x], é ajustado segundo a equação

$$y = C(1) * \exp (-\text{lam}(1) * x) + \dots + C(n) * \exp (-\text{lam}(n) * x)$$



**Figura 4.14** Resultante do Efeito Inotrópico Positivo e Negativo da Ativação.

Obteve-se as seguintes equações

2 Hz

$$EINA = 2 * \exp (-0.5*t) + 0.475 * \exp (-0.08*t) \quad (4-1)$$

$$EIPA = 0.04 * \exp (-0.01*t) \quad (4-2)$$

4 Hz

$$EINA = 9 * \exp (-5.5*t) + 1.15 * \exp (-0.35*t) \quad (4-3)$$

$$EIPA = 0.006 * \exp (-0.0025*t) \quad (4-4)$$

6 Hz

$$EINA = 14 * \exp (-7*t) + 0.6 * \exp (-0.3*t) \quad (4-5)$$

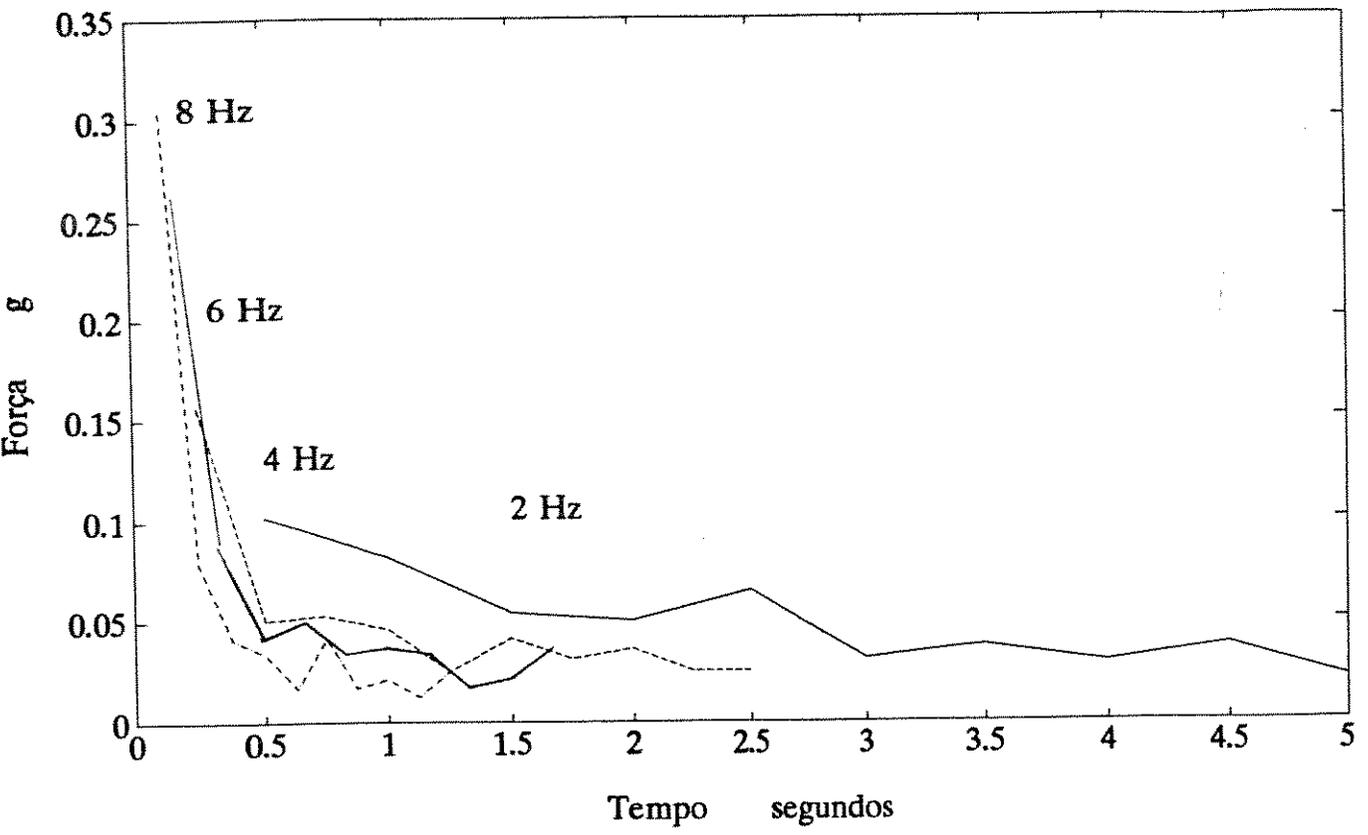
$$EIPA = 0.006 * \exp (-0.002*t) \quad (4-6)$$

8 Hz

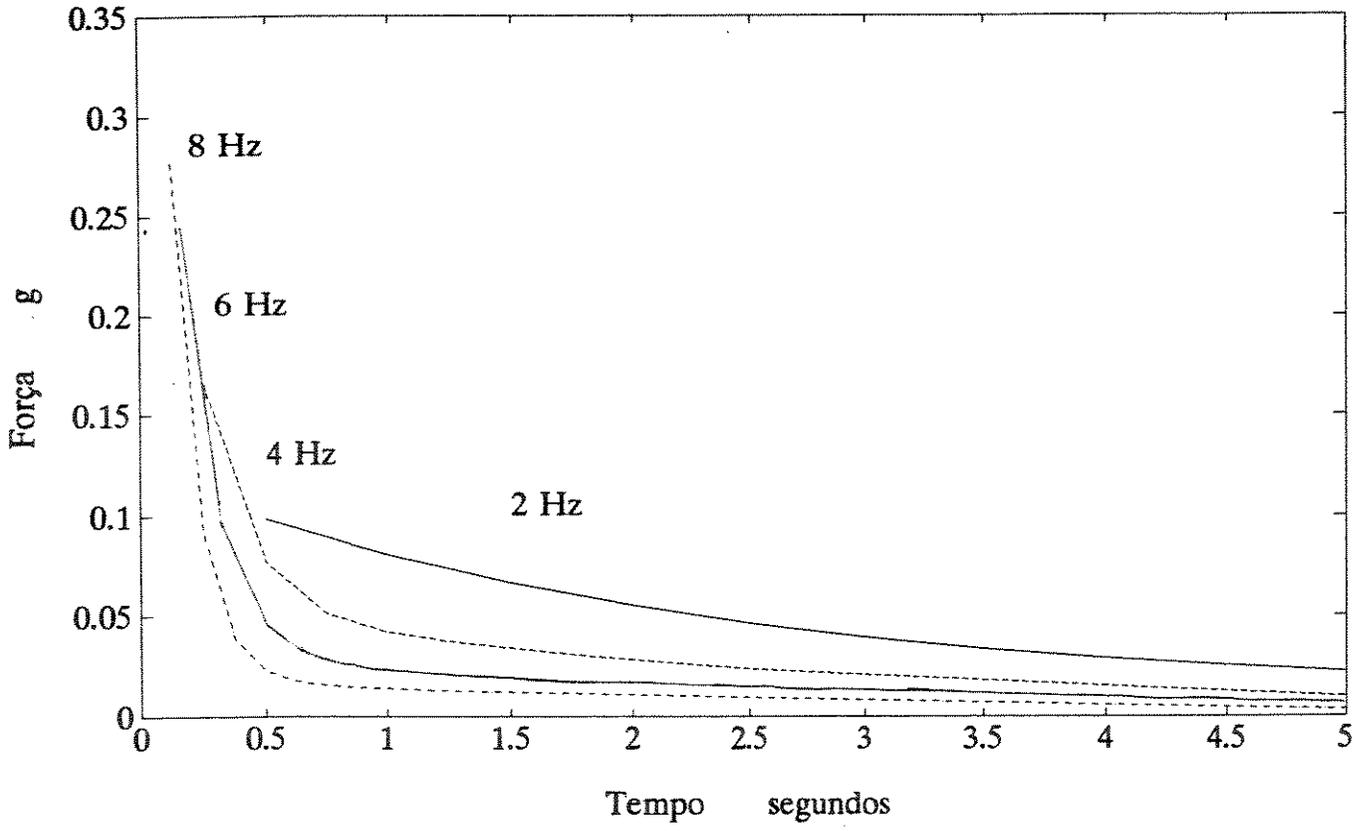
$$EINA = 18 * \exp (-10*t) + 0.4 * \exp (-0.35*t) \quad (4-7)$$

$$EIPA = 0.003 * \exp (-0.002*t) \quad (4-8)$$

A representação gráfica das equações 4-1 a 4-8 mostra-se na Fig. 4.16. Ve-se que os EINA e EIPA possuem um rápido decaimento exponencial logo após a contração. Um outro detalhe é que os efeitos variam com a frequência, contrária à nossa hipótese inicial de que estes eram independentes em relação ao intervalo de trabalho.



**Figura 4.15** Evolução dos Efeitos Inotrópicos Positivos e Negativos da Ativação. Dados Reais.



**Figura 4.16** Ajuste das curvas da Evolução dos Efeitos Inotrópicos Positivos e Negativos da Ativação.

Nos gráficos ve-se que essa diferença é maior nos primeiros segundos para diminuir com o decurso do tempo. A idéia de Koch-Weser e Blinks leva implícito o conceito de "memória". Da observação dos gráficos 4.15 e 4.16 pode-se especular sobre a existência de uma memória a "Curto Prazo" e uma memória a "Longo Prazo".

A memória a curto prazo estaria presente nos primeiros momentos após a contração, sendo fortemente influenciada pela frequência de trabalho. A memória a longo prazo seria a "histerese" da célula e seria simplesmente acumulativa e não dependente da frequência. Nesta região poderia ser aplicada perfeitamente a idéia original de Koch-Weser e Blinks. Esta concepção de duas memórias poderia ser um refinamento razoável para futuras melhorias do modelo.

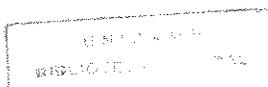
Finalmente as expressões 4-1 a 4-8 foram utilizadas em um programa de computador que simula o comportamento da fibra cardíaca a partir de distintas frequências estimulatórias.

## SIMULAÇÕES

Foi desenvolvido um programa em linguagem C para ser executado em microcomputadores IBM-PC/ XT,AT. A estrutura geral do programa é mostrada no diagrama de fluxo da Figura 4.17.

Na parte de inicialização dos parâmetros, são definidos os valores de EINA e EIPA com os valores de 2 Hz e o valor da CER. Reservam-se lugares de memória para 600 batimentos, o que implica poder simular uma sequência de 10 min de atividade, se o átrio for estimulado a 1 Hz (melhor caso) ou 1.25 min se for estimulado na frequência máxima de 8 Hz (pior caso).

A seguir apresenta-se a tela com as opções do Menu Principal [Fig. 4.18]. Foi utilizada uma estrutura tipo "CASE" para a escolha das opções. A primeira delas é a "Entrada dos blocos de Estimulação", onde é entrada a sequência estimulatória. Esta sequência é composta de blocos. Cada bloco consta do número de batimentos e do intervalo, em milissegundos, entre eles. Por exemplo, uma sequência de um minuto de estimulação a 1 Hz seguida de 1 minuto de estimulação a 2 Hz seria formada por dois blocos. O primeiro com 60 batimentos e um intervalo de 1000 ms, e o segundo de 120 batimentos com um intervalo de 500 ms [Fig. 4.19]. A quantidade máxima permitida é de 8 blocos.



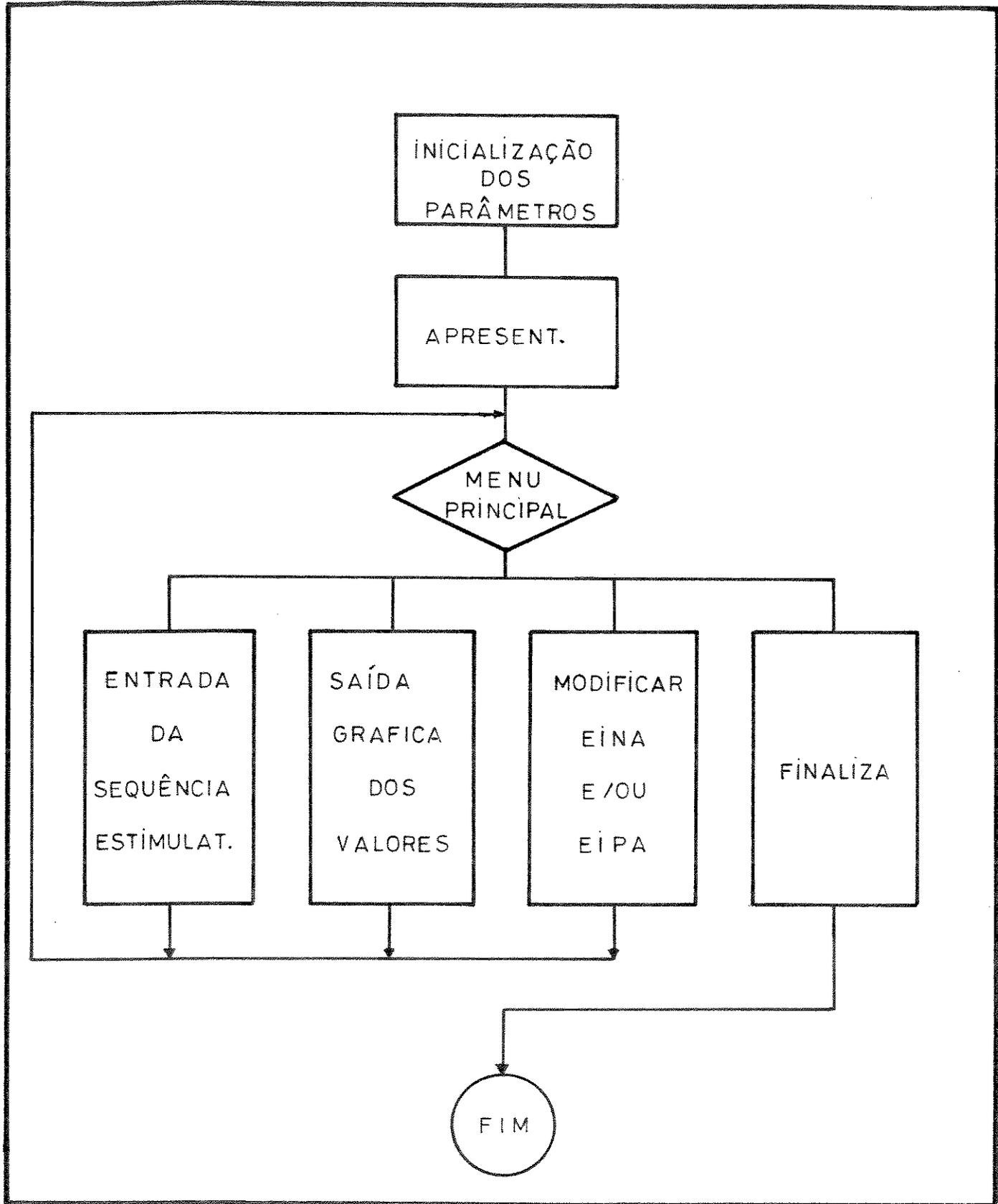


Figura 4.17 Diagrama de Fluxo do programa SIMULA que implementa o modelo de relação força-frequência.

### MENU PRINCIPAL

**E**ntrada dos blocos de estimulacao

**S**aida grafica

**M**udar os valores de EINA e EIPA

**F**inalizar

Digite sua opcao =

Figura 4.18 Menu Principal do Programa SIMULA.

### ENTRADA DOS BLOCOS DE ESTIMULACAO

Numero de blocos ( max 8 ) = 3

No. Bat: 200  
Interv : 500

No. Bat: 1  
Interv : 5000

No. Bat: 100  
Interv : 500

Figura 4.19 Entrada dos Blocos de Estimulação da sequência estimulatória exemplificada.

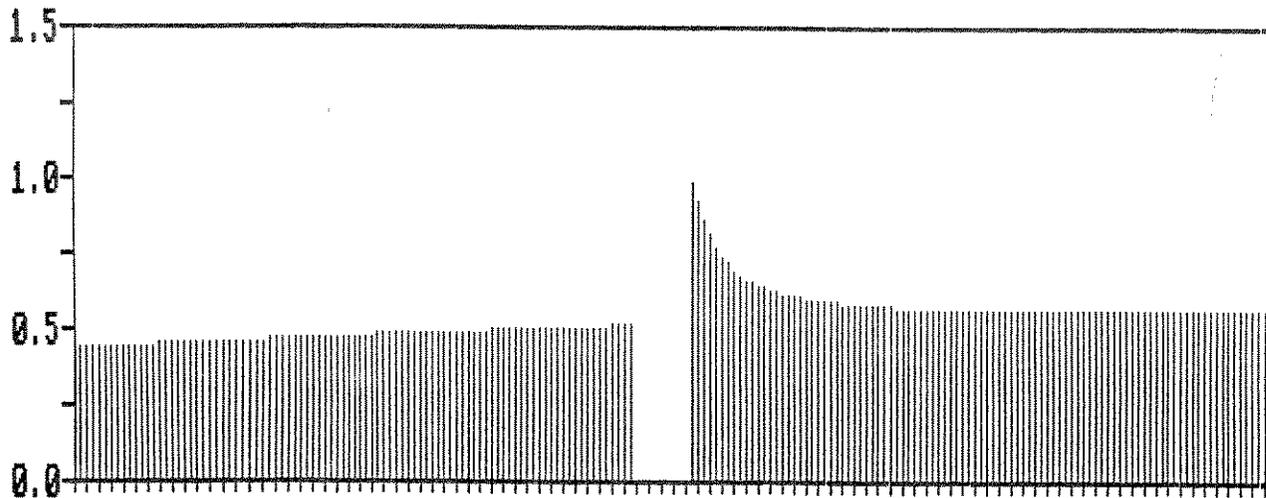
Uma vez definidos os blocos, o programa chama a subrotina de cálculo da força. Esta subrotina primeiramente ordena os intervalos entre os batimentos em um vetor chamado de "t[n]". A dimensão desse vetor será igual ao número de batimentos da sequência. Depois calcula-se o EINA para cada valor de "t[n]", acumulando-se os resultados parciais em um registro temporário "acumula1". O mesmo procedimento é feito para o EIPA, armazenando os resultados parciais em "acumula2". Finalmente, em um vetor "forca[n]" aplica-se a equação (1) - Capítulo 2 - onde, a cada batimento, se extrai da CER os valores de "acumula1" e soma-se os de "acumula2". Ao finalizar esta subrotina tem-se no vetor "forca[n]" os "n" valores da sequência estimulatória.

A outra opção do "Menu Principal" é a saída gráfica dos valores. Nesta opção é solicitado ao operador que defina a partir de qual batimento deseja a impressão na tela dos valores e o tipo de escala a ser empregada. Dessa maneira, pode-se escolher um instante em particular da sequência e o grau de "amplificação" ou de detalhe da simulação [Figs. 4.20 e 4.21].

A opção "Mudar Valores de EINA e EIPA" permite alterar parcial ou totalmente as características dos Efeitos Inotrópicos, seja no seu valor inicial seja na sua evolução temporal. Esta opção possibilita o ingresso dos diferentes valores para cada frequência [Figs. 4.22 e 4.23].

### VARIACAO DA FORCA DE CONTRACAO COM O TEMPO

[gr] Batimento inicial = 110 Escala = 2.0 mm/seg

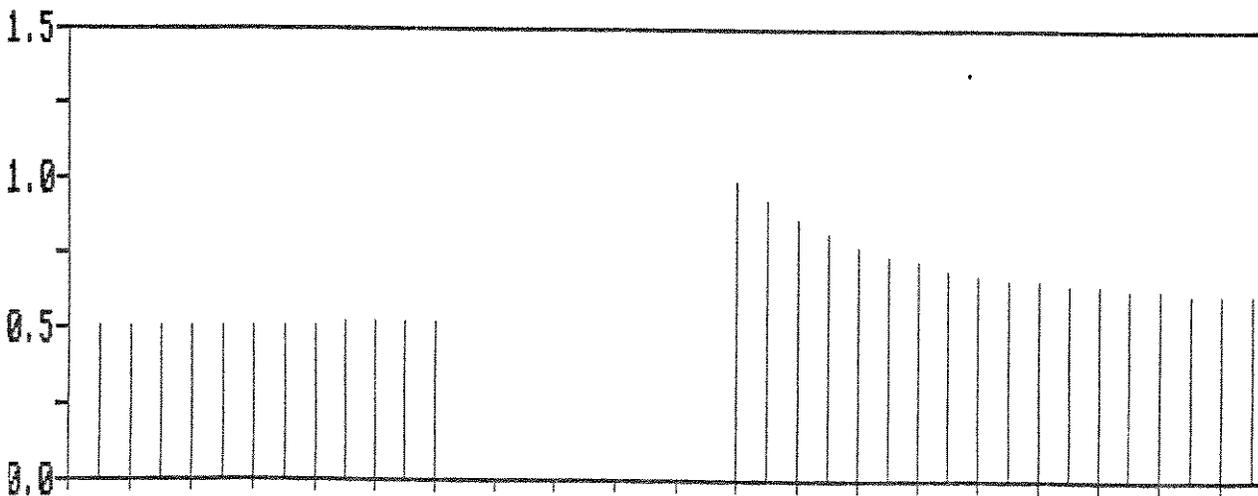


Pressione < Enter > para apagar a tela

Figura 4.20 Saida Gráfica na tela do microcomputador.

### VARIACAO DA FORCA DE CONTRACAO COM O TEMPO

[gr] Batimento inicial = 189 Escala = 10.0 mm/seg



Pressione < Enter > para apagar a tela

Figura 4.21 Saida Gráfica. Sequência Amplificada da figura 4.20.

A opção "default" retorna os valores iniciais para 2 Hz.

Uma vez alterado os EINA e EIPA, pode-se re-calcular a sequência anterior ou voltar ao "Menu Principal", permitindo que a sequência em estudo seja avaliada com os novos valores sem ter que ser digitada novamente. Caso contrário, volta-se ao "Menu Principal" e são ingressados os novos blocos de estimulação.

A opção "Finalizar" simplesmente termina a execução do programa dando uma mensagem.

Para todos os casos de interação com o usuário o programa apresenta testes de consistência avaliando se a resposta é procedente. Caso contrário ( por exemplo, ter sido digitado um número quando o programa esperava uma letra, ou dar entrada a valores absurdos ) soa um "beep" avisando a pessoa que houve um erro no dado entrado. Apaga-se o campo do dado e aguarda-se o novo valor. A simulação só continua quando o usuário entra com os dados certos. A consistência é avaliada através de duas subrotinas "verifica\_1" e "verifica\_2", onde é visto se a resposta está compreendida entre zero e o valor máximo. Se estiver errada soa o "beep" e apaga-se o campo. Os parâmetros passados a esta subrotina são três : as coordenadas (x, y) onde foi entrado o dado ( necessárias para o caso de apagar o campo) , e o valor máximo esperado. A "verifica\_1" é utilizada para variáveis inteiras, e "verifica\_2" para as de dupla precisão. No caso em que o dado pedido seja uma letra, a resposta é armazenada em uma variável "escolha" e depois verifica-se se essa variável

Mudando os valores de EINA e EIPA

EINA - Valores Atuais

2.000000	-0.500000	0.475000	-0.080000
----------	-----------	----------	-----------

Digite os novos valores

1.5	-0.25	0.2	-0.04
-----	-------	-----	-------

Figura 4.22 Opção para mudar os valores de EINA.

