

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

MODELOS DE SISTEMAS DE CONTROLE  
DO CRESCIMENTO NORMAL E ANORMAL DE CÉLULAS

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA  
CATARINA PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS

CARLOS AURELIO FARIA DA ROCHA

1985

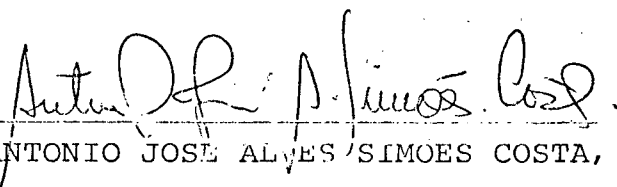
MODELOS DE SISTEMAS DE CONTROLE  
DE CRESCIMENTO NORMAL E ANORMAL DE CÉLULAS

CARLOS AURELIO FARIA DA ROCHA

ESTA DISSERTAÇÃO FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE  
MESTRE EM CIÊNCIAS - ESPECIALIDADE ENGENHARIA ELÉTRICA E APROVADA  
EM SUA FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO.

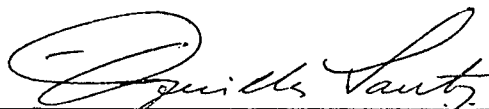


PROF. WALTER CELSO DE LIMA, ScD., L.D.  
ORIENTADOR



PROF. ANTONIO JOSE ALVES SIMOES COSTA, PhD  
COORDENADOR

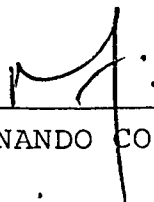
BANCA EXAMINADORA:



PROF. AQUILLES AMAURY CORDOVA SANTOS, Dr.



PROF. CARLOS INÁCIO ZANCHIN, M.Sc.



PROF. FERNANDO COSTANTI, D.Sc., L.D.



PROF. WALTER CELSO DE LIMA, D.Sc., L.D.

Aos meus pais  
Aurélio e Mary  
pelo amor e dedicação.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor WALTER CELSO DE LIMA pela orientação e dedicação a esta dissertação de mestrado.

Ao Professor HANS HELMUT ZÜRN pela colaboração nas traduções.

À IEDA REGINA SERAFIM pela sua dedicação na datilografia do trabalho.

À JOSÉ CARLOS LUIZ pelos excelentes desenhos.

Aos professores e colegas do Departamento de Engenharia Elétrica da Universidade Federal de Santa Catarina e à CNEN pelo apoio recebido.

## S U M Á R I O

	Pág.
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
SIMBOLOGIA UTILIZADA	viii
1. INTRODUÇÃO	01
1.1. INTRODUÇÃO	01
1.2. REVISÃO DA LITERATURA	03
1.3. PROPOSIÇÃO	05
2. MÉTODOS	06
2.1. MODELO FISIOLÓGICO	06
2.1.1. REPRODUÇÃO CELULAR	06
2.1.2. CONTROLE DO CRESCIMENTO E REPRODUÇÃO CELULAR	07
2.1.3. CANCER	08
2.1.4. FORMAÇÃO DAS CÉLULAS VERMELHAS DO SANGUE	09
2.1.5. CONTROLE DA PRODUÇÃO DOS ERITRÓCITOS	12
2.1.6. AS CÉLULAS-PRIMITIVAS OU CÉLULAS-TRONCO	14
2.2. FORMULAÇÃO DOS MODELOS MATEMÁTICOS	18
2.2.1. MODELO DO SISTEMA DE CONTROLE DO CRESCIMENTO NORMAL E ANORMAL DE CELULAS	18
2.2.1.1. DETERMINAÇÃO DOS REGULADORES $H(S)$ E $G_2(S)$ PARA O CASO FISIOLÓ <u>G</u> LÓGICO NORMAL.	25
2.2.1.2. DETERMINAÇÃO DOS REGULADORES PARA O CASO DE TUMORES BENIGNOS	29

2.2.1.3. DETERMINAÇÃO DOS REGULADORES PARA O CASO DE TUMORES MALIGNOS	30
2.2.2. MODELO LINEARIZADO DA ERITROPOESE	32
2.2.3. MODELO NÃO-LINEAR DO SISTEMA DE CONTROLE DA ERITROPOESE	40
2.3. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS	48
2.4. MÉTODOS DE SIMULAÇÃO	51
2.5. SIMULAÇÃO DO MODELO LINEARIZADO DA ERITROPOESE	54
2.5.1. CASO NORMAL	54
2.5.2. ANEMIAS CAUSADAS POR VARIAÇÕES PARAMÉTRICAS	54
2.5.3. ANEMIA PROVOCADA POR MUDANÇAS ESTRUTURAIS	58
2.6. SIMULAÇÕES DO MODELO NÃO-LINEAR DA ERITROPESE	59
3. RESULTADOS	61
4. DISCUSSÃO	76
4.1. DISCUSSÃO DOS MÉTODOS	76
4.2. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	78
5. CONCLUSÕES	83
BIBLIOGRAFIAS	86
ANEXO - PROGRAMAS EM LINGUAGEM CSMP E ALGUMAS LISTAGENS DE SAÍDA DO COMPUTADOR	93

## R E S U M O

Foram modelados e simulados três sistemas de controle do crescimento e multiplicação celular. O primeiro, um micro-modelo, trata do sistema de controle do crescimento e multiplicação normal e anormal de uma única célula. Os demais, macro-modelos, tratam do processo de formação das células eritropoéticas. Um deles é um modelo linear e outro não-linear. Os dois últimos modelos foram simulados em computador digital, modificando-se parâmetros e estruturas para simular diversas patologias. São apresentados doze resultados de simulações do modelo linearizado considerando-se diversos distúrbios agindo sobre o sistema. Obtiveram-se dezenove respostas do modelo não-linear da eritropoese considerando-se três diferentes pressões atmosféricas (360, 440 e 510 mmHg) correspondentes a três altitudes geográficas, ou seja, a três diferentes níveis de oxigenação e comparou-se estas respostas com curvas obtidas experimentalmente. Os resultados destas simulações permitiram concluir que os modelos são válidos, pois revelaram as propriedades dinâmicas compatíveis com os dados experimentais obtidos da literatura médica.

## A B S T R A C T

Three control systems of cell growth and multiplication have been modeled and simulated. The first system, a micro-model, deals with normal and abnormal growth and multiplication of a single cell. The other systems, a macro-models, deal with the forming process of the erythropoietics cells. One of them is a linear-model and the other is non-linear. The macro-models have been implemented in a digital computer and several pathologies have been simulated by modifying the models parameters and structure. Twelve results obtained through simulation of the linearized model are presented, considering various disturbances acting on the system. Nineteen responses were obtained from the erythropoiesis non-linear model considering three different air pressure values (360, 440 and 510 mmHg), which correspond to three geographic altitudes, that is, to three different levels of oxygenation. These responses are compared with curves obtained experimentally. The simulation results show a dynamic behavior compatible with experimental data obtained from the medical literature, which indicates that the proposed models are valid.



## SIMBOLOCCIA UTILIZADA

- A = Amplitude do desvio de células  $Y_1(s)$  devido ao distúrbio  $V(s)$ .
- B = ganho do bloco de primeira ordem que representa a secreção e o transporte da substância reguladora.
- b = fator de amplificação do compartimento de proliferação.
- C = desvio inicial do número de células quando um distúrbio (degrau) age sobre o sistema considerando o caso fisiológico normal.
- D = desvio do número de células  $[y(t)]$  de estado estacionário supondo uma variação súbita do comando  $u(t)$ .
- d = ganho do bloco que vincula a ação do inibidor mitótico.
- D1, D2, D3, D4, D5 = distúrbios agindo sobre as chaves fictícias ou sobre os compartimentos.
- $E(t)$  = concentração de eritropoetina no plasma no tempo  $t$  ("N" unidades/ml).
- $E_e$  = concentração de eritropoetina abaixo da qual nenhum eritrócito precoce é produzido ("N" unidades/ml).

- ER = quantidade de eritropoetina (%).
- F = inclinação da rampa que representa o desvio do número de células  $[y(t)]$  para o caso de tumores malignos considerando apenas o distúrbio (degrau) aplicado.
- f = ganho do bloco que simula o controle do número de células primitivas.
- Hb = Concentração de hemoglobina (g/ml).
- HbO(t) = concentração efetiva de oxihemoglobina no tempo t (g/ml).
- $\overline{\text{HbO}}$  = concentração de oxihemoglobina real (g/ml).
- Hct = hematócrito.
- I = inclinação da rampa que representa o desvio do número de células  $|y(t)|$  para o caso de tumores malignos considerando uma variação súbita do comando  $u(t)$ .
- $K_c$  = constante (ml plasma/unid.de eritropoetina).
- HCM = hemoglobina corpuscular média (pg).
- VCM = volume corpuscular médio ( $\mu m^3$ )
- OX = necessidade de oxigênio tecidual (%).
- $\dot{P}(t)$  = taxa de produção de hemoglobina no tempo t (g/dia).
- PHL = percentagem de hemoglobina liberada pelos eritrócitos precoces(%).
- $\dot{P}_0$  = taxa basal de produção de hemoglobina (g/dia).

- $P_{O_2 \text{ art}}$  = pressão do oxigênio arterial (mmHg).
- $P_m$  = taxa mínima de produção de hemoglobina (g/dia).
- $\dot{R}(t)$  = taxa de liberação da eritropoetina no tempo  $t$  ("N" unidades/dia).
- $T_1$  = tempo de trânsito no comportamento de amadurecimento (dias).
- $T_2$  = tempo de trânsito no compartimento de função (dias).
- $t_1$  = constante de tempo para o desaparecimento da eritropoetina (dias).
- $t_2$  = atraso entre o estímulo hipóxico renal e o aparecimento da eritropoetina no plasma (dias).
- $t_3$  = constante de tempo para a queda no valor do volume do plasma do seu valor de controle ao seu valor de estado estacionário (dias).
- $t$  = tempo.
- TH = hemoglobina circulante total (g).
- $u(t)$  ou  $U(s)$  = representa a determinação natural do tamanho e número de células específicas de cada tecido.
- $v(t)$  ou  $V(s)$  = representa distúrbios agindo sobre o modelo linearizado do crescimento e multiplicação normal ou anormal de células.
- $V_e$  = volume de distribuição da eritropoetina (ml).
- VEC = volume total dos eritrócitos circulantes (ml).

- $V_P$  = volume total do plasma (ml).  
 $V_D$  = volume total do sangue (ml).  
 $V_{p^F}$  = volume do plasma hipóxico em estado estacionário (ml).  
 $V_{p^o}$  = volume do plasma normal (ml).  
 $V_v$  = fator de correção.  
 $x(t)$  ou  $X(s)$  = representa as substâncias que são secretadas pelas células e que controlam  $y(t)$  ou  $y(s)$ .  
 $Z_3$  = células primitivas enviadas.  
 $Z_6$  = pronormoblastos.  
 $Z_7$  = normoblastos barófilos.  
 $Z_8$  = normoblastos policrompáticos.  
 $Z_9$  = normoblastos ortocromáticos.  
 $Z_{13}$  = reticulócitos.  
 $Z_{15}$  = eritrócitos circulantes.  
 $W$  = desvio do número de células  $|y(t)|$  de estado estacionário quando um distúrbio (degrau) age sobre no caso de tumores benignos.  
 $\tau_1$  = constante de tempo do bloco de primeira ordem que representa a secreção e transporte da substância reguladora.

- $\tau_2$  = constante de tempo da resposta do modelo  $[y(t)]$  ao distúrbio (degrau) para o caso fisiológico normal.
- $\tau_3$  = constante de tempo da resposta do modelo  $[y(t)]$  supondo uma variação súbita do comando  $u(t)$  para o caso fisiológico normal.
- $\tau_4$  = constante de tempo da r-sposta do modelo  $[y(t)]$  quando um distúrbio (degrau) age sobre o sistema para o caso de tumores benignos.
- $\tau_1, \tau_2, \tau_3, \tau_4$  = constantes do tempo do compartimento de proliferação (dias).
- $\tau_5$  = constante de tempo do bloco que simula a remoção celular (dias).

# 1 - INTRODUÇÃO

## 1.1. INTRODUÇÃO:

Os rápidos avanços no campo da teoria de sistemas e controle levaram pesquisadores a investigar o processo de crescimento e multiplicação celular através de modelos matemáticos, elaborados a partir do conhecimento fisiológico, e utilizar o computador para simulação.

Sistemas de controle com realimentação regulam muitas variáveis biológicas. Em essência tais sistemas tem os seguintes componentes:

- 1) Uma variável controlada a qual o corpo tenta manter em um certo nível desejado;
- 2) Um dispositivo sensível que mede desvios daquele nível;
- 3) Um sinal produzido pelo dispositivo sensível e
- 4) Um processo controlado o qual responde ao sinal e direta ou indiretamente influencia a variável controlada. Tais sistemas tem essencialmente uma realimentação negativa natural, desde que a ocorrência de um erro na variável controlada é contrabalanceado pela res-

posta do sistema na tentativa de reduzir o erro. A figura 1 resume um sistema de controle.

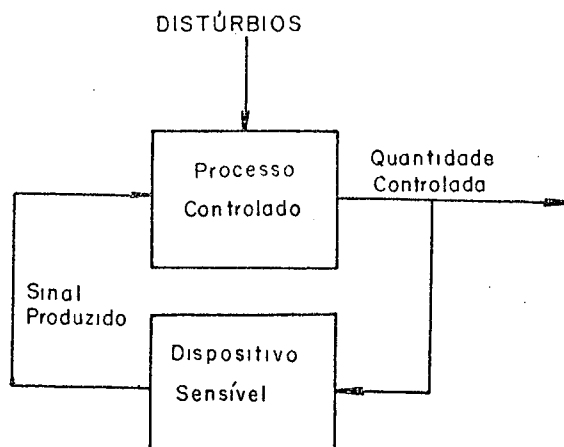


FIG.1 - Sistema de Controle com Realimentação.

Em animais adultos, muitos tecidos tais como a pele ou a medula óssea, podem responder a uma perda de células por um acréscimo na produção celular, até que o tecido atinja seu tamanho normal. Esse mecanismo de controle homeostático é apenas parcialmente conhecido (GUYTON, 1977). Inibidores mitóticos são secretados pelas células do tecido afetado a fim de parar a reprodução celular (KIVILAAKSO & RYTÖMAA, 1970). Os transtornos deste mecanismo se traduzem pelo crescimento de tumores. Em termos de sistemas automáticos de controle, pode-se afirmar que o cancer é uma alteração na estabilidade do sistema de controle do crescimento celular.

O estudo dos sistemas biológicos e seus con -

controles pertencem a uma das áreas da Engenharia Biomédica, denominada Bioengenharia.

Objetiva-se neste trabalho obter um modelo matemático linearizado que revele o comportamento do sistema de controle do crescimento e multiplicação normal e anormal de uma única célula. A partir deste estudo tentar-se-á obter um modelo linearizado do processo de formação das células vermelhas do sangue (a eritropoese) cujo campo oferece um numeroso conjunto de dados obtidos através de experimentos e cujo balanço dinâmico entre o ganho e perda de células, em um caso normal, leva a uma interpretação através da teoria de controle. Um outro modelo não-linear mais preciso da eritropoese deverá ser proposto para dar uma melhor visualização deste processo. Os modelos a serem propostos possuem limitações tais como: são determinísticos, os parâmetros são concentrados, são desprezados os sinais aleatórios e ruídos, os modelos linearizados são contínuos e invariantes no tempo.

## 1.2 - REVISÃO DA LITERATURA:

A modelagem dos processos de multiplicação e crescimento celular originou-se, possivelmente, a partir do trabalho do matemático Volterra\* que em 1926 apresentou uma preleção sobre a teoria matemática da luta pela sobrevivência, (VOLTERRA, 1926). Ele analisou a cinética populacional de lebres e raposas de uma ilha, chegando a relações matemáticas entre predador e presa.

Em 1949, Druckrey et. all., indicou a possibilidade da existência de mecanismos de realimentação em processo de crescimento celular que em 1957 foi utilizado e especificado por Weiss e Kavanau.

Em 1963, Iversen e Bjerknes analisaram um

---

\*Vito Volterra, 1860-1940, matemático italiano.



modelo do crescimento da pele de ratos com uma simulação em computador analógico.

Alguns trabalhos seguintes, apresentam modelos na teoria matemática moderna utilizando por exemplo a teoria dos processos estocásticos (PRASAD & IBIDAPO-OBE, 1977) ou representação através de espaço de estado (HAHN, 1966).

Em 1970 e 1971, Mylrea & Abbrecht publicam trabalhos sobre o sistema eritropoético de ratos sujeitos a diferentes pressões de oxigênio.

Os trabalhos de Düchting (1968, 1973, 1976, 1978, 1981) descrevem modelos da multiplicação normal e anormal de células. A publicação de 1973 descreve um modelo de controle do processo de formação das células vermelhas do sangue (eritropoese).

Sobre a eritropoese, Düchting, baseou os seus trabalhos nas seguintes publicações:

- 1) Lajtha et al., 1962 e Alexamian et al., 1963, estudam a cinética populacional das células primitivas da medula óssea.
- 2) Wheldon et al. (1973), propõe um modelo para a autoregulação mitótica das células primitivas hematopoéticas.
- 3) Kivilaakso & Rytöma 1970, provam a existência de inibidores mitóticos em eritrócitos maduros.
- 4) ORR et al. 1968, provocam anemia hemolítica em coelhos e verificam grandes flutuações com periodicidade regular na contagem em eritrócitos.

### 1.3. PROPOSTA:

Neste trabalho propõe-se:

1. Modelar matematicamente o crescimento e a multiplicação normal e anormal para uma única célula e tentar obter conclusões dos controles deste processo.

2. Modelar matematicamente o processo de formação das células vermelhas do sangue a partir dos trabalhos de Düchting (1973, 1976, 1978, 1981) dos de Mylrea & Abbrecht (1970 e 1971) e dos de Lima & Rocha (1982, 1983).

3. Simular em computador digital, utilizando o programa CSMP ("Continuous System Modeling Program"), os modelos da eritropoese comparando os resultados obtidos com dados experimentais disponíveis na literatura médica.

4. Discutir a validação dos modelos e tentar tirar conclusões gerais.

## 2. MÉTODOS

### 2.1. MODELO FISIOLÓGICO

#### 2.1.1. Reprodução Celular:

A maioria das células está continuamente em crescimento e em reprodução; as novas tomam o lugar das que morrem mantendo-se assim um fornecimento de células permanentemente no organismo. A reprodução celular começa no núcleo. (GUYTON, 1977). O núcleo é o centro de controle da célula. Ele controla tanto as reações químicas celulares como a reprodução. Em resumo, o núcleo contém grandes quantidades de ácido desoxiribonucleico - DNA (os genes). Os genes controlam as características das enzimas do citoplasma, e assim controlam as atividades citoplasmáticas. O primeiro passo para a reprodução é a replicação de todos os genes e cromossomos. (GUYTON, 1977). A fase seguinte consiste na distribuição das duas coleções de genes entre dois núcleos separados. Finalmente a própria célula se divide em duas células filhas. A esse processo dá-se o nome de mitose. O ciclo vital completo de uma célula, quando não inibido de algum modo, dura cerca de

10 a 30 horas de uma reprodução à outra, demorando a mitose cerca de meia hora (GUYTON, 1977). Entretanto, no corpo quase sempre existem controladores inibitórios que retardam ou param o ciclo vital da célula, resultando em períodos de ciclos vitais que variam de um mínimo de 10 horas para as células estimuladas da medula óssea, até o máximo das células nervosas, que duram todo o tempo de vida do organismo humano.

#### 2.1.2. Controle do Crescimento e Reprodução Celular:

A regulação dessas funções ainda não se conhece (GUYTON, 1977). A maioria dos tecidos tem a capacidade de se reproduzir continuamente, embora o ritmo de reprodução permaneça reprimido. Quando há insuficiência de um determinado tipo de célula, esta crescerá rapidamente, até que se forme o número necessário de células. Por exemplo, sete oitavos de fígado podem ser removidos cirurgicamente e as células do oitavo restante crescerão e se dividirão até quase recompor a massa normal do fígado.

Bem pouco sabe-se sobre o mecanismo que mantém os números apropriados dos diferentes tipos de células. Acredita-se que certas substâncias secretadas pelas diferentes células causam efeitos nos mesmos tipos celulares. Ao se formar um número suficiente de células, essas substâncias podem parar ou impedir-lhes o crescimento, ainda que só tenham encontrado algumas poucas substâncias capazes disso. Sa

be-se que células em cultura de tecidos podem crescer e re-  
produzir-se rápida e indefinidamente, desde que o meio se-  
ja sempre renovado. Mas o crescimento pára quando as pró-  
prias secreções se acumulam (WEIS & KAVANAU, 1957; DULBECCO,  
1982). Daí a idéia da existência de substâncias-controle,  
que limitam o crescimento celular.

O tamanho da célula é determinado quase in-  
teiramente pela quantidade de DNA nuclear (DULBECCO, 1982).  
Se a duplicação dos genes deixar de ocorrer, a célula cres-  
cerá até um certo ponto e estacionará.

### 2.1.3. Cancer:

O cancer, que ocorre em qualquer tecido, re-  
sulta de uma alteração em certas células, permitindo-lhes  
ultrapassar os limites regulares de crescimento. Elas dei-  
xam de obedecer aos controles que normalmente param o cres-  
cimento e a reprodução celular, depois que um certo número  
dessas células se tenham desenvolvido (DÜCHTING & DEHL,  
1980).

Qual será a diferença entre a célula cancero-  
sa e o tecido normal, que permite o crescimento e a repro-  
dução da célula cancerosa tão desproporcionalmente? Desco-  
nhece-se ainda a resposta, mas os pesquisadores encontra-  
ram estruturas genéticas das células cancerosas diferentes  
das normais (GUYTON, 1977). Isso levou a idéia de que o  
cancer pode ser o resultado de uma mutação de parte do

sistema genético da célula (ou de uma alteração do seu sistema genético induzida pela presença de um vírus na célula). O "genoma" mudado ou alterado elimina os mecanismos de auto-regulação que normalmente limitam o crescimento e reprodução celulares.

O tecido canceroso compete com os tecidos normais pelos nutrientes, e como as células cancerosas continuam dia a dia a proliferar e a multiplicar seu número, pode-se compreender quão rápido elas chegam a exigir todas as substâncias nutritivas disponíveis. Em vista disso, os tecidos normais acabam morrendo por insuficiente nutrição (GUYTON, 1977).

#### 2.1.4. Formação das Células Vermelhas do Sangue:

A função principal dos eritrócitos (ou hemácias; as células vermelhas do sangue) é transportar a hemoglobina, que por sua vez conduz o oxigênio dos pulmões para os tecidos (GUYTON, 1977). Os eritrócitos são produzidos principalmente na medula óssea. Esta produção pode-se tornar anormal, se ocorrer, por exemplo, a formação de tumores na medula. Isto pode levar a um aumento exagerado no número de eritrócitos circulantes, aumentando a viscosidade do sangue e podendo assim, ocasionar entupimento de vasos sanguíneos ocasionando sérios transtornos à circulação.

O sistema eritrocitário pode ser considerado

---

\*Genoma - Conjunto completo de cromossomos.

como um órgão disperso, mas que funciona como uma unidade, chamado eritron (WINTROBE, 1979). Este órgão inclui as células eritropoéticas da medula óssea, os eritrócitos circulantes, o sistema reticuloendotelial (que se associa com a destruição dos eritrócitos), o ferro e demais fatores plasmáticos que se requer para produção destes. A figura 2 mostra a proliferação que ocorre dentro do eritron.

As células sanguíneas são derivadas de uma célula conhecida como pronormoblasto e estas estão sendo continuamente formadas a partir das células primitivas ou células-tronco, localizadas por toda a medula óssea. O pronormoblasto forma o normoblasto basófilo, que inicia a síntese de hemoglobina. O normoblasto torna-se então um normoblasto policromatófilo. Depois disso o núcleo da célula reduz-se, ao mesmo tempo que são formadas quantidades ainda maiores de hemoglobinas, e a célula torna-se um Normoblasto Ortocromático (WINTROBE, 1979). Durante todas essas etapas as diferentes células continuam a dividir-se, de forma que são formadas quantidades cada vez maiores de eritrócitos jovens. Ocorrem de três (3) a cinco (5) divisões entre a etapa de pronormoblasto e o normoblasto ortocromático. Portanto há uma produção de 8 a 32 células por pronormoblasto. A partir da etapa ortocromática a célula não mais se divide. O processo de maturação tem continuidade com o núcleo sendo autolizado e absorvido. Nesta etapa persiste ainda algumas organelas citoplasmáticas como o retículo endoplasmático produtor da hemoglobina que continua sendo produzida pelo tempo que o retículo persistir, no período

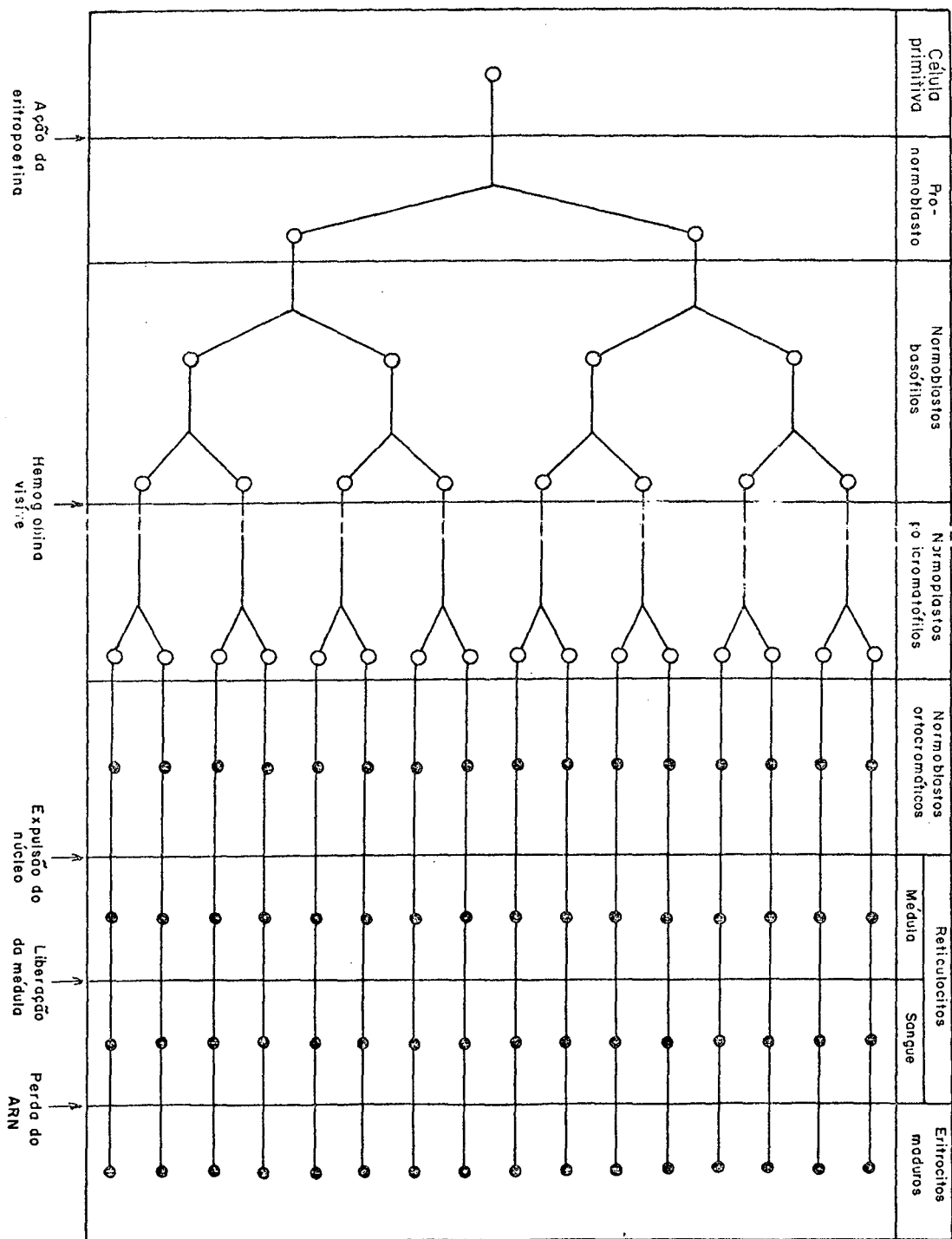


FIG. 2 - Proliferação que ocorre no eritron.



do que não excede de dois a três dias (GUYTON, 1977). Nesta fase as células são conhecidas como reticulócitos. A célula pode permanecer dentro da medula como reticulócito durante vários dias. Depois de sua liberação, esta ainda pode sofrer uma maturação adicional no baço. A célula madura circulante é chamada de eritrócito.

#### 2.1.5. Controle da Produção dos Eritrócitos:

Qualquer condição que cause a diminuição da quantidade de oxigênio transportada para os tecidos (hipoxia) aumenta a velocidade de produção dos eritrócitos. Esta produção é controlada por uma glicoproteína chamada eritropoetina (GUYTON, 1977). Quantidades particularmente grandes de eritropoetina são formadas nos rins durante a hipoxia. Não há resposta direta da medula óssea à hipoxia. Esta, aliás, só estimula a produção de eritrócitos através do mecanismo da eritropoetina. Embora a eritropoetina comece a ser formada pelos rins quase imediatamente após a colocação de um animal ou uma pessoa numa atmosfera de baixo teor em oxigênio, apenas alguns eritrócitos jovens aparecem no sangue circulante no decorrer do primeiro dia, somente após três à quatro dias é atingido o efeito máximo, que é o tempo levado para a formação do eritrócito maduro. Se o estímulo eritropoético for muito forte, as células são liberadas pela medula antes de se tornarem eritrócitos maduros, aumentando o número de reticulócitos circulantes. E se o estímulo for excessivo alguns normoblastos podem apare

cer no sangue circulante.

Além do mecanismo de controle mediado pela eritropoetina, a eritropoese parece ser controlada pelo número de células vermelhas circulantes (KIVILAAKSO & RYTÖMAA, 1971). Sabe-se que o controle da homeostasia mitótica nos organismos de mamíferos adultos é mediada por inibidores mitóticos. Estes originam-se do mesmo tecido no qual ele age, e controla a atividade mitótica por meio de uma realimentação negativa em termos de massa tecidual. A função do inibidor eritrocitário, em condições normais, parece ser a prevenção das células precursoras eritrocitárias (os pro-normoblastos) de uma excessiva proliferação através de realimentação negativa. O inibidor pode ser produzido e inicialmente armazenado nas células precursoras durante seu desenvolvimento anterior e então gradualmente liberado das células maduras circulantes. Este sistema de controle dual possibilita que a taxa de produção de eritrócitos seja ajustada caso haja mudança incidental no número de células periferais. O modo de ação deste inibidor, parece ser o de prevenir que as células precursoras eritrocitárias entrem na fase de síntese de DNA e presumivelmente, também de iniciar o ciclo celular generativo (KIVILAAKSO & RYTÖMAA, 1971). Consequentemente o mecanismo pelo qual o inibidor eritrocitário regula a produção de eritrócitos consiste em alterar a "eficiência de proliferação" dentro do eritron.

### 2.1.6. As Células-Primitivas ou Células-Tronco;

As células-primitivas da medula óssea são por definição, as células que podem manter seu próprio número e ao mesmo tempo, originar células diferenciadas, que podem pertencer à série eritróide ou à outras séries (p. ex. à mieloide) as quais dividem-se um determinado número de vezes durante a diferenciação, porém estas não se auto-mantêm e o processo de diferenciação dá como resultado final: O eritrócito. O mecanismo pelo qual as células primitivas, podem manter-se e originar células diferenciadas intrigou muitos pesquisadores (LAJTHA et all, 1962). Considere-se o processo de regeneração do fígado como exemplo. As sequências de eventos no fígado após retirar uma porção de sua massa (hepatectomia) é bem conhecida: um período de 12 a 15 horas durante o qual aparentemente nada acontece, seguido por um aumento na síntese de DNA, seguido então por uma onda de mitose (LAJTHA et all, 1962). A atividade de uma célula normal num fígado em repouso é baixa. O fato de que a hepatectomia resulta em um aumento do metabolismo celular indica uma importante conclusão: a maioria das células num fígado normal estão em um estado de dormência com respeito ao crescimento. Neste estado elas podem executar as funções do fígado normal, mas, quando surgem estímulos apropriados, algumas destas células seriam "engatilhadas", para entrar e prosseguir através do ciclo celular, culminando com uma mitose. Após a mitose as células estão em um estado de dormência novamente, até sofrerem "engatilhamento" subsequen-

tes. O fato de que a regeneração do fígado após hepatectomia parcial conduz à uma regeneração da massa normal do fígado e não a uma supercompensação, indica uma outra conclusão importante: um número certo de células é engatilhada (após a hepatectomia) quando a deficiência é notada pelo organismo, embora a divisão celular só ocorra após um ciclo celular completo, nenhuma célula é engatilhada durante este tempo. O sistema, portanto, comporta-se da seguinte maneira (Lajtha, et all, 1962):

- a) Estado Estacionário = 100 células no estado de dormência;
- b) Hepatectomia Parcial = 25 células removidas;
- c) Estado de deficiência = 25 células perdidas. Aviso de deficiência;
- d) O controle para o número exato de células engatilhadas 25 células;
- e) As células engatilhadas (ou algumas outra parte do sistema) emite sinal de "mensagem" recebida e entendida;
- f) Sinal para a deficiência desaparece;
- g) As células engatilhadas prosseguem através do ciclo celular;
- h) Células engatilhadas completam o ciclo celular e divide-se;
- i) Estado estacionário recuperado.

O exemplo e conclusões feitas para a re-

geração do fígado podem ser estendidos para um modelo da população de células primitivas como segue:

- a) As células primitivas constituem uma população (Compartimento) com seu próprio mecanismo de controle de sua população;
- b) Quando o tamanho da população é "normal" as células existem em um estado de dormência relativo ao crescimento (estado de nenhum ciclo celular);
- c) Quando um número de células é removido da população o mecanismo de realimentação engatilha um número igual das células que permaneceram no compartimento;
- d) As células engatilhadas emitem o sinal de "mensagem recebida e entendida";
- e) O mecanismo de realimentação para o engatilhamento de mais células;
- f) As células engatilhadas prosseguem através do ciclo celular dividindo-se após completar o ciclo. Assim o tamanho da população retorna ao normal.

A população de células primitivas na medula óssea tem, contudo, a característica particular de nunca de fato, atingir o tamanho "normal" (e com isto o estado de dormência para todas as suas células). Isso é devido à existência de uma contínua remoção de células da população. O eritrócito possui um tempo de vida médio de 120 dias, após

os quais eles são removidos da circulação, e para que o hematócrito (percentagem de sangue que é composta de células) permaneça normal, sempre novas células devem ser "injeta - das" na circulação. Para que isso ocorra células primiti - vas são continuamente retiradas de seu compartimento e "lan çadas" no "compartimento" de proliferação.

## 2.2. FORMULAÇÃO DOS MODELOS MATEMÁTICOS:

### 2.2.1. Modelo do Sistema de Controle do Crescimento Normal e Anormal de Células.

O objetivo é obter um modelo da regulação do crescimento e multiplicação, para uma única célula. Para isso, considerou-se que cada célula possui um sistema de controle que regula sua reprodução e seu crescimento, baseado na descrição do modelo fisiológico feito anteriormente. Supõe-se que todo o modelo a ser obtido é linear. Na realidade este provavelmente é não-linear, como o é por exemplo, os processos que ocorrem no metabolismo celular. É válido, no entanto pensar-se inicialmente em um sistema linearizado, como primeira aproximação.

Inicialmente considera-se o sistema de controle do crescimento celular como uma caixa preta (Fig. 3), onde  $y(t)$  é a variável de saída que representa o desvio do número de

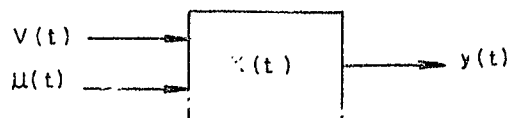


Fig. 3

células de um determinado valor estacionário. A variável  $v(t)$  é uma variável de entrada, representando distúrbios que podem influenciar o sistema de controle.

O comando do  $u(t)$  (Fig. 3) representa a de terminação natural do tamanho e número de células específicas de cada tecido. O valor de  $u(t)$  pode ser função do volume;  $u(t)$  pode ser considerada biologicamente com a indução de enzimas ou secreção de hormônios agindo através do sistema nervoso central. A variável  $u(t)$  é, provavelmente, implícita. O sistema será estável quando ocorrer uma multiplicação celular normal (DUCHTING, 1968). Apresenta-se na Fig. 4 a resposta de um sistema normal de crescimento celular  $y(t)$  devido à distúrbios  $[v(t)]$ .

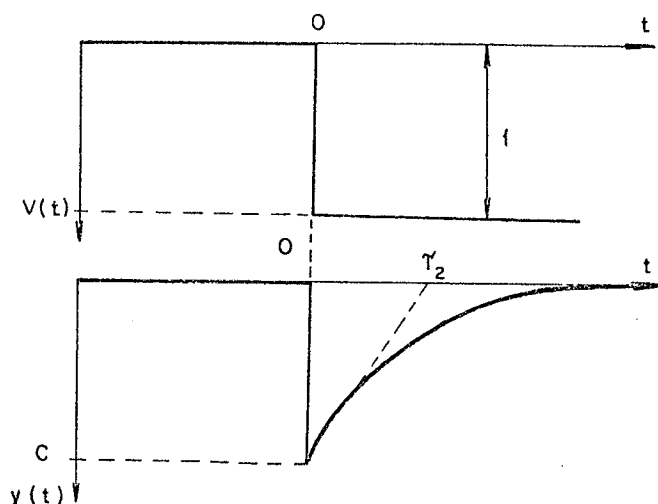


FIG. 4 - Resposta de um sistema normal de crescimento celular  $Y(t)$  devido ao distúrbio  $v(t)$ .



Por outro lado certos distúrbios considerados agentes cancerígenos (por exemplo substâncias: dibenzopireno, dimentilsulfato, etc; agentes físicos: irradiação, vírus oncogênicos, etc) podem modificar a regulação, por exemplo, alterando a estrutura de controle através de mutações genéticas, levando a formação de neoplasma (STEIN, 1981). A Fig. 5 mostra o comportamento transiente estável de um tumor benigno. Na Fig.6 tem-se um comportamento instável de um tumor maligno.

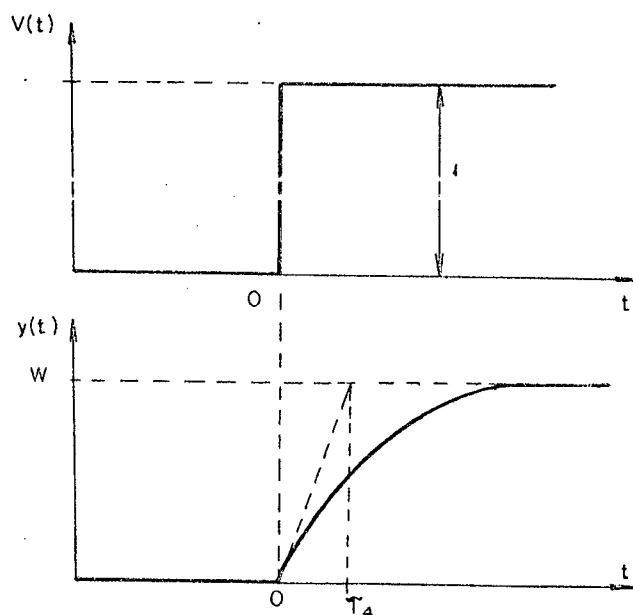


FIG.5 - Comportamento transiente estável de um tumor benigno  $y(t)$  devido ao distúrbio  $v(t)$ .

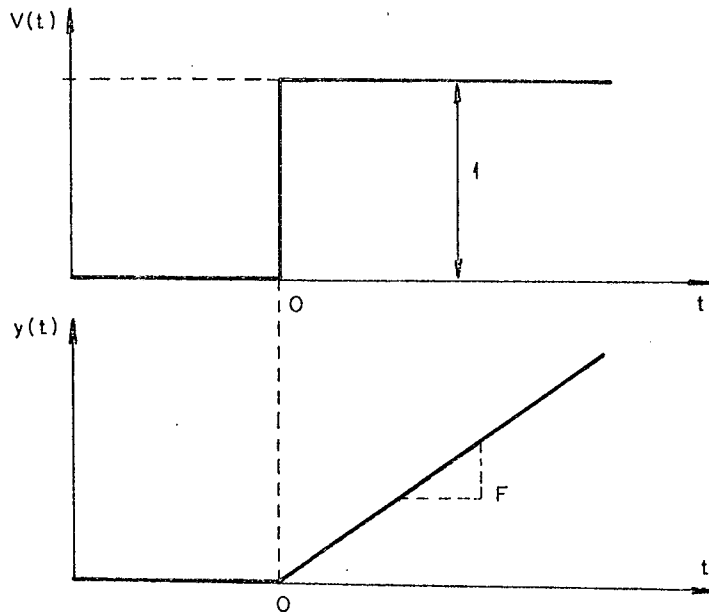


FIG.6. Comportamento instável de um tumor maligno  $y(t)$  devido ao distúrbio  $v(t)$ .

Como hipótese de trabalho, considera-se a existência de  $x(t)$ , ou seja, substâncias que são secretadas pelas células e que controlam  $y(t)$ . A variável  $x(t)$  pode ser também uma informação genética. Apresenta-se na Fig.7 a hipótese, em diagrama de blocos, de todo o sistema de controle.

Admite-se que  $v(s)$  atua sobre  $G_1(s)$  produzindo  $Y_1(s)$ , ou seja, o desvio do número de células devido ao distúrbio  $V(s)$ . Esta ação é considerada imediata:

$$\text{para } t < 0 \quad G_1(t) = 0$$

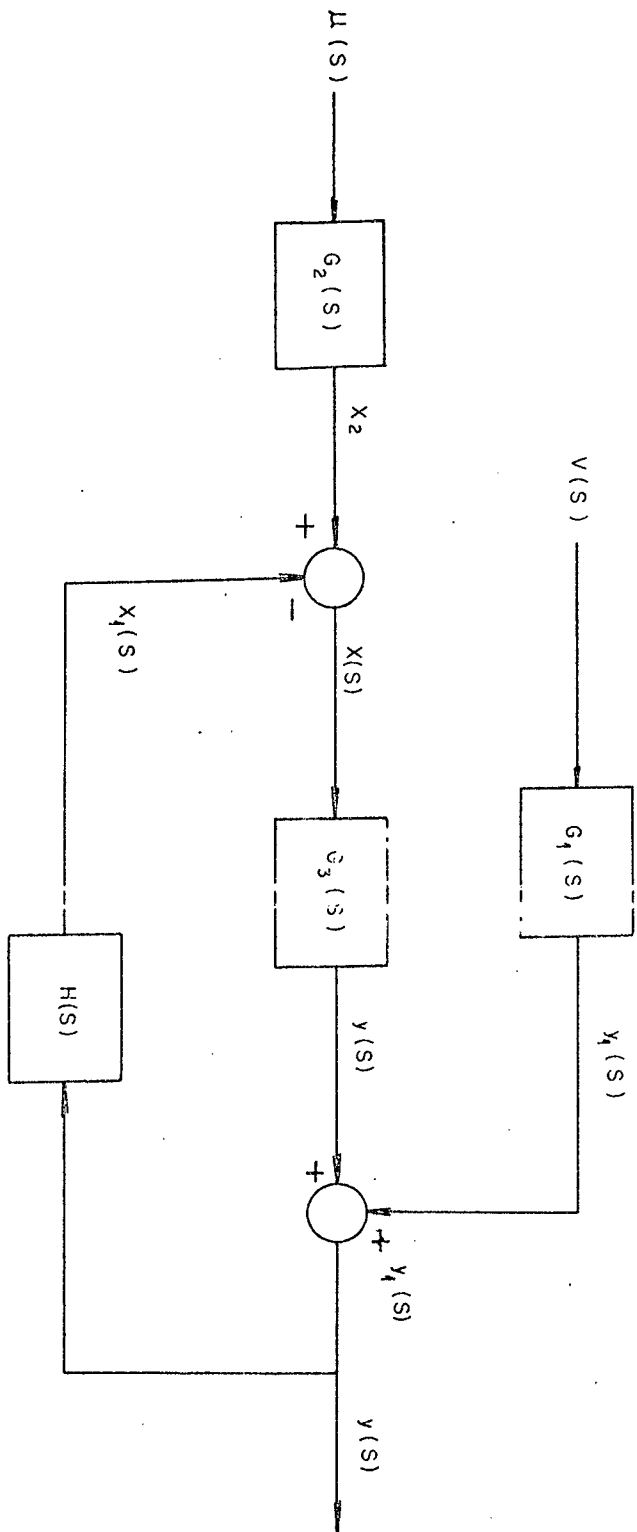


Fig. 7. Diagrama em blocos do sistema de controle da multiplicação de uma única célula.

$$\text{para } t \geq 0 \quad G_1(t) = A \delta(t)$$

$$\frac{Y_1(s)}{V(s)} = G_1(s) = A \text{ para } t \geq 0$$

A hipótese de uma ação imediata significa que a eventual existência de uma constante de tempo na resposta temporal de  $y_1(t)$  pode ser desprezada em função das outras constantes de tempo do sistema. Isto significa desprezar um polo não dominante. Ou seja, o tempo de resposta de  $y_1(t)$  é muito mais rápido que o tempo de resposta dos outros sub-sistemas (DÜCHTING, 1973).

Os comportamentos temporais de  $G_2(s)$  e  $H(s)$  são desconhecidos. Aplicando o comando  $u(t)$  se obtém  $x_2(t)$ , ou seja, a porção da substância reguladora específica, hipoteticamente existente referente a ação de comando  $u(t)$ .

$$G_2(s) = \frac{X_2(s)}{U(s)}$$

Também não se conhece como o desvio do número de células  $[y(t)]$  produz a porção da substância específica que irá regular  $y_2(t)$ :

$$H(s) = \frac{X_1(s)}{Y(s)}$$

A substância  $x(t)$  atuando como reguladora de  $y(t)$ , produz  $Y_2(t)$  tal que:

$$G_3(s) = \frac{Y_2(s)}{X(s)} = \frac{B}{1 + \tau_1 s} \quad (1)$$

ou seja, utilizou-se um comportamento transiente de primeira ordem para representar a secreção e transporte da substância reguladora.

A razão de representá-lo com um sistema de primeira ordem se expõe a seguir (DUCHTING, 1973). Supõe-se que haja um atraso entre a secreção da substância específica  $|x(t)|$  e o número de células controladas por esta substância  $|y_2(t)|$ . Este atraso é consubstanciado em um tempo de resposta de um sistema de primeira ordem pela razão deste ser o mais simples, pois considera-se que o organismo procura realizar os processos biológicos através de meios os mais simplificados. Não se trata de um retardo de tempo ("delay"), pois sempre que existe  $x(t)$ , existirá  $y_2(t)$  ainda que incipiente. Logo:

$$Y(s) = Y_1(s) + Y_2(s) \therefore Y(s) = G_3(s) X(s) + G_1(s) V(s)$$

$$X(s) = X_2(s) - X_1(s) \therefore X(s) = G_2(s) U(s) - H(s) Y(s)$$

ou seja:

$$Y(s) [1 + G_3(s) H(s)] = G_2(s) G_3(s) U(s) + G_1(s) V(s)$$

assim:

$$Y(s) = \frac{G_2(s)G_3(s)}{1+G_3(s)H(s)} U(s) + \frac{G_1(s)}{1+G_3(s)H(s)} V(s) \quad (2)$$

2.2.1.1. Determinação dos Reguladores H(s) e G<sub>2</sub>(s) para o caso fisiológico normal:

a) Determinação de H(s)

Considere a Fig. 4, para um sistema normal:

$$v(t) = -1 \quad (\text{degrau})$$

e

$$y(t) = -C \exp(-t/\tau_2)$$

então:

$$G_4(s) = \frac{Y(s)}{V(s)} = \frac{C \tau_2 s}{1 + \tau_2 s} \quad (3)$$

considerando  $U(s) = 0$  em (2):

$$Y(s) = \frac{G_1(s)}{1+G_3(s)H(s)} V(s) \quad G_4(s) = \frac{G_1(s)}{1+G_3(s)H(s)}$$

logo:

$$H(s) = \frac{G_1(s)}{G_3(s)G_4(s)} - \frac{1}{G_3(s)} \quad (4)$$

Substituindo pelas funções de transferências respectivas:

$$H(s) = \frac{A}{B} \cdot \frac{C \tau_2 s}{1 + \tau_2 s} - \frac{1}{B} \frac{1}{1 + \tau_1 s}$$

ou ainda:

$$H(s) = \frac{1}{B} \left[ \frac{A(\tau_1 + \tau_2)}{C \tau_2} - 1 \right] + \frac{A}{BC \tau_2} \cdot \frac{1}{s} + \frac{\tau_1}{B} \left[ \frac{A}{C} - 1 \right] s \quad (5)$$

ou seja:

$$H(s) = K_0 + \frac{K_1}{s} + K_2 s$$

Se observa que  $H(s)$ , antes desconhecido, pode ser modelado como um controlador PID.

b) DETERMINAÇÃO DE  $G_2(s)$

Supondo uma variação súbita do comando  $u(t)$ .

Fig. 8.

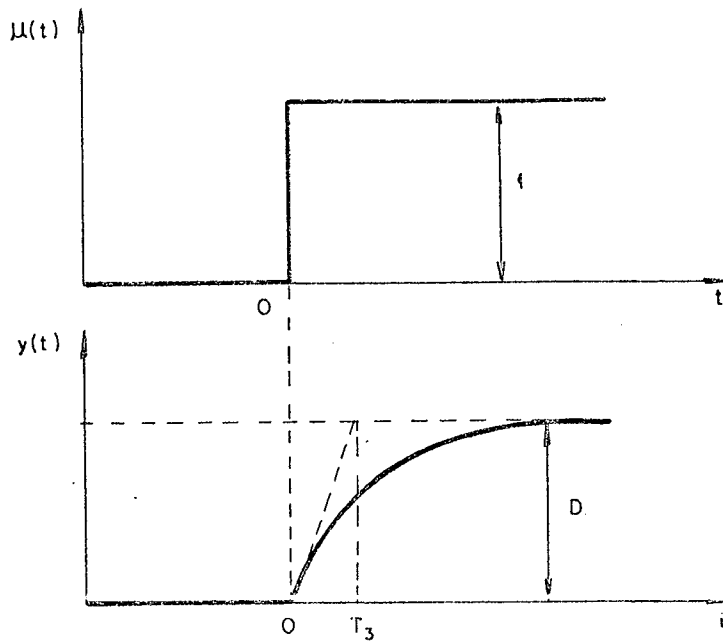


Fig. 8

então:

$$G_5(s) = \frac{Y(s)}{U(s)} = \frac{D}{1 + \tau_3 s} \quad (6)$$

A explicação para esta resposta é análoga à justificada quando se mostrou  $G_3(s)$ . Fazendo  $V(s) = 0$  em (2), tem-se:

$$Y(s) = \frac{G_2(s) \cdot G_3(s)}{1 + G_3(s) H(s)} U(s) \quad , \quad G_5(s) = \frac{C_2(s) \cdot C_3(s)}{1 + G_3(s) H(s)}$$



ou seja:

$$G_2(s) = \frac{G_5(s)}{G_3(s)} + G_5(s) \cdot H(s) \quad (7)$$

Substituindo pelas funções de transferências respectivas:

$$G_2(s) = \frac{\frac{D}{1 + \tau_3 s}}{B} + \left[ K_0 + \frac{K_1}{s} + K_2 s \right] \cdot \frac{D}{1 + \tau_3 s}$$

ou:

$$G_2(s) = \frac{1}{1 + \tau_3 s} \left[ \left( \frac{D}{B} + DK_0 \right) + DK_1 \cdot \frac{1}{s} + \left( \frac{D\tau_1}{B} + DK_2 \right) s \right] \quad (8)$$

ou seja,  $G_2(s)$  é um regulador PID com um atraso de 1ª ordem:

$$G_2(s) = \frac{1}{1 + \tau_3 s} \left[ K_0 + K_1 \cdot \frac{1}{s} + K_2 s \right]$$

ou expandindo:

$$G_2(s) = \frac{K_2}{\tau_3} + \frac{K_1}{s} + \frac{K_0}{1 + \tau_3 s} \quad (9)$$

onde  $K$  é uma constante que depende de  $K_0^1$ ,  $K_2^1$  e  $\tau_3$ . Portanto,  $G_2(s)$  é o mesmo que um controlador PI somado a um sistema linear de primeira ordem,

### 2.2.1.2. Determinação dos reguladores para o caso de tumores benignos:

#### a) Determinação de H(s):

Considerando a Fig. 5 tem-se:

$$G_6(s) = \frac{Y(s)}{V(s)} = \frac{w}{1 + \tau_4 s} \quad (10)$$

Substituindo as funções de transferências respectivas em (4) onde em lugar de  $G_4(s)$  tem-se  $G_6(s)$ , obtemos:

$$H(s) = \frac{\frac{A}{B} - \frac{1}{B}}{1 + \tau_1 s} - \frac{\frac{w}{1 + \tau_4 s}}{1 + \tau_1 s}$$

ou seja:

$$H(s) = \frac{1}{B} \left[ \frac{A}{w} - 1 \right] + \frac{\tau_1}{B} \left[ \frac{A}{w} + \frac{A}{w} \cdot \frac{\tau_4}{\tau_1} - 1 \right] s + \frac{A}{B \cdot w} \tau_1 \tau_4 s^2$$

$$\text{ou } H(s) = K_0^2 + K_1^2 s + K_2^2 s^2 \quad (11)$$

b) Determinação de  $G_2(s)$ :

Utiliza-se o mesmo procedimento como no caso anterior (caso fisiológico normal). Substituindo-se  $H(s)$  pelo seu novo valor na equação (7) obtém-se:

$$G_2(s) = \frac{1}{1 + \tau_3 s} \left[ \frac{D \cdot A}{B \cdot w} + \frac{D \cdot A}{B \cdot C} (\tau_1 + \tau_4) s + \frac{D \cdot A}{B \cdot w} \tau_1 \tau_4 s^2 \right] \quad (12)$$

Os reguladores apresentam-se bastante distintos quando comparados aos da multiplicação normal. Considera-se, por hipótese, que as razões destas mudanças sejam devidas às alterações estruturais provocadas pelos genes reguladores anormais.