Mudando os valores de EINA e EIPA

EIPA - Valores Atuais

0.040000	-0.01000
----------	----------

Digite os novos valores

0.02	-0.2
------	------

Digite R para recalcular, M para voltar ao Menu =

Figura 4.23 Opção para mudar os valores de EIPA.

corresponda a umas das letras que figuravam no "Menu Principal". Qualquer outra possibilidade é rejeitada. Também existe uma verificação para a sequência das opções da "Saída Gráfica" e "Entrada dos Blocos de Estimulação", não podendo ser escolhida "Saída Gráfica" sem antes ter sido entrada alguma sequência de estímulos. Isto foi implementado através de um "flag" que é ativado ao final da opção "Entrada dos Blocos de Estimulação", habilitando a "Saída Gráfica".

Estes testes conferem robustez ao programa, evitando que seja travado devido a um erro de digitação, entrada de valores absurdos ou uma sequência errada na escolha de opções.

## **Capítulo 5**

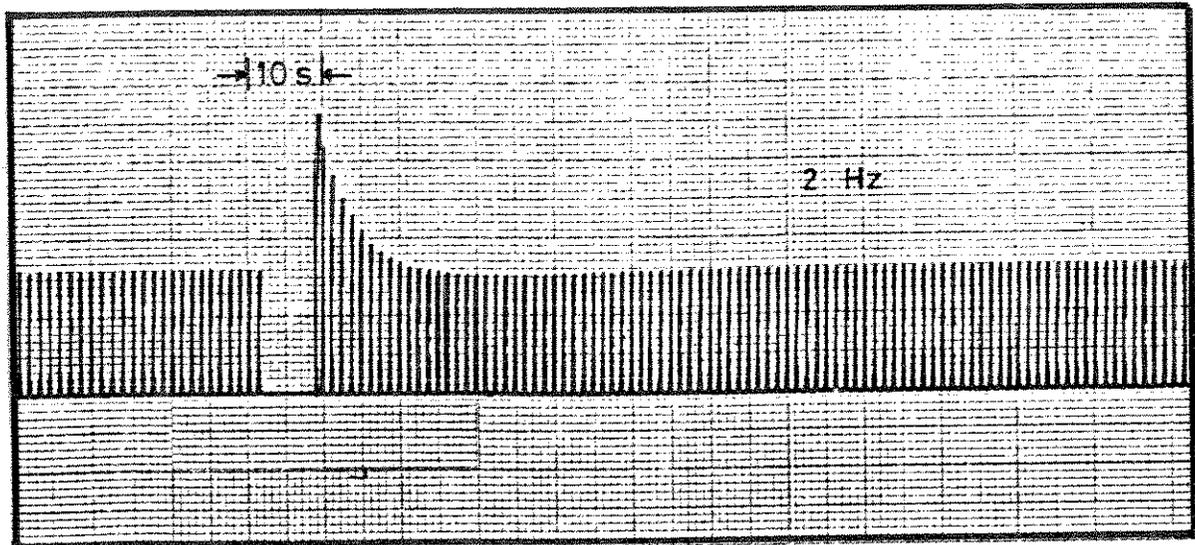
### **Resultados e Discussão**

" Se os dados não batem com a  
teoria esqueça os dados...."

Corolario das Leis de Murphy

A Figura 5.1 mostra o registro de um experimento e a simulação correspondente. No caso de pausas no meio de uma frequência constante o modelo representa perfeitamente o valor da contração ao reiniciar a estimulação. Ao se construir as Curvas de Restituição Mecânica simuladas observa-se que conferem com os valores experimentais [Fig. 5.2]. Uma análise mais detalhada da figura 5.1 mostra que a forma do decaimento da força apresenta algumas diferenças [Fig. 5.3]. Isto é devido ao fato do modelo ser, por definição, simétrico. Nos registros, no entanto, a "porção ascendente" das Curvas de Restituição Mecânicas difere da porção que descreve o retorno ao valor de regime da força. Uma razão para isto seria que os mecanismos envolvidos no acúmulo de cálcio (porção ascendente) sejam diferentes daqueles encarregados da extrusão do cálcio (retorno ao valor de regime).

Na retomada da estimulação (registros experimentais) observa-se sempre um padrão descendente nos primeiros batimentos, porém esse padrão não é obedecido nas frequências de 6 ou 8 Hz [Fig. 5.4]. Neste caso acontece um outro fenômeno: após uma pausa, a duração do primeiro batimento é maior, e o segundo estímulo chega quando a fibra ainda não se relaxou totalmente, resultando em uma contração fraca. O acréscimo da duração é mais evidente nas frequências superiores, sendo que para intervalos de 250 ms ou 500 ms (2 e 4 Hz) passa despercebido. O modelo, no entanto, sempre reproduz um padrão descendente [Figura 5.5].

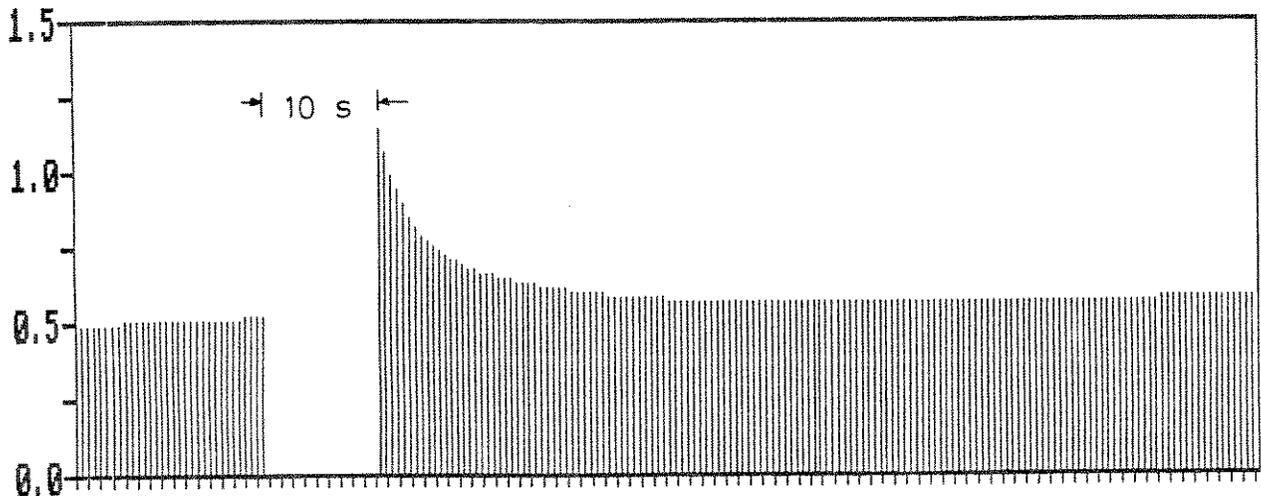


VARIACAO DA FORÇA DE CONTRACAO COM O TEMPO

[gr]

Batimento inicial = 170

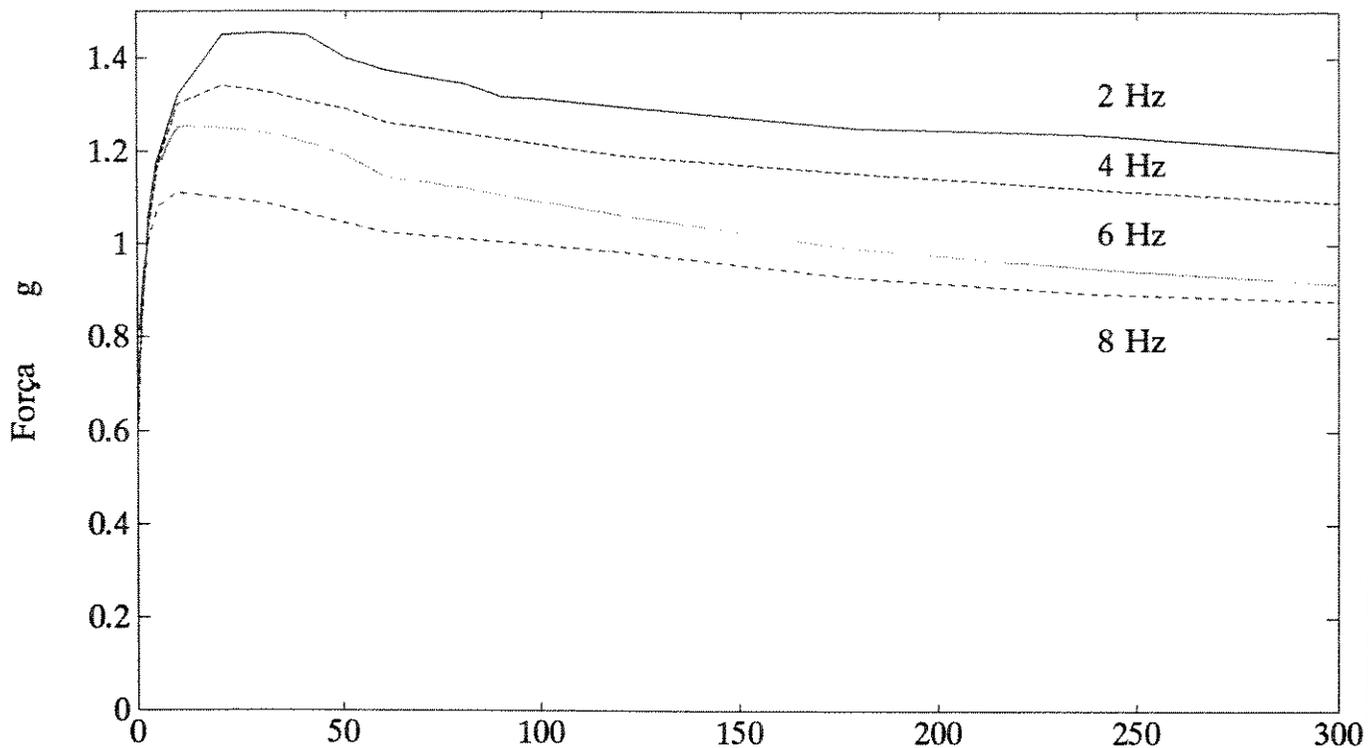
Escala = 2.0 mm/seg



Pressione < Enter > para apagar a tela

Figura 5.1 Efeito de uma pausa de 10 segundos no meio de uma frequência de 2 Hz. Registro experimental (a) e simulação (b).

Curvas de Restituição Mecânica - Dados Reais



Curvas de Restituição Mecânica - Fitting

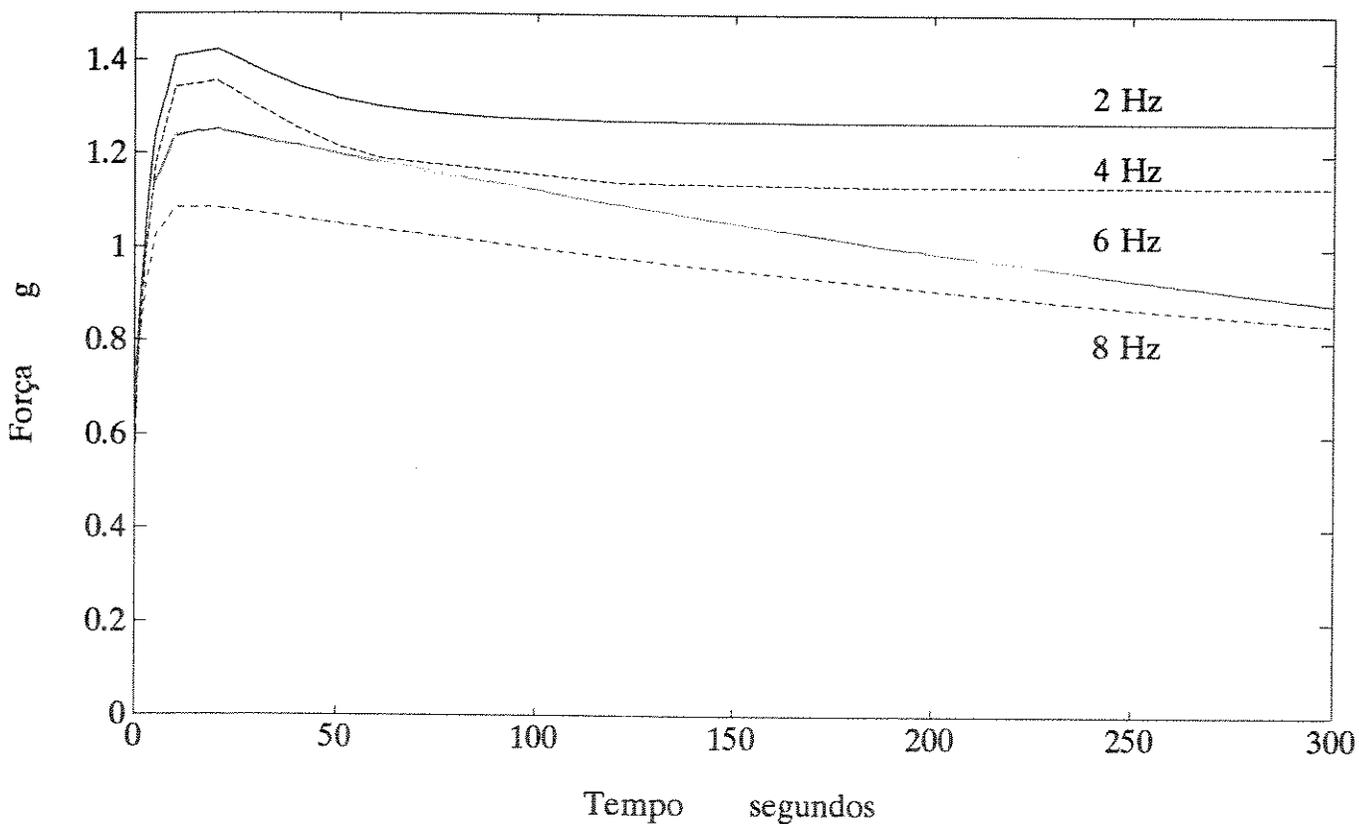
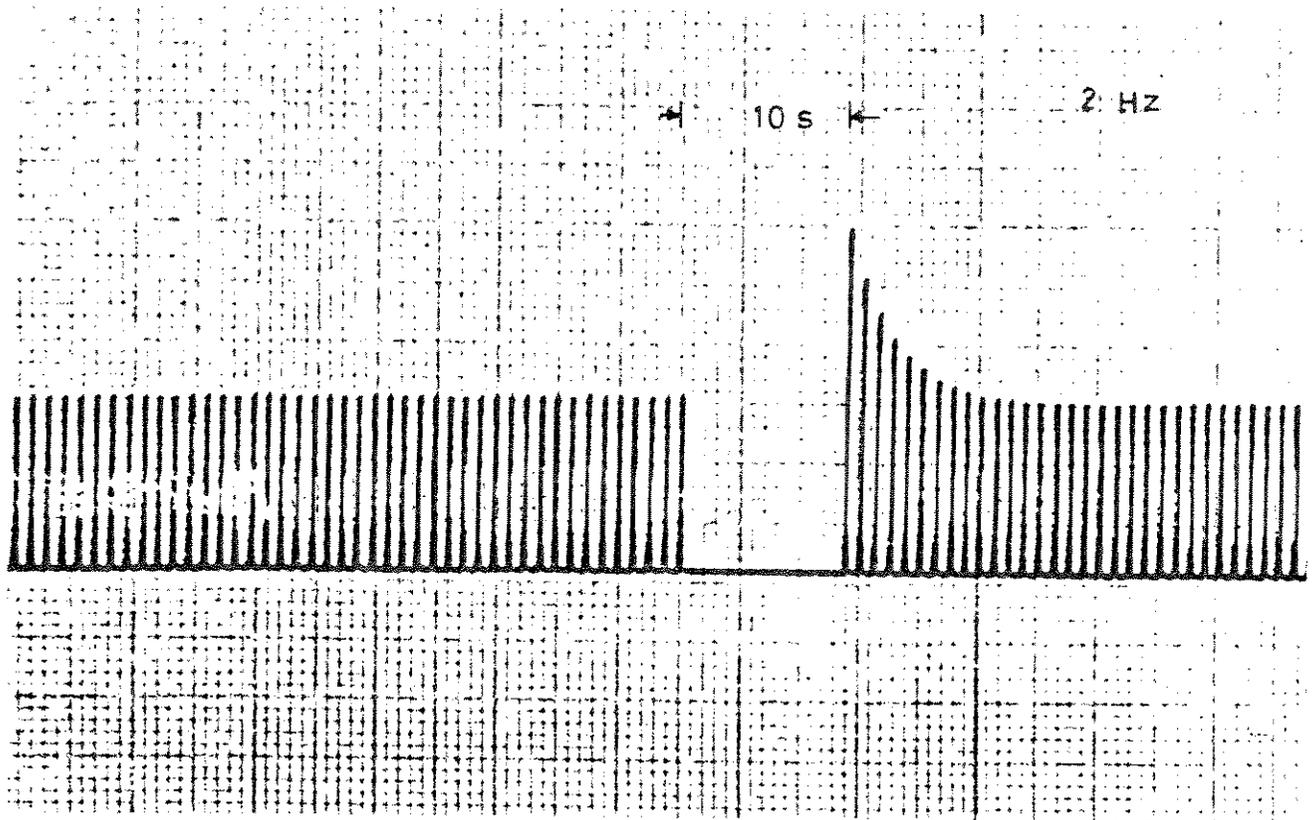


Figura 5.2 Curvas de Restituição Mecânica. Valores reais (a) e os obtidos pela simulação (b).

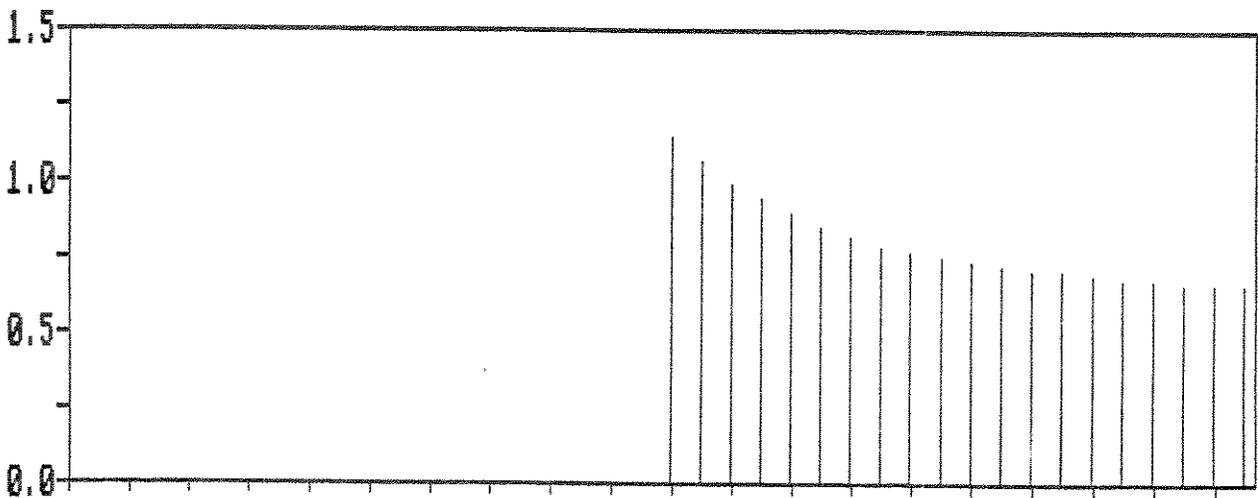


VARIACAO DA FORCA DE CONTRACAO COM O TEMPO

[gr]

Batimento inicial = 201

Escala = 10.0 mm/seg



Pressione < Enter > para apagar a tela

Figura 5.3 Detalhe do efeito de uma pausa de 10 segundos no meio de uma frequência de 2 Hz. Observam-se as diferenças entre os valores reais e os obtidos pela simulação.

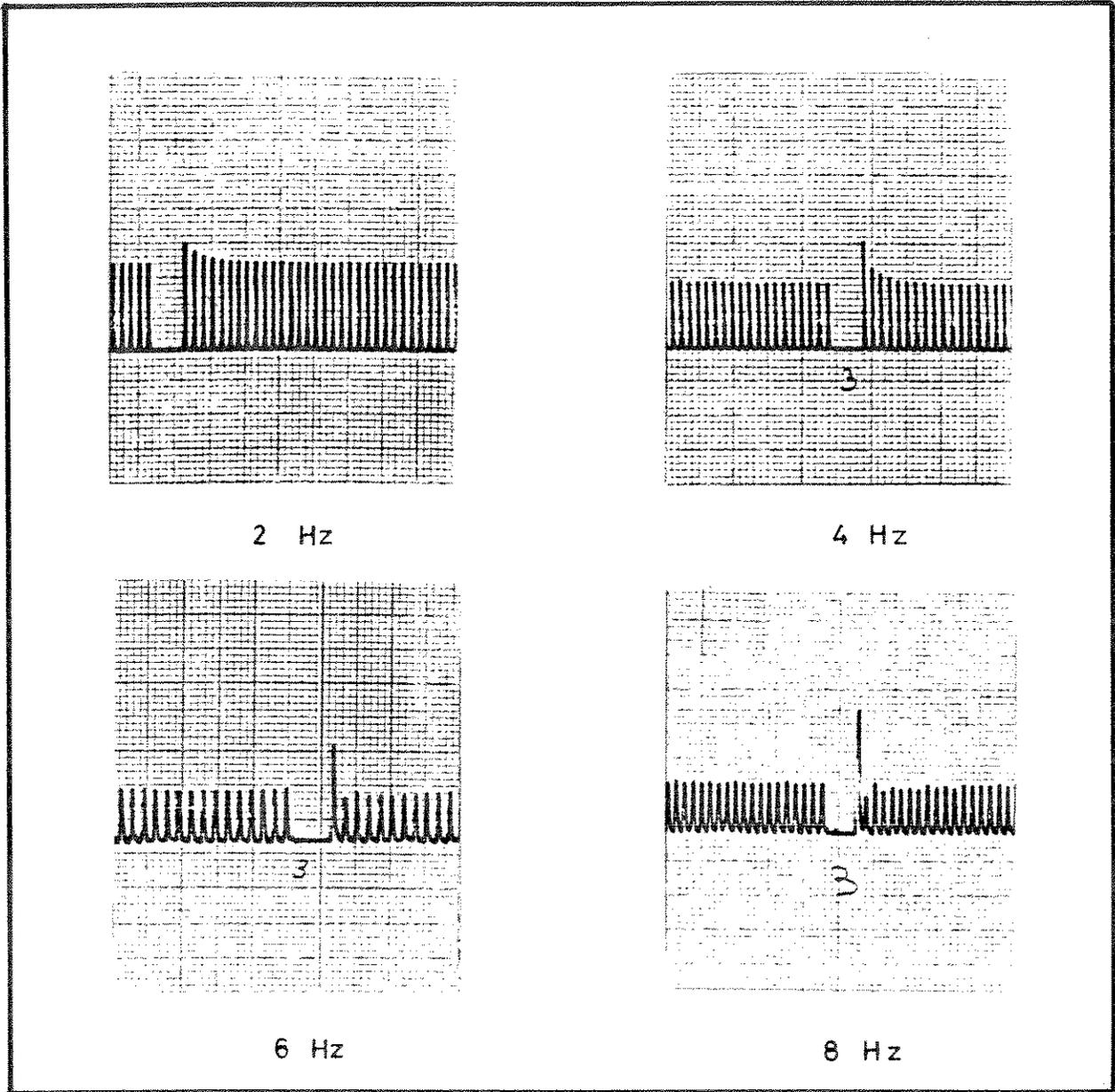
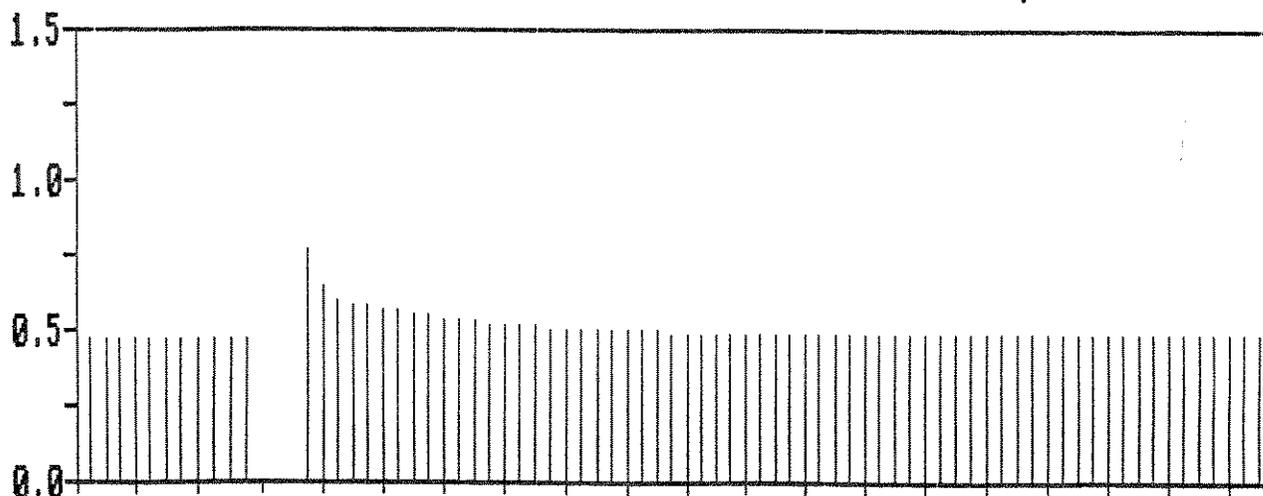


Figura 5.4 Registros experimentais típicos. Pausa de três batimentos no meio de uma frequência constante. Vemos que o padrão descendente não é obedecido nas frequências de 6 e 8 Hz.