2.2.1.3. Determinação dos reguladores para o caso de tumores malignos:

a) DETERMINAÇÃO DE  $H(s)$ :

Da Fig. 6:

$$G_7(s) = \frac{Y(s)}{V(s)} = \frac{F}{s} \quad (13)$$

isto porque:  $v(t) = 1$ , degrau unitário, ...  $V(s) = \frac{1}{s}$

$$y(t) = F \cdot t, \text{ rampa} \dots Y(s) = \frac{F}{s}$$

Logo, substituindo as funções de transferências em  $H(s)$  (eq. 4) onde em lugar de  $G_4(s)$  temos  $G_7(s)$  obtem-se:

$$H(s) = \frac{\frac{A}{B} \cdot \frac{F}{s}}{1 + \tau_1 s} = \frac{1}{1 + \tau_1 s}$$

ou seja:

$$H(s) = \frac{1}{B} + \frac{1}{B} \left( \frac{A}{F} - \tau_1 \right) s + \frac{A}{B \cdot F} \tau_1 s^2 \quad (14)$$

$$\text{ou } H(s) = K_0^3 + K_1^3 s + K_2^3 s^2$$

#### b) DETERMINAÇÃO DE $G_2(s)$

Como a resposta do sistema é instável conclui-se que:

$$G_8(s) = \frac{Y(s)}{U(s)} = \frac{I}{s} \quad (15)$$

Utilizando-se a equação (7) onde em lugar de  $G_5(s)$  tem-se  $G_8(s)$  e substituindo o novo valor de  $H(s)$  tem-se:

$$G_2(s) = \frac{I/s}{B} + \frac{I}{S} \cdot \left[ -\frac{1}{B} + \frac{1}{B} \left( \frac{A}{F} - \tau_1 \right) s + \frac{A}{B \cdot F} \tau_1 s^2 \right]$$

ou seja:

$$G_2(s) = \frac{I \cdot A}{B \cdot F} + \frac{I \cdot A}{B \cdot F} \tau_1 s \quad (16)$$

A verificação da instabilidade do sistema pode ser facilmente executada utilizando, por exemplo, o critério de estabilidade de Nyquist (DORF, 1974).

### 2.2.2. MODELO LINEARIZADO DA ERITROPOESE:

O objetivo é obter um modelo linearizado do sistema de controle da eritropoese (processo de produção das células vermelhas do sangue), baseado no atual conhecimento fisiológico, de maneira a permitir simulações de diversas formas de anemias e doenças como a eritroleucemia, isto é, a produção exagerada de eritrócitos, tentando, aí, relacionar malignidade, com "loop" de controle instável. O modelo anterior da regulação do crescimento e multiplicação para uma única célula pode ser considerado como um "micro-modelo". O modelo a seguir, o qual trata do

controle da produção de um determinado número de células, pode ser considerado como um "macromodelo". Algumas conclusões tiradas a partir da análise do modelo anterior serão utilizadas na construção deste novo modelo. Este será apresentado em diagramas de blocos de forma a facilitar sua simulação em computador digital utilizando a linguagem CSMP ("Continuous system Modeling program").

O desenvolvimento do modelo a ser apresentado é baseado nos modelos atualmente conhecidos (DÜCHTING, 1973, 1976, 1978, 1981; BARRET, 1974; HAHN, 1966) e nos conceitos de compartimento biológico (LIMA & HARGER, 1975).

A complexidade da eritropoese pode ser reduzida para um modelo simplificado mostrado na fig. 9.

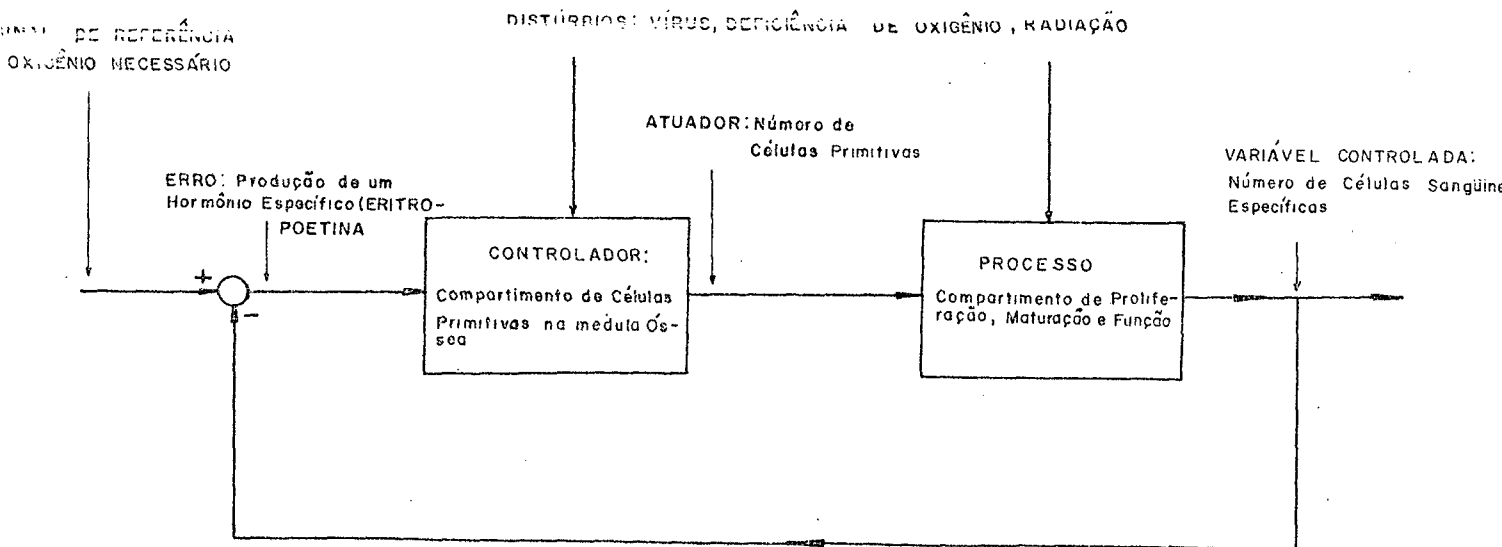
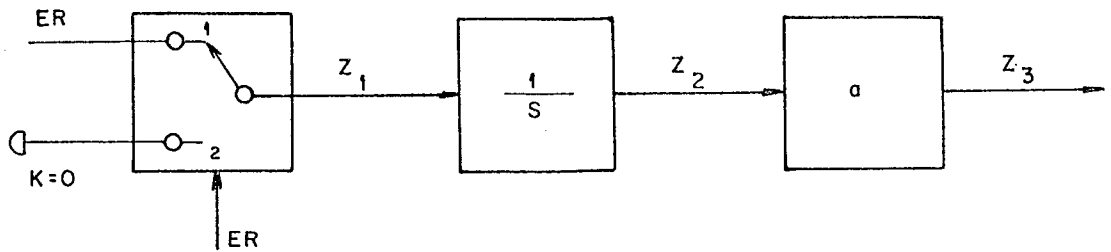


FIG.9 - Modelo simplificado da eritropoese.

O sinal de referência, geralmente um degrau, representa a necessidade de oxigênio simbolizada por um número equivalente de eritrócitos. Se um desvio ou erro surgir entre a entrada de referência e a variável controlada, o hormônio eritropoetina (produzido principalmente nos rins) induz o compartimento de células primitivas a alimentar o compartimento de proliferação com um certo número de células. Começa então o processo de diferenciação e multiplicação, onde as células passam pelos quatro estados já conhecidos: Pronormoblastos, Normoblastos basófilos, Normoblastos policromatófilos e Normoblastos ortocromáticos. A partir deste compartimento (o de proliferação) as células entram nos de maturação e função, onde não mais se dividem e recebem suas funções específicas como células vermelhas do sangue, sendo, então, entregues à circulação acrescentando o número de eritrócitos circulantes, aumentando assim, a capacidade de carregar oxigênio do sangue, dando oxigenação adequada ao tecido renal.

O compartimento de células primitivas é simbolizado por um integrador e por um mecanismo de chaveamento. O mecanismo representa a atividade genética que inicia o processo de divisão das células primitivas em repouso, quando este compartimento é estimulado pelo hormônio eritropoetina (DÜCHTING, 1976). A fig.10 ilustra este compartimento biológico e as variáveis relacionadas. A variável ER representa a quantidade de eritropoetina, que ao mesmo tempo



ER: Quantidade de Eritropoetina  
 $Z_3$ : Células primitivas enviadas

FIG.10 - Compartimento de células primitivas.

é a variável de entrada do compartimento de células primitivas e executa o controle da posição da chave:

$ER > 0 \Rightarrow$  chave na posição 1

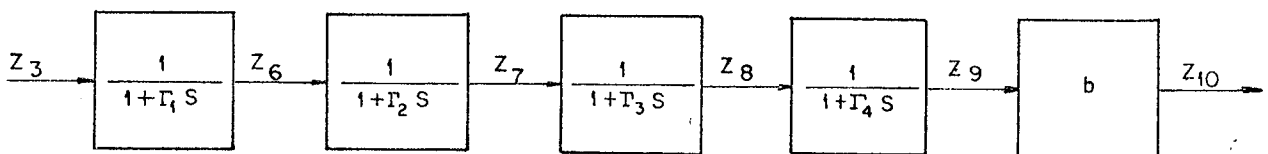
$ER \leq 0 \Rightarrow$  chave na posição 2

$Z_3$  representa o número de células primitivas enviadas, que é controlado pela inclinação da rampa gerada pelo integrador. Apesar da inclinação ser representada por uma constante, esta é variável e depende da intensidade do estímulo hormonal.

É no compartimento de proliferação que a partir dos pronormoblastos as células se dividem e diferenciam



se até atingir o estágio final de normoblastos ortocromáticos, onde não mais se dividem. A diferenciação das células primitivas enviadas em pronormoblastos, assim como cada uma das outras três diferenciações, serão representadas através de um comportamento transiente de primeira ordem, resultando em uma representação de quarta ordem para este compartimento. A razão de se representar cada diferenciação por um comportamento de primeira ordem é idêntica àquela para a secreção e transporte da substância reguladora específica do modelo anterior. A Fig. 11 ilustra este compartimento.



$Z_3$ : células primitivas enviadas

$Z_6$ : Pronormoblastos

$Z_7$ : Normoblasto basófilo

$Z_8$ : Normoblasto policromático

$Z_9$ : Normoblasto ortocromático

FIG. 11 - Compartimento de proliferação.

O ganho total do compartimento (b) apesar de também ser considerado constante, varia com a intensidade do estímulo hormonal.

Nos compartimentos de amadurecimento e função, a célula perde sua capacidade de partição e atinge sua forma final como portadores das funções específicas e então são entregues à circulação como eritrócitos. Como não existe divisão celular o ganho destes compartimentos é unitário. Estes são modelados através de elementos de atraso ("delay") e mostrados na fig. 12.

O tempo de vida médio dos eritrócitos humanos é de 120 dias (GUYTON, 1977), após este período eles começam a deixar a circulação. Esta perda de células foi simulada através do bloco mostrado na fig. 13. A resposta deste bloco a um degrau unitário à sua entrada é uma função exponencial decrescente do tipo  $\exp.(-t/\Gamma_5)$ .

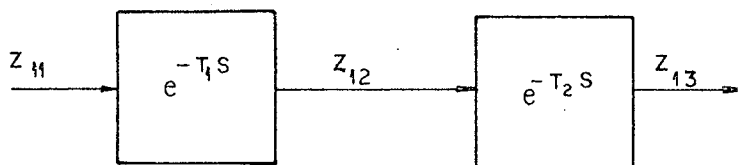


FIG.12 - Compartimentos de amadurecimento e função.

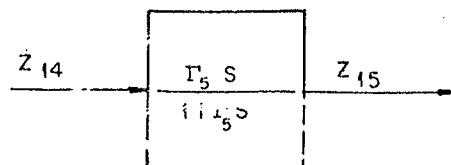
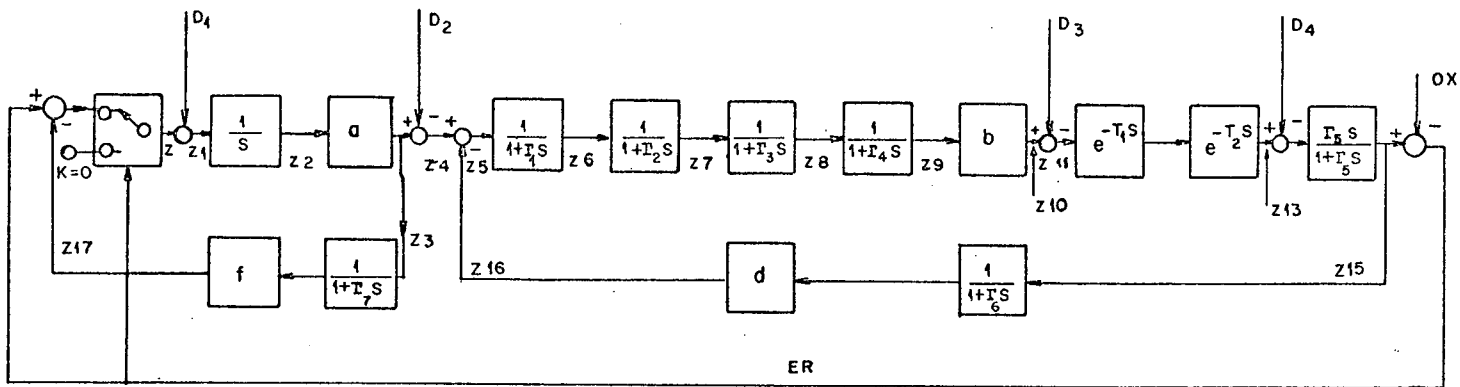


FIG.13 - Compartimento de remoção celular.

Sabe-se que a diferenciação ocorrida na medula óssea é unidirecional, isto é, as células diferenciadas (os eritrócitos) deixam a medula e estas não se auto-mantêm: elas são produzidas pela população de células primitivas a qual possui a capacidade dual de produzir o número necessário de células para diferenciação e de manter seu próprio número (LAJTHA, 1965). Este controle do número das células primitivas juntamente com o controle do número de eritrócitos circulantes pelo inibidor mitótico (já discutido no item 2.1.5), são ambos simulados por uma realimentação negativa, através de um comportamento transiente de primeira ordem, pelas mesmas razões já expostas. O sistema de controle completo da produção das células vermelhas do sangue é mostrado na fig. 14.



$Z_3$ : células primitivas enviadas

$Z_6$ : pronormoblastos

$Z_7$ : normoblasto basófilos

$Z_8$ : normoblasto policromatófilos

$Z_9$ : normoblasto ortocromáticos

$Z_{13}$ : reticulócitos

$Z_{15}$ : variável controlada  $\hat{=}$  eritrócitos circulantes

OX: referência  $\hat{=}$  necessidade de oxigênio tecidual

ER: erro  $\hat{=}$  quantidade de eritropoetina

$D_1, D_2, D_3, D_4$ : distúrbios.

FIG.14 - Diagrama em blocos do sistema de controle completo da produção das células vermelhas do sangue.

### 2.2.3. Modelo não-linear do sistema de controle da eritropoese:

O modelo apresentado aqui é uma representação não-linear detalhada do sistema de controle da eritropoese. O modelo anterior descreve somente parte do sistema de uma maneira linearizada e não engloba todo o sistema. Neste é considerado, a interação de diferentes variáveis (volume do plasma, viscosidade do sangue, concentração de oxihemoglobina, etc) para produzir uma resposta específica. O modelo será simulado em computador digital, de modo a apresentar a resposta dinâmica do sistema eritropoético a uma queda na  $PO_2$  do ar inspirado. Os resultados obtidos serão comparados com curva obtidas experimentalmente, tiradas da literatura médica (MYLREA & ABBRECHT, 1970), tendo o rato como o animal analisado.

A concentração de eritropoetina no plasma é uma função de sua taxa de liberação pelo rins, de sua taxa de desaparecimento do plasma e de seu volume de distribuição (MYLREA & ABBRECHT, 1970). Com a suposição que: (1) a taxa de liberação da eritropoetina e a distribuição espacial são constantes durante um curto intervalo de tempo e (2) a taxa de desaparecimento da eritropoetina do plasma é proporcional à sua concentração no plasma, a seguinte equação pode ser escrita para a concentração da eritropoetina no plasma. (MYLREA & ABBRECHT, 1971):

$$E(t) = \frac{\dot{R}(t) \cdot t_1}{V_e} (1 - \exp(-t/t_1)) + E_0 \cdot \exp(-t/t_1) \quad (17)$$

onde  $E(t)$  = concentração de eritropoetina no plasma no tempo  $t$ ,  $E_0$  = concentração inicial de eritropoetina no plasma,  $\dot{R}(t)$  = taxa de liberação da eritropoetina,  $V_e$  = volume de distribuição da eritropoetina,  $t_1$  = constante de tempo para o desaparecimento da eritropoetina,  $t$  = tempo.

No modelo, a variável primária monitorizada pelos rins é a concentração de oxihemoglobina do sangue (o produto da concentração de hemoglobina pela percentagem de saturação de oxigênio). A escolha dessa variável é baseada no fato de que ela é uma medida do conteúdo de oxigênio por unidade de volume de sangue (MYLREA & ABBRECHT, 1970) e portanto reflete as mudanças na entrada de oxigênio para os rins que ocorre ou como o resultado de uma anemia ou devido a uma exposição hipóxica.

A taxa de liberação da eritropoetina é uma função da concentração de oxihemoglobina (MYLREA & ABBRECHT, 1971). A relação quantitativa entre essas duas variáveis foi obtida das concentrações de eritropoetina no plasma medidas em ratos após 8 horas de exposição hipóxica (REISSMAN et al., 1965) e da concentração de oxihemoglobina determinadas de dados obtidos do rato relacionando percentagem de saturação à altitude (ALLAN et al., 1967). A relação resultante entre a liberação de eritropoetina e a concen -

tração de oxihemoglobina é dada pela seguinte equação:

$$\dot{R}(t) = 74,2 \cdot \exp(-0,5 \cdot \text{HbO}(t-t_2)) \quad (18)$$

onde  $\dot{R}(t)$  = taxa de liberação da eritropoetina no tempo  $t$ ,  $\text{HbO}(t-t_2)$  = concentração efetiva de oxihemoglobina no tempo  $(t-t_2)$ .

Evidência experimental indica a existência de um fator eritropoético renal (FER) o qual não é eritropoeticamente ativo, mas quando incubado com soro produz eritropoetina (CONTRERA & GORDON, 1968). Trabalhos sobre a cinética do sistema FER-eritropoetina (ZANJANI et al., 1967) concluíram a existência de um atraso, de poucas horas, entre o estímulo hipóxico renal e o aparecimento da eritropoetina no plasma. No modelo um atraso,  $t_2$ , tomado igual a 4 horas foi incorporado entre mudanças na concentração de oxihemoglobina e a liberação de eritropoetina.

A eritropoetina causa a diferenciação das células primitivas em células eritropoéticas (GUYTON, 1977) e podem também regular a taxa de síntese de hemoglobina (STOHLMAN et al., 1968) que no modelo é considerada como uma função da concentração de eritropoetina no plasma. A relação entre estas duas grandezas é dada pela seguinte equação (MYLREA & ABBRECHT, 1971).

$$\dot{P}(t) = P_m(1 - \exp(-K_p \cdot E(t))) \cdot P_0 \quad (19)$$

onde  $\dot{P}(t)$  = taxa de produção de hemoglobina no tempo  $t$ ,  $\dot{P}_m$  = taxa máxima de produção de hemoglobina,  $E(t)$  = concentração de eritropoetina no plasma no tempo  $t$ ,  $K_c$  = constante,  $\dot{P}_0$  = uma taxa basal de produção de hemoglobina.

No modelo, a taxa da produção de hemoglobina determina a quantidade de hemoglobina que estará disponível para ser liberada à circulação em algum tempo futuro. Portanto, existe um atraso de tempo entre a diferenciação das células primitivas (como visto no modelo anterior) e a liberação dos eritrócitos resultantes que é função da concentração de eritropoetina no plasma (STOHLMAN et al., 1968). O tempo de maturação para os eritrócitos é aproximadamente de 4 dias (HARRIS, 1963). Com um aumento do estímulo para a eritropoese a taxa de síntese de hemoglobina pode ser aumentada e o tempo de maturação encurtado (STOHLMAN, et al., 1968). No modelo, o tempo de maturação é variado de 2,5 à 4 dias dependendo da concentração de eritropoetina.

$$\begin{aligned} \text{TEMPO DE MATURAÇÃO} &= 4 \cdot \exp(-2,9 \cdot E(t)); 0 < E(t) < 0,16 \\ &= 2,5; E(t) \geq 0,16 \text{ unid/ml.} \end{aligned} \quad (20)$$

Com um estímulo eritropoético forte, existe evidência que alguns dos eritrócitos saltam algumas divisões terminais (GUYTON, 1977). Estas células tem um tempo de maturação menor do que dois dias e também menor tempo de vida (STOHLMAN, et al., 1968) que é tomado igual a 6 dias no modelo. A percentagem de hemoglobina liberada nessas células é repre



sentada no modelo pela equação.

$$PHL = 100 (1 - E_e/E(t)) \quad (21)$$

onde  $E_e$  = concentração de eritropoetina abaixo da qual nenhuma dessas células é produzida.

O volume total do eritrócitos circulantes (VEC), do plasma (VP), do sangue (VB) e o hematócrito (Hct) foram calculados a partir das seguintes equações (MYLREA & ABBRECHT, 1971).

$$VEC = \frac{TH \cdot VCM}{HCM} \quad (22)$$

$$VP = V_{pf} + (V_{po} - V_{pf}) \cdot \exp(-t/t_3) \quad (23)$$

$$VB = VP + VEC \quad (24)$$

$$Hct = 1 / (1 + VP/VEC) \quad (25)$$

onde TH = hemoglobina circulante total (diferença entre a produção e perda de hemoglobina em gramas).

VCM = volume corpuscular médio (volume médio de cada eritrócito expressado em  $\mu^3$  (micrometro)),

HCM = hemoglobina corpuscular média (peso médio da hemoglobina de cada eritrócito expressado em pg (picogramas)),

$V_{pf}$  = volume do plasma hipoxico em estado estacionário em ml.

$V_{po}$  = volume do plasma normal em ml.

$t_3$  = constante de tempo da queda no valor do volume do plasma do seu valor de controle ( $V_{po}$ ) ao seu valor de estado estacionário ( $V_{pf}$ ).

O elevado hematócrito que ocorre após prolongada hipóxia aumenta a viscosidade do sangue (CROWELL & SMITH, 1967). Isso tende a reduzir o fluxo sanguíneo para os tecidos e portanto decrescer a oxigenação tecidual. Esse efeito da viscosidade foi incorporado no modelo via fator de correção  $V_v$ , obtido da relação (MYLREA & ABBRECHT, 1971),

$$V_v = 1,1 - 0,012 \exp(4,4 \text{ HCT}) \quad (26)$$

A concentração de oxihemoglobina foi calculada no modelo multiplicando a concentração de hemoglobina pela percentagem de hemoglobina saturada com oxigênio (percentagem de saturação da hemoglobina). A concentração de hemoglobina foi determinada dividindo a hemoglobina circulante total pelo volume do sangue. A concentração de oxihemoglobina real ( $\overline{HbO}$ ) foi multiplicada por  $V_v$  para obter a concentração efetiva de oxihemoglobina ( $HbO$ ).

A percentagem de saturação da hemoglobina foi obtida a partir da equação (MYLREA & ABBRECHT, 1971),

$$PS=100-264 \cdot \exp(-0,028 \times PO_2), \quad 60\text{mmHg} < PO_2 \text{ art.} < 80\text{mmHg} \quad (27)$$

$$PS=1,33 PO_2 - 30, \quad 30\text{mmHg} < PO_2 \text{ art.} < 60\text{mmHg}$$

Nenhum dado da pressão do oxigênio arterial foi conseguido para ratos. No homem, a resposta respiratória à hipóxia é caracterizada por uma queda aguda na  $PO_2$  arterial seguida por um aumento gradual a um novo valor aclimatizado (RAHN & FENN, 1955). No modelo é considerado que a pressão de oxigênio arterial em uma dada altitude muda de uma maneira exponencial com uma constante de tempo de 2 dias a partir do valor agudo para o aclimatizado.

A fig.15 mostra o modelo em diagramas de blocos.

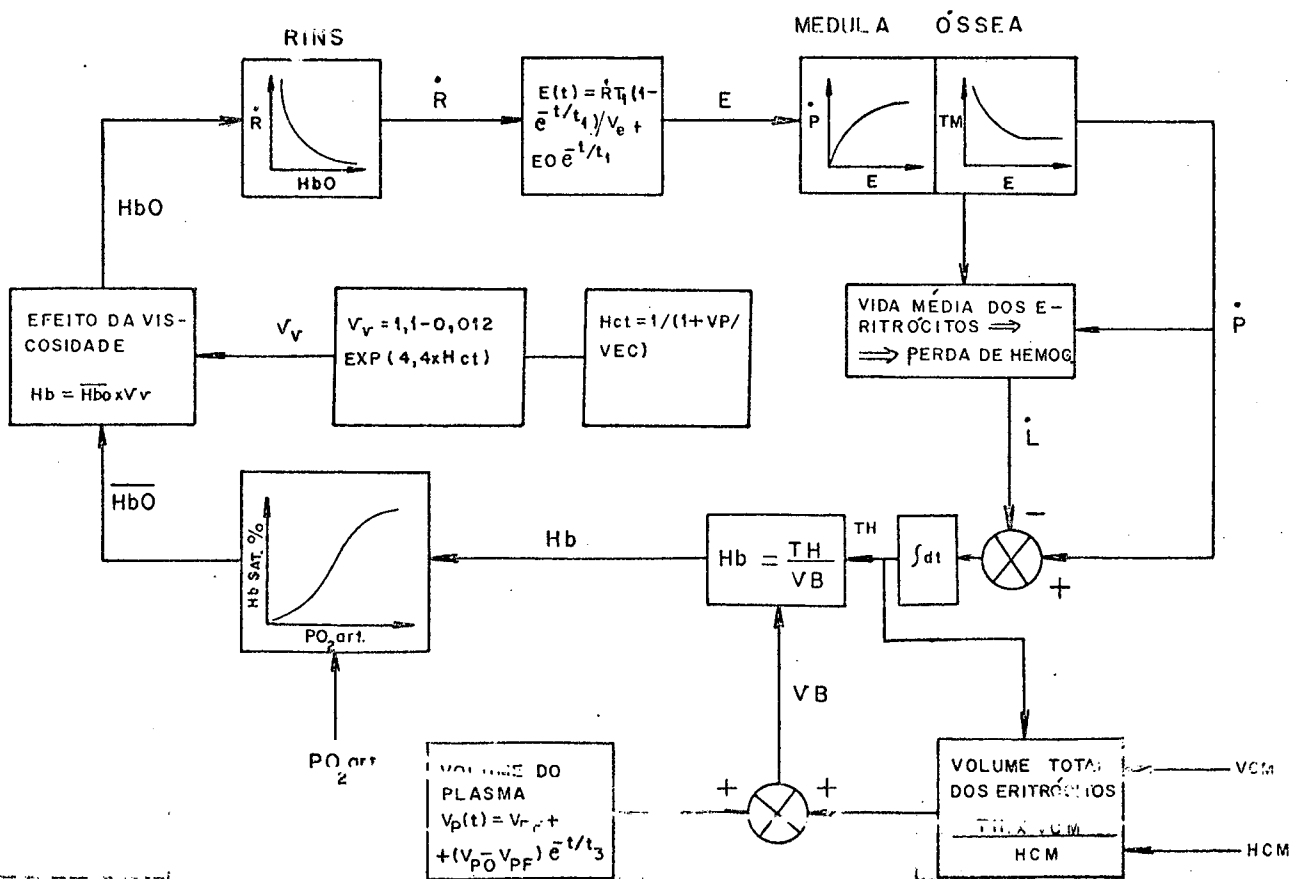


FIG.15 - Diagrama em blocos simplificado do modelo não-linear da eritropoese. Ver equações 17,18,19,20,22,23,24, 25,26 e 27.

Deve-se notar que o modelo prediz a cinética da produção de hemoglobina em vez da produção de eritrócitos em resposta a mudanças na concentração de eritropoetina. Contudo, desde que os dados experimentais, que foram obtidos para testar o modelo mostram pouca mudança nos níveis da hemoglobina corpuscular média durante o período de exposição (MYLREA & ABBRECHT, 1970), a cinética da produção de hemoglobina e de eritrócitos são similares.

### 2.3 - Avaliação dos Parâmetros

Os parâmetros do modelo linear da eritropoese foram obtidos da literatura (GUYTON, 1977; BLACKETT, 1968; COVELLI et all., 1972; DOEMER, 1973; ORR et all., 1968; STEEL, 1972; TARBUTT, 1968) e estimados para o caso normal em:

a (inclinação da rampa do compartimento de células primitivas) = 0,02 1/dia.

$\Gamma_1 = \Gamma_2 = \Gamma_3 = \Gamma_4$  (Constante de tempo do compartimento de proliferação) = 0,25 dias.

b (fator de ampliação do compartimento de proliferação) = 12

$T_1$  (tempo de trânsito no compartimento de maturação) = 1 dia

$T_2$  (tempo de trânsito no compartimento de função) = 2 dias

$\Gamma_5$  (Constante de tempo da remoção celular) = 30 dias

OX(Referência) = 100%.

A constante de tempo para o laço de realimentação que simula a ação do inibidor mitótico e o ganho deste foram estipulados em:  $\Gamma_6 = 0,1$  dias e  $d = 0,02$ . Para o laço que simula o controle do número de células primitivas os valores da constante de tempo e do ganho foram estimados em:  $\Gamma_7 = 0,1$  dias e  $f = 0,1$ .

Na Tabela 1 estão listados os valores de parâmetros estimados para o modelo não-linear da eritropoese e...

obtidos da literatura (MYLREA & ABBRECHT, 1970; REISSMAN et all., 1965; CONTRERA & AKEROYD, 1952; NATHAN et all, 1964; STOHLMAN et all., 1968; SIRI et all., 1966; CROWELL & SMITH, 1967; RAHN & FENN, 1955; ALTLAND et all., 1967).

TABELA 1

VALORES DE PARÂMETROS USADOS NO MODELO

Tempo de vida normal do eritrócito (dias)	20
Limiar da Concentração de eritropoetiva, $E_e$ ("A" unid./ml).....	0,100
Concentração normal de eritropoetiva no plasma ("A" unid/ml).....	0,0225
Concentração normal de hemoglobina (g/100ml)...	16,8
Volume normal de sangue (ml).....	1,26
$K_c$ (ml plasma/unid.de eritropoetiva).....	5,88
$t_1$ (dias).....	0,130
$t_2$ (dias).....	0,167
$t_3$ (dias).....	1,5
Taxa máxima de produção de hemoglobina; $\dot{P}_m$ (g/dia)	0,05
Taxa basal de produção de hemoglobina; $\dot{P}_o$ ( g/dia)	0,005

A hemoglobina corpuscular média, que muda muito pouco em ratos sujeitos à hipoxia (MYLREA & ABBRECHT, 1970) é considerada constante no modelo em um valor de 15,9 pg/célula. Contudo, o volume corpuscular médio (VCM) aumen-

ta durante os primeiros dias de exposição hipóxica (MYLREA & ABBRECHT, 1970). O modelo assume uma mudança linear no VCM de um valor de controle a um novo valor de estado estacionário durante os primeiros 5 (cinco) dias de hipoxia. Os valores de controle e estado estacionário para o VCM determinados experimentalmente em ratos hipóxicos (MYLREA E ABBRECHT, 1970) foram 47,7, 48,8, 50,4 e 52,1  $\mu\text{m}^3/\text{célula}$  em 740, 510, 440 e 360 mmHg de pressão do ar, respectivamente.

Mudanças no volume do plasma foram representadas por uma equação exponencial ( Fig.15). Um valor de estado estacionário para o volume do plasma foi determinado para 3 (três) pressões atmosféricas. (MYLREA & ABBRECHT, 1970). O volume de controle foi de 0,626 ml. Volumes de estado estacionário para 510, 440 e 360 mmHg foram 0,600, 0,530 e 0,50 ml, respectivamente. Para quedas de pressão atmosféricas, o volume do plasma cai do valor de controle ao valor de estado estacionário de uma maneira exponencial com uma constante de tempo de 1,5 dias.

O volume de distribuição da eritropoetina foi considerado igual a duas vezes o volume do plasma.

No modelo é considerado que a  $p\text{O}_2$  arterial tem uma queda abrupta em uma dada altitude e muda de um valor chamado agudo a um valor aclimatizado de uma maneira exponencial, com uma constante de tempo de 2 (dois) dias. Os valores agudos e aclimatizados para o  $p\text{O}_2$  arterial, que foram

usados no modelo são dados na Tabela 2 (MYLREA & ABBRECHT, 1970).

TABELA 2VALORES AGUDOS E ACLIMATIZADOS DA  $PO_2$  ARTERIAL USADOS NO MODELO

PRESSÃO TOTAL (mmHg)	$PO_2$ ARTERIAL (mmHg)	
	AGUDA	ACLIMATIZADA
510	65	68
440	63	67
360	56	61

A  $PO_2$  arterial normal para ratos foi tomada igual a 78 mmHg.

#### 2.4 - Métodos de Simulação

Para a simulação dos modelos linear e não-linear da eritropoese foi utilizado o programa CSMP\* (SPECKHART & GREEN, 1976), em um computador digital IBM 4341, via terminal de vídeo através dos recursos do CMS\*.

O programa CSMP permite a simulação digital de sistemas contínuos. Estruturalmente é composto por 3 segmentos: "INITIAL", "DYNAMIC" e "TERMINAL". O primeiro é destinado aos cálculos que são processados apenas uma vez no programa, o segundo é destinado aos cálculos iterativos e o terceiro para aqueles que utilizem os resultados da simulação. Este programa dispõe de 34 blocos funcionais para uso, per-

\* Conversational Monitor System.



mitindo que se trabalhe de modo semelhante ao computador analógico.

Foram feitas diversas simulações do modelo linear desenvolvido para a eritropoese onde distúrbios podem agir de vários modos:

1 - as células podem ser removidas ou destruídas no compartimento por influências externas, isto é, por hemorragia ou irradiação, por exemplo;

2 - variações paramétricas podem ocasionar mudanças importantes na malha de controle e assim causar várias doenças como diferentes formas de anemias;

3 - mudanças estruturais no modelo, como um defeito no dispositivo de chaveamento do compartimento de células primitivas, podem tornar o laço de controle instável. O mesmo efeito é obtido quando parâmetros variam em certos casos.

O método de integração foi o de Runge-Kutta de 4.<sup>a</sup> ordem com passo de integração de 0,0625. O tempo de simulação em todas as curvas foi de 160 dias, com a impressão dos resultados a intervalos de 1 dia.

No modelo não-linear, simulado para responder à uma queda na pressão do ar inspirado, as variáveis foram calculadas começando com a percentagem de saturação da hemoglobina e continuando até completar o laço (Fig.15). Uma simulação dinâmica foi obtida recalculando os valores de cada variável a intervalos de aproximadamente 1 hora. Para in-

tervalos menores do que 1 hora nenhuma mudança apreciável nos resultados foi sentida. Portanto, acredita-se que a aproximação digital produz resultados que concordam favoravelmente com um modelo contínuo. O passo de integração utilizado foi de 0,04.

## 2.5 - Simulação do Modelo Linearizado da Eritropoese

### 2.5.1 - Caso Normal

#### a) Com todos os distúrbios iguais a zero

Utilizando os parâmetros com os valores dados no item 2.3, a simulação no circuito de controle da fig.14 - sem a ação de distúrbios - resulta em uma curva de saída constante para a resposta eritrocitária (Ver fig.17, curva pontilhada).

#### b) Ação do distúrbio D4

Considera-se que o distúrbio  $D4=25\%$  começa a agir quando  $T=50$  dias e que esta ação prolonga-se por mais 50 dias, ou seja, quando  $T=100$  dias, a influência deste distúrbio é removida. Este pode ser visualizado como uma perda crônica de sangue com uma intensidade constante durante 50 dias. Respostas similares são obtidas quando os outros distúrbios são considerados.

O resultado desta simulação (para D4) é apresentado na fig. 17 (curva cheia).

### 2.5.2 - Anemias Causadas por Variações Paramétricas.

Imagina-se que os distúrbios além de agirem de uma maneira direta, agem também indiretamente alterando o

comportamento dinâmico do circuito de controle por meio de variações paramétricas.

A fig.16 mostra o circuito de controle da fig.14 modificado por um mecanismo de chaveamento não real, que possibilita variações paramétricas no compartimento de células primitivas ( $aa \rightarrow ab$ ), no compartimento de proliferação ( $ba \rightarrow bb$ ), na remoção celular ( $\Gamma_{5A} \rightarrow \Gamma_{5B}$ ) e nos laços de realimentação ( $da \rightarrow db$ ,  $fa \rightarrow fb$ ) dependendo do distúrbio que influencia o sistema.

Nos exemplos a seguir considera-se a ação dos distúrbios sob a forma de variações paramétricas entre  $T=50$  e  $T=100$  dias, após os quais esta desaparece.

#### a) Anemias

O número de eritrócitos presentes na circulação em um dado momento é o resultado de um equilíbrio dinâmico entre a produção e a entrega de células vermelhas à circulação, por um lado, e sua destruição ou sua saída da circulação, por outro. Pode-se interpretar a anemia como devida a uma alteração da produção ou da destruição, ou de ambos os fatores. Dessa forma pode-se atribuir o aparecimento de anemia a: 1 - perda de sangue, 2 - destruição excessiva de células vermelhas maduras, e 3 - produção de células vermelhas deterioradas (Wintrobe, 1979).

Nesta simulação consideram-se a redução no nú-

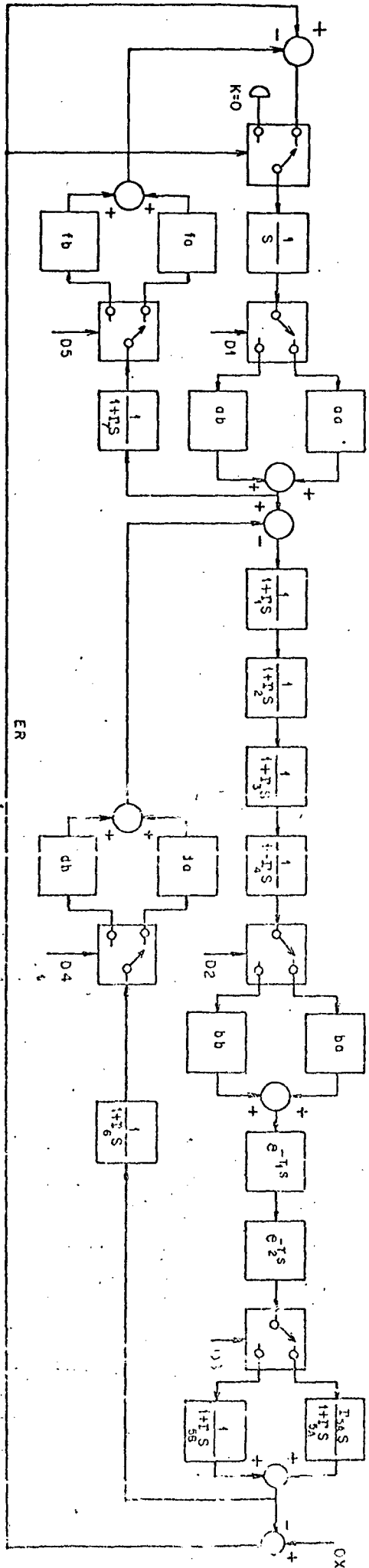


FIG. 16 - Circuito de controle da fig.14 modificado por mecanismos de chaveamentos que possibilitam variações paramétricas.

méro de células vermelhas por um acréscimo no ganho do laço de realimentação que simula o controle do número de células primitivas de  $f_a=0,1$  para  $f_b=2$  em  $T=50$ . A fig.18 mostra a resposta do modelo para duas situações: 1) Curva pontilhada- distúrbio não é retirado; 2) Curva cheia- O distúrbio é retirado em  $T=100$ .

#### b) Eritropoese inefetiva com uma anemia perniciosa

O termo "eritropoese inefetiva" se usa para referir-se a produção de eritrócitos que é tão defeituosa que estes são destruídos antes de deixarem a medula (WINTROBE,1979). Ainda que em pessoas normais certo grau de eritropoese é inefetiva, esta fica muito exagerada quando associada a uma anemia perniciosa (destruição acelerada das células vermelhas). No modelo, considera-se que nem todas as células que deixam o compartimento de proliferação entram no de maturação, através de uma redução repentina de 10% no ganho do compartimento de proliferação de  $b_a=12$  para  $b_b=11$  (fig.19, curva cheia). Assumindo uma redução de 50% das células maduras, a anemia não pode ser compensada com o paciente e tendo de receber sangue através de transfusões (fig.19, curva pontilhada).

#### c) Anemia Hemolítica

Na situação de uma anemia hemolítica que pode ser inerente ou induzida por toxinas (OFR et all,1968), a vida média das células vermelhas é consideravelmente encurtada.

Obteve-se uma simulação adequada através da redução do valor da constante de tempo do bloco que simula a remoção celular (fig.16) de aproximadamente 33% ou seja de  $\Gamma_5 A = 30$  para  $\Gamma_5 B = 20$ .

A curva pontilhada na fig.20 mostra que se a variação paramétrica não é muito grande, o mecanismo de controle é capaz de responder satisfatoriamente após um certo período. Uma redução no tempo de vida média dos eritrócitos por um fator de 20 (vinte), tem como resultado um notável decréscimo no número de células vermelhas devido a hemólise aumentada (o distúrbio não foi retirado) como mostra a curva em linha cheia.

#### d) Policetamia

A policetamia caracteriza-se por uma produção exagerada de células vermelhas do sangue (WINTROBE, 1979). Obteve-se oscilações crescentes na resposta eritrocitária do modelo quando aumentou-se repentinamente o ganho do laço que simula a ação do inibidor mitótico, de  $d_a = 0.02$  para  $d_b = 0.09$  (Ver fig.14). Retirando-se a ação do distúrbio a resposta se estabiliza (curva pontilhada). As curvas obtidas são mostradas na fig.21.

#### 2.5.3 - Anemia Provocada por Mudanças Estruturais

Não é possível, experimentalmente, distinguir se uma anemia é provocada por variação paramétrica ou alterações estruturais (DÜCHTING, 1976).

Tenta-se, teoricamente, determinar a resposta eritrocitária quando surgem distúrbios estruturais, como por exemplo, um defeito no mecanismo de chaveamento do comportamento de células primitivas (Ver fig.12). Através desta manipulação uma atividade genética perturbada é simulada.

Considera-se primeiro variações paramétricas no modelo da fig.14, qual seja, em  $T = 50$  temos as seguintes variações:  $aa=0,02 \rightarrow ab=0,028$  e  $ba=12 \rightarrow bb=16$ . Isto é, um enorme aumento na produção de células primitivas junto com um aumento no ganho do compartimento de proliferação. Se o mecanismo de chaveamento estiver intacto, essa perturbação é eliminada segundo a curva da fig.22. Se ao mesmo tempo, existir um defeito estrutural no mecanismo de chaveamento do compartimento de células primitivas, isto é, a chave ficar permanentemente fechada, verifica-se oscilações crescente na resposta eritrocitária como mostrado em linha cheia na fig.22. Desta forma o sistema pode tornar-se instável tanto devido a variações paramétricas como devido à mudanças estruturais.

## 2.6 - Simulações do Modelo Não-Linear da Eritropoese

Foram realizadas três simulações, uma para cada pressão atmosféricas mostradas na Tabela 2. Os cálculos foram realizados começando com a percentagem de saturação do ferro da hemoglobina e continuando até completar o ciclo. (Ver fig. 22)



13). Obteve-se curvas para o volume do plasma, volume total das células vermelhas, volume total do sangue, hematócrito, hemoglobina. As curvas obtidas com o modelo estão em linha cheia, junto com as curvas obtidas experimentalmente (em linhas pontilhadas), por Mylrea & Abbrecht, 1970 e mostradas nas figs.23, 24, 25, 26,27 e 28. A fig.29 mostra a saída do modelo para a concentração de eritropoetina no plasma.

### 3 - RÉSULTADOS

Dos modelos matemáticos deduzidos para o crescimento normal de células (LIMA & ROCHA,1982) e tumores benignos e malignos (LIMA & ROCHA,1983) pode-se comparar os reguladores H(S) conforme a tabela 3 onde

$$H(S) = K_0 + \frac{K_1}{S} + K_2S + K_3S^2$$

Os resultados das diversas simulações ( vide itens 2.5 e 2.6) são apresentados na forma de curvas (figs. 17 à 29). Estas curvas foram obtidas interpolando-se graficamente os pontos obtidos através do programa CSMP, na impressora do computador IBM digital 4341. No caso do modelo linearizado da eritropoese humana o tempo de simulação foi de 160 dias e a ordenada das curvas corresponde a percentagem de eritrócitos circulantes, isto é, (número de eritrócitos circulantes/número normal de eritrócitos circulantes) x 100%. No modelo não-linear da eritropoese, onde o rato é o animal pesquisado, o tempo de simulação foi de 35 dias. A ordenada das curvas corresponde aos valores dos parâmetros de interesse com sua unidade correspondente (mililitro(ml), grama(g), %).

TABELA 3

	CRESCIMENTO NORMAL	TUMOR BENIGNO	CÂNCER
fator proporcional $K_0$	$\frac{1}{B} \left[ \frac{A(\tau_1 + \tau_2)}{C \tau_2} - 1 \right]$	$\frac{1}{B} \left[ \frac{A}{C} - 1 \right]$	$-\frac{1}{B}$
fator integrativo $K_1/s$	$\frac{A}{BC \tau_2}$	—	—
fator derivativo $K_2s$	$\frac{A \tau_1}{BC} - \frac{1}{B} \tau_1$	$\frac{A}{BC} (\tau_1 + \tau_2) - \frac{1}{B} \tau_1$	$\frac{A}{BC} - \frac{1}{B} \tau_1$
fator de dupla derivado $K_3s^2$	—	$\frac{A}{BC} \tau_1 \tau_2$	$\frac{A}{BC} \tau_1$

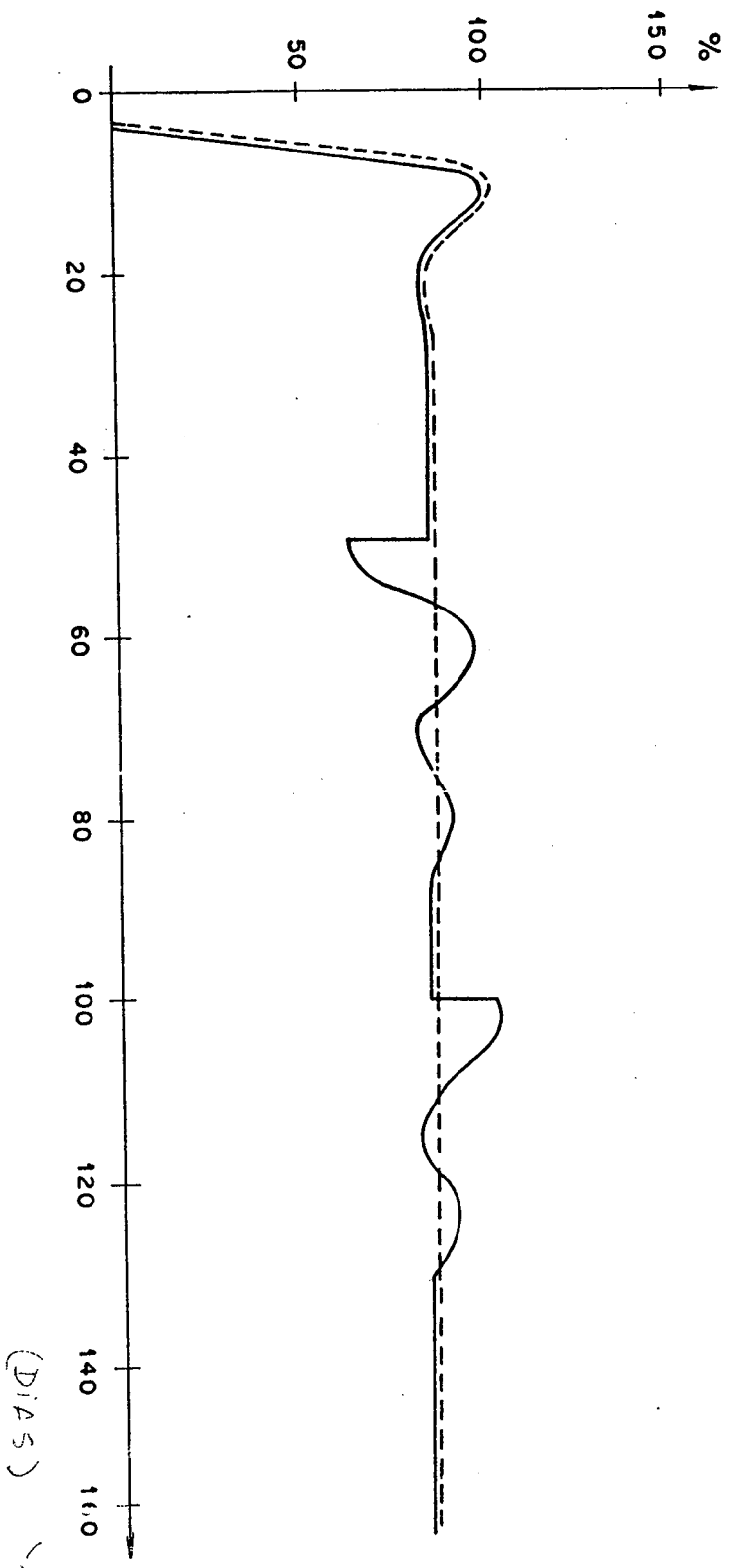


FIG.17 ----- Caso Normal: todos os distúrbios D=0  
\_\_\_\_\_ Distúrbio  $D_4=25\%$  (Fig.14) começa a agir quando  $T=50$  dias e prolonga-se por mais 50 dias.

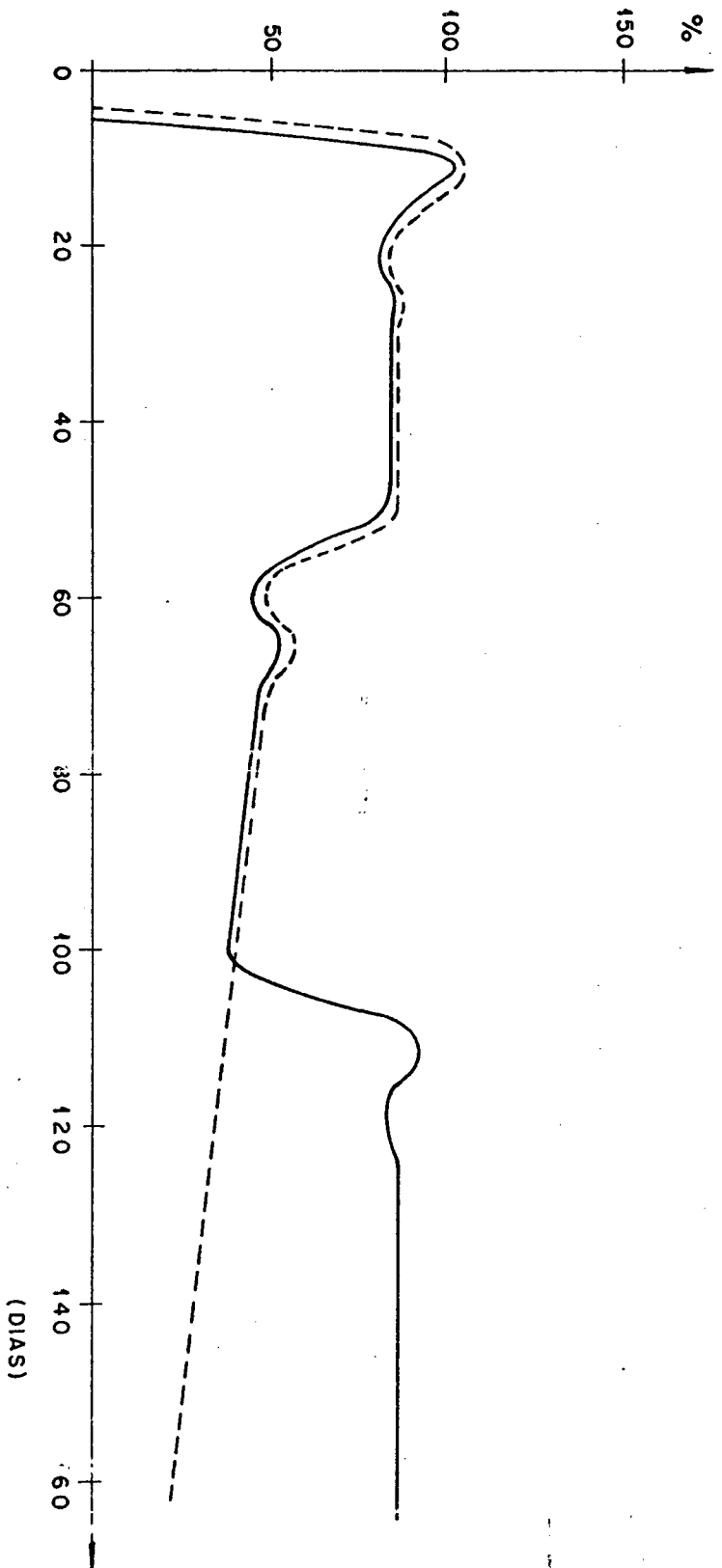


FIG. 18 Redução no número de células vermelhas. Em  $T=50$  dias o distúrbio  $D_5$  (Fig. 16) age no laço que simulam o controle do número de células primitivas fazendo  $f_a=0,1$  variar para  $f_b=2$ .