### VARIACAO DA FORCA DE CONTRACAO COM O TEMPO

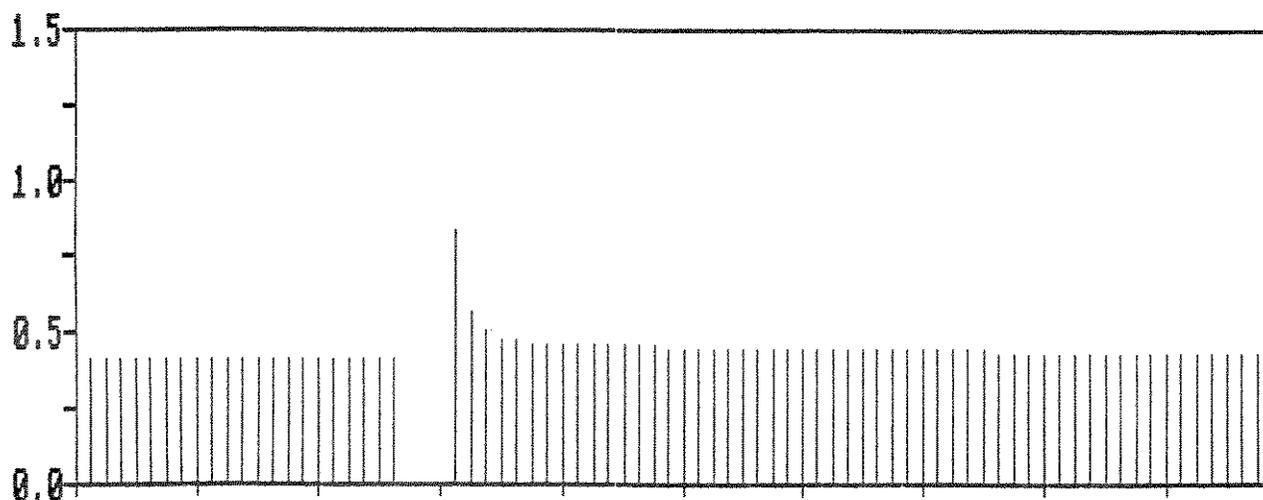
[gr] Batimento inicial = 190 Escala = 10.0 mm/seg



Pressione < Enter > para apagar a tela

### VARIACAO DA FORCA DE CONTRACAO COM O TEMPO

[gr] Batimento inicial = 180 Escala = 20.0 mm/seg



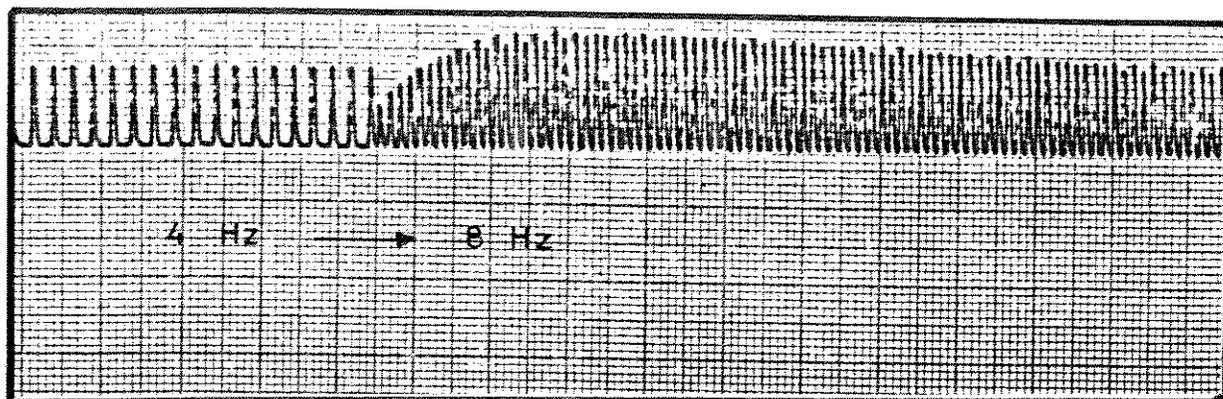
Pressione < Enter > para apagar a tela

Figura 5.5 Simulação de uma pausa de três batimentos na frequência de 4 Hz (acima) e 8 Hz (abaixo).

Isto coloca em evidência uma outra modificação a ser feita no modelo : a duração da contração deve ser levada em consideração, principalmente para simular o comportamento da fibra em frequências acima de 5 Hz.

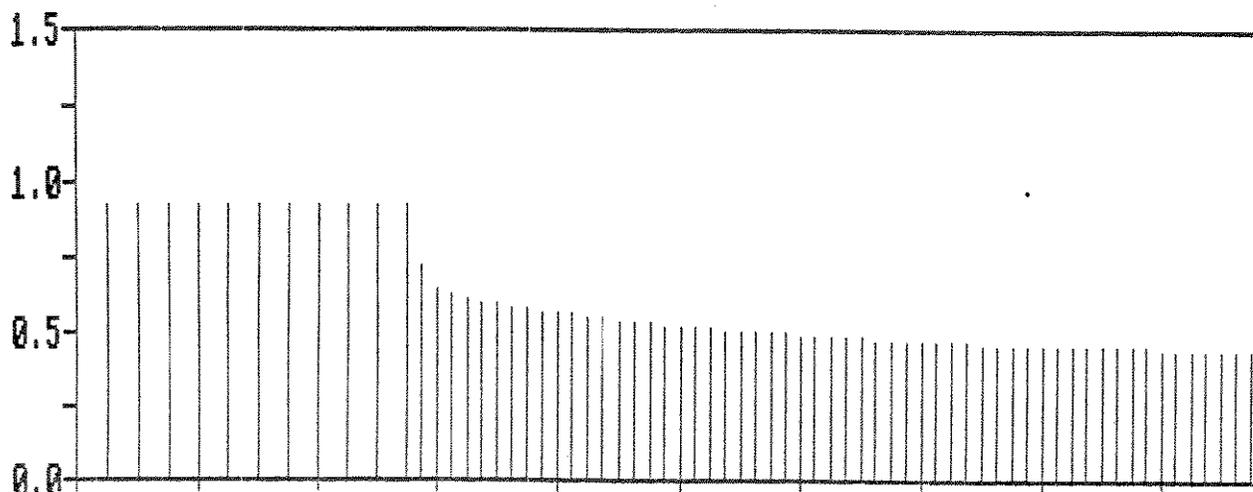
Como os EINA/EIPA dependem da frequência, é necessário entrar com os valores particulares para cada simulação. Por isso, o modelo falha em reproduzir mudanças nas frequências estimulatórias [Fig. 5.6]. Possivelmente exista, nas transições, uma lenta acomodação desses efeitos, desde o valor original até o novo valor de regime. Seria interessante que em futuros protocolos experimentais fossem estudados os mecanismos dessas mudanças.

No caso de extra-estímulos, as simulações não coincidem com os registros. Essa diferença é maior na retomada da estimulação e não no extra-estímulo [Fig. 5.7]. Uma possível explicação é que o extra-estímulo é inesperado. Os mecanismos de contração muscular estão com uma cinética particular e a intromissão do extra-estímulo atrapalha o normal funcionamento dos processos. A grande disparidade dos batimentos posteriores talvez deva-se ao fato desse mecanismos estarem se re-adaptando após o extra-estímulo ou que este deixou a fibra em um "estado" diferente do normal.



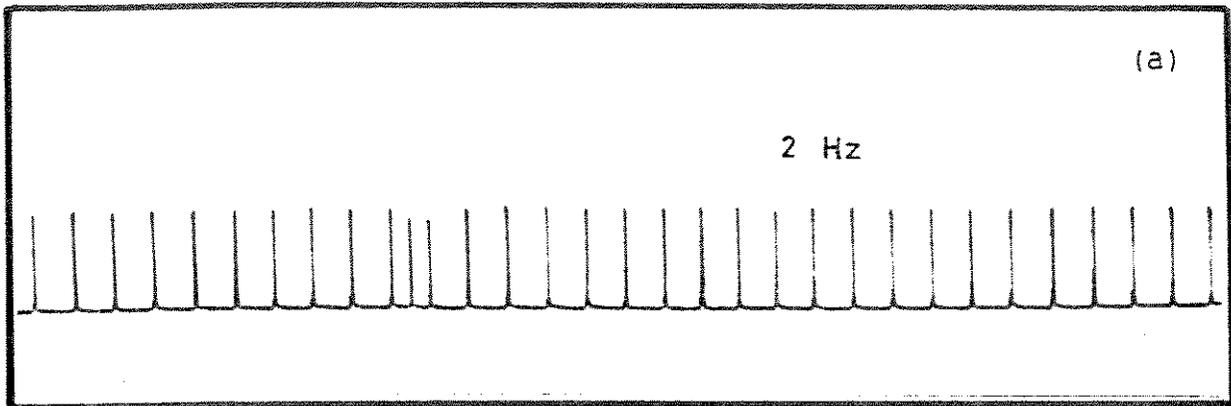
VARIACAO DA FORCA DE CONTRACAO COM O TEMPO

[gr] Batimento inicial = 190 Escala = 20.0 mm/seg



Pressione < Enter > para apagar a tela

Figura 5.6 Mudança na frequência estimulatória. De 4 para 8 Hz. Valores reais (acima) e simulação (abaixo).

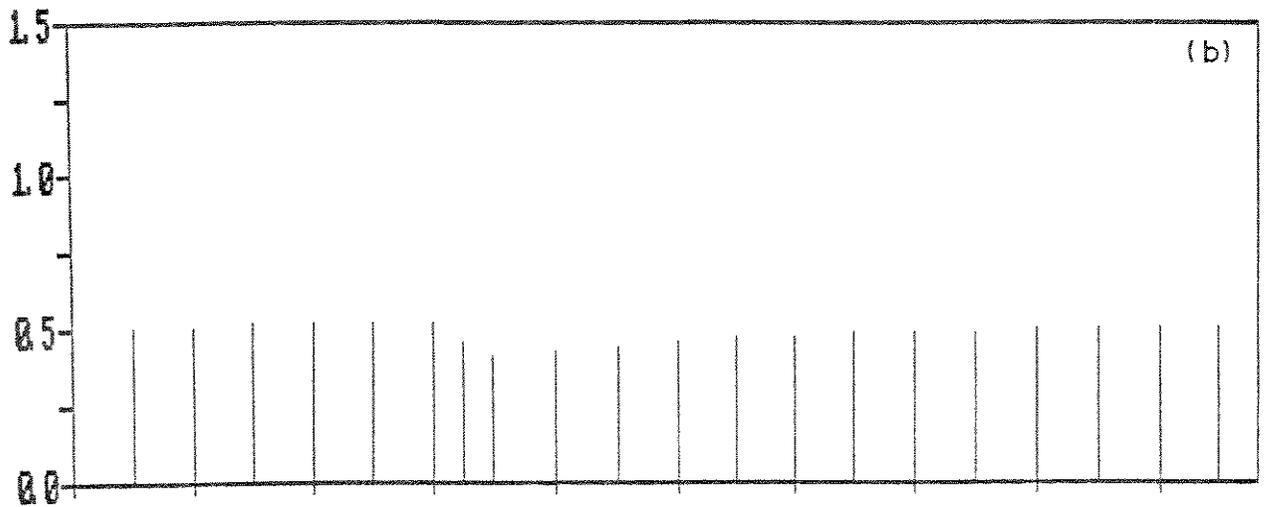


VARIACAO DA FORCA DE CONTRACAO COM O TEMPO

[gr]

Batimento inicial = 195

Escala = 20.0 mm/seg



Pressione < Enter > para apagar a tela

Figura 5.7 Efeito de um extra-estímulo em 50% do intervalo entre os batimentos. Frequência 2 Hz. Dados experimentais (a) e simulação (b).

Outras tentativas de estudar o comportamento do tecido cardíaco por simulação são os dos modelos do tipo compartimental (Manring e Hollander, 1971); (Schouten, 1987); (Hilgemann, 1989), nos quais a força desenvolvida é assumida como proporcional à  $[Ca^{++}]$  intracelular. Os movimentos de cálcio de fora para dentro da célula, e dos compartimentos intracelulares para às miofibrilas, são descritos em termos de equações diferenciais.

Basicamente a abordagem consiste em pressupor dois compartimentos, um onde o cálcio é armazenado e outro por onde o cálcio é liberado para as miofibrilas, uma intercomunicação entre ambos e finalmente um fluxo de cálcio através da membrana [Fig. 5.8]. Cada autor coloca condições particulares para conseguir representar o fenômeno por ele estudado, e que não pode ser transferido para o problema analisado por outro grupo de trabalho.

A postura de Koch-Weser e Blinks é mais abrangente. Possui a grande vantagem da simplicidade. Porém precisa ser aprimorado. No entanto, permitiu uma primeira abordagem sobre o tema. Surgem questões pendentes a serem analisadas em trabalhos posteriores: 1) a idéia de uma memória a curto prazo e uma memória a longo prazo; 2) a possibilidade de um extra-estímulo alterar o "estado" normal da fibra; 3) o estudo das transições dos valores de EINA/EIPA entre duas frequências regulares; etc...

Todas essas novas perguntas surgiram graças a esta primeira hipótese de dois efeitos antagônistas atuando simultaneamente.

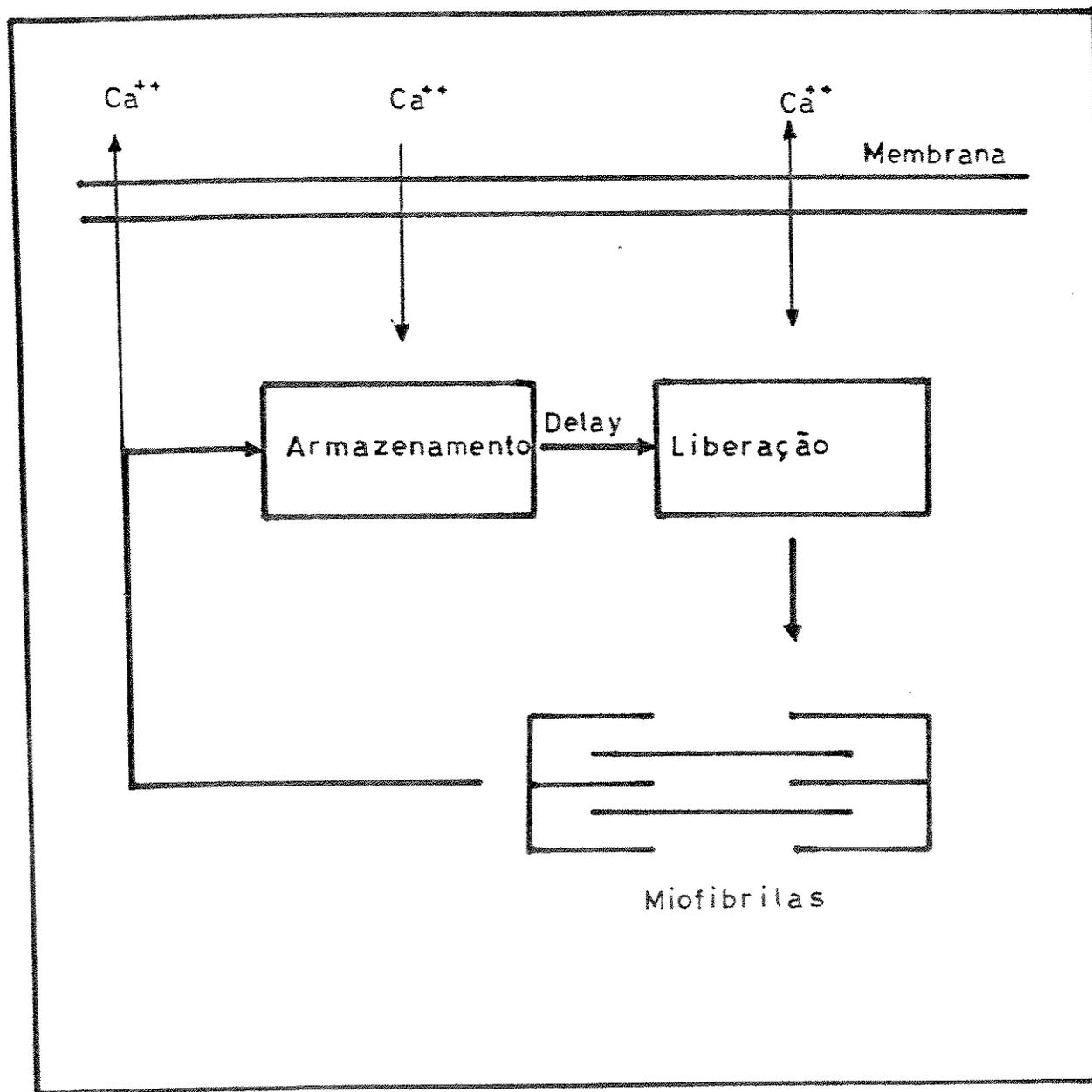


Figura 5.8 Diagrama esquemático básico do modelo compartimental.

## Capítulo 6

### Conclusões

"... O trabalho científico começa  
com uma pergunta e termina com a  
formulação de mais duas..."

J.W.M.B. (Na sala de aula)

Dos modelos existentes na literatura, o aqui apresentado possui uma simplicidade e clareza de entendimento que serve como ponto de partida válido para o estudo da relação força-frequência.

Existem no entanto algumas limitações neste modelo; viu-se nos experimentos que os valores de EINA e EIPA variam com a frequência. Essa dependência deve ser levada em consideração em futuras modificações do modelo.

O acúmulo por soma algébrica simples dos efeitos também é questionável, uma vez que eles podem interagir segundo alguma outra lei, e não como postulado no modelo.

Também é possível que esses efeitos dependam do valor da força de contração (ou seja, do cálcio intra/extra-celular envolvido nesse instante).

A duração da contração tem que ser incluída para permitir simular o comportamento das fibras cardíacas nas frequências superiores.

A necessidade de levar os fenômenos biológicos de uma descrição qualitativa para uma abordagem quantitativa incentiva o prosseguimento e aprimoramento deste modelo.

A simulação pelo computador é útil não só para pesquisa como também para auxílio didático na compreensão de mecanismos básicos da fisiologia. Nas futuras versões deste programa sugere-se utilizar o ambiente "Windows" para possibilitar uma melhor interação com o usuário.

O modelo precisa ser melhorado, conservando porém, a idéia original de dois efeitos antagônicos e focalizando a pesquisa sobre quais os mecanismos que contribuem ao EINA ou EIPA, seja no seu valor inicial, seja na sua evolução temporal.

Por último, os registros obtidos são de utilidade para validar qualquer outro tipo de modelo da relação força-frequência no àtrio esquerdo de rato, não se limitando ao aqui apresentado.

## **Capítulo 7**

### **Bibliografia**

"Não saia citando a torto e a direito..."

J.W.M.B, Receita para fazer uma Tese de  
Mestrado ("unpublished")

BASSANI, J.W.M. Papel da Troca Na/Ca na Contração e Relaxamento do Tecido Cardíaco. Relatório de Atividades Mar/91 a Ago/91. 37 p. Division of Biomedical Sciences. University of California. Riverside, EEUU. 1991.

BASSINGHTWAICHTE, J.B. e REUTER, H. Calcium movements and excitation-contraction coupling in cardiac cells. In Electrical Phenomena of the Heart, ed. De Mello, W.C., pp 353-395, London and New York; Academic Press. 1972

BERS, D.M. e HRYSHKO, L.V. Calcium Channels and the Regulation of Cardiac Contraction. In :Contributions to Cellular and Molecular Endocrinology. Eds. H.L. Henry, A.W. Norman. Kluwer Academic Press, Netherlands. 258 pp. 1990.

BLINKS, J.R. e KOCH-WESER, J. Analysis of the Effects of Changes in Rate and Rhythm upon Myocardial Contractility. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 134:373-389, 1961.

EBASHI, S. Excitation-Contraction Coupling and the Mechanism of Muscle Contraction. Annu Rev. Physiol. 53:1-16, 1991.

FABIATO, A. e FABIATO F. Contractions Induced by a Calcium-triggered Release of Calcium from the Sarcoplasmic Reticulum of Single Skinned Cardiac Cells. J. Physiol. 249:469-495, 1975.

FABIATO, A. Simulated Calcium Current Can Both Cause Calcium Loading in and Trigger Calcium Release from the Sarcoplasmic Reticulum of a Skinned Canine Cardiac Purkinje Cell. J. Gen. Physiol. 85:291-320, 1985

GODOY, C.M.G. Estimulador Cardíaco Programável. Tese de Mestrado. DEB/FEE. UNICAMP. 1990.

HILGEMANN, D.W., ROOS, K.P., BRADY, A.J. Slowly relaxing caffeine responses in rat ventricle: relationships or ryanodine and caffeine actions. Am. J. Physiol 256 (Heart Circ. Physiol. 25):H1100-H1109, 1989.

KOCH-WESER, J. e BLINKS, J.R. Analysis of the Relation of the Positive Inotropic Action of Cardiac Glycosides to the Frequency of Contraction of the Heart Muscle. J. Pharmacol. Exptl. Therap. 136:305-317, 1962.

KOCH-WESER, J. e BLINKS, J.R. The Influence of the Interval Between Beats on Myocardial Contractility. Pharm. Rev. 15:601-652, 1963.