----- o distúrbio não é retirado.  
 \_\_\_\_\_ o distúrbio é retirado em  $T=100$  dias.

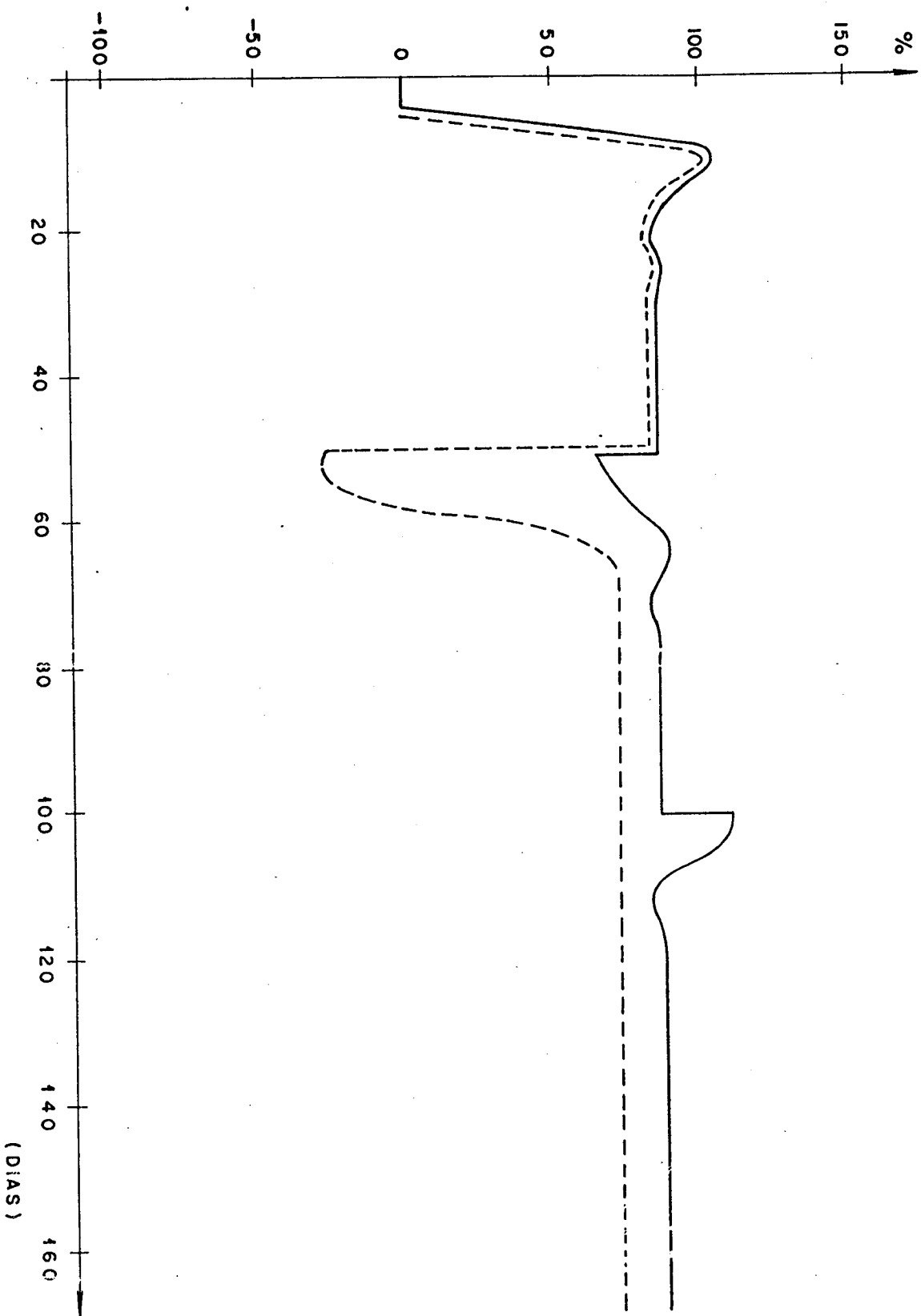


FIG. 19 - Eritropoese inefetiva com uma anemia perniciososa. O distúrbio D2

(Fig.16) age no compartimento de proliferação mudando o ganho deste.

----- de  $ba=12$  para  $bb=6$

\_\_\_\_\_ de  $ba=12$  para  $bb=11$

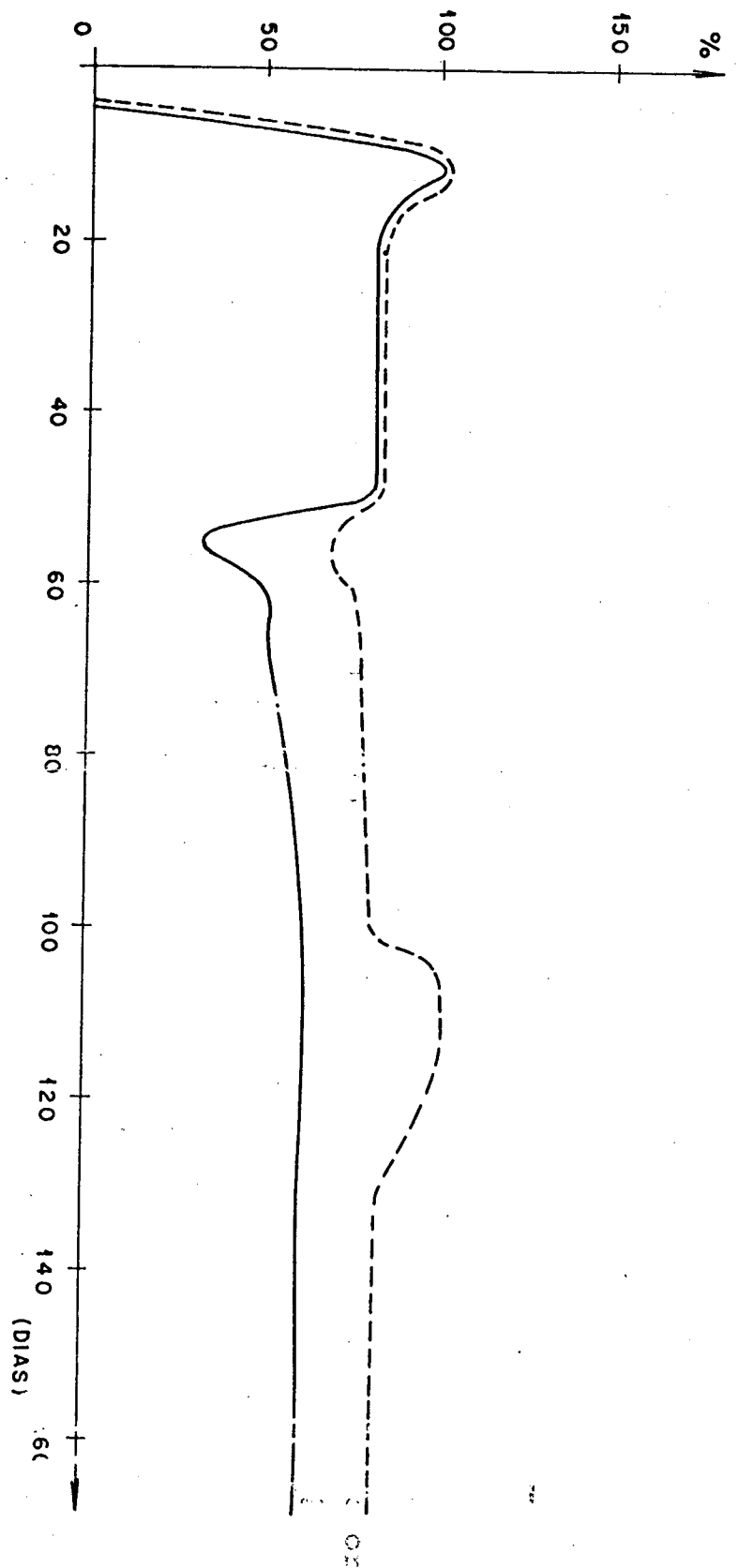


FIG. 20 - Anemia Hemolítica simulada através da redução de valor da constante de tempo do bloco que simula a remoção celular pelo distúrbio D3 (Fig. 16).

----- Em T=50 dias     $T_{5A}=30 \rightarrow T_{5B}=20$   
\_\_\_\_\_ Em T=50 dias     $T_{5A}=30 \rightarrow T_{5B}=10$

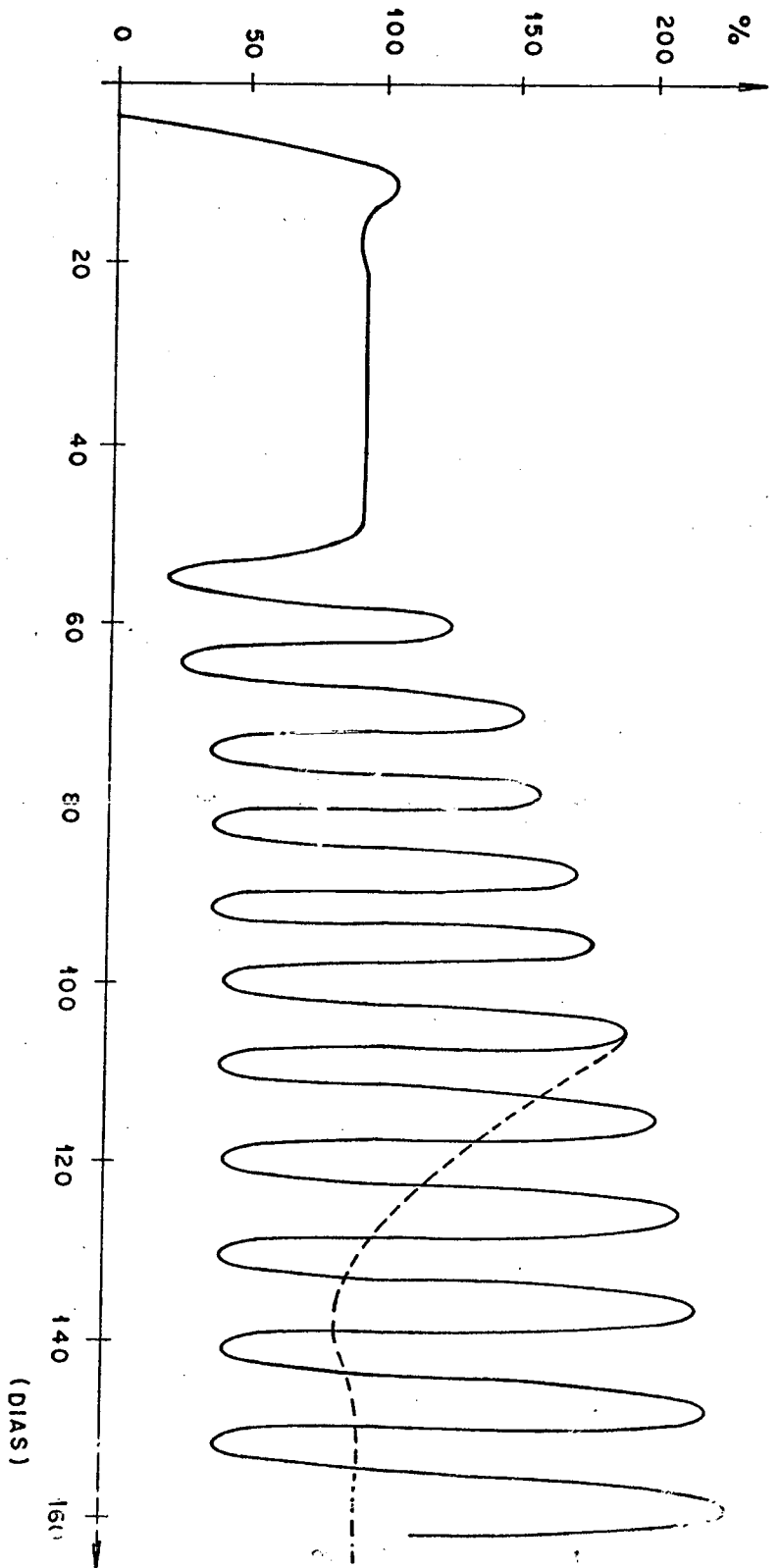


FIG. 21 - Policetamia: produção exagerada de eritrócitos.  
 Aumento no ganho do laço que simula a ação do  
 inibidor mitótico devido ao distúrbio D4 (Fig. 16)

— Em T=50 dias  $da=0,02 \rightarrow db=0,09$   
 ---- Em T=100 dias o distúrbio é retirado.



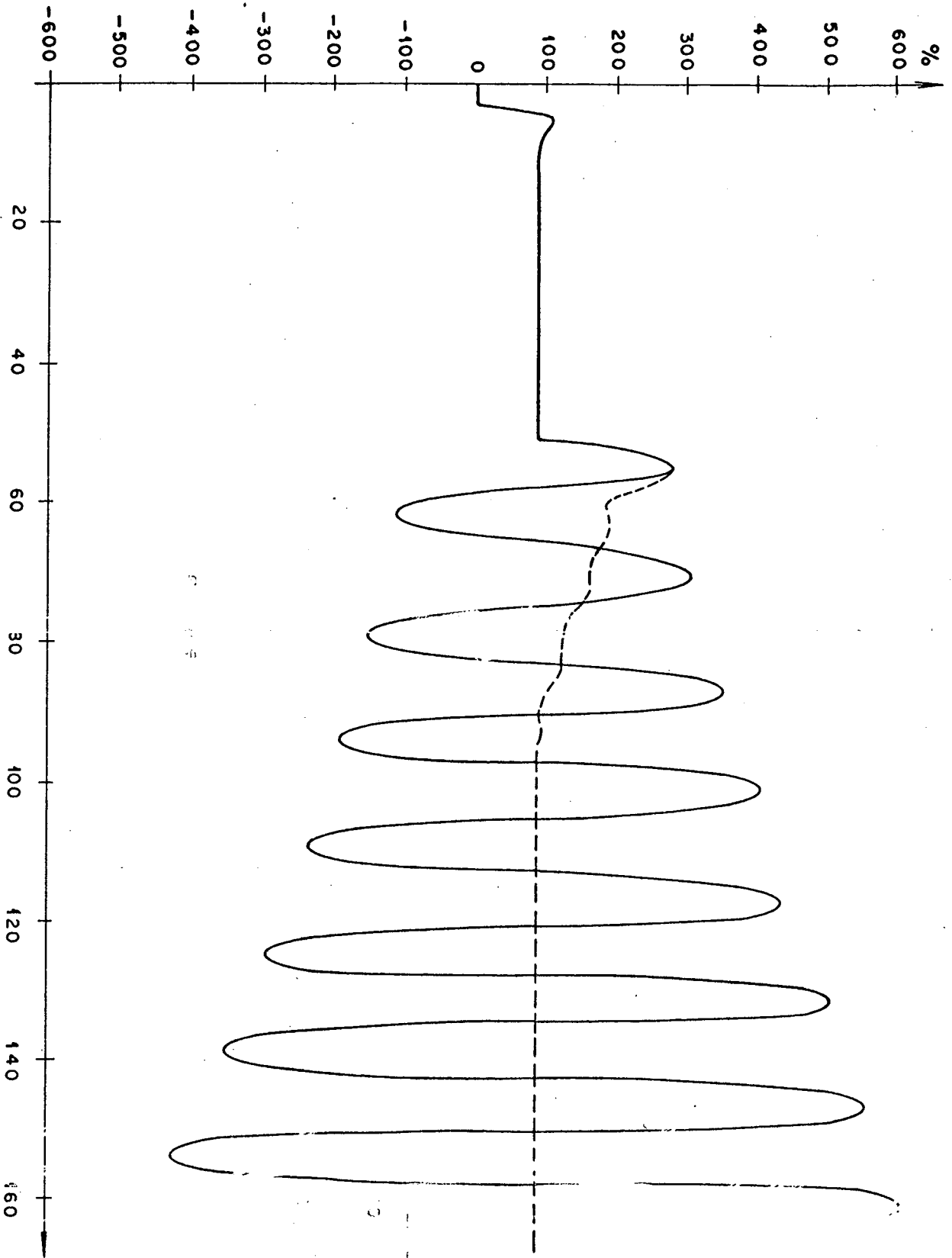


FIG. 22 - Anemia provocada por mudanças estruturais no mecanismo de chaveamento do compartimento de células primitivas.  
 Em T=50 dias aa=0,02 → ab=0,028 e ba=12 → pb=16. Mecanismo intacto.  
 ----- Mecanismo defeituoso, chave permanentemente fechada.

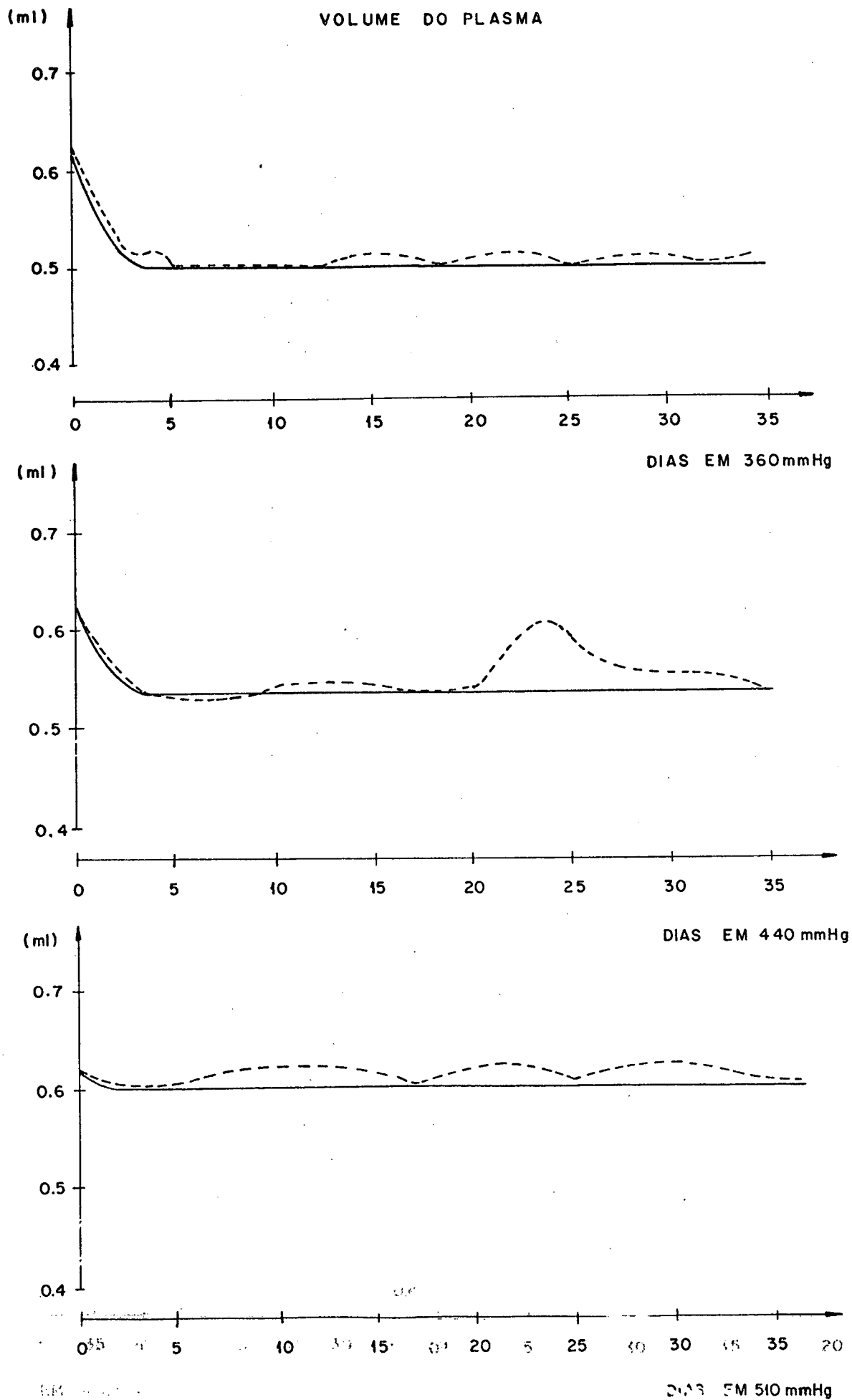


FIG.23 - ——— saída do modelo  
 ---- curva obtida através de experimentos.

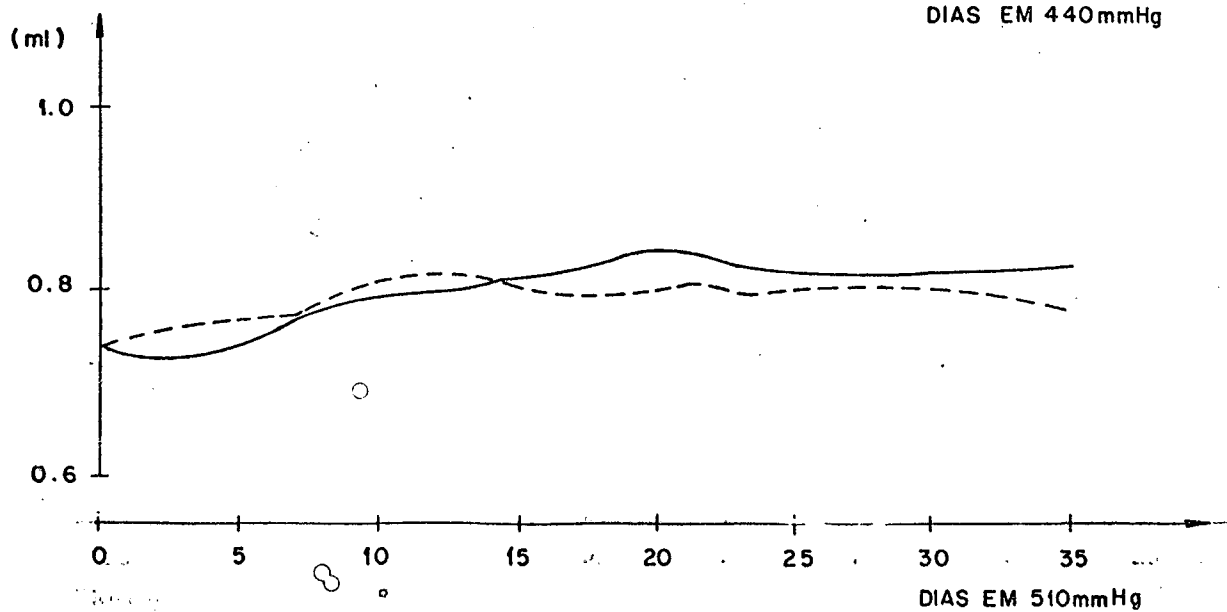
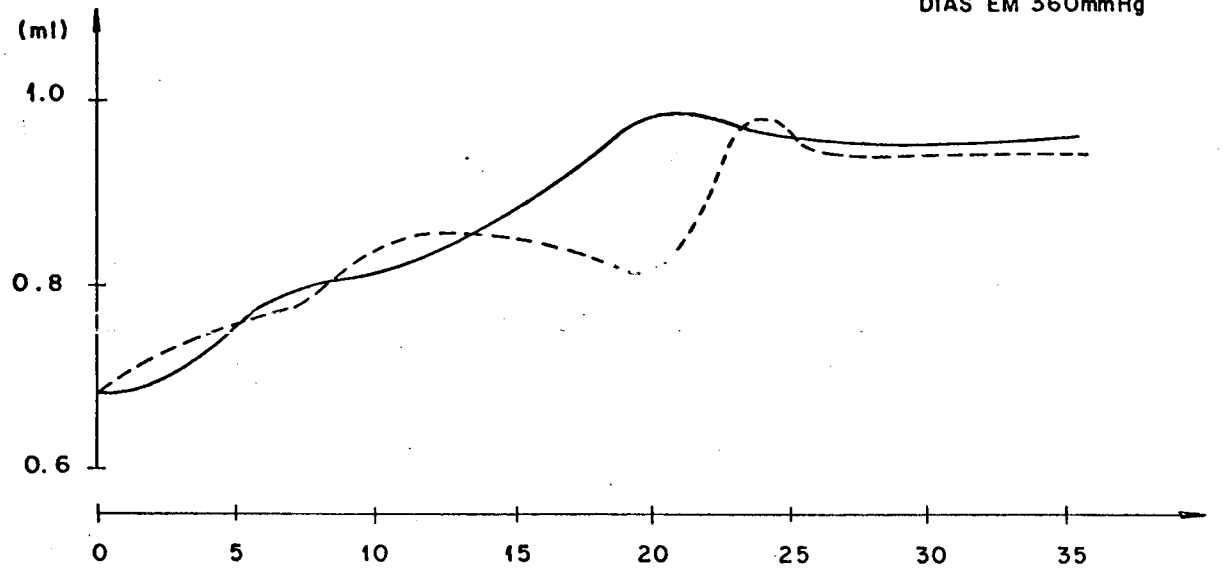
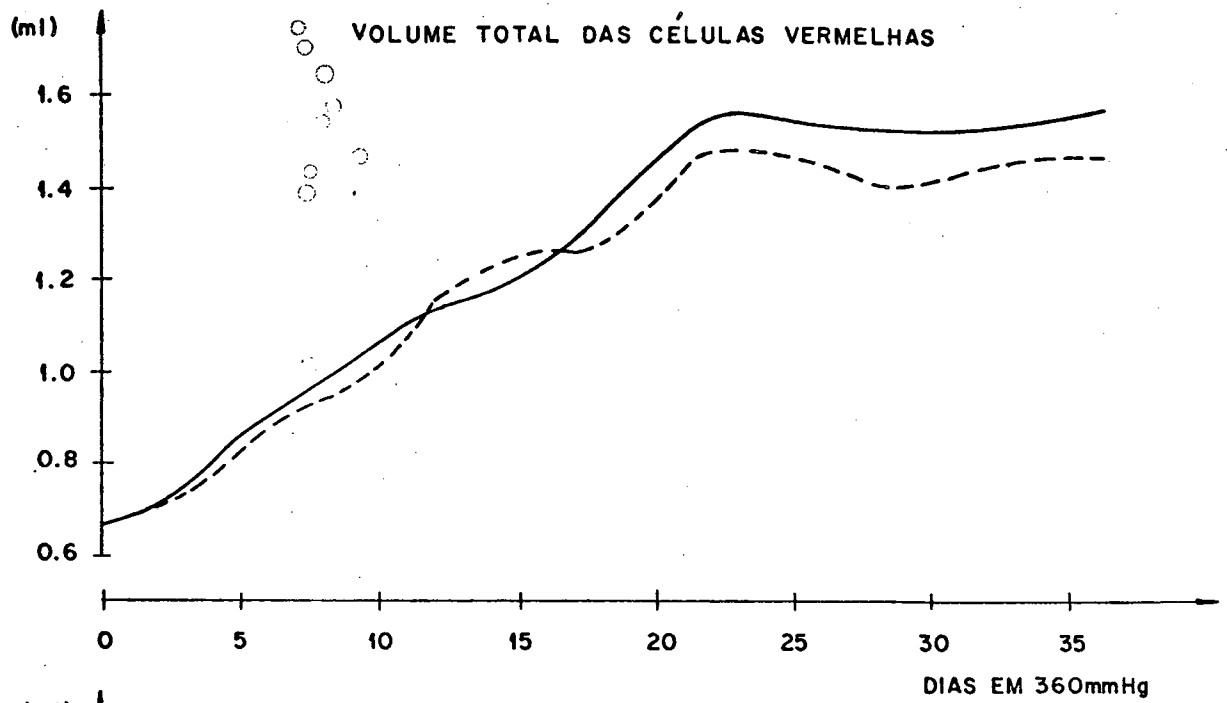


FIG.24 - — saída do modelo  
 - - - curva obtida através de experimentos.