MANRING, A. e HOLLANDER, P.B. The Interval-Strength Relationship in Mammalian Atrium : A Calcium Exchange Model. Biophys. J. 11:483-501. 1971.

MEIJLER, F.L. Staircase, Rest Contractions and Potentiation in the Isolated Rat Heart. Am. J. Physiol 202(4):636-640, 1962.

MURPHY, R.A. Músculo, In : BERNE, R. e LEVY, M.N., Fisiologia, 2 ed. Editora Guanabara Koogan S.A. Brasil. 1990. p. 249-270.

REITER, M. Calcium Mobilization and Cardiac Inotropic Mechanisms. Pharmac. Rev. 40(3):189-210, 1988.

SCHOUTEN, V.J.A., VAN DEEN, J.K., DE TOMBE, P. e VERVEEN, A.A. Force-Interval Relationship in Heart Muscle of Mammals. Biophys. J. 51:13-26, 1987.

VETTER, R. e WILL, H. Sarcolemmal Na-Ca Exchange and Sarcoplasmic Reticulum Calcium Uptake in Developing Chick Heart. J. Mol. Cell. Cardiol. 18:1267-1275, 1986.

## **Apêndice I**

### **Tabelas, Gráficos e Registros**

VALOR DA FORÇA DE CONTRACAO APOS UMA PAUSA [ 2 Hertz ]

Intervalo	Rato #1	Rato #2	Rato #3	Rato #4	Rato #5	Rato #6	MEDIA
1	15	17.5	18.5	21	16	18	17.66666
5	22	25	24	26	21	24	23.66666
10	26.5	28	27.5	28	22.5	26	26.41666
20	29.5	30	30	31	25	28.5	29
30	30.5	30	30.5	29.5	25	29	29.08333
40	31	30	30	30	25	28	29
50	30.5	29	29.5	28	24	27.5	28.08333
60	28.5	29	29	28	23.5	27	27.5
120	27	26.5	28	26	22	26	25.91666
180	26	26	26.5	25	21.5	25	25
240	25.5	25.5	26.5	26	20.5	24.5	24.75
300	25	25	26	24	20	24	2

**Tabela I.1** Valor da força de contração após uma pausa. Intervalo em segundos, força em mm ( 10 mm = 0,5 g ).

### CURVAS DE RESTITUIÇÃO MECANICA 2 Hz

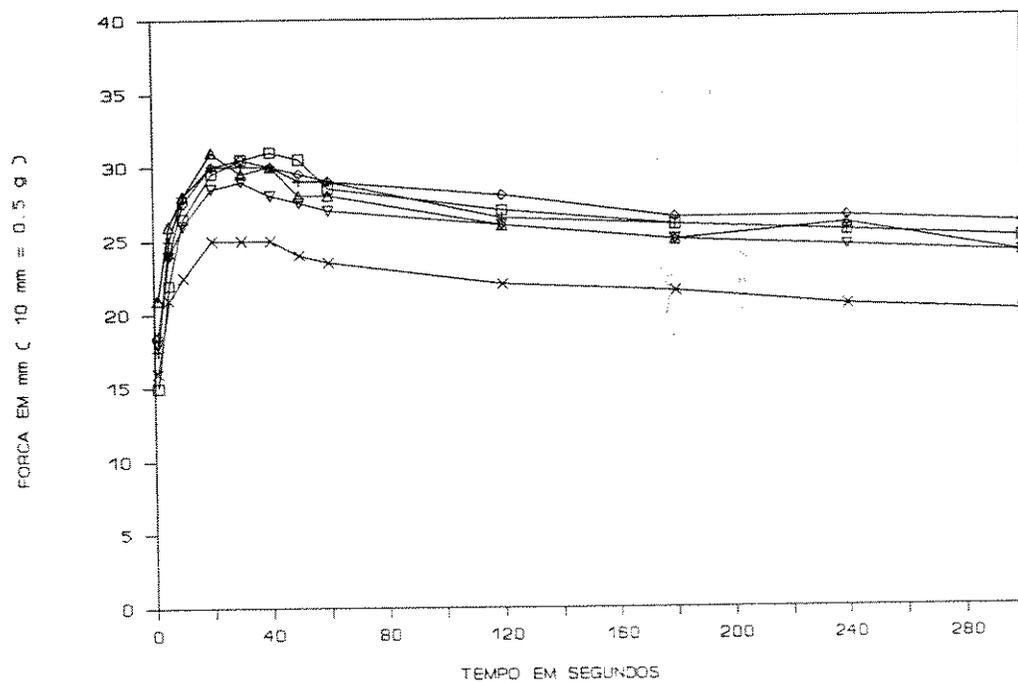
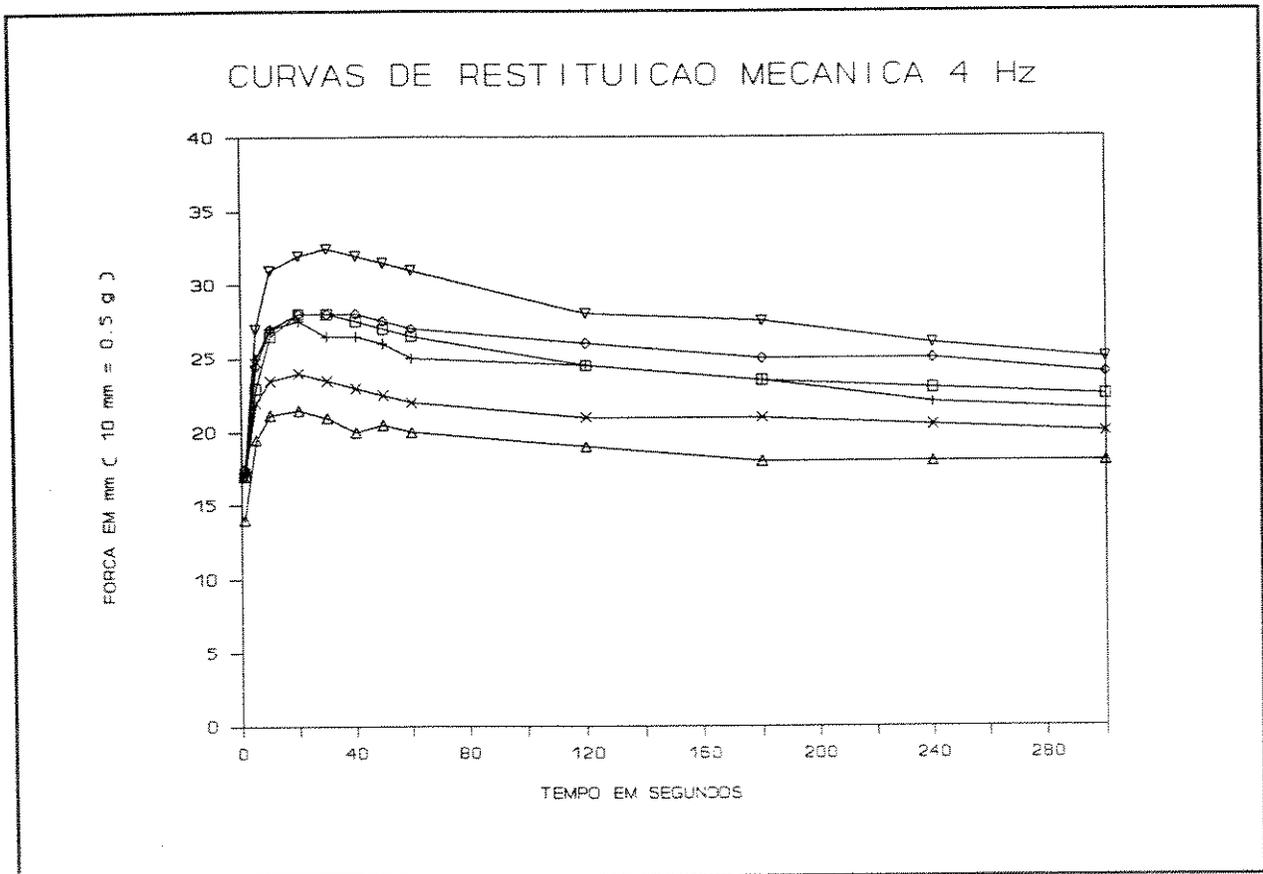


Figura I.1 Curvas de Restituição Mecânica para 2 Hz. Força em mm ( 10 mm = 0,5 g ).

VALOR DA FORÇA DE CONTRACAO APOS UMA PAUSA [ 4 Hertz ]

Intervalo	Rato #1	Rato #2	Rato #3	Rato #4	Rato #5	Rato #6	MEDIA
1	17	17.5	17.5	14	17	17	16.66666
5	23	25	24.5	19.5	22	27	23.5
10	26.5	27	27	21.2	23.5	31	26.03333
20	28	27.5	28	21.5	24	32	26.83333
30	28	26.5	28	21	23.5	32.5	26.58333
40	27.5	26.5	28	20	23	32	26.16666
50	27	26	27.5	20.5	22.5	31.5	25.83333
60	26.5	25	27	20	22	31	25.25
120	24.5	24.5	26	19	21	28	23.83333
180	23.5	23.5	25	18	21	27.5	23.08333
240	23	22	25	18	20.5	26	22.41666
300	22.5	21.5	24	18	20	25	21.83333

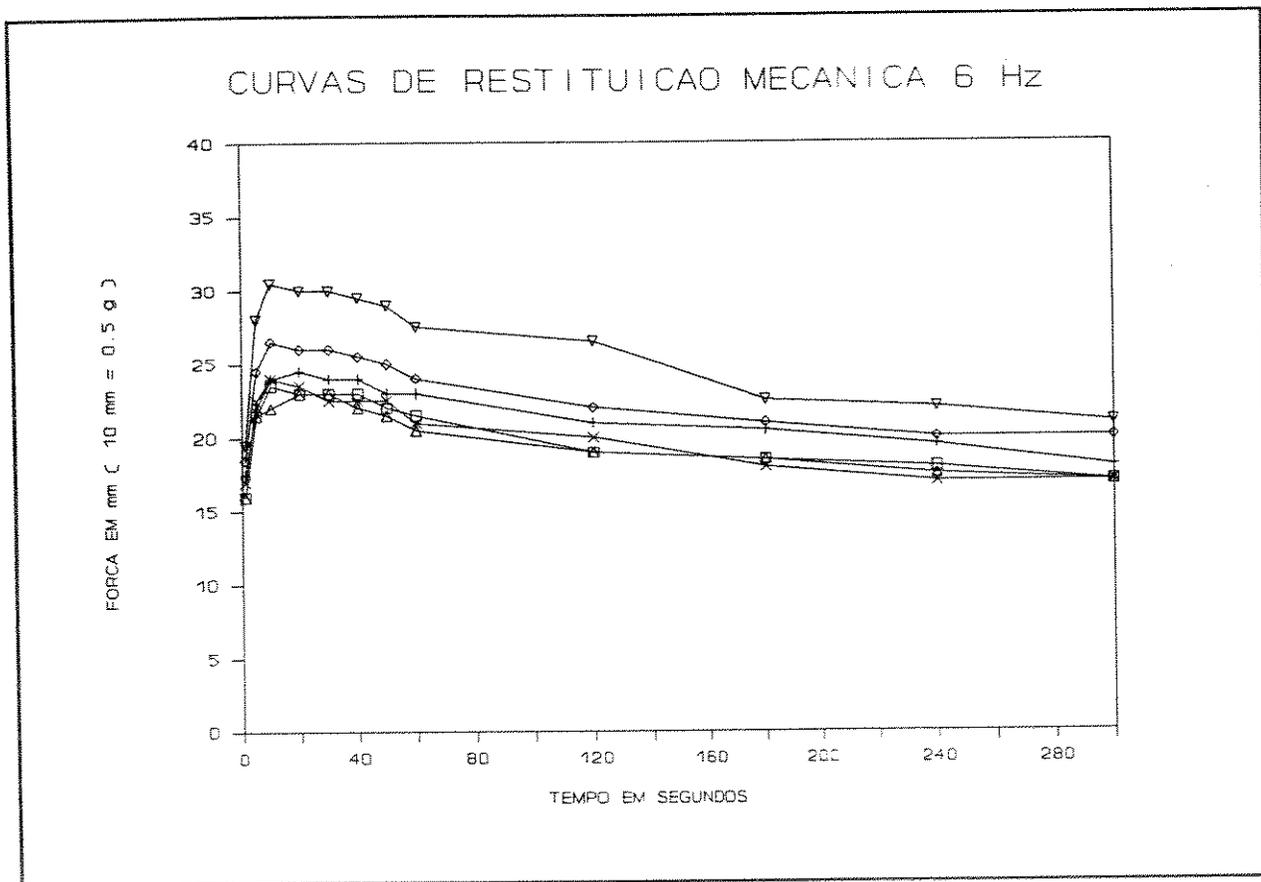
Tabela I.2 Valor da força de contração após uma pausa. Intervalo em segundos, força em mm ( 10 mm = 0,5 g ).



**Figura I.2** Curvas de Restituição Mecânicas para 4 Hz. Força em mm ( 10 mm = 0,5 g ).

VALOR DA FORÇA DE CONTRACAO APOS UMA PAUSA [ 6 Hertz ]							
Intervalo	Rato #1	Rato #2	Rato #3	Rato #4	Rato #5	Rato #6	MEDIA
1	16	17.5	18.5	16	17	19.5	17.41666
5	21.5	22	24.5	21.5	22.5	28	23.33333
10	23.5	24	26.5	22	24	30.5	25.08333
20	23	24.5	26	23	23.5	30	25
30	23	24	26	23	22.5	30	24.75
40	23	24	25.5	22	22.5	29.5	24.41666
50	22	23	25	21.5	22.5	29	23.83333
60	21.5	23	24	20.5	21	27.5	22.91666
120	19	21	22	19	20	26.5	21.25
180	18.5	20.5	21	18.5	18	22.5	19.83333
240	18	19.5	20	17.5	17	22	19
300	17	18	20	17	17	21	18.33333

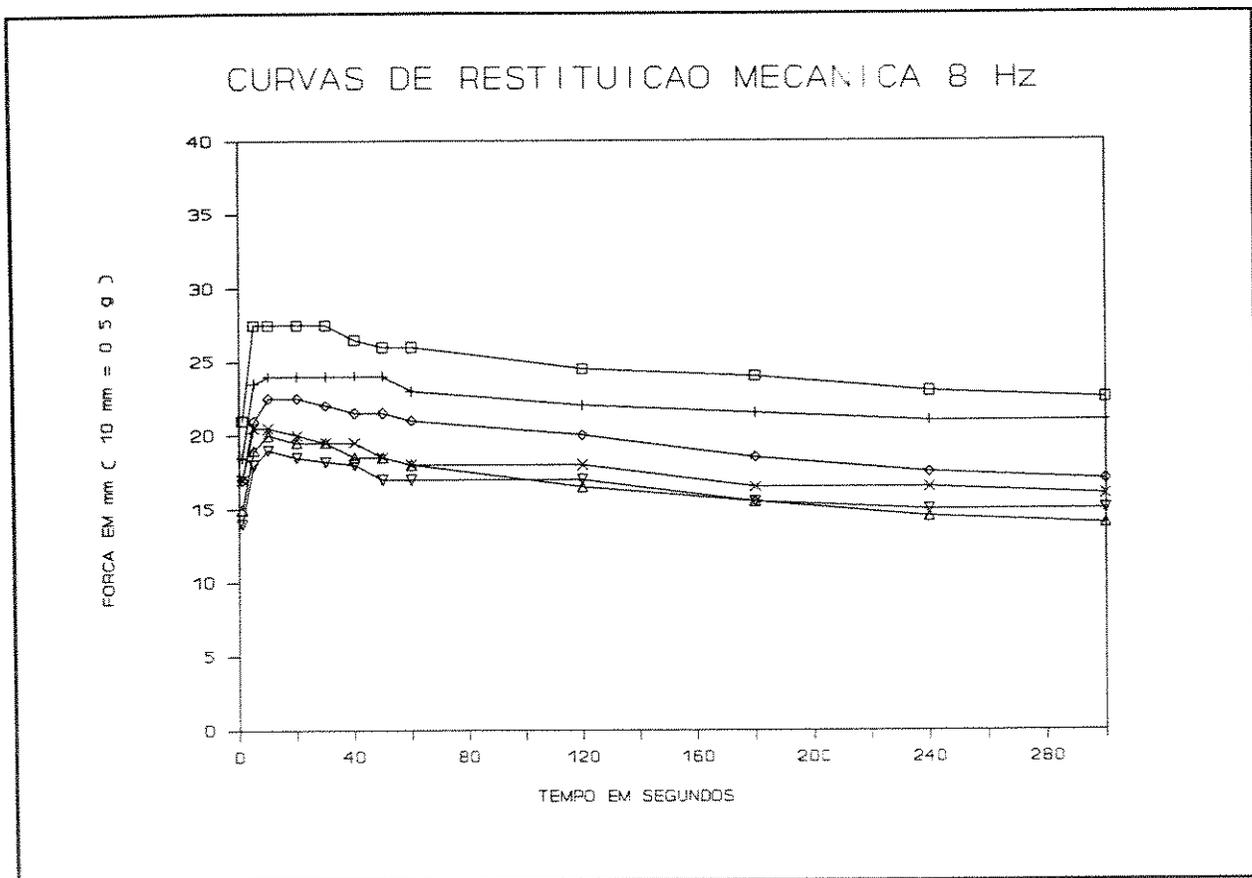
**Tabela I.3** Valor da força de contração após uma pausa. Força em mm ( 10 mm = 0.5 g ).



**Figura I.3** Curvas de Restituição Mecânicas para 6 Hz. Força em mm ( 10 mm = 0,5 g ).

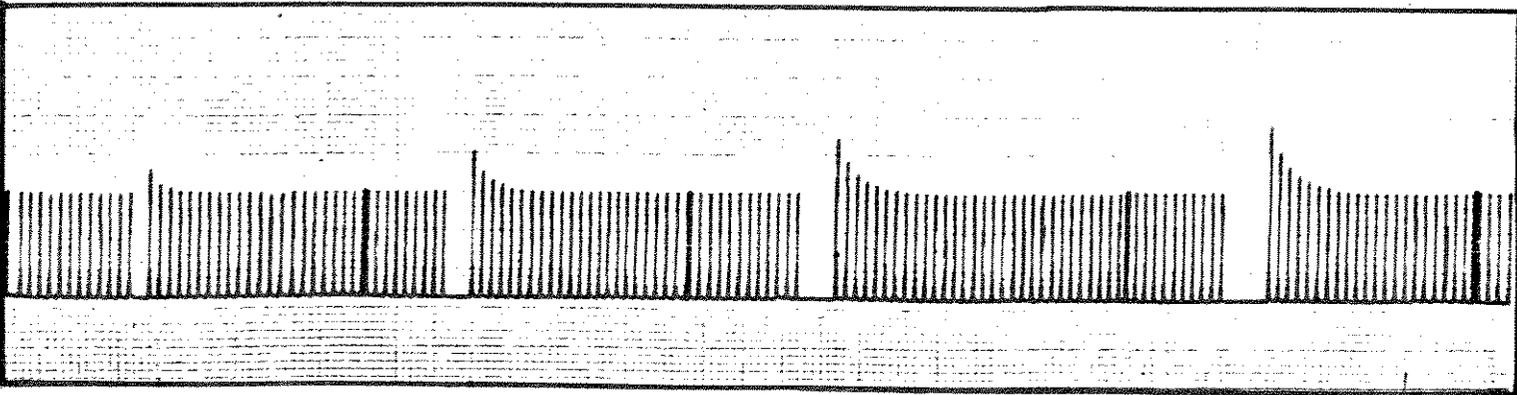
VALOR DA FORÇA DE CONTRACAO APOS UMA PAUSA [ 8 Hertz ]							
Intervalo	Rato #1	Rato #2	Rato #3	Rato #4	Rato #5	Rato #6	MEDIA
1	21	18.5	17	15	17	14	17.08333
5	27.5	23.5	21	19	20.5	18	21.58333
10	27.5	24	22.5	20	20.5	19	22.25
20	27.5	24	22.5	19.5	20	18.5	22
30	27.5	24	22	19.5	19.5	18.2	21.78333
40	26.5	24	21.5	18.5	19.5	18	21.33333
50	26	24	21.5	18.5	18.5	17	20.91666
60	26	23	21	18	18	17	20.5
120	24.5	22	20	16.5	18	17	19.66666
180	24	21.5	18.5	15.5	16.5	15.5	18.58333
240	23	21	17.5	14.5	16.5	15	17.91666
300	22.5	21	17	14	16	15	17.58333

**Tabela I.4** Valor da força de contração após uma pausa. Força em mm ( 10 mm = 0,5 g ).

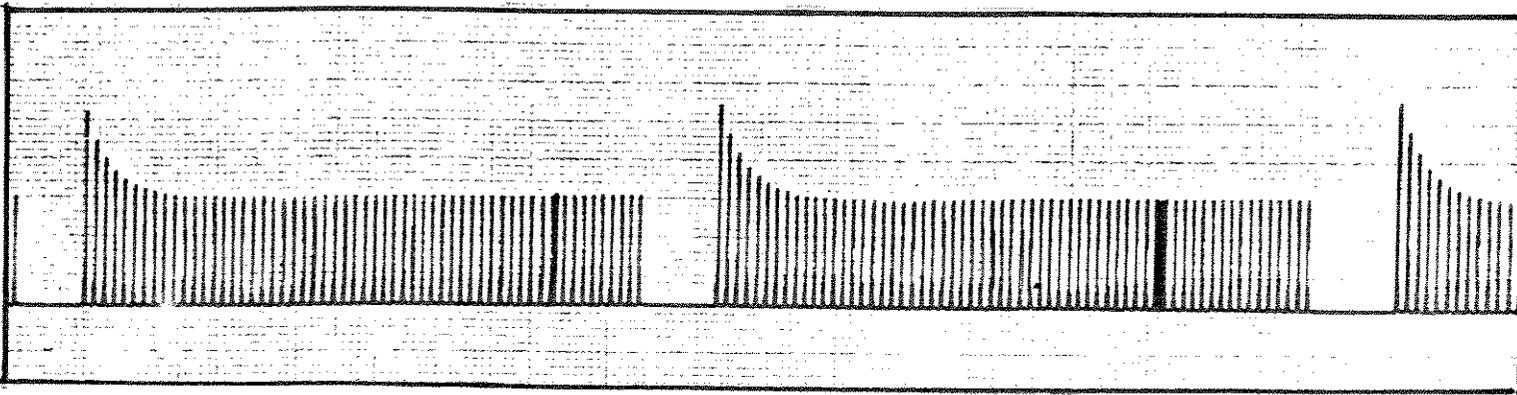


**Figura I.4** Curvas de Restituição Mecânicas para 8 Hz. Força em mm ( 10 mm = 0,5 g ).

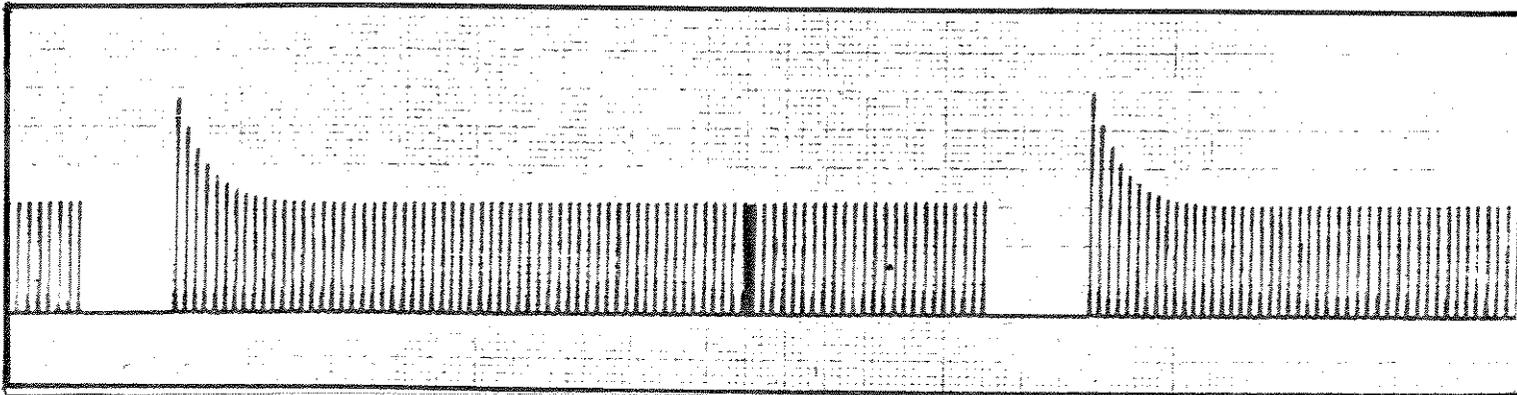
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 2 Hz )



1 - 2 - 3 - 4 batimentos

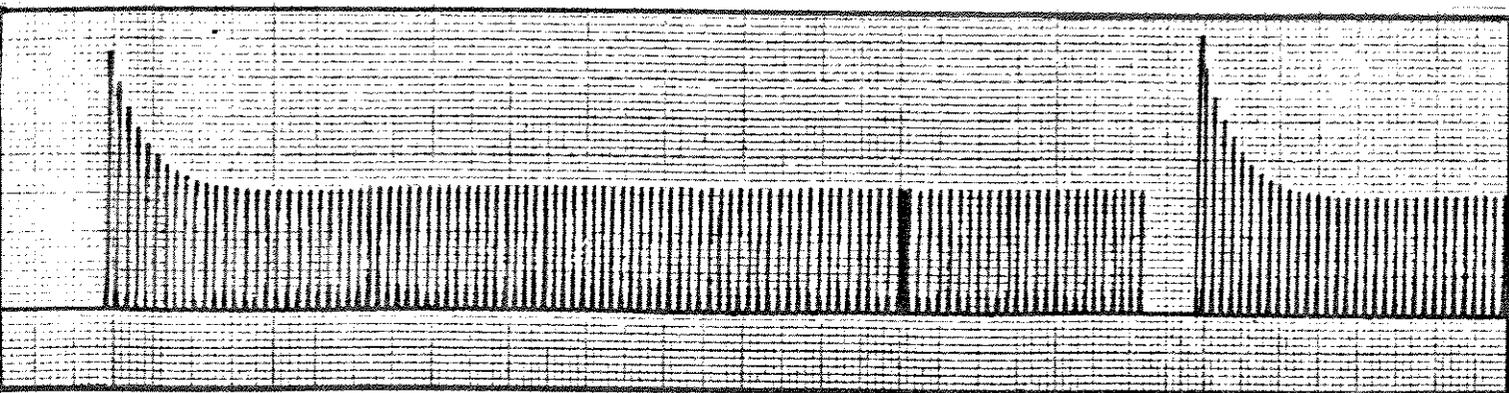


6 - 7 - 8 bat.

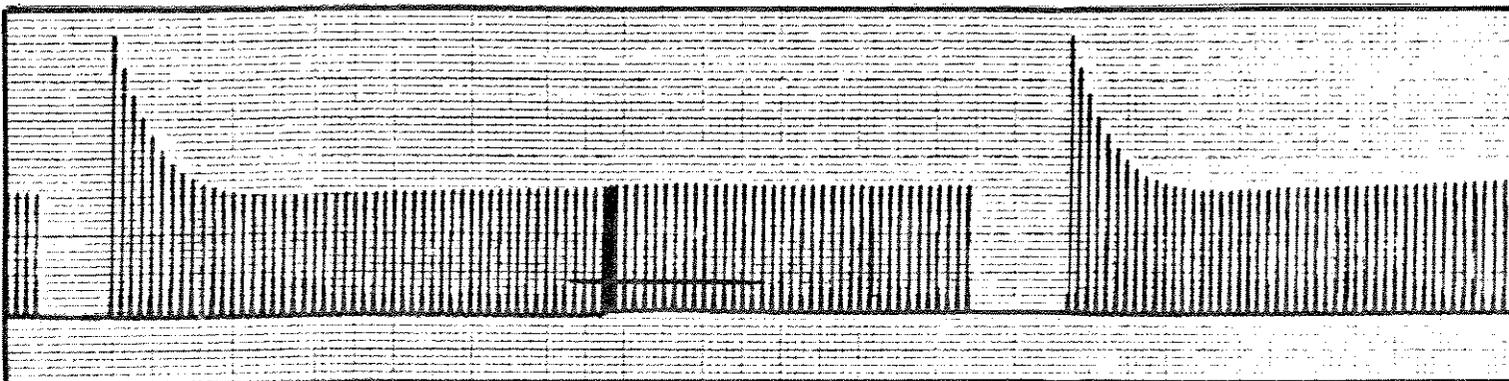


9 - 10 bat.

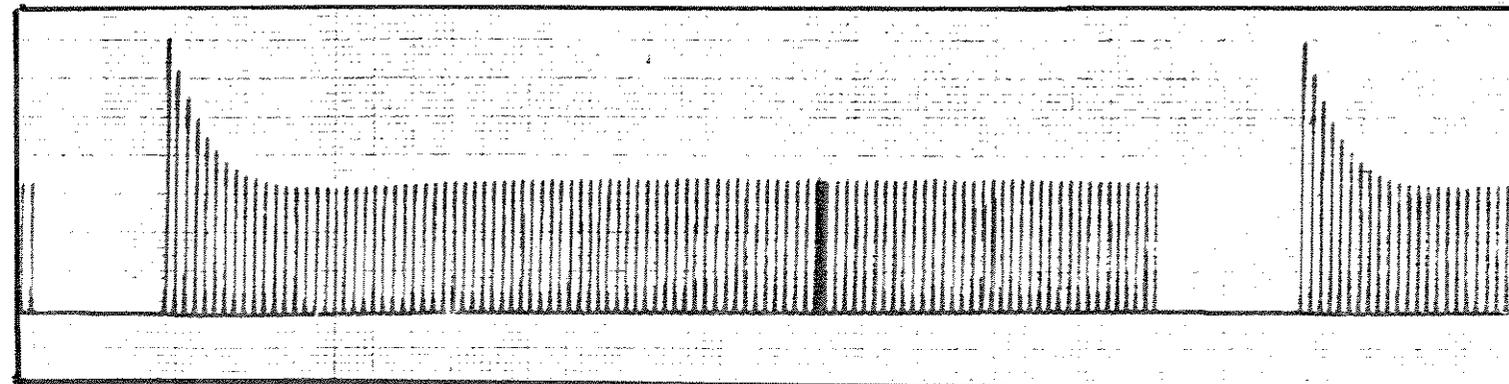
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 2 Hz )



10 - 20 seg

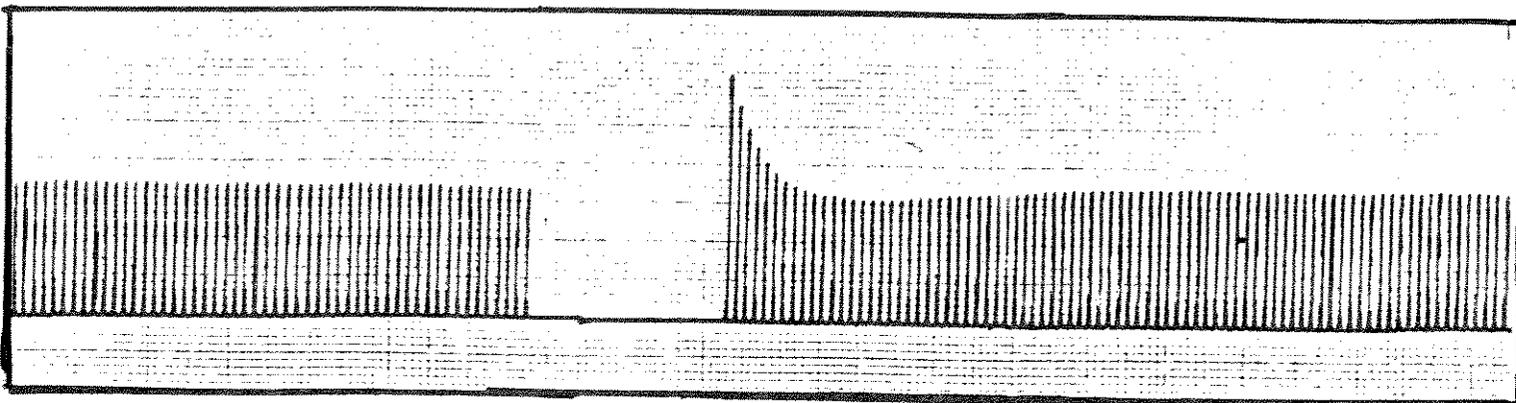


30 - 40 seg

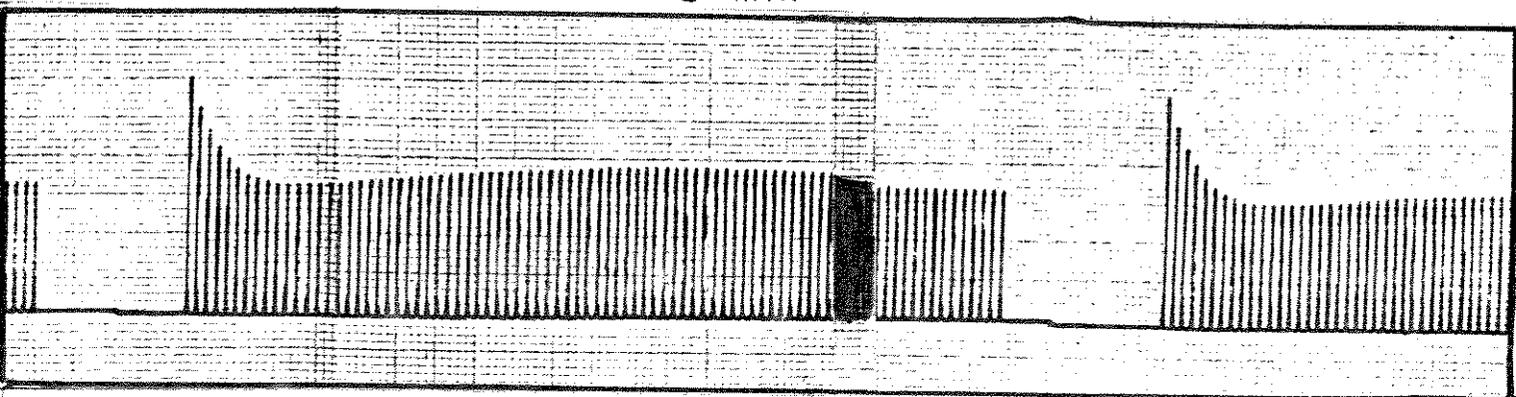


50 - 60 seg

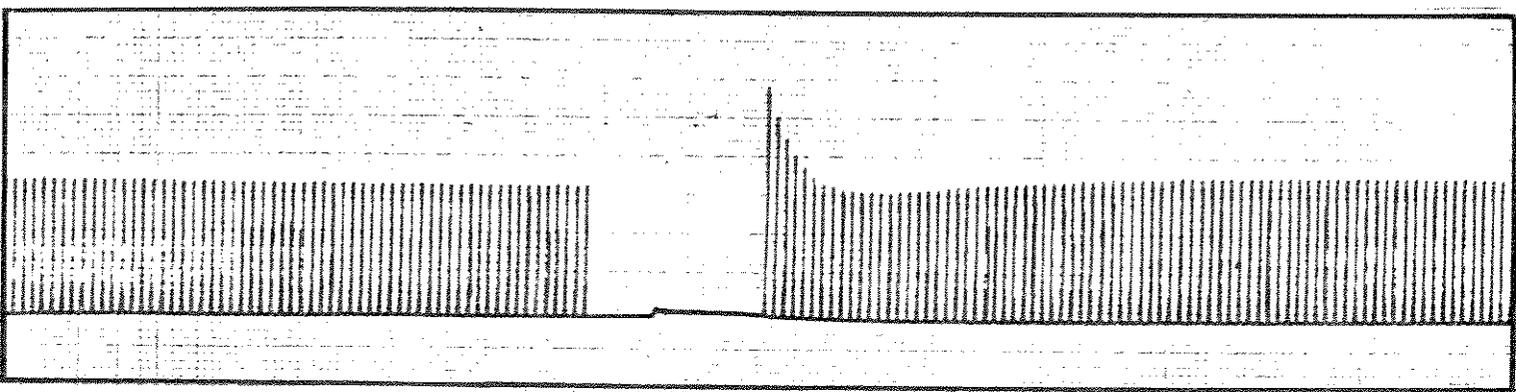
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 2 Hz )



2 min

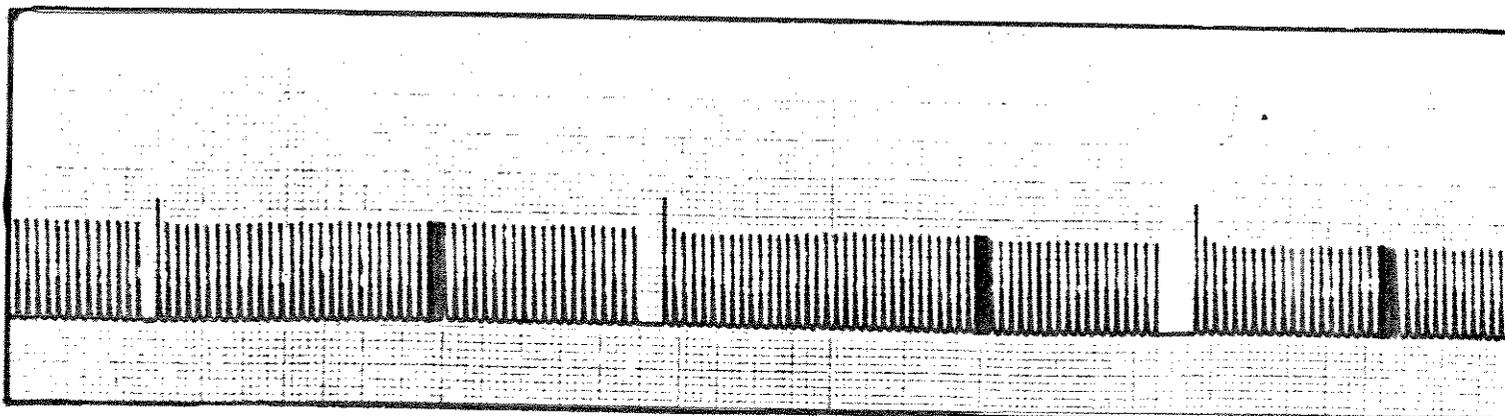


3-4 min

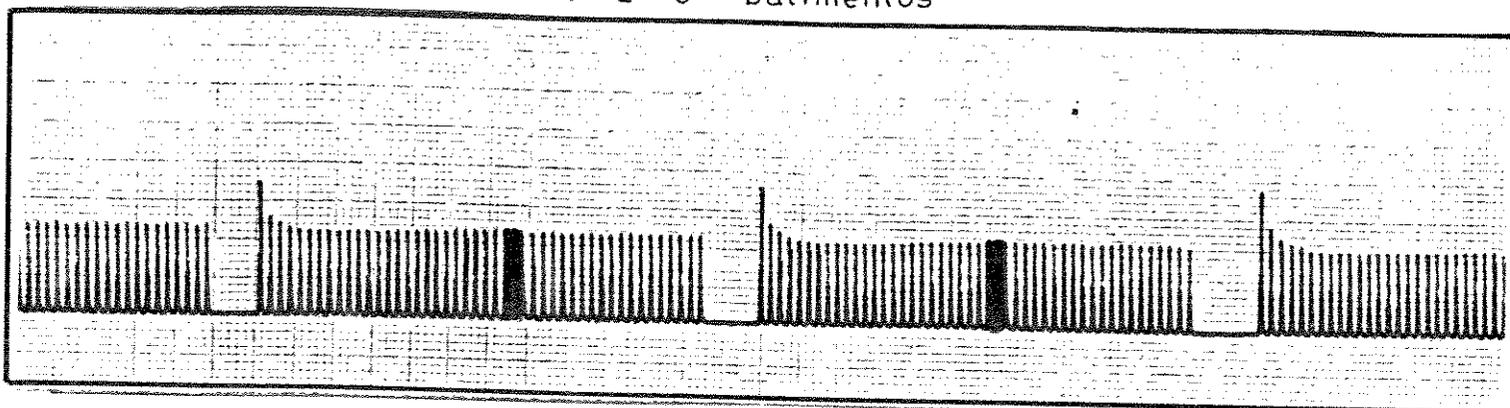


5 min

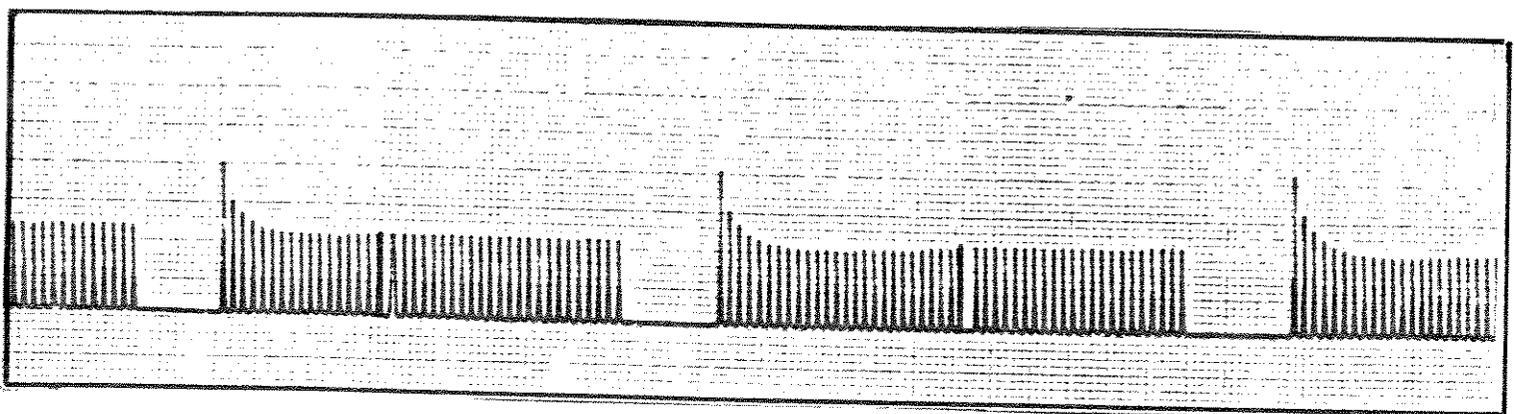
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 4 Hz )



1 - 2 - 3 batimentos

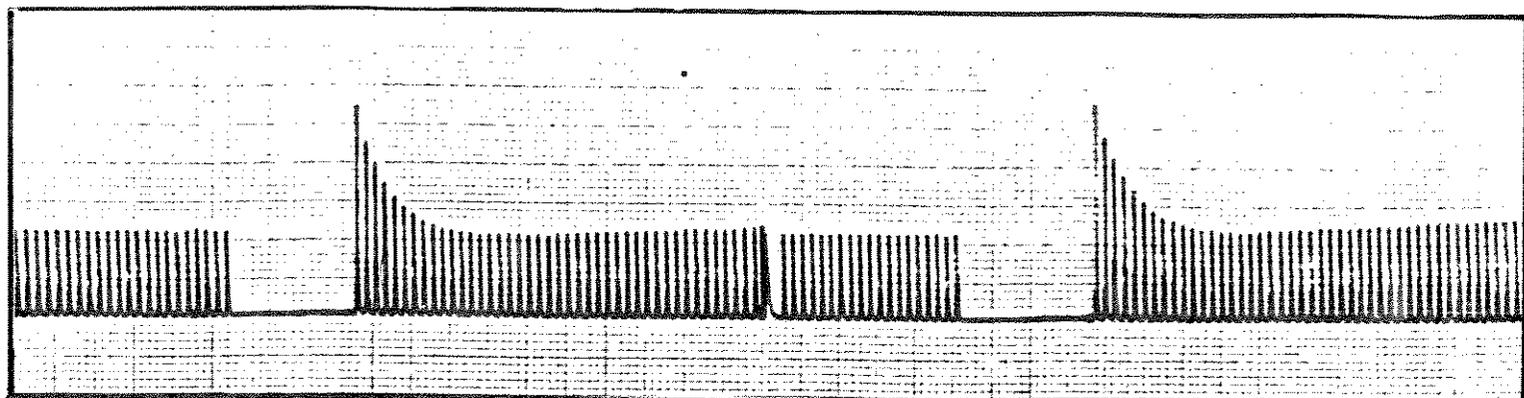


4 - 5 - 6 bat.

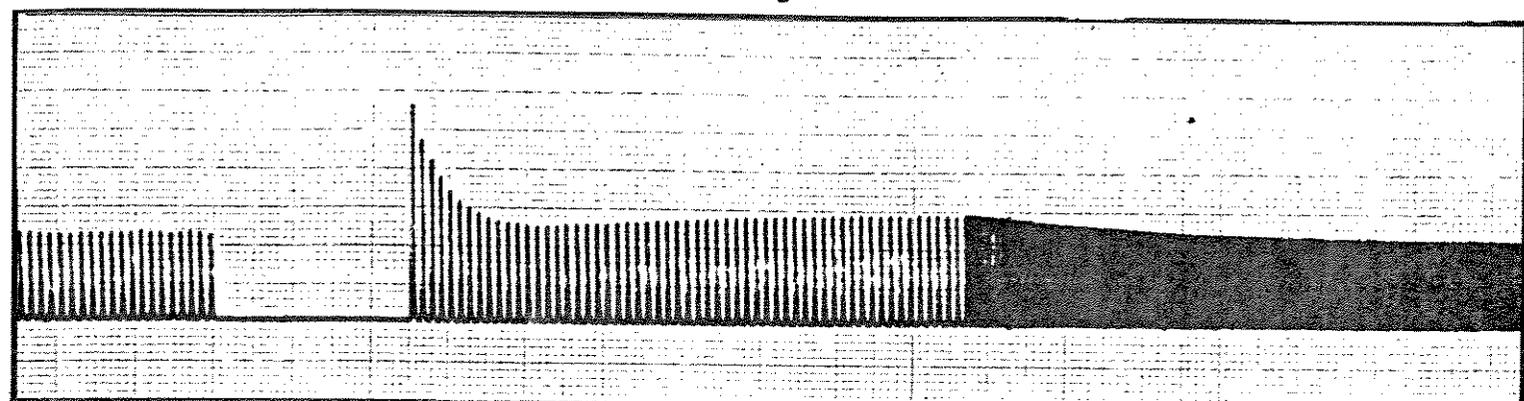


8 - 9 - 10 bat.