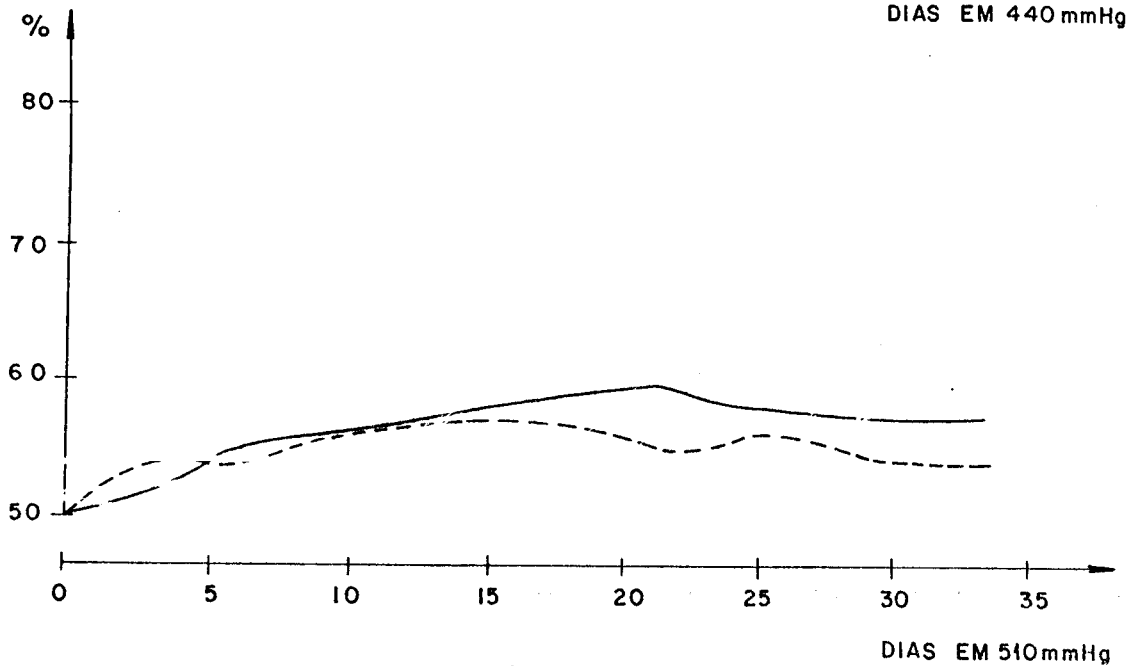
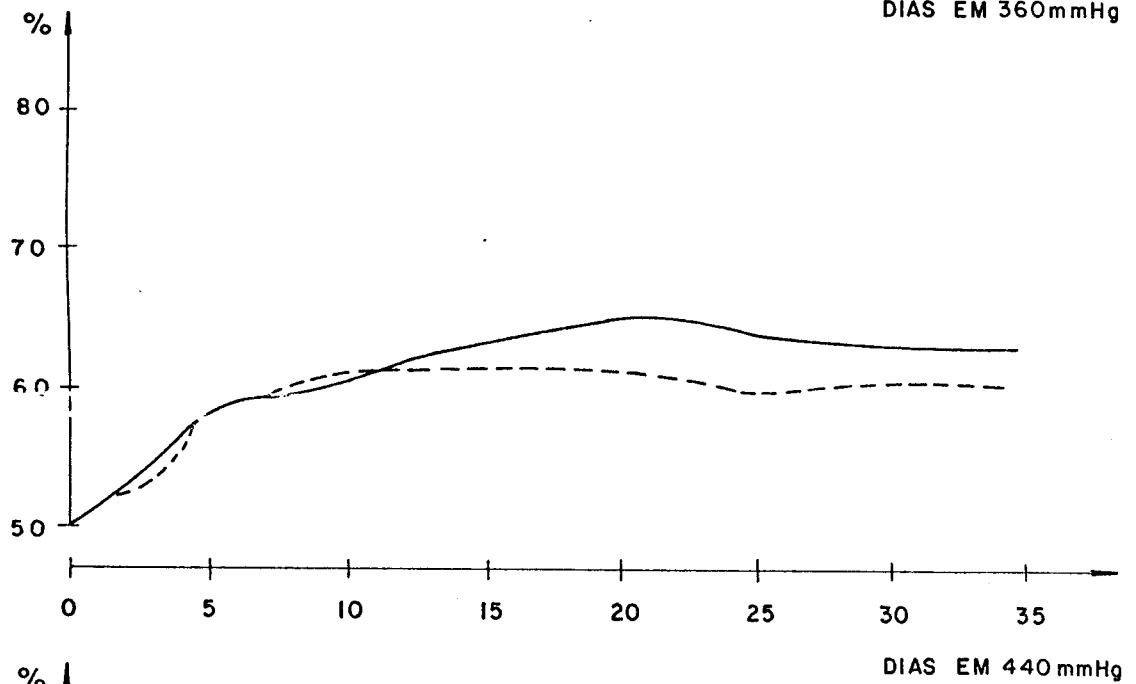
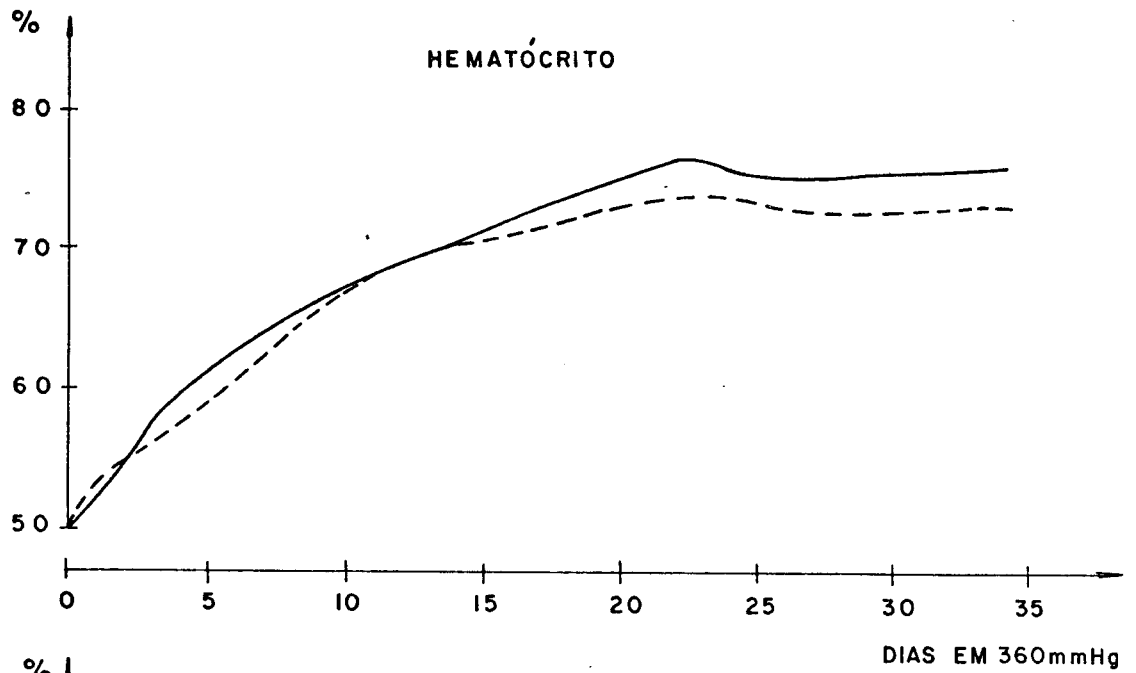


FIG.26 -   
 ———— curva do modelo   
 - - - - - curva obtida através de experimentos.

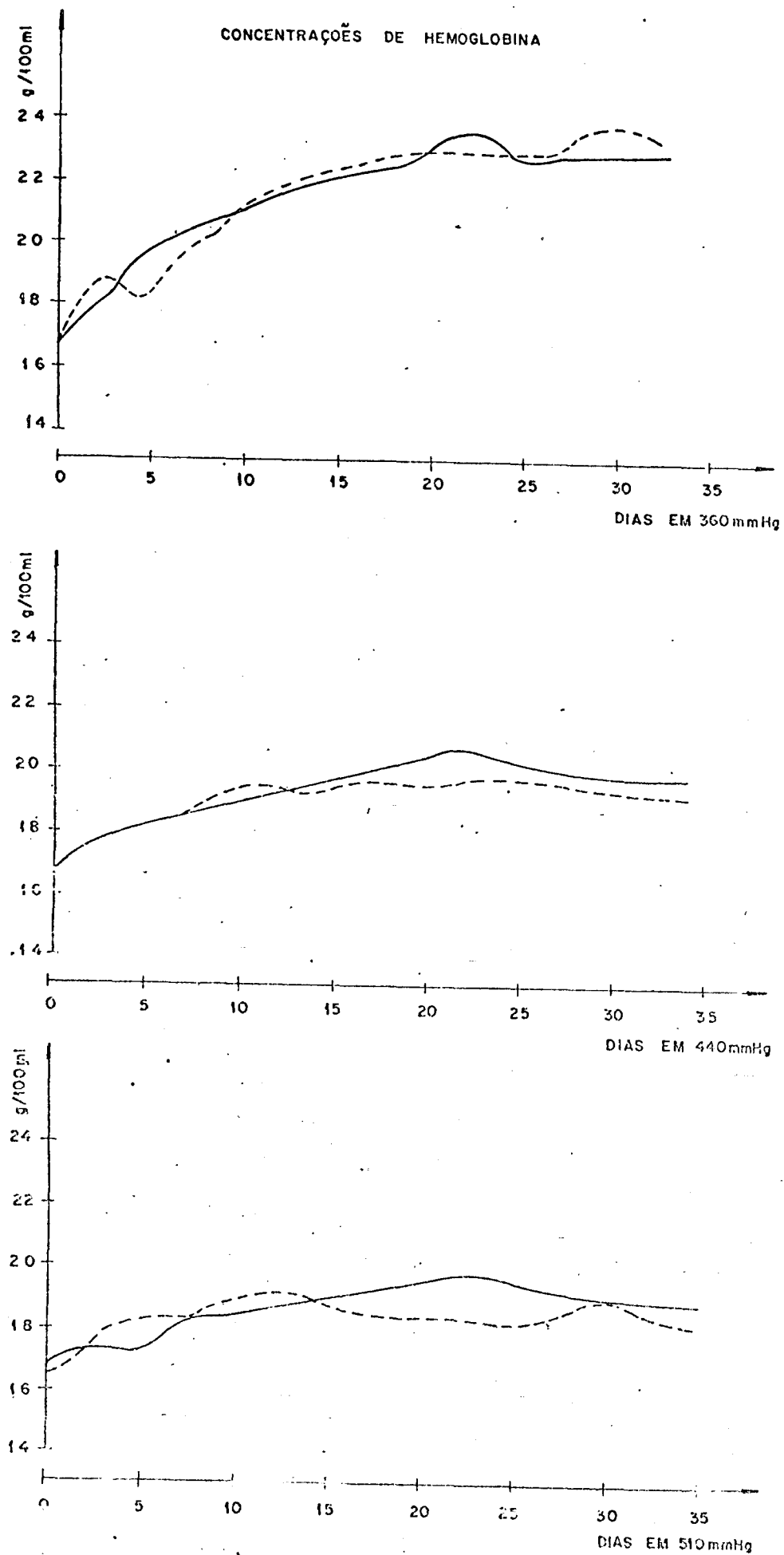


FIG. 27 - — saída do modelo  
 --- curva obtida através de experimentos.

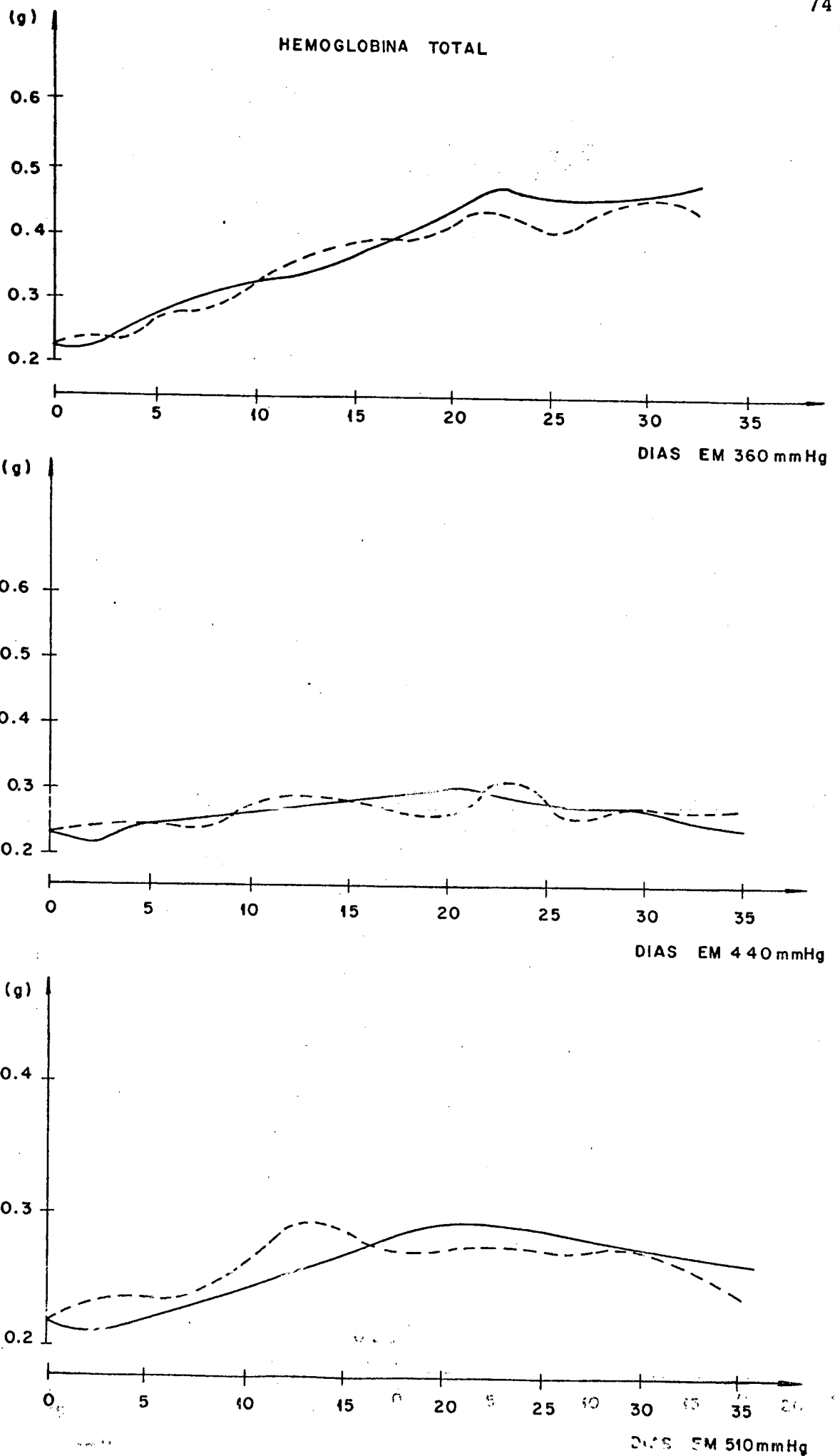


FIG.28 - — saída do modelo  
 --- curva obtida através de experimentos.

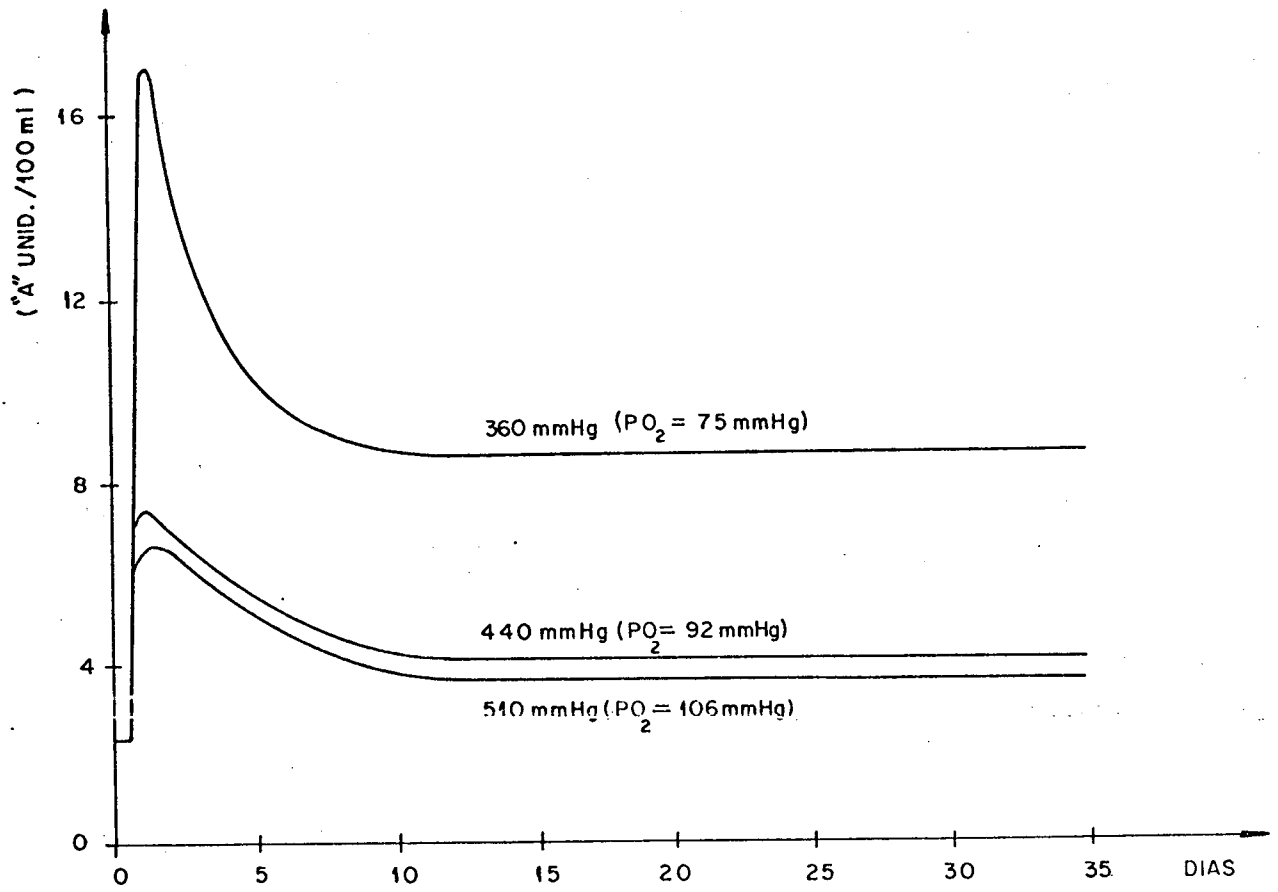


FIG. 29 - Saídas do modelo para a concentração de eritropoetina no plasma.



## 4 - DISCUSSÃO

### 4.1 - Discussão dos Métodos

A hipótese usada para obter o modelo matemático do crescimento normal e anormal de células em termos de sistemas automáticos de controle é que cada célula possui um sistema de controle que regula sua reprodução e seu crescimento sendo este controle exercido por uma substância específica. Este modelo ajuda a interpretar o crescimento de tumores como laços de controle estruturalmente instável devido a ação de distúrbios, porém despreza a interação célula a célula e não dá informação sobre o arranjo local de células em um tecido. Além do mais, o modelo obtido é linear e portanto aproximado. Obviamente o modelo não é único (LIMA, 1977).

A complexidade da eritropoese foi reduzida a um modelo também linearizado e portanto simplificado. As constantes de tempo e os ganhos dos compartimentos alteram-se com a quantidade de eritropoetina. Quando o estímulo eritropoético é forte, aparecem na circulação sanguínea células precursoras eritrocitárias com um tempo de vida médio reduzido (STOHLMAN et all, 1968). Isto faz com que os parâmetros não sejam constantes na realidade mas são interdependentes e variantes no tempo. Toda a análise feita para a obtenção do modelo é muito simplificada desde a imaginação de um mecanismo de chaveamento representando a atividade genérica

até ao bloco da redução celular, onde representou-se a retirada de eritrócitos da circulação devido a um tempo médio de vida, por uma função cuja resposta ao degrau é uma exponencial decrescente. Contudo os resultados obtidos revelam coerência quando comparados aos dados da literatura médica.

Na formulação matemática do modelo não-linear da eritropoese, algumas aproximações foram feitas. Sabe-se que o oxigênio disponível para os tecidos depende da percentagem de extração tão bem como da quantidade que entra no sangue arterial. Contudo, a percentagem da extração não foi incluída no modelo devido a dados inadequados. A formação de sangue não ocorre só na medula (WINTROBE, 1979). O baço é o lugar onde mais se tem encontrado eritropoese fora dos limites da medula. Não foi incluído no modelo esta liberação esplênica de eritrócitos. O efeito da viscosidade do sangue via equação (26) é uma simplificação que não representa realisticamente os mecanismos adaptativos envolvidos na oxigenação tecidual que ocorre após prolongada hipoxia. Desde que o modelo matemático revele satisfatoriamente as propriedades do sistema físico real, os efeitos causados pelas aproximações podem ser desprezados.

#### 4.2 - Discussão dos Resultados

A partir da tabela 3 na qual pode-se comparar os reguladores  $H(S)$  obtidos dos modelos matemáticos deduzidos para o crescimento normal e anormal de células onde

$$H(S) = K_0 + \frac{K_1}{S} + K_2 S + K_3 S^2$$

pode-se verificar que:

1- Com a deteriorização do crescimento normal das células há uma simplificação progressiva no fator proporcional  $K_0$ . Existe o desaparecimento da relação A/C no caso de tumores malignos. O segundo termo  $(-1/B)$  permanece constante.

2- No crescimento anormal de células existe a eliminação do fator integrativo.

3- Existe alterações no primeiro termo do fator derivativo, porém o segundo termo  $(-1/B)$  permanece constante.

4- Exclusivamente no caso do aparecimento de tumores, existe um fator de dupla derivação.

5- Conjectura-se que as razões da alteração destes fatores sejam devidos a alterações estruturais provocadas pelos genes reguladores, provocando alterações nas constantes de tempo de regulação (DULBECCO, 1982).

6- O sistema de controle do crescimento normal de células é estável, assim como o crescimento de tumores benignos, mas com o aparecimento de cancer verifica-se a instabilidade do sistema de controle considerado. O cancer visto sobre esta forma de instabilidade provavelmente se deve a anormalidade da existência de ácidos nucleicos geneticamente ativos que provocam variações do regulador  $H(S)$ , variando a estabilidade da regulação. Quando isto ocorre, tanto  $v(t)$ , a grandeza de distúrbio, como  $u(t)$  o comando, excitam o circuito de regulação estruturalmente instável e o crescimento de um tumor maligno ocorre independentemente. A hipótese de DUCKREY et all. (1949) de que o aparecimento de um tumor maligno seja causado por uma realimentação positiva, parece então certa.

Deve-se notar que as simulações realizadas com o modelo linearizado da eritropoese é uma tentativa de se visualizar as diversas formas de anemias a partir do ponto de vista da teoria dos sistemas de controle.

Parece que formas gerais de anemia, isto é, a redução de eritrócitos, como encontrado, por exemplo, no caso de uma anemia aplástica (WINTROBE, 1979) são causadas por variações paramétricas no laço interno que simula o controle do número de células primitivas, como mostra a fig.18.

Eritroleucemia (policitemia persistente) pode ser simulada através de uma mudança estrutural da malha

de controle (um defeito no mecanismo de chaveamento do compartimento de células primitivas), que simula uma alteração genética, levando a um comportamento instável do sistema. Este comportamento instável pôde ser verificado não somente com mudanças estruturais mas também com alterações paramétricas no mecanismo de realimentação do laço que simula a ação do inibidor mitótico. Nos dois casos teremos oscilações crescentes no número de eritrócitos circulantes (ver fig.21 e 22). Contudo deve-se considerar que as oscilações simuladas desta forma podem somente serem testadas experimentalmente nos seus primeiros ciclos, já que, desvios muitos fortes no número de eritrócitos causará a morte do organismo (DÜCHTING, 1976).

Com os resultados obtidos do modelo não-linear da eritropoese pode-se verificar que:

1 - A saída do modelo para a hemoglobina total cresceu até aos 22 dias de exposição hipóxica, e então caiu ligeiramente em todas as altitudes. A maior queda ocorreu na pressão de 360 mmHg, onde os dados experimentais também mostram claramente um decréscimo na hemoglobina total. Após 22 dias da hipóxia ocorre um deslocamento da morte dos eritrócitos, pré-hipóxico para aquele formado logo após a hipóxia, devido aos quais a taxa da produção de hemoglobina aumentou. A perda destas células excede a taxa de produção de estado estacionário em torno dos 22 dias, resultando em um decréscimo líquido na hemoglobina total. Isto

resulta em mudanças na concentração de hemoglobina, hematócrito, volume total das células vermelhas e volume do sangue.

2 - Para 360 mmHg existe algumas diferenças significantes entre as concentrações predita pelo modelo e aquelas obtidas experimentalmente. Isto provavelmente deve-se a liberação esplênica de eritrócitos, um fator que não foi incluído no modelo. A representação para o volume do plasma (uma exponencial) não produz o aumento no volume do plasma que ocorreu nos animais de experimento no quarto dia de exposição a 360 mmHg (MYLREA & ABBRECHT, 1970). Assim o modelo não reproduz o decréscimo na medida de concentração do hemoglobina que ocorreu naquele tempo.

3 - Os resultados obtidos (Siri et al., 1966) para a concentração de eritropoetina no plasma em seres humanos durante prolongada hipoxia mostra um padrão temporal consistindo de um pronto aumento na atividade eritropoética no início da hipoxia, e um retorno a um nível constante apesar de uma hipoxia continuada. A resposta da concentração de eritropoetina no plasma prevista pelo modelo é mostrada na fig.29. A concentração máxima de eritropoetina prevista no modelo para 360 mmHg é da mesma ordem dos valores obtidos por Reissman et al. (1965) para ratos expostos a 380 mmHg.

4 - O efeito do fator de correção da viscosidade do sangue resultou em uma boa representação da resposta eritropoética.

nas várias altitudes. Simulações sem o fator de correção resulta em uma concentração de hemoglobina do sangue de estado estacionário em 360 mmHg inferior daquela encontrada experimentalmente. Porém o uso deste fator resultou em valores de estado estacionário muito elevados para a concentração de eritropoetina no plasma. Este fator é uma simplificação que não representa verdadeiramente os mecanismos adaptativos envolvidos na oxigenação tecidual que ocorre após prolongada hipoxia.

## 5. CONCLUSÕES

Conclui-se que:

1) A partir dos trabalhos de (DUCHTING, 1968; LIMA & ROCHA, 1982; LIMA & ROCHA, 1983) é possível obter um modelo da multiplicação normal e anormal de células. A hipótese usada para obter este modelo em termos de sistemas automáticos é que cada célula possui um sistema de controle que regula sua produção e seu crescimento. Este sistema de controle é exercido, por hipótese, por uma substância específica. A conclusão mais importante é que o controle exercido por esta substância é feito através de um sistema PID (Controle Proporcional por Integração e por Derivação). Outra conclusão é a evidência de que a existência do fator integrativo é determinante da normalidade do sistema de controle do crescimento celular.

2) Dos trabalhos de ROCHA & LIMA, 1983, DUCHTING, 1973 e 1976 é possível obter-se um modelo linearizado do processo de formação das células vermelhas do sangue. Apesar do modelo ser muito simplificado a validade deste pode ser verificada através das respostas eritrocitárias obtidas das diversas simulações realizadas (itens 2.5.1, 2.5.2 e 2.5.3.), com os resultados sendo coerentes com os conhecimentos médicos. A...



conclusão principal é que em termos de sistemas automáticos de controle, desordem malignas, como por exemplo a eritroleucemia, pode ser visualizada como um laço de controle estruturalmente instável, isto, provavelmente, devido a existência de ácidos nucleicos geneticamente ativos anormais.

3) A partir dos trabalhos de Mylrea e Abbrecht (1970 e 1971) tenta-se visualizar a eritropoese em mais detalhes através de um modelo não linear. O estudo dos resultados apresentados utilizando-se o modelo permite que se afirme que este é válido pois revelou as mesmas características dinâmicas qualitativas e quantitativas das variáveis pesquisadas (hematócrito, concentração de hemoglobina, etc).

Um uso importante dos modelos apresentados seria em definir o tipo de informação que é necessária para um melhor entendimento do sistema e em planejar os experimentos para obter aquela informação. As diferenças e similaridades entre a saída do modelo e os dados fisiológicos, podem sugerir vários tipos de experimentos que forneceria uma visão melhor do comportamento dos componentes individuais e do sistema como um todo.

Algumas sugestões para trabalhos futuros são dadas a seguir:

- fazer estudos para incluir no modelo não-linearizado da eritropoese a ação do baço.

- com relação ao modelo anterior é interessante propor-se um modelo que receba satisfatoriamente os mecanismos adaptativos envolvidos na oxigenação tecidual.

- com relação ao modelo linearizado do crescimento normal e anormal de células este poderá ser subsídio para se estudar com mais detalhes as possíveis razões das alterações ocorridas nos reguladores H9s) devido aos distúrbios cancerígenos.

BIBLIOGRAFIA

ALTLAND, P.D. & BRUBACH, H.I. & PARKER, M.G. & HIGHMAN, B.  
(1967). "Blood Gases and Acid-Base Values of Unanesthetized  
rats exposed to hypoxia". Ann. J. Physiol., 212:142-150.

ALEXANIAN, R. & PORTEOUS, D.D. & LAJTHA, L.G. (1963). "Stem -  
Cell Kinetics after Irradiation". Int. J. Rad. Biol., 7(1):  
87 - 94.

BARRET, J.C. (1966) "A Mathematical Model of the Mitotic  
Cycle and its Application to the Interpretation of  
Percentage Labeled Mitoses Data". Journal of the National  
Cancer Institute, 37(4): 443-450, oct.

BARRET, J.C. (1974) "Parity Models of Cell Proliferation"  
J. Theoret. Biol., 44:319-336.

CONTRERA, J.F. & GORDON, A.S. (1968) "The Renal Erythropoietic  
Factor. I. Studies on this Purification and Properties".  
Ann. N.Y. Acad. Sci., 149:114-119.

COVELLI, V. & BRICANTI, G. & SILINI, G. (1972). "An Analysis of  
Bone Marrow Erythropoiesis in the Mouse". Cell Tissue  
Kinet. 5:41-45.

- CROSBY, W.H. & AKEROYD, J.H. (1952) "The Limit of Hemoglobin Synthesis in Hereditary Hemolytic Anemia". American Journal of Medicine, 13:273-283.
- CROWELL, J.W. & SMITH, E.E. (1967). "Determinant of the Optimal Hematocrit". J.Appl. Physiol. 22:511-514.
- DOERMER, P. (1973) "Kinetics of Erythropoietic Cell Proliferation in Normal and Anaemic Man". A New Approach Using Quantitative <sup>14</sup>C - Autoradiography. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- DORF, R.C. (1977). "Sistemas Automáticas de Control. Teoría y práctica". Fondo Educativo Interamericano S.A., México.
- DÜCHTING, W. (1968) "Krebs, ein instabiler Regelkreis - Versuch einer Systemanalyse". Kibernetik 5:70-77.
- DÜCHTING, W. (1973) "Entwicklung eines Erythropoese - Regelkreismodells zur Computer - Simulation" BLUT, 27:342-350.
- DÜCHTING, W. (1976) "Computer Simulation of Abnormal Erythropoiesis an Example of Cell Renewal Regulating Systems". Biomed. Techn. 21:34-43.
- DÜCHTING, W. (1978) "Computer Models of the Cancer Problem". Progress for Cybernetics and Systems Research, 3:596-613.

- DÜCHTING, W. & DEHL, G. (1980) "Simulation of Two - Dimensional Cell Growth with Applications to Tumor Kinetics". Math. & Comput. in Simulations, 22:81-90.
- DÜCHTING, W. (1981) "The Control Theory as a Mathematical - Regulatory (Tool) for Better understanding of Normal and Malignant Celular Growth". Neoplasms, 22:389-399.
- DULBECCO, R. (1982) "La Nature du Cancer". La Recherche, 13(139): 1426-1436, Dec.
- DRUCKREY, H. & KÜPFMÜLLER, K. & TRAPPE, W. (1949). "Experimentelle Beiträge zum Wachstumsproblem bei Geschwülsten und metastasen". Z. Krebsforschung 56:407-425.
- GUYTON, A.C. (1977) "Tratado de Fisiologia Médica". 4<sup>a</sup> ed., Rio de Janeiro: Interamericana Ltda.
- HAHN, G.M. (1966) "State Vector Description the Proliferation of Mammalian Cells". Biophysical Journal. 6:295-290.
- HARRIS, J.W. (1963) "The Red Cell". Harvard University Press, p.125.
- IVERSEN, O.H. & BJERKNES, R. (1963) "Kinetics of Epidermal Reaction to Carcinogens". Universitetsfoliaet. Copenhagen.

KIVILAAKSO, E. & RYTÖMAA, T. (1971) "Erythrocytic Chalone, a Tissue Specific Inhibitor of Cell Proliferation in the Erythron". Cell Tissue Kinet., 4:1-9.

LAJTHA, L.G. (1965) "Response of Bone Marrow Stem Cells to ionizing Radiations". Current Topics in Radiation Research, vol. I, p.139.

LAJTHA, L.G. & OLIVER, R. & GURNEY, C.W. (1962) "Kinetic Model of a Bone-Marrow Stem-Cell Population". Brit. J. Haemat., 8: 442-460.

LIMA, W.C. & HARGER, J.J. (1975) "Um Modelo Matemático Generalizado do Transporte de Substâncias em Sistemas Fisiológicas Multi-compartimentos". Arg. Cat. Med., 4:125-128.

LIMA, W.C. (1977) "A Simulação de Sistemas Biológico". Ci. & Cult., 29(2): 157-161, Fev.

LIMA, W.C. & ROCHA, C.A.F. (1982) "Um Modelo do Sistema de Controle da Multiplicação Normal de Células". III Encontro Nacional de Automática, Campinas - S.P.

LIMA, W.C. & ROCHA, C.A.F. (1983) "Modelo del Sistema de Control del Crecimiento Normal y Anormal de Celulas". Quintas Jornadas Argentinas de Cibernética, Rosário.

MYLREA, K.C. & ABBRECHT, P.H. (1970) "Hematologic Responses of Mice Subjected to Continuous Hypoxia". American Journal of Physiology, 218(4):1145-1149.

MYLREA, K.C. & ABBRECHT, P.H. (1971) "A Mathematical Analysis and digital Simulation of the Control of Erythropoiesis". J. Theoret. Biol., 33:279-297.

NATHAN, D.G. & SCHUPAK, E. & STOHLMANN, F. & MERRIL, J.P. (1964) "Erythropoiesis in Anephric Man" Journal of Clinical Investigation, 43(11): 2158-2165.

ORR, J.S. & KIRK, J. & GRAY, K.G. & ANDERSON, J.R. (1968) "A Study of the Interdependence of Red Cell and Bone Marrow Stem Cell Population". Brit. J. Haemat., 15 23-34.

PRASAD, T. & IBIDAPO-OBE, O. (1977) "Stochastic Analysis and Control of Physiological Systems: Cancer Detection and Therapy". Int. J. Systems Sci., 8(11): 1233-1242.

RAHN, H. & FENN, W.O. (1955) "A Graphical Analysis of Respiratory Gas Exchange". The American Physiological Society. Washington, D.C.

REISSMAN, K.R. & DIEDERICH, D.A. & ITO, K.Y. & SHMAUS, J.W. (1965) "Influence of Disappearance Rate and Distribution Space on Plasma Concentration of Erythropoietin in Normal rats". J. Lab. Clin. Med., 65:967-975.

ROCHA, C.A.F. & LIMA, W.C. (1983) "Modelos de Crescimento Celular em Termos de Sistemas Automáticos de Controle". 69º Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, Florianópolis-SC.

- SCHNECK, D.J. & LIMA, W.C. (1980) "Modelagem Matemática de Sistemas de Controle. Fisiológicos, Onde a Vontade Aparece como uma Variável Indefinida". EFET Pesquisa, 6(1):20-25, mar.
- SIRI, W.E. & VANDYKE, D.C. Y WINCHELL, H.S. & POLLYCOVE, M. & PARKER, H.G. & CLEVENAD, A.S. (1966) "Early Erythropoietin, Blood and Physiological Responses to Severe Hipoxia in Man". J. Appl. Physiol. 21:73-80.
- SPECKHART, H.F. & GREEN, W.L. (1976) "A Guide to Using CSMP - The Coutinuous System Modeling program". New Jersey, USA: Prentice Hall Inc.
- STEEL, G.G. (1972) "The Cell Cycle in Tumours: An Examination of Data Gained by the Technique of Labelled Mitores". Cell Tissue Kinet. 5:87-100.
- STEIN, J. (1981) "Prey-Predator-Protector Model for Cancer" IEEE TRANS. BIOMED. ENGN. 28(7):544-549.
- STOHLMAN, F. & EBBE, S. & MORSE, B & HOWARD, D. & DONOVAN, J. (1968) "Regulation of Erythropoiesis. XX. Kinetics of Red Cell Production". Ann. N.Y. Acad. Sci. 149:156-172.
- TARBUTT, R.G. & BLACKETT, N.M. (1968) "Cell Population Kinetics of the Recognizable Erythroid Cell in the Rat." Cell Tissue Kinet. 1:67-80.



- VOLTERRA, V. (1926) "Fluctuation in the Abundance of a Species Considered Mathematically". Nature, 118:558-560.
- ZANJANI, E.D. & CONTRERA, J.F. & GORDON, A.S. & COOPER, G.W. & WONG, K.K. & KATZ, R. "The Renal Erythropoietic Factor (REF). III. Enzymatic Role in Erythropoietin Production". Proc. Soc. Biol. Med. 135:505-508.
- WEISS, P. & KAVANAU, J.L. (1957) "A Model of Growth and Growth Control in Mathematical Terms" J.Gen. Physiol., 41(1):1-47.
- WHELDON, T.E. & KIRS, J. (1973) "Induction, Differentiation and Oncogenesis". Journal of Theoretical Biology 41(2):261-268.
- WINTROBE, M. (1979) "Hematologia Clínica" Inter-Médica, 4<sup>a</sup> ed. Buenos Aires - Argentina.

A N E X O



\*\*\*CONTINUOUS SYSTEM MODELING PROGRAM\*\*\*

\*\*\*PROBLEM INPUT STATEMENTS\*\*\*

```

*****
*** *      PROGRAMA PARA SIMULAR O      ****
*** *
*** *      MODELO NAO LINEAR DA ERITROPOESE ****
*****
RENAME TIME=T
STORAGE AT(90),P2(90),AT1(90),P3(90)
FIXED I,J
INITIAL
CONSTANT T1=.13,T2=.167,T3=1.5,PM=0.05,PC=.005,K1=9.88,...
MCH=11.9,EC=.0225,T4=0.16666,T5=2.,EE=.1
INCON HB=.168,VI=1.,PP=.2168,PRE=0.0,I=0,J=0
DYNAMIC
NOSORT
I=I+1
IF (T.LE.5) MCV=4.4*T/5+47.7
IF (T.GT.5) MCV=82.1
IF (T.EQ.0.) PC2=78
IF (T.GT.0.) PC2=50+5*(1-EXP(-T/T5))
IF (PC2.GT.30.AND.PC2.LE.60) PS=1.33*PC2-30.
IF (PC2.GT.60..AND.PC2.LT.80.) PS=100-264*EXP(-0.028*PC2)
VP=.50+.120*EXP(-T/T3)
VE=24*VP
HBO3=PS*HB
HBO=HBOE*VI
HBOA1=DELAY(20,T4,HEC)
IF (T.LE.T4) HEC/=11.8
IF (T.GT.T4) HEC/=HBOA1
R=74.2*EXP(-.31*HBOA1)
IF (T.LE.20) E=(R*T1/VE)*(1-EXP(-T/T1))+50*EXP(-T/T1)
IF (T.GT.20) E=R*T1/VE
P=PM*(1-EXP(-K1*E))+PC
IF (I.LT.0.10) IM=4*EXP(-2.9*E)
IF (E.GE.0.16) IM=2.5
IF (E.GE.0.1) PRE=1-LE/E
CALL CG(I,P,PRE,T,IM,P3,P4,V1,V2)
P5=P2+P3+P4
IH=PS-(V1+V2)
VCV=IH*MCV/MCH
VB=VP+VCV
HCT=1/(1+(VF/V(V)))
HB=TF/VB
VI=1.1-.012*EXP(4.4*HCT)
TERMINAL
TIMER FINTIM=33,OUTDEL=.4,DELT=.04
PRINTL HCT,E
END
STOP

```











Year	Month	Day	Time	Location	Observer	Remarks
1950	Jan	1	08:00	...	...	...
1950	Jan	2	08:00	...	...	...
1950	Jan	3	08:00	...	...	...
1950	Jan	4	08:00	...	...	...
1950	Jan	5	08:00	...	...	...
1950	Jan	6	08:00	...	...	...
1950	Jan	7	08:00	...	...	...
1950	Jan	8	08:00	...	...	...
1950	Jan	9	08:00	...	...	...
1950	Jan	10	08:00	...	...	...
1950	Jan	11	08:00	...	...	...
1950	Jan	12	08:00	...	...	...
1950	Jan	13	08:00	...	...	...
1950	Jan	14	08:00	...	...	...
1950	Jan	15	08:00	...	...	...
1950	Jan	16	08:00	...	...	...
1950	Jan	17	08:00	...	...	...
1950	Jan	18	08:00	...	...	...
1950	Jan	19	08:00	...	...	...
1950	Jan	20	08:00	...	...	...
1950	Jan	21	08:00	...	...	...
1950	Jan	22	08:00	...	...	...
1950	Jan	23	08:00	...	...	...
1950	Jan	24	08:00	...	...	...
1950	Jan	25	08:00	...	...	...
1950	Jan	26	08:00	...	...	...
1950	Jan	27	08:00	...	...	...
1950	Jan	28	08:00	...	...	...
1950	Jan	29	08:00	...	...	...
1950	Jan	30	08:00	...	...	...
1950	Jan	31	08:00	...	...	...
1950	Feb	1	08:00	...	...	...
1950	Feb	2	08:00	...	...	...
1950	Feb	3	08:00	...	...	...
1950	Feb	4	08:00	...	...	...
1950	Feb	5	08:00	...	...	...
1950	Feb	6	08:00	...	...	...
1950	Feb	7	08:00	...	...	...
1950	Feb	8	08:00	...	...	...
1950	Feb	9	08:00	...	...	...
1950	Feb	10	08:00	...	...	...
1950	Feb	11	08:00	...	...	...
1950	Feb	12	08:00	...	...	...
1950	Feb	13	08:00	...	...	...
1950	Feb	14	08:00	...	...	...
1950	Feb	15	08:00	...	...	...
1950	Feb	16	08:00	...	...	...
1950	Feb	17	08:00	...	...	...
1950	Feb	18	08:00	...	...	...
1950	Feb	19	08:00	...	...	...
1950	Feb	20	08:00	...	...	...
1950	Feb	21	08:00	...	...	...
1950	Feb	22	08:00	...	...	...
1950	Feb	23	08:00	...	...	...
1950	Feb	24	08:00	...	...	...
1950	Feb	25	08:00	...	...	...
1950	Feb	26	08:00	...	...	...
1950	Feb	27	08:00	...	...	...
1950	Feb	28	08:00	...	...	...
1950	Feb	29	08:00	...	...	...
1950	Feb	30	08:00	...	...	...
1950	Mar	1	08:00	...	...	...
1950	Mar	2	08:00	...	...	...
1950	Mar	3	08:00	...	...	...
1950	Mar	4	08:00	...	...	...
1950	Mar	5	08:00	...	...	...
1950	Mar	6	08:00	...	...	...
1950	Mar	7	08:00	...	...	...
1950	Mar	8	08:00	...	...	...
1950	Mar	9	08:00	...	...	...
1950	Mar	10	08:00	...	...	...
1950	Mar	11	08:00	...	...	...
1950	Mar	12	08:00	...	...	...
1950	Mar	13	08:00	...	...	...
1950	Mar	14	08:00	...	...	...
1950	Mar	15	08:00	...	...	...
1950	Mar	16	08:00	...	...	...
1950	Mar	17	08:00	...	...	...
1950	Mar	18	08:00	...	...	...
1950	Mar	19	08:00	...	...	...
1950	Mar	20	08:00	...	...	...
1950	Mar	21	08:00	...	...	...
1950	Mar	22	08:00	...	...	...
1950	Mar	23	08:00	...	...	...
1950	Mar	24	08:00	...	...	...
1950	Mar	25	08:00	...	...	...
1950	Mar	26	08:00	...	...	...
1950	Mar	27	08:00	...	...	...
1950	Mar	28	08:00	...	...	...
1950	Mar	29	08:00	...	...	...
1950	Mar	30	08:00	...	...	...
1950	Mar	31	08:00	...	...	...
1950	Apr	1	08:00	...	...	...
1950	Apr	2	08:00	...	...	...
1950	Apr	3	08:00	...	...	...
1950	Apr	4	08:00	...	...	...
1950	Apr	5	08:00	...	...	...
1950	Apr	6	08:00	...	...	...
1950	Apr	7	08:00	...	...	...
1950	Apr	8	08:00	...	...	...
1950	Apr	9	08:00	...	...	...
1950	Apr	10	08:00	...	...	...
1950	Apr	11	08:00	...	...	...
1950	Apr	12	08:00	...	...	...
1950	Apr	13	08:00	...	...	...
1950	Apr	14	08:00	...	...	...
1950	Apr	15	08:00	...	...	...
1950	Apr	16	08:00	...	...	...
1950	Apr	17	08:00	...	...	...
1950	Apr	18	08:00	...	...	...
1950	Apr	19	08:00	...	...	...
1950	Apr	20	08:00	...	...	...
1950	Apr	21	08:00	...	...	...
1950	Apr	22	08:00	...	...	...
1950	Apr	23	08:00	...	...	...
1950	Apr	24	08:00	...	...	...
1950	Apr	25	08:00	...	...	...
1950	Apr	26	08:00	...	...	...
1950	Apr	27	08:00	...	...	...
1950	Apr	28	08:00	...	...	...
1950	Apr	29	08:00	...	...	...
1950	Apr	30	08:00	...	...	...
1950	Apr	30	08:00	...	...	...



T	HB	MINIMUM 1.6800E-01	HB	VERSUS T	MAXIMUM 2.0650E-01
0.0	1.6800E-01	1			1
4.0000E-01	1.6889E-01	+			
8.0000E-01	1.6978E-01	--+			
1.2000E 00	1.7070E-01	---+			
1.6000E 00	1.7165E-01	----+			
2.0000E 00	1.7263E-01	-----+			
2.4000E 00	1.7364E-01	-----+			
2.8000E 00	1.7467E-01	-----+			
3.2000E 00	1.7606E-01	-----+			
3.6000E 00	1.8085E-01	-----+			
4.0000E 00	1.8385E-01	-----+			
4.4000E 00	1.8526E-01	-----+			
4.8000E 00	1.8806E-01	-----+			
5.2000E 00	1.8925E-01	-----+			
5.6000E 00	1.8984E-01	-----+			
6.0000E 00	1.8982E-01	-----+			
6.4000E 00	1.8920E-01	-----+			
6.8000E 00	1.8797E-01	-----+			
7.2000E 00	1.8514E-01	-----+			
7.6000E 00	1.8528E-01	-----+			
8.0000E 00	1.8586E-01	-----+			
8.4000E 00	1.8544E-01	-----+			
8.8000E 00	1.8704E-01	-----+			
9.2000E 00	1.8764E-01	-----+			
9.6000E 00	1.8826E-01	-----+			
1.0000E 01	1.8889E-01	-----+			
1.0400E 01	1.8952E-01	-----+			
1.0800E 01	1.9017E-01	-----+			
1.1200E 01	1.9084E-01	-----+			
1.1600E 01	1.9153E-01	-----+			
1.2000E 01	1.9223E-01	-----+			
1.2400E 01	1.9295E-01	-----+			
1.2800E 01	1.9368E-01	-----+			
1.3200E 01	1.9443E-01	-----+			
1.3600E 01	1.9517E-01	-----+			
1.4000E 01	1.9585E-01	-----+			
1.4400E 01	1.9651E-01	-----+			
1.4800E 01	1.9717E-01	-----+			
1.5200E 01	1.9781E-01	-----+			
1.5600E 01	1.9845E-01	-----+			
1.6000E 01	1.9907E-01	-----+			
1.6400E 01	1.9968E-01	-----+			
1.6800E 01	2.0028E-01	-----+			
1.7200E 01	2.0087E-01	-----+			
1.7600E 01	2.0145E-01	-----+			
1.8000E 01	2.0201E-01	-----+			
1.8400E 01	2.0257E-01	-----+			
1.8800E 01	2.0311E-01	-----+			
1.9200E 01	2.0365E-01	-----+			
1.9600E 01	2.0417E-01	-----+			
2.0000E 01	2.0468E-01	-----+			
2.0400E 01	2.0518E-01	-----+			
2.0800E 01	2.0567E-01	-----+			
2.1200E 01	2.0615E-01	-----+			
2.1600E 01	2.0662E-01	-----+			
2.2000E 01	2.0709E-01	-----+			
2.2400E 01	2.0755E-01	-----+			
2.2800E 01	2.0800E-01	-----+			
2.3200E 01	2.0844E-01	-----+			
2.3600E 01	2.0887E-01	-----+			
2.4000E 01	2.0929E-01	-----+			
2.4400E 01	2.0970E-01	-----+			
2.4800E 01	2.1009E-01	-----+			
2.5200E 01	2.1047E-01	-----+			
2.5600E 01	2.1084E-01	-----+			
2.6000E 01	2.1119E-01	-----+			
2.6400E 01	2.1153E-01	-----+			
2.6800E 01	2.1186E-01	-----+			
2.7200E 01	2.1217E-01	-----+			
2.7600E 01	2.1247E-01	-----+			
2.8000E 01	2.1276E-01	-----+			
2.8400E 01	2.1303E-01	-----+			
2.8800E 01	2.1329E-01	-----+			
2.9200E 01	2.1354E-01	-----+			
2.9600E 01	2.1378E-01	-----+			
3.0000E 01	2.1401E-01	-----+			
3.0400E 01	2.1423E-01	-----+			
3.0800E 01	2.1444E-01	-----+			
3.1200E 01	2.1464E-01	-----+			
3.1600E 01	2.1483E-01	-----+			
3.2000E 01	2.1501E-01	-----+			
3.2400E 01	2.1518E-01	-----+			
3.2800E 01	2.1534E-01	-----+			
3.3200E 01	2.1549E-01	-----+			
3.3600E 01	2.1563E-01	-----+			
3.4000E 01	2.1576E-01	-----+			
3.4400E 01	2.1588E-01	-----+			
3.4800E 01	2.1600E-01	-----+			