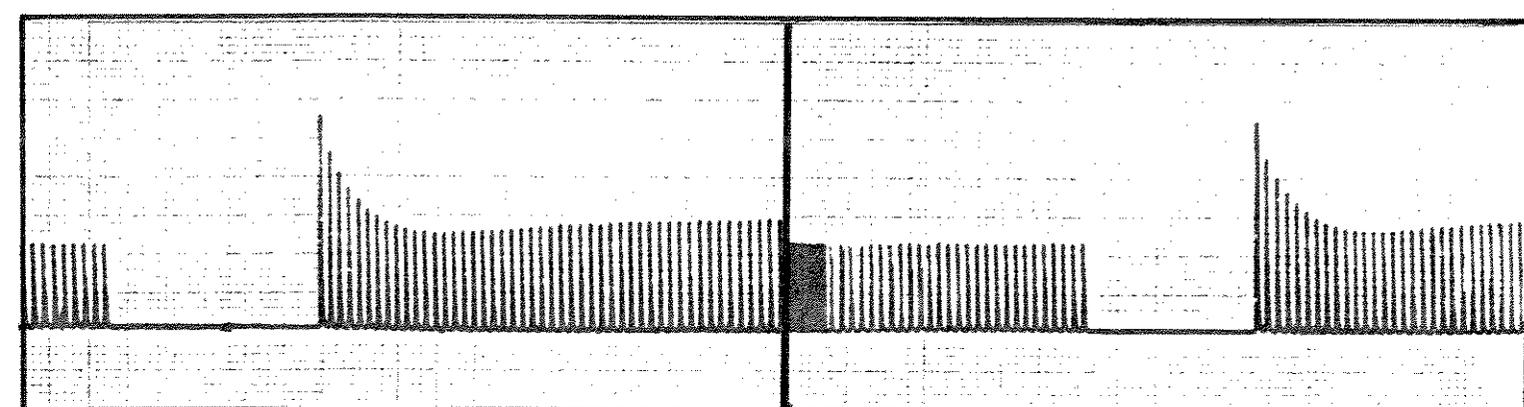
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 4 Hz )



10 - 20 seg

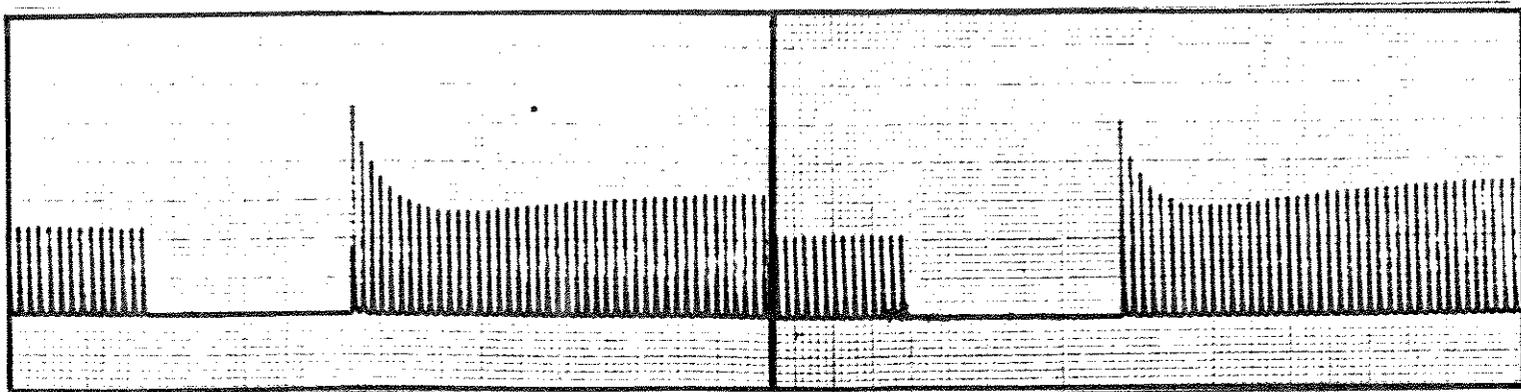


30 seg

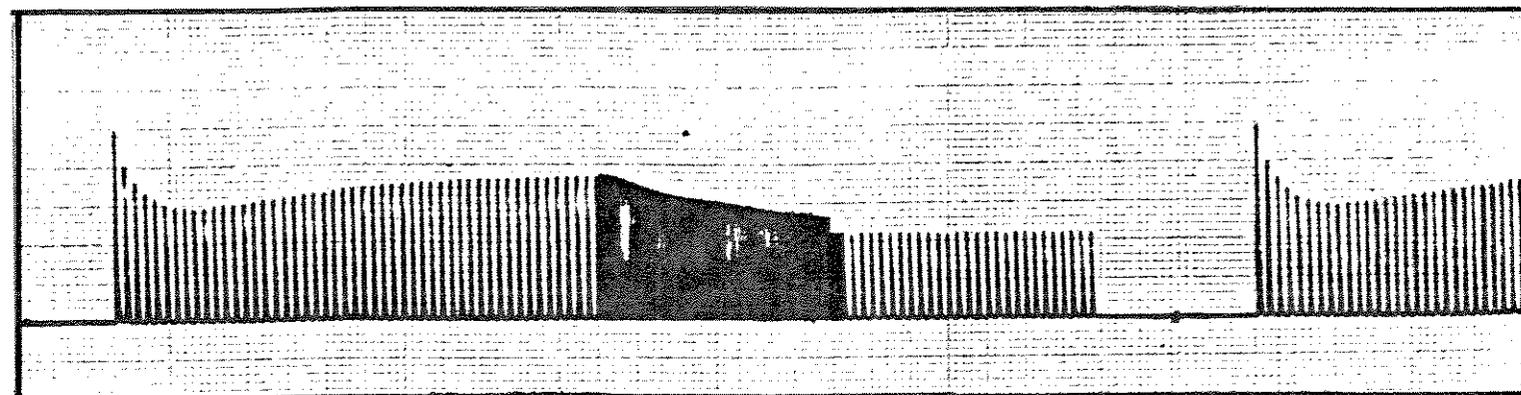


40 - 50 seg

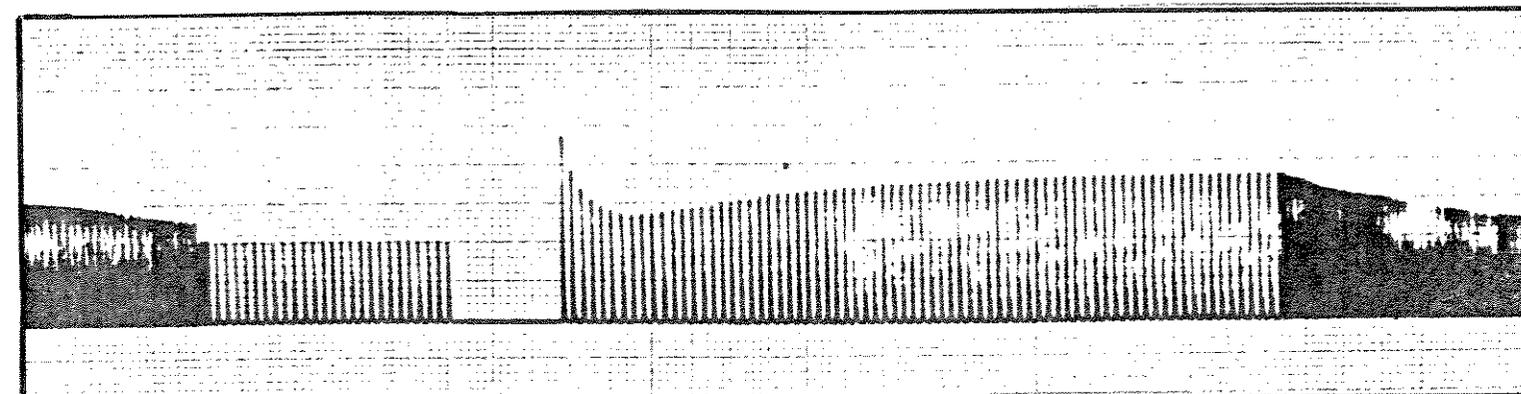
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 4 Hz )



1 - 2 min

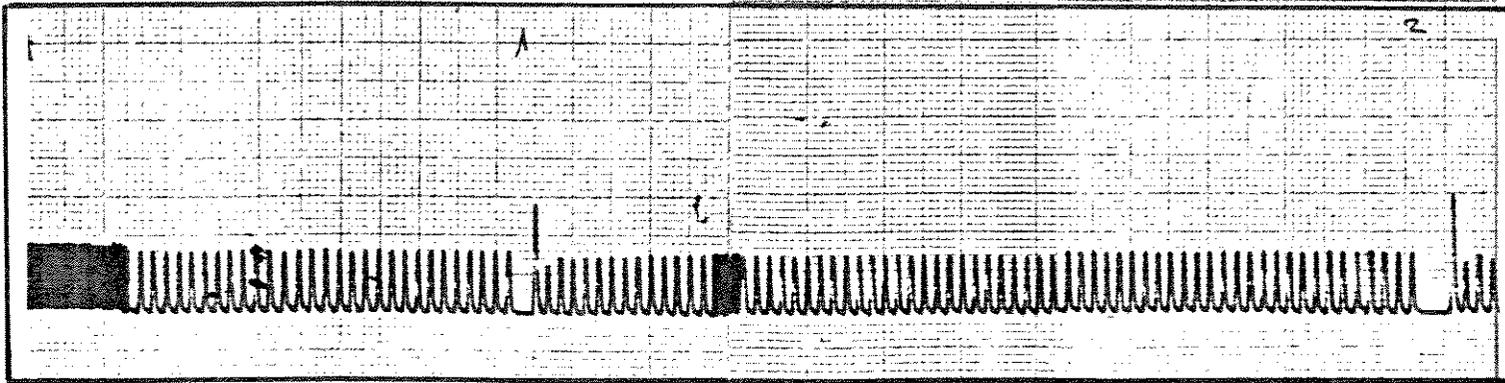


3 - 4 min

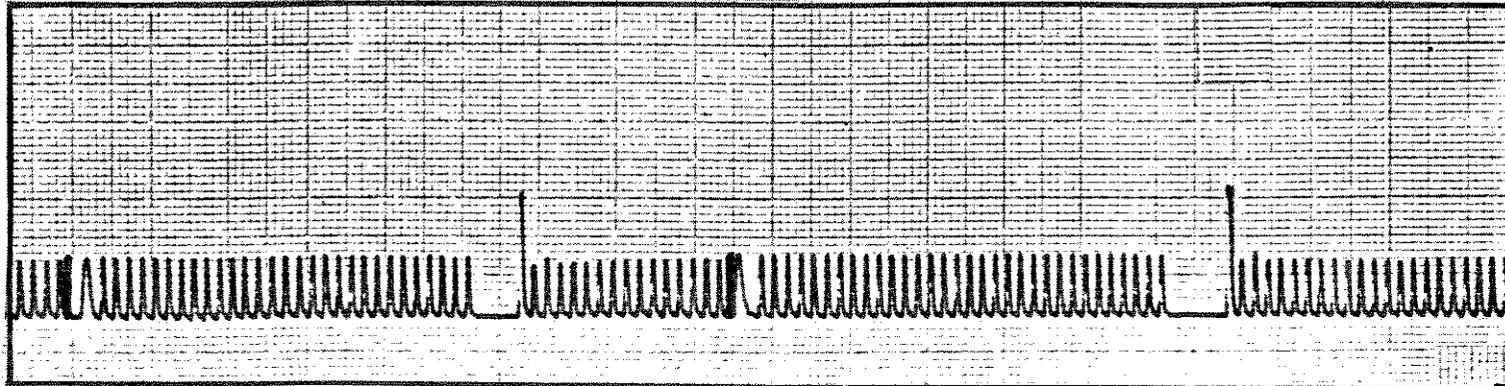


5 min

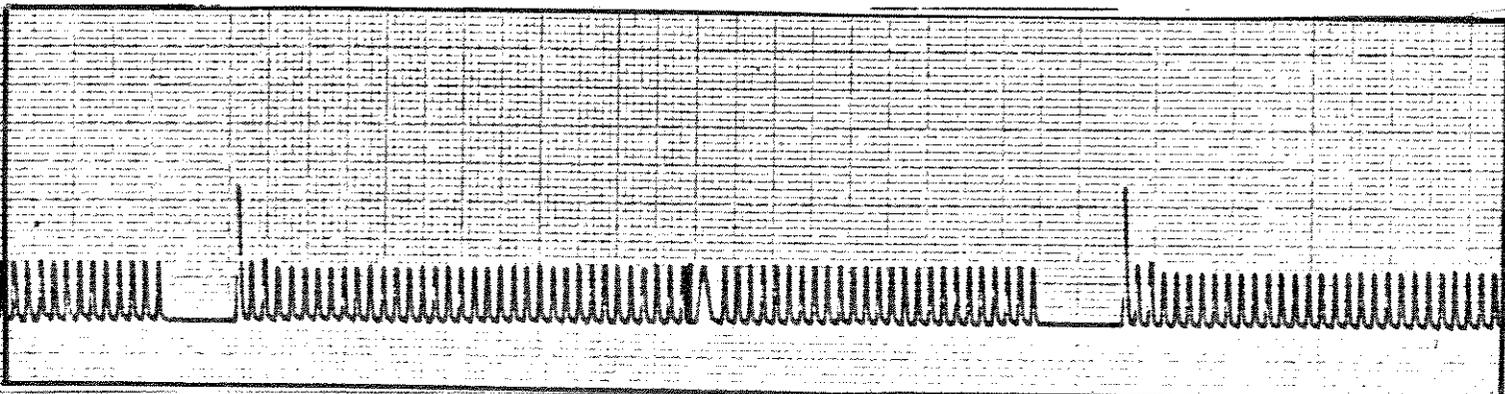
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 6 Hz )



1 - 2 batimentos

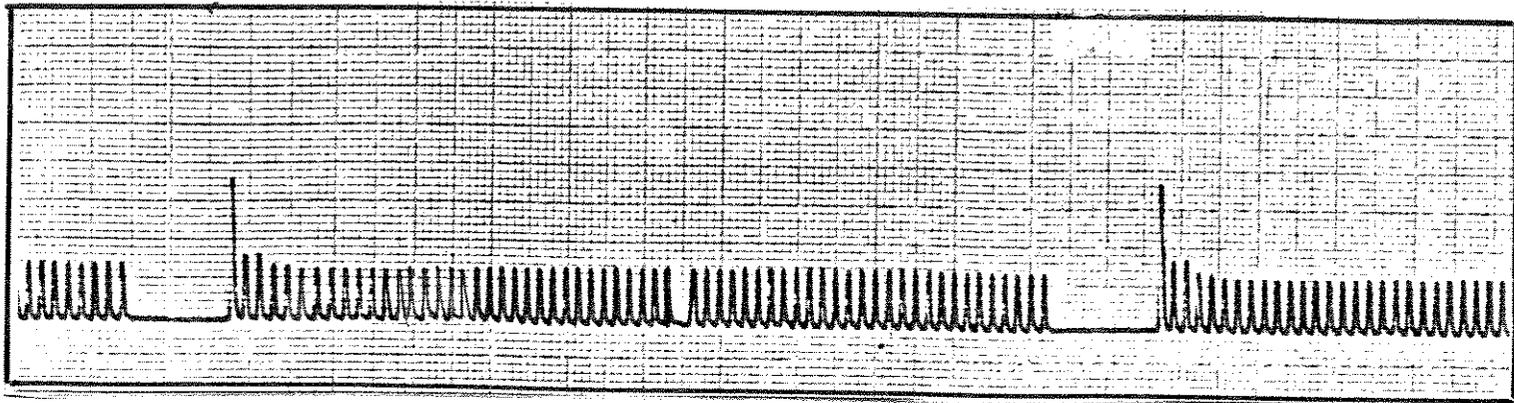


3 - 4 bat.

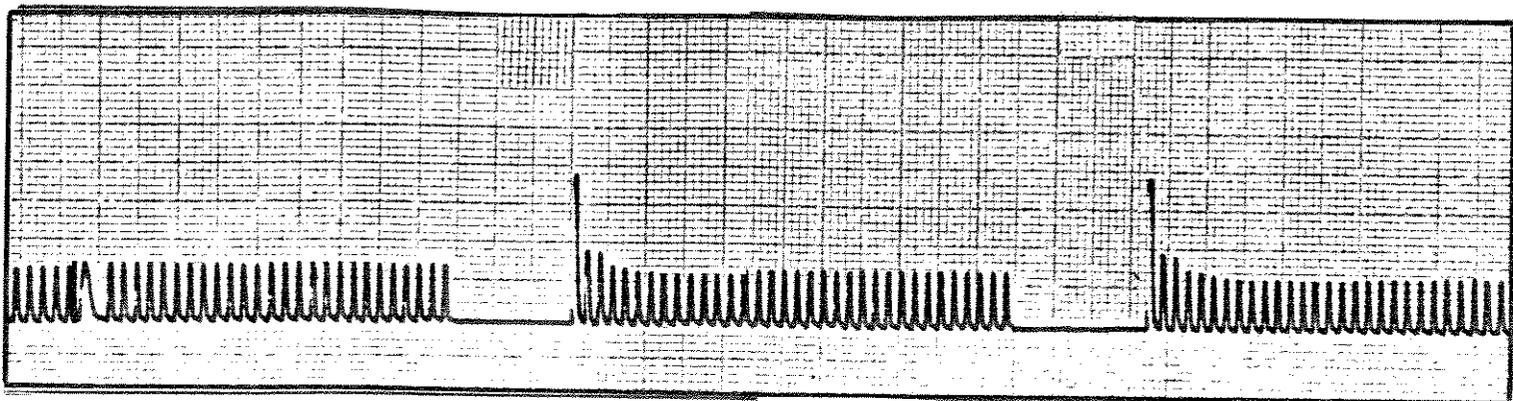


5 - 6 bat

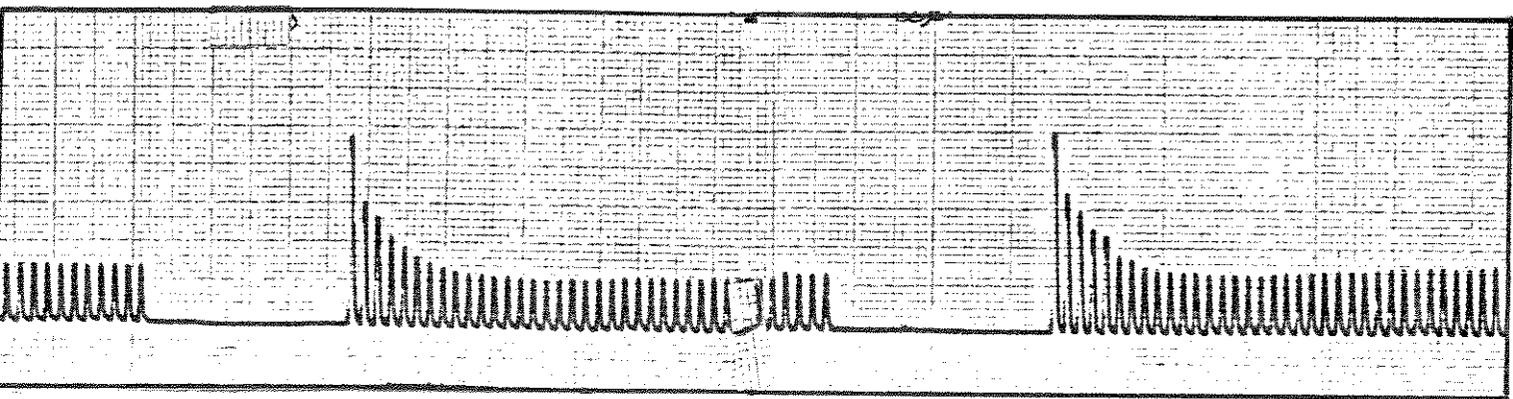
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 6 Hz )



7 - 8 bat.

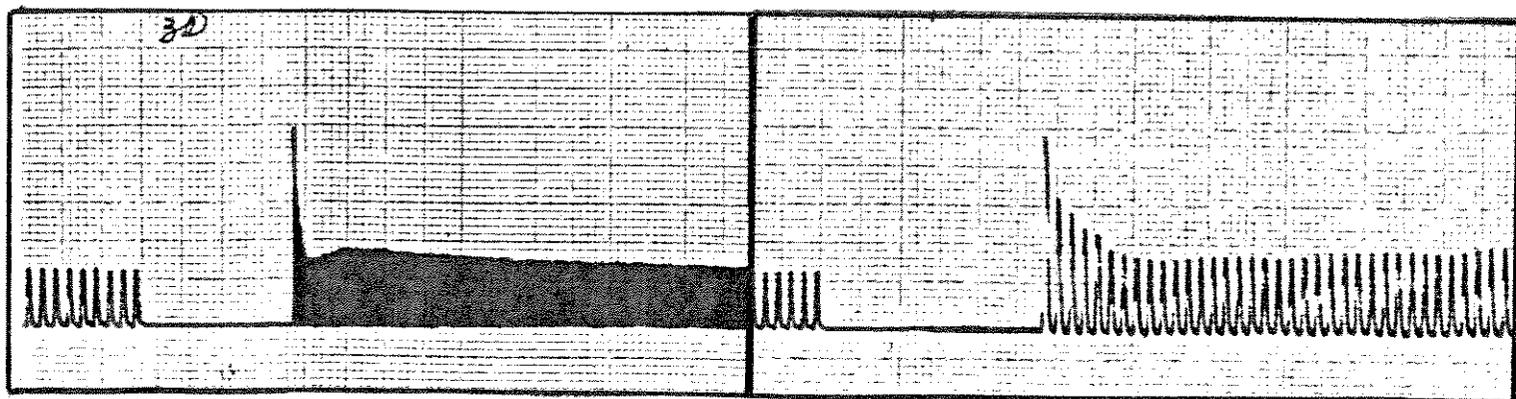


9 - 10 bat.