T	TH	MINIMUM 2.1170E-01	TH	VERSUS T	MAXIMUM 4.7135E-01
0.0	2.1170E-01	+			
4.0000E-01	2.1542E-01	+			
8.0000E-01	2.1914E-01	+			
1.2000E 00	2.2276E-01	++			
1.6000E 00	2.2516E-01	+++			
2.0000E 00	2.2743E-01	++++			
2.4000E 00	2.3256E-01	-----+			
2.8000E 00	2.3556E-01	-----+			
3.2000E 00	2.3750E-01	-----+			
3.6000E 00	2.4533E-01	-----+			
4.0000E 00	2.5177E-01	-----+			
4.4000E 00	2.5897E-01	-----+			
4.8000E 00	2.6588E-01	-----+			
5.2000E 00	2.7412E-01	-----+			
5.6000E 00	2.7994E-01	-----+			
6.0000E 00	2.8548E-01	-----+			
6.4000E 00	2.9073E-01	-----+			
6.8000E 00	2.9570E-01	-----+			
7.2000E 00	3.0039E-01	-----+			
7.6000E 00	3.0479E-01	-----+			
8.0000E 00	3.0890E-01	-----+			
8.4000E 00	3.1273E-01	-----+			
8.8000E 00	3.1627E-01	-----+			
9.2000E 00	3.1953E-01	-----+			
9.6000E 00	3.2251E-01	-----+			
1.0000E 01	3.2520E-01	-----+			
1.0400E 01	3.2839E-01	-----+			
1.0800E 01	3.3141E-01	-----+			
1.1200E 01	3.3426E-01	-----+			
1.1600E 01	3.3594E-01	-----+			
1.2000E 01	3.3945E-01	-----+			
1.2400E 01	3.4180E-01	-----+			
1.2800E 01	3.4398E-01	-----+			
1.3200E 01	3.4577E-01	-----+			
1.3600E 01	3.5047E-01	-----+			
1.4000E 01	3.5440E-01	-----+			
1.4400E 01	3.5856E-01	-----+			
1.4800E 01	3.6293E-01	-----+			
1.5200E 01	3.6754E-01	-----+			
1.5600E 01	3.7236E-01	-----+			
1.6000E 01	3.7741E-01	-----+			
1.6400E 01	3.8269E-01	-----+			
1.6800E 01	3.8819E-01	-----+			
1.7200E 01	3.9374E-01	-----+			
1.7600E 01	3.9931E-01	-----+			
1.8000E 01	4.0503E-01	-----+			
1.8400E 01	4.1092E-01	-----+			
1.8800E 01	4.1597E-01	-----+			
1.9200E 01	4.2317E-01	-----+			
1.9600E 01	4.2954E-01	-----+			
2.0000E 01	4.3507E-01	-----+			
2.0400E 01	4.4276E-01	-----+			
2.0800E 01	4.4961E-01	-----+			
2.1200E 01	4.5662E-01	-----+			
2.1600E 01	4.6379E-01	-----+			
2.2000E 01	4.7112E-01	-----+			
2.2400E 01	4.7132E-01	-----+			
2.2800E 01	4.7060E-01	-----+			
2.3200E 01	4.6896E-01	-----+			
2.3600E 01	4.6540E-01	-----+			
2.4000E 01	4.6292E-01	-----+			
2.4400E 01	4.5852E-01	-----+			
2.4800E 01	4.5320E-01	-----+			
2.5200E 01	4.4952E-01	-----+			
2.5600E 01	4.4844E-01	-----+			
2.6000E 01	4.4772E-01	-----+			
2.6400E 01	4.4736E-01	-----+			
2.6800E 01	4.4736E-01	-----+			
2.7200E 01	4.4772E-01	-----+			
2.7600E 01	4.4844E-01	-----+			
2.8000E 01	4.4951E-01	-----+			
2.8400E 01	4.5095E-01	-----+			
2.8800E 01	4.5275E-01	-----+			
2.9200E 01	4.5491E-01	-----+			
2.9600E 01	4.5742E-01	-----+			
3.0000E 01	4.6030E-01	-----+			
3.0400E 01	4.6309E-01	-----+			
3.0800E 01	4.6165E-01	-----+			
3.1200E 01	4.6266E-01	-----+			
3.1600E 01	4.6345E-01	-----+			
3.2000E 01	4.6425E-01	-----+			
3.2400E 01	4.6501E-01	-----+			
3.2800E 01	4.6578E-01	-----+			
3.3200E 01	4.6556E-01	-----+			
3.3600E 01	4.6712E-01	-----+			
3.4000E 01	4.6885E-01	-----+			
3.4400E 01	4.6885E-01	-----+			
3.4800E 01	4.6962E-01	-----+			

T	4B	MINIMUM 1.6800E-01	HB	VERSUS T	MAXIMUM 1.9930E-01
0.0	1.6800E-01	+			1
4.0000E-01	1.7004E-01	----+			
8.0000E-01	1.7208E-01	-----+			
1.2000E 00	1.7364E-01	-----+			
1.6000E 00	1.7424E-01	-----+			
2.0000E 00	1.7420E-01	-----+			
2.4000E 00	1.7433E-01	-----+			
2.8000E 00	1.7429E-01	-----+			
3.2000E 00	1.7407E-01	-----+			
3.6000E 00	1.7367E-01	-----+			
4.0000E 00	1.7310E-01	-----+			
4.4000E 00	1.7341E-01	-----+			
4.8000E 00	1.7389E-01	-----+			
5.2000E 00	1.7466E-01	-----+			
5.6000E 00	1.7582E-01	-----+			
6.0000E 00	1.7739E-01	-----+			
6.4000E 00	1.7871E-01	-----+			
6.8000E 00	1.8023E-01	-----+			
7.2000E 00	1.8155E-01	-----+			
7.6000E 00	1.8240E-01	-----+			
8.0000E 00	1.8296E-01	-----+			
8.4000E 00	1.8324E-01	-----+			
8.8000E 00	1.8323E-01	-----+			
9.2000E 00	1.8333E-01	-----+			
9.6000E 00	1.8374E-01	-----+			
1.0000E 01	1.8416E-01	-----+			
1.0400E 01	1.8457E-01	-----+			
1.0800E 01	1.8498E-01	-----+			
1.1200E 01	1.8539E-01	-----+			
1.1600E 01	1.8580E-01	-----+			
1.2000E 01	1.8621E-01	-----+			
1.2400E 01	1.8661E-01	-----+			
1.2800E 01	1.8702E-01	-----+			
1.3200E 01	1.8742E-01	-----+			
1.3600E 01	1.8782E-01	-----+			
1.4000E 01	1.8822E-01	-----+			
1.4400E 01	1.8862E-01	-----+			
1.4800E 01	1.8902E-01	-----+			
1.5200E 01	1.8941E-01	-----+			
1.5600E 01	1.8981E-01	-----+			
1.6000E 01	1.9020E-01	-----+			
1.6400E 01	1.9072E-01	-----+			
1.6800E 01	1.9124E-01	-----+			
1.7200E 01	1.9180E-01	-----+			
1.7600E 01	1.9235E-01	-----+			
1.8000E 01	1.9292E-01	-----+			
1.8400E 01	1.9350E-01	-----+			
1.8800E 01	1.9410E-01	-----+			
1.9200E 01	1.9470E-01	-----+			
1.9600E 01	1.9532E-01	-----+			
2.0000E 01	1.9596E-01	-----+			
2.0400E 01	1.9660E-01	-----+			
2.0800E 01	1.9726E-01	-----+			
2.1200E 01	1.9792E-01	-----+			
2.1600E 01	1.9861E-01	-----+			
2.2000E 01	1.9930E-01	-----+			
2.2400E 01	1.9897E-01	-----+			
2.2800E 01	1.9853E-01	-----+			
2.3200E 01	1.9797E-01	-----+			
2.3600E 01	1.9729E-01	-----+			
2.4000E 01	1.9650E-01	-----+			
2.4400E 01	1.9559E-01	-----+			
2.4800E 01	1.9456E-01	-----+			
2.5200E 01	1.9374E-01	-----+			
2.5600E 01	1.9326E-01	-----+			
2.6000E 01	1.9282E-01	-----+			
2.6400E 01	1.9243E-01	-----+			
2.6800E 01	1.9209E-01	-----+			
2.7200E 01	1.9179E-01	-----+			
2.7600E 01	1.9154E-01	-----+			
2.8000E 01	1.9134E-01	-----+			
2.8400E 01	1.9118E-01	-----+			
2.8800E 01	1.9107E-01	-----+			
2.9200E 01	1.9101E-01	-----+			
2.9600E 01	1.9100E-01	-----+			
3.0000E 01	1.9103E-01	-----+			
3.0400E 01	1.9089E-01	-----+			
3.0800E 01	1.9073E-01	-----+			
3.1200E 01	1.9057E-01	-----+			
3.1600E 01	1.9049E-01	-----+			
3.2000E 01	1.9039E-01	-----+			
3.2400E 01	1.9029E-01	-----+			
3.2800E 01	1.9021E-01	-----+			
3.3200E 01	1.9015E-01	-----+			
3.3600E 01	1.9009E-01	-----+			
3.4000E 01	1.9005E-01	-----+			
3.4400E 01	1.9002E-01	-----+			
3.4800E 01	1.9000E-01	-----+			

T	HCT	MINIMUM 5.0358E-01	HCT VERSUS T	MAXIMUM 6.5005E-01
0.0	5.0358E-01	+		+
4.0000E-01	5.1056E-01	---+		
8.0000E-01	5.1315E-01	-----+		
1.2000E 00	5.2543E-01	-----+		
1.6000E 00	5.3272E-01	-----+		
2.0000E 00	5.4000E-01	-----+		
2.4000E 00	5.4657E-01	-----+		
2.8000E 00	5.5313E-01	-----+		
3.2000E 00	5.5939E-01	-----+		
3.6000E 00	5.6544E-01	-----+		
4.0000E 00	5.7128E-01	-----+		
4.4000E 00	5.7692E-01	-----+		
4.8000E 00	5.8236E-01	-----+		
5.2000E 00	5.8766E-01	-----+		
5.6000E 00	5.9283E-01	-----+		
6.0000E 00	5.9740E-01	-----+		
6.4000E 00	5.9122E-01	-----+		
6.8000E 00	5.9126E-01	-----+		
7.2000E 00	5.9154E-01	-----+		
7.6000E 00	5.9260E-01	-----+		
8.0000E 00	5.9362E-01	-----+		
8.4000E 00	5.9466E-01	-----+		
8.8000E 00	5.9554E-01	-----+		
9.2000E 00	5.9577E-01	-----+		
9.6000E 00	5.9547E-01	-----+		
1.0000E 01	6.0037E-01	-----+		
1.0400E 01	6.0247E-01	-----+		
1.0800E 01	6.0477E-01	-----+		
1.1200E 01	6.0707E-01	-----+		
1.1600E 01	6.0926E-01	-----+		
1.2000E 01	6.1150E-01	-----+		
1.2400E 01	6.1379E-01	-----+		
1.2800E 01	6.1614E-01	-----+		
1.3200E 01	6.1854E-01	-----+		
1.3600E 01	6.2099E-01	-----+		
1.4000E 01	6.2350E-01	-----+		
1.4400E 01	6.2608E-01	-----+		
1.4800E 01	6.2875E-01	-----+		
1.5200E 01	6.3101E-01	-----+		
1.5600E 01	6.3299E-01	-----+		
1.6000E 01	6.3489E-01	-----+		
1.6400E 01	6.3672E-01	-----+		
1.6800E 01	6.3848E-01	-----+		
1.7200E 01	6.4017E-01	-----+		
1.7600E 01	6.4179E-01	-----+		
1.8000E 01	6.4333E-01	-----+		
1.8400E 01	6.4481E-01	-----+		
1.8800E 01	6.4621E-01	-----+		
1.9200E 01	6.4755E-01	-----+		
1.9600E 01	6.4881E-01	-----+		
2.0000E 01	6.5000E-01	-----+		
2.0400E 01	6.5004E-01	-----+		
2.0800E 01	6.4965E-01	-----+		
2.1200E 01	6.4943E-01	-----+		
2.1600E 01	6.4877E-01	-----+		
2.2000E 01	6.4789E-01	-----+		
2.2400E 01	6.4677E-01	-----+		
2.2800E 01	6.4543E-01	-----+		
2.3200E 01	6.4385E-01	-----+		
2.3600E 01	6.4204E-01	-----+		
2.4000E 01	6.4000E-01	-----+		
2.4400E 01	6.3812E-01	-----+		
2.4800E 01	6.3606E-01	-----+		
2.5200E 01	6.3416E-01	-----+		
2.5600E 01	6.3248E-01	-----+		
2.6000E 01	6.3105E-01	-----+		
2.6400E 01	6.2984E-01	-----+		
2.6800E 01	6.2896E-01	-----+		
2.7200E 01	6.2839E-01	-----+		
2.7600E 01	6.2824E-01	-----+		
2.8000E 01	6.2800E-01	-----+		
2.8400E 01	6.2757E-01	-----+		
2.8800E 01	6.2616E-01	-----+		
2.9200E 01	6.2466E-01	-----+		
2.9600E 01	6.2317E-01	-----+		
3.0000E 01	6.2180E-01	-----+		
3.0400E 01	6.2046E-01	-----+		
3.0800E 01	6.1910E-01	-----+		
3.1200E 01	6.1783E-01	-----+		
3.1600E 01	6.1646E-01	-----+		
3.2000E 01	6.1500E-01	-----+		
3.2400E 01	6.1359E-01	-----+		
3.2800E 01	6.1215E-01	-----+		
3.3200E 01	6.1067E-01	-----+		
3.3600E 01	6.0916E-01	-----+		
3.4000E 01	6.0762E-01	-----+		
3.4400E 01	6.0606E-01	-----+		
3.4800E 01	6.0448E-01	-----+		

I	HCT	MINIMUM	HCT	VERSUS T	MAXIMUM
		5.0358E-01			7.6100E-01
0.0	5.0358E-01	+			1
4.0000E-01	5.1166E-01	-+			
8.0000E-01	5.2015E-01	---+			
1.2000E 00	5.2843E-01	-----+			
1.6000E 00	5.3672E-01	-----+			
2.0000E 00	5.4500E-01	-----+			
2.4000E 00	5.5371E-01	-----+			
2.8000E 00	5.6287E-01	-----+			
3.2000E 00	5.7137E-01	-----+			
3.6000E 00	5.8071E-01	-----+			
4.0000E 00	5.9000E-01	-----+			
4.4000E 00	5.9780E-01	-----+			
4.8000E 00	6.0526E-01	-----+			
5.2000E 00	6.1220E-01	-----+			
5.6000E 00	6.1880E-01	-----+			
6.0000E 00	6.2500E-01	-----+			
6.4000E 00	6.3080E-01	-----+			
6.8000E 00	6.3620E-01	-----+			
7.2000E 00	6.4120E-01	-----+			
7.6000E 00	6.4580E-01	-----+			
8.0000E 00	6.5000E-01	-----+			
8.4000E 00	6.5380E-01	-----+			
8.8000E 00	6.5720E-01	-----+			
9.2000E 00	6.6020E-01	-----+			
9.6000E 00	6.6280E-01	-----+			
1.0000E 01	6.6500E-01	-----+			
1.0400E 01	6.6875E-01	-----+			
1.0800E 01	6.7245E-01	-----+			
1.1200E 01	6.7611E-01	-----+			
1.1600E 01	6.7972E-01	-----+			
1.2000E 01	6.8329E-01	-----+			
1.2400E 01	6.8681E-01	-----+			
1.2800E 01	6.9028E-01	-----+			
1.3200E 01	6.9380E-01	-----+			
1.3600E 01	6.9740E-01	-----+			
1.4000E 01	7.0100E-01	-----+			
1.4400E 01	7.0460E-01	-----+			
1.4800E 01	7.0820E-01	-----+			
1.5200E 01	7.1174E-01	-----+			
1.5600E 01	7.1519E-01	-----+			
1.6000E 01	7.1860E-01	-----+			
1.6400E 01	7.2196E-01	-----+			
1.6800E 01	7.2529E-01	-----+			
1.7200E 01	7.2857E-01	-----+			
1.7600E 01	7.3180E-01	-----+			
1.8000E 01	7.3500E-01	-----+			
1.8400E 01	7.3776E-01	-----+			
1.8800E 01	7.4038E-01	-----+			
1.9200E 01	7.4286E-01	-----+			
1.9600E 01	7.4521E-01	-----+			
2.0000E 01	7.4742E-01	-----+			
2.0400E 01	7.4950E-01	-----+			
2.0800E 01	7.5144E-01	-----+			
2.1200E 01	7.5325E-01	-----+			
2.1600E 01	7.5492E-01	-----+			
2.2000E 01	7.5645E-01	-----+			
2.2400E 01	7.5785E-01	-----+			
2.2800E 01	7.5912E-01	-----+			
2.3200E 01	7.6024E-01	-----+			
2.3600E 01	7.6111E-01	-----+			
2.4000E 01	7.6177E-01	-----+			
2.4400E 01	7.6233E-01	-----+			
2.4800E 01	7.6280E-01	-----+			
2.5200E 01	7.6318E-01	-----+			
2.5600E 01	7.6349E-01	-----+			
2.6000E 01	7.6375E-01	-----+			
2.6400E 01	7.6396E-01	-----+			
2.6800E 01	7.6412E-01	-----+			
2.7200E 01	7.6424E-01	-----+			
2.7600E 01	7.6432E-01	-----+			
2.8000E 01	7.6436E-01	-----+			
2.8400E 01	7.6436E-01	-----+			
2.8800E 01	7.6432E-01	-----+			
2.9200E 01	7.6424E-01	-----+			
2.9600E 01	7.6412E-01	-----+			
3.0000E 01	7.6396E-01	-----+			
3.0400E 01	7.6375E-01	-----+			
3.0800E 01	7.6349E-01	-----+			
3.1200E 01	7.6318E-01	-----+			
3.1600E 01	7.6280E-01	-----+			
3.2000E 01	7.6233E-01	-----+			
3.2400E 01	7.6177E-01	-----+			
3.2800E 01	7.6111E-01	-----+			
3.3200E 01	7.6024E-01	-----+			
3.3600E 01	7.9833E-01	-----+			
3.4000E 01	7.9900E-01	-----+			
3.4400E 01	7.9977E-01	-----+			
3.4800E 01	7.9999E-01	-----+			

T	VCV	MINIMUM	VCV	VERSUS T	MAXIMUM
		6.3504E-01	I	I	9.8674E-01
0.0	6.3504E-01	+			
4.0000E-01	6.4403E-01	+			
8.0000E-01	6.5302E-01	+			
1.2000E 00	6.6202E-01	+			
1.6000E 00	6.7101E-01	+			
2.0000E 00	6.8000E-01	+			
2.4000E 00	6.8918E-01	+			
2.8000E 00	6.9837E-01	+			
3.2000E 00	7.0753E-01	+			
3.6000E 00	7.1695E-01	+			
4.0000E 00	7.2632E-01	+			
4.4000E 00	7.3575E-01	+			
4.8000E 00	7.4524E-01	+			
5.2000E 00	7.5474E-01	+			
5.6000E 00	7.6426E-01	+			
6.0000E 00	7.7377E-01	+			
6.4000E 00	7.8326E-01	+			
6.8000E 00	7.9274E-01	+			
7.2000E 00	8.0222E-01	+			
7.6000E 00	8.1168E-01	+			
8.0000E 00	8.2114E-01	+			
8.4000E 00	8.3058E-01	+			
8.8000E 00	8.4002E-01	+			
9.2000E 00	8.4944E-01	+			
9.6000E 00	8.5886E-01	+			
1.0000E 01	8.6826E-01	+			
1.0400E 01	8.7764E-01	+			
1.0800E 01	8.8702E-01	+			
1.1200E 01	8.9638E-01	+			
1.1600E 01	9.0574E-01	+			
1.2000E 01	9.1508E-01	+			
1.2400E 01	9.2442E-01	+			
1.2800E 01	9.3374E-01	+			
1.3200E 01	9.4306E-01	+			
1.3600E 01	9.5238E-01	+			
1.4000E 01	9.6168E-01	+			
1.4400E 01	9.7098E-01	+			
1.4800E 01	9.8026E-01	+			
1.5200E 01	9.8954E-01	+			
1.5600E 01	9.9882E-01	+			
1.6000E 01	1.0000E-01	+			
1.6400E 01	1.0118E-01	+			
1.6800E 01	1.0236E-01	+			
1.7200E 01	1.0354E-01	+			
1.7600E 01	1.0472E-01	+			
1.8000E 01	1.0590E-01	+			
1.8400E 01	1.0708E-01	+			
1.8800E 01	1.0826E-01	+			
1.9200E 01	1.0944E-01	+			
1.9600E 01	1.1062E-01	+			
2.0000E 01	1.1180E-01	+			
2.0400E 01	1.1298E-01	+			
2.0800E 01	1.1416E-01	+			
2.1200E 01	1.1534E-01	+			
2.1600E 01	1.1652E-01	+			
2.2000E 01	1.1770E-01	+			
2.2400E 01	1.1888E-01	+			
2.2800E 01	1.2006E-01	+			
2.3200E 01	1.2124E-01	+			
2.3600E 01	1.2242E-01	+			
2.4000E 01	1.2360E-01	+			
2.4400E 01	1.2478E-01	+			
2.4800E 01	1.2596E-01	+			
2.5200E 01	1.2714E-01	+			
2.5600E 01	1.2832E-01	+			
2.6000E 01	1.2950E-01	+			
2.6400E 01	1.3068E-01	+			
2.6800E 01	1.3186E-01	+			
2.7200E 01	1.3304E-01	+			
2.7600E 01	1.3422E-01	+			
2.8000E 01	1.3540E-01	+			
2.8400E 01	1.3658E-01	+			
2.8800E 01	1.3776E-01	+			
2.9200E 01	1.3894E-01	+			
2.9600E 01	1.4012E-01	+			
3.0000E 01	1.4130E-01	+			
3.0400E 01	1.4248E-01	+			
3.0800E 01	1.4366E-01	+			
3.1200E 01	1.4484E-01	+			
3.1600E 01	1.4602E-01	+			
3.2000E 01	1.4720E-01	+			
3.2400E 01	1.4838E-01	+			
3.2800E 01	1.4956E-01	+			
3.3200E 01	1.5074E-01	+			
3.3600E 01	1.5192E-01	+			
3.4000E 01	1.5310E-01	+			
3.4400E 01	1.5428E-01	+			
3.4800E 01	1.5546E-01	+			
3.5200E 01	1.5664E-01	+			
3.5600E 01	1.5782E-01	+			
3.6000E 01	1.5900E-01	+			
3.6400E 01	1.6018E-01	+			
3.6800E 01	1.6136E-01	+			
3.7200E 01	1.6254E-01	+			
3.7600E 01	1.6372E-01	+			
3.8000E 01	1.6490E-01	+			
3.8400E 01	1.6608E-01	+			
3.8800E 01	1.6726E-01	+			
3.9200E 01	1.6844E-01	+			
3.9600E 01	1.6962E-01	+			
4.0000E 01	1.7080E-01	+			



T	VB	MINIMUM 1.2497E 00	VB	VERSUS T	MAXIMUM 1.9822E 00
0.0	1.2500E 00		I		I
4.0000E-01	1.2560E 00		+		
8.0000E-01	1.2520E 00		+		
1.2000E 00	1.2497E 00		+		
1.6000E 00	1.2508E 00		+		
2.0000E 00	1.2542E 00		+		
2.4000E 00	1.2598E 00		+		
2.8000E 00	1.2577E 00		-+		
3.2000E 00	1.2779E 00		-+		
3.6000E 00	1.2903E 00		---+		
4.0000E 00	1.3050E 00		----+		
4.4000E 00	1.3152E 00		-----+		
4.8000E 00	1.3260E 00		-----+		
5.2000E 00	1.3375E 00		-----+		
5.6000E 00	1.3497E 00		-----+		
6.0000E 00	1.3525E 00		-----+		
6.4000E 00	1.3760E 00		-----+		
6.8000E 00	1.3902E 00		-----+		
7.2000E 00	1.4050E 00		-----+		
7.6000E 00	1.4205E 00		-----+		
8.0000E 00	1.4367E 00		-----+		
8.4000E 00	1.4535E 00		-----+		
8.8000E 00	1.4710E 00		-----+		
9.2000E 00	1.4870E 00		-----+		
9.6000E 00	1.5010E 00		-----+		
1.0000E 01	1.5150E 00		-----+		
1.0400E 01	1.5290E 00		-----+		
1.0800E 01	1.5430E 00		-----+		
1.1200E 01	1.5570E 00		-----+		
1.1600E 01	1.5710E 00		-----+		
1.2000E 01	1.5850E 00		-----+		
1.2400E 01	1.5990E 00		-----+		
1.2800E 01	1.6130E 00		-----+		
1.3200E 01	1.6277E 00		-----+		
1.3600E 01	1.6432E 00		-----+		
1.4000E 01	1.6589E 00		-----+		
1.4400E 01	1.6749E 00		-----+		
1.4800E 01	1.6912E 00		-----+		
1.5200E 01	1.7077E 00		-----+		
1.5600E 01	1.7244E 00		-----+		
1.6000E 01	1.7414E 00		-----+		
1.6400E 01	1.7587E 00		-----+		
1.6800E 01	1.7762E 00		-----+		
1.7200E 01	1.7937E 00		-----+		
1.7600E 01	1.8112E 00		-----+		
1.8000E 01	1.8288E 00		-----+		
1.8400E 01	1.8464E 00		-----+		
1.8800E 01	1.8640E 00		-----+		
1.9200E 01	1.8816E 00		-----+		
1.9600E 01	1.8992E 00		-----+		
2.0000E 01	1.9168E 00		-----+		
2.0400E 01	1.9344E 00		-----+		
2.0800E 01	1.9520E 00		-----+		
2.1200E 01	1.9696E 00		-----+		
2.1600E 01	1.9872E 00		-----+		
2.2000E 01	1.9992E 00		-----+		
2.2400E 01	1.9956E 00		-----+		
2.2800E 01	1.9721E 00		-----+		
2.3200E 01	1.9815E 00		-----+		
2.3600E 01	1.9820E 00		-----+		
2.4000E 01	1.9795E 00		-----+		
2.4400E 01	1.9739E 00		-----+		
2.4800E 01	1.9554E 00		-----+		
2.5200E 01	1.9587E 00		-----+		
2.5600E 01	1.9566E 00		-----+		
2.6000E 01	1.9551E 00		-----+		
2.6400E 01	1.9541E 00		-----+		
2.6800E 01	1.9536E 00		-----+		
2.7200E 01	1.9537E 00		-----+		
2.7600E 01	1.9544E 00		-----+		
2.8000E 01	1.9556E 00		-----+		
2.8400E 01	1.9574E 00		-----+		
2.8800E 01	1.9597E 00		-----+		
2.9200E 01	1.9626E 00		-----+		
2.9600E 01	1.9660E 00		-----+		
3.0000E 01	1.9700E 00		-----+		
3.0400E 01	1.9708E 00		-----+		
3.0800E 01	1.9715E 00		-----+		
3.1200E 01	1.9724E 00		-----+		
3.1600E 01	1.9737E 00		-----+		
3.2000E 01	1.9740E 00		-----+		
3.2400E 01	1.9740E 00		-----+		
3.2800E 01	1.9756E 00		-----+		
3.3200E 01	1.9766E 00		-----+		
3.3600E 01	1.9772E 00		-----+		
3.4000E 01	1.9780E 00		-----+		
3.4400E 01	1.9780E 00		-----+		
3.4800E 01	1.9796E 00		-----+		