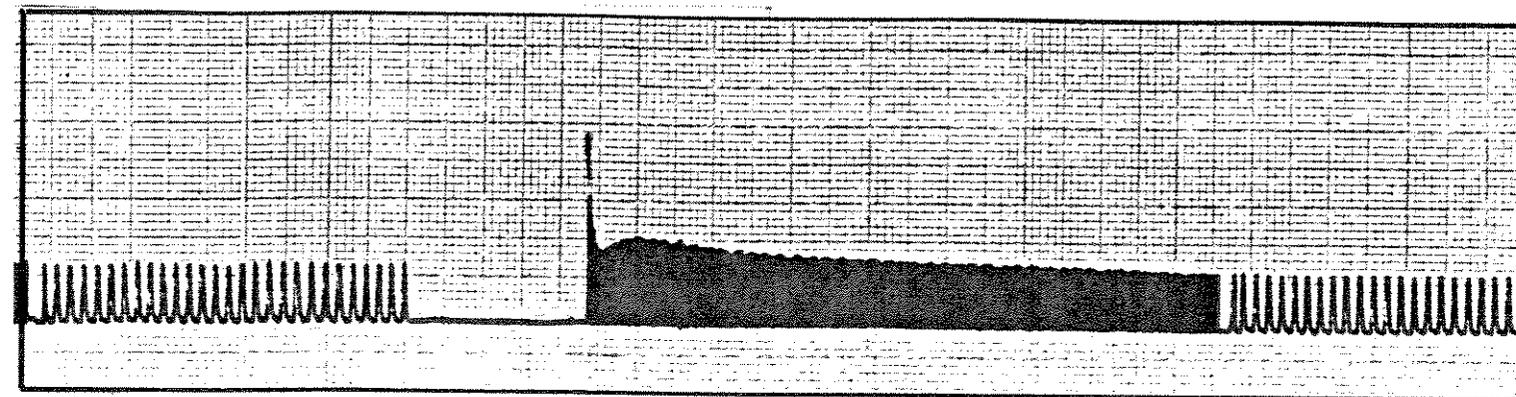


10 - 20 seg

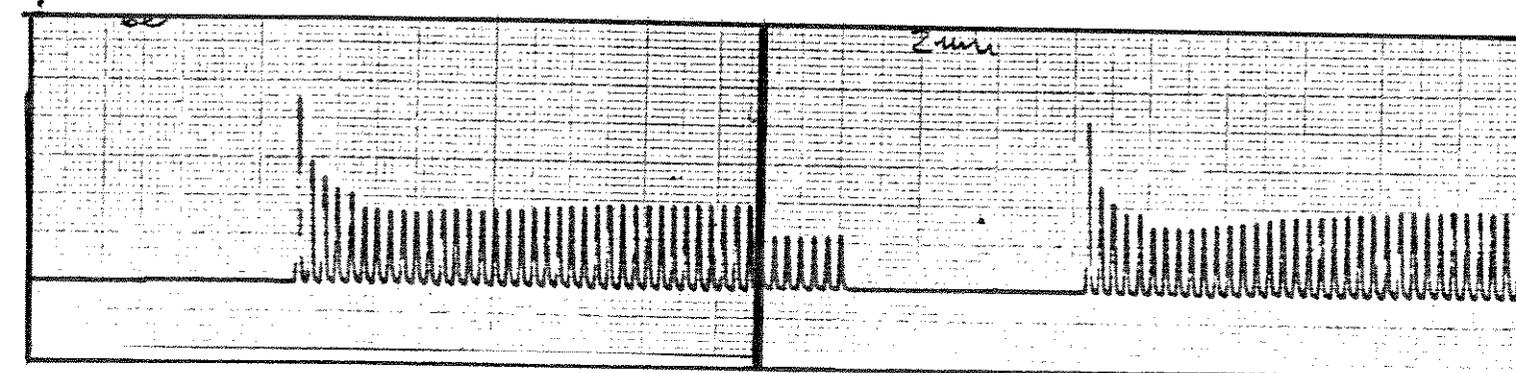
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 6 Hz )



30 - 40 seg

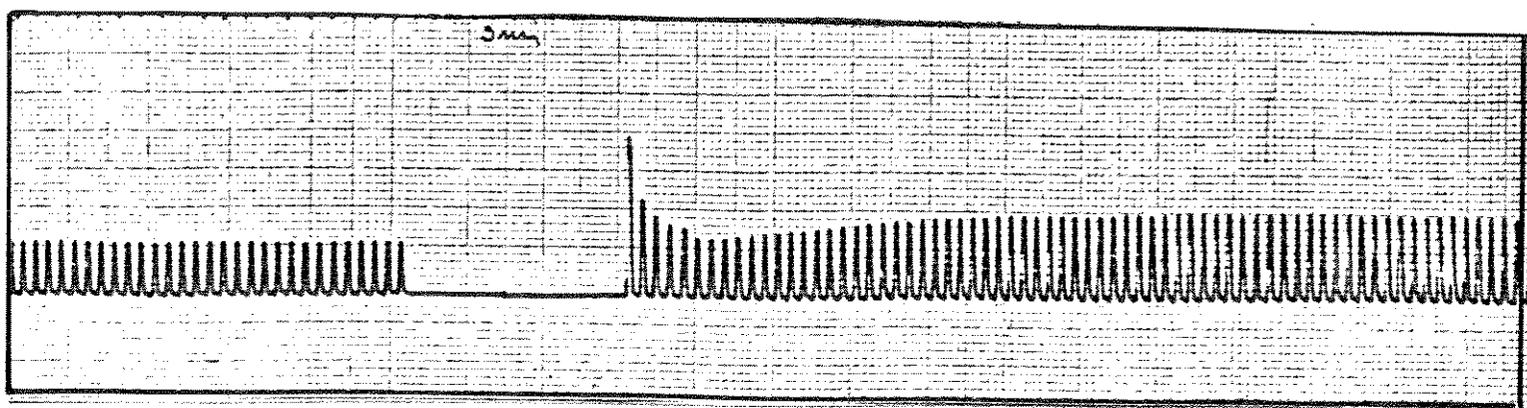


50 seg

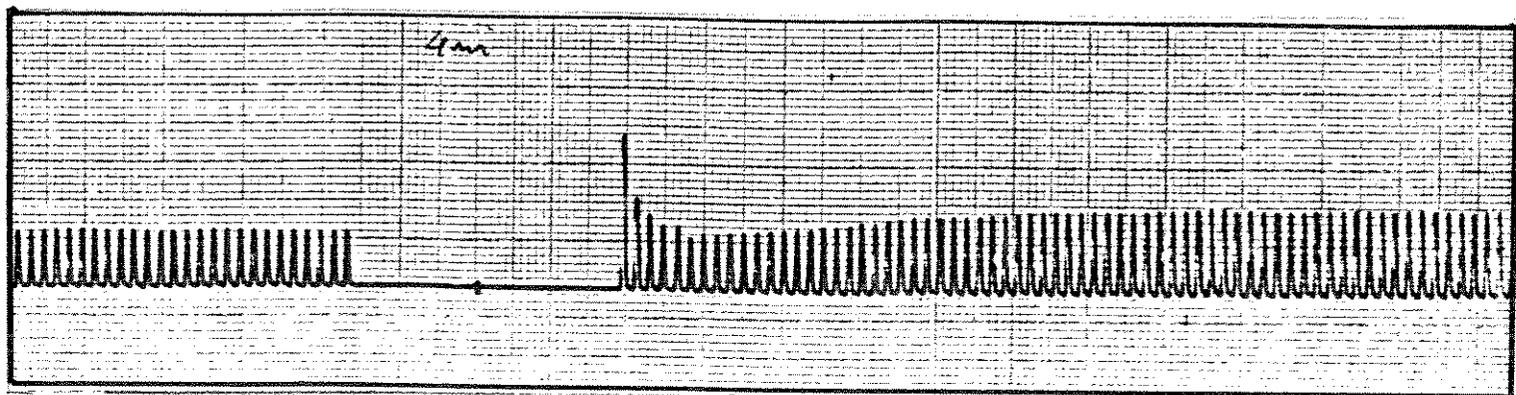


1 - 2 min

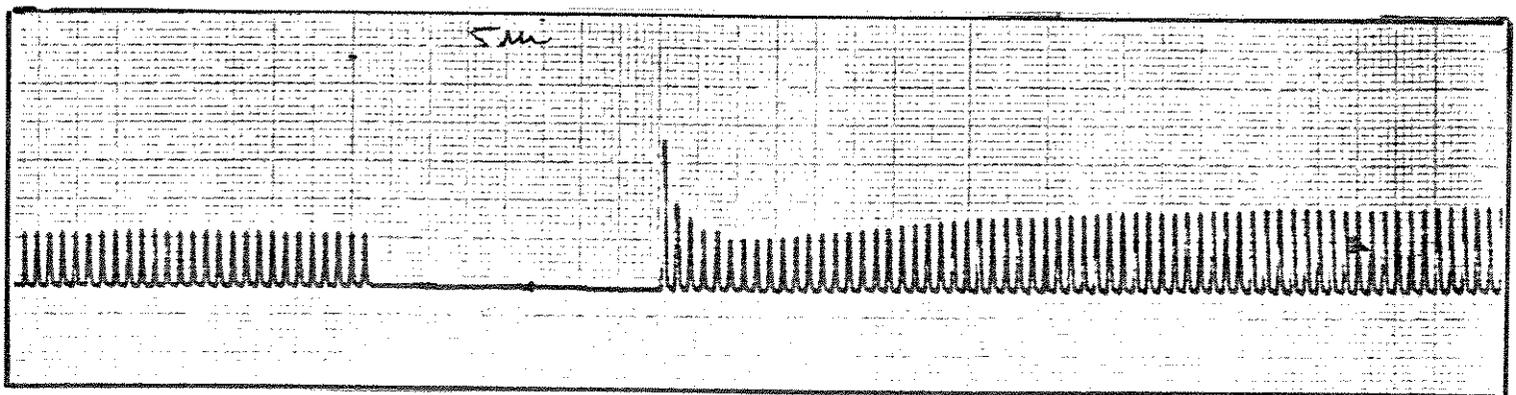
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 6 Hz )



3 min

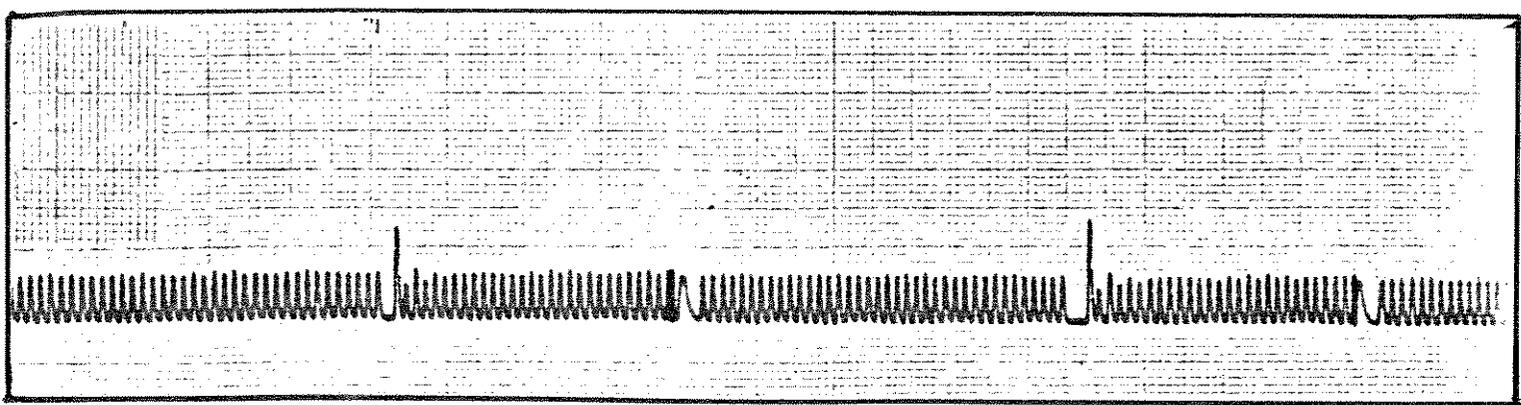


4 min

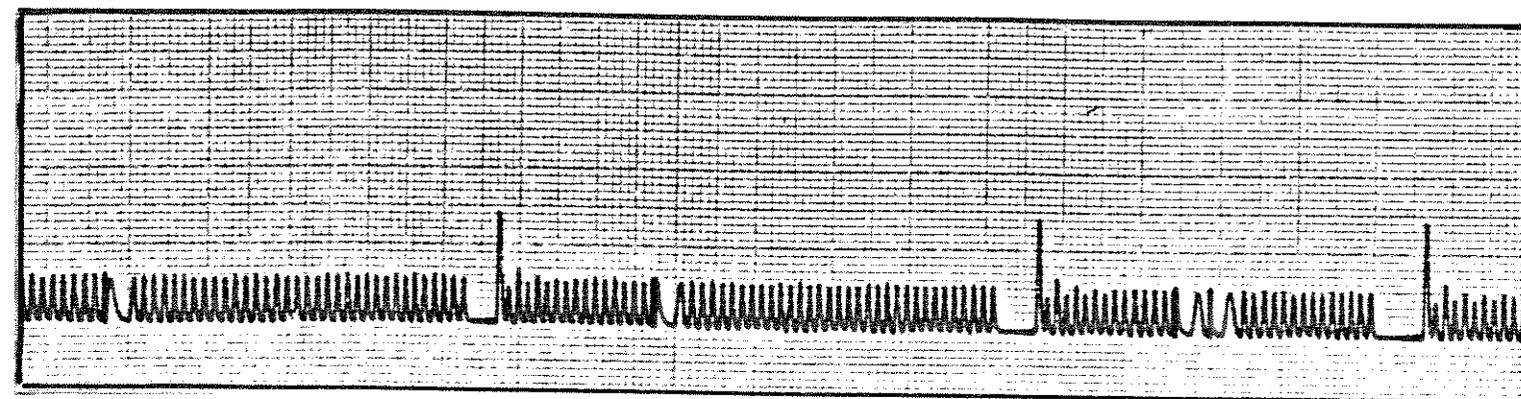


5 min

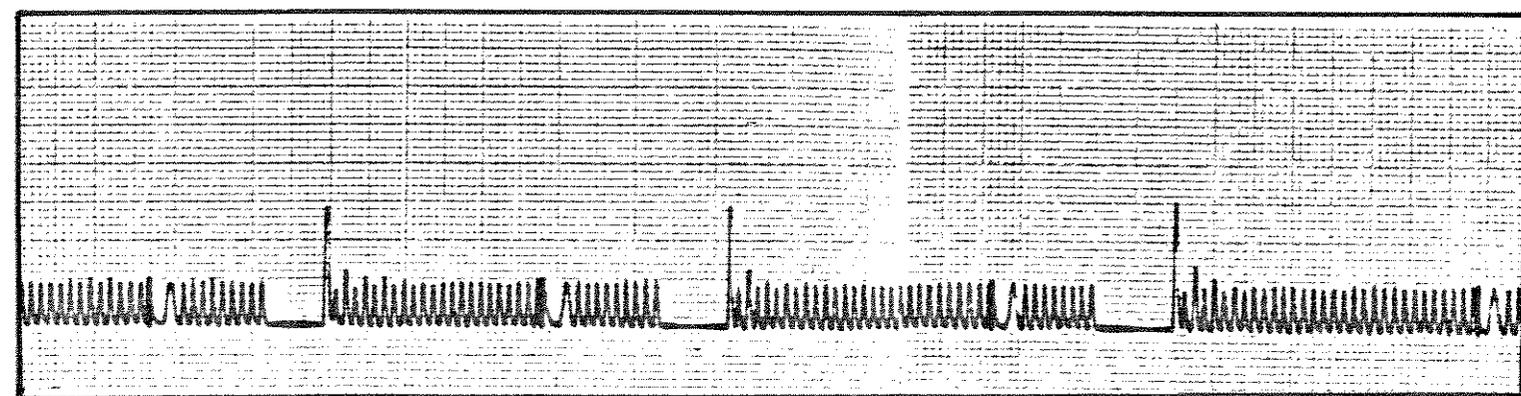
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 8 Hz )



1 - 2 batimentos

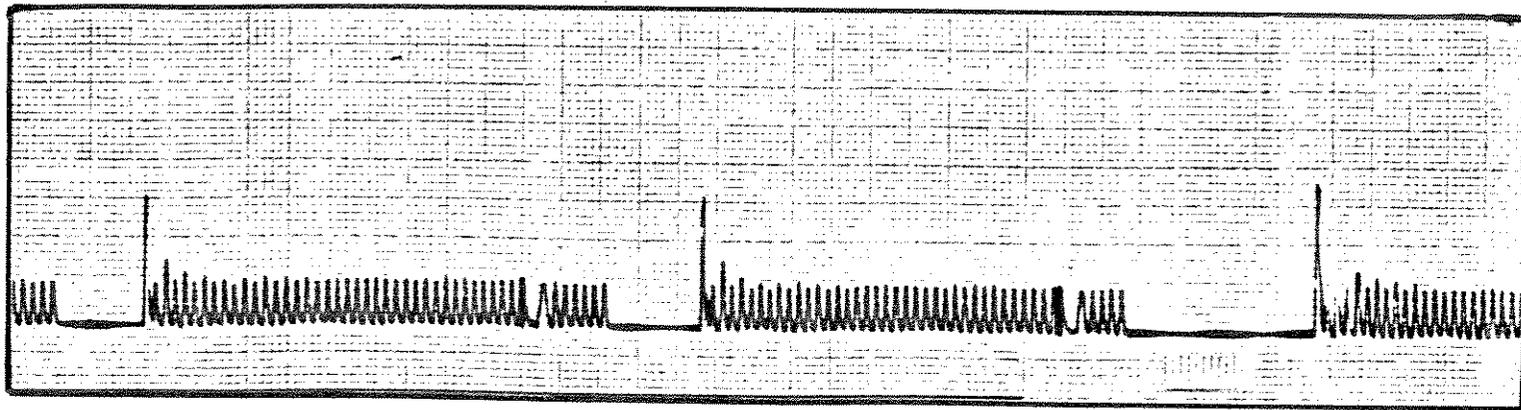


3 - 4 - 5 bat.

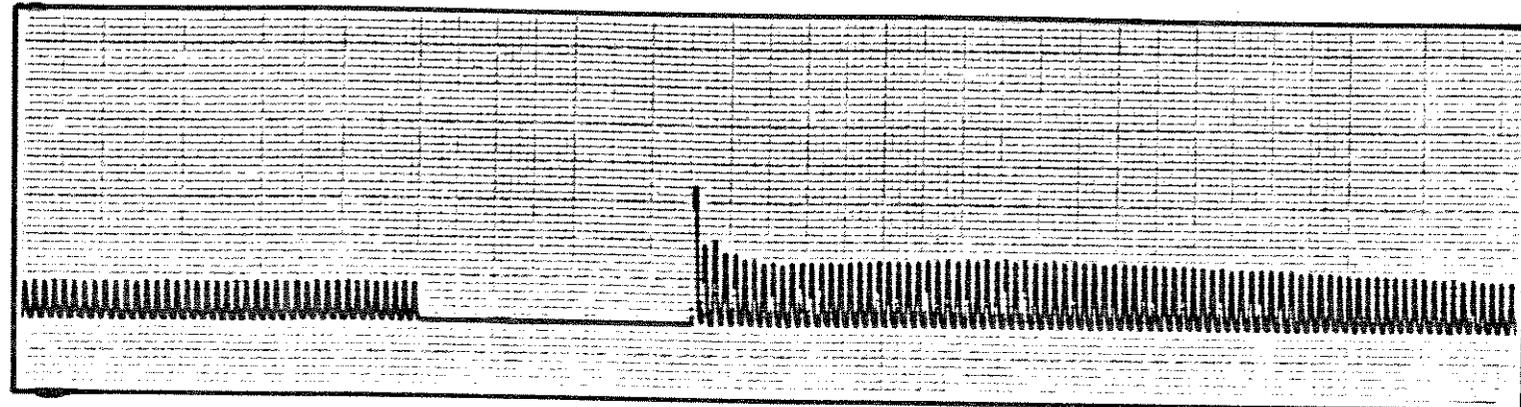


6 - 7 - 8 bat.

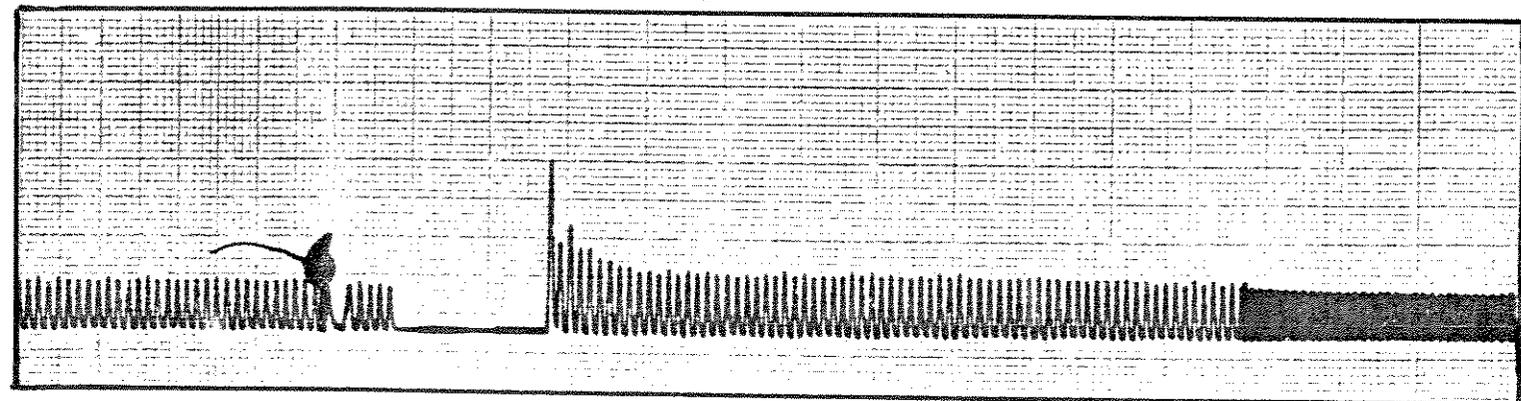
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 8 Hz )



9 - 10 - 20 bat.

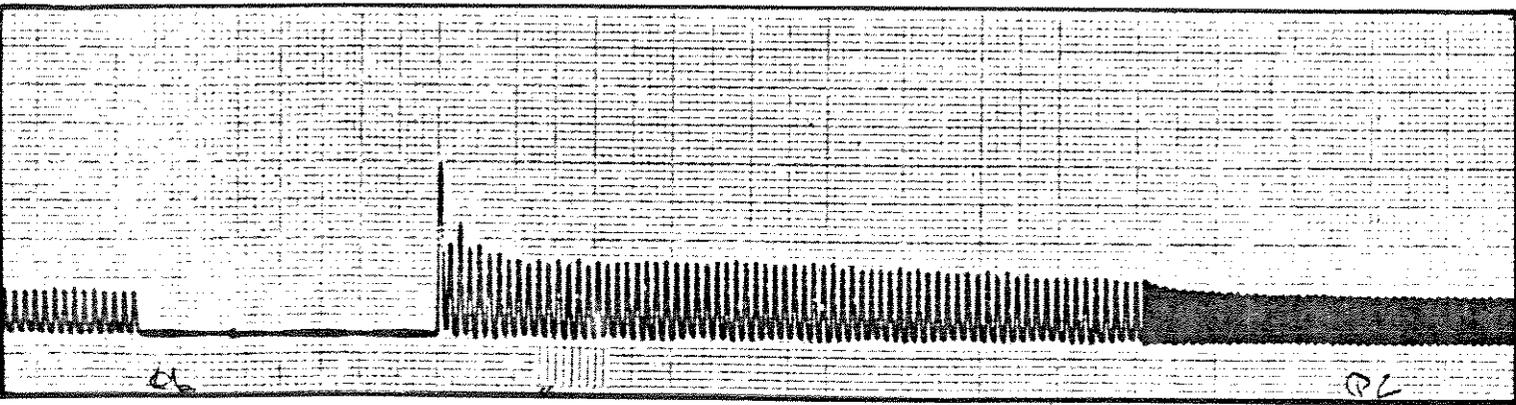


10 seg

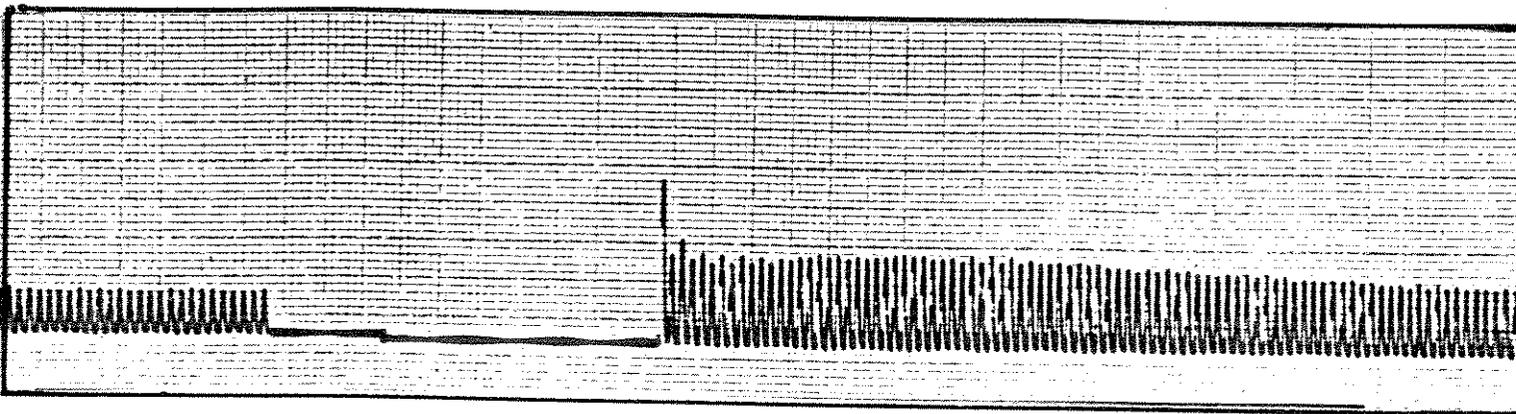


20 seg

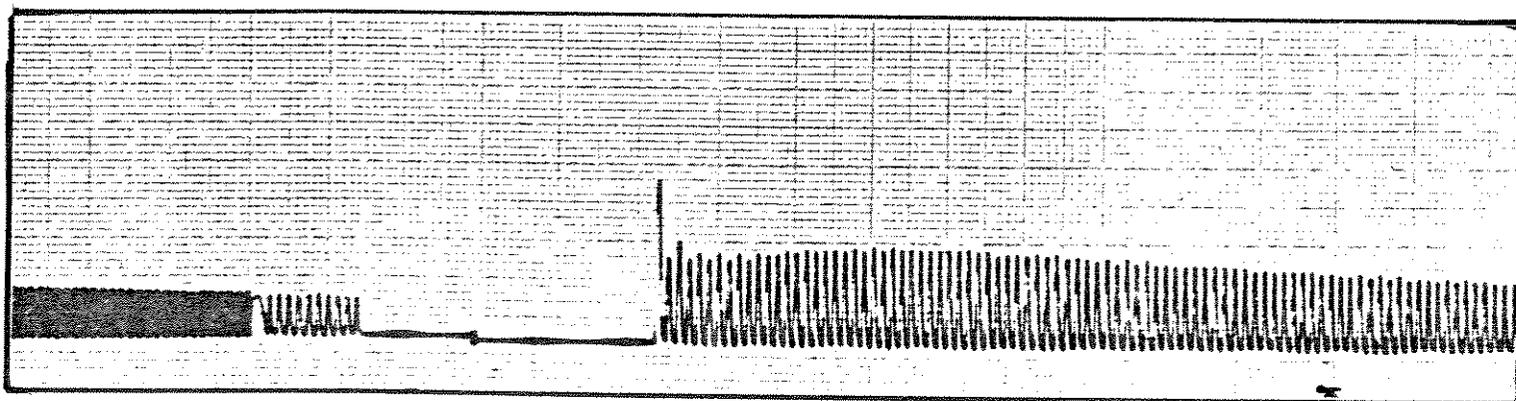
Registros de pausas em meio de uma frequência constante ( 8 Hz )



30 seg



40 seg



50 seg

## **Apêndice II**

### **Listagem do Programa**

```

/* Programa Simula_3.C */

/* INICIALIZACAO DOS PARAMETROS */

#include <graphics.h>
#include <stdio.h>
#include <stdlib.h>
#include <math.h>
#include <alloc.h>
#include <conio.h>
#include <dos.h>
presentacao();
ingresso_dos_blocos();
calcula_da_forca();
borra_1();
borra_2();
beep();
beep2();
para_metros(int v1,int v2,int v3,char s4[40]);
tela_do_menu();
impresao_dos_valores();
verifica_1(int yy, int xx, int max);
verifica_2(int yy, int xx, float maxi);
cursor(int pagina,int fila,int coluna);
int
A[10],numblocos,m,k,comeco,fim,batimax,inic,ultimo,y,flag,flag2,y
y,xx,valor,max;
float B[10],cte[7],forca[601],t[601],EINA,EIPA,acumula1,acumula2;
float tempo,CER,cont,tiempo,escala,escal,valor2;
char ch,escolha,resposta[4],resp,nume;
char *blanco_20=" ";
char *blanco_50=" ";
char *blanco_70=" ";

/* Fim da inicializacao dos parametros */

```

```

/*          PROGRAMA          PRINCIPAL          */

main()
{
    cte[1]=2.00;cte[2]=-0.5;cte[3]=0.475;cte[4]=-0.08;
    cte[5]=0.04;cte[6]=-0.01;
    clrscr();
    para_metros(0,12,30,"Digite < Enter >");
    getch();
    para_metros(0,12,30,blanco_20);
    presentacao();
    flag=0;
    flag2=0;
    for(;flag!--1;)
        {
            tela_do_menu();
            switch(escolha)
                { case '1':
                    ingreso_dos_blocos();
                    calculo_da_forca();
                    borra_1();
                    flag2=1;
                    break;
                  case '2':
                    impresao_dos_valores();
                    borra_2();
                    break;
                  case '3':
                    mudar_valores();
                    break;
                  case '4':
                    finaliza();
                }
        }
}

/*          FIM DO PROGRAMA PRINCIPAL          */

```

```

/*      REGIAO DAS FUNCOES !!!!!!!      */

/*      Funcao da apresentacao da tela      */

presentacao()
{
int n;
int modo,drive;
clrscr();
detectgraph(&modo,&drive);
initgraph(&modo,&drive," ");
for(n=1;n<=10;n++)
{
setcolor(1);
rectangle(315-(n*30),100-(n*7),315+(n*30),100+(n*7));
setcolor(0);
rectangle(315-(n*30),100-(n*7),315+(n*30),100+(n*7));
}
setcolor(1);
rectangle(10,30,625,170);
para_metros(0,9,18,"PROGRAMA DE SIMULACAO DA FORCA DE
CONTRACAO");
para_metros(0,12,19,"LABORATORIO DE BIOENGENHARIA - DEB -
FEE ");
para_metros(0,15,25,"<<<<<< UNICAMP >>>>>>");
getch();
delay(2000);
setcolor(0);
rectangle(10,30,625,170);
para_metros(0,9,18,blanco_50);
para_metros(0,12,19,blanco_50);
para_metros(0,15,25,blanco_50);
}

/*      Fim da apresentacao      */

```

```

/* FUNCAO DA TELA DO MENU */
tela_do_menu()
{
    escolha=' ';
    setcolor(1);
    rectangle(10,30,625,170);
    para_metros(0,6,27,"MENU PRINCIPAL");
    para_metros(0,8,10,"Entrada dos blocos de estimulacao");
    rectangle(76,62,89,72);
    para_metros(0,10,10,"Saida grafica");
    rectangle(76,78,89,88);
    para_metros(0,12,10,"Modificar os valores de EINA e EIPA");
    rectangle(76,94,89,104);
    para_metros(0,14,10,"Finalizar ");
    rectangle(76,110,89,120);

for(;;((escolha!='E')&&(escolha!='e')&&(escolha!='S')&&(escolha!=
's')&&(escolha!='M')&&(escolha!='m')&&(escolha!='F')&&(escolha!=
'f'))||(flag2==0)&&(escolha=='S')||(flag2==0)&&(escolha=='s'))
i)
    {
        para_metros(0,17,10,"Digite sua opcao = ");
        escolha=getch();
        i
        f
        (((escolha!='E')&&(escolha!='e')&&(escolha!='S')&&(escolha!='s')&
&(escolha!='M')&&(escolha!='m')&&(escolha!='F')&&(escolha!='f'))|
|((flag2==0)&&(escolha=='S')||(flag2==0)&&(escolha=='s')))
        {
            para_metros(0,17,10,"Valor invalido ");
            beep();
            delay(500);
            para_metros(0,16,10,blanco_20);
        }
    }
    if ((escolha=='E')||(escolha=='e')) escolha='1';
    if ((escolha=='S')||(escolha=='s')) escolha='2';
    if ((escolha=='M')||(escolha=='m')) escolha='3';
    if ((escolha=='F')||(escolha=='f')) escolha='4';
    setcolor(0);
    para_metros(0,6,27,blanco_20);
    rectangle(76,62,89,72);
    para_metros(0,8,10,blanco_50);
    rectangle(76,78,89,88);
    para_metros(0,10,10,blanco_50);
    rectangle(76,94,89,104);
    para_metros(0,12,10,blanco_50);
    rectangle(76,110,89,120);
    para_metros(0,14,10,blanco_20);
    para_metros(0,17,10,blanco_50);
}
/* Fim da funcao da tela do Menu */

```

```
/* FUNCAO DE INGRESSO DOS DADOS */
```

```
ingreso_dos_blocos()
{
  int n;
  numblocos=0;
  para_metros(0,5,23,"ENTRADA DOS BLOCOS DE ESTIMULACAO");
  para_metros(0,7,5,"Numero de blocos ( max 8 ) = ");
  for(;(numblocos<1)|| (numblocos>8);)
  {
    para_metros(0,7,35,blanco_20);
    cursor(0,7,36);
    nome=getch();
    cursor(0,7,36);printf("%s",&nome);
    numblocos=atoi(&nome);
    if ((numblocos<1)|| (numblocos>8)) beep();
  }
  setcolor(1);
  for(n=1;n<=numblocos;n++)
  switch(n)
  {
  case 1:
    rectangle(50,72,170,102);
    para_metros(0,10,7,"No. Bat: ");
    verifica_1(10,16,500);
    A[n]=valor;
    para_metros(0,11,7,"Interv : ");
    verifica_1(11,16,9999);
    B[n]=valor;
    break;
  case 2:
    rectangle(190,72,312,102);
    para_metros(0,10,25,"No. Bat: ");
    verifica_1(10,34,500);
    A[n]=valor;
    para_metros(0,11,25,"Interv : ");
    verifica_1(11,34,9999);
    B[n]=valor;
    break;
  case 3:
    rectangle(330,72,450,102);
    para_metros(0,10,42,"No. Bat: ");
    verifica_1(10,51,500);
    A[n]=valor;
    para_metros(0,11,42,"Interv : ");
    verifica_1(11,51,9999);
    B[n]=valor;
    break;
  }
```

```

case 4:
    rectangle(470,72,592,102);
    para_metros(0,10,60,"No. Bat: ");
    verifica_1(10,69,500);
    A[n]=valor;
    para_metros(0,11,60,"Interv : ");
    verifica_1(11,69,9999);
    B[n]=valor;
    break;
case 5:
    rectangle(50,112,170,142);
    para_metros(0,15,7,"No. Bat: ");
    verifica_1(15,16,500);
    A[n]=valor;
    para_metros(0,16,7,"Interv : ");
    verifica_1(16,16,9999);
    B[n]=valor;
    break;
case 6:
    rectangle(190,112,312,142);
    para_metros(0,15,25,"No. Bat: ");
    verifica_1(15,34,500);
    A[n]=valor;
    para_metros(0,16,25,"Interv : ");
    verifica_1(16,34,9999);
    B[n]=valor;
    break;
case 7:
    rectangle(330,112,450,142);
    para_metros(0,15,42,"No. Bat: ");
    verifica_1(15,51,500);
    A[n]=valor;
    para_metros(0,16,42,"Interv : ");
    verifica_1(16,51,9999);
    B[n]=valor;
    break;
case 8:
    rectangle(470,112,592,142);
    para_metros(0,15,60,"No. Bat: ");
    verifica_1(15,69,500);
    A[n]=valor;
    para_metros(0,16,60,"Interv : ");
    verifica_1(16,69,9999);
    B[n]=valor;
    break;
}
para_metros(0,19,5,"Calculando os valores - Aguarde ");
}
/* Fim do ingresso dos blocos */

```

```

        /* FUNCAO QUE CALCULA OS VALORES DA FORCA */
calcula_da_forca()
{
    /* Veo o total dos batimentos */

    int n;
    batimax=0;
    for(n=1;n<=numblocos;n++) batimax=batimax+A[n];

    /*      Ordeno los t[n]      */
    comeco=1;
    fim=A[1];
    for(n=1;n<=numblocos;n++)
    {
        for (k=comeco;k<=fim;k++)
            {
                t[k]=B[n]/1000;
            }
        comeco=fim+1;
        fim=comeco+A[n+1]-1;
    }

    /*      Calculo da forca      */
    CER=24;
    forca[0]=CER;
    for(n=1;n<=batimax;n++)
    {
        acumula1=0; EINA=0;
        acumula2=0; EIPA=0;
        tempo=t[n];
        for(m=n;m>0;m--)
            {
                EINA= cte[1]* exp(cte[2]*tempo)+ cte[3]*
exp(cte[4]*tempo);
                acumula1=acumula1+EINA;
                EIPA= cte[5]* exp(cte[6]*tempo);
                acumula2=acumula2+EIPA;
                tempo=tempo+t[m-1];
            }
        forca[n]=CER-acumula1+acumula2;
    }
    para_metros(0,19,5,blanco_50);
    beep2();
    para_metros(0,19,5,"Valores calculados - Pressione < Enter
> para continuar");
    getch();
    para_metros(0,19,5,blanco_50);
}

/* Fim do Calculo da forca */

```

```

        /* FUNCAO QUE IMPRIME OS VALORES */

impresao_dos_valores()
{
    int n;
    inic=0;
    escal=0;
    para_metros(0,5,23,"IMPRESSAO DOS VALORES CALCULADOS");
    para_metros(0,10,10,"Digite o batimento inicial : ");
    verifica_1(10,39,batimax);
    inic=valor;
    para_metros(0,14,10,"Escala mm/seg ( 1 - 50 ) : ");
    verifica_1(14,39,50);
    escal=valor;
    escala=3*escal;
    para_metros(0,5,22,blanco_50);
    para_metros(0,10,10,blanco_50);
    para_metros(0,14,10,blanco_50);

    /* Calculo de los batimentos a ser incluidos */

    cont=0;
    for(n=inic; ((cont<=590) && (n<=batimax)); ++n)
        {
            cont=cont+(t[n]*escala);
            ultimo=n;
        }

    /* Fim do calculo dos batimentos a ser incluidos */

    setcolor(0);
    rectangle(10,30,625,170);
    para_metros(0,4,17,"VARIACAO DA FORCA DE CONTRACAO COM O
TEMPO");
    para_metros(0,6,11,"Batimento inicial = ");
    cursor(0,6,31);
    printf("%d",inic);
    para_metros(0,6,48,"Escala = ");
    cursor(0,6,58);
    printf("%02.1f",escal);
    para_metros(0,6,63," mm/seg");
    para_metros(0,6,0,"[gr]");
    para_metros(0,8,3,"-");
    para_metros(0,8,0,"1.5");
    para_metros(0,10,3,"-");
    para_metros(0,12,3,"-");
    para_metros(0,12,0,"1.0");
    para_metros(0,14,3,"-");

```

```

para_metros(0,16,3,"-");
para_metros(0,16,0,"0.5");
para_metros(0,18,3,"-");
para_metros(0,20,3,"-");
para_metros(0,20,0,"0.0");
setcolor(1);
rectangle(30,67,620,163);
for ( n = 0 ; ( n * e s c a l a < = 5 9 0 ) ; n + + )
line((n*escala)+30,163,(n*escala)+30,165);
tiempo=0;
if (cont>590) ultimo=ultimo-1;
for(n=inic;n<=ultimo;n++)
{
    tiempo=tiempo+t[n];
    y=(96*forca[n]/30);
    if (y>=96) y=96;
    line((tiempo*escala)+30,163,(tiempo*escala)+30,(163-y));
}
para_metros(0,23,18,"Pressione < Enter > para apagar a tela
");
getch();
}
/* Fim da funcao que grafica */

```

```

/* FUNCAO PARA MUDAR OS VALORES */

```

```

mudar_valores()
{
    int n;
    int x;
    setcolor(1);
    resp='';
    para_metros(0,5,20,"Mudando os valores de EINA e EIPA");
    para_metros(0,8,10,"EINA      -      Valores Atuais ");
    for (n=10;n<=40;n+=10)
    {
        rectangle((n*10)-27,77,(n*10)+52,89);
        if (n==10) x=10;
        if (n==20) x=22;
        if (n==30) x=35;
        if (n==40) x=47;
        cursor(0,10,x);printf("%f",cte[n/10]);
    }
    for(;(resp!='m')&&(resp!='M')&&(resp!='d')&&(resp!='D');)
    {
        para_metros(0,19,5,"Digite M para mudar, D para default
= ");
        resp=getch();

        if ((resp!='m')&&(resp!='M')&&(resp!='D')&&(resp!='d'))

```

```

keep();
    para_metros(0,19,5,"
");
}
if ((resp=='D')||(resp=='d'))
{
    para_metros(0,13,10,"Valores default");
    cte[1]=2;cte[2]=-0.5;cte[3]=0.475;cte[4]=-0.08;
    for (n=10;n<=40;n+=10)
    {
        rectangle((n*10)-27,125,(n*10)+52,137);
        if (n==10) x=10;
        if (n==20) x=22;
        if (n==30) x=35;
        if (n==40) x=47;
        cursor(0,16,x);printf("%f",cte[n/10]);
        delay(500);
    }
}
else
{
    para_metros(0,13,10,"Digite os novos valores");
    for(n=10;n<=40;n+=10)
    {
        rectangle((n*10)-27,125,(n*10)+52,137);
        if (n==10) x=10;
        if (n==20) x=22;
        if (n==30) x=35;
        if (n==40) x=47;
        cursor(0,16,x);
        verifica_2(16,x,100);
        cte[n/10]=valor2;
    }
}
delay(1000);
borra_1();
para_metros(0,5,20,"Mudando os valores de EINA e EIPA ");
para_metros(0,8,10,"EIPA - Valores Atuais ");
rectangle(75,77,150,89);
cursor(0,10,10);printf("%f",cte[5]);
rectangle(175,77,250,89);
cursor(0,10,22);printf("%f",cte[6]);
resp=' ';
for(;(resp!='m')&&(resp!='M')&&(resp!='d')&&(resp!='D');)
{
    para_metros(0,19,5,"Ingresse M para mudar, D para
default = ");
    resp=getch();

    if ((resp!='m')&&(resp!='M')&&(resp!='d')&&(resp!='D'))

```

```

    ");
  }
if ((resp=='D')||(resp=='d'))
  {
  para_metros(0,13,10,"Valores default");
  cte[5]=0.04;cte[6]=-0.01;
  rectangle(75,125,150,137);
  cursor(0,16,10);printf("%f",cte[5]);
  delay(500);
  rectangle(173,125,250,137);
  cursor(0,16,22);printf("%f",cte[6]);
  delay(500);
  }
else
  {
  para_metros(0,13,10,"Digite os novos valores");
  rectangle(75,125,152,137);
  verifica_2(16,10,100);
  cte[5]=valor2;
  rectangle(173,125,252,137);
  verifica_2(16,22,100);
  cte[6]=valor2;
  }
resp=' ';
for(;(resp!='R')&&(resp!='r')&&(resp!='M')&&(resp!='m');)
  {
  para_metros(0,19,5,"Digite R para recalculer, M para
voltar ao Menu = ");
  resp=getch();
  if ((resp!='r')&&(resp!='R')&&(resp!='m')&&(resp!='M'))
beep();
  para_metros(0,19,5,"
                ");
  }
if ((resp=='R')||(resp=='r'))
  {
  para_metros(0,19,5,"Recalculando valores");
  calculo_da_forca();
  }
borra_1();
}
/* Fim da mudanca dos valores */

```

```

        /* FUNCAO DE TERMINACAO */

finaliza()
{
    para_metros(0,8,27,blanco_20);
    para_metros(0,10,10,blanco_20);
    para_metros(0,12,10,blanco_20);
    para_metros(0,14,10,blanco_50);
    para_metros(0,12,30,"Esto ha sido todo");
    flag=-1;
    beep();
    beep2();
    beep();
    cursor(0,23,1);
    closegraph();
}

        /* Fim da funcao de terminacao */

        /* FUNCAO PARA VERIFICACAO 1*/
verifica_1(int yy, int xx, int max)
{
    valor=0;
    for(;(valor>max)|| (valor==0)|| (valor<0);)
    {
        para_metros(0,yy,xx,"      ");
        cursor(0,yy,xx);
        gets(resposta);
        valor=atoi(&resposta);
        if (valor==0) beep();
        if (valor>max) beep();
    }
}

        /* Fim da funcao verificacao */

        /* FUNCAO PARA VERIFICACAO 2*/
verifica_2(int yy, int xx, float maxi)
{
    valor2=0;
    for(;(valor2>maxi)|| (valor2==0);)
    {
        para_metros(0,yy,xx,"      ");
        cursor(0,yy,xx);
        gets(resposta);
        valor2=atof(&resposta);
        if (valor2==0) beep();
        if (valor2>maxi) beep();
    }
}

        /* Fim da funcao verificacao 2*/

```

```

        /* FUNCAO QUE APAGA A TELA */

borra_1()
{
    int n, l;
    for(n=4;n<=20;n++)
        {
            para_metros(0,n,3,blanco_70);
        }
    para_metros(0,23,1,blanco_50);
}

        /* Fim do apagado da tela */

        /* FUNCAO QUE APAGA A TELA 2 */

borra_2()
{
    int n;
    para_metros(0,4,17,blanco_50);
    para_metros(0,6,0,blanco_50);
    para_metros(0,6,48,blanco_50);
    para_metros(0,8,0," ");
    para_metros(0,10,3," ");
    para_metros(0,12,0," ");
    para_metros(0,14,3," ");
    para_metros(0,16,0," ");
    para_metros(0,18,3," ");
    para_metros(0,20,0," ");
    setcolor(0);
    rectangle(10,30,625,170);
    rectangle(30,67,620,163);
    f o r ( n = 0 ; ( n * e s c a l a < = 5 9 0 ) ; n + + )
line((n*escala)+30,163,(n*escala)+30,165);
    tiempo=0;
    for(n=inic;n<=ultimo;n++)
        {
            tiempo=tiempo+t[n];
            y=(96*forca[n]/30);
            line((tiempo*escala)+30,163,(tiempo*escala)+30,(163-y));
        }
    para_metros(0,23,18,blanco_50);
}

        /* Fim da funcao que apaga a tela 2 */

```

```

        /* Funcao beep */
beep()
{
    sound(2000);
    delay(200);
    nosound();
}
        /* Fim do beep */

        /* FUNCAO BEEP 2 */

beep2()
{
    sound(1500);
    delay(200);
    nosound();
    sound(1500);
    delay(200);
    nosound();
}

        /* Fim do beep 2 */

        /* FUNCAO PARA ESCREVER NA TELA DA GRAFICACAO */

para_metros(int v1,int v2, int v3, char s4[50])
{
    cursor(v1,v2,v3);
    printf("%s",s4);
}

        /* Fim da funcao para escrever na tela */

        /* FUNCAO QUE POSICIONA O CURSOR */

cursor(int pagina,int fila, int coluna)
{
    union REGS inregs,outregs;
    inregs.h.ah=2;
    inregs.h.bh=pagina;
    inregs.h.dh=fila;
    inregs.h.dl=coluna;
    int86 (0x10,&inregs,&outregs);
}

        /* Fim da funcao que posiciona o cursor */

        /*          FIM          DO          PROGRAMA          */

